

ภาวะเหนือพันธุศาสตร์ ในทางนิติเวชศาสตร์ (forensic epigenetics)

ภัคค์ปภัส วรรษต์ถุญารมย์

บทนำ

เป็นเวลาหลายทศวรรษที่มีการนำความรู้ด้านพันธุศาสตร์มาประยุกต์ใช้ในงานทางนิติเวชศาสตร์ ในงานพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล ตรวจสอบความสัมพันธ์ของบุคคล ตรวจสอบข้อมูลสารพันธุกรรมของวัตถุพยาน จากที่เกิดเหตุ โดยในช่วงแรกจะเป็นการใช้ข้อมูลจากการตรวจสอบสารพันธุกรรม DNA ของมนุษย์ แต่ในเวลาต่อมาการตรวจนอกเหนือสารพันธุกรรมในบริเวณอื่นก็มีการวิจัยและริเริ่มพัฒนาใช้ในทางนิติเวชศาสตร์ เช่นกัน forensic epigenetics จึงเป็นการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงอื่นๆนอกเหนือจากบริเวณสาย DNA

การตรวจภาวะเหนือพันธุศาสตร์ (epigenetics) มุ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อม ต่อการแสดงออกในระดับยีนส์ (gene expression) เป็นสาขาย่อยของการศึกษาพันธุศาสตร์โมเลกุล (molecular genetics) โดยศึกษาการแสดงออกของลำดับสารพันธุกรรมและการแสดงออกของเซลล์ (cellular phenotype) รวมถึงศึกษาถึงความเกี่ยวเนื่องของการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลของ คู่เบสพันธุกรรม เช่น การแทรกของหมู่โมเลกุลกลุ่มเมทิล (methylation) ตรงบริเวณหน่วย cytosine การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนฮิสโตน (post translational histone modifications) การเปลี่ยนแปลงของ non-coding RNA และโครมาติน (chromatin)⁽¹⁻²⁾ ถือเป็นการศึกษาที่รวมวิทยาศาสตร์หลายแขนงไว้ด้วยกัน และถือเป็นการศึกษาที่มีความเกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์แห่งการเปลี่ยนแปลง (science of change) โดยแท้จริง⁽²⁾ โดยเริ่มมีการศึกษาเกี่ยวกับภาวะเหนือพันธุศาสตร์ในช่วงปี ค.ศ. 1950 และในปี ค.ศ. 2000 การศึกษามีความแพร่หลายอย่างมาก มีการศึกษามากกว่า 2,400 เรื่องในช่วงปี ค.ศ. 2015⁽³⁾ แต่การศึกษาทางเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงเหนือพันธุศาสตร์ในทางนิติเวชศาสตร์นั้น เริ่มต้นขึ้นในช่วงปี ค.ศ. 2013 และแพร่หลายในช่วงปี ค.ศ. 2015 จนถึง ค.ศ. 2016 ซึ่งโดยมากจะเป็นการศึกษาโดยมีหัวข้อหลักคือการตรวจหา ชนิดของเนื้อเยื่อต่าง ๆ จากร่องรอยทางชีววิทยาของมนุษย์ (human biological trace) การประเมินอายุ ของเจ้าของวัตถุพยาน และการแยกระบุบุคคลระหว่างคู่แฝดแท้ (monozygotic twins)⁽¹⁾ และในปัจจุบัน การศึกษาต่าง ๆ มีความหลากหลายมากขึ้น มุ่งเน้นการตรวจวัตถุพยาน การประเมินอายุวัตถุพยานและ



เจ้าของวัตถุพยาน รวมถึงการระบุอัตลักษณ์บุคคล และเทคโนโลยีด้านการตรวจในหลากหลายรูปแบบ เพื่อท้าทายขีดจำกัดของวัตถุพยานในทางนิติเวชศาสตร์⁽⁴⁻⁸⁾

ชีววิทยาพื้นฐานของ epigenetics

Epigenetics เป็นการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมที่มีลักษณะส่งต่อจากรุ่นสู่รุ่น (heritable)^(1, 3) กลไกของ epigenetics จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงต่างของสิ่งมีชีวิต โดยไม่ก่อให้เกิดความเปลี่ยนแปลงของสายพันธุกรรมตั้งต้น⁽⁹⁾ แต่การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นก็ยังคงเป็นผลต่อเนื่องจากสภาพแวดล้อม (dual nature)⁽³⁾ ร่วมกับต้องอาศัยกลไกการเปลี่ยนแปลงอื่นในสายพันธุกรรมร่วมด้วยจึงจะส่งผลต่อการแสดงออกของยีนส์⁽²⁾ โดยในการควบคุมภาวะเหนือพันธุศาสตร์ (epigenetic regulation) มีการอาศัยกลไกหลายอย่างร่วมกัน อาทิเช่น DNA methylation การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนฮิสโตน (posttranslational modification, PTM) การแลกเปลี่ยนระหว่าง canonical histone กับ histone variants การปรับปรุงโครงสร้างของโครมาติน และการสรรหา non coding RNA⁽¹⁰⁾

ก. DNA methylation

เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของ deoxycytidine บริเวณฐานของสายพันธุกรรม โดยเฉพาะตำแหน่งของเบส cytosine และ guanine⁽⁹⁾ โดยจะเป็นการเติมหมู่ methyl และ dimethyl ซึ่งมักจะเกิดการเติมหมู่ methyl บริเวณคาร์บอนตัวที่ 5 ในโครงสร้างวงแหวนของโมเลกุล cytosine ตามหลังด้วยหมู่ guanine รวมเรียกว่า CpG dinucleotide โดยร้อยละ 70 ของข้อมูลสารพันธุกรรมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะเกิดกระบวนการ methylation และการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวที่เกิดขึ้นนิยมนำมาใช้ในการศึกษาวิจัยของภาวะเหนือพันธุศาสตร์⁽¹⁰⁾

ข. โครมาติน (chromatin)

การศึกษาเพียงการเติมหมู่ methyl หรือ dimethyl ของคู่เบส cytosine และ guanine เพียงอย่างเดียวนั้นอาจไม่ครอบคลุมต่อการอธิบายการเปลี่ยนแปลงทั้งหมดในภาวะเหนือพันธุศาสตร์ จำเป็นต้องมีการศึกษาในภาพรวมที่ใหญ่ขึ้นคือโปรตีนโครมาติน โครงสร้างของโครมาตินเป็นโครงสร้างที่มีความซับซ้อนองค์ประกอบของโครมาตินมีส่วนในการควบคุมการทำงานของยีนส์ โครงสร้างที่ซับซ้อนประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 2 ส่วน คือ บริเวณ double-helical DNA linker ที่มีความยาวประมาณ 90 คู่เบส และบริเวณที่มี double-helical DNA ความยาวประมาณ 147 คู่เบสพันรอบโปรตีนฮิสโตน ซึ่งรวมเรียกว่า นิวคลีโอโซม (nucleosome) โดยโครงสร้างดังกล่าวมีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมภาวะเหนือพันธุศาสตร์ของยีนส์ (epigenetic control) อาศัยการเปลี่ยนแปลงรหัส (posttranslational modification) ผ่านกระบวนการ methylation, acetylation, phosphorylation, citrullination และ ubiquitination โดยการทำงานประสานร่วมกันของโครงสร้างที่ซับซ้อนภายในโครมาตินที่ตีจะส่งผลให้เกิดการประมวลผลของการแสดงออกของยีนส์ที่มีประสิทธิภาพ⁽⁹⁻¹⁰⁾

กระบวนการ acetylation เป็นกระบวนการที่มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายในการดูการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนฮิสโตน โดยวัฏจักรการทำงานของเอนไซม์ 2 ชนิด คือ acetyltransferases (HATs) และ histone

deacetylases (HDACs) กระบวนการดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับการเปิดโปรตีนฮิสโตนและการกระตุ้นให้เกิดการ transcription ส่วนกระบวนการ histone methylation ถือเป็นกลไกที่มีรูปแบบที่ซับซ้อนและการคาดคะเนผลที่ไม่แน่นอน การเกิด methylation ของฮิสโตน H3K4 และ H3K36 มักเพิ่มขึ้นและมีความเกี่ยวข้องกับการ transcription⁽¹⁰⁾

อย่างไรก็ตามการศึกษาด้านการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนฮิสโตนยังมีข้อจำกัดอยู่มาก เนื่องจากโครงสร้างที่ซับซ้อนและหมู่โครงสร้างโมเลกุลที่มีความหลากหลาย และข้อมูลที่ได้จากการศึกษาที่ยังใหม่และไม่ครอบคลุม

ค. อาร์เอ็นเอ (RNA)

ในกระบวนการแสดงออกของยีนส์ที่มีคุณภาพ การควบคุมเวลาในการแสดงออกที่เหมาะสมถือเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการควบคุมการทำงานของร่างกายให้อยู่ในภาวะธำรงดุล (homeostasis) RNA เป็นโครงสร้างที่มีหน้าที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุกรรม โดยเฉพาะที่เป็นผลกระทบมาจากสภาพแวดล้อม จึงมีส่วนในการควบคุมการเกิด methylation ของสายพันธุกรรมและการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของโปรตีนโครมาติน⁽⁹⁾

เทคนิคที่นิยมใช้ในการตรวจ

เทคโนโลยีในการตรวจส่งผลโดยตรงต่อความก้าวหน้าด้านการศึกษาภาวะเหนือพันธุศาสตร์ โดยเทคโนโลยีที่มีความเกี่ยวข้อง (Epi-Tech) นั้นมีความหลากหลายและอาศัยความเชี่ยวชาญอย่างมาก เช่น การวิเคราะห์ลำดับเบสทั้งเกลียวพันธุกรรม (genome-wide sequencing) การสร้างแอนติบอดีประสิทธิภาพสูง (high-quality antibody) การตรวจการทำงานของโครมาติน (functional chromatin assay) และการจัดการข้อมูลชีวภาพ (bioinformatics)⁽¹⁰⁾

ในงานทางด้านนิติเวชศาสตร์ นิยมศึกษากลไกการเกิด DNA methylation เป็นหลัก วัตถุประสงค์ของช่วงแรกมุ่งเน้นเกี่ยวกับการค้นหาตำแหน่ง CpG ที่มีความเกี่ยวข้องและมีประโยชน์ที่สามารถนำมาใช้กับงานนิติเวชเป็นหลัก จะมีการตรวจเพื่อค้นหาตำแหน่ง CpG ที่ส่งผลต่ออายุหรือชนิดของเนื้อเยื่อเป็นหลัก ดังนั้นจึงต้องอาศัยการตรวจที่เน้นปริมาณและครอบคลุม เทคนิคที่นิยมใช้จึงเป็นการตรวจวิเคราะห์ CpG ได้หลายตำแหน่งในเวลาเดียวกัน โดย microarrays เป็นเทคนิคที่ถือเป็นมาตรฐานในปัจจุบัน เนื่องจากความสามารถในการตรวจที่ครอบคลุม แม่นยำ ตรวจได้หลายตัวอย่างภายในระยะเวลาและราคาที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามเมื่อได้ผลการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีปริมาณมาก การหาเครื่องมือวิเคราะห์ข้อมูลดังกล่าวที่เหมาะสมก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึงในการศึกษาวิจัย การเลือกเครื่องมือวิเคราะห์ข้อมูลนั้นต้องคำนึงถึงหัวข้อที่สนใจจะศึกษาเป็นหลัก ตัวอย่างเช่นในการศึกษาเรื่องการประมาณอายุจากเครื่องหมาย DNA methylation จะนิยมใช้ โมเดลการถดถอย (regression model) เป็นหลัก แต่จะใช้รูปแบบย่อยใดนั้นอาจต้องพิจารณาของการกระจายของข้อมูลเพื่อประกอบการตัดสินใจ ในปัจจุบันมีการพยายามนำวิธีวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ neural artificial network เข้ามาประยุกต์ใช้มากขึ้น แต่ผลสรุปก็ยังคงไม่ชัดเจนซึ่งต้องอาศัยการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต⁽¹⁾

มีวิธีการมากมายที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ DNA methylation ในตำแหน่งที่สนใจ โดยจะเป็นหลักการวิเคราะห์บริเวณตำแหน่ง CpG โดยมีการเติมโซเดียมไบซัลไฟต์เพื่อทำกระบวนการ bisulfite conversion เปลี่ยนบริเวณของเบส cytosine ที่ไม่มีการเติมหมู่ methyl ให้กลายเป็น uracil หรือ thymine และ methylated cytosine จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง หลังจากนั้นจะต้องเข้าสู่การอ่านลำดับเบส โดยอาจมีการกำหนดให้ C แทนตำแหน่งที่มีการเติมหมู่ methyl และ T เป็นบริเวณที่ไม่มีการเติมเกิดขึ้น หลังจากนั้นจะมีการตรวจวิเคราะห์ลำดับพันธุกรรม ตัวอย่างเช่น

ก. การใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะบริเวณที่เกิด methylation [methylation-sensitive restriction enzyme (MSRE)-based fragment analysis]

เป็นวิธีที่รวดเร็วและมีความน่าเชื่อถือ สามารถวิเคราะห์ได้หลายตำแหน่งพร้อมกัน โดยจะมีการใช้เอนไซม์ที่ถูกออกแบบมาจำเพาะต่อตำแหน่งที่ต้องการตัด หลังจากนั้นจะมีการใช้เทคนิค multiplex PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และใช้เทคนิค capillary electrophoresis (CE) ในการวิเคราะห์ผลผลิตชิ้นส่วนสารพันธุกรรม ซึ่งวิธีนี้สามารถตรวจได้ถึง 15 CpG ในเวลาเดียวกัน และใช้ปริมาณแม่แบบดีเอ็นเอเพียง 250 พิโคกรัมเท่านั้น⁽¹⁾

ข. การตรวจที่ละคู่เบส [single-based extension (SBE) system]

มีการประยุกต์นำเทคนิคในการตรวจสลับ (SNP) อย่างเทคโนโลยี SNaPshot[®] มาประยุกต์ใช้ในการตรวจ CpG ซึ่งวิธีดังกล่าวอาจรวมเรียกว่า bisulfite methylation-sensitive single-nucleotide primer extension (Ms-SNuPE) แต่ยังมีข้อจำกัดที่ตรวจได้ประมาณ 10 ตำแหน่ง CpG เท่านั้น โดยมีรายงานปริมาณดีเอ็นเอน้อยที่สุดที่ใช้ในการศึกษาคือ 4 นาโนกรัม^(1,8)

ค. Bisulfite Sanger sequencing

มักใช้ในการตรวจแบบหลายตำแหน่ง (multiplex epigenetic assay) เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์สายพันธุกรรมที่มีลำดับคู่เบสยาว โดยวิธีดังกล่าวนิยมใช้ในการตรวจสอบข้อมูลของ CpG ที่ได้มาจากการตรวจด้วย microarrays วิธีนี้ยังมีประโยชน์ในการให้ข้อมูลของบริเวณข้างเคียง CpG ที่ทำการตรวจวิเคราะห์ แต่อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังคงมีข้อจำกัดเรื่องของการให้เพียงข้อมูลเชิงคุณภาพและเรื่องระยะเวลาที่ใช้ในการตรวจที่ยาวนาน⁽¹⁾

ง. Bisulfite pyrosequencing

เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุด เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ให้ข้อมูลของตำแหน่ง CpG ที่ละเอียดครอบคลุมถึงข้อมูลด้านปริมาณ รวมถึงมีเป็นวิธีที่มีความไวสูง แต่เนื่องจากการตรวจวิธีนี้เป็น การตรวจแบบตำแหน่งเดียว จึงอาจมีข้อจำกัดเรื่องปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจ เพราะอาจเกิดการวิเคราะห์หลายครั้งหลาย CpG ซึ่งถือเป็นข้อจำกัดสำคัญของตัวอย่างในทางนิติเวช โดยเฉพาะวัตถุพยานที่เก็บได้จากที่เกิดเหตุ ผู้เสียหาย ผู้ตาย หรือผู้กระทำความผิด ซึ่งมักจะมีปริมาณที่จำกัดนั่นเอง

จ. Quantitative qPCR-based analysis

การตรวจแบบ real-time PCR เป็นวิธีวิเคราะห์พื้นฐานที่ใช้ทั่วไปในงานด้านนิติเวชศาสตร์ เป็นวิธีที่ให้ข้อมูลเชิงปริมาณได้เป็นอย่างดี แต่อาจจะต้องมีการปรับเปลี่ยนรายละเอียดปลีกย่อยของเทคนิค

ให้เหมาะสมกับการตรวจทาง epigenetic ต่อไป⁽¹⁾

ฉ. NGS หรือ massively parallel sequencing

เป็นเทคโนโลยีการตรวจลำดับสารพันธุกรรมรุ่นที่สอง มีประโยชน์ในการตรวจลำดับสารพันธุกรรมสายสั้น⁽¹¹⁾ แต่มีประโยชน์อย่างมากในการตรวจทาง epigenetic เนื่องจากความสามารถในการอ่านข้อมูลเชิงปริมาณ (read counts) ครอบคลุมข้อมูล (high read depth) และสามารถตรวจหลายตำแหน่งได้ในเวลาเดียวกัน 1 แต่เนื่องจากข้อมูลจากการวิเคราะห์จำนวนมาก อาจจะต้องอาศัยการวิเคราะห์ข้อมูลทางชีวสารสนเทศศาสตร์ที่มีความซับซ้อนสูง ร่วมกับค่าใช้จ่ายในการตรวจที่สูง ส่งผลให้วิธีนี้ยังคงมีข้อเสียและข้อจำกัดในบางห้องปฏิบัติการ⁽¹⁾

ข. Mass Spectrometry (EpiTYPER technology)⁽¹²⁾

เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจเพียงตำแหน่งเดียวและมีประสิทธิภาพสูง (high throughput technology) และอาจตรวจ CpG ในลักษณะที่เป็นกลุ่ม cluster กล่าวคือตำแหน่ง CpG ที่อยู่ใกล้กันมาก อาจมีโอกาที่จะตรวจพบในสาย DNA fragment เดียวกัน ส่งผลให้ความละเอียดของการตรวจลดลง⁽¹⁾ ผลกระทบของ bisulfite conversion

Bisulfite conversion เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญอย่างมากในการตรวจหา DNA methylation แต่เนื่องจากวิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่ใช้สารเคมีในการทำปฏิกิริยา จึงทำให้สายพันธุกรรมบางส่วนเกิดความเสียหาย ส่งผลให้ปริมาณตัวอย่างลดลงและมีลักษณะที่แตกหักมากขึ้น (fragmentation)⁽¹⁾

การประยุกต์ใช้ epigenetic ในงานนิติเวชศาสตร์

เริ่มตั้งแต่ปี ค.ศ. 2013 เริ่มมีการนำองค์ความรู้ด้าน epigenetic เข้ามาประยุกต์ใช้ในทางนิติเวชมากขึ้น โดยเฉพาะในเรื่องของการตรวจแยกชนิดของเซลล์หรือเนื้อเยื่อจากตัวอย่าง การตรวจประเมินอายุเจ้าของตัวอย่าง หรือการตรวจแยกแฝดแท้ (monozygotic twins) เป็นต้น^(1, 5-8) โดยในช่วงแรกจะมีการมุ่งเน้นทางด้าน การตรวจหาตำแหน่ง CpG บนยีนส์ที่มีความเกี่ยวข้องและวิเคราะห์หาชุดตำแหน่ง CpG ที่มีความเหมาะสมเป็นหลัก ต่อมาก็มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการตอบคำถามอื่นมากขึ้น เช่น การประเมินเพศ BMI การวิเคราะห์พฤติกรรม การสูบบุหรี่ การวิเคราะห์เรื่องการใช้ยาและสารต่าง ๆ⁽⁴⁾ หรือการตรวจหาการเปลี่ยนแปลงโดยรวมทาง epigenetic ของกลุ่มคนอายุน้อย⁽¹²⁾ เป็นต้น

ก. การตรวจแยกชนิดของเนื้อเยื่อหรือเซลล์

เป็นรูปแบบการศึกษาที่แพร่หลายอย่างมากและมีประโยชน์ต่อการตรวจตัวอย่างที่ไม่ทราบแหล่งที่มาหรือชนิดชัดเจน โดยเฉพาะตัวอย่างวัตถุพยานที่เก็บได้จากที่เกิดเหตุ ซึ่งการให้ข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของเซลล์หรือเนื้อเยื่อจากวัตถุพยานดังกล่าวถือเป็นข้อมูลพื้นฐานในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง เพื่อใช้ในการประกอบการระบุวัตถุพยาน เจ้าของวัตถุพยาน หรือรูปการณ์ที่เกิดขึ้นในที่เกิดเหตุ โดยการศึกษาแรกเริ่มต้นในปี ค.ศ. 2011 จนเริ่มมีการพัฒนาชุดตรวจ CpG ในการระบุชนิดเนื้อเยื่อหรือเซลล์ในปี ค.ศ. 2016 โดยมีการใช้เทคนิคที่หลากหลาย รายงานตำแหน่งที่เหมาะสมกับเนื้อเยื่อหรือเซลล์แต่ละชนิด ในปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยแยกชนิดของ เลือด น้ำลาย เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม น้ำอสุจิ สารคัดหลั่งจากช่องคลอด เลือดจากประจำเดือน

สมอง กล้ามเนื้อ และกระดูก^(1,5,8)

Cell type-specific DNA methylation effects

ในการตรวจวิเคราะห์หาชนิดของเนื้อเยื่อหรือเซลล์นั้นอาศัยหลักการของการอ่านค่า methylation โดยรวมจากการวิเคราะห์ ดังนั้นในตัวอย่างวัตถุพยานที่อาจมีการผสมกันของเซลล์หรือเนื้อเยื่อหลายชนิด อาจจะต้องมีความระมัดระวังในเรื่องของการแปลผล เพราะลักษณะของ methylation ที่ได้จากการวิเคราะห์จะอยู่ในรูปแบบของสเปกตรัม โดยเป็นช่วงของ non-methylation ไปจนถึงการมี methylation โดยสมบูรณ์ อีกทั้งเนื้อเยื่อในบริเวณที่ต่างกันในร่างกาย จะประกอบด้วยเซลล์หลากหลายชนิดมาอยู่ร่วมกัน ซึ่งแต่ละชนิดของเซลล์อาจมีการเกิด methylation ที่ต่างกันได้ เพราะฉะนั้นการตรวจวัตถุพยานที่ไม่ทราบแหล่งกำเนิด ประกอบด้วยเซลล์หลายชนิดผสมกัน อาจส่งผลถึงการอ่านค่า methylation ที่จะเกิดขึ้นซึ่งจะรบกวนการแปลผลได้⁽¹⁾

ข. การประเมินอายุ

การศึกษาในหัวข้อนี้มุ่งเน้นด้านการหาอายุของเจ้าของวัตถุพยาน เพื่อสนับสนุนงานด้านการสืบค้น การสืบสวนสอบสวนของพนักงานสอบสวน เพื่อนำไปสู่การจับกุมและดำเนินคดีกับผู้กระทำผิด การตรวจประเมินอายุของเจ้าของวัตถุพยานจากที่เกิดเหตุ จะให้ข้อมูลสำคัญของผู้เสียหายและผู้กระทำผิด จำกัดช่วงอายุของบุคคลที่มีความเกี่ยวข้อง ซึ่งเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในด้านการสืบค้นและจับกุม เป็นหัวข้อการศึกษาที่มีความนิยมมากในช่วงปี ค.ศ. 2016 โดยการศึกษาดังกล่าวอาศัยหลักการของการเปลี่ยนแปลงในร่างกายที่สัมพันธ์กับอายุที่เปลี่ยนแปลงไป มีการศึกษาในตัวอย่างเนื้อเยื่อหลากหลายชนิดและมีการสรุปผลถึงความแตกต่างของการเกิด methylation ตามอายุ (age-dependent methylation effects) ของเนื้อเยื่อในแต่ละตำแหน่ง⁽¹⁾ โดยยีนส์ที่มีความเกี่ยวข้องกับการประเมินอายุมากที่สุดคือ ELOVL2 6 และ KCNAB3 ในกลุ่มคนอายุน้อย⁽¹²⁾

ค. การแยกแฝดแท้

การตรวจทางนิติพันธุศาสตร์นั้นมีข้อจำกัดอย่างมากในการตรวจแยกระหว่างแฝดแท้ (monozygotic twins) ดังนั้นจึงมีการคิดค้นและพัฒนาวิธีการช่วยแยกบุคคลระหว่างคู่แฝดแท้มาอย่างต่อเนื่อง มีการนำ การตรวจความแตกต่างของ SNPs โดยดูการกลายพันธุ์ (individual-specific somatic mutation) แต่วิธีดังกล่าวมีค่าใช้จ่ายที่สูงและอาจไม่พบการกลายพันธุ์ในลักษณะดังกล่าวในคู่แฝดแท้ที่ได้นับการตรวจได้ 1 โดยการศึกษาปัจจุบันถึงความแตกต่างของ epigenetic ในคู่แฝดแท้ พบว่าในบางตำแหน่งของ CpG มีความแตกต่างกันเล็กน้อยในแต่ละคน แต่ข้อจำกัดในเรื่องของตำแหน่ง CpG ที่เหมาะสมก็คงเป็นปัญหาที่ต้องศึกษาเพิ่มเติมต่อไป⁽⁷⁾

ข้อจำกัดและข้อควรระวังในการนำ epigenetic มาประยุกต์ใช้ในงานนิติเวช

การตรวจหรือข้อมูลความรู้ การศึกษาที่มีอยู่จำกัดของ forensic epigenetic เป็นเหตุปัจจัยสำคัญที่จะต้องเพิ่มความระมัดระวังในการแปลผลและการนำเอาไปใช้ เนื่องจากการตรวจทางนิติเวชศาสตร์ มีส่วนเกี่ยวข้องอย่างมากในกระบวนการยุติธรรม การตัดสินใจของผู้กระทำผิด การสืบสวนการคลี่คลายคดีของ

พนักงานสืบสวน การนำข้อมูลที่ยังอยู่ในระหว่างการศึกษาค้นคว้า ข้อมูลที่มีความคลุมเครือ จึงจะต้องมีการตัดสินใจโดยการใช้วิจารณญาณที่รอบคอบประกอบด้วยทุกครั้ง

แนวโน้มในอนาคต

Forensic genetic เป็นเทคโนโลยีใหม่ที่กำลังมีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว การศึกษาที่มากขึ้นมีแนวโน้มที่จะให้คำตอบกับคำถามที่ยังคงค้างคาในอดีต รวมถึงให้ข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างวัตถุพยาน ผู้กระทำและผู้ถูกกระทำได้มากขึ้น แนวโน้มของการศึกษาวิจัยจะเน้นด้านพัฒนาชุดตรวจ การข้ามขีดจำกัดของตัวอย่าง การค้นหาตำแหน่ง CpG ที่เหมาะสม โดยอาศัยการตรวจที่คุ้มค่ากับเวลาและค่าใช้จ่าย และมีบรรทัดฐานสำคัญด้านความแม่นยำและถูกต้อง

เอกสารอ้างอิง

1. Athina Vidaki, Manfred Kayser. Recent progress, methods, and perspectives in forensic epigenetics. *Forensic Science International: Genetics* 37 (2018) 180-195.
2. Reinhard Heil. *Epigenetics: Ethical, Legal and Social Aspects*. SpringerVS, 2017.
3. Jan Baedke. *ABOVE THE GENE BEYOND BIOLOGY: Toward a Philosophy of Epigenetics*. University of Pittsburgh Press, 2018.
4. Monica Ortega Llobet, Asa Johansson, Ulf Gyllensten, Marie Allen, Stefan Enroth. Forensic prediction of sex, age, height, body mass index, hip-to-waist ratio, smoking status, and lipid lowering drugs using epigenetic markers and plasma protein. *Forensic Science International: Genetics* 65 (2023) 102871.
5. Jana Naue, Timo Sanger, Huub C.J. Hoefsloot, Sabine Lutz-Bonengel, Ate D. Kloosterman, Pernette J. Verschure. Proof of concept study of age-dependent DNA methylation markers across different tissues by massive parallel sequencing. *Forensic Science International: Genetics* 36 (2018) 152-159.
6. Kristina Schwender, Olivia Hollander, Steve Klopfleisch, Maria Eveslage, Moritz Fabian Danzer, Heidi Pfeiffer, Marielle Vennemann. Development of two age estimation models for buccal swab samples based on 3 CpG sites analyzed with pyrosequencing and minisequencing. *Forensic Science International: Genetics* 53 (2021) 102521.
7. Athina Vidaki, Celia Diez Lopez, Elena Carnero-Montoro, Arwin Ralf, Kirsten Ward, Timothy Spector, Jordana T. Bell, Manfred Kayser. Epigenetic discrimination of identical twins from blood under forensic scenario. *Forensic Science International: Genetics* 31 (2017) 67-80.
8. Ji Eun Lee, Jeong Min Lee, Jana Naue, Jan Fleckhaus, Ana Freire-Aradas, Jacqueline

- Neubauer, Hwan Young Lee. A collaborative exercise on DNA methylation-based age prediction and body fluid typing. *Forensic Science International: Genetics* 57 (2022) 102656.
9. C. Ann Blakey, Michael D. Litt. *Epigenetic Gene Expression and Regulation*. Elsevier, 2016: 1-19.
 10. Y. George Zheng. *Epigenetic Technological Application*. Elsevier, 2015.
 11. เกียรติ วงศ์ไพศาลสิน. วิทยาการทางนิติพันธุศาสตร์ หลักการและการประยุกต์ใช้. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2565: 47-48.
 12. Ana Freire-Aradas, Christopher Phillips, Lorena Giron-Santamaria, Ana Mosquera-Miguel, Antonio Gomez-Tato, Maria Victoria Lareu. Tracking age-correlated DNA methylation markers in the young. *Forensic Science International: Genetics* 36 (2018) 50-59.