

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5580025

ชื่อโครงการ : การจำแนกเชื้อสเตรปโตคอคคัสมีวแทนส์ที่มีความบกพร่องในการแสดงออกของโปรตีนแอนติเจนโดยวิธีมัลติโลคัสซีควเอนซ์หัยปิง

ชื่อนักวิจัย : ผศ. ดร. ทพญ. จินตนา ลภีรัตนกุล

E-mail Address : jinthana.lap@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

เชื้อสเตรปโตคอคคัสมีวแทนส์แบ่งออกเป็น 4 ซีโรไทป์ คือซีโรไทป์ซี อี เอฟ และเค เชื้อชนิดนี้มีโปรตีนแอนติเจน ซึ่งเป็นโปรตีนขนาดประมาณ 190 กิโลดาลตันที่ผิวเซลล์ โปรตีนดังกล่าวมีความสำคัญต่อกระบวนการเริ่มยึดเกาะของเชื้อที่ผิวฟัน ในการศึกษาครั้งนี้เราใช้การวิเคราะห์โดยเทคนิคเวสเทิร์นบลอตเพื่อตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนแอนติเจนในเชื้อสเตรปโตคอคคัสมีวแทนส์ จำนวน 750 สายพันธุ์ซึ่งแยกได้จากอาสาสมัครคนไทย 150 คน และพบความผิดปกติในการแสดงออกของโปรตีนดังกล่าวใน 7% ของเชื้อที่ทำการทดสอบ เชื้อในซีโรไทป์เคเป็นเชื้อซึ่งตรวจพบความผิดปกติดังกล่าวมากที่สุด (42%) รองลงมาคือซีโรไทป์เอฟ (41%) แต่ความผิดปกติดังกล่าวพบได้น้อยมากในเชื้อในซีโรไทป์ซี (3%) และอี (5%) การทดสอบทางสถิติแสดงให้เห็นว่าความชุกของความผิดปกติในการแสดงออกของโปรตีนแอนติเจนของเชื้อในซีโรไทป์เอฟและเคมีค่ามากกว่าเชื้อในซีโรไทป์ซีและอีอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.001$) นอกจากนั้นเรายังตรวจพบความหลากหลายของรูปแบบความผิดปกติซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 แบบคือ แบบ N1 ตรวจไม่พบการแสดงออกของโปรตีนแอนติเจนทั้งในตัวอย่างเซลล์เชื้อและซูเปอร์นาแทนท์ แบบ N2 ตรวจพบการแสดงออกของโปรตีนแอนติเจนเป็นหลักในซูเปอร์นาแทนท์ของเชื้อ และแบบ W ตรวจพบการแสดงออกของโปรตีนแอนติเจนเฉพาะในตัวอย่างเซลล์เชื้อแต่ในระดับต่ำกว่าปกติ เมื่อนำเอาซีโรไทป์ของเชื้อมาประกอบการพิจารณา จะพบว่าเชื้อในซีโรไทป์เคมีความผิดปกติในการแสดงออกแบบ N1 เท่านั้น ในขณะที่เชื้อในซีโรไทป์อื่นๆมีความผิดปกติหลายรูปแบบประกอบกัน สำหรับสาเหตุของความผิดปกติในแต่ละรูปแบบนั้น แบบ N1 เกิดจากความผิดปกติในลำดับนิวคลีโอไทด์ รวมถึงกระบวนการทรานสคริปชันของจีโนมผลิตโปรตีนแอนติเจน ส่วนความผิดปกติแบบ N2 เกิดจากความผิดปกติในลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมผลิตเอนไซม์ซอร์เตส สำหรับความผิดปกติแบบ W มาจากการสร้างเอ็มอาร์เอ็นเอของจีโนมผลิตโปรตีนแอนติเจนในระดับต่ำกว่าปกติ จากการศึกษาโดยวิธีมัลติโลคัสซีควเอนซ์หัยปิง เราพบโคลนของเชื้อสเตรปโตคอคคัสมีวแทนส์ที่มีความผิดปกติในการ

แสดงออกของโปรตีนแอนติเจน พบว่าสายพันธุ์เชื้อประมาณ 65-100% ซึ่งจัดอยู่ในโคลนดังกล่าวมีความผิดปกติในการแสดงออกของโปรตีนชนิดนี้ ยังพบอีกว่าซีโรไทป์ของเชื้อในโคลนเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นซีโรไทป์เอฟและเค ดังนั้นโดยสรุป การศึกษานี้อธิบายถึงสาเหตุของความผิดปกติในการแสดงออกของโปรตีนแอนติเจนในเชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนส์ และผลจากการศึกษายังเน้นย้ำให้เห็นถึงความสัมพันธ์ใกล้ชิดในรูปแบบโคลนเชื้อของเชื้อซึ่งมีความผิดปกติเกี่ยวกับโปรตีนแอนติเจน และเชื้อในซีโรไทป์เอฟและเค

คำหลัก : เชื้อสเตรปโตคอคคัสมิวแทนส์ โปรตีนแอนติเจนขนาด 190 กิโลดาลตัน ความผิดปกติในการแสดงออก ซีโรไทป์ มัลติโลคัสซีควเอนซ์ไทป์

Abstract

Project Code : MRG5580025

Project Title : Multilocus sequence typing analysis of *Streptococcus mutans* strains with defect of protein antigen expression

Investigator : Assistant Professor Dr. Jinthana Lapirattanakul

E-mail Address : jinthana.lap@mahidol.ac.th

Project Period : 2 years

Streptococcus mutans is classified into four serotypes, *c*, *e*, *f*, and *k*. *S. mutans* possesses 190 KDa cell-surface protein named protein antigen (PA) for initial binding of its cell to tooth surface. In this study, we used Western blot analysis to determine PA expression of 750 *S. mutans* strains from 150 Thai subjects and found that 7% of the strains showed the altered PA expression. The highest prevalence of defect was detected in serotype *k* (42%), followed by serotype *f* (41%). In contrast, the defect was rare in serotype *c* (3%) and *e* (5%). The prevalence of PA expression defect in serotypes *f* and *k* was significantly greater than in serotypes *c* and *e* ($P < 0.001$). In addition, the defect patterns were diverse, which were classified into three types; no PA expression on whole bacterial cells and in their supernatant samples (Type N1), PA expression mainly seen in supernatant samples (Type N2), and only low expression of PA found from the samples of whole bacterial cells (Type W). When the serotypes of isolates were taken to be considered, *S. mutans* with serotype *k* showed only the Type N1 defect and mixed types of defect were detected from non-serotype *k* strains. The underlying reasons for defect were proven to be defects in nucleotide alignment of gene encoding PA as well as the transcriptional process of this gene for Type N1, defects in nucleotide alignment of gene encoding sortase (*srtA*) for Type N2, and low mRNA expression of PA for Type W. Moreover, multilocus sequence typing (MLST) could reveal clones of *S. mutans* with PA expression defect. Approximately 65-100% of strains located in these clones showed altered PA expression, and most of the strains in these clones were serotypes *f* and *k*. In conclusion, we described the causes regarding variation defects of PA expression in *S.*

mutans. Furthermore, we also emphasized the strong association between PA expression defect and serotypes *f* and *k* *S. mutans* as well as the clonal relationship among these strains.

Keywords : *S. mutans*, 190-kDa Protein Antigen, expression defect, serotype, MLST