

Thesis Title	X-, Y-Chromosomal and Mitochondrial DNA Variations of the Karen, Hmong and Iu Mien in the Upper Northern Part of Thailand	
Author	Mr. Metawee Srikummool	
Degree	Doctor of Philosophy (Biology)	
Thesis Advisory Committee	Assoc.Prof.Dr. Daoroong Kangwanpong	Chairperson
	Asst.Prof.Dr. Mark Seielstad	Member
	Lect.Dr. Supaporn Nakhunlung	Member

ABSTRACT

There are many groups of people known as hilltribes living in the highlands of Northern Thailand. They immigrated into Thailand for various reasons like political and economic aspects. Each of these highland groups also has unique cultural practices that might affect their genetic composition. Tribes may be divided into subgroups, using differences in beliefs, rites and myths as well as clothing and ornaments. To get a better understanding of the population genetic structure, the effect of post-marital residences, which can influence the genetic variation among populations, and the genetic affinity

among tribes and subgroups, the X-, Y-chromosomal microsatellites and mtDNA sequence variations were analyzed. The studied populations were the Karen, the matrilocality – males moving to their wives' residences after marriage, and the Hmong and Iu Mien, the patrilocality – females moving to their husbands' residences after marriage.

DNA was extracted from the white blood cells of unrelated volunteers, using the inorganic salting out protocol. The 14 X-linked microsatellite loci, DXS1001, DXS1060, DXS1068, DXS1073, DXS1106, DXS1214, DXS1227, DXS8043, DXS8051, DXS8091, DXS987, DXS990, DXS991 and DXS993, were genotyped in 79 and 75, 90 and 46, and 53 and 22 males and females Karen, Hmong and Iu Mien, respectively. DNA at the selected loci was amplified by the polymerase chain reaction using fluorescent-labeled primers which were a commercial set, ABI's PRISM Mapping Sets v2.5 panel 28 (Applied Biosystems). The 15 selected Y-chromosomal microsatellite loci, DYS19, DYS388, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS426, DYS436, DYS437, DYS439, Y-GATA-A7.1, Y-GATA-A7.2 and Y-GATA-A10, from 83 Karen, 90 Hmong and 52 Iu Mien males were genotyped. DNA at the selected loci was amplified by the polymerase chain reaction using fluorescent-labeled primers. Sizes of the X- and Y- amplicons were determined, using the ABI377 automated sequencer with the GENESCAN™ and GENOTYPER™ software.

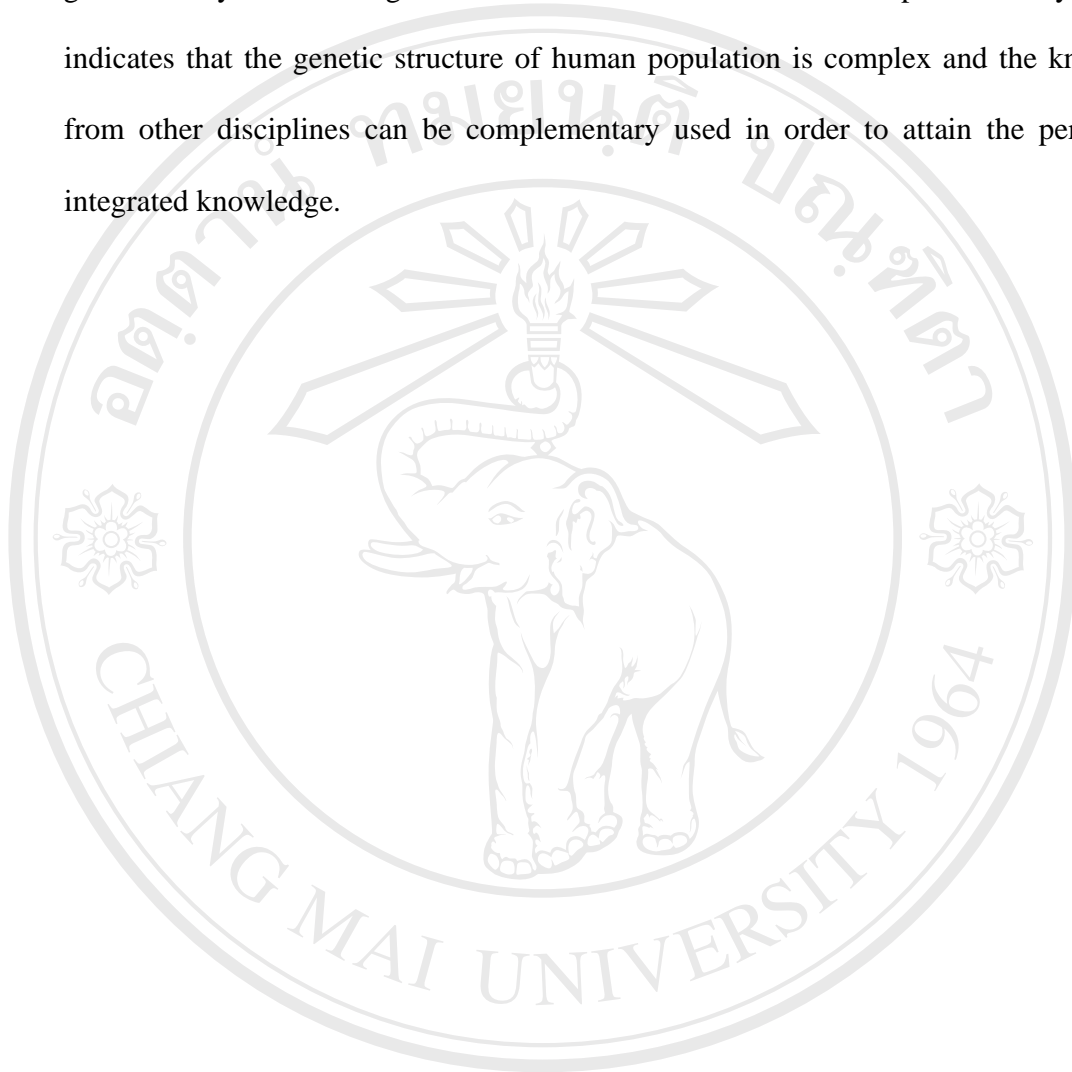
The mitochondrial DNA sequence at the hypervariable segment I (HVS-I) of the control region from 63 Karen, 50 Hmong and 44 Iu Mien was examined. The HVS-I was amplified by the polymerase chain reaction using specific primers. PCR products were

directly labeled using BigDye™ V3.0 terminator ready sequencing kit (Applied Biosystems). ABI 377 automated sequencer was used for detecting the signal of fluorescent-labeled nucleotide. SEQUENCHER software (Genecode) was used for bases calling and sequence strands assembling.

The results suggested that most genetic variation of each population was due to the genetic diversity within the subgroup or individual differences. The post-marital migration influenced the genetic structure of the studied hilltribes. Y chromosome diversity was greater in the matrilocal Karen than that in the patrilocal Hmong, while the mtDNA diversity in the matrilocal Karen was lower than that in the patrilocal Hmong. The Iu Mien had high genetic diversities of both Y chromosome and mtDNA, which might be due to their adoption tradition. The Y chromosome and mtDNA migration rate ratios in matrilocal and patrilocal societies indicated that the migration rate of Y-chromosome is higher than the mtDNA in the matrilocal group, whereas the mtDNA has higher migration rate in the patrilocal group.

Three studied hilltribes composed of 9 subgroups, i.e. the Kayah Karen, the Pwo Karen, the Skaw Karen, the Toungthu Karen, Black Hmong, White Hmong, and Iu Mien from Chiang Rai, Nan and Phayao provinces. The genetic distances, based on X-, Y-chromosomal and mtDNA variations among 9 subgroups, indicated that the subgroups of each tribe had closed genetic affinity. Each of the Iu Mien subgroups from 3 different geographic areas had a unique genetic structure which was different among each other. This might be due to different migration time and route of each group. This structure also corresponded with the migration history of the Iu Mien. Thus, the human population

genetic study can shed light on the hilltribes information. The present study strongly indicates that the genetic structure of human population is complex and the knowledge from other disciplines can be complementary used in order to attain the perfect and integrated knowledge.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ความผันแปรของโครโมโซม X, Y และดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย
ของชาวกะเหรี่ยง ม้ง และอิวเมี่ยนในภาคเหนือตอนบน
ของประเทศไทย

ผู้เขียน นายเมธวี ศรีคำมูล

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ชีววิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. ดาวรุ่ง กังวานพงศ์ ประธานกรรมการ
Asst. Prof. Dr. Mark Seielstad กรรมการ
อาจารย์ ดร. สุภาพร นาคบัลลังก์ กรรมการ

บทคัดย่อ

ชาวเขา เป็นคำใช้เรียกชนเผ่าที่อาศัยอยู่บริเวณพื้นที่สูงในภาคเหนือของไทย ส่วนใหญ่จะอพยพเข้ามาในประเทศไทยด้วยเหตุผลหลายประการเช่นด้านการเมืองและด้านเศรษฐกิจ ชาวเขาแต่ละเผ่าจะมีวัฒนธรรมที่ยึดถือเป็นของตนเอง อันอาจส่งผลต่อองค์ประกอบทางพันธุกรรมได้ นอกจากนี้แต่ละชนเผ่าอาจแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ตามความเชื่อ พิธีกรรม ตำนาน และการแต่งกายที่แตกต่างกัน งานวิจัยชิ้นนี้ได้ใช้ความผันแปรของไมโครแซเทลไลท์ในโครโมโซม X และ Y กับลำดับเบสในดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย เพื่อศึกษาโครงสร้างพันธุกรรมของประชากร ผลกระทบของการโยกย้ายถิ่นฐานหลังแต่งงานซึ่งคาดว่าอาจจะมีอิทธิพลต่อความผันแปรระหว่างประชากร และความสัมพันธ์ทางเชื้อสายระหว่างชนเผ่ากับกลุ่มย่อยต่างๆ ในประชากรที่ศึกษาได้แก่ ชาวกะเหรี่ยง ซึ่งหลังแต่งงานผู้ชายจะย้ายเข้าไปอยู่ในครอบครัวหรือหมู่บ้านของฝ่ายหญิง กับชาวม้งและชาวอิวเมี่ยน ซึ่งหลังแต่งงานผู้หญิงจะย้ายเข้าไปอยู่ในครอบครัวหรือหมู่บ้านของฝ่ายชาย

ดีเอ็นเอที่ใช้ในการศึกษา สกัดจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของอาสาสมัครที่ไม่เป็นญาติกันด้วยวิธีอินออร์แกนิกแยกโปรตีนออกด้วยเกลือเข้มข้นสูง แล้ววิเคราะห์จีโนมไทป์ของไมโครแซเทลไลท์ 14 ตำแหน่งในโครโมโซม X คือ DXS1001, DXS1060, DXS1068, DXS1073, DXS1106, DXS1214,

DXS1227, DXS8043, DXS8051, DXS8091, DXS987, DXS990, DXS991 และ DXS993 ในอาสาสมัครเพศชายและเพศหญิง ชาวกะเหรี่ยง ม้ง และอิวเมี่ยน จำนวน 79 และ 75, 90 และ 46, 53 และ 22 คนตามลำดับ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสโดยใช้ไพรเมอร์ที่ติดฉลากด้วยสีฟลูออเรสเซนต์ ไพรเมอร์ทั้ง 14 ตำแหน่ง คือ ABI's PRISM Mapping Sets v2.5 panel 28 บริษัท Applied Biosystems และวิเคราะห์จีโนมไทป์ของไมโครแซเทลไลท์ 15 ตำแหน่งในโครโมโซม Y คือ DYS19, DYS388, DYS389I, DYS389II, DYS390, DYS391, DYS392, DYS393, DYS426, DYS436, DYS437, DYS439, Y-GATA-A7.1, Y-GATA-A7.2 และ Y-GATA-A10 ในชายชาวกะเหรี่ยง 83 คน ชาวม้ง 90 คน และชาวอิวเมี่ยน 52 คน โดยทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส โดยใช้ไพรเมอร์ที่ติดฉลากด้วยสีฟลูออเรสเซนต์เช่นกัน แล้วตรวจสอบขนาดของผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วยเครื่องวิเคราะห์ลำดับเบสอัตโนมัติรุ่น ABI 377 ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ GENESCANTM และ GENOTYPERTM บริษัท Applied Biosystems

นอกจากนี้ ยังวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียบริเวณ hypervariable segment I ใน control region จากชาวกะเหรี่ยง 63 คน ม้ง 50 คน และอิวเมี่ยน 44 คน ทั้งสองเพศ โดยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเป้าหมายด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสด้วยไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจง ติดฉลากผลิตภัณฑ์ที่ได้ด้วย BigDyeTM V3.0 terminator ready sequencing kit บริษัท Applied Biosystems แล้วนำไปหาลำดับเบสด้วยเครื่องวิเคราะห์ลำดับเบสอัตโนมัติรุ่น ABI 377 โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ SEQUENCHER บริษัท Genecode

ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ความผันแปรทางพันธุกรรมของประชากรส่วนใหญ่เกิดจากความหลากหลายทางพันธุกรรมภายในกลุ่มย่อยหรือของแต่ละบุคคล การอพยพโยกย้ายถิ่นฐานหลังแต่งงานมีผลต่อโครงสร้างพันธุกรรมของชาวเขาที่ศึกษา โดยความหลากหลายของโครโมโซม Y ในชาวกะเหรี่ยงมีมากกว่าของชาวม้ง ในขณะที่ความหลากหลายของดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียของชาวกะเหรี่ยงจะมีน้อยกว่าของชาวม้ง อิวเมี่ยนจะมีความหลากหลายของทั้งโครโมโซม Y และดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียสูง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการรับบุตรบุญธรรม สำหรับอัตราการอพยพที่คำนวณจากความผันแปรของโครโมโซม Y และดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียในประชากรที่มี การโยกย้ายหลังแต่งงานต่างกันแสดงให้เห็นว่า ประชากรที่เพศชายย้ายเข้าสู่ครอบครัวฝ่ายหญิงมีอัตราการเคลื่อนย้ายของโครโมโซม Y มากกว่าไมโทคอนเดรีย ในขณะที่ไมโทคอนเดรียจะมีอัตราการเคลื่อนย้ายมากกว่าในประชากรที่เพศหญิงย้ายเข้าสู่ครอบครัวฝ่ายชาย

ชาวเขาทั้ง 3 เผ่าที่ศึกษาแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้ 9 กลุ่ม ได้แก่ กะเหรี่ยงคะชา กะเหรี่ยงโป
 กะเหรี่ยงสะกอ กะเหรี่ยงตองสู ม้งดำ ม้งขาว และอิวเมียนจากจังหวัดเชียงราย น่าน และพะเยา ผลการ
 วิเคราะห์ระยะห่างทางพันธุกรรมจากความผันแปรของโครโมโซม X และ Y กับดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย
 ระหว่างประชากรทั้ง 9 กลุ่ม พบว่ากลุ่มย่อยของแต่ละเผ่ามีความสัมพันธ์กันทางเชื้อสายอย่างใกล้ชิด
 อิวเมียนจาก 3 จังหวัดมีโครงสร้างพันธุกรรมที่เฉพาะซึ่งแตกต่างกัน อันอาจเกิดจากแต่ละกลุ่มมีเวลา
 และเส้นทางการอพยพเคลื่อนย้ายแตกต่างกัน ทั้งนี้ผลการศึกษาแสดงให้เห็นความสอดคล้องกับประวัติ
 การอพยพเคลื่อนย้ายของชุมชนอิวเมียน ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรมนุษย์
 สามารถให้ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับชาวเขาได้ การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าโครงสร้างทางพันธุกรรมของ
 ประชากรมนุษย์มีความซับซ้อน จึงต้องอาศัยความรู้ในสาขาวิชาต่างๆ มาร่วมในการวิเคราะห์ เพื่อให้ได้
 ข้อสรุปที่สมบูรณ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved