

ตารางที่ 1 แสดงตำแหน่งและลำดับของ primer ที่ใช้สำหรับ PCR amplification และ sequence determination.

Number	Primer position	Primer sequence
446	(-109)-(-90)	5'-GCTTCTCGTGAAAACCAACC-3'
448	(496)-(516)	5'-TTAGCAGCATGTATTGTTGCC-3'
449	(473)-(492)	5'-CACTGTCTAGAGCAGAACTC-3'
450	(157)-(176)	5'-AAACAGAGAGGGCCACTTCC-3'
451	(-104)-(-83)	5'-TCGTGAAAACCAACCCAATTAG-3'
452	(166)-(186)	5'-CCTCTCTGTTTCTCTTCTTCC-3'

*อ้างอิงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ human PTH gene ของ Vasicek และคณะ (1983).

การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในหลอดทดลอง (DNA amplification)

ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากชิ้นตอนที่แล้วจะนำมาเพิ่มจำนวนโดยวิธี PCR โดย thermal cycle สำหรับ amplification ประกอบด้วย denaturation ที่ 94 °C นาน 1 นาที, annealing ที่ 50 °C นาน 2 นาที, และ extension ที่ 72 °C นาน 3 นาที จำนวน 30 รอบ [(94:1m-50:2m-72:3m)₃₀] โดยก่อนที่จะเริ่ม thermal cycle สำหรับ PCR amplification จะต้มสารละลาย PCR mixture ที่ 94 °C นาน 5 นาที ก่อนแล้วจึงเติม Taq DNA polymerase หลังจากสิ้นสุดกระบวนการ PCR amplification จะทำการตรวจสอบ PCR product ด้วย 5% Polyacrylamide gel electrophoresis และย้อมขึ้นดีเอ็นเอด้วย Silver staining

การเตรียม single strand DNA

หลังจากสิ้นสุดการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในขั้นตอนที่แล้ว ดีเอ็นเอที่ได้จะเป็นดีเอ็นเอเส้นคู่ (double strand DNA; dsDNA) ซึ่งจะต้องนำมาทำให้เป็นดีเอ็นเอเส้นเดี่ยว (single strand DNA; ssDNA) ก่อน ตามวิธีของ Hashimoto et al. (1996) โดยใช้ avidin-coated magnetic beads (Dyna beads) ร่วมกับ biotinylated primer จากขั้นตอนที่แล้วใน dsDNA ที่เพิ่มจำนวนได้นั้น จะมีดีเอ็นเออยู่หนึ่งเส้นที่มีส่วนปลายเชื่อมอยู่กับสาร biotin เพราะ primer ที่ใช้ (primer 446) เป็น biotinylated primers ทำให้ dsDNA นั้น ๆ สามารถจับกับ avidin ที่ยึดติดอยู่กับ magnetic beads ได้ (avidin-coated magnetic beads) หลังจากนั้น จะทำการ alkalization dsDNA ด้วย 0.1 N NaOH เพื่อให้ได้ ssDNA 2 เส้น ซึ่ง ssDNA เส้นหนึ่งจะยึดอยู่กับ avidin-coated magnetic bead และตกตะกอนอยู่ที่ก้นหลอด ในขณะที่อีกเส้นหนึ่งจะลอยอยู่เป็นอิสระในส่วนของ supernatant แยก ssDNA ทั้งสองส่วนออกจากกันและนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

การวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ (Sequence determination)

PCR สำหรับการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ทำโดยใช้ cycle sequencing kit ที่ผลิตโดยบริษัท Applied Biosystems Inc., Japan และตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ Shimadzu fluorescent automatic sequencer DSQ-1 โดยเริ่มจากต้มสารละลาย PCR mixture ที่ 94 °C นาน 3 นาที ก่อนในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอสำหรับการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์นั้น ประกอบด้วย thermal cycle 3 ชุด ดังนี้

ชุดแรก ประกอบด้วย denaturation ที่ 94 °C นาน 30 วินาที annealing ที่ 53-55 °C นาน 50 วินาทีและ extension ที่ 72 °C นาน 80 วินาที จำนวน 20 รอบ

ชุดที่สอง ประกอบด้วย denaturation ที่ 94 °C นาน 30 วินาที และ extension ที่ 72 °C นาน 60 วินาที จำนวน 20 รอบ

ชุดที่สาม incubation ที่ 72 °C นาน 10 นาที

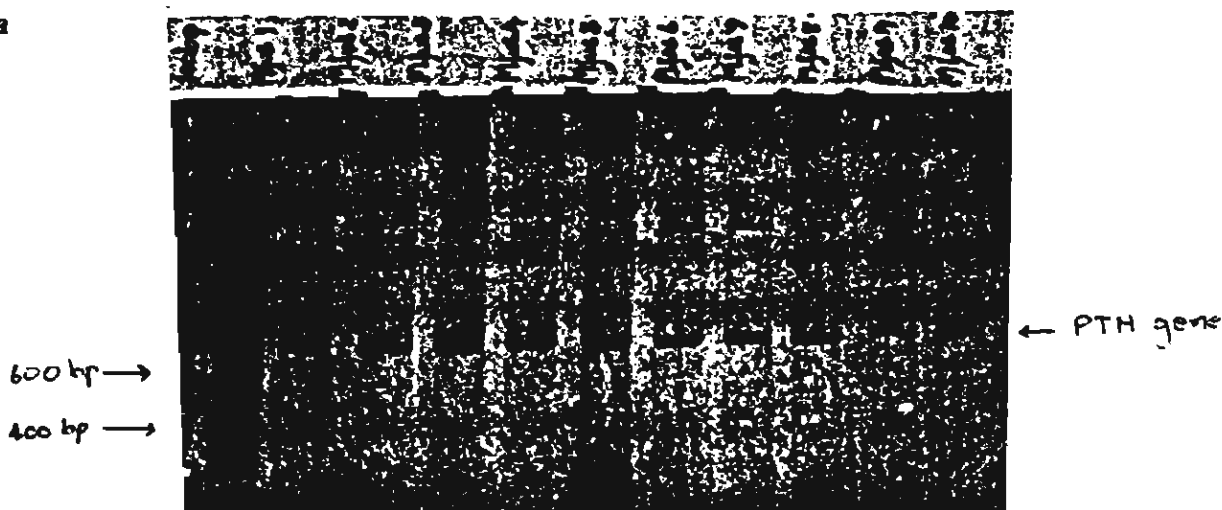
[94:3m-(94:30s-53:50s-72:80s)₂₀-(94:30s-72:60s)₂₀-72-10m]

ลำดับนิวคลีโอไทด์ได้จากShimadzu fluorescent automatic sequencer DSQ-1 นำไปวิเคราะห์หาความคล้ายคลึงโดยโปรแกรม DNAsis (Software Co., USA) และนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการของไพรเมททั้ง 9 ชนิด และค่า genetic distance โดยใช้ PTH sequence ของคนเป็น outgroup โดยใช้คอมพิวเตอร์โปรแกรม PAUP version 3.11 (Swofford, 1993) ซึ่งวิเคราะห์แบบ parsimony โดยใช้ Heuristic Methods ในการหา optimal tree และคำนวณ bootstrap frequency ในการสนับสนุน tree ที่หามาได้

ผลการทดลอง

ดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้ในหลอดทดลอง (DNA amplification of PTH gene)

จากการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของ PTH gene ในหลอดทดลองโดยใช้ primer หมายเลข 446 และ 448 ในไพรเมททั้ง 9 ชนิด พบว่าดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดประมาณ 550 คู่เบส ดังแสดงในรูปที่ 4 รูปที่ 4. แสดงขนาดของ PTH gene ที่เพิ่มจำนวนได้ในหลอดทดลองของ *Macaca fascicularis* และ *M. fuscata*



ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene

(Nucleotide sequence and deduced amino acid sequence of PTH gene)

จากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ประมาณ 550 คู่เบสของไพรเมททั้ง 9 ชนิด เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH genomic DNA ของคน (Vasicek et al., 1983) และ PTH gene ของลิงตระกูล *Macaca* (Malaivijitmond and Takenaka, 1998) พบว่าประกอบด้วย intron 1 ส่วนและ exon 2 ส่วน โดย intron ที่ได้มีขนาดเท่ากับ 103 คู่เบสจะแบ่ง exon ออกเป็น 2 ส่วน และในตำแหน่งที่ intron แบ่ง exon ออกเป็น 2 ส่วนนั้นเป็นไปตามกฎ “GT-AG rule at the splicing junction” นั่นคือส่วนต้นของแต่ละ exon จะพบเบส “ag” และส่วนปลายของแต่ละ exon จะพบเบส “gt” (รูปที่ 6-14, แสดงโดยตัวอักษรหนา)

exon ที่ได้ทั้ง 2 ส่วน เมื่อเทียบกับ PTH genomic DNA ของคน (Vasicek et al., 1983) และ PTH gene ของลิงตระกูล *Macaca* (Malaivijitmond and Takenaka, 1998) พบว่าเป็นส่วนของ Exon II และ Exon III โดยส่วนของ Exon II ประกอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ 91 คู่เบส ที่ประกอบไปด้วย 5 คู่เบสจาก 5' untranslated region, 75 คู่เบสที่สามารถอนุมานได้เป็น pre-sequence ของ prepro-PTH และ 11 คู่เบสสุดท้ายที่สามารถอนุมานได้เป็น 4 กรดอะมิโนของ pro-sequence ของ prepro-PTH Exon III ประกอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ 269-317 คู่เบส ที่ประกอบไปด้วย 7 คู่เบสที่สามารถอนุมานได้เป็น 2 กรดอะมิโนที่เหลือของ pro-sequence ของ prepro-PTH, 252 คู่เบสที่สามารถอนุมานได้เป็น 84 กรดอะมิโนของ PTH และ 41-61 คู่เบสสุดท้ายของ 3'-untranslated region ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า Exon II และ Exon III ของ PTH gene สามารถอนุมานได้เป็น 115 กรดอะมิโนของ prepro-PTH ที่ประกอบไปด้วย 25 กรดอะมิโนของ pro-sequence, 6 กรดอะมิโนของ pre-sequence และ 84 กรดอะมิโนของ PTH ดังรูปที่ 5

รูปที่ 5. แสดงตำแหน่งของ PTH gene บริเวณ Exon II และ Exon III ที่มีการถอดและแปลรหัสได้เป็นส่วนต่าง ๆ ของ prepro-PTH



รูปที่ 6. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน Black-capped capuchin (*Cebus apella*; Cape) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข "1" แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

-30      -20      -10      1      10      20
:         :         :         .         :         :
ttttaaacctccattttgcttttcttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GAC ATG GCT
Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala

30      40      50      60      70
:         :         :         :         :
AAA GTA ATG ATT GTC ATG TTG GCC ATT TGT TTT CTT ACA AAA TCG GAT GGG AAA
Lys Val Met Ile Val Met Leu Ala Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys
80      90      100     110     120     130     140
:         :         :         :         :
TCT GTT AA gtaagtactgttttgccctgggaattggattttaatgttggctttatcatttagaagtgggg
Ser Val Ly

150     160     170     180     190     200     210
:         :         :         :         :         :
agctaattgggaaatggccccctctgtttctcttcttcccag G AGG AGA TCT GTG AGT GAA ATA
s Arg Arg Ser Val Ser Glu Ile

220     230     240     250     260
:         :         :         :         :
CAG CTT ATG CAC AAC CTG GCA AAA CAT CTG AAC TCG ATG GAG AGA GTA GAA TGG
Gln Leu Met His Asn Leu Ala Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp

270     280     290     300     310
:         :         :         :         :
CTG CGT AAG AAA CTG CAG GAT GTG CAC AAT TTT GTT GCC CTT GGA ACT CCT CTA
Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His Asn Phe Val Ala Leu Gly Thr Pro Leu

320     330     340     350     360     370
:         :         :         :         :
GTT CCC AGA GAT GCT GGT TCT GAC AGG CCC AGA AGA AAG GAA GAC AAT GTC CTG
Val Pro Arg Asp Ala Gly Ser Asp Arg Pro Arg Arg Lys Glu Asp Asn Val Leu

380     390     400     410     420
:         :         :         :         :
GCT GAG AGC CAT GAA AAA AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG GAT GTA
Ala Glu Ser His Glu Lys Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asp Val

430     440     450     460     470     480
:         :         :         :         :
TTA ACT AAA GCT AAA TCC CAA TGA AAAGGAAAACAAATATGGTCAGAGTTCTGCTCTAGACAG
Leu Thr Lys Ala Lys Ser Gln ***

490     500
:         :
TGTAGGGCAACAATACAT

```

รูปที่ 7. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน Common marmoset (*Callithrix jacchus*; Cjac) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข “1” แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

-80      -70      -60      -50      -40      -30      -20
:        :        :        :        :        :        :
ccaattagtactattacattactatagtttgaaatattaaaaatctttttaaatacctccatttttgctt

-10      1        10      20      30      40
:        :        :        :        :        :
ttcttttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GAC ATG GCT AAA GTA ATG ATT GTC ATG
Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala Lys Val Met Ile Val Met

50      60      70      80      90
:        :        :        :        :
TTG GCA ATT TGT TTT CTT ACA AAA TCG GAT GGG AAA TCT GTT AA gtaagtactgttt
Leu Ala Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Ly

100     110     120     130     140     150     160     170
:        :        :        :        :        :        :
tgccctgggaattggattttaaattgttggtttatcatttagaagtggggagctaattgggaaatggccccctc

180     190     200     210     220
:        :        :        :        :
tgttttctcttcttccag G AAG AGA TCT GTG AGT GAA ATA CAG CTT ATG CAC AAT CTG
s Lys Arg Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu

230     240     250     260     270     280
:        :        :        :        :        :
GGA AAA CAT CTG AAC TCG ATG GAG AGA GTA GAA TGG CTA CGT AAG AAG CTG CAG
Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln

290     300     310     320     330
:        :        :        :        :
GAT GTG CAC AAT TTT GTT GCC CCT GGT ACT CCT CTA GTT CCC AGA GAT GCT GGT
Asp Val His Asn Phe Val Ala Pro Gly Thr Pro Leu Val Pro Arg Asp Ala Gly

340     350     360     370     380     390
:        :        :        :        :        :
TCC CAA AGG CCC CGA AGA AAG GAA GAC AAT GTC CTG GTT GAG AGC CAT GAA AAA
Ser Gln Arg Pro Arg Arg Lys Glu Asp Asn Val Leu Ala Glu Ser His Glu Lys

400     410     420     430     440
:        :        :        :        :
AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG GAT GTA TTA ACT AAA GCT AAA TCC
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asp Val Leu Thr Lys Ala Lys Ser

450
:
CAA TGA AAAGGAAAA
Gln ***

```

รูปที่ 8. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุমানได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน Cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*; Soed) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข "1" แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

-80      -70      -60      -50      -40      -30      -20
  :       :       :       :       :       :       :
caacccaatgttactattactatagtttgaaatcnaaaaatatttttaaatacctccattttgctt

-10      1      10      20      30      40
  :       :       :       :       :       :
ttcttttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GAC ATG GCT AAA GTA ATG ATT GTC ATG
Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala Lys Val Met Ile Val Met

50      60      70      80      90
  :       :       :       :       :
TTG GCA ATT TGT TCT CTT ACA AAA TCG GAT GGG AAA TCT GTT GA gtaagtactgttt
Leu Ala Ile Cys Ser Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Gl

100     110     120     130     140     150     160     170
  :       :       :       :       :       :       :
tgcctgggaattggattttaatgttggctttatcatttagaagtggggagctaatgggaaatggccccctc

180     190     200     210     220
  :       :       :       :       :
tgtttctcttcttcccag G AAG AGA TCT GTG AGT GAA ATA CAG CTT ATG CAC AAC CTG
u Lys Arg Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu

230     240     250     260     270     280
  :       :       :       :       :       :
GGA AAA CAT CTG AAC TCT ATG GAG AGA GTA GAA TGG CTA CGT AAG AAG CTG CAG
Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln

290     300     310     320     330
  :       :       :       :       :
GAT GTG CAC AAT TTT GTT GCC CTT GGT ACT CCT CTA GTT CCC AGA GAT GCT GGT
Asp Val His Asn Phe Val Ala Leu Gly Thr Pro Leu Val Pro Arg Asp Ala Gly

340     350     360     370     380     390
  :       :       :       :       :       :
TCC CAA AGA CCC CGA AGA AAG GAA GAC AAT GTC CTG GTT GAG AGC CAT GAA AAA
Ser Gln Arg Pro Arg Arg Lys Glu Asp Asn Val Leu Val Glu Ser His Glu Lys

400     410     420     430     440
  :       :       :       :       :
AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG GAT GTA TTA ACT AAA GCT AAA TCC
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asp Val Leu Thr Lys Ala Lys Ser

450     460     470     480     490     500
  :       :       :       :       :
CAA TGA AAAGGAAAACACTTATGGTCAGAGTTCTGCTCTAGACAGTGTAGGGCAACAATACA
Gln ***

```

รูปที่ 9. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน Japanese monkey (*Macaca fuscata*; Mfus) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข “1” แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

                -50      -40      -30      -20
                :       :       :       :
            ttttgaatattaaaagtatttttaaaatacctccattttgcct

-10      1      10      20      30      40
:       :       :       :       :
ttccttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GAC ATG GCT AAA GTA ATG ATT GTC ATG
Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala Lys Val Met Ile Val Met

50      60      70      80      90
:       :       :       :       :
TTG GCA ATT TGC TTT CTT ACA AAA TCA GAT GGG AAA TCT GTT AA gtaagtactgttt
Leu Ala Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Ly

100     110     120     130     140     150     160     170
:       :       :       :       :       :       :
tgcctgggaattggatttttaatatgatgactttatcattttgaagtggggagctaagtgggaagtggccctctc

180     190     200     210     220
:       :       :       :       :
tgtttctcttcttccag G AAG AGA TCT GTG AGT GAA ATA CAG CTT ATG CAT AAC CTG
s Lys Arg Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu

230     240     250     260     270     280
:       :       :       :       :       :
GGA AAA CAT CTG AAC TCG ATG GAG AGA GTA GAA TGG CTG CGT AAG AAG CTG CAG
Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln

290     300     310     320     330
:       :       :       :       :
GAT GTG CAC AAT TTT ATT GCC CTT GGA GCT CCT CTA GCT CCC AGA GAT GCT GGT
Asp Val His Asn Phe Ile Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly

340     350     360     370     380     390
:       :       :       :       :       :
TCC CAG AGG CCC CGA AAA AAG GAA GAC AAT ATC TTG GTA GAG AGC CAT GAA AAA
Ser Gln Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Ile Leu Val Glu Ser His Glu Lys

400     410     420     430     440
:       :       :       :       :
AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG GAT GTA TTA ACT AAA GCT AAA TCC
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asp Val Leu Thr Lys Ala Lys Ser

450     460     470     480     490
:       :       :       :       :
CAA TGA AAATGAAAATAGATATGGTCAGAGTTCTGCTCTAGACAGTGTAG
Gln ***

```

รูปที่ 10. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน *Cynomolgus monkey* (*Macaca fascicularis*; Mfas) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข "1" แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

-90
:
ccaat

-80      -70      -60      -50      -40      -30      -20
:        :        :        :        :        :
tagttagtattgcattctgtgtactatagttttgaatattaaaagtattttaaaatacctccattttgcct

-10      1      10      20      30      40
:        :        :        :        :        :
ttccttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GAC ATG GCT AAA GTA ATG ATT GTC ATG
Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala Lys Val Met Ile Val Met

50      60      70      80      90
:        :        :        :        :
TTG GCA ATT TGC TTT CTT ACA AAA TCA GAT GGG AAA TCT GTT AA gtaagtactgttt
Leu Ala Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Ly

100      110      120      130      140      150      160      170
:        :        :        :        :        :
tgcctgggaattggatttttaaatgatgactttatcattttgaagtggggagctaattgggaagtggccctctc

180      190      200      210      220
:        :        :        :        :
tgtttctcttcttcccag G AAG AGA TCT GTG AGT GAA ATA CAG CTT ATG CAT AAC CTG
s Lys Arg Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu

230      240      250      260      270      280
:        :        :        :        :
GGA AAA CAT CTG AAC TCG ATG GAG AGA GTA GAA TGG CTG CGT AAG AAG CTG CAG
Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln

290      300      310      320      330
:        :        :        :        :
GAT GTG CAC AAT TTT ATT GCC CTT GGA GCT CCT CTA GCT CCC AGA GAT GCT GGT
Asp Val His Asn Phe Ile Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly

340      350      360      370      380      390
:        :        :        :        :
TCC CAG AGG CCC CGA AAA AAG GAA GAC AAT ATC TTG GTA GAG AGC CAT GAA AAA
Ser Gln Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Ile Leu Val Glu Ser His Glu Lys

400      410      420      430      440
:        :        :        :        :
AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG GAT GTA TTA ACT AAA GCT AAA TCC
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asp Val Leu Thr Lys Ala Lys Ser

450      460      470
:        :        :
CAA TGA AAATGAAAATAGATATGGTCAGAG
Gln ***

```

รูปที่ 11. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน Vervet monkey (*Cercopithecus aethiops*; Caet) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข “1” แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

                                -90
                                :
                                ccaacccaat
-80      -70      -60      -50      -40      -30      -20
:         :         :         :         :         :
tagttagtattgcattctgtgtactatagttttgaatattaaaagtatttttaaaatacctccattttgcct

-10      1      10      20      30      40
:         :         :         :         :         :
ttccttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GAC ATG GCT AAA GTA ATG ATT GTC ATG
               Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala Lys Val Met Ile Val Met

50      60      70      80      90
:         :         :         :         :
TTG GCA ATT TGT TTT CTT ACA AAA TCA GAT GGG AAA TCT GTT AA gtaagtactgttt
Leu Ala Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Ly

100     110     120     130     140     150     160     170
:         :         :         :         :         :         :
tgacctgggaattggatttttaattgttgactttatcattttgaagtggggagctaattgggaagtggccctctc

180     190     200     210     220
:         :         :         :         :
tatttctcttcttccag G AAG AGA TCT GTG AGT GAA ATA CAG CTT ATG CAT AAC CTG
                   s Lys Arg Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu

230     240     250     260     270     280
:         :         :         :         :         :
GCA AAA CAT CTG AAC TCG ATG GAG AGA GTA GAA TGG CTG CGT AAG AAG CTG CAG
Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln

290     300     310     320     330
:         :         :         :         :
GAT GTG CAC AAT TTT ATT GCC CTT GGA GCT CCT CTA GCT CCC AGA GAT GCT GGT
Asp Val His Asn Phe Ile Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly

340     350     360     370     380     390
:         :         :         :         :         :
TCC CAG AGG CCC CGA AAA AAG GAA GAC AAT ATC TTG GTT GAG AGC CAT GAA AAA
Ser Gln Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Ile Leu Val Glu Ser His Glu Lys

400     410     420     430     440
:         :         :         :         :
AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG GAT GTA TTA ACT AAA GCT AAA TCC
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asp Val Leu Thr Lys Ala Lys Ser

450     460     470     480     490     500
:         :         :         :         :         :
CAA TGA AAATGAAAATAGATACGGTCAGAGCTCTGCTCTAGACAGTGTAGGGCAACAAT
Gln ***

```

รูปที่ 12. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน White-handed gibbon (*Hylobates lar*, Hlar) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข “1” แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

                -60      -50      -40      -30      -20
                :        :        :        :        :
            tctgtgtactatagtttggaatattaaaaatatttttaaacctccattttgctt

-10      1      10      20      30      40
:        :        :        :        :
gtccttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GAC ATG GCT AAA GTA ATG ATT GTC ATG
Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala Lys Val Met Ile Val Met

        50      60      70      80      90
        :        :        :        :        :
TTG GCA ATT TGT TTT CTT ACA AAA TCG GAT GGG AAA TCT GTT AA gtaagtactgttt
Leu Ala Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Ly

100      110      120      130      140      150      160      170
:        :        :        :        :        :        :
tgccttggaattggatttttaatgttgactttatcatttcgaagtggggagctaataagggaagcgccctctc

        180      190      200      210      220
        :        :        :        :        :
tgtttctcttcttcccaag G AAG AGA TCT GTG AGT GAA ATA CAG CTT ATG CAT AAC CTG
s Lys Arg Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu

230      240      250      260      270      280
:        :        :        :        :        :
GGA AAA CAT CTG AAC TCG ATG GAG AGA GTA GAA TGG CTG CGT AAG AAG CTG CAG
Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln

        290      300      310      320      330
        :        :        :        :        :
GAT GTG CAC AAT TTT GTT GCC CTT GGA GCT CCT CTA GCT CCC AGA GAT GCT GGT
Asp Val His Asn Phe Val Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly

        340      350      360      370      380      390
:        :        :        :        :        :
TCC CAG AGG CCC CGA AAA AAG GAA GAC AAT GTC TTG GTT GAG AGC CAT GAA AAA
Ser Gln Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Val Leu Val Glu Ser His Glu Lys

        400      410      420      430      440
        :        :        :        :        :
AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG GAT GTA TTA ACT AAA GCT AAA TCC
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asp Val Leu Thr Lys Ala Lys Ser

        450      460
        :        :
CAA TGA AAATGAAACAGA
Gln ***

```

รูปที่ 13. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน Orang-utan (*Pongo pygmeus*; Ppyg) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข “1” แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

                -60      -50      -40      -30      -20
                :       :       :       :       :
            tctgtgtactatagtttgggaatattaaaaatattttaaaaatacctccattttgctt

-10      1      10      20      30      40
:       :       :       :       :
gtccttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GGC ATG GCT AAA GTA ATG ATT GTC ATG
Met Ile Pro Ala Lys Gly Met Ala Lys Val Met Ile Val Met

50      60      70      80      90
:       :       :       :       :
TTG GCA ATT TGT TTT CTT ACA AAA TCG GAT GGG AAA TCT GTT AA gtaagtactgttt
Leu Ala Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Ly

100     110     120     130     140     150     160     170
:       :       :       :       :       :       :
tgccttgggaattggatttttaatgttgactttatcatttcgaagtggggagctaatgggaagtggccctctc

180     190     200     210     220
:       :       :       :       :
tgtttctcttcttcccag G AAG AGA TCT GTG AGT GAA ATA CAG CTT ATG CAT AAC CTG
s Lys Arg Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu

230     240     250     260     270     280
:       :       :       :       :       :
GGA AAA CAT CTG AAC TCG ATG GAG AGA GTA GAA TGG CTG CGT AAG AAG CTG CAG
Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln

290     300     310     320     330
:       :       :       :       :
GAT GTG CAC AAT TTT GTT GCC CTT GGA GCT CCT CTA GCT CCC AGA GAT GCT GGT
Asp Val His Asn Phe Val Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly

340     350     360     370     380     390
:       :       :       :       :       :
TCC CAG AGG CCC CGA AAA AAG GAA GAC AAT GTC TTG GTT GAG AGC CAT GAA AAA
Ser Gln Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Val Leu Val Glu Ser His Glu Lys

400     410     420     430     440
:       :       :       :       :
AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG AAT GTA TTA ACT AAA GCT AAA TCC
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asn Val Leu Thr Lys Ala Lys Ser

450     460     470     480     490
:       :       :       :       :
CAG TGA AAATGAAAACAGATATGGTCAGAGTTCTGCTCTAGACAGTGTAGGG
Gln ***

```

รูปที่ 14. แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนที่อนุมานได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ใน Chimpanzee (*Pan troglodytes*; Pro) อักษรตัวพิมพ์ใหญ่หมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ mRNA และอักษรตัวพิมพ์เล็กหมายถึงลำดับนิวคลีโอไทด์ของ flanking และ intervening DNA sequence เลข “1” แสดงตำแหน่งเริ่มต้นของการแปลรหัสของ prepro-PTH

```

      -70      -60      -50      -40      -30      -20
      :        :        :        :        :        :
cattctgtgtactatagtttggaaatatttttaaaatacctccattttgctt

-10      1      10      20      30      40
:        :        :        :        :        :
gtccttttagTGAAG ATG ATA CCT GCA AAA GAC ATG GCT AAA GTT ATG ATT GTC ATG
Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala Lys Val Met Ile Val Met

50      60      70      80      90
:        :        :        :        :
TTG GCA ATT TGT TTT CTT ACA AAA TCG GAT GGG AAA TCT GTT AA gtaagtactgttt
Leu Ala Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Ly

100     110     120     130     140     150     160     170
:        :        :        :        :        :        :
tgccttggaaattggatttttaatgttgactttatcatttcgaagtggggagctaataagggaagtggccctctc

180     190     200     210     220
:        :        :        :        :
tgtttctcttcttcccag G AAG AGA TCT GTG AGT GAA ATA CAG CTT ATG CAT AAC CTG
s Lys Arg Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu

230     240     250     260     270     280
:        :        :        :        :        :
GGA AAA CAT CTG AAC TCG ATG GAG AGA GTA GAA TGG CTG CGT AAG AAG CTG CAG
Gly Lys His Leu Asn Ser Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln

290     300     310     320     330
:        :        :        :        :
GAT GTG CAC AAT TTT GTT GCC CTT GGA GCT CCT CTA GCT CCC AGA GAT GCT GGT
Asp Val His Asn Phe Val Ala Leu Gly Ala Pro Leu Ala Pro Arg Asp Ala Gly

340     350     360     370     380     390
:        :        :        :        :        :
TCC CAG AGG CCC CGA AAA AAG GAA GAC AAT GTC TTG GTT GAG AGC CAT GAA AAA
Ser Gln Arg Pro Arg Lys Lys Glu Asp Asn Val Leu Val Glu Ser His Glu Lys

400     410     420     430     440
:        :        :        :        :
AGT CTT GGA GAG GCA GAC AAA GCT GAT GTG AAT GTA TTA ACT AAA GCT AAA TCC
Ser Leu Gly Glu Ala Asp Lys Ala Asp Val Asn Val Leu Thr Lys Ala Lys Ser

450     460     470
:        :        :
CAG TGA AATGAAACAGATATTGTCAGAGT
Gln ***

```

ค่าความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene

(Homology of the nucleotide sequences of PTH gene)

เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาหาค่าความคล้ายคลึง โดยโปรแกรม DNAsis และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของคน (Vasicek et al., 1983) มาเปรียบเทียบกับ สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 15

รูปที่ 15. แสดงความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ในไพรเมททั้ง 9 ชนิด โดยนำเอาลำดับนิวคลีโอไทด์ของคน (Vasicek et al., 1983) มาเปรียบเทียบกับ เครื่องหมาย * แสดงตำแหน่งที่มีลำดับเบสคล้ายกัน, - แสดง gap

		10	20	30	40	50	
<i>C. apella</i>	1	-----TT	TTAAATACCT	CCATTTTGCT	TTTCTTTTTA	GTGAAGATGA	50
<i>C. jacchus</i>	1	AAAAATCT**	*****	*****	*****	*****	50
<i>S. oedipus</i>	1	*****A**	*****	*****	*****	*****	50
<i>M. fuscata</i>	1	****G*A**	*A*****	*****C	***C*****	*****	50
<i>M. fascicularis</i>	1	****G*A**	*A*****	*****C	***C*****	*****	50
<i>C. aethiops</i>	1	****G*A**	*A*****	*****C	***C*****	*****	50
<i>H. lar</i>	1	*****A**	*A****--**	*****	*G*****	*****	50
<i>P. pygmeus</i>	1	*****A**	*A*****	*****	*G*****	*****	50
<i>P. troglodytes</i>	1	*****A**	*A*****	*****	*G*****	*****	50
<i>H. sapiens</i>	1	*****A**	*A*****	*****	*A**C*****	*****	50
		60	70	80	90	100	
<i>C. apella</i>	51	TACCTGCAAA	AGACATGGCT	AAAGTAATGA	TTGTCATGTT	GGCCATTGTT	100
<i>C. jachus</i>	51	*****	*****	*****	*****	***A*****	100
<i>S. oedipus</i>	51	*****	*****	*****	*****	***A*****	100
<i>M. fuscata</i>	51	*****	*****	*****	*****	***A*****C	100
<i>M. fascicularis</i>	51	*****	*****	*****	*****	***A*****C	100
<i>C. aethiops</i>	51	*****	*****	*****	*****	***A*****	100
<i>H. lar</i>	51	*****	*****	*****	*****	***A*****	100
<i>P. pygmeus</i>	51	*****	**G*****	*****	*****	***A*****	100
<i>P. troglodytes</i>	51	*****	*****	*****T****	*****	***A*****	100
<i>H. sapiens</i>	51	*****	*****	*****T****	*****	***A*****	100
		110	120	130	140	150	
<i>C. apella</i>	101	TTTCTTACAA	AATCGGATGG	GAAATCTGTT	AAGTAAGTAC	TGTTTTGCCT	150
<i>C. jacchus</i>	101	*****	*****	*****	*****	*****	150
<i>S. oedipus</i>	101	*C*****	*****	*****	G*****	*****	150
<i>M. fuscata</i>	101	*****	***A*****	*****	*****	*****	150
<i>M. fascicularis</i>	101	*****	***A*****	*****	*****	*****	150
<i>C. aethiops</i>	101	*****	***A*****	*****	*****	*****	150
<i>H. lar</i>	101	*****	*****	*****	*****	*****	150
<i>P. pygmeus</i>	101	*****	*****	*****	*****	*****	150
<i>P. troglodytes</i>	101	*****	*****	*****	*****	*****	150
<i>H. sapiens</i>	101	*****	*****	*****	*****	*****	150
		160	170	180	190	200	
<i>C. apella</i>	151	GGGAATTGGA	TTTT-AATGT	TGGCTTTATC	ATTTAGAAGT	GGGGAGCTAA	200
<i>C. jacchus</i>	151	*****C****	****-*****	*****	*****	*****	200
<i>S. oedipus</i>	151	*****	****-*****	*****	*****	*****	200
<i>M. fuscata</i>	151	*****	****T****A	**A*****	****T*****	*****	200
<i>M. fascicularis</i>	151	*****	****T****A	**A*****	****T*****	*****	200
<i>C. aethiops</i>	151	*****	****T*****	**A*****	****T*****	*****	200
<i>H. lar</i>	151	T*****	****T*****	**A*****	****C*****	*****	200
<i>P. pygmeus</i>	151	T*****	****T*****	**A*****	****C*****	*****	200
<i>P. troglodytes</i>	151	T*****	****T*****	**A*****	****C*****	*****	200
<i>H. sapiens</i>	151	T*****	****T*****	**A*****	****C*****	*****	200
		210	220	230	240	250	
<i>C. apella</i>	201	TGGGAAATGG	CCCCCTCTGT	TTCTCTTCTT	CCCAGGAGGA	GATCTGTGAG	250
<i>C. jacchus</i>	201	*****	*****	*****	*****A**	*****	250
<i>S. oedipus</i>	201	*****	*****	*****	*****A**	*****	250
<i>M. fuscata</i>	201	*****G**	***T*****	*****	*****A**	*****	250

<i>M. fascicularis</i>	201	*****G***	***T*****	*****A**	*****A**	*****A**	250
<i>C. aethiops</i>	201	*****G***	***T***A*	*****A**	*****A**	*****A**	250
<i>H. lar</i>	201	*****GC**	***T*****	*****A**	*****A**	*****A**	250
<i>P. pygmeus</i>	201	*****G***	***T*****	*****A**	*****A**	*****A**	250
<i>P. troglodytes</i>	201	*****G***	***T*****	*****A**	*****A**	*****A**	250
<i>H. sapiens</i>	201	*****G***	***T*****	*****A**	*****A**	*****A**	250
		260	270	280	290	300	
<i>C. apella</i>	251	TGAAATACAG	CTTATGCACA	ACCTGGCAAA	ACATCTGAAC	TCGATGGAGA	300
<i>C. jacchus</i>	251	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	300
<i>S. oedipus</i>	251	*****G***	*****G***	*****G***	*****T*****	*****T*****	300
<i>M. fuscata</i>	251	*****T*	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	300
<i>M. fascicularis</i>	251	*****T*	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	300
<i>C. aethiops</i>	251	*****T*	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	300
<i>H. lar</i>	251	*****T*	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	300
<i>P. pygmeus</i>	251	*****T*	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	300
<i>P. troglodytes</i>	251	*****T*	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	300
<i>H. sapiens</i>	251	*****T*	*****G***	*****G***	*****G***	*****G***	300
		310	320	330	340	350	
<i>C. apella</i>	301	GAGTAGAATG	GCTGCGTAAG	AAACTGCAGG	ATGTGCACAA	TTTTGTTGCC	350
<i>C. jacchus</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****G*****	*****G*****	350
<i>S. oedipus</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****G*****	*****G*****	350
<i>M. fuscata</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****A*****	*****A*****	350
<i>M. fascicularis</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****A*****	*****A*****	350
<i>C. aethiops</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****A*****	*****A*****	350
<i>H. lar</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****A*****	*****A*****	350
<i>P. pygmeus</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****A*****	*****A*****	350
<i>P. troglodytes</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****A*****	*****A*****	350
<i>H. sapiens</i>	301	*****A*****	*****G*****	*****G*****	*****A*****	*****A*****	350
		360	370	380	390	400	
<i>C. apella</i>	351	CTTGGAAGTC	CTCTAGTTCC	CAGAGATGCT	GGTTCGACA	GGCCCAGAAG	400
<i>C. jacchus</i>	351	*C***T****	*****C***	*****CC*A*	*****C***	*****C***	400
<i>S. oedipus</i>	351	*****C***	*****C***	*****CC*A*	*A***C***	*A***C***	400
<i>M. fuscata</i>	351	*****G***	*****C***	*****CC*G*	*****C***A	*****C***A	400
<i>M. fascicularis</i>	351	*****G***	*****C***	*****CC*G*	*****C***A	*****C***A	400
<i>C. aethiops</i>	351	*****G***	*****C***	*****CC*G*	*****C***A	*****C***A	400
<i>H. lar</i>	351	*****G***	*****C***	*****CC*G*	*****C***A	*****C***A	400
<i>P. pygmeus</i>	351	*****G***	*****C***	*****CC*G*	*****C***A	*****C***A	400
<i>P. troglodytes</i>	351	*****G***	*****C***	*****CC*G*	*****C***A	*****C***A	400
<i>H. sapiens</i>	351	*****G***	*****C***	*****CC*G*	*****C***A	*****C***A	400
		410	420	430	440	450	
<i>C. apella</i>	401	AAAGGAAGAC	AATGTCCTGG	CTGAGAGCCA	TGAAAAAAGT	CTTGGAGAGG	450
<i>C. jacchus</i>	401	*****T*****	*****T*****	*****T*****	*****T*****	*****T*****	450
<i>S. oedipus</i>	401	*****T*****	*****T*****	*****T*****	*****T*****	*****T*****	450
<i>M. fuscata</i>	401	*****A**T**	TA*****	TA*****	TA*****	TA*****	450
<i>M. fascicularis</i>	401	*****A**T**	TA*****	TA*****	TA*****	TA*****	450
<i>C. aethiops</i>	401	*****A**T**	T*****	T*****	T*****	T*****	450
<i>H. lar</i>	401	*****T***	T*****	T*****	T*****	T*****	450
<i>P. pygmeus</i>	401	*****T***	T*****	T*****	T*****	T*****	450
<i>P. troglodytes</i>	401	*****T***	T*****	T*****	T*****	T*****	450
<i>H. sapiens</i>	401	*****T***	T*****	T*****	T*****	T*****	450
		460	470	480	490	500	
<i>C. apella</i>	451	CAGACAAAGC	TGATGTGGAT	GTATTAACCTA	AAGCTAAATC	CCAATGAAAA	500
<i>C. jacchus</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500
<i>S. oedipus</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500
<i>M. fuscata</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500
<i>M. fascicularis</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500
<i>C. aethiops</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500
<i>H. lar</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500
<i>P. pygmeus</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500
<i>P. troglodytes</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500
<i>H. sapiens</i>	451	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	*****A**	500

		510	520	530	540	550	
<i>C. apella</i>	501	GGAAACAAA	TATGGTCAGA	GTTCTGCTCT	AGACAGTGTA	GGGCAACAAT	550
<i>C. jacchus</i>	501	*****	-----	-----	-----	-----	550
<i>S. oedipus</i>	501	*****C*	*****	*****	*****	*****	550
<i>M. fuscata</i>	501	T*****T*G*	*****	*****	*****	*-----	550
<i>M. fascicularis</i>	501	T*****T*G*	*****	*-----	-----	-----	550
<i>C. aethiops</i>	501	T*****T*G*	**C*****	*C*****	*****	*****	550
<i>H. lar</i>	501	T*****-**G*	-----	-----	-----	-----	550
<i>P. pygmeus</i>	501	T*****G*	*****	*****	*****	*****	550
<i>P. troglodytes</i>	501	T*****-**G*	***T*****	*-----	-----	-----	550
<i>H. sapiens</i>	501	T*****G*	***T*****	*****	*****	*****	550

ค่าความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโนของ PTH gene

(Homology of the amino acid sequences of PTH gene)

เมื่อนำลำดับลำดับกรดอะมิโนที่อนุমানจากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาหาค่าความคล้ายคลึง โดยโปรแกรม DNAsis และนำลำดับกรดอะมิโนของคน (Vasicek et al., 1983) มาเปรียบเทียบกับ สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 16

รูปที่ 16. แสดงความคล้ายคลึงของลำดับกรดอะมิโน PTH gene ในไพรเมททั้ง 9 ชนิด โดยนำเอาลำดับกรดอะมิโนของคน (Vasicek et al., 1983) มาเปรียบเทียบกับ เครื่องหมาย * แสดงตำแหน่งที่มีลำดับกรดอะมิโนคล้ายกัน

		10	20	30	40	50	
<i>C. apella</i>	1	MIPAKDMAKV	MIVMLAICFL	TKSDGKSVKR	RSVSEIQLMH	NLAKHLNSME	50
<i>C. jacchus</i>	1	*****	*****	*****K	*****	**G*****	50
<i>S. oedipus</i>	1	*****	*****S	*****EK	*****	**G*****	50
<i>M. fuscata</i>	1	*****	*****	*****K	*****	**G*****	50
<i>M. fascicularis</i>	1	*****	*****	*****K	*****	**G*****	50
<i>C. aethiops</i>	1	*****	*****	*****K	*****	**G*****	50
<i>H. lar</i>	1	*****	*****	*****K	*****	**G*****	50
<i>P. pygmeus</i>	1	*****G****	*****	*****K	*****	**G*****	50
<i>P. troglodytes</i>	1	*****	*****	*****K	*****	**G*****	50
<i>H. sapiens</i>	1	*****	*****	*****K	*****	**G*****	50

		60	70	80	90	100	
<i>C. apella</i>	51	RVEWLRKKLQ	DVHNFEVALGT	PLVPRDAGSD	RPRRKEDNVL	AESHEKSLGE	100
<i>C. jacchus</i>	51	*****	*****P**	*****Q	*****	V*****	100
<i>S. oedipus</i>	51	*****	*****	*****Q	*****	V*****	100
<i>M. fuscata</i>	51	*****	*****I***A	**A*****Q	***K****I*	V*****	100
<i>M. fascicularis</i>	51	*****	*****I***A	**A*****Q	***K****I*	V*****	100
<i>C. aethiops</i>	51	*****	*****I***A	**A*****Q	***K****I*	V*****	100
<i>H. lar</i>	51	*****	*****I***A	**A*****Q	***K****I*	V*****	100
<i>P. pygmeus</i>	51	*****	*****A	**A*****Q	***K*****	V*****	100
<i>P. troglodytes</i>	51	*****	*****A	**A*****Q	***K*****	V*****	100
<i>H. sapiens</i>	51	*****	*****A	**A*****Q	***K*****	V*****	100

		110	120	130	140	150	
<i>C. apella</i>	101	ADKADVDVLT	KAQSQ*....				150
<i>C. jacchus</i>	101	*****	*****				150
<i>S. oedipus</i>	101	*****	*****				150
<i>M. fuscata</i>	101	*****	*****				150
<i>M. fascicularis</i>	101	*****	*****				150
<i>C. aethiops</i>	101	*****	*****				150
<i>H. lar</i>	101	*****	*****				150
<i>P. pygmeus</i>	101	*****N***	*****				150
<i>P. troglodytes</i>	101	*****N***	*****				150
<i>H. sapiens</i>	101	*****N***	*****				150

วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene
(Phylogenetic analysis of PTH nucleotide sequences)

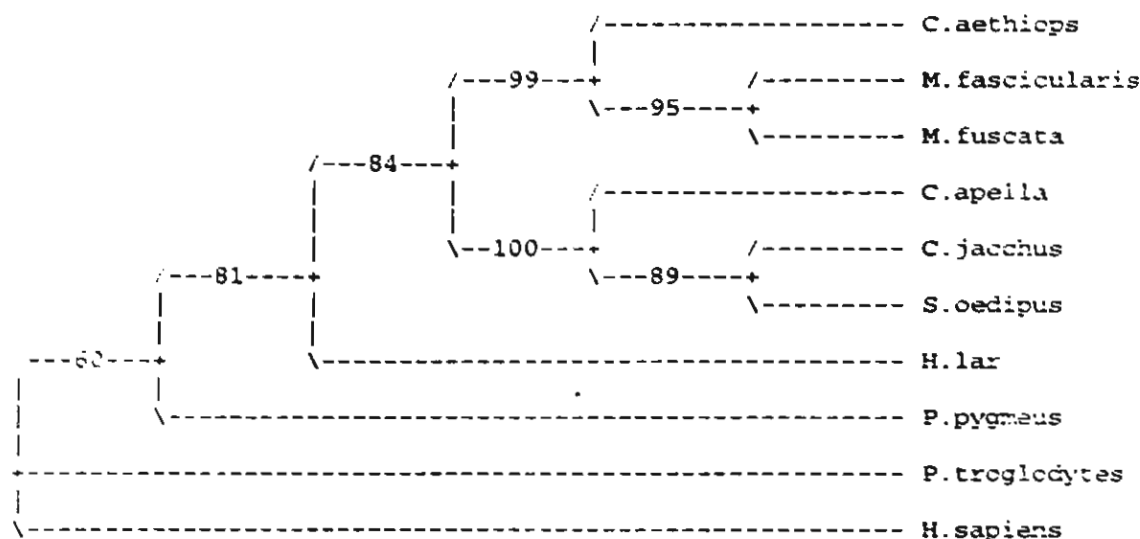
จากลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ของไพรเมททั้ง 9 ชนิดสามารถนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการและค่า genetic distance โดยใช้ PTH nucleotide sequence ของคนเป็น outgroup โดยวิธี parsimony ได้ผลดังนี้

พบว่าสามารถแบ่งสัตว์กลุ่มไพรเมท 9 ชนิด ออกได้เป็น 5 กลุ่ม คือ 1)กลุ่มลิงมาโมเสท-ทามารินและลิงโลกใหม่ (Marmosets-tamarins and new world monkeys) ที่ประกอบด้วย *Cebus apella*, *Callithrix jacchus* และ *Saguinus oedipus* 2)กลุ่มลิงโลกเก่า (Old world monkeys) ที่ประกอบด้วย *Macaca fuscata*, *Macaca fascicularis* และ *Cercopithecus aethiops* 3)กลุ่มชะนี ที่ประกอบด้วย *Hylobates lar* 4)กลุ่มอูรังอุตัง ที่ประกอบด้วย *Pongo pygmeus* และ 5)กลุ่มชิมแปนซี ที่ประกอบด้วย *Pan troglodytes* เมื่อพิจารณาค่า genetic distance ของลำดับนิวคลีโอไทด์ (ตารางที่ 2) พบว่ามีค่าระหว่าง 0 ถึง 5.5 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างลิงชิมแปนซีและคนมีค่าต่ำมาก (0.4%) ทำให้ไม่สามารถแยกได้โดย phylogenetic tree นอกจากนี้ยังพบว่าไม่สามารถใช้ PTH gene ในการศึกษาเพื่อจัดจำแนกชนิดของลิงตระกูล *Macaca* ได้ เนื่องจากมีค่าความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า genetic distance เท่ากับ 0.0 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2. แสดงค่า genetic distance จากลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 500 คู่เบสของ PTH gene ในไพรเมททั้ง 9 ชนิด โดยใช้ PTH nucleotide sequence ของคน (Vasicek et al., 1983) เป็น outgroup

	C.ape	C.jac	S.oed	M.fus	M.fas	C.aet	H.lar	P.pyg	P.tro	H.sap
C.ape	-									
C.jac	0.029	-								
S.oed	0.031	0.016	-							
M.fus	0.055	0.052	0.052	-						
M.fas	0.055	0.052	0.052	0.000	-					
C.aet	0.051	0.048	0.048	0.008	0.008	-				
H.lar	0.047	0.042	0.042	0.024	0.024	0.020	-			
P.pyg	0.051	0.046	0.046	0.028	0.028	0.024	0.008	-		
P.tro	0.051	0.046	0.046	0.028	0.028	0.024	0.008	0.004	-	
H.sap	0.051	0.048	0.048	0.026	0.026	0.022	0.012	0.008	0.004	-

รูปที่ 17. แสดงค่า phylogenetic tree จากลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 500 คู่เบสของ PTH gene ในไพรเมททั้ง 9 ชนิด โดยใช้ PTH nucleotide sequence ของคน (Vasicek et al., 1983) เป็น outgroup โดยทำ bootstrapping จำนวน 1000 ซ้ำ



วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการจากลำดับกรดอะมิโนของ PTH gene (Phylogenetic analysis of PTH amino acid sequences)

จากลำดับกรดอะมิโนที่ได้ของไพรเมททั้ง 9 ชนิดสามารถนำไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการและค่า genetic distance โดยใช้ PTH amino acid sequence ของคนเป็น outgroup โดยวิธี parsimony ได้ผลดังนี้

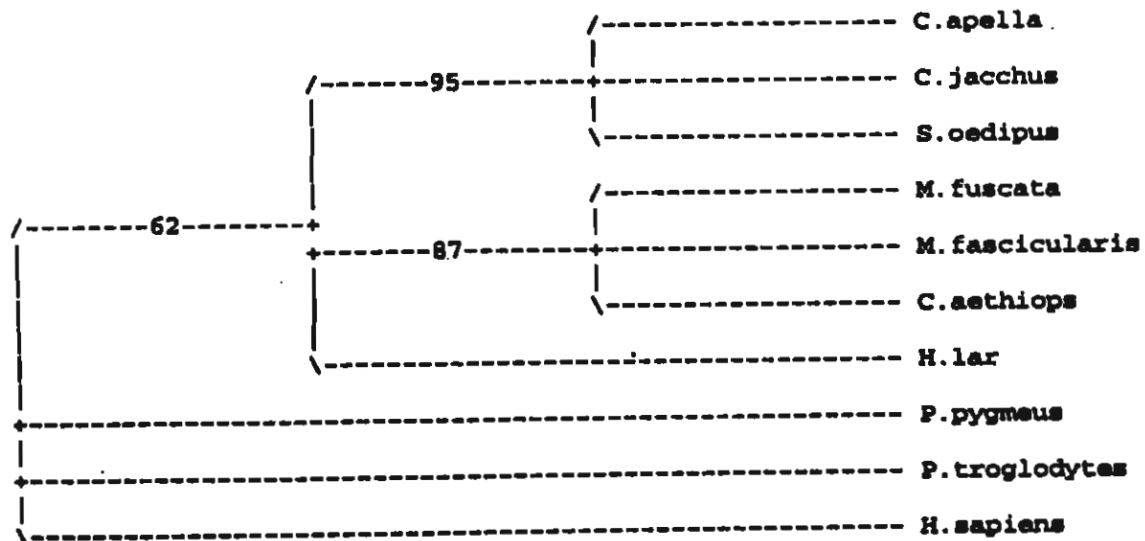
พบว่าสามารถแบ่งสัตว์กลุ่มไพรเมท 9 ชนิด ออกได้เป็น 4 กลุ่ม คือ 1)กลุ่มลิงมาโมเสท-ทามารินและลิงโลกใหม่ (Marmosets-tamarins and new world monkeys) ที่ประกอบด้วย *Cebus apella*, *Callithrix jacchus* และ *Saguinus oedipus* 2)กลุ่มลิงโลกเก่า (Old world monkeys) ที่ประกอบด้วย *Macaca fuscata*, *Macaca fascicularis* และ *Cercopithecus aethiops* 3)กลุ่มชะนี (Lesser apes) ที่ประกอบด้วย *Hylobates lar* 4)กลุ่มลิงเอพ (Great apes) ที่ประกอบด้วย *Pongo pygmaeus* และ *Pan troglodytes* และเมื่อเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนที่ได้ในลิงกลุ่มต่าง ๆ ทั้ง 4 กลุ่ม กับลำดับกรดอะมิโนของคน พบว่ามีกรดอะมิโนจำนวน 8/6/5, 3/3/3, 1 และ 1/0 ตัวที่แตกต่างกัน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่า genetic distance ของลำดับกรดอะมิโนพบว่ามีค่าระหว่าง 0 ถึง 7.8 เปอร์เซ็นต์ และในไพรเมทเหล่านี้คือระหว่างลิงชิมแปนซีและคน และระหว่างกลุ่มลิงโลกเก่า (old world monkeys) ด้วยกัน ที่ประกอบด้วย *Macaca fuscata*, *Macaca fascicularis* และ *Cercopithecus aethiops* พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของลำดับกรดอะมิโน (genetic distance = 0.0%)

เมื่อเปรียบเทียบ phylogenetic tree ที่ได้จากลำดับนิวคลีโอไทด์กับที่ได้จากลำดับกรดอะมิโน จะเห็นได้ว่าสัตว์ในอันดับไพรเมททั้ง 9 ชนิดสามารถแบ่งกลุ่มได้ลดลงจาก 5 กลุ่มเหลือ 4 กลุ่ม ทั้งนี้ เพราะการเปลี่ยนแปลงของเบสส่วนใหญ่ในลำดับนิวคลีโอไทด์เป็นเบสในโคดอนที่สาม ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจทำให้การถอดและแปลรหัสได้กรดอะมิโนที่ไม่ต่างไปจากเดิม

ตารางที่ 3. แสดงค่า genetic distance จากลำดับกรดอะมิโนจำนวน 115 ตัวของ prepro-PTH ในไพรเมตทั้ง 9 ชนิด โดยใช้ PTH amino acid sequence ของคน (Vasicek et al., 1983) เป็น outgroup

	C.ape	C.jac	S.oed	M.fus	M.fas	C.aet	H.lar	P.pyg	P.tro	H.sap
C.ape	-									
C.jac	0.043	-								
S.oed	0.052	0.026	-							
M.fus	0.078	0.052	0.060	-						
M.fas	0.078	0.052	0.060	0.000	-					
C.aet	0.078	0.052	0.060	0.000	0.000	-				
H.lar	0.060	0.034	0.043	0.017	0.017	0.017	-			
P.pyg	0.078	0.052	0.060	0.034	0.034	0.034	0.017	-		
P.tro	0.069	0.043	0.052	0.026	0.026	0.026	0.009	0.009	-	
H.sap	0.069	0.043	0.052	0.026	0.026	0.026	0.009	0.009	0.000	-

รูปที่ 18. แสดงค่า phylogenetic tree จากลำดับกรดอะมิโนจำนวน 115 ตัวของ prepro-PTH ในไพรเมตทั้ง 9 ชนิด โดยใช้ PTH amino acid sequence ของคน (Vasicek et al., 1983) เป็น outgroup โดยทำ bootstrapping จำนวน 1000 ซ้ำ



บทวิจารณ์

จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์และอนุমানลำดับกรดอะมิโนของพาราไทรอยด์ฮอร์โมนในไพรเมต 9 ชนิด จากดีเอ็นเอทั้งสองสาย โดยวิธี direct sequencing พบว่าชิ้นของดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้มีขนาดเท่ากับ 550 คู่เบส ที่ประกอบไปด้วย intron 1 ส่วน และ exon 2 ส่วน เมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับ human PTH genomic DNA (Vasicek et al., 1983) และ PTH nucleotide sequence ของลิงสกุล *Macaca* (Malaivijitmond and Takenaka, 1998) ทำให้สามารถอนุมานตำแหน่งของ intron และ exon ทั้งสองส่วนได้ โดย exon แรกเทียบได้กับ Exon II และ exon ที่สองเทียบได้กับ Exon III โดยส่วนของ Exon II จะถูกถอดและแปลรหัสได้เป็นส่วนของ pre และ pro ของ prepro-PTH กรดอะมิโนส่วนใหญ่ในบริเวณนี้เป็น hydrophobic amino acid ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะพบในโปรตีนฮอร์โมนทุกชนิดที่มีการหลั่งออกนอกเซลล์ เนื่องจากส่วนปลายอะมิโนของ prepro-hormone ที่มีลักษณะเป็น hydrophobic sequence มีบทบาทสำคัญในกลไกการหลั่งฮอร์โมน (Baulieu, 1990) ส่วน Exon III เป็นส่วนที่ถอดและแปลรหัสได้เป็น mature PTH ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 84 ตัว ซึ่งส่วนนี้เมื่ออยู่ในกระแสเลือดอาจจะถูกตัดกรดอะมิโนเหลือเพียง 34 ตัว ในการออกฤทธิ์ของ PTH พบว่ากรดอะมิโน 34 ตัวแรกจากส่วนปลายอะมิโนของโมเลกุล (N-fragment) เป็นส่วนที่จะก่อให้เกิดผลด้านชีววิทยาของ PTH และยังเป็นส่วนที่ใช้จับกับตัวรับสัญญาณ (receptor) ด้วย ครึ่งชีวิต (half-life) ของ mature PTH และ N-fragment จะสั้นมีค่าเท่ากับ 2-4 นาที และประมาณ 10 นาที ตามลำดับ (Greenspan, 1991)

เมื่อเปรียบเทียบตำแหน่งและขนาดของ intron ของ PTH gene ระหว่างไพรเมตทั้ง 9 ชนิดกับคน พบว่า intron ที่ได้มีขนาดเท่ากันคือ 103 คู่เบส และมีตำแหน่งอยู่ระหว่างเบสโคดอนที่ 2 และเบสโคดอนที่ 3 ที่ถอดและแปลรหัสได้เป็นกรดอะมิโนตัวที่ 29 คือ โลซีน (Lysine-29) ยกเว้นไพรเมตชนิด *Saguinus oedipus* ที่กรดอะมิโนตัวที่ 29 คือ กลูตาเมต (Glutamate-29) ซึ่งลักษณะดังกล่าว จะต่างจากในหนูแรท (Heinrich et al., 1984) และวัว (Weaver et al., 1984) ที่ intron มีขนาดเท่ากับ 111 และ 119 คู่เบสตามลำดับ แต่อยู่ในตำแหน่งเดียวกันกับไพรเมต

ตามสายวิวัฒนาการเริ่มพบต่อมพาราไทรอยด์ครั้งแรกในสัตว์สะเทินน้ำสะเทินบก (Gorbman et al., 1983; Norris, 1997) ทำให้ PTH เป็นฮอร์โมนนรีกษในสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูง จากรายงานของ Malaivijitmond และ Takenaka ในปี 1998 ที่ทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของลิงสกุล *Macaca* กับ ไก่, หนูโมซ, หนูแรท, หมู, วัว และคน พบว่ามีค่าความคล้ายคลึงเท่ากับ 52.9, 43.9, 63.0, 70.5, 82.8 และ 97.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างลิงสกุล *Macaca* 5 ชนิดด้วยกัน คือ *M. fascicularis*, *M. nemestrina*, *M. assamensis*, *M. arctoides* และ *M. mulatta* พบว่ามีค่าความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และจากรายงานของ กันยาและคณะ ในปี 2542 ที่ศึกษาวิวัฒนาการของ PTH gene ในลิงสกุล *Macaca* 2 กลุ่ม คือ *silenus-sylvanus* และ *fascicularis* ที่ทราบว่ามีวิวัฒนาการห่างกันประมาณ 5 ล้านปี พบว่าลิงทั้งสองกลุ่มมีค่าความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดลองในครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ระหว่างลิงสกุล *Macaca* 2 ชนิด คือ *M. fascicularis* และ *M. fuscata*

พบว่ามีค่าความคล้ายคลึงเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PTH gene ในลิงสกุล *Macaca* ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ในช่วงระยะเวลา 5 ล้านปี และ PTH gene เป็นยีนอนุรักษ์ในลิงสกุล *Macaca*

ในการจัดจำแนกสัตว์ในอันดับไพรเมทนั้น นักอนุกรมวิธานแต่ละคนจะยึดหลักในการจัดจำแนกที่แตกต่างกันทำให้ได้ผลที่แตกต่างกัน เช่น Anderson (1967) ได้จัดจำแนกสัตว์ในอันดับไพรเมทออกเป็น 2 อันดับย่อย คือ Suborder Prosimii และ Suborder Anthropeidea และใน Suborder Anthropeidea ได้จัดจำแนกออกเป็น 5 วงศ์ คือ Family Cebidae (New world monkeys), Family Callithricidae (Marmosets), Family Cercopithecidae (Old world monkeys), Family Pongidae (Gibbons and great apes) และ Family Hominidae (Man) Webb และคณะ (1979) ได้จัดจำแนกสัตว์ในอันดับไพรเมทออกเป็น 3 อันดับย่อย คือ Suborder Prosimii, Suborder Tarsii และ Suborder Simii และใน Suborder Simii ได้แบ่งออกเป็น 5 วงศ์ เช่นเดียวกับของ Anderson Ankel-Simons (1983) ได้จัดจำแนกสัตว์ในอันดับไพรเมทออกเป็น 2 อันดับย่อย คือ Suborder Prosimii และ Suborder Anthropeidea เช่นเดียวกับของ Anderson แต่จะต่างจาก Anderson ตรงที่ว่า Ankel-Simons ได้แบ่ง Suborder Anthropeidea ออกเป็น 6 วงศ์ โดยใน Family Pongidae ที่ Anderson ได้รวมเอา Gibbons ไว้กับ Great apes นั้น Ankel-Simons ได้แยกเอา Gibbons ออกมาตั้งเป็นวงศ์ใหม่ คือ Family Hylobatidae และ Great apes ยังคงจัดอยู่ใน Family Pongidae เช่นเดิม แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้จะยึดถือหลักในการจัดจำแนกสัตว์ในอันดับไพรเมทตามหลักของ Corbet และ Hill (1991) ซึ่งถือว่าเป็นหนังสืออ้างอิงเล่มใหม่ล่าสุดที่ Primatologist ใช้กัน โดย Corbet และ Hill ได้จัดจำแนก Suborder Anthropeidea ออกเป็น 6 วงศ์ เช่นเดียวกับ Ankel-Simons คือ Family Callithricidae (Marmosets, tamarins), Family Cebidae (New world monkeys), Family Cercopithecidae (Old world monkeys), Family Hylobatidae (Gibbons), Family Pongidae (Apes) และ Family Hominidae (Man) Sterry (1994) ได้เรียกกลุ่มของ Gibbons (Family Hylobatidae) เป็น Lesser apes ในขณะที่กลุ่มของลิงอูรังอุตัง, กอลิร่า และชะนี (Family Pongidae) เรียกเป็น Great apes

จากการศึกษาในครั้งนี้เมื่อทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการโดยอาศัยลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่าสามารถแบ่งสัตว์กลุ่มไพรเมท 9 ชนิด ออกได้เป็น 5 กลุ่ม คือ ลิงมาโมเล็ท-ทามารินและลิงโลกใหม่, ลิงโลกเก่า, ชะนี, อูรังอุตัง และชิมแปนซี แต่เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการโดยอาศัยลำดับกรดอะมิโนพบว่าสามารถแบ่งสัตว์กลุ่มไพรเมท 9 ชนิด ออกได้เป็น 4 กลุ่ม คือ ลิงมาโมเล็ท-ทามารินและลิงโลกใหม่, ลิงโลกเก่า, ชะนี (lesser apes) และ ลิงเอพใหญ่ (great apes) แสดงว่าการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมเชิงวิวัฒนาการโดยอาศัย PTH gene สามารถใช้จัดจำแนกสัตว์ในอันดับไพรเมท อันดับย่อยแอนโทรปอยเดีย ได้เพียงในระดับวงศ์เท่านั้น นั่นคือในการทดลองครั้งนี้ไพรเมททั้ง 9 ชนิดสามารถจัดอยู่ในวงศ์ต่าง ๆ ได้ดังนี้

Family Callithricidae (Marmosets, tamarins) ประกอบด้วย

-Cotton-top tamarin (*Saguinus oedipus*)

-Common marmoset (*Callithrix jacchus*)

Family Cebidae (New world monkeys) ประกอบด้วย

-Black-capped capuchin (*Cebus apella*)

Family Cercopithecidae (Old world monkeys) ประกอบด้วย

-Japanese macaque (*Macaca fuscata*)

-Crab-eating macaque (*Macaca fascicularis*)

-Vervet monkey (*Cercopithecus aethiops*)

Family Hylobatidae (Lesser apes) ประกอบด้วย

-White-handed gibbon (*Hylobates lar*)

Family Pongidae (Great apes) ประกอบด้วย

-Orang-utan (*Pongo pygmaeus*)

-Chimpanzee (*Pan troglodytes*)

(Corbet and Hill, 1991; Sterry, 1994)

ถึงแม้ว่า PTH gene จะใช้จำแนกได้ในระดับวงศ์แต่จะเห็นได้ว่า Family Callithricidae และ Family Cebidae ก็ไม่สามารถแยกออกจากกันได้เมื่อใช้ยีนตัวนี้ ซึ่งจะสอดคล้องกับที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้นที่ว่า PTH gene เป็นยีนอนุรักษ์ มีการผันแปรของยีนน้อยมาก ดังนั้นในการศึกษาสัตว์ในอันดับไพรเมต ถ้าหากต้องการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ (species) หรือสกุล (genus) จึงไม่ควรใช้ยีนตัวนี้ในการศึกษา ซึ่งในการจัดจำแนกสัตว์ในอันดับไพรเมตในระดับสปีชีส์หรือสกุล หรือการศึกษาการกระจายตัวของประชากร ยีนที่นิยมใช้กันมาก คือ mitochondrial DNA (Rosenblum et al., 1997; Morales and Melnick, 1998; Pastorini et al., 1998; Cropp et al., 1999)

เมื่อเปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของพาราไทรอยด์ฮอร์โมนที่ได้ในลิงกลุ่มต่าง ๆ ทั้ง 4 กลุ่ม คือ ลิงมาโมเสต-ทamarin และลิงโลกใหม่, ลิงโลกเก่า, ชะนี (lesser apes) และ ลิงเอฟใหญ่ (great apes) กับลำดับกรดอะมิโนของคน (Keutmann et al., 1978; Vasicek et al., 1983) พบว่ามีกรดอะมิโนจำนวน 8/6/5, 3, 1 และ 1/0 ตัวที่แตกต่างกัน ตามลำดับ นั่นคือไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับกรดอะมิโนของพาราไทรอยด์ฮอร์โมนเลระหว่างลิงชิมแปนซีและคน จากข้อมูลนี้อาจกล่าวได้ว่าลิงเอฟเป็นสัตว์ที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้เป็นสัตว์ทดลองในการศึกษาเกี่ยวกับ bone metabolism โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ต้องการข้อมูลที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ได้ทันที

หนังสืออ้างอิง

- กันยา อนุกุลธนากร, โอสามุ ทาเกนากะ, ปิยะศักดิ์ ชุ่มพฤกษ์ และสุจินดา มาลัยวิจิตรนนท์. 2542. **วิวัฒนาการของพาราไทรอยด์ฮอร์โมนในระหว่างลิงสกุล *Macaca* 2 กลุ่ม. การประชุมวิชาการประจำปี 2542 คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 22-23 มีนาคม 2542. หน้า B6.**
- Anderson S. 1967. Primates. In: *Recent mammals of the world: A Synopsis of families*. S. Anderson and J.N. Jones. (eds.). The Ronald Press Company: New York, 151-177.
- Ankel-Simons F. 1983. *A Survey of living primates and their anatomy*. Macmillan Publishing: New York.
- Baulieu E-E, Kkelly PA. 1990. *Hormones: from molecules to disease*. Chapman and Hall: New York.
- Colman RJ, Lane MA, Binkley N, Wagner FH, Kemnitz JW. 1999. Skeletal effects of aging in male rhesus monkeys. *Bone*. 24:29-33.
- Corbet GB, Hill JE. 1991. *A World list of mammalian species* (3rd). Nutural History Museum Publications: London, 91-101.
- Cropp SJ, Larson A, Cheverud JM. 1999. Historical biogeography of tamarins, genus *Saguinus*: the molecular phylogenetic evidence. *Am J Phys Anthropol*. 108:65-89.
- Ferin M, Werhrenberg WB, Lam NY, Alston EJ, Vande Wiele RL. 1982. Effects and sites of action of morphine on gonadotropin secretion in the female rhesus monkey. *Endocrinology* 111:1652-1656.
- Fiedler W. 1972. The primates. In: *Grzimek's animal life encyclopedia*. W. Fiedler et al. (eds). Van Nostrand Reinhold Company: New York, pp.258-269.
- Gold MS, Redmond DE, Donabedian RK. 1979. The effects of opiate agonist and antagonist on serum prolactin in primates: possible role for endorphins in prolactin regulation. *Endocrinology* 105:284-289.
- Gorbman A, Dickhoff WW, Vigna SR, Clark NB, Ralph CL. 1983. *Comparative Endocrinology*. John Wiley & Sons: New York.
- Greenspan FS. 1991. *Basic and Clinical Endocrinology* (3rd ed.). Prentice-Hall International Inc.:London.
- Habener JF, Stevens TD, Ravazzola M, Orci L, Potts JT. 1977. Effects of calcium ionophores on the synthesis and release of parathyroid hormone. *Endocrinology* 101:1524-1537.
- Hashimoto C, Furuichi T, Takenaka O. 1996. Matrilineal kin relationship and social behavior of wild bonobos (*Pan paniscus*): sequencing the D-loop region of mitochondrial DNA. *Primates* 37:305-318.

- Heinrich G, Kronenberg HM, Potts JT, Habener JF. 1984. Gene encoding parathyroid hormone. *J Biol Chem* 259:3320–3329.
- Hendy GN, Kronenberg HM, Potts JT, Rich A. 1981. Nucleotide sequence of cloned cDNAs encoding human preproparathyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:7365–7369.
- Hotchkiss CE. 1999. Use of peripheral quantitative computed tomography for densitometry of the femoral neck and spine in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Bone*. 24: 101–107.
- Keutmann HT, Sauer MM, Hendy GN, O’Riordan JLH, Potts JT. 1978. Complete amino acid sequence of human parathyroid hormone. *Biochemistry* 17:5723–5729.
- Kronenberg HM, McDevitt BE, Majzoub JA, Nathans J, Sharp PA, Potts JT, Rich A. 1979. Cloning and nucleotide sequence of DNA coding for bovine preproparathyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:4981–4985.
- Krueger D, Todd H, Haffa A, Bruner J, Yandow D, Binkey N. 1999. Central region-of-interest analysis of lumbar spine densitometry demonstrates lower bone mass in older rhesus monkeys. *Bone*. 24:29–33.
- Malaivijitnond S, Varavudhi P. 1993. Sex differences in response of morphine to stimulate prolactin secretion and initiation of galactorrhea in male cynomolgus monkeys. In P. Varavudhi and S. Lorlowhakarn (eds.), *Proceedings of the Second Intercongress Symposium of the Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology*, pp.98–99. Chiangmai, Thailand.
- Malaivijitnond S, Varavudhi P. 1995. Evidence for morphine-induced PRL release in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J Sci Soc Thailand* 21:243–252.
- Malaivijitnond S, Takenaka O. 1997. Nucleotide sequences of parathyroid gene in five species of macaque of Thailand. *J Sci Res Chula Univ* 23:135–142.
- Malaivijitnond S, Varavudhi P. 1998. Evidence for morphine-induced galactorrhea in male cynomolgus monkeys. *J. Med. Primatol.* 27:1–9.
- Morales JC, Melnick DJ. 1998. Phylogenetic relationships of the macaques (Cercopithecidae: *Macaca*), as revealed by high resolution restriction site mapping of mitochondrial ribosomal genes. *J Hum Evol.* 34:1–23.
- Norris DO. 1997. *Vetebrate Endocrinology* (3rd ed). Academic Press: San Diego.
- Nozaki M, Mitsunaga F, Shimizu K, Watanabe G, Taya K. 1993. Reproductive senescence in female japanese monkeys. In P. Varavudhi and S. Lorlowhakarn (eds.), *Proceedings of the Second Intercongress Symposium of the Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology.*, pp.83–85. Chiangmai, Thailand.
- O’Riordan JLH, Malan PG, Gould RP. 1988. *Essentials of endocrinology* (2nd ed). Blackwell Scientific Publications:Oxford.

- Pastorini J, Forstner MR, Martin RD, Melnick DJ. 1998. A reexamination of the phylogenetic position of *Callimico* (primates) incorporating new mitochondrial DNA sequence data. *J Mol Evol.* 47:32–41.
- Rosenblum LL, Supriatna J, Melnick DJ. 1997. Phylogeographic analysis of pigtail macaque populations (*Macaca nemestrina*) inferred from mitochondrial DNA. *Am J Phys Antropol.* 104: 35–45.
- Rosol TJ, Steinmeyer CL, McCauley LK, Groene A, DeWille JW, Capen CC. 1995. Sequences of the cDNAs encoding canine parathyroid hormone-related protein and parathyroid hormone. *Gene* 160:241–243.
- Royer P, Kemper B. 1990. Calcium regulatory hormones. In: *Hormones: from molecules to disease*. E-E Baulieu and PA. Kelly (eds). Chapman and Hall:New York 635–669.
- Schmelzer HJ, Gross G, Widera G, Mayer H. 1987. Nucleotide sequence of a full-length cDNA clone encoding preproparathyroid hormone from pig and rat. *Nucleic Acids Res* 15:6740.
- Smith EL, Hill RL, Lehman IR, Lefkowitz RJ, Handler P, White A. 1983. *Principles of biochemistry: mammalian biochemistry* (7th ed). McGraw-Hill:Singapore.
- Sterry P. 1994. *Monkeys & Apes: A Portrait of the animal world*. Todtri Productions Limited: New York, 80p.
- Swofford DL. 1993. *PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, version 3.11*. Champaign :Illinois.
- Swofford DL, Olsen GJ, Waddell PJ, Hillis DM. 1996. *Phylogenetic inference*. In: *Molecular Systematics* (2nd ed.). Hillis DM, Moritz C, Mable BK. (eds.) Sinauer Associates, Inc: Massachusetts, 407–425.
- Vasicek TJ, Mcdevitt BE, Freeman MW, Fennick BJ, Hendy GN, Potts JT, et al. 1983. Nucleotide sequence of the human parathyroid hormone gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:2127–2131.
- Weaver CA, Gordon DF, Kissil MS, Mead DA, Kemper B. 1984. Isolation and complete nucleotide sequence of the gene for bovine parathyroid hormone. *Gene* 28:319–329.
- Webb JE, Wallwork JA, Elgood JH. 1979. *Guide to living mamals* (3rd). The Macmillan Press: London, 78–92.
- Yamada G, Nakamura S, Fukuzaki K, Izumi H, Harai N, Nagata R et al. 1998. Dysregulation of trace element composition in ovariectomized cynomolgus monkey bones. *Cell Mol Biol.* 44:1205–1213.

Output ที่ได้

นำเสนอผลงานวิจัยในรูปของ Poster presentation เรื่อง “The nucleotide sequence of parathyroid gene in primates (Suborder Anthropoidea)” ในการสัมมนาวิชาการ “Asian Science Seminar on Biodiversity” จัดโดย Primate Research Institute, Kyoto University และ the Japan Society for the Promotion of Science ณ Primate Research Institute of Kyoto University in Inuyama, Japan ระหว่างวันที่ 26 กรกฎาคม ถึง 6 สิงหาคม 2542

ประวัตินักวิจัยและคณะ

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุจินดา มาลัยจิตรนนท์
คุณวุฒิ	วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
สถานที่ทำงาน	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท กรุงเทพมหานคร 10330
โทรศัพท์	218-5275
โทรสาร	218-5386
e-mail: Suchinda.M@chula.ac.th	

ผู้ร่วมวิจัย

ชื่อ	Professor Dr.Osamu Takenaka
คุณวุฒิ	Doctor of Science
สถานที่ทำงาน	Department of Cellular and Molecular Biology Primate Research Institute, Kyoto University, Aichi, 484 JAPAN
โทรศัพท์	81-568-630577
โทรสาร	81-568-629557, 630085
e-mail: takenaka@smtp.pri.kyoto-u.ac.jp	

นักวิจัยที่เลี้ยง

ชื่อ	รองศาสตราจารย์ ดร. วิชัย เชิดชูวิศาสตร์
คุณวุฒิ	Doctor of Science
สถานที่ทำงาน	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท กรุงเทพมหานคร 10330
โทรศัพท์	218-5379
โทรสาร	218-5386