รายงานการวิจัย

อิทธิพลของเอนไซม์ 1,3- เบต้ากลูคาเนสต่อการต้านทานโรคของต้นยางพารา

Influence of 1,3-ß-glucanase on Disease Resistance of Rubber Trees (Hevea brasiliensis)

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผศ.ดร. นันทา เชิงเชาว์

งบประมาณประจำปี พ.ศ. 2537 และ 2538

บทคัดย่อ

เอนไซม์ 1,3-เบต้ากลูคาเนสจัดเป็น PR โปรตีน (pathogenesis-related protein) ซึ่งพืชสร้างขึ้นมาเพื่อต่อต้านการบุกรุกของเชื้อโรค โดยสามารถย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราในส่วนที่เป็น 1,3-เบต้ากลูแคน เอนไซม์ 1,3 เบต้ากลูคาเนสตรวจพบในบี-ซีรั่มของน้ำยางพาราพันธุ์ RRIM 600 สามารถทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโตกราฟฟี่แบบแลกเปลี่ยนประจุ (CM-cellulose) และแบบจำเพาะเจาะจง (Con A agarose) พบว่ามี 2 ไอโซไซม์ คือ GI และ GII จากการศึกษาสมบัติทางกายภาพพบว่าทั้งสองไอโซไซม์เป็นโปรตีนเชิงเดี่ยว มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 31.6 และ 34.7 กิโลดาลตันเมื่อศึกษาโดยวิธี SDS-PAGE และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 29.5 และ 31.1 กิโลดาลตันเมื่อศึกษาโดยวิธีเจลฟิลเตรชั่น เอนไซม์ทั้งสองเป็นโปรตีนชนิดเบสมีค่า pI มากกว่า 8.3 เสถียรต่อคุณหภูมิถึง 60^{0}C และมีค่าความว่องไวสูงสุดที่ pH 4.5 (GI) และ 5.0 (GII) จลนศาสตร์ของเอนไซม์เมื่อใช้ลามินารินเป็นสับสเตรต ความเข้มข้นเท่ากับ 0.2-1.4 มก./มล. พบว่า GI และ GII มีค่า Km เท่ากับ 1.25 มก./มล. และ 1.33 มก./มล. ตามลำดับ สำหรับค่า Vmax เท่ากับ 0.171 ไมโครโมล/นาที และ 0.159 ไมโครโมล/นาที ตามลำดับ ค่าความว่องไวรวมของเอนไซม์ 1,3-เบต้ากลูคาเนสในน้ำยางพันธุ์ GT1 มีมากกว่าพันธุ์ RRIM 600 ประมาณ 2-3 เท่า อิเทรลมีผลต่อการสร้างเอนไซม์ 1,3-เบต้ากลูคาเนสในน้ำยางทั้งสองพันธุ์ คือมีการสร้างเพิ่มขึ้นประมาณ 2.5 เท่าในน้ำยางพันธุ์ RRIM 600 และเพิ่มขึ้นประมาณ 3 เท่าในน้ำยางพันธุ์ GT1

Abstract

Plant 1,3-β-glucanases are pathogenesis-related proteins that are expressed in response to microbial invasion. 1,3-β-glucans which are important components of fungal cell wall could be digested by these enzymes. The enzymes were detected in the latex of rubber clone RRIM 600. Two isozymes of 1,3-β-glucanases , GI and GII, were purified from B-serum of rubber latex using ion-exchange (CM-cellulose) and affinity (ConA agarose) chromatography. The two isozymes, as determined by SDS-PAGE, are monomeric proteins of Mr ca 31600 and 34700. As determined by gel filtration, their molecular weights are ca 29500 and 33100, respectively. Both isozymes are basic proteins with pIs more than 8.3. They are relatively heat-stable and retain full activity up to 60°C. The pH optimum of two isozymes are 4.5 (GI) and 5.0 (GII). Kinetic analyses with laminarin as substrate indicate apparent Km values of 1.25 mg/ml. (GI) and 1.33 mg/ml (GII) and Vmax of 0.171 umole/min (GI) and 0.159 umole/min. (GII). The GT1 rubber clone contained two to three times the level of glucanase activity found in RRIM 600. Ethrel induced synthesis of glucanases about two and a half times in RRIM 600 and about three times in GT1.