

3936084 SCBC/M : MAJOR : BIOCHEMISTRY ; M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

KEY WORDS : TELOMERE / TELOMERASE / DNA REPLICATION /
PLASMODIUM FALCIPARUM

NONGLUK SRIWILAIJAREON : STUDIES ON TELOMERASE OF THE HUMAN MALARIA PARASITE, *PLASMODIUM FALCIPARUM*. THESIS ADVISORS : PRAPON WILAIRAT, Ph.D., MATHUROSE PONGLIKITMONGKOL, Ph.D. 141 p. ISBN 974-662-510-1

Of the four species of *Plasmodium* that cause human malaria, *Plasmodium falciparum* causes the most widespread and severe disease. It has become resistant to almost all of the available antimalarial drugs. There is a need to find new targets for malaria chemotherapy.

Telomeres are repeating sequences of base pairs at the ends of linear eukaryotic chromosomes that preserve genome stability and cell viability by preventing aberrant recombination and degradation of DNA. Telomeric repeats are progressively shortened after each cycle of DNA replication due to the inability of DNA polymerase to replace the RNA primer located at the 5'-end (end-replication problem). This causes a limit to the number of cell divisions. However germline and immortalized cells can overcome this problem by expression of telomerase, a ribonucleoprotein enzyme that synthesizes the telomeric DNA at chromosome ends using a segment of its RNA component as a template.

P. falciparum has been maintained in culture for more than 20 years without any sign of cessation of parasite cell division. This indicates that *P. falciparum* must have a capacity to repair telomere ends present in its 14 chromosomes. *P. falciparum* telomerase activity was detected using TRAP assay. The activity was sensitive to RNase A and was detectable at all stages of the parasite erythrocytic cycle, with an increase in activity in trophozoite and schizont extracts compared with ring, suggesting that there is a relationship between telomerase activity and erythrocytic cycle regulation. In addition, among the four ddNTPs, ddGTP was the most potent telomerase inhibitor. Berberine, extracted from *Arcangelisia flava* (L.) Merr. could also inhibit parasite telomerase. These data suggest that *P. falciparum* telomerase may be a novel target for future malaria chemotherapy.

3936084 SCBC/M : สาขาวิชา : ชีวเคมี ; วท.ม. (ชีวเคมี)

นางลักษณ์ ศรีวิไลเจริญ : การศึกษาเอนไซม์ Telomerase ของเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* (STUDIES ON TELOMERASE OF THE HUMAN MALARIA PARASITE, *PLASMODIUM FALCIPARUM*). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ประพนธ์ วิไลรัตน์ Ph.D., มธุรส พงษ์ลิขิตมงคล Ph.D. 141 หน้า. ISBN 974-662-510-1

เชื้อ *Plasmodium* 4 สปีชีส์ ที่ทำให้เกิดโรคมมาลาเรียในคน *P. falciparum* เป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงที่สุด เชื้อมาลาเรียชนิดนี้คือต่อยาก็ใช้อยู่ในปัจจุบันเกือบทุกชนิด ด้วยเหตุนี้จึงต้องการเป้าหมายใหม่ในการรักษาโรคมมาลาเรีย

Telomere คือส่วนปลายของโครโมโซมของยูคาริโอตแบบที่เป็นเส้นยาวซึ่งมีลำดับเบสเป็นชุดสั้น ๆ ซ้ำ ๆ กัน ทำหน้าที่รักษาเสถียรภาพของจีโนมและชีวิตเซลล์โดยป้องกัน aberrant recombination และ DNA degradation แต่หลังจาก DNA replication แต่ละรอบ Telomere จะสั้นลง เพราะเอนไซม์ DNA polymerase ไม่สามารถต่อเบสในทิศทาง 3'→5' แทน RNA primer ได้ จึงทำให้เซลล์แบ่งตัวได้จำกัด อย่างไรก็ตามเซลล์สืบพันธุ์และเซลล์อมตะสามารถแก้ไขปัญหานี้โดยการทำงานของเอนไซม์ Telomerase ซึ่งเป็น ribonucleoprotein ที่สังเคราะห์ Telomere โดยใช้ RNA ซึ่งเป็นส่วนประกอบของมันเป็นแบบ

เนื่องจากเชื้อ *P. falciparum* ถูกเพาะเลี้ยงในห้องทดลองมานานกว่า 20 ปี แสดงว่าจะต้องมีกลไกที่สามารถซ่อมแซมปลายทั้ง 14 โครโมโซมของมันได้ จากการศึกษาโดย TRAP assay ทำให้สามารถตรวจพบเอนไซม์ Telomerase ซึ่ง sensitive ต่อ RNase A ใน *P. falciparum* ในทุกระยะของวงจรชีวิตในเม็ดเลือดแดงแต่ก็พบว่ามีการทำงานเพิ่มขึ้นในระยะ trophozoite และ schizont เมื่อเทียบกับระยะ ring แสดงว่ามีความสัมพันธ์ระหว่างการทำงานของเอนไซม์นี้กับการควบคุมวงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรียชนิดนี้ในเม็ดเลือดแดง และนอกจากจะพบว่าการทำงานของเอนไซม์นี้ถูกยับยั้งได้โดย ddNTPs โดยเฉพาะ ddGTP มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากที่สุดแล้วยังพบว่าสารสกัดขมิ้นเครือ (berberine) ก็มีความสามารถในการยับยั้งด้วย ข้อมูลเหล่านี้แสดงว่า telomerase อาจเป็นเป้าหมายใหม่ในการรักษาโรคมมาลาเรีย