ขนิษฐา วงษ์นิกร : การโคลนและลักษณะสมบัติของยีนกลุ่ม *rhl* ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แรมโนลิพิดของ *Pseudomonas aeruginosa* A41 (CLONING AND CHARACTERIZATION OF *rhl* GENES INVOLVING IN RHAMNOLIPID BIOSYNTHESIS OF *Pseudomonas aeruginosa* A41) อ.ที่ปรึกษา: ผศ. จิราภรณ์ ธนียวัน อ.ที่ปรึกษาร่วม: ผศ.ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์ 150 หน้า. ISBN: 974-17-6094-9

*Pseudomonas* sp. A41 ที่แยกจากอ่าวไทย มีความสามารถในการผลิตแรมโนลิพิด จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสมบัติทางชีวเคมีร่วมกับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rDNA สามารถจำแนกสายพันธุ์ A41 เป็น *Pseudomonas aeruginosa* แยกยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แรมโนลิพิดจาก *Pseudomonas aeruginosa* A41 โดยเทคนิคเซาท์เธอร์นไฮบริไดเซชันจีโนมิกดีเอ็นเอกับดีเอ็นเอติดตาม *rhlR* หรือ *rhlA* โคลนชิ้นดีเอ็นเอที่ให้ผลบวกเข้าในพลาสมิดเวกเตอร์และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอแทรกสอด จากลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งสิ้น 4,965 bp พบกรอบอ่านรหัสเปิด (ORF) ที่สมบูรณ์จำนวน 4 แห่ง และไม่สมบูรณ์ 1 แห่ง กรอบอ่านรหัสเปิดทั้งหมดมีทิศทางในการถอดรหัสไปในทางเดียวกันตามลำดับดังต่อไปนี้ ORF1 (*dcd*) เป็นกรอบอ่านรหัสเปิดที่ไม่สมบูรณ์ ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายกับ deoxycytidine triphosphate deaminase ของ *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 เท่ากับ 100% ORF2 (*rhlA*) ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายกับ rhamnosyltransferase 1 chain A ของ *Pseudomonas aeruginosa* PG201 เท่ากับ 100% ORF3 (*rhlB*) ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายกับ rhamnosyltransferase 1 chain B ของ *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 เท่ากับ 100% ORF4 (*rhlR*) ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายกับ transcriptional regulator RhlR ของ *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 และ *Pseudomonas aeruginosa* PG201 เท่ากับ 100% ORF5 (*rhlI*) ลำดับกรดอะมิโนมีความคล้ายกับ autoinducer synthetase protein RhlI ของ *Pseudomonas aeruginosa* PG201 เท่ากับ 94% นอกจากนี้ยังพบบริเวณโปรโมเตอร์ บริเวณจับเกาะของไรโบโซม และบริเวณอนุรักษ์ *las* box ซึ่งเป็นบริเวณจับเกาะของ regulatory protein เหนือกรอบอ่านรหัสเปิด ORF2 ORF4 และ ORF5

180791

## 4472223023 : **MAJOR** INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

**KEY WORD**: Rhamnolipid biosynthesis / *Pseudomonas aeruginosa* / *rhl* genes

KANITTA WONGNIKORN : CLONING AND CHARACTERIZATION OF *rhl* GENES INVOLVING IN RHAMNOLIPID BIOSYNTHESIS OF *Pseudomonas aeruginosa* A41. THESIS ADVISOR: ASSIST. PROF. JIRAPORN THANIYAVARN, THESIS COADVISOR: ASSIST. PROF. KOBCHAI PATTARAGULWANIT, Dr.rer.nat. 150 pp. ISBN:974-17-6094-9

*Pseudomonas* sp. A41, isolated from Gulf of Thailand is capable of producing rhamnolipid. Morphological and biochemical characteristics together with 16S rDNA nucleotide sequence enable to classify strain A41 as *Pseudomonas aeruginosa*. Genes involving rhamnolipid biosynthesis were isolated from *Pseudomonas aeruginosa* A41 by southern hybridization of genomic DNA with *rhlR*- or *rhlA*-probe. Positive DNA fragments were cloned into plasmid vectors and nucleotide sequences of insert DNA were determined. From total nucleotide sequence of 4,965 bp, four complete and one incomplete open reading frames (ORFs) were revealed. All ORFs are in the same orientation as following; ORF1 is an incomplete ORF with 100% homology to deoxycytidine triphosphate deaminase of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1; ORF2 (*rhlA*) shows 100% homology to rhamnosyltransferase 1 chain A of *Pseudomonas aeruginosa* PG201; ORF3 (*rhlB*) shows 100% homology to rhamnosyltransferase 1 chain B of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1; ORF4 (*rhlR*) shows 100% homology to transcriptional regulator RhlR of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 and PG201 and ORF5 (*rhlI*) shows 94% homology to autoinducer synthetase protein RhlI of *Pseudomonas aeruginosa* PG201. Moreover, the putative promoters, Shine-Dalgarno (SD) sequences and conserve regions of *las* box were found upstream of ORF2 ORF4 and ORF5.