

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RSA5380004

ชื่อโครงการ การศึกษากลไกการควบคุมการแสดงออกของยีนโดยโปรตีน Irr และ RirA ของเชื้อแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* ในการตอบสนองต่อโลหะ
สภาวะ oxidative stress และ nitric oxide stress

ชื่อนักวิจัย ดร. รจนา สุขสวัสดิ์

E-mail address rojana@cri.or.th

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี

คำหลัก: *rirA*, *irr*, metal response, oxidative stress

การควบคุมระดับเหล็กภายในเซลล์ของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens* ถูกควบคุมโดยโปรตีน Irr (iron response regulator) และโปรตีน RirA (rhizobial iron regulator) โปรตีน Irr จะทำงานได้ในสภาวะที่มีเหล็กน้อยเนื่องจากโปรตีน Irr จะสลายตัวในสภาวะที่มีเหล็กมากในขณะที่แมงกานีสช่วยให้โปรตีน Irr ไม่ถูกสลายในสภาวะเหล็กสูง และในสภาวะที่มีแมงกานีสโปรตีน Irr ทำหน้าที่เป็นตัวกดการแสดงออกของยีน (repressor) ได้ดียิ่งกว่าสภาวะเหล็กต่ำ พบว่ากรดอะมิโนตำแหน่ง H44 H65 H92 H93 H94 และ H127 มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการทำหน้าที่ของโปรตีน Irr การแสดงออกของยีน *mbfA* (membrane bound ferritin A) ถูกควบคุมโดยโปรตีน Irr โปรตีน MbfA มีความสำคัญต่อความต้านทานของเซลล์ต่อสาร H_2O_2 โดยโปรตีน MbfA ทำหน้าที่ในการควบคุมปริมาณเหล็กและป้องกันเหล็กทำปฏิกิริยา Fenton ซึ่งจะก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ hydroxyl radical และเป็นพิษต่อเซลล์ โปรตีน RirA ทำหน้าที่ในสภาวะที่มีเหล็กสูงโดยกดการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการนำเหล็กเข้าเซลล์เพื่อป้องกันไม่ให้มีเหล็กมากเกินไปจนเป็นพิษกับเซลล์ โปรตีน Irr และโปรตีน RirA ทำหน้าที่ร่วมกันในการควบคุมการแสดงออกของกลุ่มยีน *sufS2BCDS1XA* ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการสร้าง Fe-S cluster พบว่าแบคทีเรียกลายพันธุ์ที่สูญเสียยีน *sufS2* จะโตช้ากว่าและมีความไวเพิ่มขึ้นต่อสาร Oxidants เมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียสายพันธุ์ปกติ แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของยีน *sufS2* ต่อความอยู่รอดของแบคทีเรีย *A. tumefaciens* นอกจากนี้ยังพบว่าโปรตีน RirA มีผลต่อการแสดงออกของยีนซึ่งเกี่ยวกับการตอบสนองต่อสภาวะ nitric oxide stress และความทนทานต่อ nitric oxide

Abstract

Project Code: RSA5380004

Project Title: Study of mechanisms of gene regulation mediated by *Agrobacterium tumefaciens* Irr and RirA proteins in response to metals, oxidative stress, and nitric oxide stress

Investigator: Dr. Rojana Sukchawalit

E-mail addresss rojana@cri.or.th

Project Period: 3 years

Keywords: *rirA*, *irr*, metal response, oxidative stress

Iron homeostasis in *Agrobacterium tumefaciens* is controlled by Irr (iron response regulator) and RirA (rhizobial iron regulator). Irr functions under low iron conditions since Irr is degraded in the presence of iron while manganese help stabilize Irr protein. Irr represses a membrane bound ferritin A gene (*mbfA*) under low iron conditions and to a stronger extent in the presence of manganese. Multiple mutation analysis reveals that amino acid residues H44, H65, the HHH motif (H92, H93 and H94) and H127 are important for the repressor function of Irr. MbfA plays an important role in protection against H₂O₂ possibly via sequestering iron and inhibiting Fenton reaction-mediated oxidative damage. In contrast to Irr, RirA functions under high iron conditions. The *A. tumefaciens* genome contains a cluster of genes that are predicted to encode Fe-S cluster assembly proteins, and this cluster is known as the *sufS2BCDS1XA* operon. The *suf* operon is negatively regulated by Irr and RirA under low and high iron conditions, respectively. Inactivation of *sufS2* gene encoding cysteine desulfurase led to a growth defect and hypersensitivity to various oxidants. These results suggested that the physiological function of *sufS2* could play an important role in the survival of free-living *A. tumefaciens* and in its interaction with hosts. The oxidant-induced expression of *sufS2* was controlled by Irr, RirA and an additional but not yet identified mechanism. RirA has an effect on the expression of nitric oxide responsive genes and affects the ability of *A. tumefaciens* to survive a NO-generating compound sodium nitroprusside.