บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5580004

ชื่อโครงการ: การเปลี่ยนแปลงแอนติเจนในส่วนโอ-โพลีแซ็กคาไรด์ของลิโพโพลีแซ็กคาไรด์ของเชื้อเบอร์โคลเดอเรีย สูโดมาลลิไอ

ชื่อนักวิจัย: ดร. จันทร์ทิวา วิกรัยพัฒน์ (มหาวิทยาลัยมหิดล)

E-mail Address: chanthiwa@tropmedres.ac

ระยะเวลาโครงการ: 2 กรกฎาคม 2555 ถึง 30 มิถุนายน 2557

จากการเฝ้าสังเกตในห้องปฏิบัติการพบว่าเชื้อ *B. pseudomallei* บาง strain เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA จะแสดงลักษณะโคโลนี 2 แบบ ได้แก่ โคโลนีแบบมันเยิ้ม และโคโลนีแบบแห้ง ซึ่งลักษณะโคโลนีของเชื้อจะสัมพันธ์กับความสามารถในการจับกับโมโนโคนอลแอนติบอดี 9D5 ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่จับกับส่วนโอ-โพลีแซ็กคาไรด์ โคโลนีแบบแห้งจะจับกับแอนติบอดี ในขณะที่โคโลนีแบบมันเยิ้มจะไม่จับ ซึ่งโคโลนีทั้ง 2 แบบในเชื้อ strain เดียวกันจะมี PFGE pattern เหมือนกัน ซึ่งยืนยันว่าโคโลนีแบบทั้ง 2 แบบเป็นเชื้อตัวเดียวกัน โคโลนีแบบทั้ง 2 แบบนี้สามารถพบได้ในเชื้อที่ขึ้นโคโลนีครั้งแรกจากตัวอย่างคนไข้ จากการศึกษาในคนไข้ 40 คน พบ 8 คนที่เชื้อแสดงลักษณะโคโลนี 2 แบบ โดยเชื้อทั้ง 8 ตัวนี้เป็นเชื้อที่แยกได้จากทางเดินหายใจทั้งหมด ส่วนเชื้อจากคนไข้ที่เหลือ 32 คนมีโคโลนีแบบแห้งแค่แบบเดียว เนื่องจากแอนติบอดีที่ใช้จับกับเชื้อเป็นแอนติบอดีที่จำเพาะกับส่วนโอ-โพลีแซ็กคาไรด์ เราจึงสร้าง mutants โดยการตัดยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างและการเปลี่ยนแปลงโอ-โพลีแซ็กคาไรด์ ซึ่งยีนที่ตัดออกได้แก่ *wbiA, wbiD* และ *oacA* เมื่อตัดยีน *wbiA* ออกพบว่าเชื้อไม่จับกับแอนติบอดี 9D5 ในขณะที่ตัดยีนที่เหลืออีก 2 ยีนไม่มีผลต่อต่อการจับกับแอนติบอดี จากนั้นทดสอบว่าโคโลนีทั้ง 2 แบบเปลี่ยนกลับไปกลับมาภายใต้สภาวะทดลองหรือไม่ เราทดสอบในเชื้อ 5 strains ซึ่งมีโคโลนี 2 แบบ ผลการศึกษาพบว่ามีการเปลี่ยนจากโคโลนีมันเยิ้มไปเป็นโคโลนีแบบแห้งเมื่อมีการเปลี่ยนแปลง pH อุณหภมิ ปริมาณออกซิเจนและสารอาหาร ตรงกันข้ามกับโคโลนีแบบแห้งที่เปลี่ยนไปเป็นโคโลนีแบบมันเยิ้มก็ต่อเมื่อเลี้ยงเชื้อใน TSB เป็นเวลา 7 วัน เราจึงสรุปว่าการเปลี่ยนแปลงลักษณะโคโลนีระหว่างโคโลนีแบบแห้งและมันเยิ้มของเชื้อ *B. pseudomallei* ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงแอนติเจนในส่วนโอ-โพลีแซ็กคาไรด์ซึ่งสัมพันธ์กับการหลบหลีกจากการจับกับแอนติบอดี

คำหลัก: เบอร์โคลเดอเรีย สูโดมาลลิไอ, ลิโพโพลีแซ็กคาไรด์, antigenic variation

Abstract

Project Code: TRG5580004

Project Title: Antigenic variation of O-polysaccharide moiety of *Burkholderia pseudomallei* lipopolysaccharide

Investigator: Dr. Chanthiwa Wikraiphat (Mahidol University)

E-mail Address: chanthiwa@tropmedres.ac

Project period: 2 July 2012 – 30 June 2014

We observed some strains of *B. pseudomallei* in laboratory contain 2 colony morphotypes: mucoid and non-mucoid. Colony morphotype was correlated to reaction with 9D5 monoclonal antibody (Mab) specific to O-polysaccharide (O-PS). Non-mucoid colonies reacted with 9D5 Mab, while mucoid colonies did not. Both types of the same strain showed identical PFGE pattern which confirmed that they were originated from the same clone. Visual inspection of *B. pseudomallei* colonies growing on primary culture plates inoculated with samples, which were from 40 patients with melioidosis revealed a mixture of mucoid and non-mucoid colonies in 8 samples obtained from the respiratory samples. We found that these different colony types also reflect a difference in LPS reaction with Mab. We constructed 3 mutants defective in genes involving in O-PS synthesis and modification including *wbiA, wbiD* and *oacA* by deleted fragment mutagenesis. *WbiA* mutant showed negative reaction with 9D5 MAb indicating that 2-*O*-acetyl modification on O-PS is required for Mab reaction. We tested whether colonies could switch between the two phenotypes under a range of laboratory conditions for 5 isolates. Switching from the mucoid to non-mucoid phenotype occurred in response to changes in pH, temperature, oxygen tension, and availability of nutrients. By contrast, non-mucoid colonies were generated only in a condition of incubation in TSB for 7 days. We concluded that switching between mucoid and non-mucoid *B. pseudomallei* colonies reflects variation in modification of O-PS, and that antigenic variation is associated with the avoidance of immune recognization by antibody.

Keywords: *Burkholderia pseudomallei*, lipopolysaccharide, antigenic variation