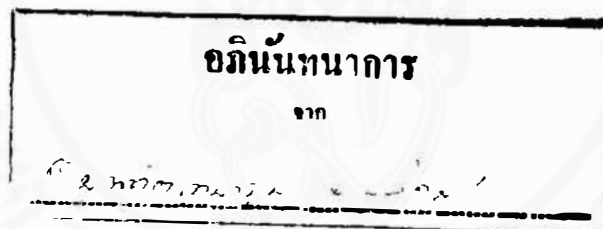




18 AUG 1993

STUDIES ON ADENYLATE TRANSLOCASE OF THE HUMAN MALARIA
PARASITE, *PLASMODIUM FALCIPARUM* AND ENERGY REQUIREMENT FOR
CHLOROQUINE ACTION

NANTARUDEE JUABSAMAI



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE
(BIOCHEMISTRY)

IN
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY

1993

23304

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาอะคินิลเลททรานสรัลเคสในเชื้อมาลาเรียชนิดพลาซิพารุม และความต้องการพลังงานสำหรับการทำงานของยาคลอโรควิน

ผู้วิจัย นันทฤดี จวบสมัย

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์
ประพนธ์ วัลรัตน์, Ph.D.
สกล พันธุ์ยิ้ม, Ph.D.

วันที่สำเร็จการศึกษา 15 พฤษภาคม พ.ศ. 2536

บทคัดย่อ

โครโมโซมของเชื้อพลาสมาเดียมพลาซิพารุมจำนวน 10 สายพันธุ์ ให้นำมาแยกในรุ่นด้วยกระแสไฟฟ้า (FIGE) เพื่อนำมาศึกษาตำแหน่งของยีนอะคินิลเลททรานสรัลเคส (AdT) ในการทดลองนี้สามารถแยกโครโมโซมของเชื้อได้อย่างน้อย 10 โครโมโซม ซึ่งมีความแตกต่างของขนาดของแต่ละโครโมโซมที่แยกจากเชื้อต่างสายพันธุ์ ยีน AdT นี้พบว่าอยู่บนโครโมโซมที่มีขนาดใหญ่กว่าโครโมโซมที่ 8 ผลการไฮบริดซ์ของชิ้นส่วนของยีนนี้กับดีเอ็นเอของเชื้อทั้ง 10 สายพันธุ์ ที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ HindIII พบว่าเชื้อมาลาเรียที่นำมาศึกษามียีน AdT อย่างน้อย 1 ยีน แต่จากการทดลองนี้ ยังไม่สามารถบอกได้ว่าการเพิ่มจำนวนของยีนนี้ในเชื้อที่ติดต่อยาคลอโรควินหรือไม่

Atractyloside (ATR) ซึ่งเป็นสารยับยั้งที่จำเพาะต่อ AdT ให้นำมาใช้เพื่อศึกษาบทบาทของ AdT ในการขนส่งเอทีพี (ATP) เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย หลังจากเลี้ยงเชื้อมาลาเรียในเมดิเล็คแคงที่มียา ATR เป็นเวลา 72 ชม. พบว่ายา ATR มีผลเล็กน้อย ต่อการเจริญเติบโต และต่อความไวต่อยาคลอโรควินของเชื้อมาลาเรียชนิดที่ติดต่อยา

สารยับยั้งการทำงานของไมโทคอนเดรีย (TTF, oligomycin, CCCP และ DNP) และไอโอดออะซิไนด์ (Iodoacetamide) ให้นำมาทดสอบ

ร่วมกับคลอโรควิน เพื่อศึกษาผลของการขาดเอทีพีที่มีต่อความไวต่อยาคลอโรควิน พบว่าสารเหล่านี้เพียงอย่างเดียว มีผลากส์เดียวกัน านเชื้อที่คือและไวต่อยาคลอโรควิน แต่เมื่อใช้ร่วมกับคลอโรควินพบว่า ยาเหล่านี้ ำให้ผลแบบด้านฤทธิ์กัน (antagonism) กับคลอโรควิน านเชื้อที่ไวต่อยาคลอโรควิน แต่านเชื้อที่คือต่อ ยาคลอโรควิน ยาเหล่านี้ให้ผลแบบเสริมฤทธิ์กัน (synergism) ที่ความเข้มข้นของยาต่ำ และให้ผลแบบด้านฤทธิ์กัน เมื่อความเข้มข้นของยาสูงขึ้น ยกเว้น CCCP ที่ให้ผลแบบเสริมฤทธิ์กัน ทุกความเข้มข้นของยาที่ใช้

Thesis Title Studies on Adenylate Translocase of the Human
Malaria Parasite, *Plasmodium falciparum* and
Energy Requirement for Chloroquine Action

Name Nantarudee Juabsamai

Degree Master of Science (Biochemistry)

Thesis Supervisory Committee

 Prapon Wilairat, Ph.D.
 Sakol Panyim, Ph.D.

Date of Graduation 15 May B.E. 2536 (1993)

ABSTRACT

To determine whether the AdT gene is amplified in chloroquine (CQ)-resistant isolates, and in order to determine the chromosomal location of the *P. falciparum* AdT gene, the parasite chromosomes were fractionated by FIGE. The *P. falciparum* genome was resolved into at least 10 chromosomes. The chromosome fractionation of ten different clones and isolates of *P. falciparum* revealed that there is considerable variation in chromosome size from one parasite clone/isolate to another. The AdT gene was found to be located on a chromosome larger than chromosome 8 (probably chromosome 9). Gene probing of HindIII-digested DNA from CQ-sensitive and resistant *P. falciparum* isolates showed a single band with minor variation in band intensities which did not correlate with CQ resistance.

To determine the role of exogenous ATP on parasite growth and development, atractyloside (ATR), an AdT inhibitor, was used. Parasites grown within resealed red cells containing ATR were observed for 72 h and the results showed that ATR had no effect on

parasite development and growth, and had little effect on CQ sensitivity of the resistant parasites.

Mitochondrial (thenoyltrifluoroacetone [TTF], oligomycin, carbonylcyanide *n*-chlorophenyl hydrazine [CCCP], and 2,4-dinitrophenol [DNP]) and glycolytic (iodoacetamide) inhibitors were tested in combination with CQ to see the effect of ATP depletion on CQ sensitivity of both CQ-sensitive and CQ-resistant parasites. It was found that there is no difference in the sensitivities of CQ-sensitive and CQ-resistant parasites towards each of the drugs tested. CQ-sensitive parasite (Tm4C8-2) showed an antagonistic interaction between CQ and all the inhibitors tested. CQ-resistant parasite (K1) exhibited a more complicated curve for all the inhibitors tested (synergistic at low concentration and antagonistic at higher concentration) except for CCCP which was synergistic at all concentrations.