LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

5 NOV

OXIDATIVE STRESS RESPONSE IN *Xanthomonas sp.*

SANGPEN CHAMNONGPOL

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของ
จาก
.....

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(MICROBIOLOGY)

IN

Copyright by Mahidol University

FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1993

24233

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาการตอบสนองของเชื้อ *Xanthomonas sp.* ในสภาวะ oxidative stress

ผู้วิจัย แสงเพ็ญ จำนงผล

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (จุลชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

ศกรณ์ มงคลสุข, Ph. D.

บุรชัย สนธยานนท์, Ph. D.

วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด, D.Eng.

วันที่สำเร็จการศึกษา 7 กันยายน พ.ศ 2536

บทคัดย่อ

การศึกษาการควบคุมการสร้างเอนไซม์ในภาวะ Oxidative stress ของเชื้อ *Xanthomonas* อันได้แก่ เอนไซม์ catalase และเอนไซม์ superoxide dismutase พบว่า การสร้างเอนไซม์มีความสัมพันธ์กับระยะเวลา การเจริญเติบโตของเชื้อ (growth phase) โดยพบปริมาณเอนไซม์ทั้งสองชนิด มีระดับสูงสุดเมื่อเชื้อเริ่มมีอัตราการเติบโต อย่างรวดเร็ว ในระยะต้น (early log phase) การสร้างเอนไซม์ในปริมาณที่สูงอย่างรวดเร็วในระยะต้นนี้ น่าจะเป็นผลจากภาวะ high oxygen tension ในการวิเคราะห์แยกประเภทของเอนไซม์ โดยอาศัยการแยกโปรตีนใน polyacrylamide gel ปรากฏว่าใน *Xanthomonas* ทั้งเอนไซม์ catalase และ superoxide dismutase มีเอนไซม์เพียงรูปแบบเดียว การตอบสนองของเอนไซม์ในสภาวะที่มี paraquat และ hydrogen peroxide พบว่า ในสภาวะที่ม paraquat เอนไซม์ catalase มีปริมาณสูงขึ้น (4-10 เท่า) แต่ ภาวะที่มี hydrogen peroxide มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับของเอนไซม์น้อยมาก (2.5 เท่า) ส่วนระดับของเอนไซม์ superoxide dismutase ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในสภาวะทั้งสอง นอกจากนี้สาร mutagen อันได้แก่ MMS สามารถเพิ่มระดับของเอนไซม์ catalase ได้ จากการศึกษาการตอบสนองใน *Xanthomonas* ชนิดต่างๆ ต่อภาวะ stress พบว่าปริมาณเอนไซม์ catalase มีรูปแบบการเปลี่ยนแปลง ที่คล้ายคลึงกัน ยกเว้น เชื้อ *Xanthomonas* ชนิดที่สามารถทนทานต่อสาร paraquat ไม่พบการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ในภาวะที่มี paraquat

Copyright by Mahidol University

ยีนที่เชื่อว่าเป็นของ alkyl hydroperoxide reductase จากเชื้อ *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* ได้ถูกแยกจาก DNA library ในพลาสมิด pUC18 โดยวิธี complementation ในเชื้อเจ้าบ้าน *E. coli* TA 4315 ซึ่งไม่สามารถสร้างเอนไซม์ alkyl hydroperoxide reductase ได้ พลาสมิดที่ถูกคัดเลือกนี้ สามารถทำให้เชื้อ *E. coli* TA 4315 กลับมีความทนทานต่อ cumene hydroperoxide และ tert-butyl hydroperoxide จากการศึกษาการแสดงออกของยีนนี้ใน *Xanthomonas* พบว่ามีปริมาณ mRNA เพิ่มสูงขึ้น เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มี cumene hydroperoxide

Copyright by Mahidol University

Thesis Title	Oxidative stress response in *Xanthononas*
Name	Sangpen Chamnongpol
Degree	Master of Science (Microbiology)
Thesis Supervisory Committee	
	Skorn Mongkulsuk, Ph.D.
	Burachai Sonthayanon, Ph. D.
	Watanalai Panbangred, D.Eng.
Date of Graduation	7 September, B.E. 2536 (1993)

ABSTRACT

The regulation of oxidative stress protective enzymes, catalase (KAT) and superoxide dismutase (SOD) was investigated in *Xanthomonas*. Both enzymes showed an atypical growth phase regulation. The highest enzyme levels were detected during the early log phase and subsequently declined as growth proceeded. High oxygen tension may be an inducing signal for both enzymes. The KAT and SOD activities gels revealed only a single monofunctional KAT and a SOD isozymes. The KAT and SOD response to paraquat and H_2O_2 were investigated. Paraquat was a potent inducer (4 to 10 fold) of the *Xanthomonas* KAT while H_2O_2 was comparatively a poor inducer (less than 2.5 fold). SOD activities were not significantly changed by both treatments. However, methyl methanesulfonate, a mutagen was found to be a potent KAT inducer. The pattern of KAT induction by various stresses was observed in all *Xanthomonas* strains tested, excepted that paraquat did not induce KAT in the highly paraquat resistant strains.

Copyright by Mahidol University

A putative gene for alkyl hydroperoxide reductase (*ahpX*) was also isolated from a *X.c.*pv *phaseoli* DNA library by complementation of a *ahp* mutant of *E.coli*. The gene confered a high level resistance to both cumene and tert-butyl hydroperoxides in *E.coli*. The expression of *ahpX* was highly inducible with cumene hydroperoxide in *X.c.* pv *phaseoli*.

Copyright by Mahidol University