

ยงหุ้ย หวง : การแสดงออกแบบไม่ถาวรของยีนโปรตีนห่อหุ้มไวรัส X ของมันฝรั่งใน
ยาสูบ (*Nicotiana benthamiana*) (TRANSIENT EXPRESSION OF POTATO VIRUS X
COAT PROTEIN GENE IN *Nicotiana benthamiana*) อาจารย์ที่ปรึกษา :
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มารินา เกตุทัต-คาร์นส์, 82 หน้า.

โรคไวรัสในมันฝรั่งชนิด X (Potato virus X; PVX) เป็นโรคที่มีการระบาดทั่วไปในเขตที่มี
การปลูกมันฝรั่ง ไวรัสนี้ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตและท่อนพันธุ์ การทดลองนี้ได้
ทำการศึกษาการสร้าง RNAi เพื่อรบกวนต่อการแสดงออกของยีนที่ใช้สร้างโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค
ไวรัส (coat protein; CP) PVX โดยวิธี transient expression ในใบยาสูบ (*Nicotiana benthamiana*)
PVX CP cDNA ถูกโคลนมาจากใบมันฝรั่งที่เป็นโรค PVX ในแปลงปลูก และทำการโคลนยีน
PVX CP ส่วนที่เป็น conserved fragment เข้าสู่ RNAi vector, pHellsgate12 และถ่ายเข้าสู่พืช
เพื่อสร้างความต้านทานต่อ PVX ในพืช การศึกษา transient expression ของ hairpin CP
นี้ใช้เทคนิคการถ่ายยีนเข้าสู่พืชผ่านเชื้อ *Agrobacterium* (Agroinfiltration) และทดสอบความ
ต้านทานต่อการเข้าทำลายของไวรัสโดยวิธีสังเกตลักษณะการแสดงออกภายนอก และการ
ตรวจสอบด้วยเทคนิค DAS-ELISA ผลการทดสอบพบว่า มันฝรั่งที่ถูกถ่ายยีนด้วยวิธี
Agroinfiltration สามารถต้านทานต่อ PVX ได้ 100% นอกจากนี้ยังได้ทำการพัฒนาหาเทคนิคที่
เหมาะสมสำหรับการถ่ายยีนนี้เข้าสู่เนื้อเยื่อของมันฝรั่ง ซึ่งพบว่าเนื้อเยื่อของมันฝรั่งถูกดัดแปลงยีน
สามารถตรวจสอบการถ่ายยีนโดยเทคนิค PCR ได้ ในอนาคตงาน ทดลองที่เกี่ยวข้องกับการดัดแปลง
ยีนในมันฝรั่งเพื่อสร้างความต้านทานต่อ PVX สามารถใช้เทคนิคที่กล่าวมาข้างต้นได้

YONGHUI HUANG : TRANSIENT EXPRESSION OF POTATO VIRUS X
COAT PROTEIN GENE IN *Nicotiana benthamiana*. THESIS ADVISOR :
ASST. PROF. MARIENA KETUDAT-CAIRNS, Ph.D., 82 PP.

POTATO VIRUS X/TRANSIENT EXPRESSION/HAIRPIN RNA/RESISTANCE

Potato virus X (PVX) is widespread in the world, causing yield losses and seed degeneration of potato. The interference effect of a PVX coat protein (CP) based construct was studied by transient expression in *Nicotiana benthamiana*. Potato leaves with PVX infection symptoms in the fields were collected to obtain the PVX CP cDNA. A conserved fragment of the PVX CP gene was subcloned into pHellsgate12, an RNAi vector, with the aim of achieving the resistance to PVX. Transient expression of the hairpin CP via agroinfiltration was performed in model plant, *Nicotiana benthamiana*. Virus challenging assay followed by phenotype observation and DAS-ELISA detection demonstrated that 100% of the tobacco plants infiltrated with *Agrobacterium* harboring the construct were resistant to PVX. Furthermore, optimization of the system for *Agrobacterium* mediated potato transformation led to detection of transgenic potato calli by PCR. This work revealed the possibility of achieving transgenic potato plants resistant to PVX.

School of Biotechnology

Academic Year 2010

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____