

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

พยานหลักฐานทางชีวภาพ อาทิ เลือด เส้นผม เส้นขน เนื้อเยื่อ น้ำลาย กระดูก คราบอสุจิ ถือได้ว่าเป็นสิ่งส่งตรวจที่สำคัญในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากสามารถช่วยพิสูจน์ทราบถึงสาเหตุ พฤติกรรมและบุคคล หรือสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นที่มีความเกี่ยวข้องกับเหตุการณ์หรือคดีที่เกิดขึ้น ในบางครั้งพยานหลักฐานทางชีวภาพดังกล่าวไม่สามารถพิสูจน์ทราบถึงชนิดของเจ้าของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจนั้นๆ ได้ด้วยวิธีการทางกายภาพ กายวิภาค หรือทางชีวเคมี จึงทำให้ปัจจุบันมนุษย์มีความพยายามที่จะค้นหาวีธีการใหม่ๆ ทางวิทยาศาสตร์ที่มีความจำเพาะ สะดวก รวดเร็ว เข้ามาประยุกต์ใช้เพื่อช่วยในการตรวจพิสูจน์ แสวงหาข้อเท็จจริงและที่สำคัญช่วยให้พยานหลักฐานชิ้นนั้นมีประโยชน์ต่อรูปคดีที่เกิดขึ้นให้มากที่สุด

การตรวจดีเอ็นเอถือได้ว่าเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ มีการยอมรับและมีความเชื่อมั่นในความถูกต้อง แม่นยำของเทคนิคสูง การตรวจดีเอ็นเอจะมีวัตถุประสงค์หลายอย่าง เช่น เพื่อการตรวจพิสูจน์บุคคล การตรวจสอบเพื่อทราบชนิดของสัตว์ที่เป็นเจ้าของตัวอย่างดีเอ็นเอ ในกรณีนี้จะนิยมตรวจจากยีนไซโตโครม บี ซึ่งเป็นยีนที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย ลำดับเบสของยีนไซโตโครม บีค่อนข้างอนุรักษ์ กล่าวคือ จะคงลักษณะ รูปร่างและคุณสมบัติต่างๆ ไว้เหมือนเดิม ถึงแม้มีปริมาณตัวอย่างที่น้อย หรือถูกเก็บไว้เป็นระยะเวลาาน การเปรียบเทียบลำดับเบสทำได้สะดวก รวมทั้งยังมีการแปลรหัสเป็นโปรตีนที่มีความจำเพาะและมีความหลากหลายสูง จึงสามารถออกแบบไพรเมอร์ (Primer) ที่มีความจำเพาะกับตัวอย่างสิ่งส่งตรวจและสามารถนำเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction; PCR) เข้าร่วมในการช่วยเพิ่มปริมาณส่วนดังกล่าวได้อีกด้วย

จากปัญหาและความรู้ดังกล่าว ทำให้งานค้นคว้าแบบอิสระในครั้งนี้ต้องการที่จะทำการศึกษาเกี่ยวกับการตรวจพิสูจน์ทราบดีเอ็นเอของไก่ โดยใช้ไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อยีนไซโตโครม บี ซึ่งจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้ในหลายกรณี เช่น กรณีการเกิดข้อพิพาททางกฎหมายในคดีอาญา หรือกรณีเกี่ยวกับกฎหมายคุ้มครองผู้บริโภค เป็นต้น

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาและทดสอบวิธีการในการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอของไก่ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนไซโตโครม บี

สมมติฐานของการศึกษา

หลังจากทำการศึกษาค้นคว้าจะได้วิธีการในการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอของไก่ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนไซโตโครม บี

ขอบเขตของการศึกษา

ขอบเขตประชากร

- ตัวอย่างดีเอ็นเอจากเลือดของไก่พันธุ์เนื้อที่มีการเลี้ยงไว้เพื่อจำหน่าย จำนวน 45 ตัวอย่าง
- ตัวอย่างดีเอ็นเอจากเลือดของมนุษย์ ปลา และเป็ด ชนิดละ 25 ตัวอย่าง
- ตัวอย่างดีเอ็นเอจากเส้นขนที่มีเยื่อหุ้มรากติดอยู่ของหมู และวัว ชนิดละ 25 ตัวอย่าง

ขอบเขตการทดลอง

ตัวอย่างดีเอ็นเอของไก่พันธุ์เนื้อจำนวน 45 ตัวอย่าง ถูกสกัดด้วยวิธี Chelex จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR และตรวจสอบผลโดยการวิเคราะห์แถบผลิตภัณฑ์ PCR ด้วย agarose gel electrophoresis ซึ่งดำเนินการตรวจสอบซ้ำจำนวน 2 ครั้งก่อนทำการตรวจสอบความจำเพาะของวิธีการที่ใช้ในการศึกษา โดยนำไปตรวจสอบกับตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ชนิดอื่น ได้แก่ มนุษย์ ปลา หมู วัว และเป็ด ชนิดละ 25 ตัวอย่าง

นิยามศัพท์เฉพาะ

agarose gel electrophoresis หมายถึง เทคนิคที่ใช้วิเคราะห์ แยกสารและเตรียมสารที่มีประจุไฟฟ้า เช่น กรดอะมิโน โปรตีนและกรดนิวคลีอิก ให้บริสุทธิ์ โดยอาศัยหลักการที่ว่า เมื่อให้สนามไฟฟ้า สารที่มีประจุไฟฟ้าจะเคลื่อนที่ไปยังขั้วตรงกันข้ามกันด้วยอัตราเร็วในการเคลื่อนที่ ซึ่งจะขึ้นกับปริมาณประจุสุทธิบน โมเลกุลของสาร รูปร่าง และขนาดของโมเลกุลของสารนั้น

Base pair (bp) หมายถึง คู่เบส จะเป็นการจับคู่เบส A กับ T และ G กับ C ในดีเอ็นเอ
เกลียวคู่ ซึ่งในอาร์เอ็นเอการจับคู่กันของเบสอาจเกิดขึ้นได้ในบางสถานการณ์เท่านั้น

Chelex เป็นเม็ด resin ขนาดเล็กที่ช่วยจับไอออนของโลหะหนัก เช่น Hg^{2+} , Cd^{2+} และ
 Zn^{2+} ไว้เพื่อรักษาสภาพของดีเอ็นเอไม่ให้ถูกทำลาย

Cytochrome b gene หมายถึง ยีนที่อยู่ในโครงสร้างของยีนโนมของไมโทคอนเดรีย
จะเป็นดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็ก มีรหัสในการสร้างรงควัตถุที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งอิเล็กตรอน
ในกระบวนการหายใจ

Deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs) เป็นนิวคลีโอไทด์ที่ใช้เป็นหน่วยย่อย
สำหรับการนำไปสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่

DNA buffer หมายถึง สารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ควบคุมสถานะของการทำปฏิกิริยาให้
เหมาะสม

DNA polymerase หมายถึง เอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์สายดีเอ็นเอให้ยาวขึ้น ภายใต้การนำ
ของดีเอ็นเอต้นแบบ ซึ่งอาจเกี่ยวข้องในการซ่อมแซมหรือการถ่ายแบบ

DNA template หมายถึง ดีเอ็นเอแม่แบบหรือยีนส่วนที่ต้องการเพิ่มปริมาณ

Gene หมายถึง หน่วยที่มีข้อมูลของลักษณะทางพันธุกรรม จะกระจายอยู่ในโครโมโซม
ซึ่งโครโมโซมแต่ละคู่จะควบคุมและถ่ายทอดยีนจากพ่อแม่ไปสู่ลูก

Polymerase chain reaction (PCR) หมายถึง เทคนิคที่ใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยอาศัย
หลักการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสายใหม่ (DNA replication) จากดีเอ็นเอต้นแบบในหลอดทดลอง
ภายในระยะเวลาอันสั้นและได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านเท่า

Primer หมายถึง ดีเอ็นเอเริ่มต้นสายสั้นๆ ที่เป็นเส้นเดี่ยว มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอ
ที่เป็นต้นแบบของการสังเคราะห์ ซึ่งจะถูกลอกแบบไว้สำหรับใช้จับกับดีเอ็นเอแม่แบบในตำแหน่ง
ที่ต้องการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม

Proteinase K หมายถึง เอนไซม์ชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่ในการย่อยโปรตีนบนผนังเซลล์
จนถึงเยื่อหุ้มนิวเคลียส

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการศึกษา

ได้วิธีการที่ง่ายและเป็นประโยชน์ต่อการพิสูจน์ยืนยันชนิดของสัตว์ที่เป็นเจ้าของ ตัวอย่างดีเอ็นเอ ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับตำแหน่งยีนไซโตโครม บี ของไก่ยังไม่มียารายงานในประเทศไทย และในต่างประเทศก็มีการศึกษาน้อยมาก นอกจากนี้ยังสามารถนำวิธีการดังกล่าวไปใช้ในการคัดแยก หรือตรวจพิสูจน์ กรณีการเกิดข้อพิพาททางกฎหมาย ในคดีซึ่งเกี่ยวข้องกับสัตว์ อาทิ การตรวจพิสูจน์คราบต่างๆ การตรวจสอบการปนเปื้อนของตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ การกล่าวอ้างกรณีการฆ่าสัตว์ แต่แท้จริงแล้วฆ่ามนุษย์ การลักลอบค้าสัตว์ผิดกฎหมาย ตลอดจนสามารถประยุกต์ใช้กับคดีที่เกี่ยวข้องกับกฎหมายคุ้มครองผู้บริโภค ไม่ว่าจะเป็นการตรวจสอบการปนเปื้อนของอาหาร หรือการพิสูจน์การปลอมปนชนิดของเนื้อสัตว์ เป็นต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved