บทที่ 4

อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาค่าความถี่ของอัลลีลต่างๆ ของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศหญิงในตำแหน่ง DXS7130 ในกลุ่มประชากรคนไทยภาคเหนือ ซึ่งไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอตำแหน่ง DXS7130นี้ ได้มีผู้ทำการศึกษามาแล้วทั้งในประชากรชาวยุโรปและอเมริกาใต้ แต่ยังมีการศึกษาน้อยในประชากรเอเชีย และพบว่าจากที่เคยมีผู้ทำการศึกษามา ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอตำแหน่ง DXS7130 มีค่ากำลังการแยกแยะ (Power of discrimination) ที่สูง ซึ่งจากงานวิจัยของ Elzemar M. และคณะ ได้ศึกษาและสำรวจ X-chromosome STR ทั้ง 12 ตำแหน่ง ในประชากรชาวญี่ปุ่นที่อพยพมาอยู่ในประเทศบราซิล จำนวน 232 คน (ชายจำนวน 102 คน หญิงจำนวน 130 คน) โดยได้ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดของกลุ่มประชากรพบว่ามี ค่ากำลังการแยกแยะ (Power of discrimination) ของผู้ชายและผู้หญิง ทั้ง 12 ตำแหน่ง เท่ากับ 0.99999992 และ 0.99999999999991 ตามลำดับ สรุปได้ว่า X-chromosome STR ในตำแหน่ง DXS7130 สามารถ ใช้เป็นเครื่องมือที่สำคัญในการพิสูจน์บุคคล และใช้ในงานวิจัยที่เกี่ยวกับงานทางด้านมานุษยวิทยา รวมถึงใช้เป็นฐานข้อมูลด้าน genetic ของประชากรชาวญี่ปุ่นที่อพยพมาอยู่ในประเทศบราซิลได้ [Elzemar *et al*., 2009] นอกจากนี้จากงานวิจัยของElzemar M. และคณะ ที่ได้ศึกษาวิธี multiplex PCR ใน X-chromosome STR ทั้ง 11 ตำแหน่ง ในกลุ่มประชากร Brazilian Amazon จำนวน 324 คน (ผู้ชายจำนวน 182 คน ผู้หญิงจำนวน 142 คน) โดยทั้งหมดไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด ได้ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเลือด พบว่า มีค่ากำลังการแยกแยะ (Power of discrimination) ในตำแหน่ง DXS 7130 มีค่าเท่ากับ 0.834ในผู้ชาย และ 0.956ในผู้หญิง และมีค่ากำลังการคัดออก (Power of exclusion)ในตำแหน่ง DXS 7130 มีค่าสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สรุปได้ว่า X-chromosome STR ในตำแหน่ง DXS7130 สามารถนำมาใช้หาความสัมพันธ์ทางสายเลือดและใช้ในคดีที่มีความซับซ้อนได้ [Elzemar *et al*., 2008]

จากการศึกษานี้ในขั้นแรกผู้วิจัยได้ทำการสร้างอัลลีลมาตรฐาน สำหรับตำแหน่ง DXS7130 ขึ้นก่อน ซึ่งได้จำนวนอัลลีลเท่ากับ 9 อัลลีล และพบว่าอัลลีลที่ 15.3 มีค่าความถี่สูงสุด เท่ากับ 0.3292 โดยมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Zeng X. และคณะ ที่ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของ X-chromosome STR ทั้ง 10 ตำแหน่ง ในกลุ่มชนเผ่า Chinese Daur ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกันโดยตรง โดยวิธีสกัดดีเอ็นเอจากเลือดของประชากรจำนวน 138 คน พบว่าที่ตำแหน่ง DXS7130 มีจำนวนอัลลีลทั้งหมด 8 อัลลีลโดยเริ่มจากอัลลีลที่ 10 ถึงอัลลีลที่ 16.3 และพบว่าอัลลีลที่ 15.3 มีค่าความถี่สูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.5806 [Zeng *et al*., 2009] และยังใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Gao S. และคณะได้ทำการศึกษาความถี่ของอัลลีลใน X-chromosome STR ทั้ง 10 ตำแหน่ง ใน Nu population of Yunnan China โดยทำการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดของตัวอย่างจำนวน 100 คนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด พบว่าที่ตำแหน่ง DXS7130 มีจำนวนอัลลีลทั้งหมด 7 อัลลีลโดยเริ่มจากอัลลีลที่ 11 ถึงอัลลีลที่ 16.3 และพบว่าอัลลีลที่ 15.3 มีค่าความถี่สูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.459 [Gao *et al*., 2007]

ในการแปลผลการ พิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดและพิสูจน์บุคคล นั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องทราบประสิทธิภาพของการตรวจ เพื่อชี้แจงให้ผู้อื่นเข้าใจในการตรวจ โดยทั่วไปแล้ว ประสิทธิภาพของการตรวจ ดีเอ็นเอจะดูได้จาก ค่ากำลังการแยกแยะ(Power of discrimination : PD หรือ Discriminating power : DP) และค่ากำลังการคัดออก (Power of exclusion : PE) จากการศึกษานี้พบว่าได้ค่ากำลังการแยกแยะในผู้หญิงมีค่าเท่ากับ 0.9233 และในผู้ชายมีค่าเท่ากับ 0.7898 ซึ่งค่านี้บอกถึงโอกาสที่เมื่อเลือกคนสองคนอย่างสุ่มแล้วจะได้ genotype ของดีเอ็นเอตำแหน่งดังกล่าวต่างกัน ในกรณีนี้แสดงว่าโอกาสนั้นในผู้หญิงมี 92.33% และในผู้ชายมี 78.98% หรือจะกล่าวอีกทางหนึ่งว่า โอกาสที่จะพบว่าคนสองคนมี genotype ของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอตำแหน่ง DXS7130 เหมือนกันเท่ากับ 7.67% ในผู้หญิง และ21.02% ในผู้ชาย ซึ่งพบว่าค่าดังกล่าวใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Zeng X. และคณะ โดยที่ตำแหน่ง DXS7130 มีค่ากำลังการแยกแยะ เท่ากับ 0.8295 ในผู้หญิง และ 0.7851 ในผู้ชาย [Zeng *et al*., 2009] และยังใกล้เคียงกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

งานวิจัยของ Elzemar M. และคณะได้ศึกษาและสำรวจ X-chromosome STR ทั้ง 12 ตำแหน่ง ในประชากรชาวญี่ปุ่นที่อพยพมาอยู่ในประเทศบราซิล จำนวน 232 คน (ชายจำนวน 102 คน หญิง จำนวน 130 คน) โดยได้ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดของกลุ่มประชากร พบว่ามีค่า กำลังการแยกแยะของผู้ชายและผู้หญิง เท่ากับ 0.999 [Elzemar *et al*., 2009] และจากการคำนวณค่ากำลังการคัดออก กรณี no parent พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.4211 ใช้ในกรณีที่พิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างแม่-ลูก มีเด็กกับผู้ถูกกล่าวหาเพียงคนเดียวเท่านั้น ค่ากำลังการคัดออก กรณี one parent ใช้ในกรณีที่เด็กมากับบุพการีแท้ๆแล้วกล่าวหาว่าผู้ถูกกล่าวหาเป็นบุพการีอีกคน พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.5993 ในบางงานวิจัยได้มีการคำนวณค่ากำลังการคัดออก ตามสูตรดังนี้ ค่ากำลังการคัดออกในกรณี trio (กรณีที่เด็กมากับบุพการีแท้ๆแล้วกล่าวหาว่าผู้ถูกกล่าวหาเป็นบุพการีอีกคน) คือ $PE(trio) = 1-\sum Pi^{2} + \sum Pi^{4} - (\sum Pi^{2})^{2}$ และค่ากำลังการคัดออกในกรณี motherless (กรณีเด็กหญิงกล่าวหาว่าชายคนหนึ่งเป็นพ่อ) คือ $PE(motherless) = 1-2(\sum Pi^{2}) + \sum Pi^{3}$ โดยที่ Pi คือ ค่าความถี่ของแต่ละอัลลีล (Zarrabeitia M.T. *et al*.,2006) ซึ่งสูตรดังที่กล่าวมาข้างต้นเป็นสูตรที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์ ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศหญิง ซึ่งในการศึกษานี้พบว่ามีค่ากำลังการคัดออก ในกรณี trio เท่ากับ 0.7618 และ ค่ากำลังการคัดออก ในกรณี motherless เท่ากับ 0.6352 จากค่าดังกล่าวจะเห็นได้ว่าการตรวจพิสูจน์โดยใช้ ไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศหญิง สามารถคัดคนที่ไม่ใช่บุพการีออกได้มากขึ้น และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่ากำลังการคัดออกในการตรวจพิสูจน์โดยทั่วไปแล้วพบว่า มีค่าสูง กว่า แสดงให้เห็นว่า การใช้ไมโครแซลเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศหญิง ตำแหน่ง DXS7130 ในการตรวจพิสูจน์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพได้มากยิ่งขึ้น

จากการคำนวณค่าHeterozygoisity ที่สังเกตได้($H_{observe}$) ซึ่งคำนวณได้จากผลการทดลองได้ค่าเท่ากับ0.7917 โดยเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับค่า Heterozygoisity ที่คาดหวัง(H_{expect}) ซึ่งได้จากการคำนวณจากสูตร มีค่าเท่ากับ0.7931 ± 0.0369 (ภาคผนวก ข) จากการเปรียบเทียบทั้งสองค่าดังกล่าวพบว่ามีค่าที่ใกล้เคียงกันมาก และเมื่อนำมาทดสอบการกระจายตัวของดีเอ็นเอในตำแหน่ง DXS 7130 ด้วยวิธี Hardy-Weinberg (ภาคผนวก ข) ก็พบว่าดีเอ็นเอในตำแหน่ง DXS 7130 มีการกระจายตัว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นไปตามกฎความสมดุลย์ของ Hardy-Weinberg ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการที่ใช้ในการทดลองและการเลือกกลุ่มตัวอย่างเป็นไปอย่างถูกต้อง

ในการแปลผลการตรวจพิสูจน์ จำเป็นต้องใช้สูตรในการคำนวณตามลักษณะความสัมพันธ์ของผู้ที่มาตรวจ เช่นในกรณี พ่อกับลูกสาว และแม่กับลูกชาย ซึ่งในกรณีนี้เป็นลักษณะการถ่ายทอดโครโมโซมแบบ Single allele คือ พ่อถ่ายทอดโครโมโซม X เพียงตัวเดียวไปยังลูกสาวทุกคนและโครโมโซม X เพียงตัวเดียวของลูกชายได้รับจากแม่เท่านั้น ส่วนการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ตามปกติแบบ แม่-ลูกสาว การที่แม่ถ่ายทอดโครโมโซม X ไปยังลูกสาว กรณีนี้จะใช้วิธีการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นเหมือนกับการใช้โครโมโซมปกติ (Autosomal chromosome) การตรวจพิสูจน์โครโมโซมเพศหญิงจะมีประโยชน์จำเพาะกับการพิสูจน์ Female sibling ที่มีความซับซ้อน เช่น ในการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างย่ากับหลานสาวโดย บิดาไม่สามารถมาร่วมตรวจได้ โดยที่ย่าถ่ายทอดโครโมโซม X มายังพ่อ และพ่อถ่ายทอดโครโมโซม X ไปยังลูกสาวทุกคน และยังรวมถึงกรณีตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างพี่น้องหญิงร่วมบิดาโดยที่บิดาไม่สามารถมาร่วมตรวจได้ ซึ่งในกรณีนี้พี่น้องหญิงร่วมบิดาทุกคนจะมีโครโมโซม X ตัวหนึ่งที่เหมือนกันจากพ่อ ในกรณีที่ผู้รับการตรวจแสดงความสัมพันธ์ของลักษณะดีเอ็นเอ(คัดไม่ออก) สามารถคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น (Likelyhood ratio : LR) ในกรณีต่างๆได้จากสูตร ดังตารางที่ และ 8

ตาราง 7 แสดงสูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นในการตรวจความสัมพันธ์แบบ Single allele

ลักษณะความสัมพันธ์		สูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น
พ่อ-ลูกสาว	กรณีลูกสาวเป็น Heterozygous	$1/2f_A$
	กรณีลูกสาวเป็น Homozygous	$1/f_A$
แม่-ลูกชาย	กรณีแม่เป็น Heterozygous	$1/2\ f_A$
	กรณีแม่เป็น Homozygous	$1/f_A$

โดยที่ f_A คือ ค่าความถี่ของอัลลีลที่แสดงความสัมพันธ์กันระหว่างผู้มารับการตรวจ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง8 แสดงสูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นในการตรวจความสัมพันธ์แบบ Female sibling

ลักษณะความสัมพันธ์	ลักษณะของดีเอ็นเอที่ปรากฏ	สูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น
แม่-ลูกสาว ย่า-หลานสาว พี่น้องผู้หญิงร่วมบิดา	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Heterozygous โดยมีลักษณะ Genotype ที่ต่างกัน	$1/4f_A$
	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Heterozygous โดยมีลักษณะ Genotype ที่เหมือนกัน	$f_A+f_B/4(f_Af_B)$
	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Homozygous	$1/f_A$
	คนหนึ่งมีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Homozygous และอีกคนหนึ่งมีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Heterozygous	$1/2f_A$

โดยที่ f_A และf_B คือ ค่าความถี่ของอัลลีลที่แสดงความสัมพันธ์กันระหว่างผู้มารับการตรวจ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved