

Autosomal STR profile in a blood transfusion case

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกายในผู้ที่ได้รับเลือดบริจาค

Sukone Pradutkanchana, M.Sc.*, Jintana Pradutkanchana, M.Sc.*, Suwit Ruengkittisakul, MD.*

**Division of Forensic Medicine and Toxicology, Department of Pathology, Faculty of Medicine,*

Prince of Songkla University; Hat-Yai, Songkla 90110, Thailand

ศุคนธ์ ประดุดกาญจนา วท.ม.†, จินตนา ประดุดกาญจนา, วท.ม.†, สุวิทย์ เรืองกิตติสกุล, พบ.†

†หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา

คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110, ประเทศไทย

Abstract

In our case study, we reported one individual who had received two units of packed red cell one day before letting a blood sample for DNA maternity testing. We showed autosomal STR profiles of that individual from blood sample compared to that from buccal cells. A mixed DNA profile was shown in the blood sample. This indicated that there was DNA mixture of at least 2 persons. The major peaks were from the tested individual and minor peaks were from the blood donor. The ratio of the peak height of both major and minor peaks in each locus which demonstrated heterozygous and did not share any repeated allele, was about 18.0-25.0%. Although there was no effect on reading the autosomal STR profile of the tested case, in general, the parentage testing samples in blood transfusion cases should not be collected from blood but it should be more appropriate to collect from other nucleated cells as from buccal cells. Thus, suitable samples give clearer results due to they are not contaminated by the other's DNA.

Key words: autosomal STR profile, blood transfusion

บทคัดย่อ

การศึกษานี้เป็นกรณีศึกษาเบื้องต้นในผู้รับการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอจำนวน 1 ราย ได้รับเลือดชนิด packed red cell จำนวน 2 ถุง ก่อนทำการเก็บตัวอย่างเลือด 1 วัน เพื่อตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ คณะผู้ศึกษาได้รายงานรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด เปรียบเทียบกับตัวอย่างเซลล์กระพุ้งแก้ม พบว่า รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอในตัวอย่างเลือดเป็นแบบผสม แสดงว่าในตัวอย่างเลือดมีดีเอ็นเอผสมกันอย่างน้อย 2 คน แยกเป็น peak หลัก ซึ่งเป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจ กับ peak รอง เป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอของผู้บริจาคเลือด โดยมีอัตราส่วนความสูงเฉลี่ยของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ peak หลักต่อ peak รอง ในตำแหน่งดีเอ็นเอที่เป็น heterozygous และมีอัลลีลไม่ซ้ำกัน ประมาณร้อยละ 18.0-25.0 ซึ่งไม่มีผลกระทบต่ออ่านผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจ อย่างไรก็ตามการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอในผู้รับการตรวจที่มีประวัติได้รับเลือดบริจาค ควรเก็บตัวอย่างตรวจจากเซลล์ชนิดอื่นที่ไม่ใช่เลือด เช่น เซลล์กระพุ้งแก้ม เป็นต้นจะให้ผลการตรวจที่ชัดเจน และไม่มีการปนเปื้อนจากดีเอ็นเอของเลือดบริจาค

คำสำคัญ: ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกาย, การรับเลือด

บทนำ

การทดสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยทั่วไปมักเป็นการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกาย (autosomal STR) เพื่อใช้ในการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล หรือการตรวจความสัมพันธ์ทางสายเลือด เช่น การตรวจความเป็นพ่อ-แม่-ลูก หรือพ่อ-ลูก หรือ แม่-ลูก เป็นต้น^(1,2) โดยเก็บตัวอย่างตรวจจากเซลล์ที่มีนิวเคลียส เช่น เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์กระพุ้งแก้ม เซลล์กระดูก หรือเซลล์อื่นๆ เป็นต้น ยกเว้นเซลล์เม็ดเลือดแดง ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จะมีรูปแบบเฉพาะตัว ไม่เหมือนกับบุคคลอื่น ยกเว้นในฝาแฝดเหมือนเท่านั้นที่จะมีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกันทุกประการ

การทดสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกาย เป็นการทดสอบโดยอาศัยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของตำแหน่งต่างๆบนโครโมโซมขึ้นเป็นหลายล้านเท่าของดีเอ็นเอเริ่มต้น ทำให้เป็นการทดสอบที่มีความไว สูงมาก สามารถทดสอบได้แม้มีปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นเพียง 0.1-1 นาโนกรัม⁽²⁾ ด้วยความไวในการทดสอบที่สูงมากทำให้เสี่ยงต่อการปนเปื้อนจากดีเอ็นเอภายนอก ดังนั้นในบางกรณีผู้รับการตรวจได้รับเลือดบริจาคมาก่อนการทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จึงอาจมีผลกระทบต่อรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจได้

จากการเปิดให้บริการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด แม่-ลูก ที่หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่ามีผู้รับการตรวจ 1 รายได้รับเลือดบริจาคมาก่อนทำการเก็บตัวอย่างตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ 1 วัน จึงทำการเก็บตัวอย่างเลือด และเซลล์กระดูกงูแก้ว เพื่อตรวจเปรียบเทียบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

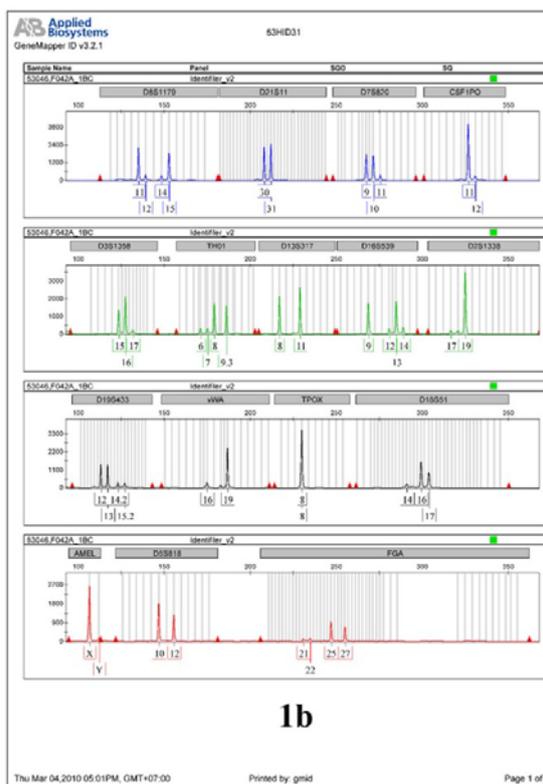
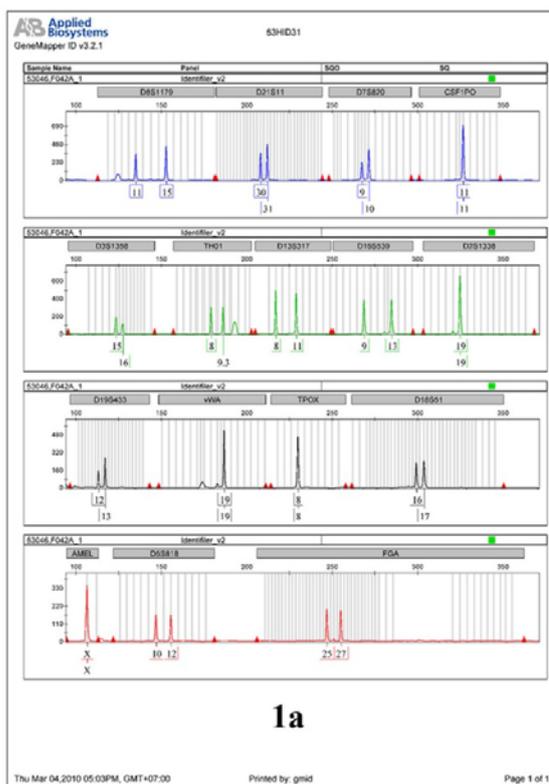
รายงานผู้ป่วย

หญิงไทย อายุ 71 ปีได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น acute myeloid leukemia (AML) เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ด้วยอาการอ่อนเพลียมาก แพทย์ให้เลือดชนิด packed red cell (PRC) 2 ถุง ผู้ป่วยติดต่อขอตรวจความสัมพันธ์แม่-ลูก เพื่อนำผลการตรวจไปเปลี่ยนชื่อแม่ในสูติบัตรของลูก จึงนัดมาเก็บตัวอย่างตรวจในวันรุ่งขึ้น โดยเจาะเก็บเลือด 2 มิลลิลิตรในสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA และเก็บเซลล์กระดูกงูแก้ว

สกัดดีเอ็นเอจากเลือดและเซลล์กระดูกงูแก้วด้วยวิธี Chelex⁽³⁾ จากนั้นตรวจวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วย ultraviolet spectrophotometer (GeneQuant 1300, GE, USA) ปรับความเข้มข้นดีเอ็นเอให้ได้ 2 ng/μl นำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกายจำนวน 16 ตำแหน่ง ได้แก่ D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, Amelogenin, D5S818 และ FGA ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป AmpF/STR[®] Identifiler[®] Kit (Applied Biosystems, UK) ตามวิธีการที่ระบุไว้ในเอกสารแนบ นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสอัตโนมัติ รุ่น ABI prism 3130 (Applied Biosystems, Japan) อ่านผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วย software Gene Mapper ID v 3.2.1 (Applied Biosystems, USA)

ผลการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกาย จำนวน 16 ตำแหน่ง จากตัวอย่างเซลล์กระดูกงูแก้ว มีลักษณะเป็นรูปแบบของบุคคลเดี่ยว มี homozygous loci จำนวน 4 ตำแหน่ง และ heterozygous loci จำนวน 11 ตำแหน่ง (ไม่นับรวม Amelogenin) มี stutter บ้างเล็กน้อยในปริมาณน้อยกว่าร้อยละ 15 ของความสูงของ peak หลัก และมีความสูงของ stutter ไม่เกิน 50 RFU ดังภาพที่ 1a ส่วนลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกายจากตัวอย่างเลือด มีลักษณะเป็นรูปแบบผสมที่แสดงถึงตัวอย่างตรวจมีดีเอ็นเอผสมกันอย่างน้อย 2 คน แยกเป็น peak หลัก ที่มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกับผู้รับการตรวจทุกตำแหน่ง และ peak รอง ที่มีรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอแตกต่างจากผู้รับการตรวจ ดังภาพที่ 1b

อัตราส่วนระหว่างความสูงเฉลี่ยของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ peak หลัก ต่อ peak รอง มีค่าระหว่างร้อยละ 18.0-25.0 ดังแสดงในตารางที่ 1



ภาพที่ 1 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเซลล์กระดูกซี่โครง (1a) แสดงลักษณะรูปแบบเป็นของบุคคลเดียว และลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือด (1b) แสดงลักษณะรูปแบบผสม ที่แสดงว่าตัวอย่างตรวจมีดีเอ็นเอผสมกันอย่างน้อยสองคน

ตำแหน่ง	Peak หลัก	Peak รอง	ความสูงเฉลี่ยของ peak หลัก (RFU)	ความสูงเฉลี่ยของ peak รอง (RFU)	อัตราส่วน ความสูงเฉลี่ย peak หลัก ต่อความสูงเฉลี่ย peak รอง (%)
1.	D8S1179	11, 14	2041	367	18.0
2.	D21S11	30, 31	2368	-	-
3.	D7S820	9, 10	1746	-	-
4.	CSF1PO	11, 11	3851	-	-
5.	D3S1358	15, 16	1739	-	-
6.	TH01	8, 9.3	1688	352	20.8
7.	D13S317	8, 11	2386	-	-
8.	D16S539	9, 13	1823	380	20.9
9.	D2S1338	19, 19	3489	-	-
10.	D19S433	12, 13	1448	362	25.0
11.	vWA	19, 19	2434	-	-
12.	TPOX	8, 8	3543	-	-
13.	D18S51	16, 17	1279	309	24.2
14.	Amelogenin	X, X	2645	-	-
15.	D5S818	10, 12	1561	-	-
16.	FGA	25, 27	847	172	20.3

ตารางที่ 1 ความสูงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จากตัวอย่างตรวจเลือดของผู้รับการตรวจหลังจากได้รับเลือดบริจาค packed red cell จำนวน 2 ถุง

วิจารณ์

การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอของเซลล์ร่างกายในผู้รับการตรวจที่ได้รับบริจาคเลือดมาก่อนทำการเก็บตัวอย่างเลือด ให้ผลการตรวจเป็นรูปแบบผสมของตัวอย่างตรวจที่แสดงถึงการมีดีเอ็นเอผสมกันมากกว่า 2 คน สามารถแยกได้เป็น peak หลัก และ peak รอง โดย peak หลักเป็นดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจและ peak รองเป็นดีเอ็นเอของผู้บริจาคเลือด จากการทดสอบพบว่าดีเอ็นเอของ peak หลักมีรูปแบบตรงกับดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจครบทั้ง 16 ตำแหน่ง และสามารถแยกจากดีเอ็นเอของผู้บริจาคเลือดได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาการตรวจพบรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นแบบผสม ในผู้รับการตรวจที่มีประวัติได้รับเลือดบริจาคมาก่อนและต้องการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ควรเก็บตัวอย่างตรวจเซลล์กระพุ้งแก้ม จะให้ผลการทดสอบที่ชัดเจน และไม่มีกรปนเปื้อนจากดีเอ็นเอของเลือดบริจาค

อัตราส่วนความสูงเฉลี่ยของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ peak หลักต่อ peak รองในตำแหน่งที่ทั้ง peak หลักและ peak รอง เป็น heterozygous และอัลลีลที่ปรากฏไม่ซ้ำกัน อยู่ระหว่างร้อยละ 18.0-25.0 แสดงว่า การที่ผู้รับการตรวจได้รับเลือดบริจาคจำนวน 2 ถุง ก่อนทำการเก็บตัวอย่างเลือด 1 วัน สามารถตรวจพบดีเอ็นเอของผู้บริจาคเลือดในตัวผู้รับการตรวจประมาณ 1 ใน 4 ถึง 1 ใน 5 ของดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจ ซึ่งปริมาณดีเอ็นเอขนาดนี้ ปรากฏให้เห็นเป็น peak รอง ที่แยกจากดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจได้อย่างชัดเจน ไม่มีผลกระทบต่อการอ่านผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ดังนั้นการรับเลือดบริจาคจึงไม่น่ามีผลกระทบต่อผลการทดสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ เป็นเพียงการรายงานในผู้รับการตรวจเพียง 1 รายเท่านั้น และผู้รับการตรวจได้รับเลือดบริจาคจำนวน 2 ถุง ก่อนทำการเก็บตัวอย่างเลือด 1 วัน ซึ่งปัจจัยในเรื่องจำนวนเลือดที่ผู้รับการตรวจได้รับ และระยะเวลาในการรับเลือดบริจาคก่อนทำการเก็บตัวอย่าง อาจมีผลกระทบต่อผลการอ่านผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ ซึ่งจำเป็นต้องศึกษาเชิงลึกต่อไป

กรณีที่ตำแหน่งลายพิมพ์ดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจและผู้บริจาคเลือดมีบางอัลลีลตรงกัน จะเกิดการซ้อนทับกันของอัลลีลที่เหมือนกัน ทำให้ความสูงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ที่อ่านได้จะเป็นความสูงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์รวม ไม่สามารถแยกออกเป็นความสูงของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์จำเพาะของผู้รับการตรวจและผู้บริจาคเลือดได้ ทำให้การคำนวณอัตราส่วนความสูงเฉลี่ยของสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ของ peak หลักต่อ peak รอง ที่ตำแหน่งนั้นไม่สามารถทำได้ (ตารางที่ 1)

สรุป

การได้รับเลือดบริจาคก่อนทำการเก็บตัวอย่างตรวจที่เป็นเลือดสำหรับการทดสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ นั้น ทำให้รูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอในเลือดของผู้รับการตรวจมีรูปแบบผสม แต่ไม่มีผลกระทบต่อผลการอ่านผลลายพิมพ์ดีเอ็นเอของผู้รับการตรวจ

เอกสารอ้างอิง

1. วิชัย บุญแสง, อัญชลี ทศนาขจร, ชัยณรงค์ วงศ์ธีรทรัพย์, นุสรา สิทธิดิถิลภรณ์, สกล พันธุ์ยิ้ม. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ...จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล พิมพ์ครั้งที่ 3 กรุงเทพมหานคร:สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ; 2547.
2. Butler JM. Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers. 2nd ed. Amsterdam: ELSEVIER Academic Press; 2005.
3. Walsh PS, Metzger DA, Higuchi R. Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR based typing from forensic material. Bio Techniques 1991;10:506-13.