

**POSSIBLE INVOLVEMENT OF MYOSIN IN MALARIA
DEVELOPMENT AND INVASION**

USAWADEE SAKULKHU

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOCHEMISTRY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2004**

**ISBN 947-04-4454-7
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

บทบาทของ myosin ต่อการเจริญเติบโตและการบุกรุกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงของเชื้อมาลาเรีย
(POSSIBLE INVOLVEMENT OF MYOSIN IN MALARIA DEVELOPMENT AND
INVASION)

อุษาวดี สกุลคู 4336153 SCBC/M

วท.ม. (ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ฤทัยวรรณ โต้ะทอง, Ph.D. (MOLECULAR GENETICS),
ประพนธ์ วิไลรัตน์, Ph.D. (BIOCHEMISTRY)

บทคัดย่อ

การเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียในระยะไม่อาศัยเพศเกิดขึ้นในเม็ดเลือดแดง โดยเชื้อมาลาเรียจะพัฒนาจากระยะวงแหวนไปสู่ระยะโทรโฟซอइटจากนั้นเชื้อจะพัฒนาเข้าสู่ระยะไซซอนต์โดยนิเวศของโทรโฟซอइटแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้น ในที่สุดเชื้อมาลาเรีย (ระยะเมอโรซอइट) จะแตกออกจากเม็ดเลือดแดงและบุกรุกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงใหม่ เพื่อเจริญเติบโตในวัฏจักรใหม่ต่อไป การเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียในเม็ดเลือดแดงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเม็ดเลือดแดงซึ่งถูกควบคุมโดย myosin II โปรตีนชนิดนี้ถูกควบคุมโดยเอนไซม์ myosin light chain kinase (MLCK) และ myosin ATPase มีรายงานการศึกษาพบว่าโปรตีน myosin ของ *Plasmodium falciparum* เกี่ยวข้องกับกระบวนการบุกรุกเข้าสู่เม็ดเลือดแดง ในการวิจัยครั้งนี้มุ่งศึกษาบทบาทของ myosin ต่อพัฒนาการและการบุกรุกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงโดยใช้ ML-7 ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ MLCK และ BDM ซึ่งเป็นตัวยับยั้งการทำงานของ myosin ATPase โดยการใช้ ³H-hypoxanthine incorporation assay จากการศึกษาพบว่า ML-7 และ BDM สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P.falciparum* K1 strain ได้ 50% ที่ความเข้มข้น $6.3 \pm 1.1 \mu\text{M}$ และ $6.4 \pm 1.1 \text{mM}$ ตามลำดับ นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลกระทบของตัวยับยั้งต่อการพัฒนาของเชื้อในแต่ละระยะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า BDM สามารถยับยั้งพัฒนาการของเชื้อในทุกกระขะรวมถึงการบุกรุกเข้าสู่เม็ดเลือดแดงด้วย ในขณะที่ ML-7 สามารถยับยั้งพัฒนาการของเชื้อจากระยะวงแหวนสู่ระยะโทรโฟซอइटได้มากกว่าระยะอื่นๆ เมื่อใช้ตัวยับยั้งสองชนิดรวมกันพบว่า BDM ที่ความเข้มข้นต่ำ ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อของ ML-7 และ ML-7 ที่ความเข้มข้นต่ำ ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อของ BDM ด้วยเช่นกัน ผลจากการวิจัยในครั้งนี้ชี้บ่งว่าการทำงานของ myosin จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและการบุกรุกเข้าสู่เม็ดเลือดแดง แต่บทบาท myosin ของเชื้อมาลาเรียและของเม็ดเลือดแดงในกระบวนการเหล่านี้ยังไม่สามารถหาคำอธิบายที่แน่ชัดได้

87 หน้า ISBN 974-04-4454-7

POSSIBLE INVOLVEMENT OF MYOSIN IN MALARIA DEVELOPMENT AND INVASION

USAWADEE SAKULKHU 4336153 SCBC/M

M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS: RUTAIWAN TOHTONG, Ph.D.(MOLECULAR GENETICS),
PRAPON WILAIRAT, Ph.D. (BIOCHEMISTRY)**ABSTRACT**

Growth of asexual blood stages of the malaria parasite occurs in the erythrocyte. The malaria parasite passes through a series of distinctive stages of development, from ring form to trophozoite form, and then undergoes division into schizonts to give rise to a cluster of merzoites, which upon rupture of erythrocyte, are released into the blood stream to invade other uninfected erythrocytes to start a new cycle of development. The intracellular parasite causes changes to erythrocyte shape and deformability, which is controlled by myosin II, whose function is in turn regulated by myosin light chain kinase (MLCK) and myosin ATPase. *Plasmodium falciparum* myosin has been reported to be involved in invasion. The involvement of myosin in malaria development and invasion were assessed by using ML-7, MLCK inhibitor and BDM, myosin ATPase inhibitor. By employing ³H-hypoxanthine incorporation assay, ML-7 and BDM inhibited development of *P. falciparum* K1 strain from ring to schizont stage with IC₅₀ of 6.3±1.1 μM and 6.4±1.1 mM, respectively. I further assessed which particular stage of development was affected by the inhibitors by determining parasitemia under a microscope. BDM was effective in inhibiting all intraerythrocytic stages of parasite development and at the invasion step as well, whereas ML-7 was more effective at inhibiting development from ring to trophozoite stage. When the two drugs were tested in combination, sub-inhibitory concentrations of BDM did not affect ML-7 activity, and sub-inhibitory concentrations of ML-7 did not change the IC₅₀ of BDM. Taken altogether, these findings indicated that myosin activity is required for malaria parasite intraerythrocytic development and invasion, but the contribution of host and parasite myosins to these processes remained unresolved.

**KEY WORDS: MALARIA / ERYTHROCYTE / MYOSIN / DEVELOPMENT /
INVASION**

87 pp. ISBN 974-04-4454-7