

บทที่ 1

บทนำ

พยานหลักฐานที่สำคัญในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์อย่างหนึ่ง คือ พยานหลักฐานทางชีวภาพ เช่น เลือด เส้นผม เส้นขน เนื้อเยื่อ น้ำลาย กระดูก คราบอสุจิ เนื่องจากสามารถช่วยให้พิสูจน์ทราบถึงสาเหตุ พฤติการณ์ และบุคคลหรือสิ่งมีชีวิตอื่น ที่มีความเกี่ยวข้องกับเหตุการณ์หรือคดีที่เกิดขึ้น บ่อยครั้งด้วยขอบเขตของวิธีการทางกายภาพ กายวิภาค และทางชีวเคมี อาจทำให้ไม่สามารถตรวจพิสูจน์ทราบถึงชนิดของตัวอย่างพยานหลักฐานนั้นๆ แต่ด้วยวิทยาการทางวิทยาศาสตร์ในปัจจุบันจึงมีการคิดค้นวิธีการที่มีความจำเพาะ สะดวกและรวดเร็ว เข้ามาประยุกต์ใช้เพื่อช่วยในการตรวจพิสูจน์ และทำให้พยานหลักฐานชิ้นนั้นมีประโยชน์ต่อรูปคดีให้มากที่สุด

ปัจจุบัน การตรวจดีเอ็นเอเป็นวิธีการในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ ซึ่งถือได้ว่าเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ เป็นที่ยอมรับและมีความเชื่อมั่นในความถูกต้องแม่นยำของเทคนิคสูง การตรวจดีเอ็นเอมีวัตถุประสงค์หลายอย่าง เช่น การตรวจเพื่อพิสูจน์บุคคล การตรวจสอบเพื่อทราบชนิดของสัตว์ที่เป็นเจ้าของตัวอย่างดีเอ็นเอ โดยในกรณีนี้นิยมตรวจจากยีนไซโตโครม บี (Cytochrome b gene) ซึ่งเป็นยีนที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย ด้วยคุณสมบัติที่ค่อนข้างอนุรักษ์ กล่าวคือ จะคงลักษณะรูปร่าง และคุณสมบัติต่างๆ ไว้เหมือนเดิม ถึงแม้มีปริมาณตัวอย่างที่น้อยหรือถูกเก็บไว้เป็นระยะเวลานาน อีกทั้งมีลำดับเบสแตกต่างกันไป ทำให้มีการสร้างโปรตีนที่มีความจำเพาะและมีความหลากหลายสูง ทำให้สามารถแยกมนุษย์และสัตว์แต่ละชนิดออกจากกันได้ และด้วยคุณสมบัติของไซโตโครม บี ดังกล่าว จึงสามารถออกแบบไพรเมอร์(Primers) ที่มีความจำเพาะกับตัวอย่างและนำเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์สหรือพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction; PCR) มาช่วยในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอให้มีปริมาณเพียงพอในการตรวจอีกด้วย

ด้วยเหตุนี้ เพื่อให้ทราบว่าหลักฐานทางชีวภาพที่ส่งสัยนั้นคืออะไร เช่น เป็นเลือดหรือเส้นขนหรือสิ่งอื่นใด และพยานหลักฐานนั้นเป็นของมนุษย์หรือสัตว์ โดยกรณีที่เป็นของมนุษย์จึงทำการตรวจพิสูจน์เพื่อยืนยันเอกลักษณ์บุคคลว่าเป็นของผู้ใดต่อไป ส่วนในกรณีที่เป็นการตรวจพิสูจน์สัตว์ บ่อยครั้งอาจถูกลดความสำคัญของวัตถุพยานชิ้นนั้นลงหรืออาจตัดความสำคัญของวัตถุพยานนั้นออกไปเลยก็เป็นได้ อย่างไรก็ตามในบางคดีที่มีสัตว์เข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น กรณีถูกสัตว์ทำร้าย หรือ

ผู้ต้องสงสัยกล่าวอ้างว่าเลือดที่ติดตามเสื้อผ้าหรือสิ่งอื่นใดนั้นเป็นเลือดของสัตว์ เป็นต้น
 ดังนี้ การตรวจเพื่อระบุชนิดของสัตว์จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในกระบวนการสืบสวนสอบสวนเพื่อ
 แสวงหาข้อเท็จจริง

ดังนั้น จากปัญหาและความรู้ดังกล่าว จึงเล็งเห็นความสำคัญของวิธีการตรวจพิสูจน์ด้าน
 ดีเอ็นเอโดยการใช้ยีนไซโตโครม บี ในการระบุชนิดของสัตว์ ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ
 การระบุดีเอ็นเอของมนุษย์และไก่ โดยใช้ไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อยีนไซโตโครม บี ที่อยู่ใน
 ไมโทคอนเดรีย โดยอาศัยเทคนิคพีซีอาร์ ซึ่งอาจเป็นประโยชน์และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงาน
 ทางนิติวิทยาศาสตร์ได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อค้นหาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของการตรวจยืนยันเพื่อการระบุ
 ดีเอ็นเอของมนุษย์และไก่ในคราวเดียวกันด้วยการวิเคราะห์จากยีนไซโตโครม บี ในไมโทคอนเดรีย

สมมติฐานของการศึกษา

หลังจากทำการศึกษา จะทราบลำดับดีเอ็นเอของไพรเมอร์และสภาวะที่เหมาะสม ที่มี
 ความจำเพาะเจาะจงและมีประสิทธิภาพสำหรับการระบุดีเอ็นเอของมนุษย์และไก่ในคราวเดียวกัน
 ได้ ด้วยการวิเคราะห์จากยีนไซโตโครม บี ในไมโทคอนเดรีย

ขอบเขตการศึกษา

ขอบเขตประชากร

- ตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์และตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่ จำนวนอย่างละ 45 ตัวอย่าง
- ตัวอย่างดีเอ็นเอของ หมู วัว ปลาและสุนัข จำนวนชนิดละ 12 ตัว

ขอบเขตการทดลอง

นำตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์จับคู่กับตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่ จำนวนอย่างละ 45 คู่ แล้ว
 เอมาสสมกัน เป็นตัวอย่างดีเอ็นเอผสม 45 ตัวอย่าง จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดย
 เทคนิคพีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการระบุดีเอ็นเอของมนุษย์
 และไก่ และทำการตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วย Agarose gel electrophoresis
 ซึ่งดำเนินการซ้ำจำนวน 2 ครั้ง ก่อนทำการตรวจสอบความจำเพาะของวิธีการที่ใช้ตรวจ

โดยนำไปทดสอบกับตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ชนิดอื่น ได้แก่ หมู วัว ปลาและสุนัข จำนวนชนิดละ 12 ตัว

นิยามศัพท์เฉพาะ

Agarose gel electrophoresis หมายถึง เทคนิคที่ใช้แยกสาร วิเคราะห์ และเตรียมสารที่มีประจุไฟฟ้า เช่น กรดอะมิโน โปรตีน และ กรดนิวคลีอิกให้บริสุทธิ์บนวุ้นอะกาโรส โดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่อให้สนามไฟฟ้า สารที่มีประจุไฟฟ้าจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วที่ตรงข้ามกันด้วย อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ ซึ่งขึ้นกับปริมาณประจุสุทธิบนโมเลกุลของสาร รูปร่างและขนาดของโมเลกุลของสารนั้น

Cytochrome b gene หมายถึง ยีนที่อยู่ในออร์แกเนลล์ที่เรียกว่า ไมโทคอนเดรีย เป็นดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็ก ทำหน้าที่เกี่ยวกับห่วงโซ่การหายใจภายในเซลล์

Polymerase chain reaction (PCR) หมายถึง เทคนิคที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัยหลักการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสายใหม่ (DNA replication) จากดีเอ็นเอต้นแบบในหลอดทดลองภายในระยะเวลาอันสั้นและได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านเท่า

Primer หมายถึง ดีเอ็นเอเริ่มต้นสายสั้นๆ ที่เป็นเส้นเดี่ยว มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบของการสังเคราะห์ซึ่งจะถูกออกแบบไว้สำหรับใช้จับกับดีเอ็นเอแม่แบบในตำแหน่งที่ต้องการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

ประโยชน์ที่จะได้รับจากค้นคว้า

1. ได้ทราบถึงเทคนิควิธีการหาไพรเมอร์และสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในกระบวนการพีซีอาร์ สำหรับการตรวจพิสูจน์เพื่อระบุสารพันธุกรรมของมนุษย์และไก่ออกจากสัตว์อื่นๆ ด้วยการทดสอบเพียงการทดสอบเดียว ซึ่งแต่เดิมจะเป็นเทคนิควิธีการที่ต้องทำการทดสอบเพื่อระบุสารพันธุกรรมทีละชนิดซึ่งอาจมีข้อยุ่งยาก สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและเวลา
2. เพื่อเป็นงานวิจัยขั้นต้นสำหรับการต่อยอดของการตรวจยืนยันลักษณะสารพันธุกรรมในไซโตโครม บี ของสัตว์หลายชนิดด้วยการตรวจเพียงครั้งเดียว
3. นำไปประยุกต์ใช้ในการสืบสวนสอบสวนในทางคดี เช่น การพิสูจน์วัตถุพยานในกรณีที่มีชีววัตถุเปื้อนหรือติดมากับวัตถุพยานใดๆ แล้วต้องการทราบว่าเป็นชีววัตถุของมนุษย์หรือชีววัตถุของไก่หรือไม่ เพื่อมัดตัวผู้ต้องสงสัยหรือเพื่อประโยชน์ในการสืบสวนสอบสวนหากมีการกล่าวอ้างของผู้ต้องสงสัย ทั้งยังเป็นประโยชน์ในการเชื่อมโยงรูปคดีเพื่อช่วยในการคลี่คลายคดีให้ง่ายขึ้นอีกด้วย