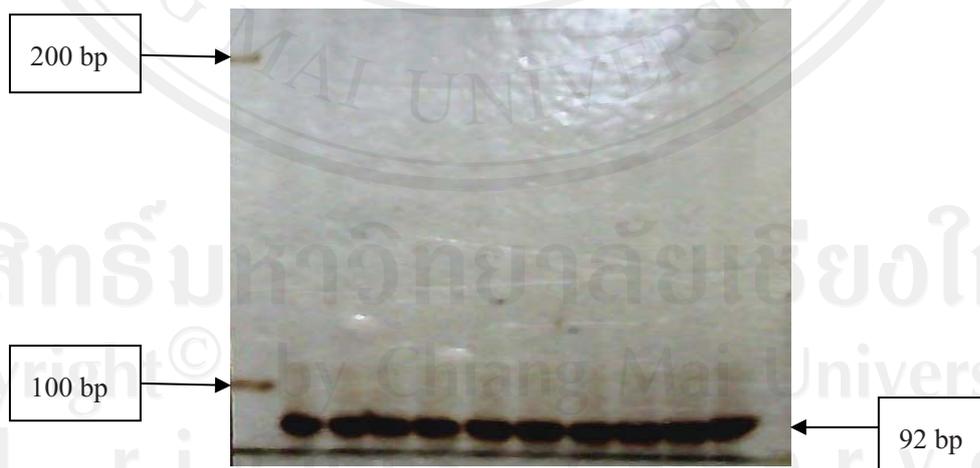


บทที่ 4

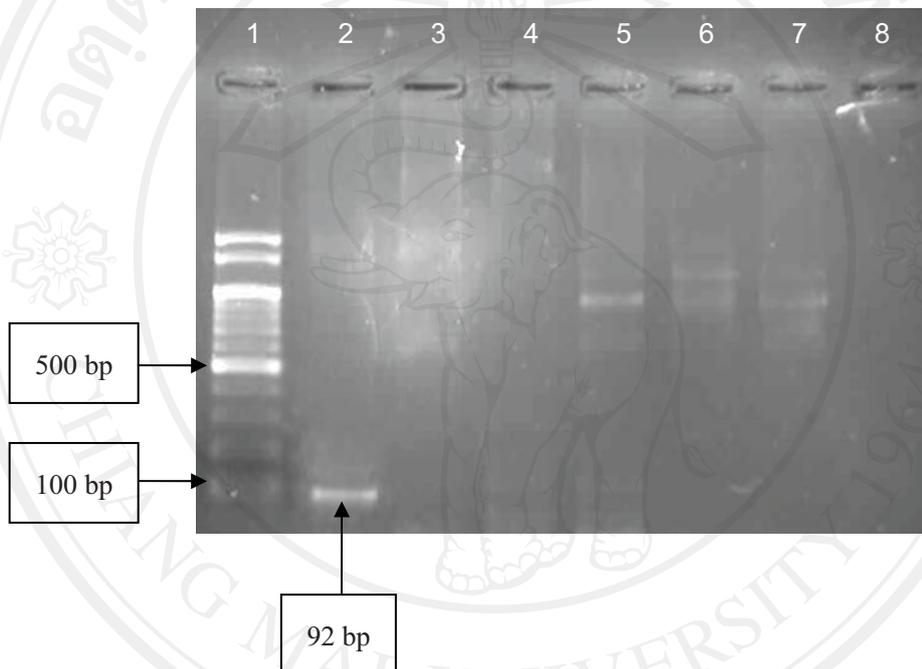
ผลการวิจัย

ผลการระบุสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอของวัวด้วยการวิเคราะห์ฮีนไซโตโครมบีในไมโทคอนเดรีย โดยทำการสกัดดีเอ็นเอจากรากขนของวัวทั้งหมด 30 ตัวอย่างด้วยวิธี Chelex แล้วทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ก่อนที่จะนำไปแยกแแถบดีเอ็นเอ โดยการใช้กระแสไฟฟ้าวิ่งผ่าน Polyacrylamide Gel เปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอกับ 100 bp (ดังภาพ 11) และเมื่อเทียบกับการตรวจสอบลำดับเบส (Sequence) ของสายดีเอ็นเอจากโปรแกรม NCBI ใน Genbank โดยใช้ Sequence ชื่อ Bos Taurus NC_001567 พบว่ามีขนาด 92 bp จากภาพ 11 จะพบว่าแแถบของดีเอ็นเอของวัวทั้งหมด 10 ตัวอย่าง ปรากฏอยู่ในตำแหน่งที่ต่ำกว่า 100 bp จึงอาจสรุปได้ว่าเทคนิคและไพรเมอร์ที่ใช้ในการทดสอบสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของวัวได้ตรงตามขนาดที่คาดหวังไว้ คือ 92 bp



ภาพ 11 แสดงขนาดผลผลิต PCR จากการตรวจกับตัวอย่างดีเอ็นเอของวัวเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานขนาด 100 bp

ผลการระบุดีเอ็นเอของวัวด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีในไมโทคอนเดรีย พบว่า ได้ผลถูกต้องและชัดเจนตามลักษณะดีเอ็นเอของวัวทั้งหมด 30 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 % จากการตรวจสอบซ้ำทั้งหมดอีก 2 ครั้งยังปรากฏผลเหมือนเดิมทุกประการ (ตาราง 1) และเมื่อทำการตรวจสอบความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ใช้ในการระบุดีเอ็นเอของวัว พบว่าไพรเมอร์ที่ใช้ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่นได้ โดยให้ผลถูกต้องและชัดเจนทั้งสิ้น 25 ตัวอย่าง คิดเป็น 100% จากการทดสอบทั้งหมด 2 ครั้ง (ดังในภาพ 12 และตาราง 2)



ภาพ 12 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอใน Agarose gel ภายหลังจากทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม กับตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดต่างๆ ช่องที่ 1 ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp ladder) ช่องที่ 2 ตัวควบคุมเชิงบวก (วัว) ช่องที่ 3 - 7 มนุษย์, ปลา, หมู, ไก่ และสุนัข ตามลำดับและช่องที่ 8 ตัวควบคุมเชิงลบ

ผลการระบุดีเอ็นเอของวัวด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีทั้งหมดจำนวน 30 ตัวอย่าง และแต่ละตัวอย่างได้ทำการทดสอบทั้งหมดจำนวน 3 ครั้ง ได้แสดงดังตาราง 1

ตาราง 1 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอของวัวด้วยยีนไซโตโครมบีในไมโทคอนเดรีย

ตัวอย่างที่	ผลการตรวจ		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	+	+	+
5	+	+	+
6	+	+	+
7	+	+	+
8	+	+	+
9	+	+	+
10	+	+	+
11	+	+	+
12	+	+	+
13	+	+	+
14	+	+	+
15	+	+	+
16	+	+	+
17	+	+	+
18	+	+	+
19	+	+	+
20	+	+	+
21	+	+	+

ตาราง 1 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผลการตรวจ		
	ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 1
22	+	+	+
23	+	+	+
24	+	+	+
25	+	+	+
26	+	+	+
27	+	+	+
28	+	+	+
29	+	+	+
30	+	+	+

หมายเหตุ + คือ สามารถตรวจพบ PCR product ขนาด 92 คู่เบส

หลังจากทำการทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของวัวทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว จึงได้ทำการตรวจสอบความจำเพาะของวิธีการและไพรเมอร์ที่ใช้กับดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่น ได้แก่ หมู ไก่ ปลา และสุนัข อย่างละ 5 ตัวอย่าง โดยแต่ละตัวอย่างได้ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดของตัวอย่างทั้งหมด 25 ตัวอย่าง และทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้ไพรเมอร์และวิธีการเดียวกันกับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของวัว พบว่าเกิด Non-specific band ในการทดสอบในบางตัวอย่าง แต่มีขนาดต่างจากขนาดดีเอ็นเอของวัวอย่างชัดเจน (ดังภาพ 12) ผลที่ได้แสดงในตาราง 2

ตาราง 2 แสดงผลการตรวจกับตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์อื่นๆ

ตัวอย่างที่	ผล	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
1	—	—
2	—	—
3	—	—
4	—	—
5	—	—
6	—	—
7	—	—
8	—	—
9	—	—
10	—	—
11	—	—
12	—	—
13	—	—
14	—	—
15	—	—
16	—	—
17	—	—
18	—	—
19	—	—
20	—	—

ตาราง 2 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผล	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
21	—	—
22	—	—
23	—	—
24	—	—
25	—	—

หมายเหตุ

— คือ ให้ผลลบ เพราะไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 92 คู่เบส

ตัวอย่างที่ 1 – 5 = มนุษย์

ตัวอย่างที่ 6 – 10 = สุนัข

ตัวอย่างที่ 11 – 15 = หมู

ตัวอย่างที่ 16 – 20 = ไก่ และ

ตัวอย่างที่ 21 – 25 = ปลา

เมื่อนำผลการทดลองจากตาราง 1 และ ตาราง 2 มาวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเทคนิคที่ใช้ในการระบุดีเอ็นเอของวัวด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีและจากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจระบุดีเอ็นเอ โดยใช้ McNemar Chi-square Test สามารถสร้างเป็นตาราง 2 x 2 แสดงความจำเพาะของไพรเมอร์ได้ดังตาราง 3 จะเห็นว่า การระบุตัวอย่างดีเอ็นเอของวัวจำนวน 30 ตัวอย่าง ให้ผลถูกต้องหรือให้ผลบวกทั้งหมด 30 ตัวอย่าง และเมื่อตรวจความจำเพาะของวิธีการด้วยการตรวจกับตัวอย่างที่เป็นมนุษย์และสัตว์อื่นอีกจำนวน 25 ตัวอย่าง ก็ให้ผลเป็นลบทั้งหมด 25 ตัวอย่าง

ตาราง 3 แสดงความจำเพาะของวิธีการที่ใช้ในการระบุดีเอ็นเอของวัวด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบี (Cyt b bovine)

ผลตรวจ	วัว	มนุษย์หรือสัตว์อื่น	รวม
ผลบวก	30	0	30
ผลลบ	0	25	25
รวม	30	25	55

จากผลการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าว เมื่อนำมาคำนวณค่าความไว (Sensitivity) และ ความจำเพาะ (Specificity) ของการทดสอบพบว่าได้เท่ากับ 100 % ทั้งสองค่า