

ความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ตำแหน่ง 8271-8873 ในการถ่ายทอดพันธุกรรมฝ่ายแม่

Mitochondrial DNA variations of the position 8271-8873 in maternal inheritance

วรกมล แนนอุดร**

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันการตรวจพิสูจน์บุคคล การตรวจวัตถุพยานด้วยดีเอ็นเอมีบทบาทอย่างมากในงานนิติวิทยาศาสตร์ แต่วัตถุพยานที่ได้มาบางครั้งมีการเสื่อมสภาพอย่างมาก การตรวจดีเอ็นเอจากนิวเคลียสไม่สามารถทำได้ ดังนั้นการตรวจดีเอ็นเอจากไมโทคอนเดรียจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ ปัจจุบันการตรวจไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอทำการตรวจในบริเวณที่เรียกว่า บริเวณควบคุม (control region) ซึ่งมีความหลากหลายสูงและมีการสะสมของการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) มากกว่าดีเอ็นเอในนิวเคลียสถึง 10 เท่า แต่การตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอที่บริเวณควบคุมเพียงอย่างเดียว นั้น ยังไม่สามารถยืนยันตัวบุคคลได้อย่างแน่ชัด จึงน่าจะมีการศึกษาบริเวณอื่นเพิ่มเติม

ในงานวิจัยนี้จึงศึกษาถึงลำดับเบสของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ตำแหน่ง 8271-8873 จำนวน 10 ครอบครัว 46 คน เพื่อเปรียบเทียบผลระหว่างแม่กับลูก พี่กับน้อง น้าหรือป้ากับหลาน ยายกับหลาน และระหว่างลูกพี่ลูกน้อง ผลการทดลองพบ heteroplasmy 4 คนจากจำนวน 3 ครอบครัว พบ 1 ครอบครัวทุกคนมีเบสขาดหายไป 9 bp ที่ตำแหน่ง 8278-8286 พบ 5 ครอบครัวที่ตำแหน่ง 8701 เบสเป็น G จาก A, 2 ครอบครัว ที่ตำแหน่ง 8701 และตำแหน่ง 8725 เบสเป็น G จาก A, 1 ครอบครัว ที่ตำแหน่ง 8584 เบสเป็น A จาก G และที่ตำแหน่ง 8701 เบสเป็น G จาก A, 1 ครอบครัวที่ตำแหน่ง 8724 เบสเป็น G จาก A จากช่วงความยาว 603 bp ข้อเสนอแนะผลการวิจัย ความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ตำแหน่ง 8271-8873 ในมนุษย์สามารถพิสูจน์ยืนยันความสัมพันธ์ในสายญาติทางแม่ได้ และเมื่อใช้ร่วมกับการตรวจไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอที่บริเวณควบคุม จะช่วยเพิ่มความแม่นยำยิ่งขึ้น

คำสำคัญ : ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ, ความแปรผัน, การถ่ายทอดพันธุกรรมฝ่ายแม่

Abstract

The DNA detection for the person identification and the evident investigation had played an important role in Forensic science. Sometimes, these samples were decomposed rapidly. Therefore, detection of chromosomal DNA was very difficult. The mitochondrial DNA appeared high copy numbers in the cells and had more stable than

** ร้อยตำรวจโทหญิง สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร worakamoln@gmail.com อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย เตชะวิศาล ภาควิชา จุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร

chromosomal DNA. It was a choice for DNA detection. For mitochondrial DNA detection, the control regions had variation and diversity which it was suitable for person identification and evident investigation more than chromosomal DNA for 10 times. But, only control region was not enough for person identification and evident investigation, it should be detected other regions to confirm those.

In the present study, the DNA sequence of the position 8271-8873 (Anderson scale) from 10 families were investigated to compare mitochondrial DNA mutation intra-family. The results showed 5 persons in the three families were heteroplasm. The deletion of 9 nucleotides (position 8278-8286) was found 1 family. While 5 families contained nucleotide substitution from G to A at the position 8701. The nucleotide substitution from G to A at the position 8701 and 8725 was seen in 2 families. The nucleotide substitution from A to G at the position 8584 and at the position 8701 from G to A had 1 family. The nucleotide substitution from G to A at the position 8724 had 1 family. From this study, it can be concluded that the mitochondria DNA had variation on the position 8271-8873 in inter-family. It could confirm to maternal relationship and used for combination to detection of the control region for increasing the detection accuracy.

Key Words : Mitochondrial DNA, Variations, Maternal inheritance

บทนำ

การพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลด้วยดีเอ็นเอได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับอย่างมาก เนื่องจากบางครั้งวัตถุพยานในที่เกิดเหตุไม่สามารถตรวจหารอยลายนิ้วมือได้ หากมีวัตถุพยานทางชีวภาพเพียงเล็กน้อยอยู่ในสถานที่เกิดเหตุ เช่น หยดเลือด ก้นบูที่ เส้นผม เป็นต้น การใช้เอกลักษณ์ดีเอ็นเอเพื่อตรวจหาผู้กระทำผิดจึงเป็นมีประโยชน์อย่างมากต่อกระบวนการสืบสวนสอบสวน

ดีเอ็นเอของคนประกอบด้วยส่วนที่พบที่นิวเคลียสและไมโทคอนเดรีย ดังนั้นการตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยดีเอ็นเอ จึงสามารถตรวจได้จากนิวเคลียสและจากไมโทคอนเดรีย อย่างไรก็ตามการใช้ดีเอ็นเอจากนิวเคลียสในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ก็มีปัญหาอยู่ในตัวมันเอง เช่น ปริมาณยีนน้อยเกินไป เนื่องจากใน 1 เซลล์ จะมีนิวเคลียสดีเอ็นเออยู่เพียง 2 ชุด แต่สำหรับไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ใน 1 เซลล์ จะมีมากกว่าพันชุด อีกทั้งดีเอ็นเอจากไมโทคอนเดรียมีความสามารถในการทนต่อความร้อนได้มากกว่าดีเอ็นเอจากนิวเคลียส จึงได้มีการนำไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอมาประยุกต์ใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์และการศึกษาทางมานุษยวิทยา ไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอสามารถใช้เป็นแหล่งของดีเอ็นเอในการพิสูจน์บุคคลได้ ในกรณีที่ตัวอย่างที่ได้ในที่เกิดเหตุมีน้อยมาก เช่น ตัวอย่างจากเศษผงกระดูก คราบเลือด เส้นผม หรือในตัวอย่างที่เน่าสลาย และดีเอ็นเอส่วนใหญ่ถูกย่อยไปเกือบหมดจนไม่สามารถใช้ดีเอ็นเอจากนิวเคลียสตรวจได้ นอกจากนี้ดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียจะได้รับการถ่ายทอดจากแม่เท่านั้น รหัสพันธุกรรมของดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย

จึงแสดงความสัมพันธ์ทางแม่โดยไม่มีการปะปนกับพ่อและญาติทางพ่อ ดังนั้นจึงเหมาะที่จะใช้ในกรณีการพิสูจน์บุคคลที่เสียชีวิตหรือหายสาบสูญไปนานแล้วและไม่สามารถหาพ่อและแม่มาพิสูจน์ได้โดยตรง การใช้ญาติทางฝ่ายแม่ที่เหลืออยู่มาตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอจากไมโทคอนเดรียจะทำให้การเปรียบเทียบผลการตรวจง่ายขึ้น เนื่องจากลูกจะมีดีเอ็นเอเหมือนกับแม่และญาติทางแม่ที่มีการสืบสายเลือดกันต่อมา

ในปัจจุบันการตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอนั้น ทำการตรวจในบริเวณที่เรียกว่า บริเวณควบคุม (control region) ซึ่งมีความหลากหลายสูงและมีการสะสมของการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) มากกว่าดีเอ็นเอในนิวเคลียสถึง 10 เท่า และจากการกลายพันธุ์ส่วนใหญ่ของดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียเกิดจากการแทนที่ของเบสเพียง 1 ตัว (single nucleotide substitution) มากกว่าการเพิ่ม (insertion) หรือการลดจำนวนเบส (deletion) แต่การตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอที่บริเวณควบคุมเพียงอย่างเดียว นั้น ยังไม่สามารถยืนยันตัวบุคคลได้อย่างแน่ชัด เป็นที่ทราบอยู่แล้วว่าดีเอ็นเอจากไมโทคอนเดรียได้รับการถ่ายทอดจากแม่ จึงเป็นแนวทางให้ทราบถึงสายญาติทางแม่ แต่ยังไม่สามารถระบุตัวบุคคลได้แน่ชัด ดังนั้นหากสามารถหาความหลากหลายของดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียที่บริเวณอื่นเพิ่มเติมเพื่อมาเสริมกับบริเวณควบคุม จะทำให้มีความจำเพาะมากขึ้นและสามารถระบุตัวบุคคลได้แน่ชัดขึ้น จากสาเหตุดังกล่าว จึงมีความสนใจที่จะศึกษาถึงความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ตำแหน่ง 8271-8873 ซึ่งเป็นตำแหน่ง tRNA-Lys, URF A6L (NADH dehydrogenase subunit) และบางส่วนของตำแหน่ง ATPase 6 ซึ่งช่วงตำแหน่ง tRNA-Lys จะมี variation ที่ซ้ำมาก ซึ่งเป็นผลข้อดีในการตรวจพิสูจน์ชาติพันธุ์ การสืบถึงการอพยพย้ายถิ่นฐาน ส่วนช่วงตำแหน่ง URF A6L (NADH dehydrogenase subunit) และตำแหน่ง ATPase 6 จะมี variation ค่อนข้างสูง ซึ่งเป็นผลดีในด้านมีความเป็นเอกลักษณ์ ทำให้มีความชัดเจนในการแยกแยะ ดังนั้นในการวิจัยนี้จะทำการศึกษาในช่วง 3 ยีนดังกล่าว โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ในสายญาติฝ่ายแม่ลงไป 2 รุ่น ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบระหว่างแม่กับลูก พี่กับน้อง น้าหรือป้ากับหลาน ยายกับหลาน และระหว่างลูกพี่ลูกน้อง และทำการเปรียบเทียบระหว่างครอบครัวด้วย เพื่อศึกษาความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ไมโทคอนเดรีย ตำแหน่ง 8271-8873 ว่ามีความแปรผันไปมากน้อยเพียงใดและตำแหน่งใด เพื่อนำมาใช้ในการเปรียบเทียบผลและยืนยันผลในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ ในกรณีการตรวจด้วยดีเอ็นเอจากนิวเคลียสไม่สามารถทำได้ การตรวจด้วยดีเอ็นเอจากไมโทคอนเดรียจะช่วยเพิ่มความมั่นใจและความน่าเชื่อถือมากขึ้น เนื่องจากบางกรณี เช่น กรณีบุคคลสูญหายและไม่มีดีเอ็นเอของบุคคลที่สูญหายเก็บไว้ หรือในบางครั้งแม่เสียชีวิตไปแล้ว การตรวจไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอจากพี่น้องแม่เดียวกัน จากพี่น้องของแม่ หรือจากลูกพี่ลูกน้อง เพื่อทำการเปรียบเทียบดีเอ็นเอจากไมโทคอนเดรีย จะช่วยสามารถพิสูจน์ยืนยันผลได้ว่ามีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกันจริง

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ช่วงตำแหน่ง 8271-8873 โดยเปรียบเทียบในสายญาติฝ่ายแม่

2. เพื่อศึกษาความแปรผันของตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ช่วงตำแหน่ง 8271-8873 ในสายญาติฝ่ายแม่ในแต่ละครอบครัว และระหว่างครอบครัว

วิธีการวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาวิจัยความแปรผันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรีย ช่วงตำแหน่ง 8271-8873 ในกลุ่มตัวอย่างครอบครัวชาวไทยที่มีเชื้อสายที่มีถิ่นฐานเดิมมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีสายญาติฝ่ายแม่โดยสายเลือดลงไป 2 รุ่น จำนวน 10 ครอบครัว โดยใช้วิธีการวิจัยเชิงทดลอง โดยมีขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย ดังนี้

กลุ่มประชากร

ผู้วิจัยได้กำหนดกลุ่มตัวอย่างเป้าหมาย คือ ครอบครัวที่ผู้วิจัยรู้จัก โดยเป็นครอบครัวชาวไทยที่มีถิ่นฐานเดิมมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีสายญาติฝ่ายแม่โดยสายเลือดลงไป 2 รุ่น โดยมียาย ลูกของยาย 2 คน ซึ่งเป็นผู้หญิงทั้งคู่หรือผู้หญิง 1 คนและผู้ชาย 1 คนก็ได้ และหลานที่เป็นลูกจากลูกสาวของยาย จำนวนทั้งหมด 10 ครอบครัว โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดหรือตัวอย่างเส้นผมของกลุ่มประชากร จากนั้นนำตัวอย่างมาสกัดและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ตามขั้นตอนในวิธีการทดลอง

วิธีการทดลอง

1. ตัวอย่างที่เป็นเลือด ทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด QIAamp® DNA Mini kit สำหรับตัวอย่างที่เป็นเส้นผม ทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด Genomic DNA Mini kit และเก็บสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่ 4 °C หรือ -20 °C

2. ทำการตรวจวัดคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้ ด้วยเครื่อง Spectrophotometer

3. เพิ่มปริมาณ DNA ด้วยวิธี PCR โดยทำการเพิ่มปริมาณไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ตำแหน่ง 8271-8873 โดยใช้ Forward primer 5' CAG TTT CAT GCC CAT CGT CC 3' ซึ่งเป็นช่วงตำแหน่ง 8197-8216 และ Reward primer 5' CCT ATA ATC ACT GTG CCC GCT C 3' ซึ่งเป็นช่วงตำแหน่ง 8852-8873 โดย Forward primer และ Reward primer ผู้วิจัยได้ทำการออกแบบเอง โดยได้ออกแบบให้ครอบคลุมช่วงรหัสยีน tRNA-Lys และรหัสยีนของโปรตีน URF A6L (NADH dehydrogenase subunit) นำมาทำการทดสอบ โดยส่วนประกอบของ Reaction mixture 50 µl ประกอบด้วย 10X PCR buffer 5 µl, 50 mM MgCl₂ 2 µl, 10 mM dNTP 2 µl, 100 pmol Forward primer 1 µl, 100 pmol Reward primer 1 µl, 0.5U Taq DNA Polymerase 1 µl, ddH₂O 33 µl, Template DNA 5 µl นำ Reaction mixture ที่ได้เข้าเครื่อง Thermal cycler โดยตั้งโปรแกรม ดังนี้

1st Denaturation 95°C 5 นาที (Denaturation 94 °C 1 นาที, Annealing 56 °C 1 นาที, Extension 72 °C 30 วินาที) 35 รอบ Final Extension 72 °C 10 นาที ความยาวของ PCR product ที่ได้ยาว 677 bp

4. ตรวจวิเคราะห์ผลผลิต PCR โดยวิธี Agarose gel electrophoresis

5. ทำการสกัดดีเอ็นเอออกจาก Agarose gel ด้วยชุดสกัด Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit

6. ส่งตัวอย่าง DNA ไปทำการ sequencing เพื่อดูผลลำดับเบส

7. นำผลลำดับเบสที่ได้ในแต่ละตัวอย่าง ทำการเปรียบเทียบผลกับ Anderson sequences และเปรียบเทียบผลในสายญาติเดียวกัน

ช่วงความยาวของดีเอ็นเอที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ มีความยาว 603 bp ในการศึกษาลำดับเบสของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ จะทำการเปรียบเทียบลำดับเบสในแต่ละตำแหน่งกับ Anderson sequence โดยดูว่าลำดับเบสของตัวอย่างที่ทำการวิจัย มีเบสตำแหน่งใดบ้างที่ต่างไปจาก Anderson sequence เช่น การเกิด heteroplasmy, การเกินมา หรือขาดหายไปของเบส และทำการเปรียบเทียบผลภายในกลุ่มครอบครัวเดียวกัน เพื่อดูความแปรผันในครอบครัวว่ามีความแปรผันมากน้อยเพียงใด และเปรียบเทียบผลกับครอบครัวอื่นว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่

ผล/ สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ช่วงตำแหน่ง 8271-8873 ในการถ่ายทอดพันธุกรรมฝ่ายแม่ จำนวน 10 ครอบครัว พบว่าในกลุ่มตัวอย่างครอบครัวไทยที่มีถิ่นฐานเดิมมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือทั้ง 10 ครอบครัวนี้ ส่วนใหญ่คนในครอบครัวเดียวกันไม่มีความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเลย แต่ก็พบว่าในบางครอบครัวมีสมาชิกบางคนที่พบการกลายพันธุ์ของเบสในบางตำแหน่งไปบ้าง และพบว่าในบางครอบครัวมีผลลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอเหมือนกับอีกครอบครัวหนึ่ง ซึ่งอาจจะเกิดจากกลุ่มประชากรในการทดลองครั้งนี้ไม่หลากหลายนัก

ผลการทดลองพบ heteroplasmy จำนวน 4 คนจากจำนวน 3 ครอบครัว และพบ 1 ครอบครัวที่ทุกคนมีเบสขาดหายไป 9 bp ที่ตำแหน่ง 8271-8873 พบ 5 ครอบครัวที่ตำแหน่ง 8701 เบสเปลี่ยนเป็น G จาก A, 2 ครอบครัว ที่ตำแหน่ง 8701 และตำแหน่ง 8725 เบสเปลี่ยนเป็น G จาก A, 1 ครอบครัวที่ตำแหน่ง 8584 เบสเปลี่ยนเป็น A จาก G และที่ตำแหน่ง 8701 เบสเปลี่ยนเป็น G จาก A, 1 ครอบครัวที่ตำแหน่ง 8724 เบสเปลี่ยนเป็น G จาก A ซึ่งจากผลในภาพรวมพบว่ากลุ่มตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้ส่วนใหญ่มีเบสที่ตำแหน่ง 8701 เป็น G จาก A ซึ่งพบจำนวน 8 ครอบครัว ผลสรุปดัง (ตาราง 1) ในการศึกษาครั้งนี้พบ 3 ครอบครัวที่มีลักษณะเฉพาะแตกต่างไปจากครอบครัวอื่นอย่างชัดเจนที่สามารถใช้บอกความสัมพันธ์ทางสายเลือดฝ่ายแม่ได้ ส่วนอีกจำนวน 7 ครอบครัวนั้น ยังมีความเหมือนกันอยู่

จากการศึกษาครั้งนี้ ความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง 8271-8873 ในมนุษย์สามารถใช้พิสูจน์ยืนยันความสัมพันธ์ในสายญาติทางแม่ได้หากใช้ร่วมกับการตรวจในบริเวณควบคุม (control region) หรือบริเวณอื่นจะช่วยเพิ่มความแม่นยำมากขึ้น แต่หากจะใช้ในการด้านความเป็นเอกลักษณ์เฉพาะบุคคลคงยังไม่สามารถยืนยันได้ แต่ก็มีประโยชน์ในด้านช่วยให้การระบุตัวบุคคลอยู่ในกลุ่มคนแคบมากขึ้น ดังนั้นหากใช้ร่วมกับการตรวจดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง STR ซึ่งในบางครั้งการตรวจที่ตำแหน่ง STR ไม่สามารถตรวจได้ครบทั้ง 16 ตำแหน่ง การยืนยันตัวบุคคลจึงไม่สามารถยืนยันได้ชัดเจน ดังนั้นหากใช้ร่วมกับการตรวจไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง 8271-8873 นี้ และบริเวณควบคุม (control region) จะช่วยเพิ่มความแม่นยำยิ่งขึ้น

ตาราง 1 แสดงผลลำดับเบสไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ตำแหน่ง 8271-8873 ของแต่ละครอบครัว
เปรียบเทียบกับ Anderson sequence

Haplotypes		8278-8286	8296	8309	8313	8360	8398	8425	8428	8594	8596	8600	8657	8694.1	8701	8724	8725	8865.1
Anderson		CCCCCTCTA	A	C	G	A	C	A	C	G	A	T	C	*	A	A	A	*
Family	Subject																	
1	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	G	-
	D1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	G	-
	D2	-	-	-	-	-	CG	-	G	-	-	-	-	-	G	-	G	-
	g1	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-	-	-	-	G	-	G	-
	A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	CT	-	d	-	d	-
2	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AG	-	-	-	G	-	-	-
	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	G	-	-	-
	S2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-
3	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-
	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-
	A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	C2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
4	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	G	-
	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	G	-
	A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	G	-
	C2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	G	-
5	G	delete	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	M	delete	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	delete	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A2	delete	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	C1	delete	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	M	-	AG	-	-	AG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-
	S2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-
	A2	-	-	-	A	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	d	-	-
	C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-
7	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	S2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	C2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-
8	g2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	G	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	G	-	-	-
	M	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	G	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	G	-	-	-
	g2	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	G	-	-	-
9	A1	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	G	-	-	-
	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	A2	-	-	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	T
10	C1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-
	A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	-	-	-

หมายเหตุ d = ไม่ปรากฏผล sequencing

*= insertion

อภิปรายผล

ผลการเปรียบเทียบกับ Anderson sequence พบว่าช่วงตำแหน่งที่มีความเปลี่ยนแปลงมากที่สุด คือ ช่วงตำแหน่งของรหัสยีนโปรตีน ATPase 6 โดยพบ 9 ครอบครัว จากจำนวน 10 ครอบครัว โดยพบตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ 2 ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงสูง ตำแหน่งที่พบการเปลี่ยนแปลงมากที่สุด คือ ตำแหน่ง 8701 พบถึง 8 ครอบครัว (คิดเป็น 80%) โดยเปลี่ยนจาก A → G ตำแหน่งที่พบการเปลี่ยนแปลงรองลงมา คือ ตำแหน่ง 8725 พบ 2 ครอบครัว (คิดเป็น 20%) โดยเปลี่ยนจาก A → G ซึ่งในงานวิจัยของ Chin-Yuan Tzen (2001) ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของลำดับเบสไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่ง 8389-8865 ในกลุ่มประชากรจีน 119 คน พบการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่ง 8701 โดยเปลี่ยนจาก A → G เช่นกัน คิดเป็น 39.5% และพบการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่ง 8860 ที่ทุกคนมีนิวคลีโอไทด์เปลี่ยนแปลงจาก A → G แต่ในการศึกษาในกลุ่มตัวอย่างครอบครัวไทย 10 ครอบครัวนี้ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่ง 8860 ดังกล่าว

จากผลการเปรียบเทียบตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ทั้ง 10 ครอบครัว สามารถจัดเป็นกลุ่มได้ 5 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มที่ 1 มีการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 8701 จาก A → G เพียงตำแหน่งเดียว ซึ่งพบทั้งหมด 5 ครอบครัว คิดเป็น 50%

กลุ่มที่ 2 มีการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 8701 และ 8725 โดยเปลี่ยนแปลงจาก A → G ทั้งสองตำแหน่ง ซึ่งพบทั้งหมด 2 ครอบครัว คิดเป็น 20%

กลุ่มที่ 3 มีการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 8701 จาก A → G และที่ตำแหน่ง 8584 เปลี่ยนจาก G → A ซึ่งพบ 1 ครอบครัว คิดเป็น 10%

กลุ่มที่ 4 มีการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 8724 จาก A → G ซึ่งพบ 1 ครอบครัว คิดเป็น 10%

กลุ่มที่ 5 มีการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง 8278-8286 โดยเกิดการ deletion ออกไป 9 base pairs ซึ่งพบ 1 ครอบครัว คิดเป็น 10%

ข้อเสนอแนะ

1. กลุ่มครอบครัวตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยมีจำนวนน้อย อีกทั้งเป็นกลุ่มตัวอย่างที่มีเชื้อสายมาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือเพียงภาคเดียว ทำให้ไม่สามารถบอกถึงความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอของประชากรไทยทั้งหมดได้
2. ควรมีการทำ sequencing ทั้ง Forward และ Reward ในหนึ่งตัวอย่าง เพื่อให้การอ่านผลอ่านได้ครอบคลุมในช่วงที่ทำการวิจัย
3. ควรจะมีการศึกษาในกลุ่มครอบครัวที่มีถิ่นฐานเดิมมาจากภาคอื่นๆของประเทศไทยเพิ่มเติม เพื่อดูความแปรผันของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอของคนภาคอื่นๆ ว่ามีความแตกต่างกันมากน้อยเพียงใด

4. ควรมีการศึกษาไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอบริเวณอื่นเพิ่มเติม และหากจะทราบความหลากหลายยิ่งขึ้น ควรจะทดลองในกลุ่มครอบครัวที่มากขึ้น

5. ควรมีการศึกษาในสายฝ่ายแม่ลงไปให้หลายรุ่นลงไปอีก เช่น เป็น 3 รุ่น หรือ 4 รุ่น หากสามารถเก็บตัวอย่างได้

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

จริยา ชมวารินทร์ และคณะ. PCR Technology and Applications. ขอนแก่น : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2540.

นำชัย ชีววิวรรณ และคณะ. ดีเอ็นเอ ปริศนาลับรหัสชีวิต. ปทุมธานี : ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, 2546.

พัชรีย์ เลิศฤทธิ์. ตำราพันธุกรรมของยีนไมโทคอนเดรียในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : มิสเตอร์กอปปี (ประเทศไทย) จำกัด, 2549.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, 2535.

วสันต์ จันทราพิทย และคณะ. วิทยาการพันธุกรรมในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์, 2539.

วิชัย บุญแสง และคณะ. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ...จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล. พิมพ์ครั้งที่ 3. ปทุมธานี : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2547.

ภาษาต่างประเทศ

Butler, John M. Forensic DNA Typing. 2nd ed. London : Elsevier Academic Press, 2005.

Butler, John M. Fundamentals of forensic DNA Typing. London : Elsevier Academic Press, 2010.

Chin-Yuan Tzen, Tsu-Yen Wu, and Hsin-Fu Liu. Sequence polymorphism in the coding region of mitochondrial genome encompassing position 8389-8865. Forensic Science International 120 (2001): 204-209.

Goodwin, William, Adrian Linacre and Sibte Hadi. An Introduction to Forensic Genetics. England : John Wiley & Sona Ltd, 2007.

ข้อมูลจาก World Wide Web

การกลายพันธุ์ [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 20 มีนาคม 2554. เข้าถึงได้จาก <http://th.wikipedia.org/wiki/Mutation>

- จินตนา ประดุกาญจนนา. DNA กับงานนิติเวชศาสตร์ [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 2 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://portal.in.th/files/5/3/1/2010/02/04/Book09_7.pdf
- ทิพย์มณี ภาระตะศิลป์ และคณะ. การกลายพันธุ์ [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 15 กุมภาพันธ์ 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.science.cmu.ac.th/educate/couresware_bio/202231/Mutation_Molec.htm
- ไมโทคอนเดรีย [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 14 กุมภาพันธ์ 2553. เข้าถึงได้จาก <http://student.nu.ac.th/u46410288/mitochondia.htm>
- สุคนธ์ ประดุกาญจนนา. การตรวจความสัมพันธ์ทางสายเลือดร่วมบรรพบุรุษเดียวกัน [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 2 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://portal.in.th/files/5/3/1/2010/02/04/Book09_8.pdf
- Electrophoresis. [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 2 เมษายน 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.student.chula.ac.th/~49371019/agarose_gel_electrophoresis.htm
- Gibthai Training Center. ความรู้พื้นฐานของเทคนิคพีซีอาร์ [ออนไลน์]. เข้าถึงเมื่อ 20 มีนาคม 2554. เข้าถึงได้จาก http://www.dld.go.th/biologic/research/techni_pcr.pdf
- How PCR work [Online]. Accessed 15 February 2010 . Available from <http://www.nature.com/scitable/topicpage/The-Biotechnology-Revolution-PCR-and-the-Use-553>
- H. sapiens mitochondrial genome [Online]. Accessed 15 February 2010. Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/V00662>
- Mitochondrial DNA and Nuclear DNA [Online]. Accessed 15 February 2011. Available from <http://www.encognitive.com/node/10802>
- Mitochondrial genome [Online]. Accessed 15 February 2010. Available from <http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-18/CB18.html>
- The vertebrate mitochondrial DNA (mtDNA) genetic code [Online]. Accessed 15 February 2010. Available from http://www.mun.ca/biology/scarr/MtDNA_code.html
- The Polymerase Chain Reaction (PCR) [Online]. Accessed 15 February 2011. Available from http://www.mun.ca/biology/scarr/PCR_simplified.html