

Project Code: RSA6080031

Project Title: การวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีนแฟมิลี DUF642 บนผนังเซลล์ต่อการเจริญและพัฒนาของพืช

Investigator: นายศุภชัย วุฒิพงศ์ชัยกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

E-mail Address: supachai.v@ku.th

Project Period: พฤษภาคม 2560 – พฤษภาคม 2563

บทคัดย่อ

ผนังเซลล์มีหน้าที่สำคัญต่อการมีชีวิตของเซลล์พืช โครงสร้างประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์หลากชนิด และมีโปรตีนและเอนไซม์ทำหน้าที่ควบคุมการทำงาน โปรตีนแฟมิลี Domain of Unknown Function 642 (DUF642) เป็นกลุ่มโปรตีนที่ไม่ทราบหน้าที่ และไม่สามารถคาดเดาหน้าที่จากลำดับกรดอะมิโนได้ แต่พบมากในผนังเซลล์ของเนื้อเยื่อพืชที่กำลังมีการเจริญเติบโต วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ การศึกษาหน้าที่ของโปรตีนแฟมิลี DUF642 ในอะราบิดอพิซิสและการทำงานในผนังเซลล์พืช โปรตีนแฟมิลี DUF642 ถอดรหัสจากยีน 10 ตำแหน่ง ในอะราบิดอพิซิส จากการตรวจสอบการแสดงออกของยีนทั้ง 10 ด้วย Promoter-GUS fusion แสดงให้เห็นว่ายีนทั้ง 10 มีการแสดงออกในต้นอะราบิดอพิซิส และน่าจะมีการทำงานทดแทนกันแบบ functional redundancy จากการตรวจสอบการจับระหว่างโปรตีน DUF642 กับโพลีแซคคาไรด์ชนิดต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชทั้งหมด 16 ชนิด โดยใช้วิธี ELISA พบว่าโปรตีน DUF642 สามารถจับกับโพลีแซคคาไรด์ทั้งกลุ่มเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพกติน โดยโปรตีนแต่ละตัวมีความจำเพาะที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบผลการสูญเสียหน้าที่ของยีนด้วย T-DNA insertion หลายตำแหน่งร่วมกันถึง 7 ตำแหน่ง โดยตรวจสอบจากสายพันธุ์กลายทั้งหมด 70 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์กลายมีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อทดสอบกับ $AlCl_3$ ที่ส่งผลยับยั้งการทำงานของเพกติน แต่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในด้านการเจริญเติบโตหรือสภาวะทดสอบความเครียดต่าง ๆ ทั้งนี้สายพันธุ์กลายที่ทดสอบยังมียีนอีกอย่างน้อย 3 ตำแหน่งที่ยังทำงานทดแทน เมื่อตรวจสอบการเข้าจับกับโปรตีนอื่น ๆ ในผนังเซลล์ด้วยเทคนิค co-immunoprecipitation และ yeast two hybrids พบว่าโปรตีน DUF642 เข้าจับได้อย่างจำเพาะกับโปรตีน Expansins ที่ควบคุมการขยายขนาดของผนังเซลล์ จากการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่าโปรตีน DUF642 น่าจะทำหน้าที่เป็นตัวกลางหรือเกี่ยวข้องในการทำงานระหว่างโปรตีน Expansins และโพลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์ ข้อมูลวิจัยที่ได้จากโครงการนี้จะช่วยเพิ่มความเข้าใจของกระบวนการและการทำงานของผนังเซลล์พืชที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเซลล์และต้นพืช

คำสำคัญ: อะราบิดอพิซิส, ผนังเซลล์พืช, โดเมนไม่ทราบหน้าที่, การเจริญของพืช, หน้าที่ของยีน

Abstract

Plant cell walls play important roles in the life of plant cells. Cell walls consist of various types of polysaccharides and proteins, which regulates the dynamic of the walls. Domain of unknown function family 642 (DUF642) is an unknown function protein found abundantly in the wall of active growing cells. The objective of this work is to characterize the function of DUF642 family and its role in the plant cell walls in Arabidopsis. DUF642 proteins are encoded from a family of 10 genes in Arabidopsis, and expression analysis of these genes by Promoter-GUS fusion showed different pattern of expression and suggested a highly functional redundancy among the 10 family members. Analysis of protein-polysaccharide binding by an ELISA based approach showed that DUF642s can bind to cellulose, hemicelluloses and pectins, in which each of the members has different binding specificity. Analysis of T-DNA insertion lines for simultaneously knockout up to 7 genes from in total 70 lines showed that the insertions only responded to AlCl_3 treatments, as a pectin inhibitor, with reduced root growth, but did not show changes in general seedling growth or treatments with stresses. It is important to note that there are at least 3 genes remained functioning in the mutant lines as to sustain the septuple knockouts. Protein interaction studies by co-immunoprecipitation and yeast two hybrids showed that DUF642 interact specifically with Expansins, which is known to control cell wall extension. The results indicate that DUF642 is likely to function as a mediator or being involve between Expansins and polysaccharides in the cell wall. Data obtained from this work will expand the understanding of plant cell walls, particularly the process that related to the cell and plant growth.

Keywords: Arabidopsis; plant cell wall; domain of unknown function; plant growth; gene function