

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาคุณสมบัติของยีน *mcsA* จากเชื้อ *Staphylococcus aureus* โดย *McsA* ในเชื้อ *S. aureus* เป็นโปรตีนที่มี metal binding domain ที่มี CxxC motif 4 domain อยู่ที่ N-terminal และทำหน้าที่ควบคุมกลไกการตอบสนองต่อ stress ในแบคทีเรีย *McsA* ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของ repressor โปรตีน *ctsR* ในแบคทีเรีย *S. aureus* พบว่า *ctsR* operon ประกอบด้วยยีน *ctsR*, *mcsA*, *mcsB* และ *clpC* และเมื่อศึกษาการแสดงออกของยีนใน *ctsR* operon หลังกระตุ้นเซลล์ด้วยโลหะหนักพบว่ายีน *mcsA* และ *mcsB* จะมีการแสดงออกเพิ่มขึ้นตอบสนองต่อโลหะ copper, cobalt, cadmium และ zinc เมื่อนำยีน *mcsA* มาโคลนและผลิตโปรตีนรีคอมบิแนนท์ของ *McsA* เพื่อนำมาศึกษาคุณสมบัติการจับกับโลหะหนักพบว่าโปรตีนรีคอมบิแนนท์ของ *McsA* สามารถจับกับโลหะหนัก CuCl_2 , ZnCl_2 , CdCl_2 และ CoCl_2 การทำ site directed mutagenesis เพื่อเปลี่ยนกรดอะมิโนที่ Cysteine residues ไปเป็น Alanine ที่ตำแหน่ง Cys^{3, 6, 29, 31, 104, 107} ของ CxxC motif ใน 3 metal binding domain ของ *McsA* พบว่า การจับของ CXXC motif กับโลหะหนักแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันโดยพบว่าการจับของ *McsA* กับ Copper ต้องการเพียง 1 CXXC motif เมื่อศึกษาการทำปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีนโมเลกุลโดยวิธี bacterial two-hybrid system พบว่าโปรตีน *McsA* สามารถปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *McsB* และ *CtsR* โดย CxxC motif ของ *McsA* มีความสำคัญในการจับ จากข้อมูลในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า Cys residues ใน CxxC motif ของ *McsA* เกี่ยวข้องกับการจับโลหะหนักและปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน และอาจทำหน้าที่สำคัญในรับสัญญาณจากโลหะหนักและเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อโลหะหนักในเซลล์

คำหลัก: *ctsR* regulon, modulator of *ctsR* gene, CXXC motifs, thiol-cysteine residues, metal binding domain, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

McsA from *Staphylococcus aureus* was characterized. McsA protein is a modulator of stress response that contained four metal binding domains (CxxC motif) at the N-terminal and functions as a modulator that regulates CtsR repressor. In *S. aureus*, *ctsR* operon codes for a putative *ctsR*, *mcsA*, *mcsB* and the downstream *clpC* gene. The expression of *ctsR* operon was determined in response to heavy metals and shown that *mcsA* and *mcsB* are induced in response to some extent by copper, cobalt, cadmium, and zinc. McsA was cloned, expressed and purified and tested for the metal binding activity. It was shown that the protein can bind to Cu (II), Zn (II), Co (II) and Cd (II). Site directed mutagenesis of Cys residue^{3, 6, 29, 31,104.107} in the CxxC motif to Ala of three metal binding domains of McsA shown that two conserved cysteine ligands provided by one CxxC motifs is important to bind one copper ion. In addition, bacterial two-hybrid system shown that McsA was able to bind McsB and CtsR of *S. aureus* and CxxC motif is important in the binding. This data indicates that these Cys residues in the CxxC motif might be involved in metal binding and may have an important role in metal induced signaling system and involve in intracellular metal stress response mechanism.

Keywords: *ctsR* regulon, modulator of *ctsR* gene, CXXC motifs, thiol-cysteine residues, metal binding domain, *Staphylococcus aureus*