

## บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย *Burkholderia pseudomallei* เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมลบที่ก่อให้เกิดโรคmelioidosis ซึ่งเป็นโรคติดเชื้อในคนและในสัตว์ที่พบได้ในภาคเหนือและภาคอีสานของประเทศไทย การรักษาโรคมelioidosis ทำได้ยากเนื่องจากแบคทีเรียมีความสามารถในการต้านทานต่อยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่สูง มีรายงานว่า การต้านทานต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียชนิดนี้เกิดจากการที่ตัวยายาผ่านเข้าสู่ช่องพอรินที่อยู่เยื่อหุ้มเซลล์ด้านนอกของแบคทีเรียได้ต่ำ งานวิจัยก่อนหน้านี้ ผู้วิจัยได้ทำการแยกโปรตีนขนาด 38 กิโลดาลตันคือ BpsOmp38 จากเยื่อเซลล์ด้านนอกของแบคทีเรีย Bps ได้ จากการทำนายโครงสร้างพื้นฐานและคุณสมบัติของโปรตีนโดยวิธี liposome swelling assay พบว่า มี โปรตีนมีโครงสร้าง  $\beta$ -barrel ที่มีคุณสมบัติเป็นช่องแพร่ผ่านพอริน ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้เทคนิค planar black lipid membrane reconstitution (BLM) ทำการศึกษาการทำงานของช่องเดี่ยวของโปรตีน Bps สามหน่วยย่อย โดยพบว่ามีความค่า conductance เท่ากับ  $2.7 \pm 0.3$  nS ในสารละลาย 1M KCl การวัดด้วยวิธี high time resolution BLM พบว่ายาปฏิชีวนะผ่านเข้าสู่ช่อง BpsOmp38 ในลักษณะขึ้นกับความเข้มข้นของสารโดยมีค่าคงที่อัตราการข้ามผ่านตามลำดับดังนี้ norfloxacin  $\gg$  ertapenem  $>$  ceftazidime  $>$  cefepime  $>$  imipenem  $>$  meropenem  $\gg$  penicillin G และพบว่าค่า dwell time ของยา ertapenem แปรผันในลักษณะ exponentially decay กับอุณหภูมิที่ทำการวัด ที่ค่า applied voltage เท่ากับ 100 mV ค่าพลังงานกีดขวางของการจับและการปล่อยของ ertapenem จากบริเวณจับที่อยู่ภายในช่อง BpsOmp38 มีค่าคำนวณเท่ากับ 12 kT และ 13 kT ตามลำดับ

## ABSTRACT

*Burkholderia pseudomallei* (Bps) is a Gram-negative bacterium that causes melioidosis, an infectious disease of animals and humans common in northern and north-eastern parts of Thailand. Successful treatment of melioidosis is difficult due to high intrinsic resistance of Bps to most antibacterial agents. It has been suggested that the antimicrobial resistance of this organism may result from poor permeability of the active compounds through porin channels located in the outer membrane (OM) of the bacterium. In previous work, a 38-kDa protein, named “BpsOmp38”, was isolated from the OM of Bps. A topology prediction and liposome-swelling assay suggested that BpsOmp38 comprises a  $\beta$ -barrel structure and acts as a general diffusion porin. The present study employed planar black lipid membrane (BLM) reconstitution to demonstrate the single-channel conductance of the trimeric BpsOmp38 to be  $2.7 \pm 0.3$  nS in 1 M KCl electrolyte. High-time resolution BLM measurements displayed ion current blockages of seven antimicrobial agents in a concentration-dependent manner with the translocation on-rate ( $k_{on}$ ) following the order: norfloxacin >> ertapenem > ceftazidime > cefepime > imipenem > meropenem >> penicillin G. The dwell time of a selected antimicrobial agent (ertapenem) decayed exponentially with increasing temperature. The energy barrier for the ertapenem binding to the affinity site inside the BpsOmp38 channel was estimated from the Arrhenius plot to be 12 kT and for the ertapenem release to be 13 kT at +100 mV.