

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ RSA5880010

ชื่อโครงการ การควบคุมและบทบาทของระบบขนส่งโลหะ ต่อความอยู่รอดและการก่อโรคของเชื้อ *Agrobacterium tumefaciens*

ชื่อนักวิจัย ดร. รจนา สุขสวัสดิ์

E-mail address rojana@cri.or.th

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี

คำหลัก: สังกะสี โคบอลต์ การรักษาสมดุล

Agrobacterium tumefaciens เป็นแบคทีเรียที่ก่อโรคมะเร็ง (crown gall tumor) ในพืช สังกะสีและโคบอลต์เป็นโลหะที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืชและแบคทีเรีย แต่หากมีโลหะภายในเซลล์เกินความจำเป็นจะเป็นพิษต่อเซลล์ได้ แบคทีเรีย *A. tumefaciens* มีกลไกการรักษาสมดุลของสังกะสีภายในเซลล์โดยอาศัยการควบคุมระบบนำเข้าและส่งออกของสังกะสี ในสภาวะที่ขาดแคลนสังกะสีแบคทีเรีย *A. tumefaciens* มีระบบนำเข้าสังกะสีที่สำคัญสองระบบคือ TroCBA และ ZnuABC โดยการทำงานของระบบ TroCBA มีความสำคัญอย่างมากและทำงานร่วมกับโปรตีน ZinT ในขณะที่ระบบ ZnuABC จะเป็นเหมือนระบบสำรองกรณีที่ TroCBA ไม่สามารถทำงานได้ตามปกติ เมื่อสังกะสีเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียแล้วการส่งต่อสังกะสีไปยังโปรตีนต่างๆโดยโปรตีน ZinT และ YciC ก็มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตในสภาวะที่ขาดแคลนสังกะสีเช่นกัน ในสภาวะที่มีสังกะสีมากเกินไปความต้องการของแบคทีเรีย โปรตีน Zur จะจับกับสังกะสีและทำหน้าที่ในการกดการแสดงออกของยีน *troCBA znuABC zinT* และ *yciC* เพื่อลดการนำสังกะสีเข้าเซลล์ ในขณะที่ โปรตีน ZntR เมื่อจับกับสังกะสีแล้วจะทำหน้าที่ไปกระตุ้นการแสดงออกของยีน *zntA* โดยโปรตีน ZntA จะทำหน้าที่ในการกำจัดสังกะสีออกนอกเซลล์ โคบอลต์เป็นโลหะจำเป็นซึ่งเป็นองค์ประกอบของวิตามินบี12 และโปรตีนหลายชนิด การมีปริมาณโคบอลต์มากเกินไปจะเป็นพิษกับเซลล์โดยก่อให้เกิดสารอนุมูลอิสระและกระทบต่อระบบควบคุมเหล็กภายในเซลล์ แบคทีเรีย *A. tumefaciens* มีกลไกลดระดับโคบอลต์โดยการขับโคบอลต์ออกด้วยโปรตีน DmeF การแสดงออกของยีน *dmeF* จะถูกกดโดยโปรตีน DmeR ในสภาวะที่ขาดแคลนโคบอลต์ เมื่อระดับโคบอลต์มีเกินความจำเป็นโคบอลต์จะไปจับกับโปรตีน DmeR และทำให้ไม่สามารถกดการแสดงออกของยีน *dmeF* เมื่อโปรตีน DmeF ถูกสร้างขึ้นก็เริ่มขับโคบอลต์ออกนอกเซลล์เพื่อรักษาระดับที่เหมาะสมของโคบอลต์ภายในเซลล์ของแบคทีเรีย

Abstract

Project Code: RSA5880010

Project Title: Regulation and role of transition metal transporters for the survival and virulence of *Agrobacterium tumefaciens*

Investigator: Dr. Rojana Sukchawalit

E-mail addresss rojana@cri.or.th

Project Period: 3 years

Keywords: zinc, cobalt, metal homeostasis

Both host and pathogen battle over access to essential metals including zinc and cobalt. However, metal overload is toxic to cells. Zinc homeostasis in *Agrobacterium tumefaciens* is maintained through controlling zinc uptake and zinc efflux systems. To survive under a wide range of zinc-deficient conditions, *A. tumefaciens* requires co-operation of Zur-regulated zinc acquisition systems, including two ABC-type zinc importers: TroCBA and ZnuABC and two zinc chaperones: ZinT and YciC. It was found that TroCBA and ZinT play dominant roles. While ZnuABC may function as a back-up system and is very important for supporting growth under zinc limitation when TroCBA is disrupted. When *A. tumefaciens* encounters conditions of severe zinc shortage, even if the high-affinity zinc uptake TroCBA and ZnuABC systems are still functioning, it need ZinT and YciC to effectively shuttle zinc ions to essential zinc-dependent proteins, in the periplasm and cytoplasm respectively, whose functions are required to cope with low-zinc stress. When intracellular zinc is overloaded, the complexes of Zn^{2+} with the zinc sensors are formed, Zur- Zn^{2+} and ZntR- Zn^{2+} . The Zur- Zn^{2+} complex represses the zinc uptake genes, whereas the ZntR- Zn^{2+} complex activates the zinc efflux gene, *zntA*. Consequently, the high-affinity zinc uptake systems, TroCBA and ZnuABC, are shut down, and excess zinc can be pumped out of the cytoplasm by a P_{1B} -type ATPase, ZntA. Cobalt is required by coenzyme B₁₂-dependent enzymes and several proteins. However, cobalt overload can cause cellular toxicity through catalyzing the generation of reactive oxygen species and leads to iron and glutathione depletion, thus disturbing iron homeostasis. To prevent intracellular cobalt overload-mediated toxicity, excessive amounts of cobalt are eliminated by DmeF (divalent metal efflux) protein. Transcription of *dmeF* gene is regulated by the transcriptional regulator DmeR. The binding of Co^{2+} causes conformational changes in DmeR resulting in dissociation from DNA, thus triggering the transcription of the *dmeF*.