

1. ข้อมูลผู้ทำการทดลอง : นายสรวิศ อนุภาค วท.ม. ชีววิทยาสำหรับครู รหัสนักศึกษา 675020076-2

2. ที่มาและความสำคัญ

ยีน *pagA* (protective antigen gene) เป็นยีนสำคัญบนพลาสมิด pXO1 ของ *Bacillus anthracis* ซึ่งมีบทบาทโดยตรงในการเข้ารหัสโปรตีน Protective Antigen (PA) หนึ่งในสามองค์ประกอบของสารพิษแอนแทรกซ์ (Anthrax toxin) ร่วมกับโปรตีน Lethal Factor (*lef*) และ Edema Factor (*cya*) โดยโปรตีน PA ทำหน้าที่เป็นตัวนำส่งสารพิษเข้าสู่เซลล์ของร่างกาย ทำให้เกิดกระบวนการทำลายเซลล์และก่อให้เกิดอาการของโรค (Okinaka et al., 1999; Khmaladze et al., 2021)

ยีน *pagA* มีลำดับนิวคลีโอไทด์ความยาว 2,292 เบสคู่ และเข้ารหัสโปรตีนที่มีความยาว 764 กรดอะมิโน (NCBI, 2024; UniProt, 2024) ลำดับยีนนี้ถูกอนุรักษ์ไว้สูงในสายพันธุ์ของ *B. anthracis* ทั่วโลก และถูกใช้เป็นหนึ่งในเป้าหมายหลักในการตรวจวินิจฉัยและเฝ้าระวังการระบาด

ในบริบทของประเทศไทย รายงานการระบาดของโรคแอนแทรกซ์ในจังหวัดมุกดาหาร เมื่อเดือนเมษายน พ.ศ. 2568 ซึ่งมีผู้เสียชีวิตจากการบริโภคเนื้อวัวดิบ และมีผู้สัมผัสเสี่ยงสูงกว่า 240 ราย (The Nation Thailand, 2025) สะท้อนให้เห็นถึงความสำคัญของการศึกษาและวิเคราะห์ยีน *pagA* ในระดับโมเลกุล เพื่อทำความเข้าใจแหล่งที่มาความหลากหลายของสายพันธุ์และแนวโน้มการกลายพันธุ์ของยีนที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการก่อโรค

การศึกษความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน *pagA* จากสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้ข้อมูลจาก NCBI จึงเป็นประโยชน์ต่อการออกแบบวิธีการวินิจฉัยการติดตามการระบาดตลอดจนการพัฒนาแนวทางป้องกันและควบคุมโรคในระดับพันธุกรรมอย่างยั่งยืน

3. ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.1. การค้นหาลำดับกรดอะมิโนของยีนที่สนใจในสิ่งมีชีวิตที่สนใจ

An official website of the United States government [Here's how you know](#)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log in

All Databases pXO1 Search

NCBI Home
Resource List (A-Z)
All Resources
Chemicals & Bioassays
Data & Software
DNA & RNA
Domains & Structures
Genes & Expression
Genetics & Medicine
Genomes & Maps
Homology
Literature
Proteins
Sequence Analysis
Taxonomy
Training & Tutorials
Variation

Welcome to NCBI
The National Center for Biotechnology Information advances science and health by providing access to biomedical and genomic information.
[About the NCBI](#) | [Mission](#) | [Organization](#) | [NCBI News & Blog](#)

Submit
Deposit data or manuscripts into NCBI databases

Download
Transfer NCBI data to your computer

Learn
Find help documents, attend a class or watch a tutorial

Develop
Use NCBI APIs and code libraries to build applications

Analyze
Identify an NCBI tool for your data analysis task

Research
Explore NCBI research and collaborative projects

Popular Resources
PubMed
Bookshelf
PubMed Central
BLAST
Nucleotide
Genome
SNP
Gene
Protein
PubChem

NCBI News & Blog
NCBI Taxonomy Updates to Virus Classification
25 Apr 2025
Starting April 28, 2025 In December 2024 we announced several key
PubMed Central's Updated Full-Text Search Preview Now Available
08 Apr 2025
As previously announced, NLM's NCBI is modernizing the PubMed Central (PMC)

An official website of the United States government [Here's how you know](#)

NIH National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

Log in

Search NCBI

pXO1 Search

Results found in 17 databases

Literature	Genes	Proteins
Bookshelf 20	Gene 170	Conserved Domains 3
MeSH 1	GEO DataSets 93	Identical Protein Groups 109
NLM Catalog 0	GEO Profiles 0	Protein 95,260
PubMed 278	PopSet 0	Protein Family Models 3
PubMed Central 1,395		Structure 10
Genomes	Clinical	PubChem
Assembly / Genome NCBI Datasets	ClinicalTrials.gov 0	BioAssays 21
BioCollections 0	ClinVar 0	Compounds 0

Gene sources: Genomic, Plasmids, Categories: Annotated genes, Protein-coding, Pseudogene, Sequence content: CCDS, Ensembl, RefSeq, RefSeqGene, Status: ☒ Current, [Clear all](#), [Show additional filters](#)

Tabular 20 per page Sort by Relevance Send to:

Search results
Items: 1 to 20 of 170
[See also 1571 discontinued or replaced items.](#)

Name/Gene ID	Description	Location	Aliases
<input type="checkbox"/> GBAA_RS28645 ID: 45025433	pseudo [<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor']	NC_007322.2 (42154..43590)	GBAA_RS28645, GBAA_pXO1_0049, GBAA_pXO1_0229
<input type="checkbox"/> pagR ID: 45025513	transcriptional repressor PagR [<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor']	NC_007322.2 (146996..147295)	GBAA_RS29115, GBAA_pXO1_0166, tcrA
<input type="checkbox"/> atxA ID: 45025503	anthrax toxin expression trans-acting transcriptional regulator AtxA [<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor']	NC_007322.2 (127765..129192, complement)	GBAA_RS29060, GBAA_pXO1_0146
<input checked="" type="checkbox"/> pagA ID: 45025512	anthrax toxin protective antigen [<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor']	NC_007322.2 (143779..146073)	GBAA_RS29110, GBAA_pXO1_0164
<input type="checkbox"/> cya ID: 45025501	anthrax toxin edema factor [<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor']	NC_007322.2 (122608..125010)	GBAA_RS29035, GBAA_pXO1_0142
<input type="checkbox"/> lef ID: 45025515	anthrax toxin lethal factor [<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor']	NC_007322.2 (149357..151786, complement)	GBAA_RS29135, GBAA_pXO1_0172
<input type="checkbox"/>

Filters: [Manage Filters](#)

Find related data
Database:

Search details
pXO1[All Fields] AND alive[prop]
 [See more...](#)

Recent activity
[Turn Off](#) [Clear](#)
Q pXO1 AND (alive[prop]) (170) Gene
MULTISPECIES: anthrax toxin protective antigen [*Bacillus*] Protein

NCBI Reference Sequences (RefSeq)

[NEW](#) Try the new [Transcript table](#)

☒ **Genome Annotation**

The following sections contain reference sequences that belong to a specific genome build: [Explain](#)

Reference assembly

Genomic

1. **NC_007322.2 Reference assembly**
Range: 143779..146073
Download: [GenBank](#), [FASTA](#), [Sequence Viewer \(Graphics\)](#)

mRNA and Protein(s)

1. **WP_000746486.1 MULTISPECIES: anthrax toxin protective antigen [*Bacillus*]**
[See identical proteins and their annotated locations for WP_000746486.1](#)

UniProtKB/Swiss-Prot	UniProtKB/TrEMBL	Conserved Domains (4) summary
P13423	Q937W2	pfam17475 Binary_toxB_2; Clostridial binary toxin B/anthrax toxin PA domain 2 Location: 289 -- 506
Q937W3	Q9FSR7	pfam03495 Binary_toxB; Clostridial binary toxin B/anthrax toxin PA Ca-binding domain Location: 205 -- 286
Q9KH69	Q9RQU2	pfam17476 Binary_toxB_3; Clostridial binary toxin B/anthrax toxin PA domain 3 Location: 509 -- 610
A0A0F7RNS5	Q52NH4	pfam07691 PA14; PA14 domain Location: 44 -- 179

Related sequences

GenPept

Send to:

Change region shown

This record is a non-redundant protein sequence. Please [read more here](#).

MULTISPECIES: anthrax toxin protective antigen [Bacillus]

[Download Datasets](#)

NCBI Reference Sequence: WP_000746486.1

[Identical Proteins](#) [FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

LOCUS WP_000746486 764 aa linear BCT 18-JAN-2024
DEFINITION MULTISPECIES: anthrax toxin protective antigen [Bacillus].
ACCESSION WP_000746486
VERSION WP_000746486.1
KEYWORDS RefSeq.
SOURCE Bacillus
ORGANISM [Bacillus](#)
Bacteria; Bacillati; Bacillota; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae.
REFERENCE 1 (residues 1 to 764)
AUTHORS Liu,S., Moayeri,M. and Leppla,S.H.
TITLE Anthrax lethal and edema toxins in anthrax pathogenesis
JOURNAL Trends Microbiol. 22 (6), 317-325 (2014)
PUBMED [24684968](#)
REFERENCE 2 (residues 1 to 764)
AUTHORS Kintzer,A.F., Thoren,K.L., Sterling,H.J., Dong,K.C., Feld,G.K., Tang,I.I., Zhang,T.T., Williams,E.R., Berger,J.M. and Krantz,B.A.
TITLE The protective antigen component of anthrax toxin forms functional octameric complexes
JOURNAL J. Mol. Biol. 392 (3), 614-629 (2009)
PUBMED [19627991](#)

Customize view

Analyze this sequence

Run BLAST

Identify Conserved Domains

Highlight Sequence Features

Find in this Sequence

Articles about the pagA gene

The protective antigen component of anthrax toxin forms functional octamer [J Mol Biol. 2009]

Anthrax Protective Antigen Retargeted with Single-Chain Variable Frag [Chembiochem. 2020]

Bacillus anthracis Virulence Regulator AtxA Binds Specifically to the pagA [J Bacteriol. 2019]

See all...

Protein clusters for WP_000746486.1

FASTA

Send to:

Change region shown

This record is a non-redundant protein sequence. Please [read more here](#).

MULTISPECIES: anthrax toxin protective antigen [Bacillus]

[Download Datasets](#)

NCBI Reference Sequence: WP_000746486.1

[GenPept](#) [Identical Proteins](#) [Graphics](#)

>WP_000746486.1 MULTISPECIES: anthrax toxin protective antigen [Bacillus]
MKRRKVLPLMALSTILVSSTQNLVQAEVKQENRLNSESSESSOGLLYYFSDLPQAPMVVTSSTTG
DLSPSSSELENIPSENQYFQSAIWSGFIKVKKSDEYFATSDNNHVTMVDQDEVINAKASNSKIRLEK
RLYQIKIQVRENPTKGLDFKLYMTDSQNKKEVISSDNLQPELKQKSNRSKRSTAGITVPDRDND
GIPDSLEVEGYTVDVKNKRTFLSPWISNIHEKGLTKYKSSPEKWSASDPYDFEKVTGRIDKNVSPEA
RHLPLVAAPYEVHVDOMENILSNEDQSTQNTDSQTRTSKNITSRHTSEVHQAQAEVHASFIDGGSVS
AGFSNSNSSTAIDHSLSLAGERTMAEMLNTADTARLUNIRYVMTGAPITWLPPTSLVLQKQNTL
ATIKAKENQLSAILPNNYPSKNAIPALNAQDDFSSTPTMNYNQFLEKTKQLRLDQVYGNITAT
YNFENGRVVDGTSNNSVLPQIQETTARIIFNGKDLNVERRIAAVNPSPLETTKPDMLKALKIAF
GFNEPNGNLQYQGDITTEFDNFQDQTSQNIKNQLAELNATNIYTVLDKIKLNAKNNILIRDKRFHYDRN
NIAVGADSVVKEAHREVINSSTGELLNIDKIRKILSGYIVEIDTEGLKEVINDRYDMLNLSLRQD
GKTIDFKKYNKDLPLYSNPYKVVYAVTKENTIINPSENGDSTNGIKKILIFSCKKGYEIG

Analyze this sequence

Run BLAST

Identify Conserved Domains

Articles about the pagA gene

The protective antigen component of anthrax toxin forms functional octamer [J Mol Biol. 2009]

Anthrax Protective Antigen Retargeted with Single-Chain Variable Frag [Chembiochem. 2020]

Bacillus anthracis Virulence Regulator AtxA Binds Specifically to the pagA [J Bacteriol. 2019]

See all...

Protein clusters for WP_000746486.1

Peptidase

Total proteins: 8

Total genera: 0

Conserved in: Bacillus cereus group

3.2 การใช้ blastp โดยเลือก database = RefSeq protein และ max target sequences = 50

NIH National Library of Medicine
BLAST® = blastp suite

Enter Query Sequence
WP_00746488.1

Choose Search Set
Database: Standard databases (or etc.) Experimental databases
Reference proteins (RefSeq protein)

Program Selection
BLAST

Algorithm parameters
General Parameters
Max target sequences: 50

3.3 การสร้าง phylogenetic tree จากผลของ blastp

Other reports
Distance tree of results Multiple alignment MSA viewer

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

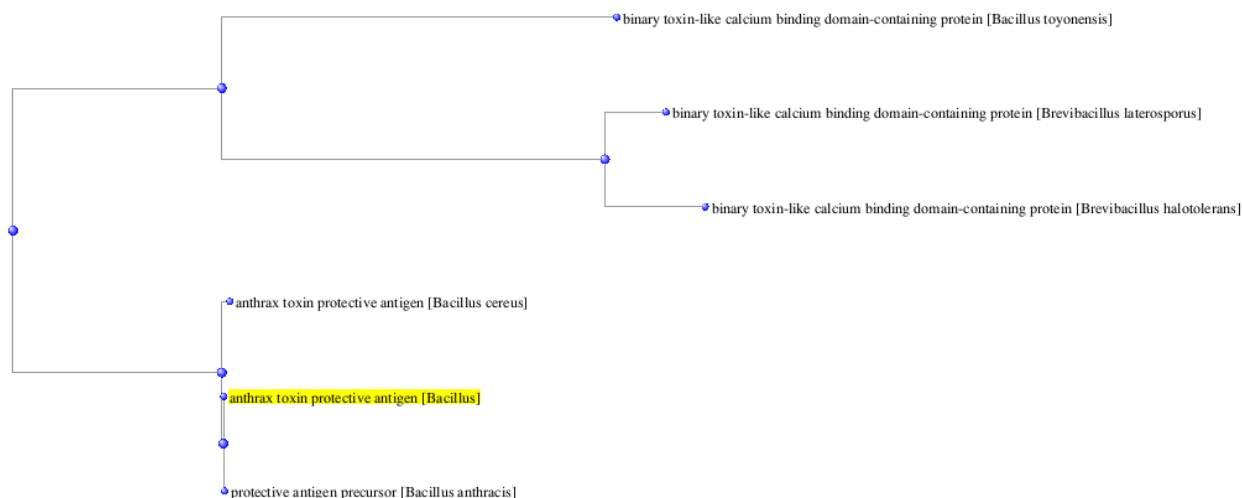
Sequences producing significant alignments

Download Select columns Show 50

select all 7 sequences selected

	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	MULTISPECIES: anthrax toxin protective antigen [Bacillus]	Bacillus	1561	1561	100%	0.0	100.00%	764	WP_000746488.1
<input checked="" type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1560	1560	100%	0.0	99.87%	764	WP_000746487.1
<input type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1559	1559	100%	0.0	99.87%	764	WP_000746485.1
<input type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1559	1559	100%	0.0	99.74%	764	WP_040119992.1
<input type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1557	1557	100%	0.0	99.74%	764	WP_000746488.1
<input type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1556	1556	100%	0.0	99.74%	764	WP_042514007.1
<input type="checkbox"/>	MULTISPECIES: anthrax toxin protective antigen [Bacillus cereus group]	Bacillus cer...	1555	1555	100%	0.0	99.61%	764	WP_000746484.1
<input checked="" type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen [Bacillus cereus]	Bacillus cer...	1548	1548	100%	0.0	99.21%	764	WP_000746253.1
<input type="checkbox"/>	binary toxin-like calcium binding domain-containing protein, partial [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1468	1468	94%	0.0	99.86%	718	WP_209384171.1
<input type="checkbox"/>	MULTISPECIES: binary toxin-like calcium binding domain-containing protein [Bacillus]	Bacillus	1428	1428	100%	0.0	91.23%	764	WP_131100013.1
<input type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen, partial [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1389	1389	89%	0.0	99.41%	682	WP_154166101.1
<input type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen, partial [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1379	1379	88%	0.0	100.00%	673	WP_065553794.1
<input type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen, partial [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1365	1365	87%	0.0	100.00%	666	WP_065553796.1
<input type="checkbox"/>	binary toxin-like calcium binding domain-containing protein [Bacillus cereus]	Bacillus cer...	1354	1354	100%	0.0	88.87%	764	WP_000746252.1
<input type="checkbox"/>	anthrax toxin protective antigen, partial [Bacillus anthracis]	Bacillus ant...	1349	1349	86%	0.0	99.85%	659	WP_338250392.1

4. ผลการทดลอง



ภาพ phylogenetic tree ของโปรตีนในกลุ่ม protective antigen และ binary toxin-like calcium binding domain-containing proteins

4.1 ประเภทของข้อมูล:

- ต้นไม้วิวัฒนาการ (Phylogenetic Tree) สร้างจากการเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน
- แสดงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของโปรตีนในกลุ่ม *Bacillus* และ *Brevibacillus*

4.2 รายละเอียดสายพันธุ์และโปรตีนในภาพ:

4.2.1 กลุ่ม *Bacillus* (ใกล้เคียงกันมาก):

- *anthrax toxin protective antigen [Bacillus anthracis]*
- *anthrax toxin protective antigen [Bacillus cereus]*
- *anthrax toxin protective antigen [Bacillus]* (ไม่ระบุสายพันธุ์ย่อย แต่ใกล้เคียงกลุ่มเดียวกัน)

4.2.2 กลุ่ม *Brevibacillus* (แยกกลุ่มต่างหาก):

- *binary toxin-like calcium binding domain-containing protein [Brevibacillus laterosporus]*
- *binary toxin-like calcium binding domain-containing protein [Brevibacillus halotolerans]*
- *binary toxin-like calcium binding domain-containing protein [Brevibacillus sp. SKDU10]*
(ใหม่ที่เพิ่มเข้ามาในภาพนี้)

4.2.3 อื่น ๆ:

- *binary toxin-like calcium binding domain-containing protein [Bacillus toyonensis]*

4.3 การตีความทางวิวัฒนาการ:

- กลุ่มที่มีชื่อว่า anthrax toxin protective antigen อยู่รวมกลุ่มกันชัดเจน เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับพิษแอนแทรกซ์ (*Bacillus anthracis*)
→ แสดงว่าโปรตีนเหล่านี้มีความใกล้เคียงกันมากในด้านลำดับกรดอะมิโน
- กลุ่มโปรตีนที่มาจาก *Brevibacillus* แยกออกมาชัดเจน
→ บ่งชี้ว่ามีความแตกต่างทางวิวัฒนาการ แม้จะมี “calcium-binding domain” แบบคล้ายกัน แต่ไม่ได้มีความใกล้เคียงกับ protective antigen โดยตรง
- การเพิ่ม *Brevibacillus* sp. *SKDU10* เข้ามา ช่วยเสริมให้เห็นความหลากหลายของโปรตีนในสายพันธุ์ *Brevibacillus* ชัดเจนขึ้น

5. ภาคผนวก

5.1 NCBI accession number

REF|WP_000746486.1

5.2 ลำดับกรดอะมิโนที่น่าสนใจ

MKKRKVLIPLMALSTILVSSTGNLEVIQAEVKQENRLLNESESSSQGLLGYYFSDLNFAQPMVVTSSSTTG
DLSIPSSSELENIPSENQYFQSAIWSGFIKVKKSDEYTFATSADNHVTMWVDDQEVINKASNSNKIRLEKG
RLYQIKIQYQRENPTKGLDFKLYWTDSONKKEVISSDNLQLPELKQKSSNSRKKRSTSAGPTVPDRDND
GIPDSLEVEGYTVDVKNKRTFLSPWISNIHEKKGLTKYKSSPEKWSTASDPYSDFEKVTGRIDKNVSPEA
RHPLVAAYPIVHVDMENIILSKNEDQSTQNTDSQTRTISKNTSTSRHTTSEVHGNAEVHASFFDIGGSVS
AGFSNSNSSTVAIDHSLSLAGERTWAETMGLNTADTARLNANIRYVNTGTAPIYNVLPTTSLVLGKNQTL
ATIKAKENQLSQILAPNNYYPKSNLAPIALNAQDDFSSTPITMNYNQFLELEKTKQLRLDTDQVYGNIA
YNFENGVRVVDTGSNWSEVLPQIQETTARIIFNGKDLNLVERRIAAVNPSPDPLETTKPDMTLKEALKIAF
GFNEPNGNLQYQGKDITEFDNFQDQTSQNIKNQLAELNATNIYTVLDKIKLNAKMNILIRDKRFHYDRN
NIAVGADESVVKEAHREVINSSTEGLLLNIIDKDIRKILSGYIVEIEDTEGLKEVINDRYDMLNISSLRQD
GKTFIDFKKYNDKPLPLYISNPYKVNKYAVTKENTIINPSENGDTSTNGIKKILIFSCKGYEIG

บรรณานุกรม (References)

- Khmaladze, E., Chitadze, L., Dzavashvili, M., Karalashvili, L., & Avaliani, N. (2021). Sequence Variability of pXO1-Located Pathogenicity Genes of *Bacillus anthracis* Natural Strains. **Pathogens**, **10**(12), 1556. <https://doi.org/10.3390/pathogens10121556>
- NCBI. (2024). **Bacillus anthracis strain CZC5 plasmid pXO1**, complete sequence. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CP051536>
- Okinaka, R. T., Cloud, K., Hampton, O., Hoffmaster, A. R., Hill, K. K., Keim, P., ... & Jackson, P. J. (1999). Sequence and organization of pXO1, the large *Bacillus anthracis* plasmid harboring the anthrax toxin genes. **Journal of Bacteriology**, **181**(20), 6509–6515. <https://doi.org/10.1128/JB.181.20.6509-6515.1999>
- The Nation Thailand. (2025, April 30). **Thailand confirms one anthrax death from beef consumption, 247 under medical watch.** <https://www.nationthailand.com/news/general/40049453>
- UniProt Consortium. (2024). **Protein sequences: pagA, lef, cya in Bacillus anthracis.** <https://www.uniprot.org>