

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การประยุกต์ใช้ EgP450 ในการกำจัดสารพิษ
Application of EgP450 in Detoxification

คณะผู้วิจัย

ศ.ดร. อมรรัตน์ พงศ์ดารา

ดร. ธเนศ ปานรัตน์

ดร. สุรพร นวลแก้ว

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2558-2559 รหัสโครงการ SCI580447S

Abstract

Cytochrome P450 monooxygenases cDNA isolated from the oil palm *Elaeis guineensis* (*EgP450*) encoding 505 amino acids. The protein belongs to CYP71 family, proteins in this family are monooxygenases that are involved in herbicide metabolism. The presence and integration of transgenes in the putative transformants of tobacco explants were investigated. *EgP450*-mediated herbicide metabolism resulted in enhanced tolerance to isoproturon in the transgenic plants. The characteristic ion peaks of isoproturon decreased 89.96% from the standard MS spectrum, indicating the degradation of isoproturon and its metabolites by *EgP450*. In addition, the molecular modeling, docking method, was used to predict the binding *EgP450* to several chemicals and found the strong binding to aflatoxin B1 (AFB₁), a mycotoxin produced by *Aspergillus* spp. An *in vivo* aflatoxin toxicity test on hMSCs, AFB₁ induces the expression of *Bmi-1* which is one of the markers for the development of cancer. The presence of *EgP450* at 0.15 µg/ml could reduced the *Bmi-1* expression in AFB₁ induced cells. The *EgP450* is able to involve in mycotoxin inactivation. Further investigation of the mode of action and application of *EgP450* in this research field are highly recommended. In order to cover for more varieties of toxic chemicals, additional *P450* cDNA from plant species were isolated at this time.

บทคัดย่อ

Cytochrome P450 monooxygenase (*EgP450*) cDNA แยกได้จากปาล์มน้ำมัน (*Elaeis guineensis*) แพลรหัสเป็นกรดอะมิโนได้ 505 ตัว เป็นโปรตีนที่จัดอยู่ในกลุ่ม CYP71 ซึ่งเป็นเอนไซม์ monooxygenases มีฤทธิ์ย่อยสลายสารปราบวัชพืช ต้นใบยาสูบที่ได้รับการถ่ายฝากยีน *EgP450* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสารอาหารที่มีไอโซโปรทรอน เมื่อตรวจสอบปริมาณสารไอโซโปรทรอนที่ปมรวมกับ *EgP450* แล้วตรวจสอบด้วย MS spectrum พบว่า *EgP450* สามารถย่อยสลายปริมาณของไอโซโปรทรอนลง 89.96 เปอร์เซ็นต์ นอกจากสารปราบวัชพืชแล้ว การคาดเดาโครงสร้างโมเลกุลสามมิติด้วยคอมพิวเตอร์ พบว่า *EgP450* ยังจับได้กับอะฟลาท็อกซิน งานวิจัยนี้จึงทดสอบสมบัติของ *EgP450* ในการลดความเป็นพิษของสารก่อมะเร็งอะฟลาท็อกซินปี 1 โดยทดสอบการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงเซลล์ต้นกำเนิดชนิดมีเซ็นโคมอลจากไข่กระดูกไปเป็นเซลล์มะเร็งภายหลังได้รับสารก่อมะเร็งอะฟลาท็อกซินปี 1 ร่วมกับ *EgP450* ทำให้มีระดับการแสดงออกของยีนบีเอ็มไอ 1 ซึ่งเป็นยีนก่อมะเร็งลดลง ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพการนำ *EgP450* ไปใช้ประโยชน์ในการกำจัดสารพิษได้หลากหลาย และมีแนวโน้มว่าจะมีประโยชน์ในอนาคต มีความจำเป็นที่จะต้องศึกษากลไกที่เกิดขึ้น และพัฒนาการนำไปใช้ประโยชน์ นอกจากนั้นด้วยความต้องการกำจัดสารพิษที่มีอยู่หลากหลาย งานวิจัยนี้จึงได้แยก *P450* cDNA จากพืชอื่นเพิ่มเติม