T 161913

ฐิติวรดา นินทนาวงศา : การแยกและลักษณะสมบัติของยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีบนของการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนใน *Rhizobium* sp. CU-A1 (ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF GENES INVOLVED IN ACENAPHTHYLENE DEGRADATIVE UPPER PATHWAY IN *Rhizobium* sp. CU-A1). อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. กอบชัย ภัทรกุลวณิชย์; 142 หน้า. ISBN 974-17-4470-6.

ได้แยกยีนที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนจาก *Rhizobium* sp. CU-A1 โดยใช้เทคนิคเซาท์เธอร์นไฮบริไดเซชันกับจีโนมิกดีเอ็นเอด้วยดีเอ็นเอติดตามซึ่งสร้างขึ้นจากข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณปลาย 5' และ 3' ของชิ้นดีเอ็นเอแทรกสอดของพลาสมิด pWT โคลนชิ้นดีเอ็นเอที่ให้ผลบวกเข้าในพลาสมิดเวกเตอร์และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอแทรกสอด สามารถหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณเหนือขึ้นไปจากชิ้นดีเอ็นเอแทรกสอดของพลาสมิด pWT ได้รวม 3535 bp ซึ่งประกอบด้วยกรอบอ่านรหัสเปิด (ORFs) จำนวน 3 แห่ง ซึ่งมีทิศทางการถอดรหัสไปทางเดียวกันตามลำดับดังต่อไปนี้ ORF1 (*acnN*) ลำดับกรดอะมิโนมีความเหมือนกับ 4,5-ไดไฮดรอกซีพธาเลทดีคาร์บอกซิเลสของ *Burkholderia* sp. RP007 เท่ากับ 36% ORF2 (*acnM*) ลำดับกรดอะมิโนมีความเหมือนกับ ซิส-4,5-ไดไฮดรอกซีพธาเลทดีไฮโดรจีเนสของ *Pseudomonas putida* เท่ากับ 45% และORF3 (*acnL*) ลำดับกรดอะมิโนมีความเหมือนกับเฟอร์รีดอกซินรีดักเทสของ *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* เท่ากับ 36% นอกจากนี้ยังหาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณถัดลงไปจากชิ้นดีเอ็นเอแทรกสอดของพลาสมิด pWT จำนวน 711 bp พบกรอบอ่านรหัสเปิดจำนวน 1 แห่ง ซึ่งมีทิศทางการถอดรหัสทางเดียวกับ ORF1-3 คือ ORF7 (*acnO*) ซึ่งลำดับกรดอะมิโนมีความเหมือนกับ short-chain alcohol dehydrogenase ของ *Novosphingobium aromaticivorans* เท่ากับ 56% พบบริเวณที่คาดว่าเป็นโปรโมเตอร์เหนือ ORF1 และบริเวณจับเกาะของไรโบโซมหน้ากรอบอ่านรหัสเปิดทุกกรอบ ข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่ายีนที่แยกได้ทั้ง 4 ยีนน่าจะเกี่ยวข้องกับวิถีการย่อยสลายอะซีแนพธิลีนของ *Rhizobium* sp. CU-A1

TE 161913

4372253723 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY

KEY WORD: *Rhizobium* sp./ acenaphthylene/ nucleotide sequences

THITIWORADA NINTANAWONGSA : ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF GENES INVOLVED IN ACENAPHTHYLENE DEGRADATIVE UPPER PATHWAY IN *Rhizobium* sp. CU-A1. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. KOBCHAI PATTARAGULWANIT, Dr. rer. nat., 142 pp. ISBN 974-17-4470-6.

Genes involving acenaphthylene degradation were isolated from *Rhizobium* sp. CU-A1 by Southern hybridization of genomicDNA with DNA-probes designed based on nucleotide sequences of the insert DNA fragment of pWT. DNA fragments with positive signals were cloned into plasmid vectors and the insert DNA sequence was determined. Total 3535 bp nucleotides upstream from 5' end of the pWT insert revealed 3 open reading frames (ORFs) with same orientation; ORF1 (*acnN*) shows 36% homology to 4,5-dihydroxyphthalate decarboxylase of *Burkholderia cepacia* DBO1; ORF2 (*acnM*) shows 45% homology to *cis*-4,5-dihydroxyphthalate dehydrogenase of *Pseudomonas putida* and ORF3 (*acnL*) shows 36% homology to putative ferredoxin reductase of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Moreover, the nucleotide sequence of 711 bp downstream of 3' end of the pWT insert fragment was subsequently determined which revealed ORF7 in the same orientation with ORF1-3. ORF7 (*acnO*) shows 56% homology to short-chain alcohol dehydrogenase of *Novosphingobium aromaticivoran*. The putative promoter located upstream to ORF1 along with putative ribosome binding site of each ORF. This results suggest that this four isolated genes may involve in acenaphthylene degradation pathway of *Rhizobium* sp. CU-A1.