

บทที่ 3

ผลการค้นคว้า

การค้นคว้าเพื่อเปรียบเทียบโอกาสการตรวจดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS390 กับการตรวจหาตัวอสุจิ จากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา โดยคัดมาจากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา ของภาควิชานิติเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 60 ตัวอย่าง ผู้ค้นคว้าเริ่มศึกษาจากการสร้างอัลลีลมาตรฐานของตำแหน่ง DYS390 โดยใช้ตัวอย่าง DNA ของผู้ชายที่ทราบชนิดของอัลลีลของตำแหน่งดังกล่าว มาเป็นดีเอ็นเอแม่แบบในขบวนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ก่อนที่จะนำไปแยกแแถบดีเอ็นเอเทียบกับแแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน โดย Polyacrylamide gel electrophoresis ซึ่งผลที่ได้แสดงดัง

ภาพ 7



ภาพ 7 แสดงการสร้างอัลลีลมาตรฐานของตำแหน่ง DYS390 จากเลือดของผู้ชาย โดยการแยกแแถบดีเอ็นเอเทียบกับแแถบดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อบอกช่วงขนาดของแต่ละอัลลีล

ช่องที่ 1 แสดงแแถบดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด (100-400 bp)

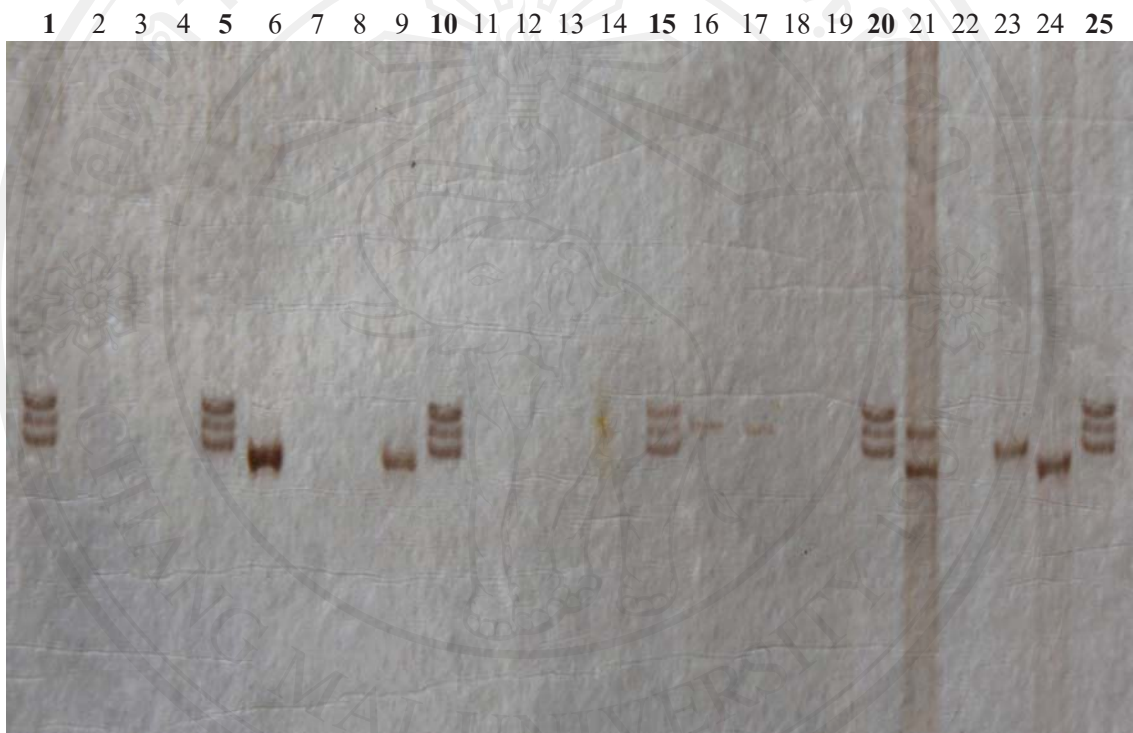
ช่องที่ 2 แสดงลักษณะอัลลีลที่ 24

ช่องที่ 3 แสดงลักษณะอัลลีลที่ 25

ช่องที่ 4 แสดงลักษณะอัลลีลที่ 26

ช่องที่ 5 แสดงการเรียงลำดับของอัลลีลที่ 24, 25 และ 26

หลังจากที่ได้อัลลีลมาตรฐานของตำแหน่ง DYS390 แล้ว จึงนำตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายทั้ง 60 ตัวอย่าง มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ก่อนที่จะนำตัวอย่างทั้งหมดไปแยกแแถบดีเอ็นเอเทียบกับอัลลีลมาตรฐานที่สร้างขึ้น โดยในการค้นคว้านี้ ผู้ค้นคว้าได้ใช้ทั้งเลือดของผู้หญิง น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และน้ำซับช่องคลอดของผู้หญิงที่ไม่มีประวัติผ่านการร่วมเพศ (อย่างน้อย 3 เดือน) มาเป็นตัวอย่างควบคุม (Negative control) เพื่อเปรียบเทียบกับน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายซึ่งผลที่ได้ แสดงดังภาพ 8



ภาพ 8 แสดงการแยกแแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย เปรียบเทียบกับอัลลีลมาตรฐาน Negative control และ Positive control

ช่องที่ 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 เป็นอัลลีลมาตรฐาน ที่แสดงถึงอัลลีลที่ 24, 25 และ 26 เรียงจากแถบล่างขึ้นบน
 ช่องที่ 2, 3 และ 4 เป็น Negative control โดยใช้ น้ำกลั่น (ช่อง 2), น้ำสกัดดีเอ็นเอจากเลือดของผู้หญิง (ช่อง 3), และน้ำซับช่องคลอดของผู้หญิง (ช่อง 4) เป็นตัวอย่างอ้างอิง ตามลำดับ
 ช่องที่ 6-9, 11-14, 16-19 และ 21-23 เป็นตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย
 ช่องที่ 24 เป็น Positive control ที่ได้จากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่มาตรวจที่ภาควิชานิติเวชศาสตร์ และตรวจพบเซลล์อสุจิจำนวนมาก (ปริมาณ 4+)

จากภาพ 8 นี้ในตัวอย่างที่ให้ผลบวก ผู้ค้นคว้าอาจประเมินชนิดของอัลลีล ได้ดังตาราง 2 โดยอาศัยการเปรียบเทียบกับอัลลีลมาตรฐานที่สร้างขึ้น

ตาราง 2 แสดงอัลลีลของลักษณะดีเอ็นเอที่ตรวจพบโดยเปรียบเทียบ
กับแถบอัลลีล มาตรฐาน

ช่องที่	อัลลีลที่
6	~ 23
9	~ 23
16	25
17	25
21	~ 23 และ 25
23	24
24	~ 23

ส่วนผลการแยกแถบ DNA จากตัวอย่างน้ำซั้บช่องคลอดของผู้เสียหายทั้ง 60 ตัวอย่าง โดยได้แสดงข้อมูลเปรียบเทียบกับผลการตรวจหาตัวอสุจิ (Sperm) ได้แสดงไว้ในตาราง 3

ตาราง 3 แสดงผลการตรวจพบตัวอสุจิเทียบกับการตรวจพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บน
โครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS390 จากน้ำซั้บช่องคลอดของผู้เสียหาย

ตัวอย่างลำดับที่	อสุจิ	DYS 390	ตัวอย่างลำดับที่	อสุจิ	DYS 390
1	1	1	2	0	0
3	0	1	4	1	1
5	1	1	6	0	1
7	0	0	8	0	1
9	0	0	10	0	1
11	1	1	12	0	1
13	1	1	14	1	1
15	1	1	16	1	1

ตาราง 3 (ต่อ)

ตัวอย่างลำดับที่	อสุจิ	DYS 390	ตัวอย่างลำดับที่	อสุจิ	DYS 390
17	1	0	18	1	0
19	1	1	20	1	1
21	1	0	22	1	0
23	1	1	24	1	1
25	1	1	26	0	0
27	0	0	28	0	1
29	1	1	30	1	1
31	0	1	32	0	1
33	1	1	34	1	1
35	1	1	36	0	1
37	0	1	38	0	1
39	1	0	40	1	1
41	0	0	42	0	1
43	1	1	44	1	0
45	1	1	46	0	0
47	0	0	48	0	0
49	1	1	50	1	0
51	1	1	52	0	0
53	0	0	54	0	0
55	0	0	56	0	0
57	0	0	58	0	0
59	0	0	60	0	0

หมายเหตุ : 0 คือ ตรวจไม่พบ (ให้ผลลบ), 1 คือ ตรวจพบ (ให้ผลบวก)

จากผลการทดลองตามตาราง 2 เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อดูโอกาสการตรวจพบตัวอสุจิเทียบกับการตรวจพบลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 โดยใช้ McNemar chi-square test ซึ่งสามารถสร้างเป็นตาราง 2x2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวอสุจิ กับดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 ได้ดังตาราง 4 และคำนวณค่า $p=0.359$ (ภาคผนวก จ)

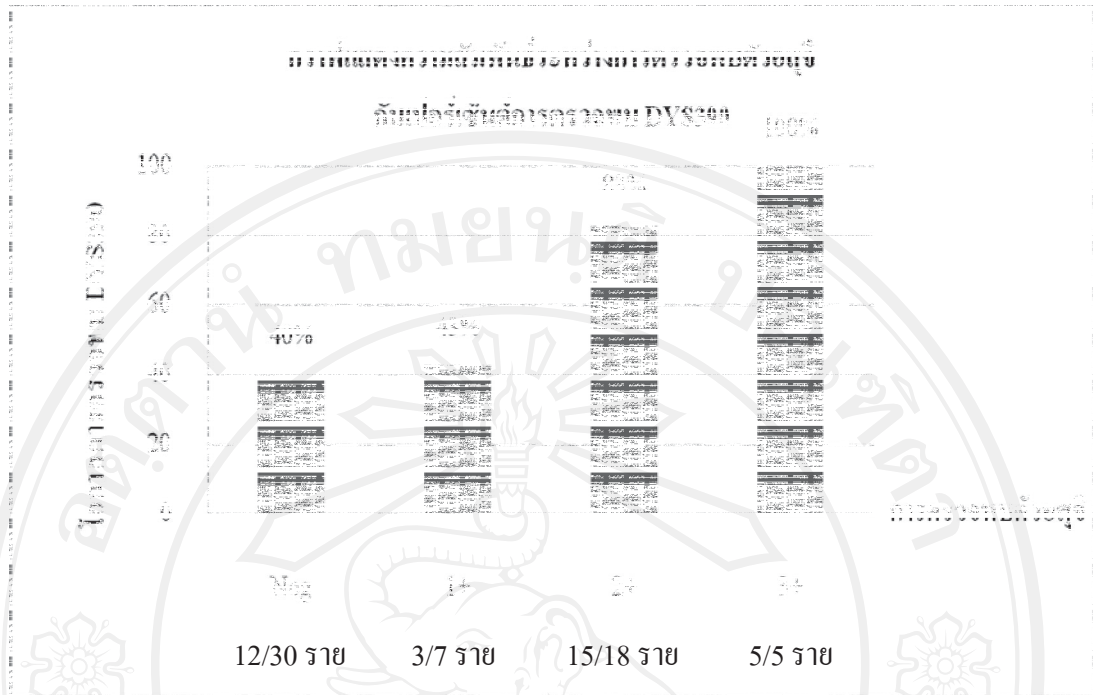
ตาราง 4 แสดงผลการตรวจเปรียบเทียบระหว่างการตรวจหาตัวอสุจิ (Sperm) กับดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS390

อสุจิ \ DYS390	ผลลบ	ผลบวก	รวม
ผลลบ	18	12	30
ผลบวก	7	23	30
รวม	25	35	60

และจากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย ทั้ง 60 ตัวอย่าง เมื่อนำมาแยกเป็นกลุ่มย่อยตามปริมาณตัวอสุจิที่ตรวจพบสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มย่อยๆ ดังนี้

1. ตรวจไม่พบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่าง
2. ตรวจพบตัวอสุจิปริมาณ 1+ 7 ตัวอย่าง
3. ตรวจพบตัวอสุจิปริมาณ 2+ 18 ตัวอย่าง
4. ตรวจพบตัวอสุจิปริมาณ 3+ 5 ตัวอย่าง

ซึ่งผลจากการวิเคราะห์แยกเป็นกลุ่มย่อยๆตามปริมาณตัวอสุจิที่ตรวจพบทั้ง 4 กลุ่มนี้ เมื่อคิดเป็นค่าร้อยละสามารถแสดงผลได้ดังภาพ 9



ภาพ 9 แสดงโอกาสการตรวจพบลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศชาย
ตำแหน่ง DYS390 เทียบกับตัวอสุจิในแต่ละกลุ่มที่แบ่งตามปริมาณอสุจิที่พบ