ความถี่อัลลีลบน STR 15 ตำแหน่งของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย

โดย

นางสาวสิรีธร แสงเพลิง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2551

ความถี่อัลลีลบน STR 15 ตำแหน่งของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย

โดย
นางสาวสิริธร แสงเพลิง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2551

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ALLELE FREQUENCIES OF 15 STR LOCI OF CHINESE WORKERS IN THAILAND

By

Sireethron Sangpueng

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree

MASTER OF SCIENCE

Program of Forensic Science

Graduate School

SILPAKORN UNIVERSITY

2008

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง " ความถี่อัลลีลของบน STR 15 ตำแหน่งประชากรของจีนที่ทำงานในประเทศไทย " เสนอโดย นางสาวสิรีธร แสงเพลิง เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตังกูร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่..........เดือน.................... พ.ศ...........

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย เตโชวิศาล
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกพันธ์ บางยี่ขัน
3. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนาพร ชื่นอิ่ม

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จตุรงค์ พุทธพรทิพย์)
............/......................../..............

.... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ พ.ต.อ. หญิง ดร.พัชรา สินลอยมา)
............/......................../..............

.... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนาพร ชื่นอิ่ม)
............/......................../..............

.... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกพันธ์ บางยี่ขัน)
............/......................../..............

.... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย เตโชวิศาล)
............/......................../..............

49312335 : สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
คำสำคัญ : ความถี่อัลลีล, คนงานจีน, ประเทศไทย

สิรีธร แสงเพลิง : ความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยบน 15 STR Loci. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.ธงชัย เตโชวิศาล , ผศ.ดร.เอกพันธ์ บางยี่ขัน และ ผศ. ดร.ธนาพร ชื่นอิ่ม. 137 หน้า.

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความถี่ของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยบน 15 STR loci และคำนวณค่าทางสถิติต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาระดับสูงต่อไปความถี่อัลลีลทั้ง 15 ตำแหน่งบน STR loci ของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยที่ไม่ใช่เครือญาติกันจำนวน 39 ตัวอย่าง โดยตรวจวิเคราะห์ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป AmpF*l*STR® Identifiler™ PCR Amplification kit ซึ่งประกอบด้วย D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S135, THO1, D13S317, D16S539, D2S1138, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 และ FGA ผลการศึกษาพบว่า Observed heterozygosity (Obs.h) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.46154 (TPOX) ถึง 0.92308 (D5S818) Expected heterozygosity (Exp.h) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.53813 (TPOX) ถึง 0.86719 (FGA) Power of discrimination (PD) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.42458 (TPOX) ถึง 0.96043 (FGA)และ combined power of discrimination ทั้ง 15 ตำแหน่ง มีค่า 0.999999 ส่วน Power of exclusion (PE) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.28323 (TPOX) ถึง 0.73693 (FGA) และมี combined power of exclusion ทั้ง 15 ตำแหน่งมีค่า 0.999998

สาขานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2551

ลายมือชื่อนักศึกษา..

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ 1. .... 2. .... 3. ....

49312335 : MAJOR: FORENSIC SCIENCE
KEYWORD : ALLELE FREQUENCY, CHINESE WORKER, THAILAND

SIREETHRON SANGPUENG: ALLELE FREQUENCIES OF 15 STR LOCI OF CHINESE WORKERS IN THAILAND. THESIS ADVISORS: ASST. PROF. THONGCHAI TECHOWISAN, Ph.D., ASST. PROF. EAKAPHUN BANGYEEKHUN, Ph.D., AND ASST. PROF. THANAPORN CHUN-IM, Ph.D. 137 pp.

The objective of this research is to study the allele frequencies of 15 STR loci of Chinese workers in Thailand and statistical analysis for database and further study in higher level. Allele frequencies for the 15 STR loci were determination in samples of 39 unrelated Chinese workers in Thailand by AmpF/STR® Identifiler™ PCR Amplification kit. The loci were D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S135, THO1, D13S317, D16S539, D2S1138, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 and FGA. The result showed that the observed heterozygosity (Obs.h) ranges from 0.46154 (TPOX) to 0.92308 (D5S818). The expected heterozygosity (Exp.h) ranges from 0.53813 (TPOX) to 0.86719 (FGA). The power of discrimination (PD) ranges from 0.42458 (TPOX) to 0.96043 (FGA) and the combined power of discrimination for the 15 loci is 0.999999. The power of exclusion (PE) ranges from 0.28323 (TPOX) to 0.73693 (FGA). The combined power of exclusion for 15 loci is 0.999998.

Program of Forensic Science Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2008

Student's signature..

Thesis Advisor's signature.1.........................2..........................3...........................

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยเรื่องความถี่อัลลีลบน STR 15 ตำแหน่งของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เพราะได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างจากหน่วยนิติเซโรวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และบุคคลหลายท่านที่ได้กรุณาสละเวลาให้ความรู้ ให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นที่มีคุณค่า และเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยเป็นอย่างยิ่ง ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธงชัย เตโชวิศาล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกพันธ์ บางยี่ขัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนาพร ชื่นอิ่ม ที่ได้กรุณาเป็นที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือในทุกด้าน อีกทั้งได้ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ในการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบพระคุณ พ.ต.ท. สฤษดิ์ สืบพงษ์ศิริ และอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะและสละเวลาให้คำแนะนำต่าง ๆ ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ พ.ต.อ. หญิง ดร.พัชรา สินลอยมาและผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จตุรงค์ พุทธพรทิพย์ ที่กรุณาตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีคุณค่าและสมบูรณ์มากขึ้น ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณา และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

นอกจากนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คุณอัลชลี ก่องศรีสุข และพี่ ๆน้อง ๆ ที่สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือต่าง ๆ และสละเวลาในการให้คำแนะนำให้วิทยานิพนธ์มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่มหาวิทยาลัยศิลปากรทุกคนที่ให้กำลังใจ และให้ความช่วยเหลือทำให้การดำเนินงานเป็นไปอย่างราบรื่นมากยิ่งขึ้น

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณครอบครัวที่ให้การสนับสนุนช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด และขอขอบพระคุณผู้ที่มิได้เอ่ยนามมา ณ โอกาสนี้ ซึ่งมีส่วนช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์เล่มนี้ประสบผลสำเร็จไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย………………………………………………………………... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ………………………………………………………...... จ

กิตติกรรมประกาศ……………………………………………………………... ฉ

สารบัญตาราง…………………………………………………………………….. ฌ

สารบัญแผนภูมิ…………………………………………………………………… ฑ

สารบัญภาพ………………………………………………………………………. ฒ

บทที่

1 บทนำ…………………………………………………………………….. 1

วัตถุประสงค์……………………………………………………………... 4

สมมติฐานของการศึกษา………………………………………………… 5

ขอบเขตการศึกษา………………………………………………………... 5

ข้อจำกัดของการวิจัย……………………………………………………... 5

นิยามศัพท์เฉพาะ…………………………………………………………. 5

กรอบแนวคิด…………………………………………………………….. 6

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ………………………………………………. 7

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง…………………………………………... 8

แนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.. 8

ประวัติความเป็นมาของการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ................................ 8

ข้อมูลพื้นฐานของดีเอ็นเอ……………………………………………... 11

เทคนิคพีซีอาร์………………………………………………………… 21

การตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์………………………………………….. 27

ประโยชน์ของเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอ.. 32

สถิติกับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์.. 34

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.. 37

3 ระเบียบวิธีวิจัย.. 51

ตัวอย่าง... 51

บทที่		หน้า
	วัสดุอุปกรณ์……………………………………………………..........	51
	วิธีการทดลอง..	52
4	ผลการทดลอง...	58
5	สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ…………………………………………........	74
	สรุปผล	74
	อภิปรายผล……………………………………………………………..	76
	ข้อเสนอแนะ…………………………………………………………...	76
	ข้อเสนอแนะจากการวิจัย……………………………………………….	76
บรรณานุกรม……………………………………………………………………...		78
ภาคผนวก...		80
	ภาคผนวก ก ตารางการแจกแจงอัลลีลบนโลคัสทั้ง 15 ตำแหน่ง.................	80
	ภาคผนวก ข ตารางการคำนวณค่าทางสถิติ...	94
ประวัติผู้วิจัย……………………………………………………………………………		137

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงเปอร์เซ็นต์ของหมู่เลือดแต่ละกลุ่มที่สามารถพบได้ในประชากร	9
2	ความถี่อัลลีลของโลคัสตำแหน่งต่าง ๆ บน STR……………………………….	38
3	แสดงค่าทางสถิติต่าง ๆ..	39
4	การกระจายตัวของความถี่อัลลีลสำหรับโลคัสทั้ง 9 ตำแหน่งบน STR ของ Ximeng-Mongolian ในเขตพื้นที่ Inner Mongolian ประเทศจีน..................	42
5	การกระจายตัวของความถี่อัลลีลสำหรับโลคัสทั้ง 9 ตำแหน่งบน STR ของ Wumeng-Mongolian ในเขตพื้นที่ Inner Mongolian ประเทศจีน..............	43
6	ความถี่อัลลีลและค่าทางสถิติของประชากรจีนตะวันออกบน STR ทั้ง 15 ตำแหน่ง..	46
7	ความถี่อัลลีลและค่าทางสถิติบน STR ทั้ง 9 ตำแหน่งในประชากรจีน..........	49
8	ความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยบน STR 15 ตำแหน่ง....	59
9	เปรียบเทียบความแตกต่างของการกระจายตัวของความถี่อัลลีลระหว่างประชากรโดยแสดงเป็น ค่า p-value..	63
11	ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D21S11…………………………………………………………………	80
12	ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D7S820…………………………………………………………............	81
13	ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส CSF1PO..	82
14	ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D3S1358..	83
15	ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส THO1………………………………………………………………..	84
16	ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D13S317..	85

ตารางที่		หน้า

17 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D16S539.. 86
18 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D2S1138.. 87
19 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D19S433.. 88
20 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส vWA.. 89
21 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส TPOX.. 90
22 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D18S51……………………………………………………………..…… 91
23 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D5S818.. 92
24 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส FGA.. 93
25 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D8S1179.. 94
26 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D21S11……………………………………………………... 95
27 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D7S820.. 96
28 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส CSF1PO.. 97
29 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D3S1358.. 98

ตารางที่ หน้า

30 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส TH01.. 99

31 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D13S317... 100

32 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D16S539... 101

33 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D2S1338... 102

34 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D19S433... 103

35 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส vWA.. 104

36 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส TPOX... 105

37 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D18S51... 106

38 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D5S818... 107

39 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส FGA.. 108

40 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D8S1179... 109

41 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D21S11…………………………………………… 110

42 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D7S820…………………………………………… 111

ตารางที่ หน้า

43 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส CSF1PO... 112

44 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D3S1358... 113

45 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส TH01... 114

46 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D13S317... 115

47 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D16S539……………………………………………….. 116

48 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส vWA.. 117

49 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส TPOX.. 118

50 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D18S51.. 119

51 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D5S818... 120

52 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส FGA.. 121

53 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D8S1179... 122

54 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D2S11………………………………………………. 123

55 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D7S820……………………………………………… 124

ตารางที่ หน้า

56 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส CSF1PO........ 125

57 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D3S1358........ 126

58 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส TH01........ 127

59 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D13S317........ 128

60 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D16S539........ 129

61 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D2S1338........ 130

62 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส vWA........ 131

63 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส TPOX........ 132

64 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D18S51........ 133

65 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D5S818........ 134

66 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส FGA........ 136

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	กราฟแสดงการกระจายตัวของอัลลีล (อัลลีล 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10 และ 11) ในโลคัส HUMTH01 ของประชากร 6 เชื้อชาติที่อยู่ในประเทศสเปน ได้แก่ เชื้อชาติบาสก์ เชื้อชาติเยอรมัน เชื้อชาติสวิตเซอร์แลนด์ เชื้อชาติคอเคเชี่ยน เชื้อชาติแอฟโฟร-แคริเบียนและเชื้อชาติเอเชีย..	3
2	เจมส์ ดี วัตสัน และ ฟรานซิส เอช ซี คริก………………………………………..	10
3	โครงสร้างสามมิติของดีเอ็นเอโดยอาศัยข้อมูลจากภาพเอกซเรย์ดิฟแฟรกชั่น (X-ray diffraction pattern) ของผลึกดีเอ็นเอ………………………………	10
4	ดร.อเล็กซ์ เจฟฟรีย์ นักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษผู้ค้นพบวิธีพิสูจน์บุคคลด้วย หลักฐานของดีเอ็นเอ...	11
5	หน่วยย่อยนิวคลีโอไทด์ประกอบด้วย น้ำตาล เบส และหมู่ฟอสเฟต.....................	12
6	โครงสร้างของเบสทั้งสี่ชนิดบนสายดีเอ็นเอ...	12
7	การจับกันของเบส A กับเบส T และเบส G กับ C……………………………..	13
8	โครงสร้างของดีเอ็นเอลักษณะเป็นเกลียวคู่เวียนขวา..	13
9	ดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นสายยาวพันม้วนกันอยู่ในโครโมโซม................................	14
10	ลักษณะของโครโมโซม 23 คู่...	14
11	ลักษณะของนิวเคลียร์-ดีเอ็นเอ (nuclear DNA) และไมโตคอนเดรียล-ดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA)..	16
12	ตำแหน่งที่ใช้ในการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมทั้ง 16 ตำแหน่ง...........	18
13	แถบสีดำของสารรังสีมีลักษณะคล้ายบาร์โค้ด………………………………...	19
14	ลักษณะเส้นกราฟจากการอ่านด้วยเครื่องอัตโนมัติ………………………………	21
15	ศาสตราจารย์ K.Mullis ผู้พัฒนาเทคนิคพีซีอาร์………………………………….	22
16	ลักษณะของเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออัตโนมัติที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (Thermal cycler)...	25
17	ขั้นตอนของปฏิกิริยาพีซีอาร์..	26
18	ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์...	29
19	เครื่องอ่านผลอัตโนมัติ (ABI 310 Genetic Analyzer)……………………………	30
20	แผนที่ของจังหวัด Henan ในประเทศจีน..	48

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่		หน้า
1	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส D8S1179……..	64
2	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส D2S11……….	65
3	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส D7S820……..	66
4	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส CSF1PO..........	67
5	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส D3S1358……	67
6	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลระหว่างคนจีน,ไทยและสเปน บนโลคัส TH01..	68
7	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทยคนไทยคนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส D13S317...	69
8	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส D16S539……	69
9	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส vWA.............	70
10	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส TPOX...........	71
11	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส D18S51.........	72
12	เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส D5S818..........	63

แผนภูมิที่ หน้า

13 เปรียบเทียบความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของคนจีนในประเทศไทย คนไทย คนจีนเสฉวนและแอฟริกาใต้บนโลคัส FGA......... 73

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

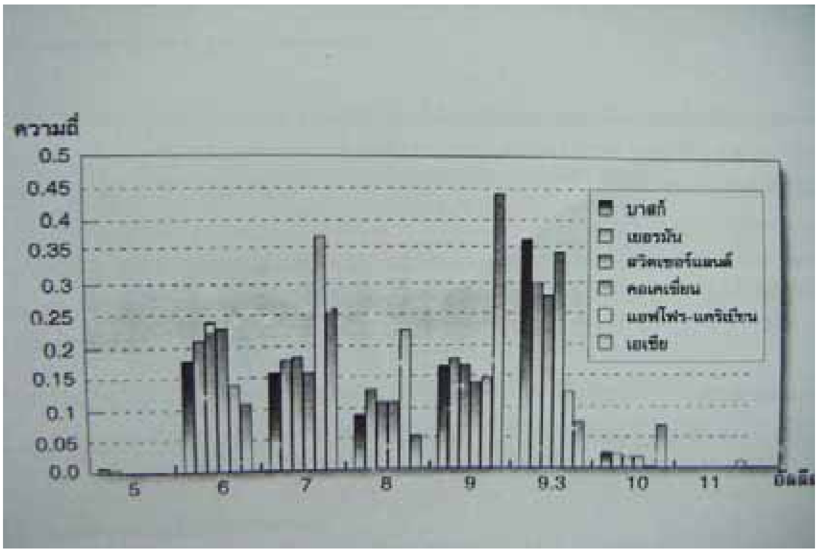
สังคมไทยในปัจจุบันมีการก่ออาชญากรรมกันขึ้นไม่เว้นแต่ละวัน คนต่างชาติที่เข้ามาอาศัยอยู่ในประเทศไทยก็มีเป็นจำนวนมาก บ้างก็มาเพื่อท่องเที่ยว บ้างก็เพื่อทำธุรกิจ เมื่อเกิดเหตุอาชญากรรมกับคนเหล่านี้ซึ่งบางครั้งสภาพศพที่พบนั้นไม่สามารถจดจำได้ว่าเป็นใคร ดังนั้นการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลเพื่อหาตัวผู้กระทำผิด หรือเพื่อทราบว่าเหยื่อเป็นใครจึงมีความสำคัญที่จะช่วยไขปมปริศนาได้ การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การตรวจบัตรประชาชน เป็นการบ่งชี้ว่าเป็นใครได้ แต่อาจมีการปลอมแปลงได้เช่นกัน การตรวจลายพิมพ์นิ้วมือซึ่งลายนิ้วมือ เป็นลักษณะจากภายนอกบุคคลที่ถูกกำหนดขึ้นจากยีนของบุคคลนั้น ๆ จึงมีลักษณะเฉพาะตัวมาก สามารถนำมาใช้เป็นหลักฐานแสดงว่าใครเป็นใครได้ และไม่มีการปลอมลายพิมพ์นิ้วมือได้ แต่อย่างไรก็ตามการใช้ลายพิมพ์นิ้วมือเพื่อพิสูจน์บุคคล ก็ยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น การตรวจสอบทางนิติเวชศาสตร์ หรือการตรวจจับคนร้ายที่มีการทิ้งร่องรอยเพียงคราบอสุจิ กรณีชิ้นส่วนร่างกายถูกไฟไหม้จนไม่สามารถหาลายนิ้วมือได้ หรือศพที่มีสภาพเน่าเปื่อยผิวหนังหลุดลอก หรืออาจลบเลือนไปได้เนื่องจากได้รับอุบัติเหตุหรือถูกสารเคมี หรือการหาความสัมพันธ์ทางสายเลือด เช่น การตรวจความเป็นพ่อ-แม่-ลูก ก็ไม่สามารถใช้ลายพิมพ์นิ้วมือบ่งบอกได้ การตรวจพิสูจน์บุคคลทางสัณฐานวิทยา โดยการเปรียบเทียบความเข้ากันได้ของกะโหลกกับภาพของผู้เสียชีวิต ลักษณะกระดูก ความสั้นยาวของกระดูกต่าง ๆ เป็นต้น ซึ่งผลที่ได้นั้นเป็นเพียงความน่าจะเป็นที่จะขจัดบุคคลที่ไม่ใช่ออก หรือบอกได้ว่าน่าจะเป็นประชากรเชื้อชาตินี้เท่านั้น และในบางครั้งตัวอย่างที่ได้มานั้นไม่ได้มีความสมบูรณ์มากเพียงพอที่จะนำมาเปรียบเทียบได้ การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลด้วยสารพันธุกรรม หรือลายพิมพ์ดีเอ็นเอก็เป็นอีกหนึ่งวิธีที่นิยมใช้เพราะเป็นวิธีที่ได้ผลชัดเจนว่าเป็นบุคคลเดียวกันหรือไม่ โดยเปรียบเทียบจำนวนซ้ำของเบสบนโลคัสแต่ละตำแหน่งบน STR ซึ่งจะเป็นบุคคลคนเดียวกันนั้นจะต้องมีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกันทุกตำแหน่ง โดยในปัจจุบันจะใช้การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์หรือ STR ถือเป็นมาตรฐานมีทั้งหมด 16 ตำแหน่ง ซึ่งสามารถใช้พิสูจน์บุคคลหนึ่งออกจากอีกบุคคลหนึ่งได้ดี และมีความน่าเชื่อถือสูงร้อยละ 99.999 (สสวท, 2548) แต่การใช้ดีเอ็นเอในการพิสูจน์

เอกลักษณ์บุคคลก็มีข้อจำกัด คือต้องมีตัวอย่างมาเปรียบเทียบในการตรวจพิสูจน์ เช่น การตรวจพิสูจน์บุคคลสูญหาย ตัวอย่างที่ได้รับมาอาจเป็นเพียงท่อนกระดูกชิ้นหนึ่ง เมื่อนำมาสกัดดีเอ็นเอแล้วได้รูปแบบดีเอ็นเอออกมาก็ยังไม่สามารถรู้ได้ว่ากระดูกท่อนนี้เป็นของผู้ใด จนกระทั่งมีการนำเอาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของตัวอย่างต้องสงสัยมาทำการเปรียบเทียบเสียก่อนว่าแต่ละตำแหน่งของดีเอ็นเอว่ามีความสอดคล้องกันเพียงใด หากตรงกันทุกตำแหน่งก็แสดงว่าตัวอย่างต้องสงสัยกับกระดูกเป็นสิ่งเดียวกัน แต่ถ้าหากไม่มีตัวอย่างเปรียบเทียบแล้วก็จะไม่สามารถพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลได้

อย่างไรก็ตามหากมีการศึกษาข้อมูลด้านความถี่อัลลีลของประชากรแต่ละกลุ่ม ก็อาจเป็นเครื่องมือหนึ่งที่จะช่วยคัดกรองสิ่งที่ไม่ใช่ออกไปได้ ทำให้สิ่งที่สนใจแคบลง ง่ายและสะดวกต่อการทำงานมากขึ้น สามารถช่วยลดระยะเวลาในการทำงาน เช่น ในประชากรกลุ่มหนึ่งพบว่ามีความถี่สูงที่จะพบอัลลีลรูปแบบ 8 แต่ประชากรอีกกลุ่มหนึ่งไม่มีความถี่ที่พบอัลลีล 8 อย่างนี้ก็จะสามารถช่วยแยกกลุ่มประชากรที่สนใจให้มีขนาดเล็กลงได้ และเมื่อพิจารณาร่วมกับข้อมูลด้านอื่นก็จะทำให้ความน่าเชื่อถือเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่องานด้านนิติวิทยาศาสตร์มาก

คนจีนนั้นมีลักษณะทางกายภาพคล้ายคลึงกับคนไทยมาก ไม่ว่าจะเป็นรูปร่าง หน้าตา ส่วนสูง เป็นต้น จนทำให้บางครั้งการแปลผลอาจเกิดการผิดพลาดได้ หากไม่ใช้ข้อมูลหลายข้อมูลมากประกอบกัน ปัจจุบันชาวจีนมีแนวโน้มที่จะเข้ามาอาศัยในประเทศไทยเพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ จนตั้งเป็นย่านของคนจีนที่เป็นที่รู้จักกันดี คือ เยาวราช คนจีนที่เข้ามาในประเทศไทยนั้นโดยส่วนใหญ่แล้วจะเข้ามาทำธุรกิจ การค้า บ้างก็เข้ามาตั้งหลักปักฐาน และจากลักษณะทางภูมิศาสตร์ประเทศไทยและประเทศจีนนั้นมีเขตติดต่อกัน จึงทำให้การอพยพเคลื่อนย้ายของประชากรระหว่างคนไทยและคนจีนนั้น ไม่ใช่เรื่องลำบาก การแปรผันทางพันธุกรรมจึงเกิดขึ้นได้ง่าย ทำให้มีความใกล้ชิดทางด้านพันธุกรรมมากขึ้น จึงควรมีการศึกษาความถี่ของอัลลีลของประชากรจีนว่ามีความแตกต่างจากประชากรไทยหรือไม่ เพื่อที่จะสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการจำแนกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยออกจากอีกประชากรไทยและประชากรกลุ่มอื่นได้

การศึกษาการกระจายตัวของอัลลีลในโลคัสต่าง ๆ สามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่มของประชากรได้ ตัวอย่างเช่น การกระจายตัวของอัลลีลในโลคัส HUMTH01 ของประชากรต่างเชื้อชาติจำนวน 6 กลุ่มที่อาศัยอยู่ในประเทศสเปนตอนเหนือ ได้แก่ เชื้อชาติบาสก์ เชื้อชาติเยอรมัน เชื้อชาติสวิตเซอร์แลนด์ เชื้อชาติแอฟโฟร-แคริเบียน และเชื้อชาติเอเชีย (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 กราฟแสดงการกระจายตัวของอัลลีล (อัลลีล 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10 และ 11) ในโลคัส HUMTH01 ของประชากร 6 เชื้อชาติที่อยู่ในประเทศสเปน ได้แก่ เชื้อชาติบาสก์ เชื้อชาติเยอรมัน เชื้อชาติสวิตเซอร์แลนด์ เชื้อชาติคอเคเชี่ยน เชื้อชาติแอฟโฟร-แคริเบียน และเชื้อชาติเอเชีย

ที่มา : วิชัย บุญแสง และคณะ, <u>ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ...จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล</u> (ปทุมธานี : สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2547), 74.

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวของอัลลีลที่แตกต่างกัน แม้ว่าจะเป็นประชากรที่อาศัยอยู่ในประเทศเดียวกัน เช่น จำนวนอัลลีลที่พบทั้งหมดจำนวน 8 อัลลีล คือ อัลลีล 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10 และ 11 แต่ไม่พบว่ามีกลุ่มประชากรกลุ่มใดมีอัลลีลครบทั้ง 8 อัลลีล เช่น อัลลีลที่พบในประชากรทุกกลุ่ม คือ อัลลีล 6, 7, 8, 9 และ 9.3 ในขณะที่อัลลีล 5, 10 และ 11 พบในประชากรบางกลุ่มเท่านั้น นอกจากนี้พบว่าความถี่ของแต่ละอัลลีลที่พบในแต่ละกลุ่มประชากรมีความแตกต่างกันอีกด้วย ข้อมูลนี้เป็นข้อมูลที่ช่วยสนับสนุนให้เห็นถึงความสำคัญในการหาค่าความถี่และการกระจายตัวของประชากรของอัลลีลแต่ละกลุ่มประชากร เพื่อนำไปสู่ความถูกต้องและความน่าเชื่อถือในการแปลผลการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ การศึกษาการกระจายตัวของอัลลีลนอกจากจะเป็นการนำข้อมูลดังกล่าวมาตัดสินว่าโลคัสใดเหมาะสมแล้ว สามารถนำไปคำนวณค่าทางสถิติที่เกี่ยวข้องกับการบอกความน่าเชื่อถือหรือโอกาสที่จะพบว่าบุคคล 2 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกันหรือเรียกว่าค่า matching probability (PM) ซึ่งเป็นดัชนีวัดค่าความสามารถในการชี้เฉพาะบุคคลที่นิยมใช้อีกแบบหนึ่งคือ ค่า PD หรือ

power of discrimination จากการใช้เครื่องอัตโนมัติในการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งมีการพัฒนาให้มีความสามารถในการชี้เฉพาะบุคคลให้มากขึ้นโดยการเพิ่มจำนวนโลคัสแบบไมโครแซทเทลไลท์ ทำให้โอกาสที่บุคคล 2 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เหมือนกันน้อยลง

ค่าทางสถิติต่าง ๆ มีความสำคัญมาก เพราะเป็นตัวเลขที่บ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือ มีความสำคัญต่อการพิจารณาในการนำไปใช้ เช่น ค่าแสดงข้อมูลความถี่ของการกระจายตัวของอัลลีลทั้งหมดในแต่ละโลคัสของประชากรในกลุ่มนั้น ๆ เป็นข้อมูลที่พิจารณาเพื่อนำไปตัดสินว่าโลคัสใดเป็นโลคัสที่เหมาะสมในการนำมาใช้ตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เนื่องจากบุคคลแต่ละคนในแต่ละประเทศ หรือมาจากถิ่นกำเนิดที่แตกต่างกันจะมีกลุ่มอัลลีลในแต่ละโลคัส ซึ่งอาจเหมือนกันหรือต่างกันในแต่ละกลุ่มประชากร ดังนั้นการกำหนดขอบเขตความเป็นไปได้ของอัลลีลที่เกิดขึ้นในแต่ละพื้นที่หรือประเทศของประชากรกลุ่มหนึ่งจึงมีความจำเป็น ดังนั้นฐานข้อมูล STR คนจีนที่เข้ามาทำงานในประเทศไทยจึงควรมีการศึกษาเพื่อเก็บเป็นฐานข้อมูลไว้ศึกษาในระดับสูงต่อไป

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อศึกษาความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดของโลคัสทั้ง 15 ตำแหน่ง บน STR ซึ่งประกอบ D8S1179, D2S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 และ FGA ได้

2.2 เพื่อใช้ศึกษาค่าทางสถิติที่ใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ค่าความถี่อัลลีล Obsereved heterozygosity, Expected heterozygosity, Power of exclusion, Power of discrimination, The combine power of exclusion, The combine power of discrimination, The polymorphism information content และ The power of matching บน STR 15 ตำแหน่งของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย

2.3 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรกลุ่มอื่นเคยมีรายงานมาก่อน ได้แก่ ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้

2.4 เพื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรกลุ่มอื่นเคยมีรายงานมาก่อน ได้แก่ ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้

3. สมมติฐานของการศึกษา

ความถี่อัลลีลของโลคัสทั้ง 15 ตำแหน่งบน STR สามารถใช้จัดจำแนกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยออกจากประชากรกลุ่มอื่นได้

4. ขอบเขตการศึกษา

4.1 ศึกษาความถี่อัลลีลจาก STR 15 ตำแหน่ง ของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย โดยที่แต่ละตัวอย่างไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด ประกอบด้วยตำแหน่งต่าง ๆ ดังนี้ D8S1179, D2S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 และ FGA

4.2 ตัวอย่างที่นำมาศึกษาต้องไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด และเก็บตัวอย่างช่วงระหว่างเดือนมีนาคม พ.ศ. 2549 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2550 จำนวนทั้งสิ้น 39 ตัวอย่าง

4.3 ศึกษาค่าทางสถิติต่าง ๆ ได้แก่ ค่าความถี่อัลลีล, Obsereved heterozygosity, Expected heterozygosity, Power of exclusion, Power of discrimination, The combine power of exclusion, The combine power of discrimination, The polymorphism information content, The power of matching ในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย

4.4 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรไทย, ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ จากงานวิจัยอื่นที่เคยมีรายงานมาก่อน

5. ข้อจำกัดของการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้รับการอนุเคราะห์ตัวอย่างเลือดจำนวน 39 ตัวอย่าง จากหน่วยนิติเซโรวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งเก็บรวบรวมตัวอย่างจากผู้เข้ารับการตรวจความสัมพันธ์ พ่อ-แม่-ลูก ในระหว่างเดือนมีนาคม พ.ศ. 2549 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2550 โดยที่แต่ละตัวอย่างนั้นไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด

6. นิยามศัพท์

Locus หมายถึง ตำแหน่งที่จำเพาะของยีนบนโครโมโซมคู่หนึ่ง ๆ

Allele หมายถึง ลำดับของเบสของดีเอ็นเอ ณ ตำแหน่งโลคัสเดียวกันที่มีรูปแบบได้แตกต่างกัน

Homozygote หมายถึง ภาวะยีนที่มีอัลลีลที่เหมือนกันซึ่งอยู่บนโลคัสเดียวกันบนสองโครโมโซม

Heterozygosity หมายถึง สัดส่วนหรือเปอร์เซ็นต์ของยีนที่อยู่ในหน่วยสิ่งมีชีวิตที่มีสภาพเป็นเฮทเทอโรไซกัส

Homozygosity หมายถึง สัดส่วนหรือเปอร์เซ็นต์ของยีนที่อยู่ในหน่วยสิ่งมีชีวิตที่มีสภาพเป็นโฮโมไซกัส

Microsatellite หมายถึง ส่วนของดีเอ็นเอที่มีขนาดของชุดซ้ำสั้นมากเพียง 1-4 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส

Observed heterozygosity หมายถึง ค่าความถี่ของ Heterozygote ที่นับได้

Power of exclusion (PE) หมายถึง ค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการขจัดบุคคลที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันออกจากกัน

The combine power of exclusion หมายถึง ค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการขจัดบุคคลที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันออกจากกัน โดยคิดทั้งระบบ

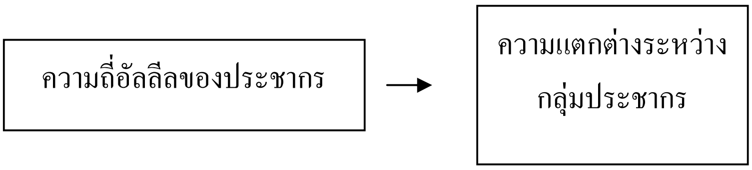
Power of discrimination (PD) หมายถึง ค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการแยกบุคคลสองคนที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันออกจากกัน

The combine power of discrimination หมายถึง ค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการแยกบุคคลสองคนที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันออกจากกัน โดยคิดทั้งระบบ

The power of matching หรือ The probability of matching (PM) หมายถึง ค่าที่บ่งบอกถึงความน่าจะเป็นที่บุคคลสองคนจะมีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกัน

The polymorphism information content (PIC) หมายถึง ค่าที่บ่งบอกถึงความหลากหลายของอัลลีลในประชากร ณ โลคัสตำแหน่งนั้น ๆ

7. กรอบแนวคิด



8. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

8.1 เพื่อทราบความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่เข้ามาทำงานในประเทศไทยของโลคัสทั้ง 15 ตำแหน่งบน STR ซึ่งประกอบด้วย D8S1179, D2S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 และ FGA

8.2 เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่เข้ามาทำงานในประเทศไทยได้

8.3 เพื่อศึกษาความถี่อัลลีลของประชากรจีนและสามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มประชากรจีนที่เข้ามาทำงานในประเทศไทยออกจากประชากรกลุ่มอื่นได้

8.4 เพื่อพัฒนางานด้านการตรวจพิสูจน์และช่วยสร้างความเชื่อมั่นในผลการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. แนวคิดและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

1.1 ประวัติและความเป็นมาของการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

การพิสูจน์บุคคลหรือหลักฐานที่เกี่ยวกับบุคคล มีความสำคัญมากในชีวิตประจำวัน เช่น การมีบัตรประจำตัวประชาชนเพื่อแสดงว่าเราเป็นใคร นอกจากนี้ยังอีกหลายวิธีที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคล เช่น การตรวจหมู่เลือด ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นำมาใช้เป็นหลักฐานสำคัญในการชี้ตัวฆาตกรหรืออาชญากร แต่การตรวจหมู่เลือดนั้นยังไม่สามารถแยกบุคคลหนึ่งออกจากบุคคลหนึ่งได้อย่างสมบูรณ์ พบว่าบุคคลที่จะมีหมู่เลือด O+ มี 1 ใน 3 ของประชากร บุคคลที่จะมีหมู่เลือด A+ มี 1 ใน 3 ของประชากร บุคคลที่จะมีหมู่เลือด B+ มี 1 ใน 12 ของประชากร บุคคลที่จะมีหมู่เลือด O- มี 1 ใน 15 ของประชากร บุคคลที่จะมีหมู่เลือด A- มี 1 ใน 16 ของประชากร บุคคลที่จะมีหมู่เลือด AB+ มี 1 ใน 29 ของประชากร บุคคลที่จะมีหมู่เลือด B- มี 1 ใน 67 ของประชากร และบุคคลที่จะมีหมู่เลือด AB- มี 1 ใน 167 ของประชากร จะเห็นว่าโอกาสที่บุคคลหนึ่งมีหมู่เลือดซ้ำกับอีกบุคคลหนึ่งเป็นไปได้สูง (ตารางที่ 1) (William Hunter, 1971)

หลักฐานสำคัญที่นำมาใช้การบ่งบอกตัวบุคคลที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ ลายพิมพ์นิ้วมือ เนื่องจากลายพิมพ์นิ้วมือเป็นลักษณะภายนอกที่ถูกกำหนดขึ้นจากยีนของบุคคลนั้น ๆ จึงมีลักษณะเฉพาะตัวมาก สามารถนำมาใช้เป็นหลักฐานแสดงว่าใครเป็นใครได้ อย่างไรก็ตามลายพิมพ์นิ้วมือก็ยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น การตรวจสอบทางนิติเวชศาสตร์ หรือการตรวจจับคนร้ายที่มีการทิ้งร่องรอยเป็นเพียงคราบเลือด คราบอสุจิ หรือกรณีชิ้นส่วนที่ถูกไฟไหม้จนไม่สามารถหาลายพิมพ์นิ้วมือได้ หรือการหาความสัมพันธ์ทางสายเลือดหรือการที่นิ้วมือได้รับบาดเจ็บเป็นแผลลึกก็จะทำให้เป็นแผลเป็นซึ่งลายเส้นบริเวณนั้นก็จะหายไปทำให้ไม่สามารถตรวจสอบได้ เนื่องจากในปัจจุบันความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีมีมากขึ้น และมนุษย์ก็มีการศึกษาค้นคว้าอย่างต่อเนื่องทำให้ทราบว่ามนุษย์มีดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม เป็นตัวกำหนดลักษณะและคุณสมบัติของมนุษย์ เช่น สีผิว สีตา ความสูง เป็นต้น โดยได้รับการถ่ายทอด

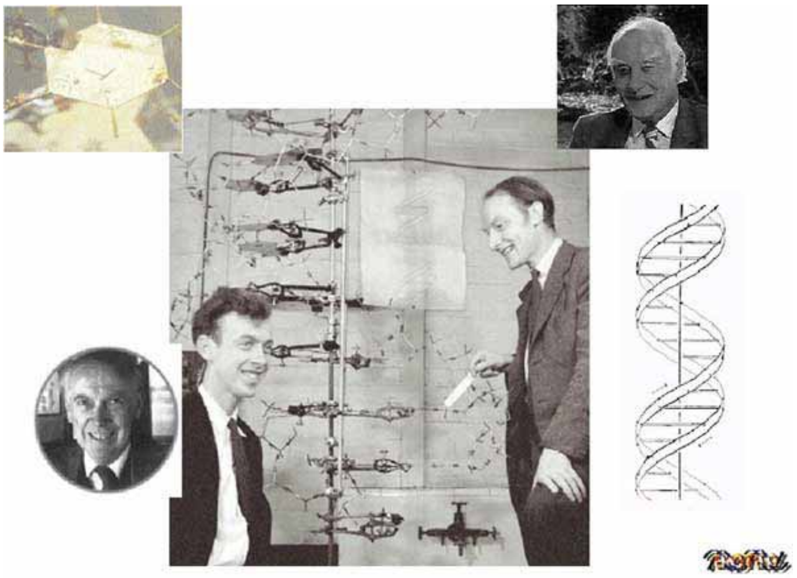
มาจากพ่อและแม่ ซึ่งมีความจำเพาะต่อบุคคลนั้น ๆ และมีความแตกต่างกันในแต่ละบุคคล ยกเว้นฝาแฝดที่เกิดจากไข่ใบเดียวกันเท่านั้นที่มีดีเอ็นเอเหมือนกัน

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ของหมู่เลือดแต่ละกลุ่มที่สามารถพบได้ในประชากร

หมู่เลือด	เปอร์เซ็นต์ที่พบในประชากร (%)
O+	33 (1 ใน 3)
A+	33 (1 ใน 3)
B+	8.3 (1 ใน 12)
O-	6.7 (1 ใน 15)
A-	6.3 (1 ใน 16)
AB+	3.4 (1 ใน 29)
B-	1.5 (1 ใน 67)
AB-	0.6 (1 ใน 167)

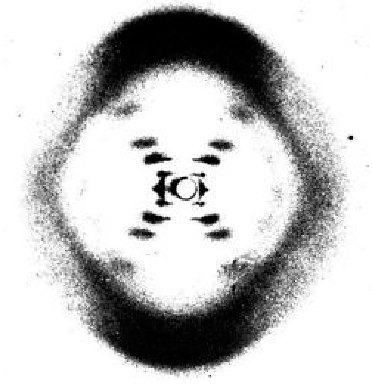
ที่มา: William Hunter, DNA ANALYSIS (India : Harding House Publishing Service, Inc., 1971), 18.

ดังนั้นจึงมีการนำเอาคุณสมบัติด้านนี้ของดีเอ็นเอ มาใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลอีกวิธีหนึ่ง ซึ่งเป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง เรียกวิธีนี้ว่า “การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ” โดยการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอนี้มีประโยชน์อย่างมากในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ นอกจากนี้ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่าง ๆ เช่น การตรวจพิสูจน์บุคคล การพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด หรือการพิสูจน์หาคนร้ายในคดีฆาตกรรม เป็นต้น ดีเอ็นเอถูกค้นพบในปี พ.ศ. 2412 (ค.ศ. 1869) โดยนักวิทยาศาสตร์ชื่อ เฟรดริค มิชเชอร์ (Friedrich Meisher) ได้สังเกตเห็นว่าที่ศูนย์กลางหรือนิวเคลียสของเซลล์ ประกอบด้วยสารที่มีสมบัติเป็นกรดอ่อน ๆ ต่อมาในราวปี พ.ศ. 2443 (ค.ศ. 1900) จึงได้ให้ชื่อทางเคมีของสารนี้ว่า “ดีเอ็นเอ” (DNA) แต่ไม่ทราบว่าโครงสร้างเป็นอย่างไร จนในปี พ.ศ. 2496 (ค.ศ. 1953) นักชีววิทยาชาวอเมริกันชื่อ เจมส์ ดี วัตสัน และนักฟิสิกส์ชาวอังกฤษชื่อ ฟรานซิส เอช ซี คริก (ภาพที่ 2) จากมหาวิทยาลัยเคมบริดจ์ได้เสนอโครงสร้างสามมิติของดีเอ็นเอ (ภาพที่ 3) โดยอาศัยข้อมูลจากภาพเอกซเรย์ดิฟแฟรกชั่น (X-ray diffraction pattern) ของผลึกดีเอ็นเอ ซึ่งนับเป็นจุดเริ่มต้นของยุคเทคโนโลยีทางดีเอ็นเอ จนกระทั่งมีนักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษชื่อ ดร.อเล็กซ์ เจฟฟรีย์และคณะ จากมหาวิทยาลัยเลสเตอร์ (ภาพที่ 4) ได้ค้นพบวิธีพิสูจน์บุคคลด้วยหลักฐานของดีเอ็นเอเป็นครั้งแรกใน พ.ศ. 2528



ภาพที่ 2 เจมส์ ดี วัตสัน และ ฟรานซิส เอช ซี คริก ผู้ค้นพบโครงสร้างดีเอ็นเอ

ที่มา : เจมส์ ดี วัตสัน และ ฟรานซิส เอช ซี คริก [Online], accessed 11 August 2008. Avaliable from http://www.vcharkarn.com/varticle/296



ภาพที่ 3 โครงสร้างสามมิติของดีเอ็นเอโดยอาศัยข้อมูลจากภาพเอกซเรย์ดิฟแฟรกชั่น (X-ray diffraction pattern) ของผลึกดีเอ็นเอ

ที่มา:สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.), <u>สาระน่ารู้อณูพันธุศาสตร์ Essential Molecular Genetics</u> (กรุงเทพฯ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด, 2548), 1-7.

ภาพที่ 4 ดร.อเล็กซ์ เจฟฟรีย์ นักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษผู้ค้นพบวิธีพิสูจน์บุคคลด้วยหลักฐานของดีเอ็นเอ

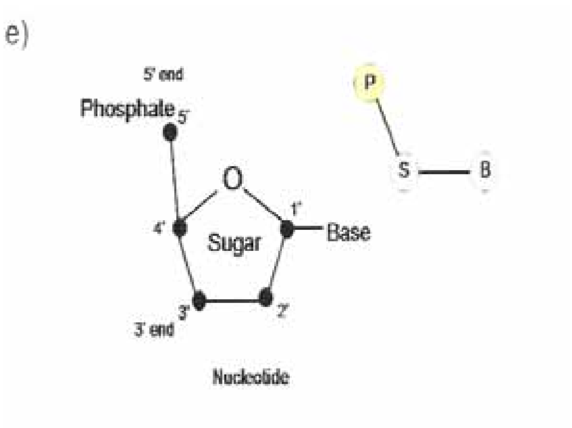
ที่มา: ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ [Online], accessed 11 August 2008.

Avaliable from http://www.biotec.or.th/biotechnology

1.2 ข้อมูลพื้นฐานของดีเอ็นเอ

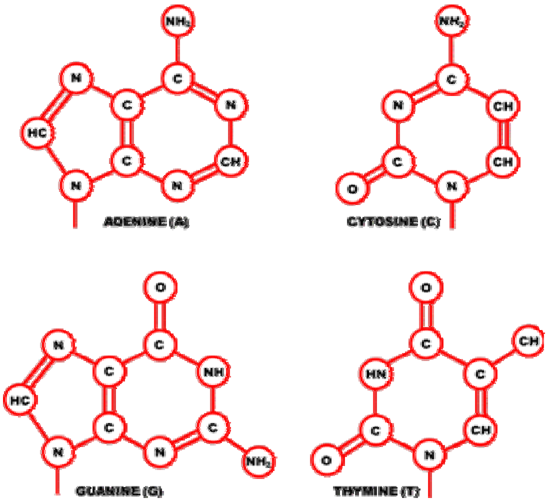
ดีเอ็นเอ (DNA) เป็นสารพันธุกรรมซึ่งทำหน้าที่ควบคุมและถ่ายทอดข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิต เช่น ลักษณะของเส้นผม ลักษณะดวงตา เพศ และสีผิว เป็นต้น มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid) เป็นพอลิเมอร์ของนิวคลีโอไทด์ซึ่งแต่ละหน่วยย่อยนิวคลีโอไทด์ประกอบด้วย น้ำตาล เบส และหมู่ฟอสเฟต (ภาพที่ 5) ในสัดส่วน 1:1:1 ความแตกต่างของดีเอ็นเอเกิดจากการเรียงตัวของเบสบนสายดีเอ็นเอ โดยเบสมีอยู่ 4 ชนิด ได้แก่ อะดีนีน (adenine หรือ A) กัวนีน (guanine หรือ G) ไซโทซีน (cytosine หรือ C) ไธมีน (thymine หรือ T) (ภาพที่ 6) โดยที่เบส A จะเชื่อมกับเบส T เท่านั้น และเบส G จะเชื่อมกับเบส C เท่านั้น (ภาพที่ 7) โครงสร้างของดีเอ็นเอเป็นเกลียวคล้ายขดลวดสปริง เรียกว่า ฮีลิกซ์ (helix) และเกลียวของดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นเกลียวคู่เวียนขวา (right handed double helix) (ภาพที่ 8) ดีเอ็นเอจะอยู่ภายในนิวเคลียสและกระจายอยู่บนโครงสร้างที่เรียกว่า โครโมโซม (chromosome) (ภาพที่ 9) ซึ่งจำนวนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกัน ในมนุษย์มีโครโมโซม 46 แท่ง หรือ 23 คู่ (ภาพที่ 10)โดยแบ่งออกเป็น โครโมโซมร่างกาย (autosomal chromosome) 22 คู่ เป็นโครโมโซมคู่เหมือนทั้งในเพศชายและเพศหญิง ที่เหลืออีก 1 คู่ เป็นโครโมโซมเพศ (sex chromosome) ซึ่งจะเป็นตัวกำหนดเพศ ในเพศหญิงโครโมโซมจะมีรูปร่างเหมือนกันคือ XX ส่วนในเพศชายจะมีรูปร่างต่างกัน คือ XY ดีเอ็นเอสามารถพบได้สองส่วนคือ

ในนิวเคลียส (nucleus) และในไมโตคอนเดรีย (mitochondria) กว่าร้อยละ 99 ของจีโนมอยู่ในนิวเคลียสมีเพียงส่วนน้อยที่พบในไมโตคอนเดรีย

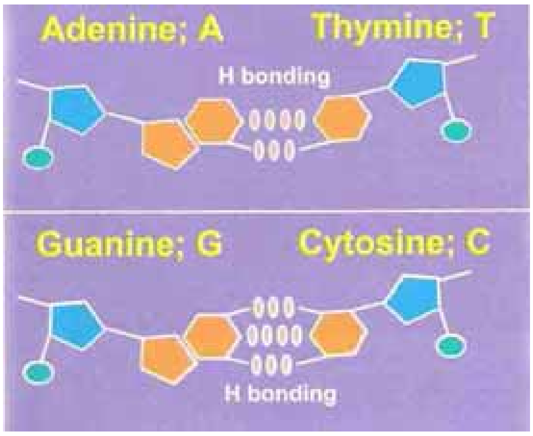


ภาพที่ 5 หน่วยย่อยนิวคลีโอไทด์ประกอบด้วย น้ำตาล เบส และหมู่ฟอสเฟต

ที่มา:สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.), <u>สาระน่ารู้อณูพันธุศาสตร์ Essential Molecular Genetics</u> (กรุงเทพฯ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด, 2548), 1-8.

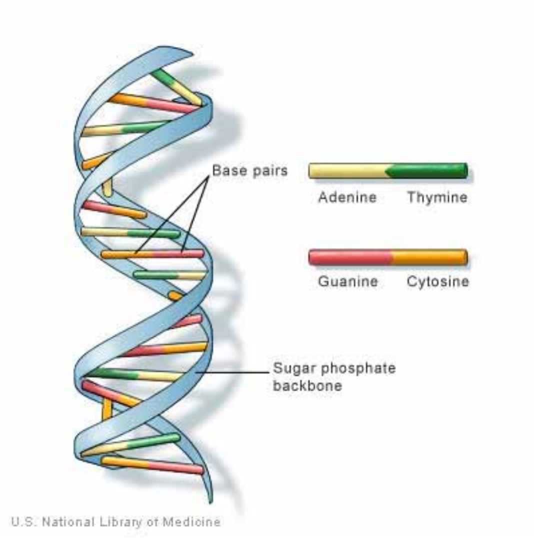


ภาพที่ 6 โครงสร้างของเบสทั้งสี่ชนิดบนสายดีเอ็นเอ ได้แก่ อะดีนีน (adenine หรือ A) กัวนีน (guanine หรือ G) ไซโทซีน (cytosine หรือ C) ไธมีน (thymine หรือ T)



ภาพที่ 7 การจับกันของเบส A กับเบส T และเบส G กับ C

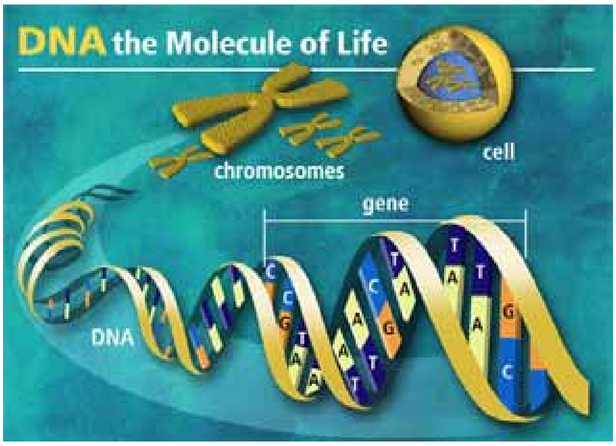
ที่มา:สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.), สาระน่ารู้อณูพันธุศาสตร์ Essential Molecular Genetics (กรุงเทพฯ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่นจำกัด, 2548), 1-8.



ภาพที่ 8 โครงสร้างของดีเอ็นเอลักษณะเป็นเกลียวคู่เวียนขวา

ที่มา: ดีเอ็นเอ [Online], accessed 11 August 2008.

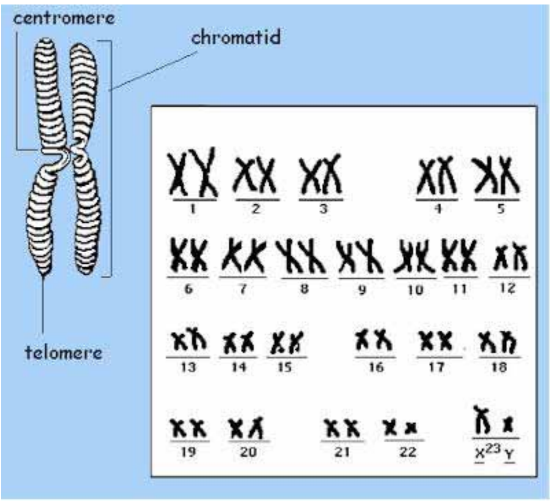
Avaliable from http://www.biotec.or.th/biotechnology-th/newsdetail.asp



ภาพที่ 9 ดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นสายยาวพันม้วนกันอยู่ในโครโมโซม ซึ่งเป็นโครงสร้างที่พบอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์

ที่มา: โครโมโซม [Online], accessed 11 August 2008.

Avaliable from http://www.vcharkarn.com/include/article/showarticle/



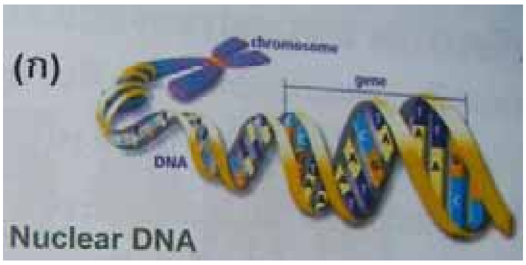
ภาพที่ 10 ลักษณะของโครโมโซม 23 คู่

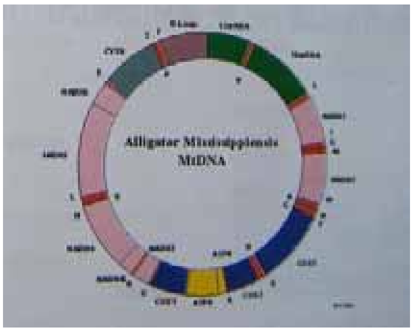
ที่มา : โครโมโซม [Online], accessed 11 August 2008.

Avaliable from http://www.accessexcellence.org/AB/GG/human.html

ดีเอ็นเอในนิวเคลียส หรือนิวเคลียร์-ดีเอ็นเอ (nuclear DNA) เป็นดีเอ็นเอเส้นตรงสายคู่พันกันเป็นเกลียว (linear double-stranded DNA) (ภาพที่ 11) ซึ่งอยู่ในนิวเคลียส ได้รับการถ่ายทอดมาจากพ่อและแม่คนละครึ่ง มีแหล่งกำเนิดจากสองแหล่ง คือ ดีเอ็นเอที่ได้จากไข่ และดีเอ็นเอที่ได้จากสเปิร์ม ดีเอ็นเอที่อยู่ในนิวเคลียสแบ่งหน้าที่ได้เป็นสองส่วน ส่วนแรกจะทำหน้าที่ถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมและควบคุมการสร้างโปรตีนต่าง ๆ เพื่อนำไปใช้ในการทำงานของเซลล์ในอวัยวะของร่างกาย เราเรียกส่วนนี้ว่า ยีน (gene) ซึ่งมีเพียง 5% ของดีเอ็นเอในนิวเคลียส ส่วนนี้อาจมีการซ้ำกันได้ในแต่ละบุคคล เพราะเป็นส่วนที่ถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม และควบคุมหน้าที่ต่าง ๆ ของอวัยวะในร่างกาย ซึ่งมีความหลากหลายไม่มากนัก เช่น ยีนควบคุมสีตา ก็มีแค่สีฟ้า สีน้ำตาล เป็นต้น ไม่มีใครมีตาเป็นสีอื่นอีก การเรียงตัวของเบสในส่วนนี้จึงไม่สามารถนำมาตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลได้ ส่วนที่สองเป็นส่วนที่ไม่ได้ทำหน้าที่อะไรพิเศษ ซึ่งมีอยู่ประมาณ 95% ของดีเอ็นเอในนิวเคลียส ซึ่งในส่วนนี้เคยถูกเรียกว่า ดีเอ็นเอขยะ (junk DNA) อย่างไรก็ตามดีเอ็นเอขยะพวกนี้เองก็ใช่ว่าจะไม่มีประโยชน์เลยทีเดียว ดีเอ็นเอขยะนี้อาจช่วยในการควบคุมการทำงานและการแสดงออกของยีนและที่สำคัญคือ ทำหน้าที่ในการรักษาโครงสร้างของโครโมโซม นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์พบว่ามีเบสซ้ำต่อเนื่องขนาดสั้น (short tandem repeat; STR) อยู่มากมายหลายตำแหน่งบนโครโมโซม ซึ่งในส่วนนี้มีความหลากหลายในการเรียงตัวของเบส โดยที่แต่ละบุคคลจะมีการเรียงตัวของเบสไม่ซ้ำกัน จึงนำส่วนนี้มาใช้ประโยชน์ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล โอกาสที่การเรียงตัวของเบสในดีเอ็นเอส่วนนี้จะซ้ำกันระหว่างคนสองคน ซึ่งไม่มีความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมกันเลย จะมีเพียงหนึ่งในหนึ่งล้านพันล้านคน หรือกล่าวได้ว่าในประชากรหนึ่งแสนล้านคนจะมีเพียง 1 คนเท่านั้นที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกัน นั่นคือ โอกาสที่จะพบคนที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอซ้ำกันน้อยมากจนแทบไม่มีเลย (สสวท, 2548)

ดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรีย หรือ ไมโตคอนเดรียล-ดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA) เป็นดีเอ็นเอรูปวงกลมสายเดี่ยว (circular single-strand DNA) (ภาพที่ 11) อยู่ในไมโตคอนเดรีย เป็นดีเอ็นเอที่ได้รับจากแม่เท่านั้น เพราะเมื่ออสุจิเข้าไปผสมพันธุ์กับไข่ อสุจิจะเข้าไปเฉพาะหัวเท่านั้น ส่วนหางจะสลัดทิ้ง ซึ่งบริเวณส่วนหัวของตัวอสุจิเท่านั้นที่มีนิวเคลียส ทำให้ในไมโตคอนเดรียไม่มีดีเอ็นเอที่มาจากพ่อ ดังนั้นจึงนำมาใช้ในการพิสูจน์บุคคลที่มีสายสัมพันธ์ทางฝ่ายแม่เท่านั้น แต่มิได้เป็นลักษณะเฉพาะบุคคล เนื่องจากพี่น้องที่สืบทอดจากแม่เดียวกันจะมีลำดับเบสเหมือนกัน นอกจากนี้ดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรียยังมีประโยชน์มากในงานด้านนิติเวช และการศึกษาโรคทางพันธุกรรมที่เกิดจากมิวเตชั่น ใช้ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมในมนุษย์ (genetic variation) และความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อชาติได้





ภาพที่ 11 ลักษณะของนิวเคลียร์-ดีเอ็นเอ (nuclear DNA) (ซ้าย) และไมโตคอนเดรียล-ดีเอ็นเอ (mitochondrial DNA) (ขวา)

ที่มา:สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.), สาระน่ารู้อณูพันธุศาสตร์ Essential Molecular Genetics (กรุงเทพฯ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่นจำกัด, 2548), 9-3.

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเออาศัยหลักการถ่ายทอดนิวเคลียร์-ดีเอ็นเอจากพ่อและแม่อย่างละครึ่งสู่ลูก ซึ่งนิวเคลียร์-ดีเอ็นเอแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ

1. ยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ในร่างกาย พบร้อยละ 25 ของจำนวนนิวเคลียร์-ดีเอ็นเอทั้งหมด

2. ลำดับเบสที่ไม่มีหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีน แต่ยังไม่ทราบหน้าที่ที่แน่ชัดพบร้อยละ 75 ของจำนวนนิวเคลียร์-ดีเอ็นเอทั้งหมด แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.1 ลำดับเบสเฉพาะ (non-repetitive DNA/unique sequence)

2.2 ลำดับเบสซ้ำ (repetitive DNA) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.2.1 ลำดับเบสซ้ำแบบกระจาย (interspersed repetitive sequence) กระจายอยู่ทั่วทั้งจีโนม

2.2.2 ลำดับเบสซ้ำที่เรียงตัวแบบต่อเนื่อง (tandemly repeated sequence) ซึ่งเป็นความแปรผันหลากหลาย (genetic polymorphism) ประเภทหนึ่งในจีโนมมนุษย์ โดยมีลำดับเบสซ้ำเรียงตัวกันอย่างต่อเนื่อง แบ่งออกเป็น 3 ชนิด คือ

2.2.2.1 แซทเทลไลท์ (satellite) มีชุดเบสซ้ำขนาด 5-171 คู่เบส เรียงซ้ำกันยาว 100-1,000 กิโลเบส ตำแหน่งของแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอมักอยู่ที่เดียวกับเฮเทอโรโครมาตินและ

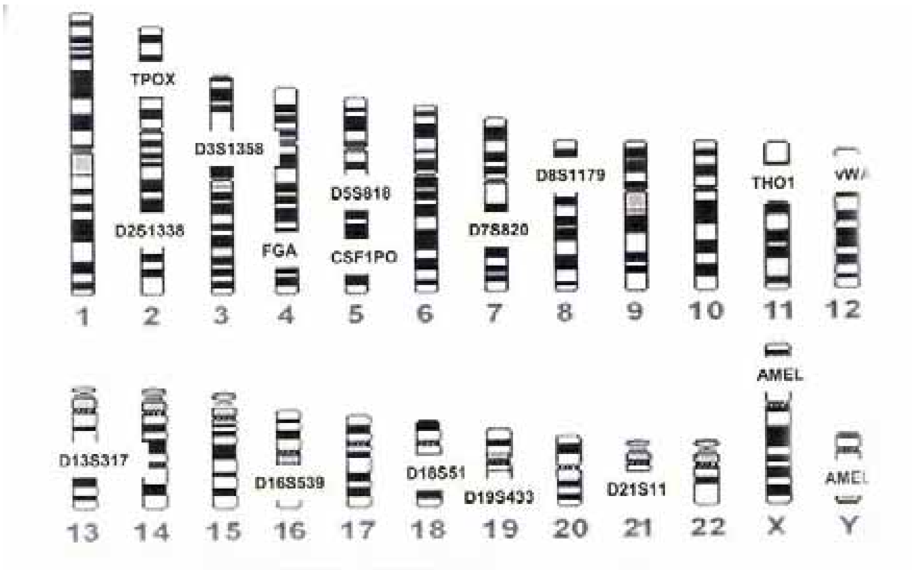
พบอยู่ใกล้กับเซนโทรเมียร์ แต่ก็มีบางส่วนที่พบอยู่บริเวณส่วนกลางของโครโมโซม ในคนพบว่ามีแซทเทลไลท์ดีเอ็นเออย่างน้อย 10 แบบ แต่ละแบบมีปริมาณ 0.5-1.0 เปอร์เซ็นต์ของดีเอ็นเอในจีโนม

2.2.2.2 มินิแซทเทลไลท์ (minisatellite) เป็นดีเอ็นเอที่มีหลายชุดซ้ำขนาดสั้นกว่าแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ ขนาดของแต่ละชุดยาวประมาณ 15-100 คู่เบส ในจีโนมของคนพบมินิแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอส่วนใหญ่อยู่บริเวณเทโลเมียร์ (telomere) หรือใกล้ ๆ กับเทโลเมียร์และพบกระจายอยู่ทุกโครโมโซม จำนวนชุดซ้ำที่พบแตกต่างกันมาก เรียกว่า variable number of tandem repeat (VNTR) ซึ่งเป็นที่มาในการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอในคนและสิ่งมีชีวิตอื่นโดยวิธีไฮบริไดเซชันที่รายงานโดย Jeffreys และคณะในปี ค.ศ. 1985

2.2.2.3 ไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite DNA) เป็นดีเอ็นเอที่มีขนาดของชุดซ้ำสั้นมากเพียง 1-4 คู่เบส หรือไม่เกิน 10 คู่เบส เรียงซ้ำกันยาวประมาณ 150 คู่เบส พบทั่วทั้งโครโมโซม เนื่องจากไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นลำดับเบสซ้ำขนาดสั้นไม่ซับซ้อนจึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า simple sequence repeat (SSR) หรือ short tandem repeat (STR) เป็นตำแหน่งที่มีความแปรผันหลากหลายสูงมากในประชากร (highly polymorphic) และมีจำนวนมากมายให้เลือกตรวจประมาณ 3,000 กว่าตำแหน่ง แต่ในการตรวจพิสูจน์สามารถเลือกใช้บางตำแหน่งได้ โดยพบว่าในบุคคลแต่ละคนจะมีจำนวนชุดเบสซ้ำนี้ไม่เท่ากันซึ่งโอกาสที่จำนวนซ้ำจากต่างบุคคลจะเท่ากันในทุกโครโมโซมแทบจะเป็นไปไม่ได้ยกเว้นฝาแฝดที่เกิดจากไข่ใบเดียวกัน (identical twin) STR เป็นวิธีการล่าสุดของการแยกประเภทของดีเอ็นเอที่ถือว่ามีประโยชน์ที่สุดในบรรดาเทคนิคทั้งหมด การทำกระบวนการนี้ไม่เพียงแค่จะบ่งบอกลักษณะที่แตกต่างได้เป็นอย่างดีแล้วแต่ยังสามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการสังเกตผลจากตัวอย่าง และต้องการปริมาณตัวอย่างน้อยกว่าวิธีการอื่น ๆ ด้วย STR’s เป็นตำแหน่งบนโครโมโซมที่ประกอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์สายสั้น ๆ มีลักษณะเป็นหมู่เบสที่เรียงตัวซ้ำ ๆ กันภายในโมเลกุลของดีเอ็นเอ ซึ่งเป็นตำแหน่งที่จะช่วยในการเป็นดีเอ็นเอเครื่องหมายสำหรับที่จะคัดแยกดีเอ็นเอได้ เนื่องจากนิวคลีโอไทด์เหล่านี้พบได้ทั่วไปในจีโนมมนุษย์ STR’s ถือเป็น length polymorphisms ชนิดหนึ่ง (เหมือนกับการวิเคราะห์ VNTR’s โดยวิธี RFLP) อย่างไรก็ตามการที่ลำดับเบสซ้ำใน STR’s มีขนาดสั้น ๆ ทำให้ตัวอย่างไม่เสียรูปหรือเกิดการผิดเพี้ยนได้ง่ายเหมือนวิธีการอื่น ๆ ในการนำมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอหรือหลักฐานทางชีวภาพที่ทิ้งคราบไว้เพียงเล็กน้อยบนพื้นผิววัสดุต่าง ๆ เช่น ขวดโซดา เสื้อผ้า หรือแม้แต่จากเส้นผมเพียงเส้นเดียว ก็สามารถทำได้ ขนาดของลำดับเบสซ้ำ C-A-T ในทางทฤษฎีสามารถอธิบายได้โดยการวิเคราะห์ STR โดยคนที่มีลำดับเบสบนดีเอ็นเอเป็น CATCATCAT ซึ่งมีขนาดสั้นกว่าคนที่มีลำดับเบสบนดีเอ็นเอเป็น CATCATCATCATCATCAT ซึ่งความแตกต่างนี้เองที่จะช่วย

แยกแยะได้ว่าไม่ได้มาจากคนเดียวกัน ขนาดเบสซ้ำนี้สามารถเพิ่มจำนวนได้โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ (PCR) และสามารถแยกตามขนาดได้ ดังนั้นไมโครแซทเทลไลท์จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการใช้พิสูจน์บุคคล โดยวิธีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอหรือการทำ DNA profiling

ปัจจุบันการตรวจไมโครแซทเทลไลท์หรือ STR ที่ถือเป็นมาตรฐานมีทั้งหมด 16 ตำแหน่ง (ภาพที่ 12) ซึ่งสามารถใช้พิสูจน์บุคคลหนึ่งออกจากอีกบุคคลหนึ่งได้ดี และมีความน่าเชื่อถือสูงร้อยละ 99.999



ภาพที่ 12 ตำแหน่งที่ใช้ในการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมทั้ง 16 ตำแหน่ง
ที่มา:สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.), สาระน่ารู้อณูพันธุศาสตร์ Essential Molecular Genetics (กรุงเทพฯ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่นจำกัด, 2548), 9-6.

การตรวจดีเอ็นเอ (DNA testing)

ในการตัดสินคดีความส่วนใหญ่ มักอาศัยหลักฐานที่ได้มาจากการสอบสวนพยานรู้เห็น ค้นหาวัตถุและร่องรอยต่าง ๆ จากที่เกิดเหตุ ซึ่งเป็นข้อเท็จจริงในการสืบค้นผู้กระทำความผิด นอกจากนี้ต้องนำความรู้ทางวิทยาศาสตร์มาช่วยในการสนับสนุนข้อเท็จจริง ให้มีความน่าเชื่อถือและมีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น ซึ่งเรียกว่า นิติวิทยาศาสตร์ (forensic science) การตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลนั้นมีหลายวิธี เช่น การตรวจหมู่เลือด การตรวจลายพิมพ์นิ้วมือ การดูลักษณะเส้นผม และการตรวจโปรตีนบนผิวเซลล์เม็ดเลือด เป็นต้น และในปัจจุบันเทคโนโลยีทางอณูพันธุศาสตร์ได้เข้ามามีบทบาทในเรื่องนี้เป็นอย่างมาก โดยการใช้วิธีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

(DNA fingerprint) เป็นการนำเอาคำภาษาอังกฤษสองคำมาประกอบกัน DNA เป็นคำย่อของ Deoxy ribonucleic acid ซึ่งเป็นองค์ประกอบพื้นฐานของสารพันธุกรรม ส่วนคำว่า fingerprint หมายถึง ลายพิมพ์นิ้วมือทั้งสิบนิ้วของมนุษย์ ซึ่งต่างก็มีลักษณะเฉพาะบุคคล เมื่อนำเอาคำสองคำนี้มารวมกัน DNA fingerprint จึงหมายความว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีลักษณะเฉพาะบุคคลเหมือนกับลายพิมพ์นิ้วมือ ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดในปัจจุบัน โดยการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอนั้นมีขั้นตอนหลายอย่าง และต้องทำอย่างระมัดระวังในทุกขั้นตอน โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. การเก็บตัวอย่างส่งตรวจ ต้องระมัดระวังการปนเปื้อนที่จะมีผลทำให้ไม่สามารถหาลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ หรืออาจมีผลต่อการแปลผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ซึ่งมีกรรมวิธีการเก็บแตกต่างกันไปตามชนิดของวัตถุพยาน โดยต้องยึดหลักดังนี้

   1.1 ตัวอย่างที่ส่งตรวจต้องเป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียส

   1.2 ตัวอย่างที่ส่งตรวจต้องมีคุณภาพที่ดีพอสมควร ปัจจัยที่ทำให้ดีเอ็นเอเสื่อมสลาย ได้แก่ แสงแดด ระยะเวลา ความชื้น อุณหภูมิ รังสี สารเคมี เชื้อโรค เป็นต้น

2. ประเมินวัตถุส่งตรวจ คือพิจารณาว่าวัตถุพยานเป็นอะไร จะได้เลือกวิธีการสกัดให้เหมาะสมกับตัวอย่าง
3. การสกัดดีเอ็นเอจากเซลล์ ต้องเลือกวิธีการสกัดให้เหมาะกับวัตถุพยาน
4. การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยทั่วไปมีสองวิธีคือ

   - การตรวจด้วยสารรังสี (radioactive detection) และการทำไฮบริไดเซชั่นแบบเซาท์เทิร์น (Southern blot hybridization)

   - การตรวจด้วยสารที่ไม่ใช่สารรังสี (non-radioactive detection) ซึ่งมักเป็นสารเรืองแสง (fluorescence) และใช้เครื่องอ่านผลอัตโนมัติ แต่ไม่ว่าวิธีการใดหลักการจะเหมือนกันคือดีเอ็นเอในส่วน Stutters จะนำมาพิสูจน์บุคคลดีเอ็นเอส่วนนี้จะมาจากโครโมโซมทุกอัน นักวิจัยพบว่า Stutters ของแต่ละโครโมโซม จะมีบางส่วนของดีเอ็นเอที่ซ้ำกันในแต่ละคนน้อยมาก เราสามารถเลือกตัดเฉพาะท่อนของดีเอ็นเอเหล่านี้ได้ โดยใช้เอนไซม์ที่มีลักษณะตัดเฉพาะ จากนั้นแยกท่อนดีเอ็นเอที่ถูกตัดตามความยาวแล้วเปลี่ยนถ่ายแถบของดีเอ็นเอไปอยู่บนแผ่นที่เหมาะสม ติดฉลากท่อนดีเอ็นเอที่อยู่บนแผ่น โดยสารกัมมันตรังสีหรือสารปลอดกัมมันตรังสี เปลี่ยนถ่ายแถบดีเอ็นเอที่ติดฉลากด้วยเทคนิคจำเพาะ จากนั้นก็ตรวจหาตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอ ถ้าเป็นการใช้กัมมันตรังสีก็จะผ่านเครื่องเอกซเรย์ ผลจะปรากฏออกมาในลักษณะบาร์โค้ด (bar code) (ภาพที่ 13) แต่ถ้าไม่ใช้สารกัมมันตรังสี ก็จะใช้วิธีการย้อมสี แล้วอ่านด้วยเครื่อง ปรากฏเป็นเส้นกราฟ (ภาพที่ 14) ในตำแหน่งต่าง ๆ กัน โดยเครื่องจะอ่านตำแหน่งให้อัตโนมัติ สองวิธีนี้มีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน คือการตรวจด้วยมือต้นทุนถูกกว่าแต่ตรวจวัตถุไม่ได้มากต่อการตรวจหนึ่งครั้งมีโอกาส

ผิดพลาดได้หลายขั้นตอน ตามหลักสากลแล้ว การตัดท่อนดีเอ็นเอควรทำหลายตำแหน่ง เพื่อให้เกิดความแม่นยำ โดยทั่วไปใช้อย่างน้อยสิบตำแหน่ง

5. การแปรผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เมื่อการตรวจมีสองวิธี การแปรผลก็มีสองลักษณะ กล่าวคือ การตรวจมือเป็นการใช้สารกัมมันตภาพรังสี ผลจะออกมาเป็นลักษณะแถบบาร์โค้ด ส่วนการตรวจด้วยเครื่อง เครื่องจะรายงานผลตามตำแหน่งที่ตัดเฉพาะ โดยเครื่องจะอ่านเลขตำแหน่งให้โดยอัตโนมัติซึ่งง่ายต่อการแปรผล เมื่อได้ผลการตรวจมาแล้ว ต้องมีการสรุปการตรวจ

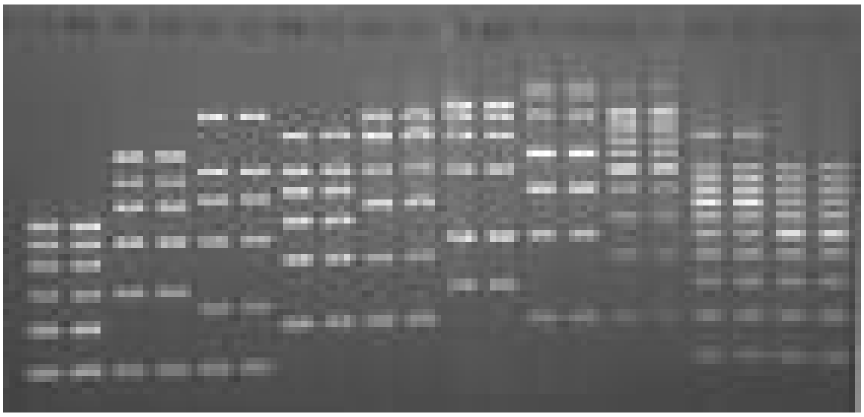
การสรุปผลมี 3 แบบคือ

Exclusion หมายถึงผลการตรวจยืนยันได้ถึงความขัดแย้งร้อยเปอร์เซ็นต์ ไม่จำเป็นต้องทำการตรวจเพิ่มเติมยืนยันอีก

Inclusion หมายถึงผลการตรวจไม่สามารถสรุปผลได้ เนื่องมาจากปัญหาที่เกิดขึ้นในขั้นตอนต่าง ๆ เช่น ดีเอ็นเอเสื่อมสภาพ มีการปนเปื้อนของดีเอ็นเอ ฯลฯ

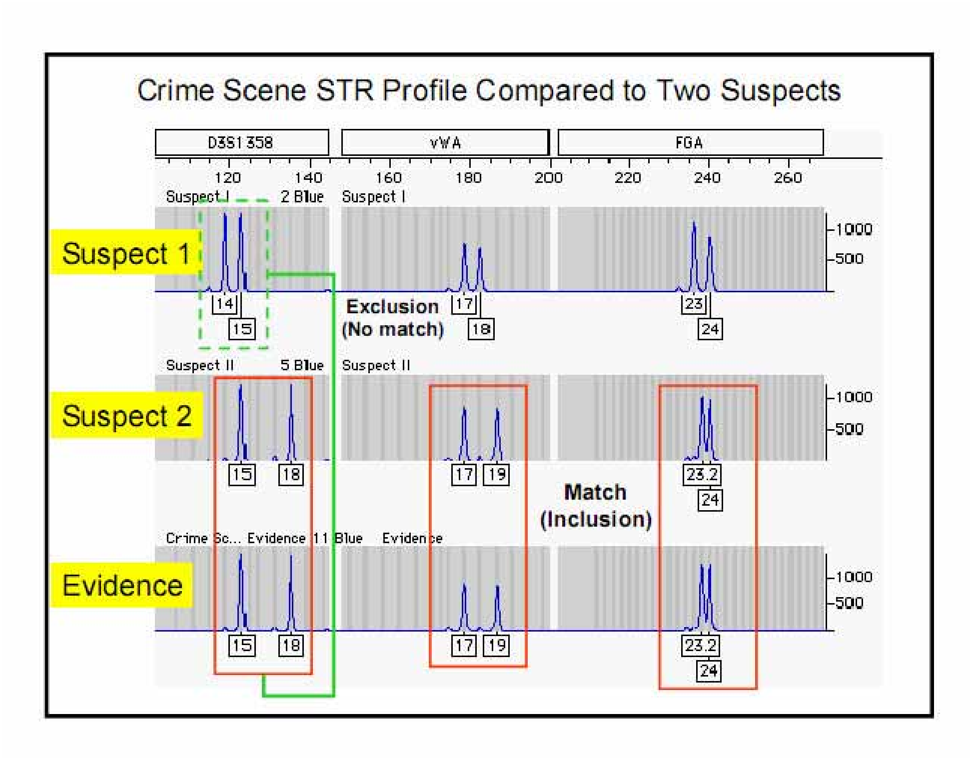
Conclusion เป็นการยืนยันบุคคล การสรุปผลต้องไม่มีข้อขัดแย้งตามเกณฑ์มาตราฐานสากล คือ จะต้องตรงกันทั้งสิบตำแหน่ง เช่นในการพิสูจน์ พ่อ แม่ ลูก ผลการตรวจที่จะบอกว่า เป็นลูกแน่นอนนั้น ต้องตรวจพบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลูกมาจาก พ่อ และแม่ อย่างละ 50% ทั้งสิบตำแหน่ง

การตรวจวัตถุพยานผลการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอทั้งสิบตำแหน่งต้องตรงกันทุกประการ



ภาพที่ 13 แถบสีดำของสารรังสีมีลักษณะคล้ายบาร์โค้ด

ที่มา:สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.), <u>สาระน่ารู้อณูพันธุศาสตร์ Essential Molecular Genetics</u> (กรุงเทพฯ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่นจำกัด, 2548), 9-7.



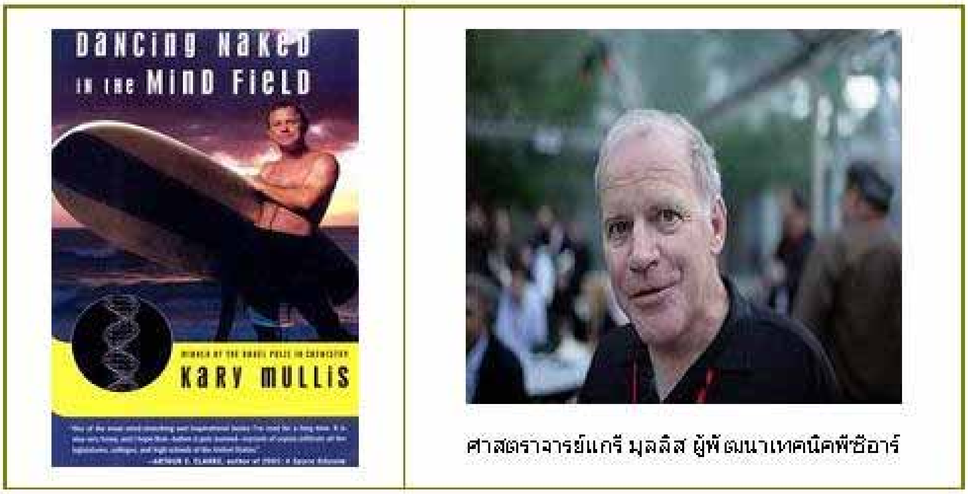
ภาพที่ 14 ลักษณะเส้นกราฟจากการอ่านด้วยเครื่องอัตโนมัติ
ที่มา:สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.), สาระน่ารู้อณูพันธุศาสตร์ Essential Molecular Genetics (กรุงเทพฯ : บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่นจำกัด, 2548), 9-7.

เทคนิคพีซีอาร์หรือปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase Chain Reaction)

การหาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ short tandem repeat ต้องใช้ดีเอ็นเอปริมาณมากจึงเป็นข้อจำกัด หรือมีแบคทีเรียปนเปื้อนในตัวอย่าง จึงได้มีการนำเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) มาใช้เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอทำให้ได้ปริมาณดีเอ็นเอเพียงพอต่อการนำไปใช้งานต่อไป วิธีการนี้จึงเป็นวิธีการที่นิยมทำกันในปัจจุบัน

เทคนิคพีซีอาร์ มีชื่อเต็มเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase Chain Reaction) เป็นเทคนิคเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอให้มีปริมาณมากเป็นล้านเท่า ในระยะเวลาอันสั้น โดยอาศัยหลักการจำลองตัวของสายดีเอ็นอ (DNA Replication) เลียนแบบกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติที่มีการสร้างสายดีเอ็นเอสายใหม่อีกหนึ่งสายจากดีเอ็นเอสายเดิม กล่าวได้ว่าเทคนิคพีซีอาร์นี้เป็นเทคนิคที่มีความสำคัญที่สุดวิธีหนึ่งในการศึกษาทางพันธุวิศวกรรม

เทคนิคพีซีอาร์ได้ถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกในปี ค.ศ. 1983 โดยศาสตราจารย์ K.Mullis (ภาพที่ 15) ซึ่งพีซีอาร์เป็นเทคนิคที่ทำให้สามารถสังเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการได้ปริมาณมาก ภายในเวลาอันสั้น การค้นพบเทคนิคนี้ถือได้ว่าเป็นการพัฒนาทางพันธุวิศวกรรมอย่างมาก ประโยชน์ของเทคนิคพีซีอาร์ นั้นมีมากมายและได้มีการนำเทคนิคนี้ไปประยุกต์ใช้ประโยชน์อีกหลายอย่าง เช่น การนำมาใช้ในการตรวจหาการกลายพันธุ์ การศึกษา genetic fingerprints และการหาลำดับการเรียงตัวของเบส (DNA sequencing) จึงกล่าวได้ว่าศาสตราจารย์ Mullis เป็นผู้ที่ปฏิวัติงานทางอณูชีววิทยาที่สำคัญผู้หนึ่ง ซึ่งการพัฒนาปฏิกิริยาพีซีอาร์ขึ้นนี้เองทำให้เขาได้รับรางวัลโนเบลในสาขาเคมีในปี ค.ศ. 1994



ภาพที่ 15 ศาสตราจารย์ K.Mullis ผู้พัฒนาเทคนิคพีซีอาร์

ที่มาภาพ : Kary Mullis [Online], accessed 16 January 2009.

Avaliable from http://photosynthesis.com/images-titles/P339-98.jpeg

องค์ประกอบในการทำพีซีอาร์ มีดังนี้

1. ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) คือ ดีเอ็นเอที่ประกอบด้วยส่วนของยีนหรือดีเอ็นเอที่เราต้องการสังเคราะห์โดยอาจสกัดได้จากเซลล์หรือเนื้อเยื่อต่างๆ หรือได้จากวิธีการทางอณูชีววิทยาอื่นๆ

2. Oligonucleotide primer เป็นนิวคลีโอไทด์สายสั้นๆ ซึ่งเริ่มต้นจับกับยีนหรือดีเอ็นเอต้นแบบสายตรงข้ามซึ่งเป็นคู่สมกัน (complementary) โดยทั่วไปไพรเมอร์นี้ได้จาการออกแบบโดยดูลำดับเบสที่เหมาะสมซึ่งอาจใช้ซอฟท์แวร์ได้และไพรเมอร์นี้จะถูกสังเคราะห์ขึ้นด้วย
เครื่อง Oligonucleotide synthesizer ซึ่งปัจจุบันมีบริษัทและองค์กรซึ่งรับสั่งผลิตในประเทศไทย อย่างไรก็ตามในการปฏิบัตินั้นพบว่าบางครั้ง ไพร์เมอร์ที่ถูกออกแบบมาตรงตามหลักเกณฑ์อาจไม่ได้ผลดีเมื่อใช้ทำพีซีอาร์ ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบไพรเมอร์ในปฏิกิริยาก่อนจึงจะทราบว่าคู่ไพรเมอร์ที่ได้ทำงานได้เหมาะสมหรือไม่ ความเข้มข้นของไพรเมอร์ที่เหมาะสม คือ 0.1-1 μM พบว่าความเข้มข้นของไพรเมอร์ที่ใช้ถ้ามากเกินไป อาจก่อให้เกิดการจับผิด (mispriming) หรือทำให้เกิดผลผลิต (PCR product) ที่ไม่จำเพาะได้

3. Deoxynucleotide triphoshosphate (dNTP) คือเบสที่จะถูกนำเข้าไปต่อจากสายไพร์เมอร์ระหว่างการสังเคราะห์ดีเอ็นเอทำให้ได้ดีเอ็นเอสายใหม่ dNTP ที่ใช้จะประกอบด้วย dATP ,dTTP, dCTP และ dGTP โดยทั่วไปความเข้มข้น 20-200 μM

4. บัฟเฟอร์ (Buffer) เป็นสารละลายที่ทำให้ปฏิกิริยาพีซีอาร์เป็นไปได้อย่างเหมาะสม ซึ่งประกอบด้วย Tris HCI, KCI, และ $MgCI_2$ โดยที่ความเข้มข้นของ Mg^{2+} จะมีผลต่อปฏิกิริยาอย่างมาก กล่าวคือความเข้มข้นของ Mg^{2+} ที่เปลี่ยนไปจะทำให้ได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีปริมาณแตกต่างกัน โดยทั่วไปปฏิกิริยาพีซีอาร์ จะใช้ Mg^{2+} ที่ความเข้มข้น 1.5-2.0 mM การเพิ่มหรือลดปริมาณ Mg^{2+} บางครั้งจะช่วยเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ขึ้นได้ แต่หากความเข้มข้นของ Mg^{2+} มากเกินไปจะทำให้มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอที่ไม่ต้องการ (non-specific amplification) ขึ้นได้ ในทางปฏิบัติควรมีการทดลองใช้ $MgCI_2$ ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อทดสอบหาความเข้มข้นของ $MgCI_2$ ที่เหมาะสมที่สุด

5. เอ็นไซม์ DNA polymerase โดยทั่วไปที่ใช้ได้ผลดี คือ เอ็นไซม์ Taq polymerase ซึ่งเป็นเอนไซน์ที่ทนความร้อน โดยสกัดได้จากแบคทีเรียชื่อ Thermus aquaticus ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณบ่อน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิสูงถึง 70-80°C ทำให้สามารถใช้ในปฏิกิริยา PCR ได้หลายๆ รอบความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ คือ 1-2.5 ยูนิต (unit) ต่อปฏิกิริยา ปัจจุบันมีการค้นพบ Stoffel fragment ของเอ็นไซน์ Taq DNA polymerase ซึ่งมีคุณสมบัติพิเศษสามารถทำงานได้ดีในช่วงกว้างของความเข้มข้น Mg^{2+} ตั้งแต่ 2-10 nM และทนความร้อนได้ดีกว่า ซึ่งมี

ประโยชน์ในกรณีที่ดีเอ็นเอต้นแบบที่มี G-C มาก หรือมีโครงสร้างทุติยภูมิ สามารถเพิ่มอุณหภูมิได้สูงขึ้นในขั้นตอนแยกดีเอ็นเอให้กลายเป็นเส้นเดี่ยว (denaturation)

นอกจากนี้ยังมีการนำเอ็นไซม์ DNA polymerase ชนิดที่ทนความร้อนสูงมากยิ่งขึ้นมาใช้ในเทคนิคพีซีอาร์ ได้แก่ vent DNA polymerase ซึ่งสามารถทนความร้อนได้สูงถึง 98°C เอ็นไซม์ชนิดนี้สามารถสร้างดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่ได้ถึง 8-13 Kb สำหรับ deep vent DNA polymeras เป็นเอ็นไซน์ที่สกัดได้จากแบคทีเรีย Pyrococus species ซึ่งอยู่ในบริเวณรอยแยกใต้ทะเลลึก สามารถทนความร้อนได้สูงถึง 104°C เอ็นไซม์นี้มีประโยชน์ในการปฏิกิริยา PCR ที่มีดีเอ็นเอต้นแบบที่มีโครงสร้างทุติยภูมิเป็น stable hair-pin loop

Tth DNA polymerase เป็นเอ็นไซม์ที่ผลิตโดยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม ซึ่งสามารถทนความร้อนได้สูงและสามารถทำงานได้โดยเป็น reverse transcriptase ในสภาวะที่มี Mn^{2+} และเป็น DNA polymerase ในสภาวะที่มี Mg^{2+} ซึ่งทำให้สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอจากอาร์เอ็นเอต้นแบบ (RNA templates) ซึ่งมี G-C มาก หรือมีโครงสร้างทุติยภูมิได้ และยังสามารถใช้วิเคราะห์การแสดงออกของยีนในระดับอาร์เอ็นเอได้อีกด้วย

Pfu DNA polymerase เป็นเอ็นไซม์ที่สามารถทำงานได้ทั้งเป็น 5’⟶3’ DNA polymerase และ 3’⟶5’ exonuclease และมีคุณสมบัติ proof reading เป็นผลทำให้มีความถูกต้องแม่นยำในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสูงกว่า Taq DNA polymerase ถึง 12 เท่า นอกจากนี้ยังมีเอ็นไซม์ UITma DNA polymerase และ Pwo DNA polymerase ที่สามารถแสดงการทำงานเป็น 3’⟶5’ exonuclease ได้เช่นกัน

6. อุปกรณ์หลักที่สำคัญในการทำพีซีอาร์ คือ เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออัตโนมัติ (thermal cycler) (ภาพที่ 16) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่สามารถก่อกำเนิด รักษาสภาพความจำเพาะของอุณหภูมิในช่วงเวลาหนึ่ง มักนำไปใช้ร่วมกับเทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งเป็นกระบวนการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ เครื่องนี้ทำหน้าที่เพิ่มหรือลดอุณหภูมวนไปมาได้ ไม่เหมือนกับเครื่องให้ความร้อนหรือความเย็นขนาดใหญ่ที่ทำได้เพียงเพิ่มหรือลดอุณหภูมิอย่างใดอย่างหนึ่งเท่านั้น แต่สามารถตั้งโปรแกรมให้เพิ่มลดอุณหภูมิเป็นรอบ ๆ ตลอดจนสามารถตั้งจำนวนรอบตามที่ผู้ปฏิบัติงานต้องการได้ นอกจากนี้ยังต้องการอุปกรณ์สำหรับทำอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส(agarose gel electrophoresis) เพื่อตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้

ภาพที่ 16 ลักษณะของเครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเออัตโนมัติที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (Thermal cycler)
ที่มา : Thermal cycle [Online], accessed 14 August 2008.
Avaliable from http://www.barascientific.com/article/DNA/dna_6.php

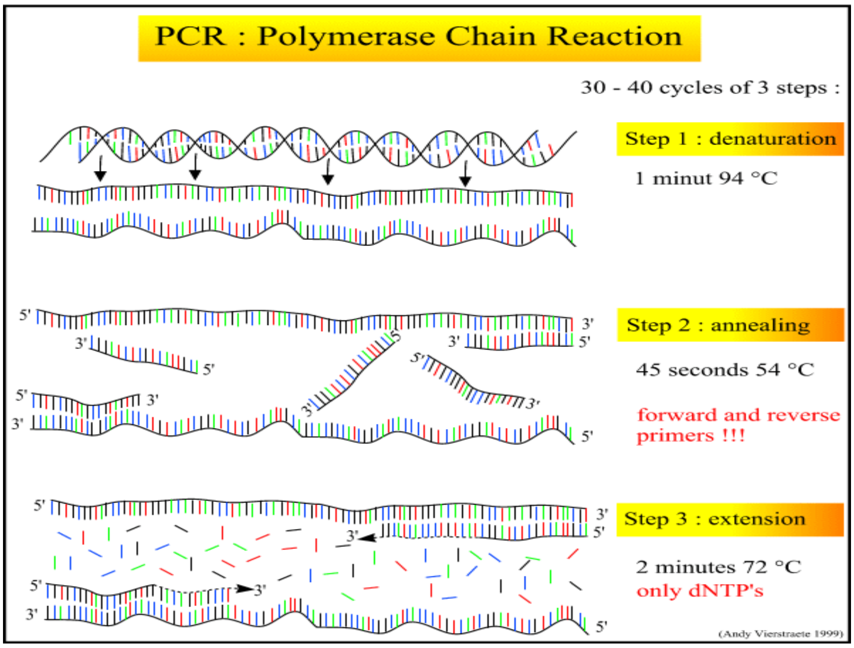
วงรอบปฏิกิริยาพีซีอาร์ (PCR Cycle)

ในแต่ละรอบของปฏิกิริยาพีซีอาร์ ประกอบ 3 ด้วยขั้นตอนคือ (1) heat denaturation step (2) primer annealing step (3) DNA synthesis หรือ extension step (ภาพที่ 17)

1. heat denaturation step เป็นขั้นตอนการแยกดีเอ็นเอต้นแบบซึ่งเป็นสายคู่ให้เป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 90-95°C เพื่อทำลายพันธะไฮโดรเจน (hydrogen) ระหว่างสายของดีเอ็นเอทำให้ได้ดีเอ็นเอสายเดี่ยว 2 สาย

2. primer annealing step เป็นขั้นตอนที่ทำให้ไพรเมอร์ ทั้ง 2 เส้น ไปเข้าคู่กับ ดีเอ็นเอเป้าหมายที่คู่สมกัน (complementary) โดยลดอุณหภูมิจากขั้นตอน heat denaturation ลงมาซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 40-60°C ในบางครั้งการเพิ่มอุณหภูมิ annealing จะช่วยลดความผิดพลาดของ mispriming

3. DNA synthesis หรือ Extension step คือ ขั้นตอนที่เอ็นเอนไซม์ DNA polymerase สังเคราะห์สาย ดีเอ็นเอต่อจากไพรเมอร์ โดยการนำนิวคลีโอไทด์ (dNTP) ที่เหมาะสมเข้าไปต่อทีละตัวในทิศทาง 5’$\rightarrow$3’ ที่อุณหภูมิประมาณ 70-75°C



ภาพที่ 17 ขั้นตอนของปฏิกิริยาพีซีอาร์

ที่มา : PCR [Online], accessed 14 August 2008.

Avaliable from http://www.thaiscience.com/lab_vol/p22/Thermal_Cycler.asp

เมื่อจบ 1 รอบ จะได้ดีเอ็นเอเพิ่มจาก 1 คู่เป็น 2 คู่ ซึ่งสามารถใช้เป็นดีเอ็นเอต้นแบบในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอในรอบต่อๆไป โดยดีเอ็นเอจำนวน 2 คู่ จะแยกเป็นดีเอ็นสายเดี่ยว 4 สาย เมื่อได้รับความร้อน (denaturation step) และเมื่อลดอุณหภูมิลงไพรเมอร์ก็เข้ามาจับ (primer annealing) กับดีเอ็นเอบริเวณที่เป็นคู่สมกัน (primer annealing) เกิด extension step ต่อไป เมื่อจบรอบ 2 จะได้ดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นเป็น 4 คู่ และเมื่อจบรอบ 3 จะได้ดีเอ็นเอทั้งหมด 8 คู่ ในแต่ละรอบของการสังเคราะห์ดีเอ็นเอจะได้จำนวนของดีเอ็นเอเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ (exponential) ปริมาณของดีเอ็นเอที่ได้เมื่อสิ้นสุดรอบสุดท้ายของปฏิกิริยาสามารถคำนวณได้จากสูตร 2^n เมื่อ n คือจำนวนรอบของปฏิกิริยา ยกตัวอย่างเช่น ถ้าเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยทำปฏิกิริยา 20 รอบ ดังนั้นจากดีเอ็นเอ 1 คู่ ก็จะได้ดีเอ็นเอทั้งหมด = 2^{20} ซึ่งในที่สุดจะได้จำนวนดีเอ็นเอมากกว่าล้านคู่ (1,048,576 คู่) อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติพบว่าหากใช้จำนวนรอบในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอมากเกินไป ทำให้การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในรอบท้าย ๆ จะเป็นแบบทวีคูณ ดังที่คำนวณตามทฤษฎี ผลของการเพิ่มจำนวนจึงเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า amplification plateau

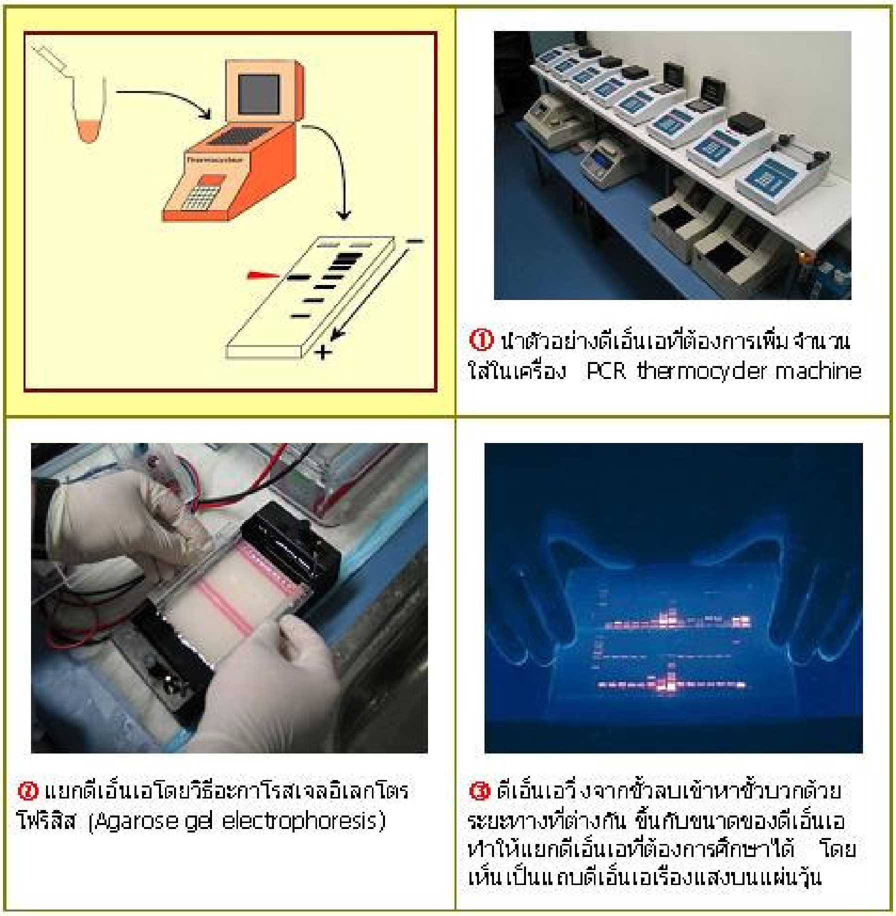
สาเหตุของ Amplification plateau

เมื่อปฏิกิริยาพีซีอาร์ ดำเนินไปถึงระยะหนึ่งปริมาณดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้มีจำนวนมากขึ้นจนกระทั่งมากกว่าจำนวนไพรเมอร์ที่มีเหลือในปฏิกิริยา ดังนั้นสายดีเอ็นเอต้นแบบที่มีมากขึ้นจะจับคู่กันเองมากกว่าจับคู่กับไพรเมอร์ในขณะเดียวกันปริมาณของ dNTP และไพรเมอร์อาจจะถูกใช้หมดในปฏิกิริยา (ในแต่ละรอบของพีซีอาร์นั้นไพรเมอร์จะถูกใช้ไปในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ) และเอ็มไซม์ Taq DNA polymerase จะเสื่อมไปตามเวลา ซึ่ง Taq DNA polymerase มีครึ่งชีวิต (half life) ประมาณ 40 นาที ที่อุณหภูมิ 90°C ผลตามมาที่สำคัญของ plateau effect คือ product ที่ไม่จำเพาะจาก mispriming จะมาแข่งขันในปฏิกิริยาและเพิ่มจำนวนขึ้น วิธีป้องกันที่ดีที่สุดคือการปรับตั้งจำนวนรอบในการทำพีซีอาร์ให้เหมาะสม

การตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์

เมื่อปฏิกิริยาพีซีอาร์เสร็จสิ้นลงขั้นต่อไปคือ ทำการตรวจและวิเคราะห์ผลผลิตของพีซีอาร์ (PCR product) การแยกผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากส่วนมินิแซทเทลไลท์ทำได้โดยการใช้ตัวกลางชนิดวุ้นอะกาโรส (agarose gel) ผ่านกระแสไฟฟ้าขนาด 5 โวลต์/ซม. เมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าในตัวกลางที่แช่อยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ ชิ้นดีเอ็นเอซึ่งมีประจุลบจะเคลื่อนที่ไปทางขั้วบวก โดยชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็กจะเคลื่อนที่ได้เร็วกว่าชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดใหญ่ สำหรับเวลาที่ใช้ในการแยกนั้นจะแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับช่วงของขนาดผลผลิตในแต่ละโลคัส เมื่อชิ้นดีเอ็นเอแยกโดยสมบูรณ์แล้วจึงนำตัววกลางนั้นมาย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) ซึ่งจะแทรกเข้าไปอยู่ระหว่างคู่สายดีเอ็นเอ ดังนั้นเมื่อนำอะกาโรสเจลที่มีดีเอ็นเอ ไปส่องด้วยแสงเหนือม่วง (ultraviolet: UV) จากเครื่อง ultraviolet transilluminator จะทำให้สามารถมองเห็นแถบดีเอ็นเอในแผ่นเจลได้ (ภาพที่ 18) และสามารถบันทึกได้โดยการถ่ายภาพ ส่วนการแยกผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้จากดีเอ็นเอส่วนไมโครแซทเทลไลท์นั้นจะใช้ตัวกลางชนิดพอลิอะคริลาไมด์ (polyacrylaamide gel) ซึ่งเป็นตัวกลางที่มีความสามารถในการแยกดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันของเบสเพียง 1 เบส โดยใช้ตัวกลางที่มีความเข้มข้น 4-6 เปอร์เซ็นต์ และผ่านกระแสไฟฟ้าขนาด 40 โวลต์ นานประมาณ 45-60 นาที การตรวจแถบของดีเอ็นเอสามารถทำได้หลายวิธีด้วยกัน เช่น การใช้สารรังสี การใช้สารฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) และการย้อมด้วยสารละลายซิลเวอร์ซึ่งเป็นสารเคมีที่มีความไวในการตรวจสอบดีเอ็นเอสูงมาก อย่างไรก็ตามการตรวจสอบโดยใช้สารรังสีหรือการใช้สารละลายซิลเวอร์สามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่า ในขณะที่การใช้สารฟลูออเรสเซนซ์ต้องอ่านโดยใช้เครื่อง (fluorescence detector) ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมในปัจจุบัน เพราะเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วมาก โดยใช้สารฟลูออเรสเซนต์ติดฉลากที่ไพรเมอร์ทำให้สามารถเพิ่มจำนวนโลคัสแบบไมโครแซทเทลไลท์ใน

การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์เพียงหนึ่งครั้ง เรียกว่า multiplex PCR โดยที่ผลออกมาในรูปของกราฟอิเล็กโทรฟีโรแกรม (electropherogram) ทำให้อ่านง่าย มีความน่าเชื่อถือ แต่ต้นทุนในการตรวจพิสูจน์นั้นมีราคาค่อนข้างสูง ในปัจจุบันมีชุดน้ำยาสำเร็จรูปในการตรวจเอกลักษณ์บุคคลหลายแบบ ในการทดลองครั้งนี้ใช้ชุดน้ำยา AmpF/STR® Identifiler™ PCR Amplification Kit ซึ่งเป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้ในการตรวจเอกลักษณ์บุคคล โดยใช้หลักการ multiplex PCR บริเวณ short tandem repeat (STR) 15 ตำแหน่ง และยีน Amelogenin อีก 1 ตำแหน่ง รวมเป็น 16 ตำแหน่ง ดังนั้นการทำ multiplex PCR ต้องใช้ primer ถึง 16 คู่ ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ 16 บริเวณพร้อม ๆ กัน ซึ่งดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนขึ้นมานี้จำเป็นต้องมี allelic ladder เป็น marker เพื่อทราบขนาดดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนขึ้น เนื่องจากเป็นการเพิ่มจำนวนหลาย ๆ บริเวณ แต่ละบริเวณอาจมี 2 อัลลีล ที่ต่างกัน (กรณีเป็น heterozygote) หรืออาจมี 1 อัลลีล ที่เหมือนกัน (กรณีเป็น homozygote) เพื่อสะดวกในการตรวจหาดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนขึ้นมานั้น จึงจำเป็นต้องติดฉลาก (label) ไพรเมอร์ ด้วยสารเรืองแสงแตกต่างกัน ซึ่งสารเรืองแสงที่นิยมใช้มี 6-FAM (เรืองแสงที่ความยาวคลื่นสั้นที่ 520 nm ให้แสงสีน้ำเงิน), VIC (เรืองแสงที่ความยาวคลื่น 550 nm ให้แสงสีเขียว), NED (เรืองแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm ให้แสงสีเหลือง), PET (เรืองแสงที่ความยาวคลื่น 590 nm ให้แสงสีแดง) และ LIZ (เรืองแสงที่มีความยาวคลื่น 650 nm ให้แสงสีส้ม) โดยปกติแล้วผลิตผลพีซีอาร์ (PCR product) ที่เพิ่มจำนวนขึ้นจะถูกนำไปตรวจหาโดยการรันบนเจลอิเล็กโตโฟรีซีส (gel electrophoresis) แต่ในการทดลองนี้ STR ทั้ง 15 ตำแหน่งและยีน Amelogenin อีก 1 ตำแหน่ง ที่เพิ่มจำนวนขึ้นจากพีซีอาร์เป็นดีเอ็นเอสายสั้น ๆ จำนวนหลาย ๆ ตำแหน่งรวมกัน หากนำมารันบนเจลอิเล็กโตโฟรีซีส (gel electrophoresis) จะไม่สามารถแยกออกจากกันอย่างชัดเจน จึงจำเป็นต้องนำผลิตผลพีซีอาร์มารันในแคปิลารีเจล (capillary gel) โดยเครื่อง ABI 310 genetic analyzer (ภาพที่ 19) โดยความยาวของแคปิลารี ขนาด 36 เซนติเมตร ด้วยกระแสไฟฟ้า 15,000 โวลต์ โดยใช้ Argon ion laser beam เป็นตัวตรวจหา (detector) ผลิตผลพีซีอาร์ซึ่งจะเรืองแสงตามสีที่ติดฉลากที่ไพรเมอร์แต่ละคู่ เพื่อให้ทราบขนาดความยาวของผลิตผลพีซีอาร์จึงนำมาเทียบกับ allic ladder โดยรันในสภาวะเดียวกันกับผลิตผลพีซีอาร์



ภาพที่ 18 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคพีซีอาร์

ที่มา: เทคนิคพีซีอาร์ [Online], accessed 5 April 2009.

Avaliable from http://www.griffith.edu.au/centre/grc/general/volunteers_myBlood3.html

ภาพที่ 19 เครื่องอ่านผลอัตโนมัติ (ABI 310 Genetic Analyzer)
ที่มา: ABI 310 [Online], accessed 14 August 2008. Avaliable from
http://www.umanitoba.ca/institutes/manitoba_institute_cell_biology/Sequence/sequence_abi310

ประโยชน์ของวิธีพีซีอาร์

ข้อดีของวิธี พีซีอาร์สรุปได้ดังนี้

1. พีซีอาร์เป็นวิธีที่มีความจำเพาะ (specificity)และความไว (sensitivity) สูง ดังนั้นดีเอ็นเอต้นแบบไม่จำเป็นต้องมีปริมาณมาก หรือมีความบริสุทธิ์มาก ดังนั้นจึงสามารถนำเทคนิคพีซีอาร์มาตรวจหาดีเอ็นเอต้นแบบที่รวมอยู่กับดีเอ็นเออื่นๆ หรือสารอื่นได้

2. ความรวดเร็วในการทำพีซีอาร์ ทำให้สามารถสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้ในเวลาอันสั้น ซึ่งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอได้ถึงล้านเท่าโดยใช้เวลาเพียง 1-3 ชั่วโมงเท่านั้น

3. สามารถใช้สังเคราะห์ดีเอ็นเอที่มีความยาวมากกว่า 50 คู่เบส จนไปถึงขนาด 10,000 คู่เบส ทำให้ดีเอ็นเอปริมาณมากพอที่จะนำไปใช้ในการศึกษาด้านต่างๆ ต่อไปได้โดยตรง

ด้วยความไวและความจำเพาะของเทคนิคพีซีอาร์ จึงได้มีการนำเทคนิคพีซีอาร์มาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์หลายด้านเช่น การตรวจหาชิ้นส่วนของยีนที่มีคงวามผิดปกติในโรคที่เกิดจากความผิดปกติของยีน หรือตรวจหาเชื้อต่างๆ เช่น HIV ซึ่งสามารถรู้ผลได้ภายในหนึ่งวัน

ข้อจำกัดของวิธีพีซีอาร์

แม้ว่าวิธีพีซีอาร์จะเป็นวิธีที่ใช้กันแพร่หลาย และมีประโยชน์อย่างมากในการศึกษาอณูชีววิทยาอย่างมาก อย่างไรก็ตามวิธีพีซีอาร์ ก็ยังมีข้อกำจัดซึ่งพอสรุปได้ดังนี้

1. ต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นดีส่วนปลายหัวท้ายที่ขนาบข้างส่วนต้องการเพิ่มจำนวน เพื่อนำมาออกแบบไพรเมอร์
2. ต้องสังเคราะห์ไพรเมอร์เพื่อให้เหมาะสมกับความประสงค์ในการศึกษาแต่ละเรื่อง
3. อาจเกิดผลบวกปลอม (false positive) ได้เนื่องจากพีซีอาร์ เป็นวิธีที่มีความไวสูง จึงต้องมี negative control ร่วมด้วยเสมอในการทำพีซีอาร์แต่ละครั้ง
4. อาจเกิดผลลบปลอม (false negative) ได้เพราะสภาวะที่เหมาะสมของ primer annealing แปรตามดีเอ็นที่ต้องการเพิ่มจำนวนและไพรเมอร์ ที่ใช้ในปฏิกิริยาพีซีอาร์แต่ละครั้ง จึงต้องมี positive control ร่วมด้วนเสมอในการทำพีซีอาร์ทุกครั้ง

เนื่องจากเทคนิคพีซีอาร์มีความไวในการตรวจสอบมาก อาจเกิดผลบวกปลอมปรากฏขึ้นได้ดังกล่าว เป็นผลทำให้การวิเคราะห์นั้นผิดพลาดได้ สาเหตุที่สำคัญของการเกิดผลบวกปลอมคือการปนเปื้อนของดีเอ็นเอจากตัวอย่างหรือปฏิกิริยาที่ทำมาก่อน เช่น การหา HIV genome ในตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยซึ่งหากมีการปนเปื้อนจากเลือดที่เป็นบวกสู่เลือดที่เป็นลบ (แม้แต่ 1 ในล้านส่วน) จะทำให้เกิดผลบวกในปฏิกิริยาที่เป็นลบทำให้การอ่านผลผิดพลาดเกิดเป็นผลบวกปลอมได้ ด้วยเหตุที่ พีซีอาร์นั้นมีความไวมากดังนั้นจึงกลายเป็นข้อดีและข้อเสียในตัว ข้อดีคือสามารถตรวจสอบได้แม้มีดีเอ็นเอในปริมาณน้อย ๆ แต่มีข้อเสียคือเกิดผลบวกปลอมได้ง่ายเช่นกันหากไม่ระวัง ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานในการทำพีซีอาร์ควรใช้ความระมัดระวังและละเอียดรอบคอบระหว่างที่ทำงานจึงควรระวังการปนเปื้อน เพื่อไม่ให้ผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ติดปนเปื้อนไปในที่ต่างๆ

การป้องกันการปนเปื้อนในเทคนิคพีซีอาร์

การทำพีซีอาร์นั้นจำเป็นจะต้องมีความระมัดระวังเพื่อป้องกันการปนเปื้อน ซึ่งอาจทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ดังนี้

1. สถานที่ : ในการทำพีซีอาร์ควรแยกบริเวณที่ทำพีซีอาร์เป็นสัดส่วน เช่นมีบริเวณพื้นที่เตรียมพร้อมสำหรับการทำพีซีอาร์ (pre-amplification area) บริเวณสำหรับสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction) บริเวณสำหรับทำพีซีอาร์ (amplification area) ตลอดจนมีบริเวณสำหรับตรวจผลผลิตพีซีอาร์(post-amplification area) และควรใช้เครื่องมือ เช่น pipette แยกชุดต่างหาก สำหรับทำพีซีอาร์โดยเฉพาะ

2. การ autoclave : สำหรับ microtube และ piptte ควรมีการฆ่าเชื้อโดย autoclave ก่อนใช้ หรืออาจใช้ filter piptte tip

3. น้ำ : แหล่งปนเปื้อนที่สำคัญที่มักถูกละเลยคือ แหล่งน้ำที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ซึ่งทำให้การทพีซีอาร์ ไม่ได้ผลตามที่ต้องการ ดังนั้นผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการจึงจำเป็นจะต้องดูแลและคอยเปลี่ยนวัสดุกรองน้ำตามความจำเป็น

4. PCR reagent : สารที่ใช้สำหรับการทำพีซีอาร์ (PCR reagent) ควรแบ่งไว้เป็นหลอดเล็กๆ (aliquot) โดยแบ่งให้พอที่จะใช้ แล้วทิ้งหลอดเลยหลังใช้

5. ตัวควบคุม : การใช้ตัวควบคุมทั้ง positive control และ negative control เสมอทุกครั้งที่ทำพีซีอาร์ เพื่อให้แน่ใจว่า ผลที่ได้น่าเชื่อถือ และมีการป้องกันไม่ให้ผลผลิตพีซีอาร์ที่สังเคราะห์ไว้ก่อนกลับมาปนเปื้อนในปฏิกิริยาใหม่

นอกจากนี้ในห้องปฏิบัติการบางที่อาจใช้แสงเหนือม่วง ทำลายดีเอ็นเอที่ปนเปื้อนในหลอดปฏิกิริยาก่อนที่จะใส่ดีเอ็นเอต้นแบบในการทำพีซีอาร์หรือการใช้เอ็นไซม์ Uracit N-glycosylass (UNG) ในการทำลายผลผลิตพีซีอาร์ ที่ปนเปื้อนก่อนที่จะเริ่มทำปฏิกิริยาพีซีอาร์และใช้ dUTP แทน dTTP ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ อย่างไรก็ตามถ้ามีความระมัดระวังในหัวข้อ 1-5 แล้วมักไม่จำเป็นต้องใช้วิธีดังกล่าว

ประโยชน์ของเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

การพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด

ในปัจจุบันความจำเป็นของการตรวจหาความสัมพันธ์ ระหว่างพ่อ-แม่-ลูกเป็นที่ต้องการมากขึ้นในสังคมไม่เพียงแต่ประเทศไทยเท่านั้น ประเทศสหรัฐอเมริกาหรือประเทศต่าง ๆ ในทวีปยุโรปได้มีการตรวจพิสูจน์เพื่อพิสูจน์ความสัมพันธ์ลักษณะนี้มากขึ้นเช่นกันโดยจุดประสงค์ในการตรวจนั้น เพื่อนำไปใช้เป็นหลักฐานสำคัญส่วนหนึ่งสำหรับการประกอบการพิจารณาทางกฎหมายในศาล เช่น กรณีการฟ้องร้องเพื่อเรียกค่าเลี้ยงดูบุตร หรือการตรวจเพื่อรับรองความเป็นบุตรเมื่อเกิดการอพยพย้ายถิ่นฐาน นอกจากนี้ยังเป็นการตรวจเพื่อแก้ปัญหาสังคม การนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์เพื่อการตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด ในกรณีที่เด็กมีอัตราเสี่ยงต่อการเป็นพาหะของโรคทางพันธุกรรม ตามหลักการของการถ่ายทอดทางพันธุกรรมนั้น ลูกเกิดจากการปฏิสนธิของอสุจิจากพ่อและไข่จากแม่ ซึ่งลูกต้องได้รับสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอจากพ่อและแม่อย่างละครึ่ง โดยเมื่อนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลูกมาเปรียบเทียบกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอของพ่อกับแม่จะพบว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอของลูกต้องประกอบด้วยแถบดีเอ็นเอที่มาจากพ่อหรือแม่เท่านั้น แต่หากพบว่าแถบดีเอ็นเอของลูกแม้เพียง 1 แถบ ไม่ตรงกับพ่อหรือแม่สามารถสรุปได้ทันทีว่าไม่มี

ความสัมพันธ์ระหว่างพ่อกับลูกหรือแม่กับลูก ตัวอย่างการใช้เทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอในการตรวจความสัมพันธ์ทางสายเลือดเป็นที่รู้จักกันทั่วไปในประเทศไทยคือ กรณีของพระยันตระ และมนต์สิทธิ์ คำสร้อย

การติดตามการรักษาผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูก

ในการรักษาผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาวจะต้องมีการปลูกถ่ายไขกระดูกจากผู้ให้ซึ่งมักเป็นญาติที่ใกล้ชิด โดยอาศัยหลักการว่าเมื่อผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกปกติจากผู้ให้แล้วผู้ป่วยจะมีไขกระดูกปกติแทนที่ไขกระดูกที่มีเซลล์มะเร็งอยู่ ในระยะแรกที่ได้รับการรักษาพบว่าผู้ป่วยจะมีไขกระดูกของตนเองปะปนกับไขกระดูกปกติของผู้ให้ ซึ่งไขกระดูกปกติที่เข้าไปแทนที่นั้นจะทำหน้าที่ผลิตเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาวเกล็ดเลือดชุดใหม่ ซึ่งหากการรักษาประสบความสำเร็จผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกจากผู้ให้จะไม่เกิดปฏิกิริยาต่อต้านใด ๆ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยจะเปลี่ยนไป ในขณะที่ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเซลล์ของส่วนอื่น ๆ ของร่างกายยังเหมือนเดิม แต่หากนำเลือดของผู้ป่วยในระยะแรกมาตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ผู้ป่วยจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอแบบผสมคือ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มาจากดีเอ็นเอของผู้ป่วยและผู้ให้ ดังนั้นส่วนมากแพทย์จะส่งเลือดผู้ป่วยมาตรวจเมื่อการรักษาผ่านไปประมาณ 1 เดือน เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมที่ไขกระดูกที่มีเซลล์มะเร็งของผู้ป่วยส่วนใหญ่ จะถูกแทนที่ด้วยไขกระดูกปกติของผู้ให้

การพิสูจน์หลักฐานทางนิติเวชศาสตร์

สมัยก่อนนี้ได้มีการนำลายพิมพ์นิ้วมือ การตรวจหมู่เลือด การตรวจหาสารชีวเคมีต่าง ๆ การตรวจลักษณะโครงสร้างผ่านกล้องจุลทรรศน์ของเส้นขน เส้นผม หรือการตรวจสอบ ตัวอสุจิมาใช้เป็นหลักฐานสำคัญในการชี้ตัวฆาตกรหรืออาชญากร อย่างไรก็ตามข้อจำกัดบางประการทำให้ไม่สามารถใช้สิ่งเหล่านั้นมาเป็นหลักฐานได้เสมอไป เช่น ไม่สามารถตรวจหาหมู่เลือดจากคราบเลือดได้ เนื่องจากคราบเลือดถูกทิ้งไว้เป็นเวลานาน หรือโปรตีนน้ำย่อยอสุจิถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียหรือเอนไซม์ เป็นต้น และถึงแม้ว่าสามารถทำการตรวจสอบได้ แต่วิธีการดังกล่าวเป็นเพียงการตัดกลุ่มผู้ต้องสงสัย ที่ให้ผลการตรวจแตกต่างไปจากรูปแบบที่ได้จากหลักฐานออกไปเท่านั้น ยังคงเหลือกลุ่มคนที่ให้ลักษณะของผลการตรวจที่เหมือนกันทำให้ไม่สามารถชี้เฉพาะบุคคลที่เป็นผู้กระทำผิดได้ แต่การนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอซึ่งเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ได้มีส่วนช่วยในการวินิจฉัยหรือตัดสินคดีที่เกิดขึ้นได้เป็นอย่างดี เนื่องจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นลักษณะเฉพาะในแต่ละบุคคล ดังนั้นจึงสามารถตรวจทางนิติเวชศาสตร์เพื่อหาผู้กระทำผิดจากหลักฐานในที่เกิดเหตุ ซึ่งอาศัยหลักการที่ว่าลักษณะดีเอ็นเอของบุคคลหนึ่งไม่ว่ามาจากเซลล์ส่วนใด

ของร่างกายก็ตามย่อมมีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันทั่วทั้งร่างกาย เช่น คราบอสุจิของผู้ต้องหาในที่เกิดเหตุย่อมต้องมีลักษณะของดีเอ็นเอเหมือนกับในเลือดของผู้ต้องหาที่ถูกควบคุมตัวไว้ หรือการใช้ในการพิสูจน์บุคคลจากภัยทางธรรมชาติ เช่น สึนามิ เป็นต้น แต่มีข้อยกเว้นสำหรับผู้ที่ได้รับการปลูกถ่ายไขกระดูกเท่านั้นที่รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากเลือดมีรูปแบบที่แตกต่างจากเซลล์อื่น ๆ ในร่างกาย

1.3 สถิติกับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติมีบทบาทสำคัญในการทำการวิจัยในศาสตร์ทุกสาขา โดยจะทำให้สามารถกำหนดทิศทางและนโยบาย ตลอดจนลู่ทางในการจัดดำเนินการที่เหมาะสม งานวิจัยส่วนใหญ่จึงต้องใช้สถิติเป็นเครื่องมือสำคัญในการช่วยตัดสินใจ เช่นเดียวกับงานนิติวิทยาศาสตร์ด้าน ดีเอ็นเอ การที่จะนำเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการพิสูจน์บุคคลนั้นต้องมีตัวเลขทางสถิติเป็นตัวบ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของเทคโนโลยี ต้องมีการคำนวณและวิเคราะห์ค่าทางสถิติเพื่อช่วยในการแปลผลการทดลอง เช่น การแปลผลของลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล หรือช่วยในการตัดสินใจว่าการพบผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอนั้นจะมีผลดีเอ็นเอตรงกันกับตัวอย่างอื่นหรือไม่เพื่อหาตัวผู้กระทำผิด หรือมีความเป็นไปได้มากน้อยเพียงใด หรือการหาความสัมพันธ์พ่อแม่ลูก หรือตัวเลขที่จะที่แสดงข้อมูลความถี่ของการกระจายตัวของอัลลีลทั้งหมดในแต่ละโลคัสของประชากรในกลุ่มนั้น ๆ เพื่อนำไปตัดสินว่าโลคัสใดเป็นโลคัสที่เหมาะสมในการนำมาใช้ตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เนื่องจากบุคคลในแต่ละประเทศหรือมาจากถิ่นกำเนิดที่ต่างกันจะมีกลุ่มของอัลลีลในแต่ละโลคัส ซึ่งอาจจะเหมือนหรือต่างกันในแต่ละกลุ่มประชากร ดังนั้นการกำหนดขอบเขตความเป็นไปได้ของอัลลีลที่เกิดขึ้นในแต่ละพื้นที่หรือประเทศของประชากรกลุ่มหนึ่งจึงมีความจำเป็น การศึกษาการกระจายตัวของอัลลีลในโลคัสต่าง ๆ สามารถนำมาใช้ในการจัดกลุ่มของประชากรได้ ดังนั้นการหาความถี่และการกระจายตัวของอัลลีลในแต่ละกลุ่มประชากรมีความสำคัญ เพื่อนำไปสู่ความถูกต้องและความน่าเชื่อถือการแปลผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ การศึกษาการกระจายตัวของอัลลีลนอกจากจะเป็นการนำข้อมูลดังกล่าวมาตัดสินว่าโลคัสใดเหมาะสมแล้ว ยังสามารถนำไปคำนวณค่าทางสถิตที่เกี่ยวข้องกับการบอกค่าความน่าจะเป็นหรือโอกาสที่จะพบว่าบุคคลสองคนที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกันหรือเรียกว่า Pm (matching probability) ดัชนีวัดค่าความสามารถในการชี้เฉพาะบุคคลที่นิยมใช้อีกแบบหนึ่งคือ ค่า power of discrimination ซึ่งจะทำให้เราทราบว่าตำแหน่งโลคัสที่นำมาใช้ในการตรวจนั้นสามารถแยกบุคคลสองคนออกจากกันได้มากน้อยเพียงใด และสามารถคำนวณความสามารถทั้งระบบได้ด้วย ยกตัวอย่างในกรณีของนาย ก เมื่อใช้ชุดตรวจสอบที่มีโลคัสต่างกัน พบว่าโอกาสที่

จะพบบุคคลอื่นมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนนาย ก ลดลงเมื่อใช้จำนวนโลคัสมากขึ้นตามลำดับ เช่น เมื่อชุดตรวจสอบ Cofiler™ ซึ่งมีจำนวนไมโครแซทเทลไลท์ 7 โลคัส (power of discrimination เท่ากับ 1:8.4x10^5) พบว่าในประชากรจำนวน 840,000 คน จะมีโอกาสที่จะพบหนึ่งคนที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกับนาย ก และถ้าหารใช้ชุดตรวจสอบ Profiler Plus™ ซึ่งจำนวนไมโครแซทเทลไลท์ 11 โลคัส (ค่า power of discrimination เท่ากับ 1:9.6x10^{10}) จะต้องมีคนจำนวนมากถึง 96,000,000,000 คน ถึงจะสามารถพบบุคคลที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนนาย ก นอกจากนี้ยังมีค่าทางสถิติอีกมากที่สามารถช่วยแปลผลการทดลอง ให้ถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น ค่าทางสถิติที่น่าสนใจอีกตัวหนึ่งคือ ไคสแควร์ (chi-square) ซึ่งเป็นค่าที่ใช้ในการทดสอบสมมติฐานได้ทั้งความแตกต่างและความสัมพันธ์โดยข้อมูลที่ได้จะอยู่ในรูปความถี่ ซึ่งมีสูตรในการคำนวณดังนี้

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^{k} \left(\frac{O_i - E_i}{E_1} \right)^2$$

เมื่อ χ^2 แทน ไคสแควร์

O_i แทน Observed frequency หรือความถี่ที่สังเกตได้ประเภท i

E_i แทน Expected frequency หรือความถี่คาดหวังตามทฤษฎีประเภท i

สำหรับสมมติฐานที่ใช้

H0: $O_i = E_i$

H1: $O_i \neq E_i$

หรือ

H0: ความถี่ที่สังเกตกับความถี่ที่คาดหวังไม่แตกต่างกัน

H1: ความถี่ที่สังเกตกับความถี่คาดหวังแตกต่างกัน

เงื่อนไขการยอมรับ (Accept) หรือปฏิเสธ (Reject) สมมติฐานให้พิจารณาดังนี้

1. ถ้าค่าความน่าจะเป็น (P) ที่คำนวณได้จากโปรแกรมมีค่ามากกว่าค่าระดับนัยสำคัญทางสถิติ ค่าจะตกอยู่ในเขตของการยอมรับสมมติฐานหลัก (H_0)
2. ถ้าค่าความน่าจะเป็น (P) ที่คำนวณได้จากโปรแกรมมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับค่าระดับนัยสำคัญทางสถิติ ค่าจะตกอยู่ในเขตของการปฏิเสธสมมติฐานหลัก (H_0) และยอมรับสมมติฐานรอง (H_1)

ข้อควรระวังในการเลือกสถิติให้เหมาะสม จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเลือกใช้สถิติให้เหมาะสมกับงานวิจัยของตน ทั้งนี้เพื่อที่จะได้มาซึ่งผลงานวิจัยที่ถูกต้องเป็นจริงมากที่สุด ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องคำนึงถึงปัจจัยหลาย ๆ ประการอย่างรอบคอบก่อนตัดสินใจเลือกใช้สถิติ ปัจจัยที่ควรพิจารณามี 3 ปัจจัย คือ

1. ระดับการวัดตัวแปร
2. รูปแบบของการกระจายข้อมูล
3. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ถ้าเซลล์ที่มีค่าความถี่คาดหวัง (Expected frequency) น้อยกว่า 5 มีจำนวนเซลล์คิดเป็นจำนวนที่มากกว่า 20% ของเซลล์ทั้งหมด จะไม่นิยมใช้ค่าไคสแควร์ ตามวิธีเปียร์สัน ดังนั้นถ้าจะต้องมีการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรโดยใช้ค่าไคสแควร์ตามวิธีเปียร์สันจึงควรเก็บข้อมูลให้มีจำนวนตัวอย่างเพิ่มมากขึ้น เพื่อทำให้ความถี่คาดหวังที่มีค่าน้อยกว่า 5 มีจำนวนเซลล์ไม่เกิน 20% ของเซลล์ทั้งหมด หรือในกรณีที่มีข้อจำกัด ผู้วิจัยไม่สามารถเก็บข้อมูลตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีกได้ ผู้วิจัยจำเป็นต้องเปลี่ยนค่าสถิติในการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรเป็นสถิติตัวอื่นได้คือ การใช้ Fisher's Exact test ในการเปรียบเทียบ (ธานินทร์ ศิลป์จารุ, 2548)

2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยในประเทศไทย

ธาดา สืบหลินวงศ์ และอัญชลี ก่องศรีสุข (1999, 103: 199-205) ศึกษาวิจัยเรื่องข้อมูลพื้นฐานของประชากรไทย 8 ตำแหน่งบน STR loci โดยศึกษากลุ่มตัวอย่างจำนวน 200 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด ตำแหน่งโลคัสที่ศึกษาประกอบด้วย TH01, CSF1PO, TPOX, F13A01, FESFPS, F13B, LPL และ vWA จากการศึกษาพบว่าการกระจายตัวของอัลลีลบนโลคัส F13A01 และ vWA มีทั้งหมด 10 อัลลีล โลคัส, CSF1PO มี 8 อัลลีล, โลคัส FESEPS มี 7 อัลลีล, โลคัส TH01 และ LPL มี 6 อัลลีล, โลคัส TPOX มี 5 อัลลีล (ตารางที่ 2) ในทุกโลคัสพบว่าการกระจายตัวของความถี่อัลลีลที่สังเกตได้เป็นไปตามกฎสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($P>0.05$) ค่า observed heterozygosity มีค่าอยู่ระหว่าง 0.42-0.86, ค่า expected heterozygosity มีค่าอยู่ระหว่าง 0.8076-0.4971, vWA มีความหลากหลายมากที่สุดโดยพบว่ามีค่า PIC เท่ากับ 0.7922 ส่วนโลคัส F13B มีความหลากหลายน้อยทีสุดโดยพบว่ามีค่า PIC เท่ากับ 0.4450, ค่า The combine power of exclusion ของ 6 ตำแหน่งซึ่งประกอบด้วย CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS และ vWA (CTTFFv) พบว่ามีค่า 0.9834 แต่เมื่อคำนวณทั้ง 8 ตำแหน่งพบว่า ค่า The combine power of exclusion มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.9911 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 ความถี่อัลลีลของโลคัสตำแหน่งต่าง ๆ บน STR

Allele	CSF1PO	TPOX	TH01	F13A01	FESEPS	F13B	LPL	vWA
3.2				0.3150[a]				
4				0.1275				
5				0.1275				
6			0.1025	0.3875		0.1000		
7			0.2825	0.0250			0.0025	
8	0.0050	0.6025	0.0725	0.0050	0.0025	0.0750		
9	0.0030	0.0925	0.4000		0.0025	0.2575	0.0075	
9.3			0,0875					
10	0.2175	0.0225	0.0550		0.0625	0.6525	0.6700	
11	0.2725	0.2750			0.4300	0.0050	0.0800	
12	0.3900	0.0075			0.3050		0.2200	
13	0.0060			0.0025	0.1755		0.0200	0.0075
14	0.0225				0.0200			0.2200
15	0.0025			0.0050				0.0375
16				0.0025				0.1375
17				0.0025[a]				0.2675
18								0.2 125
19								0.0925
20								0.0200
21								0.0025[a]
22								0.0025[a]

[a] The locus-specific allele ladders do not have these alleles.

ตารางที่ 3 แสดงค่าทางสถิติต่าง ๆ

	Obs. h	Exp. h	PIC	DP	PE
CSF1PO	0.7250	0.7231	0.6913	0.8756	0.5005
TPOX	0.4700	0.5536	0.4960	0.7366	0.3054
TH01	0.7250	0.7356	0.7063	0.8904	0.5285
F13B	0.4200	0.5035	0.4450	0.6901	0.2627
LPL	0.5300	0.4971	0.4518	0.6955	0.2737
FESFPS	0.6850	0.6880	0.6457	0.8470	0.4475
F13A01	0.7000	0.7192	0.6838	0.8732	0.4950
VWA	0.8600	0.8076	0.7922	0.9343	0.6361
CTT[a]	–	–	–	0.9964	0.8364
FFv[b]	–	–	–	0.9987	0.8985
CTTFFv[c]	–	–	–	0.999995433	0.9834
8 loci[d]		–	–	0.999999569	0.9911

[a] Combined CSF1PO-TPOX-TH01.
[b] Combined F13A01-FESFPS-vWA.
[c] Combined CSF1PO-TPOX-TH01-F13A01-FESFPS-vWA.
[d] All 8 loci combined.
Obs. h = Observed heterozygosity, Exp. h = unbiased estimate of the expected heterozygosity, PIC = Polymorphism information content, DP = Discrimination power, PE = Power of exclusion.

วสันต์ จันทราทิตย์ และคณะ (2001 : 115) ศึกษาวิจัยเรื่องข้อมูลพื้นฐานของประชากรไทย 9 ตำแหน่งบน STR loci ซึ่งประกอบด้วย D3S1358, vWA, FGA, THO1, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317 และ D7S820 โดยศึกษาจากประชากรไทยจำนวน 100 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางเครือญาติ พบว่าค่า Heterozygosity ระหว่าง แอฟริกัน-อเมริกัน, ยูเอส-คอเคเซี่ยน และคนไทยไม่มีความแตกต่างกันและการกระจายตัวของโลคัสทั้ง 9 ตำแหน่งบน STR loci ในประชากรไทยเป็นไปตามกฎของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ซึ่งเหมือนกับที่เคยมีรายงานในคนจีน, เกาหลี, ออสเตเรีย และโปรตุเกส

บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค และคณะ (2001 : 123) ศึกษาวิจัยเรื่องข้อมูลพื้นฐานของประชากรไทยบน STR loci ซึ่งประกอบด้วยแหน่งต่าง ๆ ดังนี้ D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D2S11, D18S51, D5S818 และ D13S317 โดยศึกษาจากประชากรไทยจำนวน 300 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางเครือญาติ พบว่าตำแหน่งต่าง ๆ ที่นำมาใช้ในการตรวจพิสูจน์นั้นมีความแปรผันสูงและเป็นไปตามกฎของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก และค่า Heterozygosity สำหรับ 9 ตำแหน่งบน STR loci ระหว่าง แอฟริกัน-อเมริกัน, ยูเอส คอเคเซี่ยน และไทย ไม่มีความแตกต่างกัน

วิมลธา คำศรีและคณะ (2005) ศึกษาวิจัยเรื่องความถี่ของยีนและค่าทางสถิติของ 15AmpF/STR Identifiler loci ของประชากรไทย จำนวน 258 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด โดยตำแหน่งที่ศึกษามีดังนี้ D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1138, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 และ FGA พบว่า PM มีค่าอยู่

ระหว่าง 0.035 (FGA)-0.201 (TPOX), The power of discrimination มีค่ามากกว่า 0.799 ในทุกตำแหน่งที่มีการศึกษาโดยที่ในทุกตำแหน่งมีความสอดคล้องกับกฎสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ยกเว้นตำแหน่ง D2S11 ลักษณะความถี่ของยีนและค่าทางสถิติของกลุ่มตัวอย่างดังกล่าวมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นตัวแทนของประชากรไทย อีกทั้งยังช่วยสร้างความเชื่อมั่นในการยืนยันผลการตรวจพิสูจน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์

ปิยะเชษฐ์ สตันยสุวรรณ (2005) ศึกษาวิจัยเรื่องการกระจายตัวของไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอในกลุ่มประชากรไทย โดยสกัดดีเอ็นเอจากเซลล์บนสำลีพันปลายไม้ซึ่งเช็ดจากเยื่อบุกระพุ้งแก้มของกลุ่มบุคคลตัวอย่างซึ่งไม่มีความสัมพันธ์เป็นเครือญาติ โดยแบ่งประชากรออกเป็นภูมิภาค คือ ภาคเหนือ อีสาน กลาง ตะวันออก ใต้ ภูมิภาคละ 200 คน รวม 1,000 คนทั่วประเทศ แล้วทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยเทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction) ที่ตำแหน่ง D8S1179, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, Amelogenin, D5S818 และ FGA แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Automate 3100 DNA Sequence จากการศึกษาพบว่าในประชากรจำนวน 1,000 ราย ไม่พบว่ามีลายพิมพ์ดีเอ็นเอซ้ำกันและ มีค่า Power of discrimination ในช่วง 0.794-0.971, ค่า Matching Probability ในช่วง 0.029-0.206, ค่า PIC ในช่วง 0.55-0.86, ค่า Power of Exclusion ในช่วง 0.286-0.753, ค่า Typical Paternity index ในช่วง 1.24-4.13, ค่า Heterozygosity ในช่วง 59.6-87.9% ดังนั้นในตำแหน่งบุคคลซึ่งไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันทั้ง 15 ตำแหน่ง คือ 1 ใน 2.87×10^{17} คน และพบรูปแบบการกระจายของ STR ในภูมิภาคไม่แตกต่างกัน

งานวิจัยต่างประเทศ

W.K. Fung, et al., 2001 ศึกษาวิจัยเรื่องความถี่อัลลีล 9 ตำแหน่งบน STR loci ในเมืองปักกิ่ง ประเทศจีน จำนวน 198 คน ทีไม่มีความสัมพันธ์เครือญาติกัน โดยศึกษาตำแหน่งต่าง ๆ ดังนี้ D3S1358, HUMvWA, HUMFIBRA/FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 และ D7S820 จากการศึกษาพบว่า The observed heterozygosity (OH) อยู่ในช่วง 0.730 (D5S818)-0.874 (vWA), The power of discrimination (PD) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.859 (D3S1358)-0.958 (FGA), The probability of exclusion paternity (PE) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.469 (D3S1358)-0.710 (FGA) ทุกโลคัสที่นำมาทำการทดลองเป็นไปตามกฎของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กยกเว้นที่ตำแหน่ง vWA

Yanmei Si, et al., 2002 ศึกษาวิจัยเรื่องความถี่อัลลีลบน STR 9 ตำแหน่งในประชากรจีนภาคกลาง โดยใช้กลุ่มตัวอย่างที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด สกัดตัวอย่างดีเอ็นเอโดยวิธี Chelex ตำแหน่งที่ใช้ในการตรวจสอบประกอบด้วย CSF1PO, D5S818, D8S1179, F13A01, F13B,

TPOX, HUMvWA, HUMFGA และ D3S1358 วิเคราะห์ผลโดยใช้ 6% โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)) และย้อมสีด้วยซิลเวอร์ (silver staining) และนำผลมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติต่าง ๆ พบว่า The observed heterozygosity มีค่าอยู่ระหว่าง 0.435 (F13B) ถึง 0.816 (D8S1179), The power of discrimination มีค่าอยู่ระหว่าง 0.659 (F13B) ถึง FGA, The combined power of discrimination สำหรับ STR ทั้ง 9 ตำแหน่งมีค่า 0.99999999, The probability of excluding paternity มีค่าอยู่ระหว่าง 0.331 (F13A01) ถึง 0.870 (D3S1358), The combined probability of excluding paternity สำหรับ STR ทั้ง 9 ตำแหน่งมีค่า 0.998

Xiulan Su, et al., 2004 ศึกษาวิจัยเรื่องประชากรพื้นเมืองชาวมองโกล 2 กลุ่มในประเทศจีนโดยใช้โลคัสบน STR โดยเก็บตัวอย่างเลือดจำนวน 286 ตัวอย่างจาก Ximeng-Mongolian และ 293 Wumeng-Mongolian โดยที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดในเขตพื้นที่ Inner Mongolia ประเทศจีน สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีฟีนอล-คลอโรฟอร์ม เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้ STR kit ซึ่งประกอบด้วยโลคัสต่าง ๆ ดังนี้ vWA, FGA, PentaE, D3S1358, D13S317, D5S818, D6S1043, D2S1772 และ D7S3048 วัดขนาดผลผลิตพีซีอาร์โดยใช้ Hema Automated DNA Sequence (Hema, Zhuhai, Guangzhou, China) ความถี่อัลลีลแต่ละโลคัสคำนวณจากแต่ละจีโนไทป์ในตัวอย่างทั้งระบบ ทดสอบความแตกต่างจากกฎสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์กโดยใช้โปรแกรม GDA และคำนวณหาค่า power of discrimination, average power of exclusion และค่า combined ของโลคัส จากการศึกษาพบว่าประชากรตัวอย่างมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงแต่น้อยกว่าประชากรจีน Han กลุ่มประชากรตัวอย่างมีความสอดคล้องกับกฎสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก โลคัส PentaE เป็นตำแหน่งที่สามารถใช้ในการแยกความแตกต่างของบุคคลได้ดีที่สุด ในทางกลับกัน โลคัส vWA เป็นตำแหน่งที่มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด เมื่อนำทั้งระบบมาใช้ในการแยกความแตกต่างของบุคคลแล้วพบว่ามีประสิทธิภาพสูงถึง 0.9999 (ตารางที่ 4-5) เมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของอัลลีลพบว่าประชากรมองโกลมีความแตกต่างจากชาวฮั่นที่โลคัสตำแหน่ง FGA, PentaE, D3S1358, D13S317, D2S1772 และ D7S3048

ตารางที่ 4 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลสำหรับโลคัสทั้ง 9 ตำแหน่งบน STR ของ Ximeng-Mongolian ในเขตพื้นที่ Inner Mongolian ประเทศจีน

Alleles	vWA ($N = 250$)	FGA ($N = 263$)	PentaE ($N = 257$)	D3S1358 ($N = 272$)	D13S317 ($N = 286$)	D5S818 ($N = 264$)	D6S1043 ($N = 276$)	D2S1772 ($N = 270$)	D7S3048 ($N = 267$)
5	–	–	0.020	–	–	–	–	–	–
6	–	–	0.002	–	0.002	–	–	–	–
7	–	–	0.010	–	0.000	0.011	–	–	–
8	–	–	0.006	–	0.201	0.015	0.000	–	–
9	–	–	0.010	–	0.114	0.047	0.000	–	–
10	–	–	0.049	–	**0.205**	0.153	0.036	–	–
11	–	–	0.115	–	0.196	**0.362**	0.152	–	–
12	–	–	0.076	–	0.194	0.241	0.123	–	–
13	0.006	–	0.037	0.000	0.068	0.161	0.145	–	–
14	0.224	–	0.109	0.042	0.019	0.010	**0.159**	–	0.036
15	0.046	–	0.130	0.360	0.002	–	0.011	–	0.084
16	0.186	–	**0.148**	**0.370**	–	–	0.000	–	0.090
17	**0.254**	0.000	0.074	0.160	–	–	0.034	0.019	0.124
18	0.170	0.013	0.039	0.059	–	–	0.156	0.010	0.112
19	0.098	0.072	0.049	0.009	–	–	0.134	0.026	0.084
20	0.014	0.044	0.047	0.000	–	–	0.047	0.110	**0.193**
21	0.002	0.068	0.029	–	–	–	0.002	0.089	0.139
21.2	–	0.000	–	–	–	–	–	–	–
22	–	0.150	0.020	–	–	–	–	0.060	0.129
22.2	–	0.000	–	–	–	–	–	–	–
23	–	0.196	0.008	–	–	–	–	0.059	0.008
24	–	**0.249**	0.004	–	–	–	–	**0.259**	0.002
24.2	–	0.029	–	–	–	–	–	–	–
25	–	0.114	0.018	–	–	–	–	0.056	–
25.2	–	0.000	–	–	–	–	–	–	–
26	–	0.065	0.004	–	–	–	–	0.101	–
27	–	0.000	–	–	–	–	–	0.108	–
28	–	0.000	–	–	–	–	–	0.080	–
29	–	0.000	–	–	–	–	–	0.019	–
30	–	0.000	–	–	–	–	–	0.004	–
Obs. H	0.768	0.875	0.957	0.688	0.811	0.739	0.837	0.844	0.850
Exp. H	0.812	0.849	0.915	0.704	0.825	0.761	0.870	0.871	0.877
PD	0.330	0.950	0.980	0.848	0.940	0.901	0.966	0.966	0.963
PE	0.622	0.698	0.825	0.454	0.645	0.543	0.732	0.746	0.748

Obs. H: observed heterozygosity; Exp. H: expected heterozygosity; PD: power of discrimination; PE: power of exclusion. N: number of samples analysed; HWE test: all test results $P > 0.05$. The most common alleles are indicated in bold.

ตารางที่ 5 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลสำหรับโลคัสทั้ง 9 ตำแหน่งบน STR ของ Wumeng-Mongolian ในเขตพื้นที่ Inner Mongolian ประเทศจีน

Alleles	vWA ($N = 291$)	FGA ($N = 290$)	PentaE ($N = 241$)	D3S1358 ($N = 263$)	D13S317 ($N = 291$)	D5S818 ($N = 267$)	D6S1043 ($N = 293$)	D2S1772 ($N = 274$)	D7S3048 ($N = 285$)
5	–	–	0.043	–	–	–	–	–	–
6	–	–	0.000	–	0.005	–	–	–	–
7	–	–	0.024	–	0.002	0.011	–	–	–
8	–	–	0.005	–	0.227	0.002	0.002	–	–
9	–	–	0.005	–	0.108	0.058	0.002	–	–
10	–	–	0.074	–	0.146	0.165	0.044	–	–
11	–	–	0.111	–	0.205	**0.404**	0.085	–	–
12	–	–	**0.134**	–	**0.265**	0.255	0.126	–	–
13	0.002	–	0.069	0.000	0.036	0.094	0.135	–	–
14	0.244	–	0.072	0.020	0.005	0.011	0.150	–	0.007
15	0.026	–	0.115	**0.418**	0.002	0.000	0.014	–	0.079
16	0.189	–	0.072	0.266	–	–	0.005	–	0.104
17	**0.275**	0.000	0.072	0.215	–	–	0.036	0.013	0.153
18	0.168	0.012	0.059	0.077	–	–	**0.191**	0.013	0.111
19	0.083	0.069	0.055	0.004	–	–	0.155	0.024	0.070
20	0.014	0.060	0.036	0.000	–	–	0.051	0.055	0.171
21	0.000	0.097	0.015	–	–	–	0.004	0.080	**0.199**
21.2	–	0.000	0.000	–	–	–	–	–	–
22	–	0.178	0.022	–	–	–	–	0.060	0.084
22.2	–	0.000	–	–	–	–	–	–	–
23	–	**0.233**	0.017	–	–	–	–	0.024	0.014
23.2	–	0.000	–	–	–	–	–	–	–
24	–	0.197	0.011	–	–	–	–	**0.283**	0.009
24.2	–	0.005	–	–	–	–	–	–	–
25	–	0.085	0.004	–	–	–	–	0.078	–
25.2	–	0.000	–	–	–	–	–	–	–
26	–	0.059	0.004	–	–	–	–	0.069	–
26.2	–	0.000	–	–	–	–	–	–	–
27	–	0.003	–	–	–	–	–	0.128	–
28	–	0.003	–	–	–	–	–	0.108	–
29	–	0.000	–	–	–	–	–	0.058	–
30	–	–	–	–	–	–	–	0.007	–
Obs. H	0.814	0.862	0.923	0.738	0.811	0.721	0.843	0.843	0.849
Exp. H	0.795	0.849	0.738	0.736	0.804	0.733	0.875	0.865	0.873
PD	0.916	0.954	0.983	0.883	0.928	0.890	0.969	0.966	0.964
PE	0.592	0.696	0.841	0.494	0.608	0.507	0.745	0.736	0.741

Obs. H: observed heterozygosity; Exp. H: expected heterozygosity; PD: power of discrimination; PE: power of exclusion. N: samples number; HWE test: all test results $P > 0.05$. The most common alleles are indicated in bold.

Syn C.K.C., et al., 2005 ศึกษาวิจัยเรื่องข้อมูลพื้นฐานของสารพันธุกรรมสำหรับ 13 ตำแหน่งบน STR ในประชากรจีนในประเทศสิงคโปร์ โดยใช้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 209 คนที่เป็นคนจีนในประเทศสิงคโปร์ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด สกัดดีเอ็นเอตัวอย่างโดยวิธีฟีนอล-คลอโรฟอร์ม เพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วย AmpF*l*STR® Profiler Plus™ และ AmpF*l*STR® Cofiler™ kits วิเคราะห์ผลโดยใช้เครื่อง ABI Prism 377 Genetic Analyzer (Applied Biosystem, Foster City, USA) นำผลที่ได้มาคำนวณค่าต่าง ๆ ทางงสถิติ พบว่า Expected heterzygosity ในแต่ละโลคัสมีค่าอยู่ระหว่าง 0.599 ถึง 0.869 เฉลี่ยแล้วมีค่าอยู่ที่ 0.775 ซึ่งถือว่าประชากรจีนในประเทศสิงคโปร์มีความหลากหลายสูงทางพันธุกรรมเมื่อเปรียบเทียบกับประชากรอื่น ๆ เช่น Apache และ Navajo มีค่าความหลากหลายทางพันธุกรรมต่ำ คือมีค่าอยู่ระหว่าง 0.494 ถึง 0.85 (เฉลี่ยแล้วมีค่าอยู่ที่ 0.71) และ 0.43 ถึง 0.877 (เฉลี่ยแล้วมีค่าอยู่ที่ 0.704) ตามลำดับ การกระจายตัวของอัลลีลพบว่ามีการกระจายตัวดีเหมือนกันประชากรจีนในประเทศอเมริกา, สิงคโปร์, มาเลเซีย, ฮ่องกง, ออสเตรเรียตะวันออก และประเทศจีน จากการศึกษาพบว่าโลคัสที่ตำแหน่ง FGA และ D18S51 มีค่า polymorphic สูงซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความหลากหลายของอัลลีลในประชากร ณ โลคัสตำแหน่งนั้น ๆ ขณะที่โลคัสตำแหน่ง TPOX พบว่ามีค่า power of discrimination ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบความถี่ของประชากรจีนในประเทศสิงคโปร์กับประชากรอื่น โดยใช้ Wright's F_{ST} พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ The power of discrimination มีค่าอยู่ระหว่าง 0.954 ถึง 0.967 combined random match probability สำหรับ STR 13 ตำแหน่งมีค่า 6.6×10^{-15}, The probability of excluding paternity มีค่าอยู่ระหว่าง 0.341 ถึง 0.732 และ combined probability of excluding paternity สำหรับ STR 13 ตำแหน่ง มีค่า 0.9999899

HU S.P., et al.,2005 ศึกษาวิจัยเรื่องรูปแบบสารพันธุกรรมของ STR 15 ตำแหน่งในประชากร Min Nan ภาคตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศจีน โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากประชากรจีน Hun ที่พูดภาษา Min Nan ซึ่งเป็นภาษาท้องถิ่นและอาศัยอยู่ในเทือกเขา Xi โดยที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด นำตัวอย่างมาสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี Chelex-100 และวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยการรันเจลย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ แยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเครื่อง ABI 310 Genetic Analyzer นำผลมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม GeneScan (Version 3.7) และ Genotyper (Version 3.6) software (Applied Biosystem) จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณค่าต่าง ๆ ทางสถิติ พบว่า The combine probability of identity สำหรับ STR ทั้ง 15 ตำแหน่งมีค่า 4.15×10^{-17} และ The combined PE มีค่า 0.9999992169 การกระจายตัวของ observed genotype กับ expected genotyped ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับกฎสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ค่าความแตกต่าง

ระหว่างข้อมูลประชากรจีนอื่น ๆ ที่ได้มีรายงานก่อนหน้านี้กับประชากรจีน Min Nan สามารถทดสอบโดยใช้ chi-square test (ระดับความเชื่อมั่น 0.05) ด้วยโปรแกรม SPSS 11.5 for Windows

Yuzhen G., et al., 2005 ศึกษาวิจัยเรื่องข้อมูลสารพันธุกรรมบน STR ทั้ง 15 ตำแหน่งในประชากรจีนตะวันออก โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากประชากรจำนวน 100 คนที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด นำมาสกัดดีเอ็นเอโดยวิธี Chelex เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดย AmpF*l*STR® Identifiler™ PCR amplification kits ประกอบด้วยโลคัสต่าง ๆ ดังนี้ D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, CSF1PO, TH01, D16S539, D2S1338, TPOX, D19S433 วิเคราะห์ผลด้วย ABI 310 ผลการทดลองเป็นดังตารางที่ 6 จากผลการศึกษาพบว่าทุกโลคัสมีความสอดคล้องกับกฎสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($p<0.05$) The observed heterozygosity (HE) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.88 (D21S11) ถึง 0.36 (TPOX) The power of discrimination (PD) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.954 (FGA) ถึง 0.798 (TH01), The probability of excluding paternity (PE) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.765 (D21S11) ถึง 0.376 (TPOX) การกระจายตัวของความถี่อัลลีลทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลกับประชากรเกาหลีและมาเลเซีย-จีนโดยใช้ SAS System พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบประชากรจีนตะวันออกกับประชากรเกาหลีที่โลคัสต่าง ๆ ดังนี้ TPOX (0.178), CSF1PO (0.108), D13S317 (0.388), D8S1179 (0.174), D21S11 (0.226) และ D19S433 (0.187) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างประชากรจีนตะวันออกกับประชากรมาเลเซีย-จีน พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่โลคัสต่าง ๆ ดังนี้ TH01 (0.498), D13S317 (0.705), D7S820 (0.947), D8S1179 (0.278), D16S539 (0.488), D21S11 (0.155) และ D19S433 (0.521) ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ความถี่อัลลีลและค่าทางสถิติของประชากรจีนตะวันออกบน STR ทั้ง 15 ตำแหน่ง

Allele	D3S 1358	VWA	FGA	TH01	TPOX	CSF 1PO	D5S 818	D13S 317	D7S 820	D8S 1179	D21 S11	D18 S51	D16S 539	D2S 1338	D19S 433
6	–	–	–	0.095	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
7	–	–	–	0.290	0.005	0.005	0.005	0.010	–	–	–	–	–	–	–
8	–	–	–	0.035	0.535	–	–	0.220	0.130	–	–	–	0.010	–	–
9	–	–	–	0.505	0.150	0.065	0.055	0.130	0.080	–	–	–	0.285	–	–
9.3	–	–	–	0.030	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
10	–	–	–	0.045	0.020	0.205	0.195	0.130	0.180	0.100	–	0.010	0.095	–	–
11	–	–	–	–	0.250	0.220	0.330	0.295	0.375	0.070	–	–	0.245	–	0.010
12	0.005	–	–	–	0.040	0.345	0.230	0.170	0.205	0.125	–	0.005	0.225	–	0.080
12.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.005
13	–	–	–	–	–	0.125	0.180	0.040	0.025	0.260	–	0.150	0.135	–	0.305
13.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.015	–	–	0.045
14	0.080	0.255	–	–	–	0.035	0.005	0.005	–	0.190	–	0.230	0.005	–	0.250
14.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.025	–	–	0.110
15	0.350	0.045	–	–	–	–	–	–	0.005	0.160	–	0.185	–	–	0.040
15.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.125
16	0.270	0.180	–	–	–	–	–	–	–	0.075	–	0.160	–	0.015	0.010
16.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.020
17	0.220	0.210	–	–	–	–	–	–	–	0.020	–	0.050	–	0.040	–
18	0.065	0.135	0.030	–	–	–	–	–	–	–	–	0.035	–	0.155	–
19	0.010	0.160	0.035	–	–	–	–	–	–	–	–	0.020	–	0.165	–
20	–	0.015	0.075	–	–	–	–	–	–	–	–	0.025	–	0.125	–
21	–	–	0.120	–	–	–	–	–	–	–	–	0.060	–	0.045	–
22	–	–	0.100	–	–	–	–	–	–	–	–	0.020	–	0.065	–
23	–	–	0.230	–	–	–	–	–	–	–	–	0.005	–	0.250	–
23.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.005	–	–	–	–
24	–	–	0.230	–	–	–	–	–	–	–	–	0.005	–	0.095	–
25	–	–	0.110	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.040	–
26	–	–	0.045	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
26.2	–	–	0.005	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
27	–	–	0.005	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.005	–
28	–	–	0.005	–	–	–	–	–	–	–	0.050	–	–	–	–
28.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.015	–	–	–	–
29	–	–	0.010	–	–	–	–	–	–	–	0.240	–	–	–	–
30	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.310	–	–	–	–
30.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.005	–	–	–	–
31	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.105	–	–	–	–
31.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.055	–	–	–	–
32	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.045	–	–	–	–
32.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.090	–	–	–	–
33	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.020	–	–	–	–
33.2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	0.060	–	–	–	–
PIC[a]	0.700	0.790	0.830	0.600	0.570	0.730	0.730	0.770	0.730	0.810	0.790	0.840	0.750	0.840	0.780
PD[a]	0.852	0.932	0.954	0.798	0.794	0.911	0.888	0.923	0.902	0.943	0.918	0.951	0.913	0.952	0.927
PE[a]	0.664	0.734	0.638	0.488	0.376	0.571	0.627	0.650	0.511	0.735	0.765	0.638	0.586	0.737	0.573
HE[a]	0.830	0.860	0.800	0.720	0.630	0.760	0.800	0.810	0.720	0.860	0.880	0.800	0.770	0.860	0.760
P[a]	0.103	0.930	0.771	0.812	0.745	0.902	0.864	0.012	0.578	0.669	0.794	0.667	0.659	0..224	0.725

Haijan Z., et al., 2007 ศึกษาวิจัยเรื่องการวิเคราะห์ของ STR 15 ตำแหน่งในประชากรจีนจากเสฉวนในประเทศจีนตะวันออก โดยศึกษาจากกลุ่มประชากรจีนที่อาศัยอยู่ในเสฉวนจำนวน 200 คน สกัดดีเอ็นเอโดยวิธีฟีนอล-คลอโรฟอร์ม เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ PowerPlex 16 System kit วิเคราะห์ผลโดยใช้เครื่อง ABI Prism 310 Genetic Analyzer นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติต่าง ๆ พบว่า The heterozygosity มีค่าอยู่ระหว่าง 0.560 (TPOX) ถึง 0.915 (Penta E), The power of discrimination มีค่าอยู่ระหว่าง 0.763 (TPOX) ถึง 0.983 (Penta E), The combined power of discrimination สำหรับ STR ทั้ง 15 ตำแหน่งมีค่า 0.9999999999999999, The probability of excluding paternity มีค่าอยู่ระหว่าง 0.246 (TPOX) ถึง 0.755 (Panta E), The combined probability of excluding parternity สำหรับ STR ทั้ง 15 ตำแหน่งมีค่า 0.9999994, The polymorphic information content มีค่าอยู่ระหว่าง 0.491 (TPOX) ถึง 0.913 (Panta E) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองกับประชากรกลุ่มอื่นได้แก่ เอเชีย, แอฟริกา และอเมริกา ที่ตำแหน่งเดียวกัน พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

Xudong Z., et al., 2007 ศึกษาวิจัยเรื่องข้อมูลทางพันธุกรรมบน STR ทั้ง 9 ตำแหน่งของประชากรจีนมณฑล Henan โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากประชากรจีนที่อาศัยอยู่บริเวณภาคกลางของประเทศจีน (ภาพที่ 20) จำนวน 392 ตัวอย่างโดยที่แต่ละตัวอย่างไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด นำมาสกัดสารพันธุกรรมโดยวิธี Chelex เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดย AmpF*l*STR Profiler Plus™ PCR amplification kits ซึ่งประกอบด้วยโลคัสต่าง ๆ ดังนี้ D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D3S1358, D7S820, vWA และ FGA วิเคราะห์ข้อมูลโดยเครื่อง ABI 310 Genetic Analyzer จากนั้นนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติใช้โปรแกรม Powerstat Softwaer V12, The Hardy-Weinberg equilibrium คำนวณโดยใช้ Fisher exact test

ภาพที่ 20 แผนที่ของจังหวัด Henan ในประเทศจีน
ที่มา: Xudong Z., et al. Genetic data of 9 STR loci from Henan Province (central China). Forensic Science International 2007; 169: 244-246.

จากผลการศึกษาพบว่าทุกโลคัสมีความสอดคล้องกับกฎสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ยกเว้นโลคัส vWA เท่านั้น, The observed heterozygosity (HE) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.855 (vWA) ถึง 0.732 (D3S1358), The power of discrimination (PD) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.962 (FGA) ถึง 0.875 (D3S1358), The probability of excluding paternity (PE) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.704 (vWA) ถึง 0.480 (D3S1358) (ตารางที่ 7) การกระจายตัวของความถี่อัลลีลวิเคราะห์โดยใช้ SAS System โดยเปรียบเทียบข้อมูลระหว่าง จีนตะวันออก, จีนตะวันตก, Macau, เกาหลี และมาเลย์ในประเทศมาเลเซีย ตามวิธีของ Hou เมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของความถี่อัลลีลกับจีนตะวันออก, จีนตะวันตก และมาเก๊า แล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบการกระจายตัวของความถี่อัลลีลกับชนกลุ่มน้อย Luoba ในทิเบตพบว่ามีความแตกต่างกันทุกโลคัส ยกเว้นโลคัส D7S820 ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับประชากรเกาหลีพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่โลคัส D5S818, D8S1179, D13S317, D18S51 และ D21S11 เมื่อเปรียบเทียบกับมาเลย์พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ที่โลคัส D5S818, D7S820, D8S1179, D18S51, D21S11 และ FGA

ตารางที่ 7 ความถี่อัลลีลและค่าทางสถิติบน STR ทั้ง 9 ตำแหน่งในประชากรจีน

Allele	D3S1358	VWA	FGA	D8S1179	D21S11	D18S51	D5S818	D13S317	D7S820
7							0.028	0.001	0.001
8				0.001			0.001	0.278	0.151
9							0.073	0.135	0.063
10				0.101		0.003	0.176	0.136	0.152
11	0.001			0.078		0.004	0.35	0.253	0.352
12	0.004	0.001		0.139		0.032	0.226	0.156	0.239
13	0.001	0.003		0.209		0.21	0.137	0.031	0.04
14	0.038	0.222		0.218		0.223	0.008	0.01	0.004
15	0.339	0.02		0.185		0.152			
16	0.332	0.19		0.064		0.152			
17	0.207	0.256	0.003	0.004		0.078			
18	0.071	0.189	0.018	0.001		0.028			
19	0.006	0.108	0.056			0.036			
20		0.01	0.047			0.028			
20.2			0.001						
21			0.094			0.014			
21.2			0.001						
22			0.166			0.027			
22.2			0.006						
22.3			0.001						
23			0.236			0.009			
23.2			0.013						
24			0.19			0.004			
24.2			0.005						
25			0.105			0.001			
25.2			0.005						
26			0.046						
27			0.006						
28					0.051				
28.2					0.009				
29					0.264				
29.2					0.005				
30					0.293				
30.2					0.013				
303					0.004				
31					0.091				
31.2					0.077				
32					0.028				
32.1					0.001				
32.2					0.111				
33					0.005				
33.1					0.001				
33.2					0.041				
34					0.001				
34.2					0.004				
35.2					0.001				
PIC[a]	0.68	0.77	0.84	0.81	0.79	0.83	0.74	0.77	0.73
PD[a]	0.875	0.925	0.962	0.950	0.942	0.958	0.914	0.926	0.907
PE[a]	0.480	0.704	0.669	0.659	0.587	0.674	0.491	0.615	0.568
HE[a]	0.732	0.855	0.837	0.832	0.793	0.839	0.739	0.809	0.783
P[a]	0.802	0.009	0.338	0.819	0.306	0.555	0.134	0.590	0.505

[a] PIC: polymorphic information content; PD: power of discrimination; PE: power of exclusion; HE: observed heterozigosity; P: Hardy–Weinberg equilibrium, exact test.

Bofeng Z., et al., 2008 ศึกษาวิจัยเรื่องการวิเคราะห์บน STR 15 ตำแหน่งของประชากรจีนที่เป็นชนกลุ่มน้อย โดยศึกษาจากกลุ่มตัวอย่างจำนวน 151 คน ที่เป็นชนกลุ่มน้อยที่อาศัยอยู่ในเซียงไฮ ของประเทศจีน สกัดดีเอ็นเอโดยใช้ Chelex เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้ AmpFlSTR Identifiler kit วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง ABI 3130 DNA Genetic Analyzer นำผลที่มาวิเคราะห์ค่าทางสถิติต่าง ๆ พบว่า ความถี่อัลลีลมีค่าอยู่ระหว่าง 0.0033 ถึง 0.5359, ทุกโลคัสมีค่า polymorphic สูง โดยที่ D2S1338 มีค่า polymorphic สูงที่สุดและ TPOX มีค่า polymorphic ต่ำสุด, The power of discrimination มีค่าอยู่ระหว่าง 0.7736 (TPOX) ถึง 0.9572 (D2S1338), The power of exclusion มีค่าอยู่ระหว่าง 0.4067 (TPOX) ถึง 0.8454 (D18S51), The combined probability of exclusion มีค่า 0.999999997, The combined power of discrimination มีค่า 0.99999999999999996, Probability of matching สำหรับ STR 15 ตำแหน่งมีค่า 3.948×10^{-17} เมื่อเปรียบเทียบการกระจายตัวของอัลลีลกับประชากรจีน Dongxiang และ Salar ที่อาศัยอยู่ในจังหวัด Qinghai ประเทศจีนพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับประชากรจีน Han ที่อาศัยอยู่ในจังหวัด Gongdong พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ตำแหน่ง vWA (p=0.028), เปรียบเทียบกับประชากรจีน Hui พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ตำแหน่ง TPOX (p<0.001), ชนกลุ่มน้อย Miao พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ตำแหน่ง D3S1358 (p<0.001), D13S317 (p=0.013) และ vWA (p=0.041) เปรียบเทียบกับชนกลุ่มน้อย Uigur พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ตำแหน่ง TH01 (p=0.004) เปรียบเทียบกับประชากรเกาหลีพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ตำแหน่ง D21S11 (p<0.001), TH01 (p=0.030) และ vWA (p=0.046) เปรียบเทียบกับประชากรเวเนซุเอลาพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ตำแหน่ง D7S820 (p=0.041), TH01 (p<0.001), D13S317 (p<0.001), D2S1338 (p<0.001), D19S433 (p<0.001), vWA (p<0.001), TPOX (p=0.001) และ FGA (p=0.004)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

1. ตัวอย่าง

ตัวอย่างเลือดจากคนจีนที่ทำงานในประเทศไทยซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด จำนวน 39 ตัวอย่าง โดยได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยนิติเซโรวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างระหว่างเดือนมีนาคม 2549 ถึงเดือนเมษายน 2550

2. วัสดุอุปกรณ์

2.1 เครื่องมือ

2.2.1 Microcentrifuge tube, 1.5 มิลลิลิตร

2.2.2 PCR tube, 0.5 มิลลิลิตร

2.2.3 Beakers, Flasks, Volumetric flasks, Cylinders, Reagent bottle

2.2.4 Disposable gloves

2.2.5 Microcentrifuge tube racks

2.2.6 Parafilm

2.2.7 autopipettes

2.2.8 water bath

2.2.9 Microcentrifuge

2.2.10 Autoclave

2.2.11 Freezer -30 $^{\circ}$C

2.2.12 Refrigerator 4 $^{\circ}$C

2.2.13 Microwave

2.2.14 Spectrophotometer

2.2.15 Quartz cuvettes

2.2.16 Vortex

2.2.17 Transilluminator

2.2.18 Thermal cycler

2.2.19 Power supply

2.2.20 Hot plate with magnetic field, stirring-magnetic bar

2.2 สารเคมี

2.2.1 Tris hydroxymethyl aminomethane

2.2.2 Sodium hydroxide

2.2.3 Ethylenediamine tetraacetic acid, disodiumsalt dehydrate; EDTA

2.2.4 Sodium Chloride

2.2.5 Absolute ethanol

2.2.6 Agarose

2.2.7 Boric acid

2.2.8 Ethidium bromide

2.2.9 QIAamp® DNA Mini kit

2.2.10 AmpF*l*STR® Identifiler PCR Amplification Kit

3. สถานที่ทำการวิจัย

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร และหน่วยนิติเซโรวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. วิธีทำการทดลอง

4.1 เก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากประชากรจีนที่เข้ามาทำงานในประเทศไทย

4.2 การสกัดดีเอ็นเอจากเลือดโดยวิธี QIAamp® DNA Mini kit โดยนำตัวอย่างเลือดมาแยกเม็ดเลือดขาวก่อนดังนี้

4.2.1 เติมสารลิมโฟเปป (lymphoprep) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในหลอด สำหรับปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ขนาด 15 มิลลิลิตร

4.2.2 ค่อย ๆ เติมตัวอย่างเลือดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทับลงบนลิมโฟเปป

4.2.3 นำไปปั่นที่ 2500 x g เป็นเวลา 10 นาที สังเกตชั้นรอยต่อระหว่าง ลิมโฟเปปกับพลาสมา (plasma) จะเป็นสีขาวเรียกว่าบัฟฟีโคต (buffy coat) ซึ่งจะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาว

4.2.4 ดูดเก็บบัฟฟีโคดใส่ลงในหลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube) ใหม่ แล้วนำมาปั่นตกตะกอนที่ 2500 x g อีกครั้ง

4.2.5 ดูดเอาสารละลายส่วนบนทิ้ง ให้เหลือไว้แต่เพียงบัฟฟีโคดจากนั้นเติม PBS ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากับเม็ดเลือดขาว

4.2.6 เติมบัฟฟีโคดปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงใน microcentrifuge tube จากนั้นเติม Protinate K ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการใช้ไมโครปิเปต (micropipette) ดูดขึ้นลงหลาย ๆ ครั้ง

4.2.7 หากต้องการย่อยสลายอาร์เอ็นเอให้เติม RNase (100 mg/mL) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการใช้ไมโครปิเปตดูดขึ้นลงหลาย ๆ ครั้ง

4.2.8 เติม buffer AL ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยนำไป vortex เป็นเวลา 15 วินาที แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 56°C นาน 10 นาที สารละลายในหลอดจะหนืดขึ้น

4.2.9 เติมเอทานอลปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยนำไป vortex เป็นเวลา 15 นาที

4.2.10 ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ลงใน QIAamp spin column แล้วนำไปปั่นที่ 6000 x g เป็นเวลา 1 นาที

4.2.11 นำ column ใส่ลงใน collection tube ใหม่ เติม buffer AW1 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงใน column แล้วนำไปปั่นที่ 6000 x g เป็นเวลา 1 นาที

4.2.12 นำ column ใส่ลงใน collection tube ใหม่ เติม AW2 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงใน column แล้วนำไปปั่นที่ 20,000 x g เป็นเวลา 3 นาที

4.2.13 นำ column ใส่ลงใน microcentrifuge tube ใหม่ เติม buffer AE หรือน้ำกลั่นไร้เชื้อปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปปั่นที่ 6000 x g นาน 1 นาที จะได้สารละลายดีเอ็นเอ

4.2.14 เก็บสารละลายดีเอ็นเอไว้ที่ -20°C

4.3 การตรวจคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดโดยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (Gel Electrophoresis)

4.3.1 เตรียม 1% อะกาโรส โดยการชั่งอะกาโรส 1 กรัม ผสมลงใน 1X TBE 100 mL อุ่นให้อะกาโรสหลอมละลายแล้วเทลงถาดสำหรับเตรียมอะกาโรสเจล (agarose chamber) ทิ้งให้แข็งตัว

4.3.2 นำสารละลายดีเอ็นเอที่เตรียมได้ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมกับ loading dry ปริมาตร 2 มิลลิลิตร อาจผสมกับน้ำกลั่นไร้เชื้ออีก 2-5 มิลลิลิตร เพื่อเจือจาง แล้วค่อย ๆ หยอด

สารละลายดีเอ็นเอลงในช่องบนอะกาโรสเจลที่อยู่ใน eletrophoresis chamber ที่มี 1X TBE เป็นตัวนำกระแสไฟฟ้า

4.3.3 ใช้ λDNA/*Hind*III เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานเพื่อประมาณขนาดของดีเอ็นเอที่วิ่งบนอะกาโรสได้

4.3.4 รันที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 20 นาที

4.3.5 นำอะกาโรสเจลที่ได้มาย้อมสารละลายเอธิเดียมโบรไมด์ 20 mg/mL เป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างโดยนำไปแช่ในน้ำนาน 2 นาที

4.3.6 นำมาส่องดูด้วยเครื่อง UV transluminator

4.3.7 เปรียบเทียบความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอที่สกัดได้กับความเข้มข้นของ λDNA/*Hind*III

4.3.8 คำนวณความเข้มข้นของดีเอ็นเอตามสัดส่วนเมื่อเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน

4.4 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค PCR โดยใช้ชุด AmpF*l*STR® Identifiler™ PCR Amplification Kit

4.4.1 นับจำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่จะทดสอบรวมทั้งตัวอย่างควบคุม positive control และ negative control

4.4.2 นำสารใส่ชุดทดสอบมาเขย่าโดยใช้เครื่อง vortex เป็นเวลา 5 วินาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงเล็กน้อยเพื่อให้หยดน้ำที่ฝาตกลงมา

4.4.3 เตรียม master mix ใส่ลงใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 mL ซึ่งประกอบด้วย

จำนวนตัวอย่าง x AmpF*l*STR® PCR Reaction Mix	ปริมาตร 10.5 μL
จำนวนตัวอย่าง x AmpliTaq Gold® DNA polymerase	ปริมาตร 0.5 μL
จำนวนตัวอย่าง x AmpF*l*STR Identifiler Primer Set	ปริมาตร 5.5 μL

4.4.4 นำไปผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นดูด master mix 15 μL ใส่ลงใน PCR tube เท่ากับจำนวนตัวอย่าง

4.4.5 ปริมาตรสุดท้ายในแต่ละหลอด PCR tube มีปริมาตร 25 μL ดังนั้นในหลอดต้องเติมตัวอย่างดีเอ็นเอ 10 μL (0.05-0.125 ng/μL) ในหลอด positive control เติม AmpFlSTR control DNA 99474 (0.1 ng/μL) 10 μL ในแต่ละหลอด และในหลอด negative control เติมบัฟเฟอร์ 10 μL จากนั้นนำ PCR tube ที่ได้ใส่เครื่อง Thermal cycler ตั้งโปรแกรมการทำงานของเครื่องโดยใช้สภาวะดังนี้

PCR cycle

1^{st} denaturation	95°C	นาน	10	นาที
denaturation	94°C	นาน	1	นาที
annealing	59°C	นาน	1	นาที
extension	70°C	นาน	1	นาที
final extension	60°C	นาน	60	นาที

4.5 นำผลผลิตพีซีอาร์ส่งรันบน capillary gel โดยเครื่อง ABI 310 genetic analyzer ที่หน่วยนิติเซโรวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงณ์มหาวิทยาลัย

4.6 วิเคราะห์ความถี่อัลลีลของตัวอย่างโดยคำนวณค่าทางสถิติต่าง ๆ ดังนี้

4.6.1 ความถี่อัลลีล (allele frequency) สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{ความถี่อัลลีล} = \frac{\text{จำนวนอัลลีลที่นับได้}}{\text{จำนวนอัลลีลทั้งหมด}}$$

4.6.2 Heterozygote คือลักษณะของอัลลีล 2 อัลลีลที่มีแตกต่างกันซึ่งอยู่บนโลคัสเดียวกัน ส่วน Homozygosity คือลักษณะของอัลลีล 2 ตัวที่เหมือนกันซึ่งอยู่บนโลคัสเดียวกัน Observed heterozygosity คือค่าที่กลุ่มประชากรทั้งหมดมีอัลลีลแบบ heterozygous โดยได้จากการทดลอง ได้ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$h = n_h/n$$

โดยที่ h คือ Heterozygosity, n_h คือ จำนวนของอัลลีลที่เป็น heterozygote, n คือ จำนวนของอัลลีลทั้งหมด เมื่อทราบค่า Observed heterozygosity ก็จะสามารถทราบค่าของ Observed homozygosity เช่นกัน เพราะค่าทั้งสองตัวนี้เมื่อนำมารวมกันแล้วจะมีค่าเท่ากับ 1

$$H + h = 1$$

The expected homozygosity สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{Expected Homozygosity (H)} = \sum_{i=1}^{n} Pi^2$$

4.6.3 The expected heterozygosity คือค่าตามทฤษฎีที่กลุ่มประชากรทั้งหมดน่าจะมีอัลลีลแบบ heterozygous สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{Expected Heterozygosity (h)} = 1 - \sum_{1}^{n} Pi^2$$

โดยที่ Pi คือ ความถี่อัลลีลของประชากร

4.6.4 The power of exclusion (PE) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการขจัดบุคคลที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันออกจากกัน นอกจากนี้ยังสามารถบ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือในการหาความสัมพันธ์พ่อ-แม่-ลูกได้อีกด้วย ซึ่งสามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{Power of exclusion} = H^2(1-(1-H)H^2)$$

โดยที่ H คือ Expected heterozygosity

The combine power of exclusion คือค่าที่บ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของความสามารถในการแยกบุคคลของระบบที่ใช้ทั้งระบบว่ามีความน่าเชื่อถือมากน้อยเพียงใด ซึ่งสามารถคำนวณได้จาก

$$\text{The combine power of exclusion} = 1-\prod_{i=1}^{n}(1-PE_i)$$

โดยที่ n คือ จำนวนของโลคัสที่นำมาตรวจทั้งระบบ

$\prod$ คือเครื่องหมายของการคูณกันของแต่ละตำแหน่ง

4.6.5 The power of matching หรือ The probability of matching (PM) คือค่าที่บ่งบอกถึงความน่าจะเป็นที่จะสามารถพบบุคคลสองคนที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดมีลายพิมพ์ ดีเอ็นเอเหมือนกัน ซึ่งค่าที่ต่ำแสดงว่าความสามารถในการแยกบุคคลของโลคัสตำแหน่งนั้นมีความสามารถสูงในการแยกบุคคลสองคนออกจากกัน โดยสามารถคำนวณได้จาก

4.6.6 The power of discrimination (PD) คือค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการแยกบุคคลสองคนที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันออกจากกัน สามารถคำนวณได้จาก

$$\text{Power of discrimination} = 1\text{-}2\left(\sum_{1}^{n} Pi^2\right)^2 - \sum_{1}^{n} Pi^4$$

โดยที่ Pi = ความถี่อัลลีลของประชากร

The combine power of discrimination คือค่าที่บ่งบอกถึงความน่าเชื่อถือของความสามารถในการแยกบุคคลของระบบที่ใช้ทั้งระบบว่ามีความน่าเชื่อถือมากน้อยเพียงใด ซึ่งสามารถคำนวณได้จาก

$$\text{The combine power of discrimination} = 1-\prod_{i=1}^{n}(1-PD_i)$$

โดยที่ n คือ จำนวนของโลคัสที่นำมาตรวจทั้งระบบ

$\prod$ คือเครื่องหมายของการคูณกันของแต่ละตำแหน่ง

4.6.7 The polymorphism information content (PIC) คือค่าที่บ่งบอกถึงความหลากหลายของอัลลีลในประชากร ณ โลคัสตำแหน่งนั้น ๆ สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$\text{PIC} = 1-\sum_{1}^{n} Pi^2 - (\sum_{1}^{n} Pi^2)^2 + \sum_{1}^{n} Pi^4$$

โดยที่ Pi = ความถี่อัลลีลของประชากร

4.6.8 Paternity Index คือค่าแสดงสัดส่วนของการเป็นพ่อเทียบกับไม่ใช่พ่อ สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$PI = \frac{(H+h)}{2H}$$

โดยที่ H คือความถี่ของ homozygote

h คือความถี่ของ heterozygote

4.6.9 คำนวณค่าไค-สแควร์ (chi-square, χ^2) เพื่อใช้ในการทดสอบสมมติฐานได้ทั้งความแตกต่างของประชากร 2 กลุ่ม โดยใช้โปรแกรม SPSS 11.5 ซึ่งมีสูตรในการคำนวณดังนี้

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^{k} \left(\frac{O_i - E_i}{E_1} \right)^2$$

เมื่อ χ^2 แทน ไคสแควร์

O_i แทน Observed frequency หรือความถี่ที่สังเกตได้ประเภท i

E_i แทน Expected frequency หรือความถี่คาดหวังตามทฤษฎีประเภท i

สมมติฐาน

H0: ความถี่อัลลีลของประชากร 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน

H1: ความถี่อัลลีลของประชากร 2 กลุ่มแตกต่างกัน

ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ถ้าเซลล์ที่มีค่าความถี่คาดหวัง (Expected frequency) น้อยกว่า 5 มีจำนวนเซลล์คิดเป็นจำนวนที่มากกว่า 20% ของเซลล์ทั้งหมด หรือ ความถี่คาดหมายต่ำสุดเกิน 1 แล้ว จะไม่นิยมใช้ค่าไคสแควร์ ตามวิธีเปียร์สัน ดังนั้นถ้าจะต้องมีการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรโดยใช้ค่าไคสแควร์ตามวิธีเปียร์สันจึงควรเก็บข้อมูลให้มีจำนวนตัวอย่างเพิ่มมากขึ้น เพื่อทำให้ความถี่คาดหวังที่มีค่าน้อยกว่า 5 มีจำนวนเซลล์ไม่เกิน 20% ของเซลล์ทั้งหมด หรือในกรณีที่มีข้อจำกัด ผู้วิจัยไม่สามารถเก็บข้อมูลตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีกได้ ผู้วิจัยจำเป็นต้องเปลี่ยนค่าสถิติในการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรเป็นสถิติตัวอื่นได้คือการใช้ Fisher's Exact test ในการเปรียบเทียบ

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การศึกษาความถี่อัลลีลบน STR 15 ตำแหน่งในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย

เมื่อวิเคราะห์ค่าความถี่อัลลีลจากกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยจำนวน 39 ตัวอย่าง พบว่าตำแหน่งที่มีรูปแบบของอัลลีลมากที่สุด คือตำแหน่ง FGA พบรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 14 รูปแบบ ตำแหน่ง D18S51 และ D2S1338 พบรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 10 รูปแบบ ตำแหน่ง D21S11 และ D19S433 พบรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 9 รูปแบบ ตำแหน่ง D8S1179 พบรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 8 รูปแบบ ตำแหน่ง D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, vWA และ D5S818 พบรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 6 รูปแบบ ตำแหน่ง D16S539 พบรูปแบบอัลลีลทั้งหมด 5 รูปแบบ และตำแหน่ง TPOX พบรูปแบบอัลลีลน้อยที่สุด คือ 5 รูปแบบ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 8

จากตารางที่ 8 เมื่อพิจารณาค่าความถี่อัลลีลพบว่าในแต่ละตำแหน่งมีอัลลีลที่มีความถี่สูงสุดเป็นดังนี้ ตำแหน่ง D8S1179 พบอัลลีล 15 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.20513 ตำแหน่ง D21S11 พบอัลลีล 29 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.26923 D7S820 พบอัลลีล 11 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.35897 ตำแหน่ง CSF1PO พบอัลลีล 12 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.39744 ตำแหน่ง D3S1358 พบอัลลีล 16 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.34615 ตำแหน่ง THO1 พบอัลลีล 9 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.53846 ตำแหน่ง D13S317 พบอัลลีล 8 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.28205 ตำแหน่ง D16S539 พบอัลลีล 9 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.26923 ตำแหน่ง D2S1338 พบอัลลีล 19 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.23077 ตำแหน่ง D19S433 พบอัลลีล 14 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.29487 ตำแหน่ง vWA พบอัลลีล 14 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.26923 ตำแหน่ง TPOX พบอัลลีล 8 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.61538 ตำแหน่ง D18S51 พบอัลลีล 14 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.24359 ตำแหน่ง D5S818 พบอัลลีล 11 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.30769 และตำแหน่ง FGA พบอัลลีล 22 มีค่าความถี่มากที่สุดคือ 0.21795

ตารางที่ 8 ความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยบน STR 15 ตำแหน่ง

Allele	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	THO1	D13S317
6						0.08974	
7						0.19231	
8			0.21795			0.05128	**0.28205**
9			0.03846	0.02564		**0.53846**	0.14103
9.3						0.05128	
10	0.11538		0.19231	0.15385		0.07692	0.16667
11	0.14103		**0.35897**	0.25641			0.25641
12	0.08974		0.15385	**0.39744**			0.12821
13	0.16667		0.03846	0.14103			0.02564
13.2							
14	0.17949			0.02564	0.02564		
14.2							
15	**0.20513**				0.33333		
15.2							
16	0.08974				**0.34615**		
16.2							
17	0.01282				0.17949		
18					0.10256		
19					0.01282		
28		0.06410					
29		**0.26923**					
30		0.14103					
30.2		0.02564					
31		0.15385					
31.2		0.06410					
32		0.05128					
32.2		0.17949					
33.2		0.05128					
H_{obs}	0.87179	0.82051	0.71795	0.53846	0.82051	0.71795	0.69231
H_{exp}	0.84845	0.83761	0.76003	0.73143	0.72551	0.65385	0.78994
PD	0.94979	0.93996	0.86403	0.82551	0.82146	0.67481	0.89966
PE	0.69337	0.68024	0.54212	0.50105	0.48390	0.43822	0.58611
PIC	0.82977	0.81853	0.72323	0.68952	0.67802	0.61957	0.75790
PM	0.05021	0.06004	0.13597	0.17449	0.17854	0.32519	0.10034
PI	3.29935	3.07895	2.08356	1.86169	1.82156	1.44444	2.38028
P	0.988	0.475	0.958	0.967	0.962	0.553	0.994

H_{obs}: Observed heterozygosity; H_{exp}: Expected heterozygosity; PD: Power of discrimination; PE: Power of exclusion; PIC : Polymorphism; PM : The power of matching; PI: Paternity index; P-value of the exact tests for Hardy-Weinberg equilibrium

ตารางที่ 8 ความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยบน STR 15 ตำแหน่ง (ต่อ)

Allele	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA
6								
7							0.03846	
8					**0.61538**			
9	**0.26923**				0.10256		0.07692	
9.3								
10	0.15385				0.01282		0.24359	
11	0.25641				0.26923		**0.30769**	
12	0.15385		0.05128			0.06410	0.16667	
13	0.16667		0.28205			0.14103	0.16667	
13.2			0.01282					
14			**0.29487**	**0.26923**		**0.24359**		
14.2			0.05128					
15			0.03846	0.05128		0.15385		
15.2			0.24359					
16		0.02564	0.01282	0.19231		0.10256		
16.2			0.01282					
17		0.03846		0.25641		0.14103		
18		0.14103		0.17949		0.05128		0.02564
19		**0.23077**		0.05128		0.02564		0.07692
20		0.05128						0.06410
21		0.02564				0.06410		0.07692
21.2								0.02564
22		0.06410						**0.21795**
23		0.17949				0.01282		0.19231
23.2								0.01282
24		0.16667						0.15385
24.2								0.01282
25		0.07692						
25.2								0.06410
26								0.01282
27								0.05128
28								0.01282
H_{obs}	0.84615	0.84615	0.71795	0.76923	0.46154	0.87179	0.92308	0.88462
H_{exp}	0.78665	0.85141	0.76693	0.78731	0.53813	0.85503	0.78304	0.86719
PD	0.89750	0.95074	0.87393	0.89753	0.42458	0.95294	0.89179	0.96043
PE	0.57593	0.70403	0.55227	0.58037	0.28323	0.71140	0.57652	0.73693
PIC	0.75261	0.83444	0.73003	0.75407	0.47359	0.83904	0.75003	0.85385
PM	0.10250	0.04926	0.12607	0.10247	0.57542	0.04706	0.10821	0.03957
PI	2.34361	3.36504	2.14528	2.35085	1.08256	3.44898	2.30455	3.76485
P	0.693	0.701	0.213	0.934	0.990	0.833	0.996	0.328

H_{obs}: Observed heterozygosity; H_{exp}: Expected heterozygosity; PD: Power of discrimination; PE: Power of exclusion; PIC : Polymorphism; PM : The power of matching; PI: Paternity index; P: P-value of the exact tests for Hardy-Weinberg equilibrium

2. การคำนวณค่าต่าง ๆ ทางสถิติ

การคำนวณค่าต่าง ๆ ทางสถิติบน STR 15 ตำแหน่งของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย แสดงดังตารางที่ 8 พบว่าประชากรทั้งหมดมีค่า Expected heterozygosity (H_{exp}) ซึ่งเป็นค่าตามทฤษฎีที่กลุ่มประชากรน่าจะมีอัลลีลแบบ heterozygous อยู่ในช่วงระหว่าง 0.53813 (TPOX) ถึง 0.86719 (FGA) เฉลี่ยแล้วมีค่า 0.77216 แต่เมื่อคำนวณค่าที่ได้จากการทดลองพบว่ากลุ่มประชากรมีอัลลีลแบบ heterozygous (Observed heterozygosity, H_{obs}) อยู่ระหว่าง 0.46154 (TPOX) ถึง 0.92308 (D5S818) เฉลี่ยแล้วมีค่า 0.76666 ซึ่งถือว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง

ค่า Power of discrimination (PD) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการแยกแยะบุคคลสองคนออกจากกัน พบว่าตำแหน่ง TPOX เป็นตำแหน่งที่มีประสิทธิภาพต่ำสุดเพียง 0.42458 ส่วน FGA เป็นตำแหน่งที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดถึง 0.96043 ซึ่งแต่ละโลคัสนั้นจะมีประสิทธิภาพไม่เท่ากัน หากเลือกใช้เพียงโลคัสใดโลคัสหนึ่ง อาจทำให้ระดับความเชื่อมั่นไม่สูงเพียงพอที่จะทำให้แน่ใจว่าการแยกบุคคลสองคนออกจากกันได้เด็ดขาดหรือไม่ จึงจำเป็นต้องใช้ตำแหน่งโลคัสมากขึ้น เมื่อคำนวณค่า The combined power of discrimination ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการแยกแยะบุคคลสองคนออกจากกันโดยคำนึงถึงความสามารถของการตรวจสอบทั้งระบบ พบว่าเมื่อเพิ่มจำนวนโลคัสมากขึ้นเป็น 15 ตำแหน่ง ทำให้ระดับความเชื่อมั่นในการแยกแยะบุคคลสองคนมาออกจากกันมีความน่าเชื่อถือมากถึง 0.999999

ค่า The power of matching หรือ The probability of matching (PM) ซึ่งเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความน่าจะเป็นที่จะสามารถพบบุคคลสองคนที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดมีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกัน จากผลการทดลองจะเห็นว่าตำแหน่ง TPOX (0.57542) เป็นตำแหน่งที่มีโอกาสมากที่สุดที่จะพบบุคคลที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกัน ส่วนตำแหน่ง FGA (0.03957) เป็นตำแหน่งที่มีโอกาสน้อยที่สุดที่จะพบบุคคลสองคนที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกัน คือ เมื่อพิจารณาค่า PD และ ค่า PM ร่วมกันจะพบว่าค่าทั้งสองนั่นมีความสัมพันธ์กันแบบผกผัน นั่นคือ หากตำแหน่งใดมีค่า PM น้อย ตำแหน่งนั้นก็จะมีค่า PD มาก ย่อมหมายความว่าตำแหน่งนั้นมีโอกาสน้อยที่จะพบบุคคลสองคนมีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกัน และแสดงถึงความมีประสิทธิภาพในการแยกแยะบุคคลออกจากกันได้มาก ดังนั้นค่า PM และ PD จึงเป็นค่าที่มีประโยชน์สำหรับงานตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอเนื่องจากช่วยสร้างความเชื่อมั่นในผลการตรวจพิสูจน์ยืนยันตัวบุคคล

ค่า Power of exclusion (PE) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการขจัดบุคคลสองคนที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันออกจากกัน ส่วนใหญ่จะใช้ในการตรวจความสัมพันธ์ทางสายเลือด เพื่อบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการตรวจในกรณีตรวจพิสูจน์บุตรสามารถใช้ขจัดบุคคลซึ่ง

ไม่ใช่พ่อหรือแม่ออกไปได้ จากการศึกษาพบว่าตำแหน่ง TPOX เป็นตำแหน่งที่มีประสิทธิภาพต่ำสุดซึ่งมีค่าเพียง 0.28323 ส่วนตำแหน่ง FGA เป็นตำแหน่งที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดถึง 0.73693 (FGA) เพื่อสร้างความเชื่อมั่นให้มากยิ่งขึ้นก็จะคำนวณค่า The combined power of exclusion ซึ่งเป็นที่บ่งบอกความสามารถในการแยกแยะบุคคลสองคนออกจากกันโดยคำนึงถึงความสามารถของการขจัดบุคคลสองคนออกจากกันทั้งระบบ พบว่าเมื่อใช้โลคัสทั้ง 15 ตำแหน่งในการตรวจสอบทำให้มีค่าความน่าเชื่อถือถึง 0.999998 ซึ่งทำให้ระบบการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น

ค่า Paternity index (PI) คือค่าที่ใช้คัดกรองพ่อแม่ที่แท้จริง พบว่ามีค่าตำแหน่ง TPOX (1.08256) มีค่าต่ำสุด ส่วนตำแหน่ง FGA (3.76485) มีค่าสูงสุด สังเกตได้ว่าตำแหน่งที่มีค่า PE และ PI น้อยที่สุดและมากที่สุดเป็นตำแหน่งเดียวกัน แสดงว่าค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กัน ดังนั้นตำแหน่งที่เหมาะสำหรับนำมาใช้ในการตรวจความสัมพันธ์ทางสายเลือดน้อยที่สุดคือตำแหน่ง TPOX และ FGA เป็นตำแหน่งที่เหมาะสำหรับนำมาใช้ในการตรวจความสัมพันธ์ทางสายเลือดมากที่สุด

ค่า The Polymorphism information content (PIC) เป็นค่าที่บ่งบอกถึงความหลากหลายของอัลลีลในประชากร ณ โลคัสตำแหน่งนั้น ๆ พบว่าตำแหน่ง TPOX เป็นตำแหน่งที่มีความหลากหลายของอัลลีลต่ำสุดเพียง 0.47359 ส่วนตำแหน่ง FGA เป็นตำแหน่งที่มีความหลากหลายของอัลลีลสูงสุดถึง 0.85385 เมื่อพิจารณาค่า PIC ร่วมกับ Heterozygosity ซึ่งสองค่านี้เป็นค่าที่สามารถบ่งบอกถึงความหลากหลายของอัลลีลได้เช่นเดียวกัน หากทั้งสองค่านี้มีค่าสูงเหมือนกัน จะแสดงถึงความน่าเชื่อถือในการนำตำแหน่งนั้นมาใช้ประโยชน์ ซึ่งจะช่วยในการตัดสินใจในการตัดสินใจเลือกตำแหน่งโลคัสที่เหมาะสมในการนำมาตรวจเอกลักษณ์บุคคลได้

3. เปรียบเทียบความแตกต่างของความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับกลุ่มประชากรอื่น

การเปรียบเทียบความแตกต่างของความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรกลุ่มอื่นที่เคยมีรายงานมาก่อน โดยเปรียบเทียบกับประชากรไทยในงานวิจัยของ Rerkamnuaychoke B., et al, 2006 จำนวน 210 คน เปรียบเทียบกับประชากรจีนเสฉวนในงานวิจัยของ Haijan Z., et al, 2007 จำนวน 200 คน และเปรียบเทียบกับประชากรแอฟริกาใต้ในงานวิจัยของ Akira K., et al, 2007 จำนวน 98 คน

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบความแตกต่างของความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรกลุ่มอื่นโดยแสดงเป็น ค่า p-value

Locus	Chinese-Thai[a]	Chinese-Sichuan[b]	Chinese-South Africa[c]
D8S1179	0.971	0.361	**0.000**
D21S11	0.203	0.434	**0.000**
D7S820	0.874	0.357	**0.009**
CSF1PO	0.356	0.182	**0.001**
D3S1358	0.891	0.210	0.287
THO1	0.079	0.253	**0.000**
D13S317	0.971	0.981	**0.000**
D16S539	0.588	0.261	0.299
D2S1338	0.120	-	**0.000**
D19S433	0.335	-	**0.000**
vWA	0.452	0.876	**0.000**
TPOX	0.716	0.953	**0.000**
D18S51	**0.003**	0.252	**0.000**
D5S818	0.658	0.635	**0.000**
FGA	**0.029**	**0.002**	**0.001**

p value < 0.05 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จากตารางที่ 9 เมื่อเปรียบเทียบความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรไทย พบว่าตำแหน่ง D18S518 และ FGA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05) แสดงว่าตำแหน่งทั้งสองมีความเหมาะสมในการนำมาใช้จัดจำแนกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยออกจากประชากรไทยได้ สาเหตุที่ประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรไทยไม่มีความแตกต่างกันมากนัก อาจเนื่องจากประชากรทั้งสองมีความใกล้ชิดกันมาก อาศัยอยู่ในบริเวณใกล้เคียง การเกิดการแปรผันทางพันธุกรรมให้มีความใกล้ชิดกันมากขึ้นย่อมมีโอกาสสูง

เมื่อเปรียบเทียบความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรจีนเสฉวนในประเทศจีน พบว่าตำแหน่ง FGA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05) จะเห็นได้ว่าถึงแม้จะเป็นคนเชื้อชาติเดียวกันก็สามารถมีความแตกต่างกันได้ในบางโลคัส เนื่องจากว่า ตำแหน่ง FGA นั้นเป็นตำแหน่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอื่น

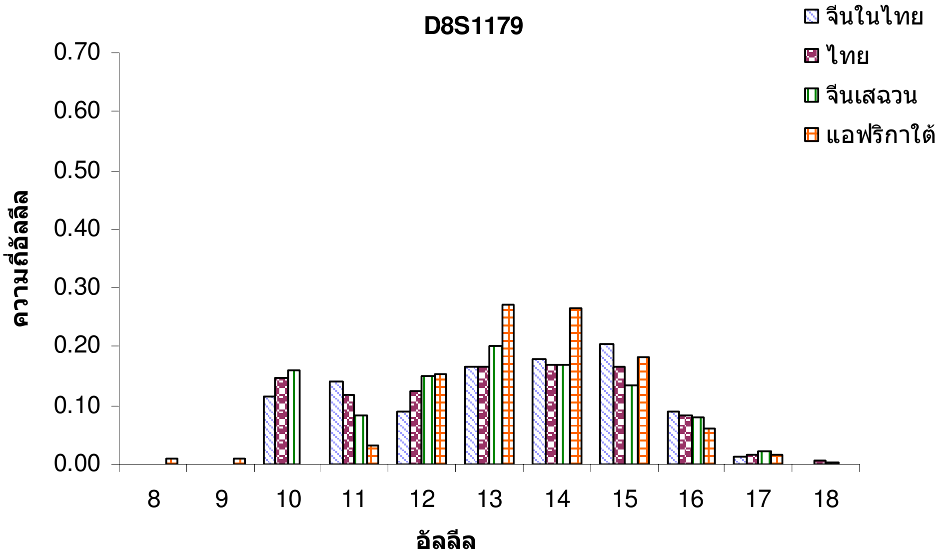
เมื่อเปรียบเทียบความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรแอฟริกาใต้ ประเทศแอฟริกา พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05) ในทุก

ตำแหน่ง ยกเว้นตำแหน่ง D3S1358 และ D2S1388 เท่านั้น เนื่องจากความแตกต่างกันทางเผ่าพันธุ์และพื้นที่อาศัยอยู่ห่างไกลกันมาก ยากต่อการเกิดการแปรผันทางพันธุกรรมให้มีความใกล้ชิดกัน

4. เปรียบเทียบการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรกลุ่มอื่น

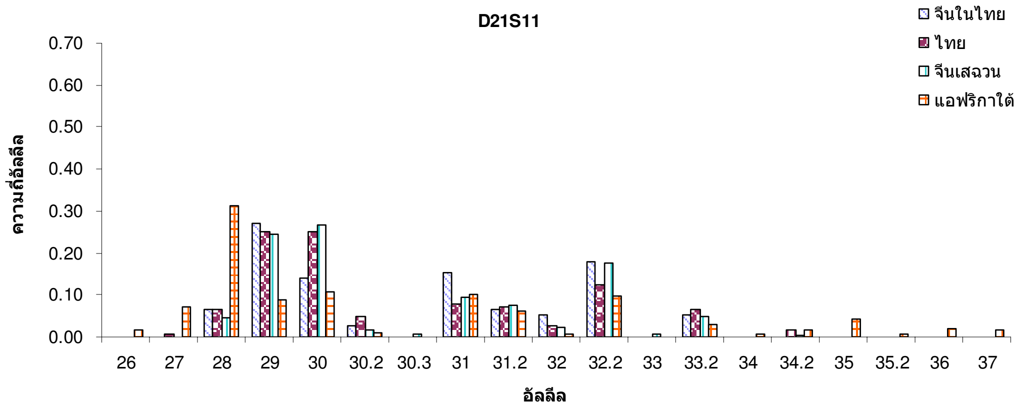
การกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ มีความแตกต่างกันดังนี้

ตำแหน่ง D8S1179 พบว่ารูปแบบอัลลีล 8 และ 9 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรแอฟริกาใต้ และไม่พบรูปแบบอัลลีล 10 ในประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นอาจสามารถนำรูปแบบอัลลีล 8, 9 และ 10 บนตำแหน่ง D8S1179 มาใช้ประกอบในการพิจารณาแยกประชากรแอฟริกาใต้ออกจากประชากรประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวนได้ รูปแบบอัลลีล 18 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรแอฟริกาใต้ แต่พบในประชากรไทยและประชากรจีนเสฉวน ดังนั้นอาจสามารถนำรูปแบบอัลลีล 18 มาใช้ประกอบการพิจารณาแยกประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวนออกจากประชากรประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรแอฟริกาใต้ได้ (แผนภูมิที่ 1)



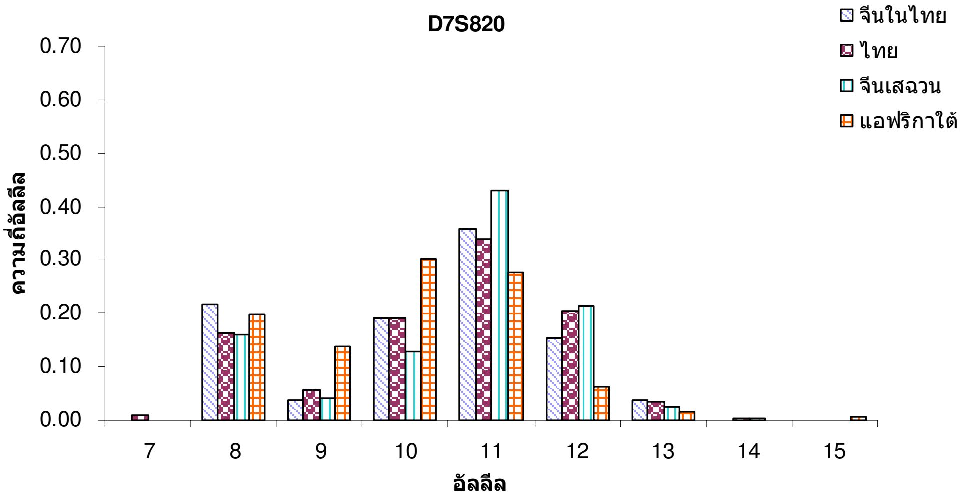
แผนภูมิที่ 1 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บน ตำแหน่ง D8S117

ตำแหน่ง D21S11 พบว่ารูปแบบอัลลีล 26, 35, 35.2, 36 และ 37 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นอาจนำรูปแบบอัลลีล 26, 35, 35.2, 36 และ 37 บนตำแหน่ง D21S11 มาใช้ประกอบในการพิจารณาแยกประชากรดังกล่าวออกจากประชากรแอฟริกาใต้ได้ รูปแบบอัลลีล 27 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย และประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรไทย และประชากรแอฟริกาใต้ รูปแบบอัลลีล 34.2 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยแต่พบในประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 34.2 บนตำแหน่ง D21S11 อาจสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาแยกประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยออกจากประชากรประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ได้ (แผนภูมิที่ 2)



แผนภูมิที่ 2 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง D2S11

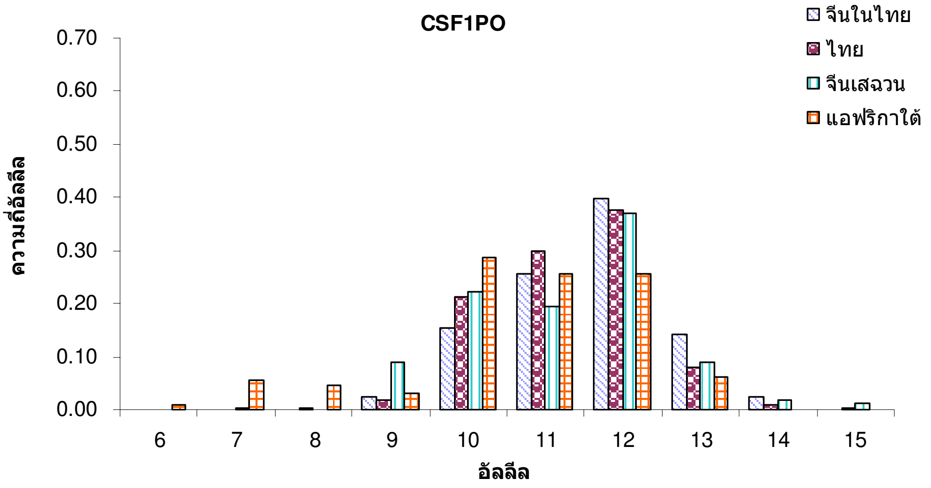
ตำแหน่ง D7S820 พบว่ารูปแบบอัลลีล 7 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ แต่พบในประชากรไทย ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 7 บนตำแหน่ง D7S820 อาจสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาแยกประชากรไทยออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ (แผนภูมิที่ 3)



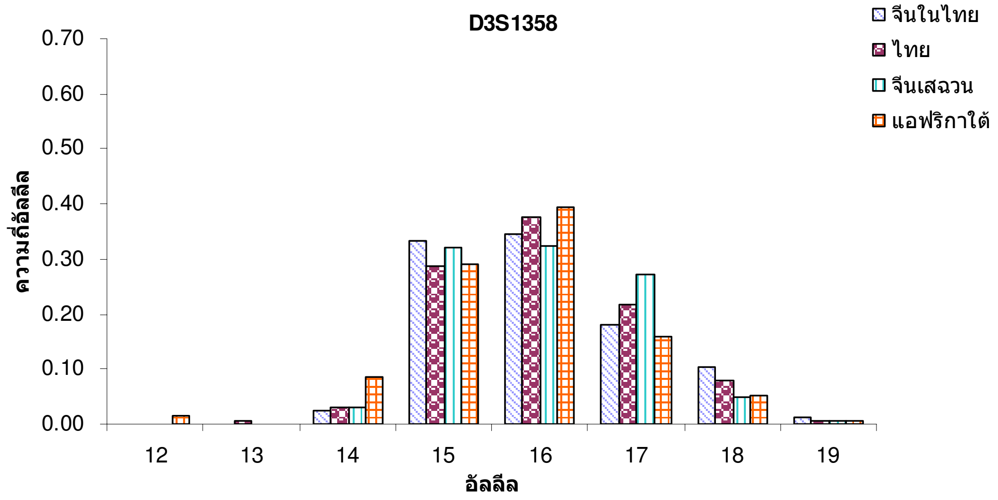
แผนภูมิที่ 3 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง D7S820

ตำแหน่ง CSF1PO พบว่ารูปแบบอัลลีล 6, 7 และ 8 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรแอฟริกาใต้ และรูปแบบอัลลีล 14 ไม่พบในประชากรแอฟริกาใต้ แต่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 6, 7, 8 และ 14 บนตำแหน่ง CSF1PO นั้นอาจนำมาใช้ประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรแอฟริกาใต้ออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวนได้ (แผนภูมิที่ 4)

ตำแหน่ง D3S1358 พบว่ารูปแบบอัลลีล 12 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 12 บนตำแหน่ง D3S1358 อาจสามารถใช้ประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรแอฟริกาใต้ออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน และไม่พบรูปแบบอัลลีล 13 ในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ แต่พบในประชากรไทย ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 13 บนตำแหน่ง D3S1358 อาจสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรไทยออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ได้ (แผนภูมิที่ 5)

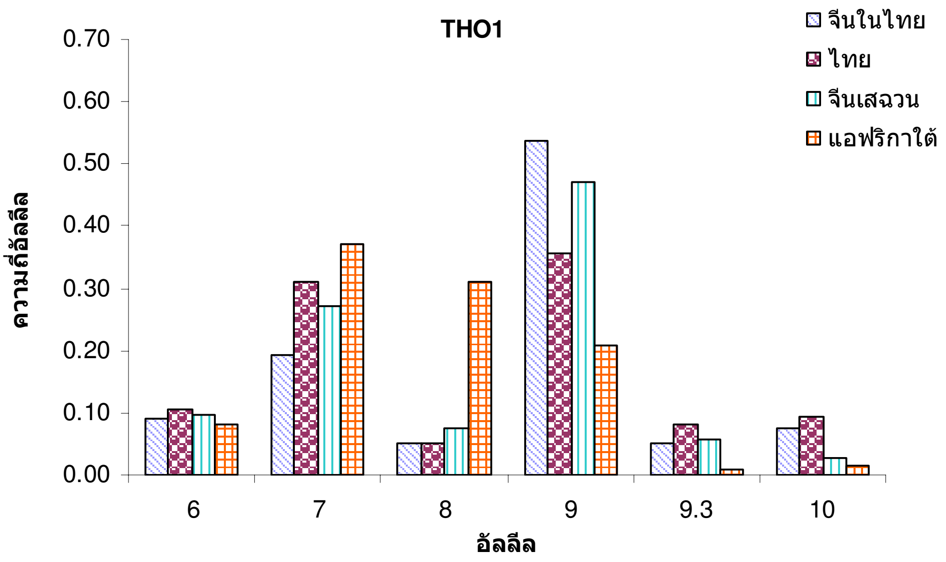


แผนภูมิที่ 4 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง CSF1PO



แผนภูมิที่ 5 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง D3S1358

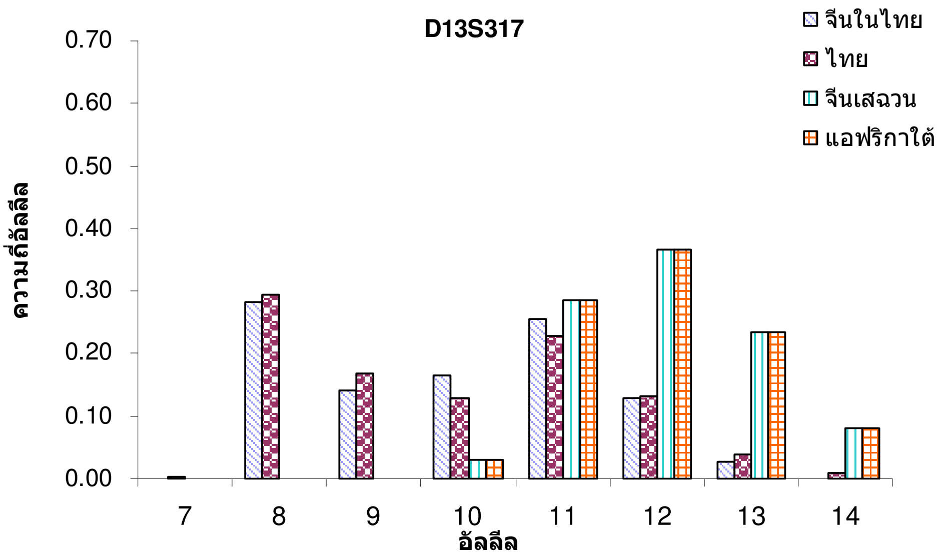
ตำแหน่ง THO1 พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของการกระจายตัวของอัลลีลในประชากรทุกกลุ่ม ดังนั้นตำแหน่ง THO1 ไม่เหมาะสมในการนำมาประกอบการพิจารณาการแยกกลุ่มของประชากร (แผนภูมิที่ 6)



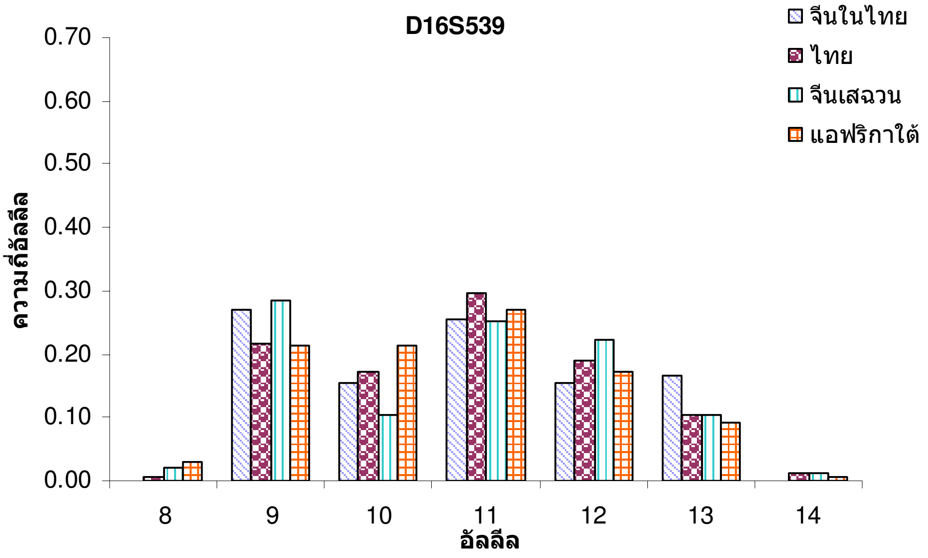
แผนภูมิที่ 6 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง THO1

ตำแหน่ง D13S317 พบว่ารูปแบบอัลลีล 8 และ 9 ไม่พบในประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ และไม่พบรูปแบบอัลลีล 14 ในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 8 และ 9 บนตำแหน่ง D13S317 อาจสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย และประชากรไทยออกจากประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้ได้ (แผนภูมิที่ 7)

ตำแหน่ง D16S539 พบว่ารูปแบบอัลลีล 8 และ 14 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย แต่พบในประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 8 และ 14 บนตำแหน่ง D16S539 อาจสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาการแยกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยออกจากประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ได้ (แผนภูมิที่ 8)

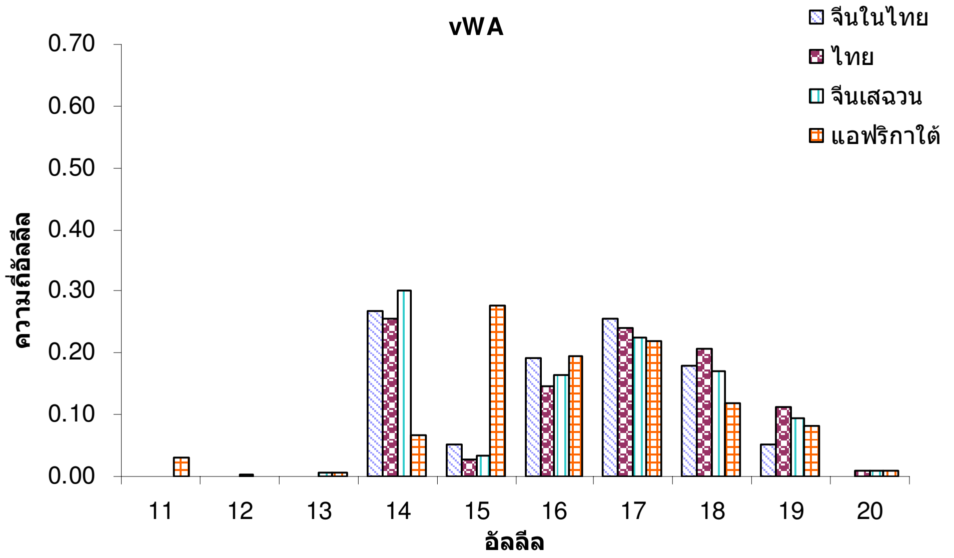


แผนภูมิที่ 7 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง D13S317



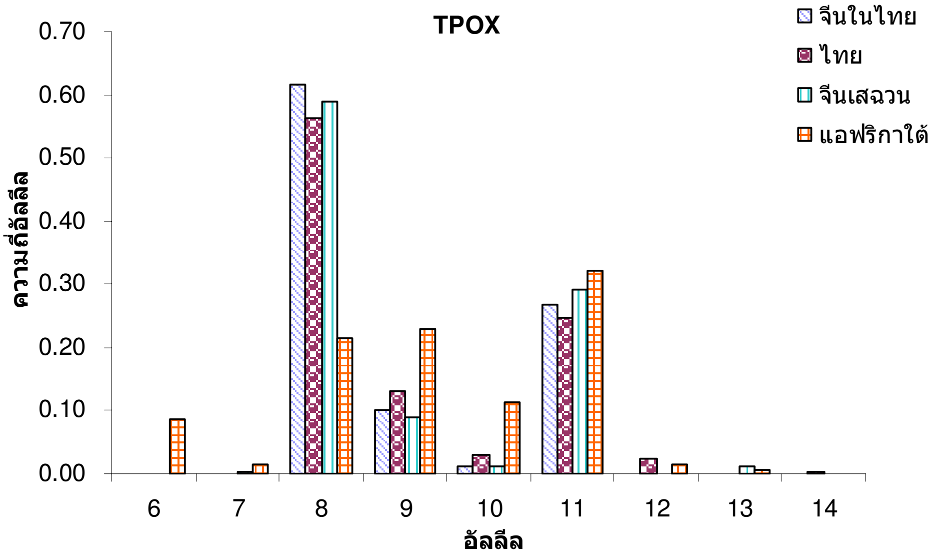
แผนภูมิที่ 8 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง D16S539

ตำแหน่ง vWA พบว่ารูปแบบอัลลีล 20 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย แต่พบในประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 20 บนตำแหน่ง vWA อาจสามารถนำมาประกอบการพิจารณาการแยกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยออกจากประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ได้ และไม่พบรูปแบบอัลลีล 11 ในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 11 บนตำแหน่ง vWA อาจสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรแอฟริกาใต้ออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนได้ (แผนภูมิที่ 9)



แผนภูมิที่ 9 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง vWA

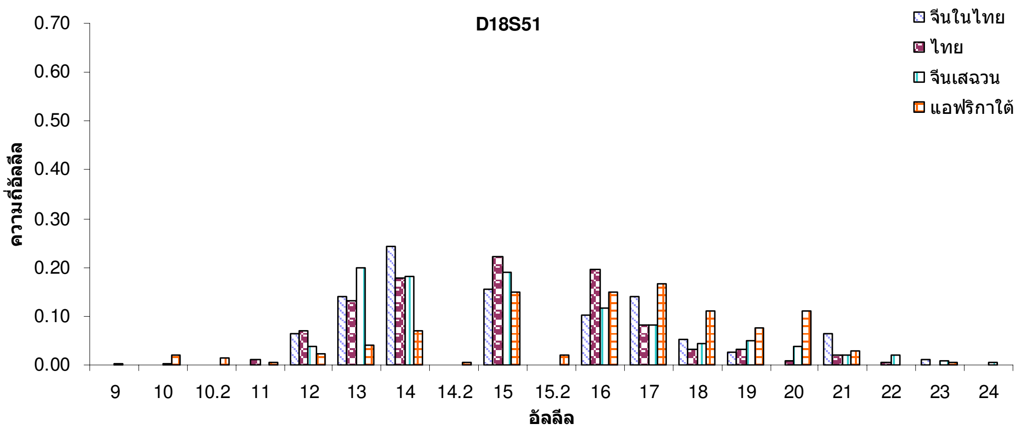
ตำแหน่ง TPOX พบว่ารูปแบบอัลลีล 12 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยและประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรไทย และประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 12 บนตำแหน่ง TPOX อาจสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรไทยและประชากรแอฟริกาใต้ ออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยและประชากรจีนเสฉวนได้ (แผนภูมิที่ 10)



แผนภูมิที่ 10 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง TPOX

ตำแหน่ง D18S51 พบว่ารูปแบบอัลลีล 10.2, 14.2 และ 15.2 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทยและประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 10.2, 14.2 และ 15.2 บนตำแหน่ง D18S51 อาจสามารถนำมาใช้ในการประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรแอฟริกาใต้ออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทยและประชากรจีนเสฉวนได้ รูปแบบอัลลีล 22 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยและประชากรแอฟริกาใต้ แต่พบในประชากรไทยและประชากรจีนเสฉวน ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 22 บนตำแหน่ง D18S51 อาจสามารถนำมาใช้ในการประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรไทยและประชากรจีนเสฉวนออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยและประชากรแอฟริกาใต้ รูปแบบอัลลีล 23 ไม่พบในประชากรไทย แต่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 23 บนตำแหน่ง D18S51 อาจสามารถนำมาใช้ในการประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรไทยออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ได้ รูปแบบอัลลีล 24 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรแอฟริกาใต้ แต่พบในประชากรจีนเสฉวน ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 24 บนตำแหน่ง D18S51 อาจสามารถนำมาใช้ในการประกอบการ

พิจารณาแยกกลุ่มประชากรจีนเสฉวนออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรแอฟริกาใต้ได้ (แผนภูมิที่ 11)

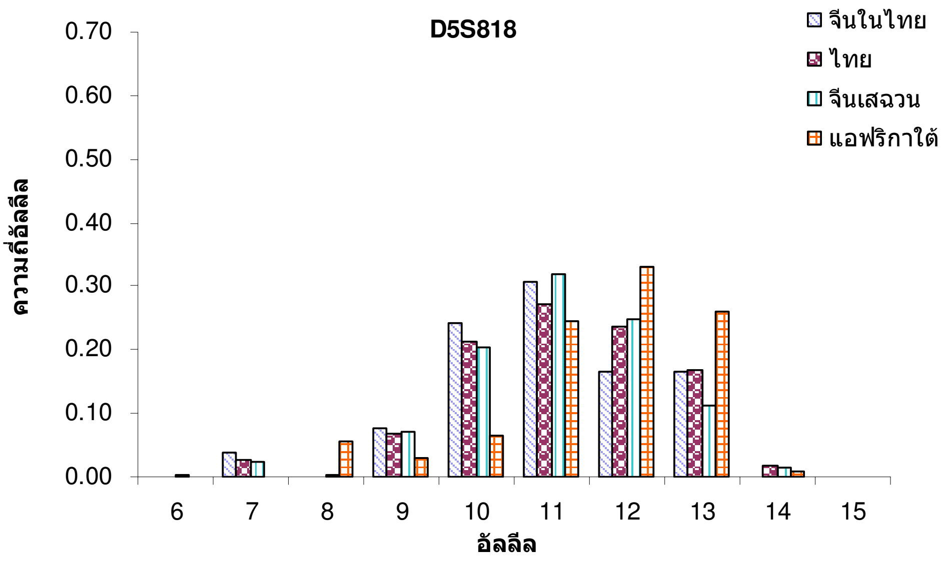


แผนภูมิที่ 11 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง D15S51

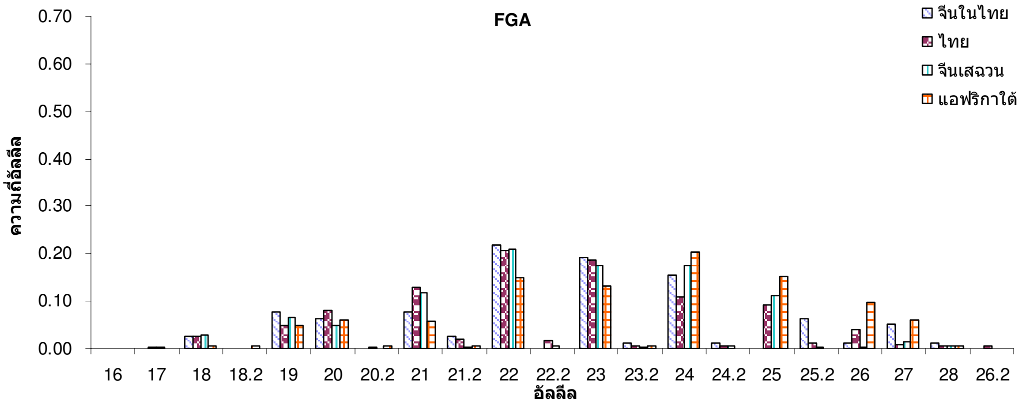
ตำแหน่ง D5S818 พบว่ารูปแบบอัลลีล 7 ไม่พบในประชากรแอฟริกาใต้ แต่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 7 บนตำแหน่ง D18S51 อาจสามารถนำมาใช้ในการประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรประชากรแอฟริกาใต้ออกจากประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวนได้ รูปแบบอัลลีล 8 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยและประชากรไทย แต่พบในประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 8 บนตำแหน่ง D18S51 อาจสามารถนำมาใช้ในการประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยและประชากรไทยออกจากจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้ได้ รูปแบบอัลลีล 14 ไม่พบในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยแต่พบในประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 14 บนตำแหน่ง D18S51 อาจสามารถนำมาใช้ในการประกอบการพิจารณาแยกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยออกจากประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้ได้ (แผนภูมิที่ 12)

ตำแหน่ง FGA พบว่ารูปแบบอัลลีล 18.2 ไม่พบในประชากรประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวน แต่พบในประชากรแอฟริกาใต้ ดังนั้นรูปแบบอัลลีล 18.2 บนตำแหน่ง FGA อาจสามารถนำมาใช้ในการประกอบการพิจารณาแยกกลุ่ม

ประชากรประชากรแอฟริกาใต้ออกจากประชากรประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย และประชากรจีนเสฉวนได้ (แผนภูมิที่ 13)



แผนภูมิที่ 12 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง D5S818



แผนภูมิที่ 13 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวนและประชากรแอฟริกาใต้บนตำแหน่ง FGA

บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาวิจัยเรื่อง ความถี่อัลลีลบน STR 15 ตำแหน่งของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดบน STR 15 ตำแหน่ง ซึ่งประกอบ D8S1179, D2S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, THO1, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 และ FGA และคำนวณค่าต่าง ๆ สถิติที่ใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ ได้แก่ ค่าความถี่อัลลีล Obsereved heterozygosity, Expected heterozygosity, Power of exclusion, Power of discrimination, The combine power of exclusion, The combine power of discrimination, The polymorphism information content และ The power of matching จากนั้นศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรกลุ่มอื่นที่เคยมีรายงานมาก่อน ได้แก่ ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ เปรียบเทียบการกระจายตัวของอัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรกลุ่มอื่นที่เคยมีรายงานมาก่อน ได้แก่ ประชากรไทย ประชากรจีนเสฉวน และประชากรแอฟริกาใต้ โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป AmpF*l*STR® Identifiler™ PCR Amplification Kit ซึ่งเป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้ในการตรวจเอกลักษณ์บุคคล โดยใช้หลักการ multiplex PCR บริเวณ short tandem repeat (STR) 15 ตำแหน่ง

1. สรุปผลการวิจัย

1.1 ผลการศึกษาความถี่อัลลีลและการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

การศึกษาความถี่ของอัลลีลบน STR 15 ตำแหน่งของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย จำนวน 39 ตัวอย่าง ซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด พบว่าทุกตำแหน่งเป็นไปตามกฎของ Hardy-Weinberg equilibrium ที่ $P > 0.05$ จึงมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นตัวแทนการวิเคราะห์ข้อมูลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย โดยตำแหน่งที่เหมาะสมกับการนำไปใช้งานในการตรวจพิสูจน์บุคคลมากที่สุดคือ ตำแหน่ง FGA เนื่องจากมีความสามารถในการแยกบุคคลออกจากกันได้สูง และมีค่าที่บ่งบอกถึงความน่าจะเป็นที่จะพบบุคคลที่มีรูปแบบดีเอ็นเอ

เหมือนกันต่ำ และยังเป็นตำแหน่งที่เหมาะสำหรับนำมาใช้ในงานตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์พ่อ-แม่-ลูก อีกด้วยนอกจากนี้ตำแหน่ง FGA ยังเป็นตำแหน่งที่มีความหลากหลายสูงอีกด้วย จะพบว่าในประชากรเดียวกัน ณ ตำแหน่งนี้จะพบรูปแบบของอัลลีลมากที่สุด ในทางกลับกับตำแหน่ง TPOX มีประสิทธิภาพน้อยที่สุดในงานตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล

สำหรับค่า combine power of discrimination และค่า combine power of exclusion มีค่าเท่ากับ 0.999999 และ 0.999998 ตามลำดับ ซึ่งการวิเคราะห์ค่าสถิตินี้มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์มากเพราะช่วยเพิ่มความน่าเชื่อถือในการตรวจพิสูจน์ในห้องปฏิบัติการและเป็นที่ยอมรับในชั้นศาลด้วยจากค่าดังกล่าวข้างต้นพบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Syn C.K.C., et al,

1.2 เปรียบเทียบความแตกต่างของความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับกลุ่มประชากรอื่น

เมื่อเปรียบเทียบค่าความถี่ของอัลลีล ระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรไทย พบว่าตำแหน่ง D18S518 และ FGA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05) จึงมีความเหมาะสมในการนำมาใช้จัดจำแนกกลุ่มประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยออกจากประชากรไทยได้

เมื่อเปรียบเทียบค่าความถี่ของอัลลีล ระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรจีนเสฉวนในประเทศจีน พบว่าตำแหน่ง FGA มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05) เนื่องจากตำแหน่ง FGA นั้นเป็นตำแหน่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง จึงสามารถความแตกต่างได้ระหว่างกลุ่มประชากรเดียวกัน แต่ภูมิภาคต่างกัน ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bofeng Z., et al., 2008 โดยศึกษาความแตกต่างของความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนที่เป็นชนกลุ่มน้อยที่อาศัยอยู่บริเวณเซียงไฮของประเทศจีน กับประชากรจีนฮั่น ประชากรจีน Hui ชนกลุ่มน้อย Miao ชนกลุ่มน้อย Uigur พบว่ามีประชากรแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในบางตำแหน่ง

เมื่อเปรียบเทียบค่าความถี่ของอัลลีล ระหว่างประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยกับประชากรแอฟริกาใต้ ประเทศแอฟริกา พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05) ในทุกตำแหน่ง ยกเว้นตำแหน่ง D3S1358 และ D2S1388 เท่านั้น เนื่องจากความแตกต่างกันทางเผ่าพันธุ์ และไม่ค่อยมีความใกล้ชิดกัน ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Haijan Z., et al., 2007 ซึ่งทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของความถี่อัลลีลระหว่างประชากรจีนบริเวณมณฑลเสฉวน (ตะวันออกของประเทศจีน) กับประชากรกลุ่มอื่น ๆ ได้แก่ เอเชีย แอฟริกา และอเมริกา พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p-value < 0.05)

2. อภิปรายผล

การศึกษาเรื่องความถี่อัลลีลบน STR 15 ตำแหน่ง ของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทยนั้น สามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาความถี่อัลลีลของประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์ในการจัดจำแนกกลุ่มประชากรได้ ซึ่งจะช่วยทำให้ขนาดตัวอย่างที่สนใจแคบลง งานวิจัยชิ้นนี้จะมีประโยชน์อย่างมากหากมีการเพิ่มจำนวนประชากรให้มีขนาดใหญ่ขึ้น เพราะจะทำให้ค่าความน่าเชื่อถือเพิ่มมากขึ้น ความถูกต้อง แม่นยำ จะมีค่าสูงขึ้น จึงควรมีการศึกษาต่อไป

จากการคำนวณค่าต่าง ๆ ทางสถิติจะพบว่า การวิเคราะห์ค่าทางสถิตินั้น จะช่วยสร้างความเชื่อมั่นในผลการทดลอง และสามารถบอกได้ว่าตำแหน่งใดบน STR 15 ตำแหน่งที่มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มประชากร หรือใช้ในการแยกแยะบุคคลสองคนออกจากกัน จากการทดลองจะพบว่าหากใช้เพียงตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งเพียงตำแหน่งเดียวในการแยกแยะบุคคล ความน่าเชื่อถือจะมีค่าน้อยลง เมื่อเปรียบเทียบกับการพิจารณาทั้ง 15 ตำแหน่ง ซึ่ง STR 15 ตำแหน่งที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ มีความเหมาะสมในการนำมาตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล

การกระจายตัวของอัลลีลในประชากร บางตำแหน่งมีการกระจายตัวต่ำ และสามารถพบได้ในประชากรกลุ่มอื่น ซึ่งจะทำให้ไม่สามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกกลุ่มประชากรได้ จึงควรมีการศึกษาการกระจายตัวของอัลลีลบนตำแหน่งอื่น ๆ ต่อไป เพื่อจะได้ตำแหน่งที่มากเพียงพอที่จะสามารถแยกกลุ่มประชากรแต่ละกลุ่มออกจากกันได้อย่างเด็ดขาด ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างมากในทางนิติวิทยาศาสตร์

3. ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1. การวิจัยวิจัยในครั้งนี้ มีจำนวนกลุ่มตัวอย่างขนาดเล็กเกินไป จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในประชากรจีนที่ทำงานในประเทศไทย โดยเพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มีปริมาณมากขึ้น ซึ่งจะทำให้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติมีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

2. ในประเทศไทยยังมีกลุ่มชนชาติอื่นที่เข้ามาอาศัยอยู่ในประเทศไทยหลายชนชาติ ที่มีความคล้ายคลึงกันทางด้านลักษณะทางกายภาพ เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี เป็นต้น จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในประชากรกลุ่ม เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์

3. จากผลการคำนวณค่าทางสถิติต่าง ๆ ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพการทำงานของโลคัสตำแหน่งต่าง ๆ ซึ่งหากเราสามารถนำโลคัสที่มีความหลากหลายสูงและมีประสิทธิภาพในการ

แยกแยะได้สูง หลาย ๆ โลคัสมาใช้ร่วมกัน จะทำให้ความน่าเชื่อถือในการจัดจำแนกกลุ่มประชากรมากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

ทิพย์รัตน์ หาญสืบสาย. ดีเอ็นเอรหัสชีวิตสุดยอดมหัศจรรย์. กรุงเทพฯ: ประพันธ์สาส์น, 2548.

ธานินทร์ ศิลป์จารุ. การวิจัยและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย SPSS. พิมพ์ครั้งที่ 9. กรุงเทพฯ: บิสซิเนสอาร์แอนด์ดี, 2551.

นำชัย ชีววิวรรธน์. ดีเอ็นเอ ปริศนาลับรหัสชีวิต. ปทุมธานี: ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, 2546.

วิชัย บุญแสงและคณะ. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล. พิมพ์ครั้งที่ 3. ปทุมธานี : สำนักงาพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, 2547.

สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.). สาระน่ารู้อณูพันธุศาสตร์ Essential Molecular Genetics. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. 2548 : 1-8.

สรชัย พิศาลบุตร. สถิติเพื่อการวิเคราะห์และวิจัย. เอกสารประกอบการสอนวิชาสถิติเบื้องต้น.

อุไรวรรณ วิจารณกุล. ดีเอ็นเอเทคโนโลยี DNA Technology. พิษณุโลก : โรงพิมพ์ตระกูลไทย, 2545.

Budsaba R., Wasun C., Ubonrat J., Janpen T.,Tarathip R., Porntip R. Database of nine Tetrameric STR loci D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 and D7S820 in Thai population. *Forensic Science International* 2001;119:123-125.

Bofeng Zhu., et al. Population genetic analysis of 15 STR loci of Chinese Tu ethnic minority group. *Forensic Science International* 2008: 174: 255-258.

Haijun Zhang., et al. Analysis of 15 STR loci in Chinese population from Sichuan in West China. *Forensic Science International* 2007: 171: 222-225.

HU S.P., YU X.J., Liu J.W., Cai K.L. Analysis of STR polymorphisms in the Chao Shan population in South China. *Forensic Science International* 2005; 147: 93-95.

John M. Butler. Forensic DNA Typing. 2sd. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005.

Kimberly A. Huston. Statistical Analysis of STR Data. *Profile in DNA* 1998:14-15.

Manuel V., Camacho, Cesar B., Ana M. Allelic frequencies of the 15 STR loci included in the AmpF*l*STR® Identifiler™ PCR Amplification kit in an autochthonous sample from Spain. *Forensic Science International* 2007; 173: 241-245.

Syn C.K.C., Chuah S.Y., Ang H.C., Lim S.E.S., Tan-Siew W.F., Chow S.T., Bruce B. Genetic data for the 13 codis STR loci in Singapore Chinese. *Forensic Science International* 2005: 152:285-288.

Tada S., Unchalee K. Population data of 8 short tandem repeat loci in the Thai population. *Forensic Science International* 1999;103:199-205.

Unchalee K. Population data on short tandem repeat loci for person identification and paternity test. A Thesis for the degree of master of science in medical science graduate school Chulalongkorn University; 1998.

Wasun C., Budsaba R., Ubonrat J., Janpen T., Tharathip R., Porntip R. Thai population data on nine tetrametric STR loci – D3S1358, vWA, FGA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317 and D7S820. *Forensic Science International* 2001; 115: 113-115.

Yanmei Si, Jian Wang., et al. Allele frequencies for nine PCR-type STR loci in a population from middle China. *Forensic Science International* 2002: 127: 145-146.

Yuzhen Gao, Zhixiang Zhang, Zufeng Wang, Shizhong Bian. Genetic data of 15 STR forensic loci in eastern Chinese population. *Forensic Science International* 2005; 154: 78-80.

Xudong Zheng, Zhaoshu Zeng, Xiansheng Meng, Zhide Xiang, Yunliang Zhu, Hongtao Yan. Genetic data of 9 STR loci from Henan Province (central China). *Forensic Science International* 2007; 169: 244-246.

Xiulan Su, Dongxia Li, Shuping Liu Bi Lifu, Peiyu Wang Tuoya Wu Yun, Sheng Yun. Population studies on two native Mongolian population groups in China using STR loci. *Forensic Science International* 2004; 141: 197-199.

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 11 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D21S11

Genotype Array	**28**	**29**	**30**	**30.2**	**31**	**31.2**	**32**	**32.2**	**33.2**		allele count	allele frequencies
28	28,28 0	28,29 0	28,30 2	28,30.2 0	28,31 1	28,31.2 1	28,32 1	28,32.2 0	28,33.2 0	28	5	0.064102564
29		29,29 3	29,30 1	29,30.2 1	29,31 4	29,31.2 3	29,32 0	29,32.2 6	29,33.2 0	29	21	0.269230769
30			30,30 2	30,30.2 0	30,31 1	30,31.2 0	30,32 0	30,32.2 2	30,33.2 1	30	11	0.141025641
30.2				30.2,30.2 0	30.2,31 0	30.2,31.2 0	30.2,32 0	30.2,32.2 1	30.2,33.2 0	30.2	2	0.025641026
31					31,31 1	31,31.2 0	31,32 2	31,32.2 1	31,33.2 1	31	12	0.153846154
31.2						31.2,31.2 0	31.2,32 0	31.2,32.2 1	31.2,33.2 0	31.2	5	0.064102564
32							32,32 0	32,32.2 0	32,33.2 1	32	4	0.051282051
32.2								32.2,32.2 1	32.2,33.2 1	32.2	14	0.179487179
33.2									33.2,33.2 0	33.2	4	0.051282051
											78	

ตารางที่ 12 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D7S820

Genotype Array	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**		allele count	allele frequencies
	8,8	8,9	8,10	8,11	8,12	8,13			
8	3	0	2	4	4	1	8	17	0.217948718
		9,9	9,10	9,11	9,12	9,13			
9		0	1	1	1	0	9	3	0.038461538
			10,10	10,11	10,12	10,13			
10			1	5	3	2	10	15	0.192307692
				11,11	11,12	11,13			
11				7	4	0	11	28	0.358974359
					12,12	12,13			
12					0	0	12	12	0.153846154
						13,13			
13						0	13	3	0.038461538
								78	

ตารางที่ 13 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส CSF1PO

Genotype Array	9	10	11	12	13	14		allele count	allele frequencies
9	9,9	9,10 1	9,11	9,12 1	9,13	9,14	9	2	0.025641026
10		10,10 3	10,11 3	10,12 1	10,13 1	10,14	10	12	0.153846154
11			11,11 5	11,12 4	11,13 3	11,14	11	20	0.256410256
12				12,12 9	12,13 5	12,14 2	12	31	0.397435897
13					13,13 1	13,14	13	11	0.141025641
14						14,14	14	2	0.025641026
								78	

ตารางที่ 14 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D3S135

Genotype Array	**14**	**15**	**16**	**17**	**18**	**19**		allele count	allele frequencies
14	14,14 0	14,15 1	14,16 1	14,17 0	14,18 0	14,19 0	14	2	0.025641026
15		15,15 4	15,16 9	15,17 4	15,18 4	15,19 0	15	26	0.333333333
16			16,16 3	16,17 8	16,18 3	16,19 0	16	27	0.346153846
17				17,17 0	17,18 1	17,19 1	17	14	0.179487179
18					18,18 0	18,19 0	18	8	0.102564103
19						19,19 0	19	1	0.012820513
								78	

ตารางที่ 15 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส THO1

Genotype Array	**6**	**7**	**8**	**9**	**9.3**	**10**		allele count	allele frequencies
6	6,6 0	6,7 1	6,8 0	6,9 4	6,9.3 1	6,10 1	6	7	0.08974359
7		7,7 2	7,8 0	7,9 10	7,9.3 0	7,10 0	7	15	0.192307692
8			8,8 0	8,9 4	8,9.3 0	8,10 0	8	4	0.051282051
9				9,9 9	9,9.3 2	9,10 4	9	42	0.538461538
9.3					9.3,9.3 0	9.3,10 1	9.3	4	0.051282051
10						10,10 0	10	6	0.076923077
								78	

ตารางที่ 16 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D13S317

Genotype Array	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**		allele count	allele frequencies
8	8,8 4	8,9 4	8,10 1	8,11 5	8,12 3	8,13 1	8	22	0.282051282
9		9,9 0	9,10 2	9,11 4	9,12 1	9,13 0	9	11	0.141025641
10			10,10 3	10,11 3	10,12 1	10,13 0	10	13	0.166666667
11				11,11 3	11,12 1	11,13 1	11	20	0.256410256
12					12,12 2	12,13 0	12	10	0.128205128
13						13,13 0	13	2	0.025641026
								78	

ตารางที่ 17 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D16S539

Genotype Array	9	10	11	12	13		allele count	allele frequencies
9	9,9 2	9,10 3	9,11 4	9,12 7	9,13 3	9	21	0.269230769
10		10,10 0	10,11 3	10,12 3	10,13 3	10	12	0.153846154
11			11,11 3	11,12 2	11,13 5	11	20	0.256410256
12				12,12 0	12,13 0	12	12	0.153846154
13					13,13 1	13	13	0.166666667
							78	

ตารางที่ 18 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D2S1138

Genotype Array	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**		allele count	allele frequencies
16	16,16 0	16,17 0	16,18 0	16,19 0	16,20 0	16,21 0	16,22 0	16,23 1	16,24 0	16,25 1	16	2	0.025641026
17		17,17 0	17,18 1	17,19 0	17,20 0	17,21 0	17,22 0	17,23 0	17,24 2	17,25 0	17	3	0.038461538
18			18,18 2	18,19 4	18,20 0	18,21 0	18,22 0	18,23 0	18,24 0	18,25 2	18	11	0.141025641
19				19,19 4	19,20 1	19,21 0	19,22 1	19,23 2	19,24 1	19,25 1	19	18	0.230769231
20					20,20 0	20,21 0	20,22 1	20,23 1	20,24 1	20,25 0	20	4	0.051282051
21						21,21 0	21,22 0	21,23 1	21,24 1	21,25 0	21	2	0.025641026
22							22,22 0	22,23 2	22,24 1	22,25 0	22	5	0.064102564
23								23,23 0	23,24 6	23,25 1	23	14	0.179487179
24									24,24 0	24,25 1	24	13	0.166666667
25										25,25 0	25	6	0.076923077
												78	

ตารางที่ 19 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D19S433

Genotype Array	**12**	**13**	**13.2**	**14**	**14.2**	**15**	**15.2**	**16**	**16.2**		allele count	allele frequencies
12	12,12 0	12,13 1	12,13.2 0	12,14 2	12,14.2 0	12,15 0	12,15.2 1	12,16 0	12,16.2 0	12	4	0.051282051
13		13,13 3	13,13.2 0	13,14 9	13,14.2 2	13,15 1	13,15.2 2	13,16 1	13,16.2 0	13	22	0.282051282
13.2			13.2,13.2 0	13.2,14 0	13.2,14.2 0	13.2,15 0	13.2,15.2 1	13.2,16 0	13.2,16.2 0	13.2	1	0.012820513
14				14,14 3	14,14.2 1	14,15 1	14,15.2 4	14,16 0	14,16.2 0	14	23	0.294871795
14.2					14.2,14.2 0	14.2,15 0	14.2,15.2 1	14.2,16 0	14.2,16.2 0	14.2	4	0.051282051
15						15,15 0	15,15.2 0	15,16 0	15,16.2 1	15	3	0.038461538
15.2							15.2,15.2 5	15.2,16 0	15.2,16.2 0	15.2	19	0.243589744
16								16,16 0	16,16.2 0	16	1	0.012820513
16.2									16.2,16.2 0	16.2	1	0.012820513
											78	

ตารางที่ 20 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส vWA

Genotype Array	14	15	16	17	18	19		allele count	allele frequencies
	14,14	14,15	14,16	14,17	14,18	14,19			
14	3	1	5	6	1	2	14	21	0.269230769
		15,15	15,16	15,17	15,18	15,19			
15		0	2	0	1	0	15	4	0.051282051
			16,16	16,17	16,18	16,19			
16			0	5	3	0	16	15	0.192307692
				17,17	17,18	17,19			
17				3	2	1	17	20	0.256410256
					18,18	18,19			
18					3	1	18	14	0.179487179
						19,19			
19						0	19	4	0.051282051
								78	

ตารางที่ 21 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส TPOX

Genotype Array	8	9	10	11		allele count	allele frequencies
	8,8	8,9	8,10	8,11			
8	16	5	0	11	8	48	0.615384615
		9,9	9,10	9,11			
9		1	0	1	9	8	0.102564103
			10,10	10,11			
10			0	1	10	1	0.012820513
				11,11			
11				4	11	21	0.269230769
						78	

ตารางที่ 22 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D18S51

Genotype Array	12	13	14	15	16	17	18	19	21	23		Allele count	allele frequencies
12	12,12 0	12,13 3	12,14 1	12,15 0	12,16 1	12,17 0	12,18 0	12,19 0	12,21 0	12,23 0	12	5	0.064102564
13		13,13 1	13,14 1	13,15 2	13,16 0	13,17 1	13,18 1	13,19 0	13,21 0	13,23 1	13	11	0.141025641
14			14,14 2	14,15 2	14,16 2	14,17 5	14,18 2	14,19 0	14,21 2	14,23 0	14	19	0.243589744
15				15,15 1	15,16 0	15,17 4	15,18 0	15,19 0	15,21 2	15,23 0	15	12	0.153846154
16					16,16 1	16,17 0	16,18 1	16,19 1	16,21 1	16,23 0	16	8	0.102564103
17						17,17 0	17,18 0	17,19 1	17,21 0	17,23 0	17	11	0.141025641
18							18,18 0	18,19 0	18,21 0	18,23 0	18	4	0.051282051
19								19,19 0	19,21 0	19,23 0	19	2	0.025641026
21									21,21 0	21,23 0	21	5	0.064102564
										23,23 0	23	1	0.012820513
												78	

ตารางที่ 23 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส D5S818

Genotype Array	7	9	10	11	12	13		allele count	allele frequencies
7	7,7 0	7,9 0	7,10 1	7,11 0	7,12 2	7,13 0	7	3	0.038461538
9		9,9 0	9,10 0	9,11 2	9,12 2	9,13 2	9	6	0.076923077
10			10,10 1	10,11 11	10,12 1	10,13 4	10	19	0.243589744
11				11,11 1	11,12 4	11,13 5	11	24	0.307692308
12					12,12 1	12,13 2	12	13	0.166666667
13						13,13 0	13	13	0.166666667
								78	

ตารางที่ 24 ความถี่อัลลีลและการกระจายตัวของอัลลีลต่าง ๆ ของประชากรจีนบนโลคัส FGA

Genotype Array	18	19	20	21	21.2	22	23	23.2	24	24.2	25	25.2	26	27		Allele count	allele frequencies
18	18,18 1	18,19 0	18,20 0	18,21 0	18,21.2 0	18,22 0	18,23 0	18,23.2 0	18,24 0	18,24.2 0	18,25 0	18,25.2 0	18,26 0	18,27 0	18	2	0.025641026
19		19,19	19,20 1	19,21 1	19,21.2 0	19,22 1	19,23 1	19,23.2 0	19,24 0	19,24.2 0	19,25 1	19,25.2 0	19,26 0	19,27 1	19	6	0.076923077
20			20,20	20,21 1	20,21.2 0	20,22 1	20,23 0	20,23.2 0	20,24 0	20,24.2 0	20,25 1	20,25.2 0	20,26 1	20,27 0	20	5	0.064102564
21				21,21 1	21,21.2 0	21,22 1	21,23 0	21,23.2 0	21,24 0	21,24.2 0	21,25 1	21,25.2 0	21,26 0	21,27 0	21	6	0.076923077
21.2					21.2,21.2 0	21.2,22 0	21.2,23 2	21.2,23.2 0	21.2,24 0	21.2,24.2 0	21.2,25 0	21.2,25.2 0	21.2,26 0	21.2,27 0	21.2	2	0.025641026
22						22,22 3	22,23 3	21.2,23.2 0	22,24 5	22,24.2 0	22,25 0	22,25.2 0	22,26 0	22,27 0	22	17	0.217948718
23							23,23 2	23,23.2 0	23,24 2	23,24.2 0	23,25 2	23,25.2 1	23,26 0	23,27 0	23	15	0.192307692
23.2								23.2,23.2 0	23.2,24 1	23.2,24.2 0	23.2,25 0	23.2,25.2 0	23.2,26 0	23.2,27 0	23.2	1	0.012820513
24									24,24 1	24,24.2 1	24,25 0	24,25.2 0	24,26 1	24,27 0	24	12	0.153846154
24.2										24.2,24.2 0	24.2,25 0	24.2,25.2 0	24.2,26 0	24.2,27 0	24.2	1	0.012820513
25											25,25 0	25,25.2 0	25,26 0	25,27 0	25	5	0.064102564
25.2												25.2,25.2 0	25.2,26 0	25.2,27 0	25.2	1	0.012820513
26													26,26 1	26,27 0	26	4	0.051282051
27														27,27 0	27	1	0.012820513
																78	

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 25 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D8S1179

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.4%	214	42.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล									Total
			10	11	12	13	14	15	16	17	18	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	31	25	26	35	35	35	17	4	2	210
		Expected Count	29.2	26.3	24.1	35.0	35.7	37.2	17.5	3.6	1.5	210.0
	จีน	Count	9	11	7	13	14	16	7	1	0	78
		Expected Count	10.8	9.8	8.9	13.0	13.3	13.8	6.5	1.4	.5	78.0
Total		Count	40	36	33	48	49	51	24	5	2	288
		Expected Count	40.0	36.0	33.0	48.0	49.0	51.0	24.0	5.0	2.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	2.674(a)	8	.953	.964		
Likelihood Ratio	3.228	8	.919	.947		
Fisher's Exact Test	2.350			.980		
Linear-by-Linear Association	.245(b)	1	.621	.641	.323	.024
N of Valid Cases	288					

a 4 cells (22.2%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .54.

b The standardized statistic is .495.

ตารางที่ 26 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D21S11

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.4%	214	42.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล											Total
			27	28	29	30	30.2	31	31.2	32	32.2	33.2	34.20	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	1	13	53	53	10	17	15	5	26	13	4	210
		Expected Count	.7	13.1	54.0	46.7	8.8	21.1	14.6	6.6	29.2	12.4	2.9	210.0
	จีน	Count	0	5	21	11	2	12	5	4	14	4	0	78
		Expected Count	.3	4.9	20.0	17.3	3.3	7.9	5.4	2.4	10.8	4.6	1.1	78.0
Total		Count	1	18	74	64	12	29	20	9	40	17	4	288
		Expected Count	1.0	18.0	74.0	64.0	12.0	29.0	20.0	9.0	40.0	17.0	4.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	11.554(a)	10	.316	.(b)		
Likelihood Ratio	12.796	10	.235	.(b)		
Fisher's Exact Test	.(b)			.(b)		
Linear-by-Linear Association	.345(c)	1	.557	.558	.281	.001
N of Valid Cases	288					

a 8 cells (36.4%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is .588.

ตารางที่ 27 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D7S820

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.3%	215	42.7%	503	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล								Total
			7	8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	2	34	12	40	71	43	7	1	210
		Expected Count	1.5	37.2	10.9	40.1	72.2	40.1	7.3	.7	210.0
	จีน	Count	0	17	3	15	28	12	3	0	78
		Expected Count	.5	13.8	4.1	14.9	26.8	14.9	2.7	.3	78.0
Total		Count	2	51	15	55	99	55	10	1	288
		Expected Count	2.0	51.0	15.0	55.0	99.0	55.0	10.0	1.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	3.392(a)	7	.846	.868		
Likelihood Ratio	4.189	7	.758	.840		
Fisher's Exact Test	3.082			.901		
Linear-by-Linear Association	.596(b)	1	.440	.468	.234	.027
N of Valid Cases	288					

a 6 cells (37.5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b The standardized statistic is -.772.

ตารางที่ 28 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส CSF1PO

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.4%	214	42.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล								Total
			8	9	10	11	12	13	14	15	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	1	4	45	62	79	16	2	1	210
		Expected Count	.7	4.4	41.6	59.8	80.2	19.7	2.9	.7	210.0
	จีน	Count	0	2	12	20	31	11	2	0	78
		Expected Count	.3	1.6	15.4	22.2	29.8	7.3	1.1	.3	78.0
Total		Count	1	6	57	82	110	27	4	1	288
		Expected Count	1.0	6.0	57.0	82.0	110.0	27.0	4.0	1.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	5.894(a)	7	.552	.581		
Likelihood Ratio	6.147	7	.523	.647		
Fisher's Exact Test	6.321			.493		
Linear-by-Linear Association	2.986(b)	1	.084	.090	.048	.011
N of Valid Cases	288					

a 8 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b The standardized statistic is 1.728.

ตารางที่ 29 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D3S1358

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.4%	214	42.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			13	14	15	16	17	18	19	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	1	6	60	79	45	17	2	210
		Expected Count	.7	5.8	62.7	77.3	43.0	18.2	2.2	210.0
	จีน	Count	0	2	26	27	14	8	1	78
		Expected Count	.3	2.2	23.3	28.7	16.0	6.8	.8	78.0
Total		Count	1	8	86	106	59	25	3	288
		Expected Count	1.0	8.0	86.0	106.0	59.0	25.0	3.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	1.662(a)	6	.948	.960		
Likelihood Ratio	1.911	6	.928	.963		
Fisher's Exact Test	2.125			.933		
Linear-by-Linear Association	.004(b)	1	.947	.950	.500	.050
N of Valid Cases	288					

a 5 cells (35.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b The standardized statistic is -.066.

ตารางที่ 30 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส TH01

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.4%	214	42.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล						Total
			6	7	8	9	9.3	10	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	22	65	11	75	17	20	210
		Expected Count	21.1	58.3	10.9	85.3	15.3	19.0	210.0
	จีน	Count	7	15	4	42	4	6	78
		Expected Count	7.9	21.7	4.1	31.7	5.7	7.0	78.0
Total		Count	29	80	15	117	21	26	288
		Expected Count	29.0	80.0	15.0	117.0	21.0	26.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	8.443(a)	5	.133	.132		
Likelihood Ratio	8.467	5	.132	.146		
Fisher's Exact Test	8.079			.147		
Linear-by-Linear Association	2.378(b)	1	.123	.123	.061	.001
N of Valid Cases	288					

a 1 cells (8.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.06.
b The standardized statistic is 1.542.

ตารางที่ 31 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D13S317

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.0%	217	43.0%	505	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล								Total
			7	8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	1	61	35	27	48	28	8	2	210
		Expected Count	.7	60.5	33.5	29.2	49.6	27.7	7.3	1.5	210.0
	จีน	Count	0	22	11	13	20	10	2	0	78
		Expected Count	.3	22.5	12.5	10.8	18.4	10.3	2.7	.5	78.0
Total		Count	1	83	46	40	68	38	10	2	288
		Expected Count	1.0	83.0	46.0	40.0	68.0	38.0	10.0	2.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	2.409(a)	7	.934	.952		
Likelihood Ratio	3.187	7	.867	.932		
Fisher's Exact Test	2.045			.977		
Linear-by-Linear Association	.000(b)	1	.996	1.000	.516	.033
N of Valid Cases	288					

a 5 cells (31.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b The standardized statistic is -.005.

ตารางที่ 32 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D16S539

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.0%	217	43.0%	505	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	1	46	36	62	40	22	3	210
		Expected Count	.7	48.9	35.0	59.8	37.9	25.5	2.2	210.0
	จีน	Count	0	21	12	20	12	13	0	78
		Expected Count	.3	18.1	13.0	22.2	14.1	9.5	.8	78.0
Total		Count	1	67	48	82	52	35	3	288
		Expected Count	1.0	67.0	48.0	82.0	52.0	35.0	3.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	4.724(a)	6	.580	.601		
Likelihood Ratio	5.656	6	.463	.535		
Fisher's Exact Test	4.214			.657		
Linear-by-Linear Association	.018(b)	1	.894	.923	.467	.038
N of Valid Cases	288					

a 4 cells (28.6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b The standardized statistic is -.134.

ตารางที่ 33 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D2S1338

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.4%	214	42.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล											Total
			16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26.00	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	4	18	14	47	29	13	8	35	32	9	1	210
		Expected Count	4.4	15.3	18.2	47.4	24.1	10.9	9.5	35.7	32.8	10.9	.7	210.0
	จีน	Count	2	3	11	18	4	2	5	14	13	6	0	78
		Expected Count	1.6	5.7	6.8	17.6	8.9	4.1	3.5	13.3	12.2	4.1	.3	78.0
Total		Count	6	21	25	65	33	15	13	49	45	15	1	288
		Expected Count	6.0	21.0	25.0	65.0	33.0	15.0	13.0	49.0	45.0	15.0	1.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	13.292(a)	10	.208	.(b)		
Likelihood Ratio	14.167	10	.166	.(b)		
Fisher's Exact Test	.(b)			.(b)		
Linear-by-Linear Association	.394(c)	1	.530	.535	.274	.017
N of Valid Cases	288					

a 7 cells (31.8%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is .628.

ตารางที่ 34 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D19S433

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.4%	214	42.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล												Total
			9	12	12.2	13	13.2	14	14.2	15	15.2	16	16.2	17.2	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	4	7	1	59	8	45	19	20	36	3	7	1	210
		Expected Count	2.9	8.0	.7	59.1	6.6	49.6	16.8	16.8	40.1	2.9	5.8	.7	210.0
	จีน	Count	0	4	0	22	1	23	4	3	19	1	1	0	78
		Expected Count	1.1	3.0	.3	21.9	2.4	18.4	6.2	6.2	14.9	1.1	2.2	.3	78.0
Total		Count	4	11	1	81	9	68	23	23	55	4	8	1	288
		Expected Count	4.0	11.0	1.0	81.0	9.0	68.0	23.0	23.0	55.0	4.0	8.0	1.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	11.246(a)	11	.423	.428		
Likelihood Ratio	13.471	11	.264	.351		
Fisher's Exact Test	10.330			.477		
Linear-by-Linear Association	.085(b)	1	.771	.778	.391	.003
N of Valid Cases	288					

a 11 cells (45.8%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b The standardized statistic is .291.

ตารางที่ 35 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส vWA

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.4%	214	42.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			14	15	16	17	18	19	20	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	54	6	30	50	44	24	2	210
		Expected Count	54.7	7.3	32.8	51.0	42.3	20.4	1.5	210.0
	จีน	Count	21	4	15	20	14	4	0	78
		Expected Count	20.3	2.7	12.2	19.0	15.7	7.6	.5	78.0
Total		Count	75	10	45	70	58	28	2	288
		Expected Count	75.0	10.0	45.0	70.0	58.0	28.0	2.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	5.165(a)	6	.523	.522		
Likelihood Ratio	5.911	6	.433	.477		
Fisher's Exact Test	4.952			.539		
Linear-by-Linear Association	1.920(b)	1	.166	.177	.089	.012
N of Valid Cases	288					

a 3 cells (21.4%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .54.
b The standardized statistic is -1.386.

ตารางที่ 36 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส TPOX

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.5%	213	42.5%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล						Total
			8	9	10	11	12	14	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	118	27	7	52	5	1	210
		Expected Count	121.0	25.5	5.8	53.2	3.6	.7	210.0
	จีน	Count	48	8	1	21	0	0	78
		Expected Count	45.0	9.5	2.2	19.8	1.4	.3	78.0
Total		Count	166	35	8	73	5	1	288
		Expected Count	166.0	35.0	8.0	73.0	5.0	1.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	3.794(a)	5	.579	.617		
Likelihood Ratio	5.506	5	.357	.438		
Fisher's Exact Test	3.036			.727		
Linear-by-Linear Association	.484(b)	1	.487	.498	.261	.031
N of Valid Cases	288					

a 5 cells (41.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b The standardized statistic is -.696.

ตารางที่ 37 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D18S51

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.5%	213	42.5%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล													Total
			11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	3	14	28	38	47	41	17	7	7	2	4	2	0	210
		Expected Count	2.2	13.9	28.4	41.6	43.0	35.7	20.4	8.0	6.6	1.5	6.6	1.5	.7	210.0
	จีน	Count	0	5	11	19	12	8	11	4	2	0	5	0	1	78
		Expected Count	.8	5.1	10.6	15.4	16.0	13.3	7.6	3.0	2.4	.5	2.4	.5	.3	78.0
Total		Count	3	19	39	57	59	49	28	11	9	2	9	2	1	288
		Expected Count	3.0	19.0	39.0	57.0	59.0	49.0	28.0	11.0	9.0	2.0	9.0	2.0	1.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	17.073(a)	12	.147	.(b)		
Likelihood Ratio	18.516	12	.101	.(b)		
Fisher's Exact Test	.(b)			.(b)		
Linear-by-Linear Association	1.051(c)	1	.305	.316	.160	.014
N of Valid Cases	288					

a 11 cells (42.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .27.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is 1.025.

ตารางที่ 38 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส D5S818

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.5%	213	42.5%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			7	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	5	14	45	57	50	35	4	210
		Expected Count	5.8	14.6	46.7	59.1	45.9	35.0	2.9	210.0
	จีน	Count	3	6	19	24	13	13	0	78
		Expected Count	2.2	5.4	17.3	21.9	17.1	13.0	1.1	78.0
Total		Count	8	20	64	81	63	48	4	288
		Expected Count	8.0	20.0	64.0	81.0	63.0	48.0	4.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	3.824(a)	6	.701	.712		
Likelihood Ratio	4.903	6	.556	.616		
Fisher's Exact Test	3.598			.737		
Linear-by-Linear Association	1.641(b)	1	.200	.217	.109	.017
N of Valid Cases	288					

a 3 cells (21.4%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.08.
b The standardized statistic is -1.281.

ตารางที่ 39 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรไทย (p-value) บนโลคัส FGA

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	288	57.5%	213	42.5%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			7	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	ไทย	Count	5	14	45	57	50	35	4	210
		Expected Count	5.8	14.6	46.7	59.1	45.9	35.0	2.9	210.0
	จีน	Count	3	6	19	24	13	13	0	78
		Expected Count	2.2	5.4	17.3	21.9	17.1	13.0	1.1	78.0
Total		Count	8	20	64	81	63	48	4	288
		Expected Count	8.0	20.0	64.0	81.0	63.0	48.0	4.0	288.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	3.824(a)	6	.701	.712		
Likelihood Ratio	4.903	6	.556	.616		
Fisher's Exact Test	3.598			.737		
Linear-by-Linear Association	1.641(b)	1	.200	.217	.109	.017
N of Valid Cases	288					

a 3 cells (21.4%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.08.
b The standardized statistic is -1.281.

ตารางที่ 40 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D8S1179

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.4%	224	44.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล									Total
			10	11	12	13	14	15	16	17	18	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	32	16	30	40	33	27	16	5	1	200
		Expected Count	29.5	19.4	26.6	38.1	33.8	30.9	16.5	4.3	.7	200.0
	จีน	Count	9	11	7	13	14	16	7	1	0	78
		Expected Count	11.5	7.6	10.4	14.9	13.2	12.1	6.5	1.7	.3	78.0
Total		Count	41	27	37	53	47	43	23	6	1	278
		Expected Count	41.0	27.0	37.0	53.0	47.0	43.0	23.0	6.0	1.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	7.461(a)	8	.488	.499		
Likelihood Ratio	7.694	8	.464	.522		
Fisher's Exact Test	7.262			.506		
Linear-by-Linear Association	.487(b)	1	.485	.496	.254	.021
N of Valid Cases	278					

a 4 cells (22.2%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.

b The standardized statistic is .698.

ตารางที่ 41 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D21S11

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.4%	224	44.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล												Total
			28	29	30	30.2	30.3	31	31.2	32	32.2	33	33.2	34.20	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	9	49	53	3	2	18	15	5	35	1	9	1	200
		Expected Count	10.1	50.4	46.0	3.6	1.4	21.6	14.4	6.5	35.3	.7	9.4	.7	200.0
	จีน	Count	5	21	11	2	0	12	5	4	14	0	4	0	78
		Expected Count	3.9	19.6	18.0	1.4	.6	8.4	5.6	2.5	13.7	.3	3.6	.3	78.0
Total		Count	14	70	64	5	2	30	20	9	49	1	13	1	278
		Expected Count	14.0	70.0	64.0	5.0	2.0	30.0	20.0	9.0	49.0	1.0	13.0	1.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	9.660(a)	11	.561	.580		
Likelihood Ratio	10.833	11	.457	.(b)		
Fisher's Exact Test	10.122			.501		
Linear-by-Linear Association	.032(c)	1	.857	.854	.426	.000
N of Valid Cases	278					

a 11 cells (45.8%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is .180.

ตารางที่ 42 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D7S820

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.3%	225	44.7%	503	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	32	8	25	86	43	5	1	200
		Expected Count	35.3	7.9	28.8	82.0	39.6	5.8	.7	200.0
	จีน	Count	17	3	15	28	12	3	0	78
		Expected Count	13.7	3.1	11.2	32.0	15.4	2.2	.3	78.0
Total		Count	49	11	40	114	55	8	1	278
		Expected Count	49.0	11.0	40.0	114.0	55.0	8.0	1.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	5.334(a)	6	.502	.518		
Likelihood Ratio	5.513	6	.480	.535		
Fisher's Exact Test	5.591			.469		
Linear-by-Linear Association	2.310(b)	1	.129	.132	.071	.012
N of Valid Cases	278					

a 4 cells (28.6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.

b The standardized statistic is -1.520.

ตารางที่ 43 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส CSF1PO

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.4%	224	44.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล								Total
			7	9	10	11	12	13	14	15	
เชื้อชาติ	west china	Count	1	18	44	39	74	17	4	3	200
		Expected Count	.7	14.4	40.3	42.4	75.5	20.1	4.3	2.2	200.0
	จีน	Count	0	2	12	20	31	11	2	0	78
		Expected Count	.3	5.6	15.7	16.6	29.5	7.9	1.7	.8	78.0
Total		Count	1	20	56	59	105	28	6	3	278
		Expected Count	1.0	20.0	56.0	59.0	105.0	28.0	6.0	3.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	8.950(a)	7	.256	.247		
Likelihood Ratio	10.644	7	.155	.190		
Fisher's Exact Test	8.706			.239		
Linear-by-Linear Association	3.414(b)	1	.065	.072	.036	.008
N of Valid Cases	278					

a 6 cells (37.5%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.
b The standardized statistic is 1.848.

ตารางที่ 44 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D3S1358

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.2%	226	44.8%	504	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล						Total
			14	15	16	17	18	19	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	6	64	64	55	10	1	200
		Expected Count	5.8	64.7	65.5	49.6	12.9	1.4	200.0
	จีน	Count	2	26	27	14	8	1	78
		Expected Count	2.2	25.3	25.5	19.4	5.1	.6	78.0
Total		Count	8	90	91	69	18	2	278
		Expected Count	8.0	90.0	91.0	69.0	18.0	2.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	5.119(a)	5	.401	.403		
Likelihood Ratio	5.005	5	.415	.466		
Fisher's Exact Test	5.559			.332		
Linear-by-Linear Association	.045(b)	1	.832	.843	.441	.051
N of Valid Cases	278					

a 3 cells (25.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .56.
b The standardized statistic is .212.

ตารางที่ 45 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส TH01

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.4%	224	44.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล						Total
			6	7	8	9	9.3	10	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	20	54	15	94	11	6	200
		Expected Count	19.4	49.6	13.7	97.8	10.8	8.6	200.0
	จีน	Count	7	15	4	42	4	6	78
		Expected Count	7.6	19.4	5.3	38.2	4.2	3.4	78.0
Total		Count	27	69	19	136	15	12	278
		Expected Count	27.0	69.0	19.0	136.0	15.0	12.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	5.302(a)	5	.380	.385		
Likelihood Ratio	5.097	5	.404	.427		
Fisher's Exact Test	5.092			.401		
Linear-by-Linear Association	2.711(b)	1	.100	.101	.050	.003
N of Valid Cases	278					

a 2 cells (16.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.37.
b The standardized statistic is 1.646.

ตารางที่ 46 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D13S317

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.4%	224	44.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล									Total
			7	8	9	10	11	12	13	14	15	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	1	60	30	28	42	28	8	2	1	200
		Expected Count	.7	59.0	29.5	29.5	44.6	27.3	7.2	1.4	.7	200.0
	จีน	Count	0	22	11	13	20	10	2	0	0	78
		Expected Count	.3	23.0	11.5	11.5	17.4	10.7	2.8	.6	.3	78.0
Total		Count	1	82	41	41	62	38	10	2	1	278
		Expected Count	1.0	82.0	41.0	41.0	62.0	38.0	10.0	2.0	1.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	2.843(a)	8	.944	.965		
Likelihood Ratio	3.920	8	.864	.949		
Fisher's Exact Test	2.488			.984		
Linear-by-Linear Association	.014(b)	1	.907	.935	.471	.032
N of Valid Cases	278					

a 7 cells (38.9%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.

b The standardized statistic is -.117.

ตารางที่ 47 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D16S539

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.0%	227	45.0%	505	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	4	57	21	50	44	21	3	200
		Expected Count	2.9	56.1	23.7	50.4	40.3	24.5	2.2	200.0
	จีน	Count	0	21	12	20	12	13	0	78
		Expected Count	1.1	21.9	9.3	19.6	15.7	9.5	.8	78.0
Total		Count	4	78	33	70	56	34	3	278
		Expected Count	4.0	78.0	33.0	70.0	56.0	34.0	3.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	6.881(a)	6	.332	.328		
Likelihood Ratio	8.669	6	.193	.230		
Fisher's Exact Test	5.869			.412		
Linear-by-Linear Association	.080(b)	1	.777	.783	.406	.035
N of Valid Cases	278					

a 4 cells (28.6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .84.
b The standardized statistic is .283.

ตารางที่ 48 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส vWA

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.4%	224	44.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล									Total
			12	13	14	15	16	17	18	19	20	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	1	1	60	6	33	45	34	18	2	200
		Expected Count	.7	.7	58.3	7.2	34.5	46.8	34.5	15.8	1.4	200.0
	จีน	Count	0	0	21	4	15	20	14	4	0	78
		Expected Count	.3	.3	22.7	2.8	13.5	18.2	13.5	6.2	.6	78.0
Total		Count	1	1	81	10	48	65	48	22	2	278
		Expected Count	1.0	1.0	81.0	10.0	48.0	65.0	48.0	22.0	2.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	4.020(a)	8	.855	.891		
Likelihood Ratio	5.137	8	.743	.857		
Fisher's Exact Test	3.826			.907		
Linear-by-Linear Association	.017(b)	1	.895	.908	.463	.030
N of Valid Cases	278					

a 7 cells (38.9%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.
b The standardized statistic is -.132

ตารางที่ 49 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส TPOX

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.5%	223	44.5%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล						Total
			7	8	9	10	11	13	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	1	118	18	2	59	2	200
		Expected Count	.7	119.4	18.7	2.2	57.6	1.4	200.0
	จีน	Count	0	48	8	1	21	0	78
		Expected Count	.3	46.6	7.3	.8	22.4	.6	78.0
Total		Count	1	166	26	3	80	2	278
		Expected Count	1.0	166.0	26.0	3.0	80.0	2.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	1.496(a)	5	.914	.952		
Likelihood Ratio	2.300	5	.806	.926		
Fisher's Exact Test	1.481			.980		
Linear-by-Linear Association	.321(b)	1	.571	.595	.305	.033
N of Valid Cases	278					

a 6 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.
b The standardized statistic is -.566.

ตารางที่ 5 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D18S51

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	325	64.9%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล																Total
			10	10.2	11	12	13	14	14.2	15	15.2	16	17	18	19	20	21	23	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	2	1	1	2	4	7	1	14	2	15	16	11	7	11	3	1	98
		Expected Count	1.1	.6	.6	3.9	8.4	14.5	.6	14.5	1.1	12.8	15.0	8.4	5.0	6.1	4.5	1.1	98.0
	จีน	Count	0	0	0	5	11	19	0	12	0	8	11	4	2	0	5	1	78
		Expected Count	.9	.4	.4	3.1	6.6	11.5	.4	11.5	.9	10.2	12.0	6.6	4.0	4.9	3.5	.9	78.0
Total		Count	2	1	1	7	15	26	1	26	2	23	27	15	9	11	8	2	176
		Expected Count	2.0	1.0	1.0	7.0	15.0	26.0	1.0	26.0	2.0	23.0	27.0	15.0	9.0	11.0	8.0	2.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	36.038(a)	15	.002	.(b)		
Likelihood Ratio	43.249	15	.000	.(b)		
Fisher's Exact Test	.(b)			.(b)		
Linear-by-Linear Association	8.087(c)	1	.004	.004	.002	.000
N of Valid Cases	176					

a 18 cells (56.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is -2.844.

ตารางที่ 51 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส D5S818

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.4%	224	44.6%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล									Total
			6	7	8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	1	5	1	14	41	64	49	22	3	200
		Expected Count	.7	5.8	.7	14.4	43.2	63.3	44.6	25.2	2.2	200.0
	จีน	Count	0	3	0	6	19	24	13	13	0	78
		Expected Count	.3	2.2	.3	5.6	16.8	24.7	17.4	9.8	.8	78.0
Total		Count	1	8	1	20	60	88	62	35	3	278
		Expected Count	1.0	8.0	1.0	20.0	60.0	88.0	62.0	35.0	3.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	5.730(a)	8	.677	.714		
Likelihood Ratio	7.059	8	.530	.641		
Fisher's Exact Test	5.581			.715		
Linear-by-Linear Association	.170(b)	1	.680	.701	.356	.035
N of Valid Cases	278					

a 7 cells (38.9%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.
b The standardized statistic is -.413.

ตารางที่ 52 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรจีนเสฉวน (p-value) บนโลคัส FGA

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	278	55.5%	223	44.5%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล																	Total
			17	18	19	20	21	21.2	22	22.2	23	23.2	24	24.2	25	25.2	26	27	28	
เชื้อชาติ	sichuan	Count	1	7	13	10	24	1	42	1	35	1	35	1	23	1	1	3	1	200
		Expected Count	.7	6.5	13.7	10.8	21.6	2.2	42.4	.7	36.0	1.4	33.8	1.4	16.5	4.3	1.4	5.0	1.4	200.0
	จีน	Count	0	2	6	5	6	2	17	0	15	1	12	1	0	5	1	4	1	78
		Expected Count	.3	2.5	5.3	4.2	8.4	.8	16.6	.3	14.0	.6	13.2	.6	6.5	1.7	.6	2.0	.6	78.0
Total		Count	1	9	19	15	30	3	59	1	50	2	47	2	23	6	2	7	2	278
		Expected Count	1.0	9.0	19.0	15.0	30.0	3.0	59.0	1.0	50.0	2.0	47.0	2.0	23.0	6.0	2.0	7.0	2.0	278.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	27.588(a)	16	.035	.(b)		
Likelihood Ratio	32.410	16	.009	.(b)		
Fisher's Exact Test	.(b)			.(b)		
Linear-by-Linear Association	.223(c)	1	.637	.635	.317	.001
N of Valid Cases	278					

a 19 cells (55.9%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .28.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is .472.

ตารางที่ 53 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D8S1179

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	326	64.9%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล										Total
			8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	1	1	0	3	15	26	26	18	6	2	98
		Expected Count	.6	.6	5.0	7.8	12.2	21.7	22.3	18.9	7.2	1.7	98.0
	จีน	Count	0	0	9	11	7	13	14	16	7	1	78
		Expected Count	.4	.4	4.0	6.2	9.8	17.3	17.7	15.1	5.8	1.3	78.0
Total		Count	1	1	9	14	22	39	40	34	13	3	176
		Expected Count	1.0	1.0	9.0	14.0	22.0	39.0	40.0	34.0	13.0	3.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	24.992(a)	9	.003	.001		
Likelihood Ratio	29.416	9	.001	.001		
Fisher's Exact Test	25.473			.001		
Linear-by-Linear Association	2.376(b)	1	.123	.131	.068	.011
N of Valid Cases	176					

a 7 cells (35.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b The standardized statistic is -1.541.

ตารางที่ 54 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D21S11

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	326	64.9%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล																	Total
			26	27	28	29	30	30.2	31	31.2	32	32.2	33.2	34	34.2	35	35.2	36	37	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	1	7	30	8	11	1	10	6	1	9	3	1	1	4	2	2	1	98
		Expected Count	.6	3.9	19.5	16.1	12.2	1.7	12.2	6.1	2.8	12.8	3.9	.6	.6	2.2	1.1	1.1	.6	98.0
	จีน	Count	0	0	5	21	11	2	12	5	4	14	4	0	0	0	0	0	0	78
		Expected Count	.4	3.1	15.5	12.9	9.8	1.3	9.8	4.9	2.2	10.2	3.1	.4	.4	1.8	.9	.9	.4	78.0
Total		Count	1	7	35	29	22	3	22	11	5	23	7	1	1	4	2	2	1	176
		Expected Count	1.0	7.0	35.0	29.0	22.0	3.0	22.0	11.0	5.0	23.0	7.0	1.0	1.0	4.0	2.0	2.0	1.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	44.624(a)	16	.000	.(b)		
Likelihood Ratio	53.694	16	.000	.(b)		
Fisher's Exact Test	.(b)			.(b)		
Linear-by-Linear Association	1.282(c)	1	.257	.261	.131	.002
N of Valid Cases	176					

a 23 cells (67.6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is 1.132.

ตารางที่ 55 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D7S820

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.0%	327	65.0%	503	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			8	9	10	11	12	13	15	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	19	14	29	27	6	2	1	98
		Expected Count	20.0	9.5	24.5	30.6	10.0	2.8	.6	98.0
	จีน	Count	17	3	15	28	12	3	0	78
		Expected Count	16.0	7.5	19.5	24.4	8.0	2.2	.4	78.0
Total		Count	36	17	44	55	18	5	1	176
		Expected Count	36.0	17.0	44.0	55.0	18.0	5.0	1.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	12.794(a)	6	.046	.035		
Likelihood Ratio	13.734	6	.033	.039		
Fisher's Exact Test	12.790			.032		
Linear-by-Linear Association	2.303(b)	1	.129	.136	.072	.014
N of Valid Cases	176					

a 4 cells (28.6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b The standardized statistic is 1.518

ตารางที่ 56 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส CSF1PO

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	326	64.9%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล									Total
			6	7	8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	1	6	4	3	28	25	25	6	0	98
		Expected Count	.6	3.3	2.2	2.8	22.3	25.1	31.2	9.5	1.1	98.0
	จีน	Count	0	0	0	2	12	20	31	11	2	78
		Expected Count	.4	2.7	1.8	2.2	17.7	19.9	24.8	7.5	.9	78.0
Total		Count	1	6	4	5	40	45	56	17	2	176
		Expected Count	1.0	6.0	4.0	5.0	40.0	45.0	56.0	17.0	2.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	20.258(a)	8	.009	.004		
Likelihood Ratio	25.222	8	.001	.002		
Fisher's Exact Test	19.502			.004		
Linear-by-Linear Association	18.676(b)	1	.000	.000	.000	.000
N of Valid Cases	176					

a 10 cells (55.6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b The standardized statistic is 4.322.

ตารางที่ 57 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D3S1358

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	326	64.9%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			12	14	15	16	17	18	19	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	2	8	28	38		5	1	98
		Expected Count	1.1	5.6	30.1	36.2	16.7	7.2	1.1	98.0
	จีน	Count	0	2	26	27	14	8	1	78
		Expected Count	.9	4.4	23.9	28.8	13.3	5.8	.9	78.0
Total		Count	2	10	54	65	30	13	2	176
		Expected Count	2.0	10.0	54.0	65.0	30.0	13.0	2.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	6.168(a)	6	.405	.421		
Likelihood Ratio	7.126	6	.309	.424		
Fisher's Exact Test	5.938			.417		
Linear-by-Linear Association	2.535(b)	1	.111	.123	.064	.015
N of Valid Cases	176					

a 5 cells (35.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .89.

b The standardized statistic is 1.592.

ตารางที่ 58 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส THO1

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	326	64.9%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล						Total
			6	7	8	9	9.3	10	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	8	36	30	21	1	2	98
		Expected Count	8.4	28.4	18.9	35.1	2.8	4.5	98.0
	จีน	Count	7	15	4	42	4	6	78
		Expected Count	6.6	22.6	15.1	27.9	2.2	3.5	78.0
Total		Count	15	51	34	63	5	8	176
		Expected Count	15.0	51.0	34.0	63.0	5.0	8.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	37.609(a)	5	.000	.000		
Likelihood Ratio	40.359	5	.000	.000		
Fisher's Exact Test	38.870			.000		
Linear-by-Linear Association	14.956(b)	1	.000	.000	.000	.000
N of Valid Cases	176					

a 4 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.22.

b The standardized statistic is 3.867.

ตารางที่ 59 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D13S317

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	34.9%	328	65.1%	504	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	0	0	3	28	36	23	8	98
		Expected Count	12.2	6.1	8.9	26.7	25.6	13.9	4.5	98.0
	จีน	Count	22	11	13	20	10	2	0	78
		Expected Count	9.8	4.9	7.1	21.3	20.4	11.1	3.5	78.0
Total		Count	22	11	16	48	46	25	8	176
		Expected Count	22.0	11.0	16.0	48.0	46.0	25.0	8.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	79.675(a)	6	.000	.000		
Likelihood Ratio	98.957	6	.000	.(b)		
Fisher's Exact Test	88.160			.000		
Linear-by-Linear Association	75.171(c)	1	.000	.000	.000	.000
N of Valid Cases	176					

a 3 cells (21.4%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.55.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is -8.670.

ตารางที่ 60 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D16S539

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	34.9%	329	65.1%	505	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล							Total
			8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	3	21	21	26	17	9	1	98
		Expected Count	1.7	23.4	18.4	25.6	16.1	12.2	.6	98.0
	จีน	Count	0	21	12	20	12	13	0	78
		Expected Count	1.3	18.6	14.6	20.4	12.9	9.8	.4	78.0
Total		Count	3	42	33	46	29	22	1	176
		Expected Count	3.0	42.0	33.0	46.0	29.0	22.0	1.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	6.640(a)	6	.355	.354		
Likelihood Ratio	8.136	6	.228	.292		
Fisher's Exact Test	6.146			.393		
Linear-by-Linear Association	.450(b)	1	.502	.515	.269	.035
N of Valid Cases	176					

a 4 cells (28.6%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.

b The standardized statistic is .671.

ตารางที่ 61 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D2S1338

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	158	31.5%	344	68.5%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล											Total
			16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	10	5	7	0	4	15	20	10	5	3	1	80
		Expected Count	6.1	4.1	9.1	9.1	4.1	8.6	12.7	12.2	9.1	4.6	.5	80.0
	จีน	Count	2	3	11	18	4	2	5	14	13	6	0	78
		Expected Count	5.9	3.9	8.9	8.9	3.9	8.4	12.3	11.8	8.9	4.4	.5	78.0
Total		Count	12	8	18	18	8	17	25	24	18	9	1	158
		Expected Count	12.0	8.0	18.0	18.0	8.0	17.0	25.0	24.0	18.0	9.0	1.0	158.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	49.868(a)	10	.000	.000		
Likelihood Ratio	59.799	10	.000	.(b)		
Fisher's Exact Test	.(b)			.(b)		
Linear-by-Linear Association	.500(c)	1	.480	.494	.250	.019
N of Valid Cases	158					

a 8 cells (36.4%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .49.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is .707.

ตารางที่ 62 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส vWA

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	326	64.9%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล									Total
			11	13	14	15	16	17	18	19	20	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	3	1	6	27	19	22	11	8	1	98
		Expected Count	1.7	.6	15.0	17.3	18.9	23.4	13.9	6.7	.6	98.0
	จีน	Count	0	0	21	4	15	20	14	4	0	78
		Expected Count	1.3	.4	12.0	13.7	15.1	18.6	11.1	5.3	.4	78.0
Total		Count	3	1	27	31	34	42	25	12	1	176
		Expected Count	3.0	1.0	27.0	31.0	34.0	42.0	25.0	12.0	1.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	30.782(a)	8	.000	.000		
Likelihood Ratio	34.900	8	.000	.000		
Fisher's Exact Test	31.411			.000		
Linear-by-Linear Association	.011(b)	1	.917	.928	.477	.036
N of Valid Cases	176					

a 6 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b The standardized statistic is .105.

ตารางที่ 63 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส TPOX

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	325	64.9%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล								Total
			6	7	8	9	10	11	12	13	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	8	1	21	23	11	31	2	1	98
		Expected Count	4.5	.6	38.4	17.3	6.7	29.0	1.1	.6	98.0
	จีน	Count	0	0	48	8	1	21	0	0	78
		Expected Count	3.5	.4	30.6	13.7	5.3	23.0	.9	.4	78.0
Total		Count	8	1	69	31	12	52	2	1	176
		Expected Count	8.0	1.0	69.0	31.0	12.0	52.0	2.0	1.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	38.302(a)	7	.000	.000		
Likelihood Ratio	44.469	7	.000	.000		
Fisher's Exact Test	38.540			.000		
Linear-by-Linear Association	3.595(b)	1	.058	.061	.032	.007
N of Valid Cases	176					

a 8 cells (50.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b The standardized statistic is -1.896.

ตารางที่ 64 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D18S51

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	325	64.9%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล																Total
			10	10.2	11	12	13	14	14.2	15	15.2	16	17	18	19	20	21	23	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	2	1	1	2	4	7	1	14	2	15	16	11	7	11	3	1	98
		Expected Count	1.1	.6	.6	3.9	8.4	14.5	.6	14.5	1.1	12.8	15.0	8.4	5.0	6.1	4.5	1.1	98.0
	จีน	Count	0	0	0	5	11	19	0	12	0	8	11	4	2	0	5	1	78
		Expected Count	.9	.4	.4	3.1	6.6	11.5	.4	11.5	.9	10.2	12.0	6.6	4.0	4.9	3.5	.9	78.0
Total		Count	2	1	1	7	15	26	1	26	2	23	27	15	9	11	8	2	176
		Expected Count	2.0	1.0	1.0	7.0	15.0	26.0	1.0	26.0	2.0	23.0	27.0	15.0	9.0	11.0	8.0	2.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	36.038(a)	15	.002	.(b)		
Likelihood Ratio	43.249	15	.000	.(b)		
Fisher's Exact Test	.(b)			.(b)		
Linear-by-Linear Association	8.087(c)	1	.004	.004	.002	.000
N of Valid Cases	176					

a 18 cells (56.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is -2.844.

ตารางที่ 65 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส D5S818

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	176	35.1%	326	64.9%	502	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล								Total
			7	8	9	10	11	12	13	14	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	0	6	3	7	24	32	25	1	98
		Expected Count	1.7	3.3	5.0	14.5	26.7	25.1	21.2	.6	98.0
	จีน	Count	3	0	6	19	24	13	13	0	78
		Expected Count	1.3	2.7	4.0	11.5	21.3	19.9	16.8	.4	78.0
Total		Count	3	6	9	26	48	45	38	1	176
		Expected Count	3.0	6.0	9.0	26.0	48.0	45.0	38.0	1.0	176.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	26.419(a)	7	.000	.000		
Likelihood Ratio	30.493	7	.000	.000		
Fisher's Exact Test	25.821			.000		
Linear-by-Linear Association	7.750(b)	1	.005	.005	.003	.001
N of Valid Cases	176					

a 7 cells (43.8%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .44.
b The standardized statistic is -2.784.

ตารางที่ 66 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส FGA

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	170	33.9%	331	66.1%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล																	Total
			18	18.2	19	20	20.2	21	21.2	22	23	23.2	24	24.2	25	25.2	26	27	28	29	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	1	1	4	5	1	5	1	14	13	1	14	0	15	0	9	6	1	1	92
		Expected Count	1.6	.5	5.4	5.4	.5	6.0	1.6	16.8	15.2	1.1	14.1	.5	8.1	2.7	5.4	5.4	1.1	.5	92.0
	จีน	Count	2	0	6	5	0	6	2	17	15	1	12	1	0	5	1	4	1	0	78
		Expected Count	1.4	.5	4.6	4.6	.5	5.0	1.4	14.2	12.8	.9	11.9	.5	6.9	2.3	4.6	4.6	.9	.5	78.0
Total		Count	3	1	10	10	1	11	3	31	28	2	26	1	15	5	10	10	2	1	170
		Expected Count	3.0	1.0	10.0	10.0	1.0	11.0	3.0	31.0	28.0	2.0	26.0	1.0	15.0	5.0	10.0	10.0	2.0	1.0	170.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	31.606(a)	17	.017	.005		
Likelihood Ratio	41.642	17	.001	.(b)		
Fisher's Exact Test	34.648			.001		
Linear-by-Linear Association	5.475(c)	1	.019	.019	.010	.000
N of Valid Cases	170					

a 22 cells (61.1%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .46.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is -2.340.

ตารางที่ 66 การกระจายตัวของความถี่อัลลีลของประชากรจีนกับประชากรแอฟริกาใต้ (p-value) บนโลคัส FGA

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
เชื้อชาติ * อัลลีล	170	33.9%	331	66.1%	501	100.0%

เชื้อชาติ * อัลลีล Crosstabulation

			อัลลีล																		Total
			18	18.2	19	20	20.2	21	21.2	22	23	23.2	24	24.2	25	25.2	26	27	28	29	
เชื้อชาติ	south Africa	Count	1	1	4	5	1	5	1	14	13	1	14	0	15	0	9	6	1	1	92
		Expected Count	1.6	.5	5.4	5.4	.5	6.0	1.6	16.8	15.2	1.1	14.1	.5	8.1	2.7	5.4	5.4	1.1	.5	92.0
	จีน	Count	2	0	6	5	0	6	2	17	15	1	12	1	0	5	1	4	1	0	78
		Expected Count	1.4	.5	4.6	4.6	.5	5.0	1.4	14.2	12.8	.9	11.9	.5	6.9	2.3	4.6	4.6	.9	.5	78.0
Total		Count	3	1	10	10	1	11	3	31	28	2	26	1	15	5	10	10	2	1	170
		Expected Count	3.0	1.0	10.0	10.0	1.0	11.0	3.0	31.0	28.0	2.0	26.0	1.0	15.0	5.0	10.0	10.0	2.0	1.0	170.0

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)	Point Probability
Pearson Chi-Square	31.606(a)	17	.017	.005		
Likelihood Ratio	41.642	17	.001	.(b)		
Fisher's Exact Test	34.648			.001		
Linear-by-Linear Association	5.475(c)	1	.019	.019	.010	.000
N of Valid Cases	170					

a 22 cells (61.1%) have expected count less than 5. The minimum expected count is .46.
b Cannot be computed because there is insufficient memory.
c The standardized statistic is -2.340.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-ชื่อสกุล	นางสาวสิรีธร แสงเพลิง
ที่อยู่	30/5 หมู่ 6 ตำบลบ่อพลับ อำเภอเมือง จังหวัดนครปฐม 73000 สถานที่ทำงาน สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ ถนนประชาชื่น เขตบางซื่อ กรุงเทพมหานคร

ประวัติการศึกษา

พ.ศ.2546	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติการทำงาน

พ.ศ.2546	ผู้ช่วยนักวิจัย โครงการผลิตเพคตินจากเปลือกส้มโอและการประยุกต์ใช้ใน อุตสาหกรรมยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
พ.ศ.2551	นักนิติวิทยาศาสตร์ปฏิบัติการ สถาบันนิติวิทยาศาสตร์