

Abstract

Project Code: MRG5580091

Project Title: Understanding protective immunity against *Plasmodium vivax* Duffy binding protein II (PvDBPII) for discovery vivax vaccine in Thailand

Investigator: Asst. Prof. Patchanee Chootong

E-mail Address: phooton@gmail.com

Project Period: 2 July 2012-2 July 2014

Plasmodium vivax Duffy Binding Protein II (DBPII) plays an important role in reticulocyte invasion and is a potential vaccine candidate against vivax malaria. However, polymorphisms in DBPII are a challenge for the successful design of a broadly protective vaccine. In this study, the genetic diversity of DBPII among Thai isolates was analyzed from *P. vivax*-infected blood samples and polymorphism characters were defined with the MEGA4 program. Sequence analysis identified 12 variant residues that are common among Thai DBPII haplotypes with variant residues L333F, L424I, W437R and I503K having the highest frequency. Variant residue D384K occurs in combination with either E385K or K386N/Q. Additionally, variant residue L424I occurs in conjunction with W437R in most Thai DBPII alleles and these variants frequently occur in combination with the I503K variant. The polymorphic patterns of Thai isolates were defined into 9 haplotypes (Thai DBL-1, -2, -3, etc...). Thai DBL-2, -5, -6 haplotypes are the most common DBPII variants in Thai residents. To study the association of these Thai DBPII polymorphisms with antigenic character, the functional inhibition of anti-DBPII monoclonal antibodies against a panel of Thai DBL variants was characterized by an *in vitro* erythrocyte binding inhibition assay. The functional inhibition of anti-DBPII monoclonal antibodies 3C9, 2D10 and 2C6 against Thai variants was significantly different, suggesting that polymorphisms of Thai DBPII variants alter the antigenic character of the target epitopes. In contrast, anti-DBPII monoclonal antibody 2H2 inhibited all Thai DBPII variants equally well. Our results suggest that the immune efficacy of a DBPII vaccine will depend on the specificity of the anti-DBPII antibodies induced and that it is preferable to optimize responses to conserved epitopes for broadly neutralizing protection against *P. vivax*.

Keywords: Duffy Binding Protein II, Polymorphism, Thailand.

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: MRG5580091

ชื่อโครงการ: การศึกษาเชิงลึกภูมิคุ้มกันต่อต้าน *Plasmodium vivax* Duffy binding protein II (PvDBPII) เพื่อการผลิตวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรียชนิด *Plasmodium vivax* ในประเทศไทย

ชื่อนักวิจัย: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พชณี ชูทอง

อีเมลล์ : pchooton@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ: 2 กรกฎาคม พ.ศ. 2555 ถึง 2 กรกฎาคม พ.ศ. 2557

Plasmodium vivax Duffy Binding Protein II (PvDBPII) มีบทบาทในการจับกับโมเลกุลตัวรับเพื่อการบุกรุกเข้าสู่ Reticulocyte ดังนั้นจึงทำให้ PvDBPII เป็นแอนติเจนที่มีความสำคัญในการผลิตวัคซีนต่อต้านโรคมาลาเรียชนิด *Plasmodium vivax* โดยการกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันให้สร้างแอนติบอดียับยั้งการจับกันระหว่าง PvDBPII และโมเลกุลตัวรับบน Reticulocyte แต่อย่างไรก็ตามการกลายพันธุ์และการเกิดความหลากหลายของสายพันธุ์ PvDBPII เป็นอุปสรรคที่สำคัญในการผลิตวัคซีน ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยจึงได้ทำการวิเคราะห์ความหลากหลายของการกลายพันธุ์ของโมเลกุล PvDBPII ในกลุ่มเชื้อ *Plasmodium vivax* ที่ระบาดในกลุ่มคนไข้ไทยโดยใช้โปรแกรม MEGA4 ผลการทดลองสามารถวิเคราะห์ตำแหน่งของกรดอะมิโนที่เกิดการกลายพันธุ์ได้จำนวน 12 ตำแหน่งโดยพบว่าตำแหน่งที่ L333F L424I W437R และ I503K พบความถี่สูงสุดในการเกิดการการพันธุ์ ตำแหน่งการกลายพันธุ์ที่ D384K พบร่วมกับตำแหน่ง E385K และ K386N/Q นอกจากนี้พบว่าตำแหน่งการกลายพันธุ์ที่ L424I จะเกิดร่วมกับตำแหน่งการกลายพันธุ์ W437R ในทุกสายพันธุ์ Thai PvDBPII และตำแหน่งการกลายพันธุ์ที่ L424I และ W437R จะพบร่วมกับตำแหน่งการกลายพันธุ์ I503K รูปแบบการกลายพันธุ์ในกลุ่ม Thai PvDBPII สามารถจำกัดความหลากหลายของการการพันธุ์ออกเป็น 9 สายพันธุ์ คือ PvDBPII สายพันธุ์ Thai DBL-1, -2, -3, -4, -5, -6, -7, -8 และ -9 สายพันธุ์ที่พบความถี่สูงสุดในกลุ่มคนไข้ไทยคือสายพันธุ์ Thai DBL-2, -5 และ -6 การศึกษาในครั้งนี้ยังได้ทำการศึกษาความเชื่อมโยงระหว่างการการพันธุ์ของ Thai PvDBPII และคุณลักษณะความเป็นแอนติเจน หน้าที่การยับยั้งของโมโนโคลนัลแอนติบอดีจำเพาะต่อ Thai PvDBPII โดยใช้การทดลอง In vitro erythrocyte binding inhibition assay ผลการทดลองพบว่าโมโนโคลนัลแอนติบอดี 3C9 2D10 และ 2C6 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการจับกันระหว่าง Thai PvDBPII แต่ละสายพันธุ์และเม็ดเลือดแดงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติบ่งชี้ให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะความเป็นแอนติเจนของ Epitopes ที่เป็นเป้าหมายของแอนติบอดีหลังจากที่มีการกลายพันธุ์ของ Thai PvDBPII ในขณะที่โมโนโคลนัลแอนติบอดี 2H2 มีความสามารถในการยับยั้งการจับกันของทุกสายพันธุ์ Thai PvDBPII และเม็ดเลือดแดง การศึกษาในครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าการผลิตวัคซีน PvDBPII ควรจะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้สร้าง Anti-PvDBPII antibody ที่มีความจำเพาะต่อ conserved epitopes เพื่อการกระตุ้น broadly neutralizing antibody ในการป้องกันการติดเชื้อ Thai PvDBPII ทุกสายพันธุ์

คำหลัก: พลาสมาเดียมไวแวกซ์ ความหลากหลายของการการกลายพันธุ์ ประเทศไทย