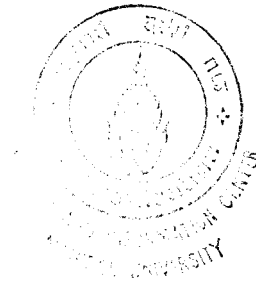


20 FEB 2001



**IDENTIFICATION OF *Burkholderia pseudomallei* ANTIGENIC  
GENES THAT ARE RECOGNIZED BY A PANEL OF  
MOUSE MONOCLONAL ANTIBODIES**

**CHARINRAT TIEO**

Charinrat Tieo

01

ศาสตราจารย์ แพทย์หญิง อรุณรัตน์ อภัยวงศ์

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

**2001**

**ISBN 974-665-266-5**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

75

C243i

2001

C.2

b1012004x

.j12957124

Copyright by Mahidol University

4136532 SIIM/M : MAJOR : IMMUNOLOGY ; M.Sc (IMMUNOLOGY)

KEY WORDS : *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* / MELIOIDOSIS /  
RECOMBINANT DNA / GENOMIC DNA LIBRARY /  
MONOCLONAL ANTIBODY

CHARINRAT TIEO : IDENTIFICATION OF *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI* ANTIGENIC GENES THAT ARE RECOGNIZED BY A PANEL OF MOUSE MONOCLONAL ANTIBODIES. THESIS ADVISORS : TARARAJ DHARAKUL, M.D., Ph.D, SIRIRURG SONGSIVILAI, M.D., Ph.D. 90 P. ISBN 974-665-226-5

Melioidosis is an infectious disease caused by gram-negative bacilli, *Burkholderia pseudomallei*. This disease is a major public health problem in the northeastern part of Thailand. The pathogenesis of melioidosis and the genetics of *B. pseudomallei* are not well defined. The availability of bacterial expressed proteins and the identification of the antigenic genes and its nucleotide sequences would be useful for studying the antigenicity of *B. pseudomallei*.

Three genomic libraries of *B. pseudomallei* isolates K96243, K94050 and S95019, representatives of virulent and non-virulent isolates, were screened for specific antigenic gene by using monoclonal antibodies that recognize the various epitopes of *B. pseudomallei*. One positive clone was selected from 336,000 clones screened. The insert size and the size of the protein expressed by this clone were analyzed. The *B. pseudomallei* antigenic gene was identified by nucleotide sequence similarity with known genes in the Genbank database, and was identified as the heat shock protein 60 (HSP60). The sequences were similar but not identical to those of other bacteria. In addition, there were some difference in *hsp 60* nucleotide sequences between Ara<sup>+</sup> and Ara<sup>-</sup> biotypes of *B. pseudomallei*.

4136532 SIIM/M : สาขาวิชา : วิทยาภูมิคุ้มกัน : วท.ม. (วิทยาภูมิคุ้มกัน)

ชรินทร์ แซ่เตียว : การจำแนกและวิเคราะห์แอนติเจนิกยีนของเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ที่จำเพาะต่อกลุ่มของโมโนโคลนัล แอนติบอดี (Identification of *Burkholderia pseudomallei* antigenic genes that are recognized by a panel of mouse monoclonal antibodies.) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ธารารชต์ ธารากุล, พ.บ., Ph.D, สิริฤกษ์ ทรงศิริโล, พ.บ., Ph.D. 90 หน้า. ISBN 974-665-226-5

โรคเนื้องอกยดิลิสเป็นโรคซึ่งเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ สาเหตุเกิดจากเชื้อ *Burkholderia pseudomallei* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง เชื้อนี้สามารถเข้าสู่ร่างกายทางบาดแผลหรือทางการหายใจ ความสามารถในการก่อโรคของเชื้อนี้ยังไม่ทราบแน่ชัด การศึกษาโปรตีนของเชื้อที่มีคุณสมบัติกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย (antigenic protein) ให้ประโยชน์ในแง่ของการศึกษาหายีนที่มีผลต่อความเป็นแอนติเจนของเชื้อ

ในการศึกษานี้ได้ทำการคัดเลือกโคลนที่ผลิตแอนติเจนที่จำเพาะของเชื้อ *B. pseudomallei* จาก genomic library ของเชื้อ 3 สายพันธุ์คือ K96243 และ K94050 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการก่อโรครุนแรง และสายพันธุ์ S95019 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการก่อโรคต่ำ โดยใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* จากจำนวนทั้งสิ้น 336,000 โคลน พบว่ามีเพียง 1 โคลน ที่ทำปฏิกิริยากับโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อเชื้อ เมื่อนำมาทำการวิเคราะห์ตรวจหาขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่แทรกเข้าไปในดีเอ็นเอพาหะ และขนาดของโปรตีนลูกผสม รวมทั้งศึกษาลำดับเบสของยีนเปรียบเทียบกับลำดับเบสในฐานข้อมูลดีเอ็นเอ พบว่าโคลนนี้มีลำดับเบสที่มีความคล้ายคลึงกับลำดับเบสของโปรตีน heat shock protein 60 นอกจากนี้ยังพบว่ามีความแตกต่างของลำดับเบส ระหว่างเชื้อ *B. pseudomallei* สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการก่อโรครุนแรง และสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการก่อโรคต่ำ