CLONING AND EXPRESSION IN ESCHERICHIA COLI OF A DELTA-ENDOTOXIN GENE OF BACILLUS THURINGIENSIS VAR. ISRAELENSIS

LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY
17 มี.ค. 2532

BY

THIRAWATTHANA KARNTHONG (B.Sc. in Biochemistry)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS

FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

(BIOCHEMISTRY)

IN THE

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

OF

MAHIDOL UNIVERSITY

1987

BANGKOK, THAILAND

อภินันทนาการ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย ม. มหิดล.

TH
T445C
1987
C.2

Copyright by Mahidol University

18050

บทคัดย่อ

จากการถ่ายทอดพันธุกรรมโปรตีนพิษ ๒๕ กิโลดาลตัน ของ Bacillus thuringiensis var. israelensis จาก DNA ของ recombinant สายพันธุ์ 1.5 โดยการย่อย DNA ด้วย Sau3AI อย่างไม่สมบูรณ์ ผลปรากฏว่าได้อนุพันธุ์ recombinant ขึ้นมาอีกสองสายพันธุ์ คือ F052 และ H043 DNA ของทั้งสองสายพันธุ์นี้มีแผนที่ของเอนไซม์ตัดจำเพาะที่คล้ายคลึงกัน อย่างไรก็ตาม recombinant ทั้งสองไม่มีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลาย (Aedes aegypti) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการที่ F052 สร้างโปรตีนพิษได้ไม่สมบูรณ์ และ H043 ไม่สามารถสร้างโปรตีนพิษขึ้นมาได้ ต่อความพยายามในการถ่ายทอดพันธุ์กรรมนี้ใหม่ โดยใช้ Bal31 nuclease ปรากฏว่าได้ recombinant ที่ชื่อว่า A136 ที่มีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุง แต่ทว่าเมื่อศึกษาในรายละเอียดต่อไป พบว่า A136 ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับ recombinant 1.5 และไม่สามารถสร้างโปรตีนพิษขนาด ๒๕ กิโลดาลตันได้ แต่ A136 กลับแสดงความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับ recombinant pMU388 หลักฐานนี้แสดงให้เห็นว่ามี DNA ของ pMU388 ปนเปื้อนมาในการถ่ายทอดพันธุกรรมเลยทำให้ได้ recombinant A136 ขึ้นมา

Copyright by Mahidol University

ABSTRACT

On attempt to subclone a recombinant DNA (clone 1.5) which contains 25 kDa delta-endotoxin gene of Bacillus thuringiensis var. israel--ensis (B.t.i.) ,3 interesting recombinants were obtained. F052 and H043 were derived from partial Sau3A I digestion of the precursor DNA. They carry a part of the delta-endotoxin gene , and their inserted DNA restriction endo--nuclease mapping are similar. Both recombinants are not toxic to Aedes aegypti larvae, this may be caused by the inability to express the delta-endotoxin gene of H043 and the production of incomplete delta-endotoxin proteins of F052. A recombinant, namely A136, was derived from Bal 31 digest--tion of the clone 1.5 DNA, its inserted DNA has no relationship to the 25 kDa delta-endotoxin gene containing clones, for example O3 and F052. A136 inserted DNA can hybridize with a 130 kDa delta-endotoxin carrying DNA, pMU388. In addition, A136 produces protein which have immunological relationship to the 130 kDa delta-endotoxin protein and A136 can exhibit mosquito larvicidal activity. Morover, upon restriction endonuclease mapping studies, A136 DNA has common restriction pattern to the pMU388. Thus, A136 may be derived from pMU388.

Copyright by Mahidol University