ข้อกำหนดการบันทึกความแตกต่างของลำดับเบส

ไมโตคอนเดรียบริเวณ control region เมื่อเปรียบเทียบกับสายอ้างอิง (rCRS)

สุคนธ์ ประดุจกาญจนา

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90110. E-mail address: mitojin@live.com

---

จากปัญหาการจัดเรียงลำดับเบสของสายไมโตคอนเดรียเปรียบเทียบกับสายไมโตคอนเดรียอ้างอิง (rCRS: revised Cambridge Reference Sequence) พบว่ามักเกิดปัญหาจากการแทรกหรือขาดหายไปของเบส ทำให้เกิดช่องว่าง ซึ่งห้องปฏิบัติการบางแห่งมีการจัดเรียงช่องว่างเหล่านี้แตกต่างกัน ทำให้บันทึกความแตกต่างของลำดับเบสจากสายอ้างอิงได้แตกต่างกัน ดังนั้น Wilson และคณะ[1-2] จึงเสนอข้อกำหนดการจัดเรียงลำดับเบสของสายไมโตคอนเดรียเปรียบเทียบกับสายอ้างอิง เพื่อให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน แต่ละห้องปฏิบัติการสามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ถูกต้อง ตรงกัน

ข้อกำหนด

1. บันทึกความแตกต่างของลำดับเบสเมื่อเปรียบเทียบกับสายอ้างอิง ให้มีจำนวนน้อยที่สุด

2. ที่ตำแหน่งใดๆ หากพบว่าสามารถบันทึกความแตกต่างของลำดับเบสจากสายอ้างอิงได้มากกว่า 1 วิธี ให้จัดเรียงลำดับความสำคัญของการบันทึกความแตกต่างของลำดับเบส ดังนี้

   2.1 การแทรก (insertion) หรือการขาดหาย (deletion) : Indels

   2.2 Transition หรือการเปลี่ยนแปลงจากเบส purine เป็น purine เช่น A ↔ G หรือเปลี่ยนแปลงจากเบส pyrimidine เป็น pyrimidine เช่น C ↔ T

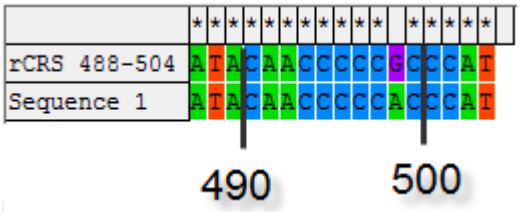
   2.3 Transversion หรือการเปลี่ยนแปลงจากเบส purine เป็น pyrimidine หรือ pyrimidine เป็น purine เช่น A ↔ T หรือ A ↔ C หรือ G ↔ C หรือ G ↔ T

3. การแทรกและการขาดหาย ต้องจัดเรียงตามทิศ 3' ของสาย light strand ให้มากที่สุด โดยจะต้องพิจารณาทั้งการแทรกและการขาดหายร่วมกัน เพื่อให้บันทึกจำนวนความแตกต่างจากสายอ้างอิงคงเดิมไว้

ข้อกำหนดดังกล่าวจะต้องดำเนินการเป็นลำดับขั้น เรียงจากข้อ 1 มายังข้อ 2 และ ข้อ 3 ตามลำดับ เช่น ข้อกำหนดที่ 1 กำหนดว่าจะต้องบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงให้มีจำนวนน้อยที่สุด หากตัวอย่างตรวจรายใด

เมื่อเปรียบเทียบกับสายอ้างอิงแล้วสามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 2 ตำแหน่ง ขณะที่วิธีการจัดเรียงลำดับเบสแบบอื่นๆสามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 3 ตำแหน่ง ให้เลือกวิธีการที่บันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิง 2 ตำแหน่ง (น้อยที่สุด) เป็นวิธีการบันทึกที่ดีที่สุด หากวิธีการบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงทำได้มากกว่า 1 วิธี โดยมีจำนวนความแตกต่างจากสายอ้างอิงเท่ากัน ให้พิจารณาบันทึกตามข้อกำหนดที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

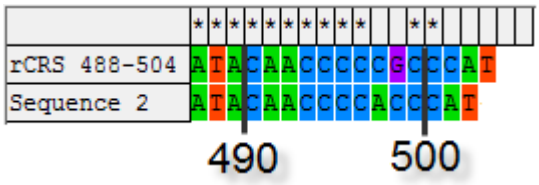
ตัวอย่างที่ 1



การบันทึก : 499A

คำอธิบาย : เมื่อเปรียบเทียบกับสายอ้างอิงที่ตำแหน่ง 488 -504 พบว่าลำดับเบสที่ตำแหน่ง 499 มีการเปลี่ยนแปลงจาก G ➞A เพียงตำแหน่งเดียว ไม่พบการแทรก หรือการขาดหาย ดังนั้นจึงบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้เพียงวิธีการเดียว คือ 499A

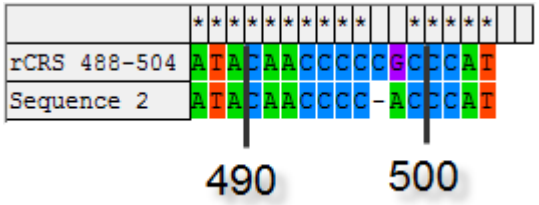
ตัวอย่างที่ 2



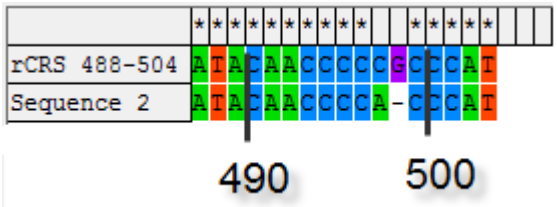
การบันทึก : 498D, 499A

คำอธิบาย : ตัวอย่างนี้อาจบันทึกได้ 2 แบบ ดังนี้

2A: เป็นการขาดหาย และ transition โดยเปลี่ยนแปลงเบสจาก G ➞A บันทึกเป็น 498D, 499A

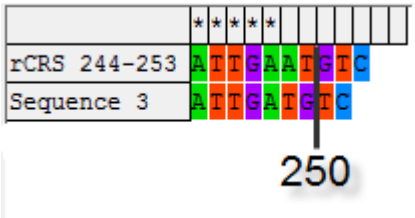


2B: เป็น transversion โดยเปลี่ยนจากเบส C → A และ การขาดหาย บันทึกเป็น 498A, 499D



พิจารณาตามข้อกำหนดที่ 2 การเรียงลำดับ transition มาก่อน transversion ดังนั้นจึงเลือกบันทึกตามแบบ 2A

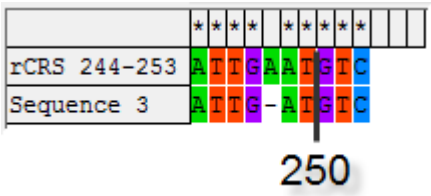
ตัวอย่างที่ 3



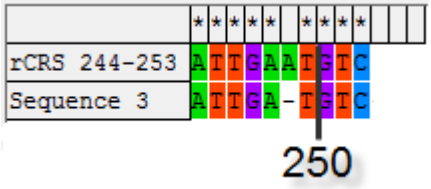
การบันทึก : 249D

คำอธิบาย : ตัวอย่างนี้อาจบันทึกได้ 2 แบบ ดังนี้

3A: เป็นการขาดหายที่ตำแหน่ง 248 บันทึกเป็น 248D

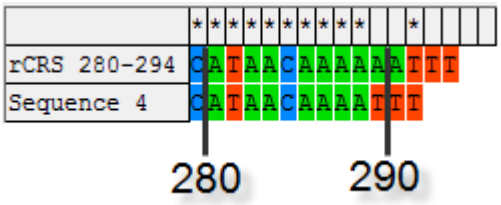


3B: เป็นการขาดหายที่ตำแหน่ง 249 บันทึกเป็น 249D



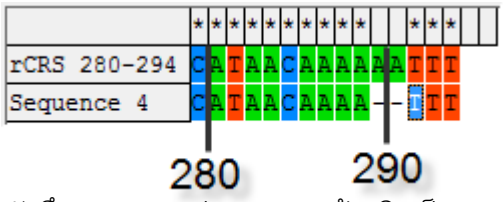
ทั้งสองแบบ เป็นการขาดหายเพียง 1 ตำแหน่งเหมือนกัน ดังนั้น ข้อกำหนดที่ 1 และ 2 จึงไม่สามารถใช้ได้ ต้องใช้ข้อกำหนดที่ 3 การขาดหายจะต้องจัดเรียงตามทิศ 3' ของสาย light strand ให้มากที่สุด ดังนั้นการบันทึกจึงเลือกรูปแบบที่ 3B คือ 249D

ตัวอย่างที่ 4



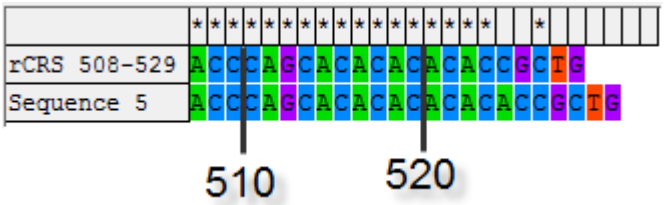
การบันทึก : 290D, 291D

คำอธิบาย : ตัวอย่างนี้อาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ ซึ่งเป็นการขาดหาย 2 ตำแหน่ง ดังนั้นข้อกำหนดที่ 1 และ 2 จึงไม่สามารถใช้ได้ จึงต้องพิจารณาจากข้อกำหนดที่ 3 กำหนดให้จัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3' ของสาย light strand ให้มากที่สุด ดังนั้นรูปแบบที่ได้จึงเป็น



บันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงเป็น 290D, 291D

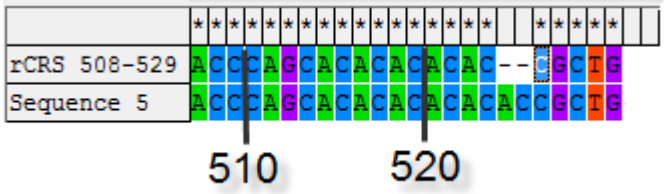
ตัวอย่างที่ 5



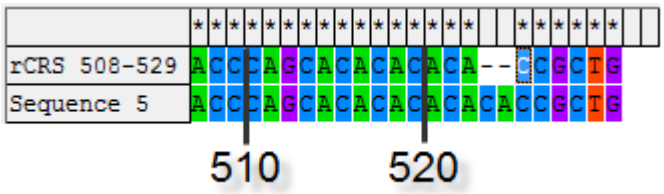
การบันทึก : 524.1A, 524.2C

คำอธิบาย : ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

5A: เป็นการแทรกที่ตำแหน่ง 524 จำนวน 2 เบส บันทึกเป็น 524.1A และ 524.2C

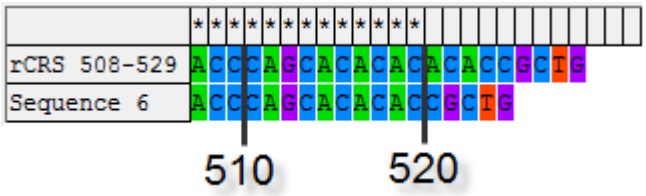


5B: เป็นการแทรกที่ตำแหน่ง 523 จำนวน 2 เบส บันทึกเป็น 523.1C และ 523.1A



จากข้อกำหนดที่ 3 ต้องมีการจัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3’ ของสาย light strand ให้มากที่สุด ดังนั้นการจัดเรียงตามแบบที่ 5A จึงเป็นไปตามข้อกำหนด การแทรกลักษณะนี้จึงเป็น AC insertion และบันทึกเป็น 524.1A และ 524.2C

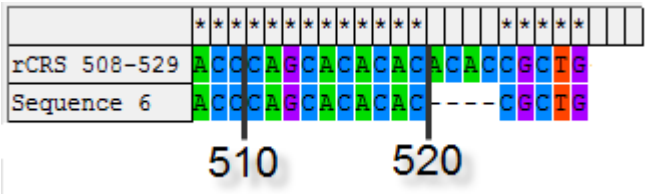
ตัวอย่างที่ 6



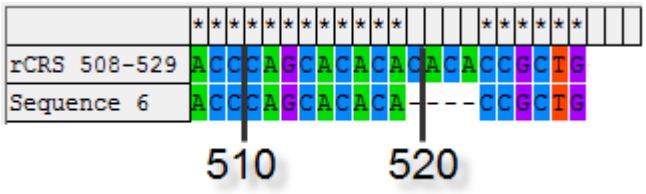
การบันทึก : 521D, 522D, 523D, 524D

คำอธิบาย : ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

6A: เป็นการขาดหายไปที่ตำแหน่ง 521-524 จำนวน 4 เบส บันทึกเป็น 521D, 522D, 523D และ 524D

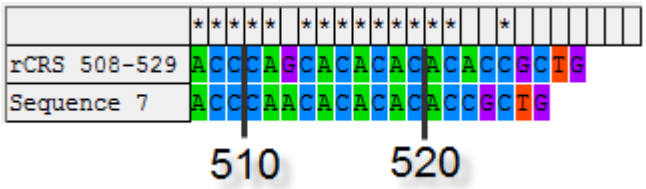


6B: เป็นการขาดหายไปที่ตำแหน่ง 520-523 จำนวน 4 เบส บันทึกเป็น 520D, 521D, 522D และ 523D



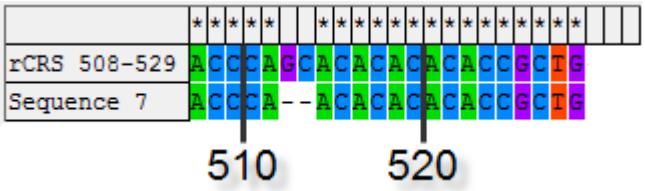
จากข้อกำหนดที่ 3 ต้องมีการจัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3’ ของสาย light strand ให้มากที่สุด ดังนั้นการจัดเรียงตามแบบที่ 6A จึงเป็นไปตามข้อกำหนด บันทึกเป็น 521D, 522D, 523D, 524D

ตัวอย่างที่ 7

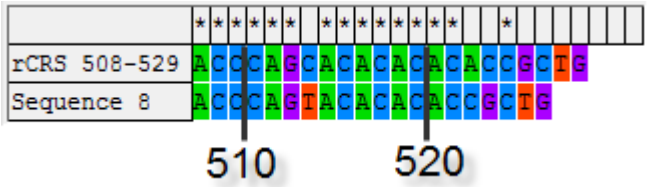


การบันทึก : 513D, 514D

คำอธิบาย : จากข้อกำหนดที่ 3 ต้องมีการจัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3' ของสาย light strand ให้มากที่สุด ดังนั้นจึงต้องบันทึกเป็น 513D, 514D



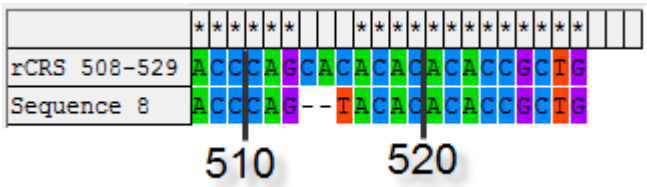
ตัวอย่างที่ 8



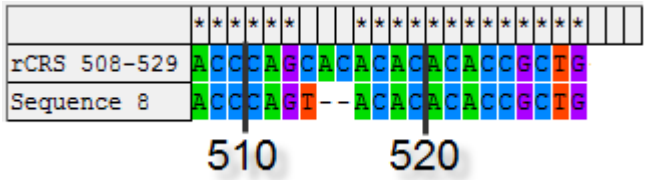
การบันทึก : 514T, 523D, 524D

คำอธิบาย : ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 3 แบบ ดังนี้

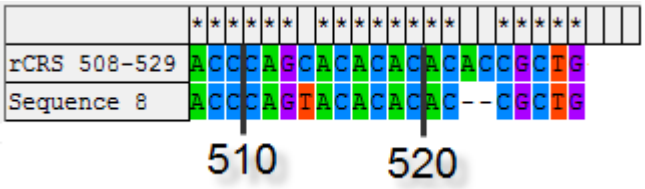
8A: เป็น transition ที่อยู่ติดกับ การขาดหาย 2 ตำแหน่ง อาจบันทึกให้ T สามารถอยู่ได้ทั้งด้านขวามือ โดยบันทึกเป็น 514D, 515D, 516T



8B: หรือพิจารณาให้ T อยู่ด้านซ้ายมือ โดยบันทึกเป็น 514T, 515D, 516D

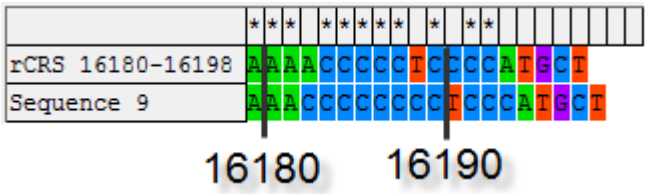


8C: เมื่อพิจารณาให้ T อยู่ด้านซ้ายมือ จากข้อกำหนดที่ 3 ต้องมีการจัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3’ ของสาย light strand ให้มากที่สุด ดังนั้นตำแหน่งการขาดหายไปจึงควรไปอยู่ด้านปลาย 3’ ให้มากที่สุดโดยบันทึกเป็น 514T, 523D, 524D



เมื่อพิจารณาให้ transition มีการจัดเรียงทางด้านปลาย 3’ ให้มากที่สุดแล้ว การจัดเรียงลำดับเบสต่อมาก็ต้องพิจารณาจัดเรียงตามทิศ 3’ ให้มากที่สุดเช่นกัน ดังนั้นรูปแบบการจัดเรียงที่ถูกต้องจึงเป็นรูปแบบ 8C โดยบันทึกเป็น 514T, 523D, 524D

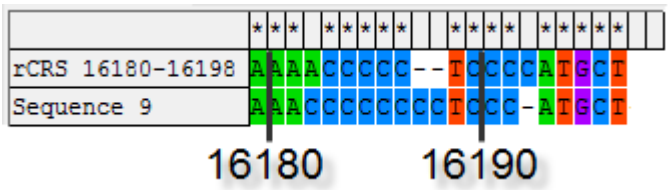
ตัวอย่างที่ 9



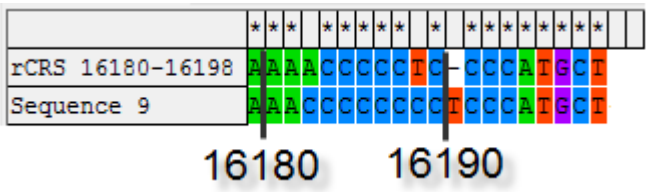
การบันทึก : 16183C, 16189C, 16190.1T

คำอธิบาย : ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 3 แบบ ดังนี้

9A: การจัดเรียงแบบนี้ บันทึกได้ 4 ตำแหน่งที่แตกต่างจากสายอ้างอิง คือ 16183C, 16188.1C, 16188.2C และ 16193D

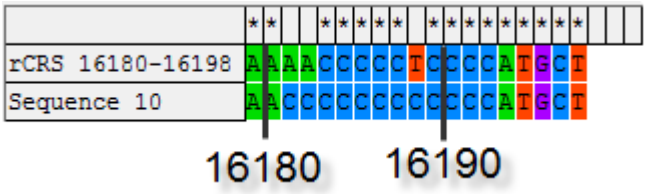


9B: บันทึกตำแหน่งที่แตกต่างจากสายอ้างอิงได้เพียง 3 ตำแหน่ง คือ 16183C, 16189C, 16190.1T



เนื่องจากการบันทึกตามรูปแบบ 9B สามารถบันทึกตำแหน่งที่แตกต่างจากสายอ้างอิงได้น้อยที่สุด จึงเลือกวิธีการบันทึกตามแบบ 9B โดยบันทึกเป็น 16183C, 16189C, 16190.1T

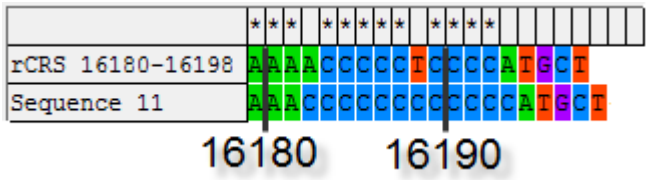
ตัวอย่างที่ 10



การบันทึก : 16182C, 16183C, 16189C

คำอธิบาย : ตัวอย่างนี้ไม่มีการแทรกหรือขาดหายไป เป็นเพียงการเปลี่ยนแปลงเบสจำนวน 3 ตำแหน่ง จึงบันทึกเป็น 16182C, 16183C, 16189C

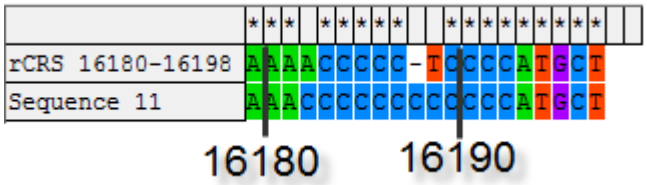
ตัวอย่างที่ 11



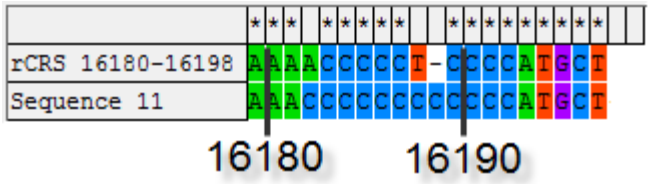
การบันทึก : 16183C, 16189C, 16193.1C

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 3 แบบ ดังนี้

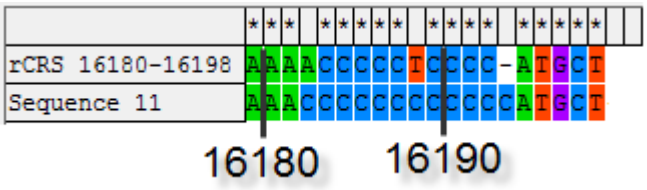
11A: ตำแหน่ง T เป็น transition ที่อยู่ติดกับการขาดหาย ดังนั้นจึงอาจเรียงลำดับ T ให้อยู่ทางซ้ายมือหรือขวามือก็ได้ กรณีที่จัดเรียง T อยู่ทางขวามือ บันทึกเป็น 16183C, 16188.1C, 16189C



11B: กรณีที่จัดเรียง T อยู่ทางซ้ายมือ บันทึกเป็น 16183C, 16189C, 16189.1C

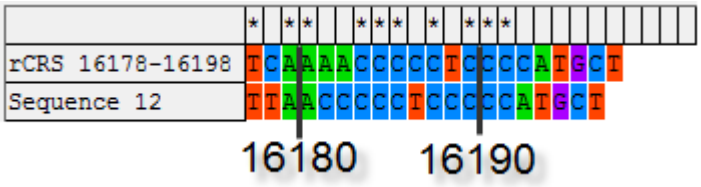


11C: กรณีที่จัดเรียง T อยู่ทางซ้ายมือ แต่จัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3’ ให้มากที่สุด บันทึกเป็น 16183C, 16189C, 16193.1C



การจัดเรียง transition ที่อยู่ติดกับการขาดหาย ต้องจัดเรียงให้ transition อยู่ติดปลาย 3’ ให้มากที่สุด (อยู่ทางซ้ายมือของการขาดหาย) จากนั้นจัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3’ ให้มากที่สุด รูปแบบ 11C จึงเป็นรูปแบบที่บันทึกได้ถูกต้องตามข้อกำหนด

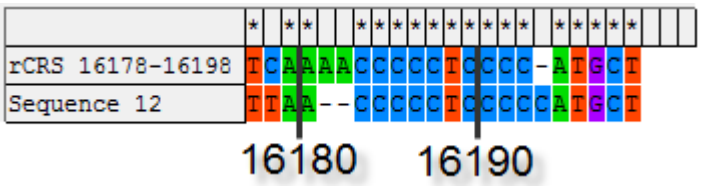
ตัวอย่างที่ 12



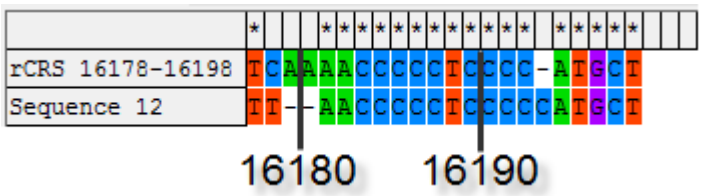
การบันทึก : 16179T, 16182D, 16183D, 16193.1C

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

12A: จัดเรียงตำแหน่งการขาดหายทางขวามือ ที่ตำแหน่ง 16182 และ ตำแหน่ง 16183 บันทึกเป็น 16179T, 16182D, 16183D, 16193.1C

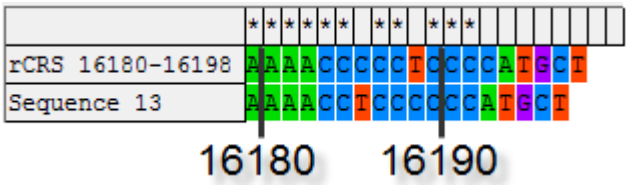


12B: จัดเรียงตำแหน่งการขาดหายทางซ้ายมือ ที่ตำแหน่ง 16180 และ ตำแหน่ง 16181 บันทึกเป็น 16179T, 16180D, 16181D, 16193.1C



พิจารณาจากการขาดหาย ต้องจัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3’ ให้มากที่สุด ดังนั้นรูปแบบ 12A จึงเป็นรูปแบบที่จัดเรียงลำดับเบสได้ตามข้อกำหนดมากที่สุด

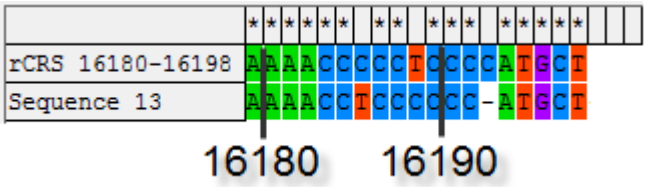
ตัวอย่างที่ 13



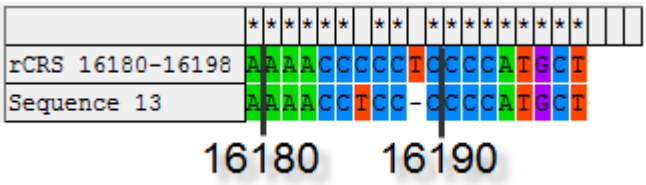
การบันทึก : 16186T, 16189D

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

13A: จัดเรียงให้ตำแหน่งการขาดหาย อยู่ทางขวามือสุด บันทึกได้เป็น 16186T, 16189T, 16193D

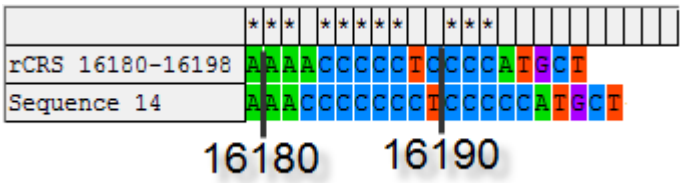


13B: จัดเรียงให้ตำแหน่งการขาดหาย อยู่ที่ตำแหน่ง16189 บันทึกได้เป็น 16186T, 16189D



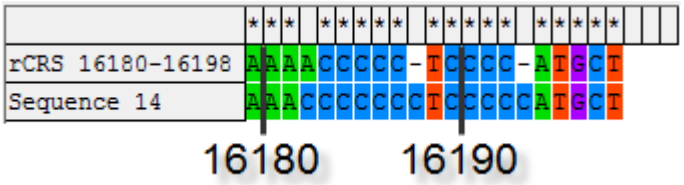
การจัดตามรูปแบบ 13B สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้น้อยที่สุด เพียง 2 ตำแหน่ง จึงเป็นรูปแบบที่เหมาะสมมากที่สุด

ตัวอย่างที่ 14

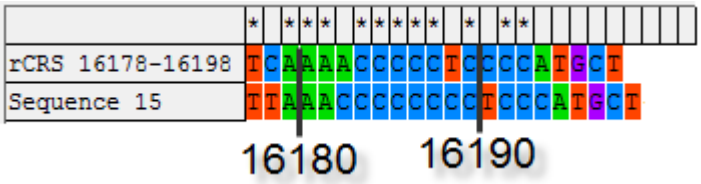


การบันทึก : 16183C, 16188.1C, 16193.1C

คำอธิบาย จากข้อกำหนดที่ 3 ต้องมีการจัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3' ของสาย light strand ให้มากที่สุด ดังนั้นสามารถบันทึกได้เป็น 16183C, 16188.1C, 16193.1C



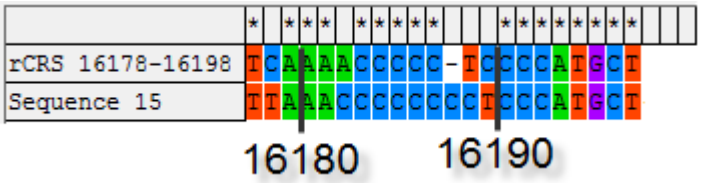
ตัวอย่างที่ 15



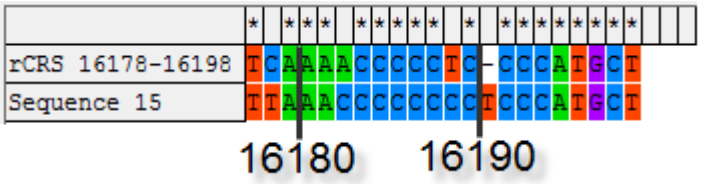
การบันทึก : 16179T, 16183C, 16189C, 16190.1T

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

15A: สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 5 ตำแหน่ง คือ 16179T, 16183C, 16188.1C, 16189C, 16190T

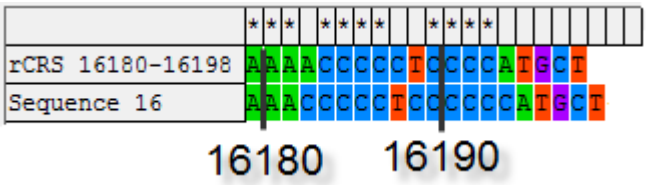


15B: สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 4 ตำแหน่ง คือ 16179T, 16183C, 16189C, 16190.1T



การจัดตามรูปแบบ 15B สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้น้อยที่สุด เพียง 4 ตำแหน่ง ดังนั้นจึงเลือกบันทึกตามรูปแบบ 15B บันทึกเป็น 16179T, 16183C, 16189C, 16190.1T

ตัวอย่างที่ 16

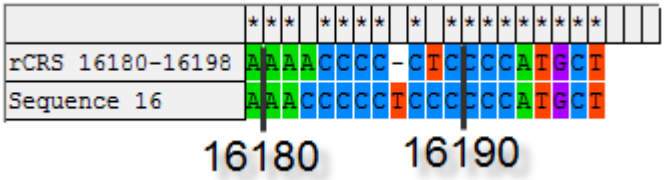


การบันทึก : 16183D, 16193.1C, 16193.2C

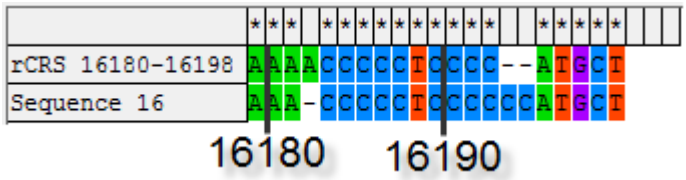
คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 3 แบบ ดังนี้

16A: สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 4 ตำแหน่ง คือ 16183C, 16188DEL, 16193.1C, 16193.2C

16B: สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 3 ตำแหน่ง คือ 16183C, 16187.1T, 16189C

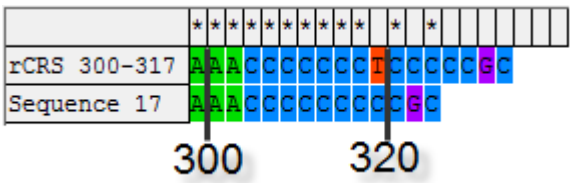


16C: บันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 3 ตำแหน่ง คือ 16183D, 16193.1C, 16193.2C,



รูปแบบที่ 16B มี transversion 1 ตำแหน่ง, transition 1 ตำแหน่งและการแทรก 1 ตำแหน่ง ขณะที่รูปแบบที่ 16C เป็นการแทรกและการขาดหายทุกตำแหน่ง จากข้อกำหนด 2 การจัดเรียงเบสแบบที่เป็นการแทรกหรือการขาดหาย มีลำดับความสำคัญสูงกว่าแบบ transition หรือ Transversion ดังนั้นรูปแบบที่ 16C จึงเป็นรูปแบบที่มีความเหมาะสมมากที่สุด

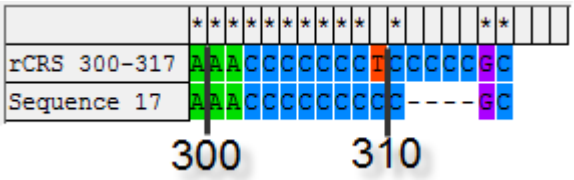
ตัวอย่างที่ 17



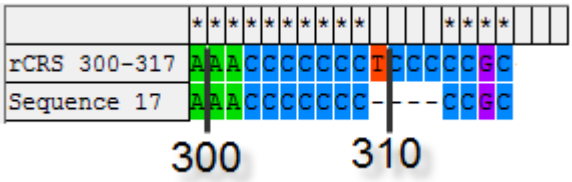
การบันทึก : 310D, 311D, 312D, 313D

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 3 แบบ ดังนี้

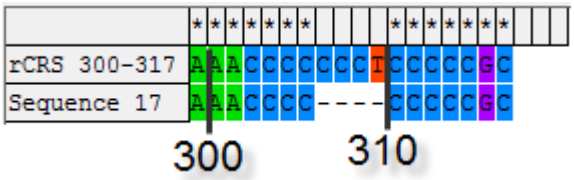
17A: สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 5 ตำแหน่ง คือ 310C, 312D, 313D, 314D, 315D



17B: สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 4 ตำแหน่ง คือ 310D, 311D, 312D, 313D

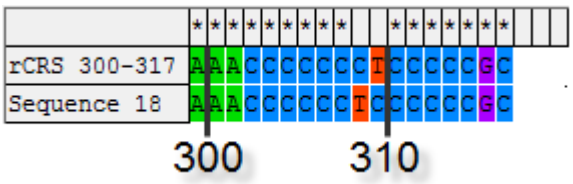


17C: สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 4 ตำแหน่ง คือ 307D, 308D, 309D, 310D



รูปแบบที่ 17B และ 17C สามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 4 ตำแหน่ง ซึ่งน้อยกว่ารูปแบบ 17A แต่รูปแบบที่ 17B มีการจัดเรียงลำดับเบสตามทิศ 3' มากที่สุด โดยเริ่มจากการขาดหายของ T ที่ตำแหน่ง 310D และจัดให้การขาดหายเรียงติดต่อกันในทิศ 3' ซึ่งเป็นวิธีการที่ถูกต้องตามข้อกำหนด การจัดเรียงแบบอื่นๆ มักมีตำแหน่งการขาดหายไปไม่ติดต่อกัน สำหรับรูปแบบ 17C แม้ว่าสามารถบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 4 ตำแหน่งเท่ากับรูปแบบ 17B แต่การจัดเรียงของการขาดหาย ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดที่ 3 ดังนั้นรูปแบบที่เหมาะสมที่สุดจึงเป็นรูปแบบที่ 17B

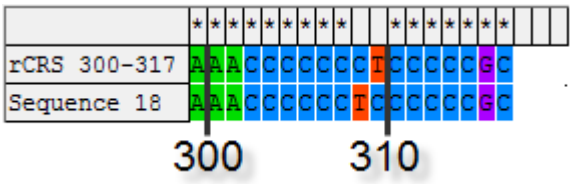
ตัวอย่างที่ 18



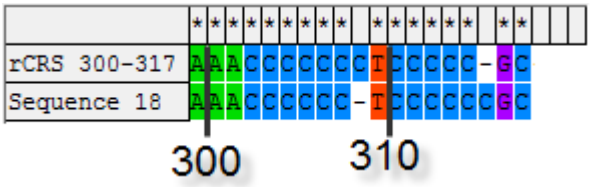
การบันทึก : 309D, 315.1C

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้ 2 แบบ ดังนี้

18A: มี transition 2 ตำแหน่ง บันทึกได้เป็น 309T, 310C

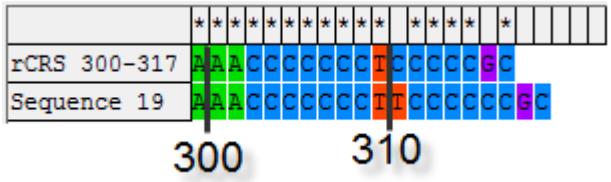


18B: มีการแทรกหรือขาดหาย (indels) 2 ตำแหน่ง บันทึกได้เป็น 309D, 315.1C



จากข้อกำหนด 2 การจัดเรียงลำดับความสำคัญของการแทรกหรือการขาดหายสูงกว่า transition หรือ transversion ดังนั้นเมื่อบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิงได้ 2 ตำแหน่งเท่ากัน รูปแบบ 18B จึงเป็นรูปแบบที่เหมาะสมมากกว่า

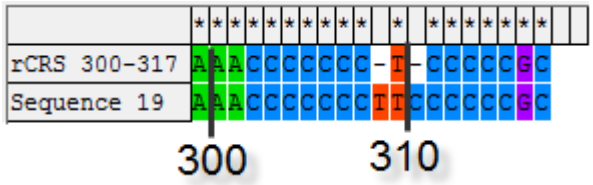
ตัวอย่างที่ 19



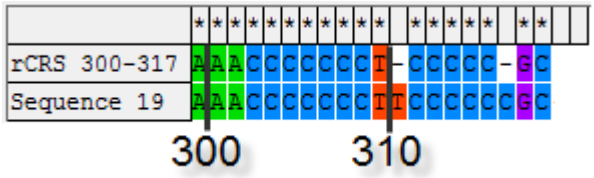
การบันทึก : 310.1T, 315.1C

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

19A: มีการแทรกของเบส T ที่ตำแหน่ง 309 และมีการแทรกของเบส C ที่ตำแหน่ง 310 บันทึกได้เป็น 309.1T, 310.1C

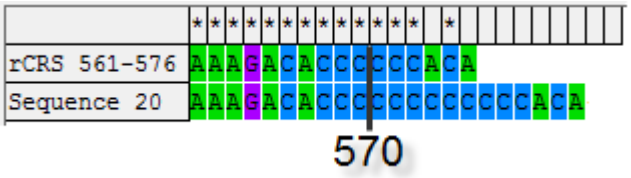


19B: มีการแทรกของเบส T ที่ตำแหน่ง 310 และมีการแทรกของเบส C ที่ตำแหน่ง 315 บันทึกได้เป็น 310.1T, 315.1C



การจัดเรียงลำดับเบสตามข้อกำหนด 3 การแทรกหรือการขาดหายจะต้องมีการจัดเรียงด้านปลาย 3' ให้มากที่สุด ดังนั้นรูปแบบ 19B จึงเป็นรูปแบบที่เหมาะสมที่สุด

ตัวอย่างที่ 20



การบันทึก : 573.1C, 573.2C, 573.3C, 573.4C, 573.5C, 573.6C

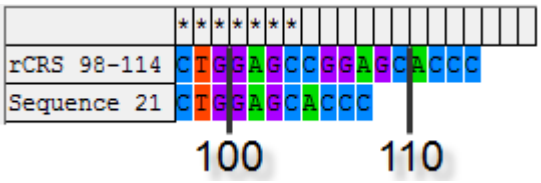
คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

20A: หากพิจารณาว่าตำแหน่งที่ 576 เป็นตำแหน่งสิ้นสุดของสายอ้างอิง (HV3) ดังนั้นลำดับเบสตำแหน่งถัดไปจาก 576 จึงเป็นเบสที่ไม่ต้องสนใจ จะสามารถบันทึกได้เป็น 574C, 576C

20B: แต่ถ้าพิจารณาว่าสายอ้างอิงเป็นสายยาวต่อเนื่องออกไปอีก (สายอ้างอิงยาว 16569 เบส) โดยจัดเรียงลำดับเบสตามข้อกำหนด 3 จะสามารถบันทึกได้เป็น 573.1C, 573.2C, 573.3C, 573.4C, 573.5C, 573.6C

ความเป็นจริงแล้ว สายไมโตคอนเดรียมีความยาวรวม 16569 คู่เบส โดยมีส่วนของ control region เป็นเพียงส่วนหนึ่งของสายไมโตคอนเดรีย ปลายสายของ HV3 จึงไม่ใช่ตำแหน่งสิ้นสุดของสายไมโตคอนเดรียที่ใช้เปรียบเทียบกับสายอ้างอิง ดังนั้น รูปแบบ 20B จึงเป็นการจัดเรียงลำดับเบสเพื่อเปรียบเทียบกับสายอ้างอิงที่ถูกต้อง

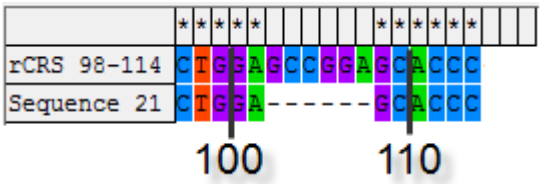
ตัวอย่างที่ 21



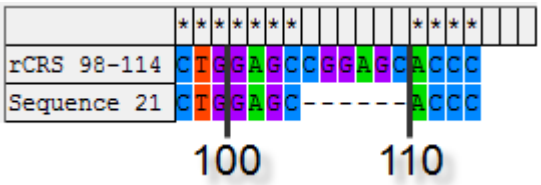
การบันทึก : 105D, 106D, 107D, 108D, 109D, 110D

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

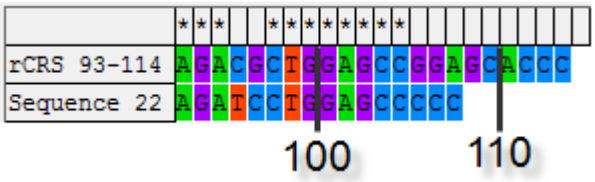
21A: ตำแหน่งขาดหายไป 6 เบสนี้สามารถจัดเรียงได้หลายรูปแบบ เนื่องจากเบส GGAG สามารถจัดเรียงได้ทั้งด้านซ้ายมือและขวามือ หรือจัดเรียงบางตำแหน่งอยู่ซ้ายมือบางตำแหน่งอยู่ขวามือก็ได้ บันทึกเป็น 103D, 104D, 105D, 106D, 107D, 108D



21B: หากพิจารณาจากข้อกำหนด 3 การแทรกหรือการขาดหายจะต้องมีการจัดเรียงด้านปลาย 3' ให้มากที่สุด ดังนั้นเบส GGAG จึงควรอยู่ชิดทางซ้ายมือ บันทึกได้เป็น 105D, 106D, 107D, 108D, 109D, 110D



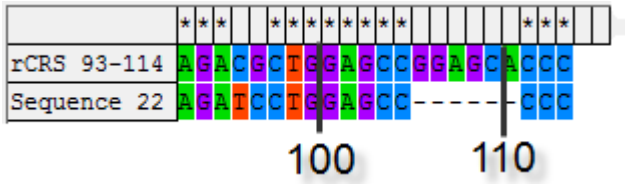
ตัวอย่างที่ 22



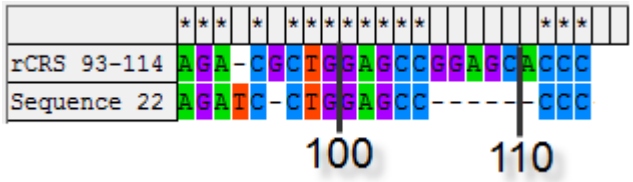
การบันทึก : 95.1T, 97D, 106D, 107D, 108D, 109D, 110D, 111D

คำอธิบาย ตัวอย่างอาจบันทึกได้มากกว่า 2 แบบ แต่ขอยกตัวอย่างเพียง 2 แบบ ดังนี้

22A: นอกเหนือจากตำแหน่งขาดหายไป 6 เบสแล้ว ตัวอย่างนี้เป็นยังมีอีก 2 ตำแหน่งที่แตกต่างจากสายอ้างอิง คือ transition 1ตำแหน่งที่ 96T และ transversion 1 ตำแหน่งที่ 97C บันทึกรวมเป็น 96T, 97C, 106D, 107D, 108D, 109D, 110D, 111D

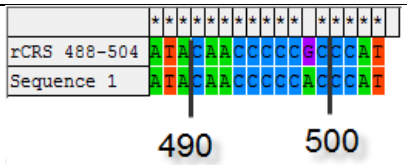
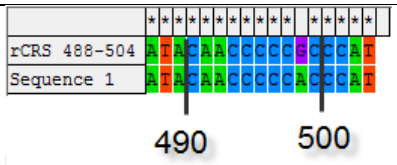
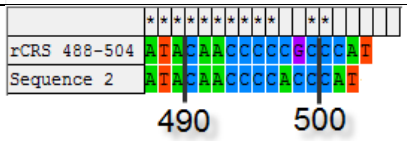
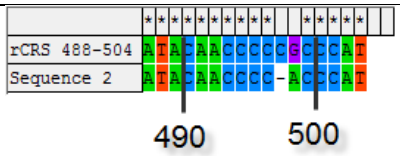
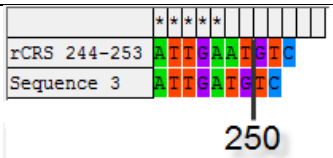
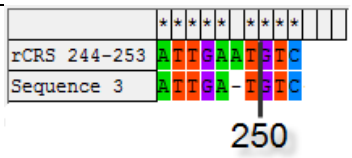
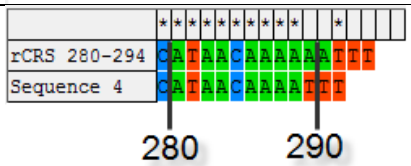
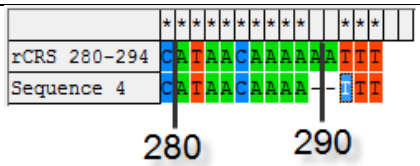
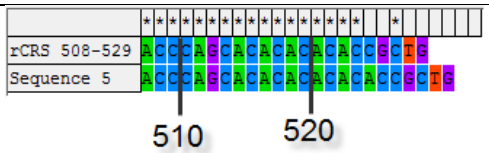
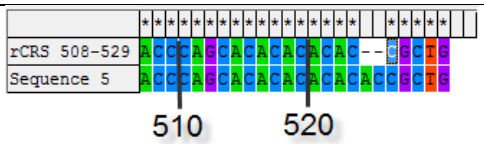
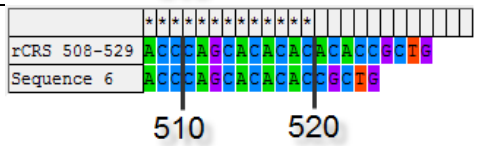
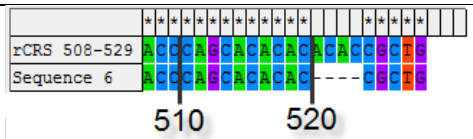
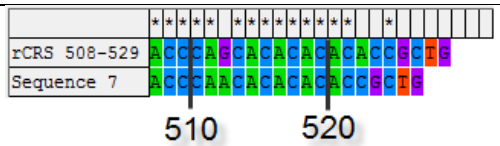
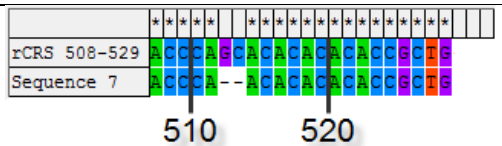
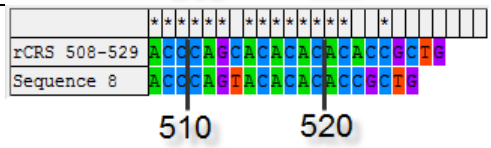
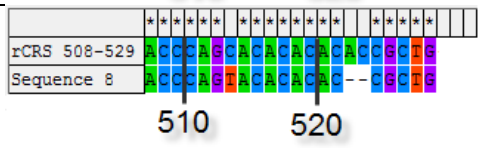
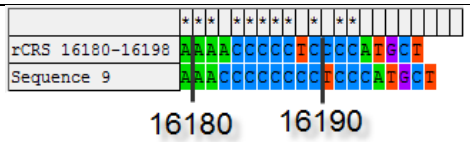
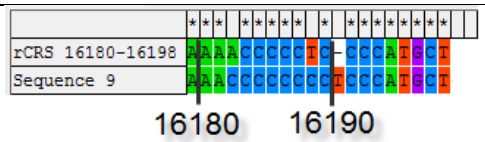


22B: เป็นการบันทึกตำแหน่งที่แตกต่างจากสายอ้างอิง เป็นแบบการแทรกและการขาดหาย โดยบันทึกเป็นการแทรกที่ตำแหน่ง 95.1T และการขาดหายที่ตำแหน่ง 97D ร่วมกับการขาดหายจำนวน 6 เบส บันทึกเป็น 95.1T, 97D, 106D, 107D, 108D, 109D, 110D, 111D



รูปแบบที่ 22A เป็นการบันทึกแบบ transition 1 ตำแหน่ง ร่วมกับ Transversion 1 ตำแหน่ง ขณะที่รูปแบบที่ 22B เป็นการบันทึกแบบ การแทรก 1 ตำแหน่งและ การขาดหาย 1 ตำแหน่ง จากข้อกำหนด 2 การพิจารณาความแตกต่างจากสายอ้างอิง ต้องให้ความสำคัญกับ การแทรกหรือการขาดหายสูงกว่า transition หรือ transversion ดังนั้นรูปแบบที่ 22B จึงเป็นรูปแบบการบันทึกที่ถูกต้อง

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่าง รูปแบบการจัดเรียงลำดับเบสที่ถูกต้อง และ การบันทึกความแตกต่างจากสายอ้างอิง

ตัวอย่างที่	ตำแหน่ง rCRS	ตัวอย่างลำดับเบสและสายอ้างอิง	รูปแบบการจัดเรียงลำดับเบสที่ถูกต้อง	การบันทึกความแตกต่าง
1	488-504			499A
2	488-504			498D, 499A
3	244-253			249D
4	280-294			290D, 291D
5	508-529			524.1A, 524.2C
6	508-529			521D, 522D, 523D, 524D
7	508-529			513D, 514D
8	508-529			514T, 523D, 524D
9	16180-16198			16183C, 16189C, 16190.1T

10	16180-16198	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCCATGCT Sequence 10 AACCCCCCCCCCCCCATGCT 16180 16190	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCCATGCT Sequence 10 AACCCCCCCCCCCCCATGCT 16180 16190	16182C, 16183C, 16189C
11	16180-16198	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCCATGCT Sequence 11 AAACCCCCCCCCCCCCATGCT 16180 16190	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCC-ATGCT Sequence 11 AAACCCCCCCCCCCCCATGCT 16180 16190	16183C, 16189C, 16193.1C
12	16178-16198	rCRS 16178-16198 TCAAAACCCCCTCCCCATGCT Sequence 12 TTAACCCCCTCCCCCATGCT 16180 16190	rCRS 16178-16198 TCAAAACCCCCTCCCC-ATGCT Sequence 12 TTAA--CCCCCTCCCCCATGCT 16180 16190	16179T, 16182D, 16183D, 16193.1C
13	16180-16198	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCCATGCT Sequence 13 AAAACCTCCCCCCCATGCT 16180 16190	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCCATGCT Sequence 13 AAAACCTCC-CCCCATGCT 16180 16190	16186T, 16189D
14	16180-16198	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCCATGCT Sequence 14 AAACCCCCCCCTCCCCCATGCT 16180 16190	rCRS 16180-16198 AAAACCCCC-TCCCC-ATGCT Sequence 14 AAACCCCCCCCTCCCCCATGCT 16180 16190	16183C, 16188.1C, 16193.1C
15	16178-16198	rCRS 16178-16198 TCAAAACCCCCCTCCCCATGCT Sequence 15 TTAAACCCCCCCCTCCCATGCT 16180 16190	rCRS 16178-16198 TCAAAACCCCCTC-CCCCATGCT Sequence 15 TTAAACCCCCCCCCTCCCATGCT 16180 16190	16179T, 16183C, 16189C, 16190.1T
16	16180-16198	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCCATGCT Sequence 16 AAACCCCCCTCCCCCCATGCT 16180 16190	rCRS 16180-16198 AAAACCCCCCTCCCC--ATGCT Sequence 16 AAA-CCCCCTCCCCCCATGCT 16180 16190	16183D, 16193.1C, 16193.2C
17	300-317	rCRS 300-317 AAACCCCCCCCTCCCCCGC Sequence 17 AAACCCCCCCCCCGC 300 320	rCRS 300-317 AAACCCCCCCCTCCCCCGC Sequence 17 AAACCCCCCCC----CCGC 300 310	310D, 311D, 312D, 313D
18	300-317	rCRS 300-317 AAACCCCCCCCTCCCCCGC Sequence 18 AAACCCCCCCTCCCCCCGC 300 310	rCRS 300-317 AAACCCCCCCCTCCCCC-GC Sequence 18 AAACCCCCCC-TCCCCCCGC 300 310	309D, 315.1C

19	300-317	rCRS 300-317 AAACCCCCCCCTCCCCCGC Sequence 19 AAACCCCCCCCTTCCCCCCGC 300 310	rCRS 300-317 AAACCCCCCCCT-CCCCC-GC Sequence 19 AAACCCCCCCCTTCCCCCCGC 300 310	310.1T, 315.1C
20	561-576	rCRS 561-576 AAAGACACCCCCCACA Sequence 20 AAAGACACCCCCCCCCCCCACA 570	rCRS 561-576 AAAGACACCCCCC------ACA Sequence 20 AAAGACACCCCCCCCCCCCCACA 570	573.1C, 573.2C, 573.3C, 573.4C, 573.5C, 573.6C
21	98-114	rCRS 98-114 CTGGAGCCGGAGCACCC Sequence 21 CTGGAGCACCC 100 110	rCRS 98-114 CTGGAGCCGGAGCACCC Sequence 21 CTGGAGC------ACCC 100 110	105D, 106D, 107D, 108D, 109D, 110D
22	93-114	rCRS 93-114 AGACGCTGGAGCCGGAGCACCC Sequence 22 AGATCCTGGAGCCCCC 100 110	rCRS 93-114 AGA-CGCTGGAGCCGGAGCACCC Sequence 22 AGATC-CTGGAGCC------CCC 100 110	95.1T, 97D, 106D, 107D, 108D, 109D, 110D, 111D

References:

1. Wilson MR, Allard MW, Monson K, Miller KWP, Budowle B. Recommendations for consistnet treatment of length variants in the human mitochondrial DNA control region. Forensic Science International 2002; 129: 35-42.
2. Wilson MR, Allard MW, Monson KL, Miller KWP, Budowle B. Further discussion of the consistent treatment of length variants in the human mitochondrial DNA control region. Forensic Science Communications [serial on the Internet] 2002;4(4) [cited 2011 July 25] Available from : http://www2.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/april2002/miller1.htm