



UNIVERSITI SAINS MALAYSIA
PENYELIDIKAN & PEMBANGUNAN • RESEARCH & DEVELOPMENT
11800 • PULAU PINANG • MALAYSIA

Rujukan Kami : FPP 99/210

Tarikh: 13 JULAI 2001

Profesor Madya Dr. Norazmi Mohd. Nor
Pusat Pengajian Sains Kesihatan
Kampus Kesihatan USM
15990 Kubang Kerian
KELANTAN DARUL NAIM.

Tuan,

Laporan Akhir Projek Penyelidikan IRPA Jangka Pendek :
"Construction of Recombinant M. Bovis BCF Containing
Two Candidate *Plasmodium falciparum* Blood Stage Eitopes"

Saya ingin merujuk laporan akhir projek tuan yang diterima pada 23 April 2001. Terlebih dahulu saya ucapkan terima kasih di atas satu salinan laporan akhir untuk projek penyelidikan IRPA Jangka Pendek di atas tajuk "Construction of Recombinant M. Bovis BCF Containing Two Candidate *Plasmodium falciparum* Blood Stage Eitopes".

Seterusnya walaupun projek ini telah selesai, Jabatan Bendahari telah dinasihatkan untuk menangguhkan penutupan akaun projek kepada 31 OGOS 2001. Tempoh ini diberi untuk membolehkan penjelasan semua urusan tuntutan dan bayaran yang telah dikomitkan di dalam tempoh projek.

Walau bagaimanapun, tuan dinasihatkan supaya tidak mengeluarkan borang-borang pesanan baru di dalam tempoh ini.

Sekian, terima kasih.

Saya yang menjalankan tugas,


MAZULA SABUDIN

Pemangku Ketua Penolong Pendaftar

• Pemenang Anugerah Institusi R&D MPKSN 1997 • MPKSN Award For R&D Institutions 1997 Winner ¹

Tel: 04-6581557 / 6560713 / 6577888 Samb. 3108 / 3484 / 3178 / 3895 Faks: 04-6566466

• E-mail: dvc_rd@notes.usm.my • mazula@notes.usm.my

S.k. Prof. Madya Dr. Zainul Fadziruddin Zainuddin] untuk makluman tuan
Dekan
Pusat Pengajian Sains Kesihatan
Kampus Kesihatan USM
I 5990 Kubang Kerian
KELANTAN DARUL NAIM.

Timbalan Dekan (Penyelidikan)] untuk makluman tuan
Pusat Pengajian Sains Perubatan
Kampus Kesihatan USM
I 5990 Kubang Kerian
KELANTAN DARUL NAIM.

Encik Halim Othman] untuk makluman tuan
Ketua Pegawai Sains
Pusat Pengajian Sains Perubatan

Puan Rashidah Begum Fazal Mohamed] disampaikan satu salinan laporan
Ketua Pustakawan] akhir projek untuk simpanan
Perpustakaan] Perpustakaan

Encik Zulkifli Mohamed] kerjasama tuan diminta
Timbalan Bendahari] untuk menutup akaun
Jabatan Bendahari] projek mulai 31 OGOS 2001
Kampus Kesihatan USM
I 5990 Kubang Kerian
KELANTAN DARUL NAIM.

~/mwk

Y.Brs. Prof. Salleh Yaapar
Timbalan Naib Canselor
(Penyelidikan & Pembangunan)
Universiti Sains Malaysia
11800 Pulau Pinang

15hb. April, 2001

Melalui:
Prof. Madya Dr. Zabidi Azhar Hussin
Dekan
Pusat Pengajian Sains Perubatan

lengkap
16/4/01
PROF. MADYA ZABIDI AZHAR MOHD. HUSSIN
Dekan
Pusat Pengajian Sains Perubatan
Universiti Sains Malaysia
16150 Kubang Kerian,
Kelantan.

Laporan Akhir Projek IRPA Jangka Pendek "Construction of recombinant *M. bovis* BCG containing two candidate *Plasmodium falciparum* blood stage epitopes"

Seperti yang diperlukan, saya lampirkan laporan akhir bagi projek saya seperti di atas.

Sekian, terima kasih.

Yang benar,



Prof. Madya Dr. Norazmi Mohd. Nor
Pusat Pengajian Sains Kesihatan
Universiti Sains Malaysia
16150 Kubang Kerian
Kelantan

Muhammad
vpt
R 215

s.k. Prof. Madya Dr. Zainul Fadziruddin Zainuddin
Dekan
Pusat Pengajian Sains Kesihatan



LAPORAN AKHIR PROJEK PENYELIDIKAN
R & D JANGKA PENDEK

A. MAKLUMAT AM

Tajuk Projek: Construction of recombinant M. bovis BCG containing two candidate Plasmodium falciparum blood stage epitopes

Tajuk Program:

.....

.....

Tarikh Mula: 01 Mei 2000

Nama Penyelidik Utama: PM Dr. Norazmi Mohd Nor
(berserta No. K/P) (620815-71-5937)

Nama Penyelidik Lain:

(berserta No. K/P)

.....

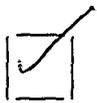
.....

.....

.....

B. PENCAPAIAN PROJEK:

(Sila tandakan / pada kotak yang bersesuaian dan terangkan secara ringkas di dalam ruang di bawah ini. Sekiranya perlu, sila gunakan kertas yang berasingan).



Penemuan asli/peningkatan pengetahuan

Matlamat utama projek ini untuk mengklon dua epitop P. falciparum ke dalam satu BCG rekombinan telah berjaya dicapai. Ini telah disahkan oleh pencernaan terhadap manakala penjujukan DNA pula menampakkan homologi yang hampir 100%. Kerja penjujukan seterusnya akan dijalankan.

.....

.....

Rekaan atau perkembangan produk baru,
(Sila beri penjelasan/makluman agar mudah dikomputerkan).

- (1)
-
- (2)
-
- (3)
-

Mengembangkan proses atau teknik baru,
(Sila beri penjelasan/makluman agar mudah dikomputerkan).

- (1) Teknik assembly PCR.....
-
- (2)
-
- (3)
-

Memperbaiki/meningkatkan produk/proses/teknik yang sedia ada.
(Sila beri penjelasan/makluman agar mudah dikomputerkan).

- (1)
-
- (2)
-
- (3)
-

C. PEMINDAHAN TEKNOLOGI

Berjaya memindahkan teknologi.
Nama Klien: (1)
(*Nyatakan nama penerima pemindahan teknologi ini dan sama ada daripada pihak swasta ataupun sektor awam*) (2)
(3)

Berpotensi untuk pemindahan teknologi.
(*Nyatakan jenis klien yang mungkin berminat*).
..Penyelidik-penyelidik bidang pengklonan gen
..dari Institusi lain.....
.....
.....
.....

D. KOMERSIALISASI

Berjaya dikomersialkan.
Nama Klien: (1)
(2)
(3)

Berpotensi untuk dikomersialkan.
(*Nyatakan jenis klien yang mungkin berminat*).
.....
..... T . B
.....
.....
.....

E. PERKHIDMATAN PERUNDINGAN BERBANGKIT DARIPADA PROJEK (Klien dan jenis perundingan)

- (1)
- (2) T.B
- (3)
- (4)

F. PATEN/SIIL INOVASI UTILITI (Nyatakan nombor dan tarikh pendaftaran paten. Sekiranya paten/sijil inovasi utiliti telah dipohon tetapi masih belum didaftarkan, sila berikan nombor dan tarikh fail paten).

- (1)
- (2) T.B
- (3)

G. PENERBITAN HASIL DARIPADA PROJEK

(i) LAPORAN/KERTAS PERSIDANGAN ATAU SEMINAR

- (1) ..Akan dibentangkan dalam.....
..... 1st ASEAN Conference On Medical Sciences
..... pada 18 -21 Mei 2001
- (2)
- (3)
- (4)
- (5)

(ii) PENERBITAN SAINTIFIK

- (1)
.....
- (2)
.....
- (3)
.....
- (4)
.....
- (5)
.....
- (6)
.....
- (7)
.....

H. HUBUNGAN DENGAN PENYELIDIK LAIN
(Sama ada dengan institusi tempatan ataupun di luar negara)

- (1)
.....
- (2)
.....
- (3)
.....
- (4)
.....

I. SUMBANGAN KEWANGAN DARI PIHAK LUAR
(Nyatakan nama agensi dan nilai atau peralatan yang telah diberi).

- (1)
- (2)
- (3)

J. PELAJAR IJAZAH LANJUTAN
(Nyatakan jumlah yang telah dilatih di dalam bidang berkaitan dan sama ada di peringkat sarjana atau Ph.D).

	<u>Nama Pelajar</u>
Sarjana	Pn. Rapeah Suppian

Ph.D

K. MAKLUMAT LAIN YANG BERKAITAN

..Dua (2) Penyelidik dalam kumpulan penyelidikan...
..saya telah juga mendapat manfaat daripada projek
..ini. Mereka dijangka akan mengikuti RIT tidak lama
..lagi.
.....
.....
.....

15/4/2001
.....
Tarikh


.....
Tandatangan

16/7/93

CONSTRUCTION OF RECOMBINANT *M. bovis* BCG CONTAINING TWO CANDIDATE *Plasmodium falciparum* blood stage epitopes

Introduction

Mycobacterium bovis bacille Calmette Guerin (BCG) has been suggested to be an attractive vehicle for the delivery of various vaccine candidates, including those for malaria (1,2,3). However, recombinant BCG (rBCG) containing these malarial epitopes fail to elicit significant specific immunogenicity in mice (1,2). This may be due to the codon usage and base composition between these organisms; mycobacterium is G:C rich while plasmodium is A:T rich. We have previously shown that cloning of a synthetic malarial epitope constructed with mycobacterium codon bias into *Mycobacterium smegmatis* not only increased the transformation efficiency and improved the growth of the transformants, but also increased the expression levels of the fusion protein (4).

Objective

The objective of this study was to employ the same technique to clone two malarial epitopes; the C-terminus of merozoite surface protein 1 (MSP-1C) and the last 21 amino acid of erythrocyte binding antigen EBA-175, both of which have been suggested to be candidate blood stage epitopes (5,6). The synthetic version of these epitopes was generated from a series of synthetic oligonucleotides using assembly PCR to be cloned into BCG. In addition, we incorporated the 65 kDa promoter of *Mycobacterium tuberculosis* heat shock protein, a 6 histidine tag and 2 T-cell epitopes from *M. tuberculosis* ESAT-6, consistent with our overall aim of constructing a rBCG as a multivaccine construct.

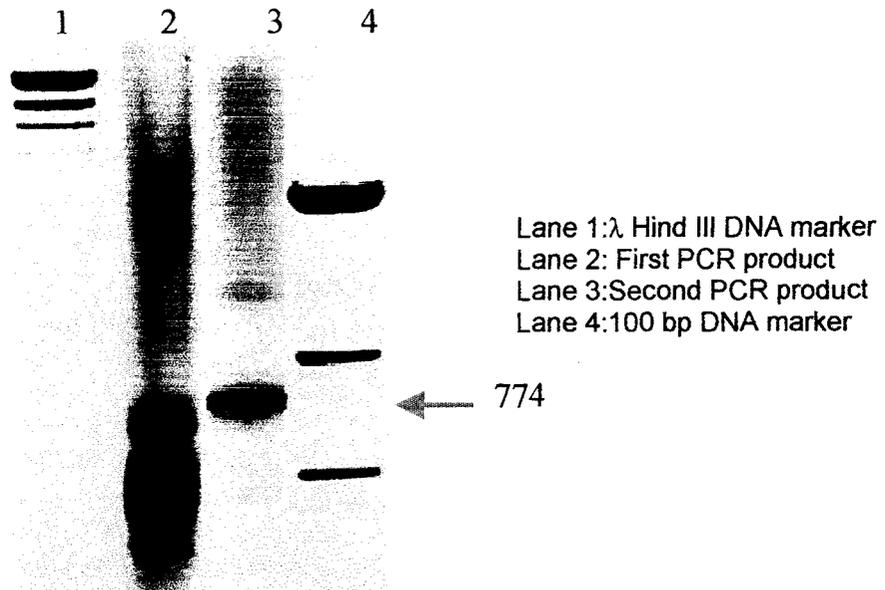
Methodology

Assembly PCR involved the generation of the full 774bp fragment of the appropriate sequence from 20 overlapping 25 to 45bp oligonucleotides designed in favour of mycobacterium codon usage. The fragment was cloned into the cloning vector pCR 2.1 TOPO (Invitrogen) to produce pNMN 003. To clone into BCG, the plasmid will be converted into a shuttle plasmid by insertion of the mycobacterial origin of replication.

Results

The size of the PCR product obtained was as expected (774bp) (Figure 1). Work is in progress to verify the clone by sequencing. Results from this project were very encouraging and we anticipate that planned further work on the transformation of BCG and expression studies will be carried in a subsequent project.

Figure 1: Various stages of assembly PCR



Conclusion

Assembly PCR is a very flexible technique which can facilitate the cloning of composite candidate molecules coded for by different genes obtained from different chromosomes or different organisms.

References

1. Haeseleer *et al.*, (1993) *Mol. Biochem Parasitol.* 57:117
2. Matsumoto *et al.*, (1996), *vaccine* 14: 54
3. Norazmi & Dale (1997), *Biotech Lett.* 19:1135
4. Norazmi *et al.*, (1999), *Biotech. Tech.* 13:485
5. Holder (1994), *Parasitology* 108: S5
6. Jakobsen (1998), *Infect Immun* 66: 4203