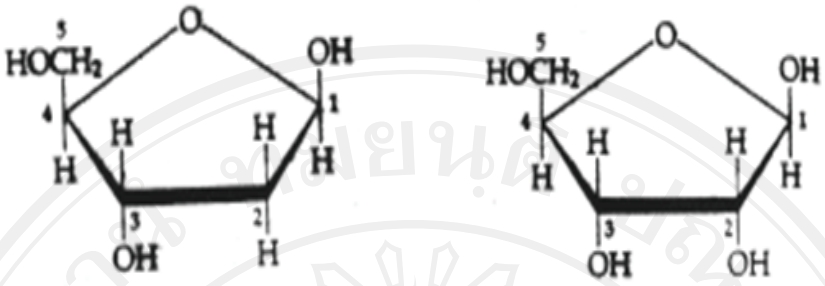
บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

สารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอจัดเป็นสารประกอบประเภทหนึ่งของกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) ซึ่งมีทั้งหมด 2 ชนิดคือ ดีเอ็นเอ (DNA) และอาร์เอ็นเอ (RNA) ดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอต่างเป็นพอลิเมอร์ของนิวคลีโอไทด์ ซึ่งประกอบด้วยไนโตรจีนัสเบส น้ำตาลเพนโทส และกรดฟอสฟอริก ดีเอ็นเอเป็นชื่อย่อมาจากคำเต็มว่า ดีออกซีไรโบนิวคลีอิก แอสิด (Deoxyribonucleic acid; DNA) ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของนิวคลีโอไทด์สองสาย (Double-strand) มาพันกันเป็นเกลียวฮีลิกซ์ โดยนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอประกอบด้วยน้ำตาลเพนโทสชนิดดีออกซีไรโบส (Deoxyribose) กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) และไนโตรจีนัสเบส (Nitrogenous base) ชนิดเพียวรีน คือ เบสอะดีนีน (Adenine) และเบสกัวนีน (Guanine) ชนิดไพริมิดีน คือ เบสไทมีน (Thymine) และ เบสไซโทซีน (Cytosine) ในขณะที่อาร์เอ็นเอเป็นชื่อย่อมาจากคำเต็มว่า ไรโบนิวคลีอิก แอสิต (Ribonucleic acid; RNA) ประกอบด้วย พอลินิวคลีโอไทด์สายเดี่ยว (Single-strand) นิวคลีโอไทด์ของอาร์เอ็นเอประกอบด้วย น้ำตาลไรโบส (Ribose) กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) และไนโตรจีนัสเบสชนิดเพียวรีน คือ เบสอะดีนีน(Adenine) และเบสกัวนีน (Guanine) ชนิดไพริมิดีน คือ เบส ยูราซิล (Uracil) และเบสไซโทซีน (Cytosine) โดยทั่วไปดีเอ็นเอเป็นแหล่งเก็บข้อมูลทางพันธุกรรมของสัตว์ชั้นต่ำและสัตว์ชั้นสูง และมีการถ่ายทอดข้อมูลออกไปให้อยู่ในภาพของอาร์เอ็นเอ ด้วยกระบวนการถอดรหัส (Transcription) ซึ่งจะมีกระบวนการแปลรหัส (Translation) จากอาร์เอ็นเอเป็นโปรตีนสำหรับทำหน้าที่ต่างๆ อีกทีหนึ่ง สารพันธุกรรมเหล่านี้ถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมให้อยู่ในภาพโปรตีน ซึ่งมีอิทธิพลอย่างมากต่อการเจริญและการควบคุมลักษณะของสิ่งมีชีวิต ทำให้เซลล์ทำหน้าที่ต่างๆ ได้เป็นปรกติ นอกจากนั้นสารพันธุกรรมเหล่านี้ยังมีความสามารถในการจำลองตัวเองด้วยวิธีการต่างๆ เป็นการรักษาเผ่าพันธุ์และสืบทอดข้อมูลเหล่านี้ไปยังลูกหลาน (ตรีทิพย์, 2552)

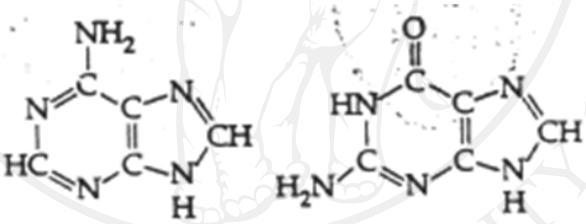
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



Deoxyribose Ribose

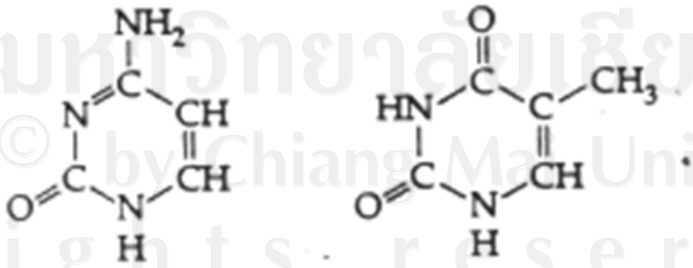
ภาพ 1 โครงสร้างทางเคมีของน้ำตาลเพนโทสที่เป็นองค์ประกอบในดีเอ็นเอคือ ดีออกซีไรโบส (Deoxyribose) และในอาร์เอ็นเอคือไรโบส (Ribose)

Purine



Adenine (A) Guanine (G)

Pyrimidine

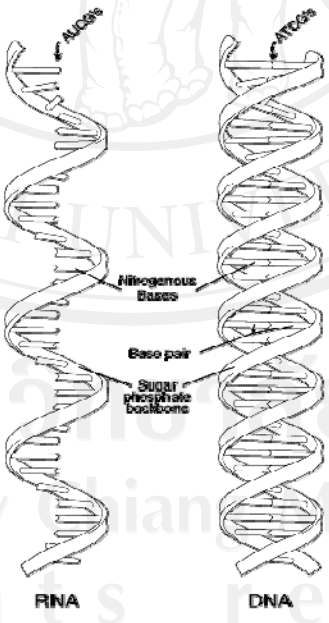


Cytosine (C) Thymine (T)

ภาพ 2 โครงสร้างทางเคมีของไนโตรจีนัสเบส ชนิดเพียวรีนและไพริมิดีน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

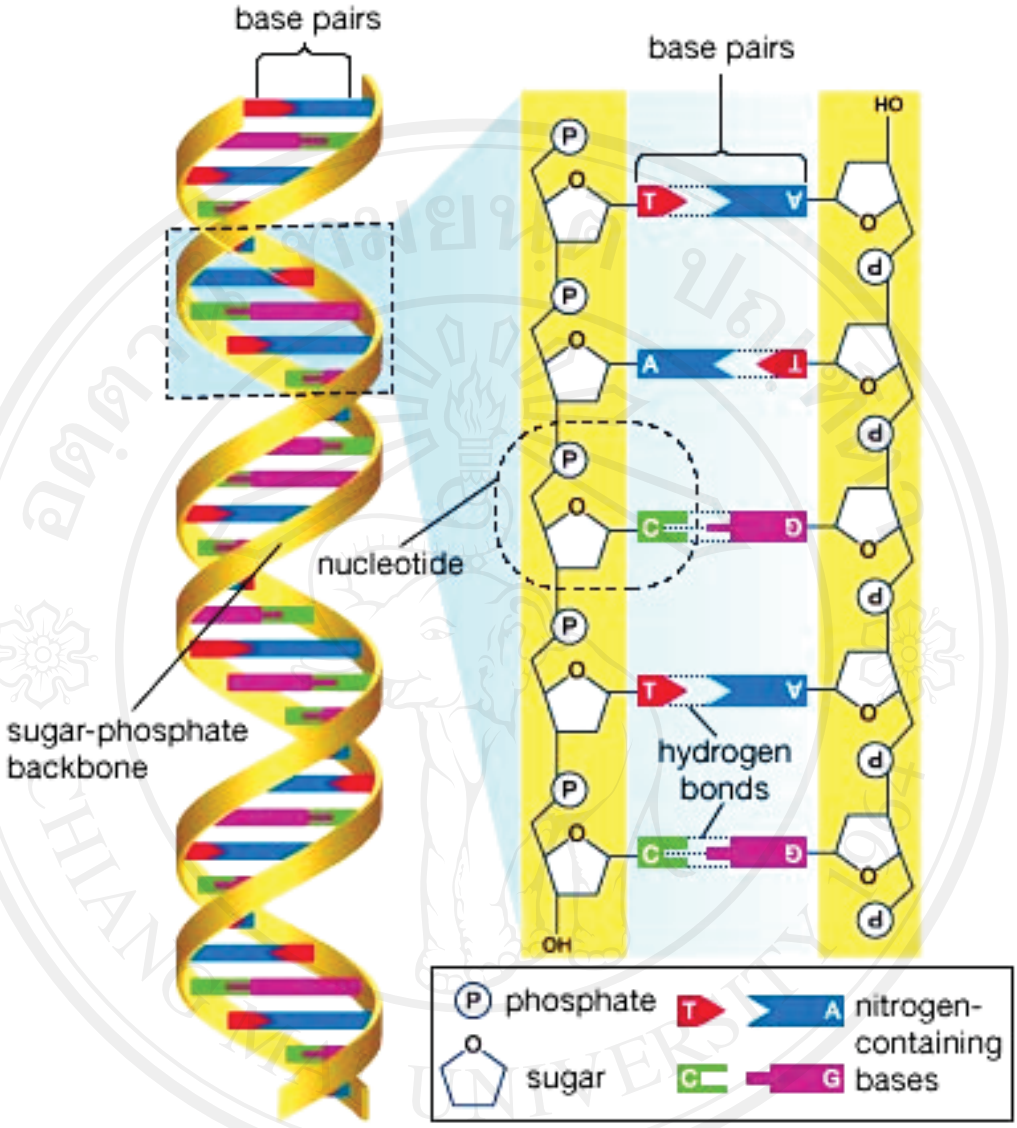
เกลียวฮีลิกซ์ของดีเอ็นเอ (Double-stranded DNA) มีโครงสร้างทางเคมีเป็นพอลิเมอร์ของนิวคลีโอไทด์สองสายมาพันกันเป็นเกลียว โดยทั่วไปจะเป็นเกลียวเวียนขวา (Right-handed Helix) พอลิเมอร์นิวคลีโอไทด์แต่ละสายประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์เป็นหน่วยย่อยเรียงต่อกันด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ มีปลาย 5'-phosphase และ 3'-OH โดยนิวคลีโอไมด์ทั้งสองสายเรียงตัวกันในทิศทางตรงกันข้าม (Antiparallel) สายหนึ่งเรียงตัวจาก 5'-phosphase ไปยัง 3'-OH อีกสายหนึ่งเรียงจาก 3'-OH ไปยัง 5'-phosphase แกนของของทั้งสองสายเป็นส่วนของน้ำตาลเพนโทสต่อกับหมู่ฟอสเฟสด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ ส่วนเบสนั้นจะยื่นเข้าหากันโดยมีพันธะไฮโดรเจนยึดอยู่ระหว่างเบสที่จำเพาะคือ อะดีนีนจะจับคู่กับไทมีนด้วยพันธะไฮโดรเจนสองพันธะ (A-T base pair) กัวนีนจะจับคู่กับไซโทซีนด้วยพันธะไฮโดรเจนสามพันธะ (G-C base pair) จึงแข็งแรงกว่าคู่เบสอะดีนีนกับเบสไทมีน การจับตัวของเบสในลักษณะนี้ ทำให้ได้โครงสร้างดีเอ็นเอที่บิดเป็นเกลียวฮีลิกซ์ เนื่องจากการจัดตัวของอะตอมในโมเลกุลของเบสแต่ละตัวมีโครงสร้างที่แน่นอน และเมื่อจับคู่กับเบสอีกชนิดหนึ่งจึงทำให้เกิดการบิดตัวของโมเลกุลของดีเอ็นเอ สำหรับตัวเบสนั้นเป็น Heterocyclic Nitrogenous Base จะเกิดพันธะไฮโดรโฟบิกระหว่างเบสที่อยู่ซ้อนกันในแต่ละสาย (Stacking base) ดังนั้น พันธะไฮโดรเจนและพันธะไฮโดรโฟบิกจึงเป็นพันธะหลักที่ช่วยให้เกลียวฮีลิกซ์ของดีเอ็นเอคงภาพอยู่ได้



ภาพ 3 ลักษณะพอลินิวคลีโอไทด์สายเดี่ยวของ RNA และพอลินิวคลีโอไทด์สายคู่ของ DNA

ที่มา: http://www.accessexcellence.org

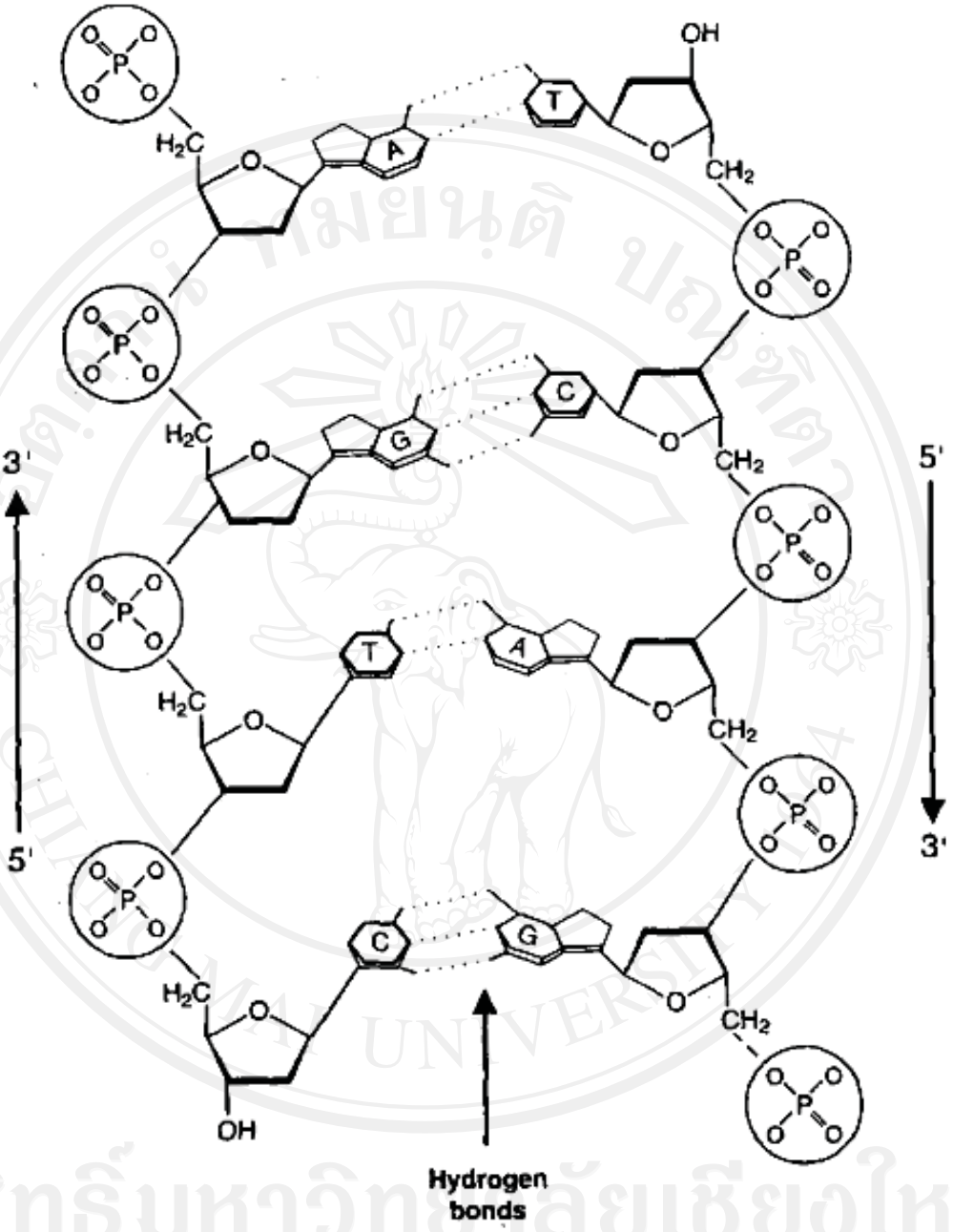
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 4 โครงสร้างเกลียวฮีลิกซ์ของดีเอ็นเอ แสดงพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบส (AT หรือ GC)

ที่มา: http://www.biogang.com/images/dnastructure2.jpg

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 5 การจัดตัวของสายพอลินิวคลีโอไทด์สองสายของดีเอ็นเอไปในทิศทางตรงกันข้าม

ที่มา: http://upload.vipulg.com/Zoology/759/Chapter4_files/Chapter4-42.png

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าดีเอ็นเอในสิ่งมีชีวิตของสัตว์ชั้นสูง (Eukaryotic cell) และของสัตว์ชั้นต่ำ (Prokaryotic cell) ต่างมีหน้าที่หลักในการจำลองตัวเองและถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมให้ได้โปรตีนที่ทำหน้าที่ต่างๆ ทำนองเดียวกัน แต่ดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตทั้งสองมีลักษณะและกลไกการทำงานที่แตกต่างกัน สัตว์ชั้นต่ำเช่นแบคทีเรียไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส (Nuclear membrane) ดีเอ็นเอในเซลล์ของสัตว์ชั้นต่ำจึงอยู่ร่วมกับออร์แกเนลล์อื่นๆ ในไซโตพลาสซึม โดยดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นวงกลมประกอบด้วย พอลินิวคลีโอไทด์สองสายพันกันเป็นสายเกลียวต่อเนื่องกันไม่มีปลายเปิดอยู่ในลักษณะเดี่ยว เรียกว่า แฮพลอยด์ (Haploid) (มีโครโมโซม 1 ชุด) ส่วนสัตว์ชั้นสูงเช่นพืชหรือสัตว์นั้นมีเยื่อหุ้มนิวเคลียส มีดีเอ็นเอหลักอยู่ภายในนิวเคลียส ลักษณะดีเอ็นเอภายในนิวเคลียสจะเป็นเส้นตรง ภายในประกอบด้วยพอลินิวคลีโอไทด์สองสายพันกันเป็นเกลียวและมีปลายเปิดที่หัวท้าย อยู่ในลักษณะเป็นคู่ที่เรียกว่า ดิพลอยด์ (Diploid) (มีโครโมโซม 2 ชุด) เป็นที่น่าสนใจว่านอกจากจะมีดีเอ็นเอในนิวเคลียสแล้วยังมีดีเอ็นเออยู่ในออร์แกเนลล์ที่อยู่ในไซโตพลาซึมของสัตว์ชั้นสูงทั้งพืชและสัตว์ด้วย โดยพืชมีดีเอ็นเออยู่ในคลอโรพลาสต์ (Chloroplast) ส่วนสัตว์มีดีเอ็นเออยู่ในไมโตคอนเดรีย (Mitochondria) ดีเอ็นเอในไซโตพลาซึมมีลักษณะต่างจากดีเอ็นเอในนิวเคลียสแต่คล้ายคลึงกับดีเอ็นเอของสัตว์ชั้นต่ำ นั่นคือเป็นเกลียวฮีลิกซ์ที่เป็นวงกลมปลายปิด ซึ่งมีกระบวนการจำลองตัวเองและถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมเป็นอิสระจากกระบวนการของดีเอ็นเอในนิวเคลียส แต่ผลผลิตที่ได้ระหว่างดีเอ็นเอในนิวเคลียสและดีเอ็นเอในไซโตพลาซึมทำหน้าที่ร่วมกันคือ ทำให้สิ่งมีชีวิตนั้นๆ สามารถใช้ชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นปกติ (ตรีทิพย์, 2552)

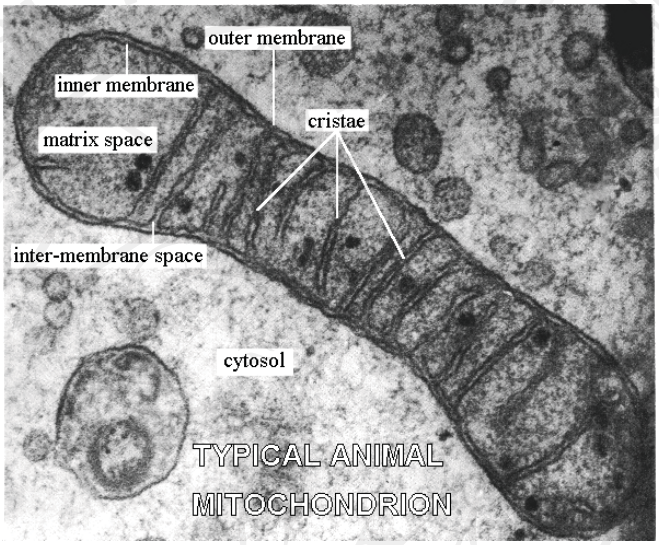
ไมโตคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่พบในสิ่งมีชีวิตพวก ยูแคริโอตที่หายใจแบบใช้ออกซิเจนเท่านั้น พบครั้งแรกโดย คอลลิกเกอร์ (Kollicker) ไมโตคอนเดรียมีภาพร่างกลม ท่อนสั้น ท่อนยาว หรือกลมรีคล้ายรูปไข่ โดยทั่วไปมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2–1 ไมครอน และยาว 5-7 ไมครอน ประกอบด้วยสารโปรตีนร้อยละ 60–65 และลิพิดประมาณร้อยละ 35-40 ไมโตคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่มียูนิตเมมเบรนหุ้ม 2 ชั้น(Double unit membrane)โดยชั้นนอกเรียบมีความหนาประมาณ 60–70 อังสตรอม เยื่อชั้นในพับเข้าด้านในเรียกว่า คริสตี (Cristae)ภายในของไมโตคอนเดรียมีของเหลวซึ่งประกอบด้วยสารหลายชนิดเรียกว่า เมทริกซ์ (Matrix) ในไมโตคอนเดรียนอกจากมีสารประกอบเคมีหลายชนิดแล้วยังมีเอนไซม์ที่สำคัญในการสร้างพลังงานจากการหายใจระดับเซลล์

โครงสร้างของไมโตคอนเดรีย มีเยื่อหุ้ม 2 ชั้น ดังนี้

1. เยื่อหุ้มชั้นนอก (Outer membrane) มีลักษณะเรียบหน้าที่คอยควบคุมการผ่านเข้าออกของสาร

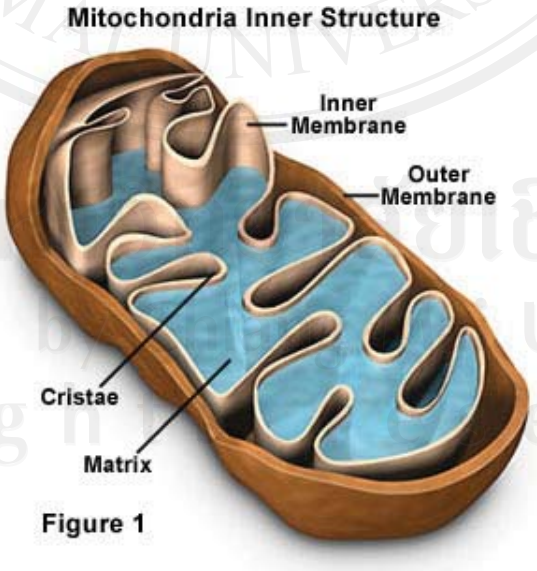
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. เยื่อหุ้มชั้นใน (Inner membrane) มีลักษณะหยักไปมาคล้ายวิลลัสในลำไส้คน เรียกว่า คริสตา (Crista) ที่เยื่อชั้นในมีโครงสร้างเล็กๆ ลักษณะเป็นเม็ดกลมๆ เรียกว่า Inner membrane Particle ติดอยู่เต็มไปหมด โครงสร้างเล็กๆ มีหน้าที่เป็นแหล่งเก็บสารที่เป็นตัวรับไฮโดรเจนและตัวรับอิเล็กตรอน



ภาพ 6 ภาพถ่ายของไมโตคอนเดรียจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

ที่มา : www.bmb.leeds.ac.uk/illingworth/dance/spaces.gif



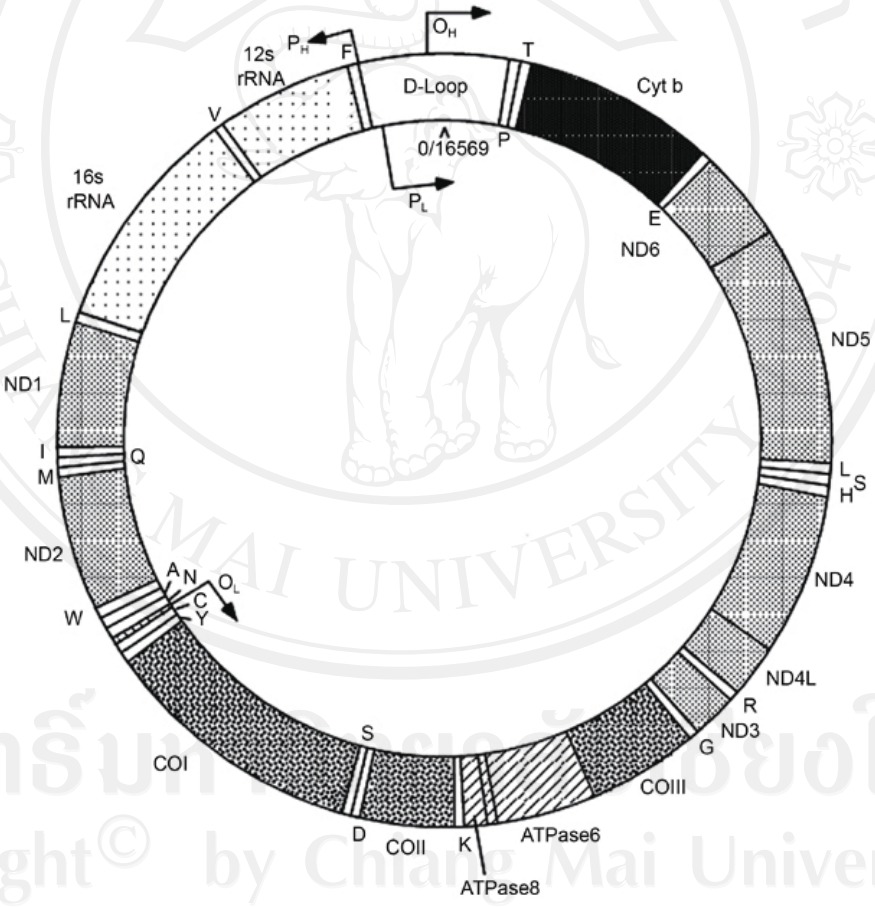
ภาพ 7 โครงสร้างภายในของไมโตคอนเดรีย

ที่มา : www.cartage.org.lb

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จำนวนไมโตคอนเดรียในเซลล์แต่ละชนิดจะมีจำนวนไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับชนิดและกิจกรรมของเซลล์ เซลล์ที่มีเมแทบอลิซึมสูงจะมีไมโตคอนเดรียมาก เช่น เซลล์ตับ เซลล์ไต เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ เซลล์ต่อมต่าง ๆ ส่วนเซลล์ที่มีเมแทบอลิซึมต่ำ เช่น เซลล์ผิวหนัง เซลล์เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน จะมีไมโตคอนเดรียน้อย หน้าที่ของไมโตคอนเดรียคือเป็นแหล่งผลิตพลังงานให้แก่เซลล์ หรือเป็นบริเวณที่เกิดการหายใจภายในเซลล์ (Internal respiration)

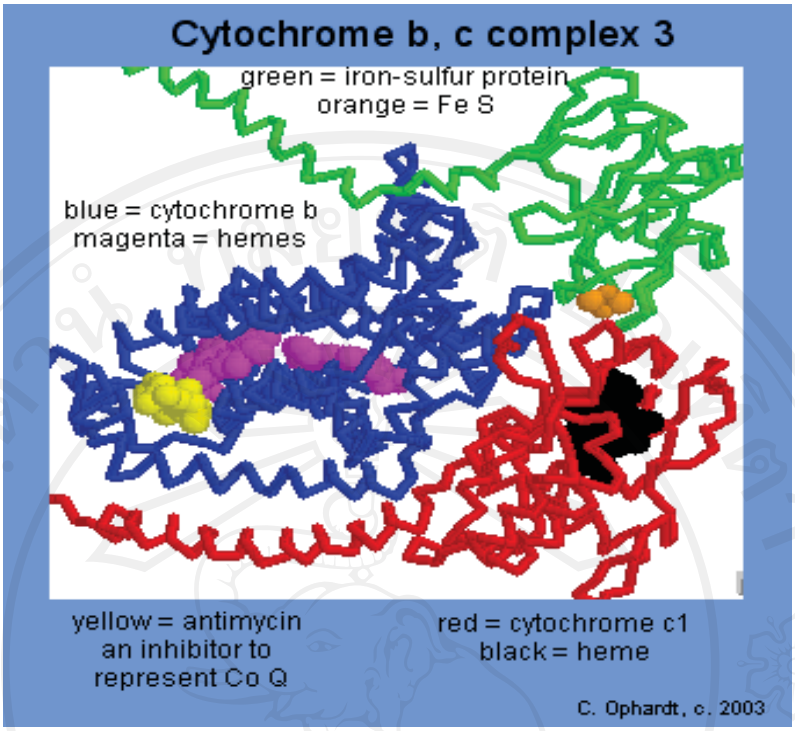
ไซโตโครม (Cytochrome) คือรงควัตถุในรูปโปรตีน ซึ่งมีธาตุเหล็ก(Fe)เป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่สำคัญ คือเป็นตัวรับและถ่ายทอดอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจคือ Cytochrome b Cytochrome c และ Cytochrome a ตามลำดับ (ธนาลัย อรัญญิก, 2009)



ภาพ 8 ผังของยีนต่างๆ ในยีโนมของไมโตคอนเดรีย

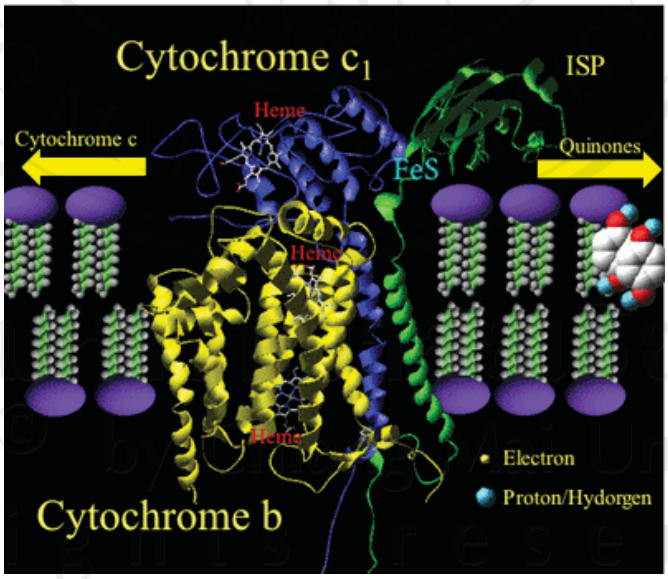
ที่มา: http://www.nature.com/cr/journal/v17/n3/images/7310124f2.jpg

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 9 ภาพร่างของไซโตโครม

ที่มา : www.bangkokcity.com



ภาพ 10 ไซโตโครมบนเยื่อหุ้มชั้นในของไมโตคอนเดรีย

ที่มา : www.emc.maricopa.edu/.../BIOBK/lactferm.gif

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับยีน Cytochrome *b* ซึ่งโดยทั่วไปใช้ในการกำหนดความสัมพันธ์ภายใน Phylogenetic ของสัตว์ จากการผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ และถือว่าเป็นประโยชน์มากที่สุดในการกำหนดความสัมพันธ์ภายในครอบครัวและสกุล การศึกษาเปรียบเทียบเกี่ยวกับ Cytochrome *b* มีผลในต่อการจำแนกสกุลสัตว์แบบใหม่ จึงถูกนำมาใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในการศึกษาเพื่อแยกมนุษย์ออกจากสัตว์ชนิดอื่นได้ ส่วนใหญ่ยีน Eukaryotic มีหลายรูปแบบประกอบด้วยภาพแบบที่ซ้ำกันสามตัวและซ้ำกันสี่ตัวบนสายดีเอ็นเอสั้นๆ จากการรายงานของ Crouse และคณะ (1995) ได้แสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนของการแสดงออกของยีนในหลายกลุ่มประชากรมนุษย์ โดยทำการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอของสัตว์ 23 ชนิด โดยใช้ 9 ไพรเมอร์ของ Short Tandem Repeat หรือ STR เพื่อประเมินความจำเพาะเจาะจงของพันธุกรรมของมนุษย์ ตำแหน่ง STR ที่ใช้ทดสอบประกอบด้วย CSF1PO, TPOX, THO1, HPRTB, FESFPS, vWF และ FI3A01 เป็นระบบเดี่ยว และระบบที่ตรวจสามตำแหน่ง คือ CSFIPO/TPOX/THO1 และ HPRTB/FESFPS/vWF จากการสังเกตไม่พบผลิตภัณฑ์ PCR ของสัตว์ 17 ชนิด จาก 23 ชนิด ในระบบ STR ใดเลยในลิง Rhesus ตรวจพบ STR DNA fragment ในตำแหน่ง CSF1PO, TPOX และ HPRTB. สำหรับมนุษย์ ชิมแพนซี กอริลลา และอุรังอุตัง ตรวจพบ STR ดีเอ็นเอ 8 ใน 9 ตำแหน่งไพรเมอร์ FESFPS ไม่สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ไม่ว่าจากสัตว์ชนิดใด PCR product ที่ได้จากสัตว์ชนิด Primate (พวกลิง) ส่วนใหญ่เมื่อตรวจทาง Electrophoresis แล้ว จะพบว่าแถบ DNA จะวิ่งไปนอกเขตที่เป็น Allelic ladder ของมนุษย์ จากการวิจัยนี้จึงอาจสรุปได้ว่า การออกแบบ Allele เพื่อคัดแยกดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์จึงไม่สามารถเป็นไปได้

Bataille และคณะ (1998) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการแยกแยะความแตกต่างระหว่างมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่นออกจากกันด้วยดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียในยีนส่วน D-loop โดยทำการศึกษาดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์อื่นอีกจำนวน 4 ชนิด ซึ่งได้แก่ หมู ไก่ ม้า และวัว โดยทำการสกัดดีเอ็นเอจากเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มของมนุษย์และตัวอย่างเนื้อสัตว์ทั้งสี่ชนิด และทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR ผลจากการศึกษาพบว่า ดีเอ็นเอของมนุษย์จะเกิดการแยกตัวออกเป็นสองแถบจากการทำ Agarose gel electrophoresis ส่วนดีเอ็นเอของสัตว์จะเกิดเพียงหนึ่งแถบเท่านั้น แถบแรกจะปรากฏที่ตำแหน่ง 309 bp ส่วนแถบที่สองจะอยู่ที่ตำแหน่ง 259 bp การระบุดีเอ็นเอของมนุษย์สามารถตรวจได้ในไมโตคอนเดรียในส่วนของยีน D-loop ส่วนการระบุดีเอ็นเอของสัตว์จะปรากฏผลชัดเจนกว่าหากเป็นการระบุด้วยดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียในส่วนของยีนที่เรียกว่า Cytochrome *b* ดังนั้นจากการศึกษานี้จึงเป็นประโยชน์ในด้านนิติวิทยาศาสตร์เนื่องจากสามารถพิสูจน์เบื้องต้นโดยการแยกแยะดีเอ็นเอของมนุษย์ออกจากสัตว์ที่ทำการศึกษาทั้งสี่ชนิดได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Matsuda และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษารูปแบบของดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียของมนุษย์ในช่วงของดีเอ็นเอที่เรียกว่า Cytochrome *b* ของมนุษย์เพื่อทำการเปรียบเทียบกับลิง 4 ชนิด ได้แก่ ลิงซิมแพนซี ลิงกอลิล่า ลิงญี่ปุ่น และลิงแสม โดยการสกัดดีเอ็นเอจากเลือดของมนุษย์จำนวน 48 ราย (หญิง 18 ชาย 30) และลิงทั้งหมด และออกแบบไพรเมอร์ใหม่เพื่อทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิค PCR หลังทำการตรวจสอบพบว่า ไพรเมอร์ของมนุษย์และไพรเมอร์ของลิงชิมแพนซีมีความแตกต่างกันทั้ง Forward primer และ Reverse primer โดยมีความแตกต่างกัน 26% (7 bp/27 bp) และ 26% (6 bp/23 bp) ตามลำดับ เมื่อทำการตรวจสอบการเพิ่มปริมาณของดีเอ็นเอโดยใช้ไพรเมอร์ที่ออกแบบขึ้นด้วย Agarose gel electrophoresis พบว่า มีการปรากฏแถบดีเอ็นเอของมนุษย์ทั้งหมด 48 ตัวอย่างปรากฏแถบดีเอ็นเอบนแผ่นเจลและตรงกับตำแหน่ง 157 bp ซึ่งเป็นตำแหน่งคาดหมายเอาไว้ แต่ไม่พบแถบดีเอ็นเอของลิงชนิดใดเลย และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับสัตว์ชนิดอื่นได้แก่ วัว หมู สุนัข แกะ หนู ไก่ และปลาทูน่า ผลจากการทดสอบพบว่าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของสัตว์ชนิดอื่นเช่นกัน และยังพบว่าไพรเมอร์ของสัตว์ชนิดอื่นแตกต่างจากไพรเมอร์ของมนุษย์ทั้ง Forward primer และ Reverse primer นอกจากนี้ยังทำการทดสอบตัวอย่างวัตถุพยานที่เก็บไว้เป็นระยะเวลานานอย่างเช่น คราบเลือด รากผม และกระดูก เป็นต้น ก็ประสบผลสำเร็จในการระบุว่าเป็นของมนุษย์ได้อย่างถูกต้อง จากการศึกษานี้จึงสรุปได้ว่า ไพรเมอร์ของยีนไซโตโครมบีในไมโตคอนเดรียที่ออกแบบขึ้นมานั้นมีความจำเพาะกับดีเอ็นเอของมนุษย์และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจพิสูจน์คราบเลือด เส้นผมเส้นขน หรือกระดูก เพื่อแยกว่าเป็นของมนุษย์หรือสัตว์ได้ในทางนิติวิทยาศาสตร์

นอกจากจะใช้ความรู้เรื่องดีเอ็นเอในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลแล้ว ยังมีการประยุกต์ใช้ความรู้ด้านนี้ไปใช้ประโยชน์ทางด้านการตรวจสอบคุณภาพอาหารเพื่อคุ้มครองสิทธิของผู้บริโภคอีกด้วยทั้งนี้เทคนิค PCR เป็นเทคนิคที่นิยมมากที่สุดในการนำมาใช้ประกอบในการศึกษาและตรวจสอบ Andreo และคณะ (2004) ศึกษาการใช้เทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของสัตว์เพื่อทำการตรวจสอบชนิดและปริมาณของเนื้อสัตว์ที่ผสมกันอยู่ในอาหารสำเร็จรูปที่ผลิตจากโรงงาน โดยทำการสกัดและเปรียบเทียบดีเอ็นเอจากเนื้อสัตว์ 6 ชนิด ได้แก่ วัว หมู แกะ ไก่ ไก่งวง และนกกระจอกเทศ ซึ่งผสมอยู่ในอาหารสำเร็จรูป จากกระบวนการตรวจสอบพบว่าขอบเขตปริมาณของดีเอ็นเอแม่แบบที่จะสามารถทำการตรวจสอบได้นั้นอยู่ที่ 0.3 ถึง 0.8 พิโคกรัม สามารถทำการตรวจสอบเนื้อสัตว์ที่ผสมกัน 2 ถึง 4 ชนิด โดยใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของสัตว์ ทั้งนี้สามารถตรวจสอบการปนเปื้อนหรือการผสมของเนื้อสัตว์ได้เมื่อมีปริมาณมากกว่า 1% สำหรับเนื้อหมู เนื้อไก่ หรือเนื้อไก่งวง และมีปริมาณมากกว่า 5% สำหรับเนื้อวัวหรือเนื้อแกะ ซึ่งความถูกต้องแม่นยำของกระบวนการการตรวจสอบเชิงปริมาณพบว่า หากมีการผสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือการปนเปื้อนของเนื้อวัวหรือเนื้อหมูในอาหารสำเร็จรูปในปริมาณตั้งแต่ 10 ถึง 100% สามารถตรวจสอบเชิงปริมาณได้ในความถูกต้องเกือบ 90% ดังนี้จากการศึกษานี้สรุปได้ว่า สามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อตรวจสอบชนิดของเนื้อสัตว์กรณีที่เป็นข้อสงสัยว่าอาหารที่ประกอบขึ้นนั้นได้ใช้เนื้อสัตว์ชนิดใดหรือได้ใช้เนื้อสัตว์ที่มีมาตรฐานหรือไม่ ในอัตราส่วนเท่าไร ซึ่งเป็นการตรวจระบุชนิดของเนื้อสัตว์เพื่อให้การคุ้มครองแก่ผู้บริโภคและให้ความเป็นธรรมแก่ผู้ผลิตอาหารสำเร็จรูป

Karlsson และคณะ (2007) ทำการศึกษาเกี่ยวกับการระบุชนิดของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม โดยอาศัยการตรวจ 12S rRNA และ 16S rRNA ในไมโตคอนเดรีย (ประมาณ 100 bp)โดยทำการศึกษาตัวอย่างสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจำนวน 78 ตัว 28 ชนิด ซึ่งทำการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของสัตว์ตัวอย่าง แล้วนำผลจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR มาทำการเปรียบเทียบกัน จากนั้นนำไปเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอของมนุษย์ พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างดีเอ็นเอของสัตว์เลี้ยงชนิดอื่นๆ สรุปได้ว่า ดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียสามารถแยกมนุษย์ออกจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่นได้

Li-Chin และคณะ (2007) ได้ถูกร้องขอให้เข้าร่วมในการตรวจสอบพยานวัตถุที่ได้จากการกระทำความผิดเกี่ยวสัตว์ป่าสงวน จากกระทรวงการเกษตรให้ทำการตรวจสอบและระบุชนิดของสัตว์จากวัตถุพยานจำนวน 5 ชิ้น ได้แก่ หนังสัตว์จำนวน 2 ชิ้น อวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์ตัวผู้ อัณฑะ และชิ้นเนื้อของสัตว์อีกจำนวน 1 ชิ้น Li-Chin และคณะ ได้ทำการตรวจสอบโดยใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณของดีเอ็นที่เรียกว่า Cytochrome *b* ที่สามารถใช้ในการระบุชนิดของสัตว์ที่ต้องสงสัยได้โดยเป็นการทำเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอถึงสองครั้งเพื่อความแม่นยำมากยิ่งขึ้น โดยการทำ PCR ครั้งแรกใช้ไพรเมอร์ที่ทำให้เกิด PCR product ขนาด 486 bp และครั้งที่สองใช้ไพรเมอร์ที่ทำให้ได้ PCR product ขนาด 251 bp หลังการการตรวจสอบพบว่า หนังสัตว์ทั้งสองชิ้นนั้นเป็นหนังของแมว ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์ตัวผู้ อัณฑะ และชิ้นเนื้อของสัตว์อีกจำนวน 1 ชิ้นนั้นเป็นของวัว โดยไพรเมอร์ที่ทำการออกแบบขึ้นนั้นให้ความแม่นยำในการตรวจไม่ต่ำกว่า 99.7% เป็นการตรวจโดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า Nested PCR จากผลดังกล่าวเป็นหลักฐานที่ใช้ยืนยันการกระทำความผิดและช่วยให้สามารถดำเนินการตามกฎหมายเพื่อเอาผิดกับผู้กระทำความเกี่ยวกับการลักลอบล่าสัตว์ป่าได้

Tobe และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจคัดแยก species ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมโดยใช้ส่วนของยีน Cytochrome *b* (Cyt *b*) และ Cytochrome *c* subunit I (COI) เพื่อเปรียบเทียบว่ายีนส่วนใดสามารถที่จะใช้คัดแยกชนิดของสิ่งมีชีวิตได้ดีกว่ากัน โดยทำการตรวจสอบถึงความแตกต่างของยีนระหว่างสิ่งมีชีวิตแต่ละ species กับความแตกต่างของยีนภายใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

species เดียวกัน ซึ่งทำการตรวจสอบ DNA sequence ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหมด 236 ชนิด ส่วนสัตว์ species เดียวกันทำการศึกษาภายในมนุษย์ วัว และสุนัข โดยพบว่า ทั้งยีน Cytochrome *b* และ Cytochrome *c* subunit I สามารถตรวจพิสูจน์คัดแยก species ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้ แต่ไม่สามารถตรวจคัดแยกสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่อยู่ภายใน species เดียวกันได้ ขนาดของสายดีเอ็นเอที่พบว่ามีความแตกต่างของเบสมากที่สุดคือ 20 คู่เบสระหว่าง species ที่ต่างกัน โดย Cytochrome *b* ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม species ต่างๆ ที่ทำการศึกษาอยู่ระหว่างลำดับเบสที่ 1130 ถึง 1149 ซึ่งจากการศึกษานี้ เป็นการช่วยสนับสนุนการใช้ยีน Cytochrome *b* ในการคัดแยกสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งให้ข้อมูลที่เด่นชัดกว่า ด้วยขนาดของยีนที่เล็กกว่า แต่อย่างไรก็ดี ยีนดังกล่าวไม่สามารถที่จะคัดแยกสิ่งมีชีวิตภายใน species เดียวกันออกจากได้ ดังนั้น การคัดแยกสัตว์ใน species เดียวกัน จำเป็นต้องอาศัยการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับยีนตำแหน่งอื่นๆ ต่อไปในอนาคต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved