

**Investigation of Microsatellite DNA on X-chromosome Locus DXS7130
in a Population from Northern Thailand**

**การตรวจสอบไมโครแซทเทลไลท์ที่ดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศหญิง ตำแหน่ง DXS7130
ในกลุ่มประชากรคนไทยภาคเหนือ**

Pratyaporn Teprachum*, Tanin Bhoopat MD,** Lertlakana Bhoopat MD.***

*Forensic Science, Graduate School, Chiang Mai University, ** Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University,

***Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50002, Thailand

ปรัชญาภรณ์ เทพรชุมภ์, ธานินทร์ ภูพัฒน์ พ.บ.††, เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์ พ.บ.†††

†สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, †† ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,

††† ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50002, ประเทศไทย.

Abstract

The single X chromosome of the father always passes to all of his daughters. This phenomenon makes X microsatellite DNA useful for complex kinship testing such as testing relationship between co-paternal female siblings when the father is not available to be tested. Moreover, X-microsatellite DNA can be used for female identification and conventional maternity testing in mother and children of any gender. In this study the allele frequencies of the X chromosomal DXS7130 locus was investigated. Buccal cells from 120 unrelated Northern Thai females were collected and DNA amplified using polymerase chain reaction. Allele typing was performed by polyacrylamide gel electrophoresis and silver staining. Nine DXS7130 alleles were found, allele frequencies ranged from 0.0042 (allele 10) to 0.3292 (allele 15.3). The average power of exclusion (in no- parent and one- parent cases) and the power of discrimination (PD) were calculated as 0.4211, 0.5993 and 0.9233 respectively.

Keywords: STR, X-Chromosome, PCR, DXS7130, Northern Thai population

บทคัดย่อ

โครโมโซมเพศหญิงตัวเดียวที่มีอยู่ในพ่อจะถูกถ่ายทอดไปยังลูกผู้หญิงทุกคน ซึ่งลักษณะดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการตรวจความสัมพันธ์ของสายเลือดในบางกรณีที่ต้องใช้การเปรียบเทียบลักษณะดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศหญิงเท่านั้น เช่น ในกรณีพี่น้องหญิงร่วมบิดา โดยที่ผู้เป็นบิดาไม่สามารถร่วมตรวจได้ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้พิสูจน์บุคคลหรือแม่-ลูกธรรมดา โดยการพิสูจน์ดังกล่าวข้างต้นจะใช้ค่าสถิติและค่าความถี่ของอัลลีลต่างๆในตำแหน่งของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ของกลุ่มประชากรนั้นๆ ในการแปลผล

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับค่าความถี่ของอัลลีลต่างๆของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DXS7130 ซึ่งประชากรที่ใช้ในการศึกษาคือ ประชากรเพศหญิง คนไทย ภาคเหนือ จำนวน 120 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด โดยเก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มนำมาสกัดดีเอ็นเอ แล้วเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) จากนั้นนำมาวิเคราะห์สารพันธุกรรมในตำแหน่งดังกล่าว โดยวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis

ผลการศึกษาพบว่าดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศหญิงภาคเหนือ ตำแหน่ง DXS7130 มี 9 อัลลีล ซึ่งมีความถี่อยู่ระหว่าง 0.0042 ถึง 0.3292 โดยอัลลีลที่ 15.3 มีค่าความถี่สูงสุดเท่ากับ 0.3292 จากการคำนวณพบว่ามีค่ากำลังการแยกแยะ (PD) เท่ากับ 0.9233 และมีค่ากำลังการคัดออก (PE) กรณี no parent เท่ากับ 0.4211 และกรณี one parent เท่ากับ 0.5993 ตามลำดับ

คำสำคัญ: STR, X-Chromosome, PCR, DXS7132, ประชากรคนไทยภาคเหนือ

บทนำ

การพิสูจน์บุคคลหรือหลักฐานที่เกี่ยวข้องกับบุคคล มีความสำคัญมาก ไม่ว่าจะเป็น การตรวจจับคนร้ายที่มีการทิ้งร่องรอยเป็นเพียงคราบเลือด คราบอสุจิ การหาความสัมพันธ์ทางสายเลือด เช่น การตรวจความเป็นพ่อ - แม่ - ลูก และยังสามารถตรวจกับตัวอย่างได้หลายประเภท ไม่ว่าจะเป็น เลือด น้ำลาย กระดูก เนื้อเยื่อ เป็นต้น ซึ่งในทางนิติวิทยาศาสตร์ มีการใช้ Microsatellite DNA หรือ Short Tandem Repeats (STR) ในการตรวจพิสูจน์บุคคล เนื่องจาก ในบุคคลหนึ่งๆ จะมีลำดับชุดเบสซ้ำต่อเนื่องแตกต่างกันทั้งขนาดและจำนวนซ้ำ ซึ่งตรงนี้เองที่ทำให้เกิดความแตกต่างจากบุคคลอื่น ดังนั้น จึงใช้ส่วนของชุดเบสซ้ำอย่างต่อเนื่องมาตรวจสอบเพื่อแยกแยะบุคคลต่างๆออกจากกัน ทำให้สามารถพิสูจน์ความเป็นบุคคลได้^[1]

ในการตรวจพิสูจน์บางกรณีจำเป็นต้องใช้การเปรียบเทียบลักษณะดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศหญิงเท่านั้น เช่น ในกรณีพี่น้องหญิงร่วมบิดา โดยที่ผู้เป็นบิดาไม่สามารถร่วมตรวจได้หรือพิสูจน์การเป็นย่า-หลานสาว เป็นต้น จากการศึกษาในต่างประเทศ พบว่า บนโครโมโซมเพศหญิงมี ลักษณะของ microsatellite หรือ short tandem repeat (STR) DNA หลายตำแหน่ง แบ่งออกได้เป็นกลุ่มๆตามตำแหน่งที่อยู่บนโครโมโซม และโอกาสที่มันจะถูกถ่ายทอดไปด้วยกันประมาณ 4 กลุ่มหลัก และอีก 2 จุด สามารถถ่ายทอดไปให้ลูกหลานได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ลักษณะของโครโมโซมเพศหญิงในพ่อจะถูกถ่ายทอดไปยังลูกผู้หญิงทุกคนทำให้เราสามารถตรวจเปรียบเทียบลักษณะดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศหญิงในลูกผู้หญิงทุกคนเพื่อบ่งชี้ความเป็นพี่น้องร่วมบิดาได้ อย่างไรก็ตามก่อนจะนำมาใช้จริงจำเป็นต้องทราบข้อมูลค่าความถี่ของอัลลีลต่างๆที่ปรากฏในตำแหน่งของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์เหล่านั้นในกลุ่มประชากรที่สนใจ เพราะฉะนั้นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับค่าความถี่ของอัลลีลในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศหญิงจากกลุ่มประชากรที่สนใจจึงเป็นสิ่งที่สำคัญ เพื่อนำมาใช้ในการคำนวณหาโอกาสความสัมพันธ์ทางสายเลือด และสามารถนำผลการวิจัยมาใช้เป็นหลักฐานอ้างอิงในการพิสูจน์บุคคลได้อย่างถูกต้องและแม่นยำมากที่สุด

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. ตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

1.1 กลุ่มตัวอย่าง

ประชากรเพศหญิงทางภาคเหนือของประเทศไทย ที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกันทางสายเลือดจำนวน 120 คน

1.2 วิธีเก็บตัวอย่าง

ใช้ไม้จิ้มฟันเข็ดเบาบริเวณกระพุ้งแก้มภายในปากของกลุ่มตัวอย่าง แช่ไว้ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml ที่มีน้ำกลั่นอยู่ 1 ml

2. การสร้างอัลลีลมาตรฐาน (Allelic ladders)

สกัดดีเอ็นเอจากเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม (Buccal cell) ของกลุ่มตัวอย่างด้วย Chelex^[2] จากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบที่สกัดไว้ข้างต้น ปริมาตร 2.0 µl, Sterile water 10.0 µl, dNTPs 2.0 µl, 10X taq buffer 2.0 µl, 0.25 u/ml Taq DNA polymerase 2.0 µl และ 2.5 µM Primer mix (ตำแหน่ง DXS7130) 2.0 µl โดย Primer mix มีลำดับเบสดังนี้

Primer F : 5'- AGCCATTTGGAATATAGAGGAAGGG -3'

Primer R : 5'- AGGACTGGGAAAGAACAAGCAAGG -3'

หลอดปฏิกิริยาถูกนำเข้าสู่เครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ โดยตั้งค่าอุณหภูมิ ดังนี้ 94 °C นาน 2 นาที 1 รอบ จากนั้นปรับไปที่อุณหภูมิ 94 °C นาน 30 วินาที, 55 °C นาน 10 วินาที และ 72 °C นาน 1 นาที รวมทั้งสิ้น 35 รอบ

นำมาตรวจสอบผลที่ได้ด้วยการทำ Polyacrylamide gel electrophoresis ในชุดแยกสารในวุ้น protean II xi cell โดยขนาดของวุ้นกว้าง 16 ซม. ยาว 20 ซม. และหนา 0.1 ซม. ความเข้มข้นของ acrylamide โดยรวม = 8.5% และ 4.8 % ของ bis-acrylamide ^[2] 10X Gel buffer ประกอบด้วย Tris 8 g และน้ำกลั่น 200 ml แล้วปรับ pH ด้วย Sulfuric acid ให้ได้ pH = 4.5 electrophoresis buffer = 1x TBE เปรียบเทียบกับ ดีเอ็นเอมาตรฐาน (20 bp ladder) และย้อมสีเจลดด้วย silver staining ^[3] เมื่อเห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจนทำการตัด แถบดีเอ็นเอในเจลมามากัดด้วย chelex และนำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ primer และ สภาวะในการเพิ่มปริมาณดังที่กล่าวมาแล้ว จากนั้นตกตะกอนด้วยวิธี Isopropanol precipitation แล้วนำมา ตรวจสอบด้วย Agarose gel electrophoresis นำมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ในปริมาตร 20 ไมโครลิตร ในสารละลายปฏิกิริยาประกอบด้วยดีเอ็นเอต้นแบบ 1.0 µl, Sterile water 13.0 µl, Dilution buffer 3.0 µl, Big Dye Kit 2.0 µl และ 3.2 µM Primer 1.0 µl หลอดปฏิกิริยาถูกนำเข้าสู่เครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ โดยตั้งค่าอุณหภูมิ ดังนี้ 96 °C นาน 1 นาที 1รอบ จากนั้นปรับไปที่อุณหภูมิ 96 °C นาน 10 วินาที, 50 °C นาน 5 วินาที และ 60 °C นาน 4 นาที รวมทั้งสิ้น 25 รอบ

สำหรับลำดับเบสของตำแหน่ง DXS7130 ที่ใช้เป็น primers มีรายละเอียดดังนี้

Primer F : 5'- AGCCATTTGGAATATAGAGGAAGGG -3'

เมื่อได้ PCR product นำมาตกตะกอนด้วย 100% Ethanol จากนั้นทำ Denature DNA ที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 2 นาที แล้ว Load PCR product ปริมาณ 16 µl ลงใน well PCR เข้าเครื่องทำ DNA Sequencing เพื่อหาจำนวนชุดเบสซ้ำ (tandem repeat) สำหรับการกำหนดชนิดของอัลลีลตามมาตรฐานสากล

3. การหาความถี่ของอัลลีลและการประเมินประสิทธิภาพของดีเอ็นเอตำแหน่ง DXS7130 ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์

นำน้ำสกัดดีเอ็นเอที่เหลือของกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR จากนั้น นำมาตรวจผล PCR ด้วยการทำ Polyacrylamide gel electrophoresis เปรียบเทียบกับอัลลีลมาตรฐาน (Allelic ladder) ในตำแหน่ง DXS7130 ที่สร้างไว้ ย้อมสีเจลดด้วย silver staining เพื่อให้เห็นแถบดีเอ็นเอชัดเจน นับจำนวนแถบดีเอ็นเอจากลักษณะพันธุกรรมที่พบในอัลลีลต่างๆและหาความถี่ของแต่ละอัลลีล นำข้อมูลที่ได้

ได้มาวิเคราะห์และคำนวณค่ากำลังการแยกแยะ ค่ากำลังการคัดออกของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศหญิงในตำแหน่ง DXS7130 เพื่อประเมินประสิทธิภาพ

ผลการศึกษา

ผลการสร้างอัลลีลมาตรฐาน (Allelic ladders) พบว่าดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DXS7130 มี 9 อัลลีล เมื่อหาลำดับเบสพบว่าแต่ละอัลลีลมีชุดเบสซ้ำที่มีการซ้ำของชุดเบส TATC อยู่ในจำนวนซ้ำที่ไม่เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 1

แถบที่	Sequence composition	Allele
1	P _F -N ₈ -(TATC) ₁₀ -N ₆₁ -P _R	10
2	P _F -N ₈ -(TATC) ₁₁ -N ₆₁ -P _R	11
3	P _F -N ₈ -(TATC) ₁₂ -N ₆₁ -P _R	12
4	P _F -N ₈ -(TATC) ₁₃ -N ₆₁ -P _R	13
5	P _F -N ₈ -(TATC) ₅ -ATC-(TATC) ₈ -N ₆₁ -P _R	13.3
6	P _F -N ₈ -(TATC) ₅ -ATC-(TATC) ₉ -N ₆₁ -P _R	14.3
7	P _F -N ₈ -(TATC) ₅ -ATC-(TATC) ₁₀ -N ₆₁ -P _R	15.3
8	P _F -N ₈ -(TATC) ₅ -ATC-(TATC) ₁₁ -N ₆₁ -P _R	16.3
9	P _F -N ₈ -(TATC) ₅ -ATC-(TATC) ₁₂ -N ₆₁ -P _R	17.3

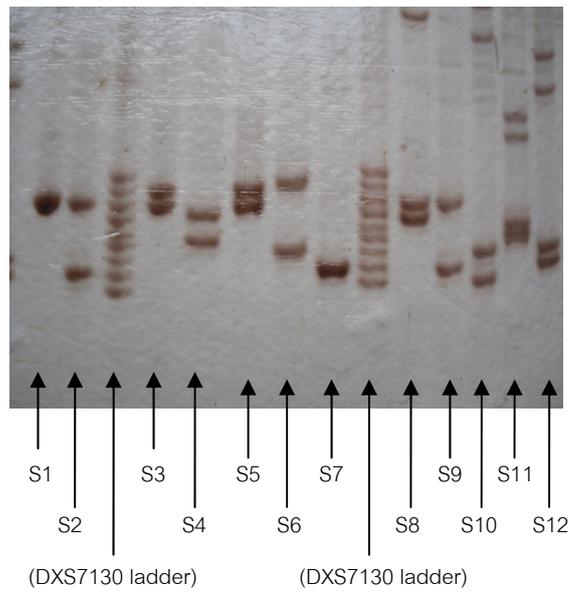
เมื่อ N₈: GAAATCAT

N₆₁:TGGCCAAGAGTGGCCTGATTTTTGTTCTCATTTCTTTGAACTGAGGTCCACTCCGTTATAA

ตาราง 1 แสดงช่วงการซ้ำของชุดเบสที่พบในแต่ละแถบของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนตำแหน่งDXS7130 ที่ตรวจสอบด้วยเครื่องอัตโนมัติ

ผลการตรวจลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์จากกลุ่มตัวอย่าง 120 ราย ดังแสดงในภาพที่ 1 สามารถเก็บข้อมูลลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DXS7130 และนับค่าความถี่ของอัลลีลต่างๆ ที่พบ ปากฎดังแสดงในตารางที่ 2 และภาพที่ 2

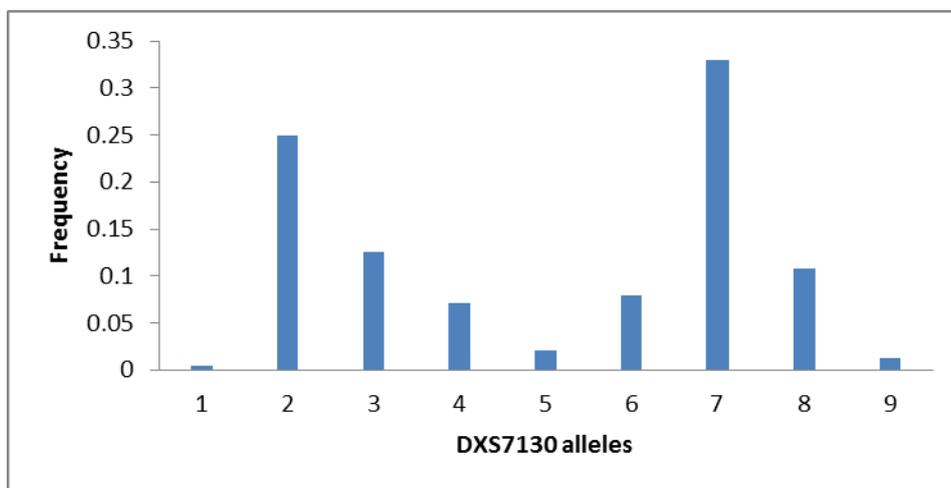
หมายเหตุ S คือ Sample



ภาพ 1 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างเมื่อเทียบกับอัลลีลมาตรฐานในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ ตำแหน่ง DXS7130 ที่สร้างไว้

อัลลีล	ค่าความถี่
10	0.0042
11	0.2500
12	0.1250
13	0.0708
13.3	0.0208
14.3	0.0792
15.3	0.3292
16.3	0.1083
17.3	0.0125

ตาราง 2 แสดงค่าความถี่ของแต่ละอัลลีลในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บน โครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7130



ภาพ 2 แสดงค่าความถี่ของแต่ละอัลลีลในดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์บนโครโมโซมเพศหญิงตำแหน่ง DXS7130

สำหรับประสิทธิภาพของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DXS7130 ในการตรวจพิสูจน์บุคคลและพิสูจน์บุตร พบว่า ค่ากำลังการแยกแยะ (power of discrimination) และค่ากำลังการคัดออก (power of exclusion) ปรากฏในตารางที่ 3

	microsatellite DNA on X-chromosome locus DXS7130
Observed heterozygosity	0.7583
Expected heterozygosity	0.7530 ± 0.0394
Power of discrimination (PD)	0.9233
Power of exclusion (no-parent)	0.4211
Power of exclusion (one-parent)	0.5993

ตาราง 3 แสดงค่ากำลังการแยกแยะและค่ากำลังการคัดออกของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DXS7130

เมื่อทดสอบการกระจายตัวของลักษณะ genotype ว่าเป็นไปตาม Hardy – Weinberg equilibrium โดยใช้ χ^2 test^[4] ตามสมมติฐานดังนี้

สมมติฐาน

H₀: จำนวน genotype ที่พบในการทดลองกับจำนวน genotype ที่คาดหวังไม่มีความแตกต่างกัน

H₁: จำนวน genotype ที่พบในการทดลองกับจำนวน genotype ที่คาดหวังแตกต่างกัน

หาเขตวิกฤต ที่ d.f = K-1 = 44 ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 โดยค่าที่ได้จากการคำนวณน้อยกว่าค่าเขตวิกฤตจึงยอมรับ H₀

เมื่อเปิดตารางจะได้ $\chi^2 = 60.456$

ค่าจากการคำนวณได้ $\chi^2 = 28.04$

นั่นคือ จำนวน genotype ที่พบในการทดลองกับจำนวน genotype ที่คาดหวังไม่มีความแตกต่างกัน หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DXS7130 มีการกระจายตัวของลักษณะ genotype เป็นไปตาม Hardy – Weinberg equilibrium

สรุปและอภิปรายผลการศึกษา

จากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DXS7130 ในตัวอย่างประชากรไทยภาคเหนือ เพศหญิงที่ไม่มีความเกี่ยวข้องทางสายเลือดเดียวกันจำนวน 120 คน ด้วยการใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ แล้วตรวจสอบขนาดผลผลิตที่ได้ด้วยวิธี Polyacrylamide gel electrophoresis พบว่าดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DXS7130 มีอัลลีลทั้งหมด 9 อัลลีล เริ่มจากอัลลีลที่ 10 ถึงอัลลีลที่ 17.3 โดยอัลลีลที่ 15.3 พบว่ามีความถี่มากที่สุดคือ 0.3292 และ อัลลีลที่ 10 มีค่าความถี่น้อยที่สุดเท่ากับ 0.0042

นอกจากนี้พบว่ามีลักษณะทางพันธุกรรมที่แสดงออก (genotype) สูงที่สุดคือ 11/15.3 โดยมีค่าความถี่เท่ากับ 0.1583 และลักษณะทางพันธุกรรมที่แสดงออก (genotype) น้อยที่สุดอยู่หลายตำแหน่ง คือ 10/12, 11/17.3, 12/13.3, 12/14.3, 13/13.3, 13/17.3, 13.3/15.3, 14.3/17.3, 16.3/16.3 โดยมีค่าความถี่เท่ากับ 0.0083

ในการแปลผลการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดและพิสูจน์บุคคลนั้นจำเป็นต้องทราบประสิทธิภาพของ ดีเอ็นเอ Marker ที่ใช้ในการตรวจ เพื่อชี้แจงให้ผู้อื่นเข้าใจ โดยสามารถดูได้จากค่า กำลังการแยกแยะ (power of discrimination) และค่ากำลังการคัดออก (power of exclusion) จากงานวิจัยนี้พบว่า มีค่ากำลังการแยกแยะในผู้หญิงเท่ากับ 0.9233 ซึ่งค่านี้บอถึงโอกาสที่เมื่อเลือกคนสองคนอย่างสุ่มแล้วจะได้ลักษณะ genotype ของดีเอ็นเอตำแหน่ง DXS7130 ต่างกันเท่าใด ในกรณีนี้แสดงว่าโอกาสนั้นมี 92.33% หรือจะกล่าวอีกทางหนึ่งว่า โอกาสที่จะพบว่าคนสองคนมี genotype ของดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ตำแหน่ง DXS7130 เหมือนกันเท่ากับ 7.67% ส่วนค่ากำลังการคัดออก (power of exclusion) จากงานวิจัยนี้พบว่า ค่ากำลังการคัดออก (power of exclusion) กรณี no parent มีค่าเท่ากับ 0.4211 ซึ่งค่านี้จะใช้ในกรณีที่พิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างแม่-ลูก มีเด็กกับผู้ถูกกล่าวหาเพียงคนเดียวเท่านั้น และค่ากำลังการคัดออก (power of exclusion) กรณี one parent ใช้ในกรณีที่เด็กมากับบุพการีแท้ๆแล้วกล่าวหาว่าผู้ถูกกล่าวหาเป็นบุพการีอีกคน โดยมีค่าเท่ากับ 0.5993

นอกจากนี้เมื่อหาค่า Heterozygosity (H_{observe}) ที่ได้จากการสังเกต พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.7917 หรือ 79.17% ซึ่งจะมีความใกล้เคียงกับค่า Heterozygosity (H_{expect}) คาดหวังที่คำนวณตามสูตรของ Bhoopat^[5] แล้วได้ค่าเท่ากับ 0.7931 ± 0.0369 หรือ $79.31 \pm 3.69\%$ และเมื่อนำมาคำนวณ Hardy-Weinberg Equilibrium โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ (χ^2 : Chi-Square)^[6] พบว่าจำนวน genotype ที่พบในการทดลอง กับจำนวน genotype ที่คาดหวังไม่มีความแตกต่างกัน หรือกล่าวได้ว่าจำนวน genotype ที่พบในการทดลองมีการกระจายตัวเป็นไปตามกฎความสมดุลของ Hardy-Weinberg จากค่าทั้งสองทำให้เชื่อได้ว่าวิธีการหรือเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ และการเลือกกลุ่มตัวอย่างในการวิจัยนี้เป็นไปอย่างถูกต้องและเหมาะสม ดังนั้นจึงสามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศหญิง ในตำแหน่ง DXS7130 ได้

จากรูปแบบการกระจายตัวของความถี่อัลลีล โครงสร้างการกระจายตัวของลักษณะทางพันธุกรรม (Genotype) ค่ากำลังการแยกแยะ (PD) และค่ากำลังการคัดออก (PE) รวมทั้งได้ทดสอบแล้วว่าวิธีการหรือเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ และการเลือกกลุ่มตัวอย่างในการวิจัยนี้เป็นไปอย่างถูกต้องและเหมาะสม จึงกล่าวได้ว่าดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศหญิง ตำแหน่ง DXS7130 เป็นตำแหน่งที่มี

ประสิทธิภาพในการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือดและพิสูจน์บุคคล เหมาะสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์

การนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจพิสูจน์จำเป็นต้องใช้สูตรในการคำนวณตามลักษณะความสัมพันธ์ของผู้ที่มาตรวจ เช่น ในกรณี พ่อกับลูกสาว และแม่กับลูกชาย ซึ่งในกรณีนี้เป็นลักษณะการถ่ายทอดโครโมโซมแบบ Single allele รวมถึงการตรวจพิสูจน์ในกรณีที่มีความซับซ้อน เช่น การหาความสัมพันธ์ระหว่างย่ากับหลานสาว และการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ระหว่างพี่น้องหญิงร่วมบิดา โดยที่บิดาไม่สามารถมาร่วมตรวจได้ ทั้ง 2 กรณี ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นการถ่ายทอดโครโมโซมแบบ Female sibling จากการตรวจพิสูจน์ในกรณีต่างๆ ที่ได้กล่าวมาทั้งหมดสามารถคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น (Likelihood Ratio (LR)) ดังตารางที่ 4 และ 5

ลักษณะความสัมพันธ์		สูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น
พ่อ-ลูกสาว	กรณีลูกสาวเป็น Heterozygosity	$1/2f_A$
	กรณีลูกสาวเป็น Homozygosity	$1/f_A$
แม่-ลูกชาย	กรณีแม่เป็น Heterozygosity	$1/2 f_A$
	กรณีแม่เป็น Homozygosity	$1/f_A$

ตาราง 4 แสดงสูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นในการตรวจความสัมพันธ์แบบ Single Allele

โดยที่ f_A คือ ค่าความถี่ของอัลลีลที่แสดงความสัมพันธ์กันระหว่างผู้มารับการตรวจ

ลักษณะความสัมพันธ์	ลักษณะของดีเอ็นเอที่ปรากฏ	สูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็น
แม่-ลูกสาว ย่า-หลานสาว พี่น้องหญิงร่วมบิดา	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Heterozygous โดยมีลักษณะ Phenotype ที่ต่างกัน	$1/4f_A$
	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Heterozygous โดยมีลักษณะ Phenotype ที่เหมือนกัน	$f_A + f_B / 4(f_A f_B)$
	คนทั้งคู่มีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Homozygous	$1/f_A$
	คนหนึ่งมีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้นเป็น Homozygous และอีกคนหนึ่งมีลักษณะดีเอ็นเอในตำแหน่งนั้น Heterozygous	$1/2f_A$

ตาราง 5 แสดงสูตรการคำนวณค่าสัดส่วนความน่าจะเป็นในการตรวจความสัมพันธ์แบบ Female Sibling

โดยที่ f_A และ f_B คือ ค่าความถี่ของอัลลีลที่แสดงความสัมพันธ์กันระหว่างผู้มารับการตรวจ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณห้องปฏิบัติการอณูพยาธิวิทยา ภาควิชาพยาธิ และห้องปฏิบัติการพันธุศาสตร์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ยืมใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. วิชัย บุญแสง, อัญชลี ทักนาขจร, ชัยณรงค์ วงศ์ธีรทรัพย์, นุสรา สิทธิติลภรณ์ และ สกล พันธุ์ยิ้ม. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ; 2541.
2. วิฑูรย์ ทะสุยะ, และธำนิษฐ์ ภูพัฒน์. SOP DNA Analysis for Forensic Medicine. เชียงใหม่: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2005.
3. Budowle B, Chakraborty R, Giusti AM, Eisenberg AJ, Allen RC. Analysis of the VNTR locus D1S80 by PCR followed by high-resolution PAGE. Am J Hum Genet48, (1991):137-144
4. มานัส แสงงาม. สถิติเบื้องต้น (INTRODUCTION TO STATISTICS). หน้า 263-267,376-380. เชียงราย : แผนกวิชาคณิตศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา วิทยาเขตเชียงราย, 2549.
5. Bhoopat T, Steger H.F. Frequency distribution of D1S80 alleles in the Northern Thai population analyzed by amplified fragment length polymorphism technique. Forensic Science International, 81 (1996): 149-155
6. ชูศรี วงศ์รัตนะ. เทคนิคการใช้สถิติเพื่อการวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 10. หน้า 194-215,358. นนทบุรี: บริษัท ไทเนรมิตกิจ อินเตอร์ โปรเกรสชิฟ, 2550.