

## บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RTA/4680001

ชื่อโครงการ: การศึกษาน้ำยางพาราในระดับโมเลกุลสำหรับไบโอเทคตักยภาพสูง

หัวหน้าโครงการวิจัย: รศ. ดร. รพีพรรณ วิตตสุวรรณกุล

E-mail address: rapepun.w@psu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 15 สิงหาคม 2546-14 สิงหาคม 2549 (ขยายถึง 14 กุมภาพันธ์ 2551)

โครงการวิจัย "การศึกษาน้ำยางพาราในระดับโมเลกุลสำหรับไบโอเทคตักยภาพสูง" ได้ค้นพบองค์ความรู้ใหม่มากมายเกี่ยวกับชีวเคมีของน้ำยางพารา ซึ่งความรู้บางองค์มีศักยภาพสูงสำหรับการพัฒนาต่อยอดทางไบโอเทค ดังนี้ 1) ได้ค้นพบโปรตีนที่ทำให้เกิดการแพ้ตัวใหม่จากยางพารา โดยโปรตีนดังกล่าวเป็นชนิดไม่ละลายน้ำและแฝงตัวอยู่กับเมมเบรน 2) ผลการศึกษาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการชีวสังเคราะห์ยาง ทำให้ได้ข้อมูลสนับสนุนข้อสันนิษฐานดั้งเดิมของ Southorn (1961) ว่าโมเลกุลยางน่าจะถูกสร้างขึ้นในร่างแหเมมเบรนที่เชื่อมอนุภาคยาง อนุภาคลูทอยด์ และ อนุภาค เฟรวิสลิง เข้าไว้ด้วยกัน โดยลำดับขั้นตอนการสร้างจะเริ่มจากอนุภาคเฟรวิสลิง แล้วนำมีการต่อสายพอลิเมอร์ยางให้ยาวขึ้นในช่วง early elongation โดยอนุภาคลูทอยด์ และ ช่วง late elongation โดยอนุภาคยาง ตามลำดับ โดยอาศัยเอนไซม์ rubber transferases ชนิดต่างๆที่เกาะอยู่กับเมมเบรนของอนุภาคต่างๆในร่างแหดังกล่าว และจากผลสำเร็จของการโคลนนิ่ง cDNA ของเอนไซม์ 2 ชนิดที่มีความจำเพาะต่ออนุภาคพลาสติก ซึ่งได้แก่ 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase และ solanesyl diphosphate synthase ทำให้สามารถยืนยันได้ว่าอนุภาคเฟรวิสลิง เป็นพลาสติก 3) ได้ค้นพบสารเบปไทด์ในน้ำยางที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแคนดิด้า และจากการวิเคราะห์พบว่า เป็นสารชนิดเดียวกับ hevein 4) ได้ค้นพบสารยับยั้งโปรติเอสในน้ำยาง โดยสารดังกล่าว สามารถทำลายฤทธิ์ของโปรติเอสที่หลั่งออกมาโดยเชื้อก่อโรคปริทันต์หรือเหิงอกอักเสบ สามารถฆ่าเชื้อไวรัสตับอักเสบนชนิด B และสามารถเสริมฤทธิ์การทำงานของสารฆ่าเชื้อแคนดิด้าจำพวกเบปไทด์หรือโปรตีน พร้อมทั้งสามารถคิดค้นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพสำหรับการเตรียมสารยับยั้งโปรติเอสในปริมาณสูงจากน้ำยาง

คำหลัก: *Hevea brasiliensis*, latex allergen, rubber biosynthesis, protease inhibitor, anti-candida, anti-HBV, 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase , solanesyl diphosphate synthase

## Abstract

Project Code: RTA/4680001

Project Title: Molecular Study of Natural Rubber Latex for High Potential Biotech Application

Principal Investigator: Assoc. Prof. Dr. Rapepun Wititsuwannakul

E-mail address: rapepun.w@psu.ac.th

Project Period: 15 August 2000-14 August 2003 (extended to 14 February 2005)

Several new findings were revealed under the project entitled "Molecular Study of Natural Rubber Latex for High Potential Biotech Application", some with high potential application in biotechnology as follows: 1) A new latex allergen was identified as a membrane-bound hydrophobic protein 2) The results obtained from rubber polymerizing enzyme study give supportive evidence to the former proposal concerning the thread-like tubular reticulum as a site of rubber biosynthesis (RB) (Southorn, 1961). Inside the latex vessel, this thread-like tubular reticulum serves to connect rubber particle to single-(lutoid) and double-(Frey-Wyssling, FW) membrane bound organelles/particles. RB initiation step was suggested to take place in FW. This is followed by the early and late elongation steps in lutoid and rubber particles, respectively. The FW was confirmed to be plastid by successful isolations of cDNA clones encoding plastidic enzymes, 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase and solanesyl diphosphate synthase, from the *Hevea* latex. 3) A peptide in rubber latex B-serum was shown to possess anti-candida activity and confirmed to be hevein. 4) A *Hevea* protease inhibitor (HPI) was identified and characterized from rubber latex. It was able to inhibit extracellular proteases (gingipains) of causative bacteria in periodontal disease. The HPI was shown to possess anti-HBV activity and increase the efficacy of anti-candida peptide/protein. Moreover, a procedure for effective large-scale extraction and purification of HPI from fresh rubber latex was established.

Keywords: *Hevea brasiliensis*, latex allergen, rubber biosynthesis, protease inhibitor, anti-candida, anti-HBV, 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate reductoisomerase, solanesyl diphosphate synthase