

ความสัมพันธ์ของโครโนไซมของลิงเสน (*Macaca arctoides*) และมนุษย์ (*Homo sapiens*) ด้วยวิธีการย้อมແນບສີແບບຈີ

อลงกรณ์ แทนออมทอง¹ สัมภានน์ คุณสุข²

มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์³

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10400

ແລະວິທີດ ກອງຄໍາ⁴

องค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ດຸສືຕ ກຽມທະເພດ 10300

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นรายงานครั้งแรกของการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของโครโนไซมของลิงเสนและมนุษย์ ด้วยเทคนิคการย้อมແນບສີໂຄຣໂໄໂຊມແບບຈີ ใช้ตัวอย่างเลือดลัตเวเพคผู้ 2 ตัว และเพคเมีย 2 ตัวจากสวนสัตว์ลังชลา จังหวัดสิงห์บุรี และสวนสัตว์นครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา เตรียมโครโนไซมด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 72 ชม. ทำการย้อมແນບສີໂຄຣໂໄໂຊມແບບຈີ ผลการศึกษาพบว่าลิงเสนมีจำนวนโครโนไซม 2n (diploid) เท่ากับ 42 แท่ง โครโนไซมร่างกายประกอบด้วยโครโนไซมชนิดเมทาเซนทริกเท่ากับ 18 แท่ง ชนิดซับเมทาเซนทริกเท่ากับ 22 แท่ง บนแขนข้างซ้ายของโครโนไซมคู่ที่ 13 จัดเป็น satellite chromosome โครโนไซมເອັກໜີເປັນชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโนไซมวายเป็นชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด โครโนไซมของลิงเสนติดແນບສີເທົ່ານີ້ເໝືອນກັບโครโนไซมของมนุษย์ 5 ຄູ້ ໄດ້ແກ່ ຄູ້ທີ 5, 12, 13, 19 ແລະ ໂຄຣໂໄໂຊມເອັກໜີ ໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 13 ແນະຂັງລັ້ນຈະມີຄວາມຄ້າຍກັບໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 22 ຂອງมนุษย์ ແລະ ແນະຂັງຍາວຈະເໝືອນກັບໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 15 ຂອງมนุษย์ ລັ້ນນິ້ນຮູ້ານວ່າໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 15 ແລະ 22 ຂອງมนุษย์ ເກີດຈາກກາຫທັກຂອງໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 13 ຂອງລິງເສັນ ມີໂຄຣໂໄໂຊມທີ່ມີການຕິດແນບສຶກລ້າຍຄົງກັບຂອງมนุษย์ 11 ຄູ້ ໄດ້ແກ່ ໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 17 ແລະ 20 ແລະພວ່າໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 1 ຂອງລິງເສັນມີການສັລັບຫວ່າທ້າຍກັບຂອງมนุษย์ ລັ້ນນິ້ນຮູ້ານວ່າເກີດຈາກພລຂອງ pericentric inversion ຂອງໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 1 ຂອງລິງເສັນກາລີມມາເປັນຄູ້ທີ 1 ຂອງໂຄຣໂໄໂຊມมนุษย์ ສ່ວນໂຄຣໂໄໂຊມທີ່ມີແນບສີໄມ້ເໝືອນກັນກັນຂອງมนุษย์ມີ 6 ຄູ້ ໄດ້ແກ່ ໂຄຣໂໄໂຊມคู่ที่ 2, 4, 15, 16, 18 ແລະ ໂຄຣໂໄໂຊມວາຍ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นວ່າລິງເສັນມີຄວາມໃກລ້າເຄີຍກັນກັນມຸນຸຍົງ

คำสำคัญ : ໂຄຣໂໄໂຊມ / ດາວໂຫຼວງ / ການຍົມແນບສີແບບຈີ / ລິງເສັນ / ມຸນຸຍົງ

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

² อาจารย์ สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

³ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพุกามศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์

⁴ สัตวแพทย์

Chromosome G-banding Analysis of Stump-tailed Macaque (*Macaca arctoides*) and Relationship to Human (*Homo sapiens*)

Alongkoad Tanomtong¹, Sumpars Khunsook²,

Khon Kaen University, Mung, Khon Kaen 40002

Roungvit Bunjongrat³,

Chulalongkorn University, Payathai, Bangkok 10400

and Wichit Kongkham⁴

The Zoological Park Organization Under the Royal Patronage, Dusit, Bangkok 10300

Abstract

This research was the first report an comparative chromosome G-banding analysis of stump-tailed macaque (*Macaca arctoides*) and its relationship to that of human (*Homo sapiens*). Blood samples were taken from two males and two females kept in Songkla Zoo, Songkla province and Nakhonratchasima Zoo, Nakhonratchasima province. After the standard whole blood lymphocyte culture at 37 °C for 72 hr. in presence of colchicine, the metaphase spreads were performed on microscopic slides and air-dried. G-banding technique was applied to stain the chromosomes. The results showed that the diploid stump-tailed macaque cells contain 42 chromosome. The type of autosomes are 18 metacentric and 22 submetacentric chromosomes. In addition, a pair of short arm chromosome 13 showed clearly observable satellite chromosome. X-chromosome was the medium submetacentric and Y chromosome was the smallest submetacentric chromosome. We found that chromosome 5, 12, 13 and X have the same G-banding patterns as those of human chromosomes. The short arm of chromosome 13 is similar to the chromosome 22 of human as indicated by G-bands. In addition, the long arm of chromosome 13 is similar to the chromosome 15 of human. These results indicated that the chromosome 13 of the stump-tailed macaque was split into 2 chromosomes. Chromosome 1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 17 and 20 are similar to those of human chromosomes. The study suggested that the human chromosome 1 is a pericentric inversion of stump-tailed macaque chromosome 1. The macaque chromosomes 2, 4, 15, 16, 18 and Y are different from those of human chromosomes. These results show the relationship between the stump-tailed macaque and human.

Keywords : Chromosome / karyotype / G-banding / Stump-tailed Macaque (*Macaca arctoides*) / Human (*Homo sapiens*)

¹ Assistant Professor, Genetic Program, Department of Biology, Faculty of Science.

² Lecture, Genetic Program, Department of Biology, Faculty of Science.

³ Assistant Professor, Genetic Program, Department of Botany, Faculty of Science.

⁴ Veterinary Medicine.

1. บทนำ

สัตว์ในอันดับ (order) ไพรเมท (primate) มีทั้งหมด 13 วงศ์ (family) 60 สกุล (genus) และ 232 ชนิด (species) [1] ในประเทศไทยพบสัตว์ในอันดับไพรเมท 3 วงศ์ 5 สกุล และ 13 ชนิด เป็นลิงที่อยู่ในสกุล *Macaca* 5 ชนิด ได้แก่ ลิงesen (stump-tailed macaque, *Macaca arctoides* Geoffroy, 1831) ลิงอ้อเจี้ยห์หรืออกภูเขา (assam macaque, *Macaca assamensis* McClelland, 1839) ลิงแมมหรือลิงทางยา (crab-eating macaque or long-tailed macaque, *Macaca fascicularis* Raffles, 1821) ลิงวอก (rhesus monkey, *Macaca mulatta* Zimmermann, 1780) และลิงกัง (pig-tailed macaque, *Macaca nemestrina* Linnaeus, 1766) [2-4] และเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าพวกลิง (monkey and macaques) ชะนี (gibbons) และเอป (apes) มีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษร่วมกันกัมมุชย์ (common ancestor) [5-7]

ลิงesenสามารถที่จะจัดอนุกรมวิธานได้ดังต่อไปนี้ อยู่ในอาณาจักร (kingdom) สัตว์ ไฟลัม (phylum) สัตว์มีกระดูกสันหลัง (chordata) ชั้น (class) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammal) อันดับสัตว์จำพวกลิง (primate) วงศ์ Cercopithecidae วงศ์ย่อย Cercopithecinae สกุล *Macaca* และชนิด *Macaca arctoides* ลักษณะที่สำคัญของลิงesen ได้แก่ มีขนสีเข้ม ลำตัวด้านบนสีน้ำตาลแגםแดงหรือสีดำ หางสั้น และเกือบไม่มีขน ในหน้าไม่มีขน แต่มีกระลึงน้ำตาลแดงหรือสีแดง ส่วนใหญ่อาราดบินพื้นดินในป่าริมห้วย พบรูปแบบ 40-50 ตัว ในป่าดิบชั้นและป่าเบญจพรรณ ทุกภาคของประเทศไทย [2-4]

ลิงสกุล *Macaca* ทั้ง 5 ชนิดในประเทศไทย จากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัยพบว่ามี รายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของลิงสกุล *Macaca* ดังรายงานการศึกษาของ Chiarelli [8]; Napier และ Napier [9]; Small และ Stanyon [10]; Brown และคณะ [11]; Hirai และคณะ [12] (ตารางที่ 1) สำหรับการศึกษาเปรียบเทียบเพื่อหาความสัมพันธ์ของโครโมโซมของลิงesenและมนุษย์ ด้วยวิธีการย้อมແคนสีแบบเจ ยังไม่มีรายงานการศึกษามาก่อนหน้านี้ จึงควรที่จะต้องมีการศึกษาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน และนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาในขั้นสูงต่อไป

ตารางที่ 1 การศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของลิงที่อยู่ในสกุล *Macaca* จำนวน 4 ชนิด ในประเทศไทย

ชนิดของลิง	2n	NF	m	sm	X	Y	แหล่งอ้างอิง
ลิงเส่น (<i>Macaca arctoides</i>)	42	84 ในเพศผู้ และเพศเมีย	18	22	sm(-)	sm(-)	[11]
	42	-	12	28	sm(-)	sm(-)	[8]
ลิงแมม (<i>Macaca fascicularis</i>)	42	84 ในเพศผู้ และเพศเมีย	18	22	m(-)	t(-)	[11]
	42	83 ในเพศผู้ และ 84 ใน เพศเมีย	18	22	m(M)	t(S)	[12]
ลิงวอก (<i>Macaca mulatta</i>)	42	84 ในเพศผู้ และเพศเมีย	18	22	m(-)	m(-)	[11]
	42	84 ในเพศผู้ และเพศเมีย	18	22	m(M)	m(S)	[9]
	42	84 ในเพศผู้ และเพศเมีย	18	22	m(M)	m(S)	[10]
ลิงกัง (<i>Macaca nemestrina</i>)	42	84 ในเพศผู้ และเพศเมีย	18	22	sm(-)	t(-)	[11]

หมายเหตุ : 2n = diploid number

sm = submetacentric

Y = Y-chromosome

NF = fundamental number

t = telocentric

M = medium chromosome

m = metacentric

X = X-chromosome

S = small chromosome

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

ลิงเส่นที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 4 ตัว ที่เลี้ยงอยู่ในสวนสัตว์สงขลา เพศผู้ 1 ตัวและเพศเมีย 2 ตัว และสวนสัตว์นครราชสีมา เพศผู้ 1 ตัว ทำการเจาะเก็บเลือดโดยใช้เทคโนโลยีค่าจากเชื้อจากเลือดดำเนินริเวณลำคอ และทำการเจาะเก็บเลือดของมนุษย์เป็นเพศชาย 1 คน และเพศหญิง 1 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาปริญญาโทของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยได้รับการยินยอมจากผู้ทดลองแล้ว จากเลือดเลือดบริเวณข้อมือ เก็บเลือดในหลอดสูญญากาศขนาด 10 มล. ทับรูจุสารเยปพาริน (heparin) เพื่อบังกันการแข็งตัวของเลือด และทำการแช่ในกระติกน้ำแข็งตลอดการเดินทางจนถึงห้องปฏิบัติการ ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์ เม็ดเลือดขาวจากเลือดปริมาณน้อย การย้อมสีโคโรโนซิมแคนสีเบนจี (Giemsa's stains; G-bands) ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการในมนุษย์ [13] ดังนี้

2.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์

นำเลือดลิงเส่นและมนุษย์จำนวน 5 หยด หยดลงในขวดเลี้ยงที่มีอาหาร RPMI 1640 บริมาตร 10 มล. ปิดฝาขวดหลวมๆ นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และทำการเขย่าเลือดทุกเช้าเย็น ในช่วงโมงที่ 72 ทำการหยดสารละลายโคลชิซิน (colchicine) และนำไปบ่มในตู้บ่มต่ออีก 30 นาที

2.2 การเก็บเกี่ยวเซลล์

นำอาหาร RPMI 1640 ที่มีเลือดลิ้งเสนและมนุษย์อยู่มาปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนไส้ด้านบนทั้ง ทำให้เซลล์พองตัวเพื่อที่โครโนไซมจะมีการกระจาดตัวดี โดยหยด 0.075 M KCl จำนวน 10 มล. ลงในตะกอนเซลล์ บ่มต่อไปอีก 30 นาที แยกเอา KCl ออก โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนไส้ด้านบนทั้ง ทำการตึงเซลล์ (fix) โดยการเติม fixative ที่มีอัตราส่วนของ methanol : glacial acetic acid เป็น 3 : 1 [13] ต้องนำไปแช่เย็นและเตรียมใหม่ก่อนใช้ทุกครั้ง จนได้ปริมาตรประมาณ 8 มล. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วน fixative ด้านบนทั้ง เติม fixative ช้าอีก จนได้สารละลายที่ใสและมีตะกอนเซลล์ที่กันหลอด ดูดสารละลายด้านบนทั้งจนเกือบหมด และเติม fixative ลงไปอีก 1 มล. ใช้ micropipette ดูดสารละลายตะกอนเซลล์เม็ดเลือดขาวลงบนสไลด์

2.3 การย้อมโครโนไซมแบบสีเบนจี

นำสไลด์ที่ต้องการย้อมแบบสีเบนจีมาทำให้แห้ง โดยอบสไลด์ที่ความร้อน 70 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสไลด์มาแช่ในสารละลาย working trypsin 0.025% [13] ที่อุ่นใน water bath อุณหภูมิ 37 °C ในระยะเวลา 45 ถึง 60 วินาที หยุดการทำงานของ trypsin โดยล้างสไลด์ใน 10% fetal calf serum (FCS) ทำการล้าง FCS ด้วย methanol 50% จนทั่วสไลด์ ย้อมสีเจมส์ (Giemsa's) 10% ประมาณ 20-30 นาที ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวและการย้อมสีโครโนไซมแบบสีจี พบร่วมเสนมีจำนวนโครโนไซม 2n (diploid) เท่ากับ 42 แท่ง ประกอบด้วยโครโนไซมร่างกาย (autosome) 40 แท่ง (20 คู่) และโครโนไซมเพศ (sex-chromosome) 2 แท่ง (1 คู่) ได้แก่ โครโนไซมเอกซ์ (X-chromosome) และโครโนไซมaway (Y-chromosome) (ภาพที่ 1 และ 2) มีจำนวนโครโนไซมพื้นฐาน (fundamental number; NF) เท่ากับ 84 ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย โดยลิงจากสวนสัตว์สงขลาและสวนสัตว์นครราชสีมาให้ผลการศึกษาที่เหมือนกัน เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมนุษย์ พบร่วมมนุษย์มีจำนวนโครโนไซม 2n เท่ากับ 46 แท่ง ประกอบด้วยโครโนไซมร่างกาย 44 แท่ง (22 คู่) และโครโนไซมเพศ 1 คู่ (2 แท่ง) ได้แก่ โครโนไซมเอกซ์และโครโนไซมaway (ภาพที่ 3 และ 4) และมนุษย์ มีจำนวนโครโนไซมพื้นฐานเท่ากับ 92 ทั้งในเพศชายและหญิง [14-17] จะเห็นได้ว่ามนุษย์มีจำนวนโครโนไซมและโครโนไซมพื้นฐานที่มากกว่าร่วมเสน

ร่วมเสนมีโครโนไซมร่างกายเพียง 2 ชนิด คือ ชนิดเมทาเซนทริก (metacentric) และชับเมทาเซนทริก (submetacentric) ไม่พบโครโนไซมชนิดอะโครเซนทริก (acrocentric) และเทโลเซนทริก (telocentric) ในโครโนไซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกและชับเมทาเซนทริก พบร่วมประกอบด้วยโครโนไซมทุกขนาด โดยมีโครโนไซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 6-4-8 แท่ง ตามลำดับ และชนิดชับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 8-12-2 แท่ง ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมนุษย์ พบร่วมมนุษย์มีโครโนไซมร่างกาย ชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 6-6-4 แท่ง ตามลำดับ และชนิดชับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 4-8-6 แท่ง ตามลำดับ นอกจากนี้ในมนุษย์ยังพบโครโนไซมร่างกายชนิดอะโครเซนทริกขนาดกลาง

และเล็ก เท่ากับ 6-4 แห่ง ตามลำดับ [14-15] จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าลิงเลนโครโน่โชมที่มีการอนุรักษ์ (conservative) สูงมากกว่าของมนุษย์ เนื่องจากไม่พบโครโน่โชมชนิดօโครเซนทริก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Jones และคณะ [6] ที่รายงานว่าโครโน่โชมของลิงเออป และลิงสกุล *Macaca* ที่เป็นสกุลเดียวกันกับลิงเลน เซ่น ลิงอกไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโน่โชมภายหลังจากที่แยกตัวออกจากบรรพนuruรุ่วรวมที่มีจำนวนโครโน่โชม 2n เท่ากับ 44 แห่ง

โครโน่โชมเพศของลิงเลน มีโครโน่โชมเอ็กซ์เป็นชนิดชั้นเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโน่โชมชายเป็นชนิดชั้นเมทาเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมนุษย์ พบว่ามนุษย์มีโครโน่โชมเอ็กซ์ชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง และมีโครโน่โชมชายชนิดօโครเซนทริกมากที่สุด [14-17] นอกจากนี้ Rooney [15] ยังรายงานว่าโครโน่โชมชายในมนุษย์มีความผันแปรของขนาดแขนงข้างขวา จากการย้อมແณสีแบบจี พบร่วมีขนาดของແณสีไม่เท่ากัน แสดงให้เห็นว่ามีขนาดของเขตเทอโรโครมาทิน (heterochromatin) ที่แตกต่างกัน

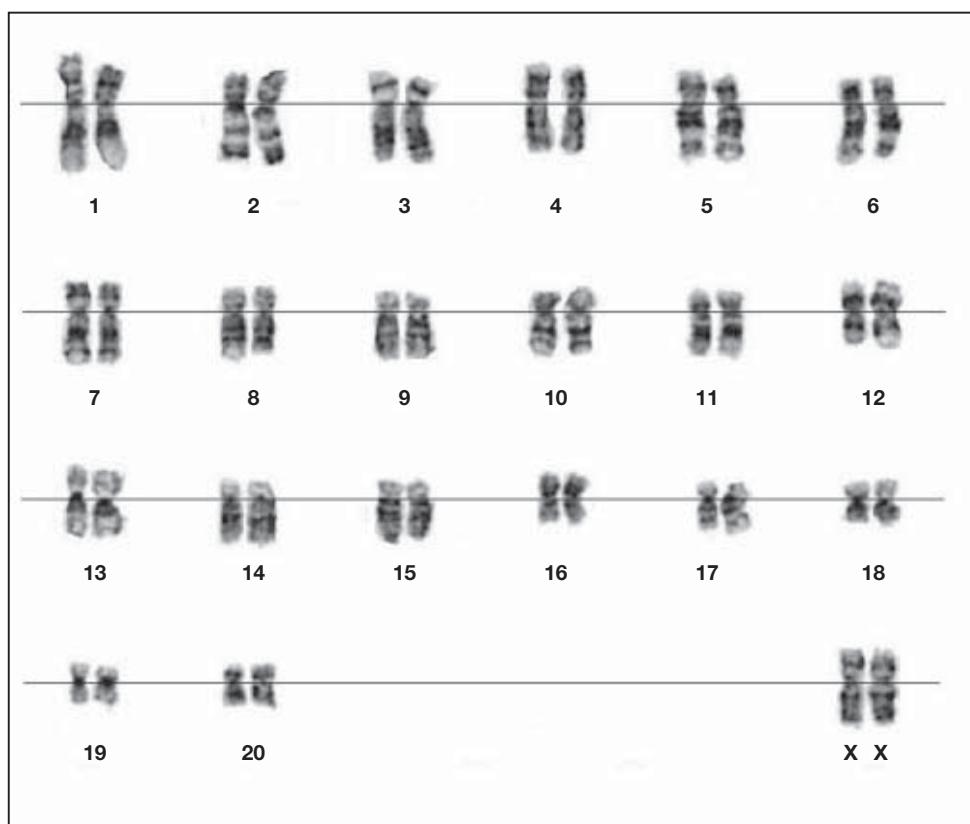
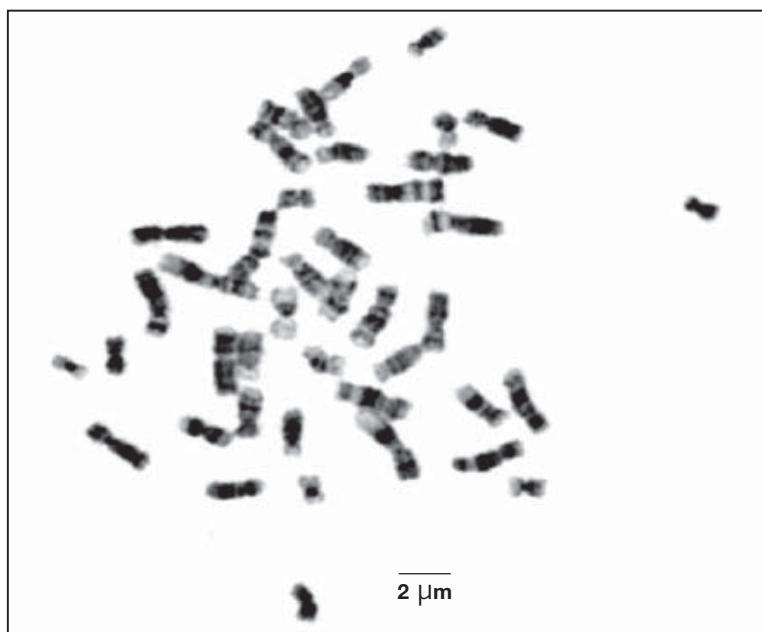
โครโน่โชมเครื่องหมาย (chromosome marker) ได้แก่ โครโน่โชมที่มีลักษณะเฉพาะสามารถตรวจพบได้ในสกุลและชนิดของลิงมีชีวิตนั้นๆ โครโน่โชมเครื่องหมายที่ตรวจพบได้ในลิงเลน ได้แก่ โครโน่โชมคู่ที่ 13 จัดเป็น satellite chromosome คือ โครโน่โชมที่มีรอยคอดที่สอง (secondary constriction) และมีบริเวณของ nucleolar organizer region (NOR) อยู่บนแขนงข้างลั้นของโครโน่โชมคู่ที่ 13 สำหรับโครโน่โชมคู่ที่ใหญ่ที่สุดของลิงเลน คือ โครโน่โชมร่างกายคู่ที่ 1 ชนิดเมทาเซนทริก และโครโน่โชมชายชนิดชั้นเมทาเซนทริกเป็นโครโน่โชมที่มีขนาดเล็กที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมนุษย์พบว่ามนุษย์มีโครโน่โชมเครื่องหมาย ได้แก่ โครโน่โชมคู่ที่ 13, 14, 15, 21 และ 22 จัดเป็น satellite chromosome โครโน่โชมคู่ที่ใหญ่ที่สุดของมนุษย์ คือ โครโน่โชมร่างกายคู่ที่ 1 ชนิดเมทาเซนทริก และโครโน่โชมชายชนิดօโครเซนทริกเป็นโครโน่โชมที่มีขนาดเล็กมากที่สุด [14] [15] [18]

จากการย้อมແณสีแบบจีในโครโน่โชมระยะเมทาเฟลของลิงเลน พบร่วมีจำนวนແณสีบนโครโน่โชม 272 ແນ (ภาพที่ 5) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับโครโน่โชมของมนุษย์ในรายงานของ Rooney [15] ที่รายงานโครโน่โชมมาตรฐานของมนุษย์ พบร่วมโครโน่โชมของลิงเลนมีการติดແณสีจีเหมือนกับของมนุษย์ 5 คู่ ได้แก่ โครโน่โชมคู่ที่ 5, 12, 13, 19 และโครโน่โชมเอ็กซ์ (ภาพที่ 6A) แขนงลั้นโครโน่โชมคู่ที่ 13 ของลิงเลนจะมีความคล้ายกับโครโน่โชมคู่ที่ 22 ของมนุษย์ และแขนงข้างขวาจะเหมือนกับโครโน่โชมคู่ที่ 15 ของมนุษย์ (ภาพที่ 6A) อาจจะลั้นนิชฐานได้ว่าในลายการวิวัฒนาการของมนุษย์และลิงเลน จะเกิดการหัก (fission) หรือการเชื่อมต่อของโครโน่โชม (fusion) ซึ่งจะมีผลทำให้โครโน่โชมคู่ที่ 13 ในลิงเลน มีความเหมือนกับโครโน่โชมคู่ที่ 15 และ 22 ในมนุษย์ สำหรับโครโน่โชมของลิงเลนที่มีการติดແณสีจีคล้ายคลึงกับของมนุษย์ คือ มีແณสีส่วนมากที่เหมือนกัน แต่มีความผันแปรในบางແณสีที่เกิดขึ้น ส่งผลให้เกิดความแตกต่างกันมีอยู่ 11 คู่ ได้แก่ โครโน่โชมคู่ที่ 1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 17 และ 20 (ภาพที่ 6B)

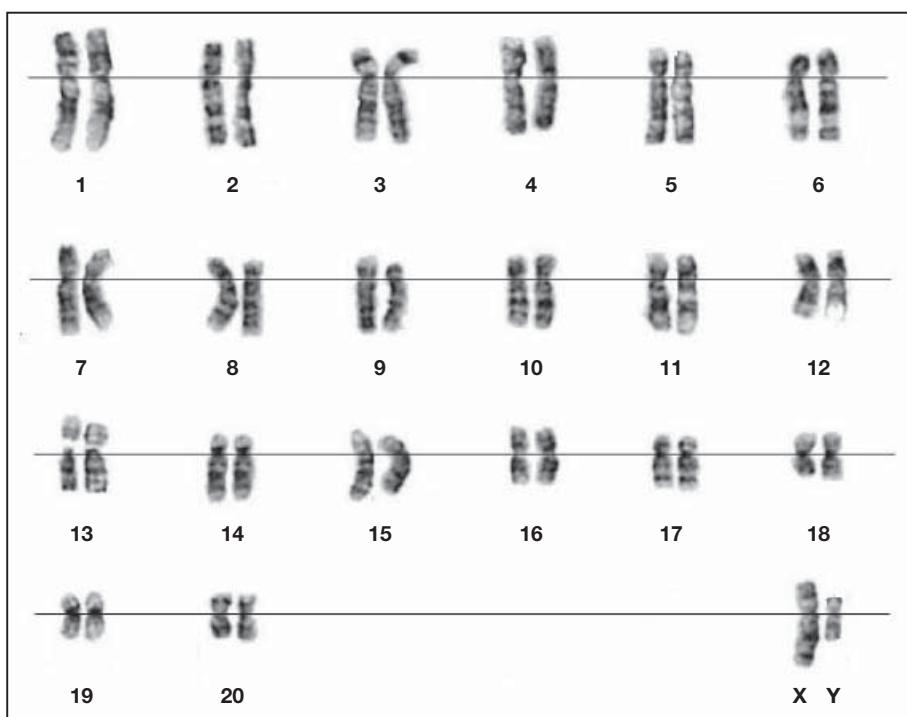
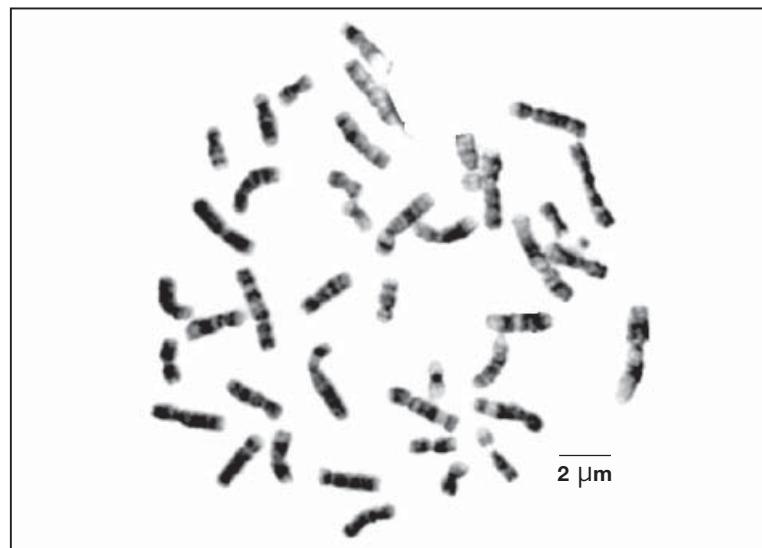
จากการเปรียบเทียบແณสีโครโน่โชมแบบจีระหว่างลิงเลนและมนุษย์ พบร่วมโครโน่โชมคู่ที่ 1 ของลิงเลนจะมีส่วนที่ลับท้าวทัยกับโครโน่โชมนุษย์ ลั้นนิชฐานว่าเกิดจากผลของ pericentric inversion ของโครโน่โชมคู่ที่ 1 ของลิงเลนกลยมาเป็นคู่ที่ 1 ของโครโน่โชมนุษย์ (ภาพที่ 7) ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Brown และคณะ [11] ที่พบรากของโครโน่โชมแล้วต่อสัมบูรณ์ paracentric inversion จากการย้อมโครโน่โชมແณสีแบบอาร์ (R-bands) ในโครโน่โชมคู่ที่ 5 ของลิงอกและลิงสม

จากการศึกษาดังนั้นว่ามีการลับคู่กันของโครโนซอม โดยโครโนโซมคู่ที่ 4 ของมนุษย์เหมือนกับคู่ที่ 5 ของลิงesen คู่ที่ 5 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 6 ของลิงesen คู่ที่ 6 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 7 ของลิงesen คู่ที่ 7 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 8 ของลิงesen คู่ที่ 8 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 9 ของลิงesen และโครโนโซมคู่ที่ 13 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 14 ของลิงesen (ภาพที่ 6A และ 6B) สำหรับโครโนโซมลิงesenที่มีແນสีไม่เหมือนกับของมนุษย์มี 6 คู่ ได้แก่ โครโนโซมคู่ที่ 2, 4, 15, 16, 18 และโครโนโซมวาย (ภาพที่ 6C)

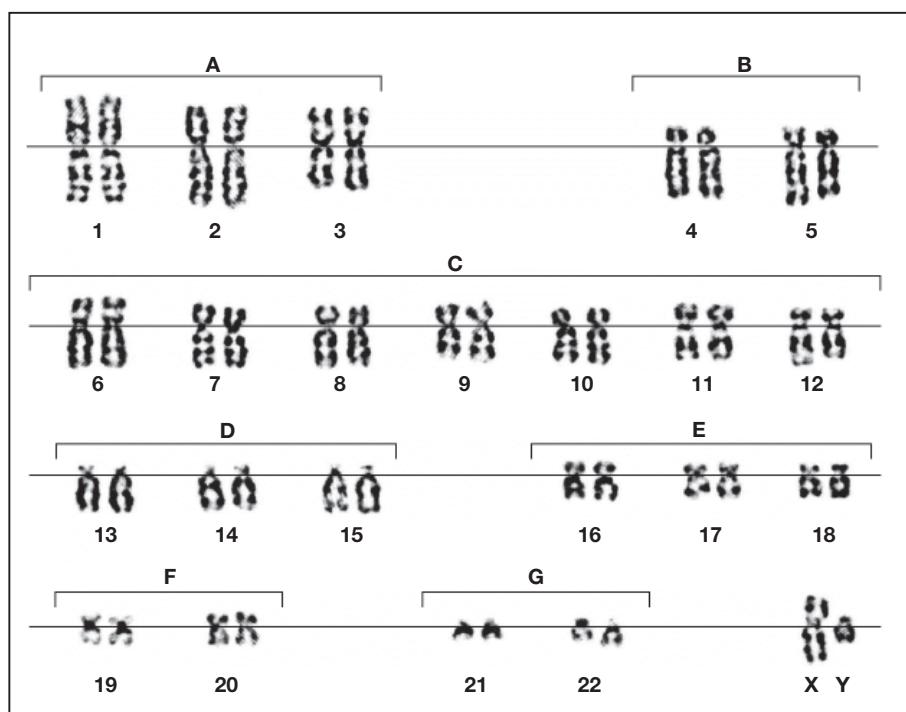
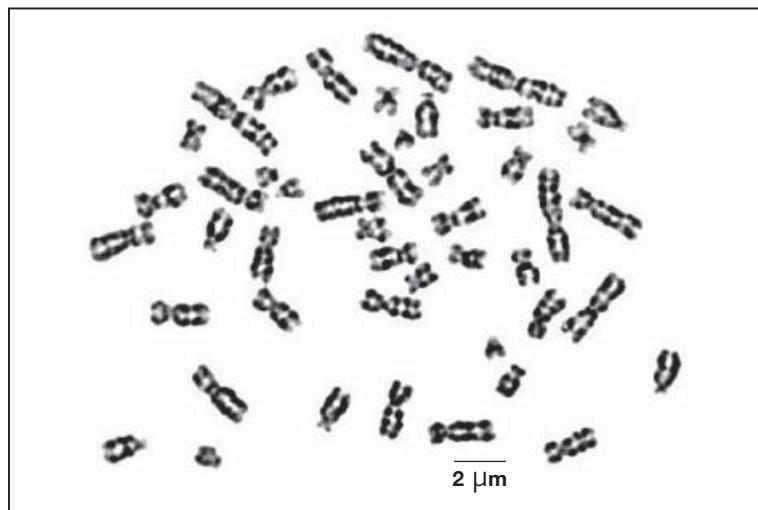
จากการศึกษาของ Jones และคณะ [6] พบรูปแบบແນสีในโครโนโซมมนุษย์จะมีความเหมือนกันกับของลิงในสกุล *Macaca* และลิงบานูน (2n เท่ากับ 42) มากกว่าในชนิดนี้ (2n เท่ากับ 44) ซึ่งจะชัดเจนกับการเปรียบเทียบทางด้านโครงสร้างของร่างกายและทางด้านดีเอ็นเอ [5] ที่พบว่ามนุษย์มีความเหมือนกับชนิดนี้มากกว่าลิงในสกุล *Macaca* นอกจากนี้ยังพบว่าโครงสร้างทางสังคมและนิเวศวิทยาบางครั้งมีความลับพันธุ์กันอย่างใกล้ชิดกับอัตราการวิวัฒนาการของโครโนโซมในกลุ่มสัตว์จำพวกลิง ดังนั้นข้อมูลการวิวัฒนาการของโครโนโซมจึงค่อนข้างยกในการวัดความแตกต่าง และความใกล้ชิดของสัตว์จำพวกลิงกลุ่มต่างๆ อย่างแน่นอน จึงต้องมีข้อมูลอื่นๆ มาช่วยประกอบด้วย การศึกษาในครั้งนี้พอที่จะสรุปได้ในเบื้องต้นว่าโครโนโซมลิงesenมีความใกล้เคียงกันกับของมนุษย์



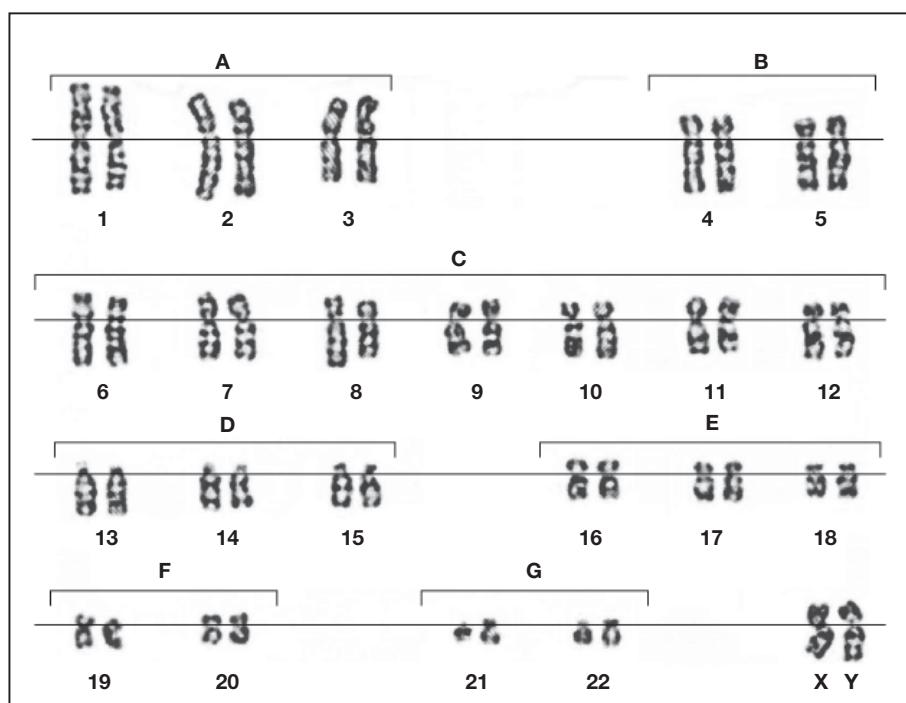
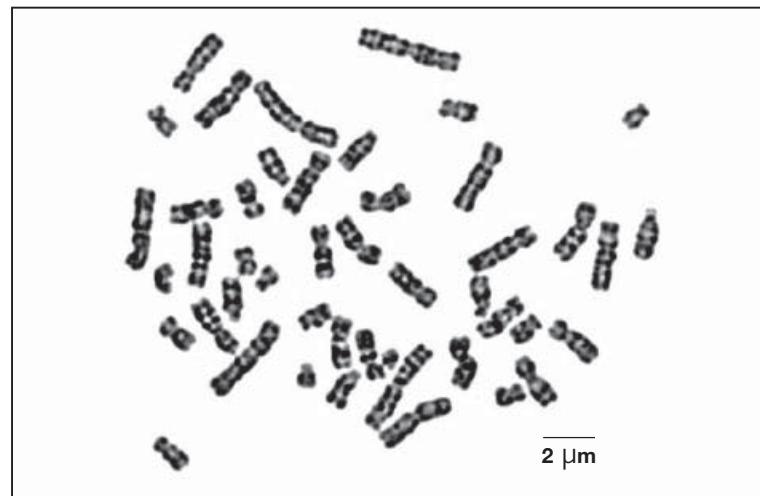
รูปที่ 1 เมทาเฟลโครโนซมและคาร์บอไทบีของลิงเสน (*Macaca arctoides*) เพศเมีย $2n$ (diploid)
เท่ากับ 42 ด้วยวิธีการย้อมແຕบสีแบบเจ



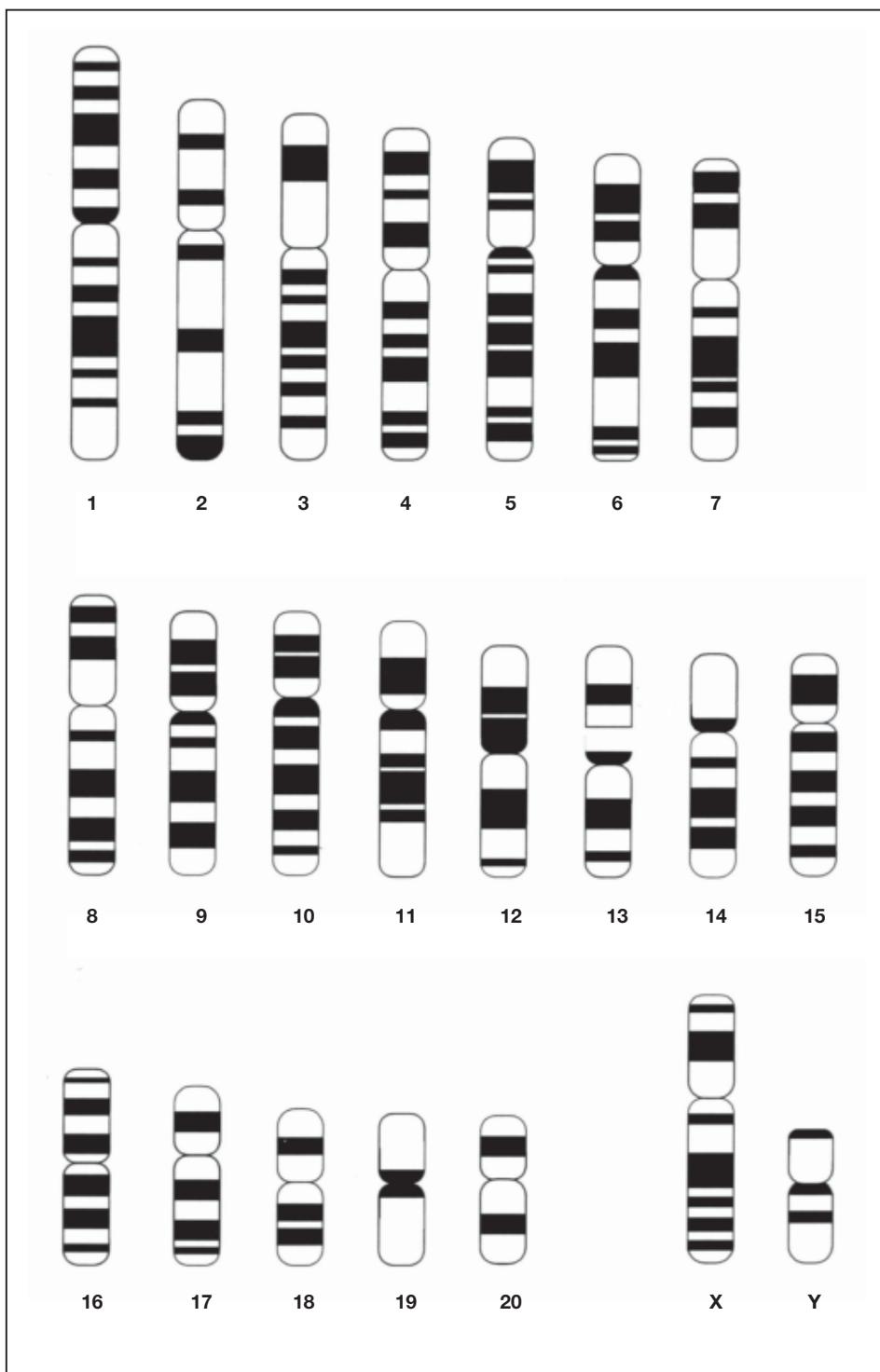
รูปที่ 2 เมทาเฟสโครโนໂซมและคาริโอไทบ์ของลิงเสน (*Macaca arctoides*) เพศผู้ $2n$ (diploid) เท่ากับ 42 ด้วยวิธีการย้อมແคนສีแบบเจ



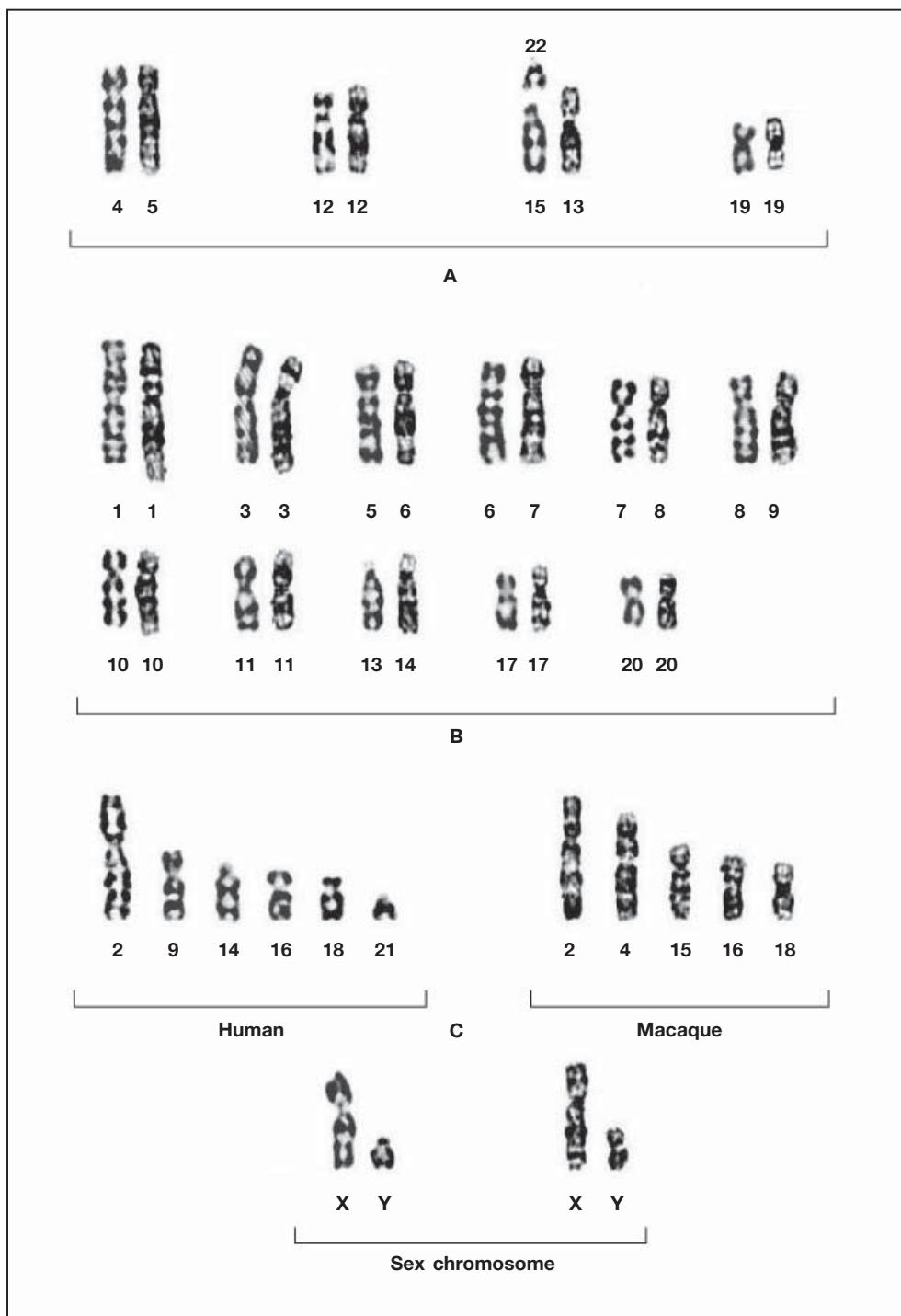
รูปที่ 3 เมทาเฟลโครโนซมและคาร์บอไทบ์ของมนุษย์ (*Homo sapiens*) เพศชาย $2n$ (diploid)
เท่ากับ 46 ด้วยวิธีการย้อมແຄบสีแบบเจ



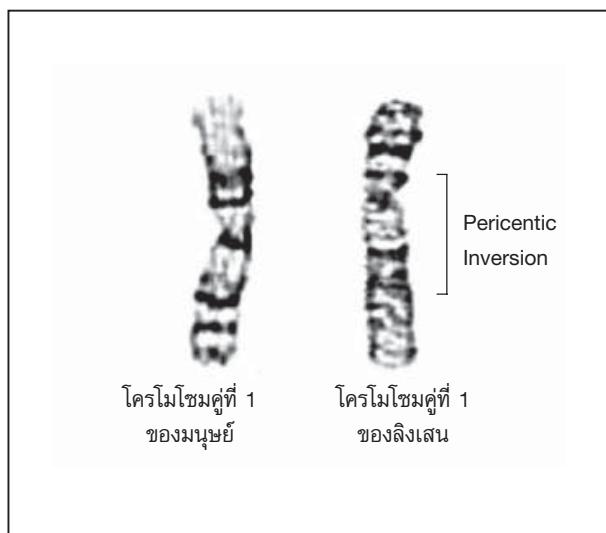
รูปที่ 4 เมทาเฟล์โครโมโซมและคาริโอไทป์ของมนุษย์ (*Homo sapiens*) เพศหญิง $2n$ (diploid) เท่ากับ 46 ด้วยวิธีการย้อมແณບลีแบบเจ



รูปที่ 5 อิดิโอแกรมของลิงเล่น (*Macaca arctoides*) $2n$ (diploid) เท่ากับ 42 จากโครโมโซมระยะเมทาเฟลส์ที่ใช้วิธีการย้อมແคนลีแบบเจี้ แท่งที่ 13 เป็น satellite chromosome



รูปที่ 6 การเปรียบเทียบคู่ของโครโมโซมระหว่างมนุษย์ (ด้านซ้าย) และลิงเล่น (ด้านขวา)
ลิงเล่นมีโครโมโซมที่เหมือนกับของมนุษย์ 5 คู่ (A และโครโมโซมเอ็กซ์) ที่คล้ายคลึง
กันกับของมนุษย์ 11 คู่ (B) และที่แตกต่างกันกับของมนุษย์ 6 คู่ (C และโครโมโซมชาย)



รูปที่ 7 การเปรียบเทียบ G-bands ของโครโนไซม์คู่ที่ 1 ของลิงเสนและมนุษย์มีการเปลี่ยนแปลงชนิด pericentric inversion กับโครโนไซม์ลิง ทำให้กลาญมาเป็นโครโนไซม์ของมนุษย์

4. สรุปผลการวิจัย

จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว และการย้อมสีโครโนไซมแบบแอบลีจี พบว่าลิงเสนมีจำนวนโครโนไซม 2n เท่ากับ 42 แต่ โครโนไซมร่างกายประกอบด้วยโครโนไซมชนิดเมทาเซนทริก 18 แท่ง และชนิดชับเมทาเซนทริก 22 แท่ง บนแขนข้างลั้นของโครโนไซมคู่ที่ 13 จัดเป็น satellite chromosome โครโนไซมเอกซ์เป็นชนิดชับเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโนไซมวายเป็นชนิดชับเมทาเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด โครโนไซมติดແບลีจีเหมือนกับโครโนไซมของมนุษย์ 5 คู่ ได้แก่ คู่ที่ 5, 12, 13, 19 และโครโนไซมเอกซ์ แขนข้างลั้นโครโนไซมคู่ที่ 13 ของลิงเสนจะมีความคล้ายกับโครโนไซมคู่ที่ 22 ของมนุษย์ และแขนข้างยาวจะเหมือนกับโครโนไซมคู่ที่ 15 ของมนุษย์ มีโครโนไซมที่มีการติดແບลีจีคล้ายคลึงกับของมนุษย์ 11 คู่ ได้แก่ โครโนไซมคู่ที่ 1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 17 และ 20 พบว่าโครโนไซมคู่ที่ 1 ของลิงเสนมีແບลีจีแสดงส่วนที่สลับหัวท้ายกับโครโนไซมมนุษย์ชนิดที่เรียกว่า pericentric inversion โครโนไซมที่มีการติดແບลีจีไม่เหมือนกับของมนุษย์ 6 คู่ ได้แก่ โครโนไซมคู่ที่ 2, 4, 15, 16, 18 และ โครโนไซมวาย

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณองค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ได้สนับสนุนเงินทุนวิจัยสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณท่านผู้อำนวยการองค์การสวนสัตว์ นายโสภณ ดำเนุย ผู้อำนวยการสวนสัตว์สงขลา และผู้อำนวยการสวนสัตว์นครราชสีมา ที่ได้อนุญาตให้ทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดลิงเสน และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพนักงานสวนสัตว์ทุกท่าน ที่ช่วยให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

1. Wilson, D. E. and Cole, F. R., 2000, *Common Names of Mammals of the World*, Smithsonian Institution Press, Washington, pp. 56-70.
2. วรเรน บรรคุณเดชเม่น, 2542, สัตว์จำพวกลิงในประเทศไทย, โรงพิมพ์ครุสภากาดพร้าว, กรุงเทพฯ, หน้า 1-40.
3. Lekagul, B., and McNeely, J. A., 1977, *Mammals of Thailand*, 1st ed, Kurusapha Ladprao Press, Bangkok, Thailand, pp. 285-287.
4. Lekagul, B. and McNeely, J. A., 1988, *Mammals of Thailand*, 2nd ed, Saha Karn Bhaet, Bangkok, Thailand, pp. 285-287.
5. Groves, P.C., 1989, *A Theory of Human and Primate Evolution*, Oxford University Press, Oxford, pp. 241-250.
6. Jones, S., Martin, R., Pilbeam, D., 1994, *The Cambridge Encyclopedia of Human Evolution*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 129-122.
7. Roos, C. and Geissmann, T., 2001, "Molecular phylogeny of the major hylobatid divisions," *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Vol. 19, pp. 486-494.
8. Chiarelli, B., 1962, "Comparative and morphometric analysis of primate chromosomes: The chromosomes of genera *Macaca*, *Papio*, *Theropithecus* and *Cercopithecus*," *Caryologia*, Vol. 15, pp. 401-420.
9. Napier, J. R. and Napier, P. H., 1976, *A Handbook of Living Primates*, John Wiley and Sons, New York, pp. 59-62.
10. Small, M. F. and Stanyon, R., 1985, "High-resolution chromosome of rhesus macaques (*Macaca mulatta*)," *American Journal of Primatology*, Vol. 9, pp. 63-67.
11. Brown, C. J., Dunbar, V. G., and Shafer, D. A., 1986, "A comparison of the Karyotypes of Six Species of the Genus *Macaca* and a Species of the Genus *Cercopithecus*," *Folia Primatologica*, Vol. 46 No. 3, pp. 164-172.
12. Hirai, S., Terao, K., Cho, F., and Honjo, S., 1991, "Chromosome studies on cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*)," *Primate Today*, Vol. 24, pp. 619-622.

13. อมรา คัมภิรานนท์, 2540, พันธุศาสตร์ของเซลล์, ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, หน้า 300-320.
14. Rooney, D. E. and Czepulkowski, B. H., 1986, *Human Cytogenetics*, IRL Press, Oxford, pp. 245-250.
15. Rooney, D. E., 2001, *Human Cytogenetics: Constitutional Analysis*, Oxford University Press, Oxford, pp. 278-280.
16. Miller, D. A., 1977, "Evolution of Primate Chromosomes," *Science*, Vol. 198, pp. 1116-1124.
17. Mitelman, F., 1995, *An International System for Human Cytogenetic Nomenclature*, Karger, Basel, pp. 45-50.
18. Cumming, M. R., 1988, *Human Heredity*, West Publishing Company, United States of America, St. Paul, pp. 26-28.