CHARACTERIZATION OF CLONED DNAs ISOLATED FROM THAI RICE

SOPAPAN ATICHARTPONGKUL

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(BIOCHEMISTRY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1993

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาดีเอ็นเอโคลนที่แยกได้จากข้าวไทย

ผู้วิจัย โสภาพรรณ อดิชาติพงศ์กุล

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

บุรชัย สนธยานนท์ , Ph.D.

สกล พันธุ์ยิ้ม , Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา ๒ พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

บทคัดย่อ

จากการศึกษาดีเอ็นเอโคลนหนึ่งซึ่งแยกได้จากห้องสมุดยีนของข้าวไทย สายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในห้องปฏิบัติการของเราครั้งก่อน พบว่ามีดีเอ็นเอบริเวณหนึ่งบนดีเอ็นเอโคลนนี้ที่สามารถไฮบริไดซ์กับอาร์เอ็นเอขนาด 1.5 กิโลเบส ให้ชื่อว่า gX5.7 ในการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอบริเวณศึกษาขนาด 2819 นิวคลีโอไทด์และเมื่อค้นหาดีเอ็นเอโคลนจากห้องสมุดชนิด cDNA ของข้าวชนิดเดียวกันในแลมบ์ด้า ZAPII โดยใช้ gX5.7 เป็นตัวค้นหาก็แยกได้ดีเอ็นเออีกโคลนหนึ่ง (C22) ซึ่งมีขนาด 655 นิวคลีโอไทด์โดยมีความคล้ายประมาณ 95.2 % กับดีเอ็นเอด้าน 3' ของชิ้น 1.3 กิโลเบส บน (EcoR I-Xho I) บน gX5.7 เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ ของทั้ง C22 และช่วง 2256 นิวคลีโอไทด์ของ gX5.7 ไปเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ ในฐานข้อมูล พบว่า 1484 นิวคลีโอไทด์ของ gX5.7 นับจากปลายด้าน 5' มี ความคล้ายประมาณ 72-74 % กับรหัสของยีนหน่วยเล็กของไรโบโซมอล อาร์เอ็นเอจากออร์แกเนลของพืชหลายชนิด และประมาณ 96.3 % กับยีนเดียวกันนี้ของ *Agrobacterium tumefaciens* และ C22 ให้ผลออกมาในทำนองเดียวกัน ส่วนรหัส ดีเอ็นเอที่ต่อจาก 1484 นิวคลีโอไทด์ที่คล้ายกับไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอนี้ประมาณ 300 นิวคลีโอไทด์ มีลำดับที่คล้ายคลึงกับอาร์เอ็นเอนำรหัสสำหรับกรดอะมิโนไอโซลิวซีนและอะลานีนตามลำดับ นอกจากความยาวและรหัสนิวคลีโอไทด์จะมีความคล้ายกับยีนหน่วยเล็กของไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอของคลอโรพลาสต์แล้ว การเรียงตัวของส่วนที่คาดว่าจะเป็นยีนนี้ ก็ยังคล้ายกับกลุ่มยีนไรโบโซมอล อาร์เอ็นเอ ในคลอโรพลาสต์ของพืชอีกด้วย แต่อย่างไรก็ดีจากผลในการทำไฮบริไดเซชั่นบนเซาเธอร์นบล็อทของจีโนมมิกดีเอ็นเอ, ดีเอ็นเอจากคลอโรพลาสต์ และ ดีเอ็นเอจากไมโตคอนเดรียของข้าวย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ Xho I ให้ผลซึ่งแสดงให้เห็นว่า gX5.7 เป็นดีเอ็นเอที่อยู่บนจีโนมของไมโตคอนเดรีย

Thesis title Characterization of Cloned DNAs Isolated from Thai Rice

Name Sopapan Atichartpongkul

Degree Master of Science

Thesis Supervisory Committee

Burachai Sonthayanon, Ph.D.

Sakol Panyim, Ph.D.

Date of Graduation 2 May B.E.2537 (1994)

ABSTRACT

A study of a rice DNA clone earlier isolated in our laboratory from a lambda GEM 11 based genomic DNA library of *indica* rice, variety Khao Dawk Mali 105 was conducted. One DNA region localized mainly on the 5.7 Kb Xho I fragment of the original DNA clone, called gX5.7, was found to hybridize to RNA species of 1.5 Kb in size. The DNA sequence of the entired region characterized was 2819 bp in length. Another additional short DNA clone, C22, was also isolated from a rice cDNA library, prepared from KDML 105 RNA in lambda ZAP II vector. Its DNA sequence of 655 bp long was determined and found homologous to the 3' end of a 1.3 Kb EcoR I-Xho I fragment of the putative gene on gX5.7 with a 95.2 % sequence identity. Nucleotide sequence comparison between 2256 bp region of gX5.7 and known DNA sequences in databases revealed that 1484 bp from the 5' end showed the presence of a putative gene which had around 72-74 % sequence identity with several plant organellar small subunit rRNA genes and 96.3 % to that of prokaryotic *Agrobacterium tumefaciens*. About 300 bp downstream from this region also revealed regions whose nucleotide sequences were similar to $tRNA^{Ile}$ and $tRNA^{Ala}$ genes, respectively. Apart from the

length and the nucleotide sequence, the arrangement of three putative genes (16S rRNA-tRNA^{Ile}-tRNA^{Ala}) was also the same as plant chloroplast rRNA genes clusters. However, result from Southern blot hybridization of rice Xho I digested total DNA, ctDNA, and mtDNA, suggested that gX5.7 existed in rice mitochondrial genome.