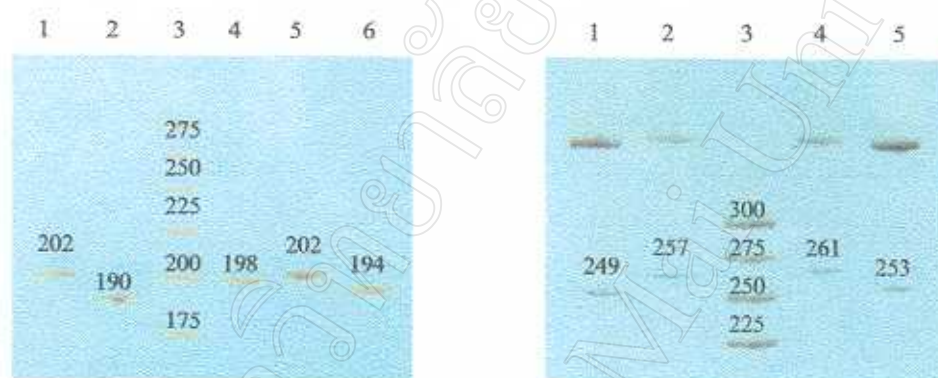


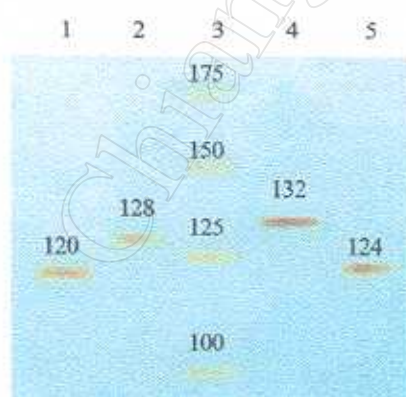
บทที่ 4 ผลการวิจัย

จากการศึกษาไมโครแซทเทลโลทัยล์ที่ตำแหน่ง DYS19, DYS389 และ DYS393 โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR แล้วตรวจสอบหาขนาดของผลผลิตที่ได้ด้วย polyacrylamide gel electrophoresis เทียบกับ DNA molecular weight marker 25 bp (Gibco BRL) (ช่องหมายเลข 3) ตามลำดับ หลังจากย้อมสีดีเอ็นเอด้วย silver จะปรากฏลักษณะแถบดีเอ็นเอดังแสดงในภาพ 2



ก) ตำแหน่ง DYS19 (190-202 คู่เบส)

ข) ตำแหน่ง DYS389 (249-261 คู่เบส)



ค) ตำแหน่ง DYS393 (120-132 คู่เบส)

ภาพ 2 แสดงตัวอย่างแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏหลังจากย้อมด้วยสี silver
ตำแหน่ง DYS19, DYS389 และ DYS393 (ก,ข,ค)

ประชากรชาวไทยภูเขาเผ่าเย้าและลาฮู่ที่ศึกษา มีการกระจายความถี่อัลลีล ดังนี้ ที่ตำแหน่ง DYS19 พบทั้งสี่ 4 อัลลีล คือ อัลลีลขนาด 190, 194, 198 และ 202 คู่เบส ซึ่งในประชากรทั้งสอง เผ่าพบทั้งรูปแบบและความถี่อัลลีลเหมือนกันทุกประการ โดยมีความถี่ 0.0667, 0.3333, 0.2667 และ 0.3333 ตามลำดับ

ที่ตำแหน่ง DYS389 พบทั้งสี่ 4 อัลลีล มีขนาด 249 ถึง 261 คู่เบส ในชาวเย้าพบ 3 อัลลีล คือ 249, 253 และ 257 คู่เบส อัลลีลที่พบบ่อยที่สุดมีขนาด 249 คู่เบส (ความถี่ 0.5333) ชาวลาฮู่พบ 4 อัลลีล คือ 249, 253, 257 และ 261 คู่เบส อัลลีลที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ อัลลีลขนาด 257 คู่เบส (ความถี่ 0.4667)

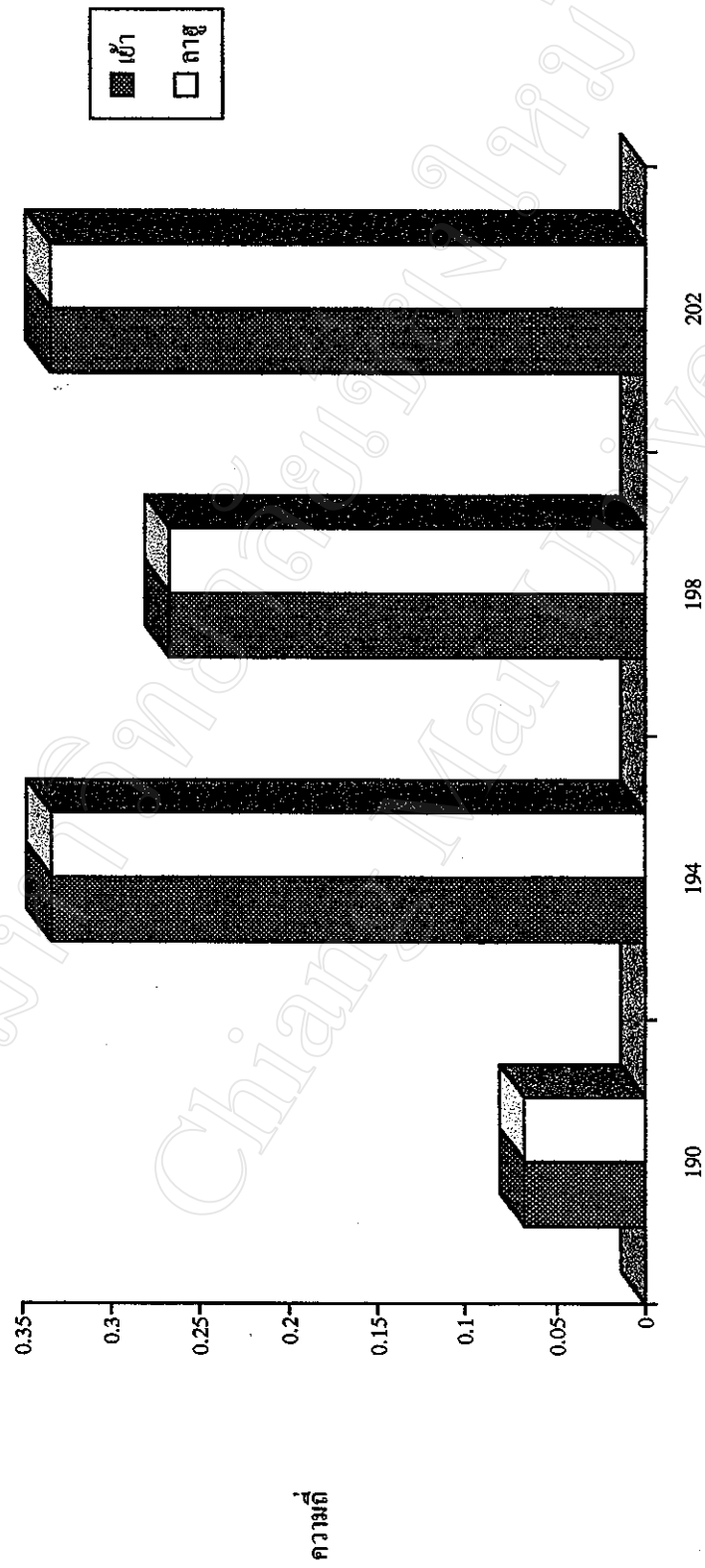
ที่ตำแหน่ง DYS393 พบทั้งหมด 4 อัลลีล ขนาด 120 ถึง 132 คู่เบส ในชาวเย้าพบ 4 อัลลีล มีขนาด 120, 124, 128 และ 132 คู่เบส อัลลีลที่พบบ่อยได้แก่อัลลีลที่มีขนาด 120 คู่เบส (ความถี่ 0.40) ชาวลาฮู่พบ 3 อัลลีล คือ 120, 124 และ 128 คู่เบส อัลลีลที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ อัลลีลที่มีขนาด 124 คู่เบส (ความถี่ 0.40)

ความถี่อัลลีลของไมโครแซทเทลไลท์ในชาวไทยภูเขาเผ่าเย้าและลาฮู่ แสดงไว้ในตาราง 1 ส่วนการกระจายความถี่อัลลีลของแต่ละตำแหน่ง เปรียบเทียบระหว่างประชากรชาวเขาทั้งสองเผ่า แสดงไว้ด้วยฮิสโตแกรม ดังภาพ 3, 4 และ 5

ตาราง 1 ความถี่อัลลีลและค่า chi-square ของไมโครแซทเทลไลท์ 3 ตำแหน่งในประชากรชาวไทยภูเขาเผ่าเย้าและลาฮู่

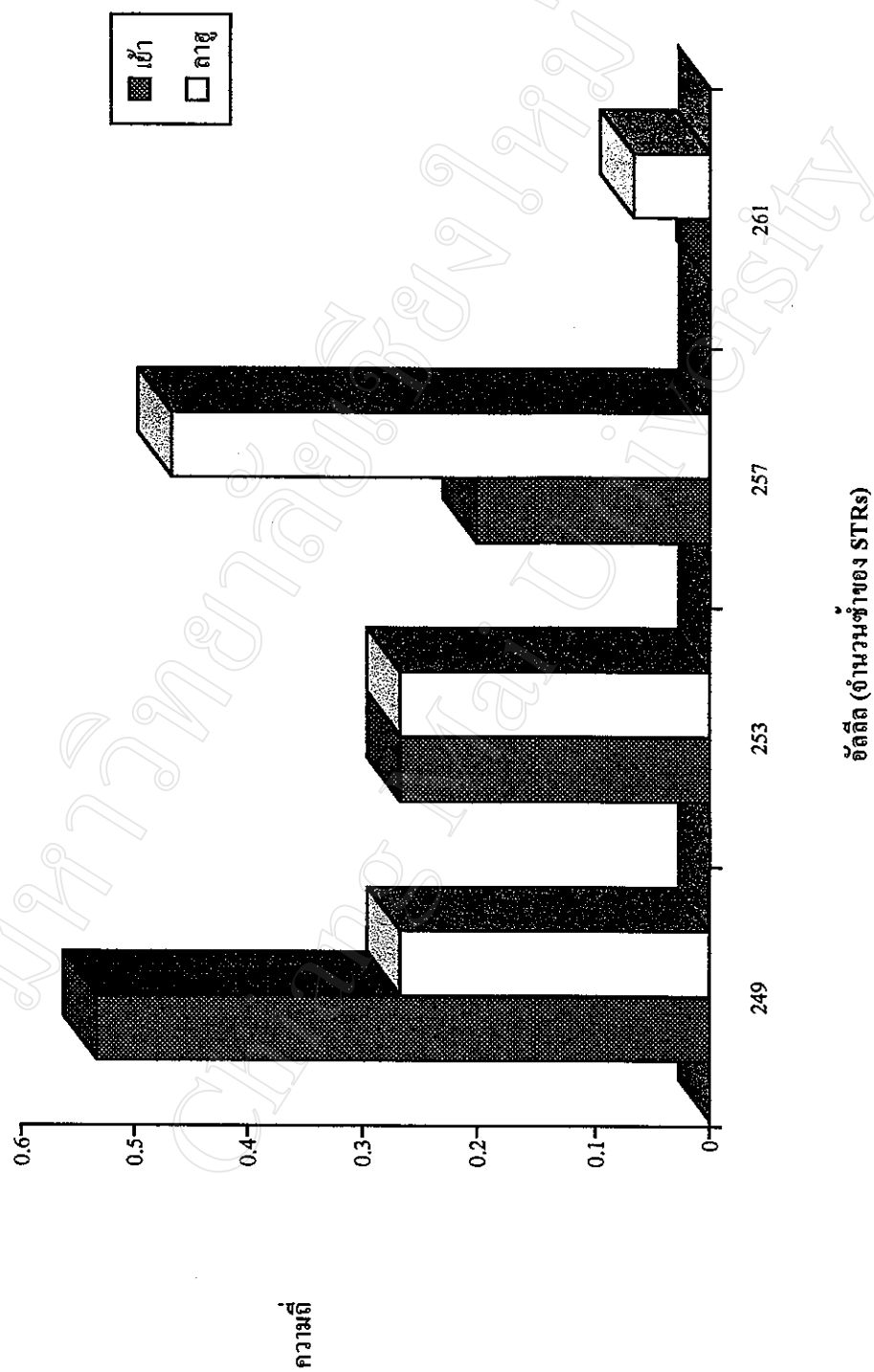
ตำแหน่ง	อัลลีล	เย้า N=15	ความถี่	ลาฮู่ N=15	ความถี่	chi-square
DYS19						0
	190	1	0.0667	1	0.0667	
	194	5	0.3333	5	0.3333	
	198	4	0.2667	4	0.2667	
	202	5	0.3333	5	0.3333	
DYS389						4.8727
	249	8	0.5333	3	0.20	
	253	4	0.2667	4	0.2667	
	257	3	0.20	7	0.4667	
	261	0	0	1	0.667	
DYS393						5.5111
	120	6	0.40	4	0.2667	
	124	2	0.1333	6	0.40	
	128	4	0.2667	5	0.3333	
	132	3	0.20	0	0	

เมื่อนำความถี่อัลลีลมาทดสอบ เพื่อหาความแตกต่างระหว่างประชากรชาวเย้าและลาฮู่ด้วย contingency χ^2 test จะได้ค่า χ^2 เป็น 0, df=3 ที่ตำแหน่ง DYS19 ตำแหน่ง DYS389 ได้ค่า $\chi^2 = 4.8727$, df=3 ตำแหน่ง DYS393 ได้ค่า $\chi^2 = 5.5111$, df=3 และที่ตำแหน่ง DYS385 ได้ค่า $\chi^2 = 9.5714$, df=13 (ตาราง 1 และ 2) ค่าที่ได้แสดงว่าประชากรทั้งสองมีความแตกต่างของความถี่อัลลีลอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

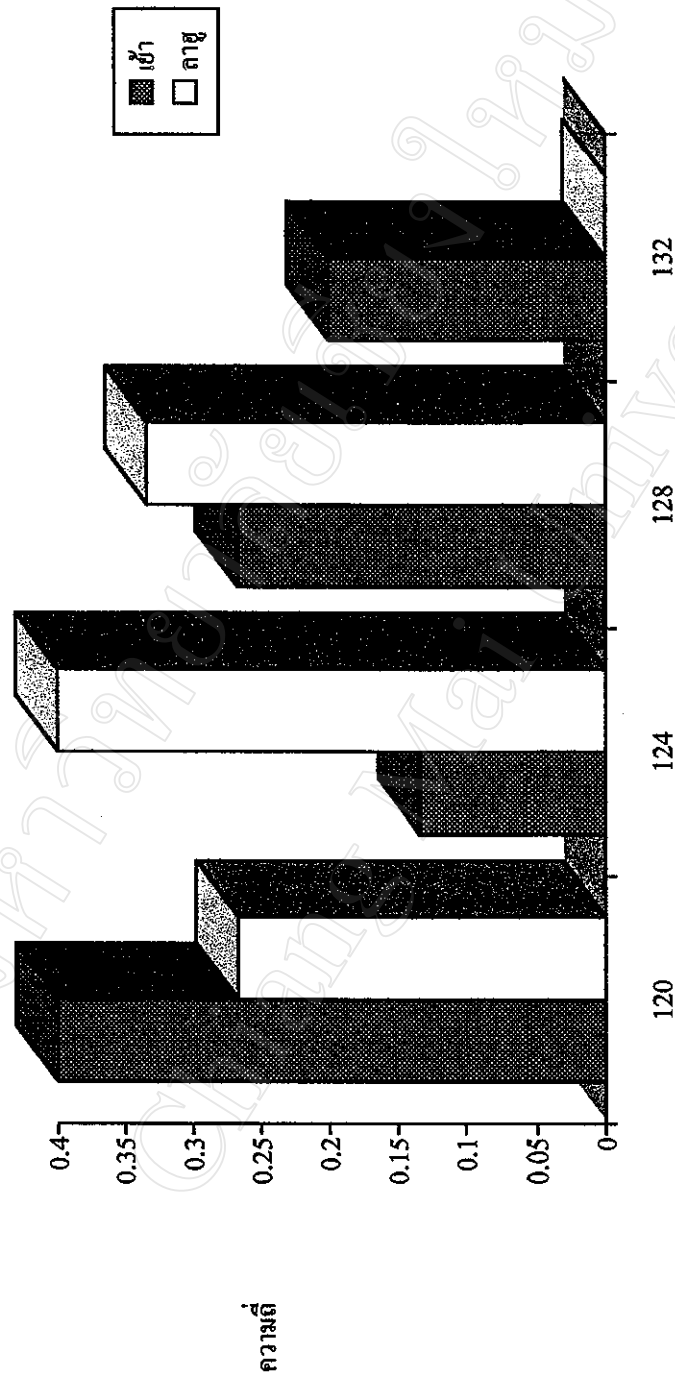


อัตราส่วน (จำนวนซ้ำของ STRs)

ภาพ 3 ความถี่อัตราส่วนตำแหน่ง DYS19 ในประชากรชาวไทยภูมิลำเนาเข้าและลาออก

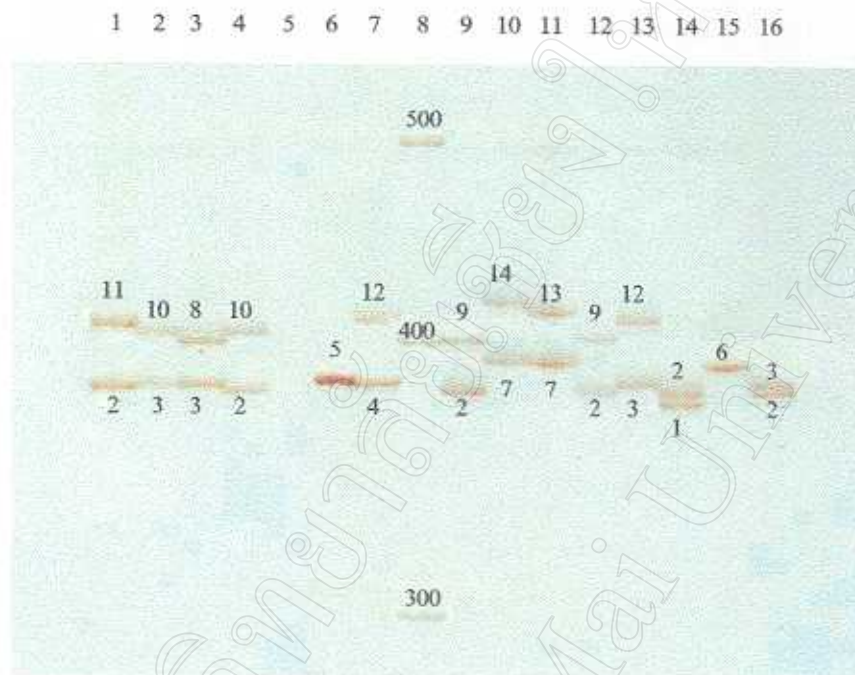


ภาพ 4 ความถี่อัตราตำแหน่ง DYS389 ในประชากรชาวไทยภูเขาเผ่าเข้าและลาชู



ภาพ 5 ความถี่อัลลีลตำแหน่ง DYS93 ในประชากรชาวไทยภูเข่าเข้าและลาชู

ที่ตำแหน่ง DYS385 (372-424 คู่เบส) ซึ่งเป็น duplicated alleles เมื่อย้อมสีดีเอ็นเอด้วย silver แล้วพบแถบดีเอ็นเอ 2 ขนาดในแต่ละบุคคล โดยเปรียบเทียบกับ DNA molecular weight marker 100 bp (Gibco BRL) (ช่องหมายเลข 8) แสดงในภาพ 6



ภาพ 6 แสดงแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏหลังจากย้อมสีดีเอ็นเอด้วย silver เลข 1-14 เหนือแถบดีเอ็นเอเป็นจำนวนซ้ำของ tetranucleotides ที่ตำแหน่ง DYS385 (เนื่องจากยังไม่ทราบจำนวนเบสแน่นอน จึงใช้ preliminary nomenclature เป็นตัวเลขแสดงจำนวนซ้ำ)

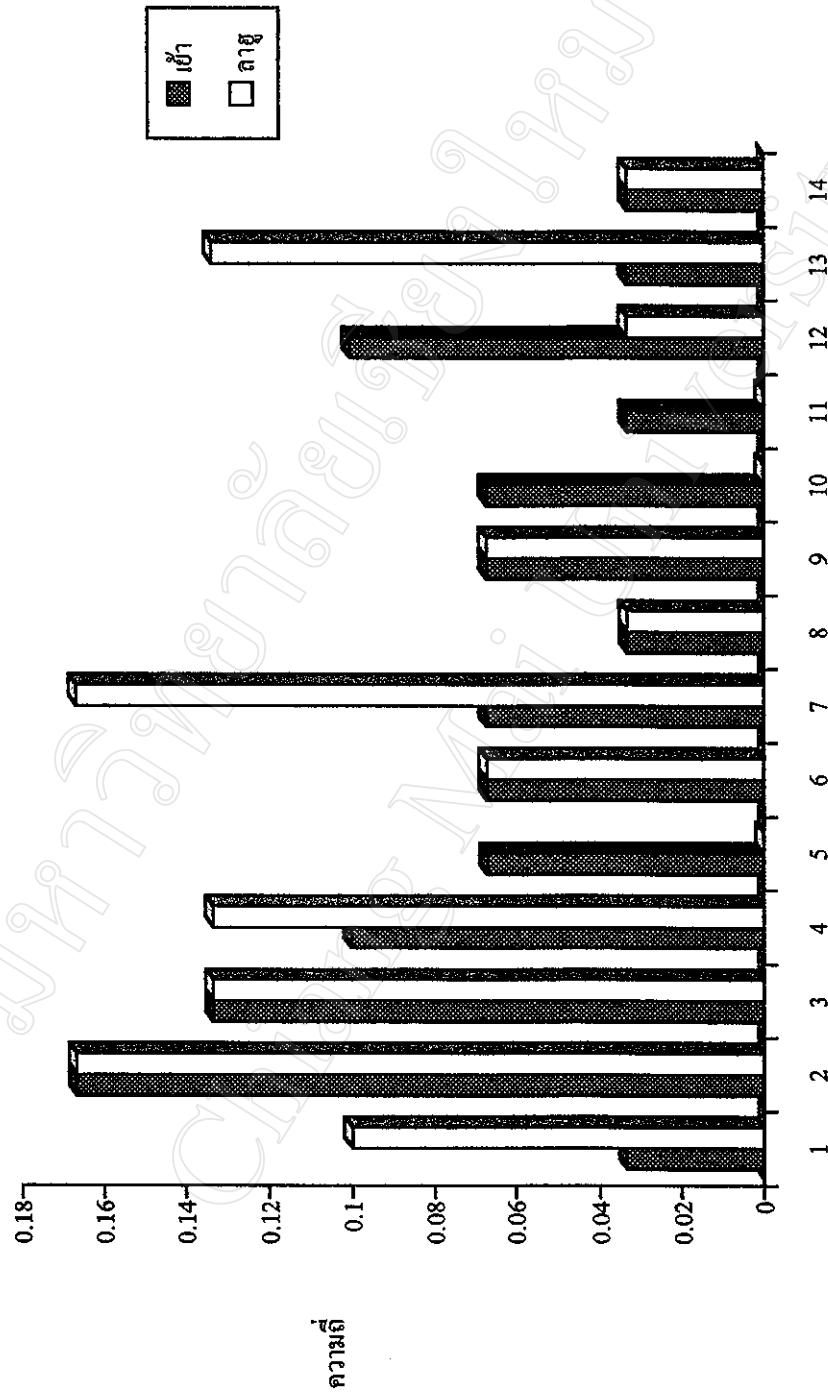
สำหรับตำแหน่ง DYS385 ซึ่งเป็น duplicated alleles พบทั้งสิ้น 14 อัลลีล ขนาดเล็กที่สุดคือ อัลลีล 1 (ประมาณ 372 คู่เบส) และขนาดใหญ่ที่สุดคือ อัลลีล 14 (ประมาณ 424 คู่เบส) ในชาวเข้าพบทั้ง 14 อัลลีล ที่พบบ่อยที่สุด คือ อัลลีล 2 (ความถี่ 0.1667) ชาวลาฮูพบ 11 อัลลีล ไม่พบอัลลีลที่ 5, 10 และ 11 อัลลีลที่พบบ่อยที่สุด ได้แก่ อัลลีล 2 และ อัลลีล 7 (ความถี่ 0.1667 เท่ากัน) ดังตาราง 2 และการกระจายความถี่อัลลีลเปรียบเทียบระหว่างประชากรชาวเข้าและลาฮู แสดงไว้ด้วยฮิสโตแกรม ดังภาพ 7

ตาราง 2 ความถี่อันดับและค่า chi-square ที่ตำแหน่ง DYS385 ในประชากรชาวไทยภูเขาเผ่าเย้าและลาฮู

ตำแหน่ง	อันดับ	เย้า $N_1=30$ (15×2) **	ความถี่	ลาฮู $N_1=30$ (15×2) **	ความถี่	chi-square
DYS385						9.5714
	1	1	0.0333	3	0.10	
	2	5	0.1667	5	0.1667	
	3	4	0.1333	3	0.1333	
	4	3	0.10	4	0.1333	
	5	2	0.0667	0	0	
	6	2	0.0667	2	0.0667	
	7	2	0.0667	5	0.1667	
	8	1	0.0333	1	0.0333	
	9	2	0.0667	2	0.0667	
	10	2	0.0667	0	0	
	11	1	0.0333	0	0	
	12	3	0.10	1	0.0333	
	13	1	0.0333	3	0.1333	
	14	1	0.0333	1	0.0333	

** จำนวนอันดับทั้งหมด (N) เท่ากับจำนวนประชากรกลุ่มสอง

เมื่อพิจารณาไมโครแซทเทลไลต์อันดับในลักษณะของแฮปโลไทป์ พบแฮปโลไทป์ทั้งหมดรวม 28 แบบ (ตาราง 3) ในทั้งชาวเย้าและลาฮูพบแฮปโลไทป์จำนวน 14 แบบเท่ากัน และไม่มีแฮปโลไทป์ใดที่พบร่วมกันเลย แฮปโลไทป์ที่ได้เป็นรูปแบบเฉพาะของแต่ละบุคคลในแต่ละเผ่า แต่ค่า chi-square ที่คำนวณได้มีค่า 30, $df=27$ ค่าที่ได้แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ หมายความว่า การกระจายของความถี่แฮปโลไทป์นี้กระจายออกจากจุดศูนย์กลางเท่ากันในทุกทิศทางตรงกันข้าม จึงไม่พบแฮปโลไทป์ร่วมกันเลยระหว่างประชากรทั้งสอง ทำให้ค่า chi-square ที่ได้มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างประชากรทั้งสอง ดังแสดงในตาราง 3 และเปรียบเทียบการกระจายความถี่แฮปโลไทป์ระหว่างประชากรดังกล่าวในภาพ 8



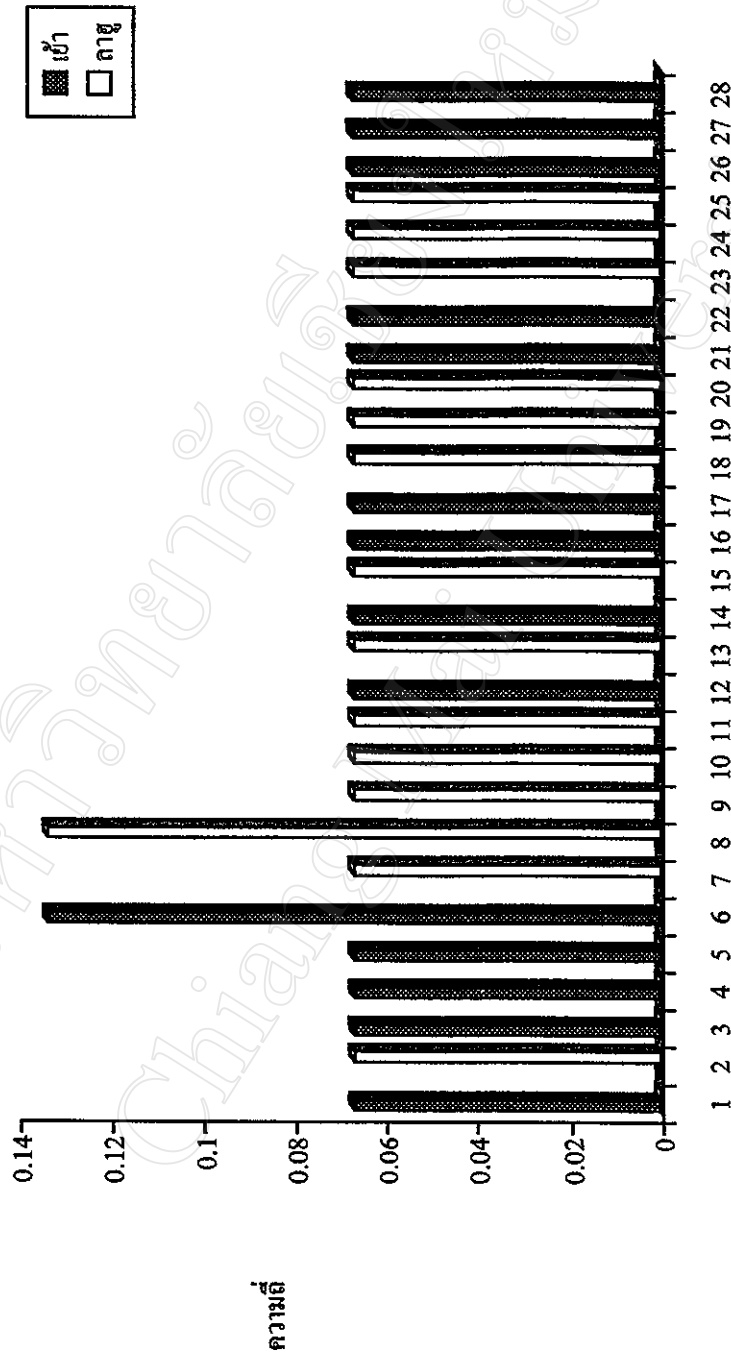
อัลลีล (จำนวนซ้ำของ STRs)

ภาพ 7 ความถี่อัลลีลตำแหน่ง DYS385 ในประชากรชาวไทยภูเขาเผ่าเย้าและลาฮู่

ตาราง 3 ความถี่ของแฮปโลไทป์แบบต่างๆในประชากรชาวไทยภูเขาเผ่าเย้าและเผ่าลาฮู่

แบบ	แฮปโลไทป์ (DYS19-DYS389-DYS393-DYS385)	เย้า		ลาฮู่	
		N=15	ความถี่	N=15	ความถี่
1	190-253-128-(5-5)	1	0.0667	0	0
2	190-257-128-(7-14)	0	0	1	0.0667
3	194-249-120-(3-8)	1	0.0667	0	0
4	194-249-120-(3-10)	1	0.0667	0	0
5	194-249-120-(2-11)	1	0.0667	0	0
6	194-249-120-(4-12)	2	0.1333	0	0
7	194-253-120-(4-13)	0	0	1	0.0667
8	194-257-124-(2-4)	0	0	2	0.1333
9	194-257-128-(7-13)	0	0	1	0.0667
10	194-261-124-(1-3)	0	0	1	0.0667
11	198-249-124-(3-8)	0	0	1	0.0667
12	198-249-128-(6-6)	1	0.0667	0	0
13	198-253-120-(3-9)	0	0	1	0.0667
14	198-253-128-(1-2)	1	0.0667	0	0
15	198-253-128-(4-13)	0	0	1	0.0667
16	198-253-132-(2-3)	1	0.0667	0	0
17	198-253-132-(4-9)	1	0.0667	0	0
18	198-257-128-(1-12)	0	0	1	0.0667
19	202-249-120-(1-7)	0	0	1	0.0667
20	202-249-120-(2-7)	0	0	1	0.0667
21	202-249-120-(2-10)	1	0.0667	0	0
22	202-249-120-(3-12)	1	0.0667	0	0
23	202-253-128-(6-9)	0	0	1	0.0667
24	202-257-124-(6-7)	0	0	1	0.0667
25	202-257-124-(7-7)	0	0	1	0.0667
26	202-257-124-(7-13)	1	0.0667	0	0
27	202-257-124-(7-14)	1	0.0667	0	0
28	202-257-128-(2-9)	1	0.0667	0	0

chi-square = 30



รูปแบบฮิสโตแกรม

ภาพ 8 ความถี่ของอัลลีล DYS19-DYS389-DYS393-DYS385 ในประชากรชาวไทยจากเผ่าเข้าและลาซุ

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของอัลลีล (D_A) ที่ตำแหน่ง DYS19 ในชาวเข้าและลาฮู มีค่าเท่ากัน คือ 0.6809 ที่ตำแหน่ง DYS389 ในชาวเข้ามีค่า 0.5762 ชาวลาฮูมีค่า 0.6428 ตำแหน่ง DYS393 มีค่า 0.6905 และ 0.6333 และที่ตำแหน่ง DYS385 มีค่า 0.9034 และ 0.8644 ในชาวเข้าและลาฮู ตามลำดับ ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมเฉลี่ยของอัลลีลทั้ง 4 ตำแหน่ง ($\bar{D}$) ของชาวเข้ามีค่า 0.7128 ± 0.1189 และชาวลาฮูมีค่า 0.7054 ± 0.0935 ส่วนค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของแฮปโลไทป์ (D_H) มีค่า 0.9190 เท่ากันทั้งสองเผ่า ดังแสดงไว้ในตาราง 4

ตาราง 4 ความหลากหลายทางพันธุกรรมในประชากรชาวไทยภูเขาเผ่าเข้าและเผ่าลาฮู

ไมโครแซทเทลไลต์	ค่าความหลากหลายทางพันธุกรรม	
	เข้า	ลาฮู
ตำแหน่ง DYS19 (D_A)	0.6809	0.6809
ตำแหน่ง DYS389 (D_A)	0.5762	0.6428
ตำแหน่ง DYS393 (D_A)	0.6905	0.6333
ตำแหน่ง DYS385 (D_A)	0.9034	0.8644
เฉลี่ย ($\bar{D}$)	0.7128 ± 0.1189	0.7054 ± 0.0935
แฮปโลไทป์ (D_H)	0.9190	0.9190

ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างชาวไทยภูเขาทั้งสองเผ่านี้ พิจารณาไมโครแซทเทลไลต์ แต่ละตำแหน่งคือ DYS19, DYS389, DYS393 และ DYS385 มีค่า 0, 0.2922, 0.2337 และ 0.1819 ตามลำดับ และมีระยะห่างทางพันธุกรรมจากทุกตำแหน่งรวมกัน (D_T) เป็น 0.1804 สำหรับระยะห่างทางพันธุกรรมจากแฮปโลไทป์ (D_H) มีค่าเป็นอนันต์ หมายความว่าไม่พบแฮปโลไทป์ร่วมกันเลยระหว่างประชากรทั้งสอง (ตาราง 5)

ตาราง 5 ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรชาวไทยภูเขาเผ่าเข้าและลาฮู

ไมโครแซทเทลไลต์	ค่าระยะห่างทางพันธุกรรม
ตำแหน่ง DYS19 (D_I)	0
ตำแหน่ง DYS389 (D_I)	0.2922
ตำแหน่ง DYS393 (D_I)	0.2337
ตำแหน่ง DYS385 (D_I)	0.1819
ทุกตำแหน่งรวมกัน (D_T)	0.1804
แฮปโลไทป์ (D_H)	∞