# บทที่ 7

## สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาความหลากหลายของอัลลีลในยีนที่สร้างโปรตีนบนผิวเมอร์โรซอยต์ Pv200 ของเชื้อมาลาเรียชนิด *P.vivax* ที่ได้จากผู้ป่วยในประเทศไทยจำนวน 15 ไอโซเลต โดยอาศัยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสเพื่อเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอในส่วนของ block 4 บริเวณ block 5 และในส่วนของ block 6 ของยีน Pv200 และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในทุกไอโซเลต พบว่าประกอบด้วยอัลลีลทั้งหมด 20 อัลลีล ซึ่งแต่ละอัลลีลมีความแตกต่างกันในจำนวนและลำดับนิวคลีโอไทด์โดยเฉพาะอย่างยิ่งในบริเวณ block 6 นอกจากนี้ยังพบการปะปนของ อัลลีลที่ต่างกันในตัวอย่างเดียวกันจำนวน 5 ไอโซเลต อย่างไรก็ตามสามารถจัดกลุ่มอัลลีลของ Pv200 ตามลักษณะลำดับนิวคลีโอไทด์ใน block 5 ได้เป็น 5 กลุ่ม โดยกลุ่มอัลลีลที่ 2, 3 และ 4 มีลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เป็นองค์ประกอบของกลุ่มที่ 1 หรือกลุ่ม Sal-1 และกลุ่มที่ 5 หรือกลุ่ม Belem แต่มีสัดส่วนขององค์ประกอบต่างกันและทุกกลุ่มมีลำดับนิวคลีโอไทด์ทางด้าน 5' คล้ายกับอัลลีลในกลุ่มที่ 1 และปลายทางด้าน 3' คล้ายอัลลีลในกลุ่มที่ 5 อัลลีลที่พบมากที่สุดคืออัลลีลในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 3 โดยพบ 9 และ 7 อัลลีลตามลำดับ นอกจากนี้อัลลีลในกลุ่มที่ 2 และ 4 เป็นอัลลีลใหม่ที่ยังไม่เคยมีรายงานมาก่อน สำหรับในบริเวณ block 4 และ block 6 พบความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างสายพันธุ์สูง โดยพบการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ 40 ตำแหน่ง หรือร้อยละ 6 ของบริเวณดังกล่าว การแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ ณ ตำแหน่งหนึ่ง ๆ เกือบทั้งหมดมีเพียง 2 ชนิดเท่านั้น การแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ในบางบริเวณยังมีความสัมพันธ์กัน กล่าวคือจะมีการเปลี่ยนแปลงชนิดของนิวคลีโอไทด์เกิดขึ้นพร้อมกันหลายตำแหน่ง การแทนที่ของนิวคลีโอไทด์มีทั้งชนิด transition และ transversion ซึ่งพบร้อยละ 75 และร้อยละ 25 ตามลำดับ การแทนที่ดังกล่าวไม่ทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนแปลงร้อยละ 42.43 และทำให้กรดอะมิโนเปลี่ยนแปลง

ร้อยละ 57.57 โดยกรดอะมิโนที่เปลี่ยนแปลงมักจะมีคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ไม่ต่างจากเดิมมากนัก เมื่อวิเคราะห์ hydropathy profile พบว่าในส่วนของ block 4 และ block 6 มีลักษณะคล้ายกันในแต่ละกลุ่มอัลลีล แต่ในบริเวณ block 5 พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มอัลลีลซึ่งเป็นบริเวณที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิด hydrophilic มากและไม่พบ T-cell epitope motif ในบริเวณที่มีกรดอะมิโนชนิด glutamine ซ้ำ ๆ กัน ดังนั้นความแตกต่างในลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Pv200 ในบริเวณที่ศึกษานี้ทำให้แต่ละกลุ่มอัลลีลมีตำแหน่งสำหรับเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในแตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

1.แม้ว่าในการศึกษานี้จะใช้ตัวอย่างเชื้อจำนวนมากกว่าการศึกษาอื่น ๆ ที่เคยมีรายงานมาก่อน แต่การศึกษาโดยใช้จำนวนตัวอย่างเชื้อมากขึ้นอาจทำให้พบความหลากหลายของอัลลีล Pv200 ได้มากยิ่งขึ้นหรือทำให้ทราบขอบเขตของความหลากหลายได้ดีขึ้นและอาจทำให้การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลำดับนิวคลีโอไทด์ในแต่ละกลุ่มอัลลีลได้ดียิ่งขึ้น อันจะเป็นประโยชน์ในการเข้าใจกลไกทางพันธุกรรมที่ก่อให้เกิดความหลากหลายดังกล่าวต่อไป

2. จากการวิเคราะห์ตำแหน่งตัดของเอนไซม์ตัดจำเพาะภายในของแต่ละกลุ่มอัลลีลทำให้สามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับการเพิ่มปริมาณดีเอนเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส เพื่อการตรวจสอบอัลลีล Pv200 ในบริเวณ block 5 ได้อย่างรวดเร็วอันจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาตัวอย่างเชื้อ *P.vivax* จำนวนมากได้ นอกจากจะเป็นพื้นฐานของการพัฒนาวัคซีนป้องกันมาลาเรียแล้วยังอาจใช้เป็นตัวบ่งชี้ (marker) สำหรับติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรของมาลาเรียดังกล่าวในระยะเวลาหรือสภาวะที่ที่แตกต่างกันต่อไป

3. การวิเคราะห์ T cell epitope motif ซึ่งพบว่ามีอยู่ทั่วไปในบริเวณ block 4, 5 และ 6 ของ Pv200 ยกเว้นบริเวณที่มี glutamine เรียงซ้ำ ๆ กัน ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นแนวทางในการตรวจหา T cell epitope ที่แท้จริงโดยการทดลองต่อไป



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย