

## Abstract

*Burkholderia pseudomallei* (Bps) is a Gram-negative bacterium causing melioidosis, a disease endemic in northeastern region of Thailand. Lipopolysaccharide (LPS) is a major component of bacterial cell wall and lipid A part is a bioactive part of LPS in stimulating host inflammatory response. Modification of lipid A structure can lead to an alteration in bacterial virulence and host response. This study aimed to determine lipid A profiles of virulent Bps compared to lipid A of *B. thailandensis* (Bth), an avirulent counterpart. In addition, lipid A profiles of bacteria grown in low and high magnesium conditions were determined. Bacteria were grown in LB media, or in N-minimal media supplemented with 8  $\mu$ M (a condition mimicking intracellular condition), or 1 mM of MgCl<sub>2</sub>. LPS was isolated from bacteria by hot phenol-water extraction or Tri-reagent extraction methods and was converted into lipid A by mild acid hydrolysis. Lipid A profiles were determined by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in negative ion mode. There was no difference in lipid A patterns between Bps (strain K96243) and Bth (strain K95019). Lipid A profiles of bacteria grown in low or high Mg concentration were also similar, suggesting that bacteria may not alter their lipid A structure when they are inside the infected cells. However, strain S95019, although belongs to Bth species, was isolated from a patient and may not represent a truly avirulent bacterium. Therefore, more isolates of Bps were further included in the study. There seems to be a possible correlation between lipid A patterns and the sources of bacteria when lipid A from more strains were examined. In conclusion, Bps and Bth showed variety in lipid A profiles, which possibly correlate with the source of bacteria. Further study of more lipid A profiles from bacteria isolated from different sources, and their biological characteristics such as the ability to stimulate host immune response or the sensitivity to antimicrobial peptides may unravel the significance of lipid A structures in terms of bacterial virulence and pathogenesis.

**Keywords:** *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia thailandensis*, melioidosis, lipopolysaccharide, lipid A

## บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* เป็นเชื้อชนิดกรัมลบที่ก่อโรคmelioidosis ซึ่งเป็นโรคที่พบบ่อยมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย สารไลโปโพลีแซ็กคาไรด์เป็นโครงสร้างหลักของผนังเซลล์และมีส่วนไลปิดเอ ที่เป็นส่วนที่สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ การดัดแปลงโครงสร้างของไลปิดเอสามารถเปลี่ยนแปลงความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อและการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ การศึกษานี้มุ่งจะดูแบบแผนของไลปิดเอที่แยกได้จากเชื้อก่อโรคmelioidosis เปรียบเทียบกับไลปิดเอของเชื้อไม่ก่อโรค *Burkholderia thailandensis* นอกจากนี้จะเปรียบเทียบแบบแผนของไลปิดเอที่แยกได้จากเชื้อที่เลี้ยงในสารอาหารที่มีความเข้มข้นของแมกนีเซียมสูงและต่ำ ซึ่งเป็นการเลียนแบบสภาวะภายในเซลล์ที่ติดเชื้อ สารไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ถูกแยกจากเซลล์โดยวิธี hot phenol-water extraction หรือ Tri-reagent extraction และทำการย่อยด้วยกรดอ่อนๆเพื่อให้ได้ส่วนของไลปิดเอ การดูแบบแผนของไลปิดเอทำโดยวิธี matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry จากการศึกษาเชื้อสองสายพันธุ์คือ K96243 ซึ่งเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ก่อโรค และสายพันธุ์ S95019 ซึ่งเป็นตัวแทนของสายพันธุ์ไม่ก่อโรค พบว่าแบบแผนของไลปิดเอของสองสายพันธุ์นี้ไม่แตกต่างกัน รวมทั้งไม่พบความแตกต่างเมื่อเชื้อถูกเลี้ยงในความเข้มข้นของแมกนีเซียมต่างๆ เนื่องจากเชื้อสายพันธุ์ S95019 นั้นแม้จะถูกจำแนกให้เป็นเชื้อไม่ก่อโรคแต่ก็เป็นเชื้อที่แยกได้จากคนไข้ จึงอาจไม่ได้เป็นตัวแทนของเชื้อไม่ก่อโรคอย่างแท้จริง จึงได้ทำการศึกษาแบบแผนของไลปิดเอในเชื้อจำนวนมากขึ้น เมื่อได้ทำการศึกษาแบบแผนของไลปิดเอจากเชื้อที่แยกได้จากแหล่งต่างๆ ได้พบว่ามีแนวโน้มที่จะมีความสัมพันธ์ระหว่างแบบแผนของไลปิดเอกับแหล่งและสายพันธุ์ของเชื้อ และอาจส่งผลถึงความสามารถในการก่อโรคของเชื้อ การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับแบบแผนของไลปิดเอ รวมถึงการศึกษาในส่วนของคุณสมบัติทางชีวภาพ เช่น การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและความไวต่อสาร antimicrobial peptides อาจเน้นถึงความสำคัญของโครงสร้างของไลปิดเอกับความสามารถในการก่อโรคและการก่อพยาธิสภาพได้

**คำหลัก:** เชื้อก่อโรคmelioidosis สารไลโปโพลีแซ็กคาไรด์ ไลปิดเอ