บทที่ 1

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

สภาพสังคมในปัจจุบันถือได้ว่าเป็นยุคโลกาภิวัฒน์ ส่งผลทำให้สังคมไทย ซึ่งในอดีตเคยเป็นสังคมชนบท ต้องกลายมาเป็นสังคมเมือง การเอื้อเฟื้อ ช่วยเหลือ เอื้ออาทรในสังคมไทยมีน้อยลงและส่งผลให้สังคมมีค่านิยมทางวัตถุเพิ่มมากขึ้น นำไปสู่ความเสื่อมของศีลธรรมมากขึ้นไปด้วย ปัญหาของผู้หญิงที่ถูกล่วงละเมิดทางเพศในสังคมไทยปัจจุบันถือได้ว่าเป็นปัญหาที่มีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ อาจเนื่องมาจากความก้าวหน้าทางเทคโนโลยี รวมถึงการติดต่อสื่อสารกันด้วยระบบอินเตอร์เน็ตในปัจจุบันที่มีการเผยแพร่สื่อลามกอนาจารสู่สาธารณชนได้ง่ายขึ้นและยังถือได้ว่าเป็นตัวเร่งให้เกิดการล่วงละเมิดทางเพศมากขึ้นได้ในปัจจุบัน (โสภณ พิสุทธิวงษ์, 2553) ผลกระทบที่ตามมาภายหลังจากการถูกล่วงละเมิดทางเพศมีมากมาย อาทิเช่น การติดเชื้อทางเพศสัมพันธ์ การทำแท้ง และปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่งก็คือคือปัญหาทางด้านจิตใจของตัวผู้เสียหายเอง

ปัจจุบันมีความเจริญก้าวหน้าทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ค่อนข้างมากเราจึงสามารถที่จะนำมาใช้เป็นตัวช่วยในการที่จะพิสูจน์ความผิดเกี่ยวกับการล่วงละเมิดทางเพศได้ สำหรับการพิสูจน์ว่าผู้เสียหายถูกกระทำชำเราหรือไม่นั้น จะใช้วัตถุพยานเข้ามาช่วยในการตรวจสอบและที่นิยมเก็บส่งตรวจได้แก่วัตถุพยานที่เป็น ชีววัตถุพยาน เช่น เส้นผม เส้นขน น้ำซับจากช่องคลอด เป็นต้น แต่วัตถุพยานในคดีข่มขืนกระทำชำเราที่สำคัญก็คือ น้ำอสุจิ ซึ่งน้ำอสุจินั้นเป็นน้ำที่หลั่งจากอวัยวะเพศชายจากการร่วมประเวณี หรือกระตุ้นให้เคลื่อนออกมา มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวที่สีขาวขุ่น สร้างขึ้นโดยต่อมลูกหมาก (Prostate gland), Seminal vesicles และ bulbourethral gland โดยมี Testes เป็นตัวสร้างอสุจิผสมออกมา สำหรับกรณีการกระทำชำเรานั้นมักจะเก็บวัตถุพยานโดยใช้วิธีซับน้ำจากช่องคลอดของผู้เสียหาย (จินตนา, 2552 และ Parson W, 2001) เพื่อที่จะตรวจหาตัวอสุจิและส่วนประกอบของน้ำอสุจิ (Seminal plasma) (ภาคผนวก ก) ได้แก่

-Acid Phosphatase (AP) เป็นเอนไซม์ที่มาจากต่อมลูกหมาก (Prostate gland) และมีอยู่ในน้ำอสุจิเป็นปริมาณสูง ซึ่งได้มีผู้พยายามดัดแปลงวิธีการตรวจสารนี้อย่างง่ายๆ โดยใช้น้ำยาหยดลง

ไปในสิ่งที่สงสัยว่าจะเป็นคราบอสุจิ ถ้ามีในปริมาณมากพอจะทำให้เกิดสีขึ้นภายในเวลาที่กำหนด ซึ่งการทดสอบดังกล่าวนี้ถ้าให้ผลบวกแสดงว่าสิ่งนั้นน่าจะเป็นคราบอสุจิ สำหรับการตรวจหา AP นั้นสามารถตรวจพบได้นานถึง 1-3 วัน หลังการร่วมประเวณี

-Prostate Specific Antigen (PSA) เป็นสารพวกไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ที่จำเพาะต่อเนื้อเยื่อต่อมลูกหมากและพบได้ในน้ำอสุจิเท่านั้นทำให้มีความจำเพาะมากว่า AP โดยสามารถพบในช่องคลอดได้หลังมีเพศสัมพันธ์นาน 24 ชั่วโมง (บางงานวิจัยก็ระบุว่าอยู่ได้นานถึง 47 ชั่วโมง) อย่างไรก็ตามวิธีการนี้ยังไม่เป็นที่นิยมมากนักเนื่องจากชุดเครื่องมือที่ใช้ตรวจยังคงมีราคาแพง

-เซลล์หรือส่วนประกอบของเซลล์ ยกตัวอย่างเช่น ตัวอสุจิ, Y-chromosome DNA, Amelogenin gene (ยีนที่มีอยู่ในโครโมโซมเพศและมีความจำเพาะเจาะจงต่อเพศ ซึ่งเราสามารถใช้ตรวจได้ทั้งในเพศชายและเพศหญิง) เป็นต้น

-การทดสอบ Leucine amino peptidase test (LAP) เป็นการตรวจหาเอนไซม์ LAP การทดสอบนี้สามารถให้ผลบวกในเวลาประมาณ 3 วัน เช่นเดียวกับ AP แต่มีความไวที่ค่อนข้างต่ำ

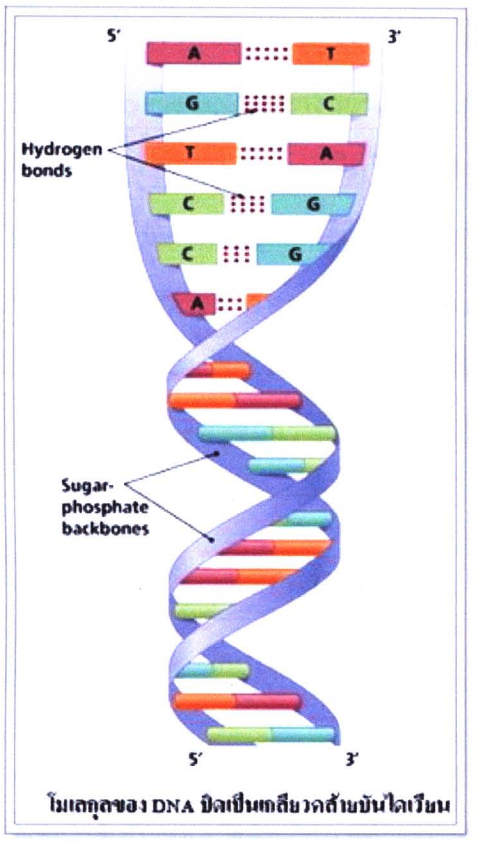
-การทดสอบ Zinc test เป็นการทดสอบหา Zn ที่มีอยู่ในน้ำอสุจิ การตรวจด้วยวิธีทางนี้มีความไวและความจำเพาะค่อนข้างสูง แต่ผลบวกปลอม (false positive) มาก เพราะ Zn อาจจะมีการตกค้างอยู่ในช่องคลอดจากการมีเพศสัมพันธ์ครั้งก่อนได้มาก (วิฐูและวิระชัย, 2553)

ถึงแม้ว่าวิธีการตรวจจะมีหลายวิธีแต่การตรวจหา Acid Phosphatase ที่เป็นส่วนประกอบในน้ำอสุจิร่วมกับการตรวจหาตัวอสุจินั้นถือเป็นที่นิยมใช้ตรวจหาปัจจุบัน แต่เนื่องจากการตรวจหาสาร Acid Phosphatase นั้นจะมี false positive ค่อนข้างมาก อย่างไรก็ดีเราอาจตรวจพบเอนไซม์ชนิดนี้จากของเหลวในร่างกายบางอย่างหรือพืชบางชนิดได้ จึงต้องแปลผลร่วมกับสิ่งตรวจพบอื่นๆ ด้วยเสมอ สิ่งที่ทำให้อาจตรวจพบเอนไซม์ AP (วิฐูและวิระชัย, 2553) ได้เช่น

- สารคัดหลั่งจากช่องคลอด (Vaginal discharge) และปัสสาวะในคนบางคน
- อวัยวะภายในร่างกาย เช่น ตับ ไต เม็ดเลือดแดง
- การติดเชื้อราหรือเชื้อแบคทีเรียบางชนิด
- พืชบางชนิด เช่น กระหล่ำปลี กานพลู อัลมอนด์
- น้ำยาทำความสะอาดช่องคลอดบางชนิด

การตรวจหาตัวอสุจินั้น หากในช่องคลอดของผู้เสียหายมีตัวอสุจิหลงเหลืออยู่น้อยก็อาจส่งผลให้ตรวจไม่พบหรือตรวจพบได้น้อยมาก ดังนั้นหลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์ที่จะนำมาตรวจหาวัตถุพยานในคดีกระทำชำเรา ซึ่งเริ่มได้รับความสนใจและถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ได้แก่ หลักฐานทางด้าน DNA ซึ่งในปัจจุบันถือได้ว่าเป็นหลักฐานที่มีความน่าเชื่อถือค่อนข้างสูงอย่างหนึ่ง

DNA เป็นชื่อย่อของสารพันธุกรรม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Deoxyribonucleic acid) ซึ่งเป็นกรดนิวคลีอิกที่พบในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ได้แก่ คน, สัตว์, พืช, เชื้อรา, แบคทีเรีย, ไวรัส เป็นต้น ดีเอ็นเอจะบรรจุข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นไว้ ซึ่งจะมีลักษณะที่ผสมผสานมาจากสิ่งมีชีวิตรุ่นก่อนซึ่งก็คือ พ่อและแม่ และสามารถถ่ายทอดไปยังสิ่งมีชีวิตรุ่นถัดไปหรือลูกหลานได้ โดยดีเอ็นเอมีรูปร่างเป็นเกลียวคู่ คล้ายบันไดที่บิดตัวเป็นเกลียว ขาของบันไดแต่ละข้างคือการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) ที่ประกอบด้วยน้ำตาล, ฟอสเฟตและเบส ซึ่งเบสจะมีอยู่ 4 ชนิด ได้แก่ เบสอะดีนีน (adenine, A) , เบสไทมีน (thymine, T) , เบสไซโทซีน (cytosine, C) และเบสกัวนีน (guanine, G) ขาของบันไดสองข้างคือนิวคลีโอไทด์ที่ถูกเชื่อมด้วยเบส โดยพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) และ A จะเชื่อมกับ T ด้วยพันธะคู่ ส่วน C จะเชื่อมกับ G ด้วยพันธะสามเท่านั้น (ในกรณีของดีเอ็นเอ) ดังภาพที่ 1 และข้อมูลทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ จะเกิดขึ้นจากการเรียงลำดับของเบสในดีเอ็นเอ

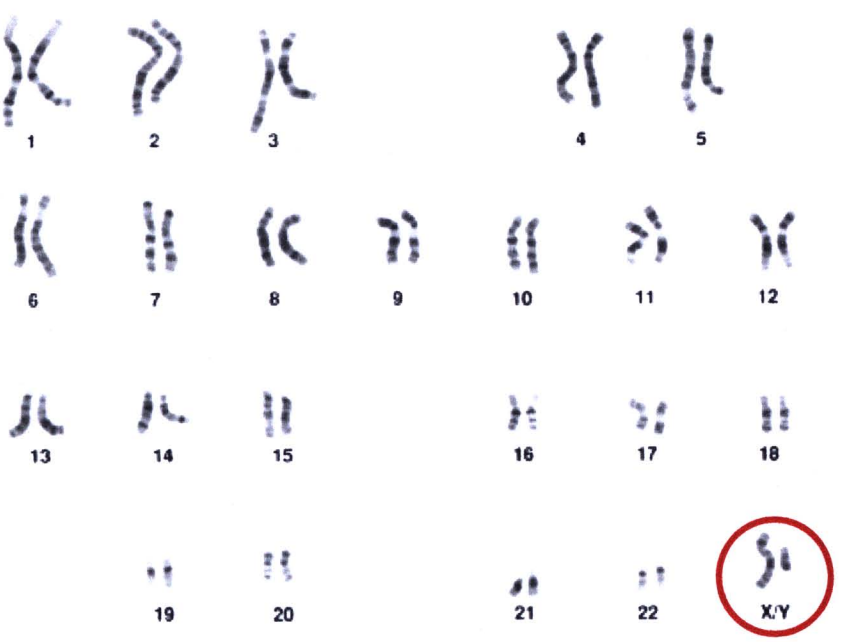


ภาพที่ 1 แสดงโมเลกุลของดีเอ็นเอที่บิดเป็นเกลียวคล้ายบันไดเวียน

DNA พบอยู่ในนิวเคลียสของเซลล์ทุกเซลล์ในร่างกาย DNA ที่อยู่ในนิวเคลียสจะได้รับการถ่ายทอดครึ่งหนึ่งมาจากพ่อและอีกครึ่งหนึ่งมาจากแม่ โดยจะไม่ซ้ำกันในแต่ละบุคคลถึงแม้ว่าจะเป็นพี่น้องพ่อแม่เดียวกันก็ตาม (ยกเว้นในกรณีฝาแฝดที่มาจากไข่และอสุจิตัวเดียวกันหรือที่เรียกว่าฝาแฝดแท้) ซึ่งปัจจุบันได้มีการนำเอาความแตกต่างของสารพันธุกรรมนี้มาใช้ประโยชน์ทางด้านนิติเวชในเรื่องของการพิสูจน์ตัวบุคคลได้

โดยปกติคนเราจะมีโครโมโซม 23 คู่หรือ 46 แท่ง แบ่งเป็นโครโมโซมร่างกาย (autosomal chromosome) 22 คู่ ซึ่งจะมีลักษณะเหมือนกันทั้งในเพศหญิงและเพศชาย ส่วนคู่ที่ 23 จะเป็นตัวกำหนดเพศหรือเรียกว่าโครโมโซมเพศ (sex chromosome) โดยผู้หญิงจะมีโครโมโซมเพศเป็น XX ส่วนผู้ชายจะมีโครโมโซมเพศเป็น XY ดังภาพที่ 2 ดังนั้นการตรวจหาวัตถุพยานในคดีที่

เกี่ยวกับการล่วงละเมิดทางเพศจึงหันมาให้ความสนใจในส่วนของการตรวจหา DNA ที่มีความจำเพาะต่อเพศชายหรือ Y-chromosome DNA อย่างน้อยก็น่าจะทำให้ทราบได้ว่าผู้เสียหายนั้นผ่านการกระทำชำเรามาจริงหรือไม่ เพราะถ้าหากผู้เสียหายไม่ได้ถูกกระทำจริงก็จะไม่สามารถตรวจเจอโครโมโซมเพศชายหรือ Y-chromosome ได้ในผู้เสียหายที่เป็นเพศหญิง ซึ่งในการพิสูจน์บุคคลโดยใช้ดีเอ็นเอนั้น เป็นวิธีการทางวิทยาศาสตร์ที่ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายทั่วโลก เป็นวิธีการตรวจหาความจริงอย่างมีหลักการและขั้นตอนที่รัดกุม นอกจากนี้ยังอ้างได้ว่าเป็นหลักฐานที่สามารถยืนยันหรือพิสูจน์ตัวบุคคลรวมถึงการพิสูจน์ความสัมพันธ์ได้เป็นอย่างดี (จินตนา, 2552)



ภาพที่ 2 แสดงโครโมโซมทั้งหมด 23 คู่ ในที่นี้เป็นของเพศชายเนื่องจากคู่ที่ 23 เป็น XY

สำหรับการตรวจดีเอ็นเอนั้น เป็นการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมซึ่งสามารถทำได้ด้วยเทคนิค PCR หรือ polymerase chain reaction ส่วนการแยกแยะชนิดของชิ้นดีเอ็นเอทำได้ด้วยเทคนิค RFLP (Restriction Enzyme Fragment Length Polymorphism) ดังแสดงในภาพที่ 3

เทคนิค RFLP (Restriction Enzyme Fragment Length Polymorphism)

RFLP เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่บอกความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอ โดยเริ่มจากดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตที่สนใจ ถูกแยกเป็นเส้นเดี่ยวและถูกตัดย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ(restriction enzymes) ทำการแยกชิ้นดีเอ็นเอด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซีส จากนั้นก็ย้ายชิ้นดีเอ็นเอที่ถูกตัดไปไว้บนแผ่นฟิลเตอร์ (filter membrane) แล้วนำตัวตรวจจับ (probe) ที่ติดฉลากด้วยกัมมันตรังสีมาจับกับสายดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีลำดับเบสเป็นคู่สม (DNA hybridization) กันได้ โดย probe อาจเป็นนิวคลีโอไทด์สังเคราะห์สายสั้นๆ ถ้าดีเอ็นเอต่างกันและมีลำดับเบสที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดเดียวกัน จะได้ขนาดและจำนวนชิ้นดีเอ็นเอที่แตกต่างจากเดิม เรียกว่าเกิดพอลิมอร์ฟีซึม (polymorphism) หรือ RFLP

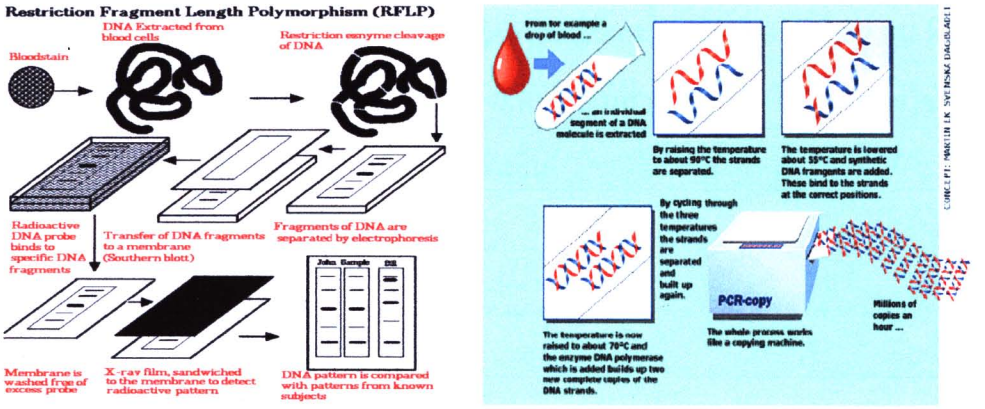
เทคนิค PCR (polymerase chain reaction)

เป็นวิธีการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะขึ้นในหลอดทดลอง โดยการทำปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ จากการทำปฏิกิริยาร่วมกันระหว่าง

1. เอนไซม์ DNA polymerase ที่ใช้ในการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอ
2. ดีเอ็นเอสายสั้นๆ 2 สาย หรือไพรเมอร์ (DNA primer) ที่ใช้เป็นจุดเริ่มต้นการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ และเป็นตัวกำหนดขนาดของดีเอ็นเอที่ทำการสังเคราะห์
3. นิวคลีโอไทด์อิสระ
4. สายดีเอ็นเอเป้าหมายภายในหลอดทดลอง

ภายหลังการทำปฏิกิริยาจะได้สายดีเอ็นเอสายใหม่จำนวนมาก ที่ถูกกำหนดขนาดตามระยะห่างของไพรเมอร์ ทั้ง 2 สายที่เข้าจับบนสายต้นแบบเมื่อเริ่มปฏิกิริยาสังเคราะห์

ผลที่ได้จากการตรวจสอบคือ แถบดีเอ็นเอขนาดต่างๆ ที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นโดยขนาดของชิ้นดีเอ็นเอจะถูกกำหนดจากตำแหน่งที่ไพรเมอร์ใช้เป็นจุดเริ่มต้นในการสังเคราะห์จับบนสายดีเอ็นเอ จุดจับของไพรเมอร์บนสายดีเอ็นเอมีความแตกต่างกันจึงทำให้ผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้มีขนาดแตกต่างกัน



(A) (B)

ภาพที่ 3 (A) แสดงตัวอย่างวิธีการตรวจดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RFLP

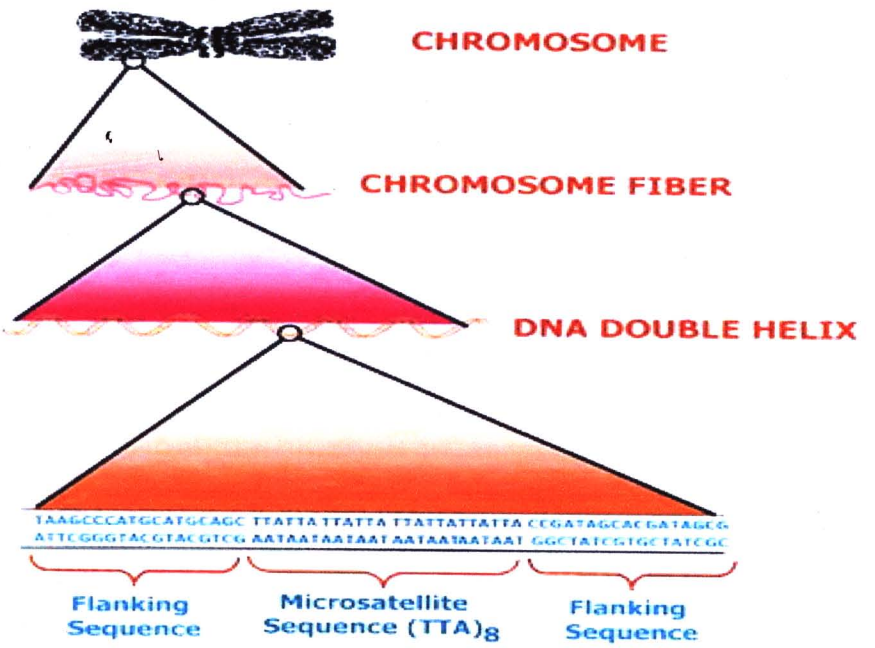
(B) แสดงตัวอย่างวิธีการตรวจดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR

เทคนิค RFLP จะต้องใช้ตัวอย่างที่มีดีเอ็นเอคุณภาพมากกว่าเทคนิค PCR และใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์ที่นานกว่า ซึ่งในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์นั้น การเก็บตัวอย่างมาจากที่เกิดเหตุหลายครั้งที่เก็บมาได้ในจำนวนไม่มาก หรือเจ้าหน้าที่เก็บมาไม่ถูกวิธีทำให้การคงสภาพของวัตถุพยานต่างๆนั้นเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ดังนั้นการนำตัวอย่างที่เก็บได้มาวิเคราะห์ ส่วนใหญ่จึงนิยมใช้เทคนิค PCR มากกว่าเทคนิค RFLP

เทคนิค PCR จะเป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเฉพาะในตำแหน่งที่สนใจ และส่วนมากจะเป็นตำแหน่งที่มีลำดับเบสซ้ำที่เรียกว่า microsatellite DNA หรือ short tandem repeat (STR) ซึ่งเป็นส่วนของดีเอ็นเอที่แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำๆ ทีละ1-7 นิวคลีโอไทด์ และอาจมีจำนวนซ้ำได้มากกว่า 10 – 20 ซ้ำแต่ไม่เกิน 100 ซ้ำ ตัวอย่าง เช่น

Mononucleotide repeats	AAAAAAAAAAAAAAA	หรือ (A)15
Dinucleotide repeats	CGCGCGCGCGCGCG	หรือ (CG)7
Trinucleotide repeats	ACGACGACGACGACG	หรือ (ACG)5
Tetranucleotide repeats	ATCGATCGATCGATCG	หรือ (ATCG)4

microsatellite DNA จะพบในโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตพวก eukaryotes เช่น คน พืช และสัตว์ (ภาพที่ 4) โดยส่วนใหญ่แล้วไม่พบในยีนแต่จะพบได้ในส่วนของโครโมโซมที่ไม่ใช่ยีนเช่น ในส่วนของ intergenic space หรือดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างยีน



ภาพที่ 4 แสดงส่วนของดีเอ็นเอที่แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำกันเป็นชุด ที่พบบนโครโมโซมของคน สัตว์ และพืช หรือที่เรียกว่า microsatellite

คนแต่ละคนมีจำนวนซ้ำของนิวคลีโอไทด์ใน microsatellite ที่ไม่เท่ากัน เนื่องจาก microsatellite เป็นส่วนของโครโมโซมที่มีวิวัฒนาการหรือการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างเร็ว โดยเฉพาะการเพิ่มหรือลดจำนวนซ้ำของชุดนิวคลีโอไทด์ โดยแต่ละอัลลีลจะมีจำนวนซ้ำของชุดนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างกัน สำหรับ microsatellite หนึ่ง ๆ อาจสามารถพบจำนวนอัลลีลได้มากถึง 70-80 อัลลีล และในโครโมโซมของคนถึงแม้ว่าจะมีตำแหน่ง microsatellite อยู่มากมายแต่ก็ไม่สามารถที่จะนำมาใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้ทุกตำแหน่ง เนื่องจากการเลือกตำแหน่ง microsatellite มาใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์นั้นจะมีเงื่อนไขหลายประการ เพื่อให้มีความเหมาะสมกับงาน

ที่เราต้องการจะตรวจ โดยในการศึกษานั้นเราจำเป็นต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ไม่ว่าจะเป็น

-ขนาดของ DNA ในตำแหน่งของ microsatellite ที่เราสนใจ ควรมีขนาดที่ไม่สั้นหรือยาวจนเกินไปเพื่อที่จะได้ง่ายต่อการเพิ่มปริมาณและได้ผลผลิตของสาย DNA ที่มีความสมบรูณ์มากกว่าเมื่อเทียบกับตำแหน่งที่มีขนาดยาวมากกว่า

-ความไว (Sensitivity) หรือความสามารถในการตรวจพบลักษณะของ DNA จากวัตถุพยานที่มีปริมาณเพียงเล็กน้อย หากมีความไวมากจะทำให้โอกาสตรวจพบสูงขึ้น

-ความจำเพาะ (Specificity) ต่อลักษณะที่เราต้องการจะตรวจ กล่าวคือสามารถตรวจพบได้เฉพาะลักษณะหรือรูปแบบที่เราต้องการเท่านั้นไม่ปรากฏว่ามีการตรวจพบได้ในลักษณะอื่นๆร่วมด้วย

-ความหลากหลายของยีน (Gene diversities) จะต้องมีค่าสูง เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือในการแยกแยะตัวบุคคลออกจากกันได้

-ค่าอัตราการผ่าเหล่า (Mutation rate) จะต้องมีค่าน้อย เพื่อที่จะแสดงให้เห็นว่ามีโอกาสเกิดความคลาดเคลื่อนของลำดับเบสในตำแหน่งที่เราต้องการตรวจน้อยที่สุด ก็จะส่งผลให้มีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น

ในคดีที่เกี่ยวกับการกระทำชำเราดังที่ได้กล่าวมาข้างต้น เราสามารถที่จะใช้วิธีการตรวจสอบ microsatellite ในโครโมโซมเพศชายเข้ามาช่วยเพิ่มความน่าเชื่อถือในฐานะของวัตถุพยานทางวิทยาศาสตร์ได้ นอกเหนือจากการตรวจพิสูจน์ด้วยวิธีการอื่นๆที่ใช้กันในปัจจุบัน

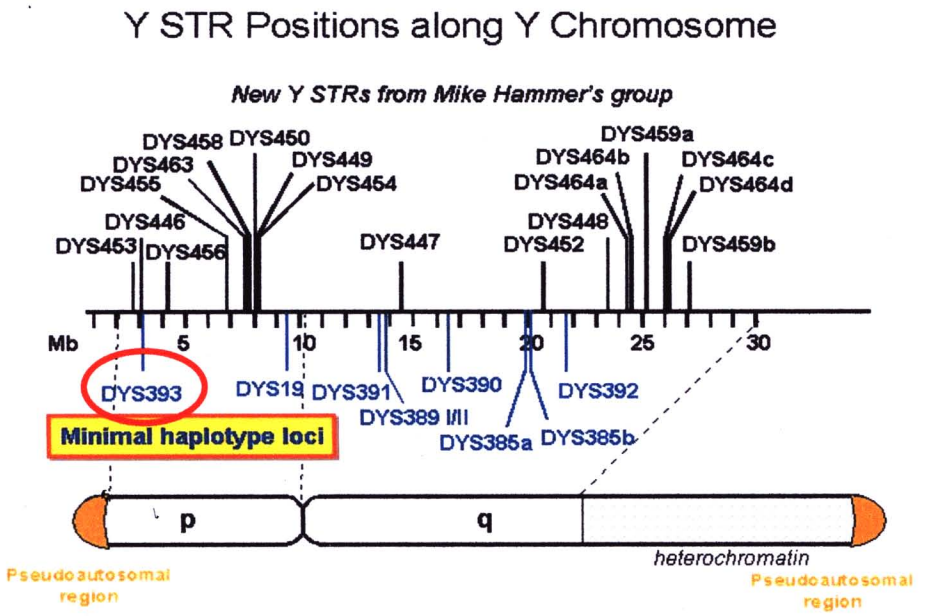
โครโมโซมเพศชายหรือ Y-chromosome เป็นโครโมโซมที่พบเฉพาะในเพศชายเท่านั้น (ในโครโมโซมคู่ที่ 23 เพศชายจะเป็น XY ส่วนเพศหญิงจะเป็น XX) และตำแหน่ง DYS 393 เป็น microsatellite ช่วงหนึ่งบนสายดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชาย ที่มีความจำเพาะต่อการตรวจเจอเฉพาะในเพศชายเท่านั้น และสามารถที่จะทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธีการ PCR ได้อย่างสมบรูณ์ สำหรับตำแหน่ง DYS 393 ก็เป็นช่วงหนึ่งบนโครโมโซมเพศชายโดยอยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมหรือเรียกว่าแขนข้าง p (ข้างที่ยาวกว่าจะเรียก q) ดังภาพที่ 5

ตำแหน่ง DYS 393 จะมีการจัดเรียงตัวของเบสซ้ำกันเป็นชุดๆ โดยเบสที่มีการซ้ำกันคือ AGAT ทั้งหมดตั้งแต่ 8-17 ซ้ำ ผลผลิตที่ได้จะมีขนาดประมาณ 104-140 คู่เบส (ดังภาพที่ 6) หากมีการใช้ primer คู่ที่มีลำดับเบสเป็น

Forward 5'-GTGGTCTTCTACTTGTGTCAATAC -3' และ

Reverse 5'-GAACTCAAGTCCAAAAAATGAGG-3' (Butler et al., 2002)

สำหรับการค้นคว้าครั้งนี้ ผู้ค้นคว้าได้ใช้ไพร์เมอร์ที่มีลำดับเบสของ primer forward และ primer reverse เช่นเดียวกันกับที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น ซึ่งถือได้ว่ามีขนาดที่ค่อนข้างสั้นเมื่อเทียบกับตำแหน่งอื่นๆบนโครโมโซมเพศชายจึงส่งผลทำให้มีความไว หรือ sensitivity (ความสามารถที่จะจับความแตกต่างที่เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยได้หรือความสามารถที่จะตรวจเจอได้แม้จะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย) ในการตรวจพบมากกว่าตำแหน่งอื่นๆที่อยู่บนโครโมโซมเพศชายเหมือนกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sibille และคณะในปี 2002 ที่ได้ศึกษาการใช้โครโมโซมเพศชายในการตรวจหาหลักฐานในคดีที่เกี่ยวกับเพศ โดยใช้ลักษณะ DNA บนโครโมโซมเพศชาย 3 ตำแหน่ง ทำการตรวจสอบกับตัวอย่าง 30 ตัวอย่าง พบว่าสามารถตรวจเจอ DNA ของเพศชายได้ด้วยตำแหน่ง DYS 393 มากที่สุดถึง 80.2% นอกจากนี้ในตำแหน่ง DYS 393 ยังมีค่าการผ่าเหล่า หรือ mutation rate เท่ากับ 0.08% (Kayser et al., 2004) ซึ่งถือว่ามีค่าที่น้อยมาก ส่งผลให้มีโอกาสเกิดความคลาดเคลื่อนของลำดับเบสในตำแหน่งนี้น้อย สำหรับค่าความหลากหลาย หรือ gene diversity นั้น จากงานวิจัยของ budowle และคณะในปี 2009 ที่ได้ศึกษาลักษณะ Y-STR ของประชากรในประเทศแถบเอเชียได้แก่ประชากรจีน อินเดีย ญี่ปุ่น มาเลเซีย และไทย โดยผลการศึกษาความหลากหลายของลักษณะทางพันธุกรรมบนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 มีค่าเท่ากับ 0.6050, 0.7269, 0.5555, 0.6583 และ 0.6975 ตามลำดับ ถึงค่าที่ได้จะไม่มากหรือน้อยจนเกินไปแต่ก็ถือได้ว่าสามารถที่จะนำมาใช้แยกแยะตัวบุคคลได้เช่นกัน



ภาพที่ 5 แสดงตำแหน่งดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชาย (วงกลมสีแดงคือตำแหน่ง DYS 393)

GTGGTCTTCTACTTGTGTCAATAC/AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/
AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/AGAT/
ATGTATGTCTTTTCTATGAGACATACCTCATTTTTTGGACTTGAGTTC

ภาพที่ 6 แสดงลักษณะการจัดเรียงตัวของเบสเป็นชุดๆที่ซ้ำกันของตำแหน่ง DYS 393

สีเขียว คือ ลำดับของ Primer (Forward และ Reverse)

สีเทา คือ ลำดับเบสที่ไม่มีการซ้ำกัน

สีน้ำเงิน คือ ลำดับเบสที่ซ้ำกันเป็นชุดๆ รวมทั้งหมด 15 ซ้ำ

วัตถุประสงค์ของการค้นคว้า

เพื่อศึกษาโอกาสการพบหลักฐานในคดีกระทำชำเรา โดยการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS 393 เพื่อเป็นตัวบ่งชี้การมีเพศสัมพันธ์ เทียบกับการตรวจหาตัวอสุจิจากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย

สมมติฐานการค้นคว้า

หลังการศึกษาสามารถทราบโอกาสการพบหลักฐานในคดีกระทำชำเราโดยการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS 393 และเปรียบเทียบว่ามีความแตกต่างจากโอกาสการตรวจพบตัวอสุจิจากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายอย่างไร

ขอบเขตการค้นคว้า

ศึกษาจากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเราโดยตรวจพบปฏิกิริยาเอนไซม์ Acid phosphatase ได้ผลบวก ของภาควิชานิติเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2550 – 31 ธันวาคม 2551 เป็นระยะเวลา 2 ปี โดยมีจำนวนตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 60 ตัวอย่าง โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ตรวจพบตัวอสุจิ จำนวน 30 ตัวอย่าง

กลุ่มที่ 2 ตรวจไม่พบตัวอสุจิ จำนวน 30 ตัวอย่าง

จากนั้นนำมาสกัด DNA แบบไม่แยกชนิดเซลล์ (Total extraction) แล้วเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR แล้วแยกขนาด PCR product ด้วยวิธีการ Polyacrylamide gel electrophoresis และแปลผลที่ได้จากการเทียบแถบ DNA จากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายกับดีเอ็นเอมาตรฐานว่าอยู่ในช่วงขนาดที่คาดไว้หรือไม่ ถ้าใช่แสดงว่าให้ผลบวก

ประโยชน์ที่ได้รับจากการศึกษาค้นคว้าเชิงทฤษฎีและ/หรือเชิงประยุกต์

1. ได้ทราบแนวทางการตรวจหาหลักฐานการถูกกระทำชำเราจากผู้เสียหาย โดยการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS 393

2. ได้ทราบโอกาสการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS 393 เปรียบเทียบกับการตรวจพบตัวอสุจิจากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย

3. อาจนำผลที่ได้มาใช้ในการตรวจหาหลักฐานการถูกกระทำชำเราจากผู้เสียหายโดยอาจใช้แทนวิธีการตรวจอย่างอื่นได้