1.2. Thai Abstract (บทคัดย่อ)

โครงการวิจัยนี้ คณะผู้วิจัยได้ศึกษาการทำงานของเอนไซม์เบต้า-กลูโคสิเดส Os9Bglu31 จากข้าว เอนไซม์นี้แสดงกิจกรรมในการเคลื่อนย้ายกลูโคส (transglucosidase) มากกว่าการสลายพันธะเบต้า-กลูโคไซด์ (β-glucosidase) พบว่าเอนไซม์ Os9BGlu31 สามารถใช้ 4-nitrophenyl (4NP) β-D-glucopyranoside, 4NP β-D-fucopyranoside และ 4NP β-D-xylopyranoside เป็นสารตั้งต้นในการให้หมู่น้ำตาล และเคลื่อนย้ายหมู่น้ำตาลให้แก่ nucleophiles ได้แก่ acetate หรือ azide ได้ดีกว่าน้ำที่ใช้ในการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส โดยในสภาวะที่มีสารตั้งต้นในการให้หมู่น้ำตาลดังกล่าวสามารถพบการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสได้เล็กน้อย นอกจากนี้ เอนไซม์ Os9BGlu31 ยังสามารถใช้สารจำพวก 1-*O*-acyl เอสเทอร์ของกลูโคส ได้แก่ 1-*O*-β-D-feruloyl glucose, 1-*O*-β-D-(4-coumaroyl) glucose, 1-*O*-β-D-vanillyl glucose, 1-*O*-β-D-(4-hydroxybenzoyl) glucose, 1-*O*-β-D-sinapoyl glucose และ gibberellins GA4 β-D-glucosyl ester ตลอดจน phloridzin และ apigenin 7-*O*-β-D-glucoside เป็นตัวให้กลูโคสได้ดีกว่าการใช้ 4NP-glycosides เอนไซม์ Os9BGlu31 สามารถเคลื่อนย้ายกลูโคสให้แก่แอลกอฮอล์และสารตัวรับจำพวก carboxylate ได้หลากหลายเช่นเดียวกับการใช้ azide อย่างไรก็ตาม เอนไซม์นี้จะให้ค่ากิจกรรมในการเคลื่อนย้ายกลูโคสได้สูงสุดเมื่อใช้สารจำพวก phenolic carboxylates ได้แก่ ferulic acid และ 4-coumaric acid นอกจากที่กล่าวมาแล้วเอนไซม์นี้ยังสามารถใช้สารในกลุ่มฮอร์โมนจากพืช ได้แก่ auxin (indole acetic acid และ naphthalene acetic acid) และ gibberellins (GA4) เป็นสารตั้งต้นตัวรับกลูโคส ในกรณีของการศึกษาสารยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ นอกเหนือจากไอออนของทองแดงและปรอทแล้ว พบว่าไอออนของโลหะหนักอื่น ๆ ไม่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งรวมถึงสารที่มีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-กลูโคสิโดสโดยทั่วไป เช่น δ-gluconolactone, phenylethyl glucoimidazole, deoxy-nojirimycin, isofagamine, conduritol B epoxide, cyclophellitol และ 2,4-dinitrophenyl-β-D-deoxy-2-fluoro-glucopyranoside ก็ไม่แสดงการผลในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ Os9Bglu31 พบว่าเอนไซม์ชนิดนี้มีการแสดงออกสูงที่สุดในใบธง (senescing flag leaf) และเมล็ดที่กำลังพัฒนา โดยการแสดงออกในต้นกล้าถูกเหนี่ยวนำได้โดยสภาวะเครียดต่าง ๆ และฮอร์โมนพืช ดังนั้น การศึกษาเอนไซม์เบต้า-กลูโคสิเดส Os9BGlu31 นี้จึงมีบทบาทสำคัญในทางชีววิทยาและชีวเคมีเป็นอย่างมาก ผลจากโครงการวิจัยนี้ได้ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ Journal of Biological Chemistry และมีการนำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการระดับนานาชาติ รวมถึงมีการพัฒนาบุคลากรวิจัยหลังปริญญาเอก ผู้ช่วยวิจัย และนักศึกษา นอกจากนี้ยังมีการวางแผนเพื่อพัฒนาผลงานวิจัยนี้ไปสู่การใช้งานทางเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมยาในอนาคต

1.3. English Abstract

In this project, we characterized the putative rice β-glucosidase Os9BGlu31 and showed that it is a transglucosidase, rather than a β-glucosidase. The Os9BGlu31 enzyme was found to utilize 4-nitrophenyl (4NP) β-D-glucopyranoside, 4NP β-D-fucopyranoside and 4NP β-D-xylopyranoside as donor substrates and to transfer the sugars onto nucleophiles, such as acetate or azide better than to water in hydrolysis. In the presence of such donors, negligible amounts of hydrolysis were detected. Os9BGlu31 can use the 1-*O*-acyl glucose esters 1- *O*-β-D-feruloyl glucose, 1-*O*-β-D-(4-coumaroyl) glucose, 1-*O*-β-D-vanillyl glucose, 1-O-β-D-(4-hydrolxybenzoyl) glucose, 1-O-β-D-sinapoyl glucose, and gibberellin GA_4 β-D-glucosyl ester, as well as the glycosides phloridzin and apigenin 7-O-β-D-glucoside as donors with higher activity than the 4NP-glycosides. Os9BGlu31 can transfer glucose to a wide range of alcohol and carboxylate acceptors, as well as azide, but had highest activity with phenolic carboxylates, such as ferulic acid and 4-coumaric acid. Other notable substrates, from the plant function perspective included the phytohormones auxin (indole acetic acid and naphthalene acetic acid) and gibberellin (GA_4). Except for mercury and copper, Os9BGlu31 activity was not affected by metal ions and the typical β-glucosidase inhibitors δ-gluconolactone, phenylethyl glucoimidazole, deoxy-nojirimycin, isofagamine, conduritol B epoxide, cyclophellitol, and 2,4-dinitrophenyl-β-D-2-deoxy-2-fluoro-glucopyranoside did not inhibit it. The enzyme is highly expressed in senescing flag leaf and developing seed, and its expression in seedlings was induced by a variety of stress conditions and phytohormones. Thus, the enzyme displays several interesting biological and biochemical properties that give it potentially useful biological functions and applications. This work contributed to the publication of a paper in the Journal of Biological Chemistry, presentations at international meetings, and training of a postdoc, an assistant and a student. It sets the foundation for a future studies with implications for agriculture and pharmaceutical modification.