# การปรับปรุงวิถีการสังเคราะห์แป้งในข้าวเพื่อเพิ่มน้ำหนักเมล็ดและผลผลิต

# Metabolic engineering of starch biosynthesis in rice for increased seed weight and productivity

**ช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์ วราภรณ์ แสงทอง แสงทอง พงษ์เจริญกิต และ นลินี รุ่งเรืองศรี**

Chotipa Sakulsingharoj, Varaporn Sangtong, Saengtong Pongjaroenkit and Nalinee Roongruangsree

สาขาวิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

## บทคัดย่อ

เอนไซม์เอดีพีกลูโคสไพโรฟอสฟอริเลส (ADP-glucose pyrophosphorylase; AGPase) เป็นเอนไซม์หลักที่ควบคุมการสังเคราะห์แป้งในเมล็ดข้าว ดังนั้น ถ้ากิจกรรมของเอนไซม์ AGPase เพิ่มขึ้น ก็อาจจะส่งผลให้เพิ่มแป้งและน้ำหนักเมล็ดได้ ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาวิเคราะห์ข้าวดัดแปลงพันธุกรรมพันธุ์ Sasanishiki ซึ่งได้รับการถ่ายยีน *glgC*-TM ที่มีรหัสสร้างเอนไซม์ AGPase กลายพันธุ์ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์สูง โดยให้ยีนมีการแสดงออกอย่างจำเพาะในเมล็ดข้าว เมื่อวิเคราะห์ยีน *glgC*-TM ในข้าวโดยเทคนิค Southern blot พบว่า มียีน *glgC*-TM แทรกอยู่ในจีโนมของต้นข้าวดัดแปลงพันธุกรรม การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนโดยเทคนิค RT-PCR และ Western blot พบว่า มีการแสดงออกของยีน *glgC*-TM ในระดับ mRNA และโปรตีนในเมล็ดข้าวดัดแปลงพันธุกรรม นอกจากนี้ ยีน *glgC*-TM มีการถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูก โดยมีอัตราส่วนการกระจายตัวของยีนเป็น 3:1 ซึ่งเป็นไปตามกฎของเมนเดล และการถ่ายทอดยีนไปสู่รุ่นลูกเป็นไปอย่างเสถียร การเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของต้นข้าวดัดแปลงพันธุกรรมกับต้นข้าวปกติ พบว่ามีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน ข้าวดัดแปลงพันธุกรรมบางต้นมีน้ำหนักเมล็ดมากกว่าต้นข้าวปกติ และมีกิจกรรมเอนไซม์ AGPase ในเมล็ดข้าวสูงกว่าต้นข้าวปกติ 1.3 เท่า และมีต้นข้าวดัดแปลง

พันธุกรรมที่มีปริมาณแป้งสูงกว่าต้นข้าวปกติ งานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่าสามารถถ่ายยีน *glgC*-TM จากแบคทีเรียเข้าสู่ข้าว และยีนมีการแสดงออกในเมล็ดข้าว ทำให้เพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ AGPase ในเมล็ด ส่งผลให้มีการเพิ่มการสังเคราะห์แป้งในเมล็ด และเพิ่มน้ำหนักเมล็ด ดังนั้น การใช้เทคนิคการปรับปรุงวิถีการสังเคราะห์แป้งอาจเป็นวิธีหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีผลผลิตสูงขึ้นได้ในอนาคต

**คำสำคัญ**: ข้าวดัดแปลงพันธุกรรม ยีน *glgC*-TM เอนไซม์เอดีพีกลูโคสไพโรฟอสฟอริเลส การวิเคราะห์การแสดงออกของยีน น้ำหนักเมล็ด

## Abstract

ADP-glucose pyrophosphorylase (AGPase) controls a rate-limiting step in starch biosynthesis in rice seeds. Increasing AGPase activity may result in increased starch biosynthesis and seed weight. In this study, analyses of transgenic rice cv. Sasanishiki transformed with bacterial *glgC*-TM gene encoding mutant AGPase with high activity and specifically expressing in rice endosperm. Southern blot analysis showed that the *glgC*-TM gene was stably integrated into genome of transgenic rice plants. Analyses of these plants using RT-PCR and Western blot revealed the expression of *glgC*-TM gene at mRNA and protein levels in rice seeds. In addition, segregation analysis indicated that *glgC*-TM gene was transmitted into progeny following Mendelian fashion with the ratio of 3:1. Stable inheritance of *glgC*-TM gene was also found in subsequent generations. Comparison on phenotypes of transgenic and untransformed plants showed no significant difference among them. However, some transgenic plants had higher seed weight than untransformed plants. Some plants also had higher AGPase activity than wild-type plants upto 1.3 fold. Furthermore, some plants showed higher total starch content than control plants. Overall, the results from this study demonstrated that bacterial *glgC*-TM gene could be transformed and expressed into

rice. Expression of this gene resulted in an increase in AGPase activity, total starch content and seed weight. Thus, metabolic engineering of starch biosynthesis may be one of the important techniques to be used in rice improvement for increased productivity in the future.

**Keywords:** transgenic rice, *glgC*-TM gene, ADP-glucose pyrophosphorylase, analyses of gene expression, seed weight