ชื่อเรื่อง การควบคุมการแสดงออกของยีนคลอโรฟิลเลสโดยโมเลกุลคลอโรฟิลเลส กลับทิศทางจากภายนอกต่อคุณภาพของบรอคโคลี่
ผู้แต่ง นันทวัน หัตถมาศ
ที่มา วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 2546. 97 หน้า
คำสำคัญ บรอคโคลี่; คลอโรฟิลล์; เอนไซม์คลอโรฟิลเลส; antisense chlorophyllase; sense chlorophyllase

บทคัดย่อ

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของระดับคลอโรฟิลล์ทั้งคลอโรฟิลล์รวม คลอโรฟิลล์เอ บี กิจกรรมของเอนไซม์คลอโรฟิลเลสเปรียบเทียบกับลักษณะทางสรีระขณะเก็บรักษา 5 ลักษณะ ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก อัตราการหายใจ การผลิตเอทิลีน การเปลี่ยนแปลงสีในรูปของค่า a b และ hue และการเปลี่ยนแปลงแคโรทีนอยด์ พบว่าอุณหภูมิขณะเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงบวกต่อกิจกรรมของเอนไซม์ การสูญเสียน้ำหนัก อัตราการหายใจ การผลิตเอทิลีน การเปลี่ยนแปลงสีในรูปของค่า a และการเปลี่ยนแปลงแคโรทีนอยด์ และเปลี่ยนแปลงเชิงลบต่อการเปลี่ยนแปลงสีในรูปของค่า b hue และปริมาณคลอโรฟิลล์ การให้เอทิลีนจากภายนอกสามารถเร่งกระบวนการทั้งหมด โดยเฉพาะปริมาณคลอโรฟิลล์ และกิจกรรมของเอนไซม์คลอโรฟิลเลสให้เกิดได้เร็วขึ้นกว่าชุดควบคุมประมาณ 2 เท่า การศึกษาเบื้องต้นเกี่ยวกับการดูดซับดีเอ็นเอจากภายนอกของเนื้อเยื่อบรอคโคลี่ เพื่อดูความเป็นไปได้ในการสนองตอบเน้นปริมาณคลอโรฟิลล์และกิจกรรมของเอนไซม์ รวมทั้งระดับการแสดงออกของเอนไซม์คลอโรฟิลเลส เมื่อให้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอของพลาสมิดพบว่าเนื้อเยื่อสามารถดูดซับดีเอ็นเอ 20 μg/ml เป็นระยะทาง 2 เซนติเมตร มีเสถียรภาพ 45 ชั่วโมง เมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค PCR การเพิ่มชิ้นส่วนของยีนคลอโรฟิลเลสด้วยไพรเมอร์จำเพาะได้ชิ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 300 นิวคลีโอไทด์ และเมื่อนำมาต่อเข้ากับ 35S โปรโมเตอร์ จะได้ชิ้นสวนของดีเอ็นเอทั้งในรูป antisense และ sense เมื่อให้ดีเอ็นเอ antisense และ sense chlorophyllase แก่เนื้อเยื่อบรอคโคลี่จากภายนอก พบว่า antisense chlorophyllase มีผลต่อการชะลอการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ กิจกรรมของเอ็นไซม์คลอโรฟิลเลสที่ตรวจสอบได้ และระดับการแสดงออกของยีนคลอโรฟิลเลสในรูปปริมาณ mRNA ในทางกลับกันพบว่า sense chlorophyllase สามารถเร่งการสูญเสียคลอโรฟิลล์ และกิจกรรมของเอนไซม์คลอโรฟิลเลส รวมทั้งพบระดับการแสดงออกของยีนคลอโรฟิลเลสที่เพิ่มขึ้นด้วยการให้ดีเอ็นเอจากภายนอกเพื่อศึกษาผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและสรีรวิทยาของเนื้อเยื่อบรอคโคลี่ในครั้งนี้ แสดงให้เห็นถึงความสามารถทางเทคนิคและความสะดวกรวดเร็วในการตรวจสอบการสนองตอบต่อดีเอ็นเอในรูป antisense และ sense ได้โดยตรงโดยไม่ต้องผ่านการตัดแปรพันธุกรรม