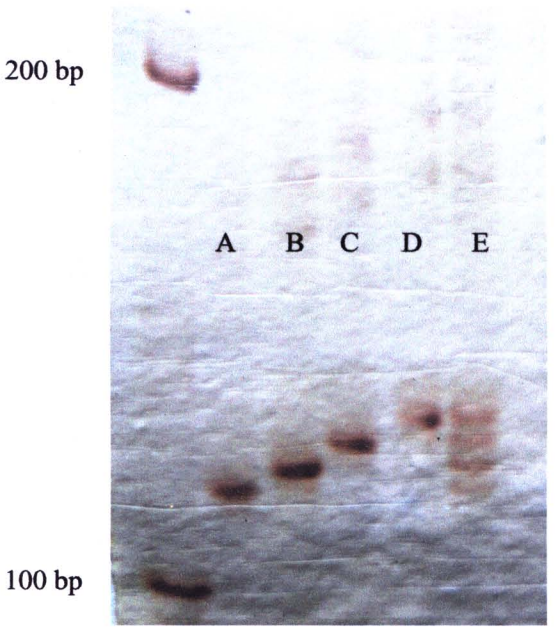
บทที่ 4

ผลการค้นคว้าและอภิปรายผลการค้นคว้า

จากการศึกษาไมโครแซทเทลไลท์ DNA ตำแหน่ง DYS 393 จากตัวอย่างสำลีป้ายช่องคลอดเพื่อเป็นตัวบ่งชี้ของการมีเพศสัมพันธ์ เพื่อเปรียบเทียบกับการตรวจหาตัวอสุจิโดยใช้ตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา จากภาควิชานิติเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 60 ตัวอย่าง ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิจำนวน 30 ตัวอย่างและตรวจไม่พบตัวอสุจิจำนวน 30 ตัวอย่าง ก่อนที่จะเริ่มทำการศึกษา ผู้ค้นคว้าได้สร้างอัลลีลมาตราฐาน (allelic ladder) ของตำแหน่ง DYS 393 ในเพศชาย โดยใช้ตัวอย่าง DNA ของผู้ชายที่ทราบชนิดอัลลีลของตำแหน่ง DYS 393 มาทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR แล้วนำไปแยกแถบ DNA เปรียบเทียบกับแถบ DNA มาตรฐาน (100 bp) ด้วย Polyacrylamide gel electrophoresis โดยอัลลีลมาตราฐานของตำแหน่ง DYS 393 ที่นำมาสร้างอัลลีลมาตราฐานนี้ได้แก่อัลลีลที่ 12, อัลลีลที่ 13, อัลลีลที่ 14 และ อัลลีลที่ 15 (ดังภาพที่ 7)



ภาพ 7 แสดงอัลลีลมาตราฐานของโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 ได้แก่
อัลลีลที่ 12 แทนด้วยอักษร A
อัลลีลที่ 13 แทนด้วยอักษร B
อัลลีลที่ 14 แทนด้วยอักษร C
อัลลีลที่ 15 แทนด้วยอักษร D
รวมทั้ง 4 อัลลีลแทนด้วยอักษร E

จากการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอมาตรฐานกับแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้ชายที่ทราบชนิดอัลลีลในตำแหน่ง DYS393 มาเป็นดีเอ็นเอแม่แบบหรือ DNA template ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอก็เพื่อที่จะตรวจสอบว่าแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏขึ้นมานั้นอยู่ในช่วงขนาดที่ต้องการหรือไม่และสำหรับผลจากการแยกแถบดีเอ็นเอดังกล่าวพบว่า แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วงระหว่าง 100 -140 bp เนื่องจากในการตรวจสอบขนาดของแถบดีเอ็นเอในครั้งนี้ ผู้ค้นคว้าได้ใช้ตัวอย่างเลือดจากผู้ชาย 4 คน ที่ทราบชนิดของอัลลีลที่แน่นอน คือ อัลลีลที่ 12, อัลลีลที่ 13, อัลลีลที่ 14 และอัลลีลที่ 15 (ดังภาพที่ 7 ช่อง A, B, C และ D ตามลำดับ) มาเป็นตัวอย่างในการตรวจสอบ (ภาคผนวก ง) ดังนั้น ช่วงขนาดของดีเอ็นเอที่ได้จึงอยู่ในช่วงที่มากกว่า 100 bp ซึ่งก็มีขนาดที่ใกล้เคียงกับข้อมูลจากงานวิจัยที่เคยมีผู้ค้นคว้ามาก่อนหน้านี้คือ ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS393 จะมีลักษณะการจัดเรียงของเบสเป็นชุดๆ ที่ซ้ำกันประมาณ 15 ซ้ำ โดยลำดับเบสที่ซ้ำกันจะมีอยู่เพียงชนิดเดียวคือ AGAT ซึ่งทั้งหมดจะมีช่วงขนาดประมาณ 132 bp (Butler et al., 2002) ถ้าหากใช้คู่ของ primer forward และ primer reverse เป็น

Forward	5'- GTGGTCTTCTACTTGTGTCAATAC -3'
Reverse	5'- GAACTCAAGTCCAAAAAATGAGG -3'

หลังจากที่ได้ทำการตรวจสอบช่วงขนาดดีเอ็นเอของตัวอย่างเลือดจากผู้ชายดังกล่าวแล้วและผลก็แสดงให้เห็นว่าแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นอยู่ในช่วงขนาดที่ต้องการ จึงได้ใช้เลือดของผู้ชายทั้ง 4 คนนี้มาสร้างแถบอัลลีลมาตราฐาน ดังแสดงไว้ในภาพที่ 7 ช่อง E ซึ่งเป็นการเรียงตัวของแถบดีเอ็นเอทั้ง 4 อัลลีลได้แก่ อัลลีลที่ 12, อัลลีลที่ 13, อัลลีลที่ 14 และอัลลีลที่ 15 ตามลำดับ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

จากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเราทั้ง 60 ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้ค้นคว้าได้นำมาทำการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR แล้วนำไปแยกแถบดีเอ็นเอด้วย Polyacrylamide gel electrophoresis โดยทุกครั้งที่ทำการแยกแถบดีเอ็นเอ ผู้ค้นคว้าได้ใช้ตัวอย่างเลือดของผู้หญิงเป็นตัวควบคุมผลลบ (Negative control) และใช้ตัวอย่างเลือดของผู้ชายเป็นตัวควบคุมผลบวก (Positive control) เปรียบเทียบกับอัลลีลมาตราฐานทุกครั้ง ซึ่งได้ผลดังภาพที่ 8

ภาพที่ 8 แสดงแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเราเปรียบเทียบกับตัวอย่างเลือดของผู้หญิง (negative control), ตัวอย่างเลือดผู้ชาย (positive control) และอัลลีลมาตราฐาน

ช่องที่ 1, 25 แสดงถึง positive control ที่ใช้ตัวอย่างเลือดผู้ชายเป็นตัวควบคุม

ช่องที่ 2 แสดงถึง negative control ที่ใช้ตัวอย่างเลือดผู้หญิงเป็นตัวควบคุม

ช่องที่ 3, 14 แสดงถึง อัลลีลมาตรฐาน (ladder) คืออัลลีลที่ 12, 13, 14 และ 15 เรียงจากแถบล่างขึ้นบน

ช่องที่ 4-13, 15-24 แสดงถึง ตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย

ผลจากการแยกแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเราทั้งหมด 60 ตัวอย่างได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 เปรียบเทียบกับการตรวจพบตัวอสุจิของทั้ง 60 ตัวอย่าง

ตารางที่ 3 แสดงผลการตรวจพบ microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 จากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเราเปรียบเทียบกับการตรวจพบตัวอสุจิ

ตัวอย่างที่	อสุจิ (+ = ตรวจพบ , - = ตรวจไม่พบ)	DYS 393 (+ = ตรวจพบ , - = ตรวจไม่พบ)
1	+	+
2	-	+
3	-	-
4	+	+
5	+	+
6	_	-
7	_	-
8	_	+
9	_	+
10	_	+
11	+	-
12	_	+
13	+	+
14	+	+
15	+	+
16	+	+
17	+	+
18	+	+
19	+	+
20	+	+
21	+	+
22	+	-

ตารางที่ 3 (ต่อ)

23	+	+
24	+	+
25	+	+
26	-	+
27	-	+
28	-	+
29	+	-
30	+	+
31	-	+
32	-	-
33	+	+
34	+	+
35	+	+
36	-	+
37	-	+
38	-	+
39	+	+
40	+	+
41	-	+
42	-	+
43	+	+
44	+	+
45	+	+
46	-	+
47	-	-
48	-	+
49	+	+
50	+	+
51	+	+

ตารางที่ 3 (ต่อ)

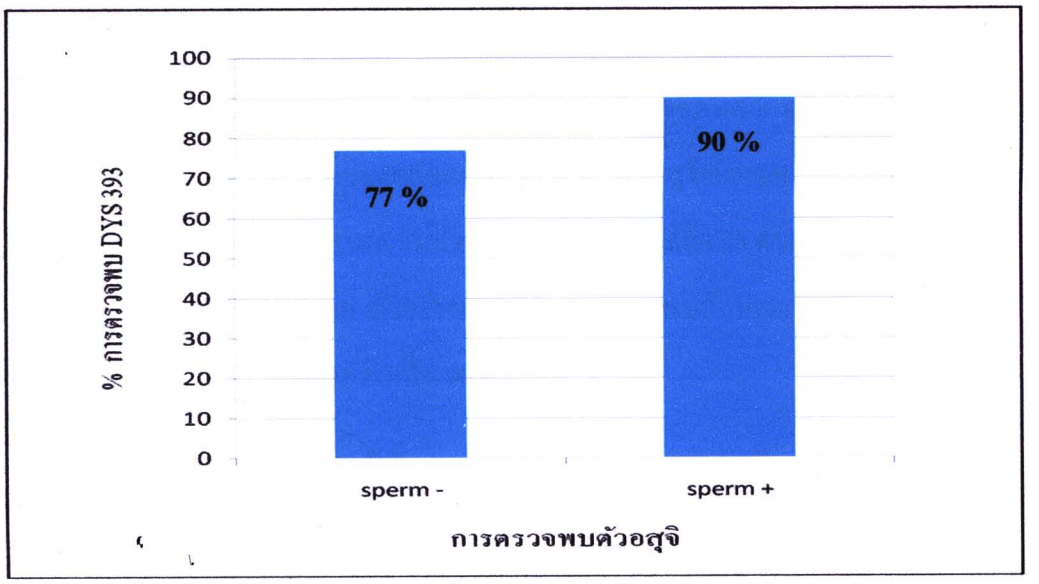
52	-	+
53	-	+
54	-	+
55	-	-
56	-	+
57	-	+
58	-	+
59	-	-
60	-	+

จากผลที่แสดงดังตาราง 3 สามารถที่จะสรุปได้คือตรวจพบ microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 ได้ 50 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 60 ตัวอย่าง โดยสามารถอธิบายรายละเอียดออกไปได้อีก ดังตารางที่ 4 ซึ่งแสดงการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบ Microsatellite DNA ตำแหน่ง DYS 393 และการตรวจพบตัวอสุจิ ซึ่งอธิบายได้คือ ตรวจไม่พบทั้งตัวอสุจิและ DYS 393 จำนวน 7 ตัวอย่าง, ตรวจไม่พบตัวอสุจิแต่พบ DYS393 จำนวน 23 ตัวอย่าง, ตรวจพบตัวอสุจิแต่ไม่พบ DYS393 จำนวน 3 ตัวอย่างและตรวจพบทั้งตัวอสุจิและ DYS393 จำนวน 27 ตัวอย่าง เมื่อทำการทดสอบสมมติฐานที่ว่า "โอกาสการพบหลักฐานในคดีกระทำชำเรา โดยการตรวจดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายในตำแหน่ง DYS 393 และเปรียบเทียบว่ามีความแตกต่างจากโอกาสตรวจพบตัวอสุจิจากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายอย่างไร โดยเลือกใช้ McNemar chi-square test เนื่องจากเป็นการทดสอบความแตกต่างระหว่างข้อมูลในการวัด 2 ครั้งจากกลุ่มตัวอย่างเดียวกัน(หรือกลุ่มตัวอย่างเดิม) พบว่า โอกาสของการตรวจพบ microsatellite DNA ตำแหน่ง DYS 393 มีความแตกต่างจากการตรวจพบตัวอสุจิจากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) (ภาคผนวก จ)

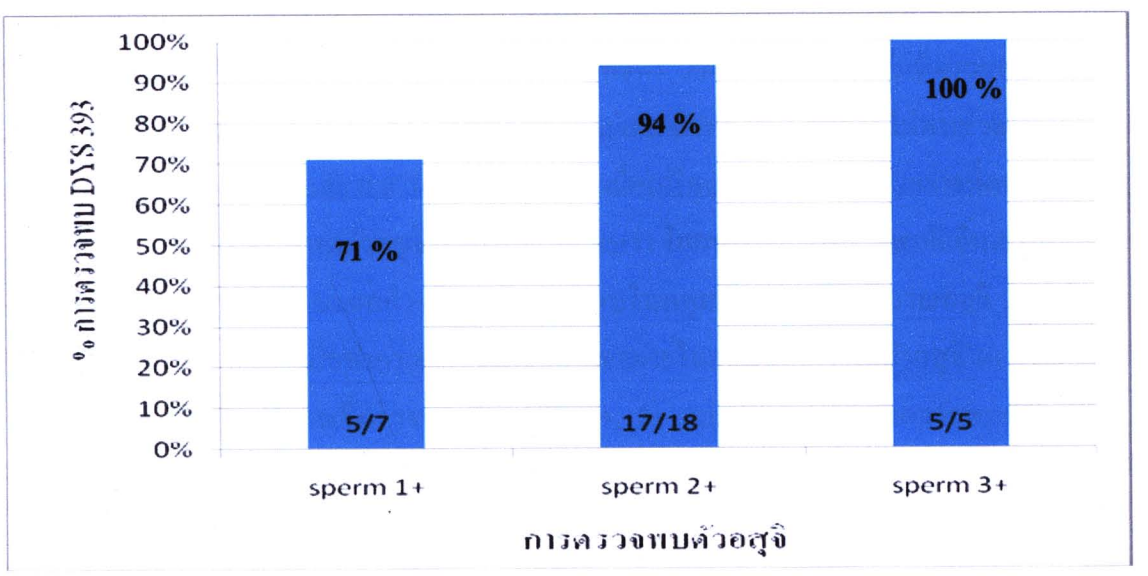
ตารางที่ 4 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบ Microsatellite DNA และการตรวจพบตัวอสุจิ

ตัวอสุจิ	DYS 393		
	ผลลบ	ผลบวก	รวม
ผลลบ	7	23	30
ผลบวก	3	27	30
รวม	10	50	60

ตัวอย่างจากน้ำซับช่องคลอดทั้ง 50 ตัวอย่างที่ตรวจพบ microsatellite DNA นั้นพบว่าค่าความถี่ของอัลลีลที่เจอมากในตำแหน่งอัลลีลที่ 12, อัลลีลที่ 13 และอัลลีลที่ 14 มีความใกล้เคียงกับที่ตรวจพบในกลุ่มประชากรเพศชายชาวเอเชียตะวันออกจากการศึกษาของ Chun และคณะ ที่ได้ศึกษาไว้ในปี 2005 (Chun et al., 2005) และการศึกษาของ Hara และคณะในปี 2007 (Hara et al., 2007) ส่วนแถบที่ขึ้นตรงกับตำแหน่งอัลลีลที่ 15 ก็สามารถตรวจพบได้เช่นเดียวกันเพียงแต่จะตรวจพบได้น้อยกว่าในอัลลีลที่ 12, อัลลีลที่ 13 และอัลลีลที่ 14 จึงทำให้สามารถเชื่อถือได้ว่าแถบของดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นดังกล่าวเป็นอัลลีลของผู้ชายที่มีการปนเปื้อนมากับน้ำซับช่องคลอดของผู้หญิงที่ผ่านการกระทำชำเรามาจริง เมื่อนำข้อมูลที่ได้จากการอ่านแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏตรงตำแหน่งอัลลีลที่ 12, อัลลีลที่ 13, อัลลีลที่ 14 และอัลลีลที่ 15 นั้นมาทำการเปรียบเทียบกันระหว่างการตรวจ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 กับกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิและกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิจะได้ผลดังภาพที่ 9.1



ภาพที่ 9.1 แสดงโอกาสการตรวจพบลักษณะ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS 393 เทียบกับกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิและกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ



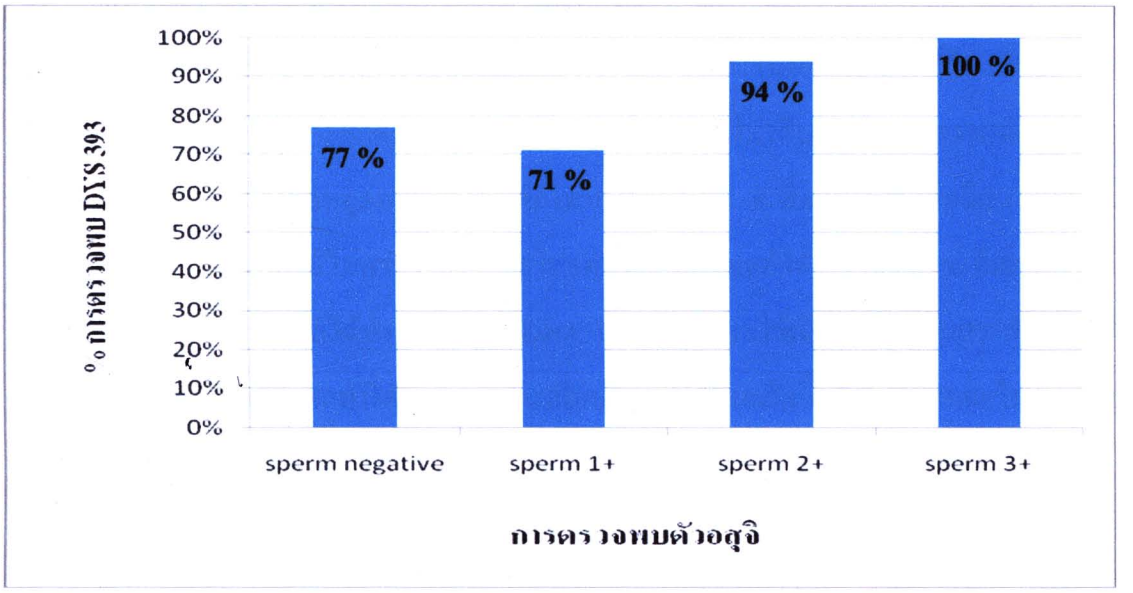
ภาพที่ 9.2 แสดงโอกาสการตรวจพบลักษณะ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS 393 เทียบกับตัวอสุจิในแต่ละกลุ่มที่แบ่งตามปริมาณที่ตรวจพบตัวอสุจิ

จากภาพที่ 9.1 แสดงให้เห็นโอกาสการตรวจพบลักษณะ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 เทียบกับกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิและกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ พบว่า ในตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิทั้งหมด 30 ตัวอย่างนั้นสามารถตรวจพบลักษณะ Microsatellite DNA ในตำแหน่ง DYS 393 ได้ถึง 23 ตัวอย่างคิดเป็น 77% และในกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิทั้งหมด 30 ตัวอย่างนั้น สามารถตรวจพบลักษณะ Microsatellite DNA ในตำแหน่ง DYS 393 ได้ 27 ตัวอย่าง คิดเป็น 90%

เมื่อนำตัวอย่างที่พบตัวอสุจิทั้ง 30 ตัวอย่างมาแบ่งกลุ่มออกเป็น 3 กลุ่มตามปริมาณของตัวอสุจิที่ตรวจพบคือ ปริมาณ 1+, 2+ และ 3+ (ภาคผนวก ก) พบว่ามีตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจิอยู่ในกลุ่ม 1+ จำนวน 7 ตัวอย่าง กลุ่ม 2+ จำนวน 18 ตัวอย่าง และกลุ่ม 3+ จำนวน 5 ตัวอย่าง เมื่อได้ตรวจดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง DYS 393 แล้ว พบว่า สามารถตรวจพบดีเอ็นเอได้ในทั้งสามกลุ่มจำนวน 5, 17 และ 5 ตัวอย่าง ตามลำดับ (คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ได้เท่ากับ 71%, 94% และ 100% ตามลำดับ, ภาพที่ 9.2) ซึ่งกลุ่มที่พบตัวอสุจิในปริมาณ 1+ จะมีโอกาสพบดีเอ็นเอตำแหน่ง DYS 393 ใกล้เคียงกับกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ (77%) ดังภาพที่ 9.3 และจาก 3 ตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจิแต่ตรวจไม่พบดีเอ็นเอนั้น(ตาราง 4) พบว่าอยู่ในกลุ่ม 1+ จำนวน 2 ตัวอย่าง และกลุ่ม 2+ อีก 1 ตัวอย่าง เมื่อทำการทดสอบทางสถิติโดยใช้ t-test ซึ่งเป็นสถิติที่ใช้ในการทดสอบสมมุติฐานของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกันหรือ t-test independent (ระพินทร์ โพธิ์ศรี, 2549) พบว่า ในกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิปริมาณ 1+ และ 2+ มีโอกาสการตรวจพบดีเอ็นเอไม่แตกต่างกับกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิอย่างมีนัยสำคัญที่ค่า $p = 0.779$ และ 0.071 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิกับตัวอย่างที่ตรวจพบตัวอสุจิในปริมาณ 3+ พบว่า โอกาสของการตรวจพบดีเอ็นเอในกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิมีความแตกต่างจากการตรวจพบในกลุ่มตัวอย่างที่มีปริมาณอสุจิ 3+ อย่างมีนัยสำคัญที่ค่า $p = 0.006$ เมื่อทำการเปรียบเทียบกันเองภายในกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่างที่แบ่งเป็น 3 กลุ่มตามปริมาณที่ตรวจพบตัวอสุจิคือ 1+, 2+ และ 3+ พบว่า การตรวจพบตัวอสุจิในแต่ละกลุ่มเปรียบเทียบกันระหว่างกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิในปริมาณ 1+ กับ 2+, 1+ กับ 3+ และ 2+ กับ 3+ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.270$, 0.172 และ 0.610 ตามลำดับ, ภาคผนวก จ)

การตรวจพบลักษณะ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 เทียบกับการตรวจหาตัวอสุจินั้น พบว่าจะมีความแปรผันไปตามปริมาณการตรวจพบตัวอสุจิกล่าวคือ การตรวจพบตัวอสุจิที่เพิ่มขึ้นในตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา

จะสามารถตรวจพบ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 ได้เพิ่มขึ้นตามไปด้วย



ภาพที่ 9.3 แสดงโอกาสการตรวจพบลักษณะ Microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายตำแหน่ง DYS 393 เทียบกับการตรวจพบตัวอสุจิ

สำหรับกรณีที่สามารถตรวจเจอ DYS 393 ได้ในตัวอย่างที่ตรวจเจอตัวอสุจิในปริมาณน้อยๆหรือตรวจไม่เจอเลย ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากวิธีการตรวจหาตัวอสุจิที่มีการบกพร่องซึ่งในการค้นคว้านี้ใช้วิธีการตรวจตัวอสุจิแบบ Oppitz test (ภาคผนวก ก) ที่มีการใช้ปริมาณตัวอย่างจากน้ำซับช่องคลอดจากผู้เสียหายเพียงเล็กน้อยแค่ 2- 3 ไมโครลิตร (เส้นผ่าศูนย์กลางของปริมาณที่หยดลงบนแผ่นสไลด์ประมาณ 1 เซนติเมตร) มาหยดบนแผ่นสไลด์ก่อนนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ อาจเป็นไปได้ว่าตรงบริเวณตัวอย่างจากน้ำซับช่องคลอดที่นำมาตรวจหรือที่เรานำมาหยดลงบนแผ่นสไลด์จะไม่มีตัวอสุจิติดมาด้วย (ซึ่งทั้งที่จริงๆแล้วหากเราใช้ตำแหน่งอื่นของสำลีป้ายช่องคลอดอาจจะมีหรือไม่มีตัวอสุจิปนอยู่ก็ได้) จึงทำให้ตรวจไม่พบตัวอสุจิหรืออาจเกิดจากความผิดพลาดของผู้ตรวจเองก็เป็นไปได้เช่นกัน และสำหรับในกรณีที่มีการตรวจพบตัวอสุจิในปริมาณตามเกณฑ์ 1+, 2+ ในบางตัวอย่างที่ตรวจไม่พบลักษณะดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชาย อาจเป็นผล

มาจากขั้นตอนของการสกัด ที่มีการดูดเอาน้ำล้างตะกอนของน้ำซับช่องคลอดออกไป ก่อนนำไป smear บนสไลด์เพื่อตรวจดูตัวอสุจิจากกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งอาจมีการปนเปื้อนหรือดูดตัวอสุจิที่มีน้อยอยู่แล้วนั้นออกไปด้วยในขั้นของการล้างตะกอนจึงทำให้เราตรวจไม่เจอตัวอสุจิและดีเอ็นเอของตัวอสุจินั้นด้วย รวมไปถึงการใช้ Proteinase K ในขั้นตอนของการสกัดเช่นกัน เนื่องมาจาก Proteinase K ในขั้นตอนการสกัดนั้นจะมีหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีนโดยเฉพาะตรงผนังเซลล์ทำให้เซลล์แตกและมีดีเอ็นเอหลุดออกมาได้ แต่ถ้าหาก Proteinase K ที่ใช้ในการสกัดมีความเข้มข้นน้อยเกินไป ก็อาจส่งผลให้ไม่สามารถทำลายโปรตีนที่เยื่อหุ้มเซลล์ได้อย่างสมบูรณ์ ดีเอ็นเอจึงไม่สามารถหลุดออกจากเซลล์ได้ทั้งหมดทำให้ DNA template ที่จะใช้เป็นแม่แบบในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่มีน้อยส่งผลทำให้กระบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเกิดขึ้นได้น้อยลงและไม่สามารถตรวจเจอดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายได้ หรือแม้กระทั่งในขั้นตอนของการต้มน้ำสกัดดีเอ็นเอในน้ำเดือด ในกระบวนการสุดท้ายของการสกัดเพื่อทำลายการทำงานของ Proteinase K ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารละลาย Proteinase K ถูกทำลายไม่หมด เมื่อนำตัวอย่างน้ำสกัดดีเอ็นเอไปใช้ในกระบวนการ PCR สารละลาย Proteinase K ที่เหลืออยู่จึงไปทำลาย DNA polymerase ซึ่งเป็นเอ็นไซม์สำคัญในการช่วยสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ แต่เมื่อเอ็นไซม์ตัวนี้มีปริมาณลดลงการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ก็จะลดลงตามไปด้วย จึงเป็นเหตุให้ตรวจไม่พบลักษณะดีเอ็นเอ อีกกรณีหนึ่งคือในการสกัดแบบไม่แยกชนิดเซลล์ หรือ Total extraction นั้นจะทำให้ในน้ำสกัดดีเอ็นเอมีปริมาณดีเอ็นเอของผู้หญิงปนอยู่มาก จึงไปกีดขวางการจับกันระหว่าง primer กับ ดีเอ็นเอเป้าหมาย (Target DNA) ส่งผลให้ primer ไปจับกับดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายได้น้อย ดังที่ Prinz และคณะ ได้ศึกษาอัตราส่วนของดีเอ็นเอผู้ชายที่ผสมอยู่กับดีเอ็นเอของผู้หญิงในแต่ละอัตราส่วนที่แตกต่างกัน พบว่า ในอัตราส่วนของดีเอ็นเอผู้ชายต่อดีเอ็นเอของผู้หญิงที่ 1:2000 เป็นอัตราส่วนที่สูงที่สุดที่ยังสามารถตรวจพบดีเอ็นเอของผู้ชายได้ (Prinz., et al) การแก้ไขก็อาจทำได้โดยการเปลี่ยนวิธีการสกัดไปเป็นการสกัดแบบแยกชนิดของเซลล์ หรือ Differential extraction ซึ่งวิธีนี้จะมีการย่อยสลายแยกส่วนเอาเซลล์ชนิดอื่นๆ รวมไปถึงเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของผู้เสียหายออกไปก่อนเหลือไว้แต่เฉพาะเซลล์อสุจิแล้วทำการย่อยตัวอสุจิอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งวิธีนี้อาจจะไปช่วยลดการกีดขวางการจับกันระหว่าง primer กับ ดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายจากดีเอ็นเอของผู้หญิงได้ แต่ทั้งนี้ในขั้นตอนของการสกัดแบบ Total extraction นั้นก็มีประโยชน์ในกรณีที่การสกัด

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ตัวอย่างจะทำให้ได้ดีเอ็นเอจากเซลล์อื่นของผู้ชายที่ไม่ใช่ตัวอสุจิปนมาด้วย (ในกรณีที่เราอาจตรวจไม่พบตัวอสุจิหรือตรวจพบได้น้อยมากในคดีการกระทำชำเรา แต่ถ้าหากมีการกระทำชำเราเกิดขึ้นจริงก็จะช่วยให้เรายังสามารถตรวจเจอดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายได้จากแหล่งอื่นๆหรือจากเซลล์อื่นๆของผู้ชายที่ได้ทิ้งไว้ในขณะที่มีการกระทำชำเรา) เช่น เซลล์เยื่อบุผิวของอวัยวะเพศชาย (epithelial cells) ซึ่งเกิดจากการเสียดสีของอวัยวะเพศขณะกระทำชำเราทำให้เซลล์เยื่อบุผิวหลุดลอกออกมาแล้วปนอยู่กับเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของผู้เสียหาย รวมถึงเซลล์เยื่อบุท่อน้ำเชื้อและต่อมสร้างน้ำเลี้ยงอสุจิ (seminal vesicle) ที่อาจจะมีการหลุดลอกของ epithelial cell ออกมาตามปกติอยู่แล้ว หรืออีกกรณีหนึ่งคืออาจตรวจพบเซลล์เม็ดเลือดขาวซึ่งเป็นเซลล์ที่พบได้ทั่วไปในร่างกาย รวมไปถึงในเลือดและระบบน้ำเหลือง ซึ่งปกติเราก็จะพบว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวอาจมีการหลั่งหรือหลุดปนออกมากับปัสสาวะอยู่บ้างในกรณีของผู้ชายปกติทั่วไป แต่จะพบได้มากในผู้ชายที่มีการอักเสบของระบบสืบพันธุ์และทางเดินปัสสาวะ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มผู้ชายที่เป็นนักเที่ยวหรือมีพฤติกรรมทางเพศที่ค่อนข้างบ่อยก็จะทำให้มีโอกาสเกิดการอักเสบของระบบสืบพันธุ์ได้มากกว่าผู้ชายปกติทั่วไป ซึ่งเซลล์เม็ดเลือดขาวอาจปนมากับการหลั่งอสุจิขณะที่มีเพศสัมพันธ์ (ปกติก็สามารถที่จะตรวจพบเซลล์เม็ดเลือดขาวได้ในน้ำอสุจิด้วย) และทำให้เราสามารถที่จะตรวจพบได้เป็นต้น ในกรณีที่ใช้วิธีการสกัดแบบ Total extraction จะเป็นประโยชน์มากต่อคดีที่มีผู้ต้องสงสัยเป็นหมันหรือเป็นคนที่มีตัวอสุจิน้อย (azoospermic semen) รวมไปถึงในกรณีที่ผู้กระทำไม่ได้มีการร่วมเพศแต่มีการกระทำอย่างอื่นแทนซึ่งถือเป็นการกระทำชำเราได้ เช่น การใช้นิ้วมือก็มีโอกาสที่เซลล์ผิวหนังจากนิ้วมือจะหลุดติดมาได้ หรือการใช้ปาก (oral) ก็อาจมีคราบน้ำลายติดมาได้เช่นกัน จึงทำให้เราสามารถตรวจเจอดีเอ็นเอของโครโมโซมเพศชายได้ แต่ถ้าหากเราใช้วิธีการสกัดแบบแยกชนิดเซลล์ (differential extraction) ก็จะทำให้ไปตัดโอกาสที่เราจะตรวจพบเซลล์อื่นๆของผู้ชายที่อาจปนมาด้วยได้ ดังนั้นการสกัดแบบ Total extraction จะช่วยเพิ่มโอกาสในการตรวจพบ microsatellite DNA บนโครโมโซมเพศชายและจะช่วยให้เราพบหลักฐานในการกระทำชำเราได้มากขึ้น

จากผลการทดลองดังที่ได้กล่าวมาทั้งหมด จะเห็นได้ว่าการพิสูจน์พยานหลักฐานในคดีเกี่ยวกับการล่วงละเมิดทางเพศนั้นเราสามารถที่จะทำได้หลายวิธีหากมีการเก็บวัตถุพยานมาได้อย่างถูกต้องและไม่ปนเปื้อน ทั้งการตรวจหาตัวอสุจิรวมไปถึงการตรวจหาไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอ

บนโครโมโซมเพศชาย ซึ่งในการตรวจทั้ง 2 อย่างที่ได้กล่าวมานั้นล้วนเป็นตัวช่วยที่สำคัญในการพิสูจน์วัตถุพยานในคดีที่เกี่ยวกับเพศได้ โดยการตรวจหาตัวอสุจิจากตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายก็จะมีความน่าเชื่อถือสูงว่าในคดีนั้นผู้เสียหายได้ถูกกระทำชำเรามาจริงแต่การที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิจากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย เราก็ไม่สามารถที่จะมั่นใจได้ 100% ว่าผู้เสียหายไม่ได้ถูกกระทำชำเรามาจริง ดังที่ผลการค้นคว้าอิสระในครั้งนี้ พบว่ามีตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิแต่สามารถตรวจพบไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชายได้ และสำหรับการตรวจหาไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชายอาจจะสามารถบอกได้ว่ามีดีเอ็นเอของผู้ชายอยู่หรือไม่และเชื่อมั่นได้ว่าผู้เสียหายได้ถูกกระทำชำเรามาจริง ยิ่งถ้าในคดีนั้นๆเป็นกรณีที่สามารถเก็บดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยมาตรวจเพื่อที่จะเปรียบเทียบดีเอ็นเอจากที่เราตรวจพบในน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหาย เราก็จะยิ่งเพิ่มความเชื่อมั่นในการระบุตัวบุคคลที่เป็นผู้กระทำและสามารถที่จะจับตัวผู้ร้ายได้ ซึ่งกรณีนี้เราไม่สามารถตรวจระบุตัวผู้ร้ายได้จากการตรวจหาตัวอสุจิเพียงอย่างเดียว แต่ทั้งนี้ก็มีผลจากการค้นคว้าครั้งนี้ก็มีตัวอย่างน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายที่ตรวจพบตัวอสุจิ แต่ไม่สามารถตรวจพบไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชายได้เช่นเดียวกัน ดังนั้นการพิสูจน์หาพยานหลักฐานในคดีที่เกี่ยวกับเพศจึงต้องใช้ทั้งวิธีการตรวจตัวอสุจิและการตรวจไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชายร่วมกันไปด้วย จึงจะเพิ่มความเชื่อมั่นมากยิ่งขึ้น นอกจากนั้นการตรวจหาไมโครแซทเทลไลท์ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชายอาจทำการตรวจในตำแหน่งอื่นๆเพิ่มได้ เพื่อช่วยระบุตัวบุคคลและช่วยทำให้พยานหลักฐานในคดีที่เกี่ยวกับการล่วงละเมิดทางเพศมีความน่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น