SALVAGE OF METHYLTETRAHYDROFOLATE FROM HOST CELLS AND METHIONINE BIOSYNTHESIS IN *P. FALCIPARUM*

WANIDA ASAWAMAHASAKDA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF

THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF

DOCTOR OF PHILOSOPHY

(BIOCHEMISTRY)

IN

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

1991

ชื่อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการนำเข้า methyltetrahydrofolate และการนำไปใช้สร้าง methionine ของเชื้อมาลาเรีย *P. falciparum*
ผู้วิจัย	วนิดา อัศวะมหาศักดา
ปริญญา	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ชีวเคมี)
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์	
	ยงยุทธ ยุทธวงศ์, Ph.D.
	จริยา บรอดเคลแมน, Ph.D.
	H.K. Webster, Ph.D.
วันที่สำเร็จการศึกษา	24 พฤษภาคม พ. ศ. 2534

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นการศึกษาเอนไซม์ methylenetetrahydrofolate reductase ในเชื้อมาลาเรีย ๓ ชนิด คือ *P. falciparum*, *P. chabaudi* และ *P. knowlesi* พบว่าเชื้อมาลาเรียทั้งสามชนิด มีเอนไซม์ดังกล่าวอยู่ในปริมาณที่ไม่สูงมากนัก จึงไม่สามารถทำการศึกษาอย่างละเอียดต่อไปได้ อย่างไรก็ตาม การศึกษานี้พบว่า เชื้อมาลาเรียของคนคือ *P. falciparum* สามารถนำ methyltetrahydrofolate จากเม็ดเลือดแดงไปใช้ได้โดยตรง เพื่อสังเคราะห์เป็น methionine และที่สำคัญกว่าคือ เพื่อให้ได้มาซึ่ง tetrahydrofolate อันเป็นสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของเชื้อมาลาเรีย การค้นพบนี้ เป็นการพบวิถีใหม่ในการได้มาซึ่งโฟเลต ที่ไม่เคยมีใครรายงานมาก่อน

Thesis Title: Salvage of methyltetrahydrofolate from host cells and methionine biosynthesis in *P. falciparum*

Name: Wanida Asawamahasakda

Degree: Doctor of Philosophy (Biochemistry)

Thesis Supervisory Committee

Yongyuth Yuthavong, Ph.D.

Chariya Brockleman, Ph.D.

H. K. Webster, Ph.D.

Date of Graduation: 24 May B.E. 2534 (1991)

ABSTRACT

Plasmodium falciparum, *P. knowlesi* and *P. chabaudi* show low but detectable activity of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), which normally catalyzes the reduction of 5,10-methylenetetrahydrofolate to methyltetrahydrofolate. The enzyme was detected by the reverse reaction which radiolabeled methyltetrahydrofolate was used as a substrate and menadione act as artificial electron acceptor. The product, methylenetetrahydrofolate, dissociated spontaneously to tetrahydrofolate and radiolabeled formaldehyde. The formaldehyde was trapped as dimedone adduct and was measured by liquid scintillation counter. The presence of this enzyme completes the methionine synthesis cycle, in which the one-carbon fragment from serine side-chain can be transferred to methionine. However, the possible metabolic significance of this cycle in *P. falciparum* could not be

demonstrated by metabolic labeling of methionine by L-3[^{14}C]serine. The failure to demonstrate serine conversion to methionine is possible due to the limitation in sensitivity of the assay system. By contrast, the physiological activity of the enzyme could be demonstrated by an alternative pathway in *P. falciparum* for salvage of exogenous 5-methyltetrahydrofolate from host cell. The methyl group of the taken up cofactor was incorporated into methionine. Furthermore, it could also demonstrate that the salvaged cofactor was metabolized to the final product, methyltetrahydropteroylpentaglutamate, which is the same pool as the cofactor derived from de novo biosynthesis started from p-aminobenzoic acid.