

## เอกสารอ้างอิง

- ถวัลย์ อาศนะเสน, นิติเวชศาสตร์ โรงพิมพ์ ม.รามคำแหง, กรุงเทพฯ, ก-ค, 2522
- วิจารณ์ พานิช และสรโรจใจ แสงวีเชียร, มนุษย์พันธุศาสตร์, โครงการตำรา-ศิริราช กรุงเทพฯ 108-145, 2530
- วิโรจน์ ไวยวุฒิ, "หมู่เอนไซม์และการประยุกต์ใช้ในทางนิติเวช", วารสารนิติวิทยาศาสตร์, 61-67, 2527.
- สุกัญญา สุนทรส, "การใช้เอนไซม์ในงานพิสูจน์หลักฐาน", วารสารนิติวิทยาศาสตร์, 10-20, 2530
- Albert L. Latner and Andrew W. Skillen, Isoenzymes in Biology and Medicine, 104-108 Academic Press, London and New York, 1968
- Allen, R.C., "Rapid Isoelectric Focusing and Detection of Nanogram Amounts of Proteins from Body Tissues and Fluids", Electrophoresis, 1, 32-37, 1980
- Bar, W., Hami, M. and Biedermann, W., "Esterase D: simultaneous electrophoretic determination of the three common allozymes (EsD 1, 2, 5)", Electrophoresis, 5, 280-281, 1984
- Bark, J.E., Harris, M.J. and Firth, M., "Typing of the Common Phosphoglucomutase Variants Using Isoelectric Focusing-A New Interpretation of the Phosphoglucomutase System", J. Forensic Science Society, 16, 115-120, 1976
- Berg, K., Schroarzfischer, F. and Wischerath, H., "Esterase D Polymorphism. "Description of the "New" Allele EsD", Hum. Genet. 32, 81, 1976

- Billardon C. et al, "Linkage studies of enzyme makes in man-mouse somatic cell hybrids", Ann. Hum. Genet., 36, 273-284, 1973
- Blake E.T., Sensabaugh G.F. and B.S., Crim D, "Genetic Markers in Human Semen : A Review, J. Forensic Sciences JFSCA, 16, 784-796
- Brinkmann, B and Bruns, J., "Zur ACP-Typen-differenzierung aus Blutflecken Nachweisgrenzen und Temperaturabhangigkeit, Zeitschrift Fuer Rechtsmedizin, 84, 1-6, 1979
- Budowle, B., "Rapid Electrofocusing of Erythrocyte Acid Phosphatase", Electrophoresis, 5, 254-255, 1984
- , Sunduram, S., and Wenk, R., "Population Data on the Forensic Genetic Markers : Phosphoglucomutase-1, Esterase D, Erythrocyte Acid Phosphatase and Glyxylase I, J. Forensic Science International, 28, 77-81, 1985
- , Murch, R.S., Davidson, L.C., Gambel, A.M., and Kearney, J.J., "Subtyping Phosphoglucomutase-1 in Semen Stains and Bloodstain : A Report on the Method," J. Forensic Sciences, JFSCA, 31, 1341-1348, 1986.
- Burdett, P.E. and Whitehead, P.H., " The Separation of the Phenotypes of Phosphoglucomutase, Erythrocyte Acid Phosphatase, and Some Haemoglobin Variants by Isoelectric Focusing", Analytical Biochemistry, 77, 419-428, 1977
- Carracedo, A., Concheiro, L., "PGM<sub>1</sub> subtypes in Galicia (NW Spain)", Hum. Hered, 32, 133-135, 1982

- Caspers, M.L., Posey, Y., Brown, K.K., "Seperator isoelectric focusing an improved method of protein analysis and purification", Anal. Biochem. 79, 166-180, 1977
- Dalila Ranalletta, G. Destro-Bisol and Nadia Fucci, "The esterase D polymorphism by ultra thin layer isoelectric fousing : Frequency of the EsD<sup>5</sup> allele in the population of Rome", Anthrop. Anz., 153-157, 1987
- Divall, G., B., "Studies on the use of isoelectric focusing as a method of phenotyping erythrocyte acid phosphatase," J. Forensic Science International, 18, 67-78, 1981
- , "Esterase D typing by isoelectric focusing in ultra thin polyacrylamide gels", J. Forensic Science International, 23, 61-62, 1983
- , and Ismail, M., "Studies and Observations on the use of Isoelectric Focusing in Ultra thin Polyacrylamide Gels as a Method of Typing Human Red Cell Phosphoglucomutase", J. Forensic Science International, 22, 253-263, 1983
- Douglas, G.R., McAlpine, P.J. Hamerton, J.L., "Regional localisation of loci for human PGM<sub>1</sub> and 6 PGD on human chromosome one by use of hybrids of chinese hamster human somatic cells", Proc. Natl Acad. Sci, 70, 2737-2740, 1973
- Dykes, D.D., Polesky, H.F. and Miller, S., "Frequency of the EsD<sup>\*5</sup> allele in three ethnic groups in Minnesota", Hum. Genet., 62, 162-163, 1982

- Edwards, J.J., Tollaksen, S.L., and Anderson, N.G., "Proteins of Human Semen I : Two-Dimensional Mapping of Human Seminal Fluid", Clinical Chemistry, 27, 1335-1340, 1981
- Eloise R. Giblett, Genetic marker in human blood, 420-440, Black Well, Scientific Publication, 1969
- Frants, R.R. and Ericksson, A.W., "Alpha-1-Antitrypsin : Common Subtypes of Pi M", Hum Hered., 26, 435-440, 1976
- George W. Burns, "The Science of Genetics : An Introduction to Heredity", 230-246, The Macmillan Company Collier-Macmillan Limited, London, 1971
- Gill, P. and Sutton, J.G., "Enhanced Resolution of Phosphoglucomutase (PGM<sub>1</sub>) by the Addition of a Separator to Ultra thin Isoelectric Focusing Gels", Electrophoresis, 6, 23-26, 1985
- Grunbaum, B.W. and Zajac, P.L., "Phenotyping of Erythrocyte Acid Phosphatase in Fresh Blood and in Bloodstains on Cellulose Acetate", J.Forensic Sciences, 23, 84-88, 1978
- , Handbook for Forensic Individualization of Human Blood and Bloodstains, 51-114, Satorins GmbH Publisher, California, 1981
- Guiseley, K.B., and Renn, D.W., "Agarose : Purification, Properties, and Biomedical Application, Marine Colloids, Inc.", Rockland, Maine, 1975
- Hans Ulrich Bergmeyer, Methods of Enzymatic Analysis, 3<sup>rd</sup> edi., 1-7 and 92-106, Deerfield Beach, Florida

- Harris, H., The Principle of human biochemistry genetics, 46-53 and 135-140, North-Holland/American Elsevier, London/New York, 1971
- , and Hopkinson, D.A., Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics, Amsterdam : North-Holland, 1976
- , The Principles of human biochemical genetics, North-Holland, Biomedical Press, Elsevier, 1977
- Hayward, G.S., and Smith, M.G., J. Mol Biol, 63, 383-395, 1972
- Hennig, W., Hoppe, H.H., and Kaiflie, S., "Die electrophoretische Bestimmung der sauren. Erythrozyten Phosphatasegruppen mit Polyacrylamid-Gel", Aerztliche Laboratorium, 14, 273-278, 1968
- Hopkinson, D.A., Spencer, N., and Harris, H., "Red Cell Acid Phosphatase Variants : A New Human Polymorphism", Nature, 199, 969-971, 1963
- , Spencer, N and Harris, "Genetics studies on human red cell acid phosphatase" Amer. J. hum. Genet., 16, 141-154, 1964.
- , Mestriner, M.A., Cotner, J. and Harris, H., "Esterase D : A new human polymorphism", Ann. Hum. Genet, 37, 119-137, 1973
- IUPAC-IUB, Commission on Biological Nomenclature, J. Biol. Chem, 252, 5939-5941, 1977
- Jones, D.A., "Blood Samples : Probability of Discrimination", J. Forensic Science Society, 12, 355-359, 1972

- Jongsma, A., Van Someren, H., Westerfeld, A., Hagemeijer, A., Pearson, P., "Localisation of genes on human chromosomes by studies of human-chinese hamster somatic cell hybrids. Assignment of PGM<sub>3</sub> to chromosomes C<sub>6</sub> and regional mapping of the PGD, PGM<sub>1</sub> and Pep-C genes on chromosome A1"., Humangenetik 20, 195, 1973
- Kuhl, P., Schmidtman, U., and Spilmann, W., "Evidence for Two Additional Common Alleles at the PGM-1 Locus (Phosphoglucomutase-E.C. 2.7.5.1)", Hum Genet, 35, 219-223, 1977
- Lai, L.Y.C. and Kwa, S.B., "Red Cell acid phosphatase types in some population of south-east Asia", Acta genet Basel, 18, 45-54, 1968
- Luffman J.E. and Harris H., "A comparison of some properties of human red cell acid phosphatase in different phenotypes," Ann hum Genet, 30, 387, 1967
- Maneyama, Y., Horai, S., Omoto, K. "The distribution of the phosphoglucomutase-1 (PGM<sub>1</sub>) subtypes in Japanese, J. hum. Genet. 23: 383-387, 1978
- Martin, W., "Neue Elektrophoresemethoden zur Darstellung von serum und Enzym polymorphismen : Technische Verbesserungen", Hinweis auf weitere EsD-Allele, 65-67
- Matti Lukka, Christian Ehnholm, Timo Kuusi, "Phosphoglucomutase (PGM<sub>1</sub>) Subtypes in a Finnish Population Determined by Isoelectric Focusing in Agarose Gel", Hum-Hered., 35, 95-100, 1985

- McAlpine, P.J., Mohandas, T., Hamerton, J.L., "Isozyme analysis of somatic cell hybrids : Assignment of the phosphoglucomutase-2 (PGM<sub>2</sub>) gene locus to chromosome 4 in man with data on the molecular structure and human chromosome assignment of six additional markers, *Isozymes, IV, Genetics and evolution*, 149 Academic Press, New York, 1975
- Monn, E., "Phosphoglucomutase(PGM) Determination by Agar Gel Electrophoresis", *Vox Sanguinis*, 14, 70-78, 1968
- Moss D.W., "Isoenzymes" 10-16, Chapman and Hall Publishers London, 1982
- Murch, R.S. and Budowle, B., "Application of Isoelectric focusing in Forensic Serology" *J. Forensic Science JFSCA*, 31, 869-880, 1986
- Nguyen, V.C, Billardon, C., Picard, J.J., Feingold, J., Frezal, J., "Liaison probable (linkage) entre les locus PGM<sub>1</sub> et peptidase C chez l'homme. C.R.", *Acad. Sci (D)*, 272, 485, 1971
- Nishigaki, I. and Itoh, T., "Isoelectric Focusing studies of human red cell Esterase D : evidence for polymorphic occurrence of a new allele EsD in Japanese". *Hum Genet* 66, 92-95, 1984
- Pateur N. and Pasteur G., Practical Isozyme genetics, Ellis Horywood Limited Publishers, England, 1988
- Paul D. Boyer, Henry Lardy, Karl Myrbach, "The Enzymes" 2<sup>nd</sup> edi, Academic Press, New York and London, Vol 6, 1962
- Quick, C.B., Fisher, R.A., Harris, H., " A kinetic study of the isozymes determined by the three phosphoglucomutase loci PGM<sub>1</sub>, PGM<sub>2</sub> and PGM<sub>3</sub>", *J. Biochem*, 42, 511, 1974

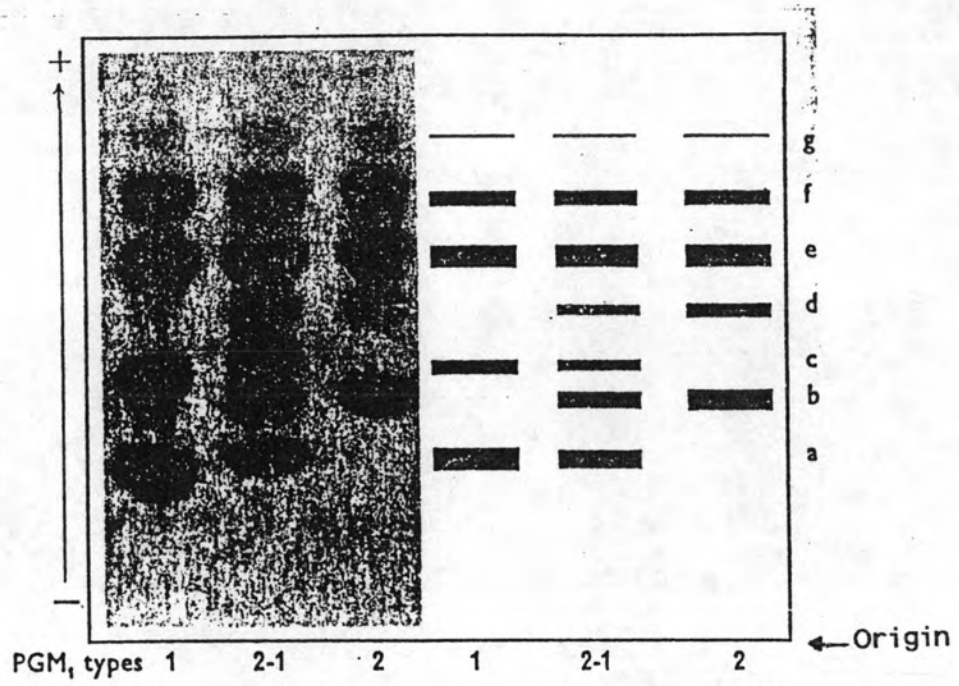
- Randall, T., Harland, W.A., and Thorpe, J.W., "A Method of Phenotyping Erythrocyte Acid Phosphatase by Iso-Electric Focusing, Medicine" Science and Law, 20, 43-47, 1980
- Rodola, B.J., "Ultrathin-Layer Isoelectric Focusing in 50-100 um Polyacrylamide Gels on Silanized Glass Plates or Polyester Films", Electrophoresis, 79-94, 1980
- Scott E.M. "Kinetic comparison of genetically different acid phosphatases of human erythrocytes". J. biol Chem, 241, 3049, 1966
- Shinola Tomotaka "Red cell acid phosphatase types in Japanese population Jap.", J. hum. Genet, 11 252-256, 1967
- Sovensen, S.A., "Agarose Gel Electrophoresis of Human Red Cell Acid Phosphatase Isozymes", Vox Sanguinis 27, 556-563, 1974
- Speiser, P. and Pausch, V., "The distribution of the red cel acid phosphatase variants in Vienna," Vox sang, 13, 12-14, 1968
- Spencer N., Hopkinson D.A. and Harris H., "Phosphoglucomutase Polymorphism in man", Nature 204, 742-745, 1964
- Stella Finney T., Renshaw N.A. and Werrett D.J. "The use of Isoelectric Focusing (IEF) as a method for the combined phenotyping of erythrocyte acid phosphatase (EAP) and esterase D (EsD)", J. Forensic Science International 27, 237-245, 1985
- Sutton, J.G., "Isoelectric Focusing " A single Technique for Examining PGM Isoenzymes in Blood, Semen, Saliva and Hair International Tagung der Gesellschaft fur Forensische Blugruppenkunde", London, England, 1979



- , "Characterisation of the Isoenzymes of Phosphoglucomutase (PGM) Determined by the First (PGM<sub>1</sub>) and Second (PGM<sub>2</sub>) Locus observed by Isoelectric Focusing", Hum. Genet, 47, 279-290, 1979
- , "Isoelectric points (pI) of the isoenzymes of phosphoglucomutase (PGM<sub>1</sub> and PGM<sub>2</sub>) observed by isoelectric focusing and some theoretical considerations", J. Forensic Science. Society, 24: 111, 119
- Svensson, H., "Isoelectric Fractionation, Analysis and Characterization of Ampholytes in Natural pH Gradients. The Differential Equation of Solute Concentrations at a Steady State and its Solution for Simple Cases", Acta Chemica Scandinavia, 15, 325-341, 1961
- ., Wetterling, G., "Identification of PGM<sub>1</sub> (phosphoglucomutase EC 2.7.5.1) by isoelectric focusing in a Swedish population", Hum. Hered., 32, 357-361, 1982
- Tipler, T.D., Dunn, D.S., Jenkins, T "Phosphoglucomutase first locus polymorphism as revealed by isoelectric focusing in Southern Africa", Hum. Hered, 32, 80-93, 1982
- Whitehead P.H., "Biochemical Techniques in forensic science., 299-302, TIBS, Elsevier Publization, Cambridge, 1985
- Wraxall, B.G.D. and Stolorow, M.D., "The Simultaneous Separation of the Enzymes Glyoxylase I, Esterase D and Phosphoglucomutase", J. Forensic Sciences, JFSCA., 31, 1439-1449, 1986

วิธีการอ่านรูปแบบของ PGM

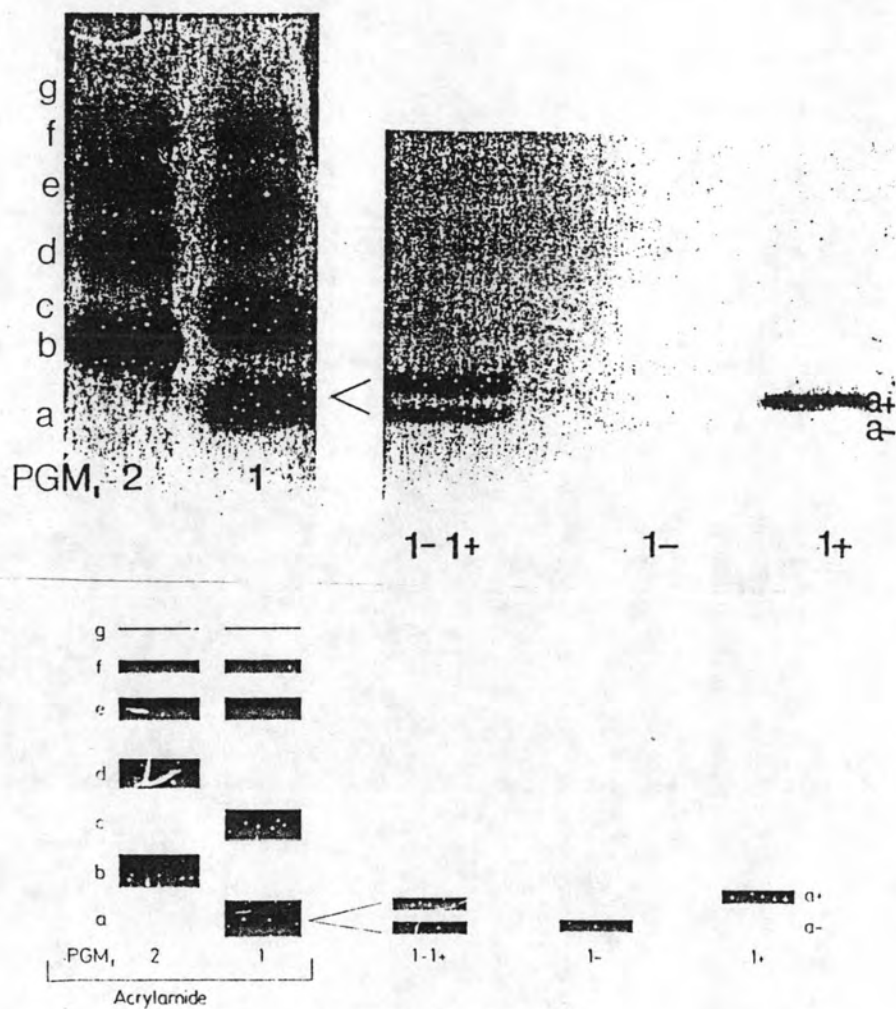
1. รูปแบบ PGM ที่ได้จากการจำแนกด้วยอิเล็กโทรโฟเรซิสแบบสตาร์ช สามารถจำแนกได้เป็น 3 รูปแบบคือ  $PGM_{11}$ ,  $PGM_{12}$ ,  $PGM_{12-1}$  โดยที่  $PGM_{11}$  จะพบไอโซไซม์ a และ c แต่  $PGM_{12}$  จะพบไอโซไซม์ b และ d และ  $PGM_{12-1}$  จะพบทั้งสี่ไอโซไซม์ (Spencer และคณะ, 1964) โดยรูปแบบทั้งสามนี้ ถูกกำหนดโดย 2 autosomal alleles คือ  $PGM_{11}$  และ  $PGM_{12}$  ส่วนไอโซไซม์ e, f, g ซึ่งถูกกำหนดโดย PGM Locus 2 ( $PGM_2$ ) จะพบในทุกรูปแบบของ PGM ดังรูปที่ 22



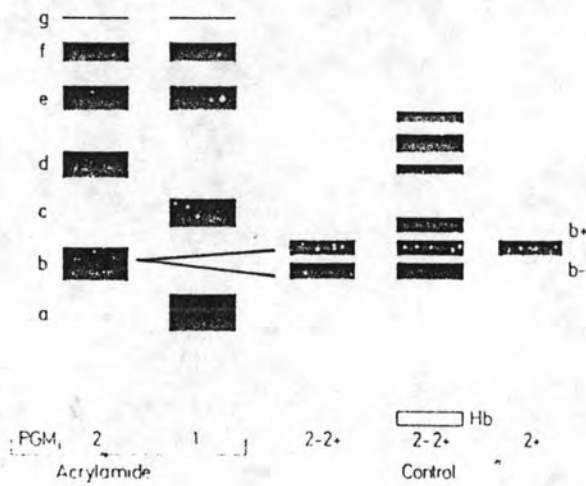
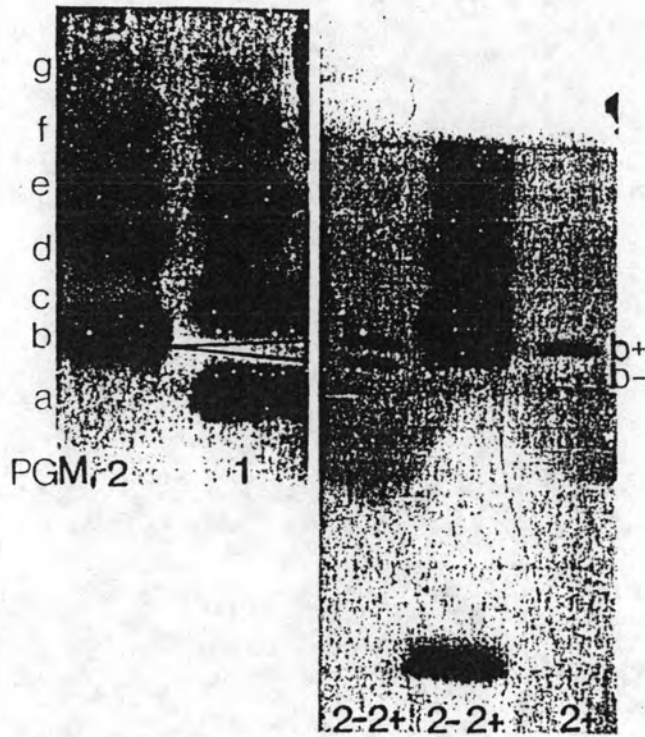
รูปที่ 22 ภาพถ่ายและไดอะแกรมแสดงการจำแนกรูปแบบ PGM<sub>1</sub> ด้วยอิเล็กโทรโฟรีซิสบนสตาร์ช

(Spencer และคณะ, 1964)

2. รูปแบบ PGM ที่ได้จากการจำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซึ่งบนโพลีอะครีลาไมด์ เจลที่ pH 5-7 โดย Bark และคณะ (1976) ได้ทำการทดลองจำแนกพินโทมทั้งสาม ( $PGM_1$ ,  $PGM_2$  และ  $PGM_{2-1}$ ) ของ  $PGM_1$  ที่ได้จากการจำแนกด้วยอิเล็กโทรโฟริซิสแบบสตาร์ชเจล (Spencer และคณะ, 1964) ด้วยวิธีไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิง และพบว่ามีสี่ไอโซไซม์ปรากฏให้เห็นคือ  $a+$ ,  $a-$ ,  $b+$  และ  $b-$  โดยปรากฏเป็นพินโทบ 1+, 1+1-, 1- และ 2+, 2+2- และ 2- ตามลำดับ ซึ่งต่อมาในปี 1979 ก็ได้รับการสนับสนุนจากผลการทดลองของ Sutton (Sutton, 1979) ดังรูปที่ 23 และ 24 ตามลำดับ

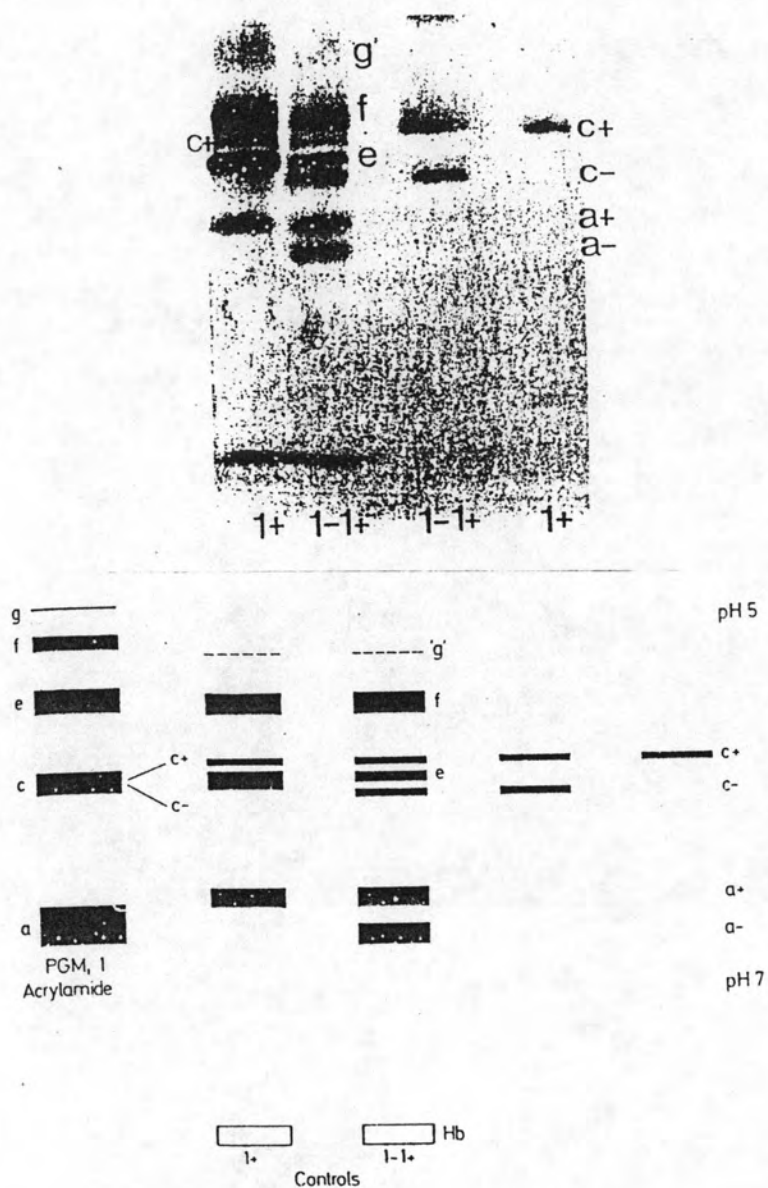


รูปที่ 23 ภาพถ่ายและโดอะแกรมของไอโซไซม์ a ของ PGM<sub>1</sub> ที่ได้จากการจำแนกด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบสตาร์ช (Spencer และคณะ, 1964) ในตอนแรก หลังจากนั้นมาจำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซึ่งบนโพลีอะคริลาไมด์เจลที่ pH 5-7 (Sutton, 1979)



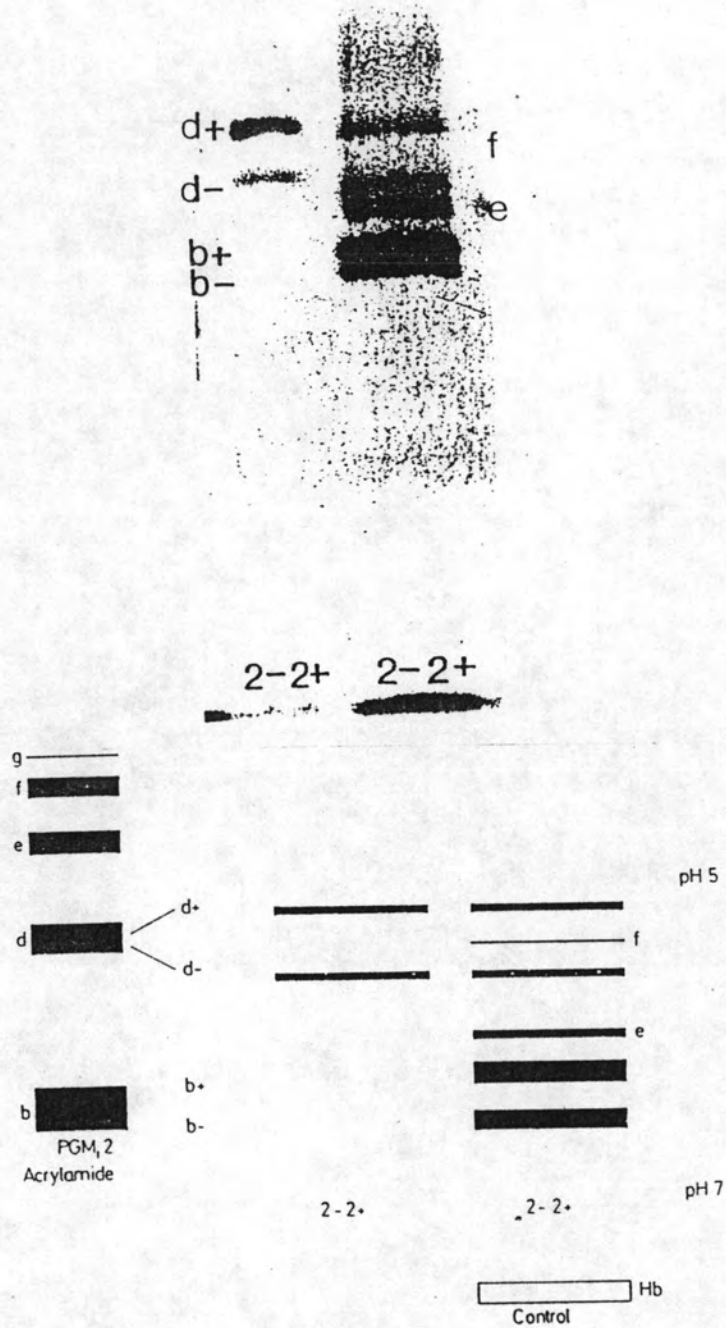
รูปที่ 24 ภาพถ่ายและไดอะแกรมของไอโซไซม์ b ของ PGM<sub>1,2</sub> ที่ได้จากการจำแนกด้วยอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบสตาร์ช (Spencer และคณะ, 1964) ในตอนแรก หลังจากนำมาจำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิงบนโพลีอะครีลาไมด์เจลที่ pH 5-7 (Sutton, 1979)

นอกจากนี้ยังพบว่าไอโซไซม์ c และ d ของ PGM<sub>1</sub> จากการจำแนกด้วยอิเล็กโทรโฟเรซิสแบบสตาร์ช ยังสามารถจำแนกออกเป็น 4 ไอโซไซม์ เช่นกัน คือ c+, c-, d+ และ d- (Sutton, 1979) ดังรูปที่ 25 และ 26 ตามลำดับ



**รูปที่ 25** ภาพถ่ายและไดอะแกรมของไอโซไซม์ c ของ PGM<sub>1</sub> ที่ได้จากการจำแนกด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิสแบบสตาร์ช (Spencer และคณะ, 1964) ในตอนแรกหลังจากนำมาจำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซึ่งบนโพลีอะคริลาไมด์เจลที่ pH 5-7 (Sutton, 1979)



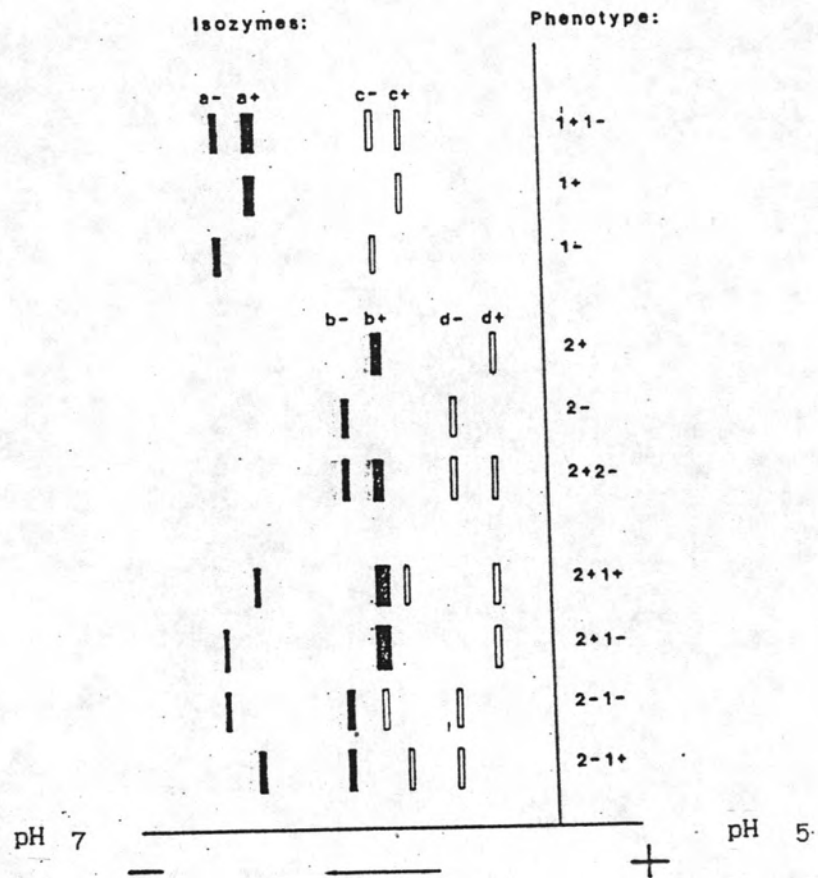


รูปที่ 26 ภาพถ่ายและไดอะแกรมของไอโซไซม์ d ของ PGM<sub>1</sub>1 ที่ได้จากการจำแนกด้วยอิเล็กโทรโฟรีซิสแบบสตาร์ช (Spencer และคณะ, 1964) ในตอนแรกหลังจากนำมาจำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิงบนโพลีอะคริลาไมด์เจลที่ pH 5-7 (Sutton, 1979)

จากรูปที่ 25 และ 26 เมื่อเปรียบเทียบตำแหน่งของไอโซไซม์ a และ c ที่จำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิง จะเห็นว่าเป็นไอโซไซม์ที่จะเคลื่อนที่ควบคู่กันไป โดยที่ไอโซไซม์ a+ จะเคลื่อนที่ควบคู่ไปกับไอโซไซม์ c+ และไอโซไซม์ a- จะเคลื่อนที่ควบคู่ไปกับไอโซไซม์ c- ในทางตรงกันข้ามกับ ไอโซไซม์ b และ d (Sutton, 1979)

รูปแบบของ PGM<sub>1</sub> ที่ได้จากการจำแนกโดยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิง

รูปที่ 27 เป็นไดอะแกรมรูปแบบไอโซไซม์ของ PGM<sub>1</sub> 10 รูปแบบที่ได้จากการจำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิง ส่วนตารางที่ 10 เป็นความเข้มข้นสัมพัทธ์ของไอโซไซม์ใน PGM 10 รูปแบบ



รูปที่ 27 ไดอะแกรมของไอโซไซม์ใน PGM<sub>1</sub> ทั้ง 10 รูปแบบที่ได้จากการจำแนกด้วยไอโซอิเล็ก-  
 ทริกโฟกัสซิง ที่ pH 5-7 (Divall & Ismail, 1983)

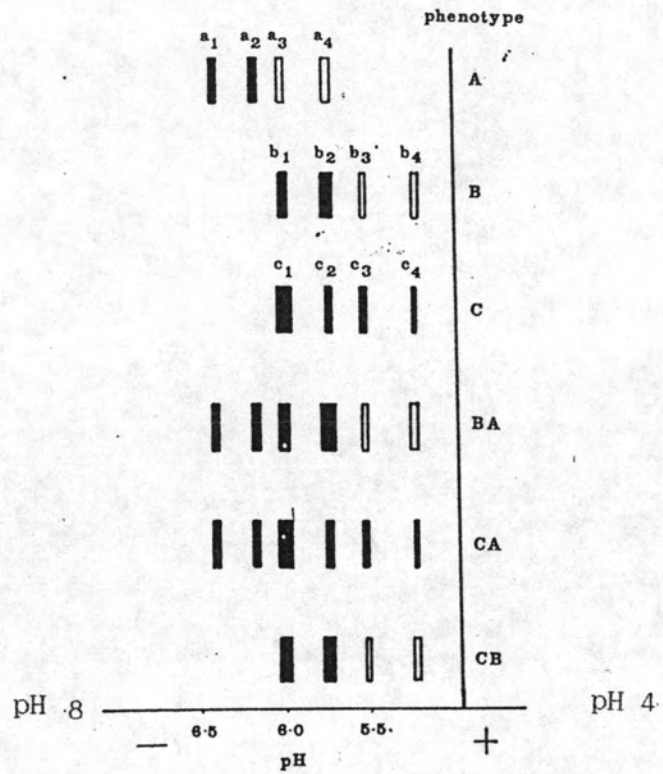
ตารางที่ 10 ความเข้มสัมพัทธ์ของไอโซไซม์ใน PGM ทั้ง 10 รูปแบบ (Divall & Ismail, 1983)

พีโนโทม	ความเข้มสัมพัทธ์ของแต่ละไอโซไซม์	ความเข้ม (%)
1+	$a^+ > c^+$	100
1-	$a^- > c^-$	100
1+1-	$a^+ > a^- > c^+ > c^-$	76
	$a^+ > c^- > a^- > c^+$	13
	$a^+ > a^- > c^- > c^+$	7
	$a^- > a^+ > c^- > c^+$	4
2+	$b^+ > d^+$	100
2-	$b^- > d^-$	100
2+2-	$b^+ > b^- > d^+ > d^-$	46
	$b^+ > d^+ > b^- > d^-$	27
	$b^+ > b^- > d^- > d^+$	18
	$b^- > b^+ > d^- > d^+$	9
1+2+	$b^+ > a^+ > c^+ > d^+$	68
	$b^+ > a^+ > d^+ > c^+$	30
	$a^+ > b^+ > c^+ > d^+$	2
1+2-	$b^- > a^+ > c^+ > d^-$	45
	$b^- > a^+ > d^- > c^+$	42
	$a^+ > b^- > c^+ > d^-$	13
1-2+	$b^+ > a^- > d^+$	82
	$b^+ > d^+ > a^-$	18
1-2-	$b^- > a^- > d^- > c^-$	56
	$b^- > a^- > c^- > d^-$	39
	$a^- > b^- > c^- > d^-$	5

วิธีการอ่านรูปแบบของ EAP

Dival (1981) ได้ทำการทดลองจำแนกรูปแบบ EAP โดยวิธีไอโซอ์เล็กทริกโพกัสซึ่งพบว่าสามารถจำแนกไอโซไซม์ของ EAP ออกจากกันได้ 3 ไอโซไซม์ คือ A, B และ C ตามลำดับ ทำให้สามารถจำแนกรูปแบบ EAP ออกจากกันได้ 6 รูปแบบ คือ A, B, C, BA, CA และ CB ตามลำดับ ดังรูปที่ 28

การอ่านรูปแบบของ EAP นอกจากจะดูจากตำแหน่งของแต่ละไอโซไซม์แล้ว ยังต้องพิจารณาถึงความเข้มสัมพัทธ์ของแต่ละไอโซไซม์ด้วย (Divall, 1981) ดังตารางที่ 11



รูปที่ 28 โดอะแกรมของไอโซไซม์ใน EAP ทั้ง 6 รูปแบบที่ได้จากการจำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิง ที่ pH 4-8 (Divall, 1981)

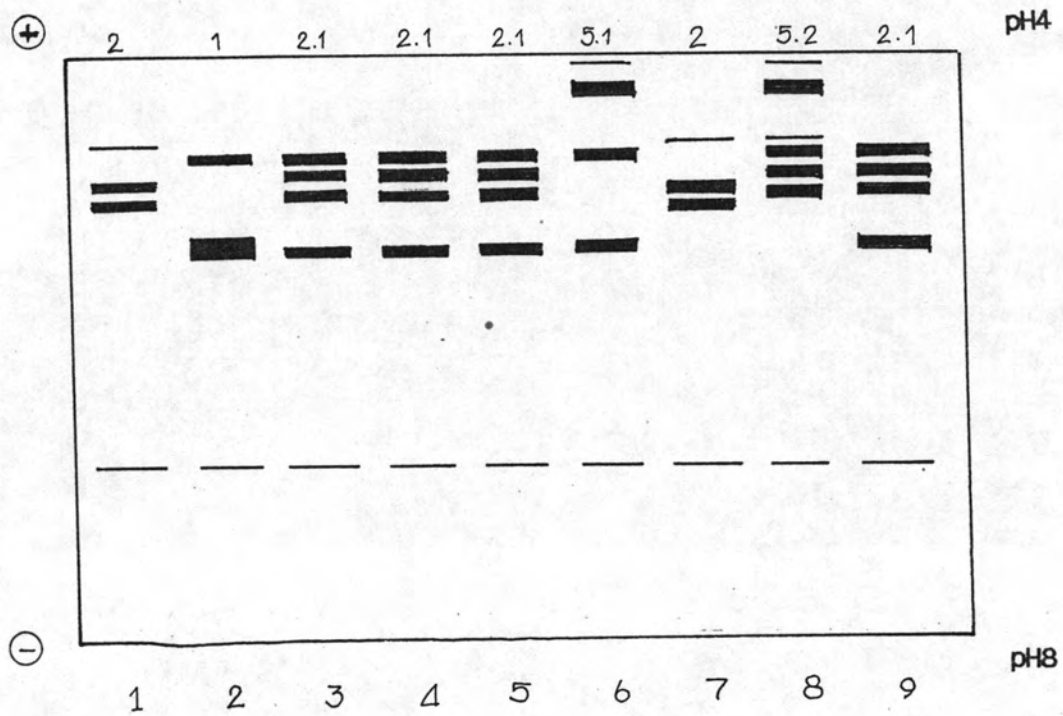
ตารางที่ 11 ความเข้มสัมพัทธ์ของไอโซไซม์ใน EAP ทั้ง 6 รูปแบบ (Divall, 1981)

ฟีโนไทป์	ความเข้มสัมพัทธ์ของแต่ละไอโซไซม์
A	$a_2 > a_1 > a_4 > a_3$
B	$b_2 > b_1 > b_4 > b_3$
C	$c_1 > c_2 = c_3 > c_4$
BA	$(b_2+a_4) > (b_1+a_3) > a_2 > a_1 = b_4 > b_3$
CA	$(c_1+a_3) > (c_2+a_4) > a_2 > a_1 = c_3 > c_4$
CB	$(c_1+b_1) > (c_2+b_2) > (c_3+b_3) > (c_4+b_4)$

วิธีการอ่านรูปแบบของ EsD

Stella และคณะ (1985) ได้ทำการจำแนกรูปแบบของ EsD โดยวิธีไอโซซีเล็กทริก โฟกัสซิง พบว่าสามารถจำแนกไอโซไซม์ของ EsD ออกจากกันได้ 3 ไอโซไซม์คือ 1, 2 และ 5 ตามลำดับ ทำให้สามารถจำแนกรูปแบบของ EsD ออกจากกันได้ 5 รูปแบบคือ EsD 1, EsD 2, EsD 2.1, EsD 5.1 และ EsD 5.2 ตามลำดับ





รูปที่ 29 ไดอะแกรมของไอโซไซม์ใน EsD ทั้ง 5 รูปแบบที่ได้จากการจำแนกด้วยไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิง ที่ pH 4-8 (Stella และคณะ, 1985)

Tests of the Hardy-Weinberg law

Hardy-Weinberg Law เป็นกฎที่อธิบายถึงความสมดุลทางพันธุศาสตร์ (genetic equilibrium) เสนอโดย Hardy, G.H. นักคณิตศาสตร์ชาวอังกฤษ และ Weinberg, W. แพทย์ชาวเยอรมัน มีใจความว่า ในภาวะการณที่ที่เหมาะสม (ประชากรมีการแต่งงานแบบสุ่ม, ไม่มี selection, migration และ mutation) ถ้ายีน A และ B เป็น allele กัน และให้ gene frequency ของ A=p, B=q; p+q ย่อมเท่ากับ 1 และ genotype frequency AA, AB, BB ย่อมเท่ากับ  $p^2$ ,  $2pq$ ,  $q^2$  ตามลำดับตลอดไปทุก generation และ gene frequency p และ q ก็คงที่ตลอดไป และ  $p^2+2pq+q^2 = 1$  เสมอ

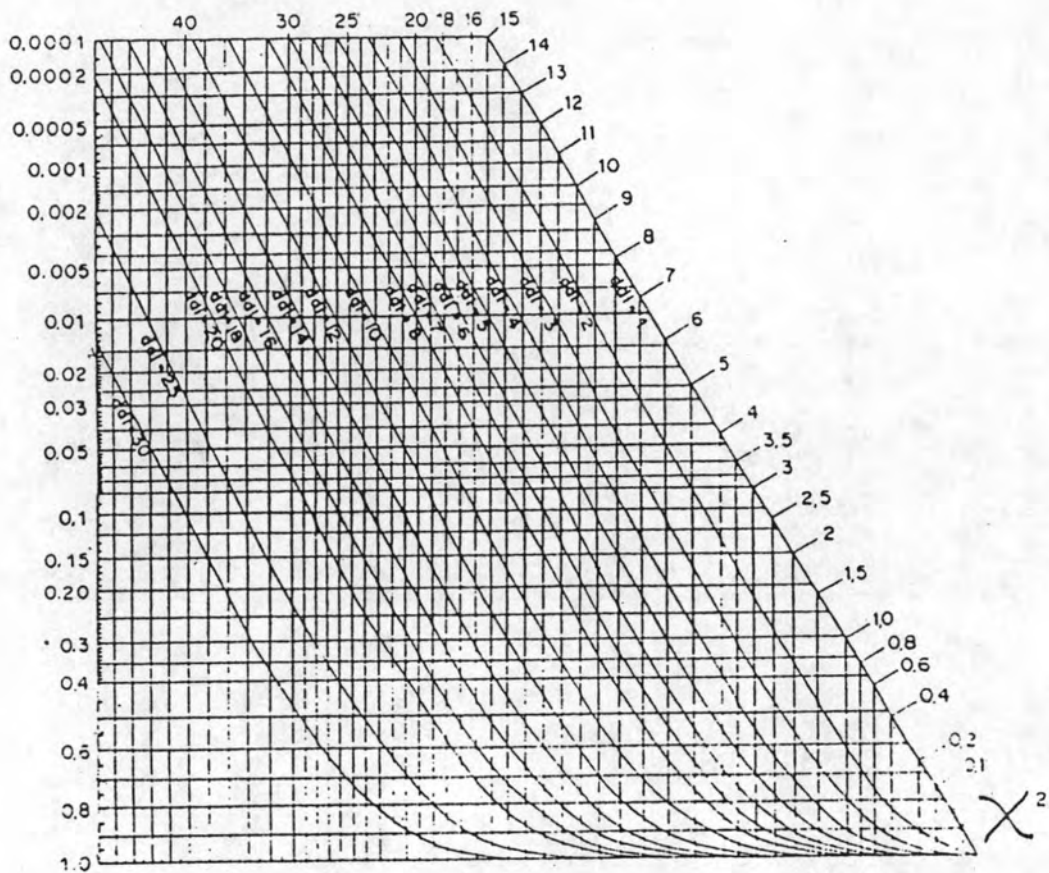
ในการที่จะพิสูจน์ว่า อัตราความถี่ของยีนและความถี่ของ genotype จะเป็นไปตามกฎของ Hardy-Weinberg Law หรือไม่นั้น ใช้การทดสอบวิธีไคสแคว (Chi-square Test,  $\chi^2$ ) โดยการหาค่า  $\chi^2$  แล้วนำไปอ่านค่า p (probability) จาก โตอะแกรม of  $\chi^2$  ดังรูปที่ 30 ถ้าค่า p ที่ได้มีน้อยกว่า 0.05 แสดงว่าอัตราความถี่ของยีนและความถี่ของ genotype เป็นไปตามกฎของ Hardy-Weinberg Law

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-A)^2}{A}$$

เมื่อ O = ความถี่จากการสำรวจ (observed frequency)

A = ความถี่ทางทฤษฎี (theoretical or expected frequency)

กำหนดให้ค่าอิสระ (degree of freedom, df) เท่ากับ ความแตกต่างระหว่างจำนวนของ phenotypes และจำนวนของ alleles



รูปที่ 30 Diagram of  $X^2$  (Pasteur N. & Fasteur G., 1988)

การคำนวณหา Gene frequency (Pasteur N. & Pasteur G, 1988)

$$X_i = \frac{2(ii) + (ij)}{2N}$$

เมื่อ  $X_i$  = Gene frequency ของ allele i

$N$  = จำนวน gene ทั้งหมด

$ii$  = homozygotes genotype

$ij$  = heterozygotes genotype

การคำนวณหา Expected frequency (Pasteur N. & Pasteur G., 1988)

1. เมื่อเป็น homozygotes genotype

$$E_i = N(X_i)^2$$

เมื่อ  $E_i$  = Expected frequency ของ phenotype i

$X_i$  = Alleles frequency ของ allele i

$N$  = จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

2. เมื่อเป็น heterozygote genotype

$$E_i = 2N X_1 X_2$$

เมื่อ  $E_i$  = Expected frequency ของ phenotype i

$X_1, X_2$  = Alleles frequency ของ allele 1, 2

$N$  = จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

การคำนวณหาค่า Gene frequency ของ PGM<sub>1</sub> ในประเทศไทย

จำนวน gene ทั้งหมด เท่ากับ  $2n = 2 \times 250 = 500$

จากจำนวนตัวอย่างของแต่ละ phenotype ที่ตรวจพบได้ดังตารางที่ 2 นำมาคำนวณ

$$\text{จำนวน PGM}_1^{1+} = (2 \times 88) + (30) + (64) + (28) = 298$$

$$\text{Frequency} = 298 / 500 = 0.596$$

$$\text{จำนวน PGM}_1^{1-} = (2 \times 10) + (30) + (4) + (9) = 63$$

$$\text{Frequency} = 63 / 500 = 0.126$$

$$\text{จำนวน PGM}_1^{2+} = (2 \times 30) + (64) + (4) + (7) = 81$$

$$\text{Frequency} = 81 / 500 = 0.162$$

$$\text{จำนวน PGM}_1^{2-} = (2 \times 7) + (28) + (9) + (7) = 58$$

$$\text{Frequency} = 58 / 500 = 0.116$$

ตารางที่ 12 การคำนวณ Expected frequency และ  $\chi^2$  ของ PGM<sub>1</sub> ในประชากรไทย

Expected frequency ได้จาก (gene frequency)<sup>2</sup> x จำนวนตัวอย่าง (n)

$$\chi^2 = \frac{(\text{Observed frequency} - \text{Expected frequency})^2}{\text{Expected frequency}}$$

Expected frequency

Phenotypes	Observed frequency	Expected frequency	$\chi^2$
1+	88	$(0.596)^2 \times 250 = 88.80$	$\frac{(88-88.80)^2}{88.80} = 0.0072$
1+1-	30	$2 \times 0.596 \times 0.126 \times 250 = 37.55$	$\frac{(30-37.55)^2}{37.55} = 1.5180$
1-	10	$(0.126)^2 \times 250 = 3.97$	$\frac{(10-3.97)^2}{3.97} = 9.1589$
1+2+	64	$2 \times 0.596 \times 0.162 \times 250 = 48.28$	$\frac{(64-48.28)^2}{48.28} = 5.1184$
1+2-	28	$2 \times 0.596 \times 0.116 \times 250 = 34.57$	$\frac{(28-34.57)^2}{34.57} = 1.2486$
1-2+	4	$2 \times 0.126 \times 0.162 \times 250 = 10.21$	$\frac{(4-10.21)^2}{10.21} = 3.7771$
1-2-	9	$2 \times 0.126 \times 0.116 \times 250 = 7.31$	$\frac{(9-7.31)^2}{7.31} = 0.3907$

ตารางที่ 12 (ต่อ)

Phenotypes	Observed frequency	Expected frequency	$\chi^2$
2+	3	$(0.162)^2 \times 250 = 6.56$	$(3-6.56)^2 = 1.9319$ 6.56
2+2-	7	$2 \times 0.162 \times 0.116 \times 250 = 9.39$	$(7-9.39)^2 = 0.6083$ 9.39
2-	7	$(0.116)^2 \times 250 = 3.36$	$(7-3.36)^2 = 3.9433$ 3.36
Total	250	250	27.7024

การคำนวณค่า Gene frequency ของ EAP ในประชากรไทย

$$\text{จำนวน Gene ทั้งหมด เท่ากับ } 2n = 2 \times 250 = 500$$

จากจำนวนตัวอย่างของแต่ละ phenotype ที่ตรวจพบได้ดังตารางที่ 3 นำมาคำนวณ

$$\text{จำนวน gene A} = (2 \times 22) + (102) = 146$$

$$\text{Frequency} = 146 / 500 = 0.292$$

$$\text{จำนวน gene B} = (2 \times 126) + (102) = 354$$

$$\text{Frequency} = 354 / 500 = 0.708$$



ตารางที่ 13 การคำนวณ Expected frequency และ  $\chi^2$  ของ EAP ในประชากรไทย

Phenotypes	Observed frequency	Expected frequency	$\chi^2$
A	22	$(0.292)^2 \times 250 = 21.31$	$(22-21.31)^2 = 0.0223$ 21.31
B	126	$(0.708)^2 \times 250 = 125.32$	$(126-125.32)^2 = 0.0037$ 125.32
BA	102	$2 \times 0.292 \times 0.708 \times 250 = 103.37$	$(102-103.37)^2 = 0.0182$ 103.37
Total	250	250	0.0442

การคำนวณหาค่า Gene frequency ของ EsD ในประชากรไทย

$$\text{จำนวน gene ทั้งหมด เท่ากับ } 2n = 2 \times 250 = 500$$

จากจำนวนตัวอย่างของแต่ละ phenotype ที่ตรวจพบได้ดังตารางที่ 4 นำมาคำนวณ

$$\text{จำนวน EsD}^1 = (2 \times 140) + (62) + (20) = 344$$

$$\text{Frequency} = 344 / 500 = 0.688$$

$$\text{จำนวน EsD}^2 = (2 \times 45) + (62) + (1) = 153$$

$$\text{Frequency} = 153 / 500 = 0.306$$

$$\text{จำนวน EsD}^5 = 2 + 1 = 3$$

$$\text{Frequency} = 3 / 500 = 0.006$$

ตารางที่ 14 การคำนวณ Expected frequency และ  $\chi^2$  ของ EsD ในประชากรไทย

Phenotypes	Observed frequency	Expcccted frequency	$\chi^2$
1	140	$(0.688)^2 \times 250 = 118.34$	$(140-118.34)^2 = 3.9645$ 118.34
2	45	$(0.306)^2 \times 250 = 23.41$	$(45-23.41)^2 = 19.9145$ 23.41
2.1	62	$2 \times 0.688 \times 0.306 \times 250 = 105.26$	$(62-105.26)^2 = 17.7791$ 105.26
5.1	2	$2 \times 0.688 \times 0.006 \times 250 = 2.07$	$(2-2.07)^2 = 0.0024$ 2.07
5.2	1	$2 \times 0.306 \times 0.006 \times 250 = 0.92$	$(1-0.92)^2 = 0.0069$ 0.92
Total	250	250	41.6644

การคำนวณ Discriminating power ของ PGM<sub>1</sub>, EAP และ EsD ในประชากรไทย

$$\text{จาก DP} = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

เมื่อ DP = อำนาจในการจำแนก (Discriminating power)

n = จำนวน phenotypes ของเอนไซม์หนึ่ง ๆ

P<sub>i</sub> = ความถี่ของการตรวจพบแต่ละ phenotype ของ  
เอนไซม์นั้นในประชากรหนึ่ง

$$\text{จาก DP รวม} = 1 - \left[ \frac{N}{\sum_{j=1}^n P_j} \right] \quad (\text{Jones, 1972})$$

เมื่อ N = จำนวนเอนไซม์ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้

$$P_j = \sum_{i=1}^n p_i^2$$

ดังนั้น ค่า DP ของ PGM<sub>1</sub>, EAP และ EsD ในประชากรไทย เท่ากับ

$$\text{PGM}_1 = 1 - [(0.35)^2 + (0.15)^2 + (0.02)^2 + (0.19)^2 + (0.13)^2 + (0.04)^2 + (0.03)^2 + (0.03)^2 + (0.04)^2 + (0.01)^2]$$

$$= 1 - 0.21 = 0.79$$

$$\text{EAP} = 1 - [(0.09)^2 + (0.50)^2 + (0.41)^2]$$

$$= 1 - 0.43 = 0.57$$

$$\text{EsD} = 1 - [(0.47)^3 + (0.09)^2 + (0.42)^2 + (0.008)^2 + (0.004)^2]$$

$$= 1 - 0.41 = 0.59$$

และ ค่า รวมของ  $PGM_1$  , EAP และ EsD คือ

$$DP = 1 - ( 0.21 \times 0.43 \times 0.41 )$$

$$= 0.96$$

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวสมพร โชติเกษมสุข เกิดวันที่ 31 สิงหาคม 2507 สำเร็จการศึกษาปริญญา  
การศึกษาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์กายภาพ-ชีวภาพ) คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
ศรีนครินทรวิโรฒ เมื่อปี 2530

