

The Comparative Study Between DYS390 Locus on Y- Chromosome and Spermatozoa Detections from Vaginal Swabs of the Raped Victims.

การศึกษาเปรียบเทียบผลตรวจดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS390 กับ ผลการตรวจตัวอสุจิ จากน้ำซบช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา

Punnapa Yaweera[†], Tanin Bhoopat M.D.^{**}, Lertlakana Bhoopat M.D.^{***}

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

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

ปุ่นญา ยาวีระ[†], ธานินทร์ ภูพัฒน์ พ.บ.^{**} เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์ พ.บ.^{***}

†หลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, †† ภาควิชานิติเวชศาสตร์ และ

††† ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50002, ประเทศไทย.

Abstract

Objective: To compared the chance of detecting the evidence of sexual abuse between DYS390 locus on Y- chromosome and spermatozoa from vaginal swabs of the raped victims.

Materials and Methods: Y-STR locus DYS390 was selected for investigation of rape cases together with Oppitz staining of spermatozoa. Sixty acid phosphatase-positive vaginal swabs from the Department of Forensic Medicine, Chiang Mai University were collected and divided into two groups, positive and negative for sperm. The positive group was further divided into three subgroups depending on the amount of spermatozoa. Total DNA was extracted and PCR-amplified, then PCR product was analyzed for DYS390 on a 8.5% polyacrylamide gel sheet.

Results: The chance of positive semen detection was not statistically different either by analysis of locus DYS390 or Oppitz staining ($p=0.359$). In addition, the opportunity to detect locus DYS390 varied regarding the amount of sperms in each specimen.

Conclusions: The amplification of DYS390 locus might probably increase the weight of evidence in sexual abuse cases.

Key words: DYS390, Spermatozoa, Y- Chromosome, Vaginal swabs, Raped

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบโอกาสการตรวจพบหลักฐานการกระทำชำเรา ระหว่างการตรวจหาดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS390 กับ การตรวจหาตัวอสุจิจากน้ำซึบช่องคลอดของผู้เสียหาย

วัสดุและวิธีการศึกษา: ตรวจหา DYS390 บนโครโมโซมเพศชายเปรียบเทียบกับ การตรวจหาตัวอสุจิจากน้ำซึบช่องคลอดที่ตรวจพบเอนไซม์ acid phosphatase จำนวน 60 ตัวอย่าง จากการตรวจผู้ป่วยในภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิ และกลุ่มที่ไม่พบตัวอสุจิ และในกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิจะถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มย่อย ตามปริมาณของตัวอสุจิในตัวอย่าง จากนั้นสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีแบบไม่แยกชนิดเซลล์และเพิ่มปริมาณโดยวิธี PCR ก่อนนำไปแยกใน 8.5% acrylamide gels

ผลการศึกษา: พบว่าโอกาสของการตรวจพบตำแหน่ง DYS390 บนโครโมโซมเพศชาย ไม่แตกต่างจากผลของการหาตัวอสุจิที่ย้อมด้วยวิธี Oppitz ($p = 0.359$) แต่โอกาสที่จะตรวจพบ DYS390 จะแปรผันตามปริมาณของตัวอสุจิจากตัวอย่าง

สรุป: ตำแหน่ง DYS390 บนโครโมโซมเพศชาย อาจจะช่วยเพิ่มน้ำหนักของหลักฐานที่แสดงถึงการถูกกระทำชำเราเพิ่มมากขึ้นได้

คำสำคัญ: DYS390, ตัวอสุจิ, โครโมโซมเพศชาย, น้ำซึบช่องคลอด, การกระทำชำเรา

บทนำ

การกระทำชำเรา เป็นปัญหาสังคมที่สำคัญปัญหาหนึ่ง เนื่องจากผลกระทบที่ตามมาหลังจากที่ผู้รับเคราะห์ตกเป็นเหยื่อของคนร้าย เช่น กลายเป็นคนที่มีความรู้สึกอ่อนไหวมาก และอาจจะมีผลต่ออาการเครียดอย่างรุนแรงและควบคุมไม่ได้ (acute stress disorder) จนเป็นเหตุนำไปสู่การฆ่าตัวตาย¹ และในคดีที่ผู้เคราะห์หรือรายยังมีชีวิตอยู่ ก็อาจพบว่า ได้ตั้งครรภ์หรือติดโรคร้ายตามมาด้วย ดังนั้นการกระทำชำเรา จึงถือเป็นการทำลายทั้งชีวิตและจิตใจของผู้รับเคราะห์หรืออย่างไม่มีสิ่งใดจะทดแทนได้²

ดังนั้นหลายหน่วยงานจึงให้ความสนใจ โดยเฉพาะงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งสนใจเกี่ยวกับการหาพยานหลักฐาน เพื่อใช้ยืนยันการถูกกระทำชำเรา ที่ผ่านมากการตรวจหาตัวอสุจิ (spermatozoa) จากน้ำซึบช่องคลอดโดยตรง ถือเป็นวิธีที่น่าเชื่อถือมากที่สุด แต่ต้องอาศัยความชำนาญของผู้ตรวจ และปริมาณตัวอสุจิที่มากพอ จึงจะตรวจพบได้³ แต่ในปัจจุบันหลักฐานที่มีความน่าเชื่อถือ และถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลาย คือ หลักฐานทางด้าน DNA (Deoxyribonucleic acid) โดยเฉพาะ DNA ในช่วงของ short tandem repeats

(STR) หรือ microsatellite ซึ่งเป็นตำแหน่งที่มีลักษณะ DNA เป็นชุดเบสซ้ำๆกัน และจะไม่เหมือนกันในบุคคลสองคน ยกเว้นฝาแฝดไข่ใบเดียวกัน⁴

จากข้อมูลการค้นคว้า จึงได้นำความรู้ทาง DNA มาประยุกต์ใช้กับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อช่วยตรวจหาวัตถุพยานที่เกี่ยวข้องกับความผิดทางเพศ เช่น Betz และคณะ⁵ ใช้ลักษณะ DNA ที่จำเพาะต่อโครโมโซมเพศชาย ตรวจหา DNA ในน้ำซึบช่องคลอดของผู้เสียหายที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ ผลพบว่า สามารถตรวจเจอ DNA ที่ตรงกับข้อมูลทาง DNA ของผู้ต้องสงสัย ซึ่งต่อมาผู้ต้องสงสัยยอมรับสารภาพว่าเป็นผู้กระทำผิดจริง และจากการศึกษาของ Montoya และคณะ³ ซึ่งเปรียบเทียบผลตรวจ น้ำซึบช่องคลอดของผู้เสียหายในคดีกระทำชำเราของห้องปฏิบัติการ 2 แห่ง ผลพบว่า ในกลุ่มตัวอย่างที่ตรวจพบทั้ง acid phosphatase (AP), prostate-specific antigen (PSA หรือ p30) และตัวอสุจิ สามารถตรวจพบลักษณะของ Y-STRs ได้ทุกตัวอย่าง ส่วนในกลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ ก็ยังสามารถตรวจเจอลักษณะของ Y-STRs ได้เช่นกัน

ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อต้องการเปรียบเทียบโอกาสการตรวจพบหลักฐานการกระทำชำเรา ระหว่างการตรวจหาดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชาย กับ การตรวจหาตัวอสุจิจากน้ำซึบช่องคลอดของผู้เสียหาย ว่ามีโอกาสตรวจพบต่างกันหรือไม่

วัสดุและวิธีการศึกษา

ตัวอย่างน้ำซึบช่องคลอดของผู้เสียหายที่ถูกกระทำชำเรา ได้จากภาควิชานิติเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 60 ตัวอย่าง โดยแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่าง ซึ่งกลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจินั้น จะแบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อยตามปริมาณตัวอสุจิที่ตรวจพบในตัวอย่างน้ำซึบช่องคลอด คือ กลุ่มที่พบตัวอสุจิปริมาณ 1+, 2+ และ 3+ ตามลำดับ* โดยตัวอย่างทั้งหมดให้ผลตรวจเอนไซม์ acid phosphatase เป็นบวก

นำตัวอย่างทั้ง 60 ตัวอย่าง ไปสกัดดีเอ็นเอแบบไม่แยกชนิดเซลล์ (total extraction)⁶ จากนั้นผสมน้ำยา JumpStart (ประกอบด้วย 20 mM Tris-HCl, pH8, 100 mM KCl, 4 mM MgCl₂, 0.002% Gelatin, 0.4 mM each dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), inert dye, stabilizers, 0.06 unit/μl Taq DNA Polymerase, JumpStart Taq antibody.) 5.0 μl, DYS390 primer mix (5 μM each) 1.0 μl และน้ำสกัดดีเอ็นเอ (DNA template) 4.0 μl ในหลอด microcentrifuge tube แล้วนำเข้าเครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ (thermocycler) โดยตั้งอุณหภูมิในแต่ละรอบ ดังนี้ 94 °C 45 วินาที, 55 °C 30 วินาที และ 72 °C 30 วินาที เป็นจำนวน 40 รอบ

* การตรวจหาตัวอสุจิ ด้วยเทคนิคการย้อมสีแบบ Oppitz's test บนพื้นที่วงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร โดย 1+ คือ กลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิ 1-2 ตัว, 2+ คือ กลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิ 3-5 ตัว และ 3+ คือ กลุ่มที่ตรวจพบตัวอสุจิ 6-8 ตัว

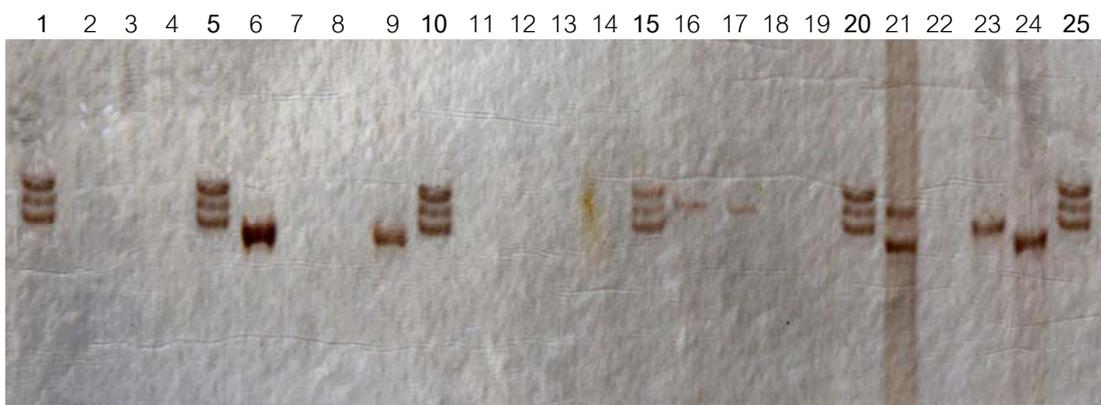
แล้วพักทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 72°C 7 นาที นำ PCR product ที่ได้ไปแยกเส้นดีเอ็นเอด้วย 8.5% acrylamide gel electrophoresis โดยใช้กระแสไฟฟ้า 90 volt วิ่งผ่าน running buffer นาน 16.5 ชั่วโมง จากนั้นย้อมเจลด้วยวิธี silver staining เพื่อให้เห็นแถบดีเอ็นเอ

สำหรับ primer ที่ใช้ในการศึกษา คือ F: 5'-TATATTTTACACATTTTTGGGCC-3' และ

R: 5'-TGACAGTAAAATGAACACATTGC-3'

การแปลผลการทดลอง โดยเปรียบเทียบแถบ DNA ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำขับช่องคลอดของผู้เสียหายทั้งหมด กับอัลลีลมาตรฐาน เพื่อดูตำแหน่งและขนาดของแถบ DNA ที่ตรวจพบ ว่าอยู่ช่วงขนาดที่คาดไว้หรือไม่ ถ้าใช่แสดงว่าให้ผลบวก (positive test) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณค่าทางสถิติ ด้วย McNemar Chi-square test⁷ เพื่อเปรียบเทียบโอกาสการตรวจพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลต์ตำแหน่ง DYS390 กับโอกาสการตรวจพบตัวอสุจิ จากน้ำขับช่องคลอดของผู้เสียหาย

ผลการศึกษา



รูปที่ 1 แสดงการแยกแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างน้ำขับช่องคลอดของผู้เสียหาย เปรียบเทียบกับ

อัลลีลมาตรฐาน Negative control และ Positive control

ช่องที่ 1, 5, 10, 15, 20 และ 25 เป็นอัลลีลมาตรฐานที่แสดงถึงอัลลีล 24, 25 และ 26 (เรียงจากล่างขึ้นบน)

ช่องที่ 2, 3 และ 4 เป็น Negative control โดยใช้ น้ำกลั่น

(ช่อง 2), น้ำสกัดดีเอ็นเอจากเลือดของผู้หญิง

(ช่อง 3), และน้ำขับช่องคลอดของผู้หญิง (ช่อง 4) เป็นตัวอย่างอ้างอิง ตามลำดับ

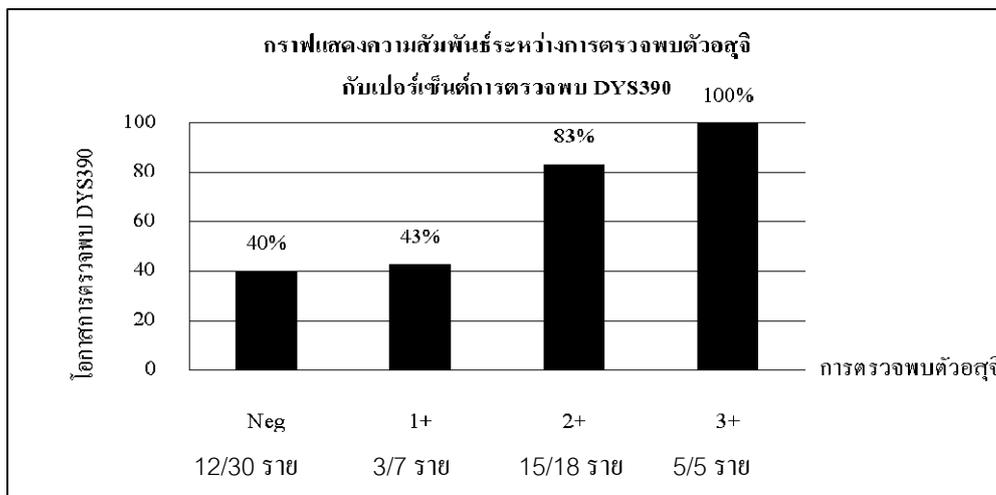
ช่องที่ 6-9, 11-14, 16-19 และ 21-23 เป็นตัวอย่างน้ำขับช่องคลอดของผู้เสียหาย

ช่องที่ 24 เป็น Positive control ที่ได้จากตัวอย่างน้ำขับช่องคลอดของผู้เสียหายที่มาจาก

ภาควิชานิติเวชศาสตร์ และตรวจพบเซลล์อสุจิจำนวนมาก (ปริมาณ 4+)

อสุจิ DYS390	ผลลบ	ผลบวก	รวม
ผลลบ	18	12	30
ผลบวก	7	23	30
รวม	25	35	60

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจเปรียบเทียบระหว่างการตรวจหาตัวอสุจิ (Sperm) กับดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390



รูปที่ 2 แสดงโอกาสการตรวจพบลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์บนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่ง DYS390 เทียบกับตัวอสุจิในแต่ละกลุ่มที่แบ่งตามปริมาณอสุจิที่พบ

อภิปรายผลการศึกษา

ผลการตรวจลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 จากน้ำซบช่องคลอดของผู้เสียหาย เทียบกับอัลลีลมาตรฐาน พบแถบดีเอ็นเอในบางตัวอย่างและเมื่อประเมินชนิดของอัลลีล พบว่ามีค่าความถี่ใกล้เคียงกับที่พบในกลุ่มประชากรแถบเอเชีย^{8, 9} จึงน่าจะเชื่อได้ว่าแถบดีเอ็นเอดังกล่าวเป็นอัลลีลของผู้ชายที่ปนเปื้อนมาจริง แต่เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจพบตัวอสุจิกับดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 จากน้ำซบช่องคลอดของผู้เสียหายทั้ง 60 ตัวอย่าง พบว่า โอกาสของการตรวจพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 ไม่มีความแตกต่างจากโอกาสการตรวจพบตัวอสุจิ จากน้ำซบช่องคลอดของผู้เสียหายอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.359$)

แต่เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์แยกเป็นกลุ่มย่อยตามปริมาณของตัวอสุจิที่ตรวจพบ จะพบว่า ในตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิ 30 ตัวอย่าง สามารถตรวจพบลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 ได้ถึง 12 ตัวอย่าง (40%) สาเหตุอาจเป็นเพราะ ข้อบกพร่องของการตรวจหาตัวอสุจิแบบ Oppitz's test เพราะ

เป็นการตรวจที่ใช้ปริมาณตัวอย่างจากน้ำซบของคลอดเพียงเล็กน้อย (ประมาณ 3 ไมโครลิตร) หยดบนแผ่น สไลด์ ก่อนนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งในตัวอย่างที่นำมาตรวจอาจไม่มีตัวอสุจิติดมาด้วย จึงทำให้ ตรวจไม่พบ หรืออีกกรณีหนึ่ง อาจเกิดจากความผิดพลาดของผู้ตรวจ เนื่องจากความเพี้ยนของสายตาที่ต้องใช้ กล้องเป็นเวลานานๆ ทำให้ตรวจไม่พบตัวอสุจิได้เช่นกัน แต่ความจริงแล้วในตัวอย่างน้ำซบของคลอดของ ผู้เสียหายอาจจะมีตัวอสุจิปนอยู่ เมื่อนำมาตรวจหาลักษณะดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชายจึงสามารถตรวจพบ ได้ เพราะการสกัดดีเอ็นเอที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีสกัดแบบไม่แยกชนิดเซลล์จากน้ำซบของคลอดทั้งหมดที่ สกัดจากไม่ปนสำลี และการสกัดด้วยวิธีนี้อาจได้ดีเอ็นเอจากเซลล์อื่นของผู้ชายที่ไม่ใช่ตัวอสุจิปนมาด้วย เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว ที่พบได้มากในชายที่มีการอักเสบของระบบสืบพันธุ์และทางเดินปัสสาวะ ซึ่งเซลล์เม็ดเลือด ขาวอาจปนมากับการหลังอสุจิขณะที่มีเพศสัมพันธ์ หรืออาจพบเซลล์เยื่อบุผิว (epithelial cells) ซึ่งเกิดจากการ เสียดสีของอวัยวะเพศขณะกระทำชำเรา ทำให้เซลล์เยื่อบุผิวหลุดลอกปนอยู่กับเซลล์เยื่อบุช่องคลอดของ ผู้เสียหาย ซึ่งในกรณีเช่นนี้ จะเป็นประโยชน์มากต่อคดีที่มีผู้ต้องสงสัยเป็นหมันหรือเป็นคนที่มตัวอสุจิน้อย (azoospermic semen) เพราะโอกาสในการตรวจพบตัวอสุจียากมาก หรืออาจตรวจไม่พบเลย และในบางราย ที่ผู้กระทำชำเราใช้ส่วนอื่นของร่างกาย เช่น นิ้วมือ กระทำต่ออวัยวะเพศของผู้เสียหาย วิธีการตรวจหาลักษณะ ดีเอ็นเอที่จำเพาะกับเพศชายอาจเป็นวิธีที่ช่วยให้พบหลักฐานการกระทำชำเราได้เช่นกัน เพราะโอกาสที่เซลล์ ฝิวหนึ่งจากนิ้วมืออาจหลุดติดมากับผู้เสียหายได้ ดังนั้นประโยชน์ของการตรวจหาลักษณะดีเอ็นเออาจช่วยเพิ่ม โอกาสในการตรวจพบหลักฐานการกระทำชำเราได้มากกว่าการตรวจหาตัวอสุจิเพียงอย่างเดียว และ นอกจากนี้ยังพบว่า โอกาสในการตรวจพบลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 จะแปรตาม ปริมาณของอสุจิในตัวอย่าง คือ ในตัวอย่างที่พบตัวอสุจิปริมาณ 1+ สามารถตรวจพบ DYS390 ได้ 43% ตัวอย่างที่พบตัวอสุจิปริมาณ 2+ สามารถตรวจพบ DYS390 ได้ 83% และตัวอย่างที่พบตัวอสุจิปริมาณ 3+ สามารถตรวจพบ DYS390 ได้ทั้งหมด (100%) ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Kondo และคณะ¹⁰ ที่พบว่าใน คราบตัวอย่างส่งตรวจที่มีจำนวนตัวอสุจิน้อยๆ ไม่สามารถตรวจพบลักษณะหรือรูปแบบ DNA ของผู้ต้องสงสัย ได้เลย ส่วนคราบตัวอย่างส่งตรวจที่พบตัวอสุจิจำนวนมากๆ สามารถตรวจพบรูปแบบของ DNA ได้ทั้งหมด

จากการศึกษาในครั้งนี้ ยังสังเกตพบว่า นอกจากตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวอสุจิแล้ว ยังมีตัวอย่างที่ตรวจ พบตัวอสุจิปริมาณ 1+ และ 2+ บางส่วนที่ตรวจไม่พบลักษณะดีเอ็นเอ ไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 สาเหตุอาจเป็นเพราะ ความผิดพลาดในบางขั้นตอนของวิธีการสกัดดีเอ็นเอ เช่น ในขั้นตอนการล้างตะกอนด้วย น้ำกลั่น อาจมีตะกอนบางส่วนหลุดติดไปกับน้ำที่ดูดทิ้ง ซึ่งตะกอนส่วนนั้นอาจมีตัวอสุจิติดไปด้วยจึงทำให้ใน น้ำสกัดมีปริมาณดีเอ็นเอจากตัวอสุจิน้อย หรืออาจเกิดจากขั้นตอนการใช้สารละลาย Proteinase K เพื่อ ทำลายโปรตีนบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ โดยสารละลาย Proteinase K ที่ใช้อาจมีความเข้มข้นน้อยเกินไปจึงทำให้ไม่

สามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ได้อย่างสมบูรณ์ ดีเอ็นเอจึงไม่สามารถหลุดออกจากเซลล์ได้ทั้งหมด ทำให้ไม่มี DNA template สำหรับใช้เป็นแม่แบบในการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ หรือในขั้นตอนการต้มน้ำสกัดดีเอ็นเอ ในน้ำเดือด เพื่อเป็นการทำลาย Proteinase K แต่อาจทำลายได้ไม่สมบูรณ์ เมื่อนำตัวอย่างน้ำสกัดดีเอ็นเอไปใช้ในกระบวนการ PCR สารละลาย Proteinase K ที่เหลือจึงไปทำลาย DNA polymerase ซึ่งเป็นเอ็นไซม์ สำคัญในการช่วยสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ เมื่อเอ็นไซม์ตัวนี้มีปริมาณลดลงการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ก็จะลดลงตามไปด้วย จึงเป็นเหตุให้ตรวจไม่พบลักษณะดีเอ็นเอในตัวอย่างที่ตรวจพบตัวสุจิได้ เช่นกัน หรือสาเหตุอาจเกิดจากวิธีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอแบบไม่แยกชนิดเซลล์ ทำให้ในน้ำสกัดดีเอ็นเอมีปริมาณดีเอ็นเอของผู้เสียหาย (หรือเพศหญิง) ปนอยู่มาก จนกลายเป็นตัวกีดขวางการจับกันระหว่าง primer กับ ดีเอ็นเอ เป้าหมาย (target DNA) ถ้าเป็นปัญหานี้ อาจแก้ไขโดยเปลี่ยนไปใช้วิธีสกัดแบบการย่อยสลายแยกส่วน (differential extraction) แทน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Dekairelle¹¹ และ Nascimento¹² ที่แนะนำให้ใช้วิธีนี้ ร่วมกับการตรวจหา STRs เพราะวิธีนี้จะมีขั้นตอนการย่อยสลายแยกส่วนเอาเซลล์เยื่อบุช่องคลอดออกไปก่อน ให้เหลือไว้แต่เฉพาะเซลล์สุจิแล้วทำการย่อยตัวสุจิอีกครั้งหนึ่ง แต่ก็มีข้อควรระวัง คือ ในขณะที่ย่อยเซลล์เยื่อ บุช่องคลอดด้วย Proteinase K ไม่ควรใช้เวลานานเกิน 2 ชั่วโมง เพราะเซลล์สุจิอาจถูกย่อยสลายไปด้วย

อีกสาเหตุหนึ่งที่อาจเป็นปัจจัยทำให้การตรวจพบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 ได้น้อย คือ ขนาดของ PCR product มีขนาดใหญ่ ทำให้ยากต่อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ในขบวนการเพิ่ม ปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ซึ่งแนวทางแก้ไขปัญหาคือ การออกแบบ primer คู่ใหม่ ที่ทำให้ขนาดของ PCR product สั้นลง แต่ปัญหาของดีเอ็นเอในตำแหน่ง DYS390 คือ มีชุดเบสซ้ำจำนวนมาก ตั้งแต่ 21-27 ซ้ำ ซึ่งยากต่อการทำให้ PCR product สั้นลงได้ เพราะถึงแม้จะออกแบบ primer ให้ชิดกับ tandem แต่ขนาดของ PCR product ที่ได้ยังคงสูงกว่า 100 bp ดังนั้น อาจต้องใช้ดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ บนโครโมโซมเพศชาย ตำแหน่งอื่นที่มีขนาดของ PCR product สั้นกว่าตำแหน่ง DYS390 เพราะเชื่อว่าน่าจะมีความไวต่อการ ตรวจหาลักษณะดีเอ็นเอได้มากกว่า

สรุป

ได้เปรียบเทียบโอกาสการตรวจพบหลักฐานการถูกระทำชำเรา ระหว่างการตรวจหาดีเอ็นเอไมโคร แซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 กับ การตรวจหาตัวสุจิ จากน้ำซับช่องคลอดของผู้เสียหายจำนวน 60 ราย พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.359$) แต่เมื่อศึกษาในกลุ่มย่อยของตัวอย่างน้ำ ซับช่องคลอดตามปริมาณที่ตรวจพบตัวสุจิ พบว่าในตัวอย่างที่ตรวจไม่พบตัวสุจิ 30 ตัวอย่าง สามารถตรวจ เจอลักษณะดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ ตำแหน่ง DYS390 ได้ถึง 40% และในตัวอย่างที่ตรวจพบตัวสุจิ

ปริมาณ 1+, 2+ และ 3+ สามารถตรวจเจอลักษณะดีเอ็นเอ ตำแหน่ง DYS390 ได้ 43%, 83% และ 100% ตามลำดับ ซึ่งโอกาสของการตรวจพบลักษณะดีเอ็นเอ จะแปรผันตามปริมาณตัวอสุจิที่พบ ดังนั้นจากผล การศึกษาจึงแสดงให้เห็นว่าการใช้วิธีตรวจหาดีเอ็นเอบนโครโมโซมเพศชายร่วมกับการตรวจหาตัวอสุจิ อาจจะ ช่วยเพิ่มโอกาสการตรวจพบวัตถุพยานในการกระทำชำเราได้มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ และสวนดอกกัญพันธุ์ศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับทำการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. ส่วนส่งเสริมการศึกษา สำนักพัฒนาพฤตินิสัย กรมราชทัณฑ์. “ การข่มขืน : เรื่องราวบางมุมที่คุณไม่เคยคาดคิด.” [ระบบออนไลน์]. 2552. (1 ตุลาคม 2553) แหล่งข้อมูล.<http://br.correct.go.th/eduweb/index.php/eduessay/35-eduprisoner/124-2010-08-06-16-3310.html>.
2. ไทพีศรีนวิติ ภักดีกุล. การตรวจหาพยานหลักฐานจากที่เกิดเหตุ. พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่: คณะ
3. สังคมศาสตร์; 2547.
4. Montoya LR, Rodriguez H, Perez MA, Garcia RA. Relationship of spermatoscopy, prostatic-acid phosphatase activity and prostate-specific antigen (p30) assays with further DNA typing in forensic samples from rape cases. *Forensic Sci Int.* 2010 : 206(1-3);111-8.
5. อรรถพล แซ่มสูววรรณวงศ์. นิติวิทยาศาสตร์ เพื่อการสืบสวนสอบสวน 3. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: 2544.
6. Betz A, BaBler G, Dietl G, Steil X, Weyermann G, Pflug W. DYS STR analysis with epithelial cells in a rape case. *Forensic Sci Int.* 2001: 118; 126-30.
7. วิฑูรย์ ทะสุยะ และ ธานินทร์ ภูพัฒน์. SOP DNA Analysis for Forensic Medicine. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2005.
8. อารยา จาติเสถียร. ชีวสถิติ (BIOSTATISTIC). พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ; 2550.
9. Hara M, Kido A, Takada A, Adachi N, Saito K. Genetic data for 16 Y-chromosomal STR loci in Japanese. *Legal Med.* 2007: 9;161–70.
10. Chun BW, Shin SC, Kim YJ, Kyung-Sook Kim KS, Dong-Ho Choi DH, Kim KH, et al. Allele frequencies and haplotypes of the STR loci of the PowerPlex Y-system in southern populations from Korea. *Forensic Sci Int.* 2005: 148;225–31.
11. Kondo T, KeiF W, Weichhold E, Bayer B. DNA typing from stained sperm-positive vaginal smears: four rape cases. *J Clin Forensic Med.* 1997: 4; 81- 4.
12. Dekairelle AF, Hoste B. Application of a Y-STR-pentaplex PCR (DYS19, DYS389I and II, DYS390 and DYS393) to sexual assault cases. *Forensic Sci Int.* 2001: 118;122-5.
13. Nascimento E, Oliveira E, Gesteira T, Machado L, Shibasaki W, Oliveira J, et al. Grading a rape case followed by death from the study of autosomal STRs and STRs of the Y-chromosome-Case study. *Forensic Sci Int Genet (Suppl).* 2009: 2(1) ;198–9.