# ดีเอ็นเอเฮลิเคส: เป้าหมายยาใหม่ในการต้านมาลาเรีย
# DNA helicase: Novel Drug Target for Antimalarial Drug

**พัตรา สุนทรฐิติเจริญ**
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต
**Pattra Suntornthiticharoen**
Faculty of Science, Rangsit University

**บทคัดย่อ**

ในปัจจุบันมาลาเรียเป็นโรคที่ยังเป็นปัญหาทางด้านสาธารณสุข เนื่องจากในแต่ละปีมีผู้ป่วยเสียชีวิตเนื่องจากโรคนี้มากกว่าหนึ่งล้านคนทั่วโลก อีกทั้งเชื้อมาลาเรียดื้อต่อยาต้านมาลาเรียที่มีอยู่ในขณะนี้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนในการหาเป้าหมายยาใหม่ๆ และยาต้านมาลาเรียที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อ โดยเป้าหมายที่น่าสนใจหนึ่งคือ เอ็นไซม์ดีเอ็นเอเฮลิเคส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการแยกสายดีเอ็นเอเกลียวคู่ให้เป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว เพื่อใช้ในขบวนการเมแทบอลิซึมของดีเอ็นเอ ถ้าสามารถศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของดีเอ็นเอเฮลิเคสจากมาลาเรียว่ามีความเหมือนหรือต่างอย่างไรกับเอ็นไซม์ของคนก็อาจจะสามารถออกแบบยาที่สามารถยับยั้งเอ็นไซม์นี้ได้

***คำสำคัญ:*** มาลาเรีย ฟัลซิปารั่ม ดีเอ็นเอเฮลิเคส

## Abstract

Malaria kills more than one million people each year and the parasites are becoming resistant to the existing drugs. There is an urgent need to develop new, effective antimalarial drugs. DNA helicases separate double-stranded DNA into single-stranded DNA intermediates that are essential in nearly all DNA metabolic transactions, and thus *Plasmodium falciparum* DNA helicases may serve as possible enzyme targets to combat malarial infection.

***Keywords:*** Malaria, *Plasmodium falciparum*, DNA helicase

## ปัญหาของมาลาเรีย

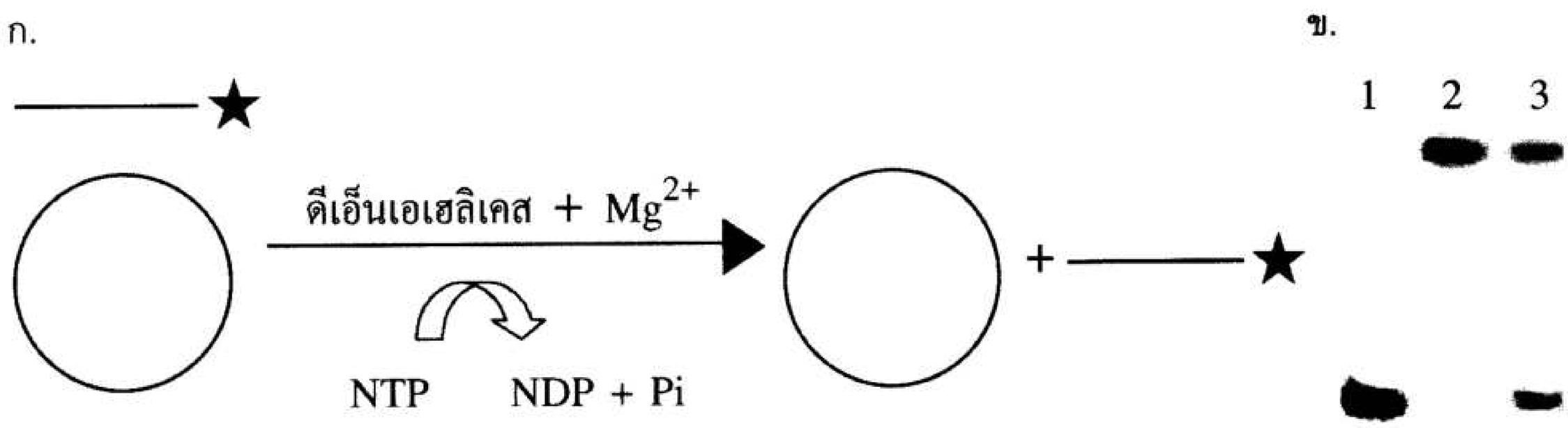
มาลาเรียเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อ *Plasmodium* มี 4 species ที่ทำให้เกิดโรคในคน ได้แก่ *Plasmodium falciparum, P. vivax, P. malariae* และ *P. ovale* จัดเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว ชนิด Eukaryote ในกลุ่มโปรโตซัว อัตราการติดเชื้อสูงถึง 500 ล้านคนต่อปี และมีอัตราการตายมากกว่าหนึ่งล้านคน (1, 2) พบในเขตร้อนและแถบใกล้เขตร้อน การติดเชื้อพบในหลายประเทศ เช่น อินเดีย บราซิล อัฟกานิสถาน ศรีลังกา ไทย อินโดนีเซีย เวียดนาม กัมพูชา และจีน ก่อให้เกิดการใช้จ่ายในการรักษาสูงถึง 12 พันล้านเหรียญดอลลาร์สหรัฐในประเทศแถบแอฟริกา (3) มาลาเรียต้องการโฮสต์สองชนิด ได้แก่ ยุงก้นปล่อง *(Anopheles)* และคน *P. falciparum* เป็นชนิดที่ร้ายแรงที่สุด ผู้ป่วยมักมีภาวะเลือดจาง (Anemia) เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อสามารถอุดตันได้ตามเส้นเลือดขนาดเล็ก ถ้าเกิดที่บริเวณสมอง จะทำให้เกิดมาลาเรียขึ้นสมอง (Cerebral malaria) ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็กในทวีปแอฟริกา นอกจากนั้นการดื้อยาของเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิปารั่มต่อยาต้านมาลาเรียเกือบทุกชนิดที่ใช้ในปัจจุบัน การศึกษาด้านวัคซีนป้องกันโรคก็ยังไม่สำเร็จ นอกจากนั้นยุงซึ่งเป็นพาหะของโรคก็ยังดื้อต่อยาฆ่าแมลงด้วย (4) การดื้อยาต้านมาลาเรียเกิดจากหลายปัจจัย เช่น การใช้ยาต้านมาลาเรียสำหรับการป้องกันโรค (Prophylaxis) ที่ไม่เหมาะสม การใช้ยาไม่ครบตามปริมาณที่กำหนด ปรสิตมีการปรับปรุงสายพันธุ์ในระดับยีนและ Metabolism เช่น การดื้อยา Pyrimethamine และ Proguanil ซึ่งมีเป้าหมายที่ Dihydrofolate reductase (5) เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนที่จะพัฒนายาและหาเป้าหมายใหม่ (Drug target) ในการฆ่าเชื้อ (6) การพัฒนายาต้านมาลาเรียมีหลายวิธี เช่น การปรับเปลี่ยนและพัฒนาจากยาเดิมที่ใช้กันอยู่ การพัฒนายาให้มีความซับซ้อนน้อยลงและสังเคราะห์ง่ายขึ้น เช่น Trioxalane derivative ซึ่งขณะนี้กำลังอยู่ในระหว่างการทดลองทางคลินิค (Clinical trials) (2) เป้าหมายหนึ่งที่น่าสนใจคือ ดีเอ็นเอเฮลิเคส (DNA helicase) ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ที่สำคัญตัวหนึ่งในขบวนการต่างๆ เกี่ยวกับ DNA metabolism

## ดีเอ็นเอเฮลิเคส (DNA helicase)

ดีเอ็นเอเฮลิเคสเป็นเอนไซม์สำคัญในขบวนการต่างๆ ของดีเอ็นเอในเซลล์สิ่งมีชีวิตทุกชนิดทั้งใน Prokaryotes และ eukaryotes รวมถึง Bacteriophage ด้วยเช่น คน พืช รวมทั้งเชื้อมาลาเรียด้วย เพื่อใช้ในขบวนการ Metabolism ของทั้ง DNA และ RNA (2) เช่น DNA replication,Recombination, Repair และ transcription ดีเอ็นเอเฮลิเคสมีหน้าที่ในการแยก DNA เกลียวคู่ให้เป็น DNA สายเดี่ยวโดยการสลายพันธะไฮโดรเจนที่ยึดกันระหว่าง DNA สองสาย โดยที่พันธะโควาเลนซ์ของ DNA Backbone ยังคงอยู่ ซึ่งเป็นข้อแตกต่างกันกับเอ็นไซม์ Topoisomerases ในขบวนการ Replication ดีเอ็นเอเฮลิเคสจะมีการทำงานร่วมกับโปรตีนอื่นๆ เป็นกระบวนการร่วมกัน (7) โดยทั่วไปเอนไซม์จะจับกับ Nucleic acid substrate จากนั้นจะจับกับ hydrolysis ของ Nucleoside triphosphates (NTP) และเกิด Hydrolysis ตามด้วยการแยกสาย DNA (6) การทำงานเกิดได้โดยใช้พลังงานจาก Hydrolysis ของ NTP โดยเฉพาะอย่างยิ่งจาก ATP (adenosine triphosphates) ได้ผลเป็น NDP (Nucleoside diphosphate) และ Pi (8) และยังมีหน้าที่เป็น DNA-dependent nucleoside 5' -triphosphatases (NTPases) activity อีกด้วย (8, 9, 10) จากเหตุผลที่ดีเอ็นเอเฮลิเคสทำงานโดยใช้พลังงานจาก NTP hydrolysis เพื่อแยกสาย DNA ดังนั้น จึงจัดดีเอ็นเอเฮลิเคสเป็น Motor proteins (11, 12) เอนไซม์นี้สามารถแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามทิศทางการทำงานคือ 3'-5' และ 5'-3' ดีเอ็นเอเฮลิเคสขึ้นกับทิศทางการทำงานและสายที่เอนไซม์เกาะ บางชนิดสามารถทำงานได้ทั้งสองทิศทางแต่พบน้อย (13) ในการศึกษา DNA Helicase activity ในหลอดทดลองปัจจุบันมักใช้ Duplex DNA ที่ติดฉลากสายหนึ่งด้วยสาร

รังสี, ดีเอ็นเอเฮลิเคส และ ATP (14, 15) duplex DNA มักใช้ circular single stranded DNA (ssDNA) และชิ้นส่วน DNA สายสั้นมาทำให้เกิด Duplex โดยติดฉลากด้วยสารรังสีที่ DNA สายสั้น เมื่อเอนไซม์ทำงานเสร็จแล้ว Duplex DNA จะแยกเป็นสองเส้น นำไปแยกโดยใช้วิธี Electrophoresis จะดูผลโดยการใช้การวิ่งเข้าไปใน Gel ของ DNA ขนาดต่างกันจะเห็นในระดับที่แตกต่างกัน จะเห็นว่า DNA สายสั้นที่ติดฉลากจะวิ่งเข้าไปใน Gel ซึ่งเป็นผลจากการแยกสาย DNA ของเอ็นไซม์ และสามารถดูได้โดยAautoradiography และสามารถนำไปหาปริมาณได้โดยใช้ Liquid scintillation counter (รูปที่ 1)

DEAH (Asp-Glu-Ala-His), DExH (Asp-Glu-x-His), DExD-box helicases (Asp-Glu-x-Asp) โดยที่ x เป็นกรดอะมิโนตัวใดก็ได้ Box helicase 4 ชนิดนี้พบได้มากในกลุ่ม SF2 ในส่วน Helicase motifs 9 motifs ได้แก่ Q, I, Ia, Ib, II, III, IV, V และVI แบ่งตามการวิเคราะห์การกลายพันธุ์ (Mutational analysis) และข้อมูลโครงสร้างกรดอะมิโน จากการศึกษา X-ray crystallography มีข้อเสนอแนะว่า Conserved helicase motifs เหล่านี้มีความสัมพันธ์กับโครงสร้างตติยภูมิและหน้าที่ของโปรตีน เช่น Motif I (A/GxxGxGKT) เกี่ยวข้องกับการจับกับ ATP (ATP binding), Motif II (VLDEAD) ทำหน้าที่ Hydrolysis, motif III (SAT) ทำหน้าที่ในการจับกับ




**รูปที่ 1** การหา ดีเอ็นเอเฮลิเคส acivity

ก. การศึกษาการทำงานของ ดีเอ็นเอเฮลิเคส ที่ทำหน้าที่แยก DNA เกลียวคู่ ในปฏิกิริยาจะมี substrate, ดีเอ็นเอเฮลิเคส, NTP และ $Mg^{2+}$

ข. ภาพ autoradiogram ของ gel

ช่องที่ 1: heat-denatured substrate

ช่องที่ 2: reaction ที่มี ดีเอ็นเอเฮลิเคส

ช่องที่ 3: reaction ที่ไม่มี ดีเอ็นเอเฮลิเคส

ดีเอ็นเอเฮลิเคสมักมี Conserve region (16) ทำให้สามารถแบ่งเป็น 3 Subfamily ได้แก่ SF1-3 (17-19) ตามการเทียบลำดับของกรดอะมิโนและ Helicase motif โดยที่ SF1 และ SF2 ประกอบด้วย Helicase ที่เป็น Conserved helicase motifs อยู่ 9 ชุด ส่วน SF3 มี Conserved helicase motifs อยู่ 3 ชุด ส่วนชุดของ Amino acid 4 ตัวเป็น Box ของ Helicase โดยให้ชื่อตามลำดับของกรดอะมิโนดังนี้ DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp),

nucleic acid (Nucleic acid binding) และ Motif IV (HRIGRxxR) เกี่ยวข้องกับ ATP-hydrolysis-dependent nucleic acid unwinding (19)

ดีเอ็นเอเฮลิเคสพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1976 ใน *Escherichia coli* (20) ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดยังพบดีเอ็นเอเฮลิเคสได้หลายชนิดด้วย (8) เช่น ใน *E. coli* พบดีเอ็นเอเฮลิเคสอย่างน้อย 14 ชนิด หนึ่งในจำนวนนี้ ได้แก่ DnaB protein ทำหน้าที่ใน Replication fork บน lagging

strand ของแบคทีเรีย (21) ในคนพบดีเอ็นเอเฮลิเคสอย่างน้อย 9 ชนิด (22) ในมาลาเรียยีนที่ Code สำหรับดีเอ็นเอเฮลิเคสมีอย่างน้อย 29 ยีนที่เป็น Putative DNA helicase (23) แต่ยังไม่มีรายงานว่าชนิดใดเกี่ยวข้องกับขบวนการ Replication

ในวงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรียมีความซับซ้อนและมีขบวนการ Replication เกิดขึ้นหลายที่ ทั้งในยุงและคน เช่น หลังจากที่เชื้อเข้าสู่เซลล์ตับ, ระหว่าง Schizogony ในเซลล์เม็ดเลือดแดง, ระหว่าง Gametogenesis, หลังจาก Fertilization และใน Oocysts (24) มีการประมาณว่าใน Eukaryotic และ Prokaryotic genome มียีนที่ทำหน้าที่สร้างดีเอ็นเอเฮลิเคสอยู่ถึง 1% ของยีนทั้งหมด (22) การทำงานของดีเอ็นเอเฮลิเคสต้องการ Divalentation และ Nucleotide triphosphate ด้วย สารตั้งต้นสำหรับดีเอ็นเอเฮลิเคส เป็น Nucleic acid เกลียวคู่ จึงแบ่งชนิดของเฮลิเคสได้หลายชนิดเช่น DNA-DNA, RNA-DNA หรือ RNA-RNA helicase ขึ้นกับสารตั้งต้นที่ใช้ (2) การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอเฮลิเคสสามารถ ทำได้โดยการใช้ยาปฏิชีวนะในกลุ่ม Anthracycline เช่น Aclarubicin, Daunorubicin ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของดีเอ็นเอเฮลิเคสใน *E. coli*, SV40, HeLa cells และ *P. falciparum* (7, 23, 25) โดยยาในกลุ่มนี้จะจับกับ DNA ในสายทำให้มี Melting temperature เพิ่มขึ้นและทำให้สภาพของ DNA เปลี่ยนแปลงไปโดยที่ DNA ที่จับกับ Anthracycline จะเสียสภาพไม่สามารถบิดงอได้หรืออาจยืดยาวผิดไป (6, 26)

จากการศึกษาดีเอ็นเอเฮลิเคสจาก *P. falciparum* ซึ่งทำโดยการเลี้ยงเชื้อมาลาเรียให้ได้จำนวนมากแล้วทำ การสกัดแยกเอนไซม์ออกมาด้วยวิธี Column chromatography พบว่ามีดีเอ็นเอเฮลิเคสหลายชนิด โดยหนึ่งในเอนไซม์ที่สกัดแยกมาได้นั้นได้ตั้งชื่อว่า PfDH A พบในระยะ Schizont ซึ่งเป็นระยะที่มี DNA Replication จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 90 kDa มีทิศทางการทำงานโดยแยกสาย DNA จากปลาย 3' ไปยังปลาย 5' ของเส้น DNA การใช้สารตั้งต้นชอบใช้ Fork-like substrate ต้องการ $Mg^{2+}$ ในปฏิกิริยาการแยกสาย PfDH A และพบในปริมาณที่น้อยมาก *P. falciparum* genome มีประมาณ 23 Megabase pairs โครโมโซม 14 คู่ มี Plastid-like genome และ Mitochondrial genome (28) พบว่า Nuclear genome เป็น (A+T)-rich genome ประมาณ 81% และเพิ่มเป็น 91% ในส่วนของ Intergenic regions และ Intron (27) ปัจจุบันยีโนมของ *P. falciparum* clone 3D7 ได้รับการ Sequence เรียบร้อยแล้ว (27) จากนั้นจึงได้มีการศึกษาดีเอ็นเอเฮลิเคสจากการโคลนยีน เช่น *Plasmodium falciparum* DEAD-helicase 60 (PfDH60) เป็นดีเอ็นเอเฮลิเคสที่ได้จากการ Express ดีเอ็นเอเฮลิเคส *P. falciparum* (3D7) ใน *E. coli* expression system พบว่ามีน้ำหนักโมเลกุล 59.8 kDa สามารถทำงานได้ที่ pH 5.0-10.0 และพบในระยะ schizont และสามารถทำงานได้ทั้ง 2 ทิศทาง (Bipolar) (29, 30) ดังนั้นดีเอ็นเอเฮลิเคสจึงเป็นเป้าหมายที่ดีสำหรับการออกฤทธิ์ของยาต้านมาลาเรีย โดยเฉพาะในขบวนการ Replication ในระยะ Schizogony ซึ่งเป็นระยะที่เชื้อกำลังแบ่งตัวเป็นจำนวนมากอยู่ในเลือดของผู้ป่วยและเมื่อระยะ Schizont แตกออกจากเซลล์เม็ดเลือดแดงจะทำให้ผู้ป่วยเกิดอาการจับสั่น นอกจากนั้นยังเป็นเอนไซม์ที่มีหลายหน้าที่และถึงแม้ว่าในคนและสัตว์อื่นๆ ก็มีดีเอ็นเอ เฮลิเคสเช่นกัน แต่น่าจะมีโครงสร้างหน้าที่และคุณสมบัติเฉพาะที่แตกต่างกันออกไปตามลำดับการวิวัฒนาการ เช่น จาก PlasmoDB entry number PFL1310c ยีนที่ Code สำหรับเอ็นไซม์ PfDH60 (31) มี % Identity กับ Helicase ของคนเพียง 34-41% (http://plasmodb.org/plasmo) ดีเอ็นเอเฮลิเคสเป็นเอ็นไซม์ที่สำคัญมากในการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิต จากการศึกษาในแบคทีเรียและไวรัสมีดีเอ็นเอเฮลิเคสหลายชนิดที่สำคัญในการเพิ่มจำนวนของสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ การยับยั้งเอ็นไซม์นี้ทำให้การเพิ่มจำนวนของไวรัสในการเพาะเลี้ยงเซลล์ (Cell culture) และในสัตว์ทดลองลดลงและน่าที่จะเป็นเป้าหมายที่สำคัญในการหายาต้าน

ไวรัสด้วย (32-35) ในส่วนของการทำงานของดีเอ็นเอเฮลิเคสจากคนเทียบกับ *P. falciparum* เมื่อนำมาทดสอบกับ Inhibitor หลายชนิด เช่น Actinomycin, Daunorubicin, Ethidium bromide, Mitoxanthrone, Netropsin และ Nogalamycin พบว่า ค่า $IC_{50}$ สำหรับยาที่นำมาทดสอบหลายชนิดกับ ดีเอ็นเอเฮลิเคสของ *P. falciparum* มีค่าต่ำมากเมื่อเทียบกับดีเอ็นเอเฮลิเคสของคน (23, 29, 36) แต่สำหรับดีเอ็นเอเฮลิเคสของไวรัสหลายชนิด เช่น Hepatitis C virus, Dengue fever virus, Japanese encephalitis virus และ West nile virus ต่อยา Nogalamycin พบว่าค่า $IC_{50}$ ค่อนข้างมีค่าหลากหลาย ตั้งแต่ 0.1 ถึงมากกว่า 650 μM จึงคิดว่ายาที่สามารถยับยั้งการทำงานของดีเอ็นเอเฮลิเคสอาจจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียได้ด้วยนำมาสู่การทดลองนำยาบางชนิดมายับยั้งเชื้อมาลาเรียในหลอดทดลอง พบว่ายาบางชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ แสดงให้เห็นว่าการใช้ยาที่สามารถยับยั้งการทำงานของดีเอ็นเอเฮลิเคสสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (23, 29, 36) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะสามารถหายาที่จะยับยั้งเฉพาะดีเอ็นเอเฮลิเคสของเชื้อมาลาเรียอย่างเฉพาะเจาะจงเพื่อพัฒนา เป็นยารักษามาลาเรียตัวใหม่ต่อไปได้

## สรุป

ความสำคัญของดีเอ็นเอเฮลิเคสในขบวนการต่างๆ ของดีเอ็นเอในเซลล์ของมาลาเรีย การศึกษาเกี่ยวกับกลไกการทำงานของเอนไซม์นี้และคุณสมบัติต่างๆ และความสามารถในการถูกยับยั้งด้วย inhibitor ต่างๆ เป็นการสร้างองค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับโครงสร้างและหน้าที่ของดีเอ็นเอเฮลิเคส รวมทั้งบทบาทของเอนไซม์นี้ในวงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรีย อันจะนำไปสู่การเป็นเป้าหมายใหม่ และอาจสามารถพัฒนาเป็นยาต้านมาลาเรียตัวใหม่ได้ เพื่อที่จะควบคุมโรคมาลาเรียอันเป็นโรคที่เป็นปัญหาในปัจจุบันให้หมดไปในที่สุด

## เอกสารอ้างอิง

1. Sachs J, Malaney P. The economic and social burden of malaria. *Nature* 2002; 415: 680-5.
2. Sahu NK, Sahu S, Kohli DV. Novel molecular targets for antimalarial drug development. *Chem Biol Drug Des* 2008; 71:287-97.
3. Tuteja R. Malaria - an overview. *FEBS J* 2007; 274: 4670-9.
4. Winstanley PA. Chemotherapy for falciparum malaria: the armoury, the problems and the prospects. *Parasitol Today* 2000; 16: 146-53.
5 John EH. Drug-resistant malaria - an insight. *FEBS Journal* 2007; 274: 4688-98.
6. Tuteja R. Helicases-feasible antimalarial drug target for *Plasmodium falciparum*. *FEBS Journal* 2007; 274: 4699-704.
7. Bachur NR, Yu F, Johnson R, Hickey R, Wu Y, Malkas L. Helicase inhibition by anthracycline anticancer agents. *Mol Pharmacol* 1992; 41: 993-8.
8. Matson SW, Kaiser-Rogers KA. DNA helicases. *Annu Rev Biochem* 1990; 59: 289-329.
9. Thommes P, Hubscher U. Eukaryotic DNA helicases. *FEBS Lett* 1990; 268: 325-8.
10. Thommes P, Hubscher U. Eukaryotic DNA helicases: essential enzymes for DNA transactions. *Chromosoma* 1992; 101: 467-73.
11. Moore KJ, Lohman TM. Helicase-catalyzed DNA unwinding: energy coupling by DNA motor proteins. *Biophys J* 1995; 68:180S-184S; discussion 184S-5S.
12. Lohman TM, Bjornson KP. Mechanisms of helicase-catalyzed DNA unwinding. *Annual Review of Biochemistry* 1996; 65: 169-214.
13. Vashisht A, Pradhan A, Tuteja R, Tuteja N. Cold

and salinity stress-induced pea bipolar pea DNA helicase 47 is involved in protein synthesis and stimulated by phosphorylation with protein kinase C. *Plant J* 2005; 77: 76-87.

14. Matson SW, Tabor S, Richardson CC. The gene 4 protein of bacteriophage T7. Characterization of helicase activity. *J Biol Chem* 1983; 258: 14017-24.
15. Venkatesan M, Silver LL, Nossal NG. Bacterio phage T4 gene 41 protein, required for the synthesis of RNA primers, is also a DNA helicase. *J Biol Chem* 1982; 257: 12426-34.
16. Gorbalenya AE, Koonin EV. Helicases: amino acid sequence comparisons and structure-func tion relationship. *Curr Opin Struct Biol* 1993; 3: 419-29.
17. Gorbalenya AE, Koonin EV, Donchenko AP, Blinov VM. Two related superfamilies of putative helicases involved in replication, recombination, repair and expression of DNA and RNA genomes. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 4713-30.
18. Linder P, Lasko PF, Ashburner M, Leroy P, Nielsen PJ, Nishi K, Schnier J, Slonimski PP. Birth of the D-E-A-D box. *Nature* 1989; 337: 121-2.
19. Tuteja N, Tuteja R. Unraveling DNA helicases. Motif, structure, mechanism and function. *Eur J Biochem* 2004; 271: 1849-63.
20. Abdel-Monem M, Hoffmann-Berling H. Enzymic unwinding of DNA. 1. Purification and characterization of a DNA-dependent ATPase from *Escherichia coli. Eur J Biochem* 1976; 65: 431-40.
21. LeBowitz JH, McMacken R. The *Escherichia coli* DnaB replication protein is a DNA helicase. *J Biol Chem* 1986; 261: 4738-48.
22. Tuteja N, Tuteja R. Prokaryotic and eukaryotic DNA helicases. Essential molecular motor proteins for cellular machinery. *Eur J Biochem* 2004; 271: 1835-48.
23. Suntornthiticharoen P, Petmitr S, Chavalitshewinkoon-Petmitr P. Purification and characterization of a novel 3'-5' DNA helicase from *Plasmodium falciparum* and its sensitivity to anthracycline antibiotics. *Parasitology* 2006; 133: 389-98.
24. White JH, Kilbey BJ. DNA replication in the malaria parasite. *Parasitol Today* 1996; 12: 151-5.
25. Bachur NR, Johnson R, Yu F, Hickey R, Applegren N, Malkas L. Antihelicase action of DNA-binding anticancer agents: relationship to gua nosine-cytidine intercalator binding. *Mol Pharmacol* 1993; 44: 1064-9.
26. Priebe W. *"Anthracycline Antibiotics" New Ana logues, Methods of Delivery, and Mechanisms of Action.* Washington DC: American Symposium Society; 1995.
27. Gardner MJ, Hall N, Fung E, White O, Berriman M, Hyman RW, *et al.* Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum. Nature* 2002; 419: 498-511.
28. Bozdech Z, Llinas M, Pulliam BL, Wong ED, Zhu J, DeRisi JL. The transcriptome of the intraerythrocytic developmental cycle of *Plasmodium falciparum. PLoS Biol* 2003; 1:E5.
29. Pradhan A, Tuteja R. *Plasmodium falciparum* DNA helicase 60 dsRNA and antibody-mediated inhibition of malaria parasite growth and down-regulation of its enzyme activities by DNA-in teracting compounds. *FEBS Journal* 2006; 273: 3545-56.

30. Shankar J, Tuteja R. UvrD helicase of *Plasmodium falciparum*. *Gene* 2008; 410:223-33.

31. Pradhan A, Chauhan VS, Tuteja R. *Plasmodium falciparum* DNA helicase 60 is a schizont stage specific, bipolar and dual helicase stimulated by PKC phosphorylation. *Mol Biochem Parasitol* 2005; 144: 133-41.

32. Borowski P, Lang M, Haag A, Schmitz H, Choe J, Chen HM, Hosmane RS. Characterization of imidazo [4,5-d] pyridazine nucleosides as modulators of unwinding reaction mediated by West Nile virus nucleoside triphosphatase/helicase: evidence for activity on the level of substrate and/or enzyme. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1231-9.

33. Frick DN. Helicases as antiviral drug targets. *Drug News Perspect* 2003; 16: 355-62.

34. Kleymann G. New antiviral drugs that target herpesvirus helicase primase enzymes. *Herpes* 2003; 10: 46-52.

35. Kwong AD, Rao BG, Jeang KT. Viral and cellular RNA helicases as antiviral targets. *Nat Rev Drug* Discov 2005; 4: 845-53.

36. Tuteja R, Tuteja N, Malhotra P, Singh Chauhan V. Replication fork-stimulated eIF-4A from *Plas modium cynomolgi* unwinds DNA in the 3' to 5' direction and is inhibited by DNA-interacting compounds. *Arch Biochem Biophys* 2003; 414: 108-14.