ABSTRACT
(Thai)

เอนไซม์ 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase เป็นเอนไซม์ลำดับที่ 2 ของวิถีชีวสังเคราะห์ชนิด deoxyxylulose phosphate (DXP) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสร้าง 2C-methyl-D-erythritol 4-phosphate จากสารตั้งต้น DXP ในสภาวะที่มี NADPH และ Mg^{2+} หรือ Mn^{2+} ในการศึกษานี้ยีน dxr จากใบอ่อนของเปล้าน้อยได้ถูกโคลนขึ้นด้วยวิธี homology-based PCR (polymerase chain reaction) และ RACE (rapid amplification of cDNA ends) โดย full-length cDNA ของยีน *dxr* (*CsDxr*) ที่ได้ประกอบด้วยสายนิวคลีโอไทด์ ความยาว 1,404 คู่เบส ที่ถอดรหัสได้สายเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนจำนวน 468 หน่วย มวลโมเลกุล และค่า isoelectric point ถูกทำนายเป็น 50.6 kDa และ 5.64 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์สายกรดอะมิโนด้วยโปรแกรม TargetP พบว่าปลายด้าน N-terminal ตำแหน่งที่ 1-44 ทำหน้าที่เป็น chloroplast transit peptide ขณะเดียวกันยังพบ NADPH binding motif (GSTGSIGT) อีกด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับกรดอะมิโนของ CsDXr จากใบเปล้าน้อย มีความเหมือนกับลำดับกรดอะมิโนของเอนไซม์ Dxr จากพืชชั้นสูงอื่นๆ มากกว่า 76% identity เมื่อศึกษาระดับการแสดงออกของยีนในส่วนต่างๆ ของต้นเปล้าน้อยด้วยวิธี Semiquantitative RT-PCR และหาปริมาณเปล้าโนทอลด้วยวิธี gas-chromatography ผลจากการทดลองพบว่า การแสดงออกของยีน *dxr* ไม่เปลี่ยนแปลงในใบตำแหน่งที่ 1 ถึง 5 นอกจากนี้ยังพบว่า มีปริมาณน้อยในยอด และไม่พบในลำต้นและราก ในขณะที่พบการสะสมสารเปลาโนทอลเฉพาะที่ใบ โดยพบปริมาณสูงสุดในใบตำแหน่งที่ 1 และ 2 แล้วจึงค่อยๆ ลดลงในใบตำแหน่งที่ 3-5 จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า CsDxr มีส่วนเกี่ยวข้องในกระบวนการชีวสังเคราะห์ของ isoprene unit ผ่านวิถีชีวสังเคราะห์แบบ DXP อย่างไรก็ตาม CsDxr ไม่ได้ทำหน้าที่เป็น rate-limiting enzyme ในวิถีชีวสังเคราะห์ของสารเปลาโนทอล

Abstract

1-Deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase (DXR; EC 1.1.1.267) is the second enzyme in the deoxyxylulose phosphate (DXP) pathway. It catalyzes the formation of 2C-methyl-D-erythritol 4-phosphate from 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate in the presence of NADPH and Mg^{2+} or Mn^{2+}. In this study, the *dxr* gene was cloned from cDNA of *Croton stellatopilosus* young leaves (designated as *CSdxr*) by homology based PCR and rapid amplification of cDNA ends (RACE) methods. The results showed that *CS-dxr* contained an open reading frame (ORF) of 1,404 nucleotides encoding a deduced peptide of 468 amino acid residues. Analyzed data of CSDXR indicated that, CSDXR carried the chloroplast transit peptide at the N-terminal (position 1-44), and contained a proline-rich region and NADPH binding motif. Alignment of CSDXR shared high homology with more than 76% amino acid identity to other known plant DXRs. Expression pattern analysis indicated that *CSdxr* strongly expressed in leaves, rarely in stems and roots. CSDXR was found to be associated with isoprenoid biosynthesis via the DXP pathway, however, did not exhibit as the rate-limiting step in plaunotol biosynthesis.