

Thesis Title	Sequence Analysis of Mitochondrial DNA Hypervariable Region I for Forensic Science Work in Thai Population
Author	Miss Amporn Jansom
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Thesis Advisor	Lect. Dr. Padchanee Sangthong

ABSTRACT

Hypervariable region I (HVRI) in human mitochondrial DNA (mtDNA) contains very high polymorphism and also shows highly variable base substitutions. Since Anderson and coworkers have completed mtDNA sequences, the mtDNA was used as forensic markers for personal identification and maternal relationship in forensic science due to its high copy number per cell, maternal inheritance and high levels of sequence polymorphisms. mtDNA sequence can reveal individualization of population, therefore it is necessary to have an appropriate database in order to use mtDNA typing in forensic science. This study aims to analyze HVR I sequences of Thai individuals to expand HVR I database for Thai populations. One hundred DNA blood samples of Thai individuals were extracted by using NucleoSpin[®] Blood kit and the HVR I at position between 16,034 and 16,365 was amplified using polymerase chain reaction (PCR) technique. PCR products were detected by agarose gel electrophoresis and HVR I were sequenced using Bigdye[®] terminator. Then, 100 mtDNA sequences were analyzed and compared

with Anderson sequence. The results showed 85 variable sites and 423 base substitutions which consisted of 390 nucleotide transitions and 33 nucleotide transversions. Nucleotide substitutions were found 48% at 16,223, 31% at 16,304, 30% at 16,332 and 26% at 16,129, respectively. Transition from thymine to cytosine ($T \rightarrow C$, 43.7%) was the most frequent substitution following by $C \rightarrow T$ (31.7%), $G \rightarrow A$ (10.2%), $A \rightarrow G$ (6.6%), $A \rightarrow C$ (5.2%), $C \rightarrow A$ (2.4%) and $T \rightarrow A$ (0.2%), respectively. The percentages of nucleotide transitions and transversions (% variations) were 92.20% and 7.80%, respectively. The nucleotide insertions were found at 2 sites with T at position 16,187 and C at position 16,193. Interestingly, base deletion was not observed. Eighty two haplotypes were investigated of which 72 haplotypes were unique. Haplotypes 16,108T-16,129A-16,162G-16,172C-16,304C and haplotypes 16,260T-16,298C-16,355T-16,362C were the most frequently observed in 4 Thai individuals. According to HVR I sequence analysis at position from 16,180 to 16,193, thirteen patterns of polycytosine or C-stretch were observed whereas 68 Thai individuals were similar to Anderson sequence. The genetic diversity, random match probability and discrimination power were estimated to be 0.9943, 0.0156 and 0.9844, respectively.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียที่มีความหลากหลายสูงบริเวณที่ 1 สำหรับงานนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทย
ผู้เขียน	นางสาว อัมพร จันสม
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	อาจารย์ ดร. พัทธณี แสงทอง

บทคัดย่อ

บริเวณที่มีความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์สูงที่ 1 (Hypervariable region I, HVR I) บนไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอของมนุษย์เป็นบริเวณที่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างบุคคลและมีความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์สูง เนื่องด้วยข้อดีของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอได้แก่ มีสำเนาดีเอ็นเอในเซลล์มาก การถ่ายทอดพันธุกรรมเฉพาะทางสายมารดาและความหลากหลายของลำดับไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอระหว่างบุคคล จึงนำมาใช้ประโยชน์ในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลและการตรวจสอบความสัมพันธ์ทางสายมารดาในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ นอกจากนี้ลำดับนิวคลีโอไทด์ไมโทคอนเดรียยังสามารถแสดงความเป็นเอกลักษณ์ของประชากรแต่ละกลุ่มได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาและจัดเก็บลำดับนิวคลีโอไทด์ไมโทคอนเดรียเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของประชากรและนำมาประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์และขยายข้อมูลพื้นฐานของบริเวณที่มีความ

หลากหลายสูงของลำดับนิวคลีโอไทด์สูงบริเวณที่ 1 ในประชากรเชื้อชาติไทย จำนวน 100 คน โดยทำการสกัดจีโนมิกดีเอ็นเอจากเลือดของอาสาสมัครเชื้อชาติไทยมาสกัดด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป NucleoSpin® Blood จากนั้นนำไปเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณที่มีความหลากหลายสูงบริเวณที่ 1 เริ่มจากตำแหน่ง 16,034-16,365 ด้วยเทคนิค PCR และนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไมโทคอนเดรียด้วยเทคนิค BigDye® terminator จากการศึกษาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ไมโทคอนเดรียของคนไทยจำนวน 100 คน กับลำดับนิวคลีโอไทด์ไมโทคอนเดรียของ Anderson พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของลำดับนิวคลีโอไทด์ถึง 85 ตำแหน่ง และมีการแทนที่ของนิวคลีโอไทด์ 423 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นการแทนที่แบบทรานซิชัน 390 นิวคลีโอไทด์และการแทนที่แบบทรานสเวิร์สชัน 33 นิวคลีโอไทด์ ตำแหน่งที่พบความหลากหลายของลำดับนิวคลีโอไทด์มากที่สุดคือตำแหน่ง 16,223 (48%), 16,304 (31%), 16,332 (30%) และ 16,129 (26%) ตามลำดับ ชนิดของนิวคลีโอไทด์ที่มีการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือ การเปลี่ยนจากนิวคลีโอไทด์ไทมีน (T) เป็นไซโตซีน (C) (43.7%), นิวคลีโอไทด์ C เป็น T (31.7%), นิวคลีโอไทด์ G เป็น A (10.2%), นิวคลีโอไทด์ A เป็น G (6.6%), นิวคลีโอไทด์ A เป็น C (5.2%), นิวคลีโอไทด์ C เป็น A (2.4%) และนิวคลีโอไทด์ T เป็น A (0.2%) ตามลำดับ ร้อยละการเปลี่ยนแปลงของนิวคลีโอไทด์แบบทรานซิชันและทรานสเวิร์สชันเท่ากับ 92.20 และ 7.80 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบการเพิ่มขึ้นของนิวคลีโอไทด์ T และ C ที่ตำแหน่ง 16,187 และ 16,193 ตามลำดับ แต่ไม่พบการขาดหายไปของนิวคลีโอไทด์ ในการศึกษาครั้งนี้พบแฮปโลไทป์ทั้งหมด 82 แฮปโลไทป์ ซึ่งมีความเป็นเอกลักษณ์ในแต่ละบุคคล 72 แฮปโลไทป์ แฮปโลไทป์ที่พบมากที่สุดคือ 16,108T-16,129A-16,162G-16,172C-16,304C และ แฮปโลไทป์ 16,260T-16,298C-16,355T-16,362C พบแฮปโลไทป์ละ 4 คน นอกจากนี้ยังศึกษาบริเวณการซ้ำกันของนิวคลีโอไทด์ C (C-stretch) ที่ตำแหน่ง 16,180 ถึง 16,193 พบ

13 รูปแบบ ซึ่งคนไทย 68 คนมีรูปแบบเหมือนลำดับนิวคลีโอไทด์ไมโทคอนเดรียของ Anderson
ค่าทางสถิติทางนิติวิทยาศาสตร์ที่คำนวณคือ genetic diversity, random match probability และ
discrimination power ได้เท่ากับ 0.9943, 0.0156 และ 0.9844 ตามลำดับ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved