

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การโคลนยีนอัลฟาอะไมเลสจาก Bacillus amyloliquefaciens

ชื่อผู้เขียน นางสาวศศิธร บรรณเจดกิจ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิทธิโชค แสงโสภา ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ ไชยโรจน์ กรรมการ

อาจารย์ ดร.ไพโรจน์ กิจจนะพานิช กรรมการ

บทคัดย่อ

การโคลนยีนอัลฟาอะไมเลสจาก Bacillus amyloliquefaciens H สามารถทำโดยย่อยโครโมโซมของแบคทีเรียดังกล่าวแบบ partial digestion ด้วย เรสตริกชันเอนโดนิวคลีเอส Mbo I แล้วเชื่อมชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้เข้าที่จุดตัด Bam HI ของพลาสมิด pFL1 โดยอาศัยเอนไซม์ T<sub>4</sub> DNA ligase นำพลาสมิดลูกผสมที่ได้ทรานสฟอร์ม เข้าสู่เซลล์ Escherichia coli C-600 คัดเลือกทรานสฟอร์มแมนท์ที่ได้รับพลาสมิดลูกผสมรวบรวมเป็นแหล่งยีนและตรวจสอบโดยย่อยด้วย Eco RI และ Pst I จากนั้นแยกโคลนที่มียีนอัลฟาอะไมเลส โดยดูการสร้างเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสออกมาย่อยแป้งทำให้เกิดวงใสรอบโคโลนีบนอาหาร LB ที่มีแป้ง 1%

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

Thesis Title Cloning of the  $\alpha$  -Amylase Gene of Bacillus amyloliquefaciens

Author Miss Sasitorn Bunjerdkit

M.Sc. Biology

Examining Committee :

Assist. Prof. Dr.Siddhichoke Sangsoda Chairman

Assoc. Prof. Dr.Griangsak Chairrote Member

Lecturer. Dr.Pairoje Kijjanapanich Member

#### Astract

The  $\alpha$  -Amylase gene of Bacillus amyloliquefaciens H was able to be cloned by partial digestion of its chromosomal DNA with restriction endonuclease Mbo I. The resulting DNA fragments have been ligated with Bam HI-digested plasmid pFL1 by T<sub>4</sub> DNA ligase. The recombinant plasmids have been transformed into Escherichia coli C-600. The transformants containing the recombinant plasmid have been collected to construct genomic library and tested with Eco RI and Pst I digestions. Transformants containing -Amylase gene have subsequently been identified by production of -Amylase enzyme resulting colonies with clear zones on LB medium containing 1% soluble starch.