

T 156441

ได้แยกยีนประมวลรหัสไดออกซิจีเนสสำหรับการย่อยสลายอะซีแนพริลีนจาก *Rhizobium* sp. สายพันธุ์กลาย D2 ที่เกิดจากการสอดแทรกโดยทรานสโปซอน Tn5 และมีความบกพร่องในการย่อยสลายอะซีแนพริลีน ด้วยเทคนิคซาทรูเรชันไฮบริไดเซชันโดยใช้ชิ้นส่วนของทรานสโปซอน Tn5 เป็นดีเอ็นเอติดตาม คัดแยกและโคลนชิ้นดีเอ็นเอที่ให้สัญญาณจากการไฮบริไดซ์ หากำดับนิวคลีโอไทด์ข้างเคียงทรานสโปซอน จากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนที่แปลรหัสมาจากลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาด 523 bp ที่ได้จากข้อมูลใน GenBank พบว่าลำดับกรดอะมิโนที่ได้มีความเหมือนกับ α subunit ของไดออกซิจีเนสใน *Xanthobacter polyaromaticivorans* สายพันธุ์ 127W เท่ากับ 69% สร้างดีเอ็นเอติดตามจากชิ้นดีเอ็นเอข้างเคียงทรานสโปซอนดังกล่าวด้วยวิธี PCR สามารถโคลนชิ้นดีเอ็นเอ *Bam*HI-*Eco*RI ขนาด 5.9 kb ที่ให้สัญญาณกับดีเอ็นเอติดตามเข้ายังพลาสมิด pBluescript KS(+/-) และตั้งชื่อพลาสมิดนี้ว่า pDE จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้นดีเอ็นเอนี้ พบกรอบอ่านรหัสเปิด (ORFs) ทั้งหมด 5 กรอบ ซึ่งมีทิศทางการถอดรหัสไปทางเดียวกันตามลำดับดังนี้ ORF1 (*acnAc*) มีลำดับกรดอะมิโนที่มีความเหมือน 76% กับ α subunit ของไดออกซิจีเนสใน *Xanthobacter* sp. สายพันธุ์ 127W ORF2 (*acnAd*) มีลำดับกรดอะมิโนที่มีความเหมือน 60% กับ β subunit ของไดออกซิจีเนสใน *Xanthobacter* sp. สายพันธุ์ 127W ORF3 (*acnAb*) มีลำดับกรดอะมิโนที่มีความเหมือน 71% กับเฟอร์ริดอกซินของไดออกซิจีเนสใน *Xanthobacter* sp. สายพันธุ์ 127W ORF4 (*acnB*) มีลำดับกรดอะมิโนที่มีความเหมือน 67% กับไดไฮโดรไดออกซิติไฮโดรจีเนสใน *Xanthobacter* sp. สายพันธุ์ 127W ORF5 (*acnF*) เป็นกรอบอ่านรหัสเปิดที่ไม่สมบูรณ์ มีลำดับกรดอะมิโนที่มีความเหมือน 65% กับอัลติไฮดริไฮโดรจีเนสใน *Burkholderia* sp. สายพันธุ์ RP007 การศึกษานี้เป็นรายงานแรกที่ได้กล่าวถึงยีนประมวลรหัสไดออกซิจีเนสที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายอะซีแนพริลีนใน *Rhizobium* sp. CU-A1 คือ ยีน *acnAbAcAd*

TE 156441

Genes encoding dioxygenase for acenaphthylene degradation from a transposon Tn5-induced *Rhizobium* sp. mutant strain D2, which is incapable of acenaphthylene degradation, were identified by Southern hybridization technique using transposon Tn5 fragment as DNA probe. DNA fragment with positive signal was isolated and cloned. The nucleotide sequence adjacent to transposon was sequenced. Comparison of amino acid sequence deduced from 523 bp nucleotide sequence with those in GenBank revealed 69% amino acid sequence homology to α subunit of dioxygenase from *Xanthobacter polyaromaticivorans* strain 127W. DNA-probe was generated from the DNA fragment adjacent to transposon by PCR. The 5.9 kb *Bam*HI-*Eco*RI positive fragment was cloned into pBluescript KS(+/-) and designated as pDE. The 5.9 kb nucleotide sequence revealed 5 Open Reading Frames (ORFs) in the same transcriptional orientation as following; ORF1 (*acnAc*) showed 76% homology to α subunit of dioxygenase from *Xanthobacter* sp. 127W; ORF2 (*acnAd*) showed 60% homology to β subunit of dioxygenase from *Xanthobacter* sp. 127W; ORF3 (*acnAb*) showed 71% homology to ferredoxin of dioxygenase from *Xanthobacter* sp. 127W; ORF4 (*acnB*) showed 67% homology to dihydrodiol dehydrogenase from *Xanthobacter* sp. 127W; ORF5 (*acnF*), an incomplete ORF, showed 65% homology to aldehyde dehydrogenase from *Burkholderia* sp. RP007. This study is the first report of genes, *acnAbAcAd*, encoding dioxygenase for acenaphthylene degradation in *Rhizobium* sp. CU-A1.