**บทคัดย่อ**

T 162341

**รหัสโครงการ** หมายเลข TRG 4580036

**ชื่อโครงการ** การโคลนและการแสดงออกของยีนคาร์โบนิค แอนไฮเดรสของเชื้อพลาสโมเดียม ฟัลซิปารัม

**ชื่อนักวิจัย** ดร. สุธารทิพย์ เรืองประภาวุฒิ หมวดวิชาชีวเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

**E-mail address:** sutarn@rangsit.rsu.ac.th.

**ระยะเวลาโครงการ** 2 ปี

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้เพื่อสืบหา ทำการโคลนยีนพร้อมทั้งศึกษาการแสดงออกของยีน carbonic anhydrase (CA) ของเชื้อ *Plasmodium falciparum* (PfCA) ใน *Escherichia coli* จากการสืบค้นหายีนคาร์โบนิค แอนไฮเดรส (CA) ของเชื้อ *P. falciparum* ในฐานข้อมูลมาเลเรีย โดยใช้โปรแกรม BLAST พบว่าลำดับเบสของยีน CA ที่พบในเชื้อ *P. falciparum* อยู่บนโครโมโซมที่ 11 มีความเหมือนกันกับ CA ใน *P. yoelii* และใน Human และจัดอยู่ในกลุ่มอัลฟา โดยมีจำนวนกรดอะมิโน 235 ตัว เมื่อทำการโคลนยีนและหาลำดับเบสของยีน CA รวมทั้งศึกษาการแสดงออกของยีน CA ของเชื้อ *P. falciparum* (PfCA) ใน *E. coli* พบว่าเอนไซม์ที่สกัดได้จาก recombinant PfCA อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 29 ± 1 กิโลดัลตัน สามารถเร่งปฏิกิริยาได้และถูกยับยั้งได้โดย acetazolamide และ sulfanilamide เอนไซม์นี้มีคุณสมบัติทางด้านจลนศาสตร์เหมือนกับเอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อ *P. falciparum* หรือ native enzyme นอกจากนี้ยังพบว่า acetazolamide มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *P. falciparum* ที่เลี้ยงในจานทดลอง (*in vitro*) ผลจากงานวิจัยในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการค้นหายาชนิดต่างๆ ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ CA เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการพัฒนายาเป้าหมายในการรักษาโรคมาเลเรียต่อไป

**Keywords :** Malaria, *Plasmodium falciparum*, Drug target, Carbonic anhydrase, Acetazolamide

## Abstract

TE 162341

**Project code :** TRG 4580036

**Project Title :** Molecular cloning and expression of *Plasmodium falciparum* carbonic anhydrase

**Investigator :** Sutarnthip Ruengprapavut, Unit of Biochemistry, Department of Medical Sciences, Faculty of Science, Rangsit University, Paholyothin Rd., Patumthani 12000; Thailand.

**E-mail address:** sutarn@rangsit.rsu.ac.th.

**Project Period:** 2 years

The objective of this study is to clone and functional express *Plasmodium falciparum* carbonic anhydrase (CA) in *Escherichia coli*. The search of the malarial genome database yielded an open reading frame (ORF) on chromosome 11 similar to the α-CAs from various organisms, including human. The primary amino acid sequence of the PfCA gene has ~60% identity with a rodent parasite enzyme, namely *P. yoelii* (PyCA). The single ORF encoded 235 amino acid protein for PfCA. The PfCA gene was cloned, sequenced and expressed in *E. coli*. The purified recombinant PfCA enzyme was catalytically active. The recombinant protein was analyzed by SDS-PAGE and has a molecular mass of 29 ± 1 kDa, close to the molecular mass of deduced amino acid sequence of PfCA and the native CA purified from the malarial culture. It was sensitive to acetazolamide and sulfanilamide inhibition. Kinetic properties of the recombinant PfCA revealed the authenticity to the wild type enzyme purified from *P. falciparum in vitro* culture. Furthermore, the PfCA inhibitors acetazolamide and sulfanilamide showed good antimalarial effect on the *in vitro* growth of *P. falciparum*. Our molecular tools developed for the recombinant enzyme expression will be useful for developing potential antimalarials directed at *P. falciparum* carbonic anhydrase.

**Keywords :** Malaria, *Plasmodium falciparum*, Drug target, Carbonic anhydrase, Acetazolamide