

Identification of Bos Taurus DNA at Mitochondrial Cytochrome *b* Region

การตรวจพิสูจน์เพื่อทราบดีเอ็นเอของวัวที่ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย

ในส่วนของยีนไซโตโครมบี

Aticha Panyakon *, Tanin Bhoopat MD.**, Lertlakana Bhoopat MD.***

*Forensic Science Program, Graduate School, Chiang Mai University, ** Department of Forensic Medicine and

***Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50002, Thailand

อริชา ปัญญาโกณูญ, ธานินทร์ ภูพัฒน์ พ.บ.†† เลิศลักษณ์ ภูพัฒน์ พ.บ.†††

†สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, †† ภาควิชานิติเวชศาสตร์ และ

††† ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50002, ประเทศไทย.

Abstract

Objective : To prove of specie-of origin of DNA in forensic investigations by analysis of the mitochondrial cytochrome b gene.

Material and Methods: Bos taurus DNA was identified by sequencing of its cytochrome b gene. Thirty hair specimens from cows and blood specimens from human and other animals (pig, dog, chicken and fish) were collected. DNA was extracted using Chelex[®] method and amplified by PCR. Amplicons were run on agarose gels.

Results: All cow samples revealed a single 92 bp band of the expected size; on the other hand, no bands from human and other animals were obtained

Key words: Mitochondrial DNA, Cytochrome b, PCR

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อทราบดีเอ็นเอของวัวที่ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียในส่วนของยีนไซโตโครมบีด้วยวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

วัสดุและวิธีการศึกษา: การศึกษานี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างขนของวัวจำนวนทั้งสิ้น 30 ตัวอย่าง และตัวอย่างเลือดของมนุษย์และสัตว์อื่นๆ (หมู สุนัข ไก่และปลา) ขึ้นตอนในการทำวิจัยเริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอจาก

ตัวอย่างโดยใช้วิธี Chelex® จากนั้นนำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปทำการเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค PCR และนำ PCR product ที่ได้ไปทำการตรวจหาลักษณะดีเอ็นเอของวัว โดยใช้ Agarose Gel Electrophoresis

ผลการศึกษา: พบว่า ปรากฏแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างวัวทั้งหมดตรงตามตำแหน่งที่กำหนดไว้ (92 bp) ใน Agarose gel ในทางกลับกันไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่น

สรุป: วิธีการนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการตรวจพิสูจน์ทราบดีเอ็นเอของวัวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

สำคัญ: ดีเอ็นเอไมโตคอนเดรีย, ไซโตโครมบี, PCR

บทนำ

การทดสอบที่เกี่ยวข้องกับดีเอ็นเอจะบอกได้ว่า หายเลือดนั้นหรือเศษชิ้นเนื้อนั้นเป็นของคนหรือสัตว์ และถ้าเป็นของสัตว์เป็นของสัตว์ชนิดใด ทั้งนี้การจะบอกว่าเป็นของมนุษย์หรือสัตว์นั้นไม่ใช่เรื่องยาก แต่ยากตรงที่จะระบุให้ได้ว่าเป็นของสัตว์ชนิดใด ซึ่งหากต้องการระบุชนิดของสัตว์ให้ได้แน่นอนนั้นต้องหาให้ได้ว่า ส่วนของดีเอ็นเอส่วนใดที่จะสามารถนำมาใช้ระบุชนิดและมีความจำเพาะต่อสัตว์ชนิดนั้นๆ ทั้งนี้ตำแหน่งของดีเอ็นเอที่เป็นเอกลักษณ์ของสัตว์แต่ละชนิดนั้น เป็นส่วนดีเอ็นเอที่อยู่บนยีนที่มีชื่อว่า ไซโตโครมบี (Cytochrome b) พบได้ในไมโตคอนเดรียซึ่งเป็นส่วนประกอบภายในเซลล์ทำหน้าที่ให้พลังงานแก่เซลล์ ส่วนของดีเอ็นเอที่ว่าเป็นส่วนดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็กสามารถพบได้ทั่วไปในสัตว์ทุกชนิดแต่มีความพิเศษตรงที่รหัสของดีเอ็นเอบริเวณนี้จะสร้างโปรตีนที่มีความจำเพาะสำหรับสัตว์ในแต่ละชนิด ดังนั้นหากเก็บเลือดหรือเศษชิ้นเนื้อของสัตว์ชนิดใดชนิดหนึ่งได้ ก็จะสามารถทำการวิเคราะห์ทางดีเอ็นเอได้ว่าเลือดหรือเศษชิ้นเนื้อนั้นเป็นของสัตว์ชนิดใด

สารพันธุกรรม หรือ ดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic acid : DNA) เป็นกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) ที่ทำหน้าที่เก็บข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ดีเอ็นเอส่วนใหญ่อยู่ในรูปโครโมโซม (Chromosome) วางตัวอยู่ในส่วนนิวเคลียสภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต^[1] ดีเอ็นเอประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เรียกว่า นิวคลีโอไทด์ (Nucleotide) ซึ่งเป็นสารประกอบไนโตรจีนัสเบส (Nitrogenous base) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มพิวรีนเบส (Purine) ได้แก่ ไทมีน (Thymine: T) ไซโทซีน (Cytosine: C) และกลุ่มไพริมิดีนเบส (Pyrimidine) ได้แก่ อะดีนีน (Adenine: A) กัวนีน (Guanine: G) โดยสารประกอบไนโตรจีนัสเบสนี้จะรวมตัวกับน้ำตาลดีออกซีไรโบส (Deoxyribose sugar) และกรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) เป็นนิวคลีโอไทด์อยู่ในดีเอ็นเอ^[1] การเรียงลำดับของนิวคลีโอไทด์ ทั้ง 4 ชนิด ส่งผลต่อการเกิดความหลากหลาย และสร้างความแตกต่างในลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอ ซึ่งจะมีความจำเพาะในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด^[2]

ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรีย (Mitochondrial DNA หรือ mtDNA) เป็นดีเอ็นเอที่อยู่ในโครงสร้างที่เรียกว่า ไมโทคอนเดรีย (Mitochondrial) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่อยู่ภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจำพวกยูคาริโอติก (Eukariotic) ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนพลังงานจากอาหารให้อยู่ในรูปที่เซลล์สามารถนำไปใช้ภายในเซลล์ได้ ดีเอ็นเอของยูคาริโอติกส่วนใหญ่จะตรวจพบในนิวเคลียสของเซลล์^[2] ซึ่งจะใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์มากกว่าการหากลุ่มชั้น การตรวจเพื่อระบุชนิดของสัตว์เป็นเพียงการหากลุ่มชั้นของสิ่งมีชีวิตเท่านั้นจึงไม่จำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอที่อยู่ในนิวเคลียส และเนื่องจากไมโทคอนเดรียเป็นส่วนประกอบของเซลล์ที่มีหน้าที่ในการสร้างพลังงาน พบในเซลล์ต่างๆ ได้หลายพันชุด ภายในไมโทคอนเดรียแต่ละชุดจะมี DNA อยู่ประมาณ 16,569 คู่เบส ในขณะที่มีการปฏิสนธิระหว่างตัวอสุจิกับไข่ อสุจิจะปล่อยให้เฉพาะนิวเคลียสเข้าไปผสมกับไข่ (Ovum) ดังนั้นไมโทคอนเดรียที่อยู่ในไข่ ที่ผสมแล้วจะมาจากเซลล์แม่เท่านั้น ดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียจึงเป็นประโยชน์ในการติดตามเชื้อสายทางมารดาได้ และสามารถนำไปใช้ในการตรวจพิสูจน์ชนิดของสัตว์ในทางนิติวิทยาศาสตร์ได้^[3]

Cytochrome *b* เป็นหนึ่งใน Cytochromes ที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งอิเล็กตรอนในโซ่การหายใจของ Mitochondria ไซโตโครม (Cytochrome) มีหลายชนิดใช้ตัวอักษรเป็นชื่อชนิดของไซโตโครม เช่น ไซโตโครม เอ ไซโตโครม บี หรือไซโตโครม ซี เป็นต้น ไซโตโครมจะรับและส่งอิเล็กตรอนจากไซโตโครมหนึ่งไปยังอีกไซโตโครมหนึ่งจนถึงออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายและไม่ส่งต่ออิเล็กตรอนให้แก่สารตัวใด ออกซิเจนที่ได้รับอิเล็กตรอนจะรวมกับโปรตอนที่มีอยู่ในสารละลายภายในไมโทคอนเดรีย กลายเป็นน้ำ ดีเอ็นเอที่อยู่ในส่วนของยีนไซโตโครม บี เป็นส่วนดีเอ็นเอที่มีขนาดเล็กและพบอยู่ในสัตว์ทุกชนิด แต่มีการสร้างโปรตีนที่มีความจำเพาะสำหรับสัตว์แต่ละชนิด^[4] จึงมีการนำเอาดีเอ็นเอในส่วนของยีน ไซโตโครม บี มาใช้ในการตรวจคัดแยกสัตว์และมนุษย์ออกจากกัน

เนื่องจากตัวอย่างมีปริมาณดีเอ็นเอน้อยหรืออาจมีสภาพที่ไม่สมบูรณ์ ดังนั้นจึงต้องนำตัวอย่างมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยอาศัยหลักการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอสายใหม่ (DNA replication) จากดีเอ็นเอต้นแบบในหลอดทดลองภายในระยะเวลาอันสั้นและได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้นเป็นล้านเท่า^[5]

จากทฤษฎีดังกล่าวการพิสูจน์ทราบดีเอ็นเอของสัตว์ด้วยดีเอ็นเอไมโทคอนเดรียในส่วนของ ไซโตโครม บี สามารถนำไปปรับใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์กรณีที่มีข้อพิพาททางกฎหมายเกิดขึ้นในคดีที่เกี่ยวข้องกับสัตว์ เช่น กรณีพิพาทเกี่ยวกับอาหารที่ประกอบขึ้นจากเนื้อสัตว์ กรณีที่มีการกล่าวอ้างว่าเลือดที่พบในที่เกิดเหตุเป็นของสัตว์ และในกรณีที่มีการลักลอบล่าสัตว์ป่า เป็นต้น ซึ่งกรณีต่างๆ ที่กล่าวมานี้ล้วนจำเป็นต้องมีหลักฐานยืนยันในการกระทำความผิด โดยเฉพาะวัตถุพยานนั้นเป็นเพียงเศษชิ้นส่วนใดชิ้นส่วนหนึ่งที่ไม่สามารถพิสูจน์

ทราบชนิดของสัตว์นั้นได้ด้วยวิธีทางกายภาพหรือด้วยวิธีการทางชีวเคมี เช่น เศษชิ้นเนื้อ เศษผิวหนัง เศษกระดูก หรือเส้นขน เป็นต้น

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. กลุ่มประชากร

- ตัวอย่างเส้นขนของวัวพันธุ์พื้นเมืองที่เลี้ยงภายในภาคเหนือของประเทศไทยจำนวน 30 ตัวอย่าง
- ตัวอย่างเลือดของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่น (หมู, สุนัข, ไก่, ปลา) 25 ตัวอย่าง

2. วิธีเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเส้นขนของวัวพันธุ์ไทยพื้นเมืองที่เลี้ยงเพื่อการจำหน่ายทั่วไปในเขตภาคเหนือของประเทศไทย เก็บโดยการถอนเพื่อให้รากติดอยู่ด้วยอย่างน้อย 5 เส้น โดยบรรจุในซองกระดาษเพื่อนำไปทำการตรวจสอบ ก่อนบรรจุต้องแน่ใจว่าเส้นขนนั้นๆ แห้งสนิทดีแล้ว

3. วิธีการทดสอบ

นำตัวอย่างทั้งหมดนี้มาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธี Chelex ^[6] จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) ในหลอด Microcentrifuge tube โดยใช้ชุดน้ำยา JUMP START™ จากบริษัท SIGMA® 5 µL (ประกอบด้วย 20 mM Tris-HCl, pH8.3, 100 mM KCl, 4 mM MgCl₂, 0.002% gelatin, 0.4 mM each dNTP, 0.06 unit/µL Taq DNA Polymerase, JumpStart Taq antibody) นำสกัดดีเอ็นเอ 1 µL น้ำ 3 µL และ Cyt b Bovine primer mix (3 µM each) 1 µL รวมเป็น 10 µL นำหลอด Microcentrifuge tube นี้เข้าเครื่อง Thermal cycler โดยมีการปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ ดังนี้ 95°C นาน 3 นาที 1 รอบ จากนั้นปรับไปที่อุณหภูมิ 95°C นาน 15 วินาที, 55°C นาน 1 นาที และ 72°C นาน 1 นาที^[7] รวมทั้งสิ้น 35 รอบ

สำหรับลำดับเบสของไพรเมอร์ มีรายละเอียดดังนี้

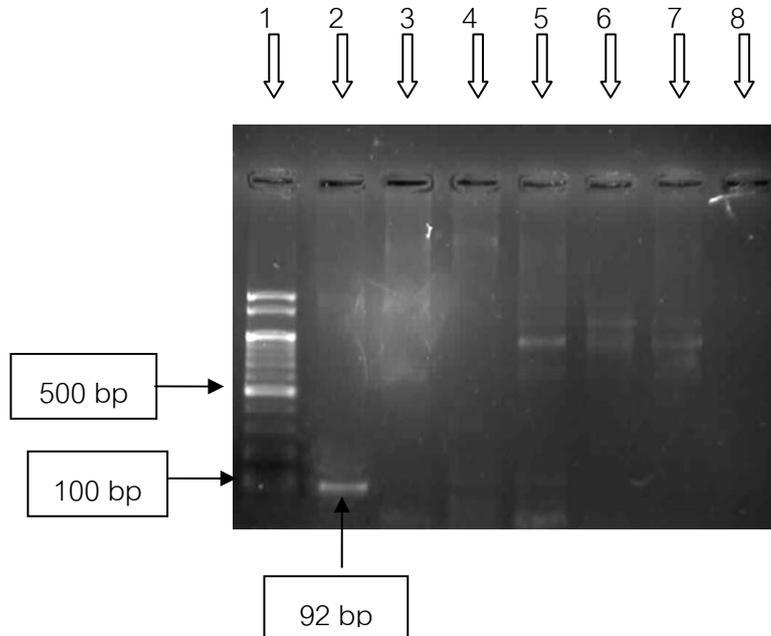
Primer F : 5'-CAAGAACACTAATGACTAACATTCG-3'

Primer R : 5'-AAATGTTTGATGGGGCTGGA-3'

ตรวจสอบ PCR Product ที่ได้ด้วยการทำ Agarose Gel Electrophoresis

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์การตรวจพิสูจน์ทราบดีเอ็นเอของวัวที่ตีเอ็นเอไมโตคอนเดรียในส่วนของยีนไซโตโครม บี พบว่าได้ผลถูกต้องและชัดเจนตามลักษณะดีเอ็นเอของวัวทั้งหมด 30 ตัวอย่าง คิดเป็น 100 % จากการตรวจสอบซ้ำอีก 2 ครั้งยังปรากฏผลเหมือนเดิมทุกประการ ดังภาพที่ 1



ภาพ 1 แสดงลักษณะแถบดีเอ็นเอใน Agarose gel ภายหลังจากทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมกับตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์ และสัตว์ชนิดต่างๆ ช่องที่ 1 ดีเอ็นเอมาตรฐาน (100 bp ladder) ช่องที่ 2 - 7 วัว, มนุษย์, ปลา, หมู, ไก่ และสุนัข ตามลำดับ ช่องที่ 8 ตัวควบคุมเชิงลบ

หลังจากทำการทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของวัวทั้งหมดเรียบร้อยแล้ว และปรากฏผลที่การทดสอบตรงตามเป้าหมายที่คาดหวังไว้ จึงได้ทำการตรวจสอบความจำเพาะของวิธีการที่ใช้โดยนำไปทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่น ได้แก่ หมู ไก่ ปลา และสุนัข อย่างละ 5 ตัวอย่าง ซึ่งทุกตัวอย่างเป็นดีเอ็นเอที่สกัดจากเลือดรวมทั้งหมด 25 ตัวอย่าง พบว่าในบางตัวอย่างเกิดแถบดีเอ็นเอจางๆ ในตำแหน่งที่ต่างจากของวัวอย่างชัดเจน ซึ่งไม่รบกวนการแปลผล ผลตรวจทั้งหมดสรุปลงในตารางที่ 1

ผลตรวจ	วัว	มนุษย์หรือสัตว์อื่น	รวม
ผลบวก	30	0	30
ผลลบ	0	25	25
รวม	30	25	55

ตาราง 1 แสดงความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์เพื่อทราบดีเอ็นเอของวัวที่ตีเอ็นเอไมโตคอนเดรียในส่วนของยีนไซโตโครม บี (Cyt b Bovine)

จากผลการตรวจพิสูจน์ดังกล่าว เมื่อนำมาคำนวณค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของการทดสอบพบว่าได้เท่ากับ 100 % ทั้งสองค่า

อภิปรายผลการศึกษา

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบวิธีการที่มีความจำเพาะเจาะจงกับการตรวจยืนยันดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียของวัวในส่วนของยีน Cytochrome b โดยใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอจากวัว 30 ตัวอย่างและดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์อื่นอีก 25 ตัวอย่าง เทคนิค PCR ที่ใช้สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของวัวในส่วนของยีน Cytochrome b อย่างมีประสิทธิภาพและคัดแยกดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์อื่น ๆ ออกได้อย่างชัดเจน ถูกต้องถึงร้อยละ 100 อย่างไรก็ตามในการทดสอบกับดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่นทั้งหมด 25 ตัวอย่าง ยังพบแถบดีเอ็นเอจาง (Non-specific band) ปรากฏให้เห็นใน gel มากถึง 36 % ของตัวอย่างทั้งหมด เนื่องจากวิธีการที่ใช้ตรวจจำเพาะกับดีเอ็นเอของไมโตคอนเดรีย การปนเปื้อนของดีเอ็นเอของวัวไปกับตัวอย่างหรือน้ำยาที่ใช้ตรวจจะส่งผลให้เกิดผลบวกได้ง่าย ดังนั้นตัวอย่างจากมนุษย์หรือสัตว์อื่นที่ใช้ทดสอบความจำเพาะของวิธีตรวจ ควรเป็นตัวอย่างเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดจะไม่ใช้ตัวอย่างเยื่อกระดูกไขกระดูก เพราะอาจเกิดการปนเปื้อนของเนื้อเยื่อวัวจากอาหารที่ทานเข้าไป ทั้งนี้ ดีเอ็นเอของวัวอาจตกค้างอยู่ภายในช่องปากได้ อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของดีเอ็นเอของวัวได้

การสกัดดีเอ็นเอจากรากขนวัวต้อง ทำความสะอาดเส้นขนอย่างดีก่อนนำไปสกัดดีเอ็นเอเพื่อให้มั่นใจว่าไม่มีสิ่งสกปรกปนเปื้อน เนื่องจากตัวอย่างเส้นขนเก็บจากบริเวณในหูซึ่งมีสิ่งสกปรกอยู่มากและยากต่อการทำความสะอาด น้ำยาที่ใช้ตรวจควรตรวจดูให้แน่ใจว่าไม่มีส่วนประกอบที่มาจากวัว ผู้วิจัยได้ทดลองใช้น้ำยาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่มีส่วนผสมของ Bovine serum albumin ปนอยู่ พบว่ามีแถบดีเอ็นเอหลายแถบปรากฏขึ้นมา และอยู่ในตำแหน่งใกล้เคียงกับแถบของวัวทำให้ไม่สามารถแปลผลได้ แต่เมื่อเปลี่ยนไปใช้น้ำยาที่ไม่มีส่วนผสมที่มาจากวัวปัญหานี้ก็หมดไป

ทั้งนี้เมื่อทำการทดสอบเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอของมนุษย์ทั้งหมด 5 ตัวอย่าง สามารถทราบข้อมูลเบื้องต้นว่าไพรเมอร์ของวัวไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมนุษย์ได้ ในทางกลับกันจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้ไพรเมอร์ของมนุษย์มาทำการทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของวัวและสัตว์ชนิดอื่นร่วมด้วย เพื่อประโยชน์ในการคัดแยกดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ออกจากกัน^[8] ทั้งนี้เนื่องจากในสถานที่เกิดเหตุ นั้นมักจะ มีดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียจำนวนมากมาย ทั้งดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียของมนุษย์และของสัตว์ การตรวจสอบเบื้องต้นว่ามีดีเอ็นเอของมนุษย์ในสถานที่เกิดเหตุ ย่อมสามารถใช้การตรวจสอบดีเอ็นเอของมนุษย์ที่ดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียในส่วนของยีนไซโตโครมบีได้

การนำไปใช้ในการตรวจสอบคุณภาพอาหาร นอกจากการตรวจลงลึกถึงชนิดของเนื้อสัตว์ที่นำมาประกอบอาหารแล้ว ยังอาจต้องใช้การตรวจสอบด้วย Real-time PCR ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ด้านคุณภาพและปริมาณ ได้ในส่วนผสมตั้งแต่ 0.1 – 100% ของเนื้อสัตว์ที่นำมาประกอบอาหารสำเร็จรูป^[7] โดยสามารถวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้ในเวลาต่างๆ ทำให้ทราบส่วนผสมของเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ รวมถึงปริมาณการปนเปื้อนของเนื้อสัตว์ชนิดอื่น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการคุ้มครองสิทธิของผู้บริโภคได้ดียิ่งขึ้น

กรณีคิดเกี่ยวกับการลักลอบล่าสัตว์ป่า บางครั้งวัตถุดิบที่พบอาจไม่สามารถบ่งบอกได้จากลักษณะทางกายภาพอันเนื่องมาจากการทำลายหรือการแบ่งขายเป็นชิ้นส่วน สิ่งที่จะเหลือเป็นสิ่งส่งตรวจอาจจะเป็นเพียงเศษชิ้นเนื้อ อวัยวะส่วนใดส่วนหนึ่ง เส้นขน หรือคราบเลือดเท่านั้น ทั้งนี้เพียงการตรวจสอบทางกายภาพคงไม่เพียงพอต่อการสรุปได้ว่าเป็นของสัตว์ชนิดใด การตรวจสอบสารพันธุกรรมจึงมีบทบาทสำคัญหากวัตถุดิบทางชีวภาพที่ได้นั้นมีปริมาณน้อยมาก ดีเอ็นเอในส่วนของยีนไซโตโครมบีมีบทบาทสำคัญในการตรวจสอบชนิดของสิ่งมีชีวิตอันเป็นที่มาของวัตถุดิบดังกล่าว โดยอาจออกแบบการเพิ่มความไวของวิธีการโดยการการทำ Nested PCR ซึ่งสามารถคงความถูกต้องได้ 99.7%^[9]

สรุป

งานวิจัยนี้เป็นการตรวจพิสูจน์ทราบดีเอ็นเอของวัวพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 30 ตัว ในเขตภาคเหนือของประเทศไทยที่ตำแหน่งของยีนไซโตโครมบี จากตัวอย่างรากขนของวัว สามารถตรวจได้ผลสำเร็จกับตัวอย่างดีเอ็นเอของวัวทั้ง 30 ตัวอย่าง แต่ไม่มีปฏิกิริยาข้ามกับมนุษย์และสัตว์อื่นๆ คือ สุนัข ไก่ หมู ปลา จึงอาจสรุปได้ว่าวิธีการที่ใช้มีความจำเพาะกับวัวเป็นอย่างดี สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์เพื่อพิสูจน์ที่มาของวัตถุดิบชีวภาพนั้นมาจากวัวหรือไม่

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์สวนดอกกัญชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพาณิชยวิทยา และห้องปฏิบัติการนิติพันธุศาสตร์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่กรุณาให้ยืมใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. ตริทิพย์ รัตนวรชัย. อนุพันธุศาสตร์เบื้องต้น: มหัศจรรย์ของดีเอ็นเอ. หน้า 2-8, 105-123. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2552.
2. ธนาลัย อรัญญิก. ชีววิทยา: ระบบย่อยอาหารและการสลายสารอาหารเพื่อให้ได้พลังงาน. ปทุมธานี: โรงเรียนปทุมวิไล, 2009.
3. นิติเวชวิทยา. โรงพยาบาลตำรวจ. สำนักงานตำรวจแห่งชาติ. 2553. "การประยุกต์ใช้ลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprint) ในการพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด." [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.ifm.go.th> (13 กันยายน 2553)
4. สุมิตรา วิสุทธารมณ. พันธุกรรมของเซลล์ยูคาริโอต (Genetic of Eukaryotic Cell). สงขลา: มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2537.

5. รศ.อุไรวรรณ วิจารณ์กุล. ดีเอ็นเอเทคโนโลยี (DNA Technology). พิษณุโลก: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม, 2545.
6. วิฑูรย์ ทะสุยะ และ ธานินทร์ ภูพัฒน์. SOP DNA Analysis for Forensic Medicine. เชียงใหม่: ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2005.
7. Andreo L.M., Lugo L., Amando G.P., Prieto M.I., Puyet A. Identification and Quatitation of Species in Complex DNA Mixtures by Real-time Polymerase Chain Reaction. Analytical Biochemistry.2005; 339: 73-82.
8. Matsuda H., Seo Y., Kakizaki E., Kozawa S., Muraoka E., Yukawa N. Identification of DNA of Human Origin Base on Amplification of Human - specific Mitochondrial Cytochrome b Region. Forensic Science International. 2005; 152: 109-14.
9. Le-Chin T., Mei-Tzu H., Chung-Ting H., Chun-Yen L.,Szu-Jung C. Chun-I L. Hsing-Mei H. Species Identification of Animal Specimens by Cytochrome b gene. Forensic Science Journal. 2007; 6: 63-5.