

**ANALYSIS OF DIFFERENTIAL PROTEIN EXPRESSION
DURING STORAGE ROOT FORMATION IN CASSAVA**



**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(BIOTECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2008

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

ANALYSIS OF DIFFERENTIAL PROTEIN EXPRESSION DURING STORAGE ROOT FORMATION IN CASSAVA

MALIWAN NACONSIE 4837124 SCBT/M

M.Sc. (BIOTECHNOLOGY)

THESIS ADVISORS: JARUNYA NARANGAJAVANA, D.Agr.Sc.,
SUPATCHAREE NETRPHAN, Ph.D., UNCHERA VIBOONJUN, Ph.D.**ABSTRACT**

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is one of the most important crops of Thailand. Its roots are used as food, feed, and starch production. However, industrial applications of the native cassava starch are still limited. To efficiently improve the quality and yield of cassava starch, a better understanding of the proteins whose function is related to starch biosynthesis and/or root development in cassava is required. The objectives of this project were to perform an anatomical analysis of the cassava root, and to compare expression profiles of cassava root proteome at various developmental stages using two-dimensional gel electrophoresis and LC-MS/MS. Cassava cultivar Kasetsart 50 planted in the wet season were used in this study. Based on an anatomical study using Toluidine Blue, it was found that secondary growth was essential during the development of cassava storage root. To identify proteins involved in storage root formation, expression profiles in young fibrous and developed fibrous roots were compared. Actin, adenosine kinase and fructokinase, found only in young fibrous roots, were hypothesized to act as the effectors of signaling cascade during the induction of storage root formation. On the other hand, oxygen-evolving enhancer protein1, enolase and ascorbate peroxidase highly expressed in developed fibrous root, were proposed as potentially involved in stress response rather than in the starch storing process. To further investigate biochemical processes occurring during the development of cassava storage roots, starch granule bound (GB) proteins were isolated from storage root harvested from 3-, 6-, 9-, and 12-month old cassava plants. The GB proteins with differential expression pattern were found to be associated with 10 functional groups: cellular metabolism (15%), energy metabolism (15%), protein folding and stabilization (15%), protein synthesis and degradation (6%), respiratory metabolism (5%), stress response (4%), starch synthesis (3%), cytoskeleton (3%), transport facilitation (2%), and unknown function (4%). Additionally, the identified proteins were separated into 4 groups depending on their expression profile. Based on expression tendency related to developmental process, possible roles in storage root development of some identified proteins have been proposed.

**KEY WORDS: CASSAVA/ STORAGE ROOT FORMATION/ PROTEOME/
TWO-DIMENSIONAL GEL ELECTROPHORESIS**

176 pp.

การศึกษาความแตกต่างการแสดงออกของโปรตีนในระหว่างการสร้างหัวมันสำปะหลัง
(ANALYSIS OF DIFFERENTIAL PROTEIN EXPRESSION DURING STORAGE ROOT
FORMATION IN CASSAVA)

มลิวัลย์ นครศรี 4837124 SCBT/M

วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : จริญญา ฌรงกะชานะ, D.Agr.Sc., สุพัชรี เนตรพันธ์, Ph.D.,
อัญชรา วิบูลย์จันทร์, Ph.D.

บทคัดย่อ

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย ปัจจุบันนี้แม้แป้งมันสำปะหลังจะถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายชนิด แต่จากการที่แป้งมันสำปะหลังมีขนาดและโครงสร้างเม็ดแป้งแบบจำเพาะ ทำให้การใช้ประโยชน์จากแป้งมันสำปะหลังยังถูกจำกัดในอุตสาหกรรมบางประเภท การพัฒนาเพื่อให้ได้แป้งมันสำปะหลังที่มีคุณสมบัติตามต้องการ จำเป็นต้องอาศัยความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์แป้งและการสร้างรากสะสมของมันสำปะหลังมาเป็นส่วนประกอบ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงนำการศึกษาในระดับโปรตีนมาประยุกต์ใช้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะบ่งชี้ถึงโปรตีนที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์แป้ง และ/หรือเกี่ยวข้องกับกระบวนการพัฒนาของรากสะสมในมันสำปะหลัง งานวิจัยนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาในระดับกายวิภาคศาสตร์ของรากชนิดต่างๆของมันสำปะหลัง และทำการเปรียบเทียบรูปแบบการแสดงออกของโปรตีนในรากฝอยและรากสะสมของมันสำปะหลังที่อายุแตกต่างกัน โดยใช้เทคนิค Two-dimensional gel electrophoresis และ LC-MS/MS จากการศึกษาทางด้านกายวิภาคศาสตร์ของรากฝอยและรากสะสมของมันสำปะหลังสายพันธุ์ เกษตรศาสตร์ 50 ที่ปลูกในฤดูฝนโดยการย้อมด้วย Toluidine Blue พบว่า รากสะสมของมันสำปะหลังมีการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อรากแบบทุติยภูมิ จากการเปรียบเทียบการแสดงออกของโปรตีนระหว่าง รากฝอยอ่อนจากรากอายุ 3 เดือน กับรากฝอยที่พัฒนาแล้วในพืชอายุ 9 เดือน พบว่า โปรตีนที่พบเฉพาะในรากฝอยอ่อน คือ actin, adenosine kinase และ fructokinase อาจมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับสัญญาณในการเกิดรากสะสม ส่วนโปรตีน oxygen-evolving enhancer protein1, enolase และ ascorbate peroxidase ที่พบมากในรากฝอยที่พัฒนาแล้ว มีแนวโน้มจะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อความเครียดมากกว่าการสะสมแป้งในราก นอกจากนี้ยังได้ทำการเปรียบเทียบการแสดงออกของโปรตีนที่เกาะอยู่กับเม็ดแป้ง ในรากสะสมที่อายุ 3-, 6-, 9-, และ 12-เดือน พบว่า โปรตีนที่มีการแสดงออกแตกต่างกันนั้นสามารถจัดออกเป็น 10 กลุ่มตามลักษณะบทบาทและหน้าที่ ได้แก่ cellular metabolism (15%), energy metabolism (15%), protein folding and stabilization (15%), protein synthesis and degradation (6%), respiratory metabolism (5%), stress response (4%), starch synthesis (3%), cytoskeleton (3%), transport facilitation (2%), และ unknown function (4%) ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้มีการวิเคราะห์หน้าที่ของโปรตีนบางชนิดที่อาจจะมีความสำคัญเกี่ยวข้องในกระบวนการพัฒนาของรากสะสมของมันสำปะหลัง

176 หน้า