175506

สินีนาฏ สายบาง : การโคลนยีนเอพีเอสรีดักเตสจาก *Arabidopsis thaliana* เข้าสู่ *Agrobacterium tumefaciens* EHA101 (CLONING OF APS REDUCTASE GENE FROM *Arabidopsis thaliana* IN *Agrobacterium tumefaciens* EHA101) อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.อัญชริดา อัครจรัลญา, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์, อ.ดร.สุพัฒน์ เจริญพรวัฒนา, 91 หน้า : ISBN 974-333-929-9.

ได้เพิ่มยีนประมวลรหัสเอพีเอสรีดักเตสโดยกระบวนการ PCR โดยใช้คอมพลีเมนทารีดีเอ็นเอของ *Arabidopsis thaliana* เป็นดีเอ็นเอแม่แบบ และใช้ดีเอ็นเอไพร์เมอร์ซึ่งออกแบบโดยใช้ข้อมูลลำดับเบสของยีนประมวลรหัสเอพีเอสรีดักเตส (*prh19*) ได้ดีเอ็นเอขนาด 1,558 เบส เรียกดีเอ็นเอ SNN1 ผลการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ SNN1 พบว่าเหมือนกับลำดับเบสของยีนประมวลรหัสเอพีเอสรีดักเตส (*APR1*) ทุกประการ การขจัดยีนประมวลรหัสเปปไทด์ขนส่งของดีเอ็นเอ SNN1 ออกโดยกระบวนการ PCR ได้ดีเอ็นเอขนาด 1,423 เบส เรียกดีเอ็นเอ SNN2 ผลการทรานสฟอร์มดีเอ็นเอ SNN2 เข้าสู่ *Escherichia coli* สายพันธุ์ที่ยีนประมวลรหัสพีเอพีเอสรีดักเตสผ่าเหล่า ไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนซิสเตอีน มีผลทำให้ *Escherichia coli* สายพันธุ์นี้สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนซิสเตอีนได้ แสดงว่าการแสดงออกของดีเอ็นเอ SNN2 เป็นรหัสของเอพีเอสรีดักเตส จึงทำให้ *Escherichia coli* สายพันธุ์นี้สามารถสังเคราะห์ซัลไฟต์จากเอพีเอสได้ การแสดงออกของดีเอ็นเอ SNN2 ใน *Escherichia coli* ทำให้ประสิทธิภาพการดูดซับกำมะถันซัลเฟตเพิ่มขึ้น เพื่อที่จะถ่ายโอนยีนประมวลรหัสเอพีเอสรีดักเตสนี้เข้าสู่โครโมโซมของพืชโดยวิธีการใช้ *Agrobacterium* จึงได้นำดีเอ็นเอ SNN1 มาเชื่อมกับพลาสมิดพาหะ pBIH1-IG(SX) แล้วทรานสฟอร์มเข้าสู่ *Agrobacterim tumefaciens* EHA101 โดยวิธีอิเลคโตรโพเรชัน

ภาควิชา จุลชีววิทยา	ลายมือชื่อนิสิต สินีนาฏ ส.
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ปีการศึกษา 2543	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

175506

4072422123 : MAJOR MICROBIOLOGY FOR INDUSTRIAL

KEY WORD: APS REDUCTASE / SULFATE ASSIMILATION / *Arabidopsis thaliana* / *Agrobacterium tumefaciens* EHA101

SINEENARD SAIBANG : CLONING OF APS REDUCTASE GENE FROM *Arabidopsis thaliana* IN *Agrobacterium tumefaciens* EHA101. THESIS ADVISOR : ASSIST.PROF. ANCHARIDA AKARACHARANYA, D.Eng. THESIS COADVISOR : ASSO.PROF.SIRIRAT RENGPIPAT, Ph.D., SUPAT CHAREONPORNWATTANA, Ph.D. 91 pp. ISBN 974-333-929-9.

APS reductase gene was amplified by PCR using cDNA of *Arabidopsis thaliana* as template and primers designed from APS reductase gene, *prh19*. The 1,558 bp-PCR product having 100% DNA sequence homology to APS reductase gene, *APR1*, was designated as SNN1. The transit peptide of SNN1 was deleted by PCR giving a 1,423 bp-PCR product designated as SNN2. The SNN2 was functionally complementation in *Escherichia coli* PAPS reductase mutant. Overexpression of SNN2 in *Escherichia coli* resulted in increasing sulfate uptake. To transform this APS reductase gene into plant genome via *Agrobacterium*, SNN1 was ligated into plasmid pBIH1-IG(SX) and transformed into *Agrobacterium tumefaciens* EHA101 by electroporation.

Department Microbiology .... Student's sigature Sineenard S.

Field of study Microbiology for industrial .... Advisor's signature Ancharida

Academic year 2000 .... Co-advisor's signature Sirirat Rengpipat

Supat