

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG4680200

ชื่อโครงการ : การพัฒนาสายพันธุ์ใหม่โดยวิธีทางพันธุวิศวกรรมเพื่อการจัด
สารปนเปื้อนจำพวกโลหะหนักในแหล่งน้ำธรรมชาติอย่างมีประสิทธิภาพ

ชื่อนักวิจัย : นายสุรศักดิ์ ศิริพรอดุลศิลป์

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

E-mail Address : surasak@kku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 1 สิงหาคม 2546 - 31 กรกฎาคม 2548

โพรลีน (proline) และไฟโตคีเลติน (phytochelatin) มีบทบาทสำคัญในพืชและจุลินทรีย์เพื่อความอยู่รอดต่อสภาวะที่ปนเปื้อนสารพิษต่าง ๆ รวมทั้งสารโลหะหนัก ในการศึกษาครั้งนี้ได้แสดงคุณลักษณะของทรานสเฟอร์แมนซ์ของสาหร่าย *Chlamydomonas reinhardtii* ที่เกิดจากการแสดงออกของยีนแปลกปลอมสองชนิดคือ halotolerance-like (*RHL2*) เป็นยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์ซิสเทอีน (cysteine) โดยที่ซิสเทอีนเป็นส่วนประกอบหลักของไฟโตคีเลตินซึ่งเป็นโปรตีนที่มีศักยภาพสูงในการเข้าจับกับสารโลหะหนักเพื่อลดความเป็นพิษ ยีนชนิดที่สองคือ pyrroline-5-carboxylate syntase (*P5CS*) โดย *P5CS* เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โพรลีน ผลของการแสดงออกของยีน *RHL2* และ *P5CS* ใน *C. reinhardtii* ส่งผลให้ทรานสเฟอร์แมนซ์สามารถทนต่อความเป็นพิษของแคดเมียม ดูดซับแคดเมียมได้สูงกว่า และสังเคราะห์โพรลีนอิสระได้สูงกว่า (90 %) เซลล์เจ้าเรือนตามลำดับ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมแคดเมียม 100 μM จากการวิเคราะห์ malondialdehyde (MDA) ซึ่งเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่เกิดจากเซลล์ถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ และอัตราส่วนของ GSH : 0.5 GSSG ผลการทดลองบ่งชี้ว่าทรานสเฟอร์แมนซ์ของสาหร่ายที่มีการแสดงออกของยีน *RHL2* และ *P5CS* สามารถลดการถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระอันเกิดจากสารแคดเมียมได้ดีกว่าเซลล์เจ้าเรือน และ ทรานสเฟอร์แมนซ์ของสาหร่ายที่มีการแสดงออกเฉพาะยีน *P5CS*

คำหลัก : bioremediation, heavy metal, pyrroline-5-carboxylate syntase, halotolerance-like (*RHL2*) gene

Abstract

Project Code : MRG4680200

Project Title : Development of Transgenic Algae for the Novel and Effective
Bioremediation of Heavy Metal Contamination in Aqueous Solutions

Investigator : Dr. Surasak Siripornadulsil
Department of Microbiology, Faculty of Science, Khon Kaen University 40002

E-mail Address : surasak@kku.ac.th

Project Period : 1st August 2003 - 31th July กรกฎาคม 2005

Free proline and phytochelatin have been shown to play an important role in ameliorating environmental stress in plants and microorganisms, including heavy metal stress. Here, we demonstrated the phenotypes of transgenic algae expressing two different foreign genes which regulate amino acid biosynthesis. The first one, isolated from rice (*Orizya sativa* L.), is a rice halotolerance-like (*RHL2*) gene, which regulates cysteine synthesis. Cysteine is a major component of cells as well as a component of phytochelatins which potential heavy metal binding proteins involved in xenobiotic detoxification. The second gene is pyrroline-5-carboxylate syntase (*P5CS*), isolated from mothbean (*Vigna aconotofolia*). *P5CS* is a bifunctional enzyme which catalyses the first two steps of proline synthesis. We describe the effects of both *RHL* and *P5CS* expression on the cadmium toxicity and cadmium binding capacity of the green microalga, *Chlamydomonas reinhardtii*. We show that transgenic algae expressing the both gene have 90% higher free-proline levels than wild-type cells and tolerate toxic cadmium (Cd) concentrations (100 μM). Analyses of the fatty acid products of free-radical damage, malondialdehyde (MDA), and determinations of GSH : 0.5 GSSG ratio of the cells indicated that the transgenic algae expressing both different foreign genes reduces free radical damage much better than wild-type and slightly better than only *P5CS* transgenic algae.

Keywords : bioremediation, heavy metal, pyrroline-5-carboxylate syntase, halotolerance-like (*RHL2*) gene