

อภิปรายผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7132 ในกลุ่มประชากรไทยภาคเหนือเพศหญิง ที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกับสายเลือด ตามวัตถุประสงค์ที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น ซึ่งยังไม่มีการศึกษาตำแหน่งนี้ในประเทศไทยแต่มีการศึกษากันมากในประเทศอื่นๆ และพบว่าสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดได้ เช่น การศึกษาของ Zeng (2009) ที่ศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิง 10 ตำแหน่ง ในชนกลุ่มน้อยของประเทศจีน โดยสกัดดีเอ็นเอจากเลือด แล้วทำการเพิ่มดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR พบว่าในตำแหน่ง DXS7132 มีค่ากำลังการแยกแยะที่สูง (0.8745) ทั้งนี้ยังรายงานว่ทั้ง 10 ตำแหน่งสามารถนำมาใช้ในการพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์และการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลได้

นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Li (2009) ที่รายงานว่าดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7132 มีความหลากหลายมากและมีค่ากำลังการแยกแยะสูงถึง 0.8860 ซึ่งสูงที่สุดในการศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงทั้ง 4 ตำแหน่งของชนเผ่า Beijing Han ด้วยการใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดเลือดในกลุ่มตัวอย่างประชากร และสรุปว่าสามารถนำไปใช้เป็น marker ในการพิสูจน์ความสัมพันธ์สายเลือดและใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้ ดังนั้นจึงทำการศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7132 และนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับประเทศอื่นๆที่มีความใกล้เคียงทางเชื้อชาติกับประเทศไทยมากที่สุด

จากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ ตำแหน่ง DXS7132 ในตัวอย่างประชากรไทยภาคเหนือเพศหญิงที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกับสายเลือดเดียวกันจำนวน 120 คน ด้วยการใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ แล้วตรวจสอบขนาดผลผลิตที่ได้ด้วยวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis พบว่าดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ ตำแหน่ง DXS7132 มีอัลลีลทั้งหมด 7 อัลลีล เมื่อทำการหาลำดับเบส (Sequence) แล้วพบว่ามีช่วงการซ้ำของชุดเบส TCTA ซึ่ง

ประกอบด้วยชุดเบสซ้ำเริ่มตั้งแต่ 11 ถึง 17 ครั้ง จึงเชื่อได้ว่าดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DXS7132 ในการศึกษาเริ่มจากอัลลีลที่ 11 ถึงอัลลีลที่ 17 โดยอัลลีลที่ 14 พบว่ามีความถี่มากที่สุด คือ 0.3708 และอัลลีลที่ 11 กับ 17 มีความถี่น้อยสุดคือ 0.0042 ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้จากศึกษาสอดคล้องกับกลุ่มประชากรของประเทศญี่ปุ่น ที่ Akiyoshi (2009) ได้ศึกษาในประชากรญี่ปุ่นที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกับสายเลือดเดียวกันจำนวน 494 คน โดยการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด หรือตัวอย่างฟัน นำมาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR แล้วพบว่าอัลลีลทั้งหมด 7 อัลลีล ในตำแหน่ง DXS7132 เริ่มจากอัลลีลที่ 11 ถึงอัลลีลที่ 17 โดยอัลลีลที่ 14 มีความถี่มากที่สุดคือ 0.3700 และอัลลีลที่ 11 มีความถี่น้อยสุดคือ 0.0010 และสอดคล้องกับการศึกษาในประชากรเอเชียจากมาเก๊าจำนวน 100 คนของ Gomes (2007) ที่ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดในกลุ่มตัวอย่าง และใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ซึ่งพบว่าอัลลีลในตำแหน่ง DXS7132 มีทั้งหมด 7 อัลลีล เริ่มจากอัลลีลที่ 11 ถึงอัลลีลที่ 17 อัลลีลที่ 14 มีความถี่มากที่สุดและอัลลีลที่ 11 กับ 17 มีความถี่น้อยสุดคือ 0.4200 และ 0.0300 ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันสอดคล้องกับกลุ่มประชากรในประเทศอิตาลีที่ Robino (2006) ได้ทำการศึกษาจากเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม (Buccal swabs) ในกลุ่มประชากรตัวอย่างจำนวน 140 คน แล้วเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR และรายงาน พบอัลลีลทั้งหมด 7 อัลลีล ในตำแหน่ง DXS7132 โดยเริ่มจากอัลลีลที่ 11 ถึงอัลลีลที่ 17 ซึ่งอัลลีลที่ 14 มีความถี่มากที่สุดคือ 0.3710 และอัลลีลที่มีความถี่น้อยสุดคือ อัลลีลที่ 11 มีความถี่เท่ากับ 0.0050

เมื่อคำนวณค่ากำลังการแยกแยะของผู้หญิงจากข้อมูลลักษณะพันธุกรรมที่แสดงออกแต่ละคำนวณค่า กำลังการแยกแยะของผู้ชายจากข้อมูลความถี่อัลลีลในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่งDXS7132 พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.8939 และ 0.7498 ตามลำดับ โดยค่านี้บอกลถึงโอกาสที่เมื่อเลือกคนสองคนอย่างสุ่มแล้วจะได้ลักษณะพันธุกรรมของดีเอ็นเอตำแหน่งดังกล่าวต่างกัน ในผู้หญิงและในผู้ชายเท่ากับ 89.39% และ 74.98% ตามลำดับ หรือจะกล่าวอีกทางหนึ่งว่าโอกาสที่จะพบว่าคนสองคนมีลักษณะพันธุกรรมของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่งDXS7132 เหมือนกัน ในผู้หญิงเท่ากับ 10.61% และในผู้ชายเท่ากับ 25.02% จากนั้นคำนวณค่ากำลังการคัดออกสำหรับกรณีของ no parent (กรณีพิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างแม่-ลูก โดยมีเด็กกับผู้ถูกกล่าวหาเพียงคนเดียวเท่านั้น) มีค่าเท่ากับ 0.3477 และสำหรับกรณีของ one parent (กรณีที่เด็กมากับบุพการีแท้ๆแล้วอ้างว่าผู้ถูกกล่าวหาเป็นบุพการีอีกคน) จะ มีค่าเท่ากับ 0.5265 ในบางงานวิจัยได้มีการคำนวณค่ากำลังการคัดออกตามสูตรดังนี้ ค่ากำลังการคัดออกกรณี trio (กรณีที่เด็กมากับบุพการีแท้ๆแล้วกล่าวหาว่าผู้ถูกกล่าวหาเป็นบุพการีอีกคน) คือ $PE(trio) = 1 - \sum P_i^2 + \sum P_i^4 - (\sum P_i^2)^2$ และค่ากำลังการคัดออกกรณี motherless (กรณีเด็กหญิงกล่าวหา

ว่าชายคนหนึ่งเป็นพ่อ) คือ $PE(motherless) = 1 - 2(\sum P_i^2) + \sum P_i^3$ โดยที่ P_i คือ ค่าความถี่ของแต่ละอัลลีล (Zarrabeitia *et al.*, 2006) ซึ่งสูตรดังที่กล่าวมาข้างต้นเป็นสูตรที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์ ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิง ซึ่งในการศึกษานี้พบว่ามีความค่ากำลังการคัดออกกรณี trio เท่ากับ 0.7109 และ ค่ากำลังการคัดออก กรณี motherless เท่ากับ 0.5732 จากค่าดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการตรวจพิสูจน์โดยใช้ ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงสามารถคัดคนที่ไม่ใช่บุพการีออกได้มากขึ้น และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่ากำลังการคัดออกในการตรวจพิสูจน์โดยทั่วไปแล้วพบว่า มีค่าสูงกว่า แสดงให้เห็นว่า การใช้ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิง ตำแหน่ง DXS7132 ในการตรวจพิสูจน์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพได้มากยิ่งขึ้น

นอกจากนี้เมื่อนำค่า heterozygosity ($H_{observe}$) ที่ได้จากการสังเกตพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.7583 หรือ 75.83% ซึ่งจะมีความใกล้เคียงกับค่า heterozygosity (H_{expect}) คาดหวังที่คำนวณตามสูตรของ Bhoopat (1996) แล้วได้ค่าเท่ากับ 0.7530 ± 0.0394 หรือ $75.30 \pm 3.94\%$ (ภาคผนวก ข) และเมื่อทดสอบการกระจายตัวของลักษณะพันธุกรรมต่างๆว่าเป็นไปตาม กฎความสมดุลของ Hardy-Weinberg หรือไม่ โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ (χ^2 : Chi-Square) (ชูศรี, 2550) พบว่าจำนวนลักษณะพันธุกรรมที่ได้จากการสังเกต ($n_{observe}$) และจำนวนลักษณะพันธุกรรมที่คาดหวัง (n_{expect}) ไม่มีความแตกต่างกัน หรือกล่าวได้ว่า จำนวนลักษณะพันธุกรรมที่สังเกตมีการกระจายตัวเป็นไปตามกฎความสมดุลของ Hardy-Weinberg จึงเชื่อได้ว่าวิธีการหรือเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอและการเลือกกลุ่มตัวอย่างในการวิจัยนี้เป็นไปอย่างถูกต้องและเหมาะสม ดังนั้นจึง สามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงใน ตำแหน่ง DXS7132 ได้ (ภาคผนวก ข)

ในการแปลผลการตรวจพิสูจน์ จำเป็นต้องใช้สูตรในการคำนวณตามลักษณะความสัมพันธ์ของผู้ที่มาตรวจ เช่น การคำนวณในลักษณะการถ่ายทอดแบบ single allele ซึ่งลักษณะนี้ใช้ในการตรวจกรณี พ่อกับลูกสาว โดยที่พ่อจะถ่ายทอดโครโมโซม X (X-chromosome) ที่มีเพียงตัวเดียวไปให้ลูกสาวทุกคน ส่วนโครโมโซม X อีกตัวจะได้รับการถ่ายทอดมาจากแม่ และในกรณีแม่กับลูกชาย ซึ่งลูกชายจะได้รับการถ่ายทอดโครโมโซม X มาจากแม่ ส่วนโครโมโซม Y (Y-chromosome) จะได้มาจากพ่อ ในกรณีที่ผู้รับตรวจแสดงความสัมพันธ์ของลักษณะดีเอ็นเอ (คัดไม่ออก) สามารถคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น (Likelihood ratio: LR) ในกรณีต่างๆได้จากสูตรตามตารางที่ 7

ตาราง 7 แสดงสูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นในการตรวจหาความสัมพันธ์แบบ Single allele

ลักษณะความสัมพันธ์	ลักษณะของดีเอ็นเอที่ปรากฏ	สูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น
พ่อ-ลูกสาว	กรณีลูกสาวมีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น heterozygous	$1/2f_A$
	กรณีลูกสาวมีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น homozygous	$1/f_A$
แม่-ลูกชาย	กรณีแม่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น heterozygous	$1/2 f_A$
	กรณีแม่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น homozygous	$1/f_A$

โดยที่ f_A คือ ค่าความถี่ของอัลลีลที่แสดงความสัมพันธ์กันระหว่างผู้รับการตรวจ

การแปลผลการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ แบบแม่กับลูกสาวโดยแม่จะมีการถ่ายทอดโครโมโซม X ไปยังลูกสาว ในกรณีนี้ จะใช้การคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นเช่นเดียวกับการตรวจพิสูจน์ในกรณีการใช้โครโมโซมปกติ (Autosome chromosome) นอกจากนี้ ยังมีการตรวจพิสูจน์โครโมโซมเพศหญิงที่มีประโยชน์จำเพาะกับการพิสูจน์ female sibling ที่มีความซับซ้อน เช่น การหาความสัมพันธ์ระหว่างย่าและหลานสาว โดยที่บิดาไม่สามารถมาร่วมการตรวจได้ นั่นคือ ย่าจะถ่ายทอด โครโมโซม X ไปยังรุ่นพ่อ และพ่อจะถ่ายทอดโครโมโซม X ไปยังลูกสาวทุกคน รวมทั้งกรณีการหาความสัมพันธ์ระหว่างพี่น้องผู้หญิงร่วมบิดา เมื่อบิดาไม่สามารถมาร่วมการตรวจได้ นั่นคือ พ่อจะถ่ายทอดโครโมโซม X ไปยังลูกสาวทุกคน ทำให้พี่น้องผู้หญิงทุกคนมีโครโมโซม X ตัวหนึ่งที่เหมือนกัน ซึ่งกรณีเหล่านี้เป็นลักษณะการถ่ายทอดแบบ female sibling เช่นกัน ในกรณีที่ผู้รับการตรวจแสดงความสัมพันธ์ของลักษณะดีเอ็นเอ (คัดไม่ออก) สามารถคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นในกรณีต่างๆได้จากสูตรตามตารางที่ 8

ตาราง 8 แสดงสูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นในการตรวจความสัมพันธ์แบบ Female sibling

ลักษณะความสัมพันธ์	ลักษณะของดีเอ็นเอที่ปรากฏ	สูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น
แม่-ลูกสาว ย่า-หลานสาว พี่น้องผู้หญิงร่วมบิดา	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น heterozygous โดยมีลักษณะ genotype ที่ต่างกัน	$1/4f_A$
	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น heterozygous โดยมีลักษณะ genotype ที่เหมือนกัน	$f_A + f_B/4(f_A f_B)$
	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น homozygous	$1/f_A$
	คนหนึ่งมีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น homozygous และอีกคนหนึ่งมีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้น heterozygous	$1/2f_A$

โดยที่ f_A และ f_B คือ ค่าความถี่ของอัลลีลที่แสดงความสัมพันธ์กันระหว่างผู้มารับการตรวจ
หมายเหตุ วิธีคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นในตารางที่ 7 และ 8 อยู่ในภาคผนวก ค