

ชื่อเรื่องการค้นคว้าแบบอิสระ

การระบุสารพันธุกรรมของมนุษย์และสุกรที่ยีน
ไซโตโครมบี ด้วยวิธีมัลติเพล็กซ์ พีซีอาร์

ผู้เขียน

นายภาณุวัฒน์ อ่อนอินทร์

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (นิติวิทยาศาสตร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาการค้นคว้าแบบอิสระ

ศาสตราจารย์แพทย์หญิง เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์

บทคัดย่อ

การตรวจพิสูจน์หลักฐานทางชีวภาพด้วยการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อระบุว่าเป็นสัตว์ชนิดใดนั้นมีบทบาทสำคัญไม่น้อยในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ สำหรับงานประจำของการตรวจทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับสารพันธุกรรม มักจะนิยมตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอในนิวเคลียส อย่างไรก็ตามเราพบว่าดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียโดยเฉพาะอย่างยิ่งลำดับดีเอ็นเอบนยีนไซโตโครมบี จะมีความจำเพาะสำหรับสัตว์ในแต่ละชนิด จึงสามารถใช้เป็นเป้าหมายในการตรวจพิสูจน์สปีชีส์ของสัตว์ได้ และเนื่องจากมันอยู่บนจีโนมของไมโทคอนเดรีย เราจึงสามารถใช้ตรวจได้กับตัวอย่างที่มีอายุยาวนานหรือเสื่อมสภาพ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีตรวจระบุดีเอ็นเอของมนุษย์และ/หรือสุกรในตัวอย่างส่งตรวจพร้อมๆกันในครั้งเดียว โดยนำเอาตัวอย่างดีเอ็นเอผสมที่สกัดจากเลือดมนุษย์และสุกรจำนวน 45 ตัวอย่าง มาทดสอบเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้ Primer 2 ชุดที่มีความจำเพาะสำหรับมนุษย์และสุกร ปรับให้ได้สภาวะที่เหมาะสม แล้ววิเคราะห์ผลการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วย Agarose gel electrophoresis ผลการศึกษาพบว่าเมื่อใช้ตรวจกับตัวอย่างดีเอ็นเอผสมระหว่างมนุษย์กับสุกร 45 ตัวอย่าง สามารถระบุได้ถูกต้องทั้งหมดว่ามีดีเอ็นเอของมนุษย์และสุกรอยู่ โดยผลที่ได้จะปรากฏแถบดีเอ็นเอ 2 แถบ (ที่ 157 และ 135 bp สำหรับมนุษย์และสุกรตามลำดับ) ในวุ้นอคาโรส และจะปรากฏเพียงแถบเดียวตามชนิดของสัตว์ เมื่อทดสอบกับตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์หรือสุกรอย่างหนึ่งอย่างใด แต่เมื่อทดสอบกับตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์อื่น ได้แก่ วัว ไก่ ปลา และสุนัข จะไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอให้เห็นเลย ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าไพรเมอร์และวิธีการที่ใช้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการระบุสารพันธุกรรมของมนุษย์และ/หรือสุกรในการตรวจครั้งเดียวอย่างมีประสิทธิภาพ

Independent Study Title	Identification of Human and Pig DNA at Cytochrome <i>b</i> Gene by Multiplex PCR Assay
Author	Mr. Parnuwat Onn-in
Degree (ence)	Master of Science (Forensic Sci
Independent Study Advisor	Prof. Lertlakana Bhoopat, M.D.

Abstract

The identification of biological evidences using DNA analysis to determine of animal species has become an important role in forensic science. For the routine work, most of forensic DNA analysis was emphasized on nuclear DNA. However, mitochondrial DNA can also be another source for species identification especially cytochrome b gene of which the DNA sequence shows a specific order for animal species. Since the target DNA sequence is on mitochondrial genome, the analysis can be done on the old aged or degraded samples. The objective of this study is to specify simultaneously of human and/or pig DNA in the questioned sample. DNA samples from 45 pairs of human and swine blood were tested to set the optimal conditions for DNA amplification using 2 pairs of Primers which were specific to human and pig DNA. The PCR products were analyzed by agarose gel electrophoresis. The results showed that all 45 mixed DNA samples gave two DNA amplicons sizing 157 and 135 bp for human and pig respectively. When using DNA extract from single animal as a template it would give only a DNA band specific to that species. When the test was performed on DNA samples from other animals such as cow, chicken, fish, and dog, there was no PCR product discerned. It can be concluded that the primers and methods can be used to simultaneously identify human and/or pig DNA effectively.