

**A ROLE OF *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* FLAGELLA  
AS A VIRULENT FACTOR**



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

**2008**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

บทบาทของแฟลกเจลลาในการก่อความรุนแรงของเชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* ฝักเจลลา  
(A ROLE OF *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* FLAGELLA AS A VIRULENT FACTOR)

ทิพมาศ ช่วยเกิด 4636456 SCMI/M

วท.ม.(จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: พงศ์ศักดิ์ อุทัยสินธุเจริญ, Ph.D., สติติย์ สิริสิงห, D.M.D, Ph.D., สุมาลี ตั้งประดับกุล, Ph.D.

**บทคัดย่อ**

เชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* เป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคmelioidosis เชื้อชนิดนี้มีความคล้ายคลึงกับเชื้อแบคทีเรีย *B. thailandensis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าภายในบริเวณที่ผันแปรได้ของยีนแฟลกเจลลาของเชื้อ *B. thailandensis* มีส่วนที่ขาดหายไปสิบห้าเบสเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *B. pseudomallei* ซึ่งส่วนที่ขาดหายไปนี้อาจเกี่ยวข้องกับการก่อความรุนแรงของโรค การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการรุกรานและการกระตุ้น NF-κB ต่อเซลล์ phagocyte และเซลล์ nonphagocyte โดยเชื้อห้าสายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อ *B. pseudomallei*, เชื้อ *B. thailandensis*, เชื้อ *B. pseudomallei* MM35 ที่ทำการทำลายส่วนแฟลกเจลลา, เชื้อ *B. pseudomallei* Cp ที่ทำการต่อเติมส่วนแฟลกเจลลากลบเข้าไปให้สมบูรณ์โดยใช้แฟลกเจลลาของเชื้อ *B. pseudomallei* เอง และเชื้อ *B. pseudomallei* Ct ที่ต่อเติมโดยใช้แฟลกเจลลาของเชื้อ *B. thailandensis* จากการศึกษาพบว่า แฟลกเจลลามีส่วนช่วยในการรุกรานของเชื้อต่อทั้งเซลล์ phagocyte และเซลล์ nonphagocyte โดยช่วยนำพาเชื้อไปสู่เซลล์เจ้าบ้าน แต่ส่วนต่างภายในแฟลกเจลลาของเชื้อ *B. pseudomallei* และ *B. thailandensis* นั้น ไม่ได้มีส่วนช่วยในการรุกรานของเชื้อ *B. pseudomallei* นอกจากนี้ยังพบว่าแฟลกเจลลาช่วยในการกระตุ้น NF-κB ทั้งในเซลล์ phagocyte และเซลล์ nonphagocyte อย่างไรก็ตามภายในเซลล์ nonphagocyte นั้น การกระตุ้นของ NF-κB โดยเชื้อ *B. pseudomallei* ลีนส์ลดลงเร็วกว่าการกระตุ้นด้วยเชื้อ *B. thailandensis*

A ROLE OF *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* FLAGELLA  
AS A VIRULENT FACTOR

TIPPAMAS CHUAYGUD 4636456 SCMI/M

M.Sc.(MICROBIOLOGY)

THESIS ADVISORS: PONGSAK UTAISINCHAROEN, Ph.D., STITAYA  
SIRISINHA, D.M.D, Ph.D., SUMALEE TUNGPRADABKUL, Ph.D.

**ABSTRACT**

*Burkholderia pseudomallei* is an agent of melioidosis that is closely related to avirulent *Burkholderia thailandensis*. *B. thailandensis* has a 15-base pair deletion within the variable region of the flagellin gene (*fliC*) compared with *B. pseudomallei*. This difference in *fliC* might be related to virulence. In this study, the invasion, intracellular replication, and NF- $\kappa$ B activation in both phagocytic (mouse macrophage cell line RAW 264.7) and nonphagocytic cells (human lung epithelial cell line A549) of *B. pseudomallei fliC* knockout mutant (MM35), complemented with its own *fliC* (Cp) or with *B. thailandensis fliC* (Ct), was compared with wild type *B. pseudomallei* (1026b) and *B. thailandensis* (E257). In both phagocytic and nonphagocytic cells, there was no difference in bacterial invasion between Cp and Ct, suggesting that the difference in *B. pseudomallei fliC* is not essential for cell invasion. However, MM35 showed significantly less invasiveness than other strains, indicating the role of flagella in macrophage and epithelial cell invasion. In nonphagocytic cells, the invasive capacity of MM35 was significantly higher than E257, indicating that in addition to the flagella, *B. pseudomallei* may need other factors to facilitate invasion. I $\kappa$ B $\alpha$ , an inhibitor of NF $\kappa$ B, showed a similar pattern of degradation in the wild type 1026b, E257, Cp and Ct. However, in MM35, the level of I $\kappa$ B $\alpha$  was slightly less than that of the wild type in both phagocytic and nonphagocytic cells. This suggests that flagella may also participate in NF- $\kappa$ B activation. It was only in nonphagocytic cells, that NF- $\kappa$ B activation induced by all *B. pseudomallei* strains was more rapidly inhibited compared to *B. thailandensis*.

KEY WORDS: *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*/ *BURKHOLDERIA THAILANDENSIS*/ FLAGELLA/ INVASION/ NF- $\kappa$ B ACTIVATION

93 P.