

**CHARACTERIZATION OF TRANSCRIPTION FACTOR
SIGMA 54 IN *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI***

MYA MYINTZU HLAING

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(MEDICAL TECHNOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

ISBN 974-04-7696-1

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษาคุณลักษณะและหน้าที่ของทรานสคริปชันแฟกเตอร์ ซิกมา 54 ในเชื้อแบคทีเรีย
 สูโดมาเลีย (BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI)
 CHARACTERIZATION OF TRANSCRIPTION FACTOR SIGMA 54 IN
 BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI

MYA MYINTZU HLAING 4737318 MTMT/M

วท. ม. (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: กนกวรรณ กิตตินิยม, Ph.D., พจนีย์ ศรีมาโนชญ์, Ph.D.,
 วิจิตร วงศ์ล้ำชา, Ph.D., ณัฐพงษ์ วงศ์จินดานนท์, Ph.D.

บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย สูโดมาเลีย (*Burkholderia pseudomallei*) เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อเมลลิออยโดสิส (Melioidosis) ที่มีความรุนแรงถึงแก่ชีวิตทั้งในคนและสัตว์ โรคนี้มีกระบาดในเขตร้อนชื้นและบริเวณรอยต่อระหว่างเขตร้อนชื้นกับเขตอบอุ่น กลไกการก่อโรคของเชื้อนี้ยังไม่เป็นที่ทราบชัดเจน การถอดรหัสของสายดีเอ็นเอไปเป็นสายอาร์เอ็นเอเพื่อกำหนดการสร้างโปรตีนจำเป็นต้องใช้เอนไซม์อาร์เอ็นเอโพลิเมอเรสคอมเพล็กซ์ เอนไซม์นี้ประกอบไปด้วยองค์ประกอบย่อย 5 ส่วนด้วยกัน คือ แอลฟาหนึ่ง แอลฟาสอง บีตา บีตาไพร์ม และทรานสคริปชันแฟกเตอร์ซิกมา ในเชื้อแบคทีเรียกรัมลบซิกมา 54 (RpoN) นี้มีหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนในกระบวนการเมตาบอลิซึมสารอาหารจำพวกไนโตรเจนและกรดอะมิโน หน้าที่ของซิกมา 54 สังเคราะห์โดยที่เชื้อแบคทีเรีย สูโดมาเลียยังไม่มีที่ทราบ วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณลักษณะและหน้าที่ของซิกมา 54 (RpoN2_{Bp}) ที่กำหนดโดยยีนบนโครโมโซมที่สองของเชื้อนี้ โดยการผ่าเหล่าและคอมพลิเมนต์แซนแอสเสย์ การศึกษานี้ประสบความสำเร็จในการโคลนยีน *rpoN2_{Bp}* แต่ไม่สามารถทำการผ่าเหล่ายีน *rpoN2_{Bp}* ในเชื้อแบคทีเรีย สูโดมาเลียโดยวิธี insertion duplication ได้ โดยคอมพลิเมนต์แซนแอสเสย์พบว่า RpoN2_{Bp} มีบทบาทในการควบคุมกระบวนการใช้สารอาหารจำพวกไนโตรเจนและกรดอะมิโนเนื่องจากการคอมพลิเมนต์เชื้ออีโคไลสายพันธุ์ที่มีการผ่าเหล่ายีน *rpoN* ด้วยรีคอมบิแนนท์พลาสมิดที่มียีน *rpoN2_{Bp}* เป็นผลให้เชื้อนี้สามารถกลับไปใช้สารอาหารจำพวกไนโตรเจนและกรดอะมิโนเกือบทุกชนิดยกเว้นวาซีนได้ เช่นเดียวกับที่พบในเชื้อชนิดไวต์ไทป์แม้ว่าจะพบความแตกต่างของอัตราการใช้สารอาหารอยู่บ้าง ในอนาคตควรมีการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มความเข้าใจในการควบคุมการทรานสคริปชันของยีนต่างๆ และยีนที่เกี่ยวข้องกับการก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย สูโดมาเลียโดย RpoN2_{Bp}

KEYWORDS: MELIOIDOSIS/ BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI/ SIGMA FACTOR 54/ NITROGEN UTILIZATION/ ESCHERICHIA COLI

CHARACTERIZATION OF TRANSCRIPTION FACTOR SIGMA 54 IN
BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI

MYA MYINTZU HLAING 4737318 MTMT/M

M.Sc. (MEDICAL TECHNOLOGY)

THESIS ADVISORS: KANOKWAN KITTINIYOM, Ph.D., WIJIT
WONGLUMSOM, Ph.D., NUTTAPONG WONGJINDANON, Ph.D. POJANEE
SRIMANOTE, Ph.D.

ABSTRACT

Burkholderia pseudomallei is the causative agent of melioidosis which is an endemic serious infectious disease of human and animals in tropical and subtropical areas. The mechanisms whereby this organism causing the disease are only partly understood. The transcription process for gene expression requires RNA polymerase complex which is composed of α , β , β' , ω and σ subunits. Transcription factor sigma 54 (σ^{54}) is required for the expression of nitrogen utilization genes in gram negative bacteria. The function of the *B. pseudomallei* chromosome 2 encoded- σ^{54} (RpoN2_{Bp}) was investigated. *B. pseudomallei* *rpoN2* gene was successfully cloned. Attempts to construct *rpoN2* mutant by insertion duplication mutagenesis were unsuccessful. The function of RpoN2_{Bp} in controlling nitrogen and amino acids utilization was examined using complementation assays. The *Escherichia coli* *rpoN* mutant complemented with plasmid containing *rpoN2*_{Bp} restored most of its wild type nitrogen utilization phenotypes with some degree of difference. Only valine utilization could not be compensated in *E. coli* *rpoN* mutant derivatives. Further studies are still required to fully understand the role of *B. pseudomallei* *rpoN* in the control of gene expression in nitrogen and amino acids utilization.

KEYWORDS: MELIOIDOSIS/ BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI/ SIGMA
FACTOR 54/ NITROGEN UTILIZATION/ ESCHERICHIA COLI

86 P. ISBN 974-04-7696-1