

บทคัดย่อภาษาไทย

พลาสมิเดียม ฟัลซิพารัม เป็นเชื้อโปรโตซัว ที่ทำให้เกิดโรคมาลาเรีย ซึ่งเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญโรคหนึ่ง ในเขตร้อน และกึ่งร้อน ของโลก อีกทั้งยังเป็นโรคที่ยังต้องการยารักษาที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากการดื้อยา การผลิตวัคซีนต่อโรคยังไม่ประสบผลสำเร็จ และ การกำจัดยุงพาหะก็ยังมีปัญหา เนื่องจากการดื้อยาก็ยังคงมีอยู่ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนที่จะต้องหาเป้าหมายใหม่ของยา เพื่อการรักษาโรคที่มีประสิทธิภาพมากกว่าที่มีอยู่ในปัจจุบัน หนึ่งในเป้าหมายที่น่าสนใจคือ เอนไซม์ ดี เอน เอ เฮลิเคส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่คลายเกลียว ดีเอ็นเอ เพื่อให้สามารถทำกิจกรรมต่างๆ ซึ่งมีความจำเป็นต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดได้ โครงการวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาเอนไซม์เฮลิเคส ตัวใหม่ ที่ยังไม่เคยมีรายงานการวิจัยมาก่อน โดยเริ่มตั้งแต่การโคลน การแสดงออก และวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมีต่างๆ ของ เอนไซม์ ซึ่งเตรียมได้จาก จากยีน Pf10910w ผลการวิจัยพบว่าสามารถทำการโคลน และ แสดงออกเอนไซม์โดยใช้ระบบการแสดงออกใน *อี โคไล* ได้สำเร็จ เรียกเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมาได้ว่า PfDHA86 โดยพบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ได้ที่ระดับ ๐.๓๙๕ มิลลิกรัม ต่อ สารเลี้ยงเชื้อ ๑ ลิตร โดยเอนไซม์ ดีเอนเอ เฮลิเคส ปรับแต่งพันธุกรรมที่ผลิตขึ้นมาได้มีขนาด ๘๕.๕ กิโลดาลตัน ผลจากการวิเคราะห์คุณสมบัติในการทำกิจกรรมพบว่า สามารถทำงานได้ดีเมื่อใช้พลังงานจากการย่อย ATP, ทำงานลดลงเล็กน้อยเมื่อใช้ dATP, และทำงานได้น้อยเมื่อใช้ dCTP, dGTP, dTTP เป็นแหล่งพลังงาน อีกทั้งยังต้องการ Mg^{2+} ในการทำงาน และถูกยับยั้งการทำงานโดย 200 mM KCl, 200 mM NaCl และ EDTA เอนไซม์สามารถคลายเกลียว ดีเอ็นเอ สายคู่ ทั้งแบบสายสั้นและสายยาว จากการศึกษาผลของยา ในการทำงานของเอนไซม์พบว่า ยา ในกลุ่มแอนทราไซคลิน ได้แก่ daunorubicin และ doxorubicin สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ โดยมีค่า IC_{50} ของ daunorubicin และ doxorubicin เท่ากับ 30 และ 23 μM ตามลำดับ องค์กรความรู้ที่ได้นี้จะสามารถใช้เป็นพื้นฐานในการพัฒนาการรักษาโรคมาลาเรียตัวใหม่ และยังเป็นองค์ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับกลไกการทำงานของเอนไซม์ เฮลิเคสในสิ่งมีชีวิต เชิงลึก อีกด้วย

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ

Plasmodium falciparum is causative agent of malaria. It is one of the most important tropical diseases of public health in tropical and subtropical area. The new antimalarial drug is needed for the disease because there are still many problems, such as drug resistance, lack of effective vaccine, and mosquito resistance to insecticide. Therefore, there is an urgent need for a new drug target. DNA helicase is an essential enzyme for various DNA metabolisms that involve the separation of double stranded DNA to single stranded DNA. Therefore, this enzyme could be a competent new drug target. This aim of this study is to clone, express and characterize DNA helicase from *Pf10910w* gene. The yield of the recombinant enzyme was 0.395 mg/L of culture volumn. The purified recombinant enzyme was about 85.5 kDa. Unwinding of DNA helicase activity was driven by hydrolysis of ATP and slightly decreased when dATP was used as an energy source. Almost no unwinding activity was detected when ATP was replaced with dCTP, dGTP or dTTP. The unwinding activity was depended on Mg^{2+} , and inhibited by 200 mM KCl, 200 mM NaCl and EDTA. This DNA helicase could unwind both short and long partial duplex DNA substrates. The study of drug inhibitory effect indicated that Antracycline, namely, Daunorubicin and Doxorubicin could inhibit the unwinding activity of *Pf10910w*, with the IC_{50} for Daunorubicin and Doxorubicin at 30 and 23 μM , respectively. The knowledge obtained from this study could be the basis for the development of a novel anti-malarial drug as well as for more insight into the molecular biology and biochemistry of DNA helicases in general living organisms.