

52312310 : สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

คำสำคัญ : การสกัดสารพันธุกรรม/โครมโซ่/การพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลสูญหาย

คุณพล สุริยรัตน์ : การเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารพันธุกรรมจากซากโครมโซ่
ศพนิรนาม. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.ธงชัย เตโชวิศาล. 71 หน้า.

ปัญหาเกี่ยวกับศพไร้ญาติหรือศพนิรนามมีมากมายทั่วประเทศ ซึ่งปัจจุบันสถาบันนิติวิทยาศาสตร์มีศพนิรนามประมาณ 400 ศพ ที่ได้ขอสงวนการฌาปนกิจไว้ และดำเนินการเก็บข้อมูลเบื้องต้น จากนั้นจะเก็บรักษาศพเหล่านี้เป็นระบบ ตามมาตรฐานสากล ซึ่งนับเป็นครั้งแรกในประเทศไทยที่มีการวางระบบการเก็บรักษาศพนิรนามและจัดทำฐานข้อมูลสารพันธุกรรมศพนิรนาม เพื่อการติดตามบุคคลสูญหายต่อไปในอนาคต แต่ศพนิรนามเหล่านี้ มักถูกทำลายทางกายภาพและชีวภาพภายใต้สภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมเป็นเวลานาน เช่น สภาวะของดิน ความชื้น ความร้อน จุลชีพ ซึ่งส่งผลกระทบต่อปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอ

การศึกษานี้ได้เปรียบเทียบวิธีการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Phenol-Chloroform และ DNA IQ™ System โดยเปรียบเทียบ 3 ด้านด้วยกันคือ ปริมาณสารพันธุกรรมที่สกัดได้ ปริมาณสารยับยั้งที่ได้ หลังจากการสกัดทั้ง 2 วิธี และ เปรียบเทียบคุณภาพของรูปแบบสารพันธุกรรมที่ได้ โดยทำการเพิ่มปริมาณแบบมัลติเพล็กซ์จากไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 16 ตำแหน่ง ในตำแหน่ง (Loci): D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, Penta E, TH01, TPOX, CSF1PO, D16S539, Penta D และ Amelogenin ซึ่งเป็นตำแหน่งที่ใช้ระบุเพศ

ผลที่ได้คือ ด้านปริมาณนั้น ปริมาณดีเอ็นเอเฉลี่ยจากการ สกัดด้วยวิธี DNA IQ™ System เท่ากับ 0.02245 ng/μl และ การสกัดด้วยวิธี Phenol-Chloroform เท่ากับ 0.0406 ng/μl ส่วนปริมาณสารยับยั้งพบว่ามีระดับค่าสารยับยั้งเพียงเล็กน้อยจากตัว อย่างที่สกัดด้วยวิธี DNA IQ™ System และคุณภาพของรูปแบบสารพันธุกรรมที่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยพีซีอาร์มัลติเพล็กซ์จำนวน 16 ตำแหน่ง พบว่าการสกัดด้วยวิธี DNA IQ™ System ไม่ได้แสดงผลที่ดีกว่า วิธี Phenol-Chloroform แต่มีข้อดีคือใช้เวลา แรงงานและขั้นตอนการสกัดที่ ซับซ้อนน้อยกว่า รวมถึงการไม่ใช้สารที่เป็นอันตรายอย่างฟีนอล

สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2554

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

52312310 : MAJOR : FORENSIC SCIENCE

KEY WORD : DNA EXTRACTION/ SKELETON/ MISSING PERSONS'S IDENTIFICATION

DANUPHOL SURIYANRATTAKORN : COMPARISON OF DNA EXTRACTION METHODS FROM UNIDENTIFIED HUMAN SKELETAL REMAINS. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. THONGCHAI TAECHOWISAN, Ph.D. 71 pp.

There has been a problem of unidentified human remains which are abundant throughout the country. Currently, about 400 unidentified human remains were reserved by Central Institute of Forensic Science from their funeral processions. The institute has collected their personal data and skeletons were stored systematically based on international standard system. This was the first time in Thailand to set up a system to keep remain bodies and did not allow them to be cremated until enabling to track the relations based on the personal identification prove. This will keep the samples for DNA analysis and setting up the DNA database of the missing person in order to track them in the future. However, the obstacle to extract DNA from bone samples may have been exposed to environmental factors for long time such as soil conditions, humidity, heat, microorganism which can effect on DNA quality and quantity.

The study showed the comparison of 2 methods of DNA extraction, Phenol-Chloroform and DNA IQ™ System. The comparison based on 3 dimensions which measure the quantity of DNA , the presence of inhibitors from both methods and the quality of DNA which amplified by the microsatellite multiplex 16 loci : D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820, Penta E, THO1, TPOX, CSF1PO, D16S539, Penta D and Amelogenin

Results showed DNA quantification that DNA IQ™ System extracted on average 0.02245 ng/μl and DNA quantification that Phenol-Chloroform kit extracted on average 0.0406 ng/μl. Inhibition tests showed that DNA IQ™ System extracts showed only minor levels of inhibition in DNA isolated when amplified with PP16 and analyzed STR profile. DNA IQ™ System did not show better result than Phenol-Chloroform system but its benefit was less time and labor needed and the method was less complicated, including without using hazardous chemical such as phenol that was toxicity.



Program of Forensic Science Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2011

Student's signature

Thesis Advisors' signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือและสนับสนุนจากบุคคลหลายฝ่ายที่ได้สละเวลา ให้ความรู้ คำแนะนำ ที่มีคุณค่าและมีประโยชน์อย่างที่สุด ซึ่งผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งเป็นอย่างยิ่ง และขอกราบขอบพระคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย อันดับแรก ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชงชัย เตโชวิศาล ที่เป็นที่ปรึกษาแก่ผู้วิจัย และ ชี้แนะแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. พันตำรวจเอกสันต์ สุขวัฒน์ ประธานกรรมการ และ พันตำรวจโทกฤษฎา ธิบริวมทรัพย์ กรรมการ ผู้ทรงคุณวุฒิ ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านนิติวิทยาศาสตร์ ที่เสียสละเวลารวมทั้งให้คำปรึกษาและตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์นายแพทย์ วรวิทย์ ไวยวุฒิ ผู้อำนวยการ สำนักตรวจพิสูจน์ทางชีววิทยา สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ ที่เสนอแนะข้อมูลอันมีประโยชน์ และเอื้อเพื่อให้ใช้อุปกรณ์และสถานที่สำหรับการวิจัยในครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณชนิดาภา ศิริหนองหว้า หัวหน้ากลุ่มตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลและวัตถุพยานทางชีววิทยา สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ ที่ให้คำปรึกษาและ สละเวลาเพื่อตรวจสอบวิทยานิพนธ์ทำให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ พี่ๆ น้องๆ สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยเหลือ แนะนำ ให้ความรู้ และเป็นกำลังใจ ทำให้วิทยานิพนธ์นี้ประสบความสำเร็จไปได้ด้วยดี

สุดท้ายนี้ ขอขอบคุณครอบครัวที่เป็นกำลังใจในการศึกษามาโดยตลอด และคอยอุปการะช่วยเหลือให้ผู้วิจัยได้ศึกษาเล่าเรียนจนสำเร็จการศึกษา