

การวิเคราะห์ความหลากหลายของยีนที่สร้างโปรตีนบนผิวเมอริโซยด์ชนิดที่ 1 ของ  
พลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม ในมิติเวลาและสถานที่ของประเทศไทย

นางสาววฒิภรณ์ สายชนะพันธ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาปรสิตวิทยาทางการแพทย์ ภาควิชาปรสิตวิทยา  
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2554  
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)  
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

SPATIO-TEMPORAL ANALYSIS OF VARIATION IN THE MEROZOITE SURFACE  
PROTEIN-1 LOCUS OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* IN THAILAND

Miss Wathiporn Saichanapun

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Medical Parasitology

Department of Parasitology

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การวิเคราะห์ความหลากหลายของยีนที่สร้างโปรตีนบนผิว  
เมอริโรซอยต์ชนิดที่ 1 ของพลาสมิเดียม พัลซิพาร์รัม ในมิติ  
เวลาและสถานที่ของประเทศไทย

โดย

นางสาววดีภรณ์ สายชนะพันธ์

สาขาวิชา

ปริสิตวิทยาทางการแพทย์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรงค์ พุทธิพรทิพย์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร.สมชาย จงวุฒิเวศย์

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัย  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ โสภณ นภาธร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประเสริฐ สิริหิตาเจิญชัย)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.จตุรงค์ พุทธิพรทิพย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร.สมชาย จงวุฒิเวศย์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนาภรณ์ รุ่งเรือง)

วฒนิภรณ์ สายชนะพันธ์ : การวิเคราะห์ความหลากหลายของยีนที่สร้างโปรตีนบนผิวเมอริโรซอยต์ชนิดที่ 1 ของพลาสโมเดียม ฟัลซิพารัม ในมิติเวลาและสถานที่ของประเทศไทย (SPATIO-TEMPORAL ANALYSIS OF VARIATION IN THE MEROZOITE SURFACE PROTEIN-1 LOCUS OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* IN THAILAND) อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ. ดร. จตุรงค์ พุทธิพรพิทย อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ศ. นพ. ดร. สมชาย จงวุฒิเวศย์. 123 หน้า

มาลาเรียยังคงเป็นปัญหาที่สำคัญที่ทำให้เกิดการเสียชีวิตของประชากรในกลุ่มประเทศเขตร้อนรวมทั้งประเทศไทย มาตราการในการควบคุมโรคมาลาเรียที่มุ่งเน้นไปยังการควบคุมโรคมาลาเรียในคน ยุงก้นปล่อง และเชื้อมาลาเรียนั้นกลับมีอุปสรรคจากการที่เชื้อดื้อต่อยาต้านมาลาเรียหลายชนิดรวมทั้งยุงก้นปล่องก็ดื้อต่อยาฆ่าแมลงเช่นกัน ดังนั้นมาตราการอันหนึ่งที่น่าสนใจคือการผลิตวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย ในบรรดาโปรตีนที่เป็นที่น่าสนใจที่จะใช้เป็นองค์ประกอบของวัคซีนต่อเชื้อมาลาเรียระยะที่พบอยู่ในเม็ดเลือดแดงของเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัม คือโปรตีนที่พบบนผิวเมอริโรซอยต์ซึ่งมีชื่อเรียกว่าโปรตีนบนผิวเมอริโรซอยต์ชนิดที่ 1 หรือ พีเอฟเอ็มเอสที 1 มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 200 กิโลดาลตัน จากหลายการศึกษาพบว่าบริเวณด้านเอ็นเทอร์มินอล และซีเทอร์มินอล ของโปรตีนประกอบด้วยอีพีโทปเป้าหมายที่สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อผู้ติดเชื้อได้ และจากการวิเคราะห์ยีนพีเอฟเอ็มเอสที 1 ของประชากรเชื้อมาลาเรียที่พบตามธรรมชาตินั้นพบว่าบริเวณซีเทอร์มินอลมีความหลากหลายของนิวคลีโอไทด์ต่ำ ในขณะที่บริเวณเอ็นเทอร์มินอลมีความหลากหลายสูงโดยสามารถจัดเป็นจีโนไทป์หลักได้ 3 จีโนไทป์ได้แก่ MAD20, K1 และ RO33 โดยกลุ่มจีโนไทป์ MAD20 และ K1 นั้นประกอบด้วยส่วนของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงตัวซ้ำกันเป็นชุดที่ละ 3 กรดอะมิโน ทำให้บริเวณนี้มีความหลากหลายของลำดับเบสและจำนวนความยาวของกรดอะมิโนซ้ำกันสูง ในขณะที่จีโนไทป์ RO33 มีความหลากหลายของลำดับเบสต่ำและไม่พบลักษณะของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงตัวซ้ำกันเป็นชุดเนื่องจากภูมิคุ้มกันต่อบริเวณที่ 2 (block 2) ของโปรตีนชนิดนี้ขึ้นอยู่กับความจำเพาะของแต่ละจีโนไทป์ ดังนั้นการออกแบบวัคซีนที่มีประสิทธิภาพจึงต้องคำนึงถึงชนิดและการแพร่กระจายของจีโนไทป์ที่พบในบริเวณ block 2 ของตัวอย่างเชื้อมาลาเรียที่พบตามธรรมชาติทั้งในประเด็นของสถานที่และเวลา ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยจึงได้พัฒนาวิธีการที่ง่ายและสะดวก สำหรับการแยกจีโนไทป์ของเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัม โดยใช้วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของอัลลิลที่จำเพาะในบริเวณ block 2 ของยีนพีเอฟเอ็มเอสที 1 วิธีการที่ได้พัฒนาขึ้นมีความไวในการตรวจสอบสูง สามารถตรวจได้แม้มีปริมาณเชื้อมาลาเรียต่ำเพียง 5 ตัวต่อตัวอย่าง และสามารถตรวจแยกจีโนไทป์ที่ต่างกันได้นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบจีโนไทป์แบบผสมที่พบในตัวอย่างเดียวกันได้ และเมื่อนำวิธีการนี้มาตรวจสอบจีโนไทป์ในตัวอย่างเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมจำนวนทั้งหมด 349 ประกอบด้วย 49, 124 และ 109 ตัวอย่างจากจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก ตามลำดับ พบว่าสามารถตรวจพบจีโนไทป์ชนิด MAD20 จำนวน 151 ตัวอย่าง ชนิด K1 จำนวน 65 ตัวอย่าง และชนิด RO33 จำนวน 189 ตัวอย่าง นอกจากนี้ยังตรวจพบเชื้อที่มีการปะปนกันของจีโนไทป์ที่แตกต่างกันใน 46 ตัวอย่าง สำหรับการแพร่กระจายของจีโนไทป์นั้นมีความแตกต่างในแต่ละพื้นที่แต่ไม่มีความต่างกันชัดเจนในช่วงฤดูกาล ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนพีเอฟเอ็มเอสที 1 จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่างที่มีรูปแบบจีโนไทป์เดี่ยวจากการตรวจสอบด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น พบว่าสามารถจีโนไทป์ MAD20 รูปแบบใหม่ 15 แบบ ได้แก่จีโนไทป์ M13, M14, M30, M31, M32, M33, M37, M38, M39, M40, M44, M45, M49, M53 และ M63 ซึ่งมีจำนวนชุดของกรดอะมิโนซ้ำกันอยู่ระหว่าง 5-14 ชุด โดยพบจีโนไทป์ M47 ได้บ่อยที่สุดคือพบจำนวน 16 ตัวอย่าง ในขณะที่ตรวจพบจีโนไทป์ K1 แบบใหม่ทั้งหมด 4 แบบซึ่งพบในตัวอย่างจากจังหวัดจันทบุรีทั้งหมด ได้แก่จีโนไทป์ K2, K8, K11 และ K13 โดยมีจำนวนชุดของกรดอะมิโนซ้ำกันอยู่ระหว่าง 5-12 ชุด และจีโนไทป์ K10 เป็นชนิดที่พบได้บ่อยที่สุด ส่วนผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในจีโนไทป์ RO33 จำนวน 23 ตัวอย่าง พบว่าทุกตัวอย่างเป็นจีโนไทป์แบบเดียวกันทั้งหมด และพบว่าเป็นจีโนไทป์ใหม่ที่ยังไม่มีการรายงานมาก่อน ดังนั้นวิธีการตรวจสอบจีโนไทป์ด้วยวิธีพีซีอาร์ที่พัฒนาขึ้นในการศึกษานี้จึงเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับการศึกษาวิเคราะห์จีโนไทป์ของเชื้อพลาสโมเดียมฟัลซิพารัมโดยใช้ยีนพีเอฟเอ็มเอสที 1 เป็นยีนเป้าหมาย ในขณะที่การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์นั้นให้รายละเอียดที่สำคัญการแพร่กระจายและชนิดของโคลนของเชื้อมาลาเรีย ผลของการศึกษานี้จึงมีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อการพัฒนาวัคซีนจากบริเวณ block 2 ของยีนพีเอฟเอ็มเอสที 1 เพื่อป้องกันโรคมาลาเรีย

ภาควิชา...ปริสตีติวิทยา..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา...ปริสตีติวิทยาทางการแพทย์..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา 2554..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปริกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

##5274807030:MAJORMEDICALPARASITOLOGY

KEYWORDS : *PLASMODIUM FALCIPARUM* / MEROZOITE SURFACE PROTEIN 1 / SPATIO-TEMPORAL VARIATION/THAILAND

WATHIPORN SAICHANAPUN : SPATIO-TEMPORAL ANALYSIS OF VARIATION IN THE MEROZOITE SURFACE PROTEIN-1 LOCUS OF *PLASMODIUM FALCIPARUM* IN THAILAND. ADVISOR : ASSOC. PROF. CHATURONG PUTAPORNTIP, CO-ADVISOR : Ph.d. PROF. SOMCHAI JONGWUTIWES, M.D, Ph.D, 123 pp.

It Malaria remains the main cause of death in many tropical countries including Thailand. Efforts on malaria control focusing on humans, vectors and parasites have been hindered by the widespread occurrence of anti-malarial drug resistant parasites and insecticide resistant vectors. Therefore, development of a malaria vaccine is mandatory. One of the promising vaccine candidates for asexual blood stage vaccine of *Plasmodium falciparum* is protein of ~200 kDa expressed on the merozoite surface, designated merozoite surface protein 1 (PfMSP1). Several lines of evidence have indicated that the N-terminal and C-terminal parts of this part contained epitopes targeted by host protective immune responses. Analysis of PfMSP1 among natural parasite populations reveals that the C-terminal part exhibits microheterogeneity of sequences whereas the N-terminal part is characterized by 3 major allelic types with MAD20, K1 and RO33 as representative prototypes. Both the K1 type and the MAD20 type possess tripeptide repeats with sequence and size polymorphism among isolates whereas RO33 type exhibits low sequence variation with no apparent repeats. Because immunity against block 2 of PfMSP1 is allele-specific, a rational vaccine design requires knowledge on allelic distribution of PfMSP1 block 2 among natural *P. falciparum* populations in terms of space and time. In this study, we have developed a simple polymerase chain reaction (PCR) method for strain differentiation of *P. falciparum* based on the polymorphic block 2 of PfMSP1. The method was sensitive to detect as few as 5 parasites in the samples whereas specific alleles of block 2 could be unequivocally determined. Minor parasite populations in isolates containing multiple clone infections were also detected by the method. To explore the allelic distribution of block 2 of PfMSP1, 349 *P. falciparum* isolates from Chantaburi (n=49), Yala (n=124) and Tak (n=177) provinces were included in this analysis. MAD20, K1 and RO33 allelic types were identified in 151, 65 and 189 isolates, respectively. Multiple clone infections were observed in 46 of these isolates. The distribution of these allelic types was variable among these endemic areas whereas seasonal difference was not remarkable. Direct sequencing of 60 of these isolates that had single allelic types based on PCR has identified 15 new MAD20 sequences, designated M13, M14, M30, M31, M32, M33, M37, M38, M39, M40, M44, M45, M49, M53 and M63 that contained 5 to 14 tripeptide repeat units. The M47 type predominated among MAD20 allelic types (16 sequences). Meanwhile, 4 new K1 sequence types from Chantaburi province (K2, K8, K11 and K13) containing 5 to 12 tripeptide repeat units were detected with K10 as a predominant sequence type. On the other hand, the sequence of RO33 type was identical among 23 isolates examined in this study whose sequence was novel. Therefore, the PCR method developed in this study should be applicable for large-scale population genetic analysis of *P. falciparum* population based on the PfMSP-1 locus whereas direct sequencing further provides detail epidemiological evidence on parasite clone. These findings are important for PfMSP1 block 2-derived vaccine.

Department : Parasitology..... Student's Signature .....

Field of Study : Medical Parasitology..... Advisor's Signature .....

Academic Year : 2011..... Co-Advisor's Signature .....

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของรองศาสตราจารย์ ดร. จตุรงค์ พุทธิพรทิพย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลักและศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร.สมชาย จงวุฒิวเศศย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ความรู้ ข้อแนะนำในการแก้ไขปัญหาต่าง ๆ ในการศึกษาวิจัยและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ประเสริฐ สิริธินิจชัย ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ธนาภรณ์ รุ่งเรือง ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์และเจ้าหน้าที่ ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่กรุณาให้ความรู้และมีมิตรภาพอันดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ครูอาจารย์และพี่น้องทุกคนที่ให้กำลังใจ คำปรึกษาและให้การสนับสนุนในการศึกษามาโดยตลอด

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำ.....	1
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ประวัติความเป็นมาของโรคมาลาเรีย .....	4
อนุกรมวิธานของเชื้อมาลาเรีย.....	5
วงชีวิต.....	5
อาการแสดงของโรคมาลาเรีย.....	8
การกระจายทางภูมิศาสตร์.....	9
การผลิตวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย .....	11
บทบาทของ MSP1 ในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันมาลาเรีย.....	17
ความหลากหลายของยีน Merozoite surface protein 1 (MSP1).....	18
โครงสร้างของ Plasmodium falciparum merozoite surface protein 1 .....	19
3. วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
รูปแบบการวิจัย.....	23
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....	23
ขนาดของกลุ่มประชากร.....	24
เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	24

บทที่	หน้า
การเก็บตัวอย่างเลือดและเซรัม.....	26
การสกัดดีเอ็นเอ.....	26
การออกแบบ oligonucleotides สำหรับใช้เป็น PCR primers .....	27
การตรวจผลผลิต PCR โดยวิธี gel electrophoresis.....	28
วิธีการแยกจีโนมไทป์ที่จำเพาะต่ออัลลีล .....	30
ความจำเพาะของจีโนมไทป์.....	31
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	31
4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล .....	32
วิธีการตรวจสอบความจำเพาะของจีโนมไทป์ของ PfMSP1 .....	35
การทดสอบความไวจำเพาะของจีโนมไทป์ .....	36
จีโนมไทป์ย่อยของ block 2 ของ PfMSP1.....	38
การแยกจีโนมไทป์จากตัวอย่างผู้ป่วย.....	40
การกระจายของจีโนมไทป์ในแต่ละภาคของประเทศไทย.....	44
การกระจายของจีโนมไทป์ในมิติเวลาที่แตกต่างกันในแต่ละภาคของประเทศไทย....	49
การวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทป์ใน block 2 ของยีน PfMSP1.....	55
ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล MAD20 จากตัวอย่างใน จังหวัดตาก.....	57
ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล K1 จากตัวอย่างใน จังหวัดตาก.....	57
ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างใน จังหวัดตาก.....	59
ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล MAD20 จากตัวอย่างใน จังหวัดจันทบุรี.....	60
ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล K1 จากตัวอย่างใน จังหวัดจันทบุรี.....	61
ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างใน จังหวัดจันทบุรี.....	62
ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างใน จังหวัดยะลา.....	63



บทที่	หน้า
เปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทป์ของกลุ่มอัลลีล K1 จาก ตัวอย่างที่พบในจังหวัดตาก จังหวัดจันทบุรี และจังหวัดยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคย มีการศึกษาความหลากหลายในลำดับนิวคลีโอไทป์.....	68
เปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทป์ของกลุ่มอัลลีล MAD20 จาก ตัวอย่างที่พบในอำเภอท่าสองยางและอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ในช่วงเวลาที่ แตกต่างกัน.....	70
เปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทป์ของกลุ่มอัลลีล K1 จาก ตัวอย่างที่พบในอำเภอท่าสองยางและอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ในช่วงเวลาที่ แตกต่างกัน.....	72
เปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทป์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จาก ตัวอย่างที่พบในอำเภอท่าสองยางและอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ในช่วงเวลาที่ แตกต่างกัน.....	73
5. สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล.....	75
ข้อเสนอแนะ.....	80
รายการอ้างอิง.....	81
ภาคผนวก.....	85
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	123

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	แสดงข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง.....	33
2.	แสดงข้อมูลสรุปทั่วไปของตัวอย่าง.....	35
3.	แสดงจำนวนตัวอย่างเชื้อมาลาเรีย จำนวน 349 ตัวอย่าง ที่ได้จากผู้ป่วย มาลาเรีย ระหว่างปี พ.ศ. 2540 – 2552.....	35
4.	แสดงความไวจำเพาะของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ PfMSP1 ของ block 2 โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่แตกต่างกัน.....	41
5.	แสดงการกระจายจีโนไทป์ของ PfMSP1 ของ block 2 จากตัวอย่างผู้ป่วย จังหวัดจันทบุรี.....	41
6.	แสดงการกระจายจีโนไทป์ของ PfMSP1 ของ block 2 จากตัวอย่างผู้ป่วย จังหวัดยะลา.....	42
7.	แสดงการกระจายจีโนไทป์ของ PfMSP1 ของ block 2 จากตัวอย่างผู้ป่วย จังหวัดตากในปัจจุบัน.....	43
8.	แสดงการกระจายจีโนไทป์ของ PfMSP1 ของ block 2 จากตัวอย่างผู้ป่วยใน จังหวัดตากในปี พ.ศ.2540.....	44
9.	แสดงแสดงการกระจายของจีโนไทป์แบบกลุ่มอัลลีลผสมยีน PfMsp-1 จาก ผู้ป่วยที่ได้จากจังหวัดตาก จันทบุรี และยะลา.....	47
10.	แสดงแสดงการกระจายของจีโนไทป์แบบกลุ่มอัลลีลเดี่ยวของยีน PfMsp-1 จากผู้ป่วยที่ได้จากจังหวัดตาก จันทบุรี และยะลา.....	48
11.	แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมของยีน PfMsp-1 จากผู้ป่วยที่ได้จากจังหวัดตาก จันทบุรี และยะลา.....	48
12.	แสดงการกระจายตัวของจีโนไทป์แบบเดี่ยวและจีโนไทป์แบบผสมในมิติ เวลาที่แตกต่างกันในแต่ละภาคของประเทศไทย.....	53
12.2	แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวในฤดูแล้ง.....	53
12.3	แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในฤดูแล้ง.....	54
12.4	แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มี กลุ่มอัลลีลแบบผสมในฤดูฝน.....	54

ตารางที่		หน้า
12.5	แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวในฤดูฝน.....	54
12.6	แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในฤดูฝน.....	55
13	แสดงอุบัติการณ์การกระจายของกลุ่มอัลลีล MAD20, K1 และ RO33 ในบริเวณ tripeptide repeats ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างผู้ป่วยใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา จำนวน 90 ตัวอย่าง.....	55
14	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก.....	56
15	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน จ.ตาก.....	58
16	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี.....	60
17	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี.....	61
18	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน จ.ยะลา.....	63
19	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา.....	66
20	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา.....	68
21	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา.....	69
22	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก.....	72
23	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน PfmSP1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก.....	73

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	แสดงวงชีวิตของเชื้อมาลาเรียในยุงก้นปล่องและในคน.....	8
2.	แสดงการกระจายตัวของเชื้อมาลาเรีย.....	10
3.	แสดงการลูกกลมของเชื้อในระยะเมอริโรซอยต์เข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดงของเชื้อ <i>Plasmodium</i> spp.....	13
4.	แสดงโครงสร้างของ PfMSP1.....	27
5.	แสดงความไวจำเพาะและความเฉพาะเจาะจงของวิธี semi-nested PCR ใน การจีโนไทป์ block 2 ของPfMSP.....	37
6.	แสดงความจำเพาะเจาะจงของวิธีการ simi-nested PCR ในการตรวจสอบจีโน ไทป์ block 2 ของ PfMSP1.....	38
7.	แสดงการจีโนไทป์ของ block 2 ของ PfMSP1.....	39
8.	แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของ กลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่าง อ.ท่าสองยาง จ.ตาก.....	59
9.	แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของ กลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน <i>PfMSP1</i> จากตัวอย่าง จ.จันทบุรี.....	62
10.	แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของ กลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่าง จ.ยะลา.....	64
11.	แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของ กลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน <i>PfMSP1</i> จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา.....	70
12.	แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก.....	74

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความสำคัญและที่มาของปัญหา

มาลาเรียหรือไข้จับสั่นเป็นโรคติดต่อที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศไทย และประเทศอื่นๆ ในเขตร้อนทั่วโลก ทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพและชีวิตของประชาชน องค์การอนามัยโลกประมาณการว่าประชากรทั่วโลกมีการติดเชื้อมาลาเรียในแต่ละปีกว่า 300 ถึง 500 ล้านคนและพบว่าผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียมีอัตราการเสียชีวิตประมาณ 1 ล้านคนต่อปี (Hay et al., 2004)

จากรายงานประจำปีของสำนักโรคติดต่ออันตราย กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุขในเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2553 พบอัตราการติดเชื้อในผู้ป่วยทั่วประเทศสูงสุด 10 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดตาก ยะลา ศรีสะเกษ กาญจนบุรี แม่ฮ่องสอน นราธิวาส จันทบุรี สุรินทร์ อุบลราชธานี และชุมพร ซึ่งส่วนใหญ่เป็นจังหวัดในชายแดนไทยโดยผู้ป่วยร้อยละ 49.30 เป็นคนไทย และส่วนใหญ่มักพบในวัยทำงาน โดยเฉพาะผู้ที่ใช้แรงงานซึ่งเป็นการสูญเสียผลผลิตของประเทศส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจและการพัฒนาของประเทศ และร้อยละ 36.40 เป็นชาวต่างชาติที่มีภูมิลำเนาในประเทศใกล้เคียงเดินทางมาประกอบอาชีพหรืออพยพเข้ามาตามชายแดนของประเทศไทย ทำให้เกิดปัญหาการนำเชื้อมาลาเรียเข้ามาในประเทศไทยจากการย้ายถิ่นฐานของชาวต่างชาติดังกล่าว ย่อมส่งผลกระทบต่อ การควบคุมโรคโดยรวมอย่างชัดเจน (กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข 2553)

มาลาเรียเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อโปรโตซัว ซึ่งอยู่ใน phylum Apicomplexa, class Sporozoa และ genus *Plasmodium* มียุงก้นปล่องเพศเมีย (*Anopheles* spp.) เป็นพาหะมาลาเรียที่ทำให้เกิดโรคในคนมี 5 ชนิด ได้แก่ *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae* และ *Plasmodium knowlesi* เชื้อมาลาเรียมีการเจริญเติบโตหลายระยะ มีวงจรชีวิตที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) ในยุงและการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) ในคน โดยมีระยะเริ่มต้นเกิดขึ้นที่เซลล์ตับแล้วลูกกลมเข้าสู่เม็ดเลือดแดง เชื้อมาลาเรียชนิดที่พบบ่อย คือ *P. falciparum* และ *P. vivax* โดย *P. falciparum* เป็นเชื้อที่ก่อความรุนแรงมากที่สุด ส่วน *P. vivax* นั้นพบแพร่กระจายทางภูมิศาสตร์รองลงมา โดยในแต่ละปีมีประชากรโลกติดเชื้อนี้ประมาณ 130 ถึง 145 ล้านคน และส่วนใหญ่เป็นประชากรในทวีปเอเชียและทวีปอเมริกาใต้ (Hay et al., 2004)

ในทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการศึกษาโปรตีนหลายชนิดที่มีศักยภาพในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนโดยโปรตีนที่มีการศึกษามากที่สุดชนิดหนึ่ง คือ circumsporozoite protein ซึ่งเกี่ยวข้องกับเชื้อมาลาเรียระยะก่อนที่จะลุกลามเข้าสู่เซลล์ตับ ขณะที่โปรตีนบนผิวเมอโรซอइटหลายชนิด เช่น merozoite surface proteins 1 และ merozoite surface proteins 2 เป็นต้น สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อมาลาเรียในระยะที่เจริญในเม็ดเลือดแดงแบบไม่อาศัยเพศ อย่างไรก็ตามโปรตีนเหล่านี้มีความหลากหลายของรูปแบบแอนติเจนหรืออัลลีล (allele) ต่างไปตามสายพันธุ์ของเชื้อ ดังนั้นโปรตีนเหล่านี้จึงเป็นเครื่องชี้วัดความเข้าใจการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อ ซึ่งอาจได้รับอิทธิพลจากกระบวนการคัดเลือกตามธรรมชาติ (สมชายและอุษา., 2549)

ระยะเมอโรซอइट (merozoite) ของเชื้อมาลาเรียเป็นระยะที่มีการลุกลามเข้าเม็ดเลือดแดงใหม่ จึงเป็นระยะที่เป็นอิสระอยู่ในกระแสเลือดช่วงหนึ่ง เป็นเป้าหมายสำคัญในการถูกรบกวนหรือทำลายโดยแอนติบอดีจากผู้ติดเชื้อ จากการศึกษาโปรตีนที่สร้างขึ้นในระยะเมอโรซอइटของ *P. falciparum* พบว่ามีโปรตีนหลายชนิด แต่มีชนิดที่พบมากที่สุด ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 180 – 220 กิโลดาลตัน เรียกว่า โปรตีนบนผิวเมอโรซอइटชนิดที่ 1 (merozoite surface protein 1) (Holder, 1988) และมีความหลากหลายในรูปแบบแอนติเจน (antigenic polymorphism) ในประชากรเชื้อมาลาเรียในธรรมชาติ ซึ่งบทบาทของโปรตีนนี้ในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันมาลาเรีย ได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในเชื้อ *P. falciparum* เรียกว่า Plasmodium falciparum merozoite surface protein 1 (PfMSP1) จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของสายพันธุ์ต่างๆ พบว่าโปรตีนชนิดนี้ถูกสร้างขึ้นจากยีนพื้นฐานเพียง 2 รูปแบบ (allelic dimorphism) โดยโครงสร้างพื้นฐานของยีนดังกล่าว ประกอบด้วยบริเวณที่มีความหลากหลายของเบสระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อสูง (variable block) จำนวน 7 block บริเวณที่มีความหลากหลายปานกลาง (semi-conserved block) จำนวน 5 block และบริเวณที่มีความคล้ายคลึงกันของลำดับเบสสูง (conserved block) จำนวน 5 block รวมทั้งหมดเป็น 17 block โดย variable block และ semi-conserved block มีลำดับเบสพื้นฐานเพียง 2 รูปแบบ ยกเว้น variable block 2 ประกอบด้วย tripeptide repeats ที่มีลำดับเบสพื้นฐาน 3 รูปแบบ คือ กลุ่มอัลลีล MAD20, K1 และ RO33 การเกิดความหลากหลายในรูปแบบของแอนติเจน เนื่องจากการแลกเปลี่ยนพันธุกรรมระหว่าง PfMSP1 ที่มีอัลลีลต่างกัน (intra-genic recombination) (สมชายและอุษา 2549)

บริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล MAD20 ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เรียงซ้ำกันตั้งแต่ 5 - 15 ชุด และมีลำดับกรดอะมิโนพื้นฐานคือ Serine-Glycine-Alanine (SGA),

Serine-Valine-Alanine (SVA), Serine-Valine-Threonine (SVT) และ Serine-Serine-Glycine (SSG) ส่วนบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1 ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เรียงซ้ำกัน ตั้งแต่ 5 – 25 ชุด โดยมีลำดับกรดอะมิโนพื้นฐานเช่นเดียวกับกลุ่ม MAD20 แต่องค์ประกอบจะแตกต่างกันไป และกรดอะมิโนในบริเวณที่ 2 ของกลุ่มอัลลีล RO33 ไม่ปรากฏลักษณะ tripeptide repeats เป็นองค์ประกอบชัดเจน แต่พบว่าในช่วงห่างทุก 9 นิวคลีโอไทด์นี้มีนิวคลีโอไทด์ชนิด Adenine Cytosine และ Thymine ซ้ำกันอยู่ และจำนวนนิวคลีโอไทด์มีความคงที่แต่จะมีการสับเปลี่ยนแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ในบางตำแหน่งในสายพันธุ์ต่างกัน (Tanabe et al 1987; Jongwutiwes et al 1992; Jiang et al 2000) และจากการศึกษาความจำเพาะของ monoclonal antibody ที่มีต่อบริเวณ tripeptide repeats ของ *P. falciparum* ในหลอดทดลองพบว่า monoclonal antibody ต่อบริเวณที่ 2 ที่เกิดขึ้นนั้นมีความจำเพาะต่อบริเวณ variable tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล MAD20, K1 และ RO33 จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าในบริเวณ tripeptide repeats มีบทบาทสำคัญสำหรับการนำมาเป็นองค์ประกอบของวัคซีน โดยอาจเป็นไปได้ที่แอนติบอดีสามารถยับยั้งกระบวนการย่อยขนาดของ MSP1 (Locher et al 1996; Blackman et al 1994) นอกจากนี้ข้อมูลในห้องปฏิบัติการและการศึกษาเชิงระบาดวิทยา พบว่า PfMSP1 เป็นเป้าหมายสำคัญที่เหมาะสมในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรียและยังเป็นองค์ประกอบของ plasmid DNA vaccine ซึ่งอยู่ระหว่างการพัฒนาและประเมินผล (สมชายและอุษา 2549)

จะเห็นได้ว่าสำหรับ tripeptide repeats ในบริเวณที่ 2 มีความหลากหลายสูง จากการศึกษาระยะกระจายความถี่ของอัลลีลจากตัวอย่างเลือดผู้ป่วยที่ติดเชื้อมีชนิด *P. falciparum* ในหลายประเทศพบว่าการกระจายความถี่ของอัลลีลที่แตกต่างกันไป สำหรับประเทศไทยพบกลุ่มอัลลีล MAD20 มากที่สุด แต่ปัจจุบันข้อมูลการศึกษายังมีอย่างจำกัด งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาความหลากหลายของยีนในระดับนิวคลีโอไทด์และความผันแปรทางพันธุกรรมประชากรของเชื้อ *P. falciparum* ตามฤดูกาลในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย เพื่อเป็นแนวทางและองค์ความรู้ที่เป็นประโยชน์ในการผลิตวัคซีนควบคุมโรคมาลาเรียต่อไป

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ประวัติความเป็นมาของโรคมาลาเรีย

โรคมาลาเรียเป็นโรคที่มีกำเนิดมาตั้งแต่ยุคดึกดำบรรพ์ จากบันทึกชาวอียิปต์เมื่อ 1600 ปีก่อนคริสตกาล (Breasted, JH., 1930) ได้กล่าวถึงน้ำมันสกัดจากต้น Balanites ที่ใช้ทาตัวเพื่อป้องกันโรคมาลาเรียซึ่งเป็นบันทึกแรกที่เก่าแก่ที่สุดของโรคมาลาเรีย ต่อมานักปราชญ์ชาวกรีก Hippocrates ได้บันทึกอาการไข้ของโรคมาลาเรียขึ้นเมื่อประมาณ 400 ก่อนคริสตกาล (Boyd, M.R., 1949) และจากบันทึกที่พบในทวีปเอเชียในช่วง ค.ศ.800 – 1300 โดยชาวจีนและชาวอียิปต์โบราณได้กล่าวถึงอาการไข้ของโรคมาลาเรียเช่นกัน นอกจากนี้การล่มสลายของจักรวรรดิโรมัน อาจมีสาเหตุจากโรคมาลาเรีย ชื่อของโรคมาจากภาษาอิตาลี mal'aria แปลว่า "อากาศไม่ดี" โดยชาวโรมเชื่อว่าไอจากหนองน้ำเป็นสาเหตุของโรค ส่วนการแพร่ระบาดในทวีปอเมริกานั้นอาจเกิดจากการนำชาวแอฟริกาเข้ามาเป็นทาสในยุคล่าอาณานิคม (Jarcho, S., 1847)

ในปี ค.ศ.1880 Alphonse Laveran (1884) ได้พบและรายงานลักษณะของเชื้อมาลาเรียที่เกิดจากเชื้อโปรโตซัวในเลือดของผู้ป่วยซึ่งได้รับการตั้งชื่อขึ้นในปี ค.ศ.1885 ว่า *Plasmodium* โดย Ettore Marchiafava และ Angelo Celli (Ettore Marchiafava and Angelo Celli, 1885) และในปี ค.ศ.1897 ได้มีการค้นพบว่ายุงก้นปล่อง (*Anopheles*) เป็นพาหะนำโรคมาลาเรีย (Ross, R., 1897) มาลาเรียหรือไข้จับสั่นเป็นโรคติดต่อที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขของประเทศ ไทยและประเทศอื่นๆ ในเขตร้อนทั่วโลก โดยทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพและชีวิตของประชาชน องค์การอนามัยโลกประมาณการว่าในแต่ละปีประชากรทั่วโลกมีการติดเชื้อมาลาเรีย 300 ถึง 500 ล้านคน และมีอัตราการเสียชีวิตประมาณ 1 ถึง 2 ล้านคนต่อปี (Mackinnon MJ et al., 2004) สำหรับประเทศไทยนั้นมาลาเรียถือเป็นโรคประจำท้องถิ่นที่เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขที่ต้องเฝ้าระวัง โดยในแต่ละปีมีผู้ป่วยมาลาเรียมากกว่าร้อยละ 70 ซึ่งสามารถพบเชื้อมาลาเรียได้ในหลายจังหวัดทางแถบชายแดนทางด้านตะวันออกติดกับประเทศกัมพูชา เช่น จังหวัดตราด จันทบุรี และปราจีนบุรี ทางด้านตะวันตกติดกับประเทศพม่า เช่น จังหวัดกาญจนบุรี ตาก และแม่ฮ่องสอน ภาคใต้ เช่น จังหวัดยะลา นครศรีธรรมราช นราธิวาส และปัตตานี โดยผู้ที่ติดเชื้อมาลาเรียส่วนใหญ่มักพบในวัยทำงาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่ใช้แรงงานซึ่งเป็นการสูญเสีย ทรัพยากรบุคคล และส่งผลกระทบต่อระบบเศรษฐกิจและการพัฒนาของประเทศ



### อนุกรมวิธานของเชื้อมาลาเรีย

เชื้อมาลาเรียเป็นโปรโตซัวชนิดหนึ่งที่อยู่ใน phylum Apicomplexa, order Eucoccidiida, class Sporozoa, subclass Coccidial และ family Plasmodiidae โดยเชื้อที่สามารถก่อให้เกิดโรคในคนได้จัดอยู่ใน genus *Plasmodium* ซึ่งในปัจจุบันมี 5 ชนิด ได้แก่ *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* และ *Plasmodium knowlesi* โดยเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* นั้นจัดว่ามีความสำคัญทางการแพทย์มากที่สุดเนื่องจากมีความรุนแรงในการก่อโรคสูงสุด รองลงมา ได้แก่ *P. vivax* นอกจากนี้ยังมีเชื้อมาลาเรียใน genus *Plasmodium* ที่พบในลิงไพรเมทหลายชนิดนั้นสามารถติดต่อสู่คนได้ อาทิ *Plasmodium cynomolgi* และ *Plasmodium simium* เป็นต้น (Coatney, GR. et al., 1961; Deane, LM., Deane MP. and Ferreira, Neto J., 1966; Knowles R and Das Gupta BM., 1932)

### วงชีวิต (Life cycle)

เชื้อมาลาเรียในคนทั้ง 4 ชนิดมีวงจรชีวิตของการเจริญที่คล้ายคลึงกัน ประกอบด้วย การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในยุงก้นปล่องตัวเมีย (sexual development) และมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual development) ในเซลล์ตับและเม็ดเลือดแดงของคน จะมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยที่ช่วงระยะที่เชื้อใช้ในการเจริญเติบโต ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอนดังนี้ (ดังแสดงในภาพที่ 1)

1. เชื้อมาลาเรียระยะผสมพันธุ์ เป็นขั้นตอนที่เกิดขึ้นภายในยุงก้นปล่อง โดยเริ่มจากที่ยุงก้นปล่องเพศเมียกัดและดูดเลือดผู้ป่วยที่มีเชื้อมาลาเรียในระยะแกมีโตไซต์ (mature gametocyte) ทั้งเพศผู้ (microgametocyte) และ (macrogametocyte) เข้าไปในกระเพาะอาหารของยุง เชื้อระยะไม่มีเพศถูกย่อยสลายไปพร้อมกับเม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นอาหารของยุง ส่วนเชื้อมาลาเรียระยะมีเพศ ทั้งเพศผู้และเพศเมีย จะไม่ถูกย่อย แต่เชื้อเพศผู้จะเจริญเติบโตและสามารถเคลื่อนที่ได้ เมื่อพบกับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย ปฏิสนธิแล้วเจริญเป็นไซโกต (zygote) มีรูปร่างกลม ขนาดประมาณ 6 ไมโครเมตร ซึ่งกระบวนการดังกล่าวใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมงและเกิดภายในช่องว่างกระเพาะอาหารของยุง หลังจากนั้นไซโกตจะเปลี่ยนแปลงรูปร่างให้เรียวแหลมขึ้น โดยมีการยืดตัวยาวขึ้นและเจริญเป็นโอโอไคเนต (ookinete) บางส่วนของไซโตพลาสซึมจะเปลี่ยนไปเป็นเท้าเทียม (pseudopod) เพื่อพร้อมจะเคลื่อนที่แทรกผ่านผนังกระเพาะของยุงมาอยู่เยื่อหุ้มผนังกระเพาะระหว่างผนังชั้นนอกกับผนังชั้นใน เรียกว่าระยะโอโอไคซิสต์ (oocyst)
2. การแบ่งตัวแบบไม่มีเพศ เป็นขั้นตอนต่อจากขั้นที่หนึ่ง ภายในตัวอ่อนของเชื้อมาลาเรีย จะแบ่งตัวเป็นรูปร่างคล้ายเข็มปลายแหลม มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 50 ไมโครเมตร ภายในมี

สปอโรโรบลาส (sporoblast) เมื่อโอโอซิสต์เจริญต่อไป สปอโรโรบลาสจะแบ่งตัวเพื่อเพิ่มขึ้นเกิดเป็น สปอโรโรซอยต์ (sporozoite) ประมาณ 1 – 2 พันตัวใน 1 โอโอซิสต์ (Rosenberg and Rungsiwongse, 1991) เรียกว่าระยะนี้ว่าสปอโรซอยต์ (sporozoites) มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลางมีการเจริญเติบโตเพิ่มขนาดและมีจำนวนมากขึ้น จากนั้นผนังเชื่อมมาลาเรียแตกออก สปอโรซอยต์เคลื่อนสู่ช่องว่างภายในลำตัวของยุง และเข้าสู่ต่อมน้ำลายของยุง ซึ่งในช่วงนี้อาจมีสปอโรซอยต์บางตัวเคลื่อนผิดทิศทางคือไปสู่น้ำเยื่อเยื่อบาง ส่วนของยุง ซึ่งจะถูกทำลายด้วยกระบวนการย่อยสลายในตัวยุงเอง เชื้อระยะนี้อยู่ในต่อมน้ำลายยุงและมีอายุได้นานถึง 59 วัน แต่ความสามารถในการติดเชื้อจะลดลง ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตขั้นที่ 1 และ 2 ภายในตัวยุงที่เป็นพาหะแตกต่างกันออกไป ขึ้นกับชนิดของยุง อุณหภูมิ และสภาพภูมิอากาศ โดยเฉลี่ยจะอยู่ประมาณ 8-35 วัน

3. ระยะในตับ (Liver stage) เป็นระยะที่เชื้อมาลาเรียเจริญในคน เมื่อยุงที่มีเชื้อมาลาเรียในกระเพาะสปอโรซอยต์ มากัดคนก็จะปล่อยเชื้อระยะดังกล่าวเข้าสู่กระแสโลหิต และสปอโรซอยต์เข้าสู่เซลล์ตับมีการเพิ่มขนาดโดยการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ มีขนาดโตขึ้นจำนวนหลายพันตัว เรียกว่าระยะ pre-erythrocytic stage ระยะนี้จะมีการเพิ่มจำนวนของนิวเคลียสหลายครั้งก่อนที่ไซโตพลาสซึมจะแบ่งตัว เรียกว่า ระยะไซซอซันต์ (schizont) เมื่อไซโตพลาสซึมเจริญเต็มที่จะถูกแยกออกไปอยู่กับนิวเคลียสแต่ละนิวเคลียส ทำให้แต่ละเซลล์มีนิวเคลียสเดียว เรียกว่า ระยะเมอริโรซอซันต์ (merozoite) บางส่วนเมื่อเข้าสู่เซลล์ตับแล้วจะมีการหยุดพักการเจริญชั่วคราว ระยะเวลาที่หยุดพักนี้แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์และชนิดของมาลาเรีย เชื้อระยะหยุดพักนี้เป็นสาเหตุของการเกิดอาการไข้กลับ (relapse) ในผู้ป่วยมาลาเรีย ภายหลังได้ และเรียกเชื้อมาลาเรียระยะนี้ว่า ฮิปโนซอซันต์ (hypnozoite) (Krotoski et al., 1980; Krotoski et al., 1982)

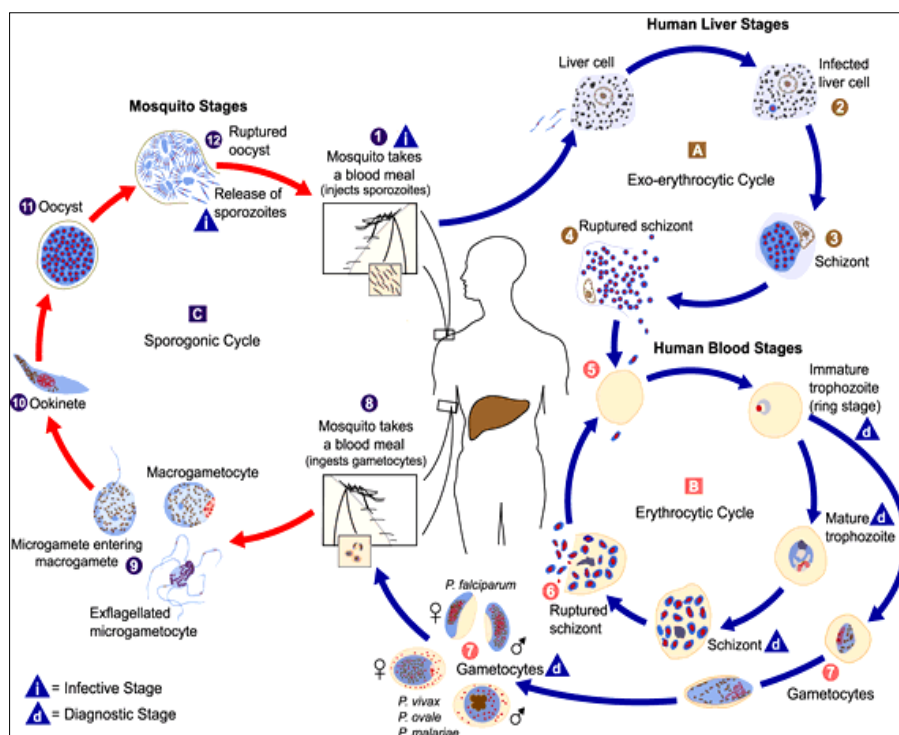
4. เชื้อมาลาเรียระยะอยู่ในเม็ดเลือดแดง (Erythrocytic stage) เป็นระยะที่เชื้อมาลาเรียมีการเจริญแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในเม็ดเลือดแดงของคน โดยเริ่มจากการแตกออกจากเซลล์ตับ มาเป็นอิสระภายนอกชั่วคราวระยะสั้นๆ แล้วเข้าสู่เม็ดเลือดแดง โดยการเคลื่อนที่เข้าไปเกาะติดเม็ดเลือดแดง แล้วเคลื่อนตัวเข้าสู่เม็ดเลือดแดง หลังจากที่เข้าสู่เม็ดเลือดแดงแล้ว เมอริโรซอซันต์ในเม็ดเลือดแดงจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างคล้ายวงแหวน เรียกว่า ระยะวงแหวน (early trophozoite หรือ ring form) เมื่อเชื้อมาลาเรียเจริญต่อไป ไซโตพลาสซึมจะมีการขยายตัวออกแต่ยังไม่มีการแบ่งตัว ทำให้มีรูปร่างที่ไม่แน่นอน เรียกว่าระยะนี้ว่า ระยะโทรโฟซอซันต์ที่กำลังเจริญเติบโต (growing trophozoite) ในระยะนี้เชื้อที่กำลังเจริญเติบโต

จะอาศัยสารต่างๆ ภายในเม็ดเลือดแดงเป็นหลัก ส่วนใหญ่อาศัยฮีโมโกลบินที่อยู่ในไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงเป็นอาหารซึ่งจะถูกย่อยสลายเป็นฮีม (heme) และโกลบิน (globin) มาลาเรียมี

กระบวนการกำจัดสารดังกล่าวในรูปกากอาหาร ซึ่งมีลักษณะเม็ดสีน้ำตาลจนถึงดำ กระจายอยู่ในไซโตพลาสซึมของเชื้อมาลาเรีย เรียกว่า hemozoin หรือ malarial pigment ในระยะโทรโฟซอยต์นี้ มาลาเรียจะปล่อยโปรตีนหลายชนิดเข้าสู่เม็ดเลือดแดง สามารถพบได้ในไซโตพลาสซึมของเม็ดเลือดแดงติดอยู่กับด้านในของเซลล์เมมเบรน เมื่อย้อมสียิมซาและดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นเป็นจุดสีชมพู ซึ่งรูปร่างจะแตกต่างกันไปตามชนิดของเชื้อมาลาเรีย

เมื่อระยะโทรโฟซอยต์เจริญเติบโตเต็มที่ นิวเคลียสจะเกิดการแบ่งตัวหลายครั้งภายในไซโตพลาสซึมเดียวกัน ทำให้มีหลายนิวเคลียส เรียกว่า ระยะไซซอนต์ระยะแรก (early schizont) และเมื่อไซซอนต์เจริญเต็มที่ จะมีการแบ่งไซโตพลาสซึม ทำให้แต่ละเซลล์มีนิวเคลียสเดียว เรียกว่าไซซอนต์ระยะหลัง (late schizont) และภายในประกอบด้วยเมอริโรซอยต์ (merozoite) ช่วงนี้ malarial pigment จะถูกกำจัดออกนอกเซลล์ของเชื้อมาลาเรีย ซึ่งจะกระจายไปตามกระแสเลือด และถูกจับกินโดย phagocyte เช่น Kupffer's cell ในตับ เมื่อเม็ดเลือดแดงแตก (hemolysis) เมอริโรซอยต์ในไซซอนต์ระยะหลังจะออกมาอยู่ในกระแสเลือดและเข้าสู่เม็ดเลือดแดงใหม่ แล้วเจริญต่อไปเป็นวงจรแบบนี้ซ้ำกัน เมอริโรซอยต์ของเชื้อมาลาเรียแต่ละชนิดจะเข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่มีอายุแตกต่างกัน ซึ่งช่วงเวลาที่เมอริโรซอยต์ออกจากเม็ดเลือดแดงนั้น มีความสัมพันธ์กับการแสดงอาการของโรค ในผู้ป่วยมาลาเรีย โดยเกิดอาการไข้หนาวสั่น

เมื่อเมอริโรซอยต์เข้าสู่เม็ดเลือดแดงและมีการเจริญเติบโตต่อไปหลายรอบ จะมีเมอริโรซอยต์บางตัวที่ไม่เข้าสู่วงจรของการแบ่งตัว แต่จะเจริญไปเป็นระยะแกมีโตไซต์ ซึ่งประกอบด้วยแกมีโตไซต์เพศผู้และแกมีโตไซต์เพศเมีย ระยะเวลาที่แกมีโตไซต์เริ่มปรากฏในกระแสเลือดนั้นมีความแตกต่างกันตามชนิดของเชื้อมาลาเรีย หลังจากที่ยุงก้นปล่องเพศเมีย ดูดเลือดคนที่มีระยะแกมีโตไซต์เข้าไป เชื้อมาลาเรียจะเจริญเติบโตในกระเพาะอาหารของยุงต่อไป



ภาพที่ 1 แสดงวงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรียในยุงก้นปล่องและในคน ([www.dpd.cdc.gov](http://www.dpd.cdc.gov))

### อาการแสดงของโรคมาลาเรีย

อาการของผู้ป่วยที่ได้รับเชื้อมาลาเรียจะมีอาการไข้ หนาวสั่น ซึ่งอาการเหล่านี้จะเกิดขึ้นซ้ำๆ เป็นช่วงเวลาค่อนข้างสม่ำเสมอ ซึ่งประกอบด้วย 3 ระยะคือ

1. ระยะหนาวสั่น (cold stage) ผู้ป่วยจะมีอาการหนาวสั่นทั้งตัว อุณหภูมิร่างกายลดลง ไข้ขึ้น ร่วมกับอาการปวดศีรษะ ปวดกล้ามเนื้อ ปวดเมื่อยตามตัว คลื่นไส้ ผิวหนังซีด แรงดันเลือดเพิ่มขึ้น ใช้เวลาประมาณ 15-60 นาที อาการหนาวสั่นไม่รุนแรงใน *P. falciparum* แต่รุนแรงมากใน *P. vivax*

2. ระยะไข้ตัวร้อน (hot stage) ผู้ป่วยจะมีไข้สูง 40 – 41 °C คลื่นไส้ อาเจียน หน้าแดง ตัวแดง ซีพจรเต้นแรง ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 1-4 ชั่วโมง

3. ระยะเหงื่อออก (sweating stage) ผู้ป่วยจะมีเหงื่อออกทั่วตัวแต่จะไม่มีไข้ ระยะนี้ผู้ป่วยมักจะมีอาการอ่อนเพลียและมักจะนอนพักในระยะเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง

การเกิดอาการเหล่านี้ซ้ำๆ กัน โดยเว้นช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเรียกว่า paroxysm ซึ่งอาการที่เกิดขึ้นจะสัมพันธ์กับระยะที่เมอริโซซอइटแตกตัวออกจากเม็ดเลือดแดง ดังนั้นเมื่อ

ครบรอบการเจริญเติบโตแบบไม่อาศัยเพศในเม็ดเลือดแดงแล้วจะทำให้มีอาการไข้หนาวสั่นเกิดขึ้น โดยที่เชื้อชนิด *P.falciparum* จะทำให้เกิดอาการไข้ทุกๆ 36-48 ชั่วโมง สำหรับ *P.vivax* และ *P.ovale* จะมีการจับไข้ทุกๆ 48 ชั่วโมงหรือมีไข้วันเว้นวัน ส่วน *P.malariae* มีไข้ทุกๆ 72 ชั่วโมงหรือมีไข้วันเว้นสองวัน เชื่อว่าอาการที่เกิดขึ้นมีสาเหตุจากการปลดปล่อยสารพิษของเชื้อมาลาเรีย กระตุ้นให้ macrophage หลั่ง tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) และ interleukin-1 นอกจากนี้ อาการดังกล่าวแล้วเชื้อมาลาเรียยังทำให้ผู้ป่วยมีอาการซีด (anemia) โดยกลไกการแตกของเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อมาลาเรียในระยะที่เมอริซอซัยต์ออกจากเซลล์ การแตกของเม็ดเลือดแดงปกติโดยปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันและภาวะที่ไขกระดูกมีการสร้างเม็ดเลือดแดงลดลง (dyserythropoiesis) ทำให้การสร้างเม็ดเลือดแดงไม่มีประสิทธิภาพ (ineffective erythropoiesis)

ปัจจุบันพบว่า สาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคมาลาเรียชนิดรุนแรงและมาลาเรียขึ้นสมองคือ sequestration หรือการที่เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรียระยะที่เจริญมากกว่าระยะวงแหวน หลบซ่อนอยู่ในหลอดเลือดที่หล่อเลี้ยงอวัยวะภายใน เนื่องจากเม็ดเลือดแดงดังกล่าวมีคุณสมบัติเกาะติดเป็นกลุ่มก้อนและเกาะติดผนังหลอดเลือด ทำให้เกิดการอุดตันภายในหลอดเลือด (microvascular obstruction) ดังนั้นสารอาหารและออกซิเจนจึงไปเลี้ยงอวัยวะต่างๆ ได้ไม่เพียงพอ อย่างไรก็ตามหลังจากที่อาการไข้มาลาเรียหายไปแล้ว แต่ถ้ายังมีเชื้อมาลาเรียเหลืออยู่ในร่างกาย ซึ่งอาจจะลดลงจากการได้รับยารักษาโรคมาลาเรียจนตรวจไม่พบได้ด้วยวิธีการตรวจฟิล์มเลือด แต่หลังจากนั้นเชื้อมาลาเรียที่ดื้อยาหรือหลงเหลืออยู่ในร่างกาย เพิ่มจำนวนมากขึ้นจนตรวจพบได้อีกครั้งพร้อมกับอาการไข้กลับ เรียกระบวนการนี้ว่า recrudescence (Warrell et al., 1990; Miller et al., 1994; Marsh et al., 1996; Imbert et al., 1997; Crawley et al., 1998)

### การกระจายทางภูมิศาสตร์

การแพร่กระจายของเชื้อมาลาเรียพบได้ทั่วโลก (ดังแสดงในภาพที่ 2) โดยเฉพาะในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ซึ่งส่วนมากพบในพื้นที่ที่มีลักษณะภูมิประเทศเป็นป่าเขา การแพร่กระจายขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ลักษณะทางภูมิศาสตร์ ชุมชนที่อยู่อาศัย สภาพเศรษฐกิจและสังคม การดื้อยาของเชื้อมาลาเรีย ยุ้งก้นปล่องเพศเมียที่เป็นพาหะนำโรค ความหนาแน่นของยุงในแต่ละฤดูกาล รวมถึงอายุขัยของยุง ในแต่ละปีมีการติดเชื้อของผู้ป่วยมาลาเรียประมาณ 200 ล้านคน โดยทวีปแอฟริกา มีอัตราการติดเชื้อสูงสุดถึงร้อยละ 50 ของประชากรทั้งประเทศ (WHO., 1997) จากการศึกษาชนิดของเชื้อมาลาเรียที่มีการแพร่กระจายในพื้นที่ต่างๆ พบว่า *P. falciparum* และ *P. vivax* เป็นสาเหตุของการติดเชื้อส่วนใหญ่ที่พบมากในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ได้แก่ ทวีปแอฟริกา อเมริกาและเอเชีย แต่ *P. vivax* จะพบมากในประเทศแถบลาตินอเมริกา ตุรกี อินเดีย

และจีน (Chaudhuri et al., 1994) *P. malariae* พบการแพร่กระจายได้ทั่วไปแม้จะมีอุบัติการณ์ต่ำรวมไปถึง *P. ovale* พบได้น้อยเช่นเดียวกันแต่พบมากในทวีปแอฟริกา

สำหรับในประเทศไทยนั้นพบผู้ป่วยในบางพื้นที่ โดยเฉพาะจังหวัดที่ติดกับชายแดนของประเทศลาว พม่า กัมพูชา และมาเลเซีย จังหวัดที่พบผู้ป่วยมาลาเรียสูงสุด 10 อันดับแรกได้แก่ จังหวัดตาก ยะลา ศรีสะเกษ กาญจนบุรี แม่ฮ่องสอน นราธิวาส จันทบุรี สุรินทร์ อุบลราชธานี และชุมพร โดยผู้ป่วยร้อยละ 49.30 เป็นคนไทย และร้อยละ 36.40 เป็นชาวต่างชาติที่มีภูมิลำเนาในประเทศใกล้เคียง (กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข, 2553)

ปัจจุบันการติดเชื้อมาลาเรียในประเทศไทยนั้นมีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียในปี พ.ศ.2553 โดยพบผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียที่เป็นคนไทยจำนวน 24,847 คน และผู้ป่วยชาวต่างชาติจำนวน 23,160 คน ซึ่งในปีพ.ศ.2554 พบผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียที่เป็นคนไทยจำนวน 15,396 คน และผู้ป่วยชาวต่างชาติจำนวน 18,606 คน (สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง., 2555) อย่างไรก็ตามแม้ว่าจำนวนผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียจะมีแนวโน้มลดลง แต่โรคมาลาเรียยังถือเป็นโรคประจำท้องถิ่นที่ต้องเฝ้าระวังของประเทศไทย ซึ่งการระบาดของโรคมาลาเรียภายในประเทศไทยปรากฏมากใน 2 ช่วงของปี ได้แก่ ในช่วงฤดูฝนและฤดูหนาว (Thimasarn, et al. 1995)



ภาพที่ 2 แสดงการกระจายตัวของเชื้อมาลาเรีย (www.med.cmu.ac.th)

## การผลิตวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย

ในการควบคุมโรคมาลาเรียนั้นประสบปัญหาหลายประการ ได้แก่ การใช้ยาฆ่าแมลงเพื่อกำจัดยุงพาหะและการดื้อยาฆ่าแมลง ตลอดจนเชื้อเกิดการดื้อยาที่ใช้ในการรักษาหลายชนิด โดยเฉพาะ *P. falciparum* มีการดื้อยามากกว่าเชื้อมาลาเรียชนิดอื่น ดังนั้นในการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันโรคมาลาเรียให้มีประสิทธิภาพนั้นจึงได้มีการศึกษาชีววิทยาของวงชีวิตของเชื้อมาลาเรียซึ่งมีความซับซ้อนและประกอบด้วยแอนติเจนหลายชนิด จากวงชีวิตระยะใดระยะหนึ่งเพื่อป้องกันการพัฒนาของเชื้อไปเป็นระยะถัดไป โดยแอนติเจนในระยะต่างๆ มีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจทำให้วัคซีนไม่สามารถป้องกันโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ อาทิเช่น วัคซีนป้องกันโรคมาลาเรียในระยะสปอโรซอยต์ สามารถป้องกันการติดเชื้อในระยะดังกล่าวได้ แต่ไม่สามารถลดการติดเชื้อในระยะที่มีเจริญเติบโตภายในเม็ดเลือดแดงได้ (Nussenzweig, 1989)

ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคมาลาเรียสูง (hyperendemic area) พบว่าประชากรที่อาศัยอยู่มีภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ แต่ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามในประชากรที่ได้รับเชื้อต่อเนื่องกันหลายครั้งสามารถมีภูมิคุ้มกันต้านทานต่อโรคได้ ดังนั้นการพัฒนาวัคซีนให้มีประสิทธิภาพจึงหวังให้เกิดการกระตุ้นภูมิคุ้มกันมากกว่าการติดเชื้อในธรรมชาติ รวมทั้งให้ระบบภูมิคุ้มกันสามารถป้องกันการติดเชื้อได้เป็นเวลานาน (Nussenzweig and Long, 1994)

การพัฒนาวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรียสามารถแบ่งตามระยะการเจริญเติบโตของเชื้อได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่

### 1. วัคซีนป้องกันมาลาเรียก่อนการเจริญในเม็ดเลือดแดง (Pre-erythrocytic stage vaccines)

เป้าหมายของการผลิตวัคซีนป้องกันมาลาเรียก่อนการเจริญในเม็ดเลือดแดง (Pre-erythrocytic stage vaccines) คือ การป้องกันการลุกลามของสปอโรซอยต์เข้าสู่เซลล์ตับหรือการทำลายเชื้อมาลาเรียระยะระยะที่อยู่ในเซลล์ตับ ดังนั้นหากวัคซีนดังกล่าวประสบความสำเร็จผู้ที่ได้รับวัคซีนจะไม่เกิดการติดเชื้อมาลาเรียในเม็ดเลือดแดงจึงจะไม่มีอาการของโรคมาลาเรีย

ปัจจุบันแม้ว่า cytokine จะยับยั้งการพัฒนาของปรสิตและแอนติบอดีจะป้องกันการลุกลามของสปอโรซอยต์ แต่ก็ยังมี interleukin 12 ที่ผลิตจาก macrophage ซึ่ง dendritic cells และ Kupffer cells จะชักนำให้ CD8<sup>+</sup>, T cell และการทำลายเซลล์ตามธรรมชาติเพื่อผลิต interferon-gamma (IFN -  $\gamma$ ) ไปกระตุ้น hepatocytes เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาตอบโต้ที่เป็นผลผลิตระหว่างกระบวนการเมตาบอลิซึม (reactive metabolic intermediates) เช่น nitric oxide

เป็นต้น ซึ่งเป็นสารพิษใน intrahepatic parasites

แม้ว่าการผลิตวัคซีนจากระยะก่อนการเจริญในเม็ดเลือดแดงของ *P. falciparum* หลายชนิดเพื่อเป็น vaccine candidate จะได้รับการทดสอบแล้ว แต่ยังมีโปรตีนจาก *P. vivax* อีกสองชนิดที่ถูกระบุว่าเกี่ยวข้องกับการเป็นแอนติเจน คือ circumsporozoite protein (CSP) และ sporozoite surface protein 2/thrombospondin related adhesive protein (SSP2/TRAP)

นอกจากนี้ยังมีโปรตีนชนิดอื่นที่สามารถผลิตวัคซีนในระยะก่อนการเจริญในเม็ดเลือดแดง เช่น *Plasmodium vivax* circumsporozoite protein และ Sporozoite surface protein 2 เป็นต้น

## 2. วัคซีนป้องกันมาลาเรียที่เจริญแบบไม่อาศัยเพศในเม็ดเลือดแดง (Asexual blood-stage vaccines)

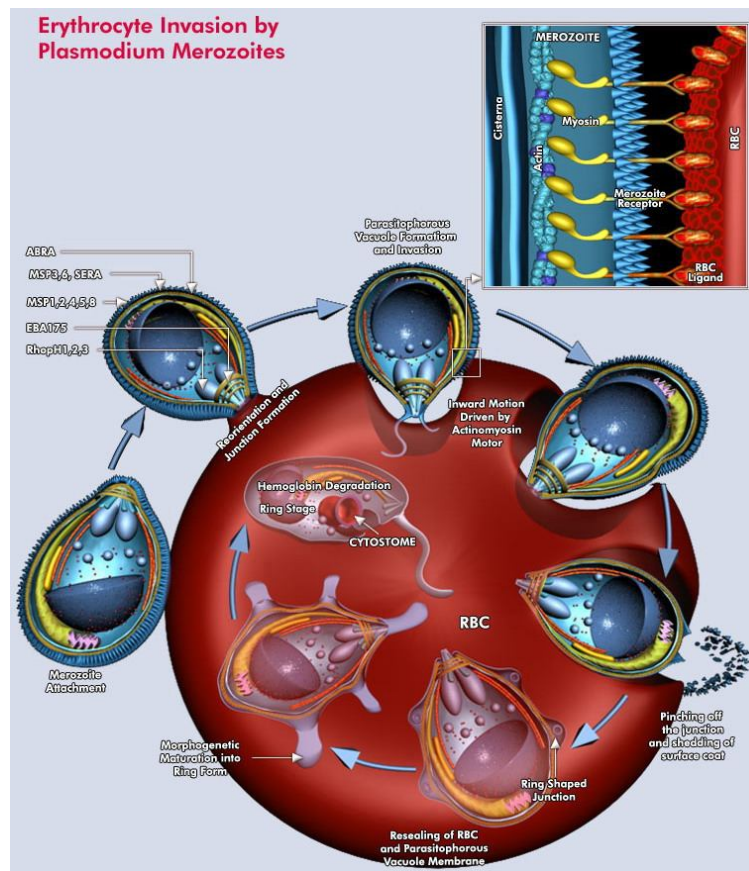
หลักการพัฒนาวัคซีนเพื่อป้องกันมาลาเรียที่เจริญแบบไม่อาศัยเพศในเม็ดเลือดแดงนั้น สามารถจำแนกออกตามวัตถุประสงค์ได้ 2 ประเภท คือ

1. วัคซีนที่สามารถทำลายเชื้อมาลาเรียในระยะที่มีการเจริญแบบไม่อาศัยเพศในเม็ดเลือดแดงหรือยับยั้งการลุกลามของเมอริโซซอइटเข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดง

2. วัคซีนที่ป้องกันการเกิดภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรง (anti-complication)

โดยแอนติบอดีมีหน้าที่หลักในการปกป้องกลไกการลุกลามเข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดง การพัฒนาวัคซีนในระยะที่เจริญแบบไม่อาศัยเพศในเม็ดเลือดแดงนั้น จะต้องชักนำให้มีการปลดปล่อยของ cytokine (เช่น  $IFN - \gamma$ ) ซึ่งอาจทำให้เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันขึ้น ดังนั้นการออกแบบวัคซีนเพื่อเป็นเป้าหมายในระยะนี้นั้นจึงต้องชักนำทั้งแอนติบอดีและ cytokine ซึ่งโปรตีนสำคัญที่มีศักยภาพในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนเพื่อทำลายหรือเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อมาลาเรียระยะที่มีการเจริญแบบไม่อาศัยเพศในเม็ดเลือดแดง เช่น merozoite surface protein 1 เป็นต้น โดยระยะเมอริโซซอइटของเชื้อมาลาเรียเป็นระยะที่ต้องลุกลามเข้าสู่เม็ดเลือดแดงใหม่ (ดังแสดงในภาพที่ 3) ดังนั้นจึงเป็นระยะที่ใช้เวลาช่วงหนึ่งเป็นอิสระในกระแสเลือด ในช่วงเวลานั้นๆ ระยะนี้ระยะเมอริโซซอइटจึงเป็นเป้าหมายสำคัญระยะหนึ่งของการถูกรบกวนหรือทำลายโดยแอนติบอดีจากผู้ติดเชื้อ โปรตีนที่พบมากที่สุดบนผิวของเมอริโซซอइट ได้แก่ glycoprotein ที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก เรียกว่า โปรตีนบนผิวเมอริโซซอइटชนิดที่ 1 (merozoite surface protein 1) ซึ่งบทบาทของโปรตีนชนิดนี้ในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันมาลาเรียได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง





ภาพที่ 3 แสดงการลุกลามของเชื้อในระยยะเมอริโซซอยต์เข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดงของเชื้อ *Plasmodium* spp. (<http://www.qiagen>)

### 3. วัคซีนป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อมาลาเรีย (Transmission blocking vaccines)

การกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันของคนสร้างแอนติบอดีต่อระยะสืบพันธุ์ของเชื้อมาลาเรียนั้นสามารถป้องกันการปฏิสนธิของเชื้อในกระเพาะอาหารของยุงก้นปล่อง วัคซีนในกลุ่มนี้ไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียในผู้ที่ได้รับวัคซีน แต่แอนติบอดีที่เกิดขึ้นจะป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อมาลาเรียสู่ผู้อื่นในชุมชน ในระยะรัศมีที่ยุงก้นปล่องสามารถบินออกหาอาหารได้ เป้าหมายของวัคซีนกลุ่มนี้อาจแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

1. การทำลายระยะสืบพันธุ์ก่อนที่จะมีการปฏิสนธิ (pre-fertilization) ประกอบด้วย ระยะแกมีโตไซต์และระยะแกมมีต รวมทั้งกระบวนการเกิด exflagellation ของแกมีโตไซต์เพศผู้

2. การทำลายระยะไซโกตและโอโอโคไนต์ หรือเป็นช่วงที่เกิดขึ้นหลังจากการปฏิสนธิ (post-fertilization)

3. การทำลาย late-midgut-stage เป็นช่วงที่มีการสร้างเอนไซม์ chitinase ซึ่งมีความจำเป็นสำหรับโอโอโคไนต์ที่จะไซผ่านผนังกระเพาะอาหารของยุงพาหะ รวมทั้งการสร้าง proteinase จากยุงซึ่งจะกระตุ้นการทำงานของ chitinase จากตัวอ่อนของเชื้อมาลาเรีย

โปรตีนที่สำคัญและมีศักยภาพในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อมาลาเรียหรือวัคซีน เพื่อทำลายระยะสืบพันธุ์ของเชื้อมาลาเรีย มีดังนี้ Plasmodium vivax surface protein 25 และ Plasmodium vivax surface protein 28 ซึ่งเป็นแอนติเจนที่อยู่บนผิวหน้าของโอโอโคไนต์ซึ่งมีบริเวณ conserve สูง โดยรูปแบบการเป็นแอนติเจนของ Pvs25 ให้ผลการกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. vivax* ภายหลังจากการปฏิสนธิ นอกจากนี้ยังมีโปรตีนชนิดอื่นที่สามารถนำมาพิจารณาเพื่อเป็นองค์ประกอบของวัคซีน เช่น MSP3, MSP4, MSP5, MSP9 และ reticulocyte binding protein เป็นต้น ดังนั้นวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรียควรประกอบด้วยโปรตีนจากหลายระยะรวมกัน ซึ่งส่งผลให้การพัฒนาวัคซีนมีความซับซ้อนมากกว่าการผลิตวัคซีนสำหรับไวรัสและแบคทีเรีย

แม้ว่าโรคมาลาเรียจะได้รับการควบคุมอย่างมีประสิทธิภาพในหลายภูมิภาคทั่วโลก เช่นในทวีปยุโรปและอเมริกาเหนือ โดยส่วนใหญ่เกิดจากการปรับเปลี่ยนแหล่งเพาะพันธุ์ยุงที่เป็นพาหะนำโรค ซึ่งสำหรับประเทศในเขตร้อนส่วนใหญ่ มาตรการต่างๆ ที่นำมาควบคุมโรคมาลาเรียมักประสบกับปัญหาหลายประการ เช่น การที่เชื้อดื้อยาด้านมาลาเรียหลายชนิด และมีแนวโน้มที่จะเกิดการดื้อยาใหม่ๆ เพิ่มมากขึ้น การดื้อสารเคมีที่ใช้กำจัดพาหะนำโรคที่เกิดในยุงก้นปล่อง ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงนิเวศในการเกาะพักหลังจากการดูดเลือด ทำให้ยุงพาหะไม่เกิดการสัมผัสกับสารเคมีที่ใช้กำจัดพาหะนำโรค การเปลี่ยนแปลงสภาวะของโลกที่เอื้อต่อการแพร่ระบาดของโรคมาลาเรีย เป็นต้น การแลกเปลี่ยนพันธุกรรมระหว่าง PfMSP1 ที่มีอัลลีลต่างกัน (intragenic recombination) ในขณะที่เชื้อมาลาเรียมีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศในยุงก้นปล่อง (Kerr et al., 1994) ทำให้การเกิดความหลากหลายในรูปแบบของแอนติเจน ทั้งนี้กลไกดังกล่าวสามารถตรวจสอบได้จากการวิเคราะห์ประชากรของ *P. falciparum* ในธรรมชาติโดยอาศัยการวิเคราะห์ตามหลักการทางพันธุกรรมประชากร อย่างไรก็ตามอัตราการเกิด recombination อาจแตกต่างกันไปตามภูมิภาคของโลกขึ้นกับความชุกของโรคมาลาเรียและลักษณะทางภูมิศาสตร์ของเขตปรากฏโรค (Anderson et al., 2000)

โดยการศึกษาบทบาทของโปรตีนนี้ในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรียของ MSP1 ใน *P. falciparum* เรียกว่า Plasmodium falciparum merozoite surface protein 1

(PfMSP1) โดยมีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของเชื้อ ประมาณ 185 ถึง 200 กิโลดาลตัน ทั้งนี้ยังพบว่า PfMSP1 มีความหลากหลายในรูปแบบการเป็นแอนติเจนสูง (antigenic polymorphism) ในประชากรเชื้อมาลาเรียในธรรมชาติ อย่างไรก็ตามจึงได้มีการแสวงหาแอนติเจนที่มีคุณสมบัติในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย ซึ่งจากการศึกษาโปรตีนหลายชนิดในระยะต่างๆ พบว่าในระยะที่เชื้อมาลาเรียมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศในเม็ดเลือดแดงของคนนั้นเป็นระยะที่มีความสำคัญมากที่สุดระยะหนึ่งซึ่งสามารถแบ่งโปรตีนที่พบได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

## 1. โปรตีนที่พบในเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อมาลาเรีย

### โปรตีนที่พบบนผิวเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ

ประกอบด้วย erythrocyte membrane protein 1 (PfEMP1) มีขนาดประมาณ 200 – 400 กิโลดาลตัน (Baruch et al., 1996) the sparagine and aspartate-rich protein 1 (PfAARP1) มีขนาดประมาณ 700 กิโลดาลตัน (Barale et al., 1997) pf332 มีขนาดประมาณ 750 กิโลดาลตัน (Wiesner et al., 1998) rosettins มีขนาดประมาณ 22 และ 28 กิโลดาลตัน เชื่อว่าโปรตีนเหล่านี้มีความเกี่ยวข้องกับการเกาะติดกับ endothelium หลอดเลือดดำขนาดเล็ก และอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการทำให้เชื้อมาลาเรียไม่ถูกภูมิคุ้มกันของโฮสต์ทำลาย

นอกจากนี้ยังมีโปรตีนที่พบใน parasitophorous vacuole ซึ่งประกอบด้วย serine repeat antigen (SERA) มีขนาด 126 กิโลดาลตัน acidic basic repeat antigen (ABRA) มีขนาด 101 กิโลดาลตัน (Werber et al., 1988) glutamate-rich protein (GLURP) มีขนาด 220 กิโลดาลตัน (Borre et al., 1991) S-antigen (Culvenor and Crewther., 1990) merozoite surface protein 3 (MS3) ที่มีขนาด 50 กิโลดาลตัน (McColl et al., 1994) ซึ่งโปรตีนเหล่านี้พบได้ใน parasitophorous vacuole ในระยะไซซอนต์หลัง และในช่วงหลังจากที่เม็ดเลือดแดงแตกและโปรตีนจะออกมาปรากฏอยู่ในกระแสเลือด

## 2. โปรตีนที่ปรากฏในระยะเมอโรโซอิต

### โปรตีนที่พบบนผิวระยะเมอโรโซอิต

ประกอบด้วย merozoite surface protein 1 (MSP1) ขนาดประมาณ 185 – 200 กิโลดาลตัน (Holder et al., 1988) merozoite surface protein 2 (MSP2) ขนาดประมาณ 45 – 55 กิโลดาลตัน (Symthe et al., 1988; Clark et al., 1989) merozoite surface protein 4 (MSP4) ขนาดประมาณ 40 กิโลดาลตัน (Marshall et al., 1997) และเชื่อว่าโปรตีนดังกล่าว

น่าจะมีความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกับกลไกการเกาะติดของเมอริโซซอยต์กับเม็ดเลือดแดง และการบุกรุกเข้าเม็ดเลือดแดง

### **โปรตีนที่พบภายในโครงสร้างของระยะเมอริโซซอยต์**

ประกอบด้วยโปรตีนที่พบบนส่วนยอด (apical organelles) ของเมอริโซซอยต์ ซึ่งบริเวณนี้จะประกอบด้วย organelle ต่างๆ เช่น ส่วน rhotry ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนที่มีหลายขนาด ได้แก่ Rhop-H ประกอบด้วยโปรตีน rhop-1 ที่มีขนาด 110 กิโลดาลตัน (Cooper et al., 1988; Sam-Yellow et al., 1995) rhop-1 ที่มีขนาด 140 กิโลดาลตัน rhop-2 ที่มีขนาด 130 กิโลดาลตัน Rhop-L ประกอบด้วยโปรตีน rap-1 มีขนาด 86 กิโลดาลตัน rap-2 มีขนาด 39 กิโลดาลตัน rap-3 มีขนาด 37 กิโลดาลตัน (Howard et al., 1998b) และส่วน dense granules (microspheres) ประกอบด้วยโปรตีน ring-infected erythrocyte surface antigen (RESA) ขนาด 155 กิโลดาลตัน (Perlman et al., 1984) apical membrane antigen (AMA-1) ขนาด 80 กิโลดาลตัน (Peterson et al., 1989) พบที่บริเวณรอยคอ (neck) ของ rhoptries (Crewther et al., 1990) และโปรตีนที่สร้างจาก microneme ได้แก่ erythrocyte binding antigen 175 (EBA-175) มีขนาด 175 กิโลดาลตัน (Camus and Hadley., 1985)

นอกจากนี้ยังมีโปรตีนที่มีความสำคัญอีกหลายชนิดที่พบในระยะอื่น ได้แก่

### **โปรตีนที่พบในระยะที่มีการเจริญเติบโตในเซลล์ตับ**

โปรตีนที่พบในระยะนี้ ได้แก่ Pfs มีขนาด 16 กิโลดาลตัน พบที่ผิวของสปอริโซซอยต์ ในระยะที่เชื่อมมาลาเรียเจริญเติบโตในเซลล์ตับและระยะแกมีโตไซต์ (Moelans et al., 1991) liver stage antigen 1 (LSA1) ที่มีขนาด 200 กิโลดาลตัน (Zhu and Hollongdale., 1991) liver stage antigen 2 (LSA2) (Guerin-Marchand et al., 1987) ซึ่งจะพบเฉพาะในระยะที่มีการเจริญเติบโตอยู่ในเซลล์ตับเท่านั้น Plasmodium falciparum exported protein 1 (PfExp-1) มีขนาด 17 กิโลดาลตัน (Doolan et al., 1996) นอกจากนี้ยังมี sporozoite threonine and asparagines rich protein (STARP) มีขนาด 78 กิโลดาลตัน (Fidock et al., 1994) sporozoite and liver atage antigen (SALSA) มีขนาด 70 กิโลดาลตัน (Bottius et al., 1996) Liver stage antigen 3 (LSA-3) มีขนาด 205 กิโลดาลตัน (Benmohamed et al., 1997) สำหรับโปรตีนที่พบในระยะสปอริโซซอยต์ เช่น circumsporozoite protein (CSP) (Yoshida et al., 1980) นอกจากนี้ยังมีโปรตีนที่สำคัญอีกชนิด ได้แก่ sporozoite surface protein 2 (PfSSP2) หรือ throbospondin related anonymous protein (TRAP) (Rogers et al., 1992)

## โปรตีนที่พบในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในยุง

โปรตีนที่พบ ได้แก่ Plasmodium falciparum sexual stage surface (Pfs16) ที่มีขนาด 16 กิโลดาลตัน Plasmodium falciparum sexual stage surface 25 (Pfs25) ที่มีขนาด 25 กิโลดาลตัน (Fries et al., 1990) เป็นต้น โดยพบโปรตีนเหล่านี้ในต่อมน้ำลายของยุงและในเซลล์ตับของสัตว์ที่เป็นโฮสต์ ซึ่งเชื่อว่าโปรตีนนี้มีบทบาทในการเคลื่อนที่และมีส่วนเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อมาลาเรีย

### Merozoite surface protein 1 (MSP1)

บริเวณ block 2 ของโปรตีนบนผิว merozoite surface protein 1 (MSP1) ได้รับการนำมาใช้ในการเป็นเป้าหมายในการศึกษาการแพร่กระจายเชื้อมาลาเรียและภูมิคุ้มกันของโฮสต์ที่มีต่อเชื้อชนิด *P. falciparum* อย่างเช่น ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมในบริเวณ block 2 ของยีน MSP1 ต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยเป็นเป้าหมายในการพัฒนาวัคซีนและในขณะที่ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการตรวจสอบทางระบาดวิทยา ซึ่งสามารถอธิบายการแพร่กระจายของอัลลีลใหม่ ในบริเวณ block 2 ได้ จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างในภาคตะวันตกของประเทศเคนยาและภูมิภาคอื่นๆ ของโลกที่มีการแพร่กระจายของเชื้อมาลาเรีย สามารถค้นพบอัลลีลนี้ได้ทั่วโลก ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าขนาดของอัลลีลจากการศึกษาในบริเวณ block 2 ของยีน MSP1 ในประเทศเคนยาและทั่วโลก กรดอะมิโนที่อยู่ในอัลลีลมีความซับซ้อนมากขึ้น ซึ่งสามารถเปรียบเทียบได้จากความยาวทั้งหมดของยีน MSP1 (full-length MSP1) โดยผลลัพธ์ที่ได้สามารถอธิบายกลุ่มอัลลีลที่เฉพาะเจาะจงในระบบภูมิคุ้มกันเพื่อใช้ในการพัฒนาวัคซีน นอกจากนี้ยังใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรม (genetic marker) ในด้านทางระบาดวิทยาอื่นๆ ต่อไป

### บทบาทของ MSP1 ในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันมาลาเรีย

โดยบทบาทของ MSP1 ในการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรียนั้น เริ่มต้นจากการศึกษาโดยใช้โปรตีนหรือเปปไทด์สังเคราะห์ที่ได้จากบางส่วนของ PfMSP1 ฉีดเข้าในลิง พบว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้น สามารถป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียได้ จากการทดลองวัคซีนในลิง *Aotus* (owl monkey) โดยฉีด MSP1 ที่บริสุทธิ์ (purified MSP1) ในครั้งแรก หลังจากนั้น 3 สัปดาห์ทำการฉีดเชื้อมาลาเรียสายพันธุ์เดียวกับการฉีดครั้งแรก (homologous challenge) พบว่าลิงทดลองไม่ปรากฏอาการของโรคมาลาเรีย และตรวจไม่พบเชื้อมาลาเรียใน

กระแสเลือด แสดงว่าภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้น สามารถป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียได้อย่างสมบูรณ์ (complete protection) (Siddiqui et al., 1987)

นอกจากนี้การศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าประชากรที่ติดเชื้อมาลาเรียในธรรมชาติ มีระดับแอนติบอดีต่อ PfMSP1 ที่สัมพันธ์ผกผันกับปริมาณเชื้อที่ตรวจพบในกระแสเลือด อย่างมีนัยสำคัญ

จากการศึกษาในกลุ่มประชากรที่อาศัยอยู่ในเขตที่มีการระบาดของโรค พบว่าแอนติบอดีที่เกิดขึ้นหลังจากการติดเชื้อมาลาเรียมีความจำเพาะต่อ PfMSP1 (type specific antibody) ในส่วน variable block ของ N-terminus โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณ tripeptide repeats ของบริเวณที่ 2 ระดับแอนติบอดีที่เพิ่มสูงขึ้นมีความสัมพันธ์กับอายุของผู้ติดเชื้อมาลาเรีย (Muller et al., 1989; Fruh et al., 1991; Brown et al., 1991; Tolle et al., 1993; Konate et al., 1999; Jouin et al., 2001; Ekala et al., 2002) นอกจากนี้แอนติบอดีสามารถตอบสนองต่อส่วน variable block ในระดับที่สูงและสามารถคงอยู่ได้นาน แต่ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อส่วน conserved block จะลดลงอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามพบว่าผู้ที่มีแอนติบอดีต่อส่วน PfMSP1 ในส่วน 83 กิโลดาลตันและ 42 กิโลดาลตัน มีความสัมพันธ์กับการลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* (Riley et al., 1992) นอกจากนี้การศึกษากการตอบสนองของ ภูมิคุ้มกันต่อบริเวณ tripeptide repeats ในบริเวณที่ 2 ของ PfMSP1 ในกลุ่มประชากรจำนวนมาก ที่อาศัยอยู่ในเขตปรากฏโรคหลายพื้นที่ พบว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับการลด ความเสี่ยงต่อการเกิดอาการของโรคมาลาเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ซึ่งแอนติบอดีที่ตอบสนองจะมีความจำเพาะต่ออัลลีล (allele-specific) โดยพบว่าการตอบสนองของแอนติบอดีต่ออัลลีล MAD20 และ K1 อยู่ในระดับที่สูง แต่อัลลีล RO33 ไม่พบ ความสัมพันธ์ทางสถิติ (Conway et al., 2000) เช่นเดียวกับการตอบสนองของแอนติบอดีต่อ บริเวณที่ 1 (Cavangh et al., 1998) และ MSP1 ขนาด 19 กิโลดาลตัน ในบริเวณที่ 17 (Locher et al., 2001) ซึ่งพบว่าการตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อน้อยมาก

#### **ความหลากหลายของยีน Merozoite surface protein 1 (MSP1)**

เชื้อ *P. falciparum* ก่อให้เกิดอาการ ภูมิคุ้มกัน ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ มาลาเรีย และปฏิสัมพันธ์ร่วมกับการติดเชื้อมาลาเรีย สำหรับการติดเชื้อมาลาเรียชนิดนี้ขึ้นอยู่กับ จำนวนของเชื้อแต่ละชนิด ซึ่งสามารถตรวจสอบโดยรูปแบบของยีน (genetic typing) ที่มี 1 copy จากการศึกษาคความหลากหลายของยีน MSP1 ของเชื้อมาลาเรียชนิดต่างๆ พบว่ามีความ คล้ายคลึงกันของเชื้อมาลาเรียแต่ละชนิด คือ ในเชื้อมาลาเรียชนิดเดียวกันประมาณร้อยละ 30 – 40 พบลำดับนิวคลีโอไทด์มีความคล้ายคลึงกัน ส่วนเชื้อ *P. falciparum* ต่างสายพันธุ์กันจะมีความ

คล้ายคลึง ร้อยละ 58 และร้อยละ 81 ของเชื้อ *P. vivax* มีความคล้ายคลึงกัน ส่วน *P. chabaudi* และ *P. yoelii* มีความคล้ายคลึงกันร้อยละ 69 (Gibson et al., 1992)

อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาอื่นที่แสดงให้เห็นความหลากหลายของ MSP1 ในเชื้อ *Plasmodium* sp. ชนิดอื่น ๆ เช่น การศึกษา MSP1 ใน *P. knowlesi* และ MSP1 ใน *P. cynomolgy* เป็นต้น ดังนั้นองค์ความรู้ที่ได้จากการศึกษาความสามารถในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของโปรตีนบนผิวเมอร์โรซอยต์ชนิดที่ 1 ขนาดโมเลกุล 19 กิโลดาลตัน จากเชื้อ *P. vivax* จะสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญต่อการพัฒนาวัคซีนในอนาคตสำหรับประเทศไทยและประชากรในเขตปรากฏโรคอื่น ๆ ซึ่งหากวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรียประสบความสำเร็จ ก็นับได้ว่าเป็นความสำเร็จต่อมวลมนุษยชาติในการป้องกันโรคติดต่อที่เป็นสาเหตุของความเจ็บป่วย ตลอดจนการตายของประชากรปีละหลายร้อยล้านคนอีกด้วย

### โครงสร้างของ Plasmodium falciparum Merozoite surface protein 1

องค์ประกอบโครงสร้างของยีน MSP1 ของเชื้อ *P. falciparum* มีส่วนปลายด้าน N-terminus และปลายด้าน C-terminus ซึ่งปลายด้าน N-terminus มี signal peptide ซึ่งเกี่ยวข้องกับการขนส่งโปรตีนผ่าน endoplasmic reticulum ซึ่งมีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำเป็นองค์ประกอบ (hydrophobic amino acid) และเป็นบริเวณที่มีความคล้ายคลึงกันในสายพันธุ์ของเชื้อมาลาเรีย และมีกรดอะมิโนที่ซ้ำกันเป็นชุด เรียกว่า tripeptide repeats ส่วนปลายด้าน C-terminus มีกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำเป็นองค์ประกอบ และมี glycosylphosphatidyl inositol (GPI) anchor (Smythe et al., 1988) และ epidermal growth factor (EGF) like domain เป็นองค์ประกอบของ cysteine residue เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ disulfide ซึ่งยีน MSP1 ของเชื้อ *P. falciparum* มี EGF like domain จำนวน 2 ชุด คือ EGF like domain 1 และ EGF like domain 2

ยีน PfMSP1 เป็นโปรตีนที่ถูกสร้างขึ้นตั้งแต่ระยะไซซอนต์ในรูปของ precursor protein หรือโปรตีนเริ่มต้นที่ได้รับการปรับแต่ง หลังจากนั้นเมื่อเชื้อเจริญมากขึ้นจะมีการย่อยโปรตีนดังกล่าวให้มีขนาดเล็กลง ด้วยกระบวนการ 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรก (primary processing) จะให้โปรตีนที่มีขนาด 83 กิโลดาลตัน 30 กิโลดาลตัน 38 กิโลดาลตัน และ 42 กิโลดาลตัน ตามลำดับ สำหรับขั้นตอนที่สอง (secondary processing) ชิ้นส่วนขนาด 42 กิโลดาลตัน จะถูกย่อยเป็น 2 ส่วน คือ มีขนาด 33 กิโลดาลตัน ซึ่งจะถูกล่อยไปตามกระแสเลือดและขนาด 19 กิโลดาลตัน จะถูกนำเข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดงใหม่ต่อไปพร้อมกับเมอร์โรซอยต์จนเจริญเป็นระยะวงแหวน (ring stage) ชิ้นส่วนของโปรตีนซึ่งมีขนาด 19 กิโลดาลตันนี้เรียกว่า PfMSP<sub>19</sub> ประกอบด้วย epidermal growth factor (EGF)-like domain จำนวน 2 แห่ง จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ พบการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ (nucleotide substitution) ในตำแหน่งหนึ่ง ๆ

เพียงสองชนิดเท่านั้น ได้แก่ กลุ่ม MAD20 (MAD20 type) และกลุ่ม K1 (K1 type)

แม้ว่าความหลากหลายของ PfMSP1 เกิดจากยีนที่มีลักษณะพื้นฐานเพียง 2 รูปแบบ (allelic dimorphism) จากการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน PfMSP1 ทำให้ทราบโครงสร้างพื้นฐานของยีนดังกล่าวว่าประกอบด้วยบริเวณที่มีความหลากหลายของเบสระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อสูง (variable block) บริเวณที่มีความหลากหลายปานกลาง (semi-conserved block) และบริเวณที่มีความคล้ายคลึงของลำดับเบสสูง (conserved block) โดยบริเวณ conserved block เป็นบริเวณที่ลำดับเบสคล้ายคลึงกันร้อยละ 87-97 จำนวน 5 บริเวณ บริเวณ semi-conserved block มีความคล้ายคลึงของลำดับเบสร้อยละ 65-77 จำนวน 5 บริเวณ และบริเวณ variable block ซึ่งมีความคล้ายคลึงของลำดับเบสร้อยละ 10-38 จำนวน 7 บริเวณ ดังนั้นโครงสร้างของยีน PfMSP1 จึงแบ่งออกเป็น 17 บริเวณ โดยมีพื้นฐานรูปแบบของยีนเพียง 2 รูปแบบ (Tanabe et al 1987) ยกเว้น block 2 ประกอบด้วย tripeptide repeats ที่มีลำดับเบสพื้นฐาน 3 รูปแบบ ได้แก่ MAD20-type, K1-type และ RO33-type ซึ่ง 2 แบบแรกพบความหลากหลายในจำนวนและลำดับเบสทั้งหมดมากกว่า 50 แบบ ดังนั้นบริเวณดังกล่าวจึงมีความเหมาะสมในการทดสอบหรือติดตามลักษณะและจำนวน allele ที่พบใน *P. falciparum* แต่ละตัวอย่างที่ได้จากผู้ป่วย (Jongwutiwes et al 1992)

### โครงสร้างในบริเวณที่ 2 ของ *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein

Merozoite surface protein 1 (MSP1) เป็นโปรตีนผิวที่พบมากที่สุดในระยะ merozoite ของเชื้อ *P. falciparum* และมีบทบาทในการบุกรุกเซลล์เม็ดเลือดแดง (Holder et al., 1992) ยีนชนิดนี้ได้รับแบ่งออกเป็นหลายช่วงที่แตกต่างกันทางรูปแบบพันธุกรรมบริเวณ block 2 (Tanabe et al, 1987) และมีการจำแนกกลุ่มอัลลีลออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มอัลลีล K1, MAD20 และ RO33 อัลลีลในกลุ่ม K1 และ MAD20 มี antigenically tripeptide repeats ที่มีความหลากหลายอย่างกว้างขวาง (Miller et al., 1993) ส่วนอัลลีลในกลุ่ม RO33 จำนวน tripeptide ที่ซ้ำกันจะน้อยกว่า 2 กลุ่มอัลลีลแรก คือ MAD20 และ K1 (Hughes, 1992) ซึ่งจากการศึกษาความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณที่ 2 พบว่ามีความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์สูง และมีลำดับของกรดอะมิโน 3 ตัวซ้ำกันเป็นชุด เรียกว่า tripeptide repeats ซึ่งแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มอัลลีล ดังนี้

#### 1. กลุ่มอัลลีล MAD20

กลุ่มอัลลีล MAD20 ในบริเวณ tripeptide repeats มีกรดอะมิโนเรียงซ้ำกันตั้งแต่ 5 – 15 ชุด ซึ่งในชุดสุดท้ายของแต่ละสายพันธุ์ พบว่าองค์ประกอบของกรดอะมิโนเหมือนกัน สำหรับลำดับนิวคลีโอไทด์ของบริเวณ tripeptide repeats ในกลุ่มอัลลีล MAD20 พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ ตัวแรกของแต่ละชุดมีความคงที่ในแต่ละ tripeptide เป็น Thymine-Cytocine-Adenine



(TCA) ยกเว้น tripeptide ในชุดที่ 6 ของสายพันธุ์ Bandia เป็น TCG (Serine) (Schert et al., 1989) ลำดับนิวคลีโอไทด์พื้นฐานของ tripeptide repeats มีลักษณะเป็น TCA A(G)A(G/T)A(G/T) G(A)G(C)T(C) (Tanabe et al., 1987; Jongwutiwes et al., 1992; Jiang et al., 2000)

## 2. กลุ่มอัลลีล K1

กรดอะมิโนบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1 เรียงซ้ำกัน 5 – 25 ชุด มีลำดับกรดอะมิโนลักษณะคล้ายคลึงกับกลุ่มอัลลีล MAD20 ปรากฏในทุกสายพันธุ์ที่ได้มีการศึกษามาก่อนเสมอ องค์ประกอบของ tripeptide ส่วนใหญ่ประกอบด้วย Serine-Glycine-Threonine (SGT) Serine-Glycine-Proline (SGP) Serine-Glycine-Alanine (SGA) และ Serine-Alanine-Threonine (SAT) ถึงแม้ว่ากรดอะมิโนตำแหน่งแรกของกลุ่มอัลลีล MAD20 และกลุ่มอัลลีล K1 จะประกอบด้วย Serine เหมือนกัน แต่ลำดับนิวคลีโอไทด์มีความแตกต่างกัน คือ กลุ่มอัลลีล K1 จะมีลำดับนิวคลีโอไทด์เป็น AGT เสมอเช่นเดียวกับกลุ่มอัลลีล MAD20 ที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ ตัวแรกเป็น TCA สำหรับนิวคลีโอไทด์พื้นฐานในแต่ละ repeat นั้นจะมีองค์ประกอบ คือ AGT GC(G) NA(C)A โดย N หมายถึงนิวคลีโอไทด์ใดๆใน 4 ชนิด (Tanabe et al., 1987; Jongwutiwes et al., 1992; Jiang et al., 2000)

## 3. กลุ่มอัลลีล RO33

สำหรับ tripeptide repeats ในบริเวณที่ 2 ของกลุ่มอัลลีล RO33 ซึ่งเป็นบริเวณที่มีความหลากหลายสูง ซึ่งจากการศึกษาการกระจายความถี่ของอัลลีล (allele frequency) ในบริเวณที่ 2 จากผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P. falciparum* ในหลายประเทศทั่วโลก พบว่ามีการกระจายความถี่ของกลุ่มอัลลีลแตกต่างกัน เช่น ประเทศ จีน เวียดนาม และไทย พบกลุ่มอัลลีล MAD20 มากที่สุด (Tanabe et al., 2000; Jongwutiwes et al., 1992) และในประเทศแอฟริกาใต้ แคมเบีย กาบอง ชูดาน ทานซาเนีย และ ไนจีเรีย พบกลุ่มอัลลีล K1 มากที่สุด (Conway et al., 2000) และจากการกระจายของกลุ่มอัลลีล RO33 ซึ่งมีการกระจายตัวมาก พบในประเทศเซเนกัล และโคลัมเบีย (Snowin et al., 1991)

นอกจากนี้ มีการศึกษารูปแบบของยีน MSP1 และ MSP2 ของ *P. falciparum* จากประเทศพม่าซึ่งมีความใกล้ชิดกับประเทศไทย โดยใช้ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P. falciparum* จากโรงพยาบาลในกรุงมันดะเลย์ ประเทศพม่า จำนวน 63 ตัวอย่าง ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมร่วมกันของรูปแบบยีน MSP1 ในบริเวณที่ 2 และ MSP2 ในบริเวณที่ 3 โดยใช้เทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Nested PCR) วิเคราะห์ความหลากหลายของประชากรมาลาเรีย พบว่าความหลากหลายของรูปแบบ MSP1 และ MSP2 ของ

*P. falciparum* จากประเทศพม่ามีการติดเชื้อผสม (mixed infection)

และเมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ MSP1 ของ *P. falciparum* ในบริเวณที่ 2 พบว่ามี 14 อัลลีลที่แตกต่างกัน คือ 5 อัลลีลใน K1 type และ 9 อัลลีลใน MAD20 type และสำหรับ MSP2 ของ *P. falciparum* ในบริเวณที่ 3 พบว่ามี 22 อัลลีลที่แตกต่างกัน คือ 7 อัลลีลใน FC27 type และ 15 อัลลีลใน 3D7 type ซึ่งจะเห็นว่า MSP1 ในบริเวณที่ 2 และ MSP2 ในบริเวณที่ 3 ที่แยกได้จากประเทศพม่านั้นมีความหลากหลายในรูปแบบการเป็นแอนติเจนสูง ซึ่งเห็นได้จากการติดเชื้อที่เป็นการติดเชื้อแบบผสม (mixed infection) ที่สูงเช่นกัน (Kang JM et al., 2010)

นอกจากนี้บริเวณอื่นๆ ของ PfMSP1 อาจมีบทบาทในการเหนี่ยวนำให้เกิดภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพได้ ซึ่งนอกจากจะใช้วิธีวิเคราะห์บริเวณต่างๆ ของโปรตีน เพื่อหา T cell หรือ B cell epitope ที่มีศักยภาพในการสร้างภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพแล้ว การวิเคราะห์โดยผลงานองค์ความรู้ด้านพันธุกรรมประชากร (population genetics) รวมทั้งองค์ความรู้ทางด้านอิมมูโนวิทยา และระบาดวิทยาทำให้ทราบว่าแอนติบอดีต่อบริเวณ block 2 ของ PfMSP1 มีความสัมพันธ์ผกผันกับปริมาณการตรวจพบเชื้อในกระแสโลหิตจากผู้ป่วยในเขตปრაการูโรคในทวีปแอฟริกา ข้อมูลดังกล่าวยังสอดคล้องกับการพบว่าแอนติบอดีต่อ block 2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อในหลอดทดลองได้ และความสามารถในการยับยั้งดังกล่าวยังมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแอนติบอดีในผู้ที่อาศัยในเขตปრაการูโรคมาลาเรีย (Conway et al 2000)

นอกจากนี้ความหลากหลายของยีน PfMSP1 ในบริเวณ block 2 ซึ่งมีความสำคัญเป็นอย่างมากในการใช้เป็น genetic marker เพื่อติดตามพันธุกรรมประชากร (population genetics) ของเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* ในธรรมชาติแล้ว ข้อมูลการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์จากตัวอย่างผู้ป่วยยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นพื้นฐานสำคัญของการออกแบบวัคซีนป้องกันมาลาเรีย

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### รูปแบบการวิจัย

การศึกษาเชิงพรรณนา (descriptive study)

#### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. วิเคราะห์ความหลากหลายของยีนที่สร้างโปรตีนบนผิวเมอริโรซอยต์ชนิดที่ 1 ในบริเวณ N-terminus ของเชื้อ *P. falciparum* ในประเทศไทย
2. ศึกษาความผันแปรของยีนในบริเวณดังกล่าวของเชื้อ *P. falciparum* ในแต่ละภูมิภาคในช่วงฤดูฝนและฤดูแล้งของประเทศไทย

#### คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

เพื่อวิเคราะห์ความหลากหลายของยีนที่สร้างโปรตีนบนผิวเมอริโรซอยต์ชนิดที่ 1 ในบริเวณ N-terminus ของเชื้อ *P. falciparum* ในประเทศไทยและเพื่อศึกษาความผันแปรของยีนในบริเวณดังกล่าวของเชื้อ *P. falciparum* ในแต่ละภูมิภาคในช่วงฤดูฝนและฤดูแล้งของประเทศไทย

#### ระเบียบวิธีวิจัย (Research methodology)

**ประชากรเป้าหมาย (Target population)** คือ ผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* ที่มีผลการยืนยันโดยวิธี Nested PCR

#### Inclusion criteria

คือ กลุ่มผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum*

#### Exclusion criteria

คือ กลุ่มผู้ป่วยที่ไม่ติดเชื้อ *P. falciparum*

### ขนาดของประชากรตัวอย่าง (Sample size)

เนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบความหลากหลายของยีนที่สร้างโปรตีนบนผิวเมอร์โรซอยต์ชนิดที่ 1 ในบริเวณ N-terminus ของเชื้อ *P. falciparum* ในแต่ละภูมิภาคตามฤดูกาลในประเทศไทย การวิเคราะห์ข้อมูลจึงทำการศึกษาตัวอย่างประชากรในแต่ละพื้นที่จำนวนไม่น้อยกว่า 100 ตัวอย่าง โดยเก็บในช่วงฤดูฝนตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม พื้นที่ละ 50 ตัวอย่าง และในช่วงฤดูแล้งตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึงเมษายนพื้นที่ละ 50 ตัวอย่าง

### เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

#### เครื่องมือ : ชนิดเครื่องมือและบริษัทผู้ผลิต

##### ชนิดเครื่องมือ

ไมโครปีเปต ขนาด 10, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

เครื่องควบคุมอุณหภูมิและเวลาอัตโนมัติ

(PCR cycle รุ่น TP650)

เครื่องซั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง รุ่น FY-300

เครื่องแยกแถบดีเอ็นเอโดยกระแสไฟฟ้า

เครื่อง Molecular Image Gel Doc XR &

ChemiDoc XRS system

เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า

(powerPac HC Power Supply)

ตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส

ตู้เย็น -80 องศาเซลเซียส

ตู้อบเครื่องแก้ว (hot air oven)

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

กล้องจุลทรรศน์

เครื่องไมโครเวฟและแหล่งกำเนิดแสงอุลตราไวโอเล็ต

Automated ABI Prism 310 ABI (automated DNA sequencing)

ABI Prism BigDye Terminator

#### วัสดุและอุปกรณ์

ปีกเกอร์ ขนาด 10, 50, 100, 200, 500, 1000 มิลลิลิตร

##### บริษัทผู้ผลิต

EPPENDORF, U.S.A.

TAKARA, JAPAN

DIETHELM&CO.,LTD, JAPAN

MUPID-EXU, JAPAN

BIO-RAD LABORATORIES, U.S.A.

BIO-RAD LABORATORIES, U.S.A.

BRANDT, ENGLAND

PUFFER HUBBARD, U.S.A.

MEMMERT, GERMANY

BIO-RAD LABORATORIES, U.S.A.

OLYMPUS

ปิเปตต์ทิพ (pipette tip) ขนาด 10, 100, 1000 ไมโครลิตร

กระจกสไลด์ ขนาด 2.5 x 7.5 เซนติเมตร

กล่องโฟมใส่น้ำแข็ง

กล่องพลาสติกสำหรับเก็บตัวอย่าง

ถุงมือยางไม่มีแป้ง

พาราฟิล์ม

ไม้จิ้มฟัน

ใบมีดผ่าตัดสำหรับตัดเจล

ปากกาเขียนเครื่องแก้ว

ข้อตักสารเคมีและกระดาษชำระ

หน้ากากกันแสงอุลตราไวโอเล็ต

**เคมีภัณฑ์ : รายชื่อสารเคมีและแหล่งที่มา**

**ชื่อสารเคมี**

Agarose powder

100 bp DNA ladder (Maker VI)

$\lambda$ Hind III marker

Bromophenol blue dye

Ethidium bromide solution

Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)

**ชื่อสารเคมี**

Giemsa stain

Low melting Agarose powder

Taq DNA polymerase

dream Taq DNA polymerase

Tris Base (molecular biology grade)

TE buffer

**บริษัทผู้ผลิต**

1<sup>st</sup> BASE, SINGAPORE

FERMENTAS LIFE SCIENCE

FERMENTAS LIFE SCIENCE

PHARMACIA BIOTECH,

SEWEDEN

BIO-RAD LABORATORIES, U.S.A.

PROMEGA, U.S.A.

**บริษัทผู้ผลิต**

MERCK, GERMANY

PROMEGA, U.S.A.

TAKARA, JAPAN

TAKARA, JAPAN

PROMEGA, U.S.A.

## ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

### การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยมาลาเรียในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดตาก ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี และภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดยะลา ในปี พ.ศ.2552 ทำการเก็บตัวอย่างเลือด ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม เนื่องจากเป็นช่วงที่ครอบคลุมระหว่างฤดูฝนซึ่งมีการระบาดของโรคมาลาเรียสูง และเดือนพฤศจิกายนถึงเมษายนในฤดูแล้งซึ่งมีการระบาดของโรคมาลาเรียต่ำ โดยเป็นตัวอย่างเลือดจากโครงการระบาดวิทยาเชิงบูรณาการเพื่อเป็นแนวทางการควบคุมโรคมาลาเรียในประเทศไทยของศาสตราจารย์นายแพทย์ ดร.สมชาย จงวุฒิวเศย์ โดยใช้เลือดที่เจาะจากหลอดเลือดดำที่แขนปริมาตร 3.0 มิลลิลิตร เก็บในหลอดที่มีสารกันเลือดแข็งตัว ethylene diamine tetracetic acid (EDTA) นำตัวอย่างเลือดดังกล่าวเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปสกัดดีเอ็นเอซึ่งนำแต่ละตัวอย่างมาทำการตรวจวินิจฉัยโดยการย้อมฟิล์มเลือดชนิดหนาและชนิดบางด้วยสียิมซ่า (Giemsa) เพื่อแยกชนิดและประเมินความหนาแน่นของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และทำการตรวจวินิจฉัยโดยวิธี Nested PCR พร้อมทั้งทำการซักประวัติผู้ป่วยเพื่อเก็บรวบรวมข้อมูลทางคลินิกของผู้ป่วย ได้แก่ ชื่อ เพศ อายุ สัญชาติ ภูมิลำเนา และอาการป่วย จำนวน 349 ตัวอย่าง

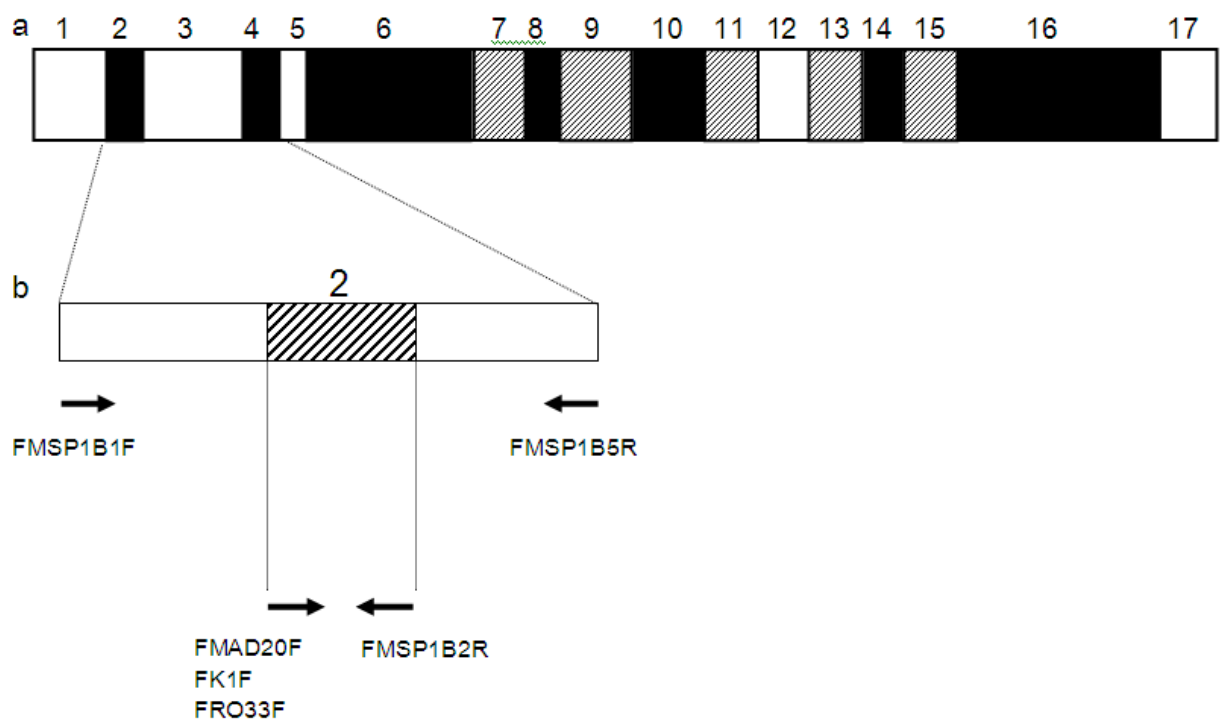
### การสกัดดีเอ็นเอ (DNA Extraction)

ทำการสกัดโดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอของ QIAGEN โดยนำตัวอย่างเลือด 20 ไมโครลิตร เติมนัฟเฟอร์ ATL ปริมาตร 160 ไมโครลิตร และเติม proteinase K ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน สำหรับย่อยโปรตีนต่างๆ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะละลาย จากนั้นเติมนัฟเฟอร์ AL ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเอทานอล (ร้อยละ 96 ถึง 100) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วดูดสารละลายใส่ใน QIAamp spin column นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที แล้วนำ QIAamp spin column ใส่ใน collection tube หลอดใหม่ ทำการล้างดีเอ็นเอด้วยบัฟเฟอร์ AW1 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมนัฟเฟอร์ AW2 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที เติมนัฟเฟอร์ AE เพื่อทำการชะล้างออกจากตัวจับดีเอ็นเอ โดยปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที และนำดีเอ็นเอที่สกัดได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20

องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ (Template) สำหรับการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสต่อไป

### การออกแบบโอลิโกนิวคลีโอไทด์สำหรับใช้เป็นไพรเมอร์ในการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส

ทำการออกแบบไพรเมอร์ โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ของยีน *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 (PfMSP1) เป็นต้นแบบ ซึ่งใช้ข้อมูลอ้างอิงจาก [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov) ของ *P. falciparum* isolate MAD20, K1 และ RO33 accession number AB276005, X05624, และ X03371 ตามลำดับ ทำการออกแบบไพรเมอร์ เพื่อให้ได้ผลผลิต PCR ครอบคลุมบริเวณ block 2 ของ PfMSP1 โดย forward primer อยู่ในบริเวณปลาย 3' ของ block 1 และ reverse primer อยู่ในบริเวณปลาย 5' ของ block 5 ซึ่งมีความยาว 1,059 bp., 1,044 bp. และ 1,041 bp. ตามลำดับ (ดังแสดงในภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 (a) แสดงโครงสร้างของ PfMSP1 บริเวณ conserved, semiconserved และ variable block ซึ่งแสดงเป็นช่องไม่ระบายสี, ช่องลายทแยงขึ้น และช่องสีทึบ ตามลำดับ โดยมีหมายเลขด้านบนแสดงลำดับทั้ง 17 block (b) แสดงชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

ด้วยวิธี PCR ลูกศรด้านล่างแสดงบริเวณที่ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและทิศทางของ primer ในการจีโนมไทป์ block 2 คือ FMSPB1F, FMSP1B5R, FMAD20F, FK1F, FRO33F และ FMSP1B2R (ช่องที่ 15 - 21) ดีเอ็นเอต้นแบบคือ : ช่องที่ 1 - 21 = MAD20 + K1 + RO33 copy number ของ PfMsP1 ในกลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอควบคุมทั้ง 3 ชนิด คือ 5/5/100 (ช่องที่ 7, 14 และ 21), 5/100/1000 (ช่องที่ 6, 13 และ 20), 100/100/10 (ช่องที่ 5, 12 และ 19), 100/100/100 (ช่องที่ 4, 11 และ 18), 100/1000/1000 (ช่องที่ 3, 10 และ 17), 1000/1000/100 (ช่องที่ 2, 9 และ 16) และ 1000/10/10 (ช่องที่ 1, 8 และ 15) และ M คือดีเอ็นเอบอกขนาด 100 bp ladder marker

### การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส

นำดีเอ็นเอที่สกัดไว้มาใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบสำหรับการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองจะต้องใช้องค์ประกอบที่จำเป็นต่อการทำปฏิกิริยาต่อ 1 ตัวอย่างประกอบด้วย ดีเอ็นเอที่สกัดไว้ 2 ไมโครลิตร forward primer และ reverse primer อย่างละ 0.26 ไมโครลิตร 10X PCR บัฟเฟอร์ ปริมาตร 3 ไมโครลิตร แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl<sub>2</sub>) ปริมาตร 3 ไมโครลิตร Deoxynucleotides (dNTP) ปริมาตร 4.8 ไมโครลิตร LA-Taq DNA polymerase ปริมาตร 0.3 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 16.38 ไมโครลิตร นำหลอดที่มีส่วนผสมของการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) เข้าเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Thermal cycler) ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนการทำให้ดีเอ็นเอแยกสาย (DNA denaturation) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ขั้นตอนการทำให้ไพรเมอร์จับกับสายดีเอ็นเอต้นแบบ (primer-template annealing) ที่อุณหภูมิ 96 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.20 นาที อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.3 นาที อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.3 นาที และขั้นตอนการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ (primer extension) ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที โดยทำปฏิกิริยาทั้งหมด 35 รอบ และทำการวิเคราะห์ผลผลิตการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) ด้วยวิธีการแยกทางไฟฟ้าโดยใช้เจล (gel electrophoresis)

### การวิเคราะห์ผลผลิตการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) ด้วยวิธีการแยกทางไฟฟ้าโดยใช้เจล (gel electrophoresis)

วิธีการแยกทางไฟฟ้าโดยใช้เจล (gel electrophoresis) นั้น อะกาโรส (agarose) เป็นสายพอลิเมอร์ ของ D-galactose และ 3,6-anhydro-L-galactose เมื่อเตรียมแผ่นเจล โดยให้ความร้อนสารละลายอะกาโรส (agarose) ในบัฟเฟอร์แล้วเทลงในถาดเตรียมเพื่อให้แข็งตัว



เมื่อเย็น จะได้เจลที่มีรูพรุนใหญ่ จึงใช้แยกสารที่มีขนาดใหญ่ เช่น กรดนิวคลีอิก ซึ่งขนาดรูพรุนขึ้นกับความเข้มข้นของอะกาโรส (agarose) ซึ่งเมื่อความเข้มข้นสูงขนาดรูพรุนจะเล็กลง เมื่อให้สนามไฟฟ้าที่ค่าความเป็นกรดต่างตามธรรมชาติ โมเลกุลของกรดนิวคลีอิกจะมีประจุลบ และเคลื่อนที่ไปยังขั้วบวกด้วยความเร็วที่ขึ้นกับขนาดโมเลกุล (molecular size) และโครงสร้าง (conformation) เมื่ออัตราส่วน charge/mass ของกรดนิวคลีอิกกับ 1.0 ทำให้อัตราเร็วในการเคลื่อนที่แปรผกผันกับ  $\log_{10}$  ของน้ำหนักโมเลกุลของดีเอ็นเอ ซึ่งกรดนิวคลีอิกขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าขนาดใหญ่ และถ้าขนาดเท่ากันแต่มีรูปร่างแตกต่างกันจะมีอัตราเร็วต่างกัน โดยลำดับของความเร็วในการเคลื่อนที่ของแต่ละรูปแบบของกรดนิวคลีอิก พบว่า supercoiled DNA เคลื่อนที่เร็วกว่า linear double stranded DNA และเคลื่อนที่เร็วกว่า circular DNA โดยบัฟเฟอร์ที่ใช้ คือ Tris acetate (TAE) Tris borate (TBE) และ Tris phosphate (TPE) ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.5 ถึง 8.0 และมี EDTA เพื่อยับยั้งกิจกรรมของ DNase ส่วนสีที่ใช้ย้อมเป็น fluorescent compound (aromatic cation) ที่จับกับดีเอ็นเอสายคู่ (double stranded DNA) โดยเข้าไปแทรกตัวอยู่ระหว่างคู่เบสที่ซ้อนกัน เช่น เอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) เมื่อฉายรังสีอุลตราไวโอเลตจะให้ fluorescence มองเห็นเป็นแถบ (band) ดีเอ็นเอเรืองแสง

ขั้นตอนในการวิเคราะห์ ทำการเตรียมอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยตั้งผงอะกาโรส 2 กรัม ละลายใน 1X TBE buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปต้มจนเดือด แล้วเขย่าให้อะกาโรสเป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลง อุณหภูมิประมาณ 50 ถึง 60 องศาเซลเซียส จากนั้นนำอะกาโรสไปเทลงในถาดเจล (gel chamber) ที่เตรียมไว้ใส่หัวเจล (comb) แล้วทิ้งไว้ จนกระทั่งอะกาโรสแข็งตัว ค่อยๆดึงหัวเจล (comb) ออก โดยดึงปลายทั้งสองข้างออกพร้อมกัน ระวังอย่าให้เจลแตกหรือฉีกขาด ทำการเติม 1X TBE buffer ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ในถาดอิเล็กโตรโฟรีซิส (electrophoresis chamber) นำผลิตภัณฑ์การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) ที่ได้ผสมกับ loading dye ปริมาตรประมาณ 1 ไมโครลิตร แล้วหยอดลงในหลุมเจล และใช้ marker VI เป็นดีเอ็นเอบอกขนาด เพื่อใช้เปรียบเทียบขนาดกับผลิตภัณฑ์การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (PCR) ด้วยกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 ถึง 40 นาที หลังจากนั้นนำเจลอะกาโรสไปย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) เป็นเวลา 10 ถึง 15 นาที นำไปตรวจดูการเรืองแสงของแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเลตและถ่ายภาพไว้เพื่อวัดขนาดของแถบดีเอ็นเอ โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอบอกขนาด

### วิธีการแยกจีโนมไทป์ที่จำเพาะต่ออัลลีล

ทำการออกแบบไพรเมอร์จากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สมบูรณ์ของยีน PfMSP1 ต้นแบบจากฐานข้อมูลใน GenBank™ ในหมายเลข AB276005, X05624 และ X03371 โดยมีโครงสร้างยีนและตำแหน่งของไพรเมอร์แสดงดังในรูปที่ 1 ซึ่งส่วนของดีเอ็นเอเป้าหมาย ประกอบด้วย block 1 ถึง block 5 ทำการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบให้ครอบคลุมเชื่อมมาลาเรีย *P. falciparum* ทั้ง 3 จีโนมไทป์ ได้แก่ MAD20, K1 และ RO33 โดยใช้ forward primer FMSP1B1F (5'-CACAAATGTGTAACACATGAAAG-3') และ reward primer FMSP1B5R (5'-CAAGTGGATCAGTAAATAAACTATC-3') ทำปฏิกิริยาภายในหลอดทดลองขนาด 0.2 ไมโครลิตร ปริมาตรสุทธิ 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบของ *P. vivax* 1 ไมโครลิตร dNTP 2.5 ไมโครลิตร 10X PCR buffer 2.5 ไมโครลิตร Extaq DNA Polymerase 0.4 ไมโครลิตร และไพรเมอร์อย่างละ 2.5 ไมโครลิตร ทำการตั้งค่าการดำเนินปฏิกิริยา PCR ในเครื่อง thermal cycler รุ่น PCR System 9700 ดังนี้ ขั้นตอน pre-denaturation 94 องศาเซลเซียส 1 นาที ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา PCR ของ denaturation 96 องศาเซลเซียส 30 วินาที ขั้นตอน annealing 55 องศาเซลเซียส 30 วินาที ขั้นตอน extension 61 องศาเซลเซียส 1.30 นาที และขั้นตอนดำเนินการซ้ำขั้นตอนเหล่านี้ 35 รอบ สุดท้ายเป็น post-extension 72 องศาเซลเซียส 5 นาที นำผลผลิต PCR ที่ได้ ไปเป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการทำปฏิกิริยา PCR รอบที่ 2 เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของ block 2 โดยแยกออกเป็น 3 ปฏิกิริยา (semi-nested PCR) ประกอบด้วย reward primer FMSP1B2R (5'-CCATCAATTAATATTTGAAACC -3') จำเพาะต่อ 3 จีโนมไทป์ (MAD20, K1 และ RO33) และ forward primer 3 ตัว ได้แก่ FMAD20F (5'-GAACAGCTGTCAACTAGTACAC-3') ซึ่งจำเพาะต่อจีโนมไทป์ MAD20, FK1F (5'-GAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTG-3') จำเพาะต่อจีโนมไทป์ K1 และ FRO33F (5'-GGAGCAAATACTCAAGTTGTTGC-3') จำเพาะต่อจีโนมไทป์ RO33 องค์ประกอบของการทำปฏิกิริยา semi-nested PCR มีปริมาตรสุทธิ 25 ไมโครลิตร โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่ออัลลีลแต่ละชนิดของ block 2 ของยีน PfMSP1 ทำการตั้งค่าอุณหภูมิและเวลาเหมือนในปฏิกิริยา PCR รอบแรกแต่กำหนดรอบของปฏิกิริยาทั้งหมดเพียง 25 รอบ และขั้นตอนการสร้างสายนิวคลีโอไทด์จะใช้เวลา 1 นาที ตรวจสอบผลผลิตจาก semi-nested PCR ที่ได้ด้วยวิธี gel electrophoresis ในอะกาโรสเจลเข้มข้นร้อยละ 3 (Nacalai Teque, Japan) หลังจากย้อมเจลด้วยเอธิเดียมโบรไมด์จึงนำมาตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอุลตราไวโอเล็ต

### ความจำเพาะของจีโนมไทป์

ตัวอย่างดีเอ็นเอควบคุมได้มาจากตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวกของ *P. falciparum* 3 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวแทนของยีนแต่ละจีโนไทป์คือตัวอย่าง CT114 เป็นตัวแทนของจีโนไทป์ MAD20 ตัวอย่าง CT312 เป็นตัวแทนของจีโนไทป์ K1 และ ตัวอย่าง YL1345 เป็นตัวแทนของจีโนไทป์ RO33 ซึ่งได้มีการทดสอบยืนยันด้วยการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนไทป์ดังกล่าวจากการศึกษาของคณะผู้วิจัยก่อนหน้านี้ กลุ่มตัวอย่างดีเอ็นเอควบคุมได้นำมาทดสอบด้วยการใช้เป็นตัวอ้างอิงและหรือการนำแต่ละตัวอย่างมาผสมกัน นอกจากนี้ยังได้ทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ในการทำปฏิกิริยา semi-nested PCR กับดีเอ็นเอของมาลาเรียชนิดอื่นๆ ได้แก่ *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* และ *P. knowlesi* โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวอย่างควบคุมที่ให้ผลลบ

การทดสอบความไวของคู่ไพรเมอร์แต่ละคู่สายที่จำเพาะต่อยีนในส่วนของ block 2 ในการทำปฏิกิริยา semi-nested PCR ด้วยการเปรียบเทียบปริมาณดีเอ็นเอที่น้อยที่สุดที่สามารถทำให้เกิดปฏิกิริยา PCR ได้ โดยมีขั้นตอนแรกคือการทำปฏิกิริยา PCR เพื่อเพิ่มชิ้นส่วนของสายดีเอ็นเอของ block 1 ถึง block 5 ซึ่งมีความยาวประมาณ 1041-1059 คู่เบส ด้วยการใส่ไพรเมอร์ FMSP1B1F และ FMSP1B5R เนื่องจากตัวอย่างดีเอ็นเอจากผู้ป่วยมาลาเรียประกอบไปด้วยดีเอ็นเอของคนและเชื้อปรสิตรวมกัน ดังนั้นการประมาณจำนวนของดีเอ็นเอของเชื้อ *P. falciparum* จึงสามารถวิเคราะห์หาโดยทางอ้อมด้วยการคำนวณจากปริมาณความเข้มข้นของดีเอ็นเอของผลผลิต PCR ที่ได้ด้วยเครื่อง NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, Delaware, USA) แล้วนำมาคำนวณค่า copy number ของดีเอ็นเอเป้าหมาย จากนั้นทำการเจือจางดีเอ็นเอเป้าหมายเพื่อให้ได้จำนวน copy number ของยีน PfMSP1 เป็น  $10^3$ ,  $10^2$ , 10, 7, 5 และ 0.5 copy ความไวในการตรวจสอบ อัลลีลหลักแต่ละชนิดของ block 2 นั้นสามารถตรวจสอบได้โดยการทำ semi-nested PCR ด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะของแต่ละอัลลีล ขีดจำกัดของความไวที่ต่ำสุดได้จากค่าความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่เจือจางต่ำสุดที่จะสามารถให้ผลบวก PCR ต่อเนื่องกันจากการทำ PCR ที่เป็นอิสระแยกจากกันซ้ำ 3 ครั้ง

#### การวิเคราะห์ข้อมูล (Data analysis)

เรียงลำดับเบสของยีน PfMSP1 ในบริเวณ N-terminus จากการศึกษานี้ เปรียบเทียบกับข้อมูลที่เคยมีการรายงานมาก่อน โดยอาศัยโปรแกรม Clustalx วิเคราะห์ค่า nucleotide diversity และ hapotype diversity ของแต่ละกลุ่มประชากร

## บทที่ 4

### ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ตัวอย่างเชื้อมาลาเรียที่ใช้สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ทำการเก็บรวบรวมระหว่างปี พ.ศ. 2540 ถึง 2552 จากกลุ่มผู้ป่วยมาลาเรียจำนวน 349 ราย พบว่าเป็นเพศชาย ร้อยละ 55.30 เพศหญิง ร้อยละ 23.21 อายุเฉลี่ย 27 ปี อายุสูงสุด 78 ปี และอายุต่ำสุด คือ 2 ปี โดยช่วงอายุที่พบมากที่สุด คือ 11 – 20 ร้อยละ 22.64 รองลงมาอยู่ในช่วง 21 – 30 ร้อยละ 20.05 ผู้ป่วยที่มารับบริการการตรวจส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในพื้นที่จังหวัดตาก ยะลา จันทบุรี ปัตตานี คิดเป็นร้อยละ 35.53, 30.95, 8.60, 4.01 ตามลำดับ ส่วนผู้ป่วยที่มารับบริการตรวจที่อาศัยอยู่ในพื้นที่จังหวัดสงขลาและนราธิวาสนั้น มีอัตราเท่ากันคิดเป็นร้อยละ 0.29 นอกจากนี้ยังมีผู้ป่วยชาวต่างชาติอีก 2 ประเทศ คือ พม่า ร้อยละ 14.90 และกัมพูชา ร้อยละ 3.44 โดยผู้ที่เข้ามาใช้บริการมีเชื้อชาติไทย พม่า กะเหรี่ยง และกัมพูชา คิดเป็นร้อยละ 43.55, 14.90, 13.47 และ 6.59 และผู้ป่วยที่มารับบริการตรวจเลือด ส่วนใหญ่จะมีอาการเป็นไข้ก่อนมารับการตรวจในช่วง 2 – 3 วันมาแล้วและผู้ป่วยมีอุณหภูมิร่างกายเฉลี่ย 37.66 ซึ่งอุณหภูมิต่ำสุด คือ 36.4 และสูงสุดคือ 39.7 องศาเซลเซียส รายละเอียดของข้อมูลแต่ละตัวอย่าง แสดงดังในตารางที่ 1 – 3

ตารางที่ 1. แสดงข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

	ข้อมูล	จำนวน	ร้อยละ
1. สถานที่			
	กัมพูชา	12	3.44
	จันทบุรี	30	8.6
	พม่า	52	14.9
	นราธิวาส	1	0.29
	ปัตตานี	14	4.01
	สงขลา	1	0.29
	ตาก	124	35.53
	ยะลา	108	30.95
	ไม่มีข้อมูล	7	2.01
2. เพศ			
	ชาย	193	55.3
	หญิง	81	23.21
	ไม่มีข้อมูล	75	21.49
3. อายุ			
	$\geq 10$	30	8.6
	พ.ย.-20	79	22.64
	21-30	68	20.05
	31-40	47	13.47
	41-50	24	6.88
	51-60	21	6.02
	61-70	5	1.43
	ไม่มีข้อมูล	75	21.49

ตารางที่ 1. แสดงข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง (ต่อ)

	ข้อมูล	จำนวน	ร้อยละ
4. เชื้อชาติ			
	กัมพูชา	23	6.59
	กะเหรี่ยง	47	13.47
	พม่า	52	14.9
	ไทย	152	43.55
	ไม่มีข้อมูล	75	21.49
5. อุณหภูมิร่างกาย			
	36.01 - 37.00	21	6.02
	37.01 - 38.00	62	17.77
	38.01 - 39.00	36	10.32
	39.01 - 40.00	3	0.86
	ไม่มีข้อมูล	227	65.04
6. จำนวนวันที่เป็นไข้ก่อนมารักษา			
	1 วัน	6	1.72
	2 วัน	76	21.78
	3 วัน	96	27.51
	4 วัน	41	11.75
	5 วัน	7	2.01
	6 วัน	5	1.43
	7 วัน	11	3.15
	8 วัน	2	0.57
	≤9 วัน	10	2.87
	ไม่มีข้อมูล	95	27.22

ตารางที่ 2. แสดงข้อมูลสรุปทั่วไปของตัวอย่าง

ข้อมูล	Average	Minimum	Maximum
1. อายุ	27	2	78
2. คุณภูมิ	37.66	36.4	39.7
3. จำนวนวันที่เป็นไข้ก่อนมารักษา	3.56	1	20

ตารางที่ 3. แสดงจำนวนตัวอย่างเชื้อมาลาเรีย จำนวน 349 ตัวอย่าง ที่ได้จากผู้ป่วย มาลาเรีย ระหว่างปี พ.ศ. 2540 – 2552

ปีที่เก็บตัวอย่าง (พ.ศ.)	แหล่งที่มาของเชื้อ	รหัสนำหน้าชื่อตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง
2540	อ.พบพระ จ.ตาก	A, B, DF, DV	19, 8, 34, 7
2550	จ.จันทบุรี	CTR, CTRA, CTRE, CTFC	3, 6, 6, 3
2551	อ.ท่าสองยาง จ.ตาก	TSY	66
	จ.ยะลา	YL	12
	จ.จันทบุรี	CT, CTR, CTRE, CTRE, CTFC	10
2552	อ.ท่าสองยาง จ.ตาก	TSY	42
	จ.จันทบุรี	CT	21
	จ.ยะลา	YL	112

### วิธีการตรวจสอบความจำเพาะของจีโนไทป์ของ PfMSP1

#### (Specificity Genotyping Method)

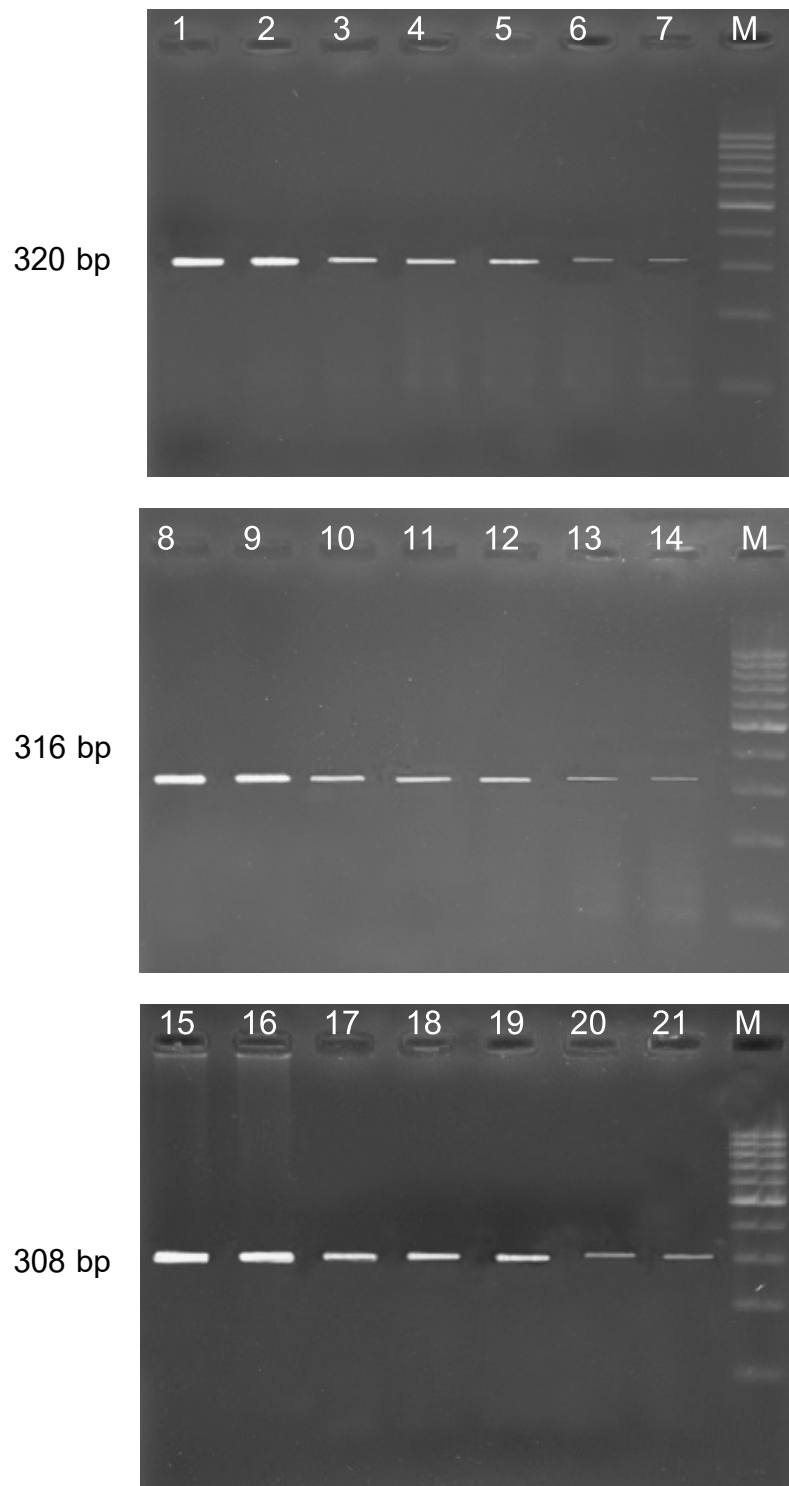
การเพิ่มปริมาณของ PfMSP1 ใน block 2 โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อกลุ่มอัลลีล มีขนาด 316, 320 และ 308 kb ในกลุ่มอัลลีล MAD20, K1 และ RO33 ตามลำดับ โดยมีตัวอย่าง ผลบวก (positive control) คือ ตัวอย่างที่ทราบจีโนไทป์ใน block 2 เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเกิดการข้ามสายพันธุ์กันระหว่าง 3 กลุ่มอัลลีลหลักที่ทำการ ศึกษา เมื่อใช้ไพรเมอร์ที่ไม่เข้ากันใน block 2 เช่น ไพรเมอร์ FMAD20F และ FMSP1B2R ให้ ผลผลิตดีเอ็นเอจากตัวอย่างจันทบุรี (CT114) ที่มีขนาดเป็นกลุ่มอัลลีล MAD20 อย่างไรก็ตาม ไม่มีผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้จากการศึกษาโดยใช้ไพรเมอร์ที่ต่างกัน (FK1F และ FMSP1B2R, และ FR33F และ FMSP1B2R) ในการทดลองมีการเก็บไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเพื่อทำการทดสอบใน

การผสมดีเอ็นเอเพื่อให้เกิดการติดเชื้อแบบผสม (multiple-clone infection) โดยการผสมดีเอ็นเอที่แยกได้จากตัวอย่างและทราบลำดับเบสที่แตกต่างกันในตัวอย่างเดียวของกลุ่มอัลลีล MAD20, K1 (CT312) หรือ RO33 (YL1345) ซึ่งการการนำตัวอย่างมารวมกันสองตัวอย่างหรือมากกว่านั้น ในชนิดที่แตกต่างกันใน block 2 ของ PfMSP1 จะใช้ดีเอ็นเอต้นแบบในการแยกชนิดลำดับเบสย่อยในวิธี PCR ดีเอ็นเอต้นแบบประกอบด้วย genomic DNA จากกลุ่มอัลลีล MAD20 ผสมกับกลุ่มอัลลีล K1 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ FMAD20F และ FMSP1B2R หรือ FRO33F และ FMSP1B2R และเมื่อทำการแยกจีโนมไทป์ทั้งสามแบบของ block 2 โดยทำการผสมดีเอ็นเอทั้งสามแบบในตัวอย่างเดียวกัน พบว่าผลการทดลองให้ผลที่ถูกต้องและสอดคล้องกัน ซึ่งแสดงให้เห็นความสัมพันธ์ระหว่างความจำเพาะของไพรเมอร์และความสอดคล้องของจีโนมไทป์ใน block 2 ดังแสดงในภาพที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นความถูกต้องแม่นยำของไพรเมอร์ของ block 2 ของ PfMSP1 โดยไม่คำนึงถึงจำนวนของจีโนมไทป์แบบผสมในตัวอย่าง และไม่มีผลผลิตดีเอ็นเอเมื่อใช้น้ำและดีเอ็นเอที่ไม่ใช่ *P. falciparum* เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ

#### การทดสอบความไวจำเพาะของจีโนมไทป์ (Sensitivity of Genotype Method)

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี semi-nested PCR โดยใช้ไพรเมอร์ FMSP1B1F และ FMSP1B5R สามารถบอกจำนวน copy number ของ PfMSP1 ได้ โดยจำนวน copy number ที่น้อยที่สุดของ PfMSP1 ที่ให้ผลบวกเมื่อใช้ไพรเมอร์คู่ในคือ FMAD20F และ FMSP1B2R, FK1F และ FMSP1B2R, และ FRO33F และ FMSP1B2R คือ 5 copy ซึ่งทำการทดลองซ้ำกัน 3 ครั้ง พบว่าการทดลองทั้งสามนั้นให้ผลการทดลองที่ตรงกัน แสดงให้เห็นว่าการทดสอบนี้สามารถบอกความไวจำเพาะของจีโนมไทป์ได้ ดังแสดงในตารางที่ 1 แสดงวิธีการทดสอบความไวจำเพาะของจีโนมไทป์โดยใช้ไพรเมอร์ที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการศึกษาความไวจำเพาะในแต่ละคู่ของไพรเมอร์นั้นสามารถผันแปรตามตัวอย่างที่แยกได้โดยการติดเชื้อแบบผสม โดยตัวอย่างที่แยกได้ 3 ตัวอย่าง คือ CT114, CT312 และ YL1345 นำมาผสมกัน โดยใช้จำนวน copy number ที่แตกต่างกันเป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการทดลองที่ภาวะเดียวกัน ในภาพที่ 5 แสดงให้เห็นผลของความไวจำเพาะในการทดสอบแบบการผสมดีเอ็นเอทั้ง 3 ตัวอย่าง โดยไม่คำนึงถึงปริมาณในแต่ละจีโนมไทป์ของดีเอ็นเอต้นแบบที่ทำการผสม ดังนั้นการศึกษานี้สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพของในแต่ละคู่ของไพรเมอร์ได้



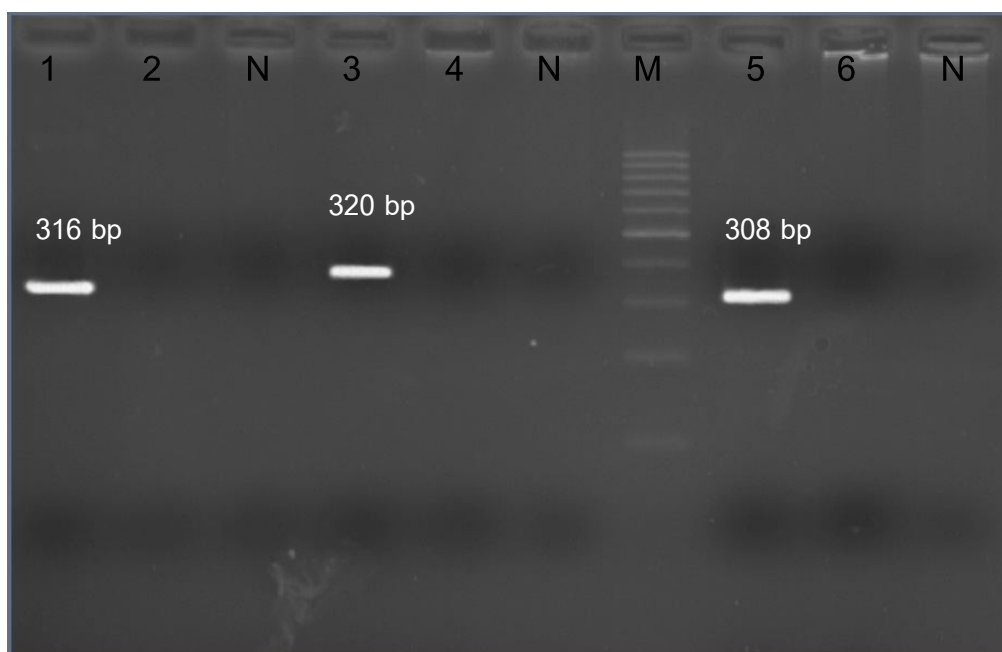


ภาพที่ 5. แสดงความไวจำเพาะและความเฉพาะเจาะจงของวิธี semi-nested PCR ในการจีโนไทป์ block 2 ของ PfMSP1 ซึ่ง gel electrophoresis แสดงผลผลิตดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณ

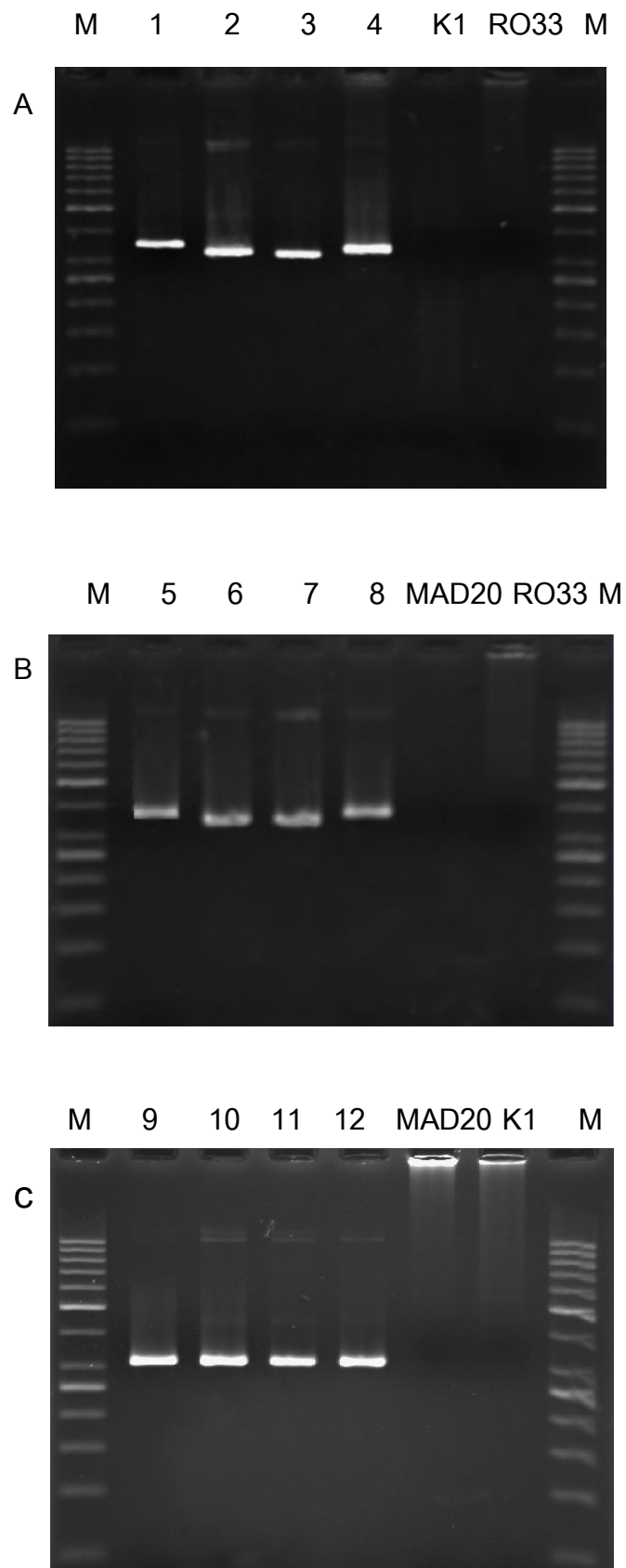
ดีเอ็นเอโดยใช้ primer FMAD20F และ FMSP1B2R (ช่องที่ 1 - 7), FK1F และ FMSP1B2R (ช่องที่ 8 - 14), และ FRO33F

### จีโนไทป์ย่อยของ block 2 ของ PfMSP1 (Subgenotype of PfMSP1 block 2)

กลุ่มอัลลีล MAD20 และ K1 สามารถแบ่งเป็นจีโนไทป์ย่อยได้ภายในกลุ่มอัลลีลที่มีความหลากหลายเรียงต่อกันในแต่ละชนิด โดยใช้วิธี gel electrophoresis ในการแสดงผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ FMAD20F และ FMSP1B2R หรือไพรเมอร์ FK1F และ FMSP1B2R พบว่าให้ขนาดของผลผลิตดีเอ็นเอที่ให้ผลบวกมีความหลากหลาย ในขณะที่ไพรเมอร์ FRO33 และ FMSP1B2R นั้นให้ขนาดของผลผลิตดีเอ็นเอที่ให้ผลบวกไม่มีความหลากหลาย ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6. แสดงความจำเพาะเจาะจงของวิธีการ simi-nested PCR ในการตรวจสอบจีโนไทป์ block 2 ของ PfMSP1 ซึ่ง gel electrophoresis แสดงให้เห็นผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ primer FMAD20F และ FMSP1B2R (ช่องที่ 1, 2 และ 3), FK1F และ FMSP1B2R (ช่องที่ 4, 5 และ 6) และ FRO33F และ FMSP1B2R (ช่องที่ 7, 8 และ 9) ดีเอ็นเอต้นแบบคือ : ช่องที่ 1 = MAD20 + K1 + RO33 ; ช่องที่ 2 = K1 + RO33 ; ช่องที่ 3 = K1 + MAD20 + RO33; ช่องที่ 4 = MAD20 + RO33 ; ช่องที่ 5 = RO33 + MAD20 + K1 ; และช่องที่ 6 = MAD20 + K1 และ M คือ ดีเอ็นเอบวกขนาด 100 bp ladder marker ; N คือตัวอย่างผลลบ (negative control)



ภาพที่ 7. แสดงการจีโนไทป์ของ block 2 ของ PfMSP1 ซึ่ง agarose gel electrophoresis แสดงผลผลิตดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ primer FMAD20 และ FMSP1B2R (A), FK1F และ FMSP1B2R (B), และ FRO33F และ FMSP1B2R (C) ดีเอ็นเอต้นแบบคือ : ช่องที่ 1 – 4 = 4 ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ MAD20 ; ช่องที่ 5 – 8 = 4 ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ K1 ; ช่องที่ 9 – 12 = 4 ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่มีจีโนไทป์แบบ RO33 และ M คือดีเอ็นเอบอกขนาด 100 bp ladder marker ซึ่ง MAD20, K1 และ RO33 คือจีโนไทป์ดีเอ็นเอของ *P. falciparum*

### การแยกจีโนไทป์จากตัวอย่างผู้ป่วย (Genotyping of clinical isolates)

การใช้ไพรเมอร์ที่เหมาะสมการแยกจีโนไทป์มีความสำคัญกับตัวอย่างที่แยกได้ในธรรมชาติ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ติดเชื้อมาลาเรีย *P. falciparum* ในแต่ละภาคของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดจันทบุรี จำนวน 49 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 9 จีโนไทป์ของ block 2 โดยในกลุ่มอัลลีล MAD20 และกลุ่มอัลลีล K1 และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) แบ่งออกเป็น 4, 4 และ 1 จีโนไทป์ตามลำดับ โดยมี 1 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสมระหว่างจีโนไทป์ MAD20 และจีโนไทป์ K1 คือ RCT311 และมี 1 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์ผสมจีโนไทป์ MAD20 และจีโนไทป์ RO33 คือ RCTRB28 และมี 2 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์ผสมระหว่างจีโนไทป์ K1 และจีโนไทป์ RO33 คือ RCT327 และ RCT449 และมี 1 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์ผสมของ MAD20 จีโนไทป์ K1 และจีโนไทป์ RO33 คือ RCT453 ซึ่งการติดเชื้อผสมดังกล่าว คิดเป็นร้อยละ 10.2 และการกระจายของจีโนไทป์ในจังหวัดยะลาจำนวน 124 ตัวอย่างแบ่งออกเป็น 4 จีโนไทป์ของ block 2 โดยในกลุ่มอัลลีล MAD20 กลุ่มอัลลีล K1 และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) แบ่งออกเป็น 2, 1 และ 1 จีโนไทป์ตามลำดับ โดยมี 2 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสมระหว่างจีโนไทป์ MAD20 และจีโนไทป์ RO33 คือ RYL1824 และ RYL1831 และมี 1 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์ผสมระหว่างจีโนไทป์ K1 และ จีโนไทป์ RO33 คือ RYL1957 ซึ่งมีการกระจายของจีโนไทป์แบบผสมคิดเป็นร้อยละ 8.33 ดังแสดงในตารางที่ 6 ส่วนการกระจายของจีโนไทป์จังหวัดตากในปี พ.ศ.2552 จำนวน 108 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 12 จีโนไทป์ของ block 2 โดยในกลุ่มอัลลีล MAD20 และกลุ่มอัลลีล K1 และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) แบ่งออกเป็น 7, 4 และ 1 จีโนไทป์ตามลำดับ โดยมีตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสมระหว่างจีโนไทป์ MAD20 และจีโนไทป์ K1 จำนวน 5 ตัวอย่าง คือ RTSY3167, RTYS3175, DTSY2773, DTSY2787 และ RTSY2794 และตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสมระหว่างจีโนไทป์ MAD20 และจีโนไทป์ RO33 จำนวน 4 ตัวอย่าง คือ DTSY2964, RTSY3139, RTSY3174 และ RTSY2646 และตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสมระหว่างจีโนไทป์ K1 และจีโนไทป์ RO33 จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ DTSY2968 และ DTSY2786 RCT449 และมี 1 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์ผสมของ MAD20 จีโนไทป์ K1 และจีโนไทป์ RO33 คือ RTSY2678 ซึ่งมีการกระจายของจีโนไทป์แบบผสมคิดเป็นร้อยละ 11.11 ดังแสดงในตารางที่ 7 ซึ่งเปรียบเทียบกับการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่อำเภอพบพระ จังหวัดตากในปี พ.ศ.2540 พบว่าในปีดังกล่าวมีการกระจายของจีโนไทป์จาก 68 ตัวอย่าง แบ่งออกเป็น 9 จีโนไทป์ของ block 2 โดยในกลุ่มอัลลีล MAD20 และกลุ่มอัลลีล K1 และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) แบ่งออกเป็น 5, 3 และ 1 จีโนไทป์ตามลำดับ โดยมีตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสมระหว่างจีโนไทป์ MAD20 และจีโนไทป์ K1 จำนวน 3 ตัวอย่าง คือ B28, DF7 และ DF16 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสมระหว่างจีโนไทป์ MAD20 และจีโนไทป์ RO33 จำนวน 11

ตัวอย่าง คือ A47, A67, A73, A85, DF2, DF3, DF4, DF17, DF30, DF31 และ DF32 ตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสมระหว่างจีโนไทป์ RO33 และจีโนไทป์ K1 จำนวน 4 ตัวอย่าง คือ A46, A106, A154 และ DF14 และมี 7 ตัวอย่าง ที่มีจีโนไทป์ผสมของ MAD20 จีโนไทป์ K1 และจีโนไทป์ RO33 คือ A122, A132, B18, DF6, DF19, DF24 DF34 และ DV11 ซึ่งมีการกระจายของจีโนไทป์แบบผสมคิดเป็นร้อยละ 36.76 ดังแสดงในตารางที่ 8 จะเห็นได้ว่าในปัจจุบันมีการกระจายตัวของจีโนไทป์แบบผสมลดลงเมื่อเทียบกับการกระจายของจีโนไทป์ในอดีต

**ตารางที่ 4. แสดงความไวจำเพาะของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ PfMSP1 ของ block 2 โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่แตกต่างกัน**

Forward primer	Reverse primer	Allelic type	Size of PCR product (bp)	Sensitivity*
FMAD20F	FMSP1B2R	MAD20	316	5 copies
FK1F	FMSP1B2R	K1	320	5 copies
FRO33F	FMSP1B2R	RO33	308	5 copies

\*คือจำนวน copy number ที่น้อยที่สุดในต้นแบบของ PCR ที่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ในแต่ละคู่ของไพรเมอร์

**ตารางที่ 5 แสดงการกระจายจีโนไทป์ของ PfMSP1 ของ block 2 จากตัวอย่างผู้ป่วยจังหวัดจันทบุรี**

Genotype	Major Type	Size (bp)	Isolate	Frequency
1	MAD20	290	RCTRB25, DCTRB34, RCTRC14, DCTRA66, DCTRA73, RCTEB18, RCTRB23, DCT114, DCT222	9
		300	RCT338	1
2	MAD20	320	DCT148, DCT149, DCT150, DCT18, DCT181, RCT353, RCT311, RCT446, RCT448	9
3	MAD20	330	RCT453, DCT229	2
4	MAD20	360	DCRRA75, RCTRB17, RCTRB28, DCTRC44, CTR326	5
5	K1	300	DCT154, RCT315, RCT327	3
6	K1	310	CT312, RCT344, RCT236, RCT415, RCT447	5
7	K1	320	RCT311, RCT339, RCT341, RCT449, RCT476, RCT453, DCT320, DCTRA49, DCTRC41, CTR30	10
			DCT346, DCT350, RCT450, DCT223	4
8	K1	330	DCT346, DCT350, RCT450, DCT223	4
			RCT327, RCT449, RCT453, RCTRA32, DCTRA64, RCTRB28, CTR520	7
9	RO33	310	RCT327, RCT449, RCT453, RCTRA32, DCTRA64, RCTRB28, CTR520	7
Total				55

\*ตัวอย่างที่ขีดเส้นใต้คือตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสม

**ตารางที่ 6** แสดงการกระจายจีโนไทป์ของ PfMSP1 ของ block 2 จากตัวอย่างผู้ป่วยจังหวัดยะลา

Genotype	Major Type	Size (bp)	Isolate	Frequency
1	MAD20	300	RYL1818, <u>RYL1830</u> , RYL1831, RYL1569	4
2	MAD20	320	RYL1816, RYL1819, RYL1820, RYL1821, RYL1958, DYL1459	6
3	K1	350	RYL1957	1
4	RO33	310	DYL1367, RYL1819, RYL1813, RYL1817, DYL1344, DYK1345, DYL1350, RYL1806, RYL1824, <u>RYL1830</u> , <u>RYL1831</u> , RYL1834, RYL1839, RYL1842, RYL1843, RYL1847, RYL1848, RYL1849, RYL1856, RYL1371, RYL1372, RYL1375, RYL1370, RYL1380, RYL1381, RYL1383, RYL1853, RYL1854, RYL1855, RYL1857, RYL1860, RYL1866, RYL1869, RYL1870, RYL1871, RYL1873, RYL1874, RYL1875, RYL1876, DYL1444, DYL1445, DYL1446, DYL1447, DYL1448, DYL1451, DYL1452, DYL1456, RYL1481, RYL1482, RYL1483, RYL1485, RYL1486, RYL1487, RYL1488, RYL1489, RYL1490, DYL1491, DYL1494, DYL1495, DYL1497, DYL1498, DYL1499, DYL1500, RYL1570, RYL1574, RYL1575, RYL1577, RYL1578, RYL1580, RYL1594, RYL1625, RYL1632, RYL1633, RYL1637, RYL1641, RYL1661, RYL1789, RYL1790, RYL1791, RYL1792, RYL1799, RYL1800, RYL1885, RYL1886, RYL1889, RYL1890, RYL1891, RYL1893, RYL1896, RYL1897, RYL1898, RYL1899, RYL1900, RYL1903, RYL1904, RYL1909, RYL1912, RYL1948, RYL1951, RYL1952, RYL1955, <u>RYL1957</u> , RYL1960, DYL1385, DYL1386, DYL1387, DYL1388, DYL1389, DYL1390, DYL1442 RYL1382	111
			Total	122

\*ตัวอย่างที่ขีดเส้นใต้คือตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสม

ตารางที่ 7 แสดงการกระจายจีโนไทป์ของ PfMSP1 ของ block 2 จากตัวอย่างผู้ป่วยจังหวัดตาก ในปัจจุบัน

Genotype	Major Type	Size (bp)	Isolate	Frequency
1	MAD20	290	RTSY2678	1
2	MAD20	300	<u>RTSY3174</u> , <u>RTSY3175</u> , RTSY3179, DTSY2772, <u>DTSY2773</u> , <u>DTSY2787</u> , DTSY2816, DTSY2819, DTSY2826, DTSY2827, DTSY2844, RTSY2635, RTSY2647, RTSY2660, RTSY2676, DTSY2841	16
3	MAD20	310	DTSY2970, RTSY3134, RTSY3158, RTSY3172, DTSY2807, DTSY2828, RTSY2636, RTSY2639, RTSY2640, RTSY2641, RTSY2643, <u>RTSY2646</u> , RTSY2651	13
4	MAD20	320	DTSY2947, DTSY2958, DTSY2961, <u>DTSY2964</u> , DTSY2965, DTSY2973, DTSY2974, DTSY2984, RTSY3130, RTSY3135, RTSY3136, <u>RTSY3139</u> , RTSY3142, RTSY3144, RTSY3148, RTSY3155, RTSY3161, RTSY3163, RTSY3166, <u>RTSY3167</u> , <u>DTSY2794</u> , DTSY2797, DTSY2805, DTSY2830, RTSY2655, RTSY2663, RTSY2664	27
5	MAD20	330	DTSY2976, DTSY2977, RTSY2638, RTSY2648, RTSY2661, RTSY2680, RTSY2688, RTSY2656	8
6	MAD20	340	RTSY3129, RTSY2632	2
7	MAD20	350	DTSY2938, DTSY2940, DTSY2943, DTSY2971, DTSY2985	5
8	K1	300	RTSY3164, RTSY3167, RTSY2634, RTSY2666	4
9	K1	310	RTSY3168, DTSY2829, RTSY2678, RTSY2681	4
10	K1	320	DTSY2978, RTSY3175, DTSY2808	3
11	K1	330	RTSY2679, RTSY2682, RTSY2687, RTSY2689, DTSY2968, DTSY2803, DTSY2845, RTSY2672, DTSY2786, DTSY2787, DTSY2773, DTSY2794	12
12	R033	310	DTSY2941, DTSY2957, DTSY2964, <u>DTSY2968</u> , <u>RTSY3139</u> , RTSY3171, <u>RTSY3174</u> , DTSY2777, DTSY2785, <u>DTSY2786</u> , DTSY2825, DTSY2833, DTSY2836, DTSY2840, DTSY2843, DTSY2846, <u>RTSY2646</u> , RTSY2650, RTSY2652, RTSY2653, RTSY2657, RTSY2658, RTSY2665, RTSY2671, <u>RTSY2678</u> , RTSY2686	26
			Total	121

\*ตัวอย่างที่ขีดเส้นใต้คือตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสม

**ตารางที่ 8** แสดงการกระจายจีโนไทป์ของ PfMSP1 ของ block 2 จากตัวอย่างผู้ป่วยในจังหวัดตากในปี พ.ศ.2540

Genotype	Major Type	Size (bp)	Isolate	Frequency
1	MAD20	290	A85, DF24, DF30, DF6	4
2	MAD20	320	DF15, DF16, DF17, DF19, DF23, DF29, DF31, DF32, DF34	9
3	MAD20	330	A47, A49, A67, A69, A70, A73, A80, A96, A97, A100, A122, A132, B18, B25, B27, B46, B47, DF1, DF2, DF3, DF4, DF8, DF10, DF11	24
4	MAD20	340	DF7, DF12, DF35, DF36, DV18	5
5	MAD20	350	DV8, DV11, B28	3
6	K1	350	DF16, DF24, DF34	3
7	K1	360	A31, A46, A106, A122, A125, A132, A154, B9, DF19, DV11	10
8	K1	370	B13, B18, B28, DF6, DF7, DF14	6
9	RO33	310	A46, A47, A67, A73, A85, A106, A122, A132, A150, A154, B18, DF2, DF3, DF4, DF5, DF6, DF9, DF13, DF14, DF17, DF19, DF20, DF22, DF24, DF26, DF27, DF28, DF30, DF31, DF32, DF33, DF37, DV6, DV11, DV31, DV37, DV40	37
Total				101

\*ตัวอย่างที่ขีดเส้นใต้คือตัวอย่างที่มีจีโนไทป์แบบผสม

### การกระจายของจีโนไทป์ในแต่ละภาคของประเทศไทย

จากการศึกษาการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีในแต่ละภาคของประเทศไทยโดยวิธีการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR และใช้ไพรเมอร์ที่มีความเหมาะสมต่อการแยกจีโนไทป์จากตัวอย่างในธรรมชาติ ในตัวอย่างผู้ป่วยจากจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตากในปี พ.ศ.2552 และจังหวัดตากในปี พ.ศ.2540 จำนวน 50, 124, 109 และ 68 ตัวอย่างตามลำดับ พบว่าการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ K1 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ RO33 (ขนาด 310 bp) มีจำนวน 26, 22 และ 8 ตัวอย่าง ตามลำดับจังหวัดยะลาพบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ K1 จีโนไทป์ที่มี



กลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ RO33 (ขนาด 310 bp) มีจำนวน 9, 1 และ 116 ตัวอย่าง ตามลำดับ จังหวัดตากพบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ K1 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ RO33 (ขนาด 310 bp) มีจำนวน 72, 23 และ 27 ตัวอย่าง ตามลำดับ และการกระจายของจีโนไทป์อำเภอพบพระ จังหวัดตากในปีพ.ศ.2540 พบว่าการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ K1 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมแบบ RO33 (ขนาด 310 bp) มีจำนวน 44, 19 และ 38 ตัวอย่าง ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9

การศึกษาการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวในแต่ละภาคของประเทศไทยนั้น ทำการศึกษาโดยวิธีการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR และใช้ไพรเมอร์ที่มีความเหมาะสมต่อการแยกจีโนไทป์จากตัวอย่างในธรรมชาติ ในตัวอย่างผู้ป่วยจากจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตากในปี พ.ศ.2552 และ ในปี พ.ศ.2540 จำนวน 50, 124, 109 และ 68 ตัวอย่างตามลำดับ พบว่าการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวทั้งหมดในจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตาก และอำเภอพบพระ จังหวัดตากในปี พ.ศ.2540 มีจำนวน 45, 121, 97 และ 42 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยจังหวัดจันทบุรีมีการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยว K1 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) มีจำนวน 23, 18 และ 4 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 51.11, 40 และ 8 ตามลำดับ จังหวัดยะลามีการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 และ จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) มีจำนวน 8 และ 113 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.61 และ 93.39 ตามลำดับ ซึ่งในจังหวัดยะลาไม่พบการกระจายของ จีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 สำหรับจังหวัดตากในปี พ.ศ.2552 มีการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) มีจำนวน 62, 15 และ 20 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 63.92, 15.46 และ 20.26 ตามลำดับ ส่วนในอำเภอพบพระ จังหวัดตากในปี พ.ศ. 2540 พบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) มีจำนวน 23, 4 และ 15 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54.76, 9.52 และ 35.71 ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 9

จะเห็นได้ว่าการกระจายของจีโนไทป์แบบเดี่ยวในแต่ละภาคมีความแตกต่างกัน โดยการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยว MAD20 พบมากที่สุดในจังหวัดตาก รองลงมาคือจังหวัดอำเภอพบพระ จังหวัดตากในปี พ.ศ.2540 จันทบุรีและยะลา ตามลำดับ การกระจายของ

จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยว K1 พบมากที่สุดในจังหวัดจันทบุรี ตาก และอำเภอพบพระ จังหวัดตากในปี พ.ศ.2540ตามลำดับ ซึ่งในจังหวัดยะลาไม่พบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยว K1 และการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยว RO33 พบมากที่สุดในจังหวัดยะลา รองลงมาคืออำเภอพบพระ จังหวัดตากในปี พ.ศ.2540 จังหวัดตากและจังหวัดจันทบุรีตามลำดับ

การศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในแต่ละภาคของประเทศไทยนั้น ทำการศึกษาโดยวิธีการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR และใช้ไพรเมอร์ที่มีความเหมาะสมต่อการแยกจีโนไทป์จากตัวอย่างในธรรมชาติ ในตัวอย่างผู้ป่วยจากจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตาก ในปัจจุบันและในปี พ.ศ.2540 จำนวน 50, 124, 109 และ 68 ตัวอย่างตามลำดับ พบว่าการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมทั้งหมดในจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตาก และอำเภอพบพระ จังหวัดตากในปี พ.ศ.2540 มีจำนวน 5, 3, 12 และ 26 ตัวอย่าง ตามลำดับดังนี้ การกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 (ขนาด 320 bp) และกลุ่มอัลลีล K1 (ขนาด 316 bp) ในจังหวัดจันทบุรี ตากในปัจจุบันและในปี พ.ศ.2540 จำนวน 1, 5 และ 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20, 41.67 และ 11.54 ตามลำดับ โดยในจังหวัดยะลาไม่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 (ขนาด320 bp) และกลุ่มอัลลีล K1 (ขนาด 316 bp) การกระจายจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 (ขนาด 320bp) และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) ในจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตากในปัจจุบันและในปี พ.ศ.2540 จำนวน 1, 2, 4 และ 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20, 66.67, 33.33 และ 42.31 ตามลำดับ การกระจายจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล K1 (ขนาด 316 bp) และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) ในจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตากในปัจจุบันและในปี พ.ศ.2540 จำนวน 2, 1, 2 และ 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 40, 33.33, 16.67 และ 15.38 ตามลำดับ ส่วนการกระจายจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมสามชนิดระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 (ขนาด 320bp) กลุ่มอัลลีล K1 (ขนาด 316 bp) และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) ในจังหวัดจันทบุรี ตากในปัจจุบันและในปี พ.ศ.2540 จำนวน 1, 1, และ 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20, 8.33 และ 30.77 ตามลำดับ ซึ่งโดยในจังหวัดยะลาไม่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมสามชนิดระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 (ขนาด 320bp) กลุ่มอัลลีล K1 (ขนาด 316 bp) ) และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) แสดงในตารางที่ 10

จะเห็นได้ว่าการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 (ขนาด320 bp) และกลุ่มอัลลีล K1 (ขนาด 316 bp) พบมากที่สุดในจังหวัดตาก รองลงมา คือ จังหวัดจันทบุรี อำเภอพบพระ จังหวัดตาก ในปี พ.ศ.2540 พบมากเป็นอันดับสาม ส่วนจังหวัด ยะลานั้นไม่พบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 (ขนาด 320

bp) และกลุ่มอัลลีล K1 (ขนาด 316 bp) สำหรับการกระจายของจีโนไทป์ที่มีการผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 (ขนาด 320bp) และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) นั้นพบมากที่สุดในจังหวัดยะลา รองลงมาคืออำเภอพบพระ จังหวัดตาก ในปี พ.ศ.2540 จังหวัดตาก จังหวัดจันทบุรี ตามลำดับ และการกระจายจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล K1 (ขนาด 316 bp) และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) พบมากที่สุดในจังหวัดจันทบุรี รองลงมา คือ จังหวัดยะลา จังหวัดตากและอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ในปี พ.ศ.2540 ตามลำดับ ส่วนส่วนการกระจายจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมสามชนิดระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 กลุ่มอัลลีล K1 และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) พบมากที่สุดในอำเภอพบพระ จังหวัดตาก ในปี พ.ศ.2540 รองลงมา คือ จังหวัดจันทบุรี และตาก ตามลำดับ โดยในจังหวัดยะลาไม่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมสามชนิดระหว่างกลุ่มอัลลีล MAD20 กลุ่มอัลลีล K1 และกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) แสดงในตารางที่ 11

**ตารางที่ 9** แสดงการกระจายของจีโนไทป์แบบกลุ่มอัลลีลผสมยีน PfMsp-1 จากผู้ป่วยที่ได้จากจังหวัดตาก จันทบุรี และยะลา

จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จีโนไทป์แบบผสม (ร้อยละ)				
		All Mixed (n)	MAD20+K1	MAD20+RO33	K1+RO33	MAD20+K1+RO33
จันทบุรี	50	5	1(20)	1(20)	2(40)	1(20)
ยะลา	124	3	0(0)	2(66.67)	1(33.33)	0(0)
ตาก	109	12	5(41.67)	4(33.33)	2(16.67)	1(8.33)
ตาก (พ.ศ.2540)	68	26	3(11.54)	11(42.31)	4(15.38)	8(30.77)

\*นอกวงเล็บแสดงจำนวนตัวอย่างและในวงเล็บแสดงจำนวนเป็นร้อยละ

**ตารางที่ 10** แสดงผลการกระจายของจีโนไทป์แบบกลุ่มอัลลีลเดี่ยวของยีน PfMsp-1 จากผู้ป่วยที่ได้จากจังหวัดตาก จันทบุรี และยะลา

จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จีโนไทป์เดี่ยว (ร้อยละ)			
		All Single (n)	MAD20	K1	RO33
จันทบุรี	50	45	23(51.11)	18(40)	4(8)
ยะลา	124	121	8(6.61)	0(0)	113(93.39)
ตาก	109	97	62(63.92)	15(15.46)	20(20.26)
ตาก (พ.ศ. 2540)	68	42	23(54.76)	4(9.52)	15(35.71)

\*นอกวงเล็บแสดงจำนวนตัวอย่างและในวงเล็บแสดงจำนวนเป็นร้อยละ

**ตารางที่ 11** แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมของยีน PfMsp-1 จากผู้ป่วยที่ได้จากจังหวัดตาก จันทบุรี และยะลา

จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จีโนไทป์เดี่ยวและผสม (ตัวอย่าง)		
		MAD20	K1	RO33
จันทบุรี	50	26	22	8
ยะลา	124	9	1	116
ตาก	109	72	23	27
ตาก(พ.ศ.2540)	68	44	19	38

\*ในวงเล็บแสดงจำนวนตัวอย่าง

## การกระจายของจีโนไทป์ในมิติเวลาที่แตกต่างกันในแต่ละภาคของประเทศไทย การกระจายของจีโนไทป์ในฤดูแล้งในแต่ละภาคของประเทศไทย

การศึกษาการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีในฤดูกาลที่แตกต่างกันแต่ละภาคซึ่งแบ่งออกเป็นฤดูแล้งและฤดูฝน โดยวิธีการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR และใช้ไพรเมอร์ที่มีความเหมาะสมต่อการแยกจีโนไทป์จากตัวอย่างในธรรมชาติจากตัวอย่างผู้ป่วยจากจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตากในฤดูแล้งตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึงเมษายน จำนวน 21, 41 และ 43 ตัวอย่าง พบการกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในแต่ละภาค ในช่วงฤดูแล้งมีความแตกต่างกัน โดยการกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม MAD20 ในจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตากจำนวน 13, 1 และ 31 ตัวอย่าง ตามลำดับ การกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและ จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม K1 ในจังหวัดจันทบุรีและตาก จำนวน 7 และ 10 ตัวอย่าง โดยในจังหวัดยะลาไม่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 และการกระจายตัวของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม RO33 (ขนาด 310 bp) ในจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก จำนวน 1, 40 และ 13 ตัวอย่าง ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 12.1

การศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวในฤดูแล้งในแต่ละภาค ทำการศึกษาจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก จำนวน 21, 41 และ 43 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่าการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวทั้งหมดในฤดูแล้งในจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก จำนวน 21, 41 และ 37 ตัวอย่างตามลำดับ โดยการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 ในจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก คิดเป็นร้อยละ 61.9, 2.44 และ 62.79 ตามลำดับ การกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 ในจังหวัดจันทบุรีและตาก คิดเป็นร้อยละ 33.33 และ 11.63 ซึ่งจังหวัดยะลาไม่พบการกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยว K1 การกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) ในจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก คิดเป็นร้อยละ 4.76, 97.56 และ 23.26 ตามลำดับ แสดงในตารางที่ 12.2

จะเห็นได้ว่าการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวในฤดูแล้งในแต่ละภาคนั้นมีความแตกต่างกัน โดยการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 พบมากที่สุดที่จังหวัดตาก รองลงมา คือ จังหวัดจันทบุรี และยะลา ตามลำดับ และการกระจายตัวของ จีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 พบมากที่สุดที่จังหวัดจันทบุรี รองลงมา คือ จังหวัดตาก ส่วนในจังหวัดยะลานั้นไม่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 ส่วนการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) พบมากที่สุดที่จังหวัดยะลา รองลงมา คือ จังหวัดตากและจันทบุรี ตามลำดับ

การศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมในฤดูแล้งในแต่ละภาค ทำการศึกษาจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก จำนวน 21, 41 และ 43 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่าการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมทั้งหมดในฤดูแล้งในจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก จำนวน 0, 0 และ 6 ตัวอย่าง โดยการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในจังหวัดจันทบุรีและยาลานั้น ไม่พบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) ตลอดจนจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมสามชนิดระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล MAD20 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) ส่วนในจังหวัดตากนั้น พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 คิดเป็นร้อยละ 50 การกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล MAD20 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) คิดเป็นร้อยละ 16.67 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างกลุ่มอัลลีล K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) คิดเป็นร้อยละ 33.33 และไม่พบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมสามชนิดระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล MAD20 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) แสดงในตารางที่ 12.3

จะเห็นได้ว่าการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในช่วงฤดูแล้งนั้น ไม่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ดังกล่าวเลยในจังหวัดจันทบุรีและยะลา แต่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมในจังหวัดตากเท่านั้น

### การกระจายของจีโนไทป์ในฤดูฝนในแต่ละภาคของประเทศไทย

การศึกษาการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีในฤดูกลางที่แตกต่างกันแต่ละภาค โดยวิธีการเพิ่มผลผลิตดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR และใช้ไพรเมอร์ที่มีความเหมาะสมต่อการแยกจีโนไทป์จากตัวอย่างในธรรมชาติจากตัวอย่างผู้ป่วยจากจังหวัดจันทบุรี ยะลา ตากในฤดูแล้งตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม เป็นช่วงที่ครอบคลุมระหว่างฤดูฝนซึ่งมีการระบาดของโรคมาลาเรียสูง จำนวน 26, 83 และ 63 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลทั้งแบบเดี่ยวและกลุ่มอัลลีลแบบผสมในจังหวัดจันทบุรี พบโดยการกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม MAD20 จำนวน 12 ตัวอย่าง การกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม K1 จำนวน 14 ตัวอย่าง และการกระจายตัวจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม RO33

(ขนาด 310 bp) จำนวน 6 ตัวอย่าง ในจังหวัดยะลาพบการกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม MAD20 จำนวน 9 ตัวอย่าง การกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม K1 จำนวน 1 ตัวอย่างและการกระจายตัวจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม RO33 (ขนาด 310 bp) จำนวน 76 ตัวอย่าง สำหรับจังหวัดตากพบการกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม MAD20 จำนวน 41 ตัวอย่าง การกระจายของจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม K1 จำนวน 11 ตัวอย่าง และการกระจายตัวจีโนไทป์ทั้งกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสม RO33 (ขนาด 310 bp) จำนวน 14 ตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 12.4

การศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวในฤดูฝนในแต่ละภาค ทำการศึกษาจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก จำนวน 26, 83 และ 63 ตัวอย่าง โดยการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวทั้งหมดในฤดูฝนในจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก จำนวน 21, 80 และ 55 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 ในจังหวัดจันทบุรี คิดเป็นร้อยละ 42.86 การกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 คิดเป็นร้อยละ 47.62 การกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) คิดเป็นร้อยละ 9.52 จังหวัดยะลาพบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 คิดเป็นร้อยละ 8.75 การกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) คิดเป็นร้อยละ 91.25 และไม่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 จังหวัดตาก พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 (ขนาด 320 bp) คิดเป็นร้อยละ 63.64 การกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 คิดเป็นร้อยละ 18.18 และการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) คิดเป็นร้อยละ 18.18 แสดงในตารางที่ 12.5

จะเห็นได้ว่าการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลเดี่ยวทั้งหมดในฤดูฝน เมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว MAD20 พบมากที่สุดในจังหวัดตาก รองลงมา คือ จันทบุรีและยะลา ตามลำดับ และการเมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 พบมากที่สุดในจังหวัดจันทบุรี รองลงมาคือจังหวัดตาก และไม่พบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว K1 ในจังหวัดยะลา สำหรับการเมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มแบบเดี่ยว RO33 (ขนาด 310 bp) พบมากที่สุดในจังหวัดยะลา รองลงมา คือ จังหวัดตากและจันทบุรี ตามลำดับ

การศึกษาการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมในฤดูฝนในแต่ละภาค ทำการศึกษาจังหวัดจันทบุรี ยะลา และตาก จำนวน 26, 83 และ 63 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่าการกระจายของ





จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) พบมากที่สุดในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี รองลงมาคือยะลา และจังหวัดตาก ไม่พบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) สำหรับการเปรียบเทียบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมสามชนิดระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล MAD20 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp) พบมากที่สุดในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี รองลงมาคือจังหวัดตาก และจังหวัดยะลานั้น ไม่พบการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลผสมสามชนิดระหว่างจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล MAD20 จีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล K1 และจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีล RO33 (ขนาด 310 bp)

## ตารางที่ 12. แสดงการกระจายตัวของจีโนไทป์แบบเดี่ยวและจีโนไทป์แบบผสมในมิติเวลาที่แตกต่างกันในแต่ละภาคของประเทศไทย

ตารางที่ 12.1 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในฤดูแล้ง

จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	การกระจายของจีโนไทป์ในฤดูแล้ง		
		จีโนไทป์แบบเดี่ยวและผสม (ตัวอย่าง)		
		MAD20	K1	RO33
จันทบุรี	21	13	7	1
ยะลา	41	1	0	40
ตาก	43	31	10	13

ตารางที่ 12.2 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวในฤดูแล้ง

จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	การกระจายของจีโนไทป์ในฤดูแล้ง			
		จีโนไทป์เดี่ยว (ร้อยละ)			
		All Single (n)	MAD20	K1	RO33
จันทบุรี	21	21	61.9	33.33	4.76
ยะลา	41	41	2.44	0	97.56
ตาก	43	37	62.79	11.63	23.26

ตารางที่ 12.3 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในฤดูแล้ง

		การกระจายของจีโนไทป์ในฤดูแล้ง				
จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จีโนไทป์แบบผสม (ร้อยละ)				
		All Mixed (n)	MAD20+K1	MAD20+RO33	K1+RO33	MAD20+K1+RO33
จันทบุรี	21	0	0	0	0	0
ยะลา	41	0	0	0	0	0
ตาก	43	6	50	16.67	33.33	0

ตารางที่ 12.4 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวและจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในฤดูฝน

		การกระจายของจีโนไทป์ในฤดูฝน		
จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จีโนไทป์แบบเดี่ยวและผสม (ตัวอย่าง)		
		MAD20	K1	RO33
จันทบุรี	26	12	14	6
ยะลา	83	9	1	76
ตาก	63	41	11	14

ตารางที่ 12.5 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบเดี่ยวในฤดูฝน

		การกระจายของจีโนไทป์ในฤดูฝน			
จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จีโนไทป์เดี่ยว (ร้อยละ)			
		All Single (n)	MAD20	K1	RO33
จันทบุรี	26	21	42.86	47.62	9.52
ยะลา	83	80	8.75	0	91.25
ตาก	63	55	63.64	18.18	18.18

ตารางที่ 12.6 แสดงการกระจายของจีโนไทป์ที่มีกลุ่มอัลลีลแบบผสมในฤดูฝน

		การกระจายของจีโนไทป์ในฤดูฝน				
จังหวัด	จำนวนตัวอย่างทั้งหมด	จีโนไทป์แบบผสม (ร้อยละ)				
		All Mixed (n)	MAD20+K1	MAD20+RO33	K1+RO33	MAD20+K1+RO33
จันทบุรี	26	5	20	20	40	20
ยะลา	83	3	0	66.67	33.33	0
ตาก	63	6	33.33	50	0	16.67

#### การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ใน block 2 ของยีน PfMSP1

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ยีน PfMSP1 ใน block 2 พบกลุ่มอัลลีล 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม MAD กลุ่ม K1 และกลุ่ม RO330 จากการศึกษานี้จำนวน 90 ตัวอย่าง พบการกระจายของกลุ่มอัลลีล MAD20 มากที่สุด คือ ร้อยละ 48.89 กลุ่มที่พบการกระจายรองลงมาคือ RO33 ร้อยละ 36.67 ส่วนกลุ่ม K1 พบการกระจายตัวน้อยที่สุดคือ ร้อยละ 14.44

ตารางที่ 13. แสดงอุบัติการณ์การกระจายของกลุ่มอัลลีล MAD20, K1 และ RO33 ในบริเวณ tripeptide repeats ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างผู้ป่วยใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา จำนวน 60 ตัวอย่าง

แหล่งที่มาของเชื้อ	จำนวนตัวอย่าง			จำนวนตัวอย่างทั้งหมด
	MAD20	K1	RO33	
จ.ตาก	14	2	4	20
จ.จันทบุรี	10	6	4	20
จ.ยะลา	5	0	15	20
รวม	29	8	23	60

## ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล MAD20 จากตัวอย่างใน จ.ตาก

### ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างดังกล่าวเป็นกลุ่มอัลลีล MAD20 14 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นชนิดที่พบมากที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับตัวอย่าง reference stain X05624 จากฐานข้อมูลใน GenBank™ สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างตามความหลากหลายได้ 9 แบบ ซึ่งความหลากหลายที่ปรากฏขึ้นเกิดจากการที่มีจำนวนชุดและองค์ประกอบของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงซ้ำกันชุดละ 9 นิวคลีโอไทด์ โดยพบว่าอัลลีลที่มีองค์ประกอบของจำนวนชุดที่ซ้ำกันสั้นที่สุดประกอบด้วย 10 ชุด คือ อัลลีล M9 ส่วนอัลลีลที่มีความยาวมากที่สุดประกอบด้วยจำนวนชุดที่ซ้ำกัน 14 ชุด คือ อัลลีล M1 และ M2 สำหรับอัลลีล M3 ประกอบด้วยจำนวนชุดที่ซ้ำกัน 13 ชุด ส่วนอัลลีล M4 และ M5 ประกอบด้วยจำนวนชุดซ้ำกัน 12 ชุด และอัลลีล M6 และ M7 ประกอบด้วยจำนวนชุดซ้ำกัน 11 ชุด

### ตารางที่ 14. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก

Genotype	Type of tripeptide repeats															Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1		
M1	E	B	E	E	D	E	D	E	E	D	D	E	D	E	DT1, DT2	
M2	C	B	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E	DT9, RT12	
M3	C	D	E	E	D	E	D	E	D	D	E	D	E		DT12, RT14	
M4	E	E	D	E	E	E	D	D	E	D	D	E			DT4	
M5	C	E	D	E	E	E	D	D	E	D	D	E			RT3	
M6	C	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E				RT6	
M7	E	B	E	B	E	E	D	D	D	D	E				RT4, RT1, DT6, DT15	
M8	A	B	E	D	D	D	E	E	D	E					X05624	
M9	E	B	E	E	D	D	E	E	D	E					RT2	

### หมายเหตุ รหัสที่ใช้แทนองค์ประกอบของ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล MAD20

A=SSG      B=SVT      C=SKG      D=SVA  
E=SGG      F=SGA      G=SVG      K=LGG

### ความหลากหลายในลำดับนิวคลีโอไทด์

องค์ประกอบของ tripeptide repeats ในกลุ่ม MAD20 ที่มีความแตกต่างกันไปตั้งแต่ 10 ถึง 14 ชุด พบว่ากลุ่มอัลลีลที่มีจำนวน repeats ซ้ำกัน 14, 12, 11 และ 10 ชุด มีความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ 2 แบบ และกลุ่มอัลลีลที่มีจำนวน repeats ซ้ำกัน 13 ชุด พบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์เพียง 1 แบบ นอกจากนี้ยังพบว่าอัลลีล M7 มีความถี่สูงสุดในการศึกษานี้จำนวน 3 ตัวอย่าง

องค์ประกอบของลำดับกรดอะมิโนพื้นฐาน tripeptide repeats คือ Serine-x-x สำหรับองค์ประกอบของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในตำแหน่งแรกของกรดอะมิโนในแต่ละชุดประกอบด้วย TCA เสมอและในชุดสุดท้ายของแต่ละอัลลีลประกอบด้วย Serine-Glycine-Glycine หรือมีองค์ประกอบของลำดับนิวคลีโอไทด์ คือ TCAAGACGT เสมอ นอกจากนี้ยังพบว่าลำดับของกรดอะมิโนชุดก่อนหน้าชุดสุดท้ายมีลำดับกรดอะมิโนคือ Serine-Glycine-Asparagine ซึ่งมีองค์ประกอบของลำดับนิวคลีโอไทด์ คือ TCAGGTAAT

### ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats ใน MAD20 เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างที่ได้จากฤดูฝนและฤดูแล้งจากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats จากตัวอย่างในพื้นที่ อ.ท่าสองยาง จ. ตาก โดยทำการเปรียบเทียบตามฤดูกาลของการเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วยมาลาเรียซึ่งจำแนกเป็นตัวอย่างในฤดูฝน (RT) (เดือนพฤษภาคม ถึง ตุลาคม) และตัวอย่างในฤดูแล้ง (DT) (เดือนพฤศจิกายน ถึง เมษายน) พบว่าในฤดูฝนสามารถจำแนกความหลากหลายของอัลลีล MAD20 ได้เป็น 6 อัลลีล โดยมีจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำกัน 10, 11, 12, 13 และ 14 ชุด ส่วนในฤดูแล้งสามารถจำแนกได้เป็น 5 อัลลีล โดยมีจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำกัน 11, 12, 13 และ 14 ชุด นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างที่ได้จากทั้งฤดูฝนและฤดูแล้งมีลักษณะของลำดับนิวคลีโอไทด์ร่วมกัน คือ อัลลีล M2, M3 และ M4 ตามตารางที่ 14

### ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล K1 จากตัวอย่างในจ.ตาก

#### ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก จำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างดังกล่าวเป็นกลุ่มอัลลีล K1 เพียง 2 ตัวอย่าง ได้แก่ตัวอย่าง RT13 และ DT14 เมื่อทำการเทียบกับตัวอย่าง reference stain X03371 จากฐานข้อมูลใน GenBank™ สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่าง

ตามความหลากหลายได้ 3 แบบ ซึ่งความหลากหลายที่ปรากฏขึ้นเกิดจากการที่มีจำนวนชุดและองค์ประกอบของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงซ้ำกันชุดละ 9 นิวคลีโอไทด์ โดยอัลลีลที่ 1 มีองค์ประกอบของจำนวนชุดที่ซ้ำกันยาวที่สุดประกอบด้วย 10 ชุด คือ ตัวอย่าง RT13 รองลงมาคือ อัลลีล 2 ประกอบด้วยจำนวนชุดที่ซ้ำกัน 8 ชุด ได้แก่ ตัวอย่าง DT14 ส่วนอัลลีลที่สั้นที่สุดประกอบด้วยจำนวนชุดที่ซ้ำกัน 7 ชุด ได้แก่ อัลลีล 3 คือ ตัวอย่าง X03371

**ตารางที่ 15. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน จ.ตาก**

Genotype	Type of tripeptide repeats										Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
K1	H	I	I	I	I	I	I	J	J	I	RT13
K2	H	I	I	I	I	J	I	I			DT14
K3	H	I	I	I	J	J	I				X03371

**หมายเหตุ รหัสที่ใช้แทนองค์ประกอบของ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1**

H=SAQ                      I=SGT                      J=SGP

**ความหลากหลายในลำดับนิวคลีโอไทด์**

องค์ประกอบของ tripeptide repeats ในกลุ่ม K1 มีความแตกต่างกันไปตั้งแต่ 7 ถึง 10 ชุด พบว่าในแต่ละกลุ่มอัลลีลมีความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์เพียงอัลลีลละ 1 แบบ องค์ประกอบของลำดับกรดอะมิโนพื้นฐาน tripeptide repeats ในชุดแรกประกอบด้วย Serine-Alanine-Glutamine และชุดสุดท้ายประกอบด้วย Serine-Glycine-Threonine ในทั้ง 3 อัลลีล

**ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats ใน K1 เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างที่ได้จากฤดูฝนและฤดูแล้งจากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก**

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats จากตัวอย่างในพื้นที่ อ.ท่าสองยาง จ.ตาก ทำการเปรียบเทียบตามฤดูกาลของการเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วย มาลาเรีย พบว่าในตัวอย่างดังกล่าวให้ผลบวกใน block 2 เป็น K1 น้อยมาก ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ได้ในฤดูฝน 1 ตัวอย่าง และฤดูแล้ง 1 ตัวอย่าง ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบกับ reference stain X03371 จากฐานข้อมูลใน GenBank™ สามารถจำแนกความหลากหลายของ K1 ได้เป็น 3 อัลลีล

## ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างใน

### จ.ตาก

อัลลีล RO33 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 99 ตัว และไม่ปรากฏลักษณะการซ้ำกันเป็นชุดๆ จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก จำนวน 30 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างดังกล่าวเป็นกลุ่มอัลลีล RO33 เพียง 4 ตัวอย่าง เมื่อทำการเทียบกับตัวอย่าง reference strain AB276005 จากฐานข้อมูลใน GenBank™ สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างได้เพียง 2 แบบ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับ AB276005 พบความแตกต่างแค่เพียง 1 นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่งที่ 47 โดยมีการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์จาก GAT ไปเป็น GGT คือ เปลี่ยนจากกรดอะมิโน Asparagine เป็น Glycine อย่างไรก็ตามไม่พบความหลากหลายในกลุ่มตัวอย่างใน จ.ตาก

### ภาพที่ 8 แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่าง อ.ท่าสองยาง จ.ตาก

```

RT9          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSDSDAK
RT10         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSDSDAK
DT5          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSDSDAK
DT3          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSDSDAK
AB276005     VLKDGANTQVVAKPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSDSDAK
*****
RT9          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
RT10         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
DT5          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
DT3          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
AB276005     SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
*****

```

### ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats ใน RO33 เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างที่ได้จากฤดูฝนและฤดูแล้งจากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats จากตัวอย่างในพื้นที่ อ.ท่าสองยาง จ.ตาก พบว่าตัวอย่างดังกล่าวให้ผลบวกใน block 2 เป็น RO33 เป็นตัวอย่างที่ได้ในฤดูฝนเพียง 2 ตัวอย่าง และฤดูแล้ง 2 ตัวอย่าง โดยทั้ง 4 ตัวอย่างนี้ ไม่มีการแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์

### ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล MAD20 จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี

#### ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างที่พบมากที่สุดเป็นกลุ่มอัลลีล MAD20 จำนวน 10 ตัวอย่าง เมื่อทำการเทียบกับตัวอย่าง reference stain X05624 จากฐานข้อมูลใน GenBank™ สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างตามความหลากหลายได้ 7 แบบ ซึ่งความหลากหลายที่ปรากฏขึ้นเกิดจากการที่มีจำนวนชุดและองค์ประกอบของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงซ้ำกันชุดละ 9 นิวคลีโอไทด์ โดยอัลลีลที่มีองค์ประกอบของจำนวนชุดซ้ำมากที่สุด คือ อัลลีล M1 และ M 2 และอัลลีลที่มีองค์ประกอบของจำนวนชุดที่ซ้ำกันสั้นที่สุด ประกอบด้วย 7 ชุด คือ อัลลีล M7

### ตารางที่ 16. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี

Genotypes	Type of tripeptide repeats												Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
M1	C	D	E	E	D	E	D	E	D	E	D	E	DC6, RC14
M2	E	B	E	B	E	I	D	D	D	D	D	E	DC13
M3	E	B	E	B	E	E	D	D	E	D	E		DC11, RC2, RC7
M4	C	B	E	E	D	D	E	E	D	E			RC6
M5	A	B	E	D	D	D	E	E	D	E			X05624
M6	E	B	E	B	E	E	D	D	D	E			DC2
M7	C	D	A	D	E								RC13, DC4

#### หมายเหตุ รหัสที่ใช้แทนองค์ประกอบของ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล MAD20

A=SSG                      B=SVT                      C=SKG

D=SVA                      E=SGG                      I=SGT



**ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล K1 จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats**

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างดังกล่าวเป็นกลุ่มอัลลีล K1 แค่เพียง 6 ตัวอย่าง เมื่อทำการเทียบกับตัวอย่าง reference stain X03371 สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างตามความหลากหลายได้ 3 แบบ ซึ่งความหลากหลายที่ปรากฏขึ้นเกิดจากการที่มีจำนวนชุดและองค์ประกอบของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงซ้ำกันชุดละ 9 นิวคลีโอไทด์ โดยพบว่าอัลลีลที่ K1 มีองค์ประกอบของจำนวนชุดที่ซ้ำกันยาวที่สุดประกอบด้วย 12 ชุด คือ ตัวอย่าง RT10 รองลงมา คือ อัลลีล K2 ประกอบด้วยจำนวนชุดที่ซ้ำกัน 9 ชุด ได้แก่ ตัวอย่าง RC3 ส่วนอัลลีลที่สั้นที่สุดประกอบด้วยจำนวนชุดที่ซ้ำกัน 7 ชุด โดยเป็นอัลลีลที่มีความถี่สูงสุดในการศึกษานี้จำนวน 4 ตัวอย่าง

**ตารางที่ 17. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน *PfMSP1* จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี**

Genotypes	Type of tripeptide repeats												Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
K1	H	I	I	I	I	I	I	I	I	J	J	I	RC10
K2	H	I	I	I	I	I	J	J	I	-	-	-	RC3
K3	H	I	I	I	J	J	I	-	-	-	-	-	X03371, DC3, DC5, DC12, RC1

**หมายเหตุ รหัสที่ใช้แทนองค์ประกอบของ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1**

H=SAQ                      I=SGT                      J=SGP

**ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats ใน K1 เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างที่ได้จากฤดูฝนและฤดูแล้งจากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี**

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats จากตัวอย่างในพื้นที่ จ.จันทบุรี โดยทำการเปรียบเทียบตามฤดูกาลของการเก็บตัวอย่างเลือดผู้ป่วยมาลาเรีย ซึ่งจำแนกเป็นตัวอย่างเก็บในฤดูฝน (RC) และตัวอย่างในฤดูแล้ง (DC) พบว่าในฤดูฝนสามารถจำแนกความหลากหลายของอัลลีล K1 ได้เป็น 3 อัลลีล โดยมีจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำกัน 7

ถึง 12 ชุด ส่วนในฤดูแล้งพบความหลากหลายเพียง 1 อัลลีล ซึ่งเป็นอัลลีลเดียวกับที่พบในฤดูฝน โดยมีจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำกัน 7 ชุด ได้แก่ ตัวอย่าง DC3, DC5, DC12 และ RC1

### ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี

อัลลีล RO33 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 99 ตัว และไม่ปรากฏลักษณะการซ้ำกันเป็นชุดๆ จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่าง จ.จันทบุรี จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างดังกล่าวเป็นกลุ่มอัลลีล RO33 มีเพียง 4 ตัวอย่าง เมื่อทำการเทียบกับตัวอย่าง reference stain AB276005 จากฐานข้อมูลใน GenBank™ สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างได้เพียง 2 แบบ คือ มีความแตกต่างจาก AB276005 เพียง 1 ตำแหน่งในตำแหน่งที่ ในตำแหน่งที่ 47 โดยมีการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์จาก GAT ไปเป็น GGT คือ เปลี่ยนจากกรดอะมิโน Asparagine เป็น Glycine อย่างไรก็ตามไม่พบความหลากหลายในกลุ่มตัวอย่างใน จ.จันทบุรี

### ภาพที่ 9. แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของ กลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน *PfMSP1* จากตัวอย่าง จ.จันทบุรี

DC1	VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDSAK
DC8	VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDSAK
DC14	VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDSAK
DC15	VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDSAK
AB276005	VLKDGANTQVVAKPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDSAK ***** . *****
DC1	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DC8	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DC14	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DC15	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
AB276005	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH *****

### ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats ใน RO33 เมื่อเปรียบเทียบ ตัวอย่างที่ได้จากฤดูฝนและตัวอย่างจากฤดูแล้ง จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats จากตัวอย่างในพื้นที่ จ.จันทบุรี พบว่าตัวอย่างดังกล่าวให้ผลบวกใน block 2 เป็น RO33 น้อยมาก โดยเป็นตัวอย่างที่ได้ในฤดูแล้งทั้ง 4 ตัวอย่าง โดยทั้ง 4 ตัวอย่างนี้มีลำดับกรดนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนไม่แตกต่างกัน

### ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล MAD20 จากตัวอย่างใน จ.ยะลา ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่างใน จ.ยะลา จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างดังกล่าวเป็น กลุ่มอัลลีล MAD20 จำนวน 5 ตัวอย่าง เมื่อทำการเทียบกับตัวอย่าง reference stain X05624 สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างตามความหลากหลายได้ 2 แบบ ซึ่งความหลากหลายที่ปรากฏขึ้น เกิดจากการที่มีจำนวนชุดและองค์ประกอบของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เรียงซ้ำกันชุดละ 9 นิวคลีโอไทด์ โดยอัลลีลที่พบมีองค์ประกอบของจำนวนชุดที่ซ้ำกันประกอบด้วย 14 ชุด ได้แก่ ตัวอย่าง RY3, RY5, RY6, RY7 และ RY14 โดยทั้ง 5 ตัวอย่าง ไม่มีความหลากหลายของลำดับ นิวคลีโอไทด์

**ตารางที่ 18. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน จ.ยะลา**

Genotypes	Type of tripeptide repeats												Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
M1	C	D	E	E	D	E	D	E	D	E	D	E	RY3, RY5, RY7, RY14, RY6
M2	A	B	E	D	D	D	E	E	D	E			X05624

**หมายเหตุ รหัสที่ใช้แทนองค์ประกอบของ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล MAD20**

A=SSG      B=SVT      C=SKG      D=SVA      E=SGG

**ความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างใน จ.ยะลา**

อัลลีล RO33 ประกอบด้วยกรดอะมิโน 99 ตัว และไม่ปรากฏลักษณะการซ้ำกันเป็นชุดๆ จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่าง จ.ยะลา จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างดังกล่าวเป็นกลุ่มอัลลีล RO33 เพียง 15 ตัวอย่าง เมื่อทำการเทียบกับตัวอย่าง reference stain AB276005 จากฐานข้อมูลใน GenBank™ สามารถจำแนกกลุ่มตัวอย่างได้เพียง 2 แบบ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับ AB276005 พบความแตกต่างแค่เพียง 1 นิวคลีโอไทด์ในตำแหน่งที่ 47 โดยมีการเปลี่ยนแปลงของลำดับ นิวคลีโอไทด์จาก GAT ไปเป็น GGT คือ เปลี่ยนจากกรดอะมิโน Asparagine เป็น Glycine อย่างไรก็ตามไม่พบความหลากหลายในกลุ่มตัวอย่างใน จ.ยะลา เช่นเดียวกับตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก และ จ.จันทบุรี

**ภาพที่ 10. แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่าง จ.ยะลา**

```

RY8          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
RY9          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
RY4          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
RY2          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
RY1          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY10         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY7          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY8          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY9          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY4          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY5          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY6          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY3          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY1          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DY2          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
AB276005    VLKDGANTQVVAKPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
*****.*****

RY8          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
RY9          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
RY4          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
RY2          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
RY1          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY10         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY7          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY8          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY9          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY4          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY5          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY6          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY3          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY1          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DY2          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
AB276005    SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
*****

```

**ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats ใน RO33 เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างที่ได้จากฤดูฝนและฤดูแล้งจากตัวอย่างใน จ.ยะลา**

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats จากตัวอย่างในพื้นที่ จ.ยะลา พบว่าในตัวอย่างดังกล่าวให้ผลบวกใน block 2 เป็น RO33 ถึง 15 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างที่ได้ในฤดูแล้งทั้ง 10 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากฤดูฝน 5 ตัวอย่าง โดยทุกตัวอย่างมีลำดับกรดนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนเหมือนกัน

**การเปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล MAD20 จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา ความหลากหลายในลำดับนิวคลีโอไทด์**

องค์ประกอบของ tripeptide repeats ในกลุ่ม MAD20 จากตัวอย่างทั้งหมดใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา จำนวน 14 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษามาทั้งหมดจากฐานข้อมูลใน GenBank™ ทั้งหมด 104 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างจากประเทศชูดาน 1 ตัวอย่าง ประเทศโคลัมเบีย 1 ตัวอย่าง ประเทศปาปัวนิวกินี 1 ตัวอย่าง ประเทศอินเดีย 8 ตัวอย่าง ประเทศไทย 25 ตัวอย่างและประเทศแอฟริกา 68 ตัวอย่าง พบความหลากหลาย 65 อัลลีล โดยมีความแตกต่างกันตั้งแต่ 3 ถึง 19 ซุด พบว่าในกลุ่มอัลลีลจากตัวอย่างที่มีการศึกษาในครั้งนี้ มีจำนวน repeats ซ้ำกันมากที่สุด 14 ซุด คือ อัลลีล M13 และ M14 ได้แก่ ตัวอย่าง DT1, DT2 และ DT9, RT12 ตามลำดับ รองลงมา คือ 12 ซุด พบมากถึง 10 อัลลีล ซึ่งมีรูปแบบการ repeats ที่แตกต่างกัน รองลงมาคือกลุ่มอัลลีลที่มีจำนวน repeats ซ้ำกัน 11 ซุด พบจำนวน 5 อัลลีล โดยรูปแบบอัลลีลที่พบจากการศึกษาครั้งนี้เป็นอัลลีลใหม่ถึง 15 แบบ ได้แก่ อัลลีล M13, M14, M30, M31, M32, M33, M37, M38, M39, M40, M44, M45, M49, M53 และ M63 และยังไม่เคยมีรายงานจากประเทศไหนมาก่อน และพบว่ามี 2 อัลลีลที่มีรูปแบบเหมือนตัวอย่างที่ได้จาก จ.ตาก จากรายงานในปี 1992 ได้แก่อัลลีล M47 และ M54

ตารางที่ 19. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา

Genotypes	Type of tripeptide repeats																			Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
M1	C	E	D	E	E	D	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	E	D	E	EU032179
M2	C	D	E	E	D	E	D	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E	EU032194
M3	C	B	E	E	E	D	E	E	D	E	E	E	D	E	D	E	D	E		EU032216
M4	C	E	D	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E	D	E			EU032180, EU032181, EU032182, EU032183, EU032184, EU032185, EU032187, EU032186, EU032189
M5	C	D	E	D	E	D	E	E	E	D	E	D	E	D	E	D	E			EU032195
M6	C	B	E	E	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E	F			EU032217, EU032218, EU032219, EU032220, EU032221
M7	E	D	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E			EU032160
M8	C	D	E	D	E	E	E	D	E	D	E	D	E	D	E					EU032197
M9	C	B	E	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E					EU032223
M10	C	B	E	E	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E					EU032225
M11	C	B	E	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E					EU032222, EU032224
M12	C	D	E	D	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E					EU032200
M13	E	B	E	E	D	E	D	E	E	D	D	E	D	E						DT1, DT2
M14	C	B	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E						DT9, RT12
M15	C	E	D	D	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D						EU032188, EU032190, EU032191
M16	C	D	E	D	E	D	E	E	E	D	E	D	E	D						EU032199, EU032198, EU032199
M17	C	D	E	D	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E						EU032202, EU032203
M18	C	B	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E						EU032226, EU032227
M19	E	B	E	E	E	D	E	D	E	E	D	E	D	E						EU032172
M20	C	E	D	E	E	D	D	E	D	D	E	D	E							EU032192, EU032193
M21	C	D	E	D	E	D	E	E	E	D	E	D	E							EU032207, EU032208, EU032209
M22	C	D	E	D	E	E	E	D	E	D	E	D	E							EU032201
M23	E	B	E	E	D	E	D	E	E	D	E	D	E							EU032173
M24	C	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E	D	E							EU032204, EU032206
M25	E	D	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	E							EU032161
M26	C	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E	D	E							EU032205
M27	C	D	E	D	E	D	E	D	D	E	E	D	E							DQ485426
M28	E	B	E	E	E	D	E	D	E	E	D	E								EU032174
M29	C	D	E	E	D	E	D	E	D	E	D	E								DT12, DT13, RT14, DF12, M77725, M77718, , M77719, M77715, M77713

ตารางที่ 19. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา (ต่อ)

Genotypes	Type of tripeptide repeats												Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
M30	C	D	E	E	D	E	D	E	D	E	D	E	RY3, RY5, RY6, RY7, RY14, RC14 DC6
M31	C	E	D	E	E	E	D	D	E	D	D	E	RT3
M32	E	E	D	E	E	E	D	D	E	D	D	E	DT4, B25, DF1, DF11, DF35
M33	E	B	E	B	E	I	D	D	D	D	D	E	DC13
M34	E	B	E	E	D	E	E	D	K	E	D	E	AF034635
M35	E	B	E	B	E	B	D	D	D	D	D	E	M77714, M77716, M77723, M77724
M36	D	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E	DQ485425
M37	C	B	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	A80, A97
M38	C	D	E	E	D	M	E	E	D	E	D	E	DF23
M39	C	D	E	E	D	E	D	D	D	E	D	E	DF8
M40	C	F	F	E	E	E	D	D	E	D	F	E	DF15
M41	C	D	E	D	E	E	E	D	E	D	E	E	EU032212, EU032213, EU032214
M42	E	B	E	B	E	B	D	D	D	D	D	E	M77728
M43	C	B	E	B	E	B	D	D	D	D	D	E	M77720
M44	E	M	D	E	E	D	E	E	D	D	D	E	A100
M45	C	D	E	E	D	E	E	D	E	D	D	E	RT6, DF10
M46	C	D	E	E	D	E	E	D	E	D	D	E	EU032211
M47	E	B	E	B	E	E	D	D	D	D	D	E	DT6, DT11, DT10, DT8, DT7, RT1, RT4, RT5, RT7, RT11, RT15, RT18, DF36, DV18, B46, B47., A70, DC11, RC2, RC7, RC9, RC12, RC15, M77721
M48	E	E	D	E	D	E	E	D	E	D	D	E	DQ485429
M49	E	B	E	B	E	E	D	D	D	D	D	E	DC2
M50	E	B	E	B	E	B	D	D	D	D	D	E	DQ48542, DQ485430
M51	E	B	E	B	E	I	D	D	D	D	D	E	DQ485431, DQ485427
M52	A	B	E	D	D	D	E	E	D	D	D	E	X05624
M53	A	B	E	E	D	D	E	E	D	D	D	E	RC6
M54	A	B	E	E	D	D	E	E	D	D	D	E	RT2, M77722, M77726
M55	C	B	E	E	D	E	D	E	D	D	D	E	EU032210
M56	E	D	E	D	E	D	E	D	D	D	D	E	EU032164, EU032165
M57	E	D	E	E	D	E	E	D	D	D	D	E	EU032162, EU032163
M58	E	B	E	E	L	E	D	D	D	D	D	E	DQ485432
M59	E	B	E	B	G	E	D	D	D	D	D	E	DQ485428
M60	E	B	E	E	D	D	D	D	D	D	D	E	M77717
M61	E	D	E	D	E	D	D	D	D	D	D	E	EU032166, EU032167, EU032168, EU032169, EU032170, EU032171
M62	A	B	E	E	D	D	E	D	D	D	D	E	FJ999664

ตารางที่ 20. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา (ต่อ)

Genotypes	Type of tripeptide repeats												Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
M63	C	D	A	D	E								RC13
M64	C	D	A	D	E								EU032215
M65	C	E											EU032175, EU032176, EU032177, EU032178

การเปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล K1 จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา

ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในกลุ่ม K1 จากตัวอย่างทั้งหมดที่ทำการศึกษาร่วมกับอัลลีลที่มีรายงานมาก่อนหน้านี้จำนวน 7 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างจากประเทศอินเดีย 6 ตัวอย่าง ประเทศไทย 7 ตัวอย่างและประเทศบราซิล อย่างละ 1 ตัวอย่าง พบความหลากหลาย 13 แบบ โดยในแต่ละแบบมีจำนวนและองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์แตกต่างกันตั้งแต่ 5 ชุด ถึง 14 ชุด อัลลีลที่มีจำนวนซ้ำมากที่สุด คือ อัลลีล K10 พบจำนวน 6 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่าง DC3, DC5, DC12, RC1, M77730 และ M77732 โดยมีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกับตัวอย่าง X03371 ซึ่งใช้เป็น reference stain นอกจากนี้ยังพบอัลลีลใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานจากการศึกษาใดมาก่อนจำนวน 3 แบบ ได้แก่ อัลลีล K8, K11 และ K13



ตารางที่ 21. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน *PfMSP1* จากตัวอย่างใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา

Genotype	Type of tripeptide repeats														Isolates	
	s	1	2	3	4	5	6	7	8	9	0	1	2	3		4
K1	H	I	I	I	I	J	I	I	I	I	I	J	J	I		AY714586
K2	H	I	I	I	I	I	I	I	I	J	J	I				RC10
K3	H	I	I	I	I	I	I	J	J	J						RT13, M77729, M77734 A31, B13
K4	I	I	N	I	I	I	I	J	J	I						DQ485420
K5	F	H	F	H	F	K	I	J	J	I						DQ485418
K6	H	I	I	I	I	I	I	J	J	I						DQ485421
K7	H	I	I	I	I	I	I	J	J	J						M77731, M77732
K8	H	I	I	I	I	I	J	J	I							RC3
K9	I	I	I	I	I	J	J	J	I							DQ485423
K10	H	I	I	I	J	J	I									X03371, DC3, DC5, DC12 RC1, M77730, M77733
K11	H	I	I	I	J	J										DT14
K12	H	F	I	I	J	J										DQ485419
K13	H	I	J	J	I											B9

หมายเหตุ รหัสที่ใช้แทนองค์ประกอบของ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1

H=SAQ

I=SGT

J=SGP

F=SGA

K=LGG

การเปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบในกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างที่ได้จาก จ.ตาก จำนวน 4 ตัวอย่าง จ.จันทบุรี 4 ตัวอย่าง และ จ.ยะลา 15 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 23 ตัวอย่าง ไม่พบการแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์และไม่ปรากฏลักษณะการซ้ำกันเป็นชุดๆ ในลำดับกรดอะมิโนเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับอัลลีลที่มีรายงานจากฐานข้อมูลใน GenBank จำนวน 39 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างจากประเทศอินเดีย 5 ตัวอย่าง ประเทศไทย 6 ตัวอย่างและจากประเทศแอฟริกา 28

ตัวอย่าง พบความแตกต่างของอัลลีล 9 แบบ แต่อัลลีลที่พบในประเทศไทยมีเพียง 2 แบบเท่านั้น โดยเป็นตัวอย่างที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ 1 แบบ โดยยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อน

**ภาพที่ 11. แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน *PfMSP1* จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา**

```

EU032265      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032263      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032267      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032271      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032269      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032275      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032273      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032270      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032268      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032266      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032264      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032262      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032272      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032274      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032276      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDNS-----
EU032260      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDDSD-----
EU032261      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPDAANPSDDSD-----
EU032258      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKDAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032256      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKDAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032259      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKDAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032257      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKDAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032254      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTNGAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032252      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTNGAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032255      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTNGAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032253      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTNGAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032251      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTNGAIRSPGAANPSDDSD-----
EU032250      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSD-----
EU037095      -----KPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSD-----
DQ485448      --KDGANTQVVAKPAEAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSD-----
DQ485450      --KDGANTQVV--PAEAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSD-----
DQ485451      --KDGANTQVVAKPAEAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDE-----
DQ485449      --KDGANTQVVAKPADAVSTQSAKNPPGATLPSGTASTKGAIRSPGAANPSD-----
DQ485445      --KDGANTQVVAKPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSD-----
DC14          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSDSDAK
M77735       VLKDGANTQVVAKPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSDSDAK
AB276005     VLKDGANTQVVAKPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSDSDAK
**   ****:*****:*****:..**   *.*****

```

**เปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล MAD20 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน**

**ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats และลำดับนิวคลีโอไทด์**

จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่าเป็นแบบ MAD20 14 ตัวอย่าง ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างในปี พ.ศ. 2551 ถึง 2552 กับตัวอย่างจากอำเภอ พบพระ จ.ตาก ซึ่งเป็นตัวอย่างในปี พ.ศ.2540 จำนวน 10 ตัวอย่าง พบความหลากหลายของรูปแบบการ repeat 15 แบบ โดยมีจำนวนชุด repeat ตั้งแต่ 10 ถึง 15 ชุด อัลลีลที่มีความถี่สูงสุด

คือ อัลลีล M11 มีจำนวน 5 ตัวอย่าง รองลงมาคือ อัลลีล M5 พบ 3 ตัวอย่าง อัลลีลที่มีจำนวน repeat มากที่สุดคือ อัลลีล M1 ได้แก่ ตัวอย่าง B27 ซึ่งเป็นตัวอย่างจากอำเภอพบพระ ตัวอย่างที่มีจำนวน repeat รองลงมาคือ อัลลีล M2 และ M3 จำนวน 14 repeats โดยทั้งสองตัวอย่างนี้มีรูปแบบการจัดเรียงตัวของ repeats ที่แตกต่างกัน

ที่น่าสังเกตคือที่อัลลีล M8 และ M9 นั้นมีลักษณะการจัดเรียงตัวและจำนวนชุดของ repeats ที่เหมือนกัน อย่างไรก็ตามพบว่าทั้งสองอัลลีลนี้มีความแตกต่างกันในส่วนที่ไม่ใช่ repeats โดยที่ตำแหน่ง 290 มีการแทนที่ของ CAA ไปเป็น CGA คือ เปลี่ยนจากกรดอะมิโน Glutamine เป็น Arginine ที่ตำแหน่ง 303 มีการแทนที่ของ TTC ไปเป็น TTA และเปลี่ยนจากกรดอะมิโน Proline เป็น Leucine ที่ตำแหน่ง 328 มีการแทนที่ของ GAA ไปเป็น CAA และเปลี่ยนจากกรดอะมิโน Glutamic acid เป็น Glutamine ที่ตำแหน่ง 365 พบการแทนที่ของ TCT ไปเป็น TGT คือ เปลี่ยนจากกรดอะมิโน Serine เป็น Cysteine ที่ตำแหน่ง 367 และ 368 มีการแทนที่ของ AAA ไปเป็น GAT เปลี่ยนจากกรดอะมิโน Valine เป็น Asparatic acid ที่ตำแหน่ง 373 มีการแทนที่ของ GTT ไปเป็น ATT และเปลี่ยนจากกรดอะมิโน Valine เป็น Isoleucine และที่ตำแหน่ง 376 มีการแทนที่ของ GAT ไปเป็น CAT และเปลี่ยนจากกรดอะมิโน Asparatic acid เป็น Histidine

ตารางที่ 22. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก

Genotypes	Type of tripeptide repeats															Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
M1	E	B	E	E	E	D	E	D	E	E	D	D	E	D	E	B27
M2	E	B	E	E	D	E	D	E	E	D	D	E	D	E		DT1, DT2
M3	C	B	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E		DT9, RT1
M4	C	B	E	E	D	E	E	D	E	E	D	E				A80
M5	C	D	E	E	D	E	D	E	D	E	D	E				DT12, RT12, DF12
M6	C	D	E	E	D	M	E	E	D	E	D	E				DF23
M7	C	D	E	E	D	E	D	D	D	E	D	E				DF8
M8	C	E	D	E	E	E	D	D	E	D	D	E				DT4, B25
M9	C	E	D	E	E	E	D	D	E	D	D	E				RT3
M10	C	K	K	E	E	E	D	D	E	D	K	E				DF15
M11	E	B	E	B	E	E	D	D	D	D	E					DT6, DT15, RT1, RT4, DF36
M12	E	Q	D	E	E	D	E	E	D	D	E					A100
M13	C	D	E	E	D	E	E	D	E	D	E					RT6, DF10
M14	E	B	E	E	D	D	E	E	D	E						RT2
M15	A	B	E	D	D	D	E	E	D	E						X05624

หมายเหตุ รหัสที่ใช้แทนองค์ประกอบของ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล MAD20

A=SSG                  B=SVT                  C=SKG                  D=SVA                  E=SGG  
 F=SGA                  G=SVG                  K=LGG                  M=SAG

เปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล K1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

ความหลากหลายของจำนวนชุด tripeptide repeats และลำดับนิวคลีโอไทด์

จากการวิเคราะห์และทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats จากตัวอย่าง reference stain และตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก จำนวน 4 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากอำเภอพบพระ จ.ตาก ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาแตกต่างกัน พบความหลากหลายของอัลลีล 5 แบบ โดยมีจำนวนชุด repeat ตั้งแต่ 5 ถึง 10 ชุด อัลลีลที่มีความถี่สูงสุดคือ อัลลีล K1 มีจำนวน 2 ตัวอย่าง ได้แก่ตัวอย่าง RT13 และ A31 ซึ่งเป็นตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง 1 ตัวอย่าง และ อ.พบพระ 1 ตัวอย่าง รองลงมาคือ อัลลีล K2 มีจำนวน repeat 9 ชุด

ตารางที่ 23. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก

Genotypes	Type of tripeptide repeats										Isolates
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
K1	H	I	I	I	I	I	I	I	J	I	RT13, A31
K2	H	I	I	I	I	I	I	J	I		B13
K3	H	I	I	I	I	J	I	I			DT14
K4	H	I	I	I	I	J	I				X03371
K5	H	I	J	J	I						B9

หมายเหตุ รหัสที่ใช้แทนองค์ประกอบของ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1

H=SAQ

I=SGT

J=SGP

เปรียบเทียบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบในกลุ่มอัลลีล RO33 จากตัวอย่างที่ได้จาก อ.ท่าสองยาง จำนวน 4 ตัวอย่าง และ จำนวน 7 ตัวอย่าง อ.พบพระ จ.ตาก โดยมีความแตกต่างกันในช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่าง ไม่พบการแทนที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์และไม่ปรากฏลักษณะการซ้ำกันเป็นชุดๆ ในลำดับกรดอะมิโนเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับ reference stain AB276005 พบว่าตัวอย่างทั้งหมดในการศึกษาครั้งนี้ ไม่มีความแตกต่างกันในส่วนของลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโน จึงจัดเป็นอัลลีลเดียวกันและมีความแตกต่างจาก AB276005 แค่ 1 กรดอะมิโน อย่างไรก็ตาม พบว่าอัลลีลที่พบในประเทศไทยเป็นชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน

ภาพที่ 12. แสดงองค์ประกอบของ tripeptide repeats ในแต่ละชุดของกลุ่มอัลลีล

RO33ของยีน PfMSP1 จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก ok

```
DT3          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DT5          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
RT9          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
RT10         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
A150         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DF5          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DF9          VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DF13         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DF20         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DF22         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DF27         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
DF26         VLKDGANTQVVAKPAGAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
AB276005    VLKDGANTQVVAKPADAVSTQSAKNPPGATVPSGTASTKGAIRSPGAANPSDDSSSDAK
*****
```

```
DT3          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DT5          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
RT9          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
RT10         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
A150         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DF5          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DF9          SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DF13         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DF20         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DF22         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DF27         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
DF26         SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
AB276005    SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNH
*****
```

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ได้พัฒนาวิธีการที่สะดวกเพื่อหาความแตกต่างของจีโนมไทป์ของเชื้อมาลาเรียชนิด *P. falciparum* จากรูปแบบความหลากหลายของอัลลีลในบริเวณ block 2 ของยีน PfMSP1 ซึ่งเป็นยีนเป้าหมายนั้น สามารถแยกจีโนมไทป์หลักในบริเวณดังกล่าวออกจากกันได้ทั้ง 3 จีโนมไทป์คือ MAD20, K1 และ RO33 และยังสามารถแยกรูปแบบความหลากหลายของจีโนมไทป์ย่อยของ MAD20 และ K1 เนื่องจาก 2 จีโนมไทป์นี้มีความหลากหลายของจำนวนเบสที่ซ้ำกันเป็นชุดแตกต่างกันในแต่ละตัวอย่าง ทำให้ผลผลิต PCR ที่ได้นั้นมีความยาวแตกต่างกัน โพรเมอร์ทุกตัวถูกออกแบบให้เหมาะสมต่ออุณหภูมิในช่วง annealing แบบเดียวกัน ทำให้สะดวกในการปฏิบัติคือใช้ขั้นตอนและองค์ประกอบในการดำเนินปฏิกิริยา PCR เหมือนกันในทุกคู่โพรเมอร์ ดังนั้นการแยกจีโนมไทป์ทั้ง 3 แบบออกจากกันจึงสามารถทำได้พร้อมกันในเครื่องควบคุม thermal cycler เดียวกัน แม้ว่าในแต่ละตัวอย่างจะประกอบด้วยทั้ง 3 ปฏิกิริยาของโพรเมอร์ 3 คู่สาย ดังนั้นวิธีการนี้จึงเป็นวิธีการที่มีความสะดวก รวดเร็ว แม่นยำ และง่ายต่อการปฏิบัติ แม้ว่ายีน PfMSP1 จะมีจำนวนชุดของยีนเพียง 1 ชุดต่อ 1 เฮปทรอยด์จีโนม 1 ชุด แต่วิธีการดังกล่าวมีความไวในการตรวจสอบสูงสามารถตรวจได้แม้มีปริมาณเชื้อมาลาเรียต่ำเพียง 5 ตัวต่อตัวอย่างหรือเท่ากับมีจำนวนชุดของยีน PfMSP1 เพียง 5 ชุดเท่านั้น ซึ่งเทียบได้กับดีเอ็นเอจากเชื้อ *P. falciparum* 5 ตัวหรือเท่ากับค่า parasitemia ประมาณร้อยละ 0.001

การเกิดผลปลอมจากกระบวนการเกิดการแลกเปลี่ยนกันของสายดีเอ็นเอในหลอดทดลองได้มีรายงานพิสูจน์การตรวจพบปรากฏการณ์ดังกล่าวจากการใช้ตัวอย่างที่มีการปะปนกันของจีโนมไทป์ต่างชนิดกัน (Tanabe et al., 2002) อย่างไรก็ตามข้อผิดพลาดนี้จะไม่เป็นอุปสรรคกับวิธีการแยกจีโนมไทป์ในยีน PfMSP1 ที่พัฒนาขึ้นเพราะในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้โพรเมอร์ที่มีความจำเพาะของแต่ละอัลลีลจึงทำให้ไม่เกิดปัญหาดังกล่าว นอกจากนี้ชิ้นส่วนของยีนเป้าหมายเป็นเพียงสายสั้นๆ จึงทำให้ลดโอกาสที่เกิดผลผลิต PCR ปลอมในระหว่างการดำเนินปฏิกิริยา PCR ได้ ผลจากการแยกจีโนมไทป์ในยีน PfMSP1 จากการผสมจีโนมไทป์ต่างกันหลอด PCR เดียวกัน เพื่อเป็นต้นแบบในการทำปฏิกิริยา PCR นั้นช่วยยืนยันความถูกต้องในขั้นตอนและความไวจำเพาะในการตรวจหาประชากรส่วนน้อยของ *P. falciparum* ที่ประกอบด้วยจีโนมไทป์ต่างๆ ดังในการศึกษาก่อนหน้านี้เกี่ยวกับความหลากหลายในยีน PfMSP1 และยีน PfMSP2 ของ *P. falciparum* แสดงให้เห็นถึงความชุกของการติดเชื่อมกันหลายโคลนระหว่างสายพันธุ์ตาม

ธรรมชาติทั้งในประเทศบราซิล ไทย และเวียดนาม เวียดนาม (Jongwutiwes et al., 1992; Sakihama et al., 1999; Tanabe et al., 2000) ดังนั้นผลการศึกษาการแยกจีโนมไทป์จากยีน PfMSP1 ที่ได้ในการศึกษาครั้งนี้ ด้วยปฏิกิริยา semi-nested PCR จากจำนวน 349 ตัวอย่างนั้นจึงเป็นข้อบ่งชี้ถึงความเหมาะสมในการนำวิธีการที่พัฒนาขึ้นไปใช้ในการศึกษาสำหรับตัวอย่างภาคสนาม

ความสนใจเกี่ยวกับยีน PfMSP1 ในหลายๆ การศึกษานั้นชี้ให้เห็นถึงความสำคัญโปรตีน PfMSP1 ซึ่งเป็นโปรตีนที่สำคัญและได้รับความสนใจในการใช้เป็นโปรตีนองค์ประกอบที่สำคัญของวัคซีนป้องกันมาลาเรียระยะที่อยู่ในเม็ดเลือดแดง การทดลองใช้ PfMSP1 เป็นองค์ประกอบของวัคซีนพบว่าสามารถเหนี่ยวนำให้ลิงทดลอง *Aotus* เกิดภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อมาลาเรียในภายหลัง โดยให้ประสิทธิภาพการป้องกันอย่างสมบูรณ์ (Siddiqui et al., 1987) ในขณะที่มีการป้องกันบางส่วนเกิดจากการกระตุ้นด้วยเชื้อที่มีการแสดงออกในหลายอัลลีลในยีน PfMSP1 (Siddiqui et al., 1978) จากการทดสอบแอนติบอดีต่อ block 2 ในยีน PfMSP1 นั้นได้แสดงการยับยั้งการบุกรุกของระยะเมอริโรซอยต์เข้าสู่เซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งเป็นรูปแบบของอัลลีลที่นิยมศึกษา (Locher et al., 1996) การจดจำของแอนติบอดีต่ออัลลีลที่จำเพาะต่อ block 2 ขึ้นอยู่กับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ซ้ำกันของ tripeptide และจำนวนครั้งที่เกิดขึ้นซ้ำกัน (Locher et al., 1996) ในการศึกษาที่ผสมผสานระหว่างเซรุ่มวิทยาและพันธุศาสตร์ของประชากรศึกษาได้เสนอว่า block 2 ในยีน PfMSP1 เป็นเป้าหมายในการใช้เป็นภูมิคุ้มกันปกป้องอัลลีลที่มีความจำเพาะต่อการติดเชื้อมาลาเรียโดยธรรมชาติ (Conway et al., 2000) ในที่นี้ภูมิคุ้มกันที่ปกป้องจากการติดเชื้อ *P. falciparum* ถูกชักนำบางส่วนโดย epitope ที่จำเพาะของ block 2 ในยีน PfMSP1 และมีผลโดยตรงจากลำดับนิวคลีโอไทด์และขนาดที่มีความหลากหลายของในบริเวณดังกล่าว เป็นที่น่าสนใจว่า block 2 ในยีน PfMSP1 มีการแสดงออกถึงความหลากหลายของแอนติเจนอย่างเห็นได้ชัดจากตัวอย่างเชื้อที่พบตามธรรมชาติ (Jongwutiwes et al., 1992; Atroosh et al., 2011; Bharti et al., 2012) การกระจายตัวของ 3 อัลลีลหลักของ block 2 มีความแตกต่างกันตามพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของโรคมาลาเรีย (Jongwutiwes et al., 1992; Jiang et al., 2000) ดังนั้นการออกแบบวัคซีนที่มีประสิทธิภาพจาก block 2 ในยีน PfMSP1 ต้องอาศัยข้อมูลจากการแพร่กระจายอัลลีลของแอนติเจนชนิดนี้ในประชากรของ *P. falciparum* ในแต่ละพื้นที่และวัคซีนที่คาดว่าจะมีประสิทธิภาพอาจจะต้องใช้ epitope ที่พบอยู่ในประชากรของเชื้อมาลาเรียของแต่ละพื้นที่เพื่อใช้เป็นองค์ประกอบของวัคซีนที่เหมาะสม ดังนั้นวิธีการแยกจีโนมไทป์ใน block 2 ในยีน PfMSP1 ที่ได้พัฒนาขึ้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีความสำคัญต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในโครงการผลิตวัคซีนต่อโรคมาลาเรีย



สำหรับผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน PfMSP1 ในส่วน block 2 ในการศึกษาครั้งนี้จากบางตัวอย่างในแต่ละพื้นที่ ได้แก่ จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา พบการกระจายตัวกลุ่มอัลลีล MAD20 มากที่สุด รองลงมาคือกลุ่ม RO33 และ K1 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้า (Jongwutiwes et al., 1992) จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบความหลากหลายของอัลลีล พบว่าความหลากหลายของยีน PfMSP1 ในบริเวณ N-terminus ทั้งชนิด MAD20 K1 และ RO33 ของ *P. falciparum* แต่ละภูมิภาคในช่วงฤดูฝนและฤดูแล้งของประเทศไทยไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยลักษณะของอัลลีลที่พบมีความเหมือนและใกล้เคียงกัน ดังนั้นฤดูในการแพร่กระจายของเชื้อจึงไม่ได้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนดังกล่าว เมื่อทำการเปรียบเทียบตัวอย่างในพื้นที่ อ.พบพระ จ.ตาก ทำการเก็บตัวอย่างใน พ.ศ. 2540 และตัวอย่างจากอ.ท่าสองยาง จ.ตาก เป็นตัวอย่างใน พ.ศ. 2551-2552 พบว่าจากการวิเคราะห์รูปแบบของอัลลีล MAD20 มีตัวอย่างจาก อ.พบพระ 1 ตัวอย่าง ที่มีรูปแบบของจำนวน tripeptide repeats มากที่สุด 15 ชุด ส่วนอัลลีล M5, M8, M11 และ M13 พบในทั้งสองพื้นที่การศึกษา ดังนั้นความแตกต่างในช่วงเวลาที่ศึกษาในพื้นที่เดียวกันหรือใกล้เคียงกันจึงไม่น่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนชนิดนี้ จากการวิเคราะห์อัลลีลกลุ่ม MAD20 จากตัวอย่างในครั้งนี้ร่วมกับที่เคยมีรายงานพบอัลลีลใหม่ 15 แบบ จากทั้งหมดทั่วโลกที่มีรายงาน 50 อัลลีล รวมทั้งสิ้น 65 อัลลีล พบว่ามีองค์ประกอบของ tripeptide repeats ตั้งแต่ 3 ถึง 19 ชุด อัลลีลที่พบมากที่สุดคืออัลลีล M47 จำนวน 16 ตัวอย่าง อัลลีลชนิดนี้มีจำนวน repeats 11 ชุด โดยเป็นตัวอย่างจาก จ.ตาก และ จ.จันทบุรี รองลงมาคืออัลลีล M29 ซึ่งมีจำนวน repeats 13 ชุด พบจำนวน 9 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างใหม่และที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ ได้แก่ DT12, DT13, RT14, DF12, M77713, M77715, M77718, M77719 และ M77725 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน PfMSP1 ในกลุ่มอัลลีล K1 จากตัวอย่างที่พบในประเทศไทยกับที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้พบความหลากหลาย 13 แบบ มีจำนวนของ tripeptide repeats 5 ถึง 14 ชุด นิวคลีโอไทด์ในชุดแรกและชุดสุดท้าย คือ AGTGCTCAA (SAQ) และ AGTGGTCCA (SGT) ตามลำดับ ปรากฏในทุกสายพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่เคยมีมาก่อนเช่นกัน (Jongwutiwes et al., 1992) นอกจากนี้พบว่าอัลลีลที่มีความถี่สูงสุดคือ K10 มีจำนวน repeats 7 ชุด พบใน 5 ตัวอย่าง คือ DC3, DC5, DC12 และ RC1, M77730 และ M77733 โดยทั้งหมดเป็นตัวอย่างจาก จ.จันทบุรี และ จ.ตาก และมีรูปแบบของอัลลีลเหมือน reference X03371 โดยจากการศึกษาครั้งนี้พบอัลลีลใหม่ถึง 4 แบบ คือ อัลลีล K2, K8, K11 และ K13 มีจำนวน repeats 12 9 6 และ 5 ตามลำดับ ในส่วนของอัลลีล RO33 ไม่พบลักษณะของ tripeptide repeats และมีองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์จำนวนเท่ากันทุกอัลลีล จากตัวอย่างทั้งหมด 22 ตัวอย่างที่พบในการศึกษาครั้งนี้เมื่อทำการ

วิเคราะห์เปรียบเทียบกับที่เคยมีรายงาน (Certa et al., 1987 ; Jongwutiwes et al., 1992) พบว่า ตัวอย่างที่ทำการศึกษาในปัจจุบันมีรูปแบบของอัลลีลเดียวกันทั้งหมดและยังไม่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้

การแพร่ระบาดของโรคมาลาเรียในหลายพื้นที่นั้นเป็นสาเหตุสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชากรและการควบคุมโรค (Sleigh et al., 1998; Lim et al., 2000; Hay et al., 2002) การติดตามประชากรของมาลาเรียจะช่วยให้พบร่องรอยบางอย่างที่ช่วยให้เข้าใจการแพร่กระจายของโรค ขอบเขตของความหลากหลายของอัลลีลและการติดเชื่อมระหว่างอัลลีลต่างชนิดกันของ PfMSP1 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับเชื้อมาลาเรียในแต่ละท้องถิ่น และความหนาแน่นของยุงซึ่งเป็นพาหะนำโรค (Kaneko et al., 1997; Sakihama et al., 1999; Tanabe et al., 2000) ในขณะที่การแพร่ระบาดของโรคมาลาเรียที่เกิดขึ้นอย่างกะทันหันในบางพื้นที่หรือสายพันธุ์ประจำถิ่น ประชากรของเชื้อมาลาเรียเหล่านี้อาจไม่ได้มีลักษณะแบบ panmictic แต่มีลักษณะการแพร่กระจายแบบโคลน ดังนั้นการเข้าใจถึงโครงสร้างของประชากรในระดับโมเลกุลรวมทั้งการมีถิ่นติดตามที่ดีจึงเป็นสิ่งจำเป็นต่อการวิเคราะห์พันธุกรรมของประชากรซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญในการควบคุมโรคมาลาเรีย

## สรุปผลการทดลอง

1. เทคนิค semi-nested PCR ที่ได้พัฒนาขึ้นจากการศึกษาครั้งนี้ มีความไวในการศึกษาสูง สามารถตรวจได้แม้มีปริมาณเชื้อมาลาเรียต่ำเพียง 5 ตัว ต่อตัวอย่าง และยังสามารถตรวจสอบจีโนมที่แตกต่างกันในตัวอย่างเดียวกันได้ ดังนั้นวิธีการที่ได้พัฒนาขึ้นจะเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับการวิเคราะห์สายพันธุ์ของ *Plasmodium falciparum*

2. ผลการแยกจีโนมโดยใช้ allele-specific primer จากจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 349 ตัวอย่าง พบว่าสามารถตรวจพบจีโนมชนิด MAD20 ได้ 151 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างจาก จ.จันทบุรี 26 ตัวอย่าง จ.ยะลา 9 ตัวอย่าง จ.ตาก (พ.ศ.2551-2552) 72 ตัวอย่าง และ จ.ตาก (พ.ศ.2540) 44 ตัวอย่าง ชนิด K1 รวม 65 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างจาก จ.จันทบุรี 22 ตัวอย่าง จ.ยะลา 1 ตัวอย่าง จ.ตาก (พ.ศ.2551-2552) 23 ตัวอย่าง และ จ.ตาก (พ.ศ.2540) 19 ตัวอย่าง ชนิด RO33 ได้ 189 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวอย่างจาก จ.จันทบุรี 8 ตัวอย่าง จ.ยะลา 116 ตัวอย่าง จ.ตาก (พ.ศ.2551-2552) 27 ตัวอย่าง และ จ.ตาก (พ.ศ.2540) 38 ตัวอย่าง

3. สามารถตรวจพบการติดเชื่อมสมระหว่างอัลลีลต่างชนิดกัน 46 ตัวอย่าง จาก จ.จันทบุรี 5 ตัวอย่าง จ.ยะลา 3 ตัวอย่าง จ.ตาก (พ.ศ.2551-2552) 12 ตัวอย่าง และ จ.ตาก (พ.ศ.2540) 26 ตัวอย่าง

4. จากผลการศึกษาครั้งนี้การแพร่กระจายของจีโนมไม่ขึ้นอยู่กับฤดูกาลแต่ขึ้นกับสถานที่และเวลา

5. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน PfMSP1 ในกลุ่มอัลลีล MAD20 จากตัวอย่างทั้งหมด 60 ตัวอย่าง เทียบกับตัวอย่างที่เคยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ พบอัลลีลรูปแบบใหม่ 15 แบบ ได้แก่ อัลลีล M13, M14, M30, M31, M32, M33, M37, M38, M39, M40, M44, M45, M49, M53 และ M63 มีจำนวน repeats ตั้งแต่ 5 ถึง 14 ชุด โดยพบว่าอัลลีล M47 มีความถี่สูงสุดจำนวน 16 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างจาก จ.ตากและ จ.จันทบุรี

6. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในกลุ่มอัลลีล K1 พบอัลลีลแบบใหม่ 4 แบบ ได้แก่ อัลลีล K2, K8, K11 และ K13 มีจำนวน repeat 12, 9, 6 และ 5 ชุด ตามลำดับ อัลลีลที่มีความถี่สูงสุดคือ อัลลีล K10 จำนวน 6 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างจาก จ.จันทบุรีและ จ.ตาก

7. การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในกลุ่มอัลลีล RO33 จำนวน 23 ตัวอย่าง จาก 3 จังหวัด พบว่าทุกตัวอย่างเป็นอัลลีลแบบเดียวกันทั้งหมด และเป็นอัลลีลใหม่ที่ยังไม่พบการรายงานมาก่อน

## ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์จากทั้งยีน (17 block) สามารถวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่าง block 2 และ block อื่นๆ ของอัลลีนที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกัน จะพบ block อื่นที่มีความเหมือนหรือแตกต่างกันอย่างไร ซึ่งจะเป็นแนวทางทำให้เข้าใจลักษณะทางพันธุกรรมของประชากรมาลาเรียในธรรมชาติ
2. การศึกษาเพื่อหาความสัมพันธ์ของ block 2 ที่มีต่อการเป็นองค์ประกอบของวัคซีนในผู้ป่วยมาลาเรียต่ออัลลีนในแต่ละแบบ เพื่อการป้องกันการติดเชื้อมาลาเรียในธรรมชาติ
3. สามารถใช้ข้อมูลที่ได้ไปศึกษาวิเคราะห์การใช้โปรตีนบนผิวเมอริโรซอยต์ชนิดที่ 1 เป็นองค์ประกอบร่วมกับโปรตีนชนิดอื่น ๆ ในการพัฒนาประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการป้องกันและควบคุมโรคต่อไป
4. การศึกษาโดยใช้จำนวนตัวอย่างเชื้อมากขึ้นอาจทำให้พบความหลากหลายของยีน PfMSP1 มากยิ่งขึ้น หรือทำให้ทราบขอบเขตของความหลากหลายได้ดีขึ้น ซึ่งส่งผลต่อการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละกลุ่มตัวอย่างได้ดีและเป็นประโยชน์ในการเข้าใจกลไกทางพันธุกรรมที่ก่อให้เกิดความหลากหลายต่อไป

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

สมชาย จงวุฒิเวศย์ และอุษา ทิสยากร. มาลาเรีย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : ธนาเพลส, 2549.

### ภาษาอังกฤษ

Anderson, T. J. C., and Day, K. P. 2000. Geographical structure and sequence evolution as inferred from the *Plasmodium falciparum* S-antigen locus. **Molecular and Biochemical Parasitology** 106: 321–326.

Blackman, M. J., Scott-Finnigan, T. J., Shai, S., and Holder, A. A. 1994. Antibodies inhibit the protease-mediated processing of a malaria merozoite surface protein. **The Journal of Experimental Medicine** 180: 389-393.

.Brown, A. E., Webster, H. K., Lyon, J. A., and Thomas, A. W. 1991. Permpnich, B., Gross, M. Characterization of naturally acquired antibody responses to a recombinant fragment from the N-terminus of *Plasmodium falciparum* glycoprotein 195. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** 45: 567-573.

Cavanagh, D. R., Elhassan, I. M., Roper, C., Robinson, V. J., Giha, H., Holder, A. A., et al. 1998. A Longitudinal Study of Type-Specific Antibody Responses to *Plasmodium falciparum* Merozoite Surface Protein-1 in an Area of Unstable Malaria in Sudan. **The Journal of Immunology** 161: 347-359.

Coatney, G. R., Elder, H. A., Contacos, P. G., et al. 1961. Transmission of the M strain of *Plasmodium cynomolgi* to man. **Am J Trop Med Hyg** 10: 673-678.

Conway, D. J., Cavanagh, D. R., Tanabe, K., Roper, C., Miker, Z. S., Sakihama, N., et al. 2000. A principal target of human immunity to malaria identified by molecular population genetic and immunological analyses. **Nature Medicine** 6 : 689-692.

Certa, U., Rotmann, D., Matile, H., and Rebber-Liske, R. 1987. A naturally occurring gene encoding the major surface antigen precursor p190 of *Plasmodium*

- falciparum* lacks tripeptide repeats. **EMBO J** 6(13): 4137-4142.
- Ekala, M. T., Jouin, H., Lekoulou, F., Issifou, S., Puijalon, O. M., Ntoumi, F. et al. 2002. *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein 1 (MSP1): genotyping and humoral responses to allele-specific variants. **Acta Tropica** 81: 33-46.
- Früh, K., Doumbo, O., Müller, H. M., Koita, O., McBride, S., Crisanti, A., et al. 1991. Human antibody response to the major merozoite surface antigen of *Plasmodium falciparum* is strain specific and short-lived. **Infection and Immunity** 59: 1319-1324.
- Hay, I. S., Guerra, A. C., Tatem, J. A., Noor, M. A., Snow, R. W., et al. 2004. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. **The Lancet Infectious Diseases** 4: 327-336.
- Herrera, S., Corradin, G., and Valo-Herrera, M. 2007. An update on the search for a *Plasmodium vivax* vaccine. **Trends in Parasitology** 23: 122-128.
- Holder, A. A. 1988. The precursor to major merozoite surface antigens: structure and role in immunity. **Progress in Allergy** 41: 72-97.
- Jiang, G., Daubenberger, C., Huber, W., Matile, H., Tanner, M., and Pluschke, G. 2000. Sequence diversity of merozoite surface protein 1 of *Plasmodium falciparum* in clinical isolates from the Kilombero District, Tanzania. **Acta Tropica** 74: 51-61.
- Jongwutiwes, S., Putaporntip, C., Hughes, A. L., et al. 2010. Bottleneck effects on vaccine-candidate antigen diversity of malaria parasites in Thailand. **Vaccine** 28: 3112-3117.
- Jongwutiwes, S., Tanabe, K., and Kanbara, H. 1993. Sequence conservation in the C-terminal part of the precursor to the major merozoite surface proteins (MSP1) of *Plasmodium falciparum* from field isolates. **Molecular and Biochemical Parasitology** 59: 95-100.
- Jongwutiwes, S., Tanabe, K., Nakazawa, S., Yanagi, T., and Kanbara, H. 1992. Sequence variation in the tripeptide repeats and T cell epitopes in P190 (MSA-1) of *Plasmodium falciparum* from field isolates. **Molecular and Biochemical Parasitology** 51:81-90.

- Jouin, H., Rogier, C., Trape, J. F., and Mercereau-puijalon, O. 2001. Fixed, epitope-specific, cytophilic antibody response to the polymorphic block 2 domain of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen MSP-1 in humans living in a malaria-endemic area. **European Journal of Immunology** 31: 539-550.
- Kang, J. M., Moon, S. U., Kim, J. Y., Cho, S. H., Lin, K., Sohn, W. M., et al. 2010. Genetic polymorphism of merozoite surface protein-1 and merozoite surface protein-2 in *Plasmodium falciparum* field isolates from Myanmar. **Malaria Journal** 9: 131.
- Kerr, P. J., Lisa, C., Cartwright, R., and Walliker, D. 1994. Proof of intragenic recombination in *Plasmodium falciparum*. **Molecular and Biochemical Parasitology** 66: 241-248.
- Knowles, R., Das Gupta, B. M. 1932. A study of monkey-malaria and its experimental transmission to man. *Ind Med Gaz* 67: 301-320.
- Konaté, L., Zwetyenga, J., Rogier, C., Bischoff, E., Fontenille, D., Tall, A., et al. 1999. Variation of *Plasmodium falciparum* msp1 block 2 and msp2 allele prevalence and of infection complexity in two neighbouring Senegalese villages with different transmission conditions. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 93: 21-28.
- Locher, C. P., Tam, L. Q., Chang, S. P., McBride, J. S., and Siddiqui, W. A. 1996. *Plasmodium falciparum*: gp195 Tripeptide Repeat-Specific Monoclonal Antibody Inhibits Parasite Growth in Vitro. **Experimental Parasitology** 84: 74-83.
- Müller, H. M., Früh, K., Brunn, A., Esposito, F., Lombardi, S., Crisanti A et al. 1989. Development of the human immune response against the major surface protein (gp190) of *Plasmodium falciparum*. **Infection and Immunity**:57;3765-3769.
- Nussenzweig, R. G., and Long, C. A. 1994. Malaria vaccines : multiple targets. **Science** 265: 131-1383.
- Putaporntip, C., Jongwutiwes, S., Sakihama, N., Ferreira, M. U., Kho, W. G., Kaneko, A., et al. 2002. Mosaic organization and heterogeneity in frequency of allelic recombination of the *Plasmodium vivax* merozoite surface protein-1 locus.

- Proceedings of The National Academy of Science of the United State of America 99: 16348-16353.
- Putaporntip, C., Jongwutiwes, S., Seethamchai, S., Kanbara, H., and Tanabe, K. 2000. Intragenic recombination in the 3' portion of the merozoite surface protein 1 gene of *Plasmodium vivax*. *Molecular and Biochemical Parasitology* 109: 111-119.
- Putaporntip, C., Jongwutiwes, S., Tanabe, K., and Thaithong, S. 1997. Interallelic recombination in the merozoite surface protein 1(MSP-1) gene of *Plasmodium vivax* from Thai isolates. *Molecular and Biochemical Parasitology* 84: 49-56.
- Riley, E. M., Allen, S. J., Wheeler, J. G., Blackman, M. J., Bennett, S., Takacs, B., et al. 1992. Naturally acquired cellular and humoral immune responses to the major merozoite surface antigen (PfMSP1) of *Plasmodium falciparum* are associated with reduced malaria morbidity. *Parasite Immunology* 14: 321-337.
- Siddiqui, W. A., Tam, L. Q., Kramer, K. J., Hui, G. S., Case, S. E., Yamaga, K. M., et al. 1987. Merozoite surface coat precursor protein completely protects Aotus monkeys against *Plasmodium falciparum* malaria. *Proceedings of The National Academy of Science of the United State of America* 84: 3014-3018.
- Tanabe, K., Mackay, M., Goman, M., and Scaife, J. G. 1987. Allelic dimorphism in a surface antigen gene of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Journal of Molecular Biology*: 273-287.
- Tolle, R., Früh, K., Doumbo, O., Koita, O., N'Diaye, M., Fischer, A., et al. 1993. A prospective study of the association between the human humoral immune response to *Plasmodium falciparum* blood stage antigen gp190 and control of malarial infections. *Infection and Immunity* 61: 40-47.
- Wernsdorfer, W., and Sessoli, R. 1999. Quantum Phase Interference and Parity Effects in Magnetic Molecular Clusters. *Science* 284: 133.



ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก

แสดงรหัสพันธุกรรม (genetics code)

Second Position

	U	C	A	G	
U	UUU UUC Phe UUA Leu UUG	UCU UCC Ser UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA* Stop UAG* Stop	UGU Cys UGC UGA* Stop UGG Trp	U C A G
C	CUU CUC Leu CUA CUG	CCU CCC Pro CCA CCG	CAU CAC His CAA Gln CAG	CGU CGC Arg CGA CGG	U C A G
A	AUU AUC Ile AUA AUG <sup>+</sup>	ACU ACC Thr ACA ACG	AAU AAC Asn AAA Lys AAG	AGU AGC Ser AGA Arg AGG	U C A G
G	GUU GUC Val GUA GUG	GCU GCC Ala GCA GCG	GAU GAC Asp GAA Glu GAG	GGU GGC Gly GGA GGG	U C A G

\* chain termination, or "nonsense," codon

<sup>+</sup> the initiator codon

**ภาคผนวก ข**  
แสดงรหัสและตัวย่อสำหรับกรดอะมิโน

Amino acid	Three-letter abbreviation	One-letter symbol
Alanine	Ala	A
Arginine	Arg	R
Asparagine	Asn	N
Aspartic acid	Asp	D
Cysteine	Cys	C
Glutamine	Gln	Q
Glutamic acid	Glu	E
Glycine	Gly	G
Histidine	His	H
Isoleucine	Ile	I
Leucine	Leu	L
Lysine	Lys	K
Methionine	Met	M
Phenylalanine	Phe	F
Proline	Pro	P
Serine	Ser	S
Threonine	Thr	T
Tryptophan	Trp	W
Tyrosine	Tyr	Y
Valine	val	V

### ภาคผนวก ค

#### การเตรียมสารเคมี

##### การเตรียม 0.5 EDTA (pH 8.0)

EDTA 186.1 g.

double distilled water 800 ml.

นำส่วนผสมทั้ง 2 อย่างนี้มาควนด้วย magnetic stirrer จนสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับ pH ด้วย NaOH ให้มีค่า pH = 8 และปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อ\*

##### การเตรียม TBE buffer (10x)

Tris base 108 g.

Boric acid 55 g.

EDTA 7.4 g.

ปรับค่า pH และปริมาตรให้เท่ากับ 8.3 และ 1 ลิตร จากนั้นจึงนำไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อเช่นเดียวกัน\*

##### การเตรียม marker

DNA marker 20 µl.

Dye 80 µl.

TE buffer 360 µl.

##### การเตรียม TE buffer (10x)

1 M Tris 800 ml.

0.5 M EDTA 200 ml.

ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อก่อนที่จะใช้\*

##### การเตรียม 1 M Tris (pH 7.8)

Tris base 121.1 g.

น้ำกลั่น 800 ml.

นำส่วนผสมทั้ง 2 มาละลายให้เป็นเนื้อเดียวด้วย magnetic stirrer จากนั้นปรับ pH ด้วย HCl ให้มีค่า pH เท่ากับ 7.4 และปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร โดยใช้ น้ำกลั่น และนำไป

นี้้งด้วยหม้อปลดอดเชื้อก่อนที่จะนำไปใช้\*

\* ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

**การเตรียม gel-loading buffers**

bromophenol blue                      0.25 g.

xylene cyanol FF                        0.25 g.

glycerol in water                        30 g.

ละลายในน้ำกลั่น โดยปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร

ภาคผนวก ง

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับนิวคลีโอไทด์ ในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่ม  
อัลลีล MAD20 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก

```
X05624      GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAA-----
RT3         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
RT1         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTTCAG-----
RT4         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTTCAG-----
DT15        GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTTCAG-----
DT6         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTTCAG-----
DT1         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTTCAG-----
DT2         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTTCAG-----
RT2         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTTCAG-----
DT12        GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
RT14        GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
RT6         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
DT4         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
DT9         GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
RT12        GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
*****
```

```
X05624      ----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----TT
RT3         TCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAG-----GT
RT1         ----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----TT
RT4         ----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----TT
DT15        ----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----TT
DT6         ----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----TT
DT1         ----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGTT
DT2         ----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGTT
RT2         ----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----TT
DT12        TCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAG-----TT
RT14        TCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAG-----TT
RT6         TCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAG-----TT
DT4         TCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAG-----GT
DT9        TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAG-----TT
RT12        TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAG-----TT
*   * * * * *   *   * * * * * * * * * *   * * * * *
```

```
X05624      GCTTCAG-----TTGC-----TTCAGTTGCTTCAGGTGGTTC
RT3         GGTTCAGGTGGCTCAGTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCA
RT1         ACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA
RT4         ACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA
DT15        ACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA
DT6         ACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA
DT1         GCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA
DT2         GCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA
RT2         -----GTGGTTCAGTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGGTGGTTC
DT12        GCTTCAGGTGGCTCAGTTGC-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA
RT14        GCTTCAGGTGGCTCAGTTGC-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA
RT6         GCTTCAGGTGG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA
DT4         GGTTCAGGTGGCTCAGTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCA
DT9        GCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA
RT12        GCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA
* * * * * * * * * * * * * * * *   * * * * *
```

```
X05624      GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAAT
RT3         GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAAT
RT1         GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAAT
RT4         GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAAT
DT15        GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAAT
DT6         GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAAT
```

DT1 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT2 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT2 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT12 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT14 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT6 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT4 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT9 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT12 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT

X05624 TCAAGTGATTCAAATACTAAAACCTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT3 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT1 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT4 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT15 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT6 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT1 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT2 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT2 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT12 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACACAGAGTACGAAATTACTTG  
 RT14 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACACAGAGTACGAAATTACTTG  
 RT6 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACACAGAGTACGAAATTACTTG  
 DT4 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACACAGAGTACGAAATTACTTG  
 DT9 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT12 TCAAGTGATTGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAA AACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 \*\*\*\*\* \*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \* \*\*\*\*\*

X05624 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTGACT  
 RT3 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTGACT  
 RT1 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 RT4 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 DT15 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 DT6 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 DT1 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 DT2 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 RT2 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 DT12 TTA ACTATCAAAGAACTCAAATATCCTCAACTCTTTG ATTTAACTAATCATATGTTAACT  
 RT14 TTA ACTATCAAAGAACTCAAATATCCTCAACTCTTTG ATTTAACTAATCATATGTTAACT  
 RT6 TTA ACTATCAAAGAACTCAAATATCCTCAACTCTTTG ATTTAACTAATCATATGTTAACT  
 DT4 TTA ACTATCAAAGAACTCAAATATCCTCAACTCTTTG ATTTAACTAATCATATGTTAACT  
 DT9 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 RT12 TTCACTATTAAGAACTCAAATATCCCGAACTCTTTG ATTTAACCAATCATATGTTAACT  
 \*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*

X05624 TTATCTAAAAATGTTGAT  
 RT3 TTATCTAAAAATGTTGAT  
 RT1 TTGTGTGATAATATTCAT  
 RT4 TTGTGTGATAATATTCAT  
 DT15 TTGTGTGATAATATTCAT  
 DT6 TTGTGTGATAATATTCAT  
 DT1 TTGTGTGATAATATTCAT  
 DT2 TTGTGTGATAATATTCAT  
 RT2 TTGTGTGATAATATTCAT  
 DT12 TTGTGTGATAATATTCAT  
 RT14 TTGTGTGATAATATTCAT  
 RT6 TTGTGTGATAATATTCAT  
 DT4 TTGTGTGATAATATTCAT  
 DT9 TTGTGTGATAATATTCAT  
 RT12 TTGTGTGATAATATTCAT  
 \*\* \* \* \* \* \*\* \* \*

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับกรดอะมิโนในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่ม อัลลีล MAD20 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก

```

RT1      VLNEGTSGTAVTTSTPGS---GGSVTSGGS-----VTSGGSGG-----SVASVAS
RT4      VLNEGTSGTAVTTSTPGS---GGSVTSGGS-----VTSGGSGG-----SVASVAS
DT15     VLNEGTSGTAVTTSTPGS---GGSVTSGGS-----VTSGGSGG-----SVASVAS
DT6      VLNEGTSGTAVTTSTPGS---GGSVTSGGS-----VTSGGSGG-----SVASVAS
DT1      VLNEGTSGTAVTTSTPGS---GGSVTSGGSGGVSAGGGSVASGGSGG-----SVASVAS
DT2      VLNEGTSGTAVTTSTPGS---GGSVTSGGSGGVSAGGGSVASGGSGG-----SVASVAS
DT9      VLNEGTSGTAVTTSTPGS---KGSVTSGGSGGS-----VASGGSGGVSAGGSGGVSAS
RT12     VLNEGTSGTAVTTSTPGS---KGSVTSGGSGGS-----VASGGSGGVSAGGSGGVSAS
DT12     VLNEGTSGTAVTTSTPGS---KGSVASGGSGGS-----VASGGVA-----SGGVSAS
RT6      VLNEGTSGTAVTTSTPGS---KGSVASGGSGGS-----VASGG-----SGGVSAS
RT14     VLNEGTSGTAVTTSTPGS---KGSVASGGSGGS-----VASGGVA-----SGGVSAS
RT2      VLNEGTSGTAVTTSTPGS---GGSVTSGGSGGS-----VASVA-----SGG---S
DT4      VLNEGTSGTAVTTSTPGSKGSGGVSAGGSG-----GSGGVA-----SVASGGG
X05624   VLNEGTSGTAVTTSTPGS---SGSVTSGGS-----VASVA-----SVASGGG
RT3      VLNEGTSGTAVTTSTPGSKGSGGVSAGGSG-----GSGGVA-----SVASGGG
          *****          ***:****          .          *          *

```

```

RT1      VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
RT4      VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT15     VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT6      VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT1      GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT2      GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT9      GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
RT12     GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT12     GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
RT6      GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
RT14     GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
RT2      GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT4      VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
X05624   GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDNTKTYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
RT3      VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
          .*****:.*:*****:***:*****:*****:*****

```

```

RT1      LCDNIH
RT4      LCDNIH
DT15     LCDNIH
DT6      LCDNIH
DT1      LCDNIH
DT2      LCDNIH
DT9      LCDNIH
RT12     LCDNIH
DT12     LCDNIH
RT6      LCDNIH
RT14     LCDNIH
RT2      LCDNIH
DT4      LCDNIH
X05624   LSKNVD
RT3      LSKNVD
          *..*:.

```



แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats ของ

กลุ่มอัลลีล K1 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก

DT14 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 RT13 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 X03371 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 \*\*\*\*\*

DT14 ACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTGGT-----  
 RT13 ACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGT  
 X03371 ACAAGTGGTACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGT-----  
 \*\*\*\*\*

DT14 ---ACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA  
 RT13 GGTTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA  
 X03371 ---CAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA  
 \*\*\*\*\*

DT14 AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAACACAGA  
 RT13 AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAACACAGA  
 X03371 AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAACACAGA  
 \*\*\*\*\*

DT14 GTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAAC  
 RT13 GTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAAC  
 X03371 GTACGAAATTACTTGTTAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAAC  
 \*\*\*\*\*

DT14 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT  
 RT13 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT  
 X03371 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT  
 \*\*\*\*\*

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับกรดอะมิโนในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล

K1 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างใน อ.ท่าสองยาง จ.ตาก

DT14 ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTS-----GPSGTSGTSPSSRSNTLPRSNTSSGA  
 RT13 ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSPSGTSPSSRSNTLPRSNTSSGA  
 X03371 ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSPSGTSPSSRSNTLPRSNTSSGA  
 \*\*\*\*\*

DT14 SPPADASDSADKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCNDNIH  
 RT13 SPPADASDSADKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCNDNIH  
 X03371 SPPADASDSADKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCNDNIH  
 \*\*\*\*\*:\*\*\*\*\*:\*\*\*\*\*

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล

ลิล MAD20 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี

RC2 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 RC7 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 DC11 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 DC2 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 DC13 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 RC13 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 DC4 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 DC6 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 RC14 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 X05624 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 RC6 GTATTAATGAAGGAACAAGTGGAACAGCTGTTACAAGTGGTACAAGTGGT  
 \*\*\*\*\*

RC2 TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGT-----GGTTCAGTT  
 RC7 TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGT-----GGTTCAGTT  
 DC11 TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGT-----GGTTCAGTT  
 DC2 TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGT-----GGTTCAGTT  
 DC13 TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTACTTCAGTTGCTTCAGTT  
 RC13 TCAGTTGCTTCAAGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGT-----  
 DC4 TCAGTTGCTTCAAGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGT-----  
 DC6 TCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGT  
 RC14 TCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGT  
 X05624 TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTT-----GCTTCAGGT  
 RC6 TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGTT-----GCTTCAGGT  
 \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \* \*\*\*\* \* \*\*\*\*\* \*

RC2 GCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 RC7 GCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 DC11 GCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 DC2 GCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 DC13 GCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 RC13 -----AATTCAGACGTACA  
 DC4 -----AATTCAGACGTACA  
 DC6 GGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 RC14 GGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 X05624 GG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 RC6 GG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACA  
 \*\*\*\*\*

RC2 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 RC7 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 DC11 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 DC2 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 DC13 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 RC13 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 DC4 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 DC6 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGA  
 RC14 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGA  
 X05624 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATACTAAACTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 RC6 AATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGA  
 \*\*\*\*\* \*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*

RC2 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 RC7 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 DC11 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 DC2 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 DC13 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 RC13 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 DC4 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 DC6 GTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACC  
 RC14 GTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACC  
 X05624 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 RC6 GTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC  
 \*\* \* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\* \*\*\*\*\*

RC2 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 RC7 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 DC11 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 DC2 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 DC13 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 RC13 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 DC4 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 DC6 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 RC14 AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAAATTCAT  
 X05624 AATCATATGTTAACTTTATCTAAAAATGTTGAT

RC6 AATCATATGTTGACTTTATCTAAAAATGTTGAT  
 \*\*\*\*\* \* \* \* \* \* \* \* \*

### แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับกรดอะมิโนในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล

#### MAD20 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี

DC6 VLNEGTSGTAVTTSTPGSKGSVASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGGSVASGGSGNSRRT  
 RC14 VLNEGTSGTAVTTSTPGSKGSVASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGGSVASGGSGNSRRT  
 DC2 VLNEGTSGTAVTTSTPGSGGSVTSGGSVTSGGSGG-----SVASVASVASGGSGNSRRT  
 DC11 VLNEGTSGTAVTTSTPGSGGSVTSGGSVTSGGSGGSVA---SVASVASVASGGSGNSRRT  
 RC2 VLNEGTSGTAVTTSTPGSGGSVTSGGSVTSGGSGGSVA---SVASVASVASGGSGNSRRT  
 RC7 VLNEGTSGTAVTTSTPGSGGSVTSGGSVTSGGSGGSVA---SVASVASVASGGSGNSRRT  
 DC13 VLNEGTSGTAVTTSTPGSGGSVTSGGSVTSGGSGT SVASVASVASVASVASVASGGSGNSRRT  
 RC13 VLNEGTSGTAVTTSTPGSKGSVASSG-----SVASGGSGNSRRT  
 DC4 VLNEGTSGTAVTTSTPGSKGSVASSG-----SVASGGSGNSRRT  
 RC6 VLNEGTSGTAVTTSTPGSSGSVTSGGSGGSVASVASGG-----SGGSVASGGSGNSRRT  
 X05624 VLNEGTSGTAVTTSTPGSSGSVTSGGSVASVASVASGG-----SGGSVASGGSGNSRRT  
 \*\*\*\*\* \* \* \* \* \* \* \* \*

DC6 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH  
 RC14 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH  
 DC2 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH  
 DC11 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH  
 RC2 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH  
 RC7 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH  
 DC13 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH  
 RC13 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH  
 DC4 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH  
 RC6 NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCNVD  
 X05624 NPSDNSSDSNTKYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCNVD  
 \*\*\*\*\* : \* . \* . : \* . :

### แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล

#### ลิล K1 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี

DC12 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 RC1 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 DC5 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 DC3 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 X03371 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 RC3 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 RC10 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT  
 \*\*\*\*\*

DC12 ACAAGTGGTACAAGTGGTC-----  
 RC1 ACAAGTGGTACAAGTGGTC-----  
 DC5 ACAAGTGGTACAAGTGGTC-----  
 DC3 ACAAGTGGTACAAGTGGTC-----  
 X03371 ACAAGTGGTACAAGTGGTC-----  
 RC3 ACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGT-----  
 RC10 ACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGT  
 \*\*\*\*\*

DC12 ---C-AAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCA  
 RC1 ---C-AAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCA  
 DC5 ---C-AAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCA  
 DC3 ---C-AAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCA  
 X03371 ---C-AAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCA  
 RC3 ---CCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCA  
 RC10 GGTC AAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCA  
 \* \*\*\*\*\*

DC12 AATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGATGCTAAATCTTAC

```

RC1          AATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCCAGATGCTAAATCTTAC
DC5          AATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCCAGATGCTAAATCTTAC
DC3          AATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCCAGATGCTAAATCTTAC
X03371      AATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCCAGATGCTAAATCTTAC
RC3          AATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCCAGATGCTAAATCTTAC
RC10         AATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCCAGATGCTAAATCTTAC
*****

DC12         GCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATATCCT
RC1          GCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATATCCT
DC5          GCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATATCCT
DC3          GCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATATCCT
X03371      GCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATATCCT
RC3          GCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAATATCCC
RC10         GCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAATATCCC
*****

DC12         CAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RC1          CAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC5          CAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC3          CAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
X03371      CAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RC3          GAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RC10         GAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
*****

```

**แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับกรดอะมิโนในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างใน จ.จันทบุรี**

```

RC10         ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
RC11         ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
RC8          ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
RC5          ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
RC4          ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
RC3          ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
DC7          ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
DC3          ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
DC5          ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
DC12         ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
RC1          ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
X03371      ILNEEEITTKGASQSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPSSRSNTLPRS
*****

RC10         NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
RC11         NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
RC8          NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
RC5          NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
RC4          NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
RC3          NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
DC7          NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDNIIH
DC3          NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH
DC5          NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH
DC12         NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH
RC1          NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH
X03371      NTSSGASPPADASDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH
*****

```



```

RY7          NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH
RY14         NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH
RY6          NPSDNSSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDNIIH
X05624      NPSDNSSDSNTKTYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLSKNVD
*****:.*:*****:***:*****:*****:*****:.*:.

```

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats ของ  
กลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา  
ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา

```

DT4          -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
B25          -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
EU032164    -----GCTGTTACAACACTAGT
M77720      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77717      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
RT3         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
RC6         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
X05624      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DC4         -----
EU032215    -----
M77727      -----
EU032178    -----
EU032176    -----
RC13        -----
A80         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77722      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
RT2         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DT6         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DT15        -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
RT1         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
RT4         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DC11        -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
RC2         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
RC7         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77721      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGCGGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DQ485431    -----AATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DQ485427    -----AATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77723      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77724      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77716      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77714      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DC13        -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77728      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DC2         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DT2         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
FJ999664    -----AAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
EU032173    -----GCTGTTACAACACTAGT
B27         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DT1         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
M77726      -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
AF034635    -----AATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DQ485429    -----AATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACGACAAGT
DQ485428    -----AATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DQ485426    -----AATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DQ485425    -----AATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DQ485432    -----AATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
A100        -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
DT9         -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGAACAGCTGTTACAACACTAGT
EU032222    -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
EU032217    -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
EU032223    -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT
EU032172    -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAGTGGT

```

EU032188 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032194 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032216 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032195 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032182 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032179 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032199 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032197 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032225 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032226 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032201 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032202 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032207 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032212 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032192 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 EU032210 -----GCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 RT12 GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGTACACCTGGTTCAAAGGGT  
 M77713 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGCGGAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 M77718 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGCGGAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 EU032162 -----  
 M77715 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 M77719 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 DT12 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 RY3 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 RY7 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 RT6 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 DF10 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 RT14 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 RY5 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 RY14 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 DF12 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 RY6 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 RC14 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 M77725 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 DC6 -----GTATTAAATGAAGGAACAAGTGGAAACAGCTGTTACAACACTAGT  
 EU032204 -----GCTGTTACAACACTAGT  
 EU032160 -----GCTGTTACAACACTAGT  
 EU032205 -----GCTGTTACAACACTAGT  
 EU032161 -----GCTGTTACAACACTAGT  
 EU032211 -----GCTGTTACAACACTAGT  
 DF8 -----  
 DF15 -----  
 DF23 -----  
 DF36 -----  
 DT4 ACACCTGGTTCAAAGGGTTC-----AGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGT  
 B25 ACACCTGGTTCAAAGGGTTC-----AGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGT  
 EU032164 ACACCTGGTTC-----AGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGT  
 M77720 ACACCTGGTTCAAAGGGTTC-----AGTTACTTCAGGTGGTTCAGTT  
 M77717 ACACCTGGTTCAA-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT  
 RT3 ACACCTGGTTCAAAGGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT  
 RC6 ACACCTGGTTCAA-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT  
 X05624 ACACCTGGTTCAA-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT  
 DC4 -----G-----TATTAATGAAGGAACAAGT  
 EU032215 -----  
 M77727 -----G-----TATTAATGAAGGAACAAGT  
 EU032178 -----  
 EU032176 -----  
 RC13 -----G-----TATTAATGAAGGAACAAGT  
 A80 ACACCTGGTTCAAAGGGTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTCAGGT  
 M77722 ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT  
 RT2 ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT  
 DT6 ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT  
 DT15 ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT  
 RT1 ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT

RT4	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
DC11	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
RC2	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
RC7	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
M77721	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
DQ485431	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
DQ485427	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
M77723	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
M77724	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
M77716	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
M77714	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
DC13	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
M77728	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
DC2	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
DT2	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
FJ999664	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
EU032173	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
B27	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
DT1	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
M77726	ACACCTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGT
AF034635	ACACCTGGTTCAG-----GGTGGTTCAGTT
DQ485429	ACACCTGGTTCAG-----GGTGGTTCAGGT
DQ485428	ATACCTGGTTCAGGTGGTTCAG-----GTTACTTCAGGT
DQ485426	ACACCTGGTTCAGGTGGTTCAG-----GTTGCTTCAGGT
DQ485425	---CCTGGTTCAG-----GTTGCTTCAGGT
DQ485432	ATACCTGGTTCAGGTGGTTCAG-----GTTACTTCAGGT
A100	ACACCTGGTTCAG-----GGTGGTTCAGCT
DT9	ACACCTGGTTCAGGTGGTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032222	TCAGTTACTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032217	TCAGTTACTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032223	TCAGTTACTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032172	TCAGTTACTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032188	TCAGGTGGCTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032194	TCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032216	TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032195	TCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032182	TCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGG-----TTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGT
EU032179	TCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGT
EU032199	TCAGTTGCTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032197	TCAGTTGCTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032225	TCAGTTACTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032226	TCAGTTACTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032201	TCAGTTGCTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032202	TCAGTTGCTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032207	TCAGTTGCTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032212	TCAGTTGCTTCAG-----GTGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032192	TCAGGTGGCTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTCAGGT
EU032210	TCAGTTGCTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTCAGGT
RT12	TCAGTTACTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTCAGTT
M77713	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
M77718	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
EU032162	-----GCT
M77715	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
M77719	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
DT12	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
RY3	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
RY7	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
RT6	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
DF10	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
RT14	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
RY5	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
RY14	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
DF12	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
RY6	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT
RC14	ACACCTGGTTCAG-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT



M77725 ACACCTGGTTCAA-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT  
DC6 ACACCTGGTTCAA-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT  
EU032204 ACACCTGGTTCAA-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT  
EU032160 ACACCTGGTTTCAG-----GTGGCTCAGTTGCTTCAGGT  
EU032205 ACACCTGGTTCAA-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT  
EU032161 ACACCTGGTTTCAG-----GTGGCTCAGTTGCTTCAGGT  
EU032211 ACACCTGGTTCAA-----AGGGTTCAGTTGCTTCAGGT  
DF8 -----  
DF15 -----  
DF23 -----  
DF36 -----

DT4 GGTTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
B25 GGTTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
EU032164 GGCTCAG-----TTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTT-----CA  
M77720 ACTTCAG-----GTGGTTCAGTTACTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
M77717 GGTTTCAG-----GTGGTTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCA  
RT3 GGTTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
RC6 GGTTTCAG-----GTGGTTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCA  
X05624 GGTTTCAG-----TTGCTTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCA  
DC4 GGAACAG-----CTGTTACAAC TAGTACACCTGGTTCAAAGGGTTCA  
EU032215 -----G-----CTGTTACAAC TAGTACACCTGGTTCAAAGGGTTCA  
M77727 GGAACAG-----CTGTTACAAC TAGTACACCTGGTTCAAAGGGTTCA  
EU032178 -----G-----CTGTTACAAC TAGTACACCTGGTTCAAAGGGTTCA  
EU032176 -----G-----CTGTTACAAC TAGTACACCTGGTTCAAAGGGTTCA  
RC13 GGAACAG-----CTGTTACAAC TAGTACACCTGGTTCAAAGGGTTCA  
A80 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
M77722 GGTTTCAG-----GTGGTTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCA  
RT2 GGTTTCAG-----GTGGTTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCA  
DT6 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
DT15 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
RT1 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
RT4 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
DC11 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
RC2 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
RC7 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
M77721 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
DQ485431 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTACTTCAGTTGCTTCA  
DQ485427 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGTTACTTCAGTTGCTTCA  
M77723 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGTTACTTCAGTTGCTTCA  
M77724 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGTTACTTCAGTTGCTTCA  
M77716 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGTTACTTCAGTTGCTTCA  
M77714 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGTTACTTCAGTTGCTTCA  
DC13 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTACTTCAGTTGCTTCA  
M77728 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGTTACTTCAGTTGCTTCA  
DC2 GGTTTCAG-----TTACTTCAGGTGGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCA  
DT2 GGTTTCAGGTGGCTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
FJ999664 GGTTTCAGGTGGTTTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA-----  
EU032173 GGTTTCAGGTGGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
B27 GGTTTCAGGTGGTTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
DT1 GGTTTCAGGTGGCTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
M77726 GGTTTCAG-----GTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
AF034635 ACTTCAG-----GTGGTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
DQ485429 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
DQ485428 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
DQ485426 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
DQ485425 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
DQ485432 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
A100 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGCTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
DT9 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
EU032222 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
EU032217 GGTTTCAGGTGGTTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
EU032223 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
EU032172 GGTTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA

EU032188 GG TTCAGG-----TGTT CAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
 EU032194 GG TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
 EU032216 GG TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032195 GG TTCAGGTGG-----TT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032182 GG TTCAGGTGG-----TT CAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032179 GG CTCAGTTGC-----TT CAGGTGGTT CAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032199 GG TTCAGTTGC-----TT CAGGTGGTT CAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032197 GG TTCAGGTGG-----TT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032225 GG TTCAGTTGC-----TT CAGGTGGTT CAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032226 GCTTCAG-----GTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
 EU032201 GG TTCAG-----GTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
 EU032202 GG TTCAG-----GTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGCTCA  
 EU032207 GG TTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGTTCA  
 EU032212 GG TTCAG-----GTGGTTCA  
 EU032192 GG TTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCA  
 EU032210 GG CTCAG-----TTGCTTCA  
 RT12 GCTTCAG-----GTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCA  
 M77713 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 M77718 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 EU032162 GTTACA ACTAG-----TACACCTGGTT CAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 M77715 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 M77719 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 DT12 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 RY3 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 RY7 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 RT6 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----TTCA  
 DF10 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----TTCA  
 RT14 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 RY5 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 RY14 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 DF12 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 RY6 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 RC14 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 M77725 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 DC6 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCA  
 EU032204 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032160 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032205 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032161 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 EU032211 GG TTCAGGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGGTGGTT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 DF8 -----  
 DF15 -----  
 DF23 -----  
 DF36 -----  
  
 DT4 GGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGTTGC-----TT CAGGTGGT  
 B25 GGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGTTGC-----TT CAGGTGGT  
 EU032164 GGTGG-----CT CAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 M77720 GTTGC-----TT CAGTTGCTTCAGTTGC-----TT CAGGTGGT  
 M77717 GGTG-----CTTCAG-----GTGGT  
 RT3 GGTGG-----CT CAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 RC6 GGTGG-----TT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 X05624 GGTGG-----TT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 DC4 GTTGC-----TTCAAGTGGTT CAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 EU032215 GTTGC-----TTCAAGTGGTT CAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 M77727 GTTGC-----TTCAAGTGGTT CAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 EU032178 G-----GTGGT  
 EU032176 G-----GTGGT  
 RC13 GTTGC-----TTCAAGTGGTT CAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 A80 GGTGG-----TT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 M77722 GGTGG-----TT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 RT2 GGTGG-----TT CAGGTGGCTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 DT6 GTTGC-----TT CAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 DT15 GTTGC-----TT CAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT  
 RT1 GTTGC-----TT CAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT

RT4	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
DC11	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
RC2	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
RC7	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
M77721	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
DQ485431	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
DQ485427	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
M77723	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTG-----CTTCAGGTGGT
M77724	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTG-----CTTCAGGTGGT
M77716	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTG-----CTTCAGGTGGT
M77714	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTG-----CTTCAGGTGGT
DC13	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTG-----CTTCAGGTGGT
M77728	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
DC2	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
DT2	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
FJ999664	-----
EU032173	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAG-----GTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
B27	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DT1	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
M77726	GGTGG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAG-----GTGGT
AF034635	GGTGG-----CTCAGTTGCTTTAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DQ485429	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DQ485428	GGTGG-----TTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATA-----
DQ485426	GTTGC-----TTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DQ485425	GGTGG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DQ485432	GGTGG-----TTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATA-----
A100	GGTGG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DT9	GGTGG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032222	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032217	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032223	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032172	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032188	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032194	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032216	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032195	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032182	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032179	GGTGG-----TTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032199	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032197	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032225	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032226	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032201	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032202	GTTGC-----TTCAGGTGGTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032207	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032212	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032192	GTTGC-----TTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032210	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RT12	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
M77713	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
M77718	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
EU032162	GGTGG-----TTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
M77715	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
M77719	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DT12	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RY3	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RY7	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RT6	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DF10	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RT14	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RY5	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RY14	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
DF12	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RY6	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT
RC14	GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT

M77725 GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT  
DC6 GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----TTCAGTTGCTTCAGGTGGT  
EU032204 GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT  
EU032160 GGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGT  
EU032205 GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT  
EU032161 GGTGG-----TTCAGGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT  
EU032211 GGTGG-----CTCAGTTGCTTCAGGTGGT  
DF8 -----  
DF15 -----  
DF23 -----  
DF36 -----  
  
DT4 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
B25 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032164 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77720 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77717 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
RT3 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
RC6 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
X05624 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DC4 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032215 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77727 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032178 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032176 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
RC13 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
A80 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77722 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
RT2 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DT6 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DT15 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
RT1 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
RT4 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DC11 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
RC2 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
RC7 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77721 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DQ485431 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DQ485427 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77723 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77724 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77716 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77714 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DC13 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77728 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DC2 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DT2 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
FJ999664 -----  
EU032173 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
B27 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DT1 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
M77726 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
AF034635 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGT-----  
DQ485429 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGAT-----  
DQ485428 -----  
DQ485426 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATA-----  
DQ485425 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATA-----  
DQ485432 -----  
A100 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
DT9 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032222 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032217 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032223 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032172 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT  
EU032188 TCAGGTAATTC AAGACGTACAAATCCTTCAGATAAATCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT

EU032194	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032216	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032195	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032182	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032179	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032199	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032197	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032225	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032226	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032201	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032202	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032207	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032212	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032192	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032210	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RT12	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
M77713	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
M77718	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032162	TCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
M77715	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
M77719	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
DT12	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RY3	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RY7	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RT6	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
DF10	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RT14	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RY5	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RY14	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
DF12	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RY6	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
RC14	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
M77725	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
DC6	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032204	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032160	TCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032205	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032161	TCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTTCAGGTAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
EU032211	TCAGGTAATTTCAAGACGTACAAATCCTTCAGATAATTTCAAGTGATTCAGATGCTAAATCT
DF8	-----
DF15	-----
DF23	-----
DF36	-----
DT4	TACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTA ACTATCAAAGA ACTCAAATA
B25	TACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTA ACTATCAAAGA ACTCAAATA
EU032164	TACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTA ACTATCAAAGA ACTCAAATA
M77720	TACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTA ACTATCAAAGA ACTCAAATA
M77717	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
RT3	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
RC6	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
X05624	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
DC4	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
EU032215	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
M77727	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
EU032178	TACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTA ACTATCAAAGA ACTCAAATA
EU032176	TACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTA ACTATCAAAGA ACTCAAATA
RC13	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
A80	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
M77722	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
RT2	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
DT6	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
DT15	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
RT1	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA
RT4	TACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTC ACTATTAAGA ACTCAAATA

DC11 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
RC2 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
RC7 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
M77721 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
DQ485431 -----  
DQ485427 -----  
M77723 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
M77724 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
M77716 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
M77714 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
DC13 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
M77728 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
DC2 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
DT2 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
FJ999664 -----  
EU032173 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
B27 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
DT1 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
M77726 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
AF034635 -----  
DQ485429 -----  
DQ485428 -----  
DQ485426 -----  
DQ485425 -----  
DQ485432 -----  
A100 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
DT9 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032222 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032217 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032223 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032172 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032188 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032194 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032216 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032195 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAATTA  
EU032182 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032179 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032199 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAATTA  
EU032197 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAATTA  
EU032225 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032226 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032201 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAATTA  
EU032202 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032207 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAATTA  
EU032212 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAATTA  
EU032192 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
EU032210 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
RT12 TACGCTGATTTAAAAACATAGAGTTCAAAA-TTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATA  
M77713 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
M77718 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
EU032162 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
M77715 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
M77719 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
DT12 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
RY3 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
RY7 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
RT6 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
DF10 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
RT14 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
RY5 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
RY14 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
DF12 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
RY6 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
RC14 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA  
M77725 TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAAATA

DC6	TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATA
EU032204	TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATA
EU032160	TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATA
EU032205	TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATA
EU032161	TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATA
EU032211	TACGCTGATTTAAAAACACAGAGTACGAAA-TTACTTGTTAACTATCAAAGAACTCAAATA
DF8	-----
DF15	-----
DF23	-----
DF36	-----
DT4	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
B25	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
EU032164	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTA-----
M77720	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77717	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTGACTTTATCTAAAAATGTTGAT
RT3	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTGACTTTATCTAAAAATGTTGAT
RC6	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTGACTTTATCTAAAAATGTTGAT
X05624	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTGACTTTATCTAAAAATGTTGAT
DC4	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
EU032215	TCCCGAACTCTTTGATTTAACC-----
M77727	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
EU032178	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTA-----
EU032176	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTA-----
RC13	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
A80	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77722	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RT2	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DT6	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DT15	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RT1	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RT4	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC11	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RC2	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RC7	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77721	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DQ485431	-----
DQ485427	-----
M77723	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77724	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77716	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77714	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC13	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77728	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC2	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DT2	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
FJ999664	-----
EU032173	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
B27	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DT1	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77726	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
AF034635	-----
DQ485429	-----
DQ485428	-----
DQ485426	-----
DQ485425	-----
DQ485432	-----
A100	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DT9	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
EU032222	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCAT-----
EU032217	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032223	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032172	TCCCGAACTCT-----
EU032188	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032194	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----

EU032216	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCAT-----
EU032195	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032182	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032179	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032199	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032197	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032225	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032226	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTG-----
EU032201	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCAT-----
EU032202	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032207	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032212	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032192	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
EU032210	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTA-----
RT12	TCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77713	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77718	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
EU032162	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTA-----
M77715	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77719	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DT12	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RY3	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RY7	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RT6	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DF10	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RT14	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RY5	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RY14	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DF12	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RY6	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RC14	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77725	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC6	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
EU032204	TCCTCAACTCTTTGATTTAACT-----
EU032160	TCCTCAACTCTTTGATTTA-----
EU032205	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTA-----
EU032161	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTA-----
EU032211	TCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTA-----
DF8	-----
DF15	-----
DF23	-----
DF36	-----

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับกรดอะมิโนในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล

MAD20 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับ

ตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา

M77721	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSGGS---VASVASVA-
DT6	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSGGS---VASVASVA-
DC2	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSGG-----SVASVA-
M77723	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSVTSVASVASVASVA-
M77724	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSVTSVASVASVASVA-
M77716	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSVTSVASVASVASVA-
M77714	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSVTSVASVASVASVA-
M77728	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSVT---SVASVASVA-
DC13	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SGGS---VTSGGSVTSGGSGTSVASVASVASVA-
M77727	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASSG-----
RC13	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASSG-----
M77720	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VTSGGSVTSGGSVTSVASVASVASVA-
DT4	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---GGSVASGGSGGSGSVASVASGGGVA-
DF15	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---GASGASGGSGGSGSVASVASGGGVA-
EU032178	-----AVTTSTPG---SKGS---G-----
EU032176	-----AVTTSTPG---SKG-----
M77717	VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVA-----SVASG-----



```

RC6          VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVA-----SVASGGSGG-
X05624      VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSVASVA-----SVASGGSGG-
DQ485426    --NEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSVASGGSVASGGSVASGGSGG-
DQ485425    --NEGTS---G---TAVTISP-----GS---VASGGSVASGG---SGGSVASGGSGG-
DQ485431    --NEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSVTSGG---SGTSVASVASVA-
DQ485427    --NEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSVTSGG---SVTSVASVASVA-
DQ485429    --NEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSVASGG---SGGSVASVASGG-
DQ485428    --NEGTS---G---TAVTTSIPG---SSGS-----VTSGG---S---VASVGGSGG-
AF034635    --NEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVASGGSGGSVALGGSGG-
DQ485432    --NEGTS---G---TAVTTSIPG---SSGS---VTSGGSGG-----FSCSGG-
A100        VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS-----AGSVASGG---SGGSVASGGSGG-
DT9         VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGSVTSGGSGGSVASGG---SGGSVASGGSGG-
A80         VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGSVTSGGSGGSVASGG---SGGSVASGGSGG-
M77726     VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVAS-----VASGGSGG-
M77722     VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVAS-----VASGGSGG-
RT2        VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVAS-----VASGGSGG-
EU032173    -----AVTTSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVASG---GSVASGGSGG-
FJ999664    -----TSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVAS-----VASGG---
DT1        VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SSGS---VTSGGSGGSVASG---GSVASGGSGGS
DF8        VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVASGGSVASVASVASGG-
EU032162    -----AVTTSTPG---SSGS---VASGGSGGSVASGG-----SGG-
M77725     VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGG-
DT12      VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGG-
M77718     VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGG-
M77719     VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGG-
M77715     VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGG-
M77713     VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVASGGSVASGGSVASGG-
DF23      VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVASVGGSGGSVASGG-
EU032211    -----AVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVA---SGGSGGSVASGG-
RT6        VLNEGTS---G---TAVTTSTPG---SKGS---VASGGSGGSVA---SGGSGGSVASGG-
EU032182    AVTTSTPGSKG---SGGSVASGG---SSGS---VASGG-----SGGSVASGGSGGS
EU032188    AVTTSTPGSKG---SGGSVASVA---SSGS---VASGG-----SGGSVASGGSGG-
EU032179    AVTTSTPGSKG---SGGSVASGGSVASGG---VASGG---VASGGSVASGGSVAS-
EU032192    AVTTSTPGSKG---SGGSVASGG---SSGS---VASVA-----SGGSVAS-----
EU032202    AVTTSTPGSKGSVASGGSVASGG---SSGS---VASGG-----SGGSVASG-----
EU032194    AVTTSTP---G---SKGSVASGG---SSGS---VASGG---VASGGSGGSVASG-----
EU032160    AVTTSTP---G---SGGSVASGG---SSGS---VASGGSGGSVASGGSGGSVASG-----
EU032161    AVTTSTP---G---SGGSVASGG---SSGS---VASGG---GGSVASG-----
EU032216    AVTTSTP---G---SKGSVTSGGSGGS---SSGS---VASGG---SGGSVASGGSGGS
EU032222    AVTTSTP---G---SKGSVTSGGSGGS---SSGS---VASGG---SGGSVASGGSGGS
EU032172    AVTTSTP---G---SGGSVTSGGSGGS---SSGS---VASGG---S---VASGGSGGS
EU032223    AVTTSTP---G---SKGSVTSGGSGGS---SSGS---VASGG---SGGSVASGGSGGS
EU032217    AVTTSTP---G---SKGSVTSGGSGGS---SSGS---VASGG---SGGSVASGGSGGS
EU032226    AVTTSTP---G---SKGSVTSGGSGGS---SSGS---VASGG---SGGSVASGGSGGS
EU032225    AVTTSTP---G---SKGSVTSGGSGGS---SSGS---VASGG---SVASGGSVASGG
EU032204    AVTTSTP---G---SKGSVASGG---SSGS---VASGG---SGGSVASGG---
EU032205    AVTTSTP---G---SKGSVASGG---SSGS---VASGG---SGGSVASGG---
EU032195    AVTTSTP---G---SKGSVASGGSVASGGSVASGGSGG-----SGGSVASGGSVAS
EU032199    AVTTSTP---G---SKGSVASGGSVASGGSVASGGSGG-----SGGSVASGG---
EU032197    AVTTSTP---G---SKGSVASGGSVASGGSGGSVA-----SGGSVASGG---
EU032201    AVTTSTP---G---SKGSVASGGSVAS-----GGSGG-----SGGSVASGG---
EU032207    AVTTSTP---G---SKGSVASGGSVAS-----GGGVA-----SGGSGGSGG---
EU032212    AVTTSTP---G---SKGSVASGGSVAS-----GGSGG-----SGGS-----
EU032215    AVTTSTP---G---SKGSVASSG-----
EU032174    AVTTSTP---G---SGGSVTSGGSGGS---SSGS---VASGG-----SVASGG---
EU032210    AVTTSTP---G---SKGSVASGGSGGS---SSGS---VASGG-----SVASGG---
EU032164    AVTTSTP---G---SGGSVASGG---S---VASGG-----SVASG-----
:
M77721     -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSDSDAK
DT6        -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSDSDAK
DC2        -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSDSDAK
M77723     -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSDSDAK
M77724     -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSDSDAK
M77716     -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSDSDAK
M77714     -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSDSDAK

```

```

M77728 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
DC13 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77727 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
RC13 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77720 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
DT4 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
DF15 -----SGAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032178 -----GSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032176 -----S-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77717 -----AS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
RC6 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
X05624 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
DQ485426 -----SVAS---VASGGNSRRTNP-----SD-----
DQ485425 -----SVASGGSVASGGSGNSRRTNP-----SD-----
DQ485431 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SD-----
DQ485427 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SD-----
DQ485429 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SD-----
DQ485428 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SD-----
AF034635 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSS-----
DQ485432 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SD-----
A100 -----SVASGGSVASGGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
DT9 -----SVASGGSVASGGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
A80 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77726 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77722 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
RT2 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032173 --SVA-----SGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
FJ999664 -----
DT1 VASVA-----SGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
DF8 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032162 -----SVAS-----GGSGNS-----SDSDAK
M77725 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
DT12 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77718 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77719 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77715 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77713 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
DF23 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032211 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
RT6 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032182 VASGG---SVASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032188 -----SVASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032179 GGSVA---SGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032192 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032202 -----GSGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032194 -----GSGGSVAS-----GGSGSVASGGSVASGGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032160 -----GSGGSVAS-----GGSGSVASGG-----SGNSSSDSAK
EU032161 -----GSGGSVAS-----GGSGSVASGG-----SGNSSSDSAK
EU032216 GGSVASGGSVASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032222 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032172 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032223 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032217 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032226 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032225 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032204 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032205 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032195 GG-----SVASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032199 -----SVASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032197 -----SVASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032201 -----SVASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032207 -----SVASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032212 -----VASGGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032215 -----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032174 -----GGSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK

```

EU032210	-----SVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
EU032164	-----GSVAS-----GGSGNSRRTNP-----SDNSSSDSAK
M77721	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
DT6	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
DC2	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77723	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77724	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77716	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77714	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77728	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
DC13	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77727	SYADLNIEFKNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
RC13	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77720	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
DT4	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
DF15	SYADLKHRVRNYLLNIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
EU032178	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHML-----
EU032176	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHML-----
M77717	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTSLKNVD
RC6	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTSLKNVD
X05624	TYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTSLKNVD
DQ485426	-----
DQ485425	-----
DQ485431	-----
DQ485427	-----
DQ485429	-----
DQ485428	-----
AF034635	-----
DQ485432	-----
A100	SYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
DT9	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
A80	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77726	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
M77722	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
RT2	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
EU032173	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
FJ999664	-----
DT1	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLCDN IH
DF8	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
EU032162	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHML-----
M77725	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
DT12	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
M77718	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
M77719	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
M77715	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
M77713	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
DF23	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
EU032211	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHML-----
RT6	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLCDN IH
EU032182	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032188	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032179	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032192	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032202	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032194	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032160	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDL-----
EU032161	SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHML-----
EU032216	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNH-----
EU032222	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNH-----
EU032172	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPEL-----
EU032223	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032217	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032226	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032225	SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----

```

EU032204 SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLT-----
EU032205 SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHML-----
EU032195 SYADLKHRVQNYLFTIKELNYPELFDLTNHML-----
EU032199 SYADLKHRVQNYLFTIKELNYPELFDLTNHML-----
EU032197 SYADLKHRVQNYLFTIKELNYPELFDLTNHML-----
EU032201 SYADLKHRVQNYLFTIKELNYPELFDLTNH-----
EU032207 SYADLKHRVQNYLFTIKELNYPELFDLTNHML-----
EU032212 SYADLKHRVQNYLFTIKELNYPELFDLTNHML-----
EU032215 SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLT-----
EU032174 SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032210 SYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHML-----
EU032164 SYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHML-----

```

**แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats ของ  
กลุ่มอัลลีล K1 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา  
ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา**

```

RC3 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
B9 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAA-----
DT14 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
M77733 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
M77730 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
RC1 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
DC12 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
DC5 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
DC3 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
X03371 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
M77734 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
M77729 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
B13 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
A31 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
RT13 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
M77732 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
M77731 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
RC10 ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
DQ485418 -----AATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCTCAAAGTGGTCAAGTGCT---CAA
DQ485419 -----AATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGAAGTGGTACAAGTAGTACACCA
DQ485420 -----AATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGGTCAAAGTGGTA---CA
DQ485423 -----AATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTACTGCTCAAAGTGGTA---CA
DQ485421 -----AATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGC---AAGTGCTCAAAGTGGTA---CA
***** * * * *

```

```

RC3 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
B9 -----AGTGGT
DT14 AGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
M77733 AGTGGTACA-----AGTG--
M77730 AGTGGTACA-----AGTGGT
RC1 AGTGGTACA-----AGTGGT
DC12 AGTGGTACA-----AGTGGT
DC5 AGTGGTACA-----AGTGGT
DC3 AGTGGTACA-----AGTGGT
X03371 AGTGGTACA-----AGTGGT
M77734 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
M77729 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
B13 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
A31 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
RT13 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
M77732 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
M77731 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT
RC10 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGT
DQ485418 AGTGGTGAAGTGTCAAAGTGGTGAAGTGTACA-----AGTGGT
DQ485419 AAAGGTGAAGTGTCAAAGTGGTGAAGTGGTACA-----AGTGGT

```

DQ485420 AGTGCTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT  
 DQ485423 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT  
 DQ485421 AGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACA-----AGTGGT

\*\*\*\*

RC3 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 B9 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DT14 ACAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 M77733 -----GTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 M77730 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 RC1 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DC12 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DC5 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DC3 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 X03371 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 M77734 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 M77729 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 B13 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 A31 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 RT13 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 M77732 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 M77731 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 RC10 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DQ485418 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DQ485419 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DQ485420 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DQ485423 CCAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT  
 DQ485421 ACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGTGGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCT

\*\*\*\*\*

RC3 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 B9 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 DT14 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 M77733 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 M77730 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 RC1 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 DC12 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 DC5 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 DC3 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 X03371 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 M77734 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 M77729 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 B13 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 A31 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 RT13 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 M77732 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 M77731 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 RC10 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTGAGATGCTAAA  
 DQ485418 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCA-----  
 DQ485419 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCA-----  
 DQ485420 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCA-----  
 DQ485423 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGC-----  
 DQ485421 CGTTCAAATACTTCATCTGGTGCAAGCCCTCCAGCTGATGCAAGCA-----

\*\*\*\*\*

RC3 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAA  
 B9 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAA  
 DT14 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAA  
 M77733 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAA  
 M77730 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAA  
 RC1 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAA  
 DC12 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAA  
 DC5 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAA  
 DC3 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAA  
 X03371 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTAACTATCAAAGAAGCTCAA  
 M77734 TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAA

M77729	TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAA
B13	TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAA
A31	TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAA
RT13	TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAA
M77732	TCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAA
M77731	TCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAA
RC10	TCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAACTCAAA
DQ485418	-----
DQ485419	-----
DQ485420	-----
DQ485423	-----
DQ485421	-----
RC3	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
B9	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DT14	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77733	TATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77730	TATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RC1	TATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC12	TATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC5	TATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DC3	TATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
X03371	TATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77734	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77729	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
B13	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
A31	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RT13	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77732	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
M77731	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
RC10	TATCCCGAACTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DQ485418	-----
DQ485419	-----
DQ485420	-----
DQ485423	-----
DQ485421	-----

**แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับกรดอะมิโนในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา**

DQ485420	--NEEEIITTKGAS-GTSGTSATSGTS-----GTSGTSGTSGPSGSPSGTSPSSR
DQ485423	--NEEEIITTKGASTAQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGPSGSPSGTSPSSR
X03371	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GTSGTSGPSGSPSGTS---PSSR
M77733	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GTS---GPSGSPSGTS---PSSR
M77730	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GTSGTSGPSGSPSGTS---PSSR
DC3	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GTSGTSGPSGSPSGTS---PSSR
DC5	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GTSGTSGPSGSPSGTS---PSSR
DC12	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GTSGTSGPSGSPSGTS---PSSR
RC1	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GTSGTSGPSGSPSGTS---PSSR
DT14	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GTSGTSGTSGPSGTSPTSPSSR
RC3	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGPSGSPSGTS---PSSR
B9	ILNEEEIITTKGAS-AQSGTS-----GPSGSPSGTS---PSSR

```

B13          ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
A31          ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
RT13        ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
M77734      ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
M77729      ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
M77732      ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
M77731      ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTS-----GTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
RC10        ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTSGTSG-----TSGTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
DQ485421    --NEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTSGTSG-----TSGTSGPSPGSGTSPSSR
AY714586    ILNEEEIITTKGAS-AQSGTSGTSGTSGTSGPSPGSGTSGTSGTSGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
DQ485418    --NEEEIITTKGAQSG-ASAQSGASAQS-----GASATSGTSGPSPGSGTSPSSR
DQ485419    --NEEEIITTKGARSGT-SSTPKGASAQS-----GASGTSGTSGPSPGSGTSPSSR
            *****.*. . :.:                               *.*****.* ****
    
```

```

DQ485420    SNTLPRSNTSSGASPPADAS-----
DQ485423    SNTLPRSNTSSGASPPADAS-----
X03371      SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLC
M77733      SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLC
M77730      SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLC
DC3         SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLC
DC5         SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLC
DC12        SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLC
RC1         SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLTLC
DT14        SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
RC3         SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
B9          SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
B13         SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
A31         SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
RT13        SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
M77734      SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
M77729      SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
M77732      SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
M77731      SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
RC10        SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLTLC
DQ485421    SNTLPRSNTSSGASPPADAS-----
AY714586    SNTLPRSNTSSGASPPADASSDSDAKSYADLKHRVRNYLFTIKELKYPELFD-----
DQ485418    SNTLPRSNTSSGASPPADAS-----
DQ485419    SNTLPRSNTSSGASPPADAS-----
            *****
    
```

```

DQ485420    ----
DQ485423    ----
X03371      DNIH
M77733      DNIH
M77730      DNIH
DC3         DNIH
DC5         DNIH
DC12        DNIH
RC1         DNIH
DT14        DNIH
RC3         DNIH
B9          DNIH
B13         DNIH
A31         DNIH
RT13        DNIH
M77734      DNIH
M77729      DNIH
M77732      DNIH
M77731      DNIH
RC10        DNIH
DQ485421    ----
AY714586    ----
DQ485418    ----
DQ485419    ----
    
```

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats ของ  
กลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างที่พบใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ  
จ.ตาก ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

```
X05624      GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
RT3         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
RT4         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DF36        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
RT1         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DT15        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DT6         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DT1         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DT2         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
B27         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
RT2         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
A80         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DT9         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCAAAAGGGT
A100        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
RT12        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCAAAAGGGT
DT4         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
B25         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DF15        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DT12        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
RT14        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DF12        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
RT6         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DF10        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DF23        GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
DF8         GTATTAATGAAGGAACAAGTGG AACAGCTGTTACA AACTAGTACACCTGGTTCA-----
*****
```

```
X05624      -----A-----GTGGTTCAGTTACTTCAGGTGG-----
RT3         -----AAGGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGG-----
RT4         -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----T-----
DF36        -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----T-----
RT1         -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----T-----
DT15        -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----T-----
DT6         -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAG-----T-----
DT1         -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----CTCAGTT
DT2         -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----CTCAGTT
B27         -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTT
RT2         -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
A80         -----AAGGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
DT9         TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGG-----
A100        -----GGTGGTTCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
RT12        TCAGTTACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGG-----
DT4         -----AAGGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGG-----
B25         -----AAGGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGG-----
DF15        -----AAGGGTTCAGGTGGCTTCAGGTGGCTTCAGGTGG-----
DT12        -----AAGGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
RT14        -----AAGGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
DF12        -----AAGGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
RT6         -----AAGGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
DF10        -----AAGGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
DF23        -----AAGGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
DF8         -----AAGGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGG-----
*      * * * * *
```

```
X05624      -----TTCAGTTGCTTCAG-----TTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAG
RT3         -----TTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAG
RT4         -----TACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG
DF36        -----TACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG
RT1         -----TACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG
DT15        -----TACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAG
```



DT6 -----TACTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
 DT1 GCTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
 DT2 GCTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
 B27 GCTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
 RT2 -----TTCAGTTGCTTCAG-----TTGCTTCAGGTGGTTCAG  
 A80 -----TTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAG  
 DT9 -----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 A100 -----CTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 RT12 -----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 DT4 -----TTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCA  
 B25 -----TTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCA  
 DF15 -----TTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCA  
 DT12 -----CTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
 RT14 -----CTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 DF12 -----CTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 RT6 -----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 DF10 -----CTCAGTTGCTTCAGGTGG-----TTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 DF23 -----TTCAGTTGCTTCAGTTGGTTCAGGTGGTTCAGGTGGCTCAGTTGCTTCA  
 DF8 -----CTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCAGTTGCTTCA  
 \* \*\*

X05624 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT3 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT4 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DF36 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT1 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT15 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT6 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT1 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT2 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 B27 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT2 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 A80 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT9 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 A100 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT12 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT4 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 B25 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DF15 GTTGCTTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DT12 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT14 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DF12 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 RT6 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DF10 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DF23 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 DF8 GGTGGCTCAGTTGCTTCAGGTGGTTCAGGTAATTCAGACGTACAAATCCTTCAGATAAT  
 \* \*\*

X05624 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT3 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT4 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DF36 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT1 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT15 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT6 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT1 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT2 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 B27 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 RT2 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 A80 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT9 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 A100 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
 RT12 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACATAGAGTTCAAAATTACTTG  
 DT4 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
 B25 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG

DF15 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
DT12 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
RT14 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
DF12 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
RT6 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
DF10 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
DF23 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
DF8 TCAAGTGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGAGTACGAAATTACTTG  
\*\*\*\*\* \* \*\*\*\*\*

X05624 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTGACT  
RT3 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTGACT  
RT4 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
DF36 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
RT1 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
DT15 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
DT6 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
DT1 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
DT2 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
B27 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
RT2 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
A80 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
DT9 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
A100 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
RT12 TTCACTATTAAGAAGTCAAATATCCCGAAGTCTTTGATTTAACCAATCATATGTTAACT  
DT4 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
B25 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
DF15 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
DT12 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
RT14 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
DF12 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
RT6 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
DF10 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
DF23 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
DF8 TTAAGTATCAAAGAAGTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACTAATCATATGTTAACT  
\*\* \* \*\*\* \*\*\*\*\*

X05624 TTATCTAAAAATGTTGAT  
RT3 TTATCTAAAAATGTTGAT  
RT4 TTGTGTGATAATATTCAT  
DF36 TTGTGTGATAATATTCAT  
RT1 TTGTGTGATAATATTCAT  
DT15 TTGTGTGATAATATTCAT  
DT6 TTGTGTGATAATATTCAT  
DT1 TTGTGTGATAATATTCAT  
DT2 TTGTGTGATAATATTCAT  
B27 TTGTGTGATAATATTCAT  
RT2 TTGTGTGATAATATTCAT  
A80 TTGTGTGATAATATTCAT  
DT9 TTGTGTGATAATATTCAT  
A100 TTGTGTGATAATATTCAT  
RT12 TTGTGTGATAATATTCAT  
DT4 TTGTGTGATAATATTCAT  
B25 TTGTGTGATAATATTCAT  
DF15 TTGTGTGATAATATTCAT  
DT12 TTGTGTGATAATATTCAT  
RT14 TTGTGTGATAATATTCAT  
DF12 TTGTGTGATAATATTCAT  
RT6 TTGTGTGATAATATTCAT  
DF10 TTGTGTGATAATATTCAT  
DF23 TTGTGTGATAATATTCAT  
DF8 TTGTGTGATAATATTCAT  
\*\* \* \* \* \*\* \* \*\* \*

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับกรดอะมิโนในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล MAD20 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างที่พบใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

M77718	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVASGGGVA-----SGGSVAS
DT12	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVASGGGVA-----SGGSVAS
M77725	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVASGGGVA-----SGGSVAS
M77713	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVASGGGVA-----SGGSVAS
M77715	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVASGGGVA-----SGGSVAS
M77719	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVASGGGVA-----SGGSVAS
DF23	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVASVGGSGG-----SGGSVAS
RT6	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVA---SGG-----SGGSVAS
DF8	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASGGSGGSVASGGGVA-----SVASVAS
M77721	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSGG-----SVASVAS
DT6	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSGG-----SVASVAS
DC11	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSGG-----SVASVAS
M77723	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSVTSA-----SVASVAS
M77724	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSVTSA-----SVASVAS
M77716	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSVTSA-----SVASVAS
M77714	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSVTSA-----SVASVAS
DC13	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSGTSA-----SVASVAS
M77728	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSVT-----SVASVAS
DC2	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSVTSGGSGG-----SVAS
M77720	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVTSGGSVTSGGSVTSA-----SVASVAS
DT4	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVTSGGSVTSGGSGG-----SVASGGG
DF15	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVTSGGSVTSGGSGG-----SVASGGG
M77727	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVAS-----SG-----
RC13	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVASSG-----
DT1	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSGGSVASGGGVA-----SVASVAS
DT9	VLNEGTSGTAVTTSTPGSKGSVTSGGSGGSVASGGGVA-----SVASGGG
A100	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSGGSVASGGGVA-----SVASGGG
A80	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----KGSVTSGGSGGSVASGGGVA-----SVASGGG
M77726	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSGGSVAS-----VASGGG
M77722	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSGGSVAS-----VASGGG
RT2	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----GGSVTSGGSGGSVAS-----VASGGG
M77717	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----SGSVTSGGSGGSVAS-----VASG--
RC6	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----SGSVTSGGSGGSVAS-----VASGGG
X05624	VLNEGTSGTAVTTSTPGS-----SGSVTSGGSGGSVAS-----VASGGG
	***** ** *
M77718	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
DT12	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
M77725	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
M77713	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
M77715	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
M77719	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
DF23	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
RT6	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
DF8	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
M77721	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT6	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DC11	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77723	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77724	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77716	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77714	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DC13	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77728	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DC2	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77720	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
DT4	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
DF15	VASVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVRNYLLTIKELKYPQLFDLTNHMLT
M77727	--SVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLNIEFKNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
RC13	--SVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT

DT1	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
DT9	---VASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
A100	---VASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
A80	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77726	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77722	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
RT2	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
M77717	---ASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
RC6	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDAKSYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT
X05624	GGSVASGGSGNSRRTNPSDNSSSDNTKYADLKHRVQNYLFTIKELKYPELFDLTNHMLT *****:.*:****: ..:***:.*****:*****
M77718	LCDNIH
DT12	LCDNIH
M77725	LCDNIH
M77713	LCDNIH
M77715	LCDNIH
M77719	LCDNIH
DF23	LCDNIH
RT6	LCDNIH
DF8	LCDNIH
M77721	LCDNIH
DT6	LCDNIH
DC11	LCDNIH
M77723	LCDNIH
M77724	LCDNIH
M77716	LCDNIH
M77714	LCDNIH
DC13	LCDNIH
M77728	LCDNIH
DC2	LCDNIH
M77720	LCDNIH
DT4	LCDNIH
DF15	LCDNIH
M77727	LCDNIH
RC13	LCDNIH
DT1	LCDNIH
DT9	LCDNIH
A100	LCDNIH
A80	LCDNIH
M77726	LCDNIH
M77722	LCDNIH
RT2	LCDNIH
M77717	LSKNVD
RC6	LSKNVD
X05624	LSKNVD *..*:. .

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับนิวคลีโอไทด์ในบริเวณ tripeptide repeats ของ  
กลุ่มอัลลีล K1 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างที่พบใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.  
ตาก ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

```
RT13      ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT
B9         ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT
A31       ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT
DT14      ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT
B13       ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT
X03371    ATCTTAAATGAAGAAGAAATTACTACAAAAGGTGCAAGTGCTCAAAGTGGTACAAGTGGT
*****
```

```
RT13      ACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGT
B9         -----CCAAGTGGTCCAAGT
A31       ACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGT
DT14      ACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGT-----GTCCAAGTGGTACAAGT
B13       ACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTACAAGTGGTCCAAGTGGTCCAAGT
X03371    ACAAGTGGTACAAGTGGT-----CCAAGTGGTCCAAGT
*****
```

```
RT13      GGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA
B9         GGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA
A31       GGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA
DT14      GGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA
B13       GGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA
X03371    GGTACAAGTCCATCATCTCGTTCAAACACTTTACCTCGTTCAAATACTTCATCTGGTGCA
*****
```

```
RT13      AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGA
B9         AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGA
A31       AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGA
DT14      AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGA
B13       AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGA
X03371    AGCCCTCCAGCTGATGCAAGCGATTCAGATGCTAAATCTTACGCTGATTTAAAACACAGA
*****
```

```
RT13      GTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC
B9         GTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC
A31       GTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC
DT14      GTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC
B13       GTACGAAATTACTTGTTCACTATTAAGAAGCTCAAATATCCCGAACTCTTTGATTTAACC
X03371    GTACGAAATTACTTGTTCACTATCAAGAAGCTCAAATATCCTCAACTCTTTGATTTAACC
*****
```

```
RT13      AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
B9         AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
A31       AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
DT14      AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
B13       AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
X03371    AATCATATGTTAACTTTGTGTGATAATATTCAT
*****
```

แสดงผลการเปรียบเทียบของลำดับกรดอะมิโนในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล K1 ของยีน *PfMsp-1* จากตัวอย่างที่พบใน อ.ท่าสองยาง และ อ.พบพระ จ.ตาก ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

```
RT13      I L N E E E I T T K G A S A Q S G T S G T S G T S G T S G T S G T S G P S G P S G T S P S S R S N T L P R S N T S S G A
B9        I L N E E E I T T K G A S A Q S G T S -----G P S G P S G T S P S S R S N T L P R S N T S S G A
A31      I L N E E E I T T K G A S A Q S G T S G T S G T S G T S G T S G T S G P S G P S G T S P S S R S N T L P R S N T S S G A
DT14     I L N E E E I T T K G A S A Q S G T S G -----T S G T S G T S G P S G T S G T S P S S R S N T L P R S N T S S G A
B13      I L N E E E I T T K G A S A Q S G T S G T S G T S G T S G T S G T S G P S G P S G T S P S S R S N T L P R S N T S S G A
X03371   I L N E E E I T T K G A S A Q S G T S G -----T S G T S G P S G P S G T S P S S R S N T L P R S N T S S G A
*****                                     ****.*****
```

```
RT13      S P P A D A S D S D A K S Y A D L K H R V R N Y L F T I K E L K Y P E L F D L T N H M L T L C D N I H
B9        S P P A D A S D S D A K S Y A D L K H R V R N Y L F T I K E L K Y P E L F D L T N H M L T L C D N I H
A31      S P P A D A S D S D A K S Y A D L K H R V R N Y L F T I K E L K Y P E L F D L T N H M L T L C D N I H
DT14     S P P A D A S D S D A K S Y A D L K H R V R N Y L F T I K E L K Y P E L F D L T N H M L T L C D N I H
B13      S P P A D A S D S D A K S Y A D L K H R V R N Y L F T I K E L K Y P E L F D L T N H M L T L C D N I H
X03371   S P P A D A S D S D A K S Y A D L K H R V R N Y L L T I K E L K Y P Q L F D L T N H M L T L C D N I H
*****.*****.*****
```

แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโน ในบริเวณ tripeptide repeats ของกลุ่มอัลลีล RO33 ของยีน *PfMSP1* จากตัวอย่างที่พบใน จ.ตาก จ.จันทบุรี และ จ.ยะลา ร่วมกับตัวอย่างที่เคยมีการศึกษา

```
EU032265 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032263 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032267 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032271 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032269 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032275 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032273 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032270 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032268 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032266 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032264 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032262 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032272 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032274 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032276 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D N S -----
EU032260 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D D S -----
EU032261 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P D A A N P S D D S -----
EU032258 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K D A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032256 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K D A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032259 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K D A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032257 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K D A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032254 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T N G A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032252 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T N G A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032255 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T N G A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032253 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T N G A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032251 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T N G A I R S P G A A N P S D D S -----
EU032250 -----K P A D A V S T E S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D D S -----
EU037095 -----K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D D S -----
DQ485448 --K D G A N T Q V V A K P A E A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I S S P G A A N P S D -----
DQ485450 --K D G A N T Q V V --P A E A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D -----
DQ485451 --K D G A N T Q V V A K P A E A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D E -----
DQ485449 --K D G A N T Q V V A K P A D A V S T Q S A K N P P G A T L P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D -----
DQ485445 --K D G A N T Q V V A K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D -----
DC14     V L K D G A N T Q V V A K P A G A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D D S S D S D A K
M77735  V L K D G A N T Q V V A K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D D S S D S D A K
AB276005 V L K D G A N T Q V V A K P A D A V S T Q S A K N P P G A T V P S G T A S T K G A I R S P G A A N P S D D S S D S D A K
** ****:*****:*****:.* ** .*****
```

## ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาววดีภรณ์ สายชนะพันธ์ เกิดเมื่อวันที่ 10 สิงหาคม พ.ศ. 2529 จังหวัดสงขลา สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2550 และเข้าศึกษาต่อ ในหลักสูตรหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาปรสิตวิทยาทางการแพทย์ ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2552