บทความวิชาการ

UPD-ไกลโคซิลทรานสเฟอร์เรส แฟมิลี่ที่ 1: ความหลากหลายของหน้าที่ในพืช

ศุภอรรจ ศิริกันทรมาศ*

บทคัดย่อ

ไกลโคซิลทรานสเฟอร์เรส (glycosyltransferases, GTs) เป็นเอนไซม์ที่พบได้ทั่วไปในสิ่งมีชีวิต ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่น้ำตาล GTs ถูกแบ่งออกเป็น 94 แฟมิลี่ ในอาณาจักรพืชพบว่า แฟมิลี่ที่ 1 (GT1) หรือที่เรียกว่า UDP-glycosyltransferase (UGT) เป็นแฟมิลี่ที่ใหญ่ที่สุด UGT ทำหน้าที่ย้ายหมู่น้ำตาลจาก UDP-sugar ไปยังโมเลกุลตัวรับต่างๆ เช่น ฮอร์โมน (hormone) สารกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) ซาโปนิน (saponin) และสารแปลกปลอม (xenobiotic) ทำให้สารเหล่านี้มีความเสถียรมากขึ้น เพิ่มสมบัติการละลายน้ำหรือลดความเป็นพิษลง ในบทความนี้จะกล่าวถึงการศึกษาคุณลักษณะของ UGT ในพืช และความหลากหลายของหน้าที่ของ UGT ที่มีความสำคัญต่อขบวนการต่างๆ ในพืช นอกจากนี้ จะกล่าวถึงการนำความรู้ที่ได้มาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ เพื่อให้การศึกษาคุณลักษณะของ UGT ที่ยังไม่ได้ถูกระบุหน้าที่ในพืชได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น

คำสำคัญ: พืช ไกลโคซิลทรานสเฟอร์เรส ความหลากหลายของหน้าที่ และ UGT

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail:supaart.s@chula.ac.th

UPD-Glycosyltransferases Family 1 : Functional Diversity in Plants

Supaart Sirikantaramas*

ABSTRACT

Glycosyltransferases (GTs) is an enzyme found in many living organisms. They catalyze the transfer of sugar moiety and can be divided into 94 families. In the plant kingdom, family 1 GT (GT1), so called UDP-glycosyltransferases (UGTs) is the largest family. These UGTs transfer a glycosyl moiety from UDP-sugars to a wide range of acceptor molecules such as hormones, phenylpropanoids, saponins, and xenobiotics. As a result, these molecules increase their stability and water solubility, or decrease their toxicity. In this review article, the characterization and functional diversity of UGTs involved in several important mechanisms are discussed. In addition, several potential applications are discussed to call attention to the characterization of unidentified plant UGTs.

Keywords: plant, glycosyltransferase, functional diversity, UGT

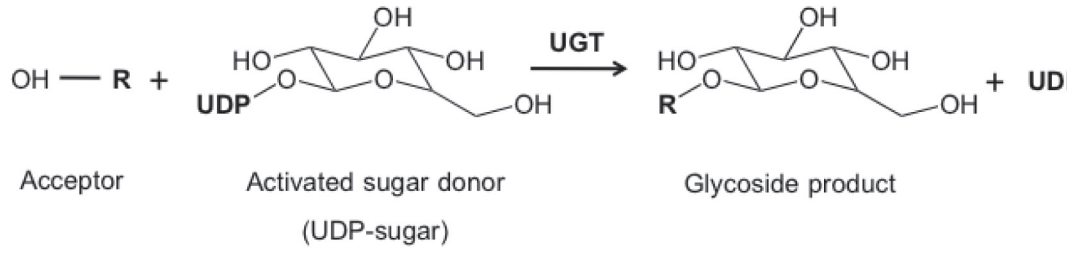
Department of Biochemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University

*Corresponding author, e-mail: supaart.s@chula.ac.th

บทนำ

Glycosyltransferases (EC 2.4.x.y) เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในสิ่งมีชีวิต พบได้ในไวรัส อาร์เคีย โพรแคริโอต และยูแคริโอต ทำหน้าที่ย้ายหมู่น้ำตาลจากโมเลกุลตัวให้กัมมันต์ (activated donor molecule) ไปยังโมเลกุลตัวรับ (acceptor molecule) เช่น น้ำตาล ไขมัน โปรตีน กรดนิวคลีอิก รวมทั้งสารโมเลกุลขนาดเล็กต่างๆ โดยการสร้างพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ระหว่างหมู่น้ำตาลกับโมเลกุลตัวรับ ยีนที่แปลรหัสเป็น GTs จัดอยู่ใน multigene families ได้มีการคาดคะเนจำนวนของยีน GTs ในสิ่งมีชีวิตอยู่ที่ประมาณ 1-2% ของยีนทั้งหมด [1] ด้วยจำนวนที่มากมายของ GTs นี้เอง จึงได้มีการจัดจำแนกชนิดของ GTs โดยอาศัยความคล้ายของลำดับกรดอะมิโน โครงสร้างสามมิติ และชนิดของโมเลกุลตัวให้หมู่น้ำตาล เช่น nucleotide diphospho-sugar, nucleotide monophospho-sugars nucleotide monophospho-sugars และ sugar phosphate [2, 3] ปัจจุบัน (ตุลาคม 2555) ได้มีการจัดแบ่ง GTs ออกเป็น 94 แฟมิลี่ (GT1-GT94) ซึ่งได้ถูกรวบรวมไว้ในฐานข้อมูล CAZy (http://www.cazy.org/GlycosylTransferases.html) โดยฐานข้อมูลนี้จะมีการปรับข้อมูลให้ทันสมัยอยู่เสมอ สำหรับพืชพบ GTs ได้ 45 แฟมิลี่ ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ เช่น การสร้างผนังเซลล์ และการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เป็นต้น บทความนี้จะให้ความสำคัญกับ GT1 ในพืช ซึ่งเป็นแฟมิลี่ที่มีจำนวนสมาชิกมากที่สุด โดยจะกล่าวถึงหน้าที่ต่างๆ ของ GT ที่อยู่ในแฟมิลี่นี้

GT1 หรือ UDP-glycosyltransferase (UGT) เร่งปฏิกิริยาการย้ายหมู่น้ำตาลจาก UDP-sugar ไปยังโมเลกุลตัวรับหลากหลายชนิด (รูปที่ 1) UGT มีโดเมนที่เรียกว่า UDPGT ซึ่งเป็นโดเมนสำคัญทำหน้าที่จับกับ UDP ของ UDP-sugar โมเลกุลตัวรับที่ถูกเติมหมู่น้ำตาลจะมีความเสถียรมากขึ้น ละลายน้ำได้มากขึ้น หรือลดความเป็นพิษลง พืชใช้ GTs ในการเพิ่มความเสถียรและความสามารถในการละลายน้ำของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ซึ่งสารนี้มักจะมีความเป็นพิษสูง การเติมหมู่น้ำตาลจะช่วยลดความเป็นพิษลงได้ โดยสารเหล่านี้จะถูกขนส่งไปเก็บสะสมไว้ในออร์แกเนลที่เหมาะสมต่อไป นอกจากนี้ UGT ยังมีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการลดความเป็นพิษของสารแปลกปลอม (xenobiotic) อีกด้วย การเติมหมู่น้ำตาลนี้มีความสำคัญอย่างมากต่อขบวนการชีวสังเคราะห์ (biosynthetic pathway) การสะสมและการขนส่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งรวมทั้งฮอร์โมน (hormone) สารกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) และซาโปนิน (saponin) เนื่องจากความหลากหลายของหน้าที่ของ UGT ในพืช ดังนั้นการศึกษาเพื่อระบุหน้าที่ต่างๆ ของ UGT จึงได้รับความสนใจ ได้มีการประมาณจำนวนยีนของ UGT ใน Arabidopsis ไว้ 120 ยีน [4] และในข้าวไว้ถึง 215 ยีน [5] จำนวนที่มากมายนี้เมื่อเทียบกับจำนวนของ UGT ในมนุษย์ สามารถสันนิษฐานได้ว่าเกิดจากการวิวัฒนาการแบบไดเวอร์เจนท์ (divergent evolution) โดยเริ่มตั้งแต่สาหร่าย (algae) จนถึงพืชที่มีระบบลำเลียง (vascular plant) [6] เพื่อช่วยให้พืชสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ จึงสามารถสรุปได้ว่า UGT มีความสำคัญต่อพืชเป็นอย่างมาก ในขณะเดียวกัน ความซ้ำซ้อนในหน้าที่ (functional redundancy) จากขบวนการวิวัฒนาการ ทำให้เป็นอุปสรรคต่อการระบุหน้าที่ของ UGT

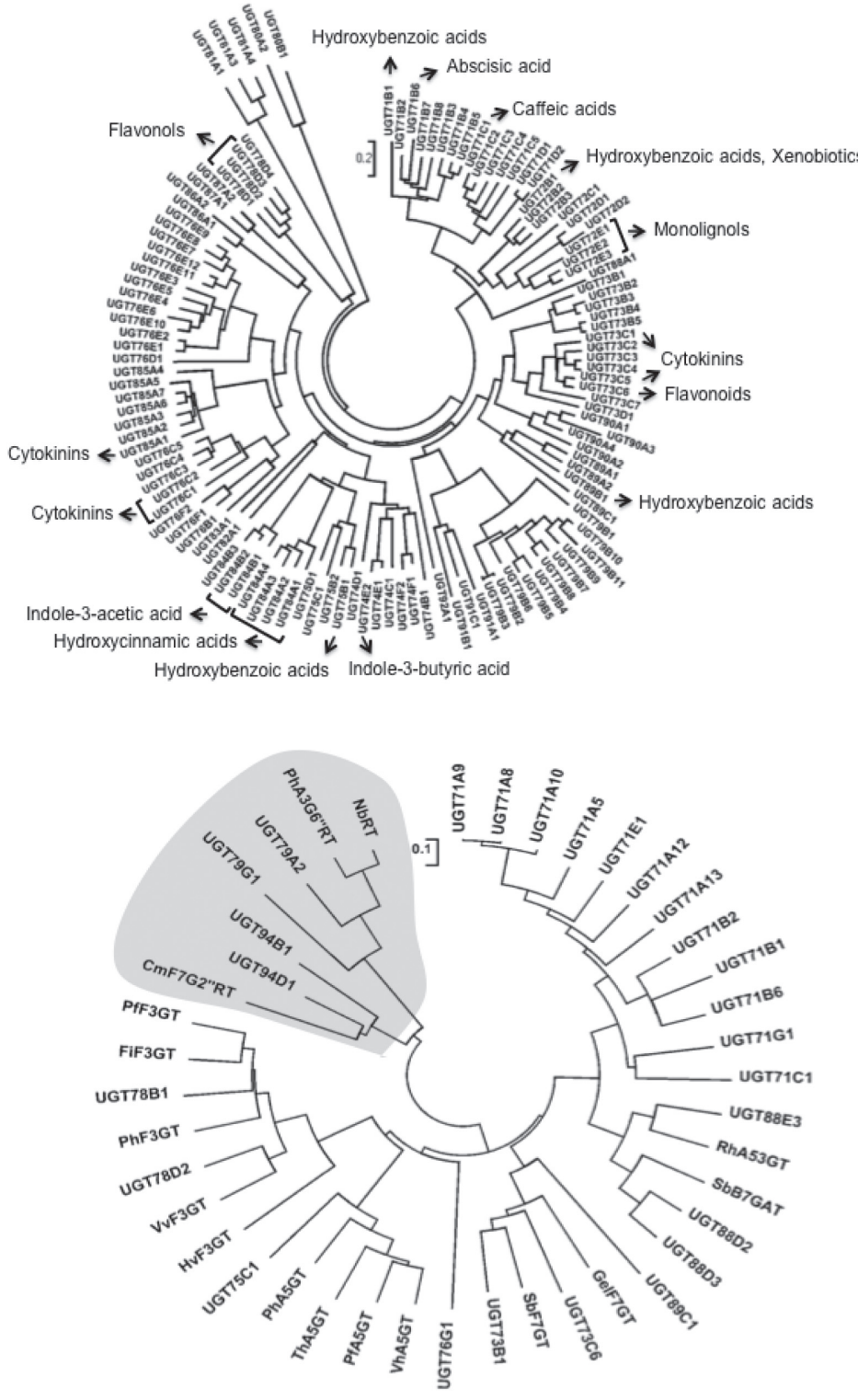


รูปที่ 1 การเร่งปฏิกิริยาของ UGT โดยการย้ายหมู่น้ำตาลจาก UDP-sugar ไปยังโมเลกุลตัวรับเกิดเป็นผลิตภัณฑ์ไกลโคไซด์

ด้วยจำนวนที่มากมายของ UGT ทำให้มีผู้พัฒนาระบบการเรียกชื่อของ UGT ในสิ่งมีชีวิต โดย UGT Nomenclature Committee [7, 8] ได้กำหนดหลักเกณฑ์การเรียกชื่อดังต่อไปนี้ ให้ใช้อักษรย่อ UGT ตามด้วยตัวเลขที่บ่งบอกถึงแฟมิลี่ ต่อด้วยแฟมิลี่ย่อย (subfamily) ที่เป็นตัวอักษรโรมัน และลงท้ายด้วยตัวเลขที่บอกถึง individual gene ในแต่ละกลุ่ม โดยแฟมิลี่ 1-50 ใช้สำหรับสัตว์ แฟมิลี่ 51-70 สำหรับยีสต์ แฟมิลี่ 71-100 สำหรับพืช และแฟมิลี่ 101-200 สำหรับแบคทีเรีย ตัวอย่างเช่น *UGT89A2* หมายถึง UGT ที่อยู่ในแฟมิลี่ 89 แฟมิลี่ย่อย A และเป็นยีนที่ 2 ของ UGT กลุ่มนี้ที่ได้มีการค้นพบ โดย UGT ที่อยู่ในแฟมิลี่เดียวกันจะมีความเหมือนของลำดับกรดอะมิโนมากกว่า 40% และถ้าอยู่ในแฟมิลี่ย่อยเดียวกันจะมีความเหมือนของลำดับกรดอะมิโนมากกว่า 60%

วิธีการศึกษาเพื่อระบุหน้าที่ของ UGT

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic analysis) ของ UGT ใน Arabidopsis พบว่าความจำเพาะต่อซับสเตรตไม่ได้มีความสัมพันธ์กับแฟมิลี่ที่ถูกจัดจำแนก (รูปที่ 2 ก) UGT บางตัวในแฟมิลี่ 73, 76 และ 85 ต่างก็สามารถย้ายหมู่น้ำตาลให้กับฮอร์โมนไซโตไคนิน (cytokinin) ได้เช่นเดียวกันกับ UGT บางตัวในแฟมิลี่ 71, 72, 75 และ 89 ที่สามารถเติมหมู่น้ำตาลให้กับ hydroxybenzoic acid ได้ ดังนั้น การวิเคราะห์หน้าที่ของ UGT โดยการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการจึงไม่สามารถบอกความจำเพาะต่อซับสเตรตและหน้าที่ของ UGT ได้ อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการนี้สามารถใช้ทำนายหน้าที่ของ UGT ที่ทำหน้าที่ย้ายหมู่น้ำตาลจาก UDP-sugar ไปยังหมู่น้ำตาลของโมเลกุลตัวรับไกลโคไซด์ (glycoside acceptor) เกิดเป็นสารที่มีหมู่น้ำตาล 2 หมู่ต่อกัน (diglycoside) ได้ เนื่องจากผลการวิเคราะห์พบว่า UGT กลุ่มนี้สามารถจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันได้ (รูปที่ 2 ข) ดังนั้นการระบุหน้าที่ของ UGT ต้องอาศัยวิธีอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น การศึกษาคุณลักษณะของรีคอมบิแนนท์โปรตีนว่ามีความจำเพาะต่อซับสเตรตประเภทใด การศึกษาคุณลักษณะโดยการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเมแทบอไลต์ในพืชกลายพันธุ์ (mutant) ที่มีการแสดงออกของ UGT นั้นๆ มากกว่าปกติ (overexpression) หรือการลดการแสดงออก (knockdown) หรือไม่มีการแสดงออก (knockout) เมื่อไม่นานมานี้ มีรายงานว่าการวิเคราะห์การแสดงออกร่วมของยีนต่างๆ (gene co-expression analysis) ในวิถีชีวสังเคราะห์สามารถนำมาช่วยในการระบุยีน UGT ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารนั้นๆ ได้ [9] ซึ่งวิธีการที่ใช้ในการระบุซับสเตรตของ UGT จะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไป



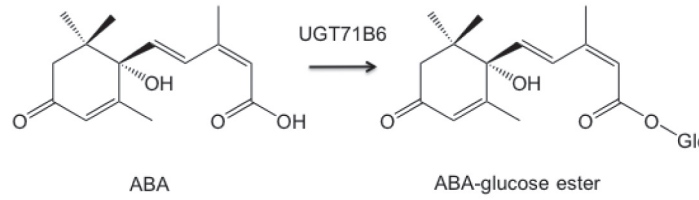
รูปที่ 2 แผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของ UGT ก. UGT ของ Arabidopsis โดยซับสเตรตของ UGT ที่ได้รับการศึกษาหน้าที่แล้ว ถูกระบุอยู่ด้านข้างของ UGT นั้นๆ ข. กลุ่มของ UGT จากพืชต่างๆ (พื้นที่สีเทา) ที่สามารถเติมหมู่น้ำตาลตัวที่สองให้กับหมู่น้ำตาลของไกลโคไซด์

UGT กับฮอร์โมนพืช

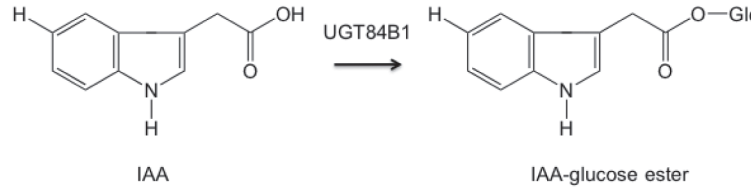
ในพืช กรดแอบส์ไซสิก (abscisic acid, ABA) ออกซิน (auxin) และไซโตไคนิน เป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต นอกจากนี้ ABA และออกซิน ยังเกี่ยวข้องในการตอบสนองต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ฮอร์โมนเหล่านี้ในรูปที่ต่อกับน้ำตาลกลูโคส (glucosylated form) พบได้ในพืชทั่วไป แต่หน้าที่ยังไม่เป็นที่แน่ชัด เนื่องจากว่า glucosylated form เหล่านี้เป็นรูปที่ไม่สามารถทำงานได้ จึงอาจสันนิษฐานได้ว่ามีความเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุล (homeostasis) ของฮอร์โมน เอนไซม์ที่ย้ายกลูโคสมาต่อกับ ABA (ABA-glucosyltransferase) พบได้ในพืชหลายชนิด Xu และคณะ [10] ได้ศึกษายีนนี้ในถั่ว adzuki (*Vigna angularis*) และพบว่าแอกทิวิตีของรีคอมบิแนนท์เอนไซม์มีความจำเพาะต่อ ABA สูง อีกทั้งยีนนี้ยังถูกควบคุมการแสดงออกในสภาวะเครียดจากการขาดน้ำและการเกิดแผล (wounding) ด้วย UGT71B6 เป็นเอนไซม์ใน Arabidopsis ที่เกี่ยวข้องในการย้ายหมู่น้ำตาลไปยัง ABA (รูปที่ 3) [11] การแสดงออกยีนนี้ที่มากกว่าปกติ ทำให้เพิ่มการสะสมของ glucosylated form ของ ABA และลดปริมาณเมแทบอไลต์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของ ABA แต่ไม่ได้ส่งผลต่อปริมาณ ABA มากนัก นอกจากนี้ ยังส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของพืชในระยะหลังจากการงอกอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม Arabidopsis ที่ไม่มีการแสดงออกของ UGT71B6 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของเมแทบอไลต์ที่เกี่ยวข้องกับ ABA แสดงให้เห็นว่า Arabidopsis อาจมี UGT อื่นๆ ที่ทำหน้าที่ได้เหมือนกับ UGT71B6 ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความซ้ำซ้อนในหน้าที่ของ UGT [12]

UGT74E2 เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย้ายหมู่น้ำตาลไปยังฮอร์โมนออกซินชนิด indole-3-butyric acid (IBA) ใน Arabdopsis ระดับการแสดงออกของยีน *UGT74E2* ถูกเหนี่ยวนำให้สูงขึ้นเมื่อมีระดับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สูงขึ้น โดย Arabidopsis ที่ถูกเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของยีนนี้มากขึ้นจะสามารถทนต่อความเครียดจากความแห้งแล้ง (drought) และเกลือ (salt) ได้มากกว่าปกติด้วย [13] แสดงให้เห็นความสำคัญของ UGT ในการตอบสนองต่อความเครียด ในขณะที่ UGT84B1 เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย้ายหมู่น้ำตาลไปยังฮอร์โมนออกซินชนิด indole-3-acetic acid (IAA) (รูปที่ 4) [14]

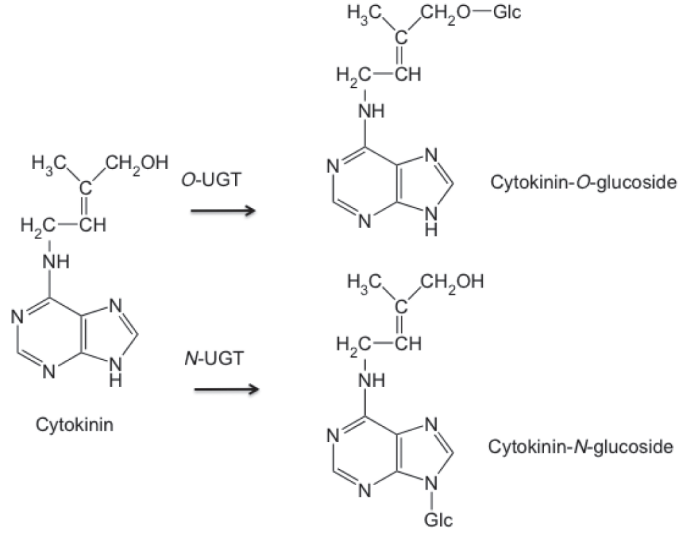
ใน Arabidopsis ไซโตไคนินถูกเติมหมู่กลูโคสได้โดย UGT หลายชนิด รวมทั้ง UGT73C1, UGT73C5, UGT76C1, UGT76C2, UGT85A1 ซึ่งแต่ละ UGT จะเติมหมู่กลูโคสที่ไนโตรเจน (*N*-glucoside) หรือออกซิเจน (*O*-glucoside) ของไซโตไคนินได้แตกต่างกันออกไป (รูปที่ 5) [15] แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายและความซ้ำซ้อนของ UGT ในพืช เช่นเดียวกัน UGT ที่ทำหน้าที่เหมือนกันนี้ได้ถูกพบในพืชอื่นๆ เช่น ข้าวโพด (*Zea mays*) [16] และ *Phaseolus vulgaris* [17] เป็นต้น เป็นที่น่าสังเกตว่าจากการศึกษาของ Martin และคณะ พบว่า UGT ที่พบใน *P. vulgaris* ทำหน้าที่ย้ายน้ำตาลไซโลส (xylose) จาก UDP-xylose ไปยังออกซิเจนอะตอมของไซโตไคนิน [17] แสดงให้เห็นถึงวิวัฒนาการแบบไดเวอร์เจนท์ที่ทำให้มีความแตกต่างกันของชนิดน้ำตาลในอาณาจักรพืช



รูปที่ 3 เอนไซม์ UGT71B6 เร่งปฏิกิริยาการเติมกลูโคสให้กับกรดแอบส์ไซสิก (ABA) ใน Arabidopsis



รูปที่ 4 เอนไซม์ UGT84B1 เร่งปฏิกิริยาการเติมกลูโคสให้กับออกซิน indole-3-acetic acid (IAA) ใน Arabidopsis

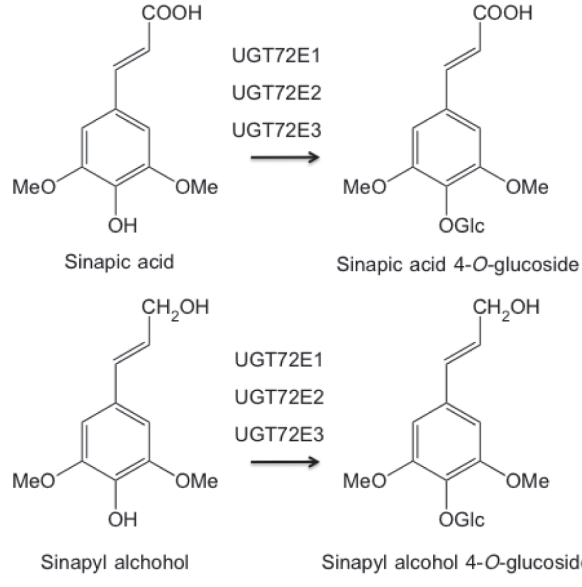


รูปที่ 5 เอนไซม์ UGT ที่เร่งปฏิกิริยาการเติมกลูโคส โดยสร้างพันธะระหว่างกลูโคสกับอะตอมของออกซิเจนหรือไนโตรเจนในโมเลกุลของไซโตไคนิน

UGT กับฟีนิลโพรพานอยด์

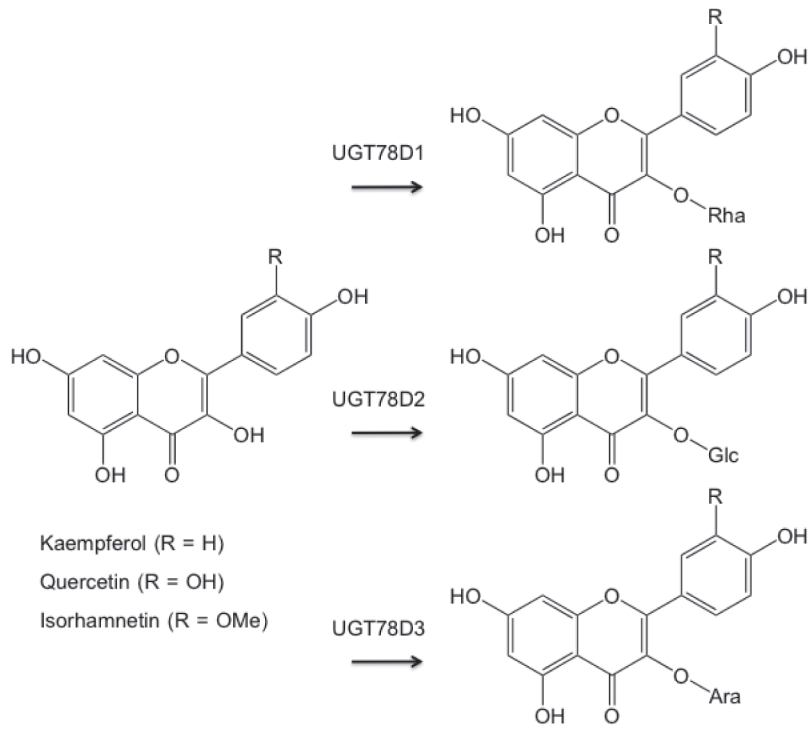
วิถีฟีนิลโพรพานอยด์ในพืชเป็นวิถีที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) หรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) หลายชนิด ซึ่งรวมทั้งกรดไฮดรอกซีซินนามิค (hydroxycinnamic acid) สารกลุ่มโมโนลิกนอล (monolignol) ที่เป็นสารตั้งต้นของการสร้างผนังเซลล์ และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ที่มีฤทธิ์ต่างๆ เช่น ป้องกันอันตรายจากแสง UV ต้านการเกิดออกซิเดชัน และเกี่ยวข้องกับความเครียดจากสิ่งแวดล้อม เป็นต้น สารกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์นี้มักจะสะสมในรูปของไกลโคไซด์ ดังนั้นการศึกษา UGT ที่เกี่ยวข้องกับสารกลุ่มนี้จึงมีความสำคัญมาก ดังจะเห็นได้จากจำนวนผลงานตีพิมพ์ที่มีมากมาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เกี่ยวกับ UGT จำนวนมากใน Arabidopsis ที่มีการศึกษาและระบุหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับสารกลุ่มนี้

จากการศึกษาในหลอดทดลอง พบว่า UGT72E1, UGT72E2 และ UGT72E3 ทำหน้าที่ย้ายหมู่น้ำตาลไปยังซับสเตรตหลายตัวในกลุ่มฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น โมโนลิกนอล กรดไฮดรอกซีซินนามิค และไฮดรอกซีซินนามิคอัลดีไฮด์ [18-20] เมื่อศึกษาเพิ่มเติมใน Arabiodopsis ดัดแปลงพันธุกรรมที่มีการปรับเปลี่ยนระดับการแสดงออกของยีนเหล่านี้ พบว่าการลดระดับการแสดงออกของ *UGT72E2* ทำให้ปริมาณของสารบางตัวในกลุ่มโมโนลิกนอล เช่น กรดซินาปิก (sinapic acid) และซินาปิลแอลกอฮอล์ (sinapyl alcohol) ลดลงประมาณ 50% (รูปที่ 6) นอกจากนี้การลดระดับการแสดงออกของยีนทั้งสามส่งผลให้ปริมาณสารในกลุ่มนี้ลดลงถึง 90% ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงความซ้ำซ้อนในหน้าที่ของ UGT เหล่านี้อย่างชัดเจน [21] Wang และคณะ [22] ได้ทดลองถ่ายยีน UGT จากต้น poplar เข้าสู่ต้นยาสูบ โดยให้มีระดับการแสดงออกมากกว่าปกติ พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณลิกนิน (lignin) ได้และเร่งให้ยาสูบออกดอกได้เร็วขึ้น การทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการปรับปรุงปริมาณลิกนินและการควบคุมการออกดอกของพืชได้



รูปที่ 6 เอนไซม์ UGT72E1, UGT72E2 และ UGT72E3 เร่งปฏิกิริยาการเติมกลูโคสให้กับโมโนลิกนอล เช่น กรดซินาปิก และซินาปิลแอลกอฮอล์ ใน Arabidopsis

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์พบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช มักจะสะสมอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ในแวคิวโอล (vacuole) และรูปไกลโคไซด์นี้เองอาจเกี่ยวข้องกับการขนส่งเพื่อสะสมในแวคิวโอลด้วย เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพต่อมนุษย์ จึงได้รับความสนใจอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารกลุ่มฟลาโวนอล (flavonol) ซึ่งเป็นกลุ่มหนึ่งของฟลาโวนอยด์ เช่น คาเอมเฟรอล (kaempferol) เควอเซติน (quercetin) และไอโซแรมเนติน (isorhamnetin) เป็นต้น โดยรูปที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ คือ รูป 3-*O*-ไกลโคไซด์ โดยหมู่น้ำตาลที่พบจะมีอยู่หลายชนิดเช่น กลูโคส กรดกลูคูโรนิก กาแลคโทส และแรมโนส ได้เป็นสารประกอบ glucoside, glucuronoside, galactoside และ rhamnoside ตามลำดับ UGT ที่ทำหน้าที่ในการย้ายหมู่น้ำตาลจาก UDP-sugar ได้ถูกพบในพืชต่างๆ มากมาย ใน Arabidopsis พบว่าเอนไซม์ UGT78D1, UGT78D2 และ UGT78D3 จะมีความจำเพาะต่อ UDP-sugar ที่แตกต่างกันออกไป โดย UGT78D1 ย้ายแรมโนสจาก UDP-rhamnose ไปยังฟลาโวนอลเกิดเป็นฟลาโวนอล 3-*O*-แรมโนไซด์ได้ [23] ในขณะที่ UGT78D2 มีความจำเพาะต่อ UDP-glucose [24] และ UGT78D3 มีความจำเพาะต่อ UDP-arabinose (รูปที่ 7) [25]



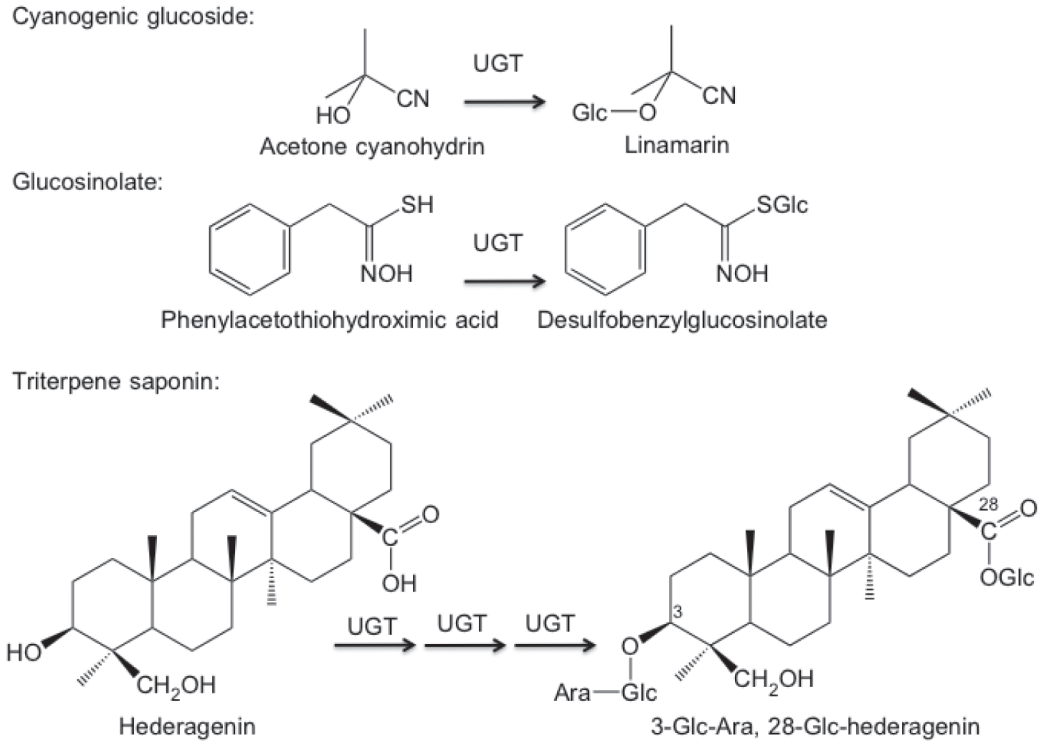
รูปที่ 7 เอนไซม์ UGT78D1-3 มีความจำเพาะต่อ UDP-sugar แต่ละชนิด เร่งปฏิกิริยาการเติมหมู่น้ำตาลให้กับฟลาโวนอลใน Arabidopsis

จากที่ได้กล่าวไปแล้วว่าการระบุหน้าที่ UGT ในพืช (*in vivo* function) ทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากจำนวนที่มีมากมายในพืชและความซ้ำซ้อนในหน้าที่ การใช้วิธีการวิเคราะห์โดยอาศัยการแสดงออกร่วมของยีนแสดงให้เห็นว่าสามารถช่วยในการระบุยีน UGT ต่างๆ ได้ จากแนวความคิดที่ว่ายีนชีวสังเคราะห์ (biosynthetic gene) ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับวิถีชีวสังเคราะห์หนึ่งๆ ควรมีการแสดงออกพร้อมกันในสภาวะหนึ่งๆ เพื่อให้สามารถสร้างผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้อย่างสมบูรณ์ จากข้อมูลทรานสคริปโทมิกส์ (transcriptomics) ในฐานข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ไมโครอะเรย์ (microarray) ได้มีผู้รวบรวมข้อมูลเหล่านี้ที่ได้จากการศึกษาในสภาวะต่างๆ กัน สร้างเป็นฐานข้อมูลการแสดงออกร่วมของยีนขึ้น [26] การวิเคราะห์การแสดงออกร่วมของยีนได้ถูกนำมาใช้ในการระบุ UGT ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฟลาโวนอลและแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารมีสีในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ให้สีแดง ม่วง หรือน้ำเงิน ใน Arabidopsis [24, 25, 27, 28] สารกลุ่มนี้สามารถพบได้ทั้งในรูป 3-*O*-glycoside และ 7-*O*-glycoside ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาโดย UGT ต่างชนิดกัน [28] ไม่เพียงแต่จะมีการศึกษา UGT ใน Arabidopsis เท่านั้น การศึกษา UGT ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ในพืชอื่นๆ ก็มีอย่างมากมายทั้งในพืชผล เช่น องุ่น [29] แอปเปิ้ล [30] ธัญพืช เช่น ข้าว [31] พืชดอก เช่น เพททูเนีย [32] เป็นต้น

UGT กับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ

การวิวัฒนาการในกลไกการป้องกันตัวเองของพืชจากความเครียดทางสิ่งแวดล้อม ซึ่งรวมทั้งความเครียดชีวภาพ (biotic stress) และอชีวภาพ (abiotic stress) โดยการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ดังนั้น ยีน UGT จึงต้องวิวัฒนาการตามไปด้วย ส่งผลให้มีจำนวน UGT ที่มากมายในพืชที่สามารถเร่งปฏิกิริยาที่มีซับสเตรตแตกต่างกันออกไปได้ นอกเหนือจากสารที่ได้กล่าวไปแล้วนั้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ที่มีการสะสมในพืชในรูปของไกลโคไซด์ ได้แก่ ไซยาโนจีนิกไกลโคไซด์ (cyanogenic glycoside) กลูโคซิโนเลต (glucosinolate) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น (รูปที่ 8)

การเติมน้ำตาลกลูโคสให้กับเมแทบอไลต์ตัวกลาง (intermediate metabolite) เพื่อสร้างไซยาโนจีนิกไกลโคไซด์มีความสำคัญอย่างมากในแง่ของการเพิ่มความเสถียร และการลดพิษที่เกิดขึ้นจากสารกลุ่มนี้ที่พืชใช้ในการป้องกันการกัดกินของแมลง เมื่อแมลงกัดกินพืช สารกลุ่มนี้จะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกลูโคซิเดส (glucosidase) ที่ถูกเก็บไว้ที่คนละตำแหน่งในเซลล์ เกิดเป็นสารออกฤทธิ์ที่ส่งผลต่อแมลงได้ สารกลุ่มนี้สามารถพบได้ในทั้งในมันสำปะหลังและ *Lotus japonicus* โดยพบว่าเอนไซม์ UGT85K4 และ UGT85K5 มีหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารนี้ในต้นมันสำปะหลัง [33] ขณะที่เอนไซม์ UGT85K3 มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างสารนี้ในต้น *L. japonicus* (รูปที่ 8) [34] เป็นที่น่าสังเกตว่า UGT ที่เกี่ยวข้องในการสร้างสารกลุ่มนี้จะอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกันกับยีนที่เกี่ยวกับชีวสังเคราะห์ของไซยาโนจีนิกไกลโคไซด์ตัวอื่นๆ [34] ซึ่งกล่าวได้ว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารนี้อยู่รวมกันเป็นกลุ่มบนจีโนม (genomic clustering) การอยู่เป็นกลุ่มของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารออกฤทธิ์สามารถพบได้ทั่วไปและเป็นที่รู้จักอย่างดีในสิ่งมีชีวิตจำพวกโปรแคริโอต แต่เมื่อไม่นานมานี้เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งว่า การค้นพบ genomic clustering ของยีนในวิถีชีวสังเคราะห์อื่นๆ ในพืชได้มีรายงานเพิ่มมากขึ้น [35] ทั้งนี้การอยู่รวมเป็นกลุ่มของยีนต่างๆ ในวิถีชีวสังเคราะห์อาจส่งผลต่อการถ่ายทอดยีนในกลุ่มทั้งหมดไปยังรุ่นลูกหลานได้อย่างครบถ้วน โดยไม่เกิดการสูญหายจากการเกิดรีคอมบิเนชั่น (recombination) [36] เนื่องจากสารตัวกลางในวิถีเหล่านั้น



รูปที่ 8 เอนไซม์ UGT ที่ทำหน้าที่เติมหมู่น้ำตาลให้กับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ การเติมหมู่น้ำตาลให้กับโมเลกุลของไตรเทอพีนซาโปนินที่คาร์บอนที่ตำแหน่งต่างๆ นั้นอาศัยการทำงานของ UGT หลายชนิด

อาจมีความเป็นพิษสูง ซึ่งอาจส่งผลต่อการอยู่รอดของพืชได้ ดังนั้นการมี UGT อยู่ในกลุ่มร่วมกับยีนอื่นๆ เพื่อให้แน่ใจว่าสารเหล่านั้นจะถูกสะสมในรูปของไกลโคไซด์เป็นการลดพิษและไม่ส่งผลเสียต่อเซลล์

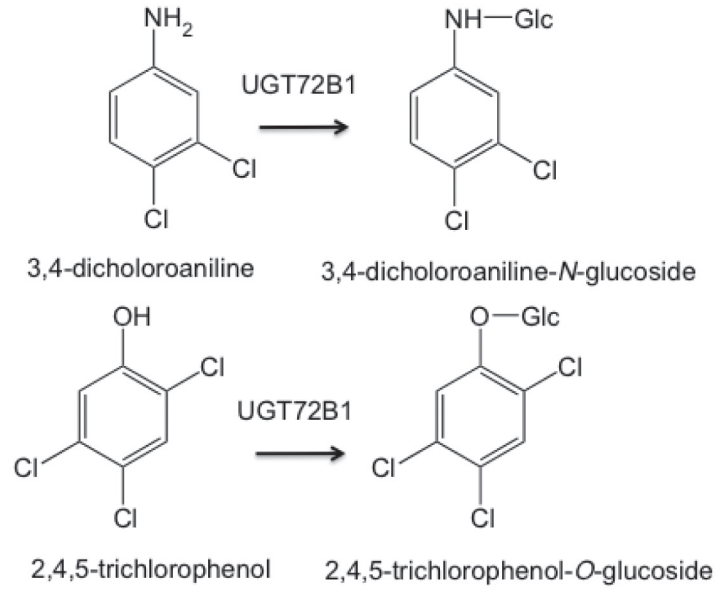
กลูโคซิโนเลตซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ต้านแมลงและเชื้อแบคทีเรียก็ถูกสะสมในรูปของกลูโคไซด์เช่นเดียวกัน สารนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านมะเร็งต่างๆ ในมนุษย์อีกด้วย สามารถพบได้ใน Arabidopsis และพืชผักในตระกูลกะหล่ำต่างๆ ใน Arabidopsis UGT74B1 ทำหน้าที่ในการย้ายกลูโคสในการสังเคราะห์กลูโคซิโนเลต (รูปที่ 8) อีกทั้งยังเกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลของฮอร์โมนออกซินอีกด้วย [37] ซึ่งแสดงถึงความหลากหลายของหน้าที่และความจำเพาะต่อซับสเตรตอย่างกว้างๆ (broad substrate specificity)

ไตรเทอพีนซาโปนิน (triterpene saponin) เป็นอีกกลุ่มของสารออกฤทธิ์จากพืชที่มีฤทธิ์มากมาย เช่น ต้านจุลชีพ ป้องกันแมลง และอัลลีโลพาธี (alleopathy) เป็นต้น ในพืชตระกูลถั่ว *Medicago truncatula* ไตรเทอพีนซาโปนินหลายชนิดถูกเติมหมู่น้ำตาลก่อนการสะสมภายในเซลล์พืช ขบวนการเติมหมู่น้ำตาลนี้ทำโดย UGT เช่นกัน Achnine และคณะ [38] ได้ระบุ UGT73K1 ซึ่งมีความจำเพาะต่อเฮเดราจีนิน (hederagenin) โซยาซาโปจีนอล บี และอี (soyasapogenol B และ E) UGT71G1 ซึ่งมีความจำเพาะต่อกรดเมดิคาจีนิค (medicagenic acid) นอกจากนี้ UGT71G1 ยังมีความจำเพาะต่อสารจำพวกไอโซฟลาโวน (isoflavone) และฟลาโวนอล (flavonol) บางชนิดอีกด้วย แสดงให้เห็นถึงความ

จำเพาะต่อซับสเตรตอย่างกว้างๆ เช่นเดียวกับ UGT บางตัวที่ได้กล่าวมาแล้ว แต่อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ทรานสคริปและโปรไฟล์เมแทบอไลต์สนับสนุนหน้าที่ของ UGT71G1 ที่จำเพาะต่อการเติมหมู่น้ำตาลให้กับไตรเทอพีนซาโปนินมากกว่า ในปี ค.ศ. 2010 นักวิจัยกลุ่มเดียวกันได้ระบุยีนเพิ่มเติมที่ทำหน้าที่ในการเติมหมู่น้ำตาลที่ตำแหน่งอื่นของไตรเทอพีนซาโปนิน โดย UGT73F3 มีความจำเพาะต่อการเติมกลูโคสเข้าที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 28 ของเฮเดราจีนิน (รูปที่ 8) [39] การวิเคราะห์เมแทบอไลต์ของ *M. truncatula* ที่ไม่มีการแสดงออกของยีน *UGT73F3* ช่วยยืนยันหน้าที่ของ UGT73F3 ในพืชชนิดนี้ [39] สำหรับการศึกษาไตรเทอพีนซาโปนินในถั่วเหลือง (Glycine max) พบว่ามี UGT 2 ชนิด ที่เติมหมู่น้ำตาลที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 22 ของโซยาซาโปจีนอล เอ โดย UGT73F2 ทำหน้าที่ย้ายน้ำตาลกลูโคส ขณะที่ UGT73F4 ทำหน้าที่ย้ายน้ำตาลไซโลสไปยังโมเลกุลนี้ [40] ยังไม่เป็นที่ทราบอย่างแน่ชัดว่าโมเลกุลของน้ำตาลที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อฤทธิ์ของสารนั้นอย่างไร เป็นที่น่าสังเกตว่า UGT ในแฟมิลี่ 73 จะมีความจำเพาะต่อไตรเทอพีนซาโปนิน ดังจะเห็นได้จากการระบุ UGT ในพืช *Barbarea vulgaris* ที่มี UGT73C 4 ชนิด คือ UGT73C10-13 ซึ่งสามารถเติมกลูโคสที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของกรดโอเลียโนลิกและเฮเดราจีนินได้ ทั้งนี้ UGT73C10 และ UGT73C11 มีแอกทิวิตีที่สูงกว่า UGT อีกสองตัว จากการวิเคราะห์วิวัฒนาการโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์พบว่า UGT73C10 และ UGT73C11 อยู่ภายใต้การคัดเลือกแบบบวก (positive selection) ในขณะที่ UGT73C12 และ UGT73C13 อยู่ภายใต้การคัดเลือกแบบลบ (purifying selection) [41] ซึ่งสารโมโนกลูโคไซด์ (monoglucoside) ของไตรเทอพีนซาโปนินที่ได้นี้มีฤทธิ์ในการต้านแมลง ดังนั้น จึงสอดคล้องกับการคัดเลือกแบบบวกที่วิเคราะห์ได้ เพื่อเพิ่ม fitness ของประชากรของพืชนี้ให้มีความสามารถในการต้านแมลง

UGT กับการกำจัดสารแปลกปลอม (xenobiotic)

จากการศึกษา UGT ที่ได้กล่าวมาจะเห็นว่า UGT บางชนิดมีความจำเพาะต่อซับสเตรตอย่างกว้างๆ ซึ่ง UGT พวกนี้มีความสำคัญต่อพืชเป็นอย่างมาก เนื่องจากขบวนการวิวัฒนาการทำให้พืชสามารถทนต่อสารแปลกปลอมซึ่งรวมทั้งมลพิษ (pollutant) และยาฆ่าแมลง (pesticide) ได้ การลดพิษของสารเหล่านี้ที่แพร่ผ่านเซลล์แล้วเข้ามาขัดขวางหรือทำลายขบวนการพื้นฐานที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช สามารถทำได้โดยการเติมหมู่น้ำตาลให้กับสารแปลกปลอมนั้นๆ เพื่อนำไปกักเก็บไว้ในแวคิวโอล ใน Arabidopsis UGT72B1 สามารถเติมน้ำตาลให้แก่สารแปลกปลอม 3,4-dicholoroaniline และ 2,4,5-trichlorophenol (TCP) ได้ เอนไซม์นี้มีความสามารถพิเศษโดยเติมหมู่น้ำตาลตรงอะตอมของออกซิเจน (*O*-glycosylation) หรือไนโตรเจน (*N*-glycosylation) ได้ (รูปที่ 9) [42]



รูปที่ 9 การเติมกลูโคสให้กับสารแปลกปลอมต่างๆ ด้วย UGT72B1 ของ Arabidopsis

สรุปและมุมมองในการใช้ประโยชน์จาก UGT

จากงานวิจัยที่ได้กล่าวไปทั้งหมดเป็นเพียงส่วนหนึ่งของการศึกษาหน้าที่ของ UGT ในพืช และด้วยเนื้อที่ที่จำกัด ทำให้ไม่สามารถกล่าวถึง UGT ที่ได้รับการศึกษาอย่างครบถ้วน แต่อย่างไรก็ตามเราจะเห็นได้ว่ามี UGT จำนวนมากมายที่ทำหน้าที่เติมหมู่น้ำตาลให้กับสารต่างๆ ในพืช รวมทั้งฮอร์โมนพืช ซึ่งการเติมหมู่น้ำตาลมีความสำคัญต่อการควบคุมสมดุลของฮอร์โมนที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต และโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำ เพิ่มความเสถียร ลดความเป็นพิษ และยังเกี่ยวข้องกับการขนส่งเพื่อเก็บสะสมในแวคิวโอลอีกด้วย โดยตำแหน่งของการเติมหมู่น้ำตาลในสารแตกต่างกันออกไป ตามแต่ชนิดของ UGT อีกทั้งชนิดของน้ำตาลก็มีความแตกต่างกันออกไป สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่อยู่ในรูปไกลโคไซด์เหล่านี้สามารถทำหน้าที่เพื่อให้พืชสามารถดำรงชีวิตในสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ ดังจะเห็นได้ว่าระดับการแสดงออกของ UGT มีความเกี่ยวข้องกับภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป สิ่งเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงกลไกวิวัฒนาการที่ผ่านมานานของ UGT ที่มีความสำคัญต่อพืชเพื่อให้ดำรงชีวิตอยู่ในสภาวะแวดล้อมต่างๆ เพื่อการสืบพันธุ์ต่อไป

ความรู้ที่ได้จากการเติมหมู่น้ำตาลที่ตำแหน่งต่างๆ ของซับสเตรตของ UGT แต่ละชนิดสามารถนำมาพัฒนา ออกแบบเพื่อเปลี่ยนแปลง หรือปรับปรุงความสามารถของยาในการออกฤทธิ์ได้ เนื่องจากได้มีการรายงานโครงสร้างผลึกของ UGT จากพืชแล้ว [43, 44] ดังนั้นการใช้ homology modeling สามารถออกแบบ ปรับปรุง หรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของ UGT เพื่อให้มีคุณสมบัติที่ต้องการได้ UGT ที่แสดงความจำเพาะต่อซับสเตรตอย่างกว้างๆ อาจสามารถนำมาใช้ในการเติมหมู่น้ำตาลให้กับสารที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยา แต่ยังมีความสามารถในการละลายต่ำ

ด้วยความสามารถในการลดพิษของสารแปลกปลอมนั้น จึงสามารถนำพืชมาประยุกต์ใช้บำบัดสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม (phytoremediation) ได้ ซึ่งได้มีรายงานการสร้าง Arabidopsis ดัดแปลงพันธุกรรม โดยการถ่ายโอนยีน UGT จากต้น poplar เข้าไปแล้วเหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของยีนนี้มากกว่าปกติ พบว่าพืชนี้สามารถกำจัดสาร TCP ที่อยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงได้ แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการใช้พืชนี้บำบัดพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนของสารนี้ได้ [45] นอกจากนี้ มีตัวอย่างการศึกษาในการใช้พืชดัดแปลงพันธุกรรมที่มีการแสดงออกของ UGT จาก Arabidopsis มากกว่าปกติ เพื่อใช้ในการบำบัดพื้นที่ที่เคยเกิดสงครามและมีการปนเปื้อนของสารวัตถุระเบิดจำพวก 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) อีกด้วย [46] ดังนั้นในปัจจุบันที่เทคโนโลยีการหาลำดับจีโนมสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว รวมทั้งข้อมูลจีโนมของพืชต่างๆ ในฐานข้อมูล ทำให้สามารถค้นหายีน UGT ได้อย่างมากมายในพืชชนิดต่างๆ การศึกษาอื่นๆ ในระดับทรานสคริปโตมิกส์ และเมแทบอโลมิกส์ก็สามารถนำมาใช้เพื่อระบุหน้าที่ของ UGT ได้ เพื่อให้เข้าใจกระบวนการเมแทบอลิซึมของสารต่างๆ นอกจากนี้การศึกษาคุณลักษณะรวมทั้งโครงสร้างของ UGT ที่ยังไม่ได้รับการศึกษาในพืชชนิดต่างๆ อาจนำมาสู่การพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ได้หลากหลายประการ

เอกสารอ้างอิง

1. Lairson, L. L., Henrissat, B., Davies, G. J., and Withers, S. G. 2008. Glycosytransferases: Structures, Functions, and Mechanisms. *Annual Review of Biochemistry* 77: 521-555.
2. Campbell, J. A., Davies, G. J., Bulone, V., and Henrissat, B. 1997. A Classification of Nucleotide-Diphospho-Sugar Glycosyltransferase Based on Amino Acid Sequence Similarities. *Biochemical Journal* 326(Pt 3): 929-939.
3. Coutinho, P. M., Deleury, E., Davies, G. J., and Henrissat, B. 2003. An Evolving Hierarchical Family Classification for Glycosyltransferases. *Journal of Molecular Biology* 328(2): 307-317.
4. Li, Y., Baldauf, S., Lim, E. K., and Bowles, D. J. 2001. Phylogenetic Analysis of the UDP-Glycosyltransferase Multigene Family of *Arabidopsis thaliana. Journal of Biological Chemistry* 276(6): 4338-4343.
5. Cao, P. J., Bartley, L. E., Jung, K. H., and Ronald, P. C. 2008. Construction of a Rice Glycosyltransferase Phylogenomic Database and Identification Of Rice-Diverged Glycosyltransferases. *Molecular Plant* 1(5): 858-877.
6. Caputi, L., Malnoy, M., Goremykin, V., Nikiforova, S., and Martens, S. 2012. A Genome-Wide Phylogenetic Reconstruction Of Family 1 UDP-Glycosyltransferases Revealed the Expansion of the Family during the Adaptation of Plants to Life on Land. *Plant Journal* 69(6): 1030-1042.
7. Mackenzie, P. I., Owens, I. S., Burchell, B., Bock, K. W., Bairoch, A., Belanger, A., Fournel-Gigleux, S., Green, M., Hum, D. W., Iyanagi, T., Lancet, D., Louisot, P., Magdalou, J., Chowdhury, J. R., Ritter, J. K., Schachter, H., Tephly, T. R., Tipton, K. F., and Nebert,

D.W. 1997. The UDP Glycosyltransferase Gene Superfamily: Recommended Nomenclature Update Based on Evolutionary Divergence. *Pharmacogenetics* 7(4): 255-269.

8. Mackenzie, P. I., Bock, K. W., Burchell, B., Guillemette, C., Ikushiro, S., Iyanagi, T., Miners, J. O., Owens, I. S., and Nebert, D. W. 2005. Nomenclature Update for the Mammalian UDP Glycosyltransferase (UGT) Gene Superfamily. *Pharmacogenetics and Genomics* 15(10): 677-685.
9. Saito, K., Hirai, M. Y., and Yonekura-Sakakibara, K. 2008. Decoding Genes with Coexpression Networks and Metabolomics 'Majority Report By Precogs'. *Trends in Plant Science* 13(1): 36-43.
10. Xu, Z. -J., Nakajima, M., Suzuki, Y., and Yamaguchi, I. 2002. Cloning and Characterization of the Abscisic Acid-Specific Glucosyltransferase Gene from Adzuki Bean Seedlings. *Plant Physiology* 129(3): 1285-1295.
11. Priest, D. M., Jackson, R. G., Ashford, D. A., Abrams, S. R., and Bowles, D. J. 2005. The Use of Abscisic Acid Analogues to Analyse the Substrate Selectivity of UGT71B6, a UDP-Glycosyltransferase of *Arabidopsis thaliana. FEBS Letters* 579(20): 4454-4458.
12. Priest, D. M., Ambrose, S. J., Vaistij, F. E., Elias, L., Higgins, G. S., Ross, A. R. S., Abrams, S. R., and Bowles, D. J. 2006. Use of the Glucosyltransferase UGT71B6 to Disturb Abscisic Acid Homeostasis in *Arabidopsis thaliana. Plant Journal* 46(3): 492-502.
13. Tognetti, V. B., Van Aken, O., Morreel, K., Vandenbroucke, K., van de Cotte, B., De Clercq, I., Chiwocha, S., Fenske, R., Prinsen, E., Boerjan, W., Genty, B., Stubbs, K. A., Inze, D., and Van Breusegem, F. 2010. Perturbation of Indole-3-Butyric Acid Homeostasis by the UDP-Glucosyltransferase UGT72E2 Modulates Arabidopsis Architecture and Water Stress Tolerance. *Plant Cell* 22(8): 2660-2679.
14. Jackson, R. G., Lim, E. K., Li, Y., Kowalczyk, M., Sandberg, G., Hoggett, J., Ashford, D. A., and Bowles, D. J. 2001. Identification and Biochemical Characterization of an Arabidopsis Indole-3-Acetic Acid Glucosyltransferase. *Journal of Biological Chemistry* 276(6): 4350-4356.
15. Hou, B., Lim, E. -K., Higgins, G. S., and Bowles, D. J. 2004. *N*-glucosylation of Cytokinins by Glycosyltransferases of *Arabidopsis thaliana. Journal of Biological Chemistry* 279(46): 47822-47832.
16. Martin, R. C., Mok, M. C., Habben, J. E., and Mok, D. W. S. 2001. A Maize Cytokinin Gene Encoding an *O*-Glucosyltransferase Specific to Cis-Zeatin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98(10):5922-5926.
17. Martin, R. C., Mok, M. C., and Mok, D. W. S. 1999. A Gene Encoding the Cytokinin Enzyme Zeatin O-Xylosyltransferase of *Phaseolus vulgaris. Plant Physiology* 120(2): 553-558.

18. Lim, E. -K., Li, Y., Parr, A., Jackson, R., Ashford, D. A., and Bowles, D. J. 2001. Identification of Glucosyltransferase Genes Involved in Sinapate Metabolism and Lignin Synthesis in Arabidopsis. *Journal of Biological Chemistry* 276(6): 4344-4349.
19. Lim, E. -K., Higgins, G. S., Li, Y., and Bowles, D. J., 2003. Regioselectivity of Glucosylation of Caffeic Acid by a UDP-Glucose : Glycosyltransferase Is Maintained in *Planta. Biochemical Journal* 373(Pt 3): 987-992.
20. Lim, E. -K., Jackson, R. G., and Bowles, D. J. 2005. Identification and Characterization of Arabidopsis Glycosyltransferases Capable of Glucosylating Coniferyl Aldehyde and Sinapyl Aldehyde. *FEBS Letters* 579(13): 2802-2806.
21. Lanot, A., Hodge, D., Jackson, R. G., George, G. L., Elias, L., Lim, E. -K., Vaistij, F. E., and Bowles, D. J. 2006. The Glucosyltransferase UGT72E2 Is Responsible for Monolignol 4-O-Glucoside Production in *Arabidopsis thaliana. Plant Journal* 48(2):286-295.
22. Wang, Y. -W., Wang, W. -C., Jin, S. -H., Wang, J., Wang, B., and Hou, B. -K. 2012. Over-Expression of a Putative Poplar Glycosyltransferase Gene, PtGT1, in Tobacco Increases Lignin Content and Causes Early Flowering. *Journal of Experimental Botany* 63(7): 2799-2808.
23. Jones, P., Messner, B., Nakajima, J., Schaffner, A. R., and Saito, K. 2003. UGT73C6 and UGT78D1, Glycosyltransferases Involved in Flavonol Glycoside Biosynthesis in *Arabidopsis thaliana. Journal of Biological Chemistry* 278(45): 43910-43918.
24. Tohge, T., Nishiyama, Y., Hirai, M. Y., Yano, M., Nakajima, J., Awazuhara, M., Inoue, E., Takahashi, H., Goodenowe, D. B., Kitayama, M., Noji, M., Yamazaki, M., and Saito, K. 2005. Functional Genomics by Integrated Analysis of Metabolome and Transcriptome of Arabidopsis Plants Over-Expressing an MYB Transcription Factor. *Plant Journal* 42(2): 218-235.
25. Yonekura-Sakakibara, K., Tohge, T., Matsuda, F., Nakabayashi, R., Takayama, H., Niida, R., Watanabe-Takahashi, A., Inoue, E., and Saito, K. 2008. Comprehensive Flavonol Profiling and Transcriptome Coexpression Analysis Leading to Decoding Gene-Metabolite Correlations in Arabidopsis. *Plant Cell* 20(8): 2160-2176.
26. Obayashi, T., Hayashi, S., Saeki, M., Ohta, H., and Kinoshita, K. 2009. ATTED-II Provides Coexpressed Gene Networks for Arabidopsis. *Nucleic Acids Research* 37(Database issue): D987-D991.
27. Yonekura-Sakakibara, K., Tohge, T., Niida, R., and Saito, K. 2007. Identification of a Flavonol 7-*O*-Rhamnosyltransferase Gene Determining Flavonoid Pattern in Arabidopsis by Transcriptome Coexpression Analysis and Reverse Genetics. *Journal Biological Chemistry* 282(20): 14932-14941.

28. Yonekura-Sakakibara, K., Fukushima, A., Nakabayashi, R., Hanada, K., Matsuda, F., Sugawara, S., Inoue, E., Kuromori, T., Ito, T., Shinozaki, K., Wangwattana, B., Yamazaki, M., and Saito, K. 2012. Two Glycosyltransferase Involved in Anthocyanin Modification Delineated by Transcriptome Independent Component Analysis in *Arabidopsis thaliana. Plant Journal* 69(1): 154-167.
29. Ono, E., Homman, Y., Horikawa, M., Kunikane-Doi, S., Imai, H., Takahashi, S., Kawai, Y., Ishiguro, M., Fukui, Y., and Nakayama, T. 2010. Functional Differentiation of the Glycosyltransferases that Contribute to the Chemical Diversity of Bioactive Flavonol Glycosides in Grapevines (*Vitis vinifera*). Plant Cell 22(8): 2856-2871.
30. Honda, C., Kotoda, N., Wada, M., Kondo, S., Kobayashi, S., Soejima, J., Zhang, Z., Tsuda, T., and Moriguchi, T. 2002. Anthocyanin Biosynthetic Genes Are Coordinately Expressed during Red Coloration in Apple Skin. *Plant Physiology and Biochemistry* 40(11): 955-962.
31. Ko, J. H., Kim, B. G., Hur, H. G., Lim, Y., and Ahn, J. H. 2006. Molecular Cloning, Expression and Characterization of a Glycosyltransferase from Rice. *Plant cell reports* 25(7): 741-746.
32. Yamazaki, M., Yamagishi, E., Gong, Z., Fukuchi-Mizutani, M., Fukui, Y., Tanaka, Y., Kusumi, T., Yamaguchi, M., and Saito, K. 2002. Two Flavonoid Glucosyltransferases from *Petunia hybrida:* Molecular Cloning, Biochemical Properties and Developmentally Regulated Expression. *Plant Molecular Biology* 48(4): 401-411.
33. Kannangara, R., Motawia, M. S., Hansen, N. K. K., Paquette, S. M., Olsen, C. E., Moller, B. L., and Jorgensen, K. 2011. Characterization and Expression Profile of Two UDP-Glucosyltransferases, UGT85K4 and UGT85K5, Catalyzing the Last Step in Cyanogenic Glucoside Biosynthesis in Cassava. *Plant Journal* 68(2): 287-301.
34. Takos, A. M., Knudsen, C., Lai, D., Kannangara, R., Mikkelsen, L., Motawia, M. S., Olsen, C. E., Sato, S., Tabata, S., Jorgensen, K. Moller, B. L., and Rook, F. 2011. Genomic Clustering of Cyanogenic Glucoside Biosynthetic Genes Aids their Identification in *Lotus japonicus* and Suggests the Repeated Evolution of this Chemical Defense Pathway. *Plant Journal* 68(2): 273-286.
35. Kliebenstein, D. J., and Osbourn, A. 2012. Making New Molecules-Evolution of Pathways for Novel Metabolites in Plants. *Current Opinion in Plant Biology* 15(4): 415-423.
36. Takos, A. M., and Rook, F. 2012. Why Biosynthetic Genes for Chemical Defense Compounds Cluster. *Trends in Plant Science* 17(7): 383-388.
37. Grubb, C. D., Zipp, B. J., Ludwig-Muller, J., Masuno, M. N., Molinski, T. F., and Abel, S. 2004. Arabidopsis Glucosyltransferase UGT74B1 Functions in Glucosinolate Biosynthesis and Auxin Homeostasis. *Plant Journal* 40(6): 893-908.

38. Achnine, L., Huhman, D. V., Farag, M. A., Sumner, L. W., Blount, J. W., and Dixon, R. A. 2005. Genomics-Based Selection and Functional Characterization of Triterpene Glycosyltransferases from the Model Legume *Medicago truncatula. Plant Journal* 41(6): 875-887.
39. Naoumkina, M. A., Modolo, L. T., Huhman, D. V., Urbanczyk-Wochniak, E., Tang, Y., Sumner, L. W., and Dixon, R. A. 2010. Genomic and Coexpression Analyses Predict Multiple Genes Involved in Triterpene Saponin Biosynthesis in *Medicago truncatula. Plant Cell* 22(3): 850-866.
40. Sayama, T., Ono, E., Takagi, K., Takada, Y., Horikawa, M., Nakamoto, Y., Hirose, A., Sasama, H., Ohashi, M., Hasegawa, H., Terakawa, T., Kikuchi, A., Kato, S., Tatsuzaki, N., Tsukamono, C., and Ishimoto, M. 2012. The Sg-1 Glycosyltransferase Locus Regulates Structural Diversity of Triterpenoid Saponins of Soybean. *Plant Cell* 24(5): 2123-2138.
41. Augustin, J. M., Drok, S., Shinoda, T., Sanmiya, K., Nielsen, J. K., Khakimov, B., Olsen, C. E., Hansen, E. H., Kuzina, V., Ekstrom, C. T., Hause, T. P., Bak, S. 2012. UDP-Glycosyltrasferases from the UGT73C Subfamily in *Barbarea vulgaris* Catalyse Sapogenin 3-*O*-Glucosylation in Saponin-Mediated Insect Resistance. *Plant Physiology* dx.doi.org/10.1104/pp.112.292747.
42. Brazier-Hicks, M., Offen, W. A., Gershater, M. C., Revett, T. J., Lim, E. -K., Bowles, D. J., Davies, G. J., and Edwards, R. 2007. Characterization and Engineering of the Bifunctional *N*- and *O*-Glucosyltransferase Involved in Xenobiotic Metabolism in Plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104(51): 20238-20243.
43. Shao, H., He, X., Achnine, L., Blount, J. W, Dixon, R. A., and Wang, X. 2005. Crystal Structures of a Multifunctional Triterpene/Flavonoid Glycosyltransferase from *Medicago truncatula. Plant Cell* 17(11): 3141-3154.
44. Modolo, L. V., Li, L., Pan, H., Blount, J. W., Dixon, R. A., and Wang, X. 2009. Crystal Structures of Glycosyltransferase UGT78G1 Reveal the Molecular Basis for Glycosylation and Deglycosylation of (Iso)Flavonoids. *Journal of Molecular Biology* 392(5): 1292-1302.
45. Su. Z. -H., Xu, Z. -S., Peng, R. -H., Tian, Y. -S., Zhao, W., Han, H. -J., Yao, Q. -H., and Wu, A. -Z. 2012. Phytoremediation of Trichlorophenol by Phase II Metabolism in Transgenic Arabidopsis Overexpressing a Populus Glucosyltransferase. *Environmental Science and Technology* 46(7): 4016-4024.
46. Gandia-Herrero, F., Lorenz, A., Larson, T., Graham, I. A., Bowles, D. J., Rylott, E. L., and Bruce, N. C. 2008. Detoxification of the Explosive 2,4,6-Trinitrotoluene in Arabidopsis: Discovery of Bifunctional *O*- and *C*-Glucosyltransferases. *Plant Journal* 56(6): 963-974.

ได้รับบทความวันที่ 15 ตุลาคม 2555
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 24 ตุลาคม 2555