มัลลิกา จันทรังษี : การศึกษาสมบัติของเบตากาแลคโตซิเดสจากข้าว (CHARACTERIZATION OF β-GALACTOSIDASES FROM RICE (*Oryza sativa* L.)) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. เจมส์ เกตุทัต-คาร์นส์, 157 หน้า.

ได้ทำการศึกษายีนที่ควบคุมการแสดงออกของเบตากาแลคโตซิเดส 2 ตัวคือ ยีน *OsBGal1* ซึ่งควบคุมการแสดงออกที่เมล็ดข้าวที่กำลังงอก และยีน *OsBGal 2* ควบคุมการแสดงออกที่ช่อดอก โดยพบว่ามีการแสดงออกในระดับสูงในรากและต้นอ่อนของเมล็ดข้าวที่กำลังงอก รวมทั้งในกาบใบของข้าวอายุ 15-30 วัน โดยพบว่ายีนทั้งสองมีการแสดงออกในระดับที่ต่ำในดอกและ immature seed และพบว่าเฉพาะ OsBGal2 มีการแสดงออกที่ mature seed โปรตีนเบตากาแลคโตซิเดสจากข้าวได้ถูกนำมาแสดงออกในรูปแบบของโปรตีนที่เชื่อมต่อกับไทโอรีดอกซินโดยใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ OrigamiB (DE3) เพื่อที่จะผลิตเอนไซม์เบตากาแลคโตซิเดสที่มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงซึ่งไม่พบในกลุ่มควบคุม ผลที่ได้จากการทำ western blot จากโปรตีนที่สกัดจากต้นข้าว ได้ข้อบ่งชี้ว่า โปรตีน OsBGal 1 แสดง immuno reactive ที่มีขนาดประมาณ 90 กิโลดาลตัน ส่วนโปรตีน OsBGal2 มีขนาดประมาณ 55 กิโลดาลตัน เมื่อเบตากาแลคโตซิเดสจากข้าวไอโซไซม์ที่ 1 (OsBGal1) ถูกผลิตขึ้นในสภาพที่เร่งปฏิกิริยาได้และถูกทำให้บริสุทธิ์ขึ้น พบว่าสามารถย่อยสลายพาราไนโตรฟีนอลเบตาดีกาแลคโตไซด์และยังเร่งปฏิกิริยาการนำกาแลคโตสไปเชื่อมต่อกับโมเลกุลของพาราไนโตรฟีนอลเบตาดีกาแลคโตไพราโนไซด์ และพาราไนโตรฟีนอลเบตาดีฟิวโคไพราโนไซด์แต่ไม่ย่อยพาราไนโตรฟีนอลตัวอื่น นอกจากกนี้ยังพบว่าสามารถย่อยสลายกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีพันธะ β-(1→3)-, β-(1→4)- และ β-(1→6)- ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลกาแลคโตส แต่ไม่ย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสและสารที่มีโครงสร้างซับซ้อนมากขึ้น เช่น ไซโลกลูแคนโอลิโกแซคคาไรด์ เฮมิเซลลูโลซิคโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดจากข้าวและเพคติน แต่กลับพบกาแลคโตสเกิดขึ้นเมื่อนำเอนไซม์ที่บริสุทธิ์ตัวดังกล่าวมาบ่มรวมกับสารสกัดที่ไม่ละลายในอัลกอฮอล์ที่สกัดจากรากและต้นอ่อนของข้าว

สาขาวิชาชีวเคมี ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2549 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

MALLIKA CHANTARANGSEE: CHARACTERIZATION OF β-GALACTOSIDASES FROM RICE (*Oryza sativa* L.). THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. JAMES R. KETUDAT-CAIRNS, Ph.D. 157 PP.

β-GALACTOSIDASE/ RICE/ TRANSGLYCOSYLATION AND EXPRESSION

The genes encoding two isoforms of β-galactosidase expressed in germinating rice and panicle, designated *OsBGal1* and *OsBGal2*, were previously cloned and sequenced. The two genes were found to be relatively highly expressed in seedling roots and shoots and in leaf sheath in 15-30 day old plants. Both were also expressed at low levels in flowers and immature seeds, but only the *OsBGal2* transcript was found in mature seeds. The predicted mature proteins of the rice β-galactosidases were expressed as thioredoxin fusion proteins in *E. coli* strain OrigamiB (DE3) to produce β-galactosidase activities not found in control extracts. Western blot analysis indicated immunoreactive proteins of approx. 90 kDa for OsBGal1 protein and 55 kDa for OsBGal2 in extracts of these tissues. Purified OsBGal1 fusion protein hydrolyzed and transglycosylated *p*-nitrophenyl (*p*NP) β-D-galactopyranoside and *p*NP β-D-fucopyranoside. Other *p*NP-glycosides were not hydrolyzed. Galactose was released from β-(1→3)-, β-(1→4)- and β-(1→6)-linked di- and trisaccharides of galactose by this enzyme, but it did not hydrolyze larger [^{3}H]oligo-(1→4)-galactans (penta-, octa- and undecasaccharides), lactose, a galactosylated xyloglucan oligosaccharide (XLLG), total rice hemicellulosic polysaccharides or pectin. Galactose was also detected when the

purified OsBGal1 was incubated with rice root and rice coleoptile alcohol-insoluble residue.

School of Biochemistry

Academic Year 2006

Student's Signature_____

Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____