

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5280249

ชื่อโครงการ : การศึกษาหน้าที่ของเอนไซม์บีตากลูโคซิเดสของข้าวโอ๊ต *Os4BGlu12*

ในการย่อยผนังเซลล์

ชื่อนักวิจัย : ผศ. ดร. รจนา โอภาสศิริ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

E-mail Address : opassiri@hotmail.com

ระยะเวลาโครงการ : 16 มีนาคม 2552 – 15 สิงหาคม 2553

เอนไซม์บีตากลูโคซิเดสของข้าวโอ๊ต *Os4BGlu12* ถูกจัดไว้ในไกลโคซิลไฮโดรเลสกลุ่มที่ 1 ได้มีการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอที่บรรจุรหัสพันธุกรรมของเอนไซม์นี้จากต้นอ่อนข้าว โปรตีนสายผสมของ *Os4BGlu12* ถูกผลิตขึ้นในสภาพที่ทำงานได้ใน *Escherichia coli* และเอนไซม์สามารถย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีพันธะแบบบีต้าได้ดี (Opassiri et al., 2006) เพื่อทราบถึงหน้าที่ของเอนไซม์นี้มากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะบทบาทในการย่อยผนังเซลล์ โครงการนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกและการทำงานของเอนไซม์บีตากลูโคซิเดส *Os4BGlu12* กับเอนโดกลูคาเนสของข้าว จากการศึกษาด้วยวิธี Northern analysis พบว่า mRNA ของยีน *Os4bglu12* เพิ่มขึ้นอย่างมากในต้นอ่อนข้าวที่มีบาดแผลและที่ได้รับฮอร์โมนเมทิลจัสโมเนตและอีเทฟอน ตรวจพบโปรตีนสายผสมของโปรตีนติดตามชนิด GUS (กลูคิวโรนิเดส) ที่เชื่อมกับปลายคาร์บอกซีของ *Os4BGlu12* ตรงช่องว่างระหว่างเซลล์หรือผนังเซลล์ของเซลล์หัวหอม (*Allium cepa*) โปรตีนสายผสมของ *Os4BGlu12* ที่ผลิตได้ใน *E. coli* สามารถย่อยกลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีพันธะ β -(1,3;1,4) ที่ได้จากการย่อยผนังเซลล์ด้วยเอนไซม์ เอนโด-1,3;1,4-บีตากลูคาเนส *OsEGL1* ของข้าว ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีการแสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อข้าวเกิดบาดแผล จึงเป็นไปได้ว่าเอนไซม์ทั้งสองอาจทำงานร่วมกันในการปรับเปลี่ยนโครงสร้างผนังเซลล์ ในการทดสอบเอนไซม์กับโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดต่างๆ พบว่า *Os4BGlu12* ย่อยกลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีจำนวนกลูโคสต่อกัน 3-6 หน่วย ด้วยพันธะ β -(1,4) ได้ดีที่สุด เอนไซม์ย่อยได้แซคคาไรด์ของกลูโคส ที่มีพันธะ β -(1,3) ได้ดีเช่นกัน ในการทดสอบเอนไซม์กับไกลโคไซด์ที่พบในธรรมชาติพบว่า *Os4BGlu12* ย่อยดีออกซีคอร์ติโคสเตอรอนกลูโคไซด์และเอพิเจนนกลูโคไซด์ได้ดีมาก จากการวิเคราะห์ชนิดกรดอะมิโนที่น่าจะอยู่ตรงบริเวณเร่งปฏิกิริยาของ *Os4BGlu12* พบว่ากรดอะมิโนเหล่านี้เป็นชนิดที่คล้ายคลึงกับของเอนไซม์บีตากลูโคซิเดสกลุ่มที่ย่อยไซยาโนเจนิกกลูโคไซด์ และฟลาโวนอยด์กลูโคไซด์ มากกว่ากลุ่มที่ย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ เอนไซม์จึงอาจจะทำหน้าที่ทั้งในระบบป้องกันเซลล์ และการย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการสลายผนังเซลล์

คำหลัก : บีตากลูโคซิเดส เอนโด-(1,3;1,4)-บีตากลูคาเนส ไกลโคไซด์ ข้าว ผนังเซลล์ บาดแผล

Abstract

Project Code : MRG5280249

Project Title : Functional characterization of rice Os4BGlu12 β -glucosidase
in cell wall hydrolysis

Investigator : Asst. Prof. Dr. Rodjana Opassiri, Suranaree University of Technology

E-mail Address : opassiri@hotmail.com

Project Period : 16 March 2009 – 15 August 2010

Rice Os4BGlu12 β -glucosidase is a family 1 glycosyl hydrolase, the full-length cDNA of which was cloned from rice seedlings. The recombinant Os4BGlu12 β -glucosidase was functionally expressed in *Escherichia coli* and it efficiently hydrolyzed β -linked oligosaccharides (Opassiri et al., 2006). In order to thoroughly study the biological roles of this enzyme, especially cell wall hydrolysis, this project aims to study the relationships between expression patterns and activity of rice Os4BGlu12 β -glucosidase and endoglucanase. Northern analysis revealed that mRNA transcripts of *Os4bglu12* gene significantly increased when rice seedlings were exposed to wounding, methyl jasmonate and ethephon. A GUS (glucuronidase) reporter tagged at the C-terminus of Os4BGlu12 was found to be secreted to the apoplast or cell wall when expressed in onion (*Allium cepa*) cells. Recombinant Os4BGlu12 produced in *E. coli* hydrolyzed the cell-wall derived β -(1,3;1,4)-glucooligosaccharides generated by the wounding-induced rice endo-(1,3;1,4)- β -glucanase OsEGL1, suggesting that both enzymes may act in concert in remodeling of damaged cell wall. Among oligosaccharides tested, Os4BGlu12 hydrolyzed β -(1,4)-linked glucooligosaccharides with highest catalytic efficiency when the degree of polymerization ranged from 3 to 6. It also hydrolyzed the β -(1,3)-linked disaccharide of glucose with high catalytic efficiency. Among the natural glycosides tested, Os4BGlu12 efficiently hydrolyzed deoxycorticosterone 21-glucoside and apigenin 7-O- β -D-glucoside. The amino acid residues predicted to line the active site of Os4BGlu12 are more similar to those of cyanogenic and flavonoid β -glucosidases than oligosaccharide hydrolases, and it may function in defense, as well as in cell wall-derived oligosaccharide break-down.

Keywords: β -glucosidase, endo-(1,3;1,4)- β -glucanase, glycosides, rice, cell wall, wound