

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. ผลการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาถูกโซ่พอลิเมอเรส

1.1 ผลผลิต PCR ของ block 1 ถึง block 5

จากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในส่วน 5' ของยีน MSP1 ตั้งแต่ block 1 ถึง block 5 โดยใช้ PCR primers 2 สาย คือ P1 และ P2 โดย P1 มีความยาว 27 bp และ P2 มีความยาว 30 bp เมื่อนำผลิตภัณฑ์ของ PCR ที่ได้จากตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ด้วยอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส ความเข้มข้น 1% พบว่าผลิตภัณฑ์ PCR ในแต่ละตัวอย่างจะมีแถบของดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวโดยจะมีความยาวแตกต่างกันเล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 9 เมื่อทำการวัดขนาดหาความยาวของผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของดีเอ็นเอ ϕ X174/HaeIII พบว่าไอโซเลตที่ 806, 807, 815, 827, 834, 836, 837, 841, 843, TD500, TM142R, TP21 และสายพันธุ์ T9/94, TM142RCB2 มีความยาว 1080 bp ไอโซเลตที่ 822, 838, 842, 947, TD503, TP4, TP20, TP26, TP34 และ TP40 มีความยาว 1060 bp และไอโซเลตที่ 946, K1, K31 และสายพันธุ์ K31CB1, K31CB2, K31CB3 มีความยาว 1050 bp โดยที่ขนาดความยาวที่ได้นี้จะมีค่า ใกล้เคียงกับความยาวของนิวคลีโอไทด์ของอัลลีล RO33, K1 และ MAD20 ในช่วง block 1 ถึง block 5 คือ 1055, 1064 และ 1079 bp ตามลำดับ โดยในแต่ละกลุ่มอัลลีลยังมีความยาวแตกต่างกันอีกด้วย เนื่องจากในบริเวณ block 2 ของยีน MSP1 ของอัลลีล K1 และ MAD20 มีลักษณะเป็น tripeptide repeats ซึ่งมีความยาวต่างกันในแต่ละไอโซเลต และยังพบว่าในไอโซเลตที่ 834 และ 841 จะมีความกว้างของแถบดีเอ็นเอมากกว่าตัวอย่างอื่นๆ ซึ่งอาจ เกิดจากการปะปนของอัลลีลมากกว่า 1 แบบ ในไอโซเลตทั้งสองนี้

1.2 ผลผลิต PCR ของ block 5 ถึง block 13

PCR primers ที่ใช้ในเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในส่วน block 5 ถึง block 13 ของยีน MSP1 คือ P3 และ P4 โดย P3 มีความยาว 21 bp ส่วน P4 มีความยาว 26 bp ผลผลิตของ PCR ที่ได้จากตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่าง เมื่อนำไปตรวจสอบด้วยอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส ความเข้มข้น 1% พบว่าผลผลิต PCR ในแต่ละตัวอย่างจะมีแถบของดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวโดยจะมีความยาวแตกต่างกันเพียง 2 ขนาด ดังแสดงในรูปที่ 26, 27 และ 28 โดยเมื่อทำการวัดขนาดหาความยาวของผลผลิต PCR ที่ได้โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของดีเอ็นเอ Lambda/HindIII พบว่าไอโซเลตที่ 806, 827, 837, K1, K31, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3 มีความยาว 2260 bp แสดงว่ามีรูปแบบของอัลลีลเป็นแบบ K1 และไอโซเลตที่ 807, 815, 836, 838, 841, 842, 843, 946, 947, TD500, TD503, TM142R, TP4, TP20, TP21, TP26, TP34 และ สายพันธุ์ TM142RCB2 มีความยาว 1750 bp แสดงว่ามีอัลลีลเป็นแบบ MAD20 และ ในไอโซเลต 822 และ 834 จะมีแถบดีเอ็นเอที่กว้างกว่าแถบดีเอ็นเออื่น ซึ่งอาจเป็นเพราะมีการปะปนของอัลลีล K1 และ MAD20 ขนาดความยาวที่ได้นี้จะมีค่าใกล้เคียงกับความยาวของนิวคลีโอไทด์ของอัลลีล K1 และ MAD20 ในช่วง block 5 ถึง block 13 คือ 2252 และ 2357 bp ตามลำดับ

1.3 ผลผลิตจาก PCR ของ block 12 ถึง block 17

ความยาวของผลผลิตที่ได้จาก PCR primers P5 ที่มีความยาว 21 bp และ P6 จำนวน 21 bp เมื่อนำผลผลิตของ PCR ที่ได้จากตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ผลผลิตที่ได้โดย อะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส ความเข้มข้น 1% พบว่าผลผลิต PCR ในแต่ละตัวอย่างจะมีแถบของดีเอ็นเอเพียงแถบเดียวโดยจะมีความยาวแตกต่างกันเล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 29, 30 และ 31 เมื่อทำการวัดขนาดหาความยาวของผลผลิต PCR ที่ได้โดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของดีเอ็นเอ Lambda/HindIII/EcoRI พบว่าไอโซเลตที่ 806, 827, 837, K1, K31, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3 มีความยาว 1660 bp แสดงว่ามีอัลลีลเป็นแบบ K1 และไอโซเลตที่ 807, 815, 836, 838, 841, 842, 843, 946, 947, TD500, TD503, TM142R, TP4, TP20, TP21, TP26, TP34 และ สายพันธุ์ TM142RCB2 มีความยาว 1750 bp แสดงว่ามีอัลลีลเป็นแบบ MAD20 และในไอโซเลต 822 และ 834 จะมีแถบดีเอ็นเอที่กว้างกว่าแถบดีเอ็นเออื่น ซึ่งอาจเป็นเพราะมีการปะปนของอัลลีล K1 และ MAD20 โดยที่ขนาดความยาวที่ได้นี้จะมีค่าใกล้เคียงกับความยาวของนิวคลีโอไทด์ของอัลลีล K1 และ MAD20 ในช่วง block 12 ถึง block 17 คือ 1651 และ 1741 bp

ตามลำดับ

ผลจากการวิเคราะห์ผลผลิต PCR ที่ได้ โดยใช้ PCR primers ทั้ง 3 คู่ดังที่ได้กล่าวมาแล้วจะเห็นว่า ผลผลิตของ PCR ที่ได้ใน primer แต่ละคู่จะมีความยาวแตกต่างกันทำให้สามารถวิเคราะห์รูปแบบของอัลลีลในแต่ละบริเวณได้โดยการเปรียบเทียบกับอัลลีล K1, MAD20 และ RO33 ที่มีผู้ศึกษามาก่อนแล้ว โดยรูปแบบของอัลลีลในช่วง block 5 ถึง block 13 และ block 12 ถึง block 17 จะมีรูปแบบของอัลลีลเพียง 2 รูปแบบ คือ K1 type หรือ MAD20 type และอาจมีการปะปนของอัลลีล 2 แบบนี้ภายในไอโซเลตเดียวกันได้ ส่วนในบริเวณ block 1 ถึง block 5 ผลผลิต PCR ที่ได้จะมีความแตกต่างกันของความยาวได้มากกว่า 1 รูปแบบ เนื่องจากเป็นบริเวณที่น่าจะเกิด genetic recombination ได้ในระหว่างการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และมีส่วนของ tripeptide repeats ในบริเวณ block 2 จึงทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ลักษณะของอัลลีลได้ ซึ่งจะนำไปวิเคราะห์โดยการตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในที่อยู่ในอัลลีลแต่ละชนิด

2. ผลการตัดผลผลิตของ PCR ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายใน และแยกด้วย อะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส

2.1 ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 2 ด้วยเอ็นไซม์ *PstI* หรือ *AluI*

เมื่อพิจารณาลำดับดีเอ็นเอตั้งแต่ block 1 ถึง block 5 ของ K1, MAD20 และ RO33 จะพบตำแหน่งตัดโดยเอ็นไซม์ *AluI* และ *PstI* แตกต่างกัน กล่าวคือ K1 มีตำแหน่งตัดของ *AluI* ใน block 1 (นิวคลีโอไทด์ที่ 99 ถึง 102) และใน block 3 มีตำแหน่งตัด 2 ตำแหน่ง (นิวคลีโอไทด์ที่ 315 ถึง 318 และ นิวคลีโอไทด์ที่ 813 ถึง 816) ดังนั้นผลผลิต PCR ของ K1 ตั้งแต่ block 1 ถึง 5 เมื่อใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวตัดจึงมีขนาด 51, 216, 299 และ 498 bp สำหรับ MAD20 มีตำแหน่งตัดของ *AluI* ใน block 1 และ block 2 (นิวคลีโอไทด์ที่ 234 ถึง 237 และ นิวคลีโอไทด์ที่ 315 ถึง 318 ตามลำดับ) แต่จะมีตำแหน่งตัดใน block 3 เพียงตำแหน่งเดียว (นิวคลีโอไทด์ที่ 957 ถึง 960) ดังนั้นผลผลิต PCR ของ MAD20 ตั้งแต่ block 1 ถึง 5 เมื่อใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวตัดจึงมีขนาด 51, 81, 305 และ 642 bp ส่วน RO33 จะมีตำแหน่งตัดของ *AluI* ใน block 1 และ block 3 (นิวคลีโอไทด์ที่ 435 ถึง 438 และ นิวคลีโอไทด์ที่ 1140 ถึง 1143) ดังนั้นผลผลิต PCR ของ RO33 ตั้งแต่ block 1 ถึง 5 เมื่อใช้เอ็น

ไซม์ดังกล่าวตัดจึงมีขนาด 51, 299 และ 705 bp ส่วนเอ็นไซม์ *PstI* มีตำแหน่งตัดเฉพาะใน block 2 ของ RO33 เท่านั้น (นิวคลีโอไทด์ที่ 530 ถึง 535) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ PCR ของ RO33 ตั้งแต่ block 1 ถึง 5 เมื่อถูกตัดด้วยเอ็นไซม์ดังกล่าวจึงมีขนาด 145 และ 906 bp

ผลการตัดผลิตภัณฑ์ของ PCR จาก block 1 ถึง block 5 ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายใน 2 ชนิดคือ *PstI* หรือ *AluI* โดยผลิตภัณฑ์ของ PCR ทั้ง 30 ตัวอย่างจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ส่วน เพื่อนำไปย่อยภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละเอ็นไซม์ จากนั้นนำไปวิเคราะห์รูปแบบโดยแยกในอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส ที่มีความเข้มข้น 1.7% และใช้ดีเอ็นเอมาตรฐาน 2 ชนิดคือ ดีเอ็นเอ *Lambda/HindIII/EcoRI* และดีเอ็นเอ *ØX174/HaeIII* เป็นตัวเปรียบเทียบขนาดความยาวของแถบดีเอ็นเอที่ได้ ดังแสดงในรูปที่ 10 ถึง 19 พบว่าเมื่อใช้เอ็นไซม์ *PstI* ตัดผลิตภัณฑ์ PCR ของไอโซเลต 838, 841, TM142R, TP34 และสายพันธุ์ TM142RCB2 จะมีได้แถบดีเอ็นเอ 2 แถบที่มีความยาว 910 bp และ 155 bp ซึ่งแถบที่มีขนาด 155 bp นี้่าจมองเห็นไม่ชัดเจนในบางตัวอย่างเนื่องจากปริมาณดีเอ็นเอมีน้อย และมีขนาดสั้น แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 2 เป็น RO33 สำหรับไอโซเลต 806, 807, 815, 822, 827, 834, 836, 837, 842, 843, 946, 947, K1, TD500, TD503, K31, TP4, TP20, TP21, TP26, TP40 และ สายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3 จะมีขนาดเท่ากับแถบดีเอ็นเอที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR ของแต่ละตัวอย่างแสดงว่าไอโซเลตเหล่านี้ไม่มีตำแหน่งตัดของเอ็นไซม์ *PstI* รูปแบบของอัลลีลใน block 2 ในตัวอย่างเหล่านี้จึงไม่ใช่ RO33 เมื่อใช้เอ็นไซม์ *AluI* ตัดผลิตภัณฑ์ PCR ของไอโซเลต 806, 834, 841, 946, K1, TP20, TP21 และ TP26 พบแถบดีเอ็นเอมีขนาด 500, 300 และ 200 bp แสดงว่าไอโซเลตเหล่านี้มีอัลลีลใน block 2 เป็น K1 สำหรับไอโซเลต 806, 807, 815, 822, 827, 834, 836, 837, 842, 843, 947, TD500, TD503, K31, TP4, TP20, TP21, TP34, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3 เมื่อตัดด้วย *AluI* พบแถบดีเอ็นเอขนาด 650 และ 300 bp แสดงว่ามีรูปแบบอัลลีลเป็นแบบ MAD20 ดังนั้นไอโซเลต 806, 834, TP20 และ TP21 มีการปะปนของอัลลีลใน block 2 ทั้งชนิด K1 และ MAD20 โดยไอโซเลต 806 และ TP21 มีอัลลีล K1 น้อยกว่า MAD20 โดยเปรียบเทียบจากความเข้มของแถบดีเอ็นเอ สำหรับไอโซเลต 834 มีอัลลีล K1 มากกว่าอัลลีล MAD20 ไอโซเลต TP20 ประกอบด้วย อัลลีล K1 น้อยกว่า MAD20 นอกจากนี้ไอโซเลต 841 มีการปะปนของอัลลีล RO33 และ K1 โดยพบอัลลีล RO33 มากกว่า และ ไอโซเลต TP34 มีอัลลีล MAD20 มากกว่า อัลลีล RO33

2.2 ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 4 ด้วยเอ็นไซม์ *HaeIII*

เมื่อพิจารณาลำดับดีเอ็นเอตั้งแต่ block 1 ถึง block 5 ของ K1 และ MAD20 จะพบตำแหน่งตัดโดยเอ็นไซม์ *HaeIII* แตกต่างกัน กล่าวคือ K1 มีตำแหน่งตัดของ *HaeIII* ใน block 4 (นิวคลีโอไทด์ที่ 963 ถึง 966) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ PCR ของ K1 ตั้งแต่ block 1 ถึง 5 เมื่อใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวตัดจึงมีขนาด 149 และ 915 bp สำหรับ MAD20 ไม่มีตำแหน่งตัดของ *HaeIII* ใน block 4 ดังนั้นผลิตภัณฑ์ PCR ของ MAD20 ตั้งแต่ block 1 ถึง 5 เมื่อใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวตัดจึงมีขนาดเท่ากับผลิตภัณฑ์ PCR (1079 bp)

ผลการตัดผลิตภัณฑ์ PCR จาก block 1 ถึง block 5 ทั้งหมด จำนวน 30 ตัวอย่างด้วยเอ็นไซม์ *HaeIII* แล้วนำมาวิเคราะห์รูปแบบของดีเอ็นเอที่ได้บน อะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส ความเข้มข้น 1.7% โดยใช้ดีเอ็นเอมาตรฐาน ϕ X174/*HaeIII* เป็นตัวเปรียบเทียบขนาด แสดงดังรูปที่ 20 ถึง 25 โดยเมื่อใช้เอ็นไซม์ *HaeIII* ตัดผลิตภัณฑ์ PCR ของไอโซเลต 806, 815, 822, 827, 834, 837, 838, K1, TD500, K31, TM142R, TP21, TP34, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3, TM142RCB2 จะได้แถบดีเอ็นเอที่มีความยาว 900 bp และ 140 bp ซึ่งแถบดีเอ็นเอขนาด 140 bp นี้จะมองเห็นไม่ชัดเจนในบางตัวอย่างเนื่องจากปริมาณดีเอ็นเอมีน้อย และมีขนาดสั้น แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีตำแหน่งตัดของเอ็นไซม์ *HaeIII* นั่นคือมีอัลลีลใน block 4 เป็นแบบ K1 ส่วนในไอโซเลต 807, 834, 836, 841, 842, 843, 946, 947, TD500, TD503, TP4, TP20, TP21, TP26 และ TP34 เมื่อนำมาตัดด้วยเอ็นไซม์ *HaeIII* พบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดความยาวเท่ากับผลิตภัณฑ์ PCR ของแต่ละตัวอย่าง แสดงว่าในไอโซเลตเหล่านี้ไม่มีตำแหน่งตัดของเอ็นไซม์ *HaeIII* ดังนั้นจึงมีอัลลีลเป็นแบบ MAD20 นอกจากนี้ยังพบว่าในไอโซเลต 834, TD500, TP21 และ TP34 มีการปะปนของอัลลีลใน block 4 ทั้งชนิด K1 และ MAD20 เมื่อเปรียบเทียบความเข้มของแถบดีเอ็นเอที่ได้ พบว่าไอโซเลต 834, TD500 และ TP21 มีอัลลีล K1 มากกว่า MAD20 ส่วนไอโซเลต TP34 มีอัลลีล MAD20 ปริมาณใกล้เคียงกับ K1

2.3 ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 5 ถึง block 13 ด้วยเอ็นไซม์ *DraI*

เมื่อพิจารณาลำดับดีเอ็นเอตั้งแต่ block 5 ถึง block 13 ของ K1 และ MAD20 จะพบตำแหน่งตัดโดยเอ็นไซม์ *DraI* แตกต่างกัน กล่าวคือ K1 มีตำแหน่งตัดของ *DraI* ทั้งหมด 4 ตำแหน่งใน block 6, 7, 9 และ 10 (นิวคลีโอไทด์ที่ 1230 ถึง 1235, นิวคลีโอไทด์ที่ 1884

ถึง 1889, นิวคลีโอไทด์ที่ 2316 ถึง 2321 และ นิวคลีโอไทด์ที่ 2739 ถึง 2744) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ PCR ของ K1 ตั้งแต่ block 5 ถึง 13 เมื่อใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวตัดจึงมีขนาด 160, 423, 432, 583 และ 654 bp สำหรับ MAD20 มีตำแหน่งตัดของ *DraI* ใน block 5 ถึง block 13 ทั้งหมด 3 ตำแหน่ง ใน block 6, 7 และ 10 (นิวคลีโอไทด์ที่ 1930 ถึง 1935, นิวคลีโอไทด์ที่ 2049 ถึง 2054 และนิวคลีโอไทด์ที่ 3096 ถึง 3101) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ PCR ของ MAD20 ตั้งแต่ block 5 ถึง 13 เมื่อใช้เอ็นไซม์ ดังกล่าวตัดจึงมีขนาดเท่ากับ 119, 481, 710 และ 1047 bp

ผลการตัดผลิตภัณฑ์ของ PCR จาก block 5 ถึง block 13 จำนวน 30 ตัวอย่าง ด้วยเอ็นไซม์ *DraI* แล้วนำไปแยกด้วย 1% อะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส โดยใช้ *Lambda/HindIII/EcoRI* เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานเปรียบเทียบขนาด แสดงดังรูปที่ 26.3, 27.3 และ 28.3 ไอโซเลต 806, 822, 827, 834, 837, K1, K31, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3 เมื่อถูกตัดด้วยเอ็นไซม์ *DraI* จะได้แถบดีเอ็นเอ 5 แถบ ที่มีความยาว 170, 430, 440, 590 และ 660 ซึ่งแถบที่มีขนาด 170 bp นี้่าจมองเห็นไม่ชัดเจน เนื่องจากปริมาณดีเอ็นเอมีน้อย และมีขนาดสั้น แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีรูปแบบของอัลลีลใน block 5 ถึง block 13 เป็น K1 สำหรับไอโซเลต 807, 815, 822, 834, 836, 838, 841, 842, 843, 946, 947, TD500, TD503, TM142R, TP4, TP20, TP21, TP26, TP34 และสายพันธุ์ TM142RCB2 จะได้แถบดีเอ็นเอ 4 แถบ ที่มีความยาว 120, 490, 720 และ 1050 bp ซึ่งแถบที่มีขนาด 120 bp นี้่าจมองเห็นไม่ชัดเจนเนื่องจากปริมาณดีเอ็นเอมีน้อย และมีขนาดสั้น แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีรูปแบบอัลลีลใน block 5 ถึง block 13 เป็น MAD20 ดังนั้นไอโซเลต 822 และ 834 จึงมีการปะปนของอัลลีล K1 และ MAD20 ใน block 5 ถึง block 13 โดยในไอโซเลต 822 และ 834 มีอัลลีล K1 มากกว่า MAD20 เล็กน้อย

2.4 ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 12 ถึง block 17 ด้วยเอ็นไซม์ *HindIII*

เมื่อพิจารณาลำดับดีเอ็นเอตั้งแต่ block 12 ถึง block 17 ของ K1 และ MAD20 จะพบตำแหน่งตัดโดยเอ็นไซม์ *HindIII* แตกต่างกัน กล่าวคือ MAD20 มีตำแหน่งตัดของ *HindIII* ใน block 12 ถึง block 17 2 ตำแหน่ง ใน block 13 และ 15 (นิวคลีโอไทด์ที่ 3667 ถึง 3672 และนิวคลีโอไทด์ที่ 4146 ถึง 4151) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ PCR ของ MAD20 ตั้งแต่ block 12 ถึง 17 เมื่อใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวตัดจึงมีขนาดเท่ากับ 241, 379 และ 1121 bp ในขณะที่ K1 ไม่มีตำแหน่งตัดของเอ็นไซม์ *HindIII* ใน block 12 ถึง block 17 ดังนั้นผลิต

ผล PCR ของ K1 ตั้งแต่ block 12 ถึง 17 เมื่อใช้เอ็นไซม์ดังกล่าวตัดจึงมีขนาดเท่ากับผลิตภัณฑ์ PCR ในช่วงดังกล่าว

ผลการตัดผลิตภัณฑ์ของ PCR จาก block 12 ถึง block 17 ด้วยเอ็นไซม์ *HindIII* แล้วแยกวิเคราะห์ด้วย 1% อะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟเรซิสโดยใช้ดีเอ็นเอ *Lambda/HindIII/EcoRI* เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานในการเปรียบเทียบขนาด รูปที่ 29.3, 30.3 และ 31.3 ไอโซเลต 807, 815, 822, 834, 836, 838, 841, 842, 843, 946, 947, TD500, TD503, TM142R, TP4, TP20, TP21, TP26, TP34 และสายพันธุ์ TM142RCB2 ได้แถบดีเอ็นเอที่มีความยาว 250, 380 และ 1130 bp แสดงว่ามีรูปแบบอัลลีลเป็น MAD20 สำหรับไอโซเลต 806, 822, 827, 834, 837, K1, K31, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2 และ K31CB3 ได้แถบดีเอ็นเอขนาด ของผลิตภัณฑ์ PCR ของแต่ละตัวอย่าง แสดงว่าไอโซเลตเหล่านี้ไม่มีตำแหน่งตัดของเอ็นไซม์ *HindIII* จึงมีรูปแบบของอัลลีลเป็น K1 ส่วนในไอโซเลต 822 และ 834 นั้นมีการปะปนของอัลลีล K1 และ MAD20 ใน block 12 ถึง block 17 โดยในไอโซเลต 822 และ 834 มีอัลลีล K1 มากกว่า MAD20 โดยเปรียบเทียบจากความเข้มของแถบดีเอ็นเอ

ผลการวิเคราะห์อัลลีลของยีน *MSP1* จากผลิตภัณฑ์ของ PCR ใน block 2, block 4, block 5 ถึง 13 และ block 12 ถึง 17 จำนวน 30 ตัวอย่าง โดยการตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในทั้ง 5 ชนิด สรุปได้ดังตารางที่ 4 พบว่าใน block 2 จะมีอัลลีลเป็น MAD20 60 เปอร์เซ็นต์ K1 10 เปอร์เซ็นต์ และ RO33 10 เปอร์เซ็นต์ mixed infection ระหว่าง K1 และ MAD20 มี 13.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วน mixed infection ระหว่าง RO33 และ MAD20 มี 3.33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ K1 และ RO33 มี 3.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วน block 4 จะมีอัลลีลส่วนใหญ่เป็น K1 50 เปอร์เซ็นต์ และ MAD20 36.66 เปอร์เซ็นต์ ส่วน mixed infection ระหว่าง K1 และ MAD20 มี 13.33 เปอร์เซ็นต์ ใน block 5 ถึง block 13 จะมีอัลลีลส่วนใหญ่เป็น MAD20 60 เปอร์เซ็นต์ และ K1 33.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วน mixed infection ระหว่าง K1 และ MAD20 มี 6.66 เปอร์เซ็นต์ สำหรับใน block 12 ถึง block 17 พบว่ารูปแบบอัลลีลที่พบจะเป็นแบบเดียวกับที่พบใน block 5 ถึง block 13 ทุกตัวอย่าง

หมายเหตุ การนับจำนวนนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการตัดด้วยเอ็นไซม์แต่ละชนิด จะนับเฉพาะที่เป็น base pair เท่านั้น และการนับตำแหน่งตัดจะเริ่มนับที่นิวคลีโอไทด์ตัวแรกถึงตัวสุดท้ายของ recognition site บน sense strand

ตารางที่ 4 แสดงผลการวิเคราะห์อัลลีลจากการตัดผลิตภัณฑ์ PCR ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในของยีน MSP1

| ไอโซเลต/สายพันธุ์ | ผลการวิเคราะห์รูปแบบของอัลลีล | | | |
|-------------------|-------------------------------|----------|------------|-------------|
| | block 2 | block 4 | block 5-13 | block 12-17 |
| 806 | K1, MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| 807 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 815 | MAD20 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| 822 | MAD20 | K1 | K1,MAD20 | K1,MAD20 |
| 827 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| 834 | K1,MAD20 | K1,MAD20 | K1,MAD20 | K1,MAD20 |
| 836 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 837 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| 838 | RO33 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| 841 | K1, RO33 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 842 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 843 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 946 | K1 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 947 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| K1 | K1 | K1 | K1 | K1 |
| T9/94 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| TD500 | MAD20 | K1,MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TD503 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| K31 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| K31CB1 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| K31CB2 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| K31CB3 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| TM142R | RO33 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| TM142RCB2 | RO33 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| TP4 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP20 | K1,MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP21 | K1, MAD20 | K1,MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP26 | K1 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP34 | MAD20,RO33 | K1,MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP40 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |

3. ผลการวิเคราะห์อัลลีลโดยวิธี Southern blot hybridization

3.1 ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 2 ด้วย oligonucleotide probes K2, M2 และ R2

เมื่อนำแผ่นเจลที่แยกดีเอ็นเอจากผลิตภัณฑ์ของ PCR และ ดีเอ็นเอจากผลิตภัณฑ์ของ PCR ที่ถูกตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ทั้งหมดจำนวน 30 ตัวอย่าง (จากรูปที่ 10 ถึง 19) มาขนถ่ายลงบนแผ่น nylon membrane แล้วนำมาทำ hybridization กับ probe K2, M2 และ R2 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่จำเพาะกับอัลลีลแบบ K1 type, MAD20 type และ RO33 type ตามลำดับ ผลจาก autoradiograph บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ของ probe K2 กับ ผลิตภัณฑ์ PCR จาก block 1 ถึง block 5 แสดงในรูปที่ 10.1 ถึง 19.1 พบว่าไอโซเลต 806, 834, 841, 946, K1, TP20, TP21 และ TP26 จะมีแถบสีดำบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จำนวน 3 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR, ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Pst*I และ ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Alu*I ที่ขนาด 200 bp แสดงว่าไอโซเลตเหล่านี้มีอัลลีลใน block 1 ถึง block 5 เป็นแบบ K1 ในรูปที่ 10.2 ถึง 19.2 แสดงผลการ hybridize ของ probe M2 กับ ผลิตภัณฑ์ PCR จาก block 1 ถึง block 5 พบว่าไอโซเลต 806, 807, 815, 822, 827, 834, 836, 837, 842, 843, 947, TD500, TD503, K31, TP4, TP20, TP21, TP34, TP40 และ สายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2 และ K31CB3 จะมีแถบสีดำบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์มีจำนวน 3 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR, ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Pst*I และ ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Alu*I ที่ขนาด 642 bp แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 1 ถึง block 5 เป็น MAD20 และ รูปที่ 10.3 ถึง 19.3 แสดงผลการ hybridize ของ probe R2 กับ ผลิตภัณฑ์ PCR จาก block 1 ถึง block 5 พบว่าไอโซเลต 838, 841, TM142R และสายพันธุ์ TM142RCB2 จะมีแถบสีดำบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ 2 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR, ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *Alu*I ที่ขนาด 705 bp แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 1 ถึง block 5 เป็น RO33 ดังนั้นไอโซเลต 806, 834, TP20 และ TP21 มีการปะปนของอัลลีล K1 และ MAD20 ส่วนไอโซเลต 841 มีการปะปนของอัลลีล K1 และ RO33 และไอโซเลต TP34 มีการปะปนของอัลลีล K1 และ RO33 ในบริเวณ block 1 ถึง block 5 นี้ด้วยเช่นกัน

3.2 ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 4 โดยใช้ oligonucleotide probes K4 และ M4

เมื่อนำแผ่นเจลที่แยกดีเอ็นเอจากผลิตภัณฑ์ของ PCR และ ดีเอ็นเอจากผลิตภัณฑ์ของ PCR ที่ถูกตัดด้วย *HaeIII* ทั้งหมดจำนวน 30 ตัวอย่าง (จากรูปที่ 20 ถึง 25) มาขนถ่ายลงบนแผ่น nylon membrane แล้วนำมาทำ hybridization กับ probe K4 และ M4 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่จำเพาะกับอัลลีลแบบ K1 type และ MAD20type ตามลำดับ ผลจาก autoradiograph บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ของ probe K4 กับผลิตภัณฑ์ PCR จาก block 1 ถึง block 5 แสดงในรูปที่ 20.1 ถึง 25.1 พบว่าไอโซเลต 806, 815, 822, 827, 834, 837, 838, K1, TD500, K31, TM142R, TP21, TP34, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3, TM142RCB2 จะมีแถบสีดำบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ 1 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 4 เป็น K1 และในรูปที่ 20.2 ถึง 25.2 แสดงผลการ hybridize ระหว่าง probe M4 กับผลิตภัณฑ์ PCR จาก block 1 ถึง block 5 พบว่าไอโซเลต 807, 836, 841, 842, 843, 946, 947, TD500, TD503, TP4, TP20, TP21 และ TP26 จะมีแถบสีดำบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จำนวน 2 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR, ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วยเอ็นไซม์ *HaeIII* แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 4 เป็น MAD20 ดังนั้น ไอโซเลต TD500 และ TP21 มีการปะปนของอัลลีล K1 และ MAD20 ในบริเวณ block 4

3.3 ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 6 โดยใช้ fragment probe K216 และ M180

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ของ PCR ที่ได้จาก block 5 ถึง block 13 มาแยกในอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส จะได้แถบดีเอ็นเอในตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่าง ดังรูปที่ 26, 27 และ 28 เมื่อขนถ่ายดีเอ็นเอลงบนแผ่น nylon membrane แล้ว hybridize กับ probe K216 จะได้แถบสีดำบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ แสดงดังรูปที่ 26.1, 27.1 และ 28.1 พบว่าไอโซเลต 806, 822, 827, 834, 837, K1, K31, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3 จะมีแถบสีดำบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จำนวน 1 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 6 เป็น K1 และผลการ hybridize ของผลิตภัณฑ์ PCR กับ probe M180 จะได้แถบสีดำบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์แสดงดังรูปที่ 26.2, 27.2 และ 28.2 โดยพบว่าไอโซเลต 807, 815, 822, 834, 836, 838, 841, 842, 843, 946, 947, TD500, TD503, TM142R,

TP4, TP20, TP21, TP26, TP34 และสายพันธุ์ TM142RCB2 จะมีแถบสีดำนบนแผ่นฟิล์ม เอ็กซ์เรย์ จำนวน 1 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 6 เป็น MAD20 ดังนั้นไอโซเลต 822 และ 834 จึงมีอัลลีลของ K1 และ MAD20 ปะปนกันอยู่ในบริเวณ block 6

3.4 ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 16 โดยใช้ fragment probe K16 และ oligonucleotide probe M16

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ของ PCR ที่ได้จาก PCR primers P5 และ P6 ในช่วง block 12 ถึง block 17 มาแยกบนอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิสจะปรากฏแถบดีเอ็นเอดังรูปที่ 29 ถึง 31 และเมื่อขนถ่ายดีเอ็นเอนี้ลงบน nylon membrane และทำ hybridization ด้วย probe K16 แถบสีดำนที่ปรากฏบนแผ่นฟิล์มฟิล์มเอ็กซ์เรย์ แสดงดังรูปที่ 29.1, 30.1 และ 31.1 พบว่าไอโซเลต 806, 822, 827, 834, 837, K1, K31, TP40 และสายพันธุ์ T9/94, K31CB1, K31CB2, K31CB3 จะมีแถบสีดำนบนแผ่นฟิล์มเอ็กซ์เรย์จำนวน 1 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 16 เป็น K1 และ ผลการ hybridize ผลิตภัณฑ์ PCR ใน block 12 ถึง block 17 กับ probe M16 แสดงดังรูปที่ 29.2, 30.2 และ 31.2 โดยไอโซเลต 807, 815, 822, 834, 836, 838, 841, 842, 843, 946, 947, TD500, TD503, TM142R, TP4, TP20, TP21, TP26, TP34 และสายพันธุ์ TM142RCB2 จะมีแถบสีดำนบนแผ่นฟิล์มเอ็กซ์เรย์จำนวน 1 แถบบนตำแหน่งที่เป็นผลิตภัณฑ์ PCR แสดงว่าไอโซเลตดังกล่าวมีอัลลีลใน block 16 เป็น MAD20 สำหรับไอโซเลต 822 และ 834 มีอัลลีล K1 และ MAD20 ปะปนกันอยู่ในบริเวณ block 16

ผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block 2, 4, 6 และ 16 ในส่วน variable ของยีน MSP1 ด้วยวิธี Southern blot hybridization สรุปได้ดังตารางที่ 5 จากตัวอย่างทั้งหมด 30 ตัวอย่าง พบว่าใน block 2 จะมีอัลลีลเป็น MAD20 63.33 เปอร์เซ็นต์ K1 10 เปอร์เซ็นต์ และ RO33 10 เปอร์เซ็นต์ ส่วน mixed infection ระหว่าง K1 และ MAD20 มี 13.33 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ K1 และ RO33 มี 3.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วน block 4 จะมีอัลลีลส่วนใหญ่เป็น K1 56.66 เปอร์เซ็นต์ และ MAD20 36.66 เปอร์เซ็นต์ ส่วน mixed infection ระหว่าง K1 และ MAD20 มี 6.66 เปอร์เซ็นต์ ใน block 6 จะมีอัลลีลส่วนใหญ่เป็น MAD20 60 เปอร์เซ็นต์ และ K1 33.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วน mixed infection ระหว่าง K1 และ MAD20 มี 6.66 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5 แสดงผลการวิเคราะห์อัลลีลใน block ต่างๆ ที่ได้จากการทำ Southern blot hybridization

| ไอโซเลต/ สายพันธุ์ | รูปแบบของอัลลีล | | | |
|--------------------|-----------------|----------|----------|----------|
| | block 2 | block 4 | block 6 | block 16 |
| 806 | K1,MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| 807 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 815 | MAD20 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| 822 | MAD20 | K1 | K1,MAD20 | K1,MAD20 |
| 827 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| 834 | K1,MAD20 | K1 | K1,MAD20 | K1,MAD20 |
| 836 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 837 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| 838 | RO33 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| 841 | K1, RO33 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 842 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 843 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 946 | K1 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| 947 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| K1 | K1 | K1 | K1 | K1 |
| T9/94 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| TD500 | MAD20 | K1,MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TD503 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| K31 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| K31CB1 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| K31CB2 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| K31CB3 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |
| TM142R | RO33 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| TM142RCB2 | RO33 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| TP4 | MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP20 | K1,MAD20 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP21 | K1,MAD20 | K1,MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP26 | K1 | MAD20 | MAD20 | MAD20 |
| TP34 | MAD20 | K1 | MAD20 | MAD20 |
| TP40 | MAD20 | K1 | K1 | K1 |

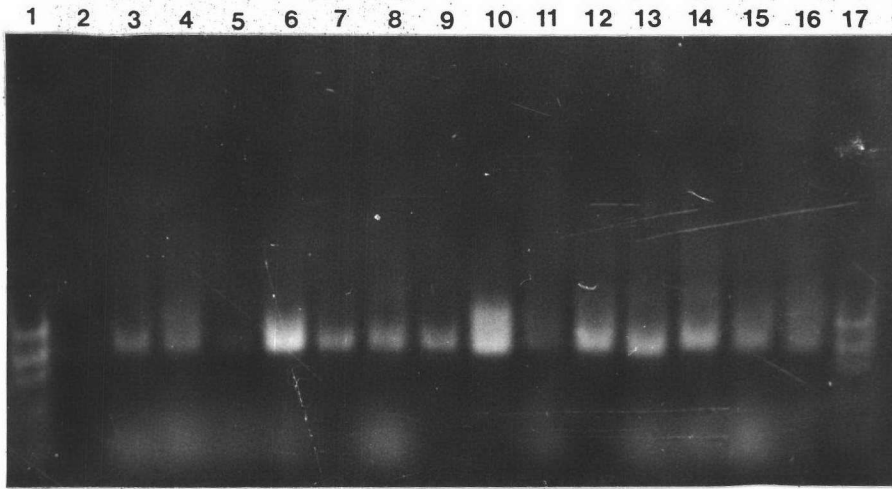
สำหรับใน block 16 พบว่ารูปแบบอัลลีลที่พบจะเป็นแบบเดียวกับที่พบใน block 6 ทุกตัวอย่าง ซึ่งจะมีรูปแบบของอัลลีลเช่นเดียวกับผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีการตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในดังที่ได้กล่าวมาแล้ว สำหรับการวิเคราะห์อัลลีลใน block 2 และ block 4 ในกรณีที่มี mixed infection นั้น พบว่าวิธีการตัดด้วยเอ็นไซม์จะให้ผลที่มีความไวสูงกว่า

4. ผลการประเมินค่าหาจำนวนเชื้อที่ได้จากการวิเคราะห์ผลผลิตของ PCR จากอะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟรีซิส โดยวิธี limiting dilution

เมื่อนำตัวอย่างเชื้อสายพันธุ์ T9/94 (M1-1) b3 มาหาค่าเปอร์เซ็นต์ parasitemia มีค่าเท่ากับ 14.18% และมีค่าเปอร์เซ็นต์ hematocrit เท่ากับ 19.4% ระดับความเจือจางต่ำสุดที่ตรวจพบแถบดีเอ็นเอบนอะกาโรสเจล คือระดับความเจือจางที่ 1:625 (5 ตัว) และ 1:1000 (4 ตัว) และระดับความเจือจางต่ำสุดที่ตรวจสอบพบแถบสีดำนบนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จาก Southern blot hybridization คือ ระดับความเจือจางที่ 1:5 (420 ตัว) และ 1:10 (220 ตัว) แสดงผลดังรูปที่ 32 โดยเมื่อนำผลที่ได้มาคำนวณหาจำนวนของเชื้อที่พบที่ระดับความเจือจางต่ำสุดคือ 4 ตัว



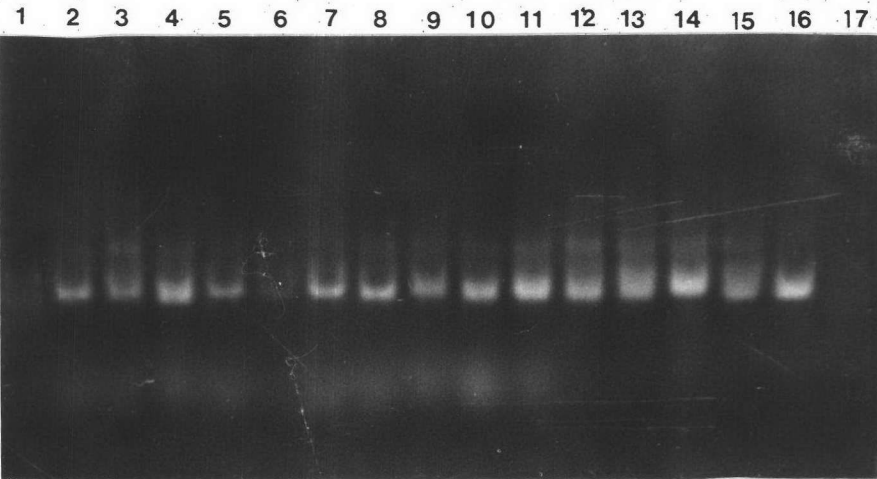
รูปที่ 9



bp

1353
1078
872
603
310

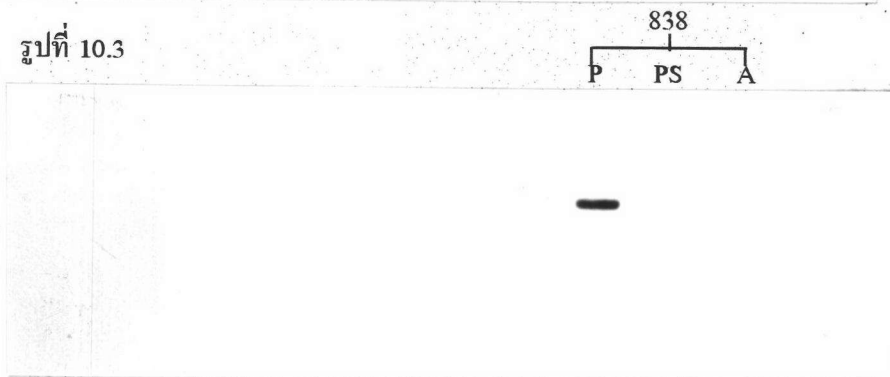
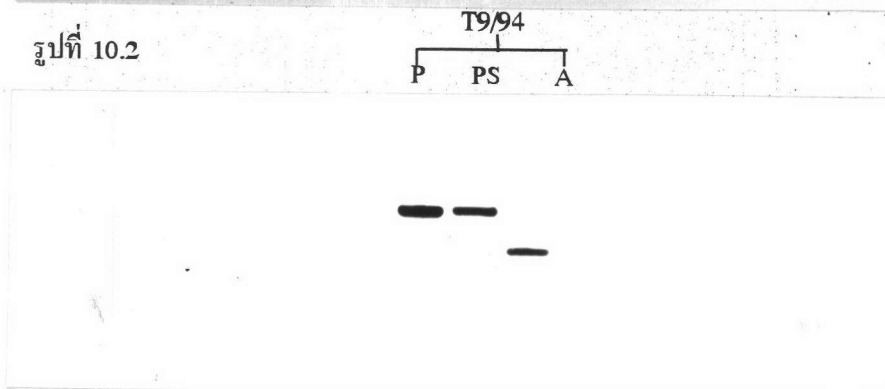
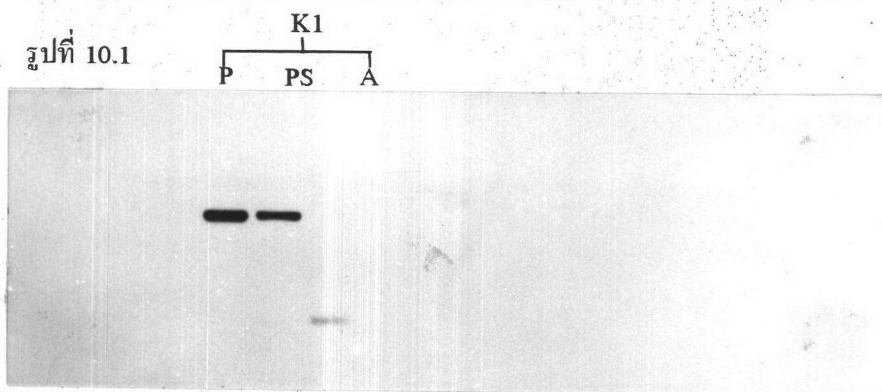
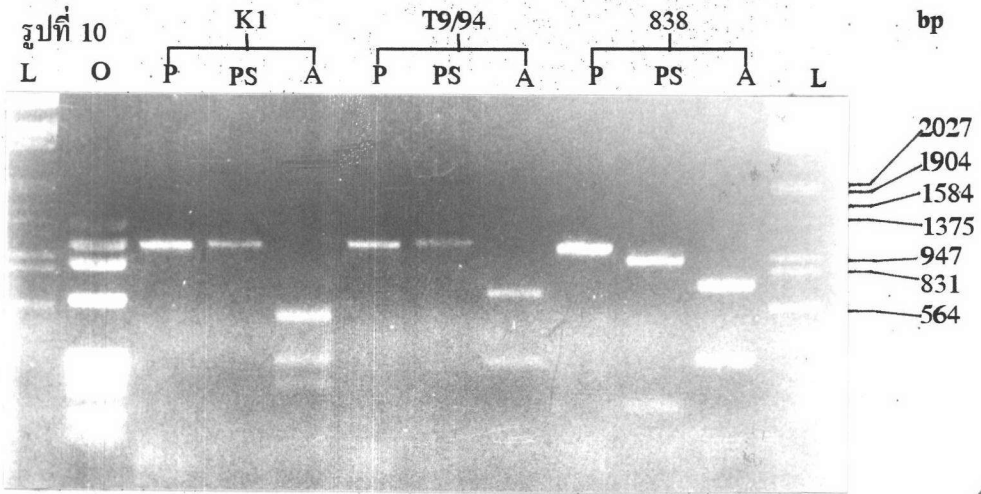
รูปที่ 9.1



รูปที่ 9 แสดงผลิตภัณฑ์จาก PCR ในช่วง Block 1 ถึง Block 5 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน
ØX174/HaeIII เรียงลำดับดังนี้

- แฉวที่ 1 ØX174/HaeIII
- แฉวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 806
- แฉวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 807
- แฉวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 815
- แฉวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 822
- แฉวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 827
- แฉวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 834
- แฉวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 836
- แฉวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 837
- แฉวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 838
- แฉวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 841
- แฉวที่ 12 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 842
- แฉวที่ 13 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 843
- แฉวที่ 14 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 946
- แฉวที่ 15 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 947
- แฉวที่ 16 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K1
- แฉวที่ 17 ØX174/HaeIII

- รูปที่ 9.1 แถวที่ 1 OX174/HaeIII
- แถวที่ 2 ผลิตผล PCR ของ T9/94
 - แถวที่ 3 ผลิตผล PCR ของ TD500
 - แถวที่ 4 ผลิตผล PCR ของ TD503
 - แถวที่ 5 ผลิตผล PCR ของ K31CB1
 - แถวที่ 6 ผลิตผล PCR ของ K31CB2
 - แถวที่ 7 ผลิตผล PCR ของ K31CB3
 - แถวที่ 8 ผลิตผล PCR ของ TM142RCB2
 - แถวที่ 9 ผลิตผล PCR ของ K31
 - แถวที่ 10 ผลิตผล PCR ของ TM142R
 - แถวที่ 11 ผลิตผล PCR ของ TP4
 - แถวที่ 12 ผลิตผล PCR ของ TP20
 - แถวที่ 13 ผลิตผล PCR ของ TP21
 - แถวที่ 14 ผลิตผล PCR ของ TP26
 - แถวที่ 15 ผลิตผล PCR ของ TP34
 - แถวที่ 16 ผลิตผล PCR ของ TP40
 - แถวที่ 17 OX174/HaeIII



L = Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
O = Φ X174/*Hae*III

P = PCR
PS = PCR digested with *Pst*I
A = PCR digested with *Alu*I



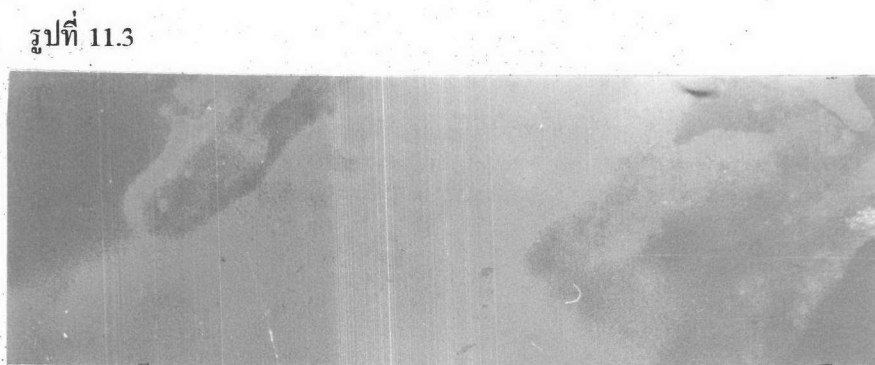
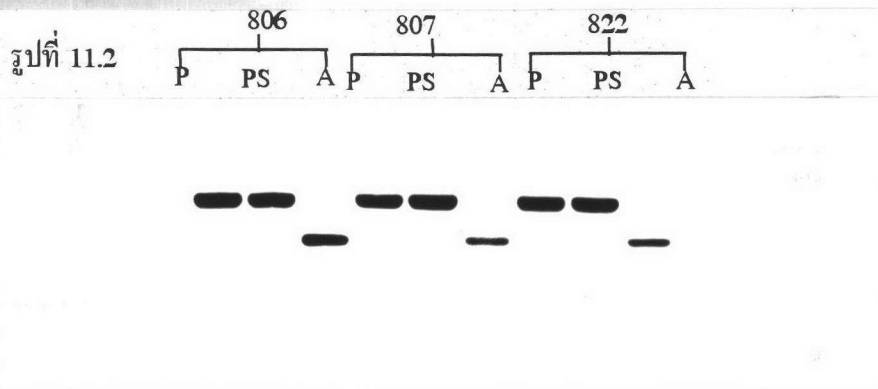
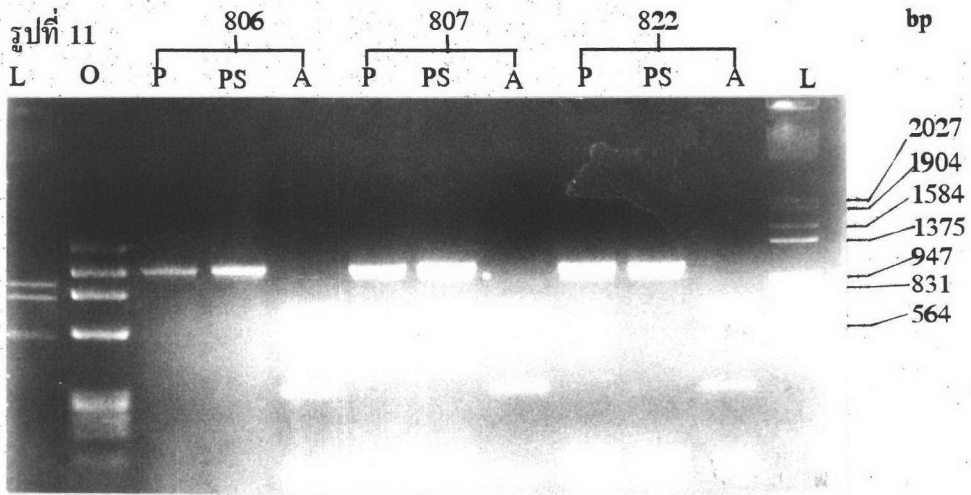
รูปที่ 10 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K1
- แถวที่ 4,5 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ K1
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ T9/94
- แถวที่ 7,8 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ T9/94
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 838
- แถวที่ 10,11 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 838
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

รูปที่ 10.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 10 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K2

รูปที่ 10.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 10 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

รูปที่ 10.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 10 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe R2



L = Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
O = ØX174/*Hae*III

P = PCR
PS = PCR digested with *Pst*I
A = PCR digested with *Alu*I

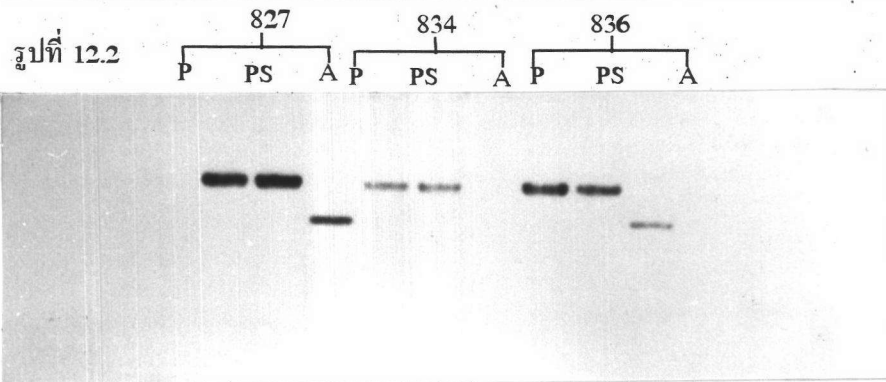
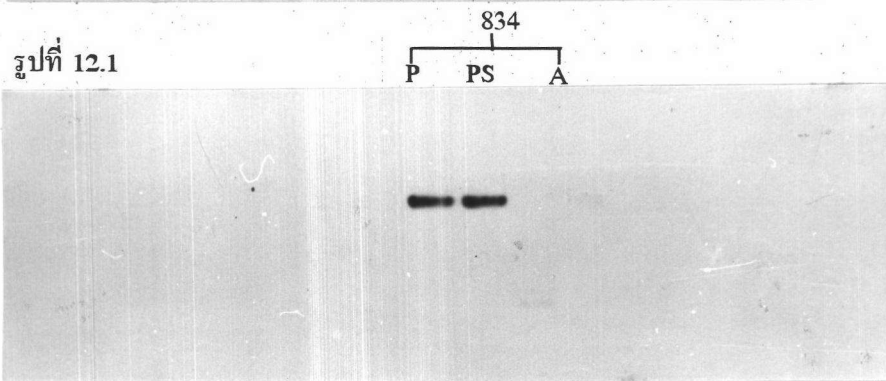
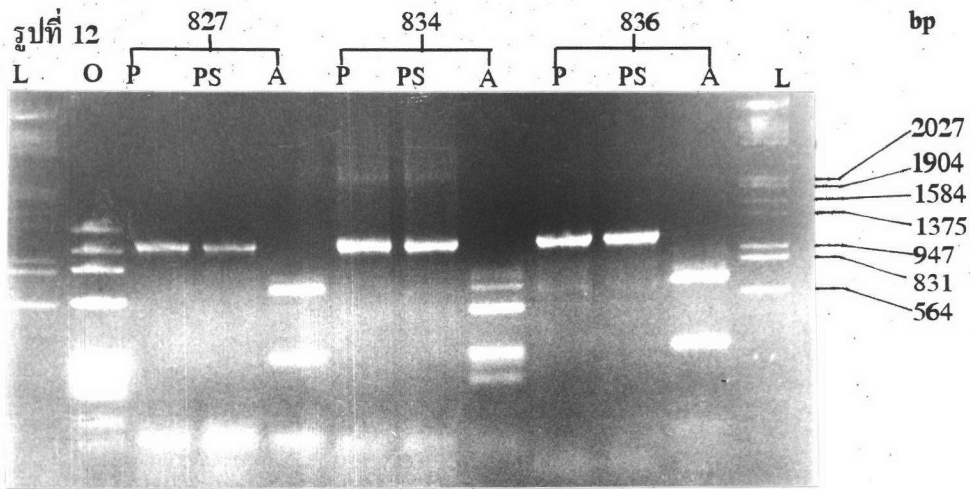
รูปที่ 11 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ *ØX174/Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 *ØX174/Hae*III
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 806
- แถวที่ 4,5 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 806
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 807
- แถวที่ 7,8 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 807
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 822
- แถวที่ 10,11 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 822
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

รูปที่ 11.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 11 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K2

รูปที่ 11.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 11 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

รูปที่ 11.3 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe R2 จากตัวอย่างในรูปที่ 11 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์



L = Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
O = ϕ X174/*Hae*III

P = PCR
PS = PCR digested with *Pst*I
A = PCR digested with *Alu*I

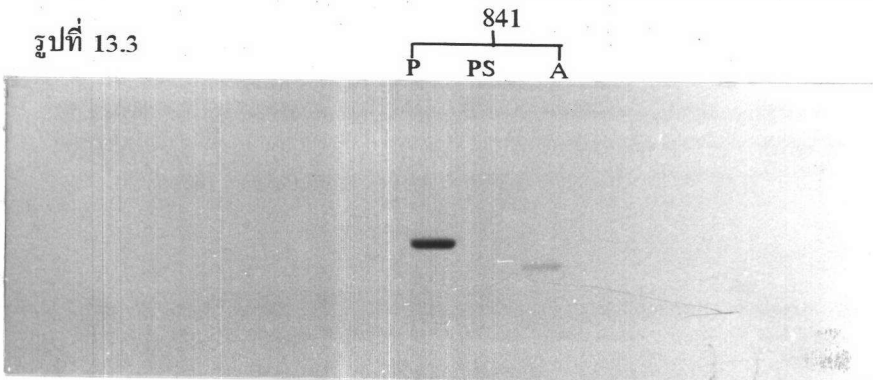
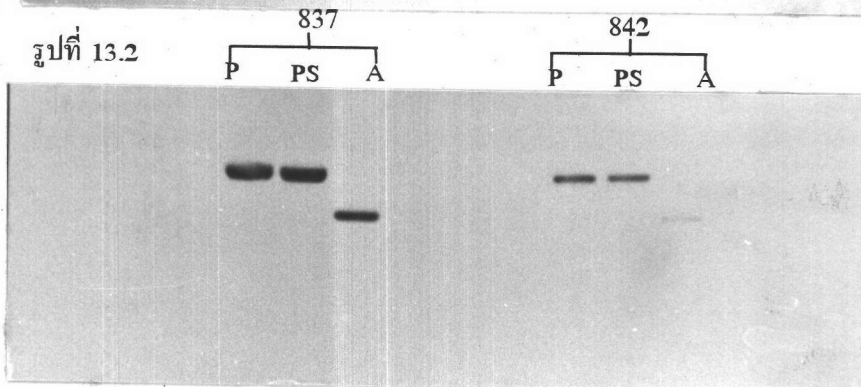
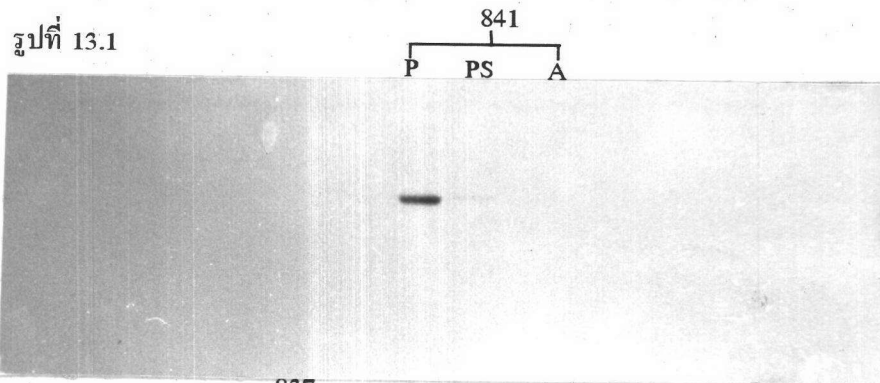
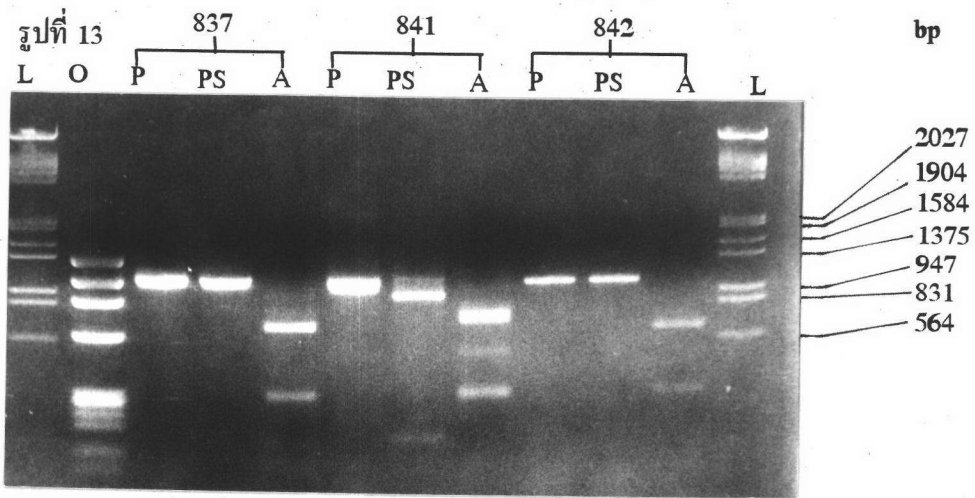
รูปที่ 12 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ *ØX174/Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 *ØX174/Hae*III
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 827
- แถวที่ 4,5 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 827
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 834
- แถวที่ 7,8 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 834
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 836
- แถวที่ 10,11 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 836
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

รูปที่ 12.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 12 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K2 :

รูปที่ 12.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 12 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

รูปที่ 12.3 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe R2 จากตัวอย่างในรูปที่ 12 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์



L = Lambda/*HindIII*/*EcoRI*
O = ϕ X174/*HaeIII*

P = PCR
PS = PCR digested with *PstI*
A = PCR digested with *AluI*

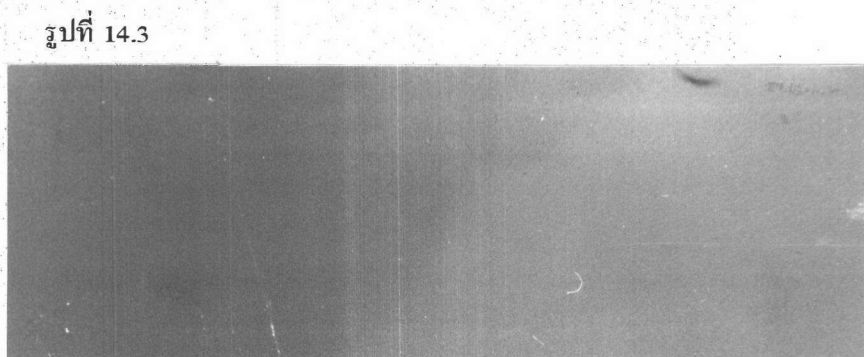
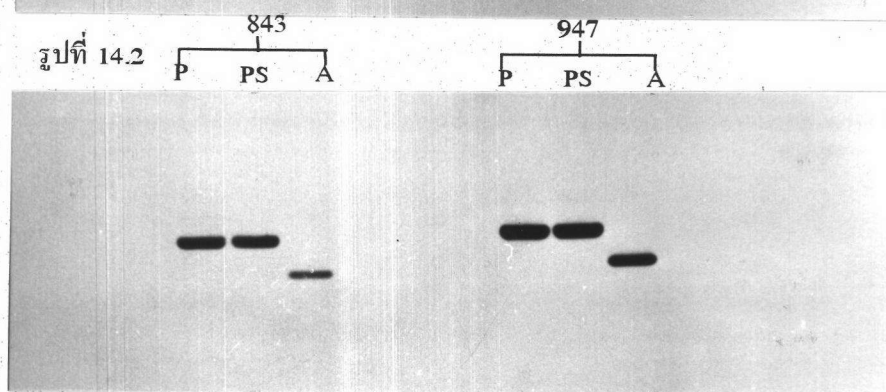
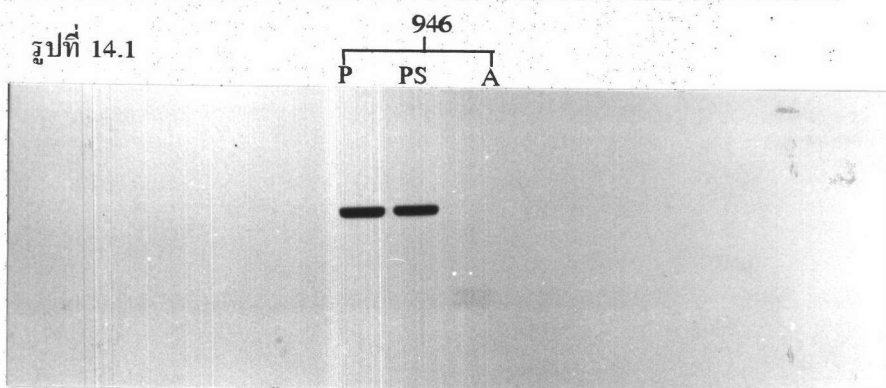
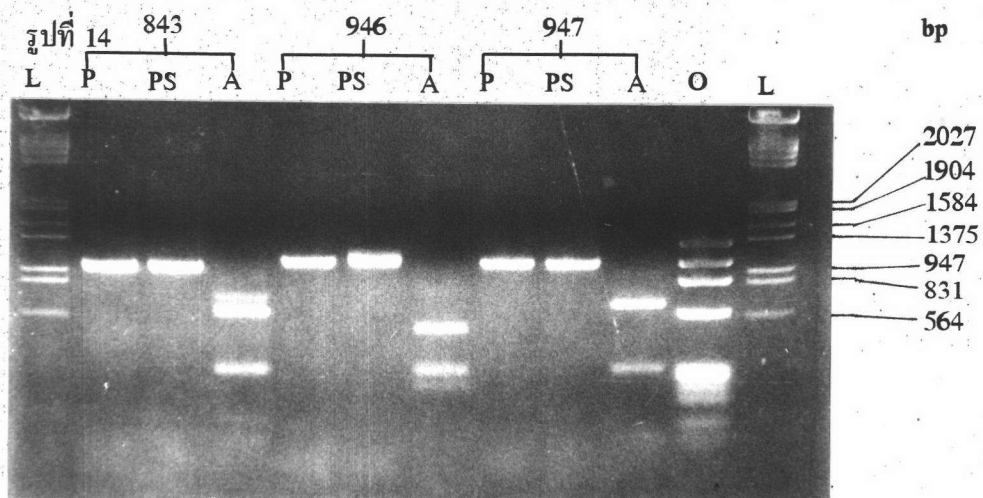
รูปที่ 13 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แฉวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แฉวที่ 2 ϕ X174/*Hae*III
- แฉวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 837
- แฉวที่ 4,5 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 837
- แฉวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 841
- แฉวที่ 7,8 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 841
- แฉวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 842
- แฉวที่ 10,11 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 842
- แฉวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

รูปที่ 13.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 13 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K2

รูปที่ 13.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 13 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

รูปที่ 13.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 13 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe R2



L = Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
 O = ϕ X174/*Hae*III

P = PCR
 PS = PCR digested with *Pst*I
 A = PCR digested with *Alu*I

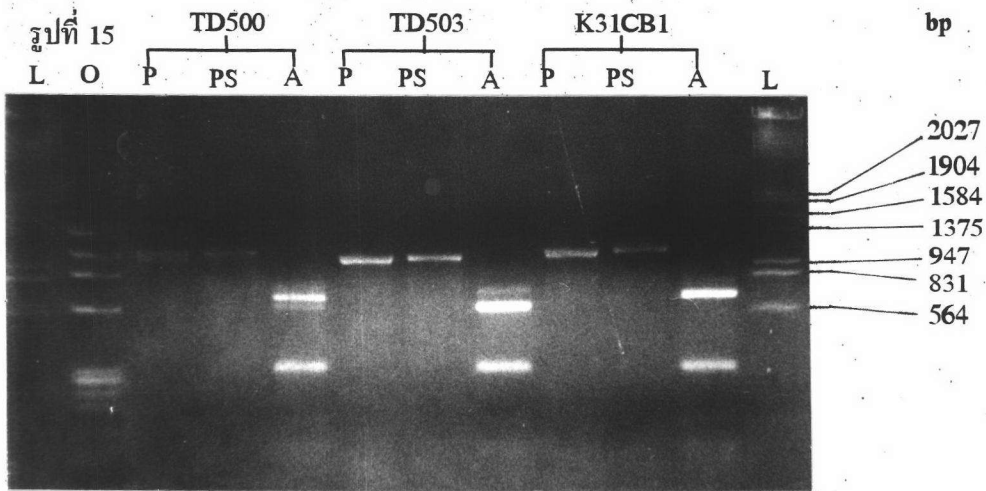
รูปที่ 14 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอ็นไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 843
- แถวที่ 3,4 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 843
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 946
- แถวที่ 6,7 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 946
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 947
- แถวที่ 9,10 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 947
- แถวที่ 11 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

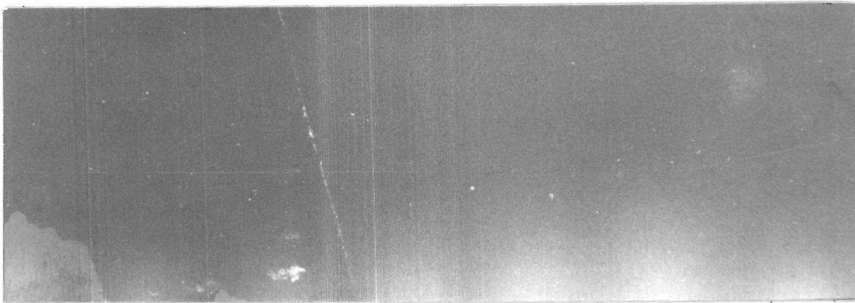
รูปที่ 14.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 14 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K2

รูปที่ 14.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 14 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

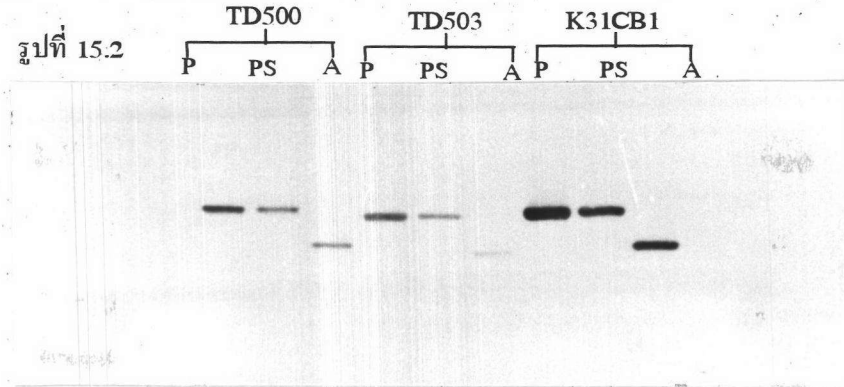
รูปที่ 14.3 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe R2 จากตัวอย่างในรูปที่ 14 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์



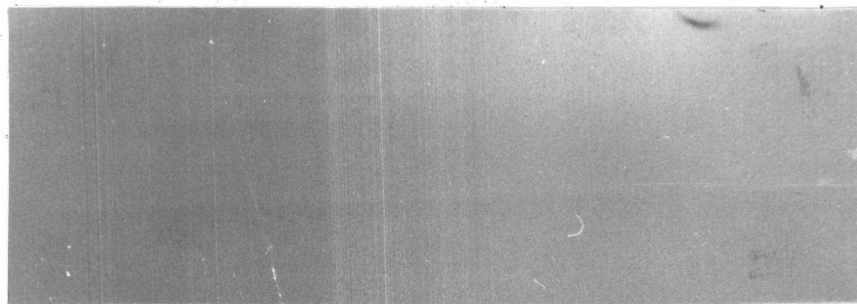
រូបភាព 15.1



រូបភាព 15.2



រូបភាព 15.3



L = Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
O = ϕ X174/*Hae*III

P = PCR
PS = PCR digested with *Pst*I
A = PCR digested with *Alu*I

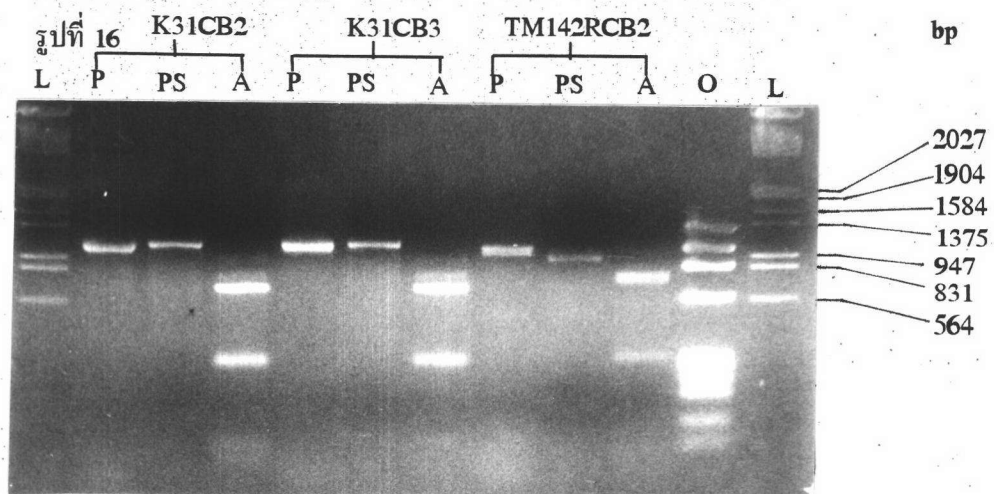
รูปที่ 15 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตผลจาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 3 ผลิตผล PCR ของ TD500
- แถวที่ 4,5 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TD500
- แถวที่ 6 ผลิตผล PCR ของ TD503
- แถวที่ 7,8 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TD503
- แถวที่ 9 ผลิตผล PCR ของ K31CB1
- แถวที่ 10,11 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ K31CB1
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

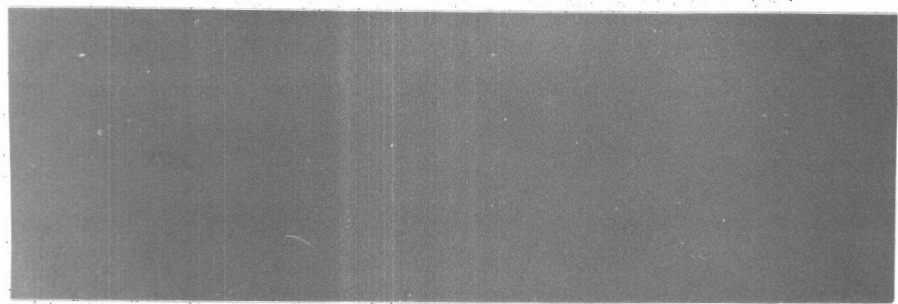
รูปที่ 15.1 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe K2 จากตัวอย่างในรูปที่ 15 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์

รูปที่ 15.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 15 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

รูปที่ 15.3 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe R2 จากตัวอย่างในรูปที่ 15 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์



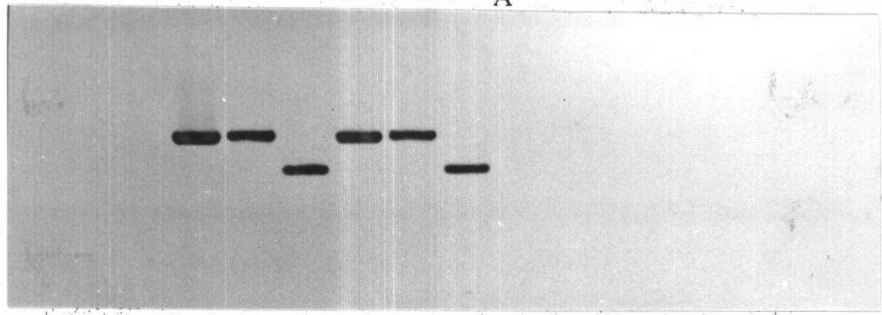
รูปที่ 16.1



รูปที่ 16.2

Diagram above the gel shows the layout of lanes:

- Group 1: K31CB2 (Lanes: P, PS, A)
- Group 2: K31CB3 (Lanes: P, PS, A)

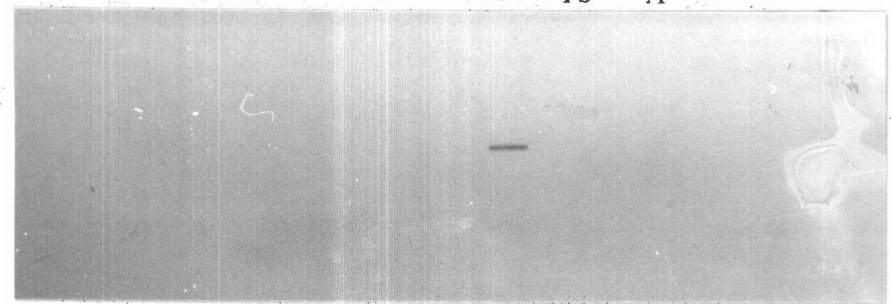


รูปที่ 16.3

TM142RCB2

Diagram above the gel shows the layout of lanes:

- Group 1: TM142RCB2 (Lanes: P, PS, A)



L = Lambda/HindIII/EcoRI
 O = ØX174/HaeIII
 P = PCR
 PS = PCR digested with PstI
 A = PCR digested with AluI

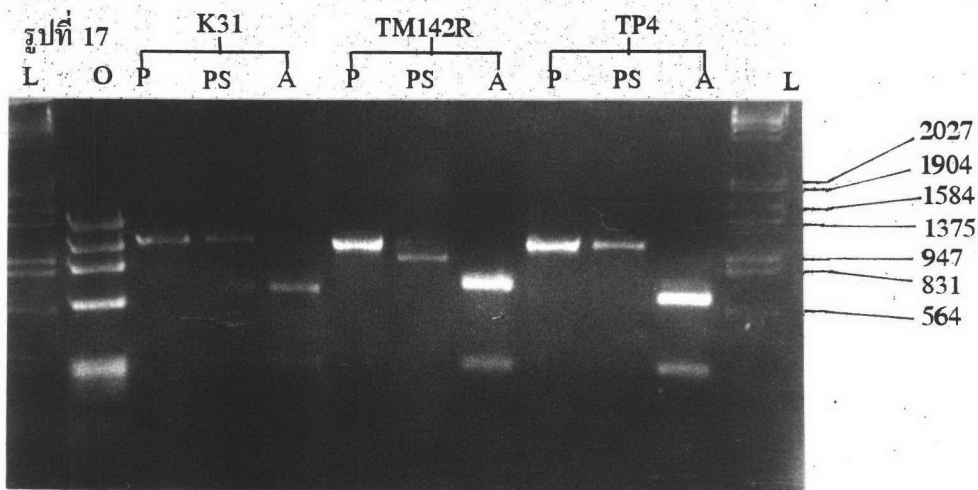
รูปที่ 16 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ *ØX174/Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB2
- แถวที่ 3,4 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ K31CB2
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB3
- แถวที่ 6,7 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ K31CB3
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 RCB2
- แถวที่ 9,10 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TM142 RCB2
- แถวที่ 11 *ØX174/Hae*III
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

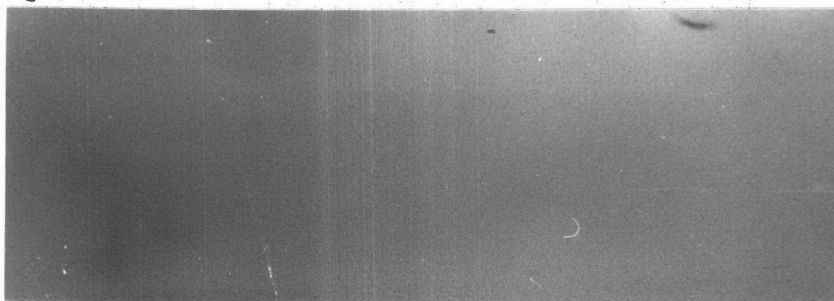
รูปที่ 16.1 แสดงจาก Southern blot hybridization ด้วย probe K2 จากตัวอย่างในรูปที่ 16 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์

รูปที่ 16.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 16 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

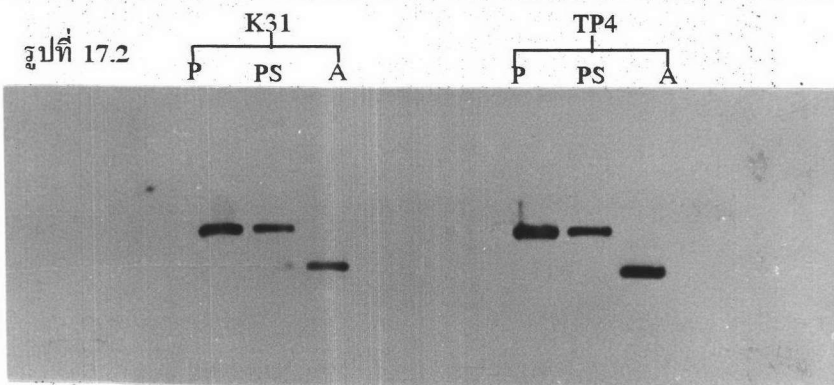
รูปที่ 16.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 16 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe R2



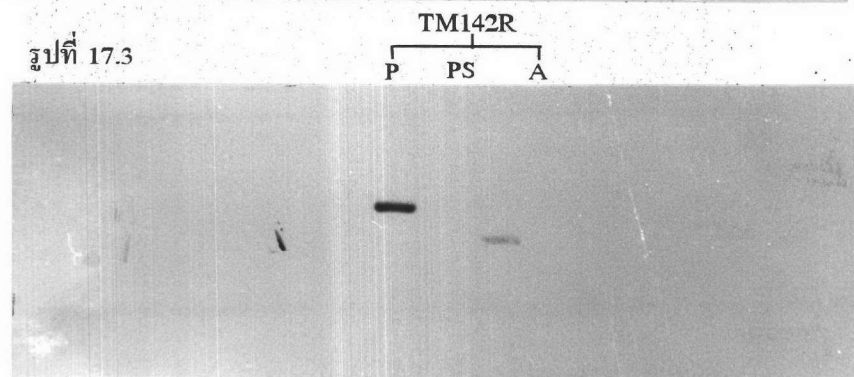
รูปที่ 17.1



รูปที่ 17.2



รูปที่ 17.3



L = Lambda/*HindIII*/*EcoRI*
 O = ØX174/*HaeIII*

P = PCR
 PS = PCR digested with *PstI*
 A = PCR digested with *AluI*

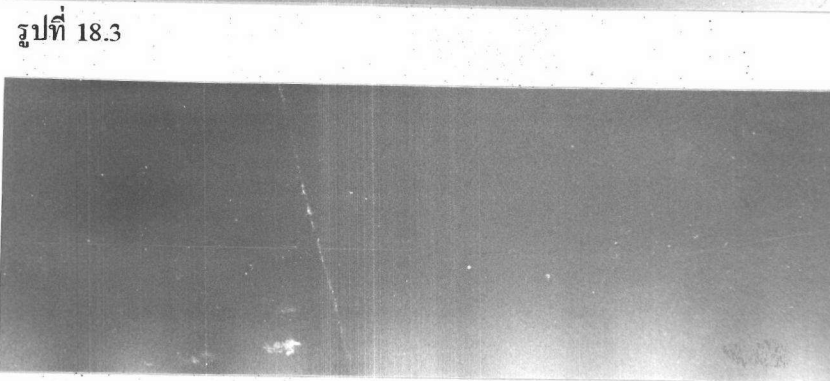
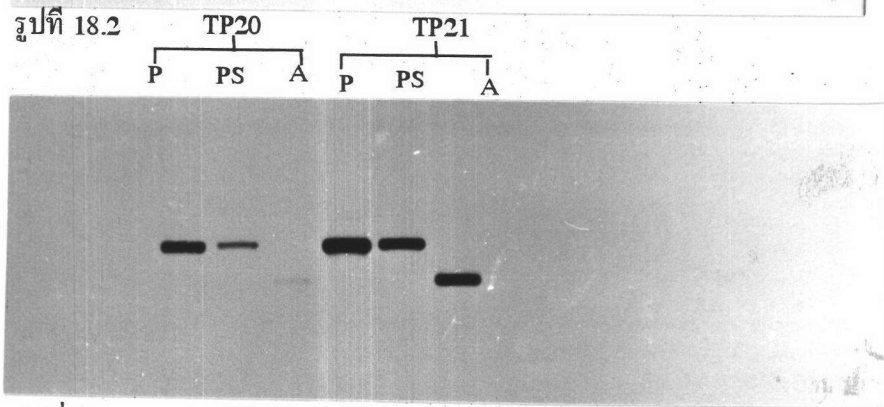
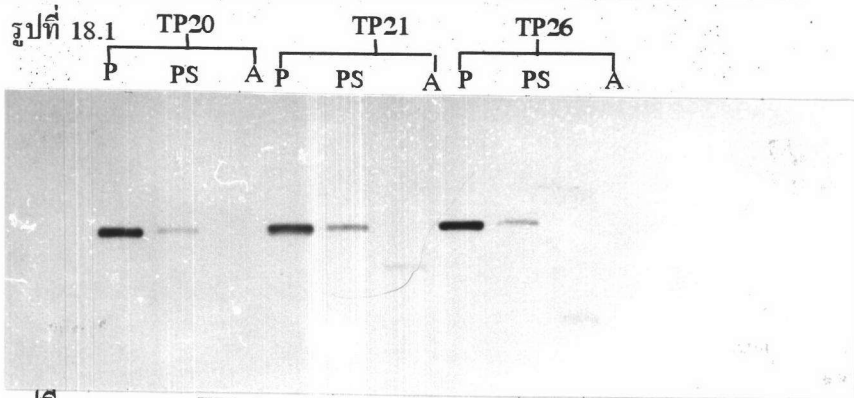
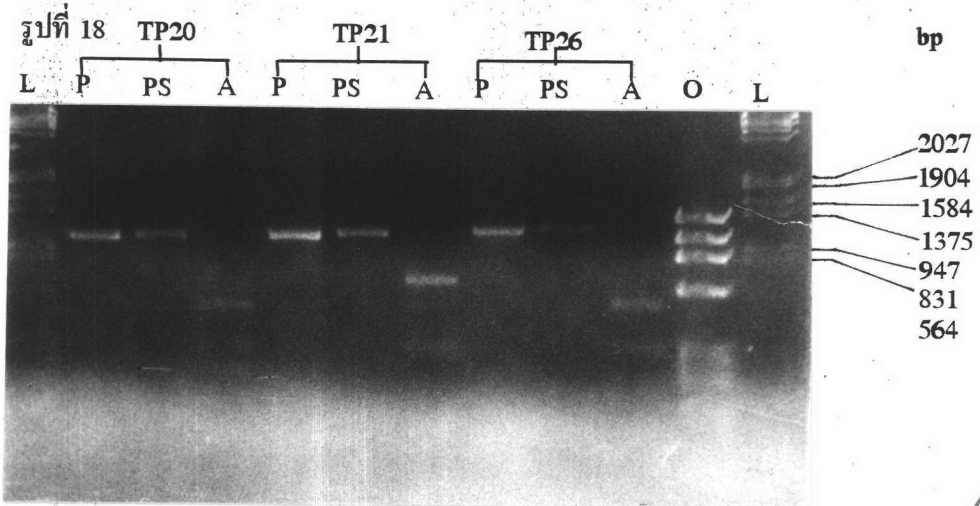
รูปที่ 17 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอ็นไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31
- แถวที่ 4,5 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ K31
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 R
- แถวที่ 7,8 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TM142 R
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP4
- แถวที่ 10,11 ผลิตภัณฑ์ PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TP4
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

รูปที่ 17.1 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe K2 จากตัวอย่างในรูปที่ 17 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์

รูปที่ 17.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 17 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

รูปที่ 17.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 17 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe R2



L = Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
O = ϕ X174/*Hae*III

P = PCR
PS = PCR digested with *Pst*I
A = PCR digested with *Alu*I

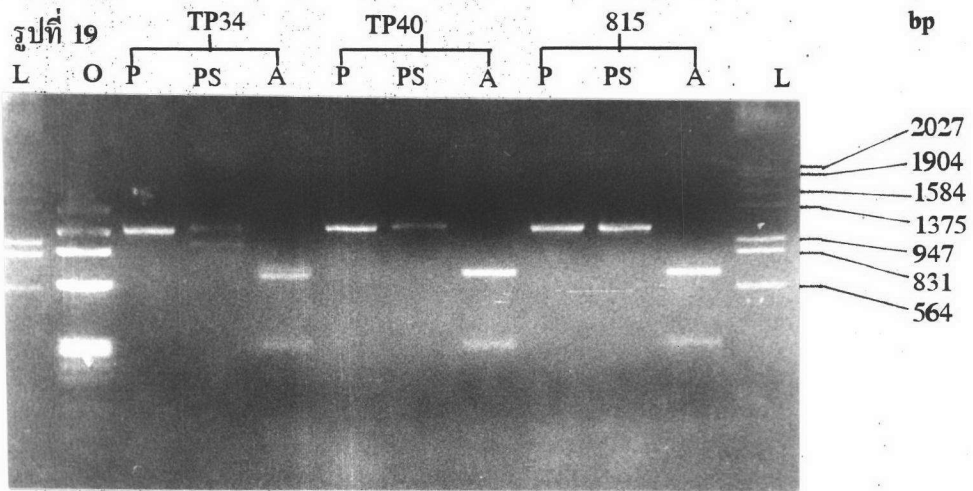
รูปที่ 18 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตผลจาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอ็นไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ผลิตผล PCR ของ TP20
- แถวที่ 3,4 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TP20
- แถวที่ 5 ผลิตผล PCR ของ TP21
- แถวที่ 6,7 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TP21
- แถวที่ 8 ผลิตผล PCR ของ TP26
- แถวที่ 9,10 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TP26
- แถวที่ 11 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

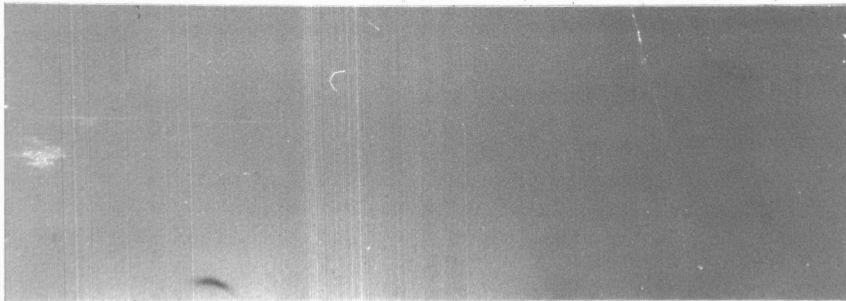
รูปที่ 18.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 18 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K2

รูปที่ 18.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 18 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

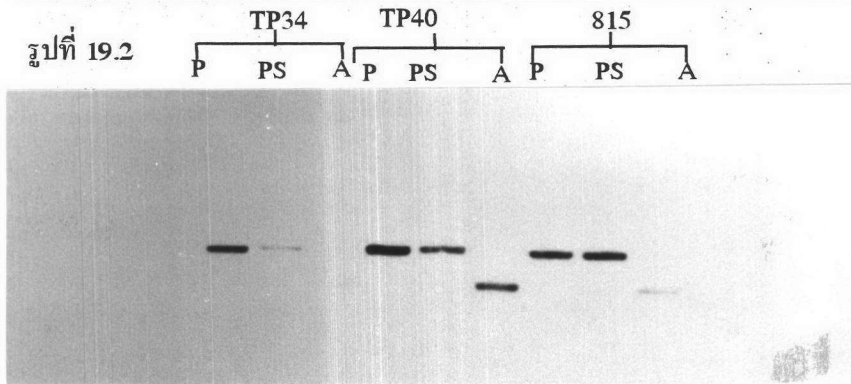
รูปที่ 18.3 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe R2 จากตัวอย่างในรูปที่ 18 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์



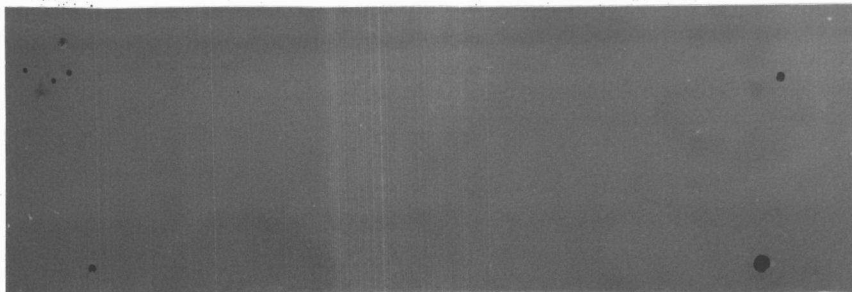
รูปที่ 19.1



รูปที่ 19.2



รูปที่ 19.3



L = Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
O = \emptyset X174/*Hae*III

P = PCR
PS = PCR digested with *Pst*I
A = PCR digested with *Alu*I

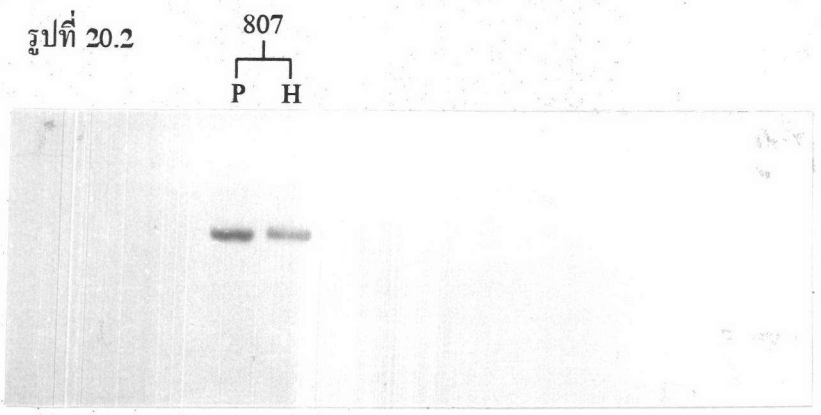
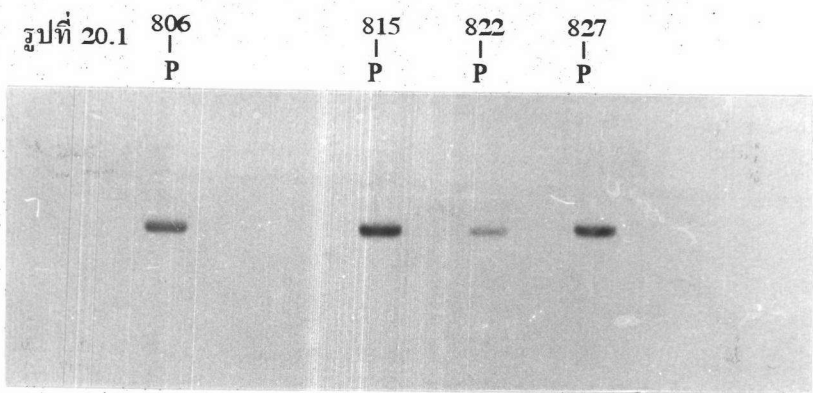
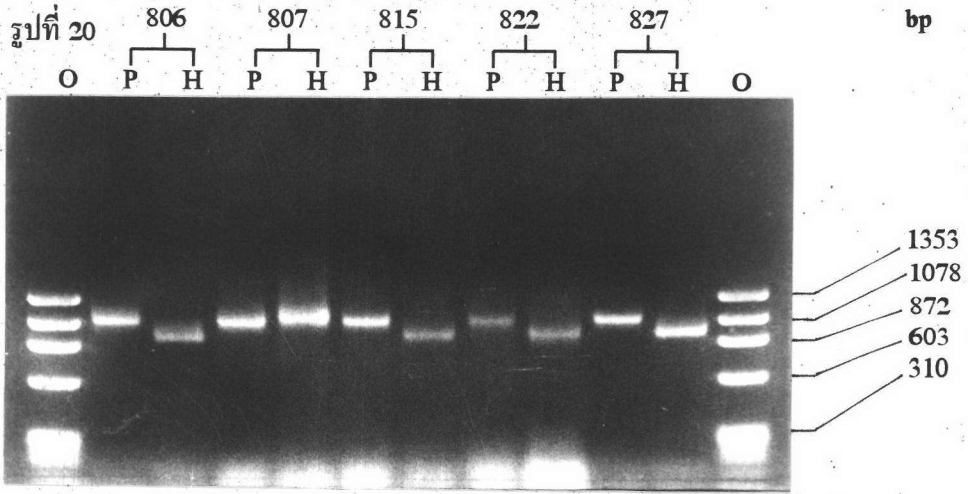
รูปที่ 19 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตผลจาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Pst*I และ *Alu*I เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/Hind*III/*Eco*RI และ ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 3 ผลิตผล PCR ของ TP34
- แถวที่ 4,5 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TP34
- แถวที่ 6 ผลิตผล PCR ของ TP40
- แถวที่ 7,8 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ TP40
- แถวที่ 9 ผลิตผล PCR ของ 815
- แถวที่ 10,11 ผลิตผล PCR ที่ตัดด้วย *Pst*I และ *Alu*I ของ 815
- แถวที่ 12 *Lambda/Hind*III/*Eco*RI

รูปที่ 19.1 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe K2 จากตัวอย่างในรูปที่ 19 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์

รูปที่ 19.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 19 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M2

รูปที่ 19.3 แสดงผล Southern blot hybridization ด้วย probe R2 จากตัวอย่างในรูปที่ 19 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์



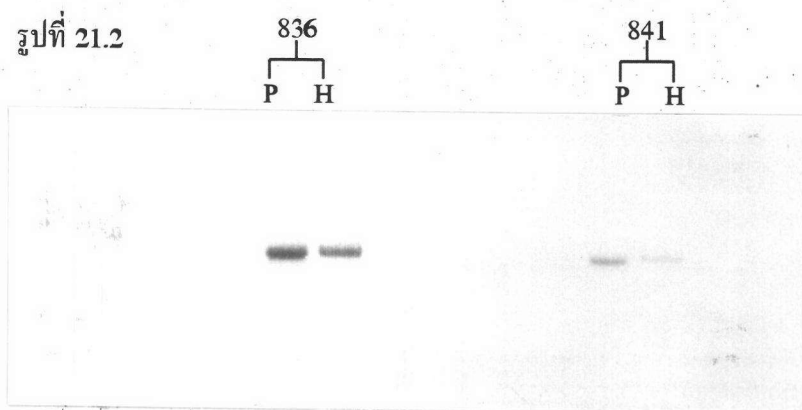
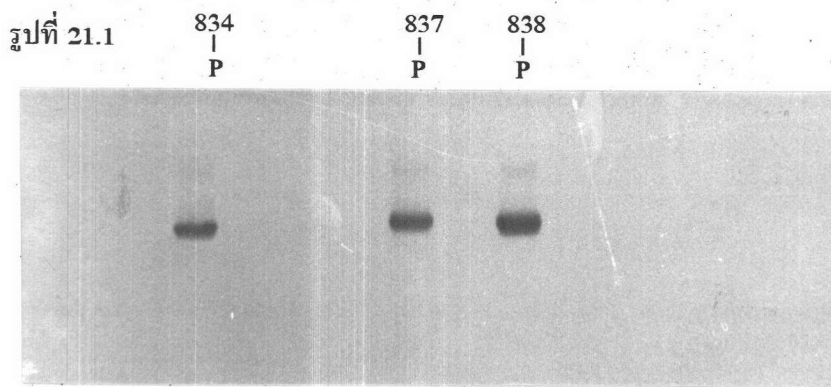
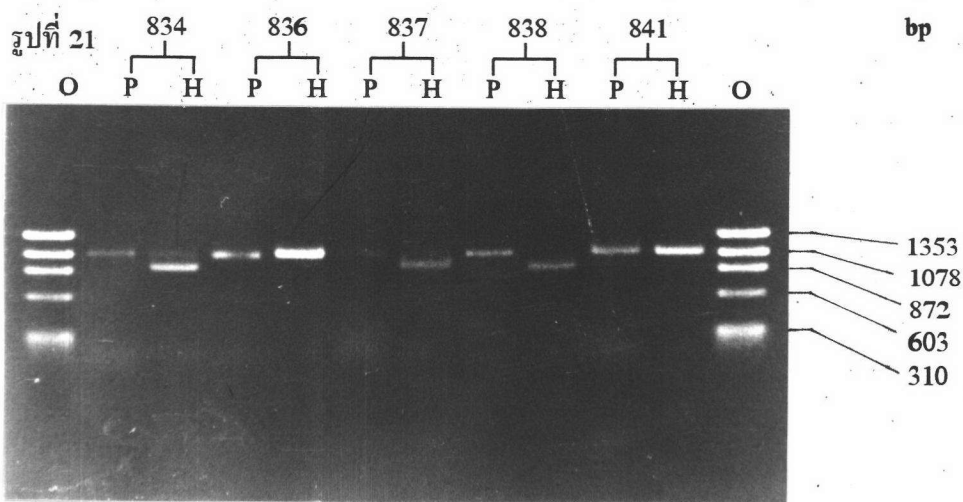
O = ØX174/*Hae*III
P = PCR
H = PCR digested with *Hae*III

รูปที่ 20 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 806
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 806 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 807
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 807 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 815
- แถวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 815 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 822
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 822 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 827
- แถวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 827 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 12 ϕ X174/*Hae*III

รูปที่ 20.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 20 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K4

รูปที่ 20.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 20 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M4



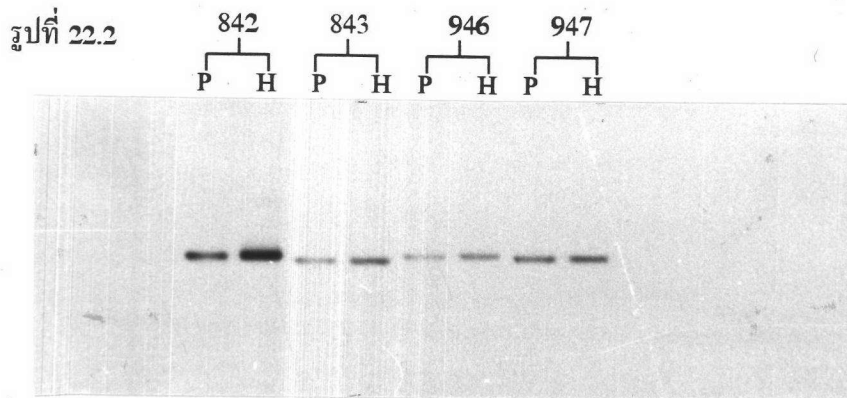
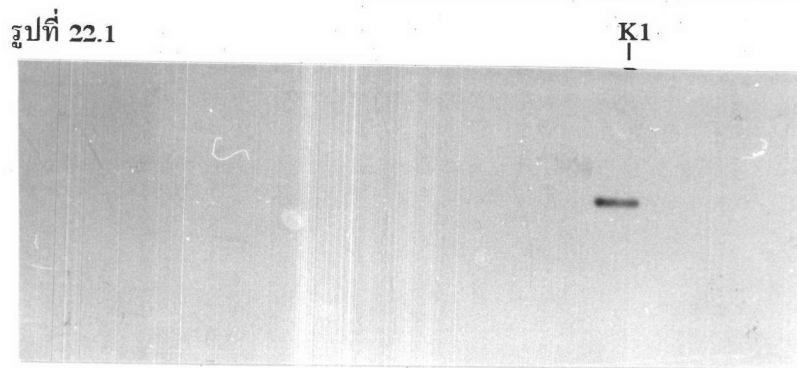
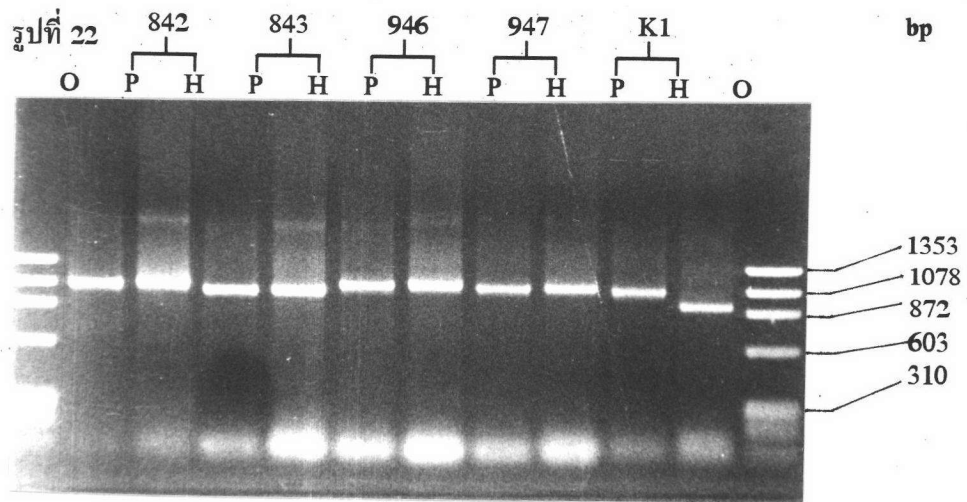
O = \emptyset X174/*Hae*III
 P = PCR
 H = PCR digested with *Hae*III

รูปที่ 21 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 834
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 834 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 836
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 836 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 837
- แถวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 837 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 838
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 838 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 841
- แถวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 841 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 12 ϕ X174/*Hae*III

รูปที่ 21.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 21 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K4

รูปที่ 21.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 21 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M4



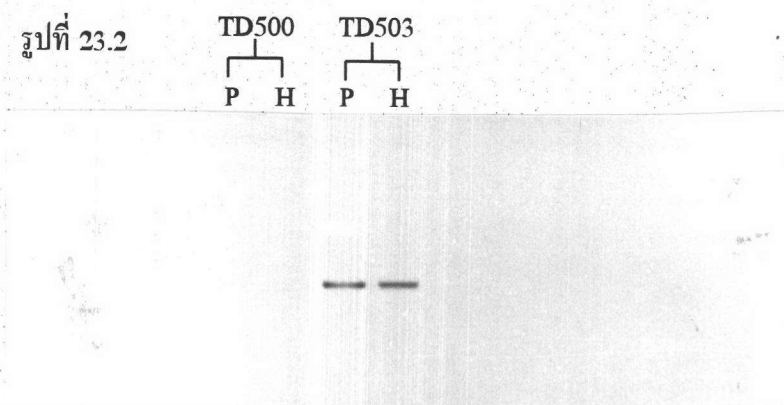
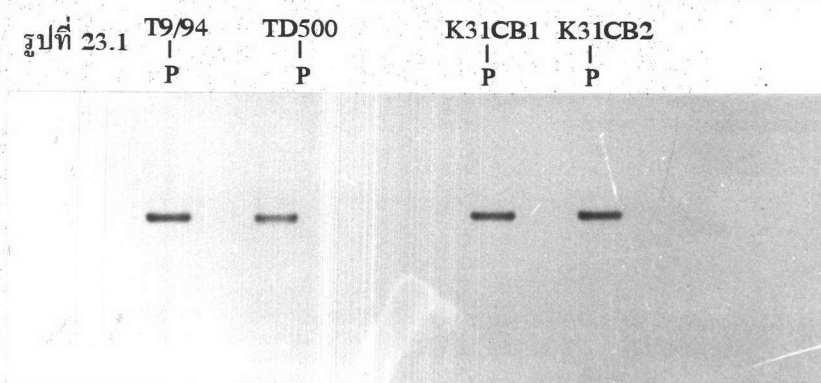
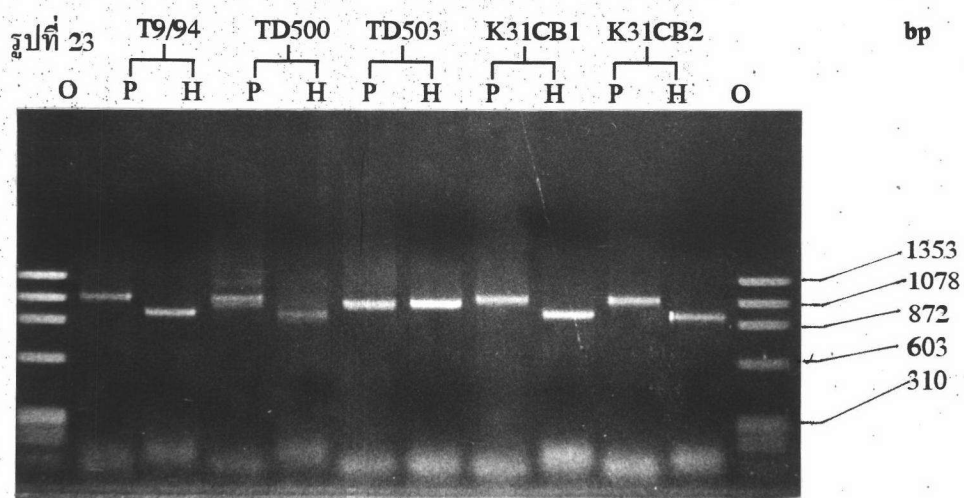
O = ØX174/*Hae*III
 P = PCR
 H = PCR digested with *Hae*III

รูปที่ 22 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แฉวที่ 1 ϕ X174/*Hae*III
- แฉวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 842
- แฉวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 842 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 843
- แฉวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 843 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 946
- แฉวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 946 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 947
- แฉวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 947 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K1
- แฉวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K1 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 12 ϕ X174/*Hae*III

รูปที่ 22.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 22 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K4

รูปที่ 22.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 22 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M4



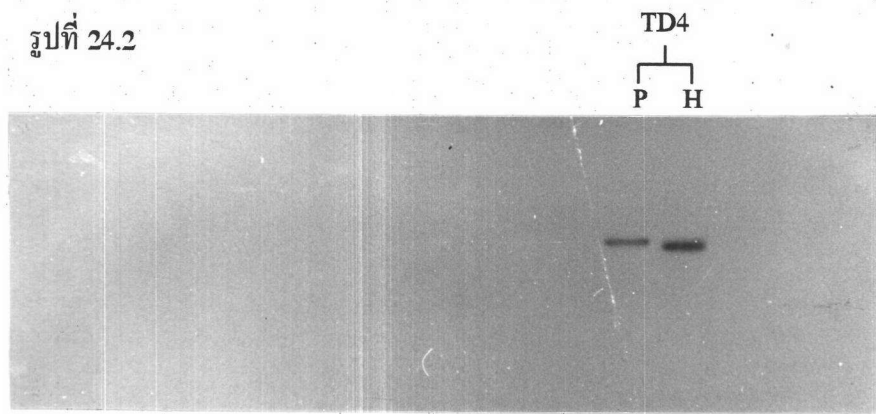
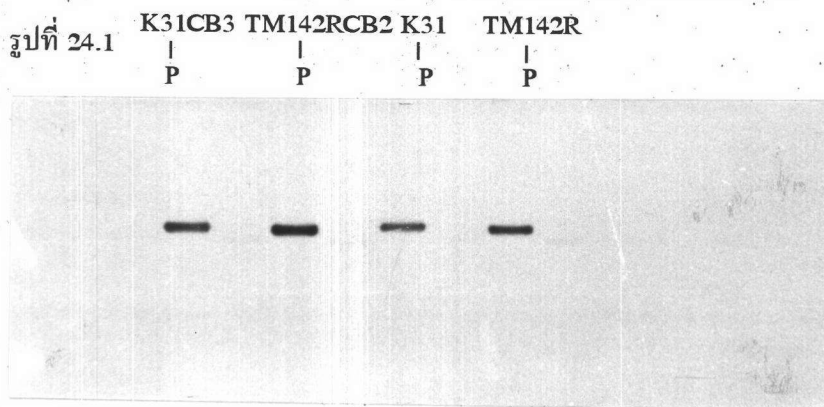
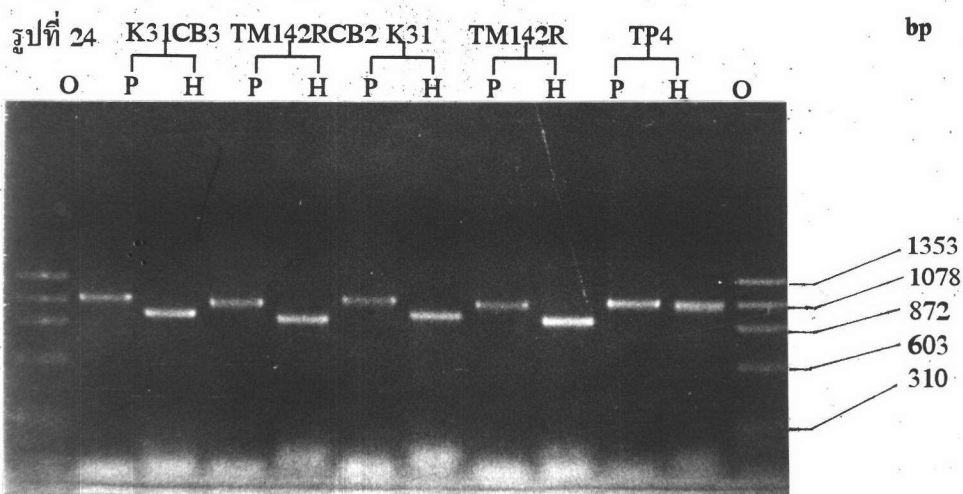
O = OX174/*Hae*III
 P = PCR
 H = PCR digested with *Hae*III

รูปที่ 23 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ T9/94
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ T9/94 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TD500
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TD500 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TD503
- แถวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TD503 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB1
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB1 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB2
- แถวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB2 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 12 ϕ X174/*Hae*III

รูปที่ 23.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 23 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K4

รูปที่ 23.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 23 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M4



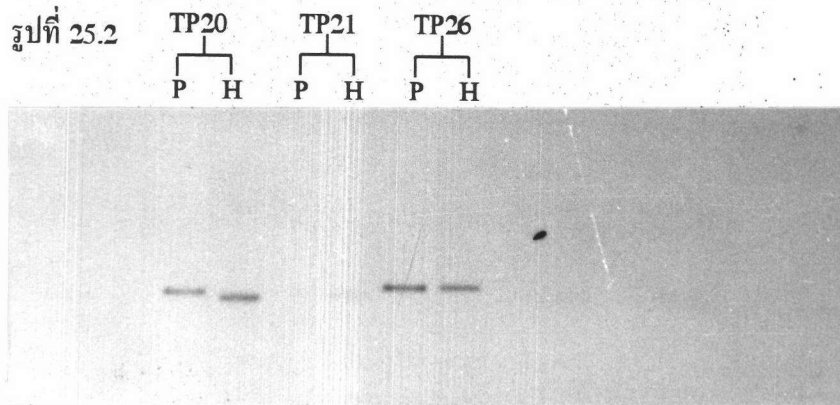
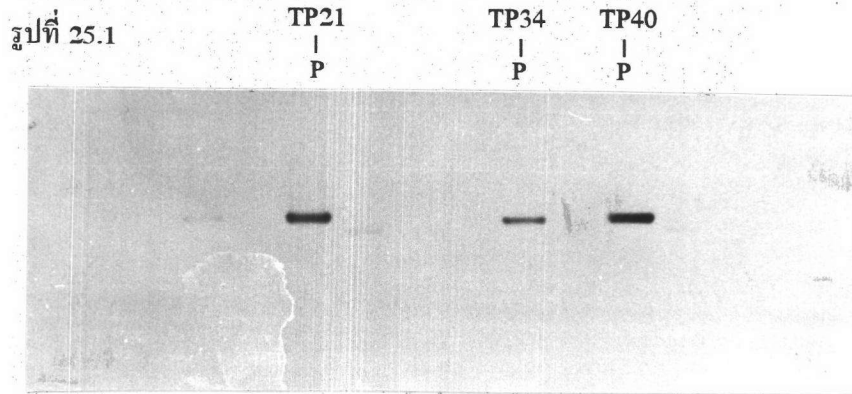
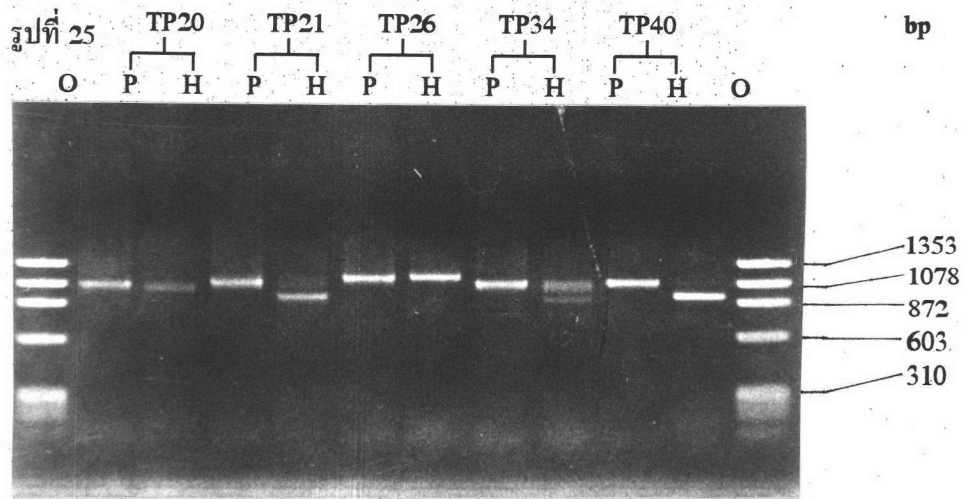
O = ϕ X174/*Hae*III
 P = PCR
 H = PCR digested with *Hae*III

รูปที่ 24 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 ϕ X174/*Hae*III
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB3
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB3 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 RCB2
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 RCB2 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31
- แถวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 R
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 R ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP4
- แถวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP4 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แถวที่ 12 ϕ X174/*Hae*III

รูปที่ 24.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 24 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K4

รูปที่ 24.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 24 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M4



O = ϕ X174/*Hae*III
 P = PCR
 H = PCR digested with *Hae*III

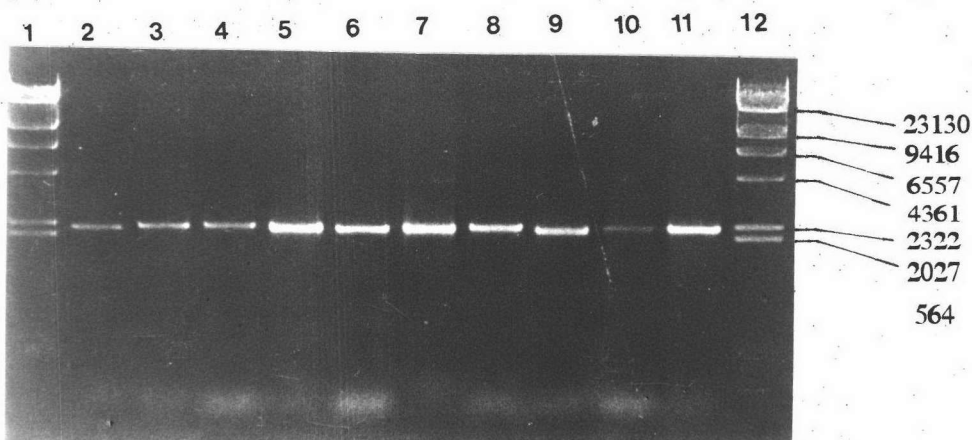
รูปที่ 25 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1.7% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR และแถบดีเอ็นเอจากการตัดด้วยเอนไซม์ *Hae*III เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ϕ X174/*Hae*III เรียงลำดับดังนี้

- แฉวที่ 1 ϕ X174/*Hae*III
- แฉวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP20
- แฉวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP20 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP21
- แฉวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP21 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP26
- แฉวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP26 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP34
- แฉวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP34 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP40
- แฉวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP40 ที่ตัดด้วย *Hae*III
- แฉวที่ 12 ϕ X174/*Hae*III

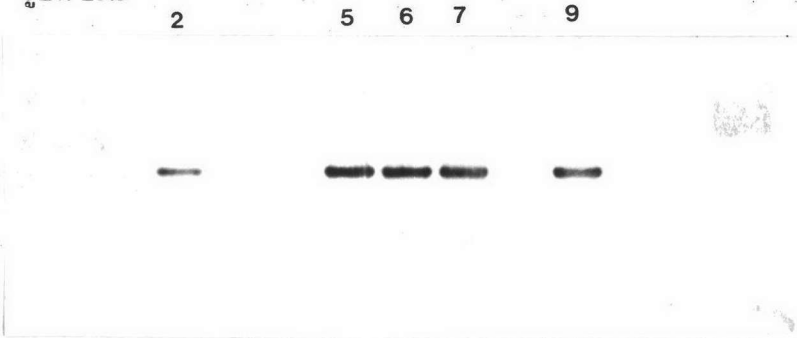
รูปที่ 25.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 25 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K4

รูปที่ 25.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 25 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M4

រូបភាព 26



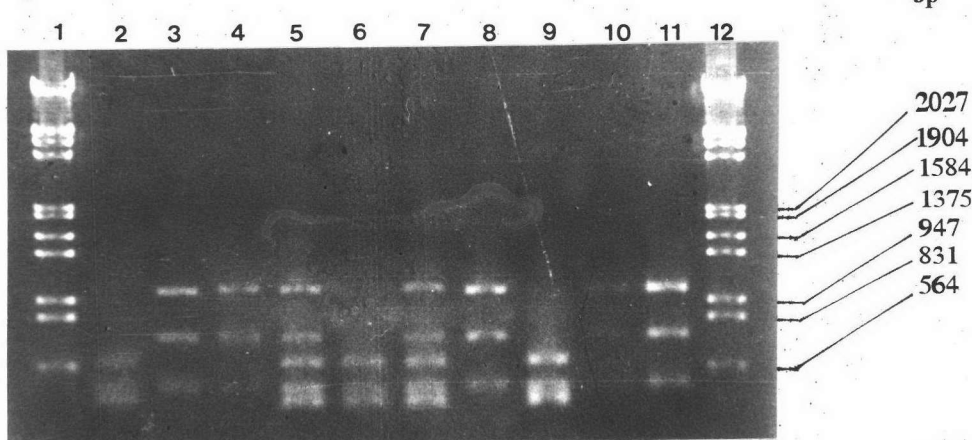
រូបភាព 26.1



រូបភាព 26.2



រូបភាព 26.3



รูปที่ 26 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR ในช่วง block 5 ถึง block 13 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/HindIII เรียงลำดับดังนี้

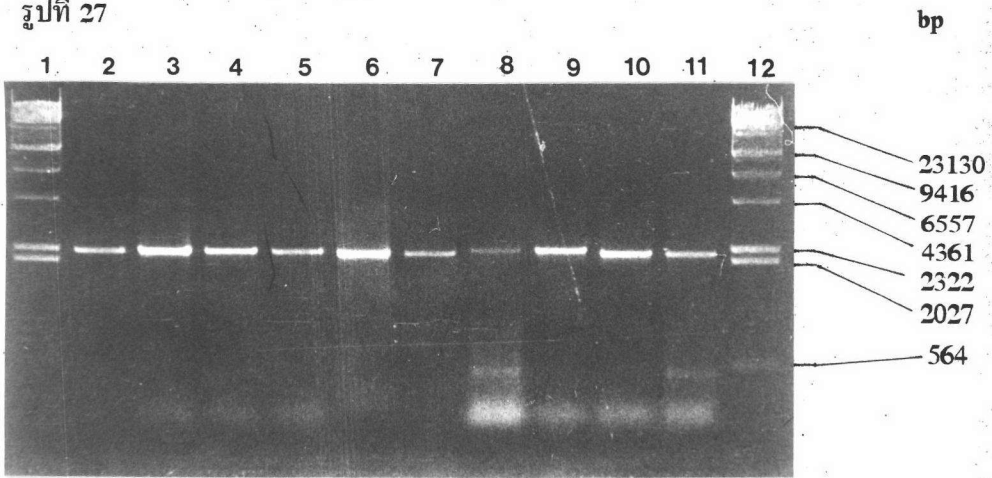
| | |
|-----------|--------------------|
| แฉวที่ 1 | Lambda/HindIII |
| แฉวที่ 2 | ผลิตผล PCR ของ 806 |
| แฉวที่ 3 | ผลิตผล PCR ของ 807 |
| แฉวที่ 4 | ผลิตผล PCR ของ 815 |
| แฉวที่ 5 | ผลิตผล PCR ของ 822 |
| แฉวที่ 6 | ผลิตผล PCR ของ 827 |
| แฉวที่ 7 | ผลิตผล PCR ของ 834 |
| แฉวที่ 8 | ผลิตผล PCR ของ 836 |
| แฉวที่ 9 | ผลิตผล PCR ของ 837 |
| แฉวที่ 10 | ผลิตผล PCR ของ 838 |
| แฉวที่ 11 | ผลิตผล PCR ของ 841 |
| แฉวที่ 12 | Lambda/HindIII |

รูปที่ 26.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 26 บนแผ่นฟิล์มเอ็กซ์เรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K216

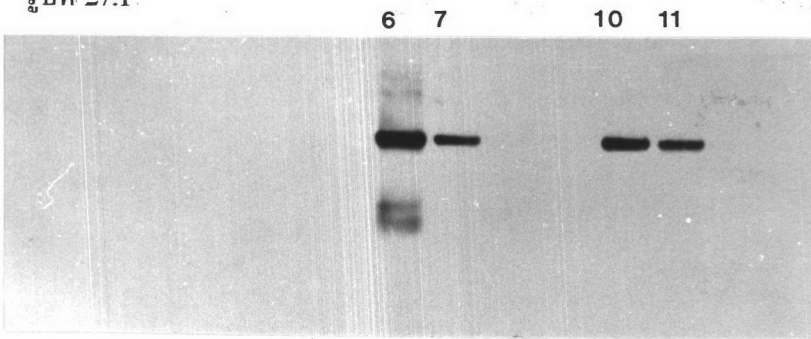
รูปที่ 26.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 26 บนแผ่นฟิล์มเอ็กซ์เรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M534

รูปที่ 26.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 26 ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *DraI* บน 1% อะกาโรสเจล เทียบกับ ดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/HindIII/EcoRI

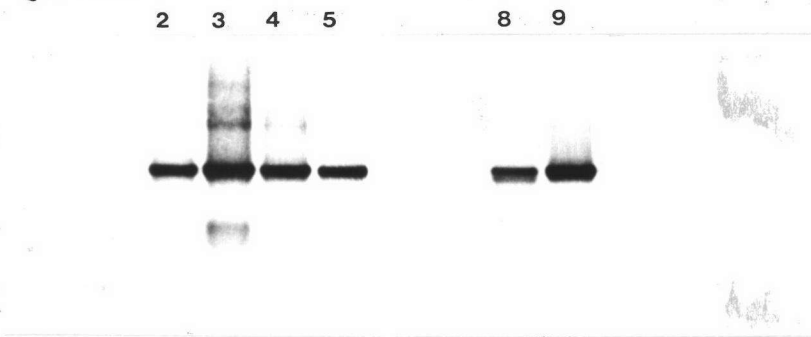
รูปที่ 27



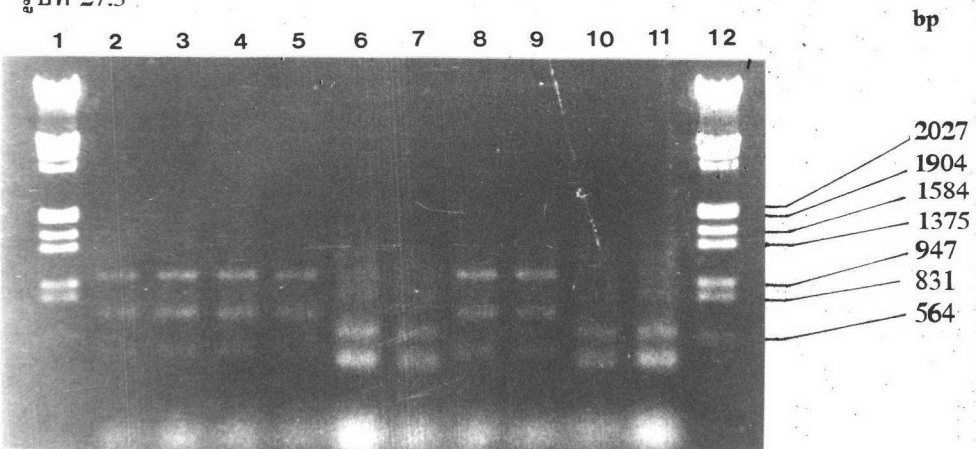
รูปที่ 27.1



รูปที่ 27.2



รูปที่ 27.3



รูปที่ 27 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR ในช่วง block 5 ถึง block 13 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/HindIII* เรียงลำดับดังนี้

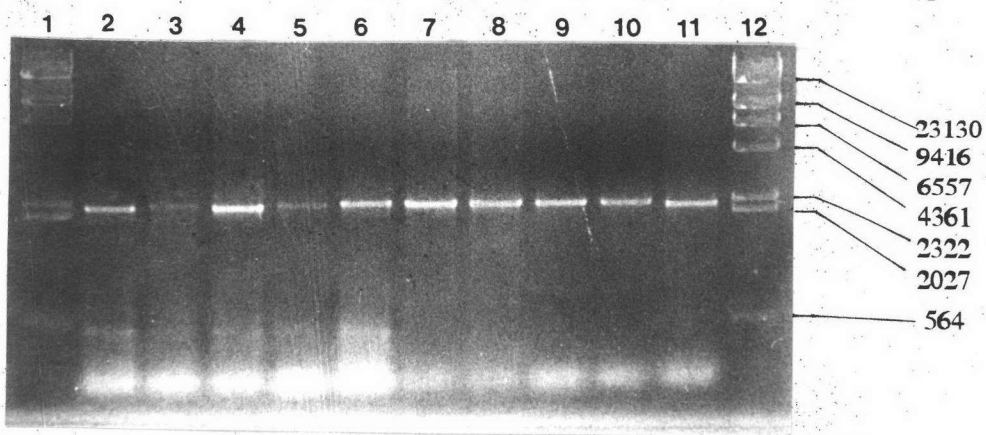
- แฉวที่ 1 *Lambda/HindIII*
- แฉวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 842
- แฉวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 843
- แฉวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 946
- แฉวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 947
- แฉวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K1
- แฉวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ T9/94
- แฉวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TD500
- แฉวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TD503
- แฉวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB1
- แฉวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB2
- แฉวที่ 12 *Lambda/HindIII*

รูปที่ 27.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 27 บนแผ่นฟิล์มเอ็กซ์เรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K216

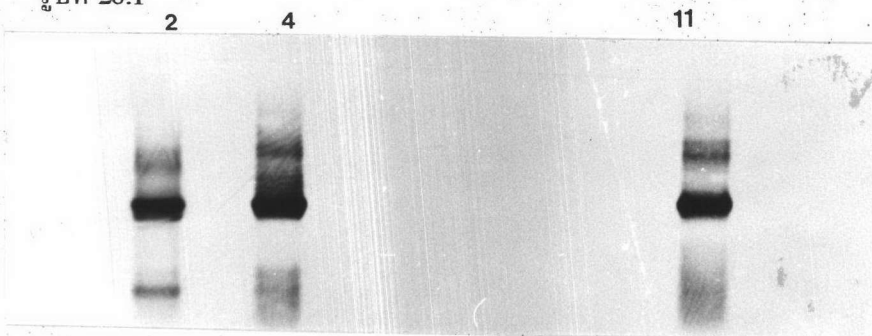
รูปที่ 27.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 27 บนแผ่นฟิล์มเอ็กซ์เรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M534

รูปที่ 27.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 27 ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *DraI* บน 1% อะกาโรสเจล เทียบกับ ดีเอ็นเอมาตรฐาน *Lambda/HindIII/EcoRI*

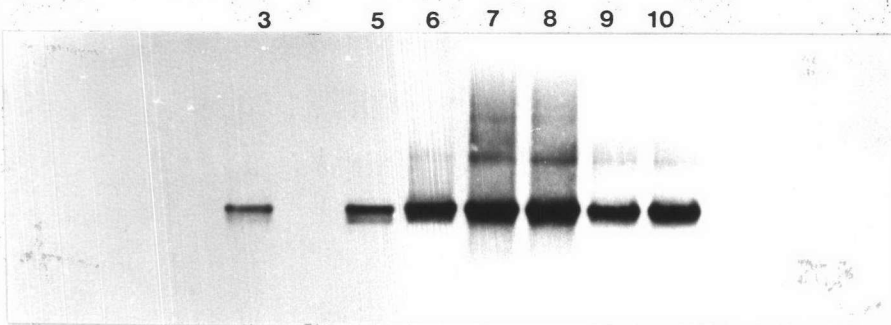
រូបភាព 28



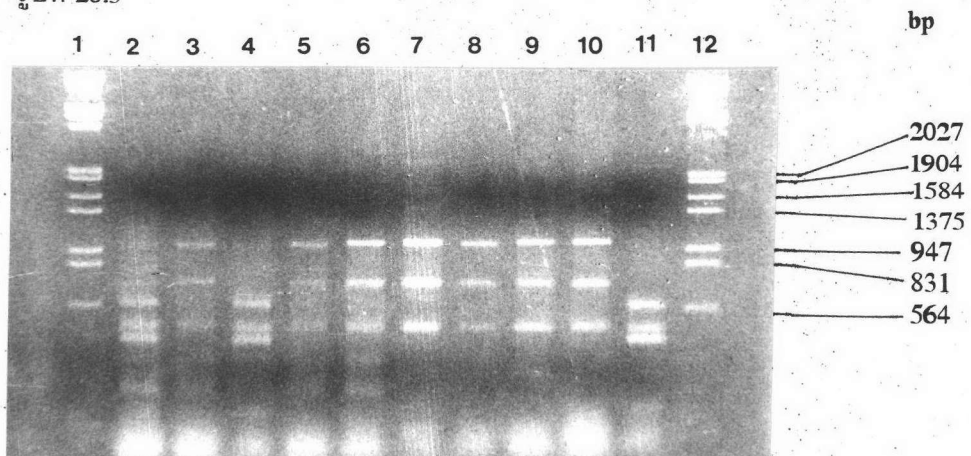
រូបភាព 28.1



រូបភាព 28.2



រូបភាព 28.3



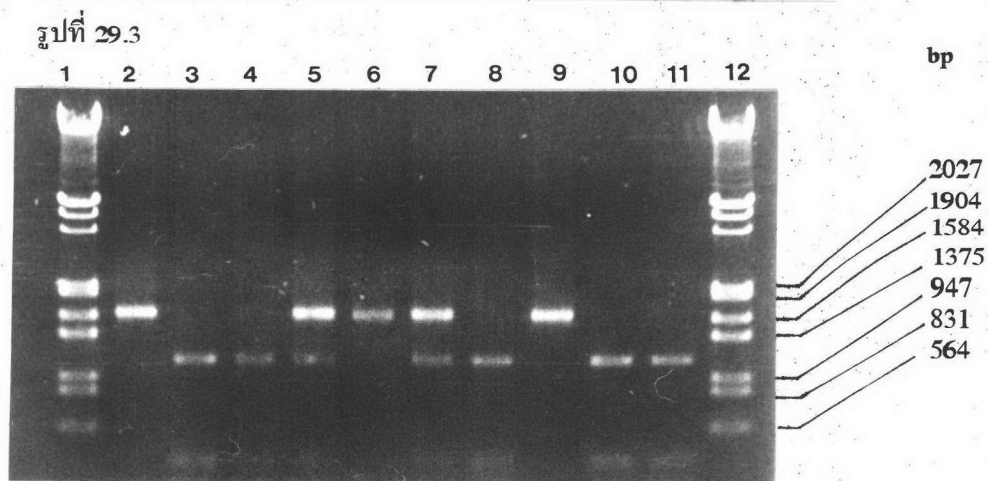
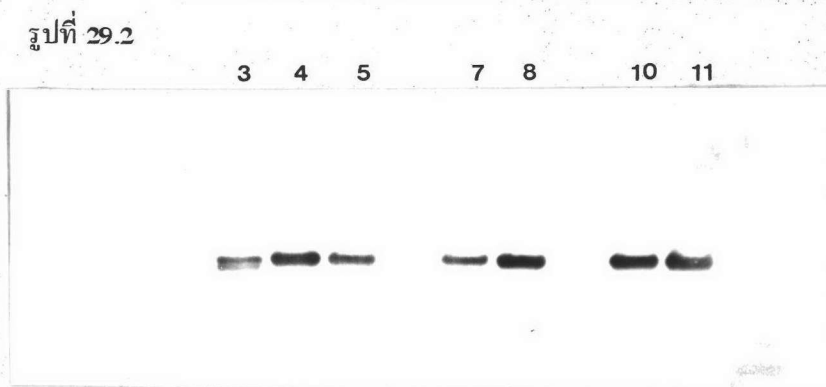
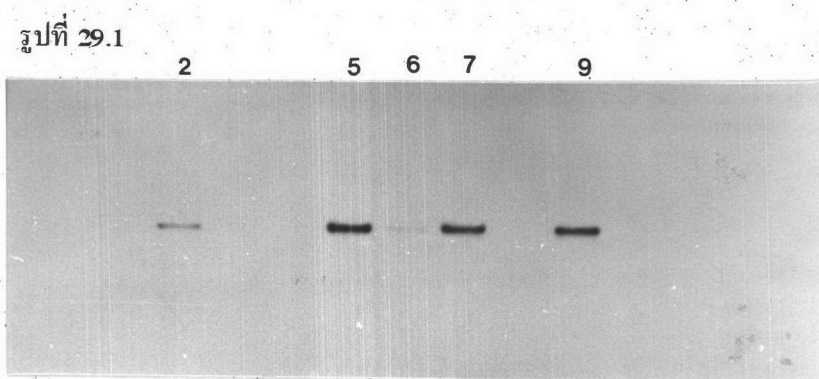
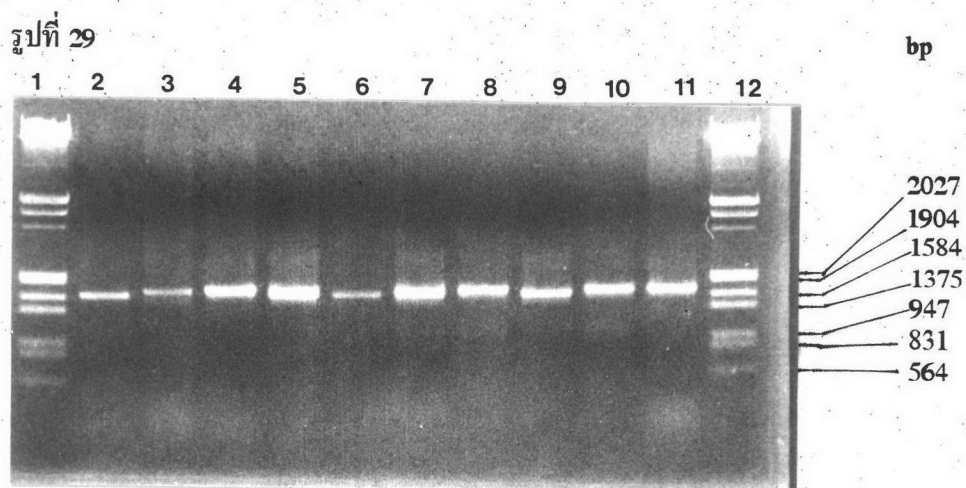
รูปที่ 28 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR ในช่วง block 5 ถึง block 13 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/HindIII เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 Lambda/HindIII
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB3
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 RCB2
- แถวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 R
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP4
- แถวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP20
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP21
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP26
- แถวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP34
- แถวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP40
- แถวที่ 12 Lambda/HindIII

รูปที่ 28.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 28 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K216

รูปที่ 28.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 28 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M534

รูปที่ 28.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 28 ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *DraI* บน 1% อะกาโรสเจล เทียบกับ ดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/HindIII/EcoRI



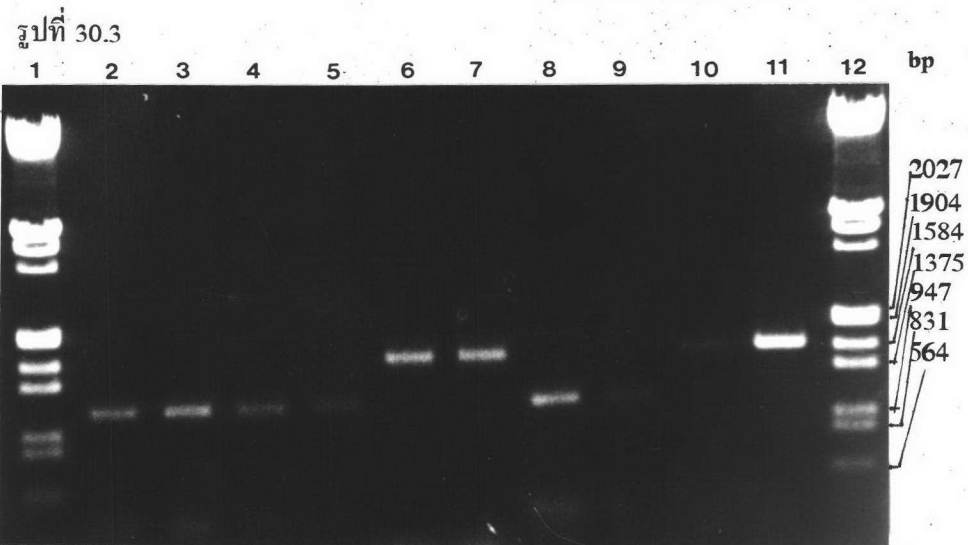
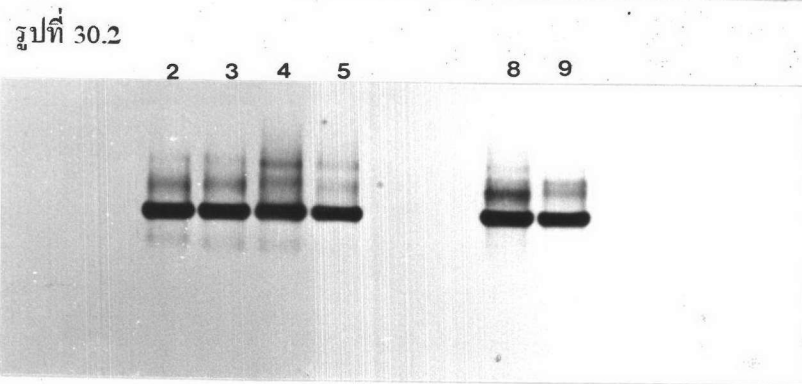
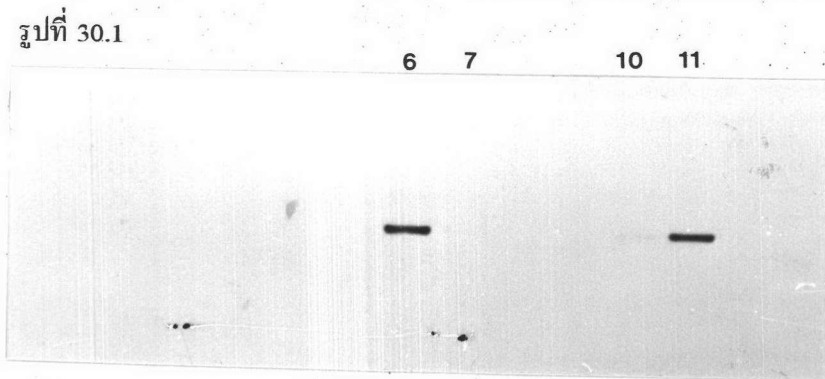
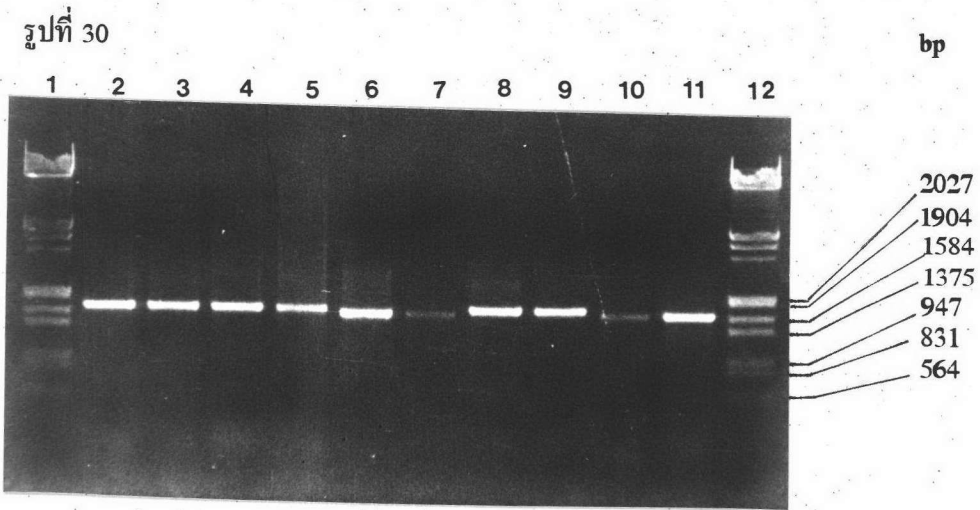
รูปที่ 29 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR ในช่วง block12 ถึง block 17 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/*Hind*III/*Eco*RI เรียงลำดับดังนี้

| | |
|-----------|--|
| แถวที่ 1 | Lambda/ <i>Hind</i> III/ <i>Eco</i> RI |
| แถวที่ 2 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 806 |
| แถวที่ 3 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 807 |
| แถวที่ 4 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 815 |
| แถวที่ 5 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 822 |
| แถวที่ 6 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 827 |
| แถวที่ 7 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 834 |
| แถวที่ 8 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 836 |
| แถวที่ 9 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 837 |
| แถวที่ 10 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 838 |
| แถวที่ 11 | ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 841 |
| แถวที่ 12 | Lambda/ <i>Hind</i> III/ <i>Eco</i> RI |

รูปที่ 29.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 29 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K16

รูปที่ 29.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 29 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M16

รูปที่ 29.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 29 ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Hind*III บน 1.7% อะกาโรสเจล เทียบกับ ดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/*Hind*III/*Eco*RI



รูปที่ 30 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR ในช่วง block12 ถึง block 17 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/*Hind*III/*Eco*RI เรียงลำดับดังนี้

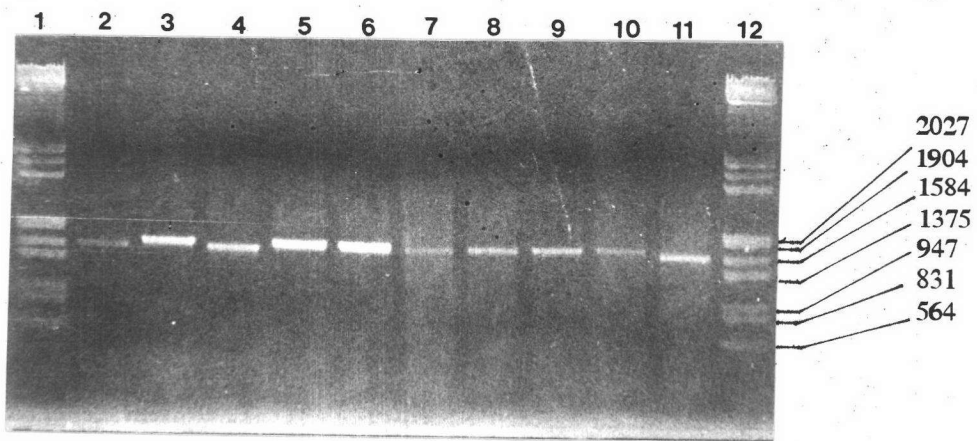
- แถวที่ 1 Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 842
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 843
- แถวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 946
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ 947
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K1
- แถวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ T9/94
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TD500
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TD503
- แถวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB1
- แถวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB2
- แถวที่ 12 Lambda/*Hind*III/*Eco*RI

รูปที่ 30.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 30 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K16

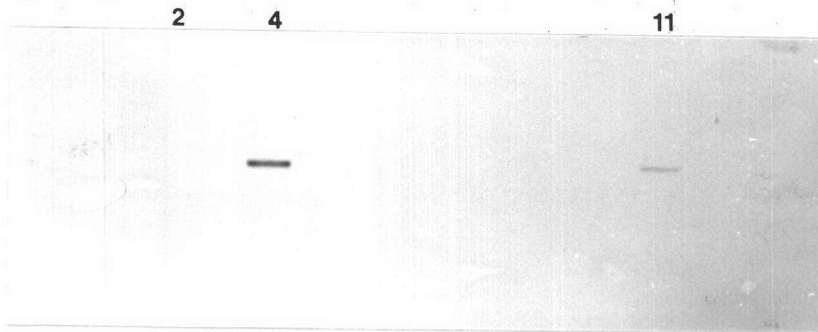
รูปที่ 30.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 30 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M16

รูปที่ 30.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 30 ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Hind*III บน 1.7% อะกาโรสเจล เทียบกับ ดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/*Hind*III/*Eco*RI

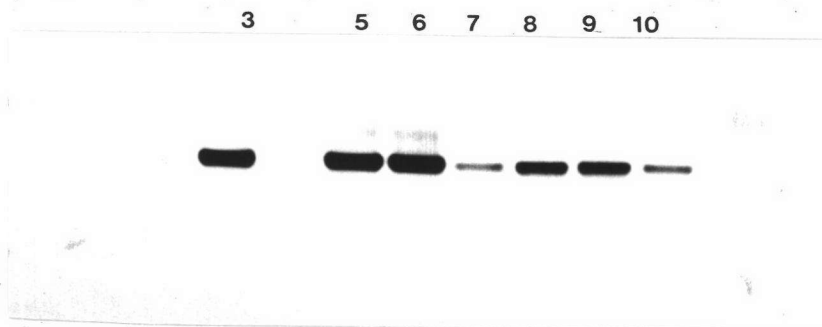
รูปที่ 31



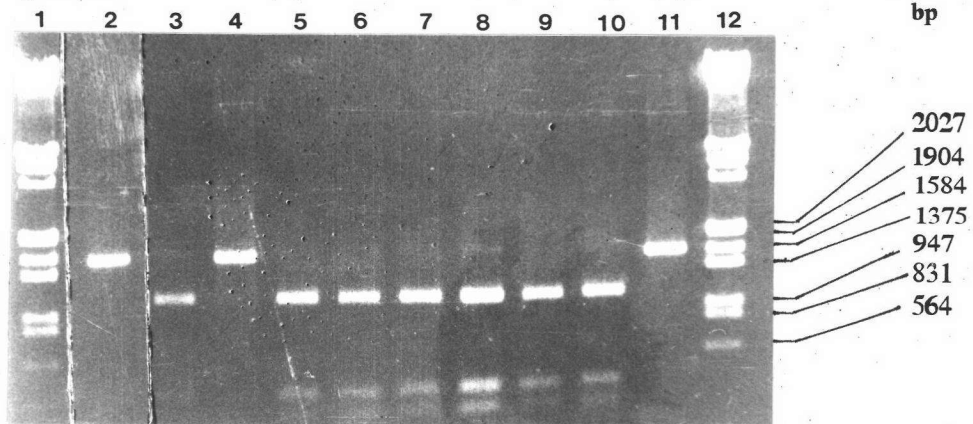
รูปที่ 31.1



รูปที่ 31.2



รูปที่ 31.3



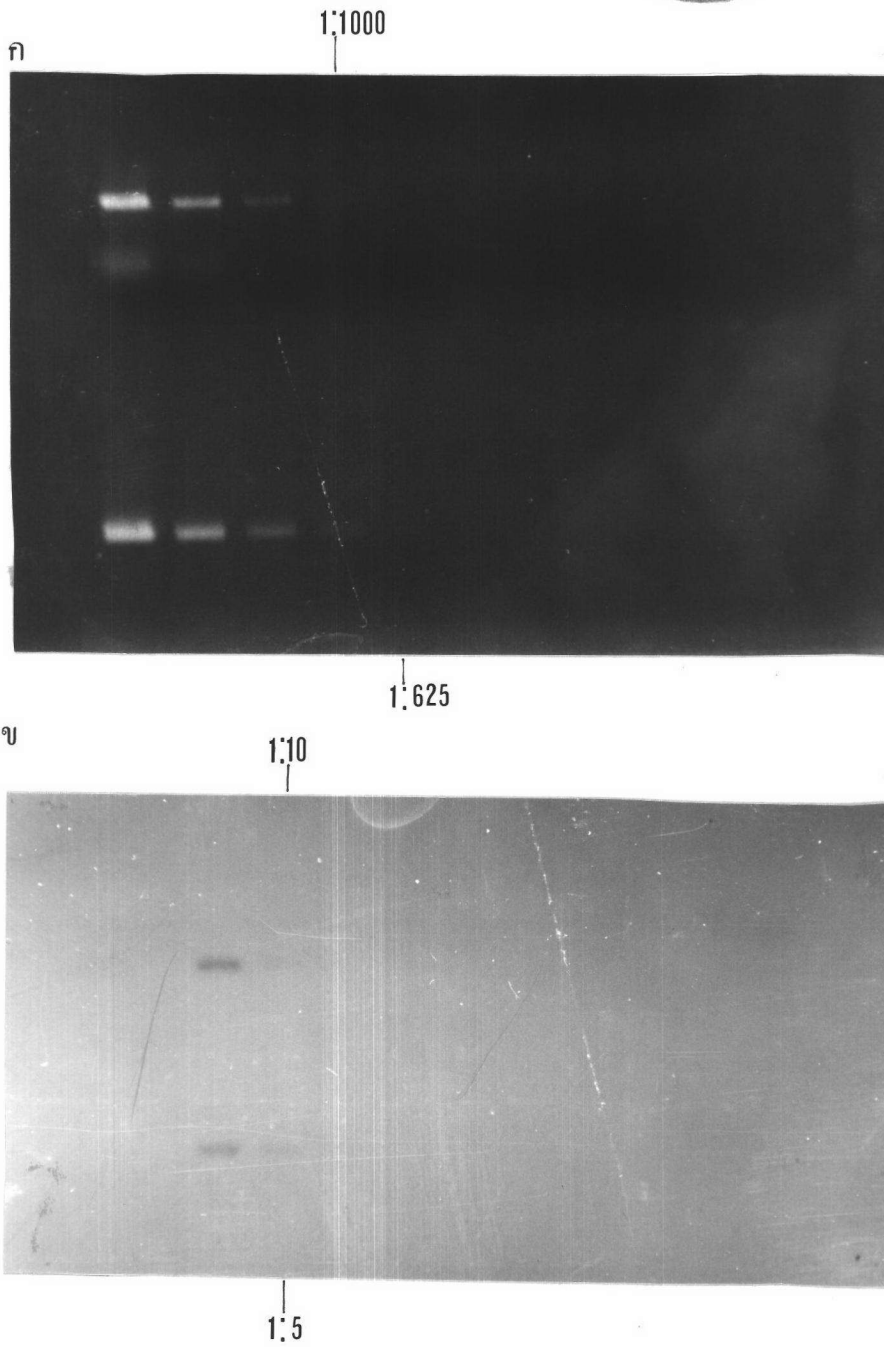
รูปที่ 31 แสดงแถบดีเอ็นเอบน 1% อะกาโรสเจลของผลิตภัณฑ์จาก PCR ในช่วง block12 ถึง block 17 เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/*Hind*III/*Eco*RI เรียงลำดับดังนี้

- แถวที่ 1 Lambda/*Hind*III/*Eco*RI
- แถวที่ 2 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31CB3
- แถวที่ 3 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 RCB2
- แถวที่ 4 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ K31
- แถวที่ 5 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TM142 R
- แถวที่ 6 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP4
- แถวที่ 7 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP20
- แถวที่ 8 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP21
- แถวที่ 9 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP26
- แถวที่ 10 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP34
- แถวที่ 11 ผลิตภัณฑ์ PCR ของ TP40
- แถวที่ 12 Lambda/*Hind*III/*Eco*RI

รูปที่ 31.1 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 31 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe K16

รูปที่ 31.2 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 31 บนแผ่นฟิล์มเอกซเรย์ จากการทำ Southern blot hybridization ด้วย probe M16

รูปที่ 31.3 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างในรูปที่ 31 ที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ *Hind*III บน 1.7% อะกาโรสเจล เทียบกับ ดีเอ็นเอมาตรฐาน Lambda/*Hind*III/*Eco*RI



รูปที่ 32 แสดงแถบดีเอ็นเอจากผลิตภัณฑ์ PCR (ก) และ จาก Southern blot hybridization (ข) ที่ได้จากการทำ limiting dilution