

### บทที่ 3

#### ผลการทดลอง

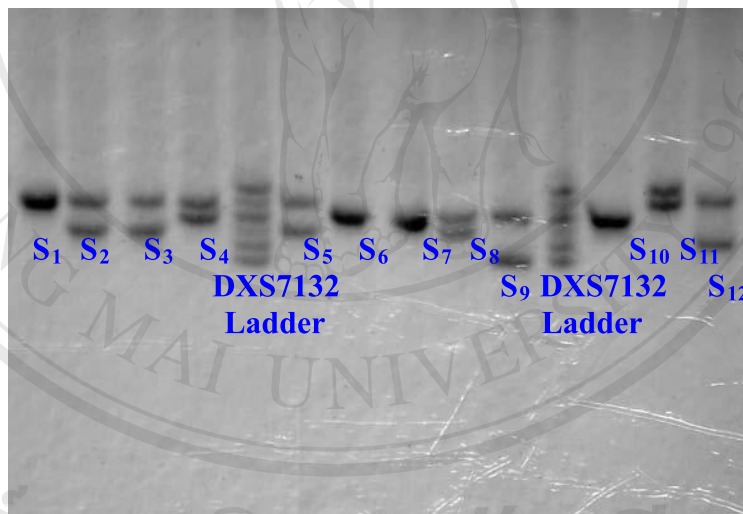
#### 1. ผลการวิเคราะห์ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7132 ในกลุ่มประชากรเพศหญิงภาคเหนือของประเทศไทยจำนวน 120 คน

##### 1.1 ผลการสร้างอัลลีลมาตรฐานในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ที่ตำแหน่ง DXS7132

จากการศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ที่ตำแหน่ง DXS7132 ในกลุ่มประชากรเพศหญิงในภาคเหนือของประเทศไทย ด้วยการใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ แล้วทำการตัดแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏมาสกัดและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยการใช้เทคนิค PCR อีกครั้ง โดยตรวจสอบขนาดผลผลิตที่ได้ด้วยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (20 bp ladder) และย้อมสีเจลด้วย silver staining จะได้ อัลลีลมาตรฐานในตำแหน่ง DXS7132 ดังแสดงในภาพที่ 3 เพื่อให้เปรียบเทียบในการทดลองขั้นต่อไป จากนั้นทำการวิเคราะห์ดีเอ็นเอตัวอย่างด้วยการใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และตรวจสอบขนาดผลผลิตที่ได้ด้วยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis เทียบกับอัลลีลมาตรฐานที่สร้างไว้แล้วย้อมสีเจลด้วย silver staining จะปรากฏลักษณะแถบดีเอ็นเอดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพ 3 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอแต่ละอัลลีลของอัลลีลมาตรฐาน (Allelic ladders) ในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DXS7132



หมายเหตุ S = ตัวอย่าง

ภาพ 4 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างเมื่อเทียบกับอัลลีลมาตรฐานในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DXS7132

## 1.2 ผลการหาลำดับเบสของแต่ละอัลลีลในตำแหน่ง DXS7132 ด้วยเครื่องอัตโนมัติ

เมื่อนำแถบดีเอ็นเอแต่ละอัลลีลที่พบในตำแหน่ง DXS7132 มาหาลำดับเบสด้วยเครื่องอัตโนมัติได้ผลดังตารางต่อไปนี้

**ตาราง 3** แสดงช่วงการซ้ำของชุดเบสที่พบในแต่ละอัลลีลของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนตำแหน่ง DXS7132 ที่ตรวจสอบด้วยเครื่องอัตโนมัติ

| แถบที่ | Sequence composition   | Allele |
|--------|--|--------|
| 1      | P <sub>F</sub> -N <sub>52</sub> -(TCTA) <sub>11</sub> -N <sub>28</sub> -P <sub>R</sub> | 11     |
| 2      | P <sub>F</sub> -N <sub>52</sub> -(TCTA) <sub>12</sub> -N <sub>28</sub> -P <sub>R</sub> | 12     |
| 3      | P <sub>F</sub> -N <sub>52</sub> -(TCTA) <sub>13</sub> -N <sub>28</sub> -P <sub>R</sub> | 13     |
| 4      | P <sub>F</sub> -N <sub>52</sub> -(TCTA) <sub>14</sub> -N <sub>28</sub> -P <sub>R</sub> | 14     |
| 5      | P <sub>F</sub> -N <sub>52</sub> -(TCTA) <sub>15</sub> -N <sub>28</sub> -P <sub>R</sub> | 15     |
| 6      | P <sub>F</sub> -N <sub>52</sub> -(TCTA) <sub>16</sub> -N <sub>28</sub> -P <sub>R</sub> | 16     |
| 7      | P <sub>F</sub> -N <sub>52</sub> -(TCTA) <sub>17</sub> -N <sub>28</sub> -P <sub>R</sub> | 17     |

เมื่อ N<sub>52</sub> : TTAATAGTGTGAGCCCATTTTCATAATAAATC  
 CCCTCTCATCTATCTGACTG  
 N<sub>28</sub> : TCCTATTGGTTCTGTTTCTCTGGAGAAC  
 P<sub>F</sub> : TATACTGTGGAACCTTCTTAGCCTCC  
 P<sub>R</sub> : TGGTGCCAAACTCTATTAGTCAACG

### 1.3 ผลการวิเคราะห์ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง

#### DXS7132 ในกลุ่มประชากรเพศหญิงภาคเหนือของประเทศไทยจำนวน 120 คน

จากการศึกษาดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ที่ตำแหน่ง DXS7132 ในกลุ่มประชากรเพศหญิงในภาคเหนือของประเทศไทยจำนวน 120 คน ด้วยการใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ แล้วตรวจสอบขนาดผลผลิตที่ได้ด้วยวิธี polyacrylamide gel electrophoresis เทียบกับอัลลีลมาตรฐานที่สร้างไว้ และย้อมสีเจลด้วย silver staining จะปรากฏลักษณะแถบดีเอ็นเอดังแสดงในภาพที่ 4 และตรวจพบลักษณะพันธุกรรมของประชากร 120 คน ดังแสดงในตารางที่ 4

ตาราง 4 แสดงลักษณะพันธุกรรมที่พบในตำแหน่ง DXS7132 ของกลุ่มประชากรไทยภาคเหนือ  
เพศหญิงจำนวน 120 คน

| ลำดับที่ | ลักษณะพันธุกรรม | ลำดับที่ | ลักษณะพันธุกรรม | ลำดับที่ | ลักษณะพันธุกรรม | ลำดับที่ | ลักษณะพันธุกรรม |
|----------|-----------------|----------|-----------------|----------|-----------------|----------|-----------------|
| 1        | 14/15           | 31       | 14/16           | 61       | 13/14           | 91       | 12/16           |
| 2        | 13/15           | 32       | 13/14           | 62       | 12/14           | 92       | 13/16           |
| 3        | 14/14           | 33       | 14/14           | 63       | 13/15           | 93       | 15/15           |
| 4        | 12/13           | 34       | 13/13           | 64       | 14/16           | 94       | 13/14           |
| 5        | 13/14           | 35       | 12/15           | 65       | 14/15           | 95       | 12/14           |
| 6        | 13/14           | 36       | 13/15           | 66       | 14/14           | 96       | 13/15           |
| 7        | 14/15           | 37       | 12/14           | 67       | 13/14           | 97       | 16/16           |
| 8        | 14/14           | 38       | 13/15           | 68       | 13/14           | 98       | 13/15           |
| 9        | 14/15           | 39       | 14/15           | 69       | 12/14           | 99       | 13/14           |
| 10       | 15/15           | 40       | 14/14           | 70       | 12/13           | 100      | 14/15           |
| 11       | 12/13           | 41       | 15/16           | 71       | 13/15           | 101      | 12/14           |
| 12       | 12/14           | 42       | 13/14           | 72       | 14/15           | 102      | 14/14           |
| 13       | 15/15           | 43       | 14/17           | 73       | 12/14           | 103      | 12/12           |
| 14       | 13/14           | 44       | 13/13           | 74       | 14/14           | 104      | 13/14           |
| 15       | 12/13           | 45       | 12/15           | 75       | 13/16           | 105      | 13/14           |
| 16       | 13/16           | 46       | 15/15           | 76       | 15/15           | 106      | 13/14           |
| 17       | 12/14           | 47       | 14/16           | 77       | 13/15           | 107      | 13/14           |
| 18       | 14/15           | 48       | 14/14           | 78       | 13/15           | 108      | 12/12           |
| 19       | 13/15           | 49       | 13/14           | 79       | 14/15           | 109      | 13/14           |
| 20       | 14/15           | 50       | 13/15           | 80       | 13/15           | 110      | 13/15           |
| 21       | 14/16           | 51       | 14/16           | 81       | 14/14           | 111      | 13/16           |
| 22       | 14/15           | 52       | 13/13           | 82       | 14/14           | 112      | 13/14           |
| 23       | 13/14           | 53       | 13/13           | 83       | 13/14           | 113      | 14/15           |
| 24       | 14/14           | 54       | 13/15           | 84       | 11/14           | 114      | 12/14           |
| 25       | 13/14           | 55       | 13/15           | 85       | 14/14           | 115      | 14/14           |
| 26       | 14/15           | 56       | 14/14           | 86       | 15/16           | 116      | 13/15           |
| 27       | 14/14           | 57       | 15/16           | 87       | 12/15           | 117      | 13/14           |
| 28       | 14/15           | 58       | 14/15           | 88       | 12/16           | 118      | 14/16           |
| 29       | 14/16           | 59       | 14/15           | 89       | 14/14           | 119      | 15/16           |
| 30       | 14/15           | 60       | 12/13           | 90       | 16/16           | 120      | 14/15           |

## 2. ผลการหาความถี่ของอัลลีลและการประเมินประสิทธิภาพของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7132

### 2.1 ผลการหาความถี่ของแต่ละอัลลีลในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ตำแหน่ง DXS7132

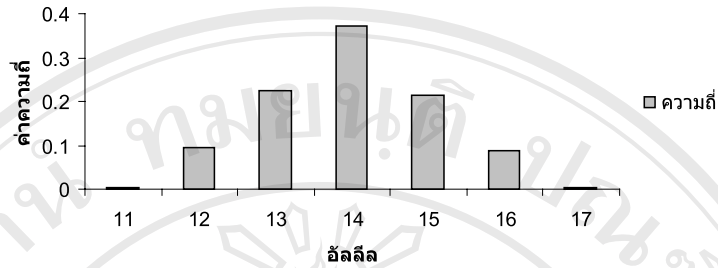
จากการนับจำนวนแถบดีเอ็นเอในลักษณะพันธุกรรมที่พบตามผลการทดลอง (ข้อ 1.3) ของแต่ละอัลลีล แล้วคำนวณค่าความถี่ของแต่ละอัลลีล จะพบว่าอัลลีลที่ 14 มีความถี่ที่สูงที่สุดคือเท่ากับ 0.3708 และอัลลีลที่ 11 กับ 17 มีความถี่น้อยที่สุดคือเท่ากับ 0.0042 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตาราง 5 แสดงจำนวนและค่าความถี่ของแต่ละอัลลีลในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7132

| อัลลีลที่ | จำนวน | ค่าความถี่ |
|-----------|-------|------------|
| 11        | 1     | 0.0042     |
| 12        | 23    | 0.0958     |
| 13        | 54    | 0.2250     |
| 14        | 89    | 0.3708     |
| 15        | 51    | 0.2125     |
| 16        | 21    | 0.0875     |
| 17        | 1     | 0.0042     |
| รวม       | 240   | 1.0000     |

เมื่อนำความถี่ของอัลลีลมาสร้างกราฟการกระจายตัวจะได้กราฟดังแสดงในภาพที่ 5 จากนั้นทำการทดสอบทางสถิติ (ภาคผนวก ข) พบว่าการกระจายตัวของความถี่อัลลีลบนดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ตำแหน่ง DXS7132 มีลักษณะเป็นปกติ (Normal distribution)

กราฟแสดงค่าความถี่ของอัลลีลบนดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DXS7132



ภาพ 5 แสดงค่าความถี่ของแต่ละอัลลีลในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7132

## 2.2 ผลการคำนวณค่ากำลังการแยกแยะของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ในตำแหน่ง DXS7132

จากการนับจำนวนลักษณะพันธุกรรมที่พบตามผลการทดลอง (ข้อ 1.3) ของอาสาสมัครทั้ง 120 คน แล้วคำนวณค่าความถี่ของแต่ละลักษณะที่พบได้ค่าดังตารางที่ 6 จากการคำนวณค่ากำลังการแยกแยะในผู้หญิง (PD female) ตามสูตร (ภาคผนวก ข) พบว่าได้ค่ากำลังการแยกแยะในผู้หญิงเท่ากับ 0.8939

ตาราง 6 ค่าความถี่ของลักษณะพันธุกรรมที่ตำแหน่ง DXS7132 ในอาสาสมัครทั้ง 120 คน

| Genotype | จำนวน | ความถี่ |
|----------|-------|---------|
| 11/14    | 1     | 0.0083  |
| 12/12    | 2     | 0.0167  |
| 12/13    | 5     | 0.0417  |
| 12/14    | 9     | 0.075   |
| 12/15    | 3     | 0.025   |
| 12/16    | 2     | 0.0167  |
| 13/13    | 4     | 0.0333  |
| 13/14    | 21    | 0.175   |
| 13/15    | 16    | 0.1333  |
| 13/16    | 4     | 0.0333  |
| 14/14    | 16    | 0.1333  |
| 14/15    | 18    | 0.15    |
| 14/16    | 7     | 0.0583  |
| 14/17    | 1     | 0.0083  |
| 15/15    | 5     | 0.0417  |
| 15/16    | 4     | 0.0333  |
| 16/16    | 2     | 0.0167  |
| SUM      | 120   | 0.9999  |

นอกจากนี้เมื่อคำนวณค่ากำลังการแยกแยะของผู้ชาย (PD male) โดยใช้ค่าความถี่ของแต่ละอัลลีลในตารางที่ 5 มาคำนวณตามสูตร (ภาคผนวก ข) พบว่าได้ค่ากำลังการแยกแยะของผู้ชายเท่ากับ 0.7498

## 2.3 ผลการคำนวณค่ากำลังการคัดออกของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศ

### หญิงในตำแหน่ง DXS7132

เมื่อคำนวณค่ากำลังการคัดออกในกรณี no parent (กรณีที่พิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างแม่-ลูก โดยมีเด็กกับผู้ถูกกล่าวหาเพียงคนเดียวเท่านั้น) ตามสูตรคำนวณดังนี้

$$\text{Power of exclusion (no parent)} = \sum_{i=1}^n p_i^2 (1 - p_i)^2 + \sum_{i,j < j}^n 2p_i p_j (1 - p_i - p_j)^2$$

พบว่าค่ากำลังการคัดออกในกรณี no parent ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 0.3477 (ภาคผนวก ข)

และเมื่อคำนวณค่าการคัดออกในกรณี one parent (กรณีที่เด็กมากับบุพการีแท้ๆแล้วอ้างว่าผู้ถูกกล่าวหาเป็นบุพการีอีกคน) ตามสูตรคำนวณดังนี้

$$\text{Power of exclusion (one parent)} = \sum_{i=1}^n p_i (1 - p_i)^2 + \sum_{i,j < j}^n (p_i p_j)^2 (3p_i + 3p_j - 4)$$

พบว่าค่ากำลังการคัดออกในกรณี one parent ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 0.5265 (ภาคผนวก ข)

หมายเหตุ เมื่อ  $n$  = จำนวนอัลลีลที่มีในระบบซึ่งมีอัลลีล  $a, b, \dots, i, j, \dots, l, n$  และ  $P_a, P_b, \dots, P_i, P_j, \dots, P_l, P_n$  คือ ค่าความถี่ของอัลลีลต่างๆในระบบดังกล่าว