

รายการอ้างอิง

- Amador, R., Moreno, A., Valero, V., Murillo, L., Mora, A.L., Rojas, M., Rocha, C., Salcedo, M., Guzman, F., Espejo, F., Nunez, F. and Patarroyo, M. 1992. The first trials of the chemically synthesized malaria vaccine SPf66: safety, immunogenicity and protectivity. **Vaccine**. 10: 179-184.
- Beaver, P.C., Jung, R.C. and Cupp, E.W. 1984. Morphology, biology, life cycles and classification of protozoa. **Clinical Parasitology**. 9th Ed., 35-40.
- Blackman, M.J., Heidrich, H.-G., Donachie, S., McBride, J.S. and Holder, A.A. 1990. A single fragment of a malaria merozoite surface protein remains on the parasite during red cell invasion and is the target of invasion-inhibiting antibodies. **J. Exp. Med.** 172: 379-382.
- _____ . and Holder, A.A. 1992. Secondary processing of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 (MSP1) by a calcium-dependent membrane-bound serine protease: shedding of MDP1³³ as a noncovalently associated complex with other fragments of the MSP1. **Mol. Biochem. Parasitol.** 50: 307-316.
- _____, Whittle, H. and Holder, A.A. 1991. Processing of the *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1: identification of a 33- kilodalton secondary processing product which is shed prior to erythrocyte invasion. **Mol. Biochem. Parasitol.** 49: 35-44.
- Brown, A.E., Webster, H.K., Lyon, J.A., Thomas, A.W., Permpanich, B. and

- Gross, M. 1991. Characterization of naturally acquired antibody responses to a recombinant fragment from the N-terminus of *Plasmodium falciparum* glycoprotein 195. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 45: 567-573.
- Bruce-Chwatt, L.J. *Essential Malariology*, 1985. 2nd ed. London : William Heinemann Medical Book.
- Cattani, J.A. 1989. Malaria vaccines: results of human trials and directions of current research. *Exp. Parasitol.* 68: 242-247.
- Cerami, C., Frevert, U., Simnis, P., Takacs, B., Clavijo, P., Santos, M.J. and Nussenzweig, V. 1992. The basolateral domain of the hepatocyte plasma membrane bears receptors for the circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum* sporozoites. *Cell.* 70: 1021-1033.
- Certa, U., Rotmann, D., Matile, H. and Reber-Liske, R. 1987. A naturally occurring gene encoding the major surface antigen precursor p190 of *Plasmodium falciparum* lacks tripeptide repeats. *EMBO J.* 6: 4137-4142.
- Chang, S.A., Gibson, H.L., Lee-ng, C.T., Barr, P.J. and Hui, G.S.N. 1992. A carboxyl-terminal fragment of *Plasmodium falciparum* gp195 expressed by recombinant baculovirus induces antibodies that completely inhibit parasite growth. *J. Immunol.* 149: 548-555.
- Cheung, A., Leban, J., Shaw, A.R., Merkli, B., Stocker, J., Chizzolini, C., Sander, C., and Perrin, L.H. 1986. Immunization with synthetic peptides of a *Plasmodium falciparum* surface antigen induces antimerozoite antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83: 8328-8332.

- Conway, D.J., Greenwood, B.M. and McBride, J.S. 1991. The epidemiology of multiple-clone *Plasmodium falciparum* infections in Gambian patients. **Parasitol.** 103: 1-6.
- _____, Greenwood, B.M. and McBride, J.S. 1992. Longitudinal study of *Plasmodium falciparum* polymorphic antigens in a malaria-endemic population. **Infect. Immun.** 60: 1122-1127.
- _____. and McBride, J.S. 1991. Population genetics of *Plasmodium falciparum* within a malaria hyperendemic area. **Parasitol.** 103: 7-16.
- Cooper, J.A. 1993. Merozoite surface antigen-1 of *Plasmodium*. **Parasitol. Today.** 9: 50-54.
- Deleersnijder, W., Hendrix, D., Bendahman, N., Hanegreefs, J., Brijs, L., Hamers-Casterman, C. and Hamers, R. 1990. Molecular cloning and sequence analysis of the gene encoding the major merozoite surface antigen of *Plasmodium chabaudi chabaudi* IP-PC1. **Mol. Biochem. Parasitol.** 43: 231-244.
- Del Portillo, H.A., Longacre, S., Khouri, E. and David, P.H. 1991. Primary structure of the merozoite surface antigen 1 of *Plasmodium vivax* reveals sequences conserved between different *Plasmodium* species. **Proc.Natl. Acad. Sci. USA.** 88: 4030-4034.
- Felger, I., Tavul, L. and Beck, H-P. 1993. *Plasmodium falciparum*: A Rapid Technique for Genotyping the Merozoite Surface Protein 2. **Exp. Parasitol.** 77: 372-375.

- Fruh, K., Doumbo, O., Muller, H.-M., Koita, O., McBride, J., Crisanti, A., Toure, Y. and Bujard, H. 1991. Human antibody responses to the major merozoite surface antigen of *Plasmodium falciparum* is strain specific and short-lived. *Inf. Immun.* 59: 1319-1324.
- Gibson, H.L., Tucker, J.E., Kaslow, D.C., Krettli, A.V., Collins, W.E., Kiefer, M.C., Bathurst, I.C. and Barr, P.J. 1992. Structure and expression of the gene for Pv200, a major blood-stage surface antigen of *Plasmodium vivax*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 50: 325-334.
- Guerin-Marchand, C., Druilhe, P., Galey, B., Londono, A., Patarapotikul, J., Beaudoin, R.L., Dubeaux, C., Tartar, A., Mercereau-Puijalon, O. and Langsley, G. 1987. A liver-stage-specific antigen of *Plasmodium falciparum* characterized by gene cloning. *Nature.* 329: 164-167.
- Heidrich, H.-G., Matzner, M., Miettinen-Baumann, A. and Strych, W. 1986. Immunoelectron microscopy shows that the 80,000-dalton antigen of *Plasmodium falciparum* merozoites is localized in the surface coat. *Zeit. Parasitenkd.* 72: 681-683.
- Herrera, S., Herrera, M.A., Perlaze, B.L., Burki, Y., Caspers, P., Dobeli, H., Rotmann, D. and Certa, U. 1990. Immunization of *Aotus* monkeys immunized with *Plasmodium* blood-stage recombinant proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 87: 4017-4021.
- Holder, A.A., Locker, M.J., Odink, K.G., Sandhu, J.S., Davey, L.S., Tizard, M.L.V., Schwarz, R.T. and Freeman, R.R. 1985. Primary structure of the precursor to the three major surface antigens of *Plasmodium falciparum* merozoites. *Nature.* 317: 270-273.

- _____. 1988. The precursor to major merozoite surface antigens: structure and role in immunity. **Prog. Allergy**. 41: 72-97.
- _____. and Blackman, M.J. 1994. What is the function of MSP-1 on the malaria merozoite? **Parasitol. Today**. 10: 182-184.
- Hollingdale, M.R., Aikawa, M., Chen, G., Meis, J.F.G.M., Sakhuja, K., Sina, B. and Zhu, J. 1990. Pre-erythrocytic stage malaria parasites: non-circumsporozoite protein antigens. **Bull. WHO**. 68: 178-180.
- Jongwutiwes S., Tanabe, K., Nakazawa, S., Uemura, U. and Kanbara, H. 1991. Coexistence of gp195 alleles of *Plasmodium falciparum* in small endemic area. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 44: 299-305.
- _____. , Tanabe, K., Nakazawa, S., Yanagi, T. and Kanbara, H. 1992. Sequence variation in the tripeptide repeats and T cell epitopes in p190 (MSA1) of *Plasmodium falciparum* from field isolates. **Mol. Biochem. Parasitol.** 51: 81-90.
- _____. , 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. **Mol. Biochem. Parasitol.** 59: 95-100.
- Kaslow, D.C., Quakyi, I.A., Syin, C., Raum, M.G., Keister, D.B., Coligan, J.E. McCutchan, T.F. and Miller, L.H. 1988. A vaccine candidate from the sexual stage of human malaria that contains EGF-like domains. **Nature**. 333: 74-76.



- Kimura, E., Mattei, D., Di Santi, S.M. and Scherf, A. 1990. Genetic diversity in the major merozoite surface antigen of *Plasmodium falciparum*: high prevalence of a third polymorphic form detected in strain derived from malaria patients. *Gene*. 91: 57-62.
- Krotoski, W.A., Krotoski, D.M., Gamham, P.C.C. 1980. Observations on early and late post-sporozoite tissue stage in primate malaria. I. Discovery of two populations of exo-erythrocytic stages. Preliminary note. *British Medical Journal*. 284: 153-154.
- _____, Collins, W.A., Bray, R.S., Gamham, P.C.C., Cogswell, F.B., Gwadz, R.W., Killick-Kendrick, R., Wolf, R., Sinden, R., Koontz, L.C. and Stanfill, P.S. 1982. Demonstration of hypnozoites in sporozoite-transmitted *Plasmodium vivax* infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31(6): 1291-1293.
- Lewis, A.P. 1989. Cloning and analysis of the gene encoding the 230-kilodalton merozoite surface antigen of *Plasmodium yoelii*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 36: 271-282.
- Lyon, J.A., Geller, R.H., Haynes, J.D., Chulay, J.D. and Weber, J.L. 1986. Epitope map and processing scheme for the 195,000-dalton surface glycoprotein of *Plasmodium falciparum* merozoites deduced from cloned overlapping segments of the gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83: 2989-2993.
- Mackay, M., Goman, M., Bone, N., Hyde, J.E., Scaife, J., Certa, U., Stunnenberg, H. and Bujard, H. 1985. Polymorphism of the precursor for the major surface antigens of *Plasmodium falciparum* merozoites: studies at the genetic level. *EMBO J.* 4: 3823-3829.

McBride, J.S., Newbold, C.I. and Anand, R. 1985. Polymorphism of a high molecular weight schizont antigen of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **J. Exp. Med.** 161: 160-180.

Miller, L.H., Good, M.F., Milon, G. 1994. Malaria Pathogenesis. **Science.** 264: 1878-1883.



_____, Howard, R.J., Carter, R., Good, M.F., Nuzzensweig, V. and Nuzzensweig, R. 1986. Research towards malaria vaccine. **Science.** 234: 1349-1356.

Moelans, I.I.M.D., Klaassen, C.H.W., Kaslow, D.C., Konings, R.N.H. and Schoenmakers, J.G.G. 1991. Minimal variation in Pfs16, a novel protein located in the membrane of gametes and sporozoites of *Plasmodium falciparum*. **Mol. Biochem. Parasitol.** 46: 311-314.

Muller, H.-S., Fruth, K., Von Brunn, A., Esposito, F., Lombardi, S., Crisanti, A. and Bujard, H. 1989. Development of the human immune response against the major surface protein (gp190) of *Plasmodium falciparum*. **Inf. Immun.** 57: 3765-3769.

Noya, O., Berti, Y.G., Noya, B.A., Borges, R., Zerpa, N., Urbaez, J.D., Modonna, A., Garrido, E., Jimenez, A., Borges, R.E., Garcia, P., Reyes, I., Prieto, W., Colmenares, C., Rabon, R., Barraez, T., Caceres, L., Godoy, N. and Sifontes, R. 1994. A population-based clinical trial with the Spf66 synthetic *Plasmodium falciparum* malaria vaccine in Venezuela. **J. Infect. Dis.** 170: 396-402.

- Nussenzweig, R.S. and Long, C.A. 1994. Malaria vaccines: multiple targets. *Science*. 265: 1381-1383.
- Nussenzweig, V. and Nussenzweig, R.S. 1989. Rationale for the development of an engineered sporozoite malaria vaccine. *Adv. Immunol.* 45: 283-334.
- Patarroyo, M.E., Amador, R., Clavijo, P., Moreno, A., Guzman, F., Romero, P., Tascon, R., Franco, A. Murillo, L.A., Ponton, G. and Trujillo, G. 1988. A synthetic vaccine protects humans against challenge with asexual blood stages of *Plasmodium falciparum* malaria. *Nature*. 332: 158-161.
- Perlmann, H., Berzins, K., Wahlgren, M., Carlsson, J., Bjorkman, A., Patarroyo, M.E. and Perlmann, P. 1984. Antibodies in malarial sera to parasite antigens in the membrane of erythrocytes infected with early asexual stages of *Plasmodium falciparum*. *J. Exp. Med.* 159: 1686-1704.
- Perrin, L.H., Simitsek, P. and Fasani-Ghersa, P. 1989. Asexual blood stage vaccines: from merozoites to peptides. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 83: 53-56.
- Peterson, M.G., Coppel, R.L., Moloney, M.B. and Kemp, D.J. 1988. Third form of the precursor to the major merozoite surface antigens of *Plasmodium falciparum*. *Mol. Cell. Biol.* 8: 2664-2667.
- Petersen, C., Nelson, R., Magowan, C., Wollish, W., Jensen, J. and Leech, J. 1989. The mature erythrocyte surface antigen of *Plasmodium falciparum* is not required for knobs or cytoadherence. *Mol. Biochem. Parasitol.* 36: 61-66.

- Playfair, J.H.L., Taverne, J., Bate, C.A.W. and de Souza, J.B. 1990. The Malaria Vaccine: anti-parasite or anti-disease ? **Immunol. Today**. 11: 25-27.
- Riley, E.M., Allen, S.J., Wheeler, J.G., Blackman, M.J., Bennett, S., Takacs, B., Schonfeld, H.-J., Holder, A.A. and Greenwood, B.M. 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 Immunol.** 14: 321-337.
- Rogers, W.O., Malik, A., Mellouk, S., Nakamura, K., Rogers, M.D., Szarfman, A., Gordon, D.M., Nussler, A.K., Aikawa, M. and Hoffman, S.L. 1992. Characterization of *Plasmodium falciparum* sporozoite surface protein 2. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 89: 9176-9180.
- Rosenberg, R. and Rungsiwongse, J. 1991. The number of sporozoites produced by individual malaria oocysts. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 45 (5) : 574-577.
- Sadoff, J.C., Ballou, W.R., Baron, L.S., Majarian, W.R., Brey, R.N., Hockmeyer, W.T., Yong, J.F., Cryz, S.J., Ou, J., Lowell, G.H. and Chulay, J.D. 1988. Oral *Salmonella typhimurium* vaccine expressing circumsporozoite protein protects against malaria. **Science**. 240: 336-338.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**. 239: 487-491.
- Scherf, A., Mattei, D. and Sarthou, J.-L. 1991. Multiple infections and unusual distribution of block 2 of the MSA1 gene of *Plasmodium falciparum* detected

- in West African clinical isolates by polymerase chain reaction analysis. **Mol. Biochem. Parasitol.** 44: 297-300.
- Siddiqui, W.A., Tam, L.Q., Kramer, K.J., Hui, G.S.N., Case, S.E., Yamaga, K.M., Chang, S.P., Chan, E.B.T. and Kan, S.-C. 1987. Merozoite surface coat precursor protein completely protects *Aotus* monkeys against *Plasmodium falciparum* malaria. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 84: 3014-3018.
- Smythe, J.A., Coppel, R.L., Brown, G.V., Ramasamy, R., Kemp, D.J. and Anders, R.F. 1988. Identification of two integral membrane proteins of *Plasmodium falciparum*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 85: 5195-5199.
- _____, Coppel, R.L., Cay, K.P., Martin, R.K., Oduola, A.M.J., Kemp, D.J. and Anders, R.F. 1991. Structural diversity in the *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen 2. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 88: 1751-1755.
- Snewin, V.A., Herrera, M., Sanchez, G., Scherf, A., Langsley, G. and Herrera, S. 1991. Polymorphism of the alleles of the merozoite surface antigens MSA1 and MSA2 in *Plasmodium falciparum* wild isolates from Colombia. **Mol. Biochem. Parasitol.** 49: 265-276.
- Spencer, H.C. 1986. Epidemiology of malaria. **Clin. Trop. Med. Com. Dis.** 1: 1-28.
- Szarfman, A., Walliker, D., McBride, J.S., Lyon, J.A., Quakyi, I.A. and Carter, R. 1988. Allelic forms of gp195, a major blood-stage antigen of *Plasmodium falciparum*, are expressed in liver stages. **J. Exp. Med.** 167: 231-236.
- Tanabe, K., Mackay, M., Goman, M. and Scaife, J.G. 1987. Allelic dimorphism in a

- surface antigen gene of the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **J. Mol. Biol.** 195: 273-287.
- _____. Murakami, K. and Doi, S. 1989. *Plasmodium falciparum*: dimorphism fo the p190 alleles. **Exp. Parasitol.** 68: 470-473.
- _____. 1992. Structure, diversity and immunogenicity of the precursor to the major merozoite surface proteins of malaria parasites. **Jpn. J. Parasitol.** 41: 447-463.
- Tanner, M., Teuscher, T. and Alonso, P.L. 1995. SPf66-The first malaria vaccine. **Parasitol. Today.** 11: 10-13.
- Tolle, R., Fruh, K., Doumbo, O., Koita, O., N'diaye, M., Fischer, A., Dietz, K. and Bujard, H. 1993. Association between the humoral immune response against *Plasmodium falciparum* blood stage antigen gp190 and control of malaria infections: a prospective study. **Inf. Immun.** 61: 40-47.
- Viriyakosol, S., Siripoon, N., Zhu, X.P., Jarra, W., Seugom, A., Brown, N. and Snounou, G. 1994. *Plasmodium falciparum*: Selective growth of subpopulations from field samples following *in Vitro* culture, as detected by the Polymerase Chain Reaction. **Exp. Parasitol.** 79: 517-525.
- Walliker, D., Quakyi, I.K., Wellems, T.E., McCutchan, T.F., Szarfman, A., London, W.T., Corcoran, L.M., Burkot, T.R. and Carter, R. 1987. Genetic analysis of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. **Science.** 236: 1661-1666.
- Warrell, D.A. Molyneux, M.E. and Beale, P.F. 1990. Severe and complicated malaria.

Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 84 (2): 1-65.

Wernsdorfer, W.H. 1991. The development and spread of drug resistant malaria.

Parasitol. Today. 7: 297-303.

Whitehead, T.P., Kricka, L.J., Carter, T.J.N. and Thorpe, G.H.G. 1979. Analytical

Luminescence : Its Potential in the Clinical Laboratory. **Clin. Chem.**

25: 1531-1546.

Wooden, J., Gould, E.E., Paull, A.T. and Sibley, C.H. 1992. "*Plasmodium falciparum* :

A Simple Polymerase Chain reaction Method for differentiating strains."

Exp. Parasitol. 75: 207-212.

Zhu, J. and Hollingdale, M.R. 1991. Structure of *Plasmodium falciparum* liver stage

antigen-1. **Mol. Biochem. Parasitol.** 48: 223-226.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลาย วิธีการย้อมสไลด์ และวิธีการนับจำนวนเชื้อ

การเตรียม 3 M sodium acetate (pH 5.2)

โดยละลาย sodium acetate.3H₂O 408.1 g

ใน double distilled water 800 ml

ปรับ pH ด้วย glacial acetic ให้มีค่า pH = 5.2

ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร ด้วย double distilled water

นำไปนิ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และ

อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 20 นาที

การเตรียม 1 M Tris (pH 7.8)

โดยละลาย Tris base 121.1 g

ใน double distilled water 800 ml

ปรับ pH ด้วย HCl ให้มีค่า pH = 7.4

ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร ด้วย double distilled water

นำไปนิ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และ

อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 20 นาที

การเตรียม 0.5 M EDTA (pH 8.0)

โดยละลาย EDTA.2H₂O 186.1 g

ใน double distilled water 800 ml



กวนสารด้วย magnetic stirrer ให้ละลาย

ปรับ pH ด้วย NaOH ให้มีค่า pH = 8.0

ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร ด้วย double distilled water

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และอุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที

การเตรียม TE (อัตราส่วน 1:0.1)

โดยผสม 1 M Tris 800 ml

กับ 0.5 M EDTA 200 ml

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และอุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที

การเตรียม TAE buffer (50X)

โดยละลาย Tris-base 242 g

ใน glacial acetic acid 57.1 ml

และ 0.5 M EDTA (pH 8.0) 100 ml

ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร ด้วย double distilled water

การเตรียม loading dye (Gel-loading buffer, 6X buffer type II)

ชั่ง bromophenol blue 0.25 g

xylene cyanol FF 0.25 g

และ ficoll (type 400; Phamacia) 15 g

ละลายใน double distilled water ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 100 ml

การเตรียม phosphate buffered saline (PBS)

โดยละลาย NaCl	8	g
KCl	0.2	g
Na ₂ HPO ₄	1.44	g
KH ₂ PO ₄	0.24	g
ใน double distilled water	800	ml

ปรับ pH ด้วย HCl ให้มีค่า pH = 7.4

ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร ด้วย double distilled water

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และอุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 20 นาที

การเตรียม 10% sodium dodecyl sulfate (SDS)

โดยละลาย SDS	100	g
ใน double distilled water	800	ml

ที่อุณหภูมิประมาณ 68°C

ปรับ pH ด้วย HCl ให้มีค่า pH = 7.2

ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร ด้วย double distilled water

การเตรียม 20X SSC

โดยละลาย NaCl	175.3	g
sodium citrate	88.2	g
ใน double distilled water	800	ml

ปรับ pH ด้วย 10N HCl ให้มีค่า pH = 7.0

ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 1 ลิตร ด้วย double distilled water

นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งปลอดเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว และ

อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที

การย้อมสไลด์ที่มีเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรีย

ทำการผสมสีย้อมฆ่า 1 ml (ประกอบด้วย ฟงสีย้อมฆ่า 0.6 g, กลีเซอรอล 50 ml และ absolute methyl alcohol) กับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH เท่ากับ 7.0 โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ผสมกับสารละลายโบแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตในอัตราส่วน 3: 2 ปริมาตร 10 ml แล้วหยดสีลงบนสไลด์ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำประปา ผึ่งให้แห้งแล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

การนับจำนวนเชื้อมาลาเรียคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของ parasitemia

นำแผ่นสไลด์ที่ย้อมสีแล้วมาตรวจนับจำนวนเชื้อมาลาเรียโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 10X10 เพื่อหาฟิล์มเลือดที่กระจายสม่ำเสมอ และเรียงตัวเป็นชั้นเดียว หยด oil immersion ลงไปแล้วเปลี่ยนกำลังขยายเป็น 10X100 นับจำนวนเม็ดเลือดแดงทั้งหมดที่พบในวงกล้อง 3 วงรวมกัน แล้วคำนวณหาจำนวนของวงกล้องที่จะพบเม็ดเลือดแดงทั้งหมด 10,000 เซลล์ว่ามีค่าเท่าไร แล้วนับจำนวนเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อมาลาเรียในแต่ละวงกล้องเท่ากับจำนวนวงกล้องที่คำนวณได้ โดยนับแยกกระยะ ring, trophozoite, schizont และ gammetocyte แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ parasitemia ตัวอย่างเช่น

นับจำนวนเม็ดเลือดแดง 3 วงกล้องได้เท่ากับ	1,000 เซลล์
ดังนั้นในเม็ดเลือดแดง 10,000 เซลล์จะเท่ากับ	30 วงกล้อง
และนับจำนวนเม็ดเลือดแดงที่มีเชื้อมาลาเรียได้	50 เซลล์
ดังนั้นถ้าเม็ดเลือดแดง 100 เซลล์ จะมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเท่ากับ 0.5	
นั่นคือ เปอร์เซ็นต์ parasitemia มีค่าเท่ากับ 0.5	

ภาคผนวก ข

1. ขนาดโมเลกุล และกราฟมาตรฐานของดีเอ็นเอ Lambda/HindIII

ขนาดโมเลกุล (base pairs)

น้ำหนักโมเลกุล (daltons)

23,130

9,416

6,557

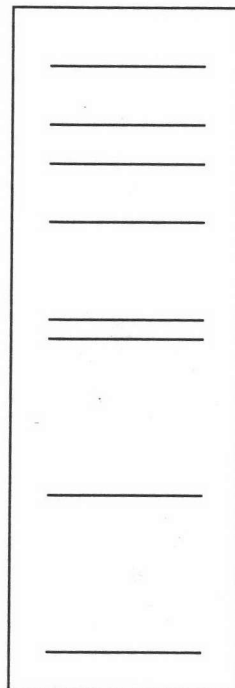
4,361

2,322

2,027

564

125



150×10^5

61×10^5

43×10^5

28×10^5

15×10^5

13×10^5

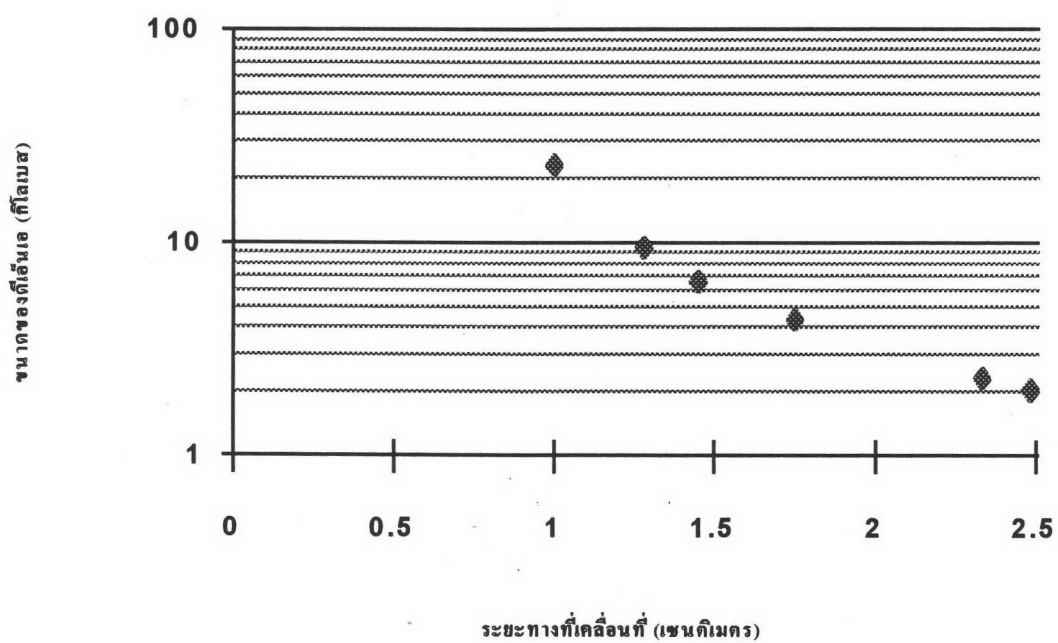
3.7×10^5

0.21×10^5

1% agarose gel

กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเคลื่อนที่และ \log ของน้ำหนักโมเลกุล ของดีเอ็นเอ

Lambda/Hind III



2. ขนาดโมเลกุล และกราฟมาตรฐานของดีเอ็นเอ *Lambda/HindIII/EcoRI*

ขนาดโมเลกุล (base pairs)

น้ำหนักโมเลกุล (daltons)

21,227

5,148

4,973

4,268

3,530

2,027

1,904

1,584

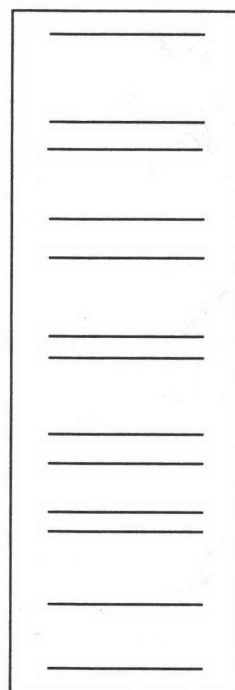
1,375

947

831

564

125



140×10^5

33×10^5

32×10^5

28×10^5

23×10^5

13×10^5

12×10^5

10×10^5

8.9×10^5

6.1×10^5

5.4×10^5

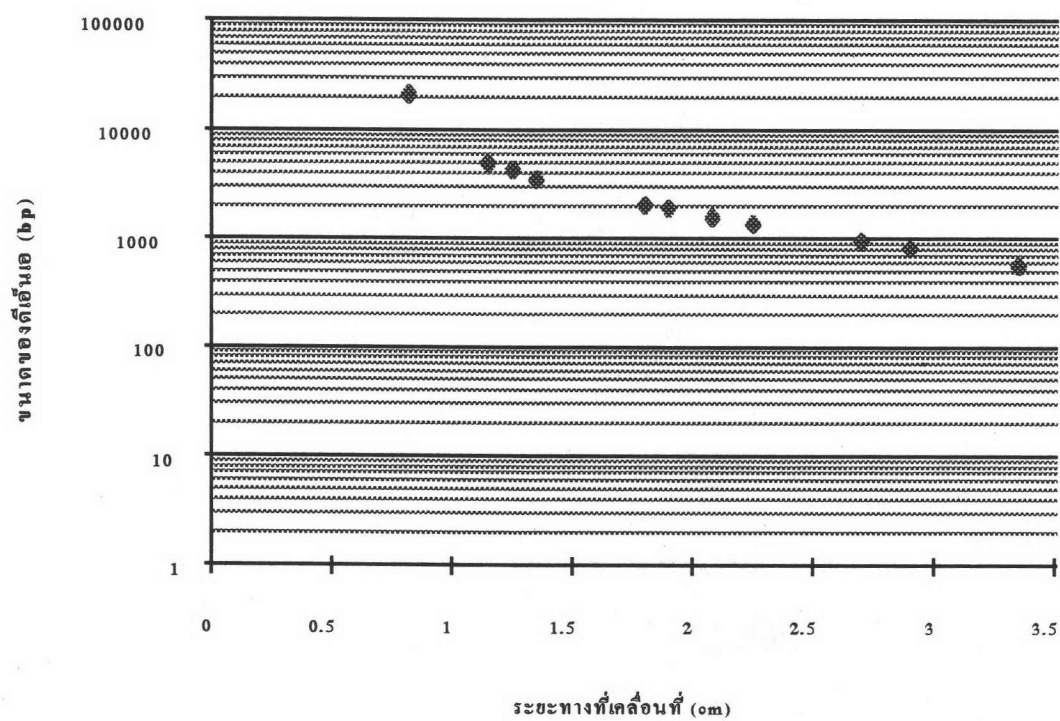
3.7×10^5

0.81×10^5

1.7% agarose gel

กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเคลื่อนที่และ log

ของน้ำหนักโมเลกุลของดีเอ็นเอ Lambda/HindIII/EcoRI



8. ขนาดโมเลกุล และกราฟมาตรฐานของดีเอ็นเอ ϕ X174/*Hae*III

ขนาดโมเลกุล (base pairs)

น้ำหนักโมเลกุล (daltons)

1,353

1,078

872

603

310

281

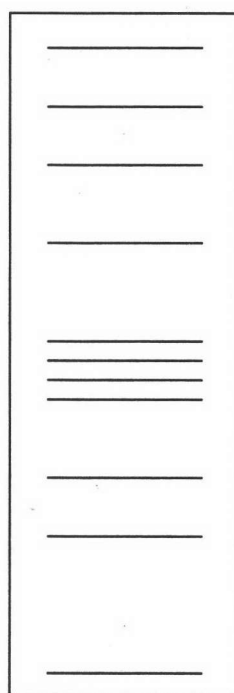
271

234

194

118

72



8.8×10^5

7.0×10^5

5.7×10^5

3.9×10^5

2.0×10^5

1.8×10^5

1.8×10^5

1.5×10^5

1.3×10^5

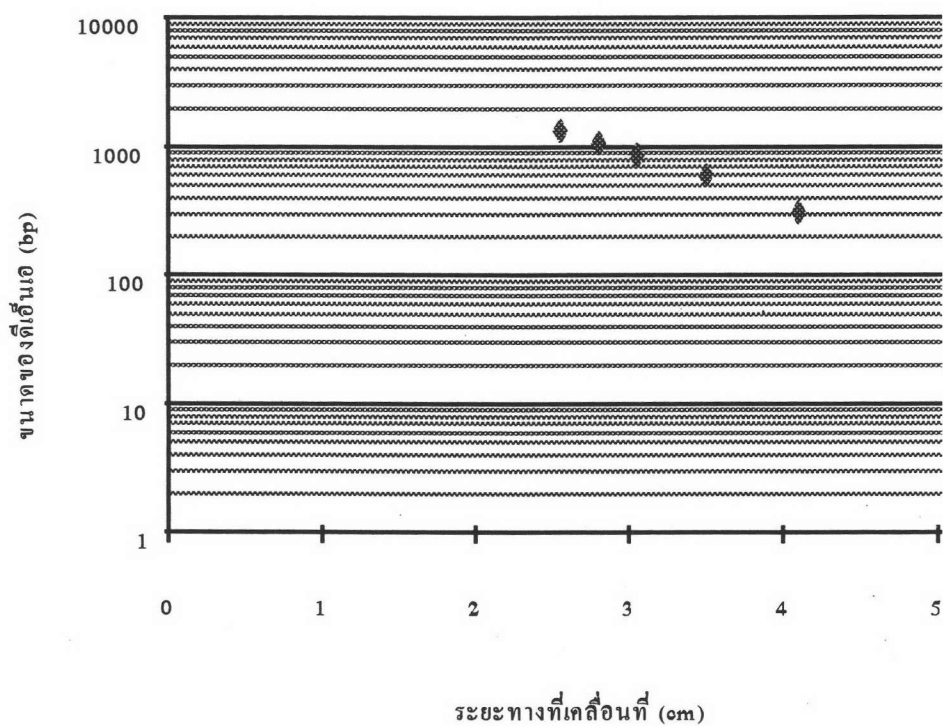
0.77×10^5

0.47×10^5

1.7% agarose gel

กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเคลื่อนที่และ \log ของน้ำหนักโมเลกุล ของดีเอ็นเอ

ϕ / x174/ HaeIII





ประวัติผู้เขียน

นางสาวสุนีย์ สีธรรมใจ เกิดวันที่ 29 มกราคม พ.ศ. 2513 ที่จังหวัดลำปาง สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เมื่อปี พ.ศ. 2534 เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ในบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2534 ได้รับทุนการศึกษาจากโครงการผลิต และพัฒนาอาจารย์มหาวิทยาลัย ทบวงมหาวิทยาลัย ระหว่างปีการศึกษา 2534-2535.