บทที่ 4

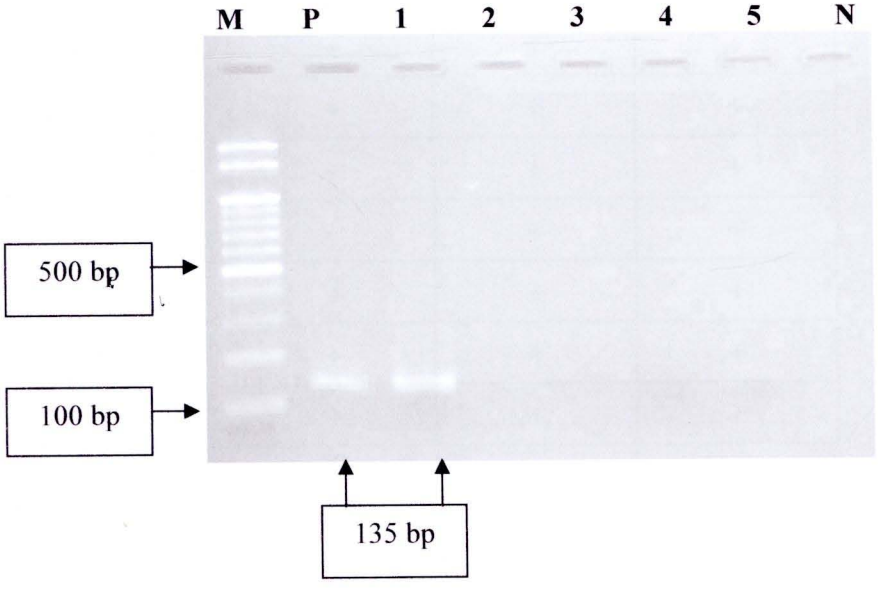
ผลการวิจัย

ผลการระบุสารพันธุกรรมของสุกรด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีในไมโตคอนเดรีย โดยเทคนิค PCR แล้วนำมาวิเคราะห์ใน agarose gel electrophoresis โดยเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp ladder) พบว่าปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 135 คู่เบส ทั้ง 70 ตัวอย่าง คิดเป็นความถูกต้อง 100 % และเมื่อทำการตรวจสอบซ้ำอีก 2 ครั้งต่อตัวอย่าง ยังได้ผลเหมือนเดิม (ภาพ 1)

ภาพ 1 แสดงแถบดีเอ็นเอบนตำแหน่ง 135 bp จากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างดีเอ็นเอจากเนื้อสุกรด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีในไมโตคอนเดรีย เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp ladder) ; ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐาน, ช่อง P Positive Control (เลือดสุกร), ช่อง N Negative Control (น้ำ), ช่องที่ 1-9 น้ำสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อสุกร

เมื่อทำการทดสอบความจำเพาะของวิธีการที่ใช้ตรวจ พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่นได้ทั้งหมด 72 ตัวอย่าง คิดเป็น 100% โดยตัวอย่างทั้งหมดได้ผ่าน

กระบวนการตรวจสอบความถูกต้องในเบื้องต้นแล้วว่ามีดีเอ็นเออยู่จริง และจากการทดสอบซ้ำอีก 1 ครั้งก็ยังปรากฏผลเหมือนเดิมทุกประการ (ภาพ 2)



ภาพ 2 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอใน agarose gel ภายหลังจากทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของตัวอย่างเนื้อสุกรเทียบกับตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดต่างๆ; ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp ladder), ช่อง P Positive Control (เลือดสุกร), ช่องที่ 1 น้ำสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อสุกร, ช่องที่ 2 น้ำสกัดดีเอ็นเอจากขนวัว, ช่องที่ 3 น้ำสกัดดีเอ็นเอจากเลือดมนุษย์, ช่องที่ 4 น้ำสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อไก่, ช่องที่ 5 น้ำสกัดดีเอ็นเอจากเลือดปลา, ช่อง N Negative Control (น้ำ)

ผลการระบุดีเอ็นเอของสุกรด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีในไมโตคอนเดรียทั้งหมดจำนวน 70 ตัวอย่าง และแต่ละตัวอย่างได้ทำการทดสอบทั้งหมดจำนวน 3 ครั้ง ได้แสดงดังตาราง 1

ตาราง 1 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอของสุกรด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีในไมโตคอนเดรีย

ตัวอย่างที่	ผลการตรวจ		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	+	+	+
5	+	+	+
6	+	+	+
7	+	+	+
8	+	+	+
9	+	+	+
10	+	+	+
11	+	+	+
12	+	+	+
13	+	+	+
14	+	+	+
15	+	+	+
16	+	+	+
17	+	+	+
18	+	+	+
19	+	+	+
20	+	+	+
21	+	+	+
22	+	+	+
23	+	+	+
24	+	+	+
25	+	+	+

ตาราง 1(ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผลการตรวจ		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
26	+	+	+
27	+	+	+
28	+	+	+
29	+	+	+
‘30	+	+	+
31	+	+	+
32	+	+	+
33	+	+	+
34	+	+	+
35	+	+	+
36	+	+	+
37	+	+	+
38	+	+	+
39	+	+	+
40	+	+	+
41	+	+	+
42	+	+	+
43	+	+	+
44	+	+	+
45	+	+	+
46	+	+	+
47	+	+	+
48	+	+	+

ตาราง 1(ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผลการตรวจ		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
49	+	+	+
50	+	+	+
51	+	+	+
52	+	+	+
53	+	+	+
54	+	+	+
55	+	+	+
56	+	+	+
57	+	+	+
58	+	+	+
59	+	+	+
60	+	+	+
61	+	+	+
62	+	+	+
63	+	+	+
64	+	+	+
65	+	+	+
66	+	+	+
67	+	+	+
68	+	+	+
69	+	+	+
70	+	+	+

หมายเหตุ + คือ สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 135 คู่เบส
ตัวอย่างที่ 1 – 70 = ดีเอ็นเอที่สกัดจากเนื้อสุกร

หลังจากทำการทดสอบการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของสุกรทั้งหมดแล้ว จึงได้ทำการตรวจสอบความจำเพาะของวิธีการและไพรเมอร์ที่ใช้กับดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่น ได้แก่ เลือดปลา เนื้อไก่ และเส้นขนของวัว อย่างละ 18 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 72 ตัวอย่างโดยแต่ละตัวอย่างได้ทำการสกัดด้วยวิธี Chelex และทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้ไพรเมอร์และวิธีการเดียวกันกับการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของสุกร ผลคือ ไม่ปรากฏผลบวกใดๆ นอกเหนือจากตัวอย่างที่เป็นตัวควบคุมเชิงบวกซึ่งเป็นตัวอย่างจากเลือดของสุกรเท่านั้น

ตาราง 2 แสดงผลการตรวจดีเอ็นเอกับตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์ ไก่ วัว และปลา

ตัวอย่างที่	ผล	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
1	–	–
2	–	–
3	–	–
4	–	–
5	–	–
6	–	–
7	–	–
8	–	–
9	–	–
10	–	–
11	–	–
12	–	–
13	–	–

ตาราง 2 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผล	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
14	—	—
15	—	—
16	—	—
17	—	—
18	—	—
19	—	—
20	—	—
21	—	—
22	—	—
23	—	—
24	—	—
25	—	—
26	—	—
27	—	—
28	—	—
29	—	—
30	—	—
31	—	—
32	—	—
33	—	—
34	—	—

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตาราง 2 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผล	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
35	—	—
36	—	—
37	—	—
38	—	—
39	—	—
40	—	—
41	—	—
42	—	—
43	—	—
44	—	—
45	—	—
46	—	—
47	—	—
48	—	—
49	—	—
50	—	—
51	—	—
52	—	—
53	—	—
54	—	—
55	—	—

ตาราง 2 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ผล	
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2
56	—	—
57	—	—
58	—	—
59	—	—
60	—	—
61	—	—
62	—	—
63	—	—
64	—	—
65	—	—
66	—	—
67	—	—
68	—	—
69	—	—
70	—	—
71	—	—
72	—	—

หมายเหตุ — คือ ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง 135 คู่เบส

ตัวอย่างที่ 1 – 18 = ดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือดมนุษย์

ตัวอย่างที่ 19 – 36 = ดีเอ็นเอที่สกัดจากเนื้อไก่

ตัวอย่างที่ 37 – 54 = ดีเอ็นเอที่สกัดจากเส้นขนวัว

ตัวอย่างที่ 55 – 72 = ดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือดปลา

เมื่อนำผลการทดลองจากตาราง 1 และ ตาราง 2 มาวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเทคนิคที่ใช้ในการระบุดีเอ็นเอของสุกรด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีและจากการทดสอบความจำเพาะเจาะจงของไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจระบุดีเอ็นเอ สามารถสร้างเป็นตาราง 2 x 2 แสดงความจำเพาะของไพรเมอร์ได้ดังตาราง 3 จะเห็นว่า การระบุตัวอย่างดีเอ็นเอของสุกรจำนวน 70 ตัวอย่าง ให้ผลถูกต้องหรือให้ผลบวกทั้งหมด 70 ตัวอย่าง และเมื่อตรวจความจำเพาะของวิธีการด้วยการตรวจกับตัวอย่างที่เป็นมนุษย์และสัตว์อื่นอีกจำนวน 72 ตัวอย่าง ก็ให้ผลเป็นลบทั้งหมด 72 ตัวอย่าง

ตาราง 3 แสดงความจำเพาะของวิธีการที่ใช้ในการระบุดีเอ็นเอของสุกรด้วยการวิเคราะห์ยีนไซโตโครมบีในไมโตคอนเดรีย (Cyt b Sus Scrofa)

ผลตรวจ	สุกร	มนุษย์หรือสัตว์อื่น	รวม
ผลบวก	70	0	70
ผลลบ	0	72	72
รวม	70	72	142

จากผลการตรวจวิเคราะห์ดังกล่าว เมื่อนำมาคำนวณค่าความถูกต้อง และความจำเพาะเจาะจงของการทดสอบพบว่าได้เท่ากับ 100 % ทั้งสองค่า