บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

วิธีการตรวจสอบอัลลีลของยีน MSP1 สามารถทำได้หลายวิธีและมีการใช้เพื่อศึกษาความหลากหลายของ MSP1 ของ *P. falciparum* ในเขตปรากฏโรคต่างๆ กล่าวคือ Conway และคณะ (1991) ทำการตรวจสอบอัลลีลของยีน MSP1 จากผู้ป่วยมาลาเรียในประเทศบราซิล แกมเบีย และไนจีเรีย จำนวนทั้งหมด 567 ไอโซเลต โดยใช้แอนติบอดีชนิดโคลนเดียวจำนวน 19 ชนิด ทำการตรวจสอบโดยวิธี indirect immunofluorescence พบว่าสามารถแยกความแตกต่างของ MSP1 ได้เป็น 39 อัลลีล วิธีดังกล่าวยังสามารถแยกการปะปนของ *P. falciparum* ที่มีอัลลีลของ MSP1 ในผู้ป่วยคนเดียวกันได้ อย่างไรก็ตามวิธีการนี้จำเป็นต้องทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *P. falciparum* ในหลอดทดลองเพื่อให้เจริญถึงระยะไชซอนต์ เนื่องจาก MSP1 เป็นโปรตีนที่สร้างขึ้นและปรากฏจำเพาะในบางระยะเท่านั้นซึ่งต้องใช้เวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง และการใช้แอนติบอดีหลายชนิดทำการตรวจสอบแต่ละไอโซเลตใช้เวลานาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ไอโซเลตมีการปะปนของ MSP1 อัลลีลที่ต่างกัน อนึ่งแอนติบอดีดังกล่าวมีจำกัดเฉพาะในบางห้องปฏิบัติการเท่านั้น และการผลิตแอนติบอดีนั้นต้องใช้เวลานาน สำหรับวิธีการตรวจสอบความหลากหลายของยีนที่สร้าง MSP1 ของ *P. falciparum* โดยวิธี Southern blot hybridization ซึ่งจำเป็นต้องใช้ oligonucleotide probe หรือ fragment probe ที่มีความจำเพาะสำหรับอัลลีลแม่แบบในแต่ละ variable block ของยีน วิธีนี้สามารถศึกษาอัลลีล MSP1 และตรวจสอบการปะปนของอัลลีลต่างกันในไอโซเลตเดียวกันได้ ซึ่งมีผู้ทำการทดสอบกับไอโซเลตของ *P. falciparum* ที่ปรับตัวให้เจริญได้ดีในหลอดทดลอง (Peterson et al., 1988) และไอโซเลตจากผู้ป่วยในประเทศไทย (Jongwutiwes et al., 1991) ซึ่งวิธีนี้จำเป็นต้องทำการเพาะเลี้ยงเชื้อมาลาเรียให้มีปริมาณดีเอ็นเอเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ และแม้จะแยกอัลลีลแม่แบบออกจากกันได้ในแต่ละ block แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างในระดับนิวคลีโอไทด์ได้ทำให้วิธีดังกล่าวไม่สามารถแยกอัลลีล MSP1 ได้ละเอียดเท่าวิธี indirect immmunofluorescence

เนื่องจาก block 2 ใน MSP1 ของ *P. falciparum* มีความหลากหลายมากกว่าบริเวณอื่นๆของยีน ดังนั้นจึงมีการประยุกต์ใช้เทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตั้งแต่ส่วนปลายของ block 1 ถึงส่วนต้นของ block 3 ในยีนดังกล่าวและใช้ oligonucleotide probe ที่มีความจำเพาะสำหรับอัลลีล MAD20, K1 และ RO33 เพื่อทำ Sounthern blot hybridization ซึ่งจะพบว่าอัลลีล MAD20 และ K1 มีความยาวของแถบดีเอ็นเอแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มอัลลีล วิธีนี้มีผู้ใช้ศึกษาความหลากหลายของ MSP1 ของ *P. falciparum* จากตัวอย่างที่ได้รับจากผู้ป่วยในประเทศบราซิล (Kimura et al., 1990), โคลอมเบีย (Snewin et al., 1991) และเซเนกัล (Scherf et al., 1991) วิธีดังกล่าวแม้จะแยกอัลลีล MSP1 ที่ปะปนในตัวอย่างเดียวกันได้แต่จำเป็นต้องใช้ขั้นตอนตรวจสอบหลายขั้น โดยเฉพาะ Southern blot hybridization โดยใช้สารกัมมันตรังสี แม้ว่าในระยะต่อมามีผู้พัฒนาใช้การตรวจสอบโดยสารเรืองแสงชนิด chemiluminescence (Whitehead et al., 1979) ทำให้ลดอันตรายจากการสัมผัสสารกัมมันตรังสีดังกล่าว แต่ขั้นตอนและวิธีการที่ใช้ค่อนข้างยุ่งยากเนื่องจากมีหลายขั้นตอนตลอดจนใช้เวลานานในการตรวจสอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีการปะปนของอัลลีลที่ต่างกันในไอโซเลตเดียวกัน

สำหรับการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน แม้จะเป็นวิธีตรวจสอบอัลลีล MSP1 ได้ละเอียดที่สุดแต่มีข้อจำกัดในการตรวจสอบกับตัวอย่างจำนวนมากๆ เนื่องจากมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและใช้เวลานาน ซึ่งมีผู้ศึกษาความหลากหลายของยีน MSP1 ในบริเวณ block 1, block 2 และ 3 จากไอโซเลตในประเทศบราซิล (Kimura et al., 1990) และไอโซเลตจากประเทศไทย (Jongwutiwes et al., 1992) ซึ่งพบว่าในแต่ละกลุ่มอัลลีลมีความหลากหลายในลำดับ และองค์ประกอบของนิวคลีโอไทด์ใน block 2 มากที่สุด นอกจากนี้จำนวนนิวคลีโอไทด์ที่เป็นองค์ประกอบของ block 2 ในกลุ่มอัลลีล MAD20 และ K1 ยังมีจำนวนแตกต่างกันและมีความผันแปรได้มาก ซึ่งไม่สามาถแยกได้โดยวิธี PCR และ Southern blot hybridization ดังกล่าวข้างต้น นอกจากนี้ในบริเวณ block 3 แม้จะเป็น conserved block แต่พบการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์หลายตำแหน่งทำให้บริเวณดังกล่าวมีความหลากหลายของอัลลีลมากขึ้น ลักษณะดังกล่าวยังพบได้ในบริเวณ block 12 ถึง 17 ของยีน (Jongwutiwes et al., 1993)

เมื่อไม่นานมานี้มีผู้ประยุกต์ใช้วิธี PCR เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนของยีนต่างๆ เพื่อแยกความแตกต่างของไอโซเลตของ *P. falciparum* โดยใช้บริเวณ block 2 ของยีน

MSP1 บริเวณส่วนกลางของ MSP2 ในส่วน 3' ของยีน RESA (ring-infected erythrocyte surface antigen) ยีนที่สร้าง circumsporozoite protein และยีนที่สร้าง S-antigen โดยวิธี PCR และวิเคราะห์ความแตกต่างของความยาวที่แตกต่างกันในแต่ละส่วนของยีนดังกล่าว พบว่าสามารถแยกความแตกต่างแต่ละไอโซเลตได้ (Wooden et al., 1992) แต่วิธีดังกล่าวไม่สามารถแยกชนิดของอัลลีลที่แตกต่างกันในแต่ละยีนได้ ในการศึกษาที่คล้ายกันนี้โดยวิธี PCR เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณ block 2 และ block 4 ของยีน MSP1 บริเวณส่วนกลางของยีน MSP1 และบางส่วนของยีน GLURP (glutamine rich protein) พบว่าสามารถใช้แยกความแตกต่างของไอโซเลตได้ แต่มีข้อจำกัดที่ไม่สามารถแยกชนิดของอัลลีลเช่นเดียวกัน (Viriyakosol et al., 1994)

ในการศึกษานี้อาศัยข้อมูลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ในอัลลีลของ MSP1 จากตัวอย่างจำนวนมากพบว่า มีพื้นฐานโดยทั่วไปเพียง 2 รูปแบบ ยกเว้นบริเวณ block 2 (Tanabe et al., 1987 ; Jongwutiwes et al., 1992) ดังนั้นลำดับนิวคลีโอไทด์ในบางบริเวณของแต่ละกลุ่มอัลลีลจึงเป็นตำแหน่งที่ถูกตัดได้โดยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในที่ต่างกัน และเมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนต่างๆของยีน MSP1 โดยวิธี PCR จึงสามารถวิเคราะห์ชนิดของอัลลีลในแต่ละบริเวณได้โดยอาศัยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในที่เหมาะสม ในการศึกษานี้ใช้เอ็นไซม์ *Alu*I ตัดผลิตผล PCR ตั้งแต่ส่วนของ block 1 ถึง block 5 พบว่าบริเวณ block 3 มีตำแหน่งตัดของ *Alu*I 2 ตำแหน่ง เฉพาะในกลุ่มอัลลีล K1 ดังนั้นเมื่อวิเคราะห์โดยใช้อะกาโรสเจล อิเล็คโตรโฟรีซีสจะพบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 498 bp ซึ่งมีความยาวคงที่และเป็นเครื่องชี้บ่งว่าเป็นกลุ่มอัลลีล K1 โดยจะพบแถบตัดในส่วนกลางของ block 1 และ block 3 มีขนาดประมาณ 1100 ถึง 1150 bp แตกต่างกัน ไปตามสายพันธุ์ของเชื้อ ผลิตผล PCR ดังกล่าวเมื่อวิเคราะห์โดยตัดด้วยเอ็นไซม์ *Pst*I จะพบว่ามีตำแหน่งตัดเฉพาะใน block 2 ของอัลลีล RO33 ดังนั้นแถบดีเอ็นเอที่ถูกตัดจะมีขนาดสั้นลงจากเดิม 149 bp ซึ่งทำให้แยกอัลลีล MAD20 ได้ ทั้งนี้เนื่องจากอัลลีล MAD20 ไม่มีตำแหน่งตัดจำเพาะโดยเอ็นไซม์ *Pst*I ในบริเวณ block 2 นอกจากนี้ยังพบว่าผลิตผล PCR ของอัลลีลดังกล่าวมีขนาดแตกต่างกันตามจำนวนนิวคลีโอไทด์ที่เป็นองค์ประกอบ เช่นเดียวกับกลุ่มอัลลีล K1 ผลิตผล PCR ดังกล่าวยังสามารถแยกความแตกต่างระหว่างอัลลีล K1 และอัลลีล MAD20 ใน block 4 ได้ เนื่องจากอัลลีล K1 มีตำแหน่งตัดได้โดยเอ็นไซม์ *Hae*III ทำให้ผลิตผลมีขนาดสั้นลง 149 bp ในขณะที่อัลลีล MAD20 ไม่ถูกตัดโดยเอ็นไซม์ดังกล่าวจึงมีขนาดเท่าเดิม

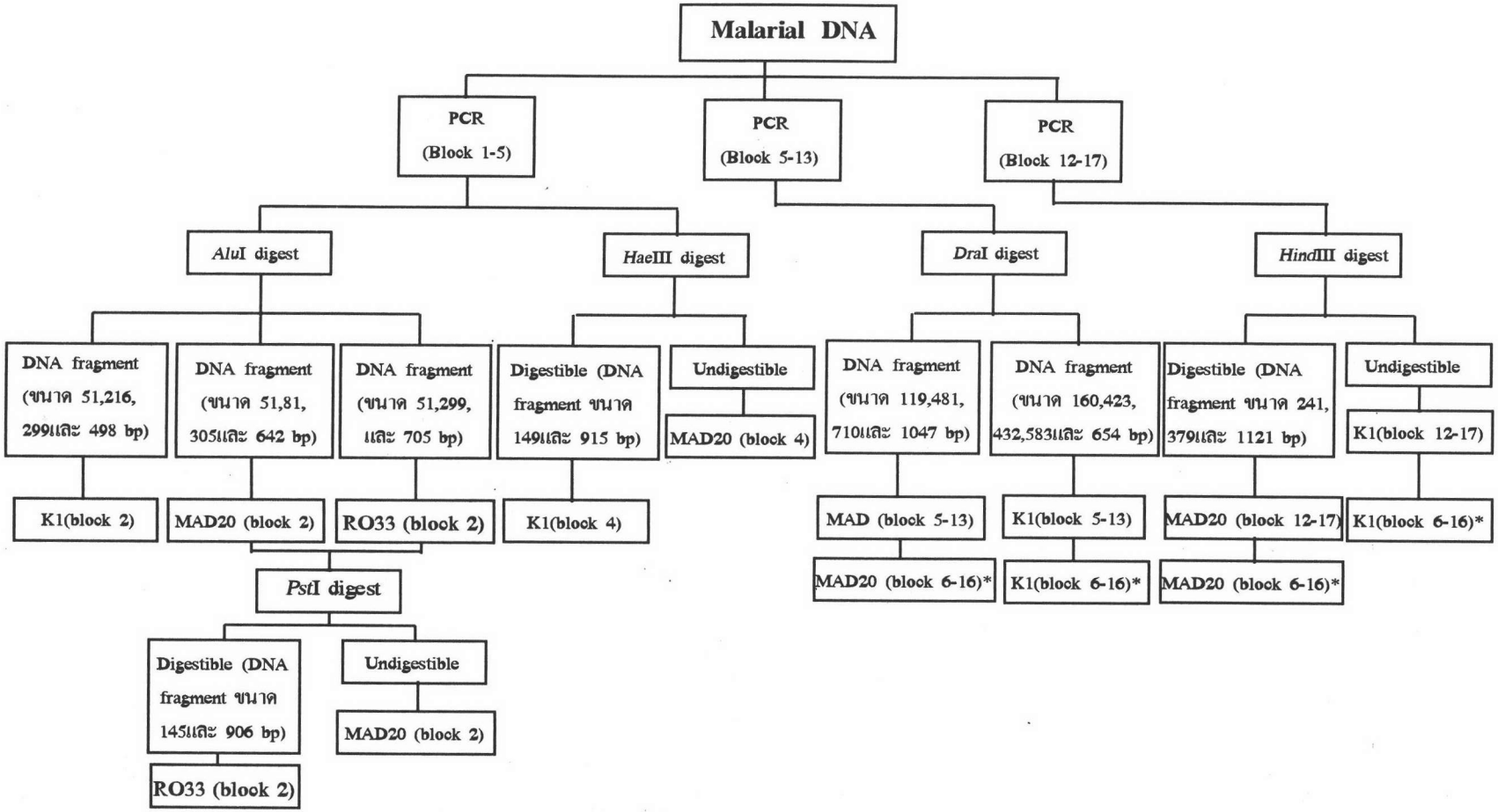
ในส่วนของผลิตผล PCR ตั้งแต่ block 5 ถึง block 13 พบว่ามีตำแหน่งตัดได้โดยเอ็นไซม์ *Dra*I หลายตำแหน่งทั้ง 2 กลุ่มอัลลีล แต่พบว่าตำแหน่งตัดดังกล่าวมีความแตกต่างกันทำให้ผลิตผล PCR ที่ถูกตัดด้วย *Dra*I สำหรับกลุ่มอัลลีล K1 ทุกไอโซเลตที่ศึกษามีขนาด 432, 583 และ 654 bp ในขณะที่กลุ่มอัลลีล MAD20 ทุกไอโซเลตที่ศึกษามีขนาด 481, 710 และ 1047 bp นอกจากนี้ตำแหน่งตัด *Dra*I ดังกล่าวมีทั้งในส่วน semiconserved block และ variable block ดังนั้นรูปแบบการตัดผลิตผล PCR ที่พบคงที่ในทุกไอโซเลตในแต่ละกลุ่มอัลลีลแสดงว่าส่วน semiconserved block และ variable block มีความสัมพันธ์กัน (linkage) ในแต่ละกลุ่มอัลลีล ลักษณะดังกล่าวทำให้พบว่าผลิตผล PCR ในกลุ่มอัลลีล K1 มีขนาดคงที่ในทุกไอโซเลตโดยมีความยาวประมาณ 2.2 Kb ในขณะที่กลุ่มอัลลีล MAD20 มีขนาดคงที่เช่นกันแต่มีความยาวประมาณ 2.3 Kb ดังนั้นความยาวของผลิตผล PCR ตั้งแต่ block 5 ถึง block 13 จึงสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกถึงชนิดของกลุ่มอัลลีลในบริเวณดังกล่าวได้

สำหรับผลิตผล PCR ตั้งแต่ block 12 ถึง block 17 พบว่าตำแหน่งตัดสำหรับ *Hind*III จะพบเฉพาะในกลุ่มอัลลีล MAD20 เท่านั้น โดยที่ทุกไอโซเลตที่มีอัลลีล MAD20 จะให้รูปแบบผลิตผล PCR ที่ถูกตัดเหมือนกัน ซึ่งผลที่ได้สามารถตรวจสอบยืนยันลักษณะอัลลีลโดย Southern blot hybridization อนึ่งไอโซเลตที่มีการปะปนของอัลลีล MSP1 ที่ต่างกันยังสามารถตรวจสอบได้โดยวิธีดังกล่าว เป็นที่น่าสังเกตว่าไอโซเลตที่มีอัลลีลเหมือนกันจะมีผลิตผลของ PCR เท่ากันเสมอ กล่าวคืออัลลีล K1 มีขนาด 1.6 Kb คงที่ และ อัลลีล MAD20 มีขนาด 1.7 Kb คงที่ ดังนั้นความยาวของผลิตผล PCR ดังกล่าวสามารถใช้เป็นเครื่องบ่งบอกถึงชนิดของอัลลีลได้

วิธีตรวจสอบอัลลีล MSP1 ของ *P. falciparum* โดยวิธี PCR และวิเคราะห์โดยการตัดด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในสามารถแยกอัลลีล MSP1 ในส่วนต่างๆ ได้และให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาโดยวิธี Sounthem blot hybridization และให้ความไวตลอดจนความถูกต้องในการตรวจสอบทัดเทียมกันไม่ว่าจะใช้ไอโซเลตที่ทราบอัลลีล MSP1 แล้วหรือไอโซเลตที่ได้จากผู้ป่วยที่นำมาเพาะเลี้ยง และถูกเก็บไว้ที่ -20°C อย่างไรก็ตามการตรวจสอบโดยวิธีแรกมีข้อดีคือสามารถตรวจสอบอัลลีลได้รวดเร็วกว่าวิธีหลัง ตลอดจนวิธีการที่ใช้สะดวกและง่ายกว่า นอกจากนี้ผลการตรวจสอบอัลลีลใน block 5 ถึง 13 พบว่ามีความสัมพันธ์กับอัลลีลใน block 12 ถึง 17 เสมอ กล่าวคือทุกไอโซเลตที่มีอัลลีลใน block 5 ถึง 13 เป็น K1 จะมีอัลลีลใน block 12 ถึง 17 เป็น K1 เสมอ และอัลลีล MAD20 ก็จะมีความสัมพันธ์ดัง

กล่าวเช่นกัน ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาโดยใช้ตัวอย่างศึกษาจำนวนมากโดยวิธี indirect immunofluorescence (Conway et al., 1991) ดังนั้นจึงสามารถลดขั้นตอนการตรวจสอบอัลลีล MSP1 ทั้งหมดโดยใช้เทคนิค PCR เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเพียง 2 ปฏิกิริยาคือ ตั้งแต่ block 1 ถึง 5 และบริเวณ block 5 ถึง 13 หรือบริเวณ block 12 ถึง 17 และวิเคราะห์แยกอัลลีลโดยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายใน อย่างไรก็ตามการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอใน block 12 ถึง 17 ซึ่งมีขนาดสั้นกว่า block 5 ถึง 13 จะกระทำได้ง่ายกว่า ดังนั้นการตรวจสอบอัลลีล MSP1 โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถลดขั้นตอนต่างๆ ลงได้ ดังแสดงในรูปที่ 33

การศึกษานี้ใช้ตัวอย่างเชื้อมาลาเรีย 2 กลุ่มคือ ไอโซเลตที่ได้จากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ระหว่างปี พ.ศ. 2531 ถึง 2532 ซึ่งทราบรูปแบบอัลลีลของ MSP1 จากการศึกษาโดยวิธี Sounthern blot hybridization และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ จำนวน 1 สายพันธุ์ และ 15 ไอโซเลต ผลการศึกษาโดยวิธี PCR และวิเคราะห์อัลลีลในส่วนต่างๆ โดยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในพบว่าให้ผลสอดคล้องกัน ดังแสดงในตารางที่ 6 นอกจากนี้ยังพบว่าไอโซเลต 806 มีการปะปนของอัลลีลใน block 2 ระหว่าง MAD20 และ K1 โดยพบ MAD20 มากกว่า K1 เมื่อทำการวิเคราะห์โดยวิธีหลัง แต่การตรวจสอบอัลลีลในส่วนดังกล่าวโดยวิธี Sounthern blot hybridization ไม่พบการปะปนของอัลลีล K1 ซึ่งมีในปริมาณน้อยๆ ได้ ทั้งนี้การตรวจสอบไอโซเลต 806 โดยวิธี indirect immunofluorescence โดยใช้แอนติบอดีชนิดโคลนเดียวพบว่าให้ผลตรงกับการตรวจสอบโดยวิธีที่พัฒนาขึ้นในการศึกษานี้ แสดงว่าวิธีดังกล่าวให้ความไวและความถูกต้องสูง สำหรับไอโซเลตอีกกลุ่มหนึ่งซึ่งยังไม่ทราบ MSP1 อัลลีลจำนวน 10 ไอโซเลต และ 4 สายพันธุ์ เมื่อทำการตรวจสอบโดยวิธี Sounthern blot hybridization เปรียบเทียบกับวิธี PCR และวิเคราะห์อัลลีลโดยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะภายในพบว่าให้ผลสอดคล้องกันทุกไอโซเลต โดยพบการปะปนของอัลลีล MSP1 ที่ต่างกันใน 4 ไอโซเลต เป็นที่น่าสังเกตว่าแม้ว่าการศึกษานี้ใช้จำนวนตัวอย่างไม่มาก แต่พบว่าไอโซเลตที่ไม่ทราบอัลลีลซึ่งได้จากผู้ป่วยในจังหวัดตาก และกาญจนบุรี ระหว่างปี พ.ศ.2537 มีอัตราการตรวจพบอัลลีล MSP1 ในส่วนต่างๆ คล้ายกับไอโซเลตที่ทราบอัลลีลซึ่งมีระยะเวลาต่างกัน 5 ถึง 6 ปี (ดูจากตารางที่ 2 และ 3) แสดงว่าลักษณะอัลลีล MSP1 ของประชากร *P. falciparum* ในประเทศไทยมีลักษณะค่อนข้างคงที่ ปรากฏการณ์ดังกล่าวคล้ายกับการศึกษาลักษณะอัลลีล MSP1 ของประชากร *P. falciparum* ในประเทศแกมเบีย โดยพบว่าไอโซเลตที่ได้จากผู้ป่วยในเวลาที่แตกต่างกันจะพบความถี่ของอัลลีลในแต่ละส่วนของ MSP1 ค่อนข้างคงที่ (Conway



รูปที่ 33 ขั้นตอนการวิเคราะห์อัลลีลของยีน MSP1

* หมายเหตุ : อัลลีลใน block 6 ถึง block 10 มีความสัมพันธ์กับอัลลีลใน block 13 ถึง block 16 เสมอ

ตารางที่ 6 รูปแบบอัลลีลของยีน MSP1 จากการทำ Southern blot hybridization และ DNA sequencing (Jongwutiwes et al., 1991; Blackman et al., 1991) เปรียบเทียบกับผลการศึกษาโดยวิธี PCR และ Restriction endonuclease ในกลุ่มตัวอย่างที่ทราบอัลลีล จำนวน 16 ตัวอย่าง

ไอโซเลต/ สายพันธุ์	DNA sequencing & Sounthern blot hybridization				PCR & Restriction endonuclease			
	Blocks				Blocks			
	2	4-5'	6	16	2	4	5-13	12-17
806	MAD20	K1	K1	K1	K1,MAD20*	K1	K1	K1
807	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20
815	MAD20	K1	MAD20	MAD20	MAD20	K1	MAD20	MAD20
822	MAD20	K1	K1,MAD20	K1,MAD20	MAD20	K1	K1,MAD20	K1,MAD20
827	MAD20	K1	K1	K1	MAD20	K1	K1	K1
834	K1,MAD20	K1,MAD20	K1,MAD20	K1,MAD20	K1,MAD20	K1,MAD20	K1,MAD20	K1,MAD20
836	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20
837	MAD20	K1	K1	K1	MAD20	K1	K1	K1
838	RO33	K1	MAD20	MAD20	RO33	K1	MAD20	MAD20
841	K1,RO33	MAD20	MAD20	MAD20	K1,RO33	MAD20	MAD20	MAD20
842	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20
843	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20
946	K1	MAD20	MAD20	MAD20	K1	MAD20	MAD20	MAD20
947	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20	MAD20
K1	K1	K1	K1	K1	K1	K1	K1	K1
T9/94	MAD20	K1	K1	K1	MAD20	K1	K1	K1

หมายเหตุ * ; เมื่อเปรียบเทียบความเข้มของแถบดีเอ็นเอพบอัลลีล K1 น้อยกว่า MAD20

et al., 1992) ดังนั้นถ้าความหลากหลายของ MSP1 ถูกกำหนดหรือมีผลกระทบจากภาวะแรงกดดันภายนอกโดยเฉพาะอย่างยิ่งภาวะการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของโฮสต์ (immunological pressure) อัตราการตรวจพบอัลลีล MSP1 ในแต่ละส่วนของ variable block น่าจะมีความถี่แตกต่างกันตามระยะเวลาที่ศึกษา แต่ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งสองไม่สามารถสนับสนุนผลของอิทธิผลดังกล่าวได้ในทางตรงกันข้ามการตรวจพบลักษณะอัลลีล MSP1 ในประชากรมาลาเรียซึ่งมีความคงที่นี้อาจแสดงว่า MSP1 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วน variable block ไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกัน จากการติดเชื้อในธรรมชาติได้โดยลำพัง แต่อาจเป็นผลเสริมกับแอนติเจนอื่นๆ และเนื่องจาก *P. falciparum* แต่ละไอโซเลตมักจะมีอัลลีลในโลคัส (locus) ต่างๆ แตกต่างกัน (Walliker et al., 1987) ดังนั้น immunological pressure แม้จะมีประสิทธิภาพทำลายเชื้อมาลาเรียแต่ก็ไม่สามารถเลือกทำลายมาลาเรียโคลนใดโคลนหนึ่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงไม่พบว่าความถี่ในแต่ละอัลลีล MSP1 เปลี่ยนแปลงไปตามเวลาที่ศึกษา อนึ่งแม้ว่าหน้าที่ของ MSP1 ยังไม่ทราบชัดเจน แต่เชื่อว่าน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการลุกลามเข้าสู่เม็ดเลือดแดงซึ่งในบริเวณ block 1 จะพบ reticulocyte binding domain ซึ่งมีลำดับกรดอะมิโนเป็น (lysine-serine-leucine-phenylalanine-glutamine-lysine-glutamic acid-lysine-methionine-valine และ leucine (Noya et al., 1994) ดังนั้นอาจเนื่องจากหน้าที่ที่จำเป็นในการดำรงชีวิตและอัลลีลในส่วนต่างๆของ MSP1 อาจช่วยในการอยู่รอดของเชื้อโดยการลุกลามเข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่มีความหลากหลายของโปรตีนบนผิวในกลุ่มประชากรของคน อาจมีผลให้อัลลีลที่เหมาะสมคงอยู่ในประชากรแต่ละกลุ่มค่อนข้างคงที่ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาในกลุ่มประชากรมากขึ้นในเขตปรากฏโรคต่างๆในระยะเวลาต่างๆ กัน

ประโยชน์จากการตรวจสอบอัลลีล MSP1 ของ *P. falciparum* โดยวิธีที่พัฒนาขึ้นในการศึกษานี้จะช่วยในการตรวจสอบดังกล่าวเป็นไปอย่างรวดเร็วกว่าวิธีดั้งเดิม ตลอดจนสามารถแยกชนิดของอัลลีลได้ทั้งโมเลกุลซึ่งยังไม่มีการศึกษามาก่อนโดยวิธี PCR และ Southern blot hybridization นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยมาลาเรียมาตรวจสอบโดยไม่ต้องผ่านการเพาะเลี้ยงเชื้อในหลอดทดลอง ซึ่งต้องสูญเสียค่าใช้จ่ายมากไม่สามารถทำได้ทุกห้องปฏิบัติการ ตลอดจนผลที่ได้อาจไม่เป็นตัวแทนของประชากรมาลาเรียที่แท้จริง เนื่องจากบางโคลนอาจเจริญได้ไม่ดีในหลอดทดลอง (Viriyagosol et al., 1994) การตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นนี้ยังสามารถแยกการปะปนของอัลลีล MSP1 ที่ต่างกันในไอโซเลตเดียวกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยขีดจำกัดของการตรวจพบนั้นที่น้อยที่สุดเท่า

กับจำนวนเชื้อมาลาเรีย 4 ตัว ดังนั้นวิธีการดังกล่าวจึงน่าจะมีประโยชน์ในการตรวจสอบอัลลีล MSP1 ของ *P. falciparum* ในประชากรจำนวนมากโดยให้ความไว และความถูกต้องในการตรวจสูง