สัญญาเลขที่ RSA 4780017

โครงการ: การศึกษาระบบ Quorum Sensing ของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei*

รายงานฉบับสมบูรณ์

บทคัดย่อ

เชื้อ *Burkholderia pseudomallei* เป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ทำให้เกิดโรคเมลิออยโดซิส เมื่อติดเชื้อเฉียบพลันก็มีความรุนแรง และยังแสดงการติดเชื้อเรื้อรัง เหมือนเชื้อวัณโรค โดยเชื้อสามารถมีชีวิตรอดภายในเซล phagocyte งานวิจัยนี้ศึกษากลไกที่ควบคุมการแสดงของเชื้อ เช่น virulence factors และกลไกที่ทำให้เชื้ออยู่รอดในเซลได้ โดยศึกษาระบบควบคุมการแสดงออกของยีน โดยการรับรู้ความหนาแน่นของหมู่คณะตน (quorum sensing) ด้วยการสร้างสารโมเลกุลขนาดเล็ก (autoinducer) โดยศึกษาระบบ Acyl Homoserine Lactone (AHL) ที่ยีน *bpsI* และ *bpsR* และระบบ Alkyl Hydro Quinolone (AHQ) ที่ยีน *hhqA* ได้พิสูจน์ชนิดของ AHL ที่สร้างด้วยโปรตีน BpsI คือ C8-HL พิสูจน์ว่าการแสดงออกของโปรตีน DpsA ซึ่งทำให้เชื้อสามารถทนต่อ oxidative stress ได้นั้น ถูกควบคุมโดยระบบ *bpsIR* แสดงให้เห็นว่ายีน *bpsR* มีส่วนสำคัญในการทำให้แบคทีเรียมีชีวิตอยู่รอดภายในเซล epithelial และ macrophage สำหรับระบบ AHQ พบว่าเชื้อ *B. pseudomallei* มียีน *pqsABCDE* homologue แต่ไม่มียีน *pqsH* homologue เลย ทำให้ไม่สามารถสร้าง PQS ได้ สร้างได้แต่สาร HHQ จึงตั้งชื่อยีนที่พบในเชื้อ *B. pseudomallei* ว่า *hhqABCDE* พิสูจน์ว่ายีน *hhqA* ทำหน้าที่ทดแทน ยีน *pqsA* ได้ โคโลนีของเชื้อที่ถูก knockout ยีน *hhq*A เหี่ยวย่นมากกว่าโคโลนีของ wild type และสาร HHQ เป็น negative regulation ของ elastase แต่การขาดยีน *hhqA* ไม่มีผลต่อการแสดงออกของ hemolysin, exoproteases, และ siderophores การเข้าใจกลไกของตัวเชื้อ *B. pseudomallei* ทำให้เข้าใจถึงกลไกพยาธิสภาพของโรคเมลิออยโดซิสมากขึ้น ซึ่งจะมีประโยชน์อย่างมากในการพัฒนาการป้องกันและรักษาผู้ป่วยโรคนี้

Abstract

Gram negative bacteria *Burkholderia pseudomallei* is causative agent of melioidosis. Acute infection is very virulent and chronic infection can be dormant as in tuberculosis. The bacteria can survive in phagocyte. This research investigated quorum sensing mechanisms for regulating the expression of virulence factors and intracellular survival. The Acyl Homoserine Lactone (AHL) with *bpsI* and *bpsR* genes the Alkyl Hydro Quinolone (AHQ) with *hhqA* were studied. BpsI was shown to synthesized C8-HL**.** DpsA, a protein that protect bacteria from oxidative stress was also shown to be under *bpsIR* control. We also showed that *bpsR* was essential for bacterial survival inside epithelial และ macrophage**.** In AHQ system, *B. pseudomallei* has *pqsABCDE* homologue lacks *pqsH* homologue which is the reason that it was unable to produced PQS but only HHQ. The *pqsABCDE* homologue thus named *hhqABCDE***. Gene** *hhqA* had shown to be functional homologue of *pqsA*. Colonies of *hhq*A-knockout strain is more wrinkle than those of the wildtype. HHQ was also shown to be negative regulation of elastase but lacking *hhqA* had no effect on expression hemolysin, exoproteases, and siderophores. Understanding of *B. pseudomallei* machinery will shed more insight into melioidosis pathogenesis and could be useful in development of prevention and treatment of the patients affected by this disease.