

CHARACTERIZATION OF PROTEOME OF *PLASMODIUM VIVAX*
ERYTHROCYTIC STAGES AND THE IDENTIFICATION OF ASEXUAL STAGE
ANTIGENS

WANLAPA ROOBSOONG 4736822 MTMT/D

Ph.D. (MEDICAL TECHNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: RACHANEE UDOMSANGPETCH, Ph.D.,
RACHADA KIATFUANGFU, Ph.D., WILAIRAT NUCHPRAMOOL, M.D.

ABSTRACT

With the completion of genome sequencing of the malaria parasite *Plasmodium vivax*, it is important to determine the proteome of the parasite in order to assist efforts in identifying novel antigens and drug targets. As the method for continuous *in vitro* culture of *P. vivax* parasite was not available, we tried to study the proteome of the erythrocytic stages using fresh parasite isolates from patients. Three hundred and sixteen proteins were confidently identified by tandem mass spectrometry. Almost 50% of the identified proteins were hypothetical, while other major categories were proteins with a binding function, protein fate, protein synthesis, metabolism, and cellular transport. To identify proteins that are recognized by host humoral immunity, parasite proteins were separated by two-dimensional electrophoresis and confirmed by Western blotting using immune serum from a *P. vivax* patient. Protein spots that were recognized by the serum were identified by mass spectrometry. Among four potential antigens identified, one protein, PV24, was recognized by antibodies from vivax malaria patients.

KEY WORDS: *PLASMODIUM VIVAX*/ ANTIGENS/ ERYTHROCYTIC STAGE/
PROTEOME/ MASS SPECTROMETRY

การหาโปรตีนทั้งหมดของเชื้อก่อโรคมาลาเรียชนิด *Plasmodium vivax* ในระยะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงและการหาแอนติเจนของเชื้อระยะไม่มีเพศ

CHARACTERIZATION OF PROTEOME OF *PLASMODIUM VIVAX* ERYTHROCYTIC STAGES AND THE IDENTIFICATION OF ASEXUAL STAGE ANTIGENS

วัลลภารุปลอง 4736822 MTMT/D

ปร.ค. (เทคนิคการแพทย์)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รัชนิย์ อุดมแสงเพชร, Ph.D., รัชฎา เกียรติเฟื่องฟู, Ph.D., วิไลรัตน์ นุชประมุข, M.D.

บทคัดย่อ

จากการที่มีข้อมูลจีโนมของเชื้อก่อโรคมาลาเรียชนิด *Plasmodium vivax* แล้วนั้น การศึกษา Proteome ของเชื้อก็มีความสำคัญในแง่ของการหาโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็น antigen รวมถึง drug targets ชนิดใหม่ ในขณะที่วิธีการเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่องภายในห้องปฏิบัติการยังไม่ประสบความสำเร็จ เราได้ทำการศึกษา proteome ในระยะ erythrocytic stage ของเชื้อ *P. vivax* ที่ได้จากผู้ป่วย โดยนำเชื้อที่ได้มาทำการวิเคราะห์หาชนิดของโปรตีนทั้งหมดด้วยเครื่อง Tandem mass spectrometry โดยจากการศึกษาพบโปรตีนทั้งหมด 316 ตัว โดยเกือบร้อยละ 50 ของโปรตีนที่พบนี้เป็น hypothetical protein นอกนั้นเป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในเรื่องของ binding function, protein fate, protein synthesis, metabolism และ cellular transport

เพื่อค้นหาโปรตีนของเชื้อ *P. vivax* ที่ถูกจดจำด้วยระบบภูมิคุ้มกันของมนุษย์ โปรตีนทั้งหมดของเชื้อได้ถูกนำมาแยกตามคุณสมบัติของค่า pI และน้ำหนักของโปรตีนด้วยวิธี 2D gel electrophoresis แล้วนำโปรตีนที่แยกได้นั้นมาทำปฏิกิริยากับ plasma ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P. vivax* ด้วยวิธี immunoblotting และทำการวิเคราะห์หาชนิดโปรตีนด้วยเครื่อง mass spectrometry โดยพบว่ามีโปรตีนทั้งหมด 4 ชนิดที่ถูกจดจำโดยแอนติบอดีจาก plasma ผู้ป่วย หนึ่งในนั้นคือ PV24 ซึ่งจากการศึกษาพบว่าโปรตีนชนิดนี้ถูกจดจำโดยระบบภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยที่อาศัยอยู่ในแหล่งระบาดของโรค