

การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของโครโมโซมของลิงไต้หวัน
(*Macaca assamensis*) และมนุษย์ (*Homo sapiens*) ด้วยวิธี
การย้อมแถบสีแบบจี

อลงกลด แทนออมทอง¹ สัมภาษณ์ คุณสุข² วิวรรณ แก่นสา³
และ เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์⁴

Abstract

Tanomtong, A.¹, Khunsook, S.¹, Kaensa, W.¹ and Bunjongrat, R.²

A comparative of G-banded chromosome of Assam Macaque (*Macaca assamensis*)
and relationship to human (*Homo sapiens*)

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2006, 28(3) : 539-549

This research was the first to report a comparative analysis of G-banded chromosome of Assam macaque, *Macaca assamensis* (Primate, Cercopithecidae) and relationship to human, *Homo sapiens* (Primate, Hominidae). Blood samples were taken from two males and two females held captive in Nakhonratchasima Zoo and Songkla Zoo. After the standard whole blood lymphocyte culture at 37°C for 72 hr in presence of colchicine, metaphase spreads were performed on microscopic slides and air-dried. G-banding technique

¹Genetics Program, Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Muang, Khon Kaen, 40002 Thailand. ²Genetics Program, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phrayathai, Bangkok, 10330 Thailand.

¹วท.ม.(พันธุศาสตร์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ²Ph.D.(Molecular genetics) ³นักศึกษาระดับปริญญาโท สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002 ⁴วท.ม.(พันธุศาสตร์) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พญาไท กรุงเทพฯ 10330

Corresponding e-mail: tanomtong@hotmail.com

รับต้นฉบับ 5 กันยายน 2547

รับลงพิมพ์ 7 พฤศจิกายน 2548

was applied to stain the chromosomes. The results showed that the number of diploid chromosomes of Assam macaque was $2n = 42$. 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 submetacentric and Y chromosome was the smallest telocentric chromosome. We found that chromosome 5, 12, 13, 19 and X had 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-banding techniques. In addition, the long arm of chromosome 13 is similar to the chromosome 15 of human. These results indicate that the chromosome 13 of the Assam 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. This study suggest that the chromosome 1 is a pericentric inversion of human chromosome 1. Chromosomes 2, 4, 15, 16, 18 and Y are different from those of human chromosomes. These results show the evolutionary relationship between the Assam macaque and human.

Key words : Chromosome, karyotype, G-banding, Assam macaque (*Macaca assamensis*), human (*Homo sapiens*)

บทคัดย่อ

อลงกลด แทนอมตอง สัมภาษณ์ คุณสุข วิวรรณ แก่นสา และ เรืองวิทย์ บรรจงรัตน์ การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของโครโมโซมของลิงไอ้เงี้ยว (*Macaca assamensis*) และมนุษย์ (*Homo sapiens*) ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบจี
ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2549 28(3) : 539-549

เป็นรายงานครั้งแรกของการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของโครโมโซมของลิงไอ้เงี้ยวและมนุษย์ ด้วยเทคนิคการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบจี ใช้ตัวอย่างเลือดสัตว์เพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัวจากสวนสัตว์นครราชสีมาและสวนสัตว์สงขลา เตรียมโครโมโซมด้วยการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 72 ชม. ทำการย้อมแถบสีโครโมโซมแบบจี ผลการศึกษาพบว่า ลิงไอ้เงี้ยวมีจำนวนโครโมโซม $2n$ (diploid) เท่ากับ 42 แท่ง โครโมโซมร่างกายประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริกเท่ากับ 18 แท่ง ชนิดซับเมทาเซนทริกเท่ากับ 22 แท่ง บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 13 จัดเป็น satellite chromosome โครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซับเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็ก โครโมโซมของลิงไอ้เงี้ยวติดแถบสีจีเหมือนกับโครโมโซมของมนุษย์ 5 คู่ ได้แก่ คู่ที่ 5, 12, 13, 19 และโครโมโซมเอ็กซ์ โครโมโซมคู่ที่ 13 แขนข้างสั้นจะมีความคล้ายกับโครโมโซมคู่ที่ 22 ของมนุษย์ และแขนข้างยาวจะเหมือนกับโครโมโซมคู่ที่ 15 ของมนุษย์ สันนิษฐานว่าโครโมโซมคู่ที่ 15 และ 22 ของมนุษย์ เกิดจากการหักของโครโมโซมคู่ที่ 13 ของลิงไอ้เงี้ยว มีโครโมโซมที่มีการติดแถบสีคล้ายคลึงกับของมนุษย์ 11 คู่ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 17 และ 20 และพบว่าโครโมโซมคู่ที่ 1 ของลิงไอ้เงี้ยวมีการสลับหัวท้ายกับของมนุษย์ สันนิษฐานว่าเกิดจากการต่อสลับกันของโครโมโซมโดยมีส่วนของเซนโทรเมียร์ร่วมด้วย ส่วนโครโมโซมที่มีแถบสีไม่เหมือนกันกับของมนุษย์มี 6 คู่ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 2, 4, 15, 16, 18 และโครโมโซมวาย ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าลิงไอ้เงี้ยวมีสายวิวัฒนาการร่วมกันกับมนุษย์

สัตว์ในอันดับ (order) ไพรเมท (primate) มีทั้งหมด 13 วงศ์ (families) 60 สกุล (genera) และ 232 ชนิด (species) (Wilson and Cole, 2000) ในประเทศไทยพบ สัตว์ในอันดับไพรเมท 3 วงศ์ 5 สกุล และ 13 ชนิด เป็นลิงที่อยู่ในสกุล *Macaca* 5 ชนิด ได้แก่ ลิงเสน (stump-

tailed macaque, *Macaca arctoides* Geoffroy, 1831) ลิงไอ้เงี้ยวหรือวอกภูเขา (Assam macaque, *Macaca assamensis* McClelland, 1839) ลิงแสม (long-tailed macaque, *Macaca fascicularis* Raffles, 1821) ลิงวอกธรรมดา (rhesus monkey, *Macaca mulatta* Zimmer-

mann, 1780) และลิงกัง (pig-tailed macaque, *Macaca nemestrina* Linnaeus, 1766) (วารเรน, 2524; Lekagul and McNeely, 1977, 1988) และเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าพวกลิง (monkey and macaques) ชะนี (gibbons) และเอพ (apes) มีวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษร่วมกับมนุษย์ (common ancestor) (Groves, 1989; Jones *et al.*, 1994; Roos and Geismann, 2001)

ลิงไ้เงี้ยะสามารถที่จะจัดอนุกรมวิธานได้ดังต่อไปนี้ อยู่ในอาณาจักร (kingdom) สัตว์ ไฟลัม (phylum) สัตว์ มีกระดูกสันหลัง (chordata) ชั้น (class) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (mammal) อันดับสัตว์จำพวกลิง (primate) วงศ์ Cercopithecidae วงศ์ย่อย Cercopithecinae สกุล *Macaca* และชนิด *Macaca assamesis* ลักษณะที่สำคัญของลิงไ้เงี้ยะ ได้แก่ มีหางยาวครึ่งหนึ่งของความยาวหัว และลำตัว รูปร่างคล้ายลิงวอก แต่มีกินและหางสีน้ำตาลหรือสีเทา อาศัยอยู่ในป่าดิบเขาระดับต่ำ ความสูงประมาณ 500 เมตร จากระดับน้ำทะเล แต่ก็พบได้บ่อยบนภูเขาสูง (วารเรน, 2524; Lekagul and McNeely, 1977, 1988)

ลิงในประเทศไทยถูกจัดอยู่ในสกุล *Macaca* ทั้ง 5 ชนิด จากการตรวจสอบเอกสารงานวิจัยพบว่า มีรายงานการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของลิงสกุล *Macaca* ดัง รายงานการศึกษาของ Chiarelli (1962); Hsu และ Benirschke (1967); Napier และ Napier (1976); Caballin และคณะ (1980); Small และ Stanyon (1985); Brown และคณะ (1986); Hirai และคณะ (1991) สำหรับการศึกษาเปรียบเทียบเพื่อหาความสัมพันธ์ของโครโมโซมของลิงไ้เงี้ยะและมนุษย์ ด้วยวิธีการย้อมแถบสีแบบจี ยังไม่มีรายงานการศึกษามาก่อนหน้านี้ จึงควรที่จะต้องมีการศึกษาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐาน และนำไปประยุกต์ใช้ในการศึกษาในขั้นสูงต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการศึกษาได้จากลิงไ้เงี้ยะเพศผู้ 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว ที่เลี้ยงอยู่ในสวนสัตว์นครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา และสวนสัตว์สงขลา จังหวัดสงขลา ทำการเจาะเก็บเลือดโดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) จากหลอดเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein)

เก็บในหลอดสูญญากาศ (vacuum tube) ขนาด 10 มล. ที่บรรจุสาร heparin เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด แล้วทำการแช่ในกระติกน้ำแข็งตลอดการเดินทางจนถึงห้องปฏิบัติการ การดำเนินการทดลองแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน คือ

1. การเตรียมเซลล์

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T-lymphocyte ที่ดัดแปลงมาจากวิธีการในมนุษย์ของ อมรา (2540) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวจากเลือดปริมาณน้อย (whole blood microculture)

1.1 การเพาะเลี้ยงเซลล์

1) เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด RPMI 1640 ที่มีสารกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (mitogen) คือ PHA (phytohemagglutinin) ความเข้มข้น 2% นำ stock อาหารแบ่งลงในขวดอาหารเลี้ยงเม็ดเลือดขาวขวดละ 5 มล.

2) นำเลือดลิงไ้เงี้ยะจำนวน 0.5 มล. หยดลงในขวดเพาะเลี้ยง เขย่าให้สารละลายและเลือดเข้ากัน ปิดฝาขวดหลวมๆ นำไปบ่มในตู้บ่ม (incubator) ที่อุณหภูมิ 37°C ที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 5% และทำการเขย่าเลือดทุกเช้าและทุกเย็น

3) เมื่อครบเวลาเก็บเกี่ยวเซลล์คือ ชั่วโมงที่ 72 ทำการหยุดสารละลาย colchicine เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มต่ออีก 30 นาที

1.2 การเก็บเกี่ยวเซลล์

1) ทำการย้ายสารละลายเลือดจากขวดเพาะเลี้ยงเลือดลงในหลอดปั่นเหวี่ยง (graduated centrifuge) ขนาด 12 มล. นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการดูดส่วนลอย (supernatant) ทิ้ง

2) ทำให้เซลล์ฟองตัวเพื่อที่โครโมโซมจะมีการกระจายตัวดี โดยทำการหยุด 0.075 M KCl ที่เป็น hypotonic solution จำนวน 10 มล. ลงในตะกอนเซลล์ ทำการผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixture แล้วบ่มต่อไปอีก 30 นาที

3) เมื่อครบกำหนดทำการแยกเอา KCl ออก โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการดูดส่วนในสีทิ้ง

4) ทำการตรึงเซลล์ (fix) โดยการเติมน้ำยาตรึงเซลล์ที่แช่เย็นและเตรียมใหม่เสมอ (fresh cold fixative) ที่มีอัตราส่วนของ methanol : glacial acetic acid เป็น 3:1 ใช้หลอดหยด หยดน้ำยาตรึงเซลล์ที่ละลายพร้อม กับผสมเซลล์ให้เข้ากับสารละลายด้วย vortex mixture เติมนจนได้ปริมาตรประมาณ 8 มล. นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1,200 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ทำการดูดส่วนน้ำยาตรึงเซลล์ด้านบนทิ้ง

5) ทำซ้ำในข้อ 4 อีก โดยค่อยๆ ลดปริมาตรน้ำยาตรึงเซลล์ที่ใช้แต่ละครั้งลง จำนวนครั้งขึ้นอยู่กับความใสของสารละลาย ทำซ้ำจนได้สารละลายที่ใสและมีตะกอนเซลล์ที่กั้นหลอด ทำการดูดสารละลายด้านบนทิ้งจนเกือบหมด แล้วทำการเติมน้ำยาตรึงเซลล์ลงไปอีก 1 มล. ทำการผสมให้เข้ากัน

6) ใช้ micropipette ดูดสารละลายตะกอนเซลล์เม็ดเลือดขาวปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนสไลด์ที่สะอาดและเย็นจัด ทำการผึ่งสไลด์ให้แห้ง (air dry technique)

2. การย้อมสีโครโมโซมแบบแถบสีจี

การย้อมสีโครโมโซมแบบแถบสีจี ดัดแปลงมาจากวิธีการในมนุษย์ของ อมรา (2540) ดังนี้

1) นำสไลด์ที่ต้องการย้อมมาทำให้แห้ง โดยใส่ในโถดูดความชื้น ที่ไว้ประมาณ 8-10 วัน หรืออบสไลด์ที่ความร้อน 70°C เป็นระยะเวลา 24 ชม.

2) ทำการเตรียม trypsin EDTA ที่ความเข้มข้น 0.025%

3) นำสไลด์ที่แห้งมาแช่ในสารละลาย working trypsin ที่อุ่นใน water bath อุณหภูมิ 37°C ในระยะเวลาที่เหมาะสม

4) หยุดการทำงานของ trypsin โดยใช้ 10% fetal calf serum (FCS) หรือ phosphate buffer ล้างสไลด์ให้ทั่ว

5) ล้าง FCS ด้วย methanol 50% จนทั่วสไลด์

6) ย้อมสีจีมีซา 10% ประมาณ 20-30 นาที ที่ไว้ให้แห้ง แล้วนำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ทำการจัดคาริโอไทป์ (Karyotype) และอิดิโอแกรม (Idiogram) ของโครโมโซมลิงไ้เจียะที่ย้อมสีแบบแถบสีจี

ตามรายงานการศึกษาของ Nash และ O'Brien (1987); Wada และคณะ (1991) ที่มีการเรียงโครโมโซมร่างกายจากขนาดใหญ่ที่สุดไปหาเล็กที่สุด และให้โครโมโซมเพศอยู่ด้านล่างขวา นำผลการศึกษายเปรียบเทียบกับของมนุษย์ ตามรายงานการศึกษาของ Rooney (2001) ที่มีรายงานการศึกษามาก่อนหน้านี้

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว และการย้อมสีโครโมโซมแบบแถบสีจี พบว่าลิงไ้เจียะมีจำนวนโครโมโซม 2n (diploid) เท่ากับ 42 แท่ง ประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย (autosome) 40 แท่ง (20 คู่) และโครโมโซมเพศ (sex-chromosome) 2 แท่ง (1 คู่) ได้แก่ โครโมโซมเอ็กซ์ (X-chromosome) และโครโมโซมวาย (Y-chromosome) (Figure 1 and 2) มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน (fundamental number; NF) เท่ากับ 83 ในเพศผู้ และ 84 ในเพศเมีย เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมนุษย์ พบว่ามนุษย์มีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 46 แท่ง ประกอบด้วยโครโมโซมร่างกาย 44 แท่ง (22 คู่) และโครโมโซมเพศ 1 คู่ (2 แท่ง) ได้แก่ โครโมโซมเอ็กซ์และโครโมโซมวาย และมนุษย์มีจำนวนโครโมโซมพื้นฐานเท่ากับ 92 (Rooney and Czepulkowski, 1986; Rooney 2001; Miller, 1977; Mitelman, 1995) จะเห็นได้ว่ามนุษย์มีจำนวนโครโมโซมและโครโมโซมพื้นฐานที่มากกว่าลิงไ้เจียะ

ลิงไ้เจียะมีโครโมโซมร่างกายเพียง 2 ชนิด คือ ชนิดเมทาเซนทริก (metacentric) และซับเมทาเซนทริก (sub-metacentric) ไม่พบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก (acrocentric) และเทโลเซนทริก (telocentric) ในโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกและซับเมทาเซนทริก พบว่าประกอบด้วยโครโมโซมทุกขนาด โดยมีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 6-4-8 แท่ง ตามลำดับ และชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 8-12-2 แท่ง ตามลำดับ (Table 1) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมนุษย์ พบว่ามนุษย์มีโครโมโซมร่างกายชนิดเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 6-6-4 แท่ง ตามลำดับ และชนิดซับเมทาเซนทริกขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก เท่ากับ 4-8-6 แท่ง ตามลำดับ

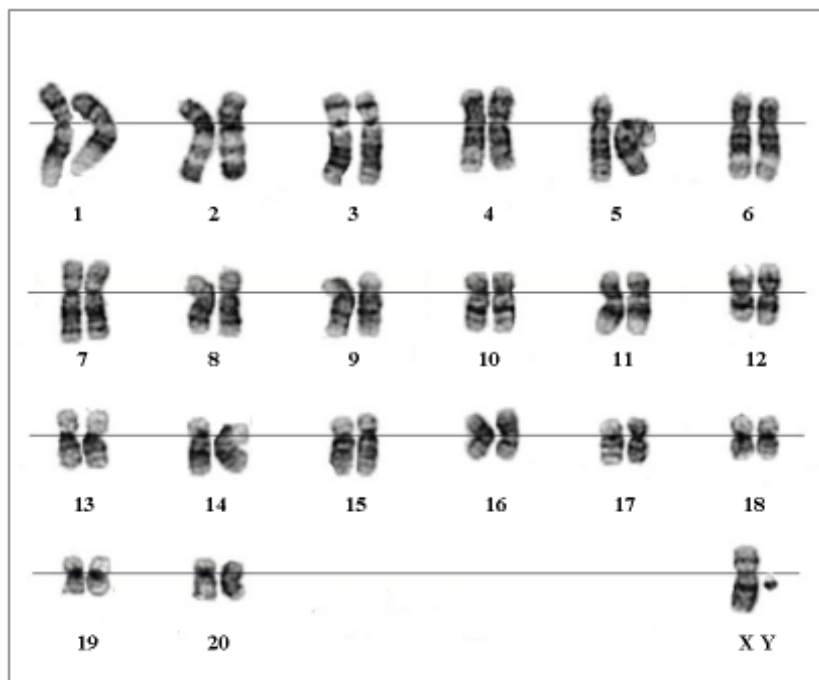
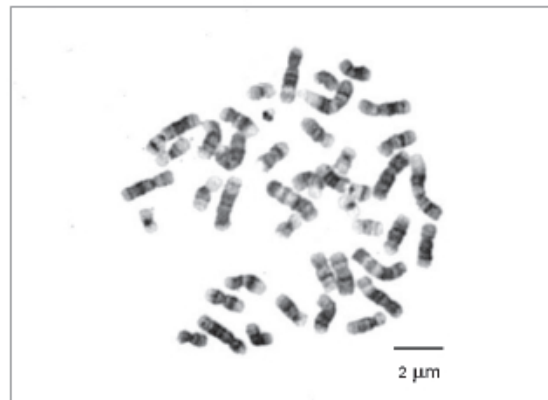


Figure 1. Metaphase chromosome and karyotype of male Assam macaque (*Macaca assamensis*) $2n$ (diploid) = 42, by G-banding technique.

นอกจากนี้ ในมนุษย์ยังพบโครโมโซมร่างกายชนิดอะโครเซนทริกขนาดกลาง และเล็ก เท่ากับ 6-4 แห่ง ตามลำดับ (Rooney and Czepulkowski, 1986; Rooney, 2001) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าลิงไ้เงี้ยะมีโครโมโซมที่มีการอนุรักษ์ (conservative) สูงมากกว่าของมนุษย์ เนื่องจากไม่พบโครโมโซมชนิดอะโครเซนทริก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Jones และคณะ (1994) ที่รายงาน

ว่าโครโมโซมของลิงเอพ และลิงสกุล *Macaca* ที่เป็นสกุลเดียวกันกับลิงไ้เงี้ยะ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซมภายหลังจากที่แยกตัวออกมาจากบรรพบุรุษร่วมที่มีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 44 แห่ง

โครโมโซมเพศของลิงไ้เงี้ยะ มีโครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซั่มเมทาเซนทริกขนาดกลาง และโครโมโซมวายเป็นชนิดเทโลเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบ

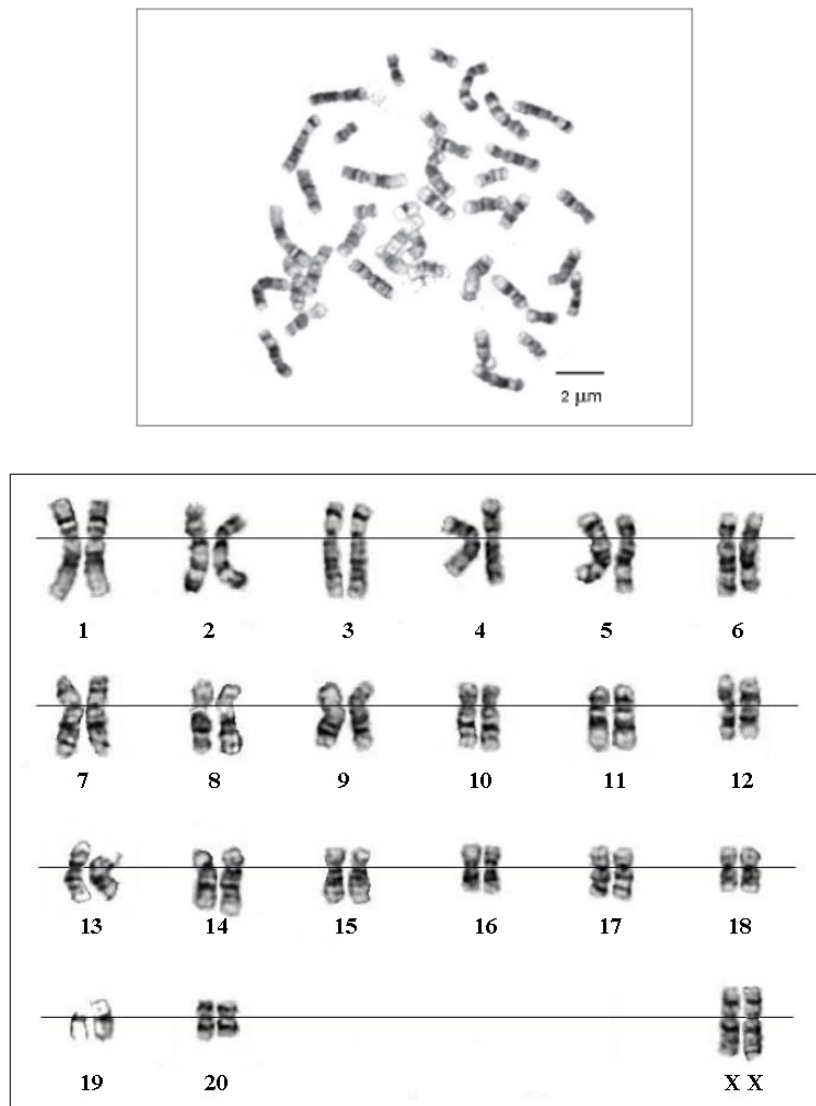


Figure 2. Metaphase chromosome and karyotype of female Assam macaque (*Macaca assamensis*) $2n$ (diploid) = 42, by G-banding technique.

เทียบกับมนุษย์ พบว่ามนุษย์มีโครโมโซมเอ็กซ์ชนิดเมทาเซนทริกขนาดกลาง และมีโครโมโซมวายชนิดอะโครเซนทริกขนาดเล็กมากที่สุด (Rooney and Czepulkowski, 1986; Rooney, 2001; Miller, 1977; Mitelman, 1995) นอกจากนี้ Rooney (2001) รายงานว่าโครโมโซมวายในมนุษย์มีความผันแปรของขนาดแขนข้างยาว จากการย้อมแถบสีแบบจี พบว่ามีขนาดของแถบสีไม่เท่ากัน แสดงให้เห็นว่ามีขนาดของเฮเทอโรโครมาทิน (heterochromatin)

ที่แตกต่างกัน

โครโมโซมเครื่องหมาย (chromosome marker) ได้แก่ โครโมโซมที่มีลักษณะเฉพาะสามารถตรวจพบได้ในสกุลและชนิดของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ โครโมโซมเครื่องหมายที่ตรวจพบได้ในลิงไ้เจียะ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 13 จัดเป็น satellite chromosome คือ โครโมโซมที่มีรอยคอดที่สอง (secondary constriction) และมีบริเวณของ nucleolar organizer region (NOR) อยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซม

Table 1. Mean of length short arm chromosome (Ls), length long arm chromosome, length total arm chromosome (LT) from metaphase chromosome 20 cells in male and female Assam macaque (*Macaca assamensis*) 2n (diploid)= 42.

Chromosome Pair	Ls	Li	LT	Size of Chromosome	Type of Chromosome
1	0.808	1.167	1.976	L	m
2	0.608	1.098	1.705	L	sm
3	0.584	1.023	1.607	L	sm
4	0.706	0.882	1.588	L	m
5	0.501	1.055	1.556	L	sm
6	0.527	0.969	1.495	L	sm
7	0.592	0.883	1.474	L	m
8	0.513	0.819	1.332	M	sm
9	0.487	0.816	1.303	M	sm
10	0.423	0.871	1.294	M	sm
11	0.414	0.815	1.229	M	sm
12	0.528	0.589	1.118	M	m
13	0.535	0.575	1.110	M	m
14	0.346	0.756	1.103	M	sm
15	0.323	0.748	1.071	M	sm
16	0.435	0.474	0.908	S	m
17	0.323	0.559	0.883	S	sm
18	0.353	0.378	0.731	S	m
19	0.343	0.358	0.702	S	m
20	0.299	0.397	0.695	S	m
X	0.519	0.786	1.305	M	sm
Y	0.000	0.224	0.224	S	t

L = large chromosome, M = medium chromosome, S = small chromosome, m = metacentric, sm = submetacentric and t = telocentric

คู่ที่ 13 สำหรับโครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุดของลิงไ้เงี้ยะ คือโครโมโซมร่างกายคู่ที่ 1 ชนิดเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นโครโมโซมที่มีขนาดเล็กที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับมนุษย์ พบว่ามนุษย์มีโครโมโซมเครื่องหมาย ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 13, 14, 15, 21 และ 22 จัดเป็น satellite chromosome โครโมโซมคู่ที่ใหญ่ที่สุดของมนุษย์ คือ โครโมโซมร่างกายคู่ที่ 1 ชนิดเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นโครโมโซมที่มีขนาดเล็กมากที่สุด (Cummings, 1988; Rooney and Czepulkowski, 1986; Rooney, 2001)

แถบสีโครโมโซมที่พบปรากฏอยู่บนแท่งโครโมโซมใน 1 ชุดโครโมโซมแฮพลอยด์ (haploid) ประกอบด้วยโครโมโซมร่างกายและโครโมโซมเพศ (โครโมโซมเอ็กซ์และ

วาย) จากการย้อมแถบสีแบบจีในโครโมโซมระยะเมทาเฟสของลิงไ้เงี้ยะ พบว่ามีแถบสีบนโครโมโซม 269 แถบ (Figure 3) เมื่อทำการเปรียบเทียบกับโครโมโซมของมนุษย์ ในรายงานของ Rooney (2001) พบว่าโครโมโซมของลิงไ้เงี้ยะมีการติดแถบสีจีเหมือนกับของมนุษย์ 5 คู่ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 5, 12, 13, 19 และโครโมโซมเอ็กซ์ (Figure 4A) ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับรายงานของ Miller (1977) ที่พบว่าโครโมโซม ร่างกายของมนุษย์เหมือนกับโครโมโซมลิงเอพ 8 คู่

ในโครโมโซมคู่ที่ 13 ของลิงไ้เงี้ยะ มีแขนข้างสั้นและแขนข้างยาวเหมือนกับโครโมโซมคู่ที่ 15 และคู่ที่ 22 ของมนุษย์ ตามลำดับ (Figure 4A) อาจจะสันนิษฐานได้ว่าในสายการวิวัฒนาการของมนุษย์และลิงไ้เงี้ยะ จะเกิด

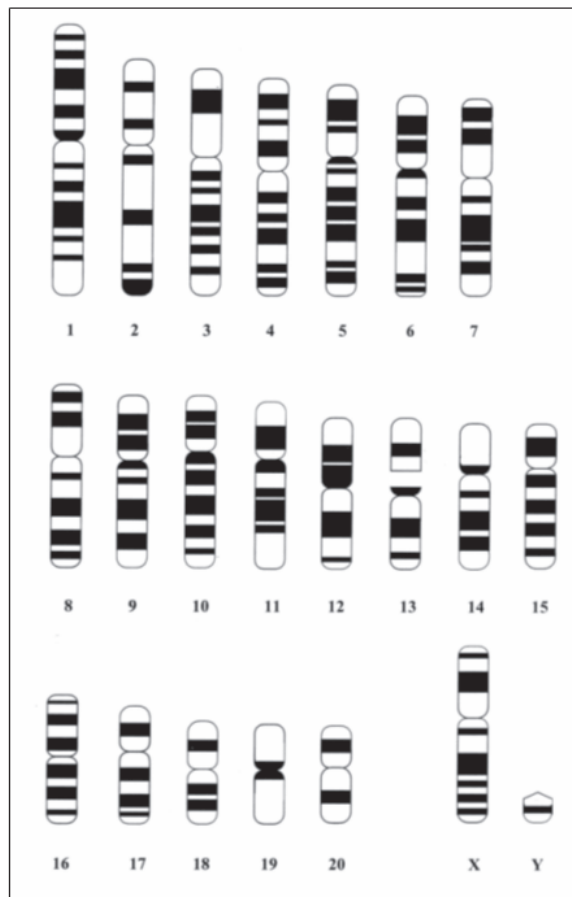


Figure 3. Idiogram of Assam macaque (*Macaca assamensis*) 2n (diploid) = 42, by G-banding technique.

การแบ่งแยกตัว (fission) หรือการรวมตัว (fusion) ของโครโมโซม ซึ่งจะมีผลทำให้โครโมโซมคู่ที่ 13 ในลิงไ้เงี้ยะมีความเหมือนกับโครโมโซมคู่ที่ 15 และ 22 ในมนุษย์ สำหรับโครโมโซมของลิงไ้เงี้ยะที่มีการติดแถบสีจึคล้ายคลึงกับของมนุษย์ คือ มีแถบสีส่วนมากที่เหมือนกัน แต่มีความผันแปรในบางแถบสีที่เกิดขึ้น ส่งผลให้เกิดความคล้ายกันมีอยู่ 11 คู่ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 17 และ 20 (Figure 4B)

จากการเปรียบเทียบการติดสีของโครโมโซม ด้วยวิธีการย้อมแถบสีจึระหว่างลิงไ้เงี้ยะและมนุษย์ ยังพบว่าโครโมโซมคู่ที่ 1 ของลิงไ้เงี้ยะจะมีส่วนที่สลับหัวท้ายกับโครโมโซมมนุษย์ สันนิษฐานว่าเกิดจากการต่อสลับกันของโครโมโซมที่มีส่วนของเซนโทรเมียร์ (centromere) ร่วม

ด้วย (pericentric inversion) (Figure 5) ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับรายงานของ Brown และคณะ (1986) ที่พบการหักของโครโมโซมแล้วต่อสลับโดยไม่มีเซนโทรเมียร์ร่วมด้วย (paracentric inversion) จากการย้อมโครโมโซมแถบสีแบบอาร์ (R-banding) ในโครโมโซมคู่ที่ 5 ของลิงวอกและลิงแสม

จากการศึกษาายังพบว่ามีการสลับคู่กันของโครโมโซมโดยโครโมโซมคู่ที่ 4 ของมนุษย์เหมือนกับคู่ที่ 5 ของลิงไ้เงี้ยะ คู่ที่ 5 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 6 ของลิงไ้เงี้ยะ คู่ที่ 6 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 7 ของลิงไ้เงี้ยะ คู่ที่ 7 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 8 ของลิงไ้เงี้ยะ คู่ที่ 8 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 9 ของลิงไ้เงี้ยะ และโครโมโซมคู่ที่ 13 ของมนุษย์คล้ายกับคู่ที่ 14 ของลิงไ้เงี้ยะ (Figure 4A and

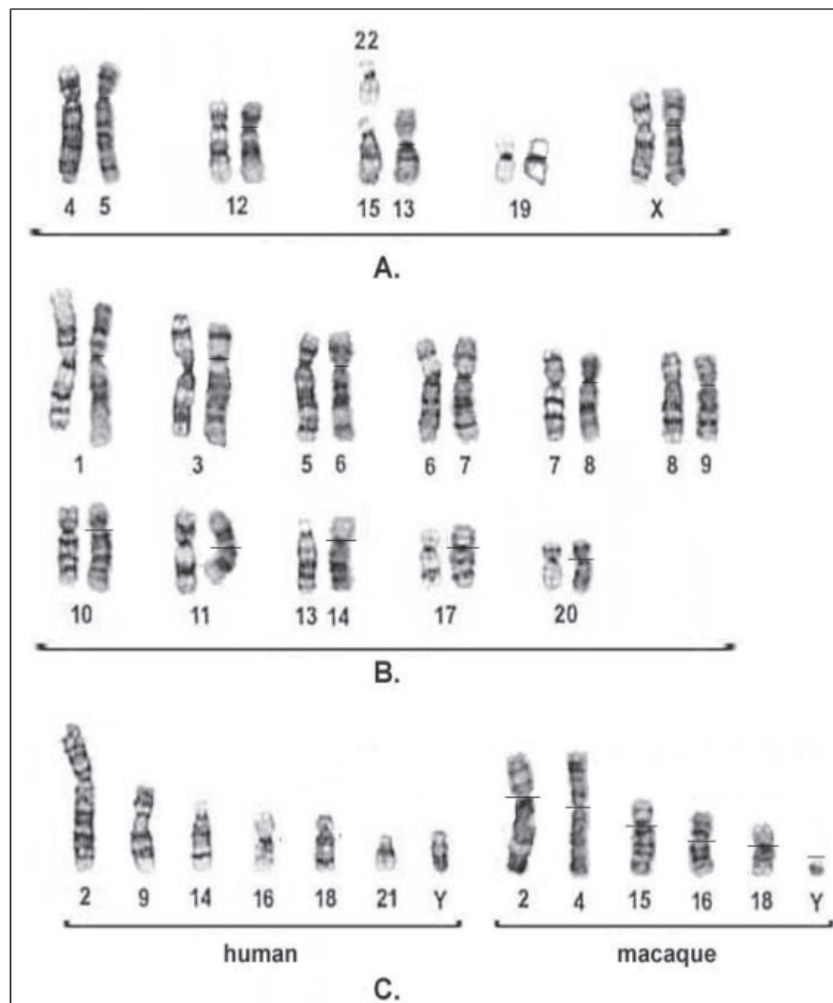


Figure 4. A comparison of the chromosome pair between human (left) and assam macaque (right) have the same G-banding patterns as those of human chromosomes (A), similar to those of human chromosomes (B) and different from those of human chromosomes (C).

4B) สำหรับโครโมโซมลิงไ้เจียะที่มีแถบสีจีไม่เหมือนกับของมนุษย์มี 6 คู่ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 2, 4, 15, 16, 18 และโครโมโซมวาย (Figure 4C)

จากการศึกษาของ Jones และคณะ (1994) พบว่ารูปแบบแถบสีจีในโครโมโซมมนุษย์จะมีความเหมือนกันกับของลิงในสกุล *Macaca* และลิงบาบูน ($2n$ เท่ากับ 42) มากกว่าในชะนี ($2n$ เท่ากับ 44) ซึ่งจะขัดแย้งกับการเปรียบเทียบทางด้านโครงสร้างของร่างกายและทางด้านชีวโมเลกุล ที่พบว่ามนุษย์มีความเหมือนกับชะนีมากกว่าลิง

ในสกุล *Macaca* นอกจากนี้ยังพบว่าโครงสร้างทางสังคมและนิเวศวิทยา บางครั้งมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดกับอัตราการวิวัฒนาการของโครโมโซมในกลุ่มสัตว์จำพวกลิง ดังนั้นข้อมูลการวิวัฒนาการของโครโมโซมจึงค่อนข้างยากในการวัดความแตกต่าง และความใกล้ชิดของสัตว์จำพวกลิงกลุ่มต่างๆ อย่างแน่นอน จึงต้องมีข้อมูลอื่นๆ มาช่วยประกอบด้วย จากการศึกษาในครั้งนี้พอที่จะสรุปได้ในเบื้องต้นว่าลิงไ้เจียะมีความสัมพันธ์ทางด้านวิวัฒนาการที่ใกล้เคียงกับมนุษย์

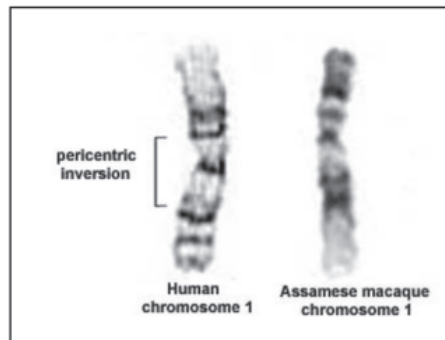


Figure 5. The chromosome 1 of assam macaque is a pericentric inversion of human chromosome.

สรุปผลการศึกษา

จากการเพาะเลี้ยงเซลล์เม็ดเลือดขาว และการย้อมสีโครโมโซมแบบแถบสีจี พบว่าลิงไ้เจียะมีจำนวนโครโมโซม $2n$ เท่ากับ 42 แห่ง โครโมโซมร่างกาย ประกอบด้วยโครโมโซมชนิดเมทาเซนทริก 18 แห่ง และชนิดซัพเมทาเซนทริก 22 แห่ง บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 13 จัดเป็น satellite chromosome โครโมโซมเอ็กซ์เป็นชนิดซัพเมทาเซนทริก และโครโมโซมวายเป็นชนิดเทโลเซนทริก ขนาดเล็กมากที่สุด โครโมโซมติดแถบสีจีเหมือนกับโครโมโซมของมนุษย์ 5 คู่ ได้แก่ คู่ที่ 5, 12, 13, 19 และโครโมโซมเอ็กซ์ แขนข้างสั้นโครโมโซมคู่ที่ 13 ของลิงไ้เจียะ จะมีความคล้ายกับโครโมโซมคู่ที่ 22 ของมนุษย์ และแขนข้างยาวจะเหมือนกับโครโมโซมคู่ที่ 15 ของมนุษย์ มีโครโมโซมที่มีการติดแถบสีจีคล้ายคลึงกับของมนุษย์ 11 คู่ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 1, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 17 และ 20 พบว่าโครโมโซมคู่ที่ 1 ของลิงไ้เจียะจะมีส่วนที่สลับหัวท้ายกับโครโมโซมมนุษย์ สันนิษฐานว่าเกิดจากการต่อสลับกันของโครโมโซมที่มีส่วนของเซนโทรเมียร์ร่วมด้วย โครโมโซมที่มีการติดแถบสีจีไม่เหมือนกันกับของมนุษย์มี 6 คู่ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 2, 4, 15, 16, 18 และโครโมโซมวาย

คำขอบคุณ

คณะผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณองค์การสวนสัตว์ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ได้สนับสนุนเงินทุนวิจัยสำหรับการ

ศึกษาในครั้งนี้ ขอขอบคุณ ท่านผู้อำนวยการองค์การสวนสัตว์ นายโสภณ ดำนุ้ย และ ผู้อำนวยการสวนสัตว์นครราชสีมา ผู้อำนวยการสวนสัตว์สงขลา ที่ได้อนุญาตทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดลิงไ้เจียะ ขอขอบคุณ น.สพ.สุระศาสตร์ สมสา สัตวแพทย์ประจำสวนสัตว์นครราชสีมา ที่ช่วยในการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดลิงไ้เจียะ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และพนักงานสวนสัตว์ทุกท่าน ที่ช่วยให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- วเรน บรอดเคลแมน. 2524. สัตว์จำพวกลิงในประเทศไทย. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว, กรุงเทพฯ. 45 หน้า.
- อมรา คัมภีรานนท์. 2540. พันธุศาสตร์ของเซลล์. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 321 หน้า.
- 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 *Cercocebus*. *Fol. primat.* 46(3): 164-172.
- Caballin, M.R., Miro, R., Ponsa, M., Florit, F., Massa, C. and Egozcue, J. 1980. Banding patterns of the chromosomes of *Cercopithecus petaurista* (Schreber, 1775): comparison with other primate species. *Fol. primat.* 34: 278-285.
- Chiarelli, B. 1962. Comparative and morphometric analysis of primate chromosomes: The chromosomes of genera *Macaca*, *Papio*, *Theropithecus* and *Cercocebus*. *Caryolo.* 15: 401-420.
- Cumming, M.R. 1988. Human heredity. West Publishing Company, United States of America, St. Paul. 476 p.

- Groves, P.C. 1989. A Theory of human and primate evolution. Oxford University Press, Oxford.
- Hirai, S., Terao, K., Cho, F. and Honjo, S. 1991. Chromosome studies on cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Primate Today*. 24: 619-622.
- Hsu, T.C. and Benirschke, K. 1967. An atlas of mammalian chromosomes. Springer-Verlag Press, New York.
- Jones, S., Martin, R., Pilbeam, D. 1994. The Cambridge encyclopedia of human evolution. Cambridge University Press, Cambridge. 506 p.
- Lekagul, B. and McNeely, J.A. 1977. Mammals of Thailand. 1sted. Kurusapha Ladprao Press, Bangkok, Thailand. 758 p.
- Lekagul, B. and McNeely, J.A. 1988. Mammals of Thailand. 2nded. Saha Karn Bhaet, Bangkok, Thailand. 758 p.
- Miller, D.A. 1977. Evolution of primate chromosomes. *Sci.* 198: 1116-1124.
- Mitelman, F. 1995. An international system for human cytogenetic nomenclature. Karger, Basel.
- Napier, J.R. and Napier, P.H. 1976. A handbook of living primates. John Wiley and Sons, New York. 456 p.
- Rooney, D.E. 2001. Human cytogenetics: constitutional analysis. Oxford University Press, Oxford.
- Rooney, D.E. and Czepulkowski, B.H. 1986. Human cytogenetics. IRL Press, Oxford.
- Roos, C. and Geismann, T. 2001. Molecular phylogeny of the major hylobatid divisions. *Molec. Phylogen. and evol.* 19: 486-494.
- Small, M.F. and Stanyon, R. 1985. High-resolution chromosome of rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Amer. J. of Primat.* 9: 63-67.
- Wilson, D.E. and Cole, F.R. 2000. Common names of mammals of the world. Smithsonian Institution Press, Washington. 204 p.