IDENTIFICATION OF GENE EXPRESSION UNDER OXIDATIVE STRESS VIA SIGMA S REGULATION IN *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*

WITAWAT JANGIAM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIRMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
(BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2008

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

การสืบหายีนที่แสดงออกภายใต้ความเครียดของออกซิเดทีฟผ่านการควบคุมโดย SIGMA S ใน *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* (IDENTIFICATION OF GENE EXPRESSION UNDER OXIDATIVE STRESS VIA SIGMA S REGULATION IN *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*)

วิทวัส แจ้งเอี่ยม 4536146 SCBC/D

ปร.ด. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : สุมาลี ตั้งประดับกุล, Ph.D. (Molecular Biology) , พรพิมล รงค์นพรัตน์, Ph.D. (Biological Sciences) , สุวิทย์ ล้อประเสริฐ, Ph.D. (Biotechnology)

บทคัดย่อ

Burkholderia pseudomallei ซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อโรคเมลิออยโดซิส กระบวนการในการอยู่รอดในสภาวะขาดอาหารและการปรับตัวในสภาวะความเครียดของออกซิเดทีฟในเชื้อชนิดนี้ยังไม่มีผู้ใดทำการศึกษา การศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อชนิดนี้เมื่อขาดยีน *rpoS* จะทำให้เชื้อชนิดนี้ไม่ทนต่อสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งแสดงให้เห็นว่า RpoS มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อชนิดนี้ในสภาวะความเครียดของออกซิเดทีฟ การดูการแสดงออกของยีน *rpoS* แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีน *rpoS* เพิ่มขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นด้วยสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เมื่อเชื้อกำลังจะเข้าสู่สภาวะขาดอาหาร จากการทดลองพบว่า RpoS เกี่ยวข้องกับการควบคุมยีนที่สร้างขึ้นเพื่อป้องกันเซลล์จากสภาวะความเครียดของออกซิเดทีฟ ซึ่งได้แก่ *katG*, *katE* และ *dpsA* โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวข้องกับระบบควบคุม OxyR ซึ่งเป็นระบบที่ควบคุมยีนในสภาวะความเครียดของออกซิเดทีฟอีกตัวหนึ่ง โดยสรุปแล้วการแสดงออกของยีน *oxyR* จะอาศัย RpoS ในการกระตุ้นการแสดงออก ซึ่งจะไปกระตุ้นการแสดงออกของยีน *dpsA* และ *katG* ในสภาวะความเครียดของออกซิเดทีฟ และไปยับยั้งการแสดงออกของยีน *katG* ในสภาวะปกติ

116 หน้า

Copyright by Mahidol University

IDENTIFICATION OF GENE EXPRESSION UNDER OXIDATIVE STRESS VIA SIGMA S REGULATION IN *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*

WITAWAT JANGIAM 4536146 SCBC/D

Ph.D.(BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISOR : SUMALEE TUNGPRADABKUL, Ph.D.(MOLECULAR BIOLOGY), PORNPIMOL RONGNOPARUT, Ph.D. (BIOLOGICAL SCIENCES) AND SUVIT LOPRASERT, Ph.D. (BIOTECHNOLOGY)

ABSTRACT

Burkholderia pseudomallei is the causative agent of melioidosis. The mechanisms controlling *B. pseudomallei* survival in stationary phase of growth and adaptibility in oxidative stress conditions have not been investigated. A previous study has shown that *B. pseudomallei rpoS* mutant is more sensitive to hydrogen peroxide than the wild type strain suggesting that the RpoS may play a critical role in resistance to oxidative stress. Analysis of *rpoS* gene expression by β-galactosidase activity assay indicated that *rpoS* was activated when *B. pseudomallei* was exposed to hydrogen peroxide on entry into the stationary phase. Native gel electrophoresis and staining of catalase activity showed that there were two types of catalases (I and II). This study indicates that RpoS is involved in the regulation of oxidative related genes, such as *katG* (catalase I), *katE* (catalase II) and *dpsA* (nonspecific DNA-binding protein), and it is also involved in the regulation of the oxidative stress regulator (OxyR). The results indicate that under oxidative stress conditions the up-regulation of *oxyR* by RpoS enables *B. pseudomallei* to induce the up-regulation of *dpsA* and *katG* and also to induce the down-regulation of *katG* in normal growth condition.

KEY WORDS : *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* / RPOS / OXYR / CATALASE / KATG / KATE / DPSA

116 P.

Copyright by Mahidol University