

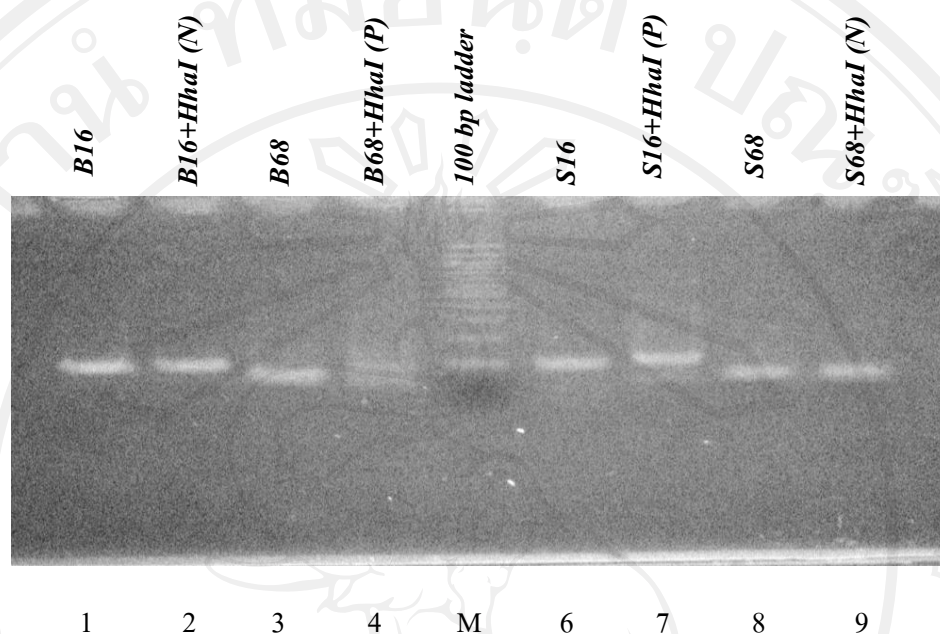
บทที่ 3

ผลการวิจัย

การระบุชนิดและแหล่งที่มาของสารพันธุกรรมของอสุจิหรือเลือดโดยประเมินลักษณะเมทิลเลชันของดีเอ็นเอในตำแหน่งที่ต่างกัน

จากการศึกษาลักษณะเมทิลเลชันของดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง L68346 และ L16264 ของตัวอย่างเลือดและอสุจิ (ภาพ 6) ผลปรากฏว่าในตัวอย่างเลือดที่ตำแหน่ง L16264 ไม่ว่าตัวอย่างดีเอ็นเอนั้นจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI หรือไม่ เมื่อนำไปเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ด้วยเทคนิค PCR และตรวจสอบผลผลิตที่ได้ด้วย 2.5% agarose gel electrophoresis ปรากฏว่าผลที่ได้ไม่พบลักษณะที่แตกต่างกัน 19 ตัวอย่าง และอีก 1 ตัวอย่าง (ตาราง 1) แสดงลักษณะที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่างที่ถูกย่อย และไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI (ภาพ 7) ในขณะที่ตัวอย่างเลือดที่ตำแหน่ง L68346 ผลปรากฏว่า ตัวอย่างดีเอ็นเอที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI ให้ผลผลิต PCR ที่แตกต่างจากตัวอย่างดีเอ็นเอที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI ทั้ง 20 ตัวอย่าง (ตาราง 2)

สำหรับตัวอย่างดีเอ็นเอจากอสุจิ ที่ตำแหน่ง L16264 ปรากฏว่าเมื่อมีการย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI (ภาพ 8) ผลที่ได้จะแสดงลักษณะที่แตกต่างจากที่ไม่มีการย่อย ทั้ง 20 ตัวอย่าง (ตาราง 3) ในขณะที่ตำแหน่ง L68346 ปรากฏว่าให้ผลในลักษณะไม่แตกต่างกัน 18 ตัวอย่าง และอีก 2 ตัวอย่างให้ผลที่แตกต่าง (ตาราง 4)



ภาพ 6: แสดงผลการประเมินปริมาณเมทิลเลชันของดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดเทียบกับตัวอย่างอสุจิ

หมายเหตุ

ช่อง 1 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 2 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 3 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 4 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง M คือ 100 bp ladder

ช่อง 6 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 7 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 8 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม
ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 9 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ ที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณ
สารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ตาราง 1: ผลการตรวจสอบลักษณะเมทิลเลชันของดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่ง L16264 จากตัวอย่างเลือดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI

ตัวอย่างเลือด	ลักษณะเมทิลเลชัน	ผลการทดลอง
B1	M	N
B2	M	N
B3	M	N
B4	M	N
B5	M	N
B6	L	P
B7	M	N
B8	M	N
B9	M	N
B10	M	N
B11	M	N
B12	M	N
B13	M	N
B14	M	N
B15	M	N
B16	M	N
B17	M	N
B18	M	N
B19	M	N
B20	M	N

หมายเหตุ

M คือ หมายถึง ตำแหน่งนั้นเกิดเมทิลเลชันสูง

L คือ หมายถึง ตำแหน่งนั้นเกิดเมทิลเลชันต่ำ

P คือ Positive หมายถึง ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตพีชีอาร์ เมื่อมีการย่อยดีเอ็นเอต้นแบบด้วยด้วยเอนไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

N คือ Negative หมายถึง ตรวจไม่พบการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตพีชีอาร์ เมื่อมีการย่อยดีเอ็นเอต้นแบบด้วยเอนไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

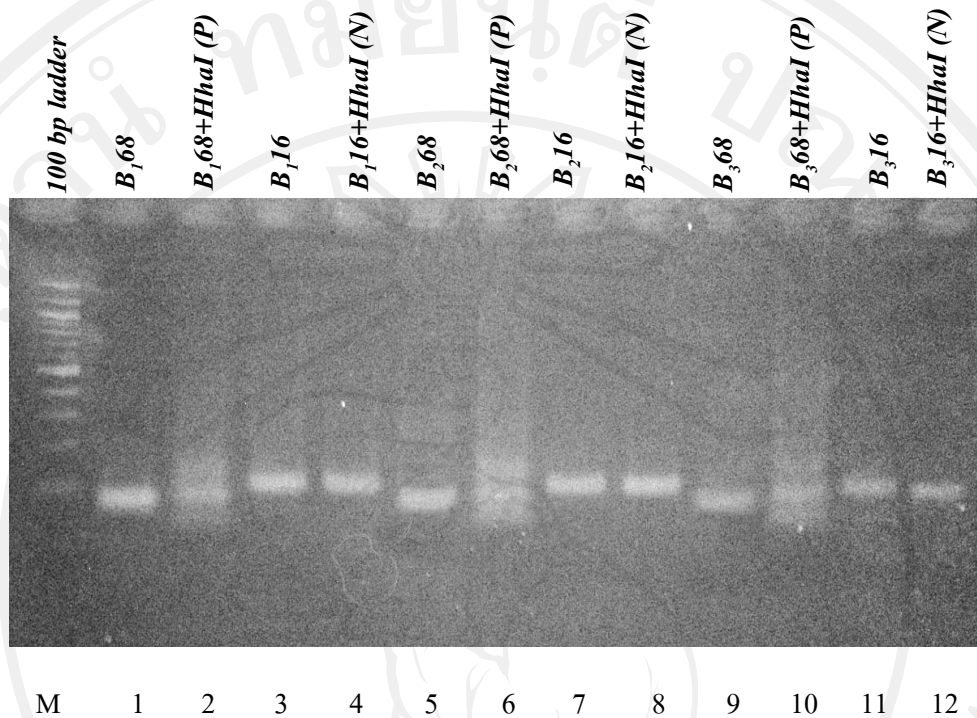
ตาราง 2: ผลการตรวจสอบลักษณะเมทิลेशनของดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่ง L68346 จากตัวอย่างเลือดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI

ตัวอย่างเลือด	ลักษณะเมทิลेशन	ผลการทดลอง
B1	L	P
B2	L	P
B3	L	P
B4	L	P
B5	L	P
B6	L	P
B7	L	P
B8	L	P
B9	L	P
B10	L	P
B11	L	P
B12	L	P
B13	L	P
B14	L	P
B15	L	P
B16	L	P
B17	L	P
B18	L	P
B19	L	P
B20	L	P

หมายเหตุ

L คือ หมายถึง ตำแหน่งนั้นเกิดเมทิลेशनต่ำ

P คือ Positive หมายถึง ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตพีซีอาร์ เมื่อมีการย่อยดีเอ็นเอต้นแบบด้วยด้วยเอนไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม



ภาพ 7: แสดงผลลักษณะเมทิลเลชันของดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างเลือดที่ตำแหน่ง L68346 และ L16264 (P = positive แสดงลักษณะที่แตกต่าง, N = negative แสดงลักษณะที่ไม่แตกต่าง)

หมายเหตุ:

ช่อง M คือ 100 bp ladder

ช่อง 1 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (1) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 2 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (1) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 3 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (1) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 4 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (1) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 5 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างเลือด (2) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 6 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างเลือด (2) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 7 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างเลือด (2) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 8 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างเลือด (2) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 9 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างเลือด (3) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 10 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างเลือด (3) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 11 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างเลือด (3) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 12 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างเลือด (3) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ตาราง 3: ผลการตรวจสอบลักษณะเมทิลเลชันของตัวอย่างดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่ง L16264 จากอสุจิที่ผ่าน
การย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI

ตัวอย่างอสุจิ	ลักษณะเมทิลเลชัน	ผลการทดลอง
S1	L	P
S2	L	P
S3	L	P
S4	L	P
S5	L	P
S6	L	P
S7	L	P
S8	L	P
S9	L	P
S10	L	P
S11	L	P
S12	L	P
S13	L	P
S14	L	P
S15	L	P
S16	L	P
S17	L	P
S18	L	P
S19	L	P
S20	L	P

หมายเหตุ

L คือ หมายถึง ตำแหน่งนั้นเกิดเมทิลเลชันต่ำ

P คือ Positive หมายถึง ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตพีซีอาร์ เมื่อมีการย่อยดีเอ็นเอต้นแบบ
ด้วยด้วยเอนไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

ตาราง 4: ผลการตรวจสอบลักษณะเมทิลेशनของดีเอ็นเอ ที่ตำแหน่ง L68346 จากตัวอย่างอสุจิที่ผ่าน
การย่อยด้วยเอนไซม์ HhaI

ตัวอย่างอสุจิ	ลักษณะเมทิลेशन	ผลการทดลอง
S1	M	N
S2	M	N
S3	M	N
S4	M	N
S5	M	N
S6	L	P
S7	M	N
S8	M	N
S9	M	N
S10	M	N
S11	M	N
S12	M	N
S13	M	N
S14	M	N
S15	M	N
S16	M	N
S17	L	P
S18	M	N
S19	M	N
S20	M	N

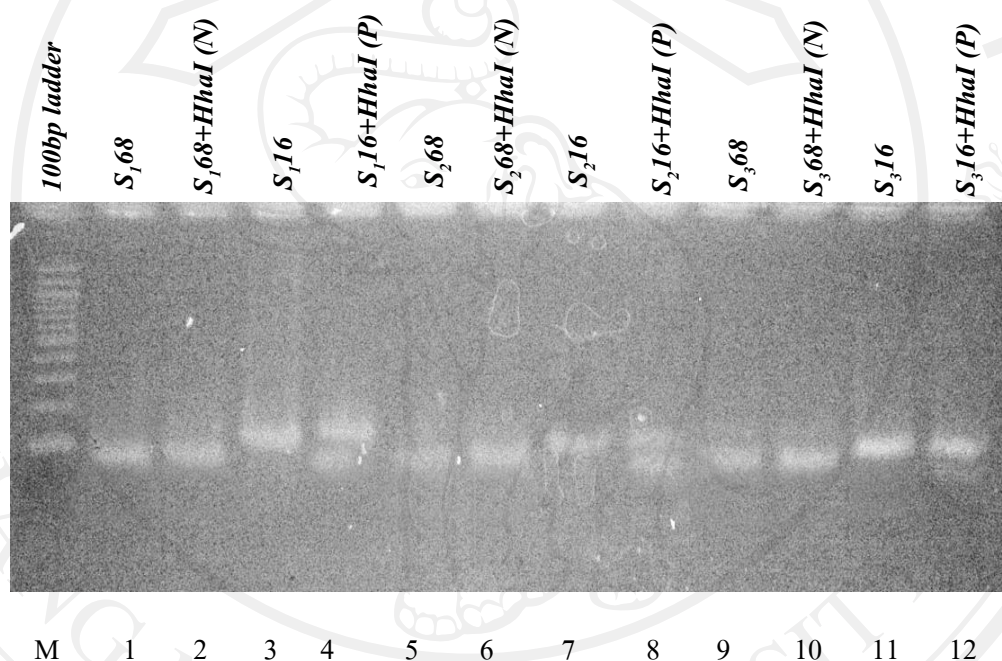
หมายเหตุ

M คือ หมายถึง ตำแหน่งนั้นเกิดเมทิลेशनสูง

L คือ หมายถึง ตำแหน่งนั้นเกิดเมทิลेशनต่ำ

P คือ Positive หมายถึง ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตพีซีอาร์ เมื่อมีการย่อยดีเอ็นเอต้นแบบด้วยเอ็นไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

N คือ Negative หมายถึง ตรวจไม่พบการเปลี่ยนแปลงของผลผลิตพีซีอาร์ เมื่อมีการย่อยดีเอ็นเอต้นแบบด้วยเอ็นไซม์ HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม



ภาพ 8: แสดงผลลักษณะเมทิลเลชันของดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างอสุจิที่ตำแหน่ง L68346 และ L16264 (P = positive แสดงลักษณะที่แตกต่าง, N = negative แสดงลักษณะที่ไม่แตกต่าง)

หมายเหตุ

ช่อง M คือ 100 bp ladder

ช่อง 1 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (1) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 2 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (1) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 3 คือ ผลผลิตพีซีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (1) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 4 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (1) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 5 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (2) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 6 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (2) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 7 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (2) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 8 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (2) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 9 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (3) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 10 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (3) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L68346

ช่อง 11 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (3) ที่ไม่ผ่านการย่อย ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264

ช่อง 12 คือ ผลผลิตพีชีอาร์จากตัวอย่างอสุจิ (3) ที่ผ่านการย่อยด้วย HhaI ก่อนทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ที่ตำแหน่ง L16264