

สรุป

ยีนที่ได้รับการทำนายว่าสร้างโปรตีนที่มีส่วน LRR ของเชื้อ *L. interrogans* ซีโรกรุ๊ป Icterohaemorrhagiae ซีโรวาร์ Lai มีทั้งหมด 25 ยีน สามารถจัดกลุ่มโดยใช้ตำแหน่งและทิศทางของยีนบนโครโมโซมได้จำนวน 5 กลุ่ม ประกอบด้วย ยีนกลุ่มที่ 1 มีจำนวน 5 ยีน คือ ยีน LA3320, LA3321, LA3322, LA3323 และ LA3324 ยีนกลุ่มที่ 2 มีจำนวน 2 ยีน คือ ยีน LA2964 และ LA2966 ยีนกลุ่มที่ 3 มีจำนวน 6 ยีน คือ ยีน LA2443, LA2446, LA2447, LA2448, LA2450 และ LA2452 ยีนกลุ่มที่ 4 มีจำนวน 2 ยีน คือ ยีน LA1353 และ LA1354 และกลุ่มยีนสุดท้าย ยีนกลุ่มที่ 5 มีจำนวนทั้งหมด 10 ยีน คือ ยีน LA0701, LA0705, LA0873, LA1177, LA1324, LA1498, LA1530, LA2862, LA3028 และ LB196 ซึ่งเป็นกลุ่มยีนที่มีระยะห่างระหว่างกันมากกว่ายีนในกลุ่มอื่น (มากกว่า 3000 คู่เบส) และมีทิศทางยีนแตกต่างกัน ผลการเปรียบเทียบความเหมือนพบว่ายีนในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 3 มีลำดับนิวคลีโอไทด์เหมือนกันมากกว่ายีนในกลุ่มอื่น ๆ

จากการจัดกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับ LRR สามารถออกแบบไพรเมอร์ได้ 3 กลุ่ม คือ ไพรเมอร์กลุ่มที่ 1 (LR1 LR2 LR3) ไพรเมอร์กลุ่มที่ 2 (LR4 LR5) และไพรเมอร์กลุ่มที่ 3 (LR6 LR7 LR8) โดยนำมาทดสอบการทำให้ยีน PCR กับตัวอย่างจีโนมคิตีเอ็นของเชื้อเลปโตสไปราที่ผ่านการสกัดด้วยฟีนอล คลอโรฟอร์ม และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ และทำให้บริสุทธิ์ด้วย QIAamp DNA mini kit (QIAGEN GmbH, Germany) สามารถคัดเลือกไพรเมอร์เพื่อที่จะนำมาใช้สร้างเครื่องหมายโมเลกุลได้ 2 กลุ่ม คือ ไพรเมอร์กลุ่มที่ 1 และไพรเมอร์กลุ่มที่ 3

การใช้เทคนิค capillary electrophoresis ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากไพรเมอร์กลุ่มที่ 1 และไพรเมอร์กลุ่มที่ 3 สามารถนำมาใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการจำแนกเชื้อเลปโตสไปรา กลุ่มก่อโรคได้ โดยมีผลผลิตพีซีอาร์จากไพรเมอร์กลุ่มที่ 1 ที่ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุล ได้แก่ ขนาด 105, 132 และ 177 คู่เบส สำหรับผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากไพรเมอร์กลุ่มที่ 3 มีความหลากหลายมากกว่าไพรเมอร์กลุ่มที่ 1 แต่มีขนาดไม่ใหญ่มาก (ไม่เกิน 600 คู่เบส) โดยมีผลผลิตพีซีอาร์ที่ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลแสดงถึงเชื้อเลปโตสไปราแต่ละซีโรวาร์ในกลุ่มก่อโรค โดยมี common peak ขนาด 86, 98, 99, 170 และ 239 คู่เบส และสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อเลปโตสไปราอ้างอิงตามความหลากหลายของผลผลิตพีซีอาร์ได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มเชื้อที่ 1 ได้แก่ *L. interrogans* (ซีโรวาร์ Autumnalis, Bataviae, Canicola, Djasiman, Hebdomadis, Icterohaemorrhagiae, Pomona และ Pyrogenes), *L. nugochii* (ซีโรวาร์ Panama), *L. borgpetersenii* (ซีโรวาร์ Mini), *L. weilii* (ซีโรวาร์ Manhao) และ *L. kirschneri* (ซีโรวาร์ Cynopteri และ Grippotyphosa) กลุ่มเชื้อที่ 2 ได้แก่ *L. interrogans* (ซีโรวาร์ Bratislava), *L. borgpetersenii* (ซีโรวาร์ Ballum, Javanica และ Tarassovi), *L. nugochii* (ซีโรวาร์ Louisiana),

L. santarosai (ซีโรวาร์ Shermani), *L. weilii* (ซีโรวาร์ Celledoni), *L. meyeri* (ซีโรวาร์ Ranarum และ Semaraga) และ *L. biflexa* (ซีโรวาร์ Maintenon) และกลุ่มเชื้อที่ 3 ได้แก่ *L. borgpetersenii* (ซีโรวาร์ Sejroe), *L. weilii* (ซีโรวาร์ Sarmin), *L. biflexa* (ซีโรวาร์ Andamana, Patoc และ Saopaulo), *L. inadai* (ซีโรวาร์ Inadai และ Lyme) และ *L. illini* นอกจากนี้ไพรเมอร์กลุ่มที่ 3 มีความหลากหลายของผลผลิตพีซีอาร์และเครื่องหมายโมเลกุลที่เกิดขึ้นในเชื้อเลปโตสไปราแตกต่างจากเชื้อแบคทีเรีย *A. viridis*, *E. coli*, *Salmonella* sp. และ *S. aureus*

การวิจัยในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาหน้าที่ความสำคัญของโปรตีนที่มีส่วน LRR ที่พบในเชื้อเลปโตสไปรา หรืออาจจะพัฒนาไปสู่ความรู้ความเข้าใจกลไกการเกิดโรคเลปโตสไปโรซิส และใช้เป็นหลักเกณฑ์ในการจัดจำแนกเชื้อในอนาคตได้