Abstract

Project Code : TRG510003

Project Title : Transcription regulators for iron homeostasis in *Xanthomonas*

Investigator : Mayuree Fuangthong, Chulabhorn Research Institute

E-mail Address : mayuree@cri.or.th

Project Period : May 2008 to April 2010

Iron is essential in numerous cellular functions. Intracellular iron homeostasis must be maintained for cell survival and protection against iron's toxic effects. Here, we characterize the roles of *Xanthomonas campestris* pv. campestris (Xcc) *fur*, which encodes an iron sensor and a transcriptional regulator that acts in iron homeostasis, oxidative stress and virulence. Herein, we isolated spontaneous Xcc *fur* mutants that had high intracellular iron concentrations due to constitutively high siderophore levels. These mutants also had reduced aerobic plating efficiency and resistance to peroxide killing. Moreover, one *fur* mutant was attenuated on a host plant, thus indicating that *fur* has important roles in the virulence of *X. campestris* pv. campestris. We further characterize *iscR*, which encodes a transcriptional regulator of *suf* operon. The *suf* operon encodes proteins for the assembly of iron-sulfur (Fe-S) cluster, a key cofactor in multicellular processes including electron transfer, catalysis of metabolic reaction, nitrogen fixation and gene regulation. The transcriptional level of *sufBCDS* genes is upregulated in *iscR* mutant suggesting that IscR is a repressor of *suf* genes expression in *X. campestris* pv. *campestris*. Additional regulator of *suf* operon is investigated, and the expression is upregulated in *fur* mutant. This result suggests that Fur regulates *iscR* and *suf* operon. However, the regulation of *iscR* by Fur is in an indirect manner. The expression of *suf* operon is also found to increase in the presence of superoxide anion generator, therefore, providing evidence of the role of iron metabolism in oxidative stress response.

Keywords : Fur, IscR, *Xanthomonas*, plant pathogen, iron homeostasis

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG510003

ชื่อโครงการ: การศึกษา transcription regulators ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาสมดุลเหล็ก ของแบคทีเรีย *Xanthomonas*

ชื่อนักวิจัย: มยุรี เฟื่องทอง

E-mail Address : mayuree@cri.or.th

ระยะเวลาโครงการ: พฤษภาคม 2551 ถึง เมษายน 2553

โลหะเหล็กมีความสำคัญในกระบวนการต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต แต่เนื่องจากความเป็นพิษ สิ่งมีชีวิตจึงมีกลยุทธ์ในการรักษาสมดุลของเหล็ก แบคทีเรีย *Xanthomonas camperstris* pv *camperstris* มีโปรตีน Fur ซึ่งทำหน้าที่เป็น transcription regulator ที่ช่วยรักษาสมดุลของเหล็ก โดยกดการแสดงออกของยีน ที่ทำหน้าที่ในการนำเหล็กเข้าสู่เซลล์ ผู้วิจัยได้แยกสายพันธุ์กลาย ของยีน *fur* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีเหล็กปริมาณสูงในเซลล์ เนื่องจากมีการสร้างปริมาณ siderophore ซึ่งมีหน้าที่ในการนำเหล็กเข้าเพิ่มขึ้น สายพันธุ์กลายยีน *fur* ยังมีคุณสมบัติอื่นเช่น ความสามารถในการโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อในภาวะที่มีออกซิเจนลดลง และความสามารถ ในการต้านทานความเครียดออกซิเดชันลดลงด้วย คุณสมบัติที่สำคัญคือ สายพันธุ์กลาย *fur* ไม่สามารถก่อโรคในพืชได้ เป็นข้อบ่งชี้สำคัญว่า Fur มีบทบาทสำคัญ ต่อระดับความรุนแรง ของการก่อโรคของแบคทีเรียชนิดนี้ นอกจาก *fur* แล้ว อีกยีนหนึ่ง ที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับ การรักษาสมดุลเหล็กคือ ยีน *iscR* โปรตีน IscR ทำหน้าที่เป็น Transcription regulator ของยีนใน *suf* operon ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสร้าง iron-sulfur cluster iron-sulfur cluster เป็น cofactor ในกระบวนการต่างๆ มากมาย เช่น electron transfer เป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาเมตาบอลิสม การแสดงออกของยีน *iscR* เอง ถูกควบคุมด้วยโปรตีน Fur แต่เป็นการควบคุมโดยทางอ้อม เนื่องจากโปรตีน Fur ไม่สามารถจับกับส่วนโปรโมเตอร์จากยีน *iscR* ได้โดยตรง นอกจากนั้นแล้ว ยังพบว่า superoxide anion สามารถกระตุ้นการแสดงออกของ *suf* operon ได้ เป็นข้อบ่งชี้สำคัญอีกตัวหนึ่งที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างเมตาบอลิสมของเหล็ก และความสามารถในการต้านทานต่อภาวะเครียดออกซิเดชันในเซลล์

คำหลัก : Fur, IscR, *Xanthomonas*, plant pathogen, iron homeostasis