

RMU 4880044

Double-stranded RNA mediated gene silencing of histone deacetylase of

Plasmodium falciparum

W. Noonpakdee^{*1}, N. Sriwilaijaroen², S. Boonma¹, P. Attasart³, J. Pothikasikorn⁴, S. Panyim^{1,3}

^{*1}Department of Biochemistry, ⁴Department of Microbiology, Faculty of Science

³Institute of Molecular Biology and Genetics, Mahidol University, BKK 10400

²Faculty of Medicine, Thammasart University, Phaholyothin Rd, , Klong Luang,

Pratumthani 12120, Thailand : * E-mail Address: scwnp@mahidol.ac.th

Project Period : 29 กรกฎาคม 2548 – 28 กรกฎาคม 2551

Abstract

Acetylation and deacetylation of histones play an important role in transcription regulation, cell cycle progression and development events. The steady state status of histone acetylation is controlled by a dynamic equilibrium between competing histone acetylase and deacetylase (HDAC). Histone deactylase (HDAC) was recently suggested to be a potential new target for novel antimalarial compounds. The *Plasmodium falciparum* histone deacetylase 1(*Pf*HDAC-1) was recently cloned and sequenced. We have used long *Pf*HDAC-1 double-stranded RNA (dsRNA) to interfere with the cognate messenger expression and determined the effect on parasite growth and development. Chloroquine-and pyrimethamine-resistant *P. falciparum* K1 strain was exposed to dsRNA between 1-25 µg/ml cultures for 48 h and growth was determined by [³H] hypoxanthine incorporation and microscopic assay. Parasite cultures treated with 10µg/ml *p**f*HDAC-1 dsRNA exhibited 47 % growth inhibition when compared with either untreated control or culture treated with an unrelated dsRNA. *Pf*HDAC-1 dsRNA specifically blocked maturation of trophozoite to schizont stages and decreased *Pf*HDAC-1 transcript 44 % in treated trophozoites. These results indicate the potential role of this HDAC-1 as a target for development of novel antimalarials.

Key words:: *Plasmodium falciparum*; Malaria; Double-stranded RNA ;Histone deacetylase; *Pf*HDAC-1

RMU 4880044

**การใช้ double-stranded RNA ในการยับยั้งการทำงานของยีน Histone deacetylase
ของเชื้อมาลาเรียชนิดพัลซิพารัม**

วิไล หนูหนักดี^{1*} นงลักษณ์ ศรีวิลเลเจอร์² ศิริวรรณ บุญมา¹ พงษ์โสภี อุตศาสตร์³ จินรภา โพธิ์กสิกร⁴
สกล พันธุ์ยิ้ม^{1,3}

¹ ภาควิชาชีวเคมี ⁴ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ³ สถาบันอนุชีววิทยาและพันธุศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพระรามหก ราชเทวี กทม 10400

² คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ปทุมธานี²

Email: scwnp@mahidol.ac.th

ระยะเวลาโครงการ 29 กรกฎาคม 2548 – 28 กรกฎาคม 2551

บทคัดย่อ

ขบวนการ การเติมและการนำออกของหมู่ อะเซทิล ของโปรตีน histone มีบทบาทสำคัญในการควบคุมและการพัฒนาของเซลล์โดย เอนไซม์ histone acetylase และ เอนไซม์ histone deacetylase เอนไซม์ histone deacetylase ของเชื้อมาลาเรียได้ถูกนำเสนอให้เป็นเป้าหมายในการศึกษาเพื่อพัฒนายาต้านมาลาเรียใหม่ ยีนของเอนไซม์ histone deacetylase ของเชื้อมาลาเรียชนิดพัลซิพารัมได้ถูกศึกษาในระดับของยีนโดยทราบรหัสของเอนไซม์ทั้งหมดในการศึกษาวิจัยนี้ได้ออกแบบและสังเคราะห์ double stranded RNA(ds) ที่มีลำดับเบสจำเพาะกับบางส่วนของยีน histone deacetylase ของเชื้อมาลาเรีย (*PfHDAC-1*) เพื่อศึกษาว่าสามารถยับยั้งการสร้าง messenger RNA ของยีนดังกล่าวและผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยการเติม *pHDAC-1 dsRNA* ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรียชนิดพัลซิพารัมสายพันธุ์ เค 1 ที่ดื้อต่อ ยา คลอโรควินและไพริเมตามีนในขนาด 1-25 ไมโครกรัม ต่อ 1 มิลลิลิตร ของ culture เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และวัดการเจริญเติบโตและพัฒนาของเชื้อมาลาเรียโดยวิธี hypoxanthine incorporation และ การนับจำนวนของเชื้อโดยกล้องจุลทรรศน์ การทดลองพบว่า *pHDAC-1dsRNA* 10 ไมโครกรัม ต่อ 1 มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ร้อยละ 47 เมื่อเทียบกับเชื้อที่ไม่ได้รับสารหรือได้รับ dsRNA ของยีนที่ไม่เกี่ยวข้อง การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียพบว่าเกิดขึ้นในระหว่างการพัฒนาของเชื้อจากระยะ trophozoite ไปยัง schizont พร้อมกับปริมาณของ messenger RNA ของยีน *pHDAC-1* ของเชื้อมาลาเรียลดลงร้อยละ 44 ผลการศึกษานี้บ่งชี้ถึงบทบาทสำคัญของเอนไซม์ histone deacetylase ของเชื้อมาลาเรีย ในการเป็นเป้าหมายสำคัญในการพัฒนายาใหม่ที่ใช้รักษาโรคมาลาเรีย

คำหลัก เชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียม พัลซิพารัม; มาลาเรีย ; double stranded RNA ; เอนไซม์ histone deacetylase ; *PfHDAC-1*