ว.วิทย. มข. 49(4) 310-323 (2564) KKU Sci. J. 49(4) 310-323 (2021)

การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอทางนิติวิทยาศาสตร์

DNA analysis in Forensic Science

สุนทรต์ ชูลักษณ์[1*] และ วิชุดา จันทร์ข้างแรม[2]

[1]ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

[2]คณะวิทยาศาสตร์และสังคมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา วิทยาเขตสระแก้ว อ. วัฒนานคร จ.สระแก้ว 27160

Sunthorn Chooluck[1*] and Wichuda Jankangram[2]

[1]Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University, Saensuk, Mueang, Chonburi, 20131 Thailand

Faculty of Science and Social Sciences, Burapha University, Sakaeo Campus, Watthana Nakhon, Sakaeo, 27160 Thailand

[*]Corresponding Author, E-mail: sunthornc@buu.ac.th

Received: 13 September 2021 | Revised: 10 November 2021 | Accepted: 15 November 2021

บทคัดย่อ

การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอทางนิติวิทยาศาสตร์ถือเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพซึ่งนำมาใช้ประกอบการสืบสวนในทางนิติวิทยาศาสตร์มาอย่างยาวนาน เทคนิคนี้สามารถช่วยในการสืบสวนคดีอาชญากรรมต่างๆโดยไม่เพียงแต่จะเป็นประโยชน์ต่อการนำผู้กระทำผิดมาลงโทษเท่านั้นแต่ยังช่วยให้ผู้บริสุทธิ์พ้นผิดด้วย นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้ในการทดสอบความสัมพันธ์ในครอบครัว ความเป็นพ่อแม่ลูกและ รวมถึงเป็นกระบวนการที่ใช้ตรวจสอบและระบุตัวตนตามขั้นตอนของกองตรวจคนเข้าเมืองอีกด้วย บทความปริทรรศน์นี้จะกล่าวถึงความรู้ทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอทางนิติวิทยาศาสตร์และการนำเทคนิคดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ พร้อมทั้งให้ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับดีเอ็นเอ และการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรม รวมถึงการใช้เป็นเครื่องมือทางนิติวิทยาศาสตร์เพื่อระบุตัวบุคคล ทั้งนี้จะมีการกล่าวถึงการค้นพบและพัฒนาเทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอ รวมทั้งการวิเคราะห์ความสัมพันธ์จากบิดาโดยใช้โครโมโซม Y และสุดท้ายจะกล่าวถึงอนาคตในการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอทาง นิติวิทยาศาสตร์

ABSTRACT

Forensic DNA analysis has long been serving as a powerful investigative technique in forensic science. It is used to assist criminal investigations not only in convicting suspects but also in exonerating the innocent. It is also used in parentage testing as well as a standard test for identifying immigration eligibility. This review article contributes scientific knowledge of current practice for DNA analysis used in forensic applications. The article provides general introduction to DNA and how is DNA inherited as well as its use as a forensic science tools for human identification. The discovery and development of DNA fingerprinting technique as well as paternal line analysis using Y-chromosome will be mentioned. A brief insight into future areas of development in relation to forensic DNA analysis will also be discussed.

คำสำคัญ: นิติวิทยาศาสตร์ ดีเอ็นเอ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอ
Keywords: Forensic science, DNA, DNA fingerprint, Mitochondrial DNA

บทนำ

ปัจจุบัน ดีเอ็นเอได้ก้าวเข้ามามีบทบาทมากขึ้นในกระบวนการยุติธรรม และใช้เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่มีความน่าเชื่อถือสูง ทำให้รูปแบบการพิจารณาคดีในกระบวนการยุติธรรมมีความถูกต้องมากขึ้น ดังเช่น การตรวจดีเอ็นเอ เพื่อยืนยันตัวผู้กระทำผิดทางคดี การตรวจเพื่อพิสูจน์บุคคลในกรณีบุคคลสูญหาย หรือ การตรวจยืนยันความสัมพันธ์ บิดา-มารดา และบุตรในคดีทางแพ่ง ซึ่งเป็นตัวอย่างของการนำวิทยาศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการยุติธรรมนั่นเอง

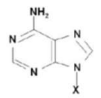
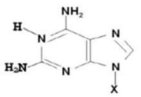
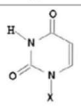
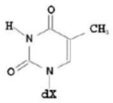
การทำโปรไฟล์ดีเอ็นเอ (DNA profiling) หรือที่เรียกว่า ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) เป็นกระบวนการในการตรวจสอบลักษณะลักษณะเฉพาะจากดีเอ็นเอของแต่ละบุคคล การทำโปรไฟล์ดีเอ็นเอเป็นเทคนิคทางนิติวิทยาศาสตร์ที่นำมาใช้ในการสืบสวน สอบสวนคดีอาชญากรรม โดยเป็นการเปรียบเทียบโปรไฟล์ดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยกับหลักฐานดีเอ็นเอที่ได้จากที่เกิดเหตุ เพื่อประเมินความเป็นไปได้ของการมีส่วนร่วมในการก่ออาชญากรรม นอกจากนี้ ยังใช้สามารถใช้ในการทดสอบความเกี่ยวข้องทางสายเลือดในครอบครัว เช่นตรวจพิสูจน์ความเป็น พ่อ แม่ ลูก นอกจากนี้การทำโปรไฟล์ดีเอ็นเอยังถูกนำไปใช้ในการศึกษาประชากรสัตว์และพืช ในด้านสัตววิทยา พฤกษศาสตร์ และการเกษตรได้อีกด้วย

โครงสร้างทางเคมีของกรดนิวคลีอิก

หน่วยที่เล็กที่สุดของกรดนิวคลีอิก คือ นิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) ซึ่งจะประกอบด้วย 1) เบสไนโตรเจน (nitrogenous base) ได้แก่ พิวรีน (purine) หรือ ไพริมิดีน (pyrimidine) 2) น้ำตาลห้าคาร์บอนอะตอม คือ น้ำตาลชนิดไรโบสในอาร์เอ็นเอ ส่วนดีเอ็นเอจะเป็นน้ำตาล 2-ดีออกซีไรโบส (2-deoxyribose) ในดีเอ็นเอ และ 3)หมู่ฟอสเฟต ซึ่งคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของน้ำตาล จะเกิดพันธะไกลโคซิดิกกับเบสไนโตรเจน ส่วนคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 5 จะเกิดพันธะเอสเทอร์กับหมู่ฟอสเฟต การสร้างเส้นโพลิเมอร์ของเส้นอาร์เอ็นเอ หรือ ดีเอ็นเอจะเกิดจากการสร้างพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ โดยหมู่ฟอสเฟต ที่คาร์บอนตัวที่ห้าของน้ำตาลเพนโทสของนิวคลีโอไทด์ตัวหลังจะต่อกับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่คาร์บอนตัวที่สามของน้ำตาลเพนโทสของนิวคลีโอไทด์ตัวหน้า นิวคลีโอไทด์สามารถทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมพลังงาน เช่น ATP หรือ เป็นสารมัธยันตร์ (intermediate) ที่สำคัญของวิถีเมแทบอลิซึมที่ต้องการพลังงานรวมไปถึงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของโคเอนไซม์ เช่น NAD^+ $NADP^+$ FMN FAD โคเอนไซม์ เอ (coenzyme A) และ cAMP เป็นต้น (Nelson et al., 2017) โครงสร้างทางเคมีของนิวคลีโอไทด์และเบสไนโตรเจนที่เป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิกแสดงในรูปที่ 1

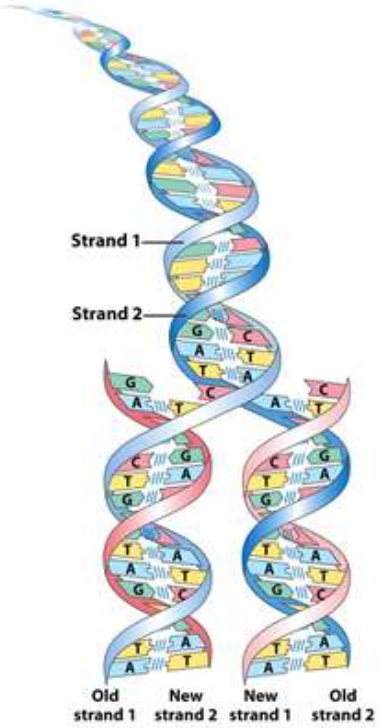
การถ่ายเทข้อมูลข่าวสารทางชีวภาพ

การถ่ายเทข้อมูลข่าวสารทางชีวภาพมีความสำคัญเป็นอย่างมากเพราะการดำรงอยู่ได้ของสิ่งมีชีวิตสายพันธุ์ต่าง ๆ นั้นจำเป็นจะต้องมีการถูกต้องและแม่นยำในการรักษาและส่งต่อข้อมูลทางพันธุกรรมหรือสารพันธุกรรม เป็นอย่างสูง และต้องการความผิดพลาดน้อยที่สุด แล้วข้อมูลนั้นจะต้องแสดงออกได้อย่างปกติในรุ่นลูกหลาน สารพันธุกรรม (DNA, RNA) ของสิ่งมีชีวิตนั้นจะต้องถูกเก็บรักษาไว้อย่างดีภายในเซลล์ เพื่อที่จะได้ถ่ายทอดสู่รุ่นลูกหลานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเปรียบเทียบกับสถาปัตยกรรม หรือสิ่งก่อสร้างต่างๆแล้วนั้น มีน้อยชิ้นมาก ที่จะคงอยู่ได้เป็นพัน ๆ ปี แต่จากการศึกษาพบว่า สารพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตชนิดใดๆนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก แม้ว่าเวลาจะผ่านไปนับล้านๆปีก็ตาม ตัวอย่างเช่นในแบคทีเรียชนิดที่เราพบอยู่ในปัจจุบันนี้ ขนาด รูปร่าง โครงสร้าง รวมไปถึงองค์ประกอบภายใน ล้วนแล้วแต่เหมือนกับสิ่งที่พบในแบคทีเรียชนิดเดียวกันนี้ที่มีชีวิตอยู่ในยุค 1 ล้านปีก่อน (Nelson et al., 2017)

โครงสร้าง	เบส X=ไฮโดรเจน	นิวคลีโอไซด์ X=ไรโบส	นิวคลีโอไทด์ X=ไรโบสฟอสเฟต
	อะดีนีน Ade A	อะดีโนซีน Ado A	กรดอะดีโนลิก อะดีโนซีน มอนอฟอสเฟต AMP
	กัวนีน Gua G	กัวโนซีน Guo G	กรดกัวโนลิก กัวโนซีน มอนอฟอสเฟต GMP
	ไซโตซีน Cyt C	ไซติดีน Cyd C	กรดไซติไดลิก ไซโตซีน มอนอฟอสเฟต CMP
	ยูเรซิล Ura U	ยูริดีน Urd U	กรดยูริไดลิก ยูริดีน มอนอฟอสเฟต UMP
	ไทมีน Thy T	ดีออกซีไทมิดีน dThd dT	กรดดีออกซีไทมิดิลิก ดีออกซีไทมิดีน มอนอ ฟอสเฟต dTMP

รูปที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของนิวคลีโอไทด์และเบสไนโตรเจน (Voet and Voet, 2010)

สิ่งมีชีวิตทุกชนิดบนโลกนี้ จะมีลักษณะสำคัญ 2 ประการคือ 1) มีความสามารถที่จะดำรงตนอยู่ได้ตลอดช่วงระยะเวลาหนึ่ง (self-maintenance) และ 2) มีความสามารถในการเพิ่มจำนวน (self-reproduction) ซึ่งคุณสมบัติทั้งสองนี้จะต้องอยู่บนพื้นฐานของข้อมูล (information) ที่สิ่งมีชีวิตนั้นเก็บสะสมไว้ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวนั้นต้องสามารถออกมาได้ และส่งต่อไปได้ (replicable และ transmissible) ข้อมูลดังกล่าวจะอยู่ในสารพันธุกรรม (genetic material) ซึ่งได้แก่ กรดนิวคลิอิคนั่นเอง (Blanco and Blanco, 2017)



รูปที่ 2 โครงสร้างของดีเอ็นเอเกลียวคู่ (Nelson et al., 2013)

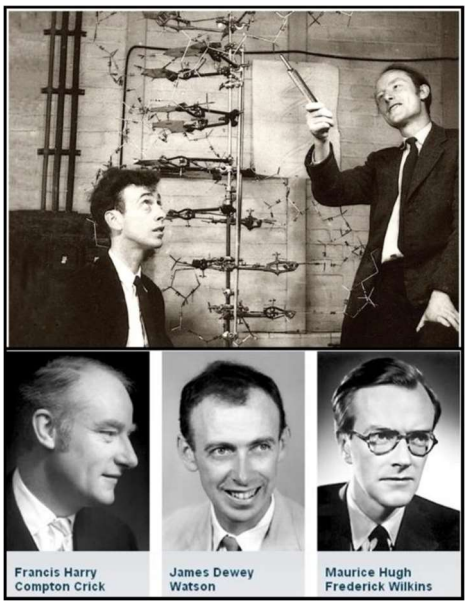
ปัจจุบันนี้เราพบว่ากรดนิวคลีอิคมี 2 ชนิด คือ ดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic acid) และ อาร์เอ็นเอ (Ribonucleic acid) โดยที่ข้อมูลทางพันธุกรรมส่วนใหญ่จะถูกเก็บไว้ในรูปของ DNA ซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีลักษณะยาว และเปราะ ซึ่งจะเป็นตัวที่เก็บรหัสสำหรับ ลักษณะและคุณสมบัติต่างๆทั้งหมดของสิ่งมีชีวิต ดีเอ็นเอ จะเป็น polymer ของ นิวคลีโอไทด์หลาย ๆ หน่วยเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว พบในธรรมชาติจะอยู่เป็นเกลียวคู่ โดยที่แต่ละสายจะสามารถทำหน้าที่เป็นต้นแบบในการจำลองตัวเองเพื่อเพิ่มจำนวนในระหว่างการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ ได้สารพันธุกรรมจะต้องมีความสามารถที่จะเก็บข้อมูลพันธุกรรมไว้ได้อยู่ในรูปที่รักษาข้อมูลไว้ได้มั่นคง และสามารถส่งต่อไปสู่เซลล์รุ่นถัดไปได้เมื่อต้องการรวมทั้งถ่ายทอดข้อมูลไปสู่เซลล์ลูกด้วยข้อผิดพลาดที่ต่ำสุด และต้องสามารถแสดงออกมาได้ผลก็คือทำให้เซลล์หรือสิ่งมีชีวิตเกิดขึ้นและดำรงต่อไป นั่นก็คือต้องมีกลไกแปลข้อมูลที่อยู่ภายในสารพันธุกรรมออกมาในรูปของ productive form นั่นก็คือว่าโมเลกุลนั้น สามารถจำลองโมเลกุลชนิดใหม่เกิดขึ้นได้ และมีความสามารถพอที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมโดยให้มีความสูญเสียข้อมูลเดิม (parental information) น้อยที่สุด (Blanco and Blanco, 2017; Nelson et al., 2017)

การค้นพบโครงสร้างของดีอ็นเอ

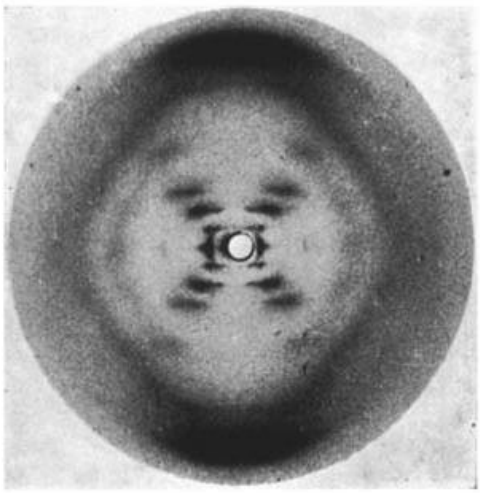
หลังจากที่ เจมส์ ดี. วัตสัน (James D. Watson) และ ฟรานซิส คริก (Francis Crick) ได้ค้นพบ และอธิบายถึงโครงสร้างสามมิติของ DNA แบบที่สมบูรณ์ที่สุดว่าเป็นสายคู่ที่ม้วนพับเป็นเกลียวแบบที่เรียกว่า double helix การค้นพบในครั้งนี้ ส่งผลกระทบต่อวงการวิทยาศาสตร์อย่างมาก เพราะเป็นจุดเปลี่ยนสำคัญที่ทำให้ผู้คนในยุคสมัยนั้นหันมาสนใจจนยอมรับในที่สุดว่าดีเอ็นเอน่าจะทำหน้าที่เป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตมากกว่าที่จะเป็นโปรตีน วัตสันและคริกได้รับรางวัลโนเบลสาขาสรีรวิทยาหรือการแพทย์ ในปี ค.ศ. 1962 ร่วมกับ มอริส วิลคินส์ (Maurice Wilkins) (Watson and Crick, 1953; Wilkins et al., 1953)

โดยที่ก่อนหน้านั้นในปี ค.ศ. 1869 Johann Friedrich Miescher ค้นพบสารอินทรีย์จำพวกหนึ่งที่มีฤทธิ์เป็นกรดอยู่ในนิวเคลียสซึ่งสามารถพิสูจน์ได้ว่าไม่ใช่โปรตีน ไขมัน หรือคาร์โบไฮเดรต เขาตั้งชื่อสารนี้ว่า nuclein เพราะเป็นสารที่แยกได้จากนิวเคลียส (Dahm, 2005) ในปี ค.ศ. 1948 Linus Pauling ได้ค้นพบโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน และชักนำให้นักเคมีหันมาสนใจศึกษาโครงสร้างของสารชีวโมเลกุลในรูปแบบสามมิติ อีกทั้งยังได้เสนอโครงสร้างของกรดนิวคลีอิกในปี ค.ศ. 1952 ซึ่งแม้จะไม่ถูกต้องทั้งหมดแต่ก็เป็นข้อมูลที่มีประโยชน์มาก (Pauling and Corey, 1953) ในช่วงเวลาเดียวกันนั้นเอง มอริส วิลคินส์ และโรซาลินด์ แฟรงคลิน (Rosalind Franklin) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างของ DNA โดยใช้เทคนิค X-ray diffraction ซึ่งเป็นเทคนิคการฉายรังสีเอกซ์ผ่านผลึก DNA การหักเหของรังสีเอกซ์ทำให้เกิดภาพบนแผ่นฟิล์ม ทำให้ได้ภาพถ่ายที่ชัดเจนมาก (เป็นที่รู้จักกันในชื่อ photo 51) (รูปที่ 5.) และเป็นข้อมูลพื้นฐานของโครงสร้างดีเอ็นเอที่สำคัญมาก (Franklin and Gosling, 1953; Maddox and Mcelheny, 2003; Stasiak, 2001; Wilkins et al., 1953)

หลังจากนั้นอีกไม่นานวัตสันและคริกได้รวบรวมข้อมูลต่าง ๆ ที่ได้จากการศึกษาและตีพิมพ์เป็นบทความวิจัยเรื่อง "Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid" ในวารสารวิทยาศาสตร์ "Nature" ฉบับที่ 171 หน้า 737-738 ในปี ค.ศ. 1953 (Watson and Crick, 1953) บทความนี้เป็นผลงานชิ้นแรกซึ่งอธิบายถึงโครงสร้างเกลียวคู่ของดีเอ็นเอได้อย่างถูกต้อง และจัดว่าเป็นการเปิดเผยคำตอบเกี่ยวกับปริศนาพื้นฐานของสิ่งมีชีวิต ที่เกี่ยวข้องกับสารพันธุกรรมและการถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมจากรุ่นสู่รุ่น



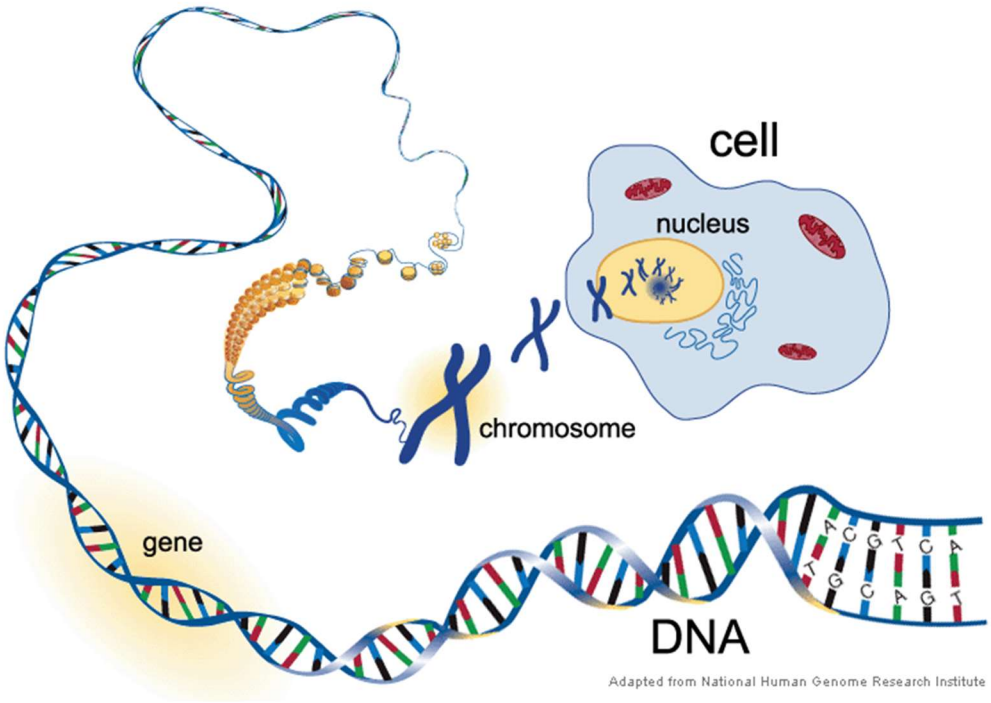
รูปที่ 4 นักวิทยาศาสตร์ที่มีบทบาทสำคัญในการค้นพบโครงสร้างของดีเอ็นเอ (ดัดแปลงจาก (Nelson et al., 2013))



รูปที่ 5 ภาพถ่ายการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของดีเอ็นเอ (ดัดแปลงจาก (Franklin and Gosling, 1953))

ยีนและโครโมโซม

ก่อนหน้านี้มีความเชื่อกันว่ายีนเป็นส่วนหนึ่งของโครโมโซมที่ทำหน้าที่กำหนดฟีโนไทป์ (phenotype) ของสิ่งมีชีวิต จนมาถึงในปี ค.ศ. 1940 จอร์จ เวลส์ บีเดิล (George Wells Beadle) และ เอ็ดเวิร์ด ทาทัม (Edward Tatum) ได้ทำการทดลองฉายรังสีเอกซ์เพื่อทำลายโครโมโซมของเชื้อราขนมปัง (*Neurospora crassa*) ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ ของยีนในสปอร์ ส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถผลิตเอ็นไซม์ที่สำคัญในวิถีเมตาบอลิซึมบางชนิดได้ พวกเขาจึงได้เสนอแนวคิด "1 ยีน 1 เอนไซม์" (one gene one enzyme) ซึ่งหมายถึง ยีน 1 ตัว ควบคุมทำให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ 1 ชนิด ซึ่งต่อมาพบว่าในสิ่งมีชีวิตทั่วไปอาจมียีนบางยีน เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีนที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น พวกองค์ประกอบของอาร์เอ็นเอและคอลลาเจน และยังพบว่าโปรตีนบางชนิดจะประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์มากกว่าหนึ่งสาย จึงได้มีการปรับปรุงสมมติฐานของบีเดิลกับทาทัม เป็น "ยีนหนึ่งยีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับสังเคราะห์โพลีเปปไทด์สายหนึ่ง (one gene - one polypeptide) (Nelson et al., 2017)

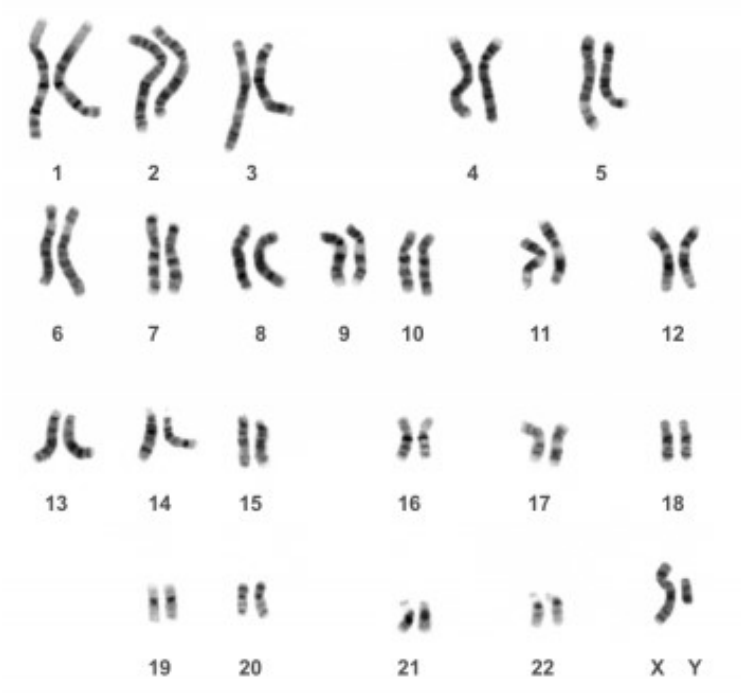


รูปที่ 6 ยีนและโครโมโซม (ที่มา: https://d2gne97vdumgn3.cloudfront.net/api/file/8wChD3WNR2SNqtEbQ38u)

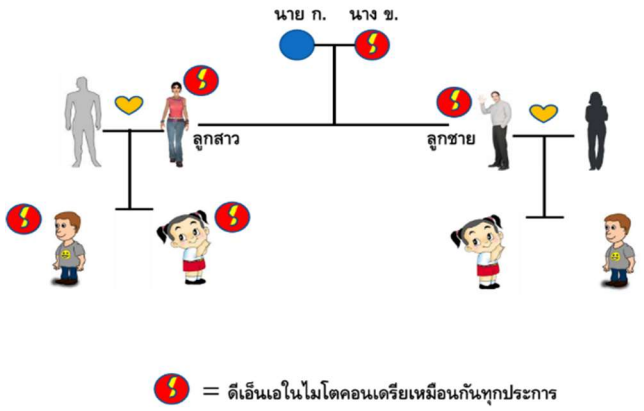
ในคนจะมีโครโมโซม 46 แท่ง จัดเรียงอยู่เป็นคู่ 23 คู่ (รูปที่ 7) แบ่งเป็นโครโมโซมร่างกาย 22 คู่ (Autosome) และเป็นโครโมโซมเพศ 1 คู่ (Sex chromosome) คือ X และ Y โดยเพศหญิงจะเป็น XX ส่วนเพศชายเป็น XY โครโมโซมในเซลล์ของร่างกายมนุษย์ เกิดมาจากการผสมกันระหว่างไข่ (Ovum) จากมารดา กับเชื้ออสุจิ (Sperm) จากบิดา ดังนั้นสารพันธุกรรมดีเอ็นเอในนิวเคลียสจึงมาจากบิดาและมารดาอย่างละครึ่ง แต่ในการเกิดตัวอ่อนของมนุษย์นั้น ส่วนของไซโตพลาสซึม (cytoplasm) จะมาจากไข่ของมารดา 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรียทั้งหมดจึงได้รับมาจากมารดา สารพันธุกรรมที่มีในโครโมโซมนี้จะแบ่งเป็น 2 ส่วน โดยส่วนแรกจะเป็นยีนซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการทำงานในการสร้างโปรตีนต่าง ๆ เพื่อนำไปใช้ในการทำงานของเซลล์ ซึ่งมีเพียงสิบเปอร์เซ็นต์ของจำนวนดีเอ็นเอในนิวเคลียส ส่วนที่สองเป็นส่วนที่ไม่ได้เก็บรหัสสำหรับโปรตีนใด ๆ เรียกว่า non-coding region หรือ intron ซึ่งมีถึงเก้าสิบเปอร์เซ็นต์ของดีเอ็นเอทั้งหมด ซึ่งดีเอ็นเอในส่วนนี้มีความหลากหลายในการเรียงตัวของเบส (Kumar and Newfeld, 2002) โดยจากการศึกษาพบว่าการเรียงตัวของเบสในส่วนนี้จะเป็นลักษณะเฉพาะในแต่ละบุคคลและมีความแปรปรวนสูง สามารถนำเอาคุณสมบัติข้อนี้มาใช้ในการพิสูจน์ตัวบุคคลได้ ซึ่งโอกาสที่การเรียงตัวของเบสในดีเอ็นเอส่วนนี้จะมีโอกาสซ้ำกันระหว่างคนสองคนซึ่งไม่มีความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมกันเลย มีเพียงหนึ่งในหนึ่งล้านพันล้านคน (million-billion) เท่านั้น ส่วนการเรียงตัวของเบสในส่วนที่เป็นยีนมีความหลากหลายไม่มากนัก ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการระบุตัวบุคคล ดีเอ็นเอในส่วน “non-coding region” นี้เปรียบเสมือนเป็นลายเซ็นของบุคคล (Signature) เนื่องมาจากเป็นคุณลักษณะเฉพาะ ทั้งนี้นักวิทยาศาสตร์ที่ค้นพบคุณสมบัติเฉพาะข้อนี้ ได้ทำการวิจัยและยืนยันได้ว่า โอกาสที่การเรียงตัวของเบสในดีเอ็นเอ ส่วนนี้จะมีโอกาสซ้ำกันระหว่างคนสองคนซึ่งไม่มีความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมกันเลย มีเพียงหนึ่งในหนึ่งล้านพันล้านคน (million-billion) เท่านั้น (Jeffreys et al., 1985)

สารพันธุกรรมดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรียนั้นจะมีลักษณะเฉพาะที่จะสามารถใช้พิสูจน์บุคคลได้เพียงว่าเป็นบุคคลที่สืบสายพันธุ์ทางมารดาเดียวกันเท่านั้น (Butler and Levin, 1998) ตัวอย่างเช่น ครอบครัว นาย ก. กับนาง ข. มีลูกสาว 1 คน ลูกชาย 1 คน มีหลานสาวและหลานชายจากลูกสาวอย่างละ 1 คน มีหลานสาวและหลานชายจากลูกชาย อย่างละ 1 คน ดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรียของ นาง ข. ลูกสาว ลูกชาย หลานชายหญิงที่เกิดจากลูกสาวจะเหมือนกันทุกประการ ขณะที่หลานชายหญิงที่เกิดจากลูกชาย จะมีดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรียเหมือนกับภรรยาของ

ลูกชาย (รูปที่ 8.) (Rerkamnuaychoke et al., 2000) ดังนั้นประโยชน์ที่จะได้จากการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอของโครโมโซมและไมโตคอนเดรียจึงมีจุดประสงค์ไม่เหมือนกัน โดยการตรวจดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรียจะนำมาใช้ในการพิสูจน์บุคคล เมื่อการตรวจในโครโมโซมมีข้อจำกัด เช่น ไม่มีดีเอ็นเอของบิดา มารดา เนื่องจากได้เสียชีวิตไปแล้ว (Amorim et al., 2019)



รูปที่ 7 โครโมโซมของมนุษย์จำนวน 23 คู่ (ดัดแปลงจาก :https://blog.23andme.com/23andme-and-you/23andme-how-to/meet-your-chromosome-painting/)

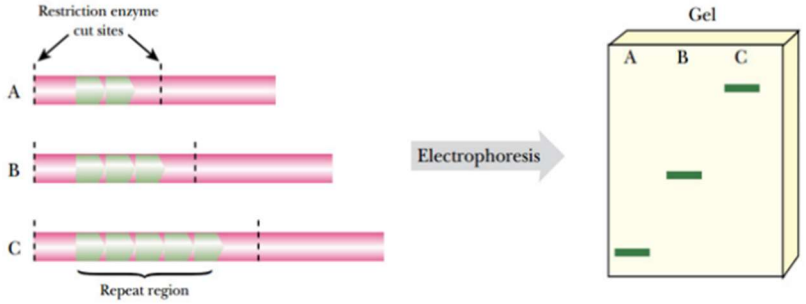


รูปที่ 8 แผนผังการถ่ายทอดดีเอ็นเอในไมโตคอนเดรีย

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นเอกลักษณ์เฉพาะบุคคล

ในสายดีเอ็นเอมนุษย์ มีบริเวณตำแหน่งที่เรียงตัวกันซ้ำ ๆ เป็นหน่วยแกน (Core unit) เป็นเบสซ้ำต่อเนื่อง (Tandem repeat) ประกอบด้วยลำดับดีเอ็นเอปริมาณ 9- 80 คู่เบสต่อหนึ่งหน่วยแกน และแต่ละหน่วยจะเชื่อมต่อกันด้วยจำนวนการซ้ำเป็นชุด ๆ ประมาณ 50 ชุด (รูปที่ 9) เรียกลำดับเบสเหล่านี้ว่า Variable Number of Tandem Repeats (VNTRs) โดย Sir Alex Jeffreys ได้ทำการศึกษาเพื่อการหาตำแหน่งของ VNTRs และพัฒนาเทคนิค ที่เรียกว่า Restriction Fragment Length Polymorphisms Technique (RFLPs Technique) ซึ่งเป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการในการตรวจความแตกต่างของเบสซ้ำโดยใช้ความสามารถของเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction Enzyme)

ในการเลือกตัด ดีเอ็นเอ ในส่วนที่แสดงเอกลักษณ์เฉพาะบุคคล ทำให้ได้ดีเอ็นเอเป็นท่อน ๆ ที่มีขนาดความยาวไม่เท่ากัน จากนั้นนำ ดีเอ็นเอ ขนาดแตกต่างกันเหล่านี้มาทำการแยกขนาดโดยใช้เทคนิค Electrophoresis หลังจากนั้น DNA ที่ถูกแยกขนาดบนแผ่นวุ้นจะถูกย้ายด้วยไฟฟ้าอีกครั้งไปยังแผ่นเยื่อไนล่อน (Southern blot) แล้วทำhybridization (Marwal et al., 2014)



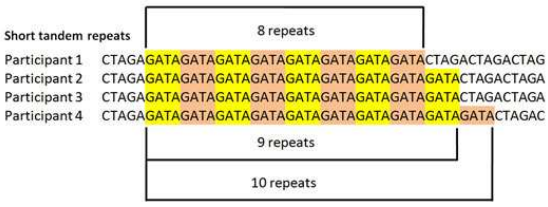
รูปที่ 9 ตำแหน่งสายดีเอ็นเอบริเวณที่มีการซ้ำของลำดับเบสเป็นชุด ๆ หรือ VNTRs (ที่มา: http://istudy.pk/dna-fingerprinting/)

ดีเอ็นเอที่มีเบสซ้ำต่อเนื่อง สามารถแบ่งตามจำนวนซ้ำและความยาวของหน่วยซ้ำ ได้ดังนี้

Minisatellite (moderately repetitive DNA คือเบสขนาด 6-100 เบส ที่มีจำนวนซ้ำแต่ละตำแหน่งตั้งแต่ 2 – หลายร้อยครั้ง และมักจะพบที่ส่วนปลายของโครโมโซม

Microsatellite (simple sequence repeats; SSR หรือ short tandem repeats; STR) คือเบสซ้ำขนาด 1-7 เบส โดยที่มีจำนวนซ้ำในแต่ละตำแหน่งตั้งแต่ 5-100 ครั้ง และสามารถพบกระจายอยู่ทั่วไปในโครโมโซมของคนและสัตว์ โดยจำนวนซ้ำที่พบในแต่ละบุคคลจะไม่เท่ากัน ทำให้เกิดความผันแปรหรือ polymorphism ในแต่ละบุคคล และนำไปใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมอย่างแพร่หลาย (Jeffreys et al., 1985a, 1985b)

จะเห็นได้ว่า เทคนิคการหาตำแหน่งของ VNTRs โดยการทำ RFLP นั้นจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างที่มีสายดีเอ็นเอขนาดใหญ่และอยู่ในสภาพที่ค่อนข้างสมบูรณ์ แต่สำหรับการตรวจพิสูจน์หลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์นั้น หลักฐานทางชีวภาพที่เก็บได้จากสถานที่เกิดเหตุ เช่น สารคัดหลั่งต่างๆไม่ว่าจะเป็นคราบเลือด คราบอสุจิ เส้นผม คราบน้ำลาย หรือ ชิ้นเนื้อ มักจะมีปริมาณไม่มากรวมถึงอาจอยู่ในสภาพที่ไม่สมบูรณ์ ทำให้การค้นหาตำแหน่งของ VNTRs เป็นไปด้วยความยากลำบากมากขึ้น นักวิทยาศาสตร์จึงได้มองหาตำแหน่งหน่วยแกนที่มีขนาดเล็กลง ประกอบด้วยลำดับดีเอ็นเอปริมาณ 2 – 7 คู่เบสต่อหนึ่งหน่วยแกน และแต่ละหน่วยจะเชื่อมต่อกันด้วยจำนวนการซ้ำเป็นชุด ๆ ประมาณ 7 - 15 ชุด เรียกลำดับเบสเหล่านี้ว่า Short Tandem Repeats (STRs) (รูปที่ 10) อีกทั้งหลังจากการคิดค้นเทคนิคการทำพีซีอาร์ (PCR technique: Polymerase Chain Reaction technique) ซึ่งเป็นกระบวนการการเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอในหลอดทดลอง ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอตัวอย่างที่จะนำไปตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว โดยที่ตำแหน่งของ STRs ที่นิยมใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ มักประกอบด้วยเบสจำนวน 4-5 เบสต่อหนึ่งหน่วยแกน (core unit)



รูปที่ 10 ตำแหน่งของ STRs บนสายดีเอ็นเอ (Herrera and Garcia-Bertrand, 2018)

หากนำสาย DNA ของคนสองคนมาเทียบกัน จะพบว่า ในบุคคลหนึ่งๆ จะมีลำดับเบสซ้ำแตกต่างกันทั้งขนาดและจำนวนซ้ำ โดยบนสาย DNA มีส่วนที่แตกต่างกันได้ถึง 3 ล้านคู่เบส คิดเป็นประมาณ 0.1% ของจำนวนคู่เบสทั้งหมด โอกาสที่บุคคลสองคนที่หากไม่ได้มีความเกี่ยวข้องกันทางสายเลือดแล้วจะมีลายพิมพ์ DNA ที่มีเหมือนกันทุกประการ เป็นเรื่องที่เป็นไปได้ยากมาก นักนิติวิทยาศาสตร์จึงใช้ส่วนของเบสซ้ำอย่างต่อเนื่องเหล่านี้มาตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ทำให้สามารถพิสูจน์ความเป็นบุคคลได้อย่างชัดเจนและแม่นยำ

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้วิธีพีซีอาร์ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาจนถึงระดับที่สามารถนำเซลล์เพียงเซลล์เดียวหรือดีเอ็นเอที่เสื่อมสภาพมาใช้ตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ ซึ่งก่อนที่จะทำการเพิ่มดีเอ็นเอต้นแบบด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ โพลีเมอเรสทางแพทย์นิติเวชหรือนักนิติวิทยาศาสตร์ต้องเลือกตัวอย่างชีวภาพว่าควรใช้ เลือด เยื่อบุข้างแก้ม คราบอสุจิ กระดูก รากผม ฯลฯ แล้วทำการสกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธีที่เหมาะสมกับตัวอย่างแต่ละชนิด เพื่อให้ได้ดีเอ็นเอที่ไม่มีการปนเปื้อนของสารเคมีหรือโปรตีนที่มีผลยับยั้งการทำงานของเอ็นดีเอ็นเอโพลีเมอรเรส ภายหลังจากปฏิกิริยาลูกโซ่เสร็จสมบูรณ์แล้ว นำผลผลิตที่ได้คือชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน เนื่องจากมีจำนวนและชนิดของเบสซ้ำแตกต่างกัน มาแยกโดยอาศัยไฟฟ้า วิธีการแยกดีเอ็นเอแบ่งเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะของลำดับเบสซ้ำ หากผลผลิตดีเอ็นเอได้จากเบสซ้ำในส่วนของมินิแซทเทลไลท์ ใช้ตัวกลางเป็นอะกาโรสเจล (Agarose gel) ส่วนไมโครแซทเทลไลท์ ใช้ตัวกลางเป็นโพลีอะคริลาไมด์ เจล (Polyacrylamide gel) ซึ่งเป็นตัวกลางที่มีความสามารถในการแยกดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างของเบสเพียง 1 เบสได้ หลังจากการวิเคราะห์จะได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกัน หากใช้วิธีติดฉลากท่อนดีเอ็นเอโดยสารกัมมันตรังสี ผลจะปรากฏออกมาในลักษณะเป็นแถบดีเอ็นเอ แต่ถ้าหากไม่ใช้สารกัมมันตภาพรังสีก็จะใช้วิธีการย้อมสีแล้วอ่านด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ ผลปรากฏเป็นเส้นกราฟในตำแหน่งต่าง ๆ กันที่เรียกว่า กราฟอิเล็กโตรฟีโรแกรม (Electropherogram) โดยเครื่องจะอ่านตำแหน่งให้โดยอัตโนมัติ ขั้นสุดท้ายจะเป็นการแปลผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยการอ่านผลจากลักษณะตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอ หรือเส้นกราฟที่ได้ ซึ่งการที่จะนำเทคโนโลยีดีเอ็นมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการพิสูจน์บุคคลนั้น ต้องมีตัวเลขทางสถิติเป็นตัวบอกถึงความน่าเชื่อ ถือของเทคโนโลยี เมื่อได้ผลการตรวจมาแล้ว ก็นำมาเปรียบเทียบกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เราศึกษาอีกชุดว่ามีความสัมพันธ์กันเช่นใด เกณฑ์มาตรฐาน ในการพิสูจน์บุคคลด้วยวิธี DNA Fingerprint นี้ ต้องใช้การเปรียบเทียบตำแหน่ง อย่างน้อย 10 ตำแหน่ง (Loci) ขึ้นไปซึ่งหลังจากปี ค.ศ 2017 สำนักงานสืบสวนสอบสวนกลางของสหรัฐอเมริกาหรือ FBI ได้กำหนดเกณฑ์ว่าต้องทำการตรวจถึง 20 ตำแหน่ง (Christensen et al., 2019)

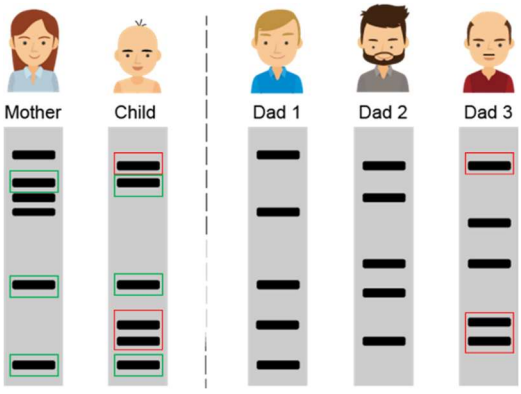
อเล็ก เจฟฟรีย์ บิดาแห่งลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ศาสตราจารย์ เซอร์ อเล็ก เจฟฟรีย์ (Alec Jeffreys) และคณะจากมหาวิทยาลัยเลสเตอร์ (Leicester) ประเทศอังกฤษ เป็นทีมนักวิจัยกลุ่มแรกที่บุกเบิกเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยทำการศึกษายีนไมโอโกลบินของมนุษย์ และพบลักษณะของเบสซ้ำกันเป็นชุดมากกว่า 10 เบสขึ้นไป บนสายดีเอ็นเอในส่วนอินตรอน และเรียกลำดับเบสซ้ำที่พบนี้ว่า มินิแซทเทลไลต์ (Minisatellite) จากลักษณะดังกล่าว จึงนำไปสู่การพัฒนาเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) เพื่อใช้วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างบุคคล (Jeffreys et al., 1985a, 1985b)

ในเดือนเมษายนปี ค.ศ.1985 ได้มีการนำเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มาใช้ในการพิสูจน์ยืนยันว่าเด็กชายชาวกานาคนหนึ่งเป็นบุตรชายที่แท้จริงของครอบครัวชาวกานาที่อพยพเข้ามาตั้งรกรากในของสหราชอาณาจักรซึ่งเป็นข้อพิพาทที่ยืดเยื้อยาวนานกว่า 2 ปีได้เป็นผลสำเร็จ โดยศาสตราจารย์ เจฟฟรีย์ ได้รับจดหมายจากชีนา ยอร์ก ทนายความชาวอังกฤษที่ได้อ่านบทความเกี่ยวกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอในหนังสือพิมพ์และขอร้องให้ใช้เทคนิคนี้มาช่วยแก้ปัญหาเรื่องการที่เด็กชายวัย 13 ปี ชื่อ Andrew ผู้ที่เกิดในสหราชอาณาจักรจากครอบครัวที่อพยพจากประเทศกานามาตั้งรกรากประเทศนี้ และมีพี่น้องร่วมมารดาทั้งหมด 4 คน โดยที่ Andrew ซึ่งเป็นบุตรชายคนสุดท้องได้เดินทางกลับไปยังประเทศกานาและเมื่อเขาเดินทางกลับมาถึงสนามบิน Heathrow ในกรุงลอนดอน เจ้าหน้าที่ตรวจคนเข้าเมืองเกิดข้อสงสัยว่าหนังสือเดินทางของสหราชอาณาจักรที่เขาถืออยู่นั้นคล้ายกับผ่านการดัดแปลง และมีข้อสงสัยว่าทางครอบครัวน่าจะนำเด็กชายอีกคนหนึ่งซึ่งเป็นญาติกันมาสับเปลี่ยนและพยายามเดินทางเข้าประเทศอย่างผิดกฎหมาย Andrew จึงถูกกักตัวไว้เพื่อสอบสวน ถึงแม้ว่าการทำ genetic testตามมาตรฐานที่

ใช้อยู่ในขณะนั้นจะสามารถพิสูจน์ว่าเด็กชายผู้นี้มีความสัมพันธ์ทางครอบครัว แต่ก็ไม่สามารถระบุความเกี่ยวพันทางสายเลือดได้อย่างชัดเจน อีกทั้งมารดาของเด็กชายคือ Christiana Sarbah ยังแจ้งว่าเธอไม่ทราบแน่ชัดว่าใครเป็นบิดาที่แท้จริงอีกด้วย

ศาสตราจารย์ เจฟฟรีย์ จึงได้นำเทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอเข้ามาช่วยหาข้อเท็จจริงในเรื่องนี้ และสามารถสร้าง DNA profile ของผู้เป็นบิดาขึ้นมาโดยใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอจากลูกๆอีกสามคนที่เหลือเปรียบเทียบกับของผู้เป็นมารดา และแสดงให้เห็นว่า DNA profile ของเด็กชายที่เป็นข้อพิพาทนั้นมีแบบแผนที่ตรงกับของบิดาและมารดา ส่งผลให้ศาลตรวจคนเข้าเมืองยกฟ้องและอนุญาตให้เด็กชายกลับอังกฤษในฐานะพลเมืองเต็มตัว (Zagorski, 2006)



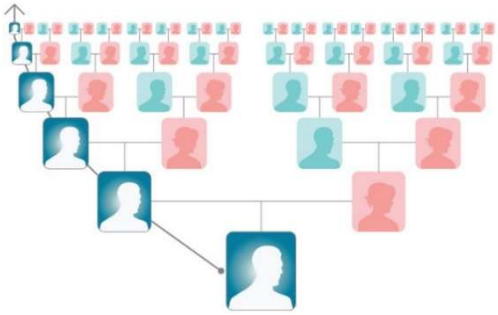
รูปที่ 11 ตัวอย่างการตรวจพิสูจน์สายสัมพันธ์ระหว่าง พ่อ-แม่-ลูก โดยใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (ดัดแปลงจาก https://ib.bioninja.com.au/standard-level/topic-3-genetics/35-genetic-modification-and/dna-profiling.html) ซึ่งจากภาพจะเป็นการตรวจพิสูจน์หาบิดาที่แท้จริงโดยเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอที่ได้ โดยพบว่าสารพันธุกรรมของผู้เป็นลูกนั้นจะมีขนาดเท่ากับของผู้เป็นมารดาและบิดาที่แท้จริง (Dad 3)

ต่อมาในปี ค.ศ. 1986 ศาสตราจารย์เจฟฟรีย์ได้รับการติดต่อจากตำรวจท้องที่เพื่อให้เข้ามาช่วยในการหาหลักฐานในการเอาผิดคนร้ายในคดีฆาตกรรมเด็กนักเรียนหญิงสองคน (Lynda Mann และ Dawn Ashworth) ซึ่งถูกข่มขืนและสังหารในระยะเวลาห่างกัน 3 ปี และเป็นการการฆ่าเลียนแบบ (copycat) อย่างชัดเจน ตำรวจได้ควบคุมตัวผู้ต้องสงสัยเอาไว้ได้หนึ่งคนคือเด็กหนุ่มอายุ 17 ปี ชื่อ Richard Buckland แต่ถึงแม้เขาจะรับสารภาพว่าเป็นผู้ลงมือสังหารเหยื่อในคดีที่สองแต่ให้การปฏิเสธว่าไม่มีส่วนเกี่ยวข้องในคดีแรก เมื่อศาสตราจารย์เจฟฟรีย์ ใช้เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอตรวจสอบคราบอสุจิที่เก็บได้จากเหยื่อทั้งสองรายพบว่า ตัวอย่างอสุจิทั้งสองเป็นของชายคนเดียวกัน แต่ไม่ได้มาจากผู้ต้องสงสัยที่ทางตำรวจได้ควบคุมตัวไว้ จึงได้ทำการปล่อยตัวชายผู้นี้ไปจากนั้นทางตำรวจได้ทำการเก็บตัวอย่างเลือดหรือน้ำลายจากผู้ชายทุกคนที่อาศัยอยู่ในชุมชนแห่งนี้ (Narborough, Leicestershire) มาทำการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยใช้ระยะเวลาในการตรวจสอบถึง 6 เดือนและในท้ายที่สุดก็สามารถจับกุมคนร้ายตัวจริงที่ก่อเหตุได้คือนาย Colin Pitchfork ซึ่งถือว่าเป็นฆาตกรรายแรกที่ถูกจับได้โดยใช้หลักฐานจากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ (Giannelli, 1997; Jeffreys et al., 1985; Wong et al., 1987)

การใช้ Y-chromosome DNA ในนิติวิทยาศาสตร์

เราสามารถนำบริเวณที่มีความเฉพาะเจาะจงของเพศชาย (male-specific) บนโครโมโซม Y ของมนุษย์ มาใช้ประโยชน์ในการตรวจวิเคราะห์ ดีเอ็นเอทางนิติวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ตัวอย่างทางชีวภาพที่จากเกิดเหตุไม่สามารถนำไปวิเคราะห์ autosomal DNA ในการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ (Kayser, 2017) โดยบุตรเพศชายทุกคนจะมีโครโมโซม Y เหมือนกันกับของผู้เป็นบิดาเช่นเดียวกันกับหลานชายทุกคน (รูปที่ 12) ในปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์ STR markers หรือการเปรียบเทียบ Haplotypes จาก STR ที่อยู่บนโครโมโซม Y (Y-chromosomal short tandem repeat polymorphisms (Y-STRs)) ได้ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในทางนิติวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีการล่วงละเมิดทางเพศระหว่างชายกับหญิง ซึ่ง DNA ของเหยื่อมีปริมาณมากจนทำ

ให้การตรวจหา autosomal DNA จากฝ่ายชายหรือผู้กระทำผิดทำได้ลำบาก การวิเคราะห์ Y-STR สามารถตรวจหาและแยกความแตกต่างของดีเอ็นเอปริมาณเล็กน้อยจากเพศชายได้ไม่ว่าจะเป็นของผู้ก่อเหตุ 1 รายหรือร่วมกันหลายราย และนำไปสู่การจับกุมผู้กระทำผิดได้ (Roewer, 2019)



รูปที่ 12 การถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมผ่าน Y-chromosome (ที่มา: https://www.ancestry.com/lp/y-dna)

อนาคตในการพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอทางนิติวิทยาศาสตร์

หลังจากการคิดค้นและพัฒนาเทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอในช่วงกลางทศวรรษที่ 80 นั้นทำให้กระบวนการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอได้เข้ามามีบทบาทสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์รวมถึงกระบวนการยุติธรรมทางอาญาโดยเป็นวิธีที่ช่วยตัดสินว่าผู้ต้องสงสัยนั้นมีความผิดหรือเป็นผู้บริสุทธิ์ นอกจากนั้นยังสามารถนำไปประบุตัวตนของซากศพนิรนาม ผู้สูญหายและเหยื่อจากภัยพิบัติต่าง ๆ ได้อีกด้วย ปัจจุบันได้มีความพยายามที่จะพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ ที่มีความน่าเชื่อถือเพื่อขยายขีดความสามารถของกระบวนการตรวจวิเคราะห์ เพื่อเพิ่มความไว (sensitivity) ความรวดเร็วในการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อให้ผลการตรวจสอบที่ดียิ่งขึ้น (Butler, 2015) ห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์หลายแห่งได้นำระบบอัตโนมัติมาใช้ในการเตรียมตัวอย่างและประมวลผลข้อมูลเพื่อตอบสนองความต้องการปริมาณงานที่เพิ่มมากขึ้น การวิเคราะห์ STR ยังคงเป็นวิธีหลักที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์ตัวบุคคล อีกทั้งการพัฒนาฐานข้อมูลเครื่องหมายพันธุกรรม STR (STR markers) ก็มีความก้าวหน้ามากขึ้นเรื่อย ๆ ภายหลังจากโครงการจีโนมมนุษย์ (Human Genome Project) เสร็จสมบูรณ์ในปี ค.ศ. 2003 ทำให้มีการค้นพบเครื่องหมายพันธุกรรม STR ใหม่ ๆ สำหรับนำมาใช้ในการตรวจสอบทางนิติวิทยาศาสตร์ เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอในปัจจุบันมักทดสอบเครื่องหมาย STR ด้วยเทคนิค PCR และติดฉลาก PCR products ด้วย fluorescence dyes แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย capillary electrophoresis (CE) ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็วและมีความถูกต้องแม่นยำสูง อย่างไรก็ตามการพัฒนาเทคนิคใหม่ๆนั้นเป็นกระบวนการที่ต้องใช้ระยะเวลานานพอสมควรเพื่อให้แน่ใจว่าผลลัพธ์ที่ได้จากการทดสอบด้วยเทคโนโลยีใหม่มีความถูกต้องสูงและสามารถทำซ้ำได้ นอกจากนั้น วิธีการใหม่จะต้องให้ผลลัพธ์ที่เทียบเท่ากับเทคโนโลยีปัจจุบัน เพื่อให้สามารถนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกันได้ไม่ว่าระยะเวลาจะผ่านไปนานเพียงใดก็ตาม (Butler, 2012)

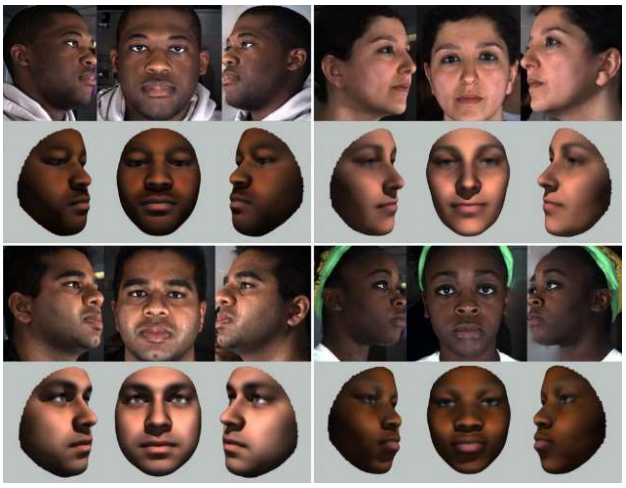
การวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายพันธุกรรม STR นั้นมีข้อเสียหลักคือเป็นกระบวนการที่ต้องอาศัยการเปรียบเทียบ DNA profile ที่ได้จากหลักฐานทางชีวภาพไม่ว่าจะเป็นของเหยื่อหรือผู้กระทำความผิดก็ตาม ในกรณีที่ไม่สามารถทำการเปรียบเทียบได้เช่น ผู้ก่อเหตุได้หลบหนีไป หรือเป็นคดีไม่สามารถระบุผู้ก่อเหตุได้ ไม่สามารถระบุตัวตนของเหยื่อได้ หรือไม่สามารถหาครอบครัวหรือญาติ ๆ ของเหยื่อเพื่อใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอมาทำการเปรียบเทียบได้ ความเป็นไปได้เพียงอย่างเดียวคือนำข้อมูลไปค้นหาจากฐานข้อมูล DNA profile ที่ของอาชญากร หรือฐานข้อมูล DNA profile ของบุคคลสูญหาย ซึ่งเป็นเรื่องที่ค่อนข้างลำบากเพราะในหลายๆประเทศนั้นไม่ได้มีการเก็บรวบรวมข้อมูลเหล่านี้เอาไว้ ในปี ค.ศ. 2015 จึงได้มีการพัฒนาเทคนิค Forensic DNA phenotyping มาใช้ในการระบุตัวบุคคล โดยที่เทคนิคนี้จะสามารถทำนายลักษณะที่ปรากฏ (phenotype) เช่น สีตา สีผม สีผิวรวมถึงเชื้อชาติของ unknown sample donors ได้โดยนำดีเอ็นเอที่สกัดจากหลักฐานที่พบในที่เกิดเหตุ เช่น คราบเลือด คราบน้ำลายหรือเศษชิ้นเนื้อที่ผู้กระทำผิดทิ้งไว้ในที่เกิดเหตุ หรือจากศพนิรนาม มาวิเคราะห์โดยใช้ genetic markers รวมถึง บริเวณที่เป็น single nucleotide polymorphisms (SNPs) เพื่อทำนายลักษระทางกายภาพต่าง ๆ แล้ว

สร้างเป็นภาพจำลองใบหน้าในคอมพิวเตอร์ (Kayser, 2015; Marano and Fridman, 2019)

สีตาของมนุษย์ถือเป็นหนึ่งในลักษณะเฉพาะที่มีความแปรปรวนของสีมากที่สุด ตั้งแต่ตาเฉดสีฟ้าอ่อนไปจนถึงเฉดสีน้ำตาลเข้มหรือดำ จนถึงกลุ่มที่จัดเป็น intermediate eye colors คือ สีเทา สีน้ำตาลแดง สีเหลือง และสีเขียว ความแตกต่างของสีนั้นเป็นผลมาจากปริมาณของเมลานินและจำนวนของเมลาโนโซมในชั้นนอกของม่านตา เช่น ตาสีฟ้ามีจะมีเมลานินและเมลาโนโซมน้อยกว่าตาสีน้ำตาล เป็นต้น Forensic DNA phenotyping ได้พัฒนา ระบบไอริสเพล็กซ์ (IrisPlex System) เพื่อในการตรวจสอบสีตา โดยใช้ SNP หกตำแหน่ง จากยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดสี (HERC2 OCA2 SLC24A4 SLC45A2 TYR และ IRF4) ซึ่งระบบนี้จะสามารถแยกความแตกต่างระหว่างดวงตาสีฟ้าและสีน้ำตาลที่มีความแม่นยำสูง (>90%) (Marano and Fridman, 2019) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับกลุ่มประชากรชาวยุโรปและอเมริกา (Dembinski and Picard, 2014) อย่างไรก็ตามเมื่อนำมาทดสอบกับชาวเอเชียจะมีความแม่นยำต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (Al-Rashedi et al., 2020; Yun et al., 2014) ดังนั้นจึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกลุ่มตัวอย่างประชากรที่หลากหลายเพื่อหา SNP ที่สามารถทำนายสีตาได้ครอบคลุมกลุ่มประชากรทั่วโลกได้ดีมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้สีตาในกลุ่ม intermediate eye colors นั้นจำเป็นต้องมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อระบุตัวแปรทางพันธุกรรมที่เหมาะสม เนื่องจากความแม่นยำในการทำนายเมื่อใช้ SNP หกตำแหน่งที่ใช้ในปัจจุบันยังต่ำกว่ามากเมื่อเทียบกับตาสีฟ้าและสีน้ำตาล (Marano and Fridman, 2019; Schneider et al., 2019)

ความแตกต่างของสีผมในคนนั้น เป็นผลมาจากปริมาณของเมลานินสองชนิดคือ ยูเมลานิน (eumelanin) ซึ่งมีสีน้ำตาลหรือดำ และฟีโอเมลานิน (pheomelanin) ซึ่งให้สีสีแดงหรือเหลือง โดยบุคคลที่มีผมสีแดงนั้น จะมีสัดส่วนของฟีโอเมลานินอยู่สูงเมื่อเทียบกับยูเมลานิน ในขณะที่ คนที่ผมสีเข้ม จะมีปริมาณของยูเมลานินอยู่มาก ส่วนคนที่มีผมเป็นสีบลอนด์นั้นจะมีเมลานินแต่ละชนิดอยู่เพียงเล็กน้อยเท่านั้น การทำนายสีผมด้วยเทคนิค DNA phenotyping จะใช้ยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์เมลานินเป็น genetic markers คือ MC1R SLC45A2 SLC24A5 และ HERC2 โดยใช้ SNPs 22 ตำแหน่งจากยีนดังกล่าว ซึ่งจะสามารถทำนายสีผมได้แม่นยำถึง 81–93% (Schneider et al., 2019)

ภาพจำลองของอาชญากรที่ถูกสร้างขึ้นจากตัวอย่าง DNA โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ด้วยเทคนิค Forensic DNA phenotyping นั้นถึงแม้ว่าจะไม่สามารถระบุผู้ต้องสงสัยได้อย่างชัดเจนและแน่นอนอีกทั้งยังต้องมีการพัฒนาอีกมาก แต่ก็อาจจะช่วยให้การสืบหาคนร้ายทำได้รวดเร็วขึ้น โดยอาจจะมีการนำไปเปรียบเทียบกับภาพ ของอาชญากรในฐานข้อมูล หรืออย่างน้อยก็สามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นเบาะแสในการสืบสวนได้



รูปที่ 13 แสดงการเปรียบเทียบระหว่างบุคคลที่เป็น DNA donor และภาพจำลองใบหน้าที่ได้จากเทคนิค Forensic DNA phenotyping (ที่มา: https://www.forensicsciencedegree.org/dna-phenotyping-revealing-the-faces-of-killers/)

เอกสารอ้างอิง

Al-Rashedi, N. A. M., Mandal, A. M. and Alobaidi, L. A. H. (2020). Eye color prediction using the IrisPlex system: a limited pilot study in the Iraqi population. Egyptian Journal of Forensic Sciences 10(1): 27.

Amorim, A., Fernandes, T. and Taveira, N. (2019). Mitochondrial DNA in human identification: a review. PeerJ 7: e7314-e7314.

Blanco, A. and Blanco, G. (2017). Chapter 6 - Nucleic Acids. In A. Blanco and G. Blanco (Eds.). Medical Biochemistry. Academic Press. pp. 121-140.

Butler, J. M. (2012). Chapter 17 - New Technologies and Automation. In J. M. Butler (Ed.). Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology. San Diego: Academic Press. pp. 497-514.

Butler, J. M. (2015). The future of forensic DNA analysis. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 370(1674): 20140252.

Butler, J. M. and Levin, B. C. (1998). Forensic applications of mitochondrial DNA. Trends in Biotechnology 16(4): 158-162.

Christensen, A. M., Passalacqua, N. V. and Bartelink, E. J. (2019). Chapter 14 - Personal identification. In A. M. Christensen, N. V. Passalacqua, and E. J. Bartelink (Eds.). Forensic Anthropology (Second Edition). Academic Press. pp. 443-468.

Dahm, R. (2005). Friedrich Miescher and the discovery of DNA. Developmental Biology 278(2): 274-288.

Dembinski, G. M. and Picard, C. J. (2014). Evaluation of the IrisPlex DNA-based eye color prediction assay in a United States population. Forensic Science International: Genetics 9: 111-117.

Franklin, R. E. and Gosling, R. G. (1953). Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate. Nature 171(4356): 740-741.

Giannelli, P. C. (1997). The DNA Story: An Alternative View. (And the Blood Cried out, Harlan Levy). The Journal of Criminal Law and Criminology (1973-) 88(1): 380-422.

Herrera, R. J. and Garcia-Bertrand, R. (2018). Chapter 1 - The Nature of Evolution. In R. J. Herrera and R. Garcia-Bertrand (Eds.). Ancestral DNA, Human Origins, and Migrations. Academic Press. pp. 1-31.

Jeffreys, A. J., Brookfield, J. F. and Semeonoff, R. (1985). Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. Nature 317(6040): 818-819.

Jeffreys, A. J., Wilson, V. and Thein, S. L. (1985a). Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. Nature 314(6006): 67-73.

Jeffreys, A. J., Wilson, V. and Thein, S. L. (1985b). Individual-specific ‘fingerprints’ of human DNA. Nature 316(6023): 76-79.

Kayser, M. (2015). Forensic DNA Phenotyping: Predicting human appearance from crime scene material for investigative purposes. Forensic Science International: Genetics 18: 33-48.

Kayser, M. (2017). Forensic use of Y-chromosome DNA: a general overview. Human genetics 136(5): 621-635.

Kumar, S. R. B. and Newfeld, S. J. (2002). Modern Genetic Analysis: Integrating Genes and Genomes. By Anthony J F Griffiths, William M Gelbart, Richard C Lewontin, and Jeffrey H Miller. The Quarterly Review of Biology 77(4): 456-457.

Maddox, B. and Mcelheny, V. K. (2003). Rosalind Franklin: The Dark Lady of DNA. Journal of the History of Biology, 36(3): 591-597.

Marano, L. and Fridman, C. (2019). DNA phenotyping: current application in forensic science. Research and Reports in Forensic Medical Science 9: 1-8.

Marwal, A., Sahu, A. K. and Gaur, R. K. (2014). Chapter 16 - Molecular Markers: Tool for Genetic Analysis. In A. S. Verma & A. Singh (Eds.) Animal Biotechnology. San Diego: Academic Press. pp. 289-305.

Nelson, D. L., Cox, M. M., & Lehninger, A. L. (2013). *Lehninger principles of biochemistry*. New York: W.H. Freeman and Company.

Nelson, D. L., Cox, M. M. and Lehninger, A. L. (2017). Lehninger principles of biochemistry.

Pauling, L. and Corey, R. B. (1953). A Proposed Structure For The Nucleic Acids. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 39(2): 84-97.

Rerkamnuaychoke, B., Chantratita, W., Jomsawat, U., Thanakitgosate, J. and Rojanasunan, P. (2000). Forensic identification by DNA fingerprinting and mitochondrial DNA typing. Journal of the Medical Association of Thailand 83(3): 49-54.

Roewer, L. (2019). Y-chromosome short tandem repeats in forensics—Sexing, profiling, and matching male DNA. WIREs Forensic Science 1(4): e1336.

Schneider, P. M., Prainsack, B. and Kayser, M. (2019). The Use of Forensic DNA Phenotyping in Predicting Appearance and Biogeographic Ancestry. Deutsches Arzteblatt international 51-52(51-52): 873-880.

Stasiak, A. (2001). Rosalind Franklin. EMBO Reports 2(3): 181-181.

Voet, D. and Voet, J. G. (2010). Biochemistry, 4th Edition: W. Ross MacDonald School Resource Services Library.

Watson, J. D. and Crick, F. H. C. (1953). Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. Nature 171(4356): 737-738.

Wilkins, M. H. F., Stokes, A. R. and Wilson, H. R. (1953). Molecular Structure of Nucleic Acids: Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids. Nature 171(4356): 738-740.

Wong, Z., Wilson, V., Patel, I., Povey, S. and Jeffreys, A. J. (1987). Characterization of a panel of highly variable minisatellites cloned from human DNA. Annals of Human Genetics 51(4): 269-288.

Yun, L., Gu, Y., Rajeevan, H. and Kidd, K. K. (2014). Application of six IrisPlex SNPs and comparison of two eye color prediction systems in diverse Eurasia populations. International Journal of Legal Medicine 128(3): 447-453.

Zagorski, N. (2006). Profile of Alec J. Jeffreys. Proceedings of the National Academy of Sciences. 103(24): 8918.

❑❑❑❑❑