CHARACTERIZATION AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF *PPK* IN *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*

SUDA TUNPIBOONSAK

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2005

ISBN 974-04-6563-3
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษาคุณสมบัติและหน้าที่ของยีน *ppk* ในเชื้อ *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*
(CHARACTERIZATION AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF *PPK* IN *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*)

สุดา ตันพิบูลย์ศักดิ์ 4636719 SCBC/M

วท.ม. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : สุมาลี ตั้งประดับกุล, Ph.D., พรพิมล รงค์นพรัตน์, Ph.D., พจนีย์ ศรีมาโนช

บทคัดย่อ

Burkholderia pseudomallei เป็นแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบ เป็นสาเหตุของการก่อโรคเมลิออยโดซิส ในประเทศไทยพบระบาดมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคหลายชนิด หนึ่งในหลายปัจจัย คือ ความสามารถในการเคลื่อนที่ได้ ซึ่งเป็นสิ่งที่เพิ่มความอันตรายของอาการที่เกิดจากเชื้อนี้ ในการศึกษานี้ได้ทำการวิจัยยีน *ppk* ในเชื้อ *B. pseudomallei* ซึ่งทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ inorganic polyphosphate ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้าง ATP สารพลังงานสูง ยีน *ppk* ถูกพบในแบคทีเรียหลายสปีชีส์ โดยเฉพาะแบคทีเรียก่อโรครวมทั้งใน *B. pseudomallei* เมื่อนำลำดับกรดอะมิโนของยีน *ppk* ในเชื้อ *B. pseudomallei* ได้ถูกนำมาเปรียบเทียบสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น พบว่ามีความเหมือนกับลำดับกรดอะมิโน PPK ในเชื้อ *B. mallei* 99% เพื่อที่จะทำการศึกษาหน้าที่ความสำคัญของยีน *ppk* ในเชื้อ *B. pseudomallei* ยีน *ppk* ได้ถูกทำ mutation เพื่อสร้างเชื้อแบคทีเรีย *B. pseudomallei ppk* mutant และใช้ทำ การศึกษาหน้าที่การตอบสนองต่อการเคลื่อนที่เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พบว่า *ppk* mutant ไม่สามารถเคลื่อนที่ทั้งบน swimming agar และ swarming agar แต่ไม่พบความแตกต่างทั้งสายพันธุ์แม่และ *ppk* mutant ในการทดสอบบน twitching agar

112 หน้า ISBN 974-04-6563-3

CHARACTERIZATION AND FUNCTIONAL ANALYSIS OF *PPK* IN *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*

SUDA TUNPIBOONSAK 4636719 SCBC/M

M.Sc.(BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS: SUMALEE TUNGPRADABKUL Ph.D., PORNPIMOL RONGNOPARAT Ph.D., POTJANEE SRIMANOTE Ph.D.

ABSTRACT

Burkholderia pseudomallei, a motile rod Gram-negative bacteria, is the causative agent of melioidosis. It is able to infect through colonization, invasion, survival and growth inside the host cell. Bacterial motility is crucial for their survival in a natural environment and for systemic infection inside a host, the dependence for motility on PPK enzyme reveals important roles for poly P in diverse processes such as virulence, biofilm formation and symbiosis in *Pseudomonas aeruginosa*. Recent availability of the genome sequence of *B. pseudomallei* has revealed that a large core set of genes from the *ppk* gene are conserved as a domain in several species of bacteria. The analyzed sequence showed 99 % amino acid identity to *B. mallei* in other bacteria. To study the role of the *ppk* gene in *B. pseudomallei*, a *ppk* mutant was constructed and analyzed in its response to motility assays in comparison with the parent strain. The mutant was more defective in swimming motility and swarming motility than the parent strain. There was no significant difference in twitching motility in both the *ppk* mutant and parent strain. The lack of *ppk* in *B. pseudomallei* caused a difficulty in moving because the bacteria were unable to use flagella to swim or swarm. Our data suggests that *ppk* may be an important mediator of the motility in terms of *in vitro* testing and should be investigated *in vivo* in future to explain the role of *ppk* in *B. pseudomallei* virulence.

KEY WORDS: *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* / POLYPHOSPHATE KINASE / MOTILITY ASSAY

112 P. ISBN 974-04-6563-3