

Frequencies Distribution of the 5 Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) in Northeastern Thai Population: the First SNPs Database in Thailand

การกระจายความถี่ของสไนป์ (SNPs) 5 ตำแหน่งในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย: ฐานข้อมูลประชากรของ SNPs ขึ้นแรกในประเทศไทย

Panithan Nimsawaengkul, B.Sc.*, Nitikorn Poriswanish, M.D., F.R.C.Path.T.*, Visutr Fongsiripaibul, M.D., F.R.C.Path.T.*

* Department of Forensic Medicine, Faculty of medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand.

ปณิธาน นิ่มแสงกุล, วท.บ.†, นิตกร โปริสวานิชย์ พบ.†, วิสูตร ฟองศิริไพบูลย์ พบ.†

† ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ 10700, ประเทศไทย.

Abstract

Objective: To report allele frequencies, genotype distribution, population database and forensic statistic parameters of five selected SNP loci in the northeastern Thai population.

Material and Methods: Five single nucleotide polymorphisms (SNPs) loci; rs2046361, rs722098, rs1463729, rs2830795 and rs891700, were selected and analyzed from 96 unrelated northeastern Thais by using a multiplex PCR technique and SNaPshot[®] Ready Reaction Mix which is based on a single base extension essay (SBE). The final result was analyzed by capillary electrophoresis with ABI PRISM[®] 3130 Genetic Analyzer.

Results: The population data was in Hardy-Weinberg equilibrium. SNP rs2046361 and rs2830795 loci were the most polymorphic markers in this population with 53.6% heterozygosity. The population data showed a combined power of exclusion of 0.9999 and a combined discrimination power of 0.8903. 5 SNP loci had a higher combined discrimination power than CSF1PO, D3S1358, and TPOX which were used in the routine STR analysis in Thailand.

Conclusion: 5 SNP loci could be suggested to take place or add to the profile instead of or increase the power of the 3 STR loci; CSF1PO, D3S1358, and TPOX, in forensic human identification and paternity analysis.

Keywords: SNPs, Multiplex, SNaPshot, Northeastern Thai database

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์: เพื่อจัดทำฐานข้อมูลประชากรของ snip ทั้ง 5 ตำแหน่งในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เช่น ค่าความถี่ของอัลลีล การกระจายตัวทางประชากรพันธุศาสตร์รวมถึงค่าทางสถิติอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องในทางนิติเวชศาสตร์

วัสดุและวิธีการศึกษา: เลือก snip 5 ตำแหน่ง ได้แก่ rs2046361, rs722098, rs1463729, rs2830795 และ rs891700 มาตรวจวิเคราะห์ในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยจำนวน 96 คนโดยใช้เทคนิค multiplex PCR และตรวจหาชนิดอัลลีลจากหลักการ single base extension ด้วยชุด SNaPshot® Ready Reaction Mix แล้ววิเคราะห์โดยเครื่อง ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer

ผลการศึกษา: พบว่าลักษณะของอัลลีลในประชากรทั้งหมดมีการกระจายตัวอยู่ในสถานะสมดุลฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก โดยที่ตำแหน่ง rs2046361 และ rs2830795 มีความถี่ของเฮเทอโรไซโกตต่อยืนมากที่สุด ในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือเท่ากับร้อยละ 53.6 นอกจากนี้ยังคำนวณค่า combined discrimination power เท่ากับ 0.8903 และค่า combined power of exclusion เท่ากับ 0.9999 ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่พบใน STR 3 ตำแหน่งซึ่งนิยมตรวจวิเคราะห์กันทั่วไปคือ CSF1PO, D3S1358 และ TPOX

สรุป: ค่าที่ได้ของ snip ทั้ง 5 ตำแหน่งในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ น่าจะนำไปช่วยเพิ่มความสามารถในการตรวจวิเคราะห์หรือทดแทนการตรวจพิสูจน์บุคคลและการพิสูจน์ความเป็นบุตรในงานนิติเวชศาสตร์กับการตรวจ STR ทั่วๆไปได้

คำสำคัญ: snip, มัลติเพล็กซ์พีซีอาร์, สแน็ปชอท, ฐานข้อมูลประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

บทนำ

ในปัจจุบันการตรวจ DNA ในห้องปฏิบัติการที่ได้มาตรฐานทุกแห่งพบว่ามีความแม่นยำมากจากการตรวจ DNA ของมนุษย์ส่วนที่มีความแตกต่างกันซึ่งพบเพียง 0.1% ของ DNA ทั้งหมด สิ่งนี้เป็นลักษณะเฉพาะบุคคลและมีความสำคัญ เพราะสามารถใช้ DNA เป็นวัตถุพยาน (DNA evidence) เพื่อการพิสูจน์บุคคลในทางนิติวิทยาศาสตร์ หรือตรวจ DNA เพื่อพิสูจน์ความเป็นบิดา (DNA paternity testing) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างบุคคลที่เกี่ยวข้อง จะทำให้ผลการทดสอบมีความแม่นยำและความน่าเชื่อถือสูงมากยิ่งขึ้น^{1,2}

SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) เป็นความแปรผันทางพันธุกรรมในมนุษย์ประเภทหนึ่งที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงรหัสทางพันธุกรรมซึ่งมักจะไม่ก่อให้เกิดโรค ลักษณะดังกล่าวเกิดจากการกลายพันธุ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์เพียง 1 ตำแหน่งและพบได้ถี่ทุก 1,000 นิวคลีโอไทด์ และสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกหลานได้

ข้อดีของการตรวจวิเคราะห์ SNPs สำหรับงานทางนิติเวช-นิติวิทยาศาสตร์ คือ กรณีที่มีการเสื่อมสลายของวัตถุพยานหรือวัตถุพยานมีปริมาณน้อย การตรวจ STR ที่ทำกันเป็นปกติ จะทำได้ยากขึ้น เนื่องจาก STR มีขนาด 300-400 คู่เบส แต่ขนาดของ SNPs ที่นำมาตรวจวิเคราะห์โดยทั่วไปแล้วมักจะมีขนาดไม่เกิน 100 คู่เบส

นอกจากนี้ยังสามารถใช้เทคโนโลยี multiplex PCR ซึ่งสามารถตรวจได้คราวละหลายตำแหน่ง (locus) ต่อการทำ PCR เพียง 1 ครั้ง ซึ่งช่วยลดระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ไปได้มาก³

จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา ได้มีการเก็บข้อมูล SNPs ของคนไทยจำนวน 33 คน ซึ่งเป็นจำนวนน้อยเกินไปและไม่อาจใช้เป็นตัวแทนของบานข้อมูลสำหรับการใช้งานได้จริง และเนื่องจากประชากรในประเทศไทยมีความหลากหลายทางด้านเชื้อชาติค่อนข้างมากตามภูมิภาคที่อาศัยอยู่ อาจจะทำให้ฐานข้อมูลแตกต่างกันได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหา SNP ของคนไทยในภูมิภาคต่างๆเพื่อใช้เป็นมาตรฐานเฉพาะ เพราะว่าคนในท้องถิ่นหนึ่งๆที่อยู่อาศัยมานานหลายชั่วอายุคนน่าจะมีความหลากหลายแตกต่างไปจากคนในท้องถิ่นอื่นได้ ซึ่งภูมิภาคที่มีประชากรมากที่สุดในประเทศ มากถึง 1 ใน 3 ของประเทศ คือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและมีอัตราการอพยพย้ายถิ่นกระจายออกไปในภูมิภาคต่าง ๆ มากที่สุด^{4,5} ดังนั้นการศึกษาข้อมูล SNP ในประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จึงน่าจะเป็นประโยชน์ที่จะนำมาช่วยในการพิสูจน์บุคคลในทางนิติวิทยาศาสตร์ให้ได้ผลการตรวจที่แม่นยำมากยิ่งขึ้น

วัสดุและวิธีการศึกษา

เก็บ buccal swabs ของอาสาสมัครชาวอีสานจำนวน 96 ตัวอย่างซึ่งมีบรรพบุรุษเป็นชาวอีสานย้อนกลับไปได้ 3 ชั่วอายุคนและไม่เกี่ยวพันกันทางสายเลือด แล้วนำมาสกัดโดยใช้ชุดสกัดสำเร็จรูป DNA Microextraction kit (Qiagen®) นำไปวัดปริมาณของความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยใช้ spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่นที่ 260 นาโนเมตรและ 280 นาโนเมตร จากนั้นนำ DNA ที่สกัดได้มาเพิ่มจำนวนโดยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) ในสารละลายของปฏิกิริยาปริมาตร 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1x PCR buffer, 8 mM MgCl₂, 700 mM ของ dNTP 4 ชนิด, 20 pmole ของคู่ primer แต่ละตำแหน่ง (ตารางที่ 1), และ 5 U ของ Taq polymerase (Applied Biosystems) หลอดปฏิกิริยาถูกนำเข้าเครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ โดยตั้งค่าอุณหภูมิดังนี้: 95°C นาน 30 วินาที 1 รอบ จากนั้นปรับไปที่อุณหภูมิ 95°C นาน 30 วินาที, 60°C นาน 30 วินาที และ 65°C นาน 30 วินาที รวมทั้งสิ้น 33 รอบ แล้วตามด้วยอุณหภูมิ 65°C นาน 7 นาที

Marker Code	dbSNP rs#	PCR forward primers (5'-->3')	PCR reverse primers (3'-->5')
1	rs2046361	CCTATTTGTATGTATCTATTGTCTATGAACG	GTCATTGTTGACACTTCACCTTCTA
2	rs722098	GGAAGTACACATCTGTTGACAGTAATGA	GGGTAAAGAAATATTCAGCACATCC
3	rs1463729	ACTATCAGTCTCTGCCCTTATTCTG	CACATGTGCATGCTTTTGG
4	rs2830795	GGCTAAACTATTGCCGGAGA	TTCCCTAGAACCAATTATCTGTC
5	rs891700	GCATTCAAATCCCAAGTGCT	GCAGGAGTTGGAGTCAATCAG

ตารางที่ 1 แสดงคู่ primer ที่ใช้ในขั้นตอนการเพิ่มจำนวนโดยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR)

กำจัด primer และ dNTP ส่วนเกินออกโดยใช้ exonuclease-shrimp alkaline phosphatase: ExoSAP-IT (Amersham Pharmacia Biotech) ในปริมาณที่ต่างกัน คือ 2.0, 2.2 และ 2.5 ไมโครลิตร เพื่อหาปริมาณที่เหมาะสมที่สุด จากนั้นนำเข้าสู่เครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ โดยตั้งค่าอุณหภูมิ 37 °C นาน 1 ชั่วโมง ตามด้วย 75 °C นาน 15 นาที.

วัดปริมาณของความเข้มข้นของดีเอ็นเอโดยใช้ spectrophotometer ในช่วงความยาวคลื่นที่ 260 นาโนเมตรและ 280 นาโนเมตร และตรวจความบริสุทธิ์ของ PCR product ที่ได้ด้วย agarose gel electrophoresis ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 4% ที่ 80 V เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

นำผลผลิตที่ได้มาทำ single base extension reaction โดยนำยาชุดสำเร็จรูป SNaPshot® Ready Reaction Mix (Applied Biosystems) ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 4 มิลลิลิตร ของ Ready Reaction Premix และ 0.2 ไมโครโมลาร์ของ primer แต่ละชนิด (ตารางที่ 2) จากนั้นนำเข้าสู่เครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ โดยตั้งค่าอุณหภูมิ denaturation 96°C นาน 10 วินาที และทำการทดสอบอุณหภูมิ annealing 3 ระดับ คือ 50°C, 51 °C และ 52 °C ตามด้วย extension ที่ 60°C นาน 30 วินาที รวมทั้งสิ้น 33 รอบ

Marker Code	dbSNP rs#	Poly (dNTP) (5'→3')	Extension primer (binding sequence only)
1	rs2046361	25(A)	TTGTTGACACTTCACCTTCTA
2	rs722098	35(A)	TGACAGTAATGAAATATCCTTG
3	rs1463729	20(A)	CAGCATACACTCATAGCCAC
4	rs2830795	45(A)	GGACACACCATTTTATTGTCTAAAG
5	rs891700	40(A)	TCCATTCTTTTTTTTTGAAGCCT

ตารางที่ 2 แสดงลำดับเบสของสาย primer ที่ใช้ในขั้นตอน single base extension reaction

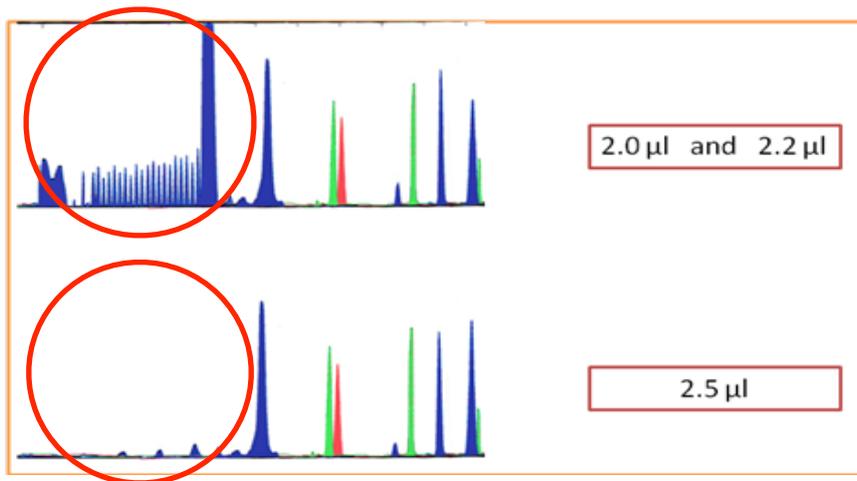
กำจัดนิวคลีโอไทด์ส่วนเกินออกโดยใช้ 1 U ของ shrimp alkaline phosphatase (SAP) (Amersham Pharmacia Biotech) จากนั้นนำเข้าสู่เครื่องปรับเปลี่ยนอุณหภูมิ โดยตั้งค่าอุณหภูมิ 37 °C นาน 45 นาที ตามด้วย 75 °C นาน 15 นาที.

นำผลผลิต 0.5 ไมโครลิตรมาเติมด้วย 9 ไมโครลิตรของ Hi-Di Formamide (Applied Biosystems) และ 0.5 ไมโครลิตรของ GeneScan®-120 LIZ™ size standard (Applied Biosystems) จากนั้น denature DNA ที่อุณหภูมิ 95°C นาน 5 นาที แล้วนำเข้าสู่เครื่อง ABI PRISM® 3130 Genetic Analyzer นำผลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม GeneScan® Analysis Software และคำนวณค่าทางสถิติโดยโปรแกรม PowerStat (Promega)

ผลการศึกษา

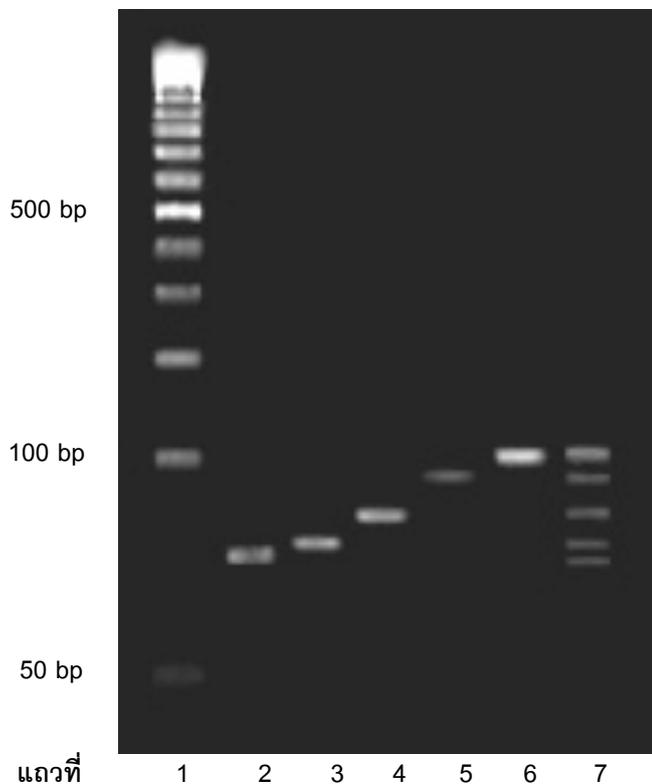
การวัดปริมาณความเข้มข้นของ DNA ที่ได้จากการสกัดพบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ย 11.7 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และมีค่าสัดส่วนของความบริสุทธิ์อยู่ในช่วง 1.3585 ถึง 2.2458 เมื่อนำมาเพิ่มจำนวนโดยเทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) และกำจัด primer และ dNTP ส่วนเกินออกโดยใช้ ExoSAP-IT ปรากฏผลดังแสดงใน

ภาพที่ 1 และเมื่อนำไปวัดปริมาณความเข้มข้นอีกครั้งพบว่ามีความเข้มข้นเฉลี่ย 15.5 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร และมีค่าสัดส่วนของความบริสุทธิ์อยู่ในช่วง 1.2642 ถึง 2.1868



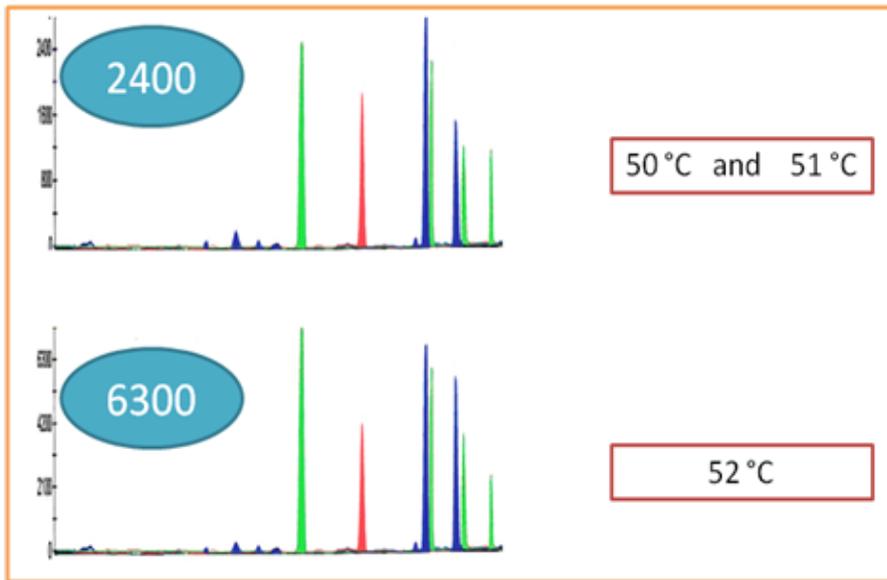
ภาพที่ 1 แสดงผลของการใช้ ExoSAP-IT ในปริมาณที่ต่างกัน คือ 2.0, 2.2 และ 2.5 ไมโครลิตร ซึ่งจะเห็นว่าสิ่งรบกวนส่วนต้นหายไปเมื่อใช้ความเข้มข้น 2.5 ไมโครลิตร

ผลการวัดความบริสุทธิ์ของ PCR product ที่ได้ด้วย agarose gel electrophoresis ซึ่งปรากฏ แถบ singleplex ของ SNPs ตำแหน่ง rs2046361, rs722098, rs1463729, rs2830795 และ rs891700 ในแถวที่ 2-6 ตามลำดับ และในแถวสุดท้ายเป็นแถบของ multiplex SNPs โดยเทียบกับแถบ DNA มาตรฐาน 50 bp ในแถวแรกให้ผลดังแสดงในภาพที่ 2



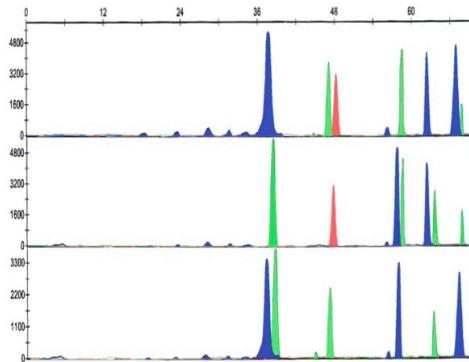
ภาพที่ 2 แสดงลักษณะแถบของ SNPs เทียบกับแถบ DNA มาตรฐาน

ผลของการทดสอบอุณหภูมิ annealing 3 ระดับ คือ 50°C, 51 °C และ 52 °C ในขั้นตอนการทำ single base extension reaction ปรากฏผลดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงผลของการทดสอบอุณหภูมิ annealing temperature ที่ 50°C, 51 °C และ 52 °C จะพบว่าที่อุณหภูมิ 52 °C มีปริมาณ DNA ที่ได้มากกว่า 2-3 เท่า

ผลการวิเคราะห์ electropherogram จาก multi-locus SNPs เรียงจากตำแหน่ง rs1463729, rs2046361, rs722098, rs891700 และ rs2830795 จากขนาดเล็กไปหาใหญ่หรือจากซ้ายไปขวา จะเห็นได้ว่าในตำแหน่งที่มี peak ปรากฏเป็น peak เดี่ยวจะแสดงผลที่เป็น homozygote ในขณะที่ตำแหน่งที่เป็น peak คู่จะแสดงผลที่เป็น heterozygote ปรากฏผลแสดงในภาพที่ 4-8 และผลของการคำนวณค่าทางสถิติของสลิปทั้ง 5 ตำแหน่งปรากฏผลแสดงในตารางที่ 3-8

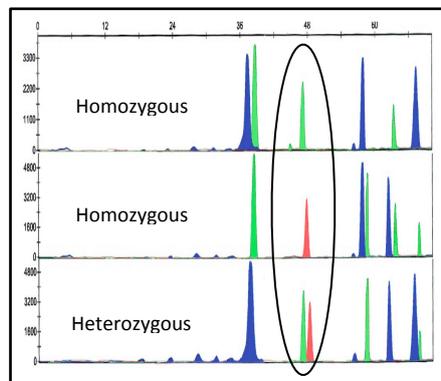


ภาพที่ 4 แสดง electropherogram ของ rs1463729

Genotype/Allele	Observed		Expected	
	n	%	n	%
Genotype				
AA	21	21.88	19.71	20.53
AG	45	46.88	47.58	49.56
GG	30	31.25	28.71	29.91
Allele				
A	87	0.45		
G	105	0.55		

Note : Hardy Weinberg Equilibrium $\chi^2_{(2, n=96)} = 0.282, p = 0.869$

ตารางที่ 3 แสดงค่าทางสถิติของ rs1463729

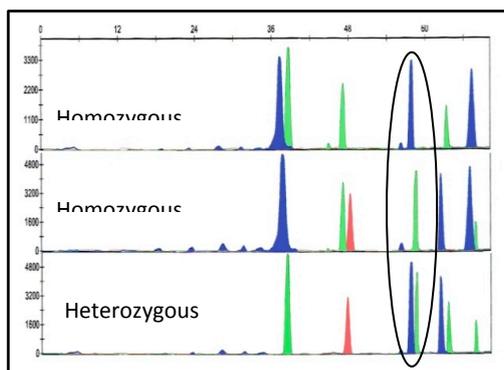


ภาพที่ 4 แสดง electropherogram ของ rs2046361

Genotype/Allele	Observed		Expected	
	n	%	n	%
Genotype				
AA	29	30.21	27.63	28.78
AT	45	46.88	47.74	49.73
TT	22	22.92	20.63	21.49
Allele				
A	103	0.54		
T	89	0.46		

Note : Hardy Weinberg Equilibrium $\chi^2_{(2, n=96)} = 0.317, p = 0.853$

ตารางที่ 4 แสดงค่าทางสถิติของ rs2046361

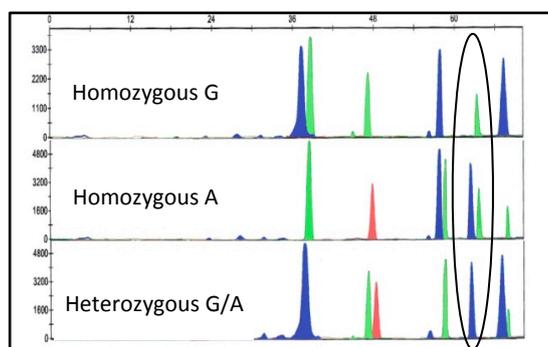


ภาพที่ 5 แสดง electropherogram ของ rs722098

Genotype/Allele	Observed		Expected	
	n	%	n	%
Genotype				
AA	26	27.08	22.52	23.46
AG	41	42.71	47.95	49.95
GG	29	30.21	25.52	26.59
Allele				
A	93	0.48		
G	99	0.52		

Note : Hardy Weinberg Equilibrium $\chi^2_{(2, n=96)} = 2.018, p = 0.365$

ตารางที่ 5 แสดงค่าทางสถิติของ rs722098

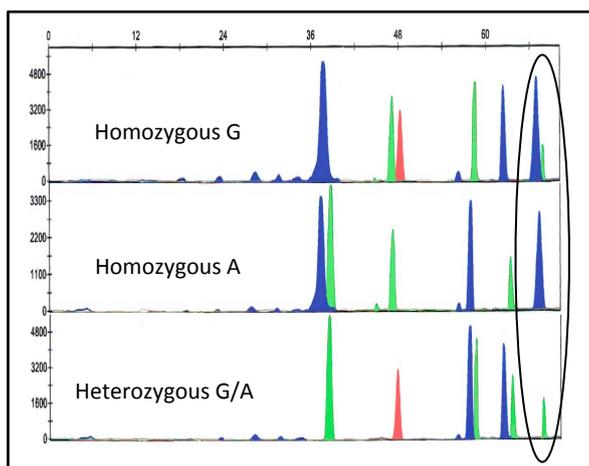


ภาพที่ 6 แสดง electropherogram ของ rs2830795

Genotype/Allele	Observed		Expected	
	n	%	n	%
Genotype				
AA	32	33.33	27.63	28.78
AG	39	40.63	47.74	49.73
GG	25	26.04	20.63	21.49
Allele				
A	103	0.54		
G	89	0.46		

Note : Hardy Weinberg Equilibrium $\chi^2_{(2, n=96)} = 3.22, p = 0.199$

ตารางที่ 6 แสดงค่าทางสถิติของ rs2830795



ภาพที่ 7 แสดง electropherogram ของ rs891700

Genotype/Allele	Observed		Expected	
	n	%	n	%
Genotype				
AA	23	23.96	22.04	22.96
AG	46	47.92	47.92	49.91
GG	27	28.13	26.04	27.13
Allele				
A	92	0.48		
G	100	0.52		

Note : Hardy Weinberg Equilibrium $\chi^2_{(2, n=96)} = 0.154, p = 0.926$

ตารางที่ 7 แสดงค่าทางสถิติของ rs891700

dbSNP rs#	n	Ho	He	Forensic Statistics			Paternity Statistics		CPD	CPE
				PIC	MP	PD	PE	TPI		
				rs2046361	96	0.536	0.464	0.37		
rs722098	96	0.484	0.516	0.37	0.347	0.653	0.131	0.87		
rs1463729	96	0.453	0.547	0.37	0.365	0.635	0.162	0.94		
rs2830795	96	0.536	0.464	0.37	0.344	0.656	0.118	0.84		
rs891700	96	0.479	0.521	0.37	0.366	0.634	0.170	0.96		

Note: Number of analyzed individuals (n), Observed heterozygosity (Ho), Expected heterozygosity (He), Polymorphic Information Content (PIC), Matching Probability (MP), Power of Discrimination (PD), Power of Exclusion (PE), Typical Paternity Index (TPI), Combined Power of Discrimination (CPD), Combined Power of Exclusion (CPE)

ตารางที่ 8 แสดงค่าทางสถิติของ rs2046361, rs722098, rs1463729, rs2830795 และ rs891700

อภิปรายผลการศึกษาและสรุป

การศึกษานี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มจากประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มาทำการสกัดดีเอ็นเอ พบว่ามีปริมาณมากเพียงพอสำหรับการนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR และกำจัด primer และ dNTP ส่วนเกินออกโดยใช้ ExoSAP-IT พบว่าเมื่อปริมาตร

ของ ExoSAP-IT เพิ่มขึ้นถึง 2.5 ไมโครลิตร peak รวมกันซึ่งเป็นผลจาก primers และ dNTP ส่วนเกินที่กำจัดไม่หมดที่ขึ้นอยู่ด้านหน้าจะลดลงไปจนไม่รบกวนต่อการอ่านผล^{6,7}

เมื่อนำไปวัดความเข้มข้นของ PCR product หลังจากทำให้บริสุทธิ์ด้วย ExoSAP-IT แล้วโดยใช้ spectrophotometer และตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ PCR product ที่ได้ด้วยวิธี agarose gel electrophoresis แล้วพบว่ายังมีปริมาณมากและมีความบริสุทธิ์เพียงพอสำหรับการนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป คือขั้นตอนการทำ single base extension ซึ่งในขั้นตอนนี้ได้ทำการทดสอบอุณหภูมิ annealing 3 อุณหภูมิคือ 50°C, 51°C และ 52°C พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้มากขึ้นจนถึง 52°C จะทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นมากโดยดูจาก peak ที่วัดได้มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 2400 rfu เป็น 6300 rfu

ผลการวิเคราะห์ electropherogram โดยเครื่อง ABI PRISM[®] 3130 Genetic Analyzer พบว่า SNPs ทั้ง 5 ตำแหน่งปรากฏในตำแหน่งที่ถูกต้อง เมื่อนำมาคำนวณหา heterozygosity พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.453 (rs1463729) ถึง 0.536 (rs2046361 และ rs2830795) และเมื่อนำมาทดสอบ Hardy-Weinberg Equilibrium โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ Chi-Square (χ^2) พบว่ามีการกระจายตัวเป็นไปตามกฎความสมดุลของฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ($p > 0.05$)^{8,9} นอกจากนี้ยังมีค่า combined power of exclusion (CPE) เท่ากับ 0.9999 และค่า combined discrimination power (CPD) ของ SNPs ทั้ง 5 ตำแหน่งเท่ากับ 0.8903 ซึ่งมากกว่าค่า discrimination power ของ STR ที่ใช้กันอยู่ตามปกติจำนวน 3 ตำแหน่งในประเทศไทยคือ CSF1PO, D3S1358 และ TPOX

จากการศึกษา SNPs 5 ตำแหน่งคือ rs2046361, rs722098, rs1463729, rs2830795 และ rs891700 ในประชากรไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่าสามารถนำไปช่วยเพิ่มความสามารถในการตรวจวิเคราะห์เกี่ยวกับการพิสูจน์บุคคลและการพิสูจน์ความเป็นบุตรบิดาในงานนิติเวชศาสตร์ได้ดี และอาจใช้ทดแทน STR ในตำแหน่งที่มี polymorphism น้อยๆได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณภาคควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ที่กรุณาให้ยืมใช้สถานที่และเครื่องมือสำหรับทำวิจัยครั้งนี้ และงานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองทางจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

เอกสารอ้างอิง

1. Brooks L. SNPs: Why Do We Care?, In : Kwok PY, Walker J, ed. Single Nucleotide Polymorphisms. Humana Press, USA. 2003. p. 1-14.
2. Muller-Myhsok B. The usefulness of single nucleotide polymorphisms (SNPs) for genetic epidemiological investigation of complex psychiatric diseases. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2005 ;29(6); 1017-20.
3. SNPforID. Available from: <[http://spsmart.cesga.es/results.php?dataSet=snpforid_52&what2search\[1\]=EAST%20ASIA](http://spsmart.cesga.es/results.php?dataSet=snpforid_52&what2search[1]=EAST%20ASIA)>.
4. Musgrave-Brown E, et al. Forensic validation of the SNPforID 52-plex assay. Forensic Sci Int Genet, 2007 ;1(2); 186-90.
5. Social Statistics Analysing and Forecasting Group. Social Indicators of Thailand 2009. National Statistical Office, Bangkok, Thailand. 2009.

6. Dieffenbach CW, Dveksler GS. PCR primer: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, USA. 2003. p. 104-9.
7. Carracedo Á., Forensic DNA typing protocols. Humana Press, USA. 2005. p. 115, 200-3, 243-4.
8. Salisbury BA, et al. SNP and haplotype variation in the human genome. *Mutat Res*, 2003 :526(1-2); 53-61.
9. Goodwin W, Linacre A, Hadi S. *An Introduction to Forensic Genetics*. John Wiley & Sons, UK. 2011.