



การศึกษาความถี่ของอัลลีลและค่าทางสถิติของ 15 Ampf/STR identifier loci
ของประชากรไทย

ร้อยตำรวจโทหญิง วิมลธรา คำศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

พ.ศ. 2548

ISBN 974-523-073-1

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



**ALLELE FREQUENCIES AND STATISTIC VALUES OF THE
15 AMPF/STR IDENTIFILER LOCI IN THAI POPULATIONS**

WIMONTHARA KUMSRI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FUFILLMENT OF THE REQUIREMENTS

FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

MAJOR IN BIOTECHNOLOGY

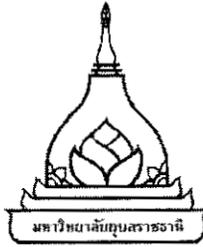
FACULTY OF SCIENCE

UBON RAJATHANEE UNIVERSITY

YEAR 2005

ISBN 974-523-073-1

COPYRIGHT OF UBON RAJATHANEE UNIVERSITY

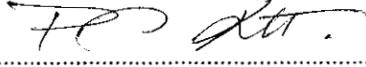
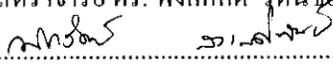
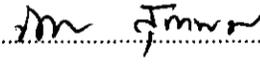
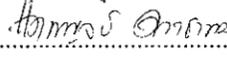
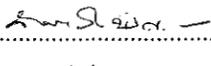


ใบรับรองวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยอู่บลราชธานี
ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์

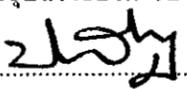
เรื่อง การศึกษาความถี่ของอัลลีลและค่าทางสถิติของ 15 Ampf/STR identifier loci ของ
ประชากรไทย

ผู้วิจัย ร้อยตำรวจโทหญิง วิมลธรา คำศรี

ได้พิจารณาเห็นชอบโดยคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุล โสภณ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิษาร์ดน์ สวาสดิพันธ์)

.....กรรมการ
(ดร. ถาวร สุภาพรม)
พันตำรวจโทหญิง 
.....กรรมการ
(แหวกกาญจน์ ดวงชาทม)

.....คณบดี
(ดร. จันทร์เพ็ญ อินทรประเสริฐ)

มหาวิทยาลัยอู่บลราชธานี รับรองแล้ว



(ศาสตราจารย์ ดร. ประกอบ วิโรจนกฤษ)

อธิการบดี มหาวิทยาลัยอู่บลราชธานี

ปีการศึกษา 2548

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณิชารัตน์ สวาสดิพันธ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์และให้การสนับสนุนด้านการจัดหาเอกสารวัสดุอุปกรณ์ ในการทำวิทยานิพนธ์ รวมทั้งดูแลเอาใจใส่อย่างดีมาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุล โสภณ ดร.ถาวร สุภาพรม และ พ.ต.ท.หญิงแฉวงกาญจน์ ดวงชาตม กรรมการวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจสอบวิทยานิพนธ์ ทำให้วิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อริญญา พิมพมงคล ดร. ประสงค์ สมบูรณ์อุปพัทธ์ อาจารย์ทุกท่าน และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ และอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณพี่ๆ นักวิทยาศาสตร์ (สบ1) จากงานตรวจดีเอ็นเอ กองพิสูจน์หลักฐาน สำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และสนับสนุนข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัยครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณน้องๆ ผู้ช่วยวิจัยประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ที่คอยช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาและเป็นกำลังใจที่ดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวที่เป็นแรงใจสำคัญทำให้ผู้วิจัยทำงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีอย่างที่ตั้งใจไว้

จ.ต.ท.หญิง
(วิมลธรา คำศรี)
ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : การศึกษาความถี่ของอัลลีลและค่าทางสถิติของ 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย

โดย : ร.ต.ท.หญิง วิมลธรา คำศรี

ชื่อปริญญา : ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ [ISBN 974 – 523 – 073 - 1]

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : ผศ.ดร.ณิชารัตน์ สวาสดิพันธ์

ศัพท์สำคัญ : Short tandem repeat AmpF/STR Identifier ความถี่ของอัลลีล ประชากรไทย

การศึกษาความถี่ของอัลลีล 15AmpF/STR Identifier loci (D8S1179 D21S11 D7S820 CSF1PO D3S1358 TH01 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 vWA TPOX D18S51 D5S818 และ FGA) จากตัวอย่างประชากรในประเทศไทยที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดจำนวน 258 คน พบว่ามีความสอดคล้องกับกฎของ Hardy-Weinberg equilibrium จากค่าทางสถิติที่คำนวณได้ พบว่าที่ตำแหน่ง D2S1338 เป็นตำแหน่งที่มีความเหมาะสมมากที่สุดที่ใช้ตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอของกลุ่มตัวอย่าง เนื่องจากมีความหลากหลายของอัลลีลและกำลังการแยกแยะมากที่สุด ส่วนตำแหน่ง TPOX เป็นตำแหน่งที่มีความเหมาะสมน้อยที่สุดที่ใช้ตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอของกลุ่มตัวอย่าง เนื่องจากมีความหลากหลายของอัลลีลและกำลังการแยกแยะน้อยที่สุด และจากการคำนวณค่า combined power of exclusion และค่า combined power of discrimination ของข้อมูลทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 0.99999229 และ 0.99999999999987 ตามลำดับ ลักษณะความถี่ของอัลลีลและค่าทางสถิติของกลุ่มตัวอย่างดังกล่าว มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นตัวแทนของประชากรในประเทศไทยและสามารถช่วยสร้างความเชื่อมั่นในการยืนยันผลการตรวจพิสูจน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์ นอกจากนี้ นับเป็นครั้งแรกที่มีการศึกษาความถี่ของยีนและค่าทางสถิติในตำแหน่ง D16S539 D2S1338 และ D19S433 ของประชากรไทยอีกด้วย

ABSTRACT

TITLE : ALLELE FREQUENCIES AND STATISTIC VALUES OF THE 15
AMPFLSTR IDENTIFILER LOCI IN THAI POPULATION

BY : WIMONTHARA KUMSRI

DEGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : BIOTECHNOLOGY [ISBN 974 – 523 – 073 - 1]

CHAIR : NICHARAT SWASDIPAN

KEYWORD : SHORT TANDEM REPEAT / AMPF/STR IDENTIFILER / ALLELE
FREQUENCIES / THAI POPULATION

Allele frequencies for the 15 STR loci (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 and FGA) included in the AmpF/STR Identifiler kit were determined for a Thai population of 258 unrelated individuals. The agreement with Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was confirmed for all loci. A statistic value of D2S1338 was the most reliable for human identity testing because it contained the highest allele polymorphism and power of discrimination. On the other hand, TPOX was the least suitable because it contained the lowest allele polymorphism and power of discrimination. Combined power of exclusion and combined power of discrimination were 0.999999229 and 0.9999999999999987, respectively. The allele frequencies and statistical parameters for forensic testing suggested that the AmpF/STR Identifiler detection system offered a powerful tool for individual identification in the Thai population. In addition, this was the first study of allele frequency distributions of D16S539, D2S1338 and D19S433

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ซ
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ดีเอ็นเอ	3
2.2 ความหลากหลายของจีโนมมนุษย์	4
2.3 เทคนิคทางอณูชีววิทยาเพื่อใช้ในการงานทางนิติวิทยาศาสตร์	8
2.4 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ	23
2.5 การศึกษาความถี่ของอัลลีลในประชากรและค่าทางสถิติต่าง ๆ เพื่อ งานตรวจพิสูจน์บุคคล	28
2.6 การนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ในคดีอาญาของไทย	37
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาความถี่ของยีนและค่าทางสถิติ	39
3. วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 สารเคมีและอุปกรณ์	43
3.2 วิธีการวิจัย	44
4. ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	
4.1 ผลการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของประชากรไทย	51

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 การศึกษาความถี่ของอัลลีลและจีโนไทป์ของ 15 AmpF/STR identifiler loci ของประชากรไทย	56
4.3 การศึกษาค่าทางสถิติของ 15 AmpF/STR identifiler loci ของประชากรไทย	61
5. สรุปผลการศึกษา	
5.1 ความถี่ของอัลลีลจาก 15 AmpF/STR identifiler loci ของประชากรไทย	66
5.2 ค่าสถิติกับการแปลผลดีเอ็นเอ	66
เอกสารอ้างอิง	67
ภาคผนวก	
ก ความถี่ของอัลลีลจำนวน 15 ตำแหน่งของประชากร 4 กลุ่ม คือ African-American, U.S. Caucasian, U.S. Hispanic และ Native American โดยใช้ชุดสารเคมี AmpF/STR Identifiler kit	75
ข สารเคมีและการเตรียมสารเคมี	87
ค รูปแบบของ DNA Profile จำนวน 16 ตำแหน่ง ของประชากร ไทย จำนวน 258 ตัวอย่าง	91
ง ผลงานที่เผยแพร่	105
ประวัติผู้วิจัย	108

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ชนิดตำแหน่งที่ใช้วิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ Applied Biosystem Amp/STR Kits	13
2.2	ชุดตรวจที่ใช้ในการตรวจดีเอ็นเอตำแหน่ง STR	18
2.3	กฎสมมูลของ Hardy-Weinberg	30
2.4	สูตรการคำนวณค่า Paternity Index ให้ P Q และ R คือ รูปแบบของอัลลีล และ p q และ r คือ ความถี่ของอัลลีล p q และ r	34
4.1	ค่าความถี่ของอัลลีล ของ 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย	58
4.2	จำนวนของจีโนไทป์ที่พบในประชากรไทย	59
4.3	การคำนวณค่าความถี่ของจีโนไทป์ในอัลลีลแบบที่พบมากที่สุด ให้ A1 คือ จำนวนชุดของอัลลีลตัวที่ 1 และ A2 คือ จำนวนชุดของอัลลีลตัวที่ 2	60
4.4	ค่าทางสถิติของ 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย	62

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
2.1	โครงสร้างของดีเอ็นเอ	3
2.2	ตำแหน่งของนิวคลีอัส ไมโทคอนเดรีย และส่วนประกอบอื่นๆที่สำคัญ ภายในเซลล์	4
2.3	ตำแหน่งที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ	5
2.4	ส่วนประกอบในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอของมนุษย์	5
2.5	องค์ประกอบของจีโนมมนุษย์ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่อยู่ในนิวคลีอัส และไมโทคอนเดรีย	7
2.6	รูปแบบของดีเอ็นเอในนิวคลีอัสที่มีจำนวนเบสซ้ำแบบต่างๆ	8
2.7	ตำแหน่งของ STR Marker บนโครโมโซมที่ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์	14
2.8	ขนาดของดีเอ็นเอควบคุมในชุดตรวจ AmpF/STR Identifier	16
2.9	รูปแบบกราฟอิเล็กทรอนิกส์โปรแกรมของ AmpF/STR Identifier ตามระบบสีฟลูออเรสเซนซ์	17
2.10	ตำแหน่งของ Y-STR ที่ใช้ศึกษาในปัจจุบัน	21
2.11	ลักษณะของ Single Nucleotide Polymorphism	22
2.12	แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยเทคนิคพีซีอาร์จำนวน 10 ตำแหน่ง ก. การตรวจดีเอ็นเอจากมินิแซทเทลไลท์ จำนวน 4 ตำแหน่ง ข. การตรวจดีเอ็นเอจากไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 10 ตำแหน่ง	27
4.1	รูปแบบดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดจากคราบเลือดที่ตำแหน่งโลกัส D8S1179 D21S11 D7S820 และ CSF1PO	52
4.2	รูปแบบดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดจากคราบเลือดที่ตำแหน่งโลกัส 3S1358 TH01 D13S317 D16S539 และ D2S1338	53
4.3	รูปแบบดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดจากคราบเลือดที่ตำแหน่งโลกัส D19S433 vWA TPOX และ D18S51	54
4.4	รูปแบบดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดจากคราบเลือดที่ตำแหน่งโลกัส Amelogenin D5S818 และ FGA	55

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

VNTR	=	Variable Number of Tandem Repeat
RFLP	=	Restriction Fragment Length Polymorphism
STR	=	Short Tandem Repeat
PCR	=	Polymerase Chain Reaction
mtDNA	=	Mitochondrial DNA
Y-STR	=	Y-Short Tandem Repeat
Y-SNP	=	Y-Single Nucleotide Polymorphism
PD	=	Power of Discrimination
PM	=	Power of Matching
PE	=	Power of Exclusion
PI	=	Paternity Index
PIC	=	Polymorphism Information Content

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

จากสภาพสังคมที่และความเจริญก้าวหน้าทางเทคโนโลยีในปัจจุบันส่งผลให้อาชญากรรมที่เกิดขึ้นมีความรุนแรงและมีความซับซ้อนมากขึ้น บางครั้งยากที่จะหาบุคคลใดที่รู้เห็นเหตุการณ์ ทำให้ผู้กระทำผิดเป็นจำนวนมากรอดพ้นจากการถูกจับกุมเพราะขาดพยานหลักฐานหรือพยานหลักฐานอ่อน ในภาวะดังกล่าวจึงต้องอาศัยหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เป็นเครื่องมือสำคัญช่วยในการพิสูจน์หาความจริง

สำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจ เป็นหน่วยงานที่สำคัญที่ทำหน้าที่นำพยานหลักฐานที่ได้มาทำการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์เพื่อคลี่คลายคดี โดยเฉพาะคดีที่ขาดประจักษ์พยาน ซึ่งโดยส่วนใหญ่สภาพของคดีที่รุนแรงถึงแก่ชีวิต พยานหลักฐานที่พบในสถานที่เกิดเหตุมักเป็นคราบเลือด คราบอสุจิ เส้นผม เส้นขน อาวุธและเสื้อผ้าของผู้เสียหายหรือผู้กระทำผิด สิ่งดังกล่าวจะมีสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ เป็นส่วนประกอบที่สามารถนำมาสกัดหาดีเอ็นเอแล้วนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาเปรียบเทียบกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยได้ หากลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นแบบเดียวกันสามารถเชื่อได้ว่า คราบเลือด คราบอสุจิ เส้นผมหรือเส้นขน ที่พบในที่เกิดเหตุนั้นเป็นของผู้ต้องสงสัยดังกล่าว

แม้ว่าการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจจะมีการพัฒนาวิธีการตรวจพิสูจน์ในขั้นตอนต่างๆ อยู่ตลอดเวลาเพื่อให้การตรวจพิสูจน์มีความรวดเร็วและทันสมัยมากขึ้น แต่เมื่อต้องนำผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้เข้าสู่กระบวนการทางกฎหมายจำเป็นต้องมีผู้ตรวจพิสูจน์ต้องยืนยันได้ว่าผลการตรวจนั้นมีความถูกต้องแม่นยำเพียงใด และมีสิ่งใดเป็นเกณฑ์ในการพิสูจน์ว่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอจะเป็นแบบเดียวกับของผู้ต้องสงสัย แล้วจะมีความน่าเชื่อถือเพียงใด ต้องอาศัยค่าทางสถิติต่างๆ ในการสนับสนุนด้วย อันได้แก่ ค่าที่แสดงความถี่ของการกระจายตัวของอัลลีลทั้งหมดในแต่ละโลกซ์ของประชากรกลุ่มหนึ่งๆ ค่าที่บอกความน่าจะเป็นหรือโอกาสที่จะพบว่าบุคคล 2 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือดจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกัน หรือค่าอื่นๆ ที่ช่วยสร้างความเชื่อมั่นในผลการตรวจวิเคราะห์ เป็นต้น ดังนั้นผู้ทำการวิจัยสนใจ จะทำการศึกษาความถี่ของยีนและค่าทางสถิติต่างๆ ของประชากรไทย เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำไปใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความถี่ของอัลลีลจาก 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย ที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด

1.2.2 เพื่อศึกษาค่าสถิติที่ใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์ ได้แก่ Observed heterozygosity, Expected heterozygosity, Power of discrimination (PD), Probability of a match (PM), Power of exclusion (PE), Typical Paternity Index (PI_{Typical}), Polymorphism information content (PIC) และ Exact test for Hardy-Weinberg equilibrium ในประชากรไทย

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1.3.1 ข้อมูลเกี่ยวกับความถี่ของอัลลีล D16S539 D2S1338 และ D19S433 ของประชากรไทยเป็นประโยชน์ต่องานด้านนิติวิทยาศาสตร์ในการพิสูจน์บุคคล

1.3.2 ค่าความถี่ของอัลลีลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถเป็นตัวแทนในการคำนวณค่าทางสถิติ เพิ่มความเชื่อมั่นในผลการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอของสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจ

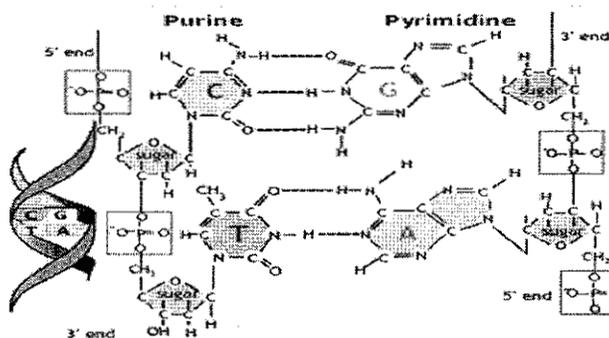
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารพันธุกรรม

สารพันธุกรรมคือสารที่ถ่ายทอดลักษณะจากพ่อแม่ไปสู่ลูกหลาน สารที่สามารถถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมได้มี 2 ชนิด คือ ดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid) และอาร์เอ็นเอ (ribonucleic acid) สิ่งมีชีวิตต่างๆ ไปจะใช้ดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมยกเว้นไวรัสบางชนิดสามารถใช้อาร์เอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมได้ ดีเอ็นเอสามารถพบได้ในทุกเซลล์ที่มีนิวเคลียส

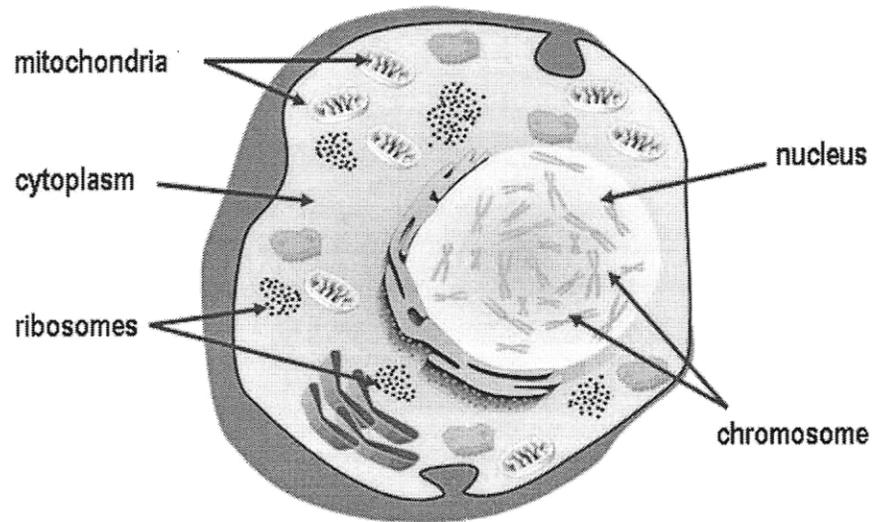
ดีเอ็นเอประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ แต่ละนิวคลีโอไทด์ประกอบด้วย หมู่ฟอสเฟต น้ำตาลดีออกซีไรโบสและเบส ซึ่งเบสจะมี 2 ชนิดคือ พิวรีน ได้แก่ A (adenine) กับ G (guanine) และไพริมิดีน ได้แก่ T (thymine) กับ C (cytosine) โดยโครงสร้างของดีเอ็นเอเกิดเป็นสายคู่พันกันเป็นเกลียว (α -helix) สายคู่จะเกิดจากพันธะไฮโดรเจน (H-bond) ของเบสคือ A จับกับ T และ G จับกับ C โดยมีน้ำตาลและหมู่ฟอสเฟตเป็นแกนของเกลียวชั้นบันได (ภาพที่ 2.1) เซลล์ตามเนื้อเยื่อทั่วร่างกาย จะมีโครโมโซม 23 คู่ หรือ 46 แห่ง เรียก diploid number ($2n$) ส่วนเซลล์ไข่และเซลล์อสุจิมิโครโมโซมเซลล์ละ 23 แห่ง เรียก haploid number (n) ซึ่งเมื่อมีการปฏิสนธิ เซลล์ไข่จะรับโครโมโซมจากเซลล์อสุจิเกิดเป็นตัวอ่อนที่มีโครโมโซมจำนวน 46 แห่งพอดี ภายในร่างกายของแต่ละคนจะมีดีเอ็นเอเหมือนกันทุกเซลล์แต่ในแต่ละเซลล์จะมีการแสดงออกของยีนแต่ละชนิดต่างกันทำให้เซลล์เนื้อเยื่อและอวัยวะมีคุณสมบัติที่ต่างกัน



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของดีเอ็นเอ

ที่มา : <http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/molecular%20biology/16-05->

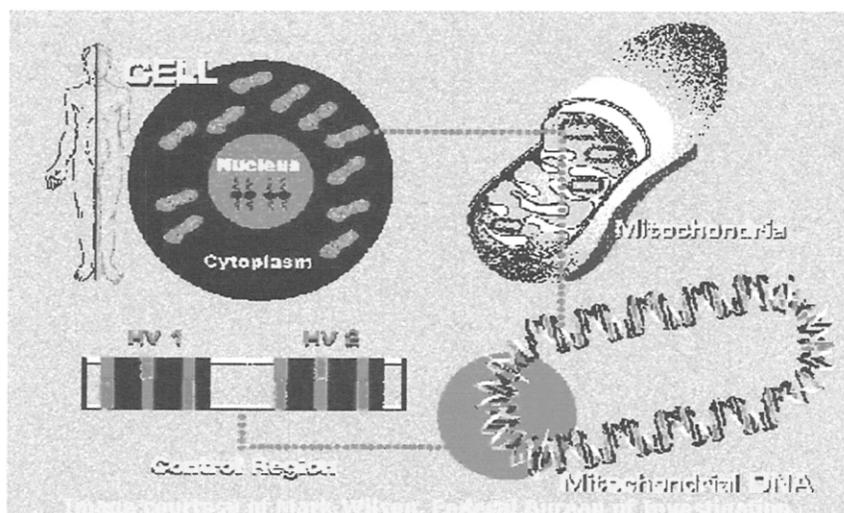
doublehelix.jpg



ภาพที่ 2.2 ตำแหน่งของนิวเคลียส ไมโทคอนเดรีย และส่วนประกอบอื่นๆที่สำคัญภายในเซลล์
ที่มา : http://www.biotechnologyonline.gov.au/popupslimg_cellwithlabels.cfm

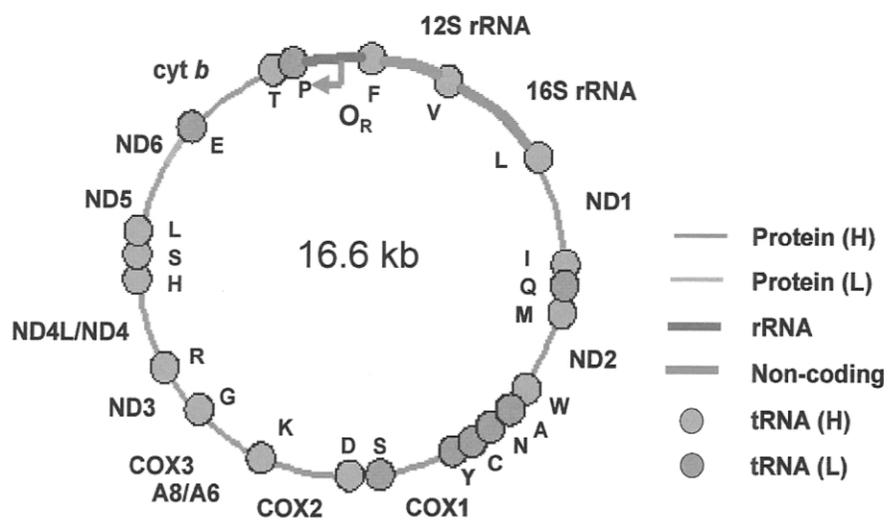
2.2 ความหลากหลายของจีโนมมนุษย์

ดีเอ็นเอที่มีอยู่ทั้งหมดในร่างกายมนุษย์สามารถแบ่งได้เป็นสองส่วน (ภาพที่ 2.3) คือ ส่วนแรกเป็นดีเอ็นเอที่พบในไมโทคอนเดรีย เรียกว่า ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ ซึ่งมีขนาดประมาณ 16,569 คู่เบส โดยมีหน้าที่แตกต่างกันไปตามตำแหน่งเฉพาะ ในบริเวณ coding region มียีนรวมทั้งหมดจำนวน 37 ยีน (ภาพที่ 2.4) คือ ยีนที่สร้าง RNA จำนวน 2 ยีน ยีนที่สร้าง tRNA จำนวน 22 ยีน และยีนที่สร้างโปรตีน จำนวน 13 ยีนเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตพลังงานให้แก่เซลล์ (oxidative phosphorylation) และบริเวณ control region เป็นบริเวณที่มี origin of replication และบริเวณ D-loop ที่มีความหลากหลายสูงและมีลักษณะเฉพาะของแต่ละบุคคล ดังภาพที่ 2 (Bulter, 2005)



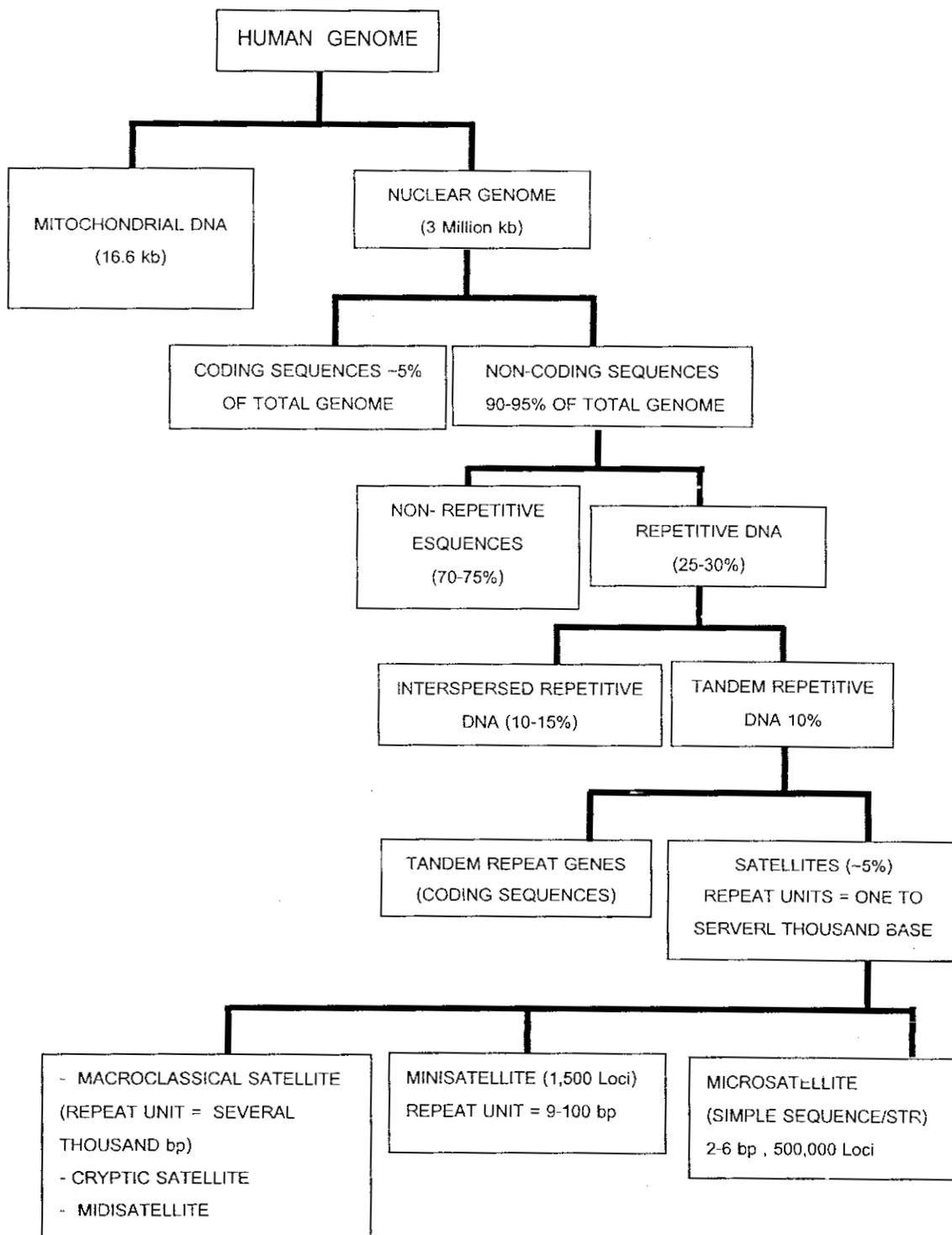
ภาพที่ 2.3 ตำแหน่งที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ

ที่มา : http://www.montegen.com/Montegen/Nature_of_Business/The_Library/The_Pocket-Science/The_Pocket-Science_Vol_8/body_the_pocket-science_vol_8.htm



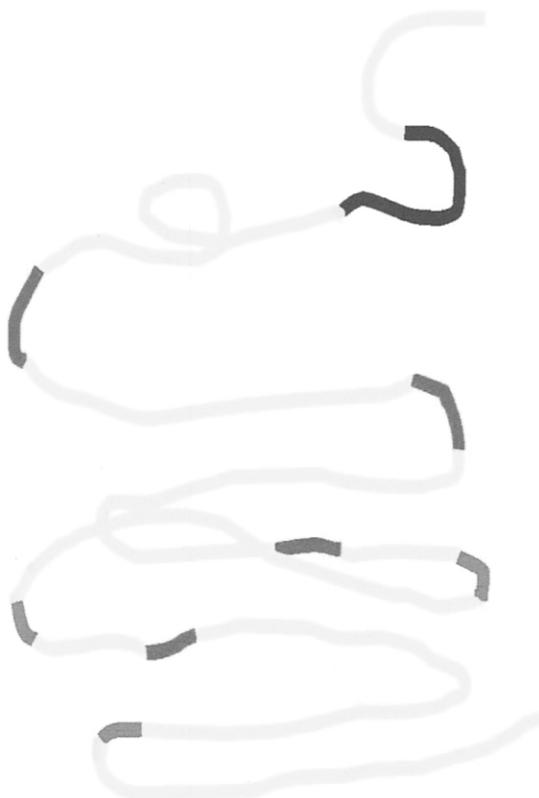
ภาพที่ 2.4 ส่วนประกอบใน mitochondrial DNA ของมนุษย์

ส่วนที่สองเป็นดีเอ็นเอที่พบในนิวเคลียส หรือเรียกว่า nuclear DNA ซึ่งดีเอ็นเอที่พบในส่วนนี้มีหลายพันล้านคู่เบส แบ่งตามหน้าที่ได้สองส่วน (ภาพที่ 2.5) คือส่วนที่เป็นรหัสหรือเรียก coding sequence มีอยู่ประมาณ 5% เป็นบริเวณที่มีหน้าที่สำคัญในการสร้างโปรตีนที่มีความจำเป็นอย่างต่างๆ ของร่างกายมนุษย์ ส่วนที่ไม่เป็นรหัส เรียกว่า non-coding sequence มีอยู่จำนวนมาก ประมาณ 95% ของดีเอ็นเอทั้งหมดมีทั้งส่วนที่นำไปใช้ประโยชน์ในการพิสูจน์บุคคลและส่วนอื่นๆ ที่ไม่ได้นำไปใช้ หากดูจากจำนวนซ้ำของดีเอ็นเอ (repetitive DNA) ทั้งหมดจะพบว่ามีส่วนที่ไม่มีลักษณะของดีเอ็นเอที่ซ้ำ (non-repetitive DNA) ประมาณ 75% ส่วนนี้ยังไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์ และส่วนที่มีลักษณะของดีเอ็นเอเป็นรูปแบบซ้ำๆ มีประมาณ 25% ทั้งนี้มีรูปแบบการซ้ำแบบกระจาย และซ้ำแบบต่อเนื่อง รูปแบบดีเอ็นเอที่ซ้ำแบบต่อเนื่อง (tandem repetitive DNA) (ภาพที่ 2.6) ได้แก่ macroclassical satellite มีขนาดซ้ำหลายพันคู่เบส minisatellite มีขนาดซ้ำประมาณ 1,000 คู่เบส และ microsatellite มีขนาดซ้ำประมาณ 2-6 คู่เบส โดยในปัจจุบันนิยมนำส่วน microsatellite ไปใช้เพื่อตรวจพิสูจน์บุคคล เนื่องจากมีขนาดเล็กและมีความหลากหลายสูง



ภาพที่ 2.5 องค์ประกอบของจีโนมมนุษย์ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่อยู่ในนิวเคลียสและไมโทคอนเดรีย

(ปรับปรุงจาก Kashyap et al, 2004)



- แมโครแซทเทลไลท์ : เบสซ้ำสั้นขนาด 1-6 เบส หรือเบสซ้ำยาวขนาดหลายร้อยเบส มีจำนวนซ้ำแต่ละตำแหน่งตั้งแต่ 10^3 - 10^7 ครั้ง
- มินิแซทเทลไลท์ : เบสซ้ำขนาด 9-100 เบส มีจำนวนซ้ำตั้งแต่ 10 แต่ไม่เกินพันครั้ง
- ไมโครแซทเทลไลท์ : เบสซ้ำสั้นขนาด 1-6 เบส มีจำนวนซ้ำแต่ละตำแหน่งไม่เกิน 100 ครั้ง

ภาพที่ 2.6 รูปแบบของดีเอ็นเอในนิวคลีอัสที่มีจำนวนเบสซ้ำแบบต่างๆ

2.3 เทคนิคทางอณูชีววิทยาเพื่อใช้ในการงานทางนิติวิทยาศาสตร์

การวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อใช้งานทางนิติวิทยาศาสตร์จำเป็นต้องใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาเมื่อปีค.ศ. 1985 DNA fingerprinting หรือ DNA typing เป็นที่รู้จักกัน โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษที่ชื่อ Alec Jeffreys ซึ่งค้นพบว่าดีเอ็นเอของมนุษย์มีส่วนที่เป็นจำนวนซ้ำที่มีความแตกต่างกันในแต่ละบุคคลจึงได้พัฒนาเทคนิคขึ้นมาเพื่อตรวจสอบความแตกต่างของดีเอ็นเอตำแหน่งที่

เป็นจำนวนซ้ำเหล่านั้น โดยตำแหน่งที่เขาใช้ในการตรวจสอบในตำแหน่งที่มีลักษณะเบสซ้ำต่อเนื่อง variable number of tandem repeat หรือ VNTR คือเทคนิค RFLP (Bulter, 2005)

2.3.1 เทคนิค RFLP (restriction fragment length polymorphism)

เทคนิค RFLP ทำโดยใช้ เอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction endonuclease) ตัดดีเอ็นเอออกเป็นท่อนๆ สั้นยาวจำนวนมากตามแต่ละบุคคล จากนั้นนำชิ้นดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันมาแยกออกจากกันด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสและตรวจสอบด้วยดีเอ็นเอตรวจสอบ (DNA probe) จะได้แถบดีเอ็นเอที่มีขนาดแตกต่างกันในแต่ละบุคคล บริเวณที่นำมาใช้ตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอคือ ส่วน VNTR และต้องเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์ตัดจำเพาะที่เหมาะสมเพื่อไม่ให้เกิดการย่อยของลำดับนิวคลีโอไทด์แกนของ VNTRs ส่วนดีเอ็นเอตรวจสอบที่ใช้ขึ้นกับความถี่ของ การแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ ดีเอ็นเอตรวจสอบที่จำเพาะต่อดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาเพียง 1 ตำแหน่ง เรียกว่า single-locus probe ซึ่งแต่ละตำแหน่งนั้นจะมีความหลากหลายของอัลลีลและแบบดีเอ็นเอตรวจสอบที่จำเพาะต่อตำแหน่งดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาหลายตำแหน่ง (multiloci probe) พร้อมกัน สำหรับข้อจำกัดของเทคนิค RFLP คือต้องใช้ดีเอ็นเอในปริมาณมากและเป็นดีเอ็นเอที่อยู่ในสภาพที่สมบูรณ์จึงให้ผลที่ถูกต้อง เมื่อมีเทคนิคอื่นที่ใช้ดีเอ็นเอน้อยกว่าวิธีนี้จึงเลิกใช้แล้วในปัจจุบัน (สุรางค์ และคณะ, 2546)

2.3.2 เทคนิค PCR (polymerase chain reaction)

เทคนิคพีซีอาร์ หรือปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส เป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบบวกรซ้ำๆ หลายครั้งในหลอดทดลองและอาศัยการทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรสที่ทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิสูง เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ต้องการจำนวนมากเป็นล้านเท่า โดยใช้เวลาเพียง 2-3 ชั่วโมง ส่วนประกอบโดยทั่วไปของการทำพีซีอาร์ ได้แก่ ดีเอ็นเอต้นแบบ ไพรเมอร์ เอนไซม์ ดีเอ็นเอพอลิเมอเรสและสารต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับปฏิกิริยา เช่น ไดออกซีนิวคลีโอไซด์ไตรฟอสเฟต (dNTPs) และแมกนีเซียมคลอไรด์ เป็นต้น เทคนิคพีซีอาร์เป็นเทคนิคที่มีประโยชน์ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์มากกว่าเทคนิค RFLP เนื่องจากสามารถวิเคราะห์วัตถุพยานที่มีอยู่อย่างจำกัด มีปริมาณน้อย อยู่สภาพไม่สมบูรณ์และอาจมีดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นปนเปื้อนได้ (วิชัย และคณะ, 2547) เทคนิคพีซีอาร์สามารถใช้ศึกษาทั้งดีเอ็นเอส่วนที่เป็นยีนและส่วนที่ไม่ใช่ยีน (nongene DNA) ได้ ซึ่งที่นำมาใช้ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันมีดังนี้

2.3.2.1 การวิเคราะห์ดีเอ็นเอส่วนที่เป็นยีนด้วยวิธี Reverse Dot Blot

เป็นวิธีที่ใช้วิเคราะห์ความหลากหลายของดีเอ็นเอส่วนที่เป็นยีนอาจวิเคราะห์เพียงตำแหน่งเดียว (single gene locus) ซึ่งใช้ยีนที่ตำแหน่ง HLA DQA พบได้ 7 อัลลีล ความหลากหลายของดีเอ็นเอที่ตำแหน่งนี้เกิดจากลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่งหนึ่งๆ หรือมากกว่าเปลี่ยนไป การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ใช้น้ำยาสำเร็จรูปที่ราคาค่อนข้างสูง เมื่อทำการเพิ่มขยายปริมาณ

ดีเอ็นเอแล้วนำไปทำ reverse dot blot hybridization โดยการนำ probe สายเดี่ยวที่ใช้ตรวจสอบ อัลลีลครึ่งบนแผ่น ไนลอนเป็นจุดๆ ดีเอ็นเอตรวจสอบที่ได้จากการสังเคราะห์นี้จะมีนิวคลีโอไทด์ที่จำเพาะต่ออัลลีลเดี่ยวเท่านั้น จากนั้นนำไป hybridize กับผลผลิตพีซีอาร์สายเดี่ยวดีเอ็นเอตรวจสอบ จะจับกับดีเอ็นเอได้อย่างจำเพาะเจาะจงจะย้อมติดสีและอ่านผลตามตำแหน่งสีที่ได้ นั่น แต่การนำยีนเพียงตำแหน่งเดียวมาวิเคราะห์เพื่อพิสูจน์บุคคลในคดีอาญาพบว่ามีข้อจำกัดและมีความไม่ละเอียดพอจึงมีการวิเคราะห์ยีนหลายๆ ตำแหน่งพร้อมกัน ในครั้งเดียวโดยใช้ชุดวิเคราะห์ที่เรียกว่า Multiplex PCR ซึ่งใช้วิเคราะห์ยีนจำนวน 5 ตำแหน่ง จำนวน 12 อัลลีล สามารถนำไปเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอพร้อมกัน ในครั้งเดียวโดยใช้ primer ทั้งหมด 5 ชนิดลงในหลอดทดลอง เรียกวิธีนี้ว่า Multiplex PCR เมื่อได้ PCR product แล้วจึงนำไปวิเคราะห์อัลลีลและจีโนไทป์โดยทำ Reverse dot blot hybridization วิธีดังกล่าวจึงเป็นการเพิ่มความมั่นใจในการจำแนกบุคคล และความถูกต้องได้มากขึ้นกว่าเดิม และได้มีการพัฒนาให้สามารถวิเคราะห์ยีนตำแหน่ง HLA-DQA กับ Polymarker ไปพร้อมกันเพื่อเพิ่มอำนาจการจำแนกให้สูงขึ้น ปัจจุบันยังไม่มีการใช้เทคนิคนี้ในงานตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์เนื่องจากมีข้อจำกัดในด้านต้นทุนการตรวจพิสูจน์ ซึ่งค่อนข้างสูงและอำนาจการจำแนกพิสูจน์บุคคลยังมีค่าต่ำกว่าเทคนิค RFLP (สุรางค์ และคณะ , 2546)

2.3.2.2 การวิเคราะห์ส่วนที่ไม่ใช่ยีน

การนำเทคนิคพีซีอาร์มาวิเคราะห์ส่วนที่ไม่ใช่ยีนของลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อการตรวจพิสูจน์บุคคลเราเลือกใช้ส่วนของดีเอ็นเอได้หลายบริเวณ ได้แก่

ก. ส่วนของ minisatellites หรือ VNTRs ที่มีขนาดความยาวตั้งแต่ 500-10,000 คู่เบส เป็นช่วงดีเอ็นเอที่มีการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์แกนซ้ำๆ ต่อกันหลายซ้ำ พบ VNTRs กระจายในเกือบทุกโครโมโซมซึ่งจะมีความหลากหลายแตกต่างกันของแต่ละบุคคลตามขนาดความยาวและจำนวนซ้ำของนิวคลีโอไทด์แกน และมีจำนวนนิวคลีโอไทด์แกนอยู่ในช่วง 15-35 คู่เบส ซึ่งเบสซ้ำ VNTR แบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ แบบที่มีการกระจายตัวเพียงตำแหน่งเดียวบนจีโนม หรือเรียกว่า เบสซ้ำแบบ โลกัสตำแหน่งเดียว (single locus) และแบบที่มีการกระจายตัวแบบหลายตำแหน่งบนจีโนม หรือเรียกว่าเบสซ้ำแบบ โลกัสหลายตำแหน่ง (multilocus) VNTR ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์นิยมใช้ตำแหน่ง D1S80 ในการศึกษา โดยใช้วิธีที่เรียกว่า Amplified fragment-length polymorphism (AmpFLP) อัลลีลของ D1S80 ประกอบด้วยแกนซ้ำจำนวนไม่เท่ากัน เมื่อเพิ่มขยายดีเอ็นเอบริเวณนี้โดยใช้ลำดับเบสด้านข้าง (flanking region) ของหน่วยซ้ำเป็นไพรเมอร์จะได้ดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันถ้าจำนวนซ้ำไม่เท่ากัน ดีเอ็นเอจะถูกแยกขนาดตามความยาวต่างๆ ของอัลลีลด้วย sequencing polyacrylamide gel electrophoresis เมื่อย้อมด้วย silver nitrate จะเห็นแถบอัลลีลความยาวแตกต่างกันไปแล้วนำไปเทียบกับ DNA ladder จะทราบจำนวนซ้ำที่แน่นอนของ

ตัวอย่างที่ศึกษา ขนาดของส่วนแกนซ้ำประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ 16 คู่เบส จำนวนซ้ำอยู่ระหว่าง 14-41 ครั้ง และขนาดความยาวของอัลลีลที่พบตั้งแต่ 350-1000 คู่ มีทั้งหมด 27 อัลลีล โดยวิธีนี้สามารถตรวจด้วยวิธี Manual และใช้เครื่องอัตโนมัติ โดยบางประเทศยังคงใช้การตรวจแบบนี้อยู่ การนำส่วน VNTRs มาใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลจำเป็นต้องใช้หลายตำแหน่งเพื่อความละเอียดในการจำแนก การวิเคราะห์ดีเอ็นเอส่วน VNTRs ที่มีขนาดคู่เบสค่อนข้างยาวให้มีความถูกต้องแม่นยำ ต้องใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอที่อยู่ในสภาพสมบูรณ์จึงมีความยุ่งยากและประสบปัญหาในการนำเทคนิคนี้มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์หลายพิมพ์ดีเอ็นเอในทางนิติวิทยาศาสตร์ (สุรางค์ และคณะ, 2546 และ อรรถพล และคณะ, 2544)

ข. ส่วนของ microsatellites หรือ Short tandem repeats (STRs) ที่ประกอบด้วยแกนซ้ำที่มีนิวคลีโอไทด์ตั้งแต่ 1-6 คู่เบส พบกระจายเป็นหย่อม ๆ ทั่วทั้งจีโนม ทุกๆ ระยะ 6-10 กิโลเบส จะพบตำแหน่งที่เป็น STRs โดยประมาณว่าจะมี STRs ในจีโนมมนุษย์มากกว่า 500,000 ตำแหน่ง และแบ่ง STRs ได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่ Simple STRs ซึ่งประกอบด้วยแกนซ้ำหน่วยเดียวเรียงตัวกันหลายๆ ซ้ำ Compound STRs คือในตำแหน่งเดียวประกอบด้วย Simple STRs ตั้งแต่ 2 หรือมากกว่า และ Complex STRs เป็นลักษณะที่ตำแหน่งเดียวประกอบด้วยแกนซ้ำขนาดความยาวต่าง ๆ กันตั้งแต่ 1-2 STRs และขนาดของนิวคลีโอไทด์แกนซ้ำเหล่านั้นต่างกัน เมื่อขนาดของนิวคลีโอไทด์ของ STRs มีขนาดสั้นๆ จึงง่ายในการเพิ่มปริมาณได้ด้วยเทคนิคพีซีอาร์แม้กับตัวอย่างที่มีการย่อยสลาย (degrade) ดังนั้นจึงใช้วิเคราะห์วัตถุพยานทางนิติวิทยาศาสตร์ได้เป็นอย่างดี แต่เนื่องจากความหลากหลายของอัลลีลของ STRs เพียงตำแหน่งเดียวไม่สามารถจำแนกบุคคลได้ละเอียดเพียงพอ จึงนิยมวิเคราะห์ STRs หลาย ๆ ตำแหน่งและรวมเข้าเป็นชุด ๆ ซึ่งปัจจุบันมีชุดนำยาคตรวจ STRs ที่ตรวจได้ 16 ตำแหน่งและใช้ในงานตรวจพิสูจน์ของสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจในปัจจุบัน (วิชัย และคณะ, 2547)

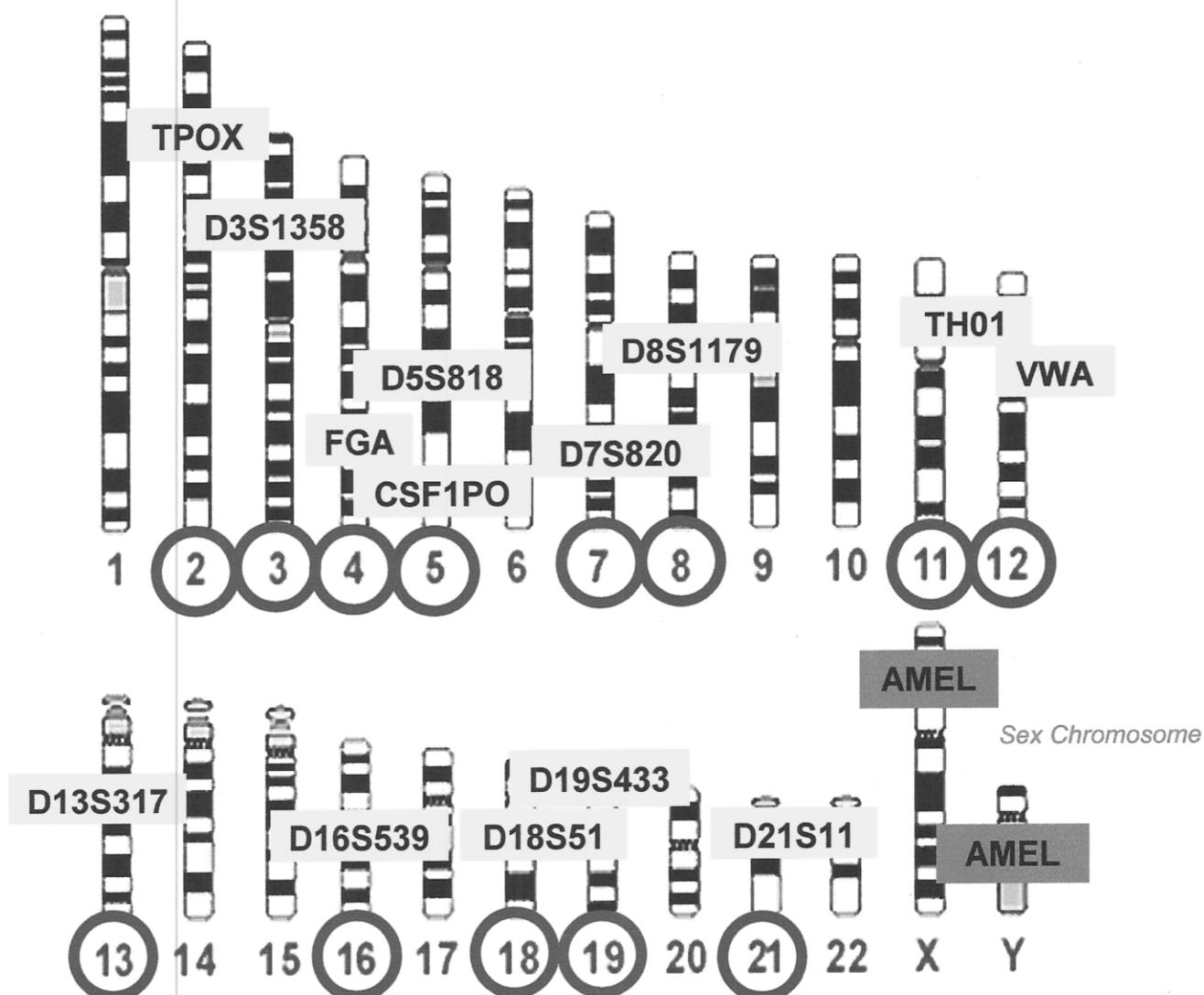
ชุดตรวจที่ใช้ในการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของประชากรไทยโดยสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจในปัจจุบันใช้ของ Applied Biosystems AmpF/STR ที่สามารถวิเคราะห์ตำแหน่ง STR บนโครโมโซมได้จำนวน 16 ตำแหน่ง (ตารางที่ 2.1 และภาพที่ 2.7) ดังนี้ ตำแหน่ง D8S1179 อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 8 มีทั้งหมด 12 อัลลีล ตำแหน่ง D21S11 อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 21 มีทั้งหมด 24 อัลลีล ตำแหน่ง D7S820 อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 7 มีทั้งหมด 10 อัลลีล ตำแหน่ง CSF1PO อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 5 มีทั้งหมด 10 อัลลีล ตำแหน่ง D3S1358 อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 3 มีทั้งหมด 8 อัลลีล ตำแหน่ง TH01 อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 11 มีทั้งหมด 10 อัลลีล ตำแหน่ง D13S317 อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 13 มีทั้งหมด 8 อัลลีล ตำแหน่ง D16S537 อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 16 มีทั้งหมด 9 อัลลีล ตำแหน่ง D2S1338 อยู่บน โครโมโซมคู่ที่ 2 มีทั้งหมด

14 อัลลีล ตำแหน่ง D19S433 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 19 มีทั้งหมด 15 อัลลีล ตำแหน่ง VWA อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 12 มีทั้งหมด 14 อัลลีล ตำแหน่ง TPOX อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 2 มีทั้งหมด 8 อัลลีล ตำแหน่ง D18S51 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 18 มีทั้งหมด 23 อัลลีล ตำแหน่ง D5S818 อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 5 มีทั้งหมด 10 อัลลีล ตำแหน่ง FGA อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 4 มีทั้งหมด 28 อัลลีล และตำแหน่ง Amelogenin อยู่บนโครโมโซมเพศ มีทั้งหมด 2 อัลลีลคือ X และ Y แบบ ซึ่งลักษณะความหลากหลายของอัลลีลในตำแหน่งต่างๆ ของแต่ละบุคคลนี้เองที่นำไปใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคล ยกเว้นฝาแฝดที่เกิดจากไข่ใบเดียวกันที่จะมีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันจะไม่สามารถใช้ชุด kits ดังกล่าวในการตรวจสอบได้

ตารางที่ 2.1 ชนิดตำแหน่งที่ใช้วิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ Applied Biosystem Amp/STR Kits

Locus Designation	Chromosome Location	Alleles Included in identifier Allelic Ladder
D8S1179	8	8, 9, 10, 11, 12, 13,14, 15, 16, 17, 18, 19
D21S11	21q11.2-q21	24, 24.2, 25, 26, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 37, 38
D7S820	7q11.21-22	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
CSF1PO	5q33.3-34	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D3S1358	3p	12, 13,14, 15, 16, 17, 18, 19
TH01	11p15.5	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 11, 13.3
D13S317	13q22-31	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D16S539	16q24-qter	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
D2S1338	2q35-37.1	15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28
D19S433	19q12-13.1	9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2
VWA	12p12-pter	11, 12, 13,14, 15, 16, 17, 18, 19,20, 21, 22, 23, 24
TPOX	2p23-2per	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
D18S51	18q21.3	7, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Amelogenin	X: p22.1-22.3 Y: p11.2	X, Y
D5S818	5q21-31	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
FGA	4q28	17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 26.2, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 32.2, 33.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2, 47.2, 48.2, 50.2, 51.2

ที่มา : AmpF/STR Identifier PCR Amplification Kits User's Manual

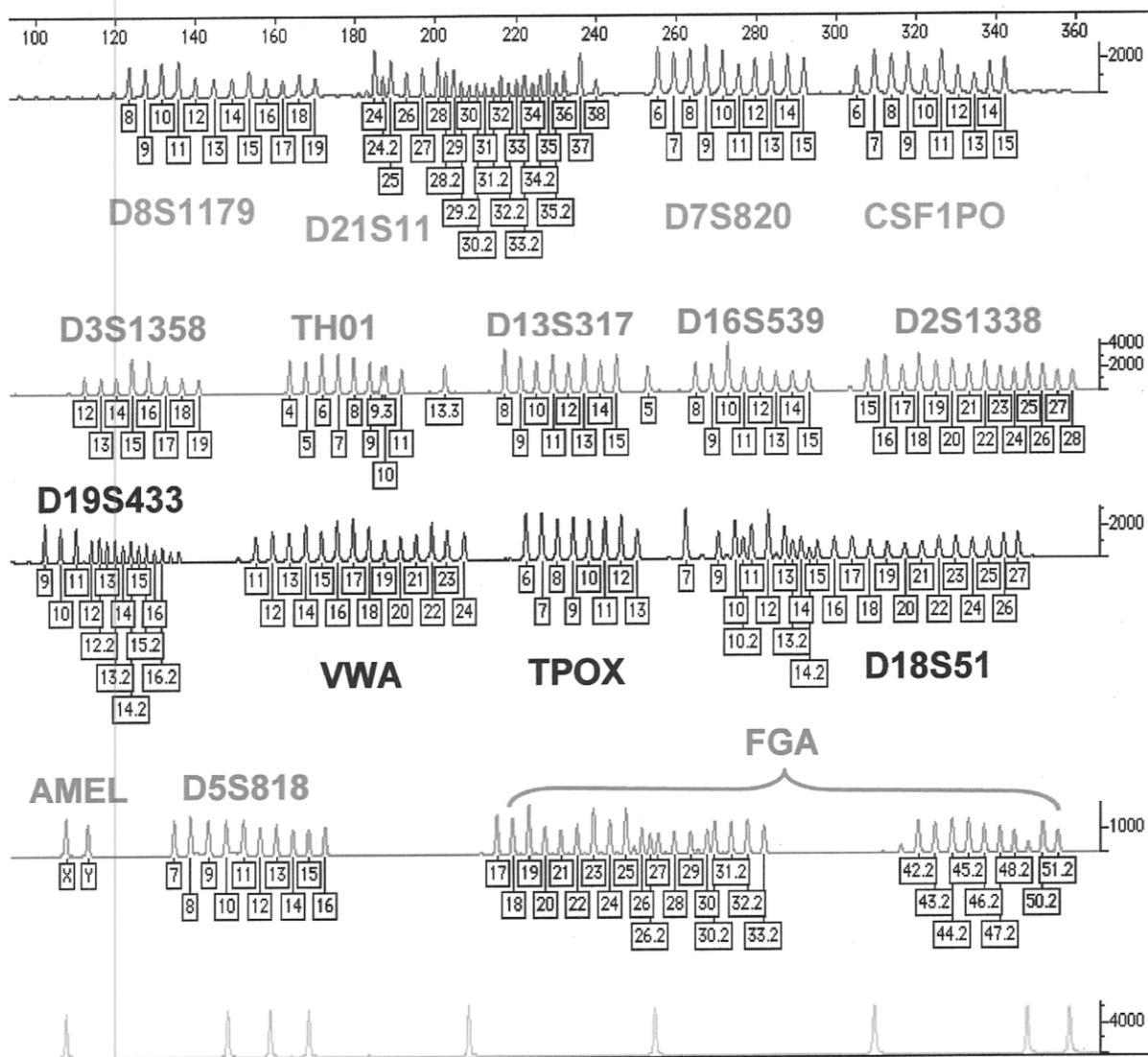


ภาพที่ 2.7 ตำแหน่งของ STR Marker บนโครโมโซมที่ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์

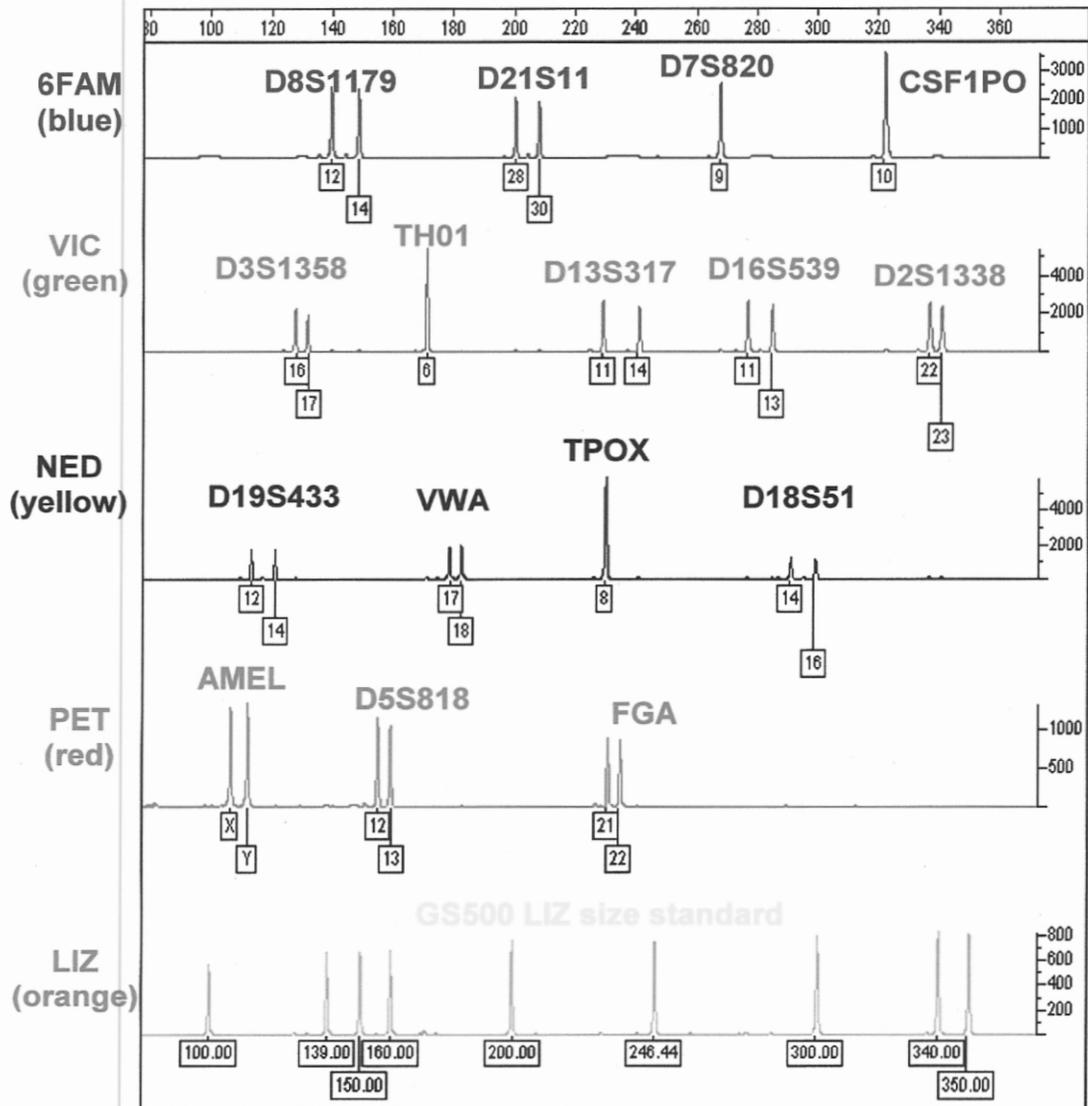
ปรับปรุงจาก : <http://www.hartnell.cc.ca.us/faculty/jhughey/files/strandcodis.ppt>

ปัจจุบันการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของงานด้านนิติวิทยาศาสตร์มีความสะดวกรวดเร็วมากขึ้นเนื่องจากได้นำเครื่องวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอแบบอัตโนมัติมาใช้ และเลือกวิเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วน of ไมโครแซทเทลไลท์ โดยใช้สารฟลูออเรสเซนต์ติดฉลากที่ไพรเมอร์ โดยเริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอจากสิ่งที่ส่งตรวจ นำไปเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์และแยกผลผลิตโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอแบบอัตโนมัติ ชุดตรวจสอบ AmpFISTR Identifier PCR Amp Kit ใช้สารฟลูออเรสเซนต์ติดฉลากที่ปลาย 5' ของเส้นไพรเมอร์ 4 สีเพื่อใช้ในการแยกความแตกต่างระหว่างผลผลิตที่มีขนาดใกล้เคียงกันของแต่ละสจากการทำงานปฏิกิริยาแบบมัลติเพลกซ์เพียงครั้ง

มัลติเพล็กซ์เพียงครั้งเดียว ได้แก่ 6-FAM™ (สีน้ำเงิน) VIC™ (สีเขียว) NED™ (สีเหลือง) PET™ (สีแดง) ส่วนสีที่ 5 คือ LIZ™ (สีส้ม) สำหรับติดฉลากตัวควบคุมขนาดมาตรฐาน (ภาพที่ 2.8) หลังจากเสร็จสิ้นขั้นตอนการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์แล้วเครื่องอัตโนมัติจะส่งผลผลิตพีซีอาร์ไปยังเครื่องตรวจจับสารฟลูออเรสเซนซ์ ผลการอ่านจะถูกส่งต่อเข้าเครื่องคอมพิวเตอร์ที่มีโปรแกรมแปลงผลการอ่านให้ออกมาในรูปแบบกราฟอิเล็กทรอนิกส์ (electropherogram) (ภาพที่ 2.9) ที่ขึ้นอยู่กับขนาดและสีฟลูออเรสเซนซ์ที่ติดอยู่กับผลผลิตพีซีอาร์นั้นๆ ชุดตรวจสอบ AmpFISTR Identifiler PCR Amp Kit สามารถทำปฏิกิริยาพีซีอาร์มัลติเพล็กซ์เพียงครั้งเดียวจากไมโครแซทเทลไลท์ 16 โลกัส ซึ่งแตกต่างจากการทำมัลติเพล็กซ์แบบไม่ใช้เครื่องอัตโนมัติ และการติดฉลากไพรมอร์ด้วยสีฟลูออเรสเซนซ์ทำให้สามารถบอกความแตกต่างระหว่างผลผลิตพีซีอาร์ที่มีช่วงของผลผลิตใกล้เคียงกันระหว่างโลกัสจึงแปลผลได้ถูกต้องและแม่นยำกว่า ซึ่งหากใช้การแยกบนแผ่นวุ้นและวิเคราะห์ด้วยสารละลายซิลเวอร์ในเตรท จะไม่สามารถบอกได้ว่าผลผลิตพีซีอาร์นั้นมาจากไพรมอร์คู่ใด (วิชัย และคณะ, 2547) นอกจากนี้ยังมีชุดตรวจอื่นๆ ที่ใช้ตรวจในตำแหน่ง STR ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน (ตารางที่ 2.2)



ภาพที่ 2.8 ขนาดของดีเอ็นเอควมในชุดตรวจ AmpF/STR Identifier
 ที่มา : <http://www.hartnell.cc.ca.us/faculty/jhughey/files/strandcodis.ptt>



ภาพที่ 2.9 รูปแบบกราฟอิเล็กโทรฟีโแกรมของAmpFISTR® Identifiler™ ตามระบบสีฟลูออเรสเซนซ์

ที่มา : <http://www.hartnell.cc.ca.us/faculty/jhughey/files/strandcodis.ptt>

ตารางที่ 2.2 ชุดตรวจที่ใช้ในการตรวจดีเอ็นเอด้วยตำแหน่ง STR

ชื่อชุดตรวจ	บริษัทที่ผลิต	ผลิตเมื่อ	ตำแหน่ง STR ที่ใช้
TH01, TPOX, CSF1PO Monoplex (silver stain)	Promega	Feb 1993	TH01, TPOX, CSF1PO
AmpFISTR Blue	Applied Biosystem	Oct 1996	D3S1358, VWA, FGA
AmpFISTR Green I	Applied Biosystem	Jan 1997	Amelogenin, TH01, TPOX, CSF1PO
CTTv	Promega	Jan 1997	CSF1PO, TPOX, TH01, VWA (VWF)
FFFL	Promega	Jan 1997	F13A1, FES/FPS, F13B, LPL
GammaSTR	Promega	Jan 1997	D16S539, D13S317, D7S820, D5S818
Powerplex (versioo 1.1 and 1.2 later)	Promega	Jan 1997 Sept 1998	CSF1PO, TPOX, TH01, VWA, D16S539, D13S317, D7S820, D5S818
AmpFISTR Profiler	Applied Biosystem	May 1997	D3S1358, VWA, FGA, Amelogenin, TH01, TPOX, CSF1PO D5S818, D13S317, D7S820
AmpFISTR Profiler Plus	Applied Biosystem	Dec 1997	D3S1358, VWA, FGA, Amelogenin, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820
AmpFISTR Cofiler	Applied Biosystem	May 1998	D3S1358, D16S539, Amelogenin, TH01, TPOX, CSF1PO, D7S820
AmpFISTR SGM Plus	Applied Biosystem	Feb 1999	D3S1358, VWA, D16S539, D2S138, Amelogenin, D8S1179, D21S11, D18S51, D19S433, TH01, FGA
PowerPlex 2.1	Promega	June 1999	D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, VWA, D8S1179, TPOX, FGA, Penta E
PowerPlex 16	Promega	May 2000	CSF1PO, FGA, TPOX, TH01, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, Penta D, Penta E, Amelogenin
PowerPlex 16 BIO	Promega	May 2001	CSF1PO, FGA, TPOX, TH01, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, Penta D, Penta E, Amelogenin

ตารางที่ 2.2 ชุดตรวจที่ใช้ในการตรวจดีเอ็นเอด้วยตำแหน่ง STR (ต่อ)

ชื่อชุดตรวจ	บริษัทที่ผลิต	ผลิตเมื่อ	ตำแหน่ง STR ที่ใช้
AmpFISTR Identifiler	Applied Biosystem	July 2001	CSF1PO, FGA, TPOX, TH01, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51, D21S11, D2S1338, D19S433, Amelogenin
AmpFISTR Profiler Plus ID	Applied Biosystem	Sept 2001	D3S1358, VWA, FGA, Amelogenin, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317, D7S820
PowerPlex ES	Applied Biosystem	Mar 2002	FGA, TH01, VWA, D3S1358, D8S1179, D18S51, D21S11, SE33, Amelogenin
AmpFISTR SEfiler	Applied Biosystem	Sept 2002	FGA, TH01, VWA, D3S1358, D8S1179, D16S539, D18S51, D21S11, D2S1338, D19S433, SE33, Amelogenin

ที่มา : Bulter, 2005

2.3.3 การตรวจ Mitochondrial DNA

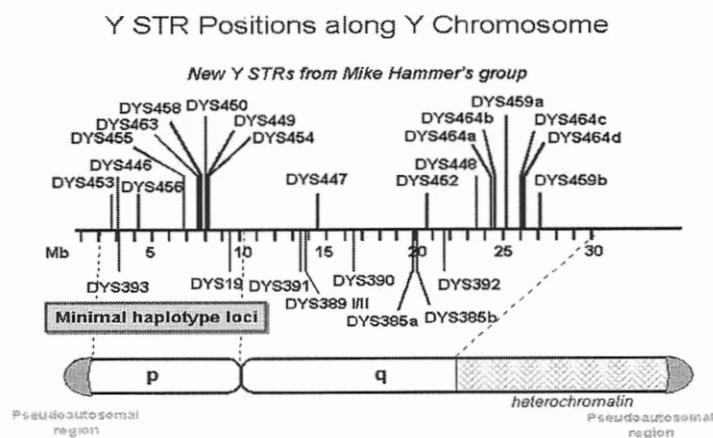
เป็นการตรวจดีเอ็นเอที่พบในไมโทคอนเดรีย ซึ่งใน 1 เซลล์สามารถพบได้มากกว่า 1 อันทำให้มีจำนวนดีเอ็นเอต่อเซลล์สูง (high copy number) จึงเป็นเครื่องมือที่ช่วยในการสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ mtDNA ยังทนต่อการย่อยสลายได้มากกว่า nuclear DNA สามารถทำการวิเคราะห์ได้แม้กับวัตถุพยานที่มีการเสื่อมสภาพหรือเก็บไว้นาน เช่น ฟัน เส้นผม (shed hair) กระดุก และอุจจาระ เป็นต้น รวมทั้งเหมาะสมกับวัตถุพยานที่ถูกทำลายจนไม่สามารถตรวจ nuclear DNA ได้ บริเวณที่นำมาใช้วิเคราะห์เพื่อพิสูจน์บุคคล คือ บริเวณ D-loop (Displacement loop) หรือ control region ซึ่งมีความแตกต่างกันในแต่ละคน มีความยาวประมาณ 1,100 bp. เป็นส่วนหนึ่งของ non-coding region ที่มีความหลากหลายสูง โดยทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ตำแหน่ง HV1 (Hypervariable Region 1) และ HV2 (Hypervariable Region 2) (ภาพที่ 2.3 และ 2.4) แล้วนำมาลำดับเบสของดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณนั้น ได้โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ เช่นเดียวกับ STR โดยเปรียบเทียบระหว่างลำดับเบสของดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยกับดีเอ็นเอจากวัตถุพยาน นอกจากนี้นิยมใช้เพื่อหาความสัมพันธ์ทางสายเลือดฝ่ายมารดา หรือความเป็นพี่น้องที่มีแม่เดียวกัน เนื่องจาก mtDNA ได้รับถ่ายทอดจากแม่เท่านั้น

2.3.4 การตรวจ Y-Chromosome

เป็นการศึกษาลักษณะบนโครโมโซม Y ซึ่งจะถ่ายทอดจากพ่อสู่ลูกเท่านั้นและไม่ปรากฏในเพศหญิง ดังนั้นสายเลือดทางฝ่ายบิดาที่เป็นเพศชายจึงมีลักษณะบนโครโมโซม Y เหมือนกัน สามารถนำลักษณะบนโครโมโซม Y มาใช้ประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ ด้านนิติวิทยาศาสตร์ ในคดีข่มขืนกระทำชำเราจะทำการ swab จากช่องคลอดของเหยื่อไปตรวจ ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยเซลล์ของหญิงผู้เป็นเหยื่อในปริมาณมากและ sperm cell ในปริมาณน้อยกว่า ในกระบวนการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบนโครโมโซม Y บน ส่วนโครโมโซม X จะไม่ถูกเพิ่มปริมาณไปด้วยจึงไม่เกิดการรบกวน โดยวิธีนี้ยังเป็นการหลีกเลี่ยงขั้นตอนการสกัดแยก sperm และ epithelial cell ซึ่งมีความยุ่งยากอีกด้วย การทดสอบความเป็นพ่อ (Paternity Testing) ในกรณีที่เด็กผู้ชายและไม่มีมารดาการค้นหาคนสูญหาย ศึกษาการอพยพย้ายถิ่นฐานและวิวัฒนาการของมนุษย์ และการค้นหาบรรพบุรุษและประวัติศาสตร์ของบุคคลต่างๆ เป็นต้น

ข้อจำกัดของการใช้โครโมโซม Y ในการตรวจพิสูจน์บุคคล คือไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่าง พี่ชาย น้องชาย หรือเพศชายที่มีสายพันธุ์เดียวกันได้ ลักษณะบนโครโมโซม Y ที่นำมาใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์เพื่อการตรวจพิสูจน์บุคคล ได้แก่

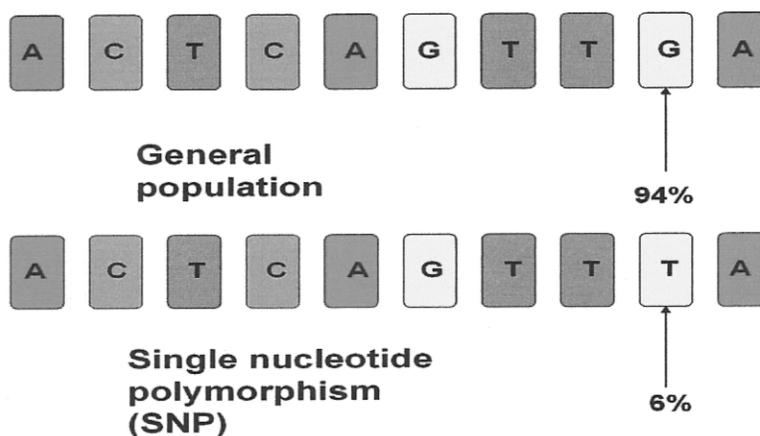
2.3.4.1 Y-STR เป็นการศึกษาลักษณะเฉพาะบริเวณที่เป็น short tandem repeat บนโครโมโซม Y (ภาพที่ 2.10) ซึ่งเคยมีการศึกษาโดยใช้ส่วนของ Y-STR และ Y-SNP ของคนไทยเปรียบเทียบกับของชาวเยอรมันและชาวจีน โดยใช้ส่วนของ Y-STR ในตำแหน่ง DYS19 DYS389I/II DYS390 DYS391 DYS392 DYS393 และ DYS385 และส่วนของ Y-SNP ในตำแหน่ง SRY-8299 Tat SRY-2627 92R7 SRY1532 M9 M13 M17/M19 และ M20 พบว่า Y-STR มีความถี่ของยีนแตกต่างกันไปในแต่ละกลุ่มประชากร และในส่วนของ Y-SNP พบว่าจาก 11 diallelic SNP มีเพียง 6 ตำแหน่งเท่านั้นที่มีความหลากหลายในทั้ง 3 กลุ่มประชากร (Bender และคณะ, 2003)



ภาพที่ 2.10 ตำแหน่งของ Y-STR ที่ใช้ศึกษาในปัจจุบัน

ที่มา : <http://www.hartnell.cc.ca.us/faculty/jhughey/files/strandcodis.ptt>

2.3.4.2 Y-SNPs Single Nucleotide Polymorphisms หรือ SNPs เป็นความแตกต่างของลำดับดีเอ็นเอซึ่งเกิดขึ้นเมื่อเบส 1 ตัว (A T C หรือ G) ในสายดีเอ็นเอมีการเปลี่ยนแปลง โดย SNPs จะเกิดขึ้นทุกๆ 100-300 bp บนจีโนมของมนุษย์ (ภาพที่ 2.11) SNPs ไม่เปลี่ยนแปลงจากรุ่นหนึ่งสู่รุ่นหนึ่ง ทำให้ง่ายต่อการศึกษาลักษณะประชากร และในจีโนมของมนุษย์ยังมีมากกว่า 7 ล้าน SNPs ดังนั้น Y-SNPs จึงมีประโยชน์กับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากมีอัตราการกลายพันธุ์ต่ำกว่า Y-STR และเป็น biallelic polymorphism รวมทั้งมีการเพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเอที่มีขนาดสั้นเป็น single base mutation ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะทำให้ได้ผลดีแม้ว่าดีเอ็นเอที่นำมาตรวจสอบจะเสื่อมสภาพมาก (high-degraded DNA) และใช้การตรวจสอบดีเอ็นเอในส่วน of microsatellites ไม่ได้ผล นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถตรวจ Y-SNPs ได้จากศพที่มีสภาพเน่าเปื่อย (decomposed bodies) ซากศพ (human remains) เหลือที่เสียชีวิตจากภัยพิบัติต่างๆ และเหลือจากอุบัติเหตุทางอากาศและทางน้ำ เป็นต้น แต่ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากการตรวจด้วยวิธีนี้จะมีค่าใช้จ่ายสูงมาก



ภาพที่ 2.11 ลักษณะของ Single Nucleotide Polymorphism

2.3.5 การใช้ Low Copy Number DNA

ในการตรวจสอบดีเอ็นเอที่มีปริมาณน้อยมาก อาจมีเพียง 2-3 เซลล์ หรือเรียกว่า Low Copy Number มีประโยชน์กับงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เพราะวัตถุพยานที่นำมาตรวจพิสูจน์ไม่สามารถใช้เทคนิคการวิเคราะห์ดีเอ็นเออื่นๆ ได้ผลเนื่องจากมีปริมาณน้อยและไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่า ตัวอย่างเช่น การสัมผัสของคนร้ายที่ด้ามอาวุธ เสื้อผ้า ผิวหนัง เหยื่อ เป็นต้น โดยนำตัวอย่างที่คาดว่าจะมีดีเอ็นเอของคนร้ายนั้นไปสกัดดีเอ็นเอและเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอซึ่งใช้จำนวนรอบของพีซีอาร์มากขึ้น จากข้อมูลที่ศึกษา มีการเพิ่มจำนวนรอบจนถึง 34 รอบ แต่ทั้งนี้ผลที่ได้จะสมบูรณ์เพียงใดขึ้นอยู่กับลักษณะตัวอย่างที่เก็บได้ของแต่ละบุคคลด้วย นอกจากนี้การนำผลการตรวจพิสูจน์ด้วย Low Copy Number ไปใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลยังต้องให้ความสำคัญกับแหล่งที่มาของพยานหลักฐานนั้นว่ามีข้อเท็จจริงอย่างไรอีกด้วยเพื่อนำพยานหลักฐานนั้นไปใช้ประโยชน์ได้อย่างเต็มที่

2.3.6 เทคนิค Real Time PCR

ปัจจุบันเทคนิคการเพิ่มขยายดีเอ็นเอมีความก้าวหน้ามากขึ้นทำให้สามารถตรวจนับปริมาณผลผลิตของพีซีอาร์ได้ในแต่ละรอบไปพร้อมกับการเพิ่มขยายจำนวนดีเอ็นเอในระยะเวลาดสั้นและได้ปริมาณมาก โดยไม่จำเป็นต้องสกัดดีเอ็นเอก่อน จึงมีประโยชน์หากนำเทคนิค Real time PCR มาใช้กับงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ในอนาคตเพราะการตรวจหาดีเอ็นเอจากพยานหลักฐานทางชีววิทยาจากจำนวนหลายสิบชิ้น ในหนึ่งคดีหรือจำนวนหนึ่งชิ้นแต่มีเป็นร้อยคดีโดยไม่อาจทราบได้ว่าวัตถุพยานที่ได้นำมาตรวจมีดีเอ็นเออยู่จริงหรือไม่จนกว่าจะเสร็จสิ้นการวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเครื่องอัตโนมัติ เป็นกระบวนการที่ล่าช้า คาดหวังผลไม่ได้ อีกทั้งเป็นการสิ้นเปลืองงบประมาณการตรวจพิสูจน์เป็นจำนวนมากอีกด้วย

2.4 ประโยชน์และการประยุกต์ใช้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

2.4.1 การพิสูจน์หลักฐานทางนิติวิทยาศาสตร์

การสืบสวนสอบสวนในคดีอาชญากรนอกจากจะใช้วิธีหาผู้กระทำผิดมาลงโทษโดยสืบหาพยานหลักฐานหรือพยานบุคคลแล้ว หลักฐานทางวิทยาศาสตร์ได้มีส่วนช่วยในการวินิจฉัยหรือตัดสินในคดีที่เกิดขึ้นได้เป็นอย่างมาก โดยหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่พบส่วนมากเป็นคราบเลือด คราบอสุจิ เส้นผม เส้นขน ก้นบุหรี่ที่ได้จากเสื้อผ้าของผู้เสียหายหรือผู้ต้องสงสัย รวมถึงหลักฐานที่พบได้ในที่เกิดเหตุซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทั้งสิ้น และเทคโนโลยีที่สามารถช่วยให้ผลการตรวจพิสูจน์หลักฐานดังกล่าวมีถูกต้องแม่นยำมากที่สุดในปัจจุบันก็คือเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีตัวอย่างคดีที่นำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ประโยชน์ในการคลี่คลายคดี ได้แก่

2.4.1.1 คดีฆาตกรรม น.ส.เจนจิรา พลอยอรุณศรี ปี 2541

น.ส.เจนจิรา พลอยอรุณศรี เป็นนักศึกษาแพทย์ชั้นปีที่ 5 คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาริบัติ ในวันที่ 28 ม.ค. 2541 พ่อของน.ส.เจนจิราได้รับแจ้งว่าบุตรสาวได้หายไปจากบ้านพักพร้อมรถยนต์ของตน ซึ่งได้สอบถามไปยังเพื่อนๆ ของน.ส.เจนจิราหลายคนแต่ไม่มีใครใดทราบเรื่องการหายตัวไปแต่อย่างใด แต่บุคคลที่ครอบครัวของน.ส.เจนจิราสงสัยมากที่สุดคือนายเสริม สาครราษฎร์ ผู้ที่มาหลงรักน.ส.เจนจิรา จึงได้แจ้งความและเชิญตัวนายเสริมมาเพื่อทำการสอบสวน พบว่าทำตัวมีพิรุธ แต่ไม่มีหลักฐานเกี่ยวกับการหายตัวไปของน.ส.เจนจิรา ตำรวจจึงทำการค้นหาพยานหลักฐานต่างๆ ที่สำคัญเพื่อนำมาประกอบในการพิจารณาคดี จึงไปสืบหาพยานหลักฐาน พบรถยนต์ของผู้ตายจริงและตรวจพบคราบเลือดที่กระโปรงท้ายรถซึ่งได้นำไปตรวจหาดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับบิดามารดาของผู้ตาย ผลปรากฏว่าเป็นคราบเลือดของน.ส.เจนจิรา และหลังจากนั้นเจ้าหน้าที่จึงทำการทาบอกระยะของ ที.เอส.เฮาส์ที่พักของนายเสริมพบเศษชิ้นเนื้อและเส้นผมที่ติดกับเศษหนังสือจำนวนหนึ่งจึงนำส่งเจ้าหน้าที่เพื่อตรวจดีเอ็นเอ ผลการตรวจพิสูจน์เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอปรากฏว่าชิ้นเนื้อทั้งหมดเป็นของน.ส.เจนจิรา รวมถึงวัตถุพยานอื่นๆ ที่เมื่อนำมาตรวจดีเอ็นเอแล้วตรงกับดีเอ็นเอของผู้ตาย ได้แก่ คราบเลือดที่อยู่ในห้องน้ำ โถส้วม ที่ปั้มยางชักโครกเวลาตัน บริเวณพื้นซีเมนต์ข้างปั้มสังกะสีที่ผู้ต้องหาใช้ทำลายหลักฐาน สำหรับวัตถุพยานอีกสิ่งหนึ่งที่สำคัญที่ทำให้ทราบว่าน.ส.เจนจิราได้เสียชีวิตแล้วคือ กะโหลกศีรษะที่พบว่าลอยติดค้างอยู่ที่บริเวณตอม่อของเขื่อนกั้นดินริมแม่น้ำบางปะกงซึ่งเชื่อว่าถูกนำมาทิ้งและนำมาตรวจดีเอ็นเอเปรียบเทียบกับพ่อและแม่ของน.ส.เจนจิรา

คดีฆาตกรรมนี้แม้ว่าจะไม่มีประจักษ์พยานเห็นเหตุการณ์ขณะเกิดเหตุแต่มีวัตถุพยานรวมทั้งผลการตรวจพิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ทำให้เชื่อมโยงและรับฟังได้ว่าผู้ต้องหา

ได้กระทำความผิดตามข้อกล่าวหาจริงอีกทั้งพยานหลักฐานจากการตรวจทางนิติวิทยาศาสตร์เป็น ส่วนสำคัญที่ศาลใช้ดุลพินิจในการพิจารณาว่าผู้ต้องหาได้กระทำความผิดจริง (บุญร่วม, 2548)

2.4.1.2 คดีโอ เจ ชิมปีสัน ฆาตกรรมภรรยาและเพื่อน

เดือนมิถุนายน ปี 1994 นายโอ เจ ชิมปีสัน อดีตนักกีฬาอเมริกันฟุตบอลที่มีชื่อเสียง ต้องกลายเป็นผู้ต้องหาในคดีฆาตกรรมนางนิโคล ชิมปีสัน ภรรยาตนเองและนายโรนัลด์ โกลด์แมน เพื่อนชายของเธอ เหตุเกิดที่บ้านของนางนิโคล ชิมปีสัน สภาพศพนางนิโคลพบว่าถูกแทงและปาดคอ ส่วนนายโรนัลด์ถูกแทงเสียชีวิตเช่นเดียวกัน จากการสอบสวนไม่พบพยานบุคคล และพบกราบเลือดที่มีอยู่ทุกที่ ตำรวจจึงนำเลือดในบริเวณที่เกิดเหตุไปตรวจพิสูจน์ด้วยดีเอ็นเอ และพบว่า เป็นเลือดของนายโอ เจ ชิมปีสัน และกล่าวหาว่ารอยแผลที่นิ้วของชิมปีสันเกิดขึ้นขณะที่เขาก่อเหตุ นอกจากนี้ยังพบรอยเลือดที่ประตูด้านหลัง ทางเดินด้านข้าง ที่บ้านของชิมปีสัน พบถุงมือที่เปื้อนเลือด รอยเลือดที่บริเวณห้องน้ำและรอยเลือดหยดที่ถุงเท้าข้างหนึ่งของชิมปีสัน จากนั้นตำรวจจึงทำการแจ้งข้อหาเพื่อทำการจับกุมนายชิมปีสัน แต่ทนายความฝ่ายนายชิมปีสันได้ต่อสู้คดีโดยอ้างประเด็นการเก็บและรักษาวัตถุพยานเพื่อนำสู่กระบวนการตรวจพิสูจน์ ว่าเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติหน้าที่เก็บวัตถุพยานไม่สวมชุดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนเมื่อเข้าเก็บพยานหลักฐานในที่เกิดเหตุ รูปถ่ายในที่เกิดเหตุแสดงให้เห็นว่ามีการเหยียบย่ำของเจ้าหน้าที่บนพยานวัตถุรวมถึงกราบเลือดด้วย และข้อต่อสู้ของทนายอาสาสรุปว่ามีความเป็นไปได้ที่ในขณะที่เจ้าหน้าที่ส่งของกลางไปห้องทดลองอาจทำให้ตัวอย่างเลือดของนายชิมปีสันกระเด็นติดไปกับถุงมือ เพราะไม่มีการเปลี่ยนถุงมือเมื่อมีการเก็บวัตถุพยานต่างชิ้นกันในที่เกิดเหตุ นั้น ไม่ว่าเหตุผลดังกล่าวจะถูกตั้งข้อสงสัยหรือไม่ แต่ข้อโต้แย้งดังกล่าวทำให้เกิดข้อสงสัยในการตรวจดีเอ็นเอ ประกอบกับอ้างว่าตำรวจได้ทำการค้นบ้านของชิมปีสัน โดยไม่มีหมายค้นหรือได้รับการอนุญาตจากเจ้าของบ้าน

คณะลูกขุนรับฟังข้อพิสูจน์และเรื่องหลักฐานของดีเอ็นเอในที่สุดศาลฎีกาแห่งรัฐแคลิฟอร์เนีย ได้ตัดสินให้ชิมปีสันพ้นโทษ หลังจากพิจารณาคดีอย่างรอบคอบ ทนายของชิมปีสันทำสำเร็จโดยไม่ได้โจมตีวิธีการตรวจดีเอ็นเอ แต่โจมตีหลักฐานที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ การเก็บรักษาเลือดที่เป็นวัตถุพยาน การปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการ และในประเด็นการตรวจค้นของเจ้าหน้าที่ตำรวจที่กระทำการโดยไม่มีเหตุอันควรและขัดต่อหลักเกณฑ์ในบทบัญญัติรัฐธรรมนูญ หลังจากคดีของชิมปีสันในครั้งนี้ทำให้ตำรวจลงตนเองเจตีสเพิ่มความระมัดระวังในวิธีการเก็บหลักฐานให้รอบคอบมากขึ้น (อรรถพล , 2544 รุ่งระวี, 2539 และ Spencer, 2004)

2.4.1.3 เหตุการณ์ตึกเวิลด์เทรดเซ็นเตอร์ถล่ม

เมื่อเดือนกันยายน พ.ศ. 2544 ได้เกิดโศกนาฏกรรมครั้งยิ่งใหญ่ของสหรัฐอเมริกาเมื่อผู้ก่อการร้ายได้ใช้เครื่องบินพุ่งชนทำลายตึก world Trade Center ในนิวยอร์ก ทำให้มีผู้

บาดเจ็บและเสียชีวิตจำนวนมากมาย ด้วยเหตุการณ์ครั้งนี้มีความจำเป็นในการใช้การสืบสวนทางนิติวิทยาศาสตร์เข้าช่วยโดยเฉพาะทางด้านลายพิมพ์ดีเอ็นเอ สถิติผู้เสียชีวิตปลายปี 2545 เกือบ 3,000 คนและเมื่อนำซากปรักหักพังจำนวนหลายล้านตันออกพบศพผู้เสียชีวิตเพิ่มอีกหลายร้อยศพ รวมทั้งเศษกระดูกและชิ้นเนื้ออีกประมาณ 20,000 ชิ้น ซึ่งบางชิ้นมีขนาดเล็กมาก กระบวนการตรวจพิสูจน์ได้จึงเกิดการนำร่างกายและชิ้นส่วนของร่างกายมาตรวจหาสารพันธุกรรมโดยเก็บรักษาศพไว้ในตู้แช่แข็งนอกจากนี้ยังใช้ผู้เชี่ยวชาญทางพยาธิวิทยา ผู้เชี่ยวชาญด้านลายนิ้วมือ และทันตแพทย์ร่วมด้วย มีศพเพียง 10 รายเท่านั้นที่สามารถระบุได้ด้วยตาเปล่า การตรวจพิสูจน์ทางด้านดีเอ็นเอถูกเก็บรวบรวมข้อมูลโดยห้องปฏิบัติการใน Utah, Texas, Maryland และ Virginia การนำดีเอ็นเอมาเปรียบเทียบทำโดยเก็บตัวอย่างดีเอ็นเอจากของใช้ภายในบ้านของเหยื่อ เช่น ใบบิด โคน หวี แปรงสีฟัน มาเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอที่เก็บจากเยื่อข้างแก้มจากศพผู้เสียชีวิตรวมประมาณ 7,000 ราย

เริ่มต้นการรวบรวมข้อมูลทางดีเอ็นเอสำหรับเหตุการณ์ครั้งนี้ใช้การวิเคราะห์ Short Tandem Repeat จำนวน 13 ตำแหน่ง ซึ่งใช้วิเคราะห์จากชิ้นเนื้อและกระดูกจากซากศพได้เพียงครั้งหนึ่งของซากศพที่พบ ส่วนที่เหลือไม่สามารถใช้ STR ในการวิเคราะห์ได้ เดือนกันยายน พ.ศ. 2545 อเมริกาสามารถพิสูจน์ซากศพและระบุเจ้าของได้ครั้งหนึ่งของจำนวนซากศพที่พบทั้งหมด และซากศพส่วนที่ถูกทับด้วยซากปรักหักพังจนร่างกายเสียหายมาและไม่สามารถวิเคราะห์ดีเอ็นเอในส่วน STR ได้จึงนำวิธีอื่นที่สามารถตรวจดีเอ็นเอที่เสื่อมสภาพมากมาช่วย ได้แก่ การวิเคราะห์โดยใช้ mitochondrial DNA และ SNPs จากกรณีดังกล่าวจะเห็นว่าการตรวจพิสูจน์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีความสำคัญอย่างยิ่งในการคลี่คลายสถานการณ์ครั้งนี้ได้เป็นอย่างดีโดยเฉพาะกับชิ้นส่วนของผู้เสียชีวิตที่แหล่งละเียดไม่สามารถตรวจพิสูจน์ด้วยวิธีอื่นได้ (Spencer, 2004)

2.4.1.4 เหตุการณ์ภัยพิบัติจากคลื่นสึนามิต่อภาคใต้

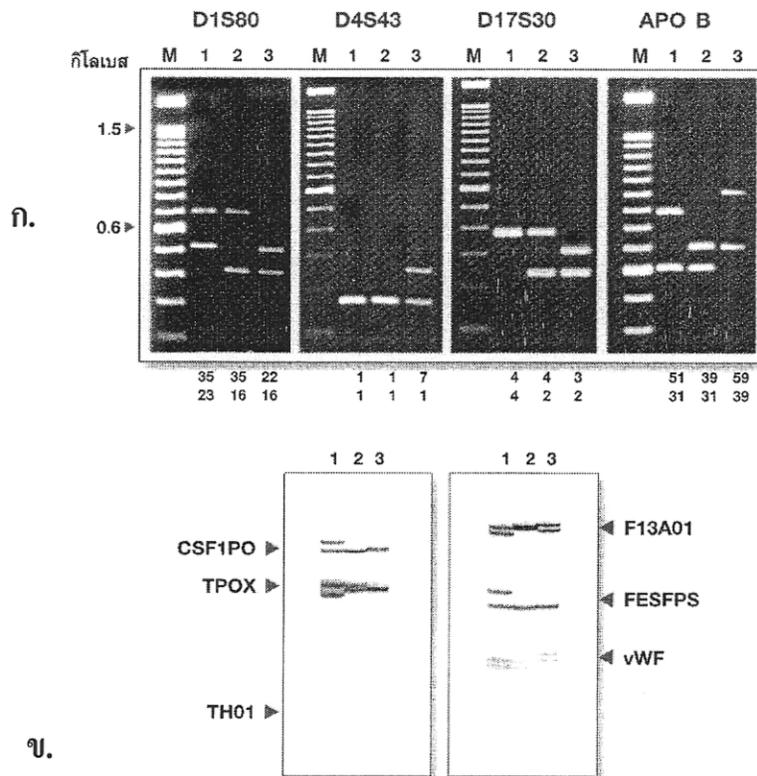
เมื่อวันอาทิตย์ที่ 26 ธันวาคม พ.ศ. 2547 ได้เกิดคลื่นสึนามิต่อภาคใต้ ได้แก่ จังหวัด กระบี่ ตรัง พังงา ภูเก็ต ระนอง และสตูล และขณะเกิดธรณีพิบัตินั้น ประชาชนและนักท่องเที่ยวที่อยู่ตามชายหาดเสียชีวิตและบาดเจ็บเป็นจำนวนมาก ไฟฟ้าดับทั่วทั้งจังหวัด เครื่องข่ายโทรศัพท์ทุกระบบไม่สามารถใช้งานได้ ประชาชนต้องอพยพไปอยู่ตามบริเวณที่เป็นเนินสูง หลังจากเหตุการณ์ครั้งนี้ สิ่งที่ต้องทำเป็นอันดับแรก คือ การค้นหาผู้รอดชีวิต ผู้บาดเจ็บ ผู้เสียชีวิตและดำเนินการตามขั้นตอนโดยกระทรวงสาธารณสุขได้ตั้งคณะทำงานเพื่อดำเนินการประสานพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล ซึ่งมีแผนปฏิบัติการในการตรวจดีเอ็นเอจากศพ (Ante Mortem) และการตรวจดีเอ็นเอจากญาติ (Post mortem DNA) ให้เป็นไปในระบบเดียวกันทั้งหมด การพิสูจน์ยืนยันบุคคลผู้เสียชีวิต เป็นการปฏิบัติงานและความร่วมมือกันของกระทรวงยุติธรรม กระทรวงการต่างประเทศ กระทรวงสาธารณสุข กระทรวงมหาดไทย กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร และ

สำนักงานตำรวจแห่งชาติ ในนาม ศูนย์อำนวยการพิสูจน์ยืนยันบุคคลที่เสียชีวิตจากภัยคลื่นสึนามิ (Thai Tsunami Victims Identification :TTVI) ภายใต้มาตรฐานเดียวกันที่เป็นมาตรฐานสากล จากการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลพบว่าจำนวนศพที่พิสูจน์ได้จากฟัน ลายพิมพ์ นิ้วมือ ดีเอ็นเอ และรูปพรรณ มีปริมาณลดลงตามลำดับ แต่จะพบว่าในการดำเนินงานเริ่มแรกหลายหน่วยงานให้ความสำคัญกับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลโดยใช้ดีเอ็นเอเป็นอย่างมากเนื่องจากปัจจุบันดีเอ็นเอเป็นที่สนใจและเป็นที่ยอมรับกว้างขวางในประชาชนทั่วไป การยืนยันศพผู้เสียชีวิตด้วยการตรวจดีเอ็นเอ เริ่มแรกจะต้องมีการจำแนกศพ ด้วยการจดบันทึกวัน เวลา สถานที่พบศพ จัดทำเลขรหัสของศพแต่ละราย บันทึกรายละเอียดของศพโดยละเอียด ถ่ายภาพศพ ในกรณีศพไม่เนา ใช้ไม้พันสำลีแห้งเช็ดที่กระพุ้งแก้มด้านใน โดยหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนเศษสิ่งสกปรกและวัสดุอื่นๆ ดิน รหัศศพ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแห้งสนิทเก็บใส่ซองกระดาษสีขาว เขียนรหัศศพหน้าซอง ในกรณีศพเนาให้ดึงเส้นผม 15 เส้น เก็บใส่ซองและตัดชิ้นกล้ามเนื้อบริเวณต้นแขนหรือบริเวณอื่นที่ใกล้กระดูก ขนาดประมาณ 1 ซม. เก็บใส่ตู้เย็นช่องแข็ง หรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส หรือใส่ถังโฟมบรรจุน้ำแข็งไม่มีน้ำ เพื่อทำการส่งตรวจดีเอ็นเอต่อไป ส่วนญาติของผู้เสียหายชาวไทยขอรับการตรวจดีเอ็นเอจากโรงพยาบาล ได้ทุกจังหวัดและกรณีผู้สูญหายชาวต่างชาติให้ญาติใกล้ชิดจัดส่งผลการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอผ่านกระทรวงต่างประเทศได้ การเปรียบเทียบเพื่อยืนยันเอกลักษณ์บุคคล โดยนำข้อมูลจากดีเอ็นเอที่ได้จากการชันสูตร มาเปรียบเทียบกับข้อมูลดีเอ็นเอที่ได้จากญาตินี้มีความแตกต่างจากคดีที่เกิดขึ้นโดยทั่วไป เช่น ในคดีฆาตกรรมหรือคดีข่มขืนกระทำชำเรา ซึ่งมักทำการเปรียบเทียบในลักษณะ 1 ต่อ 1 แต่ในกรณีเหตุการณ์เช่นนี้ตัวอย่างที่ทำการเปรียบเทียบมีเป็นพันตัวอย่าง ดังนั้นต้องมีระบบฐานข้อมูลกลางที่ได้รับความเชื่อถือและเปรียบเทียบข้อมูลโดยใช้ค่าสถิติช่วยในการคำนวณ โอกาสความเป็นไปได้ต่างๆ ตามที่มาตรฐานยอมรับ ซึ่งถือเป็นขั้นสุดท้ายที่สามารถจำหน่ายศพให้กับญาติผู้เสียชีวิตเพื่อนำไปประกอบพิธีกรรมทางศาสนาได้อย่างถูกต้อง แม่นยำที่สุด (กรมศิลปากร, 2548)

2.4.2 การพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด

ในปัจจุบันการตรวจหาความสัมพันธ์ระหว่างพ่อ แม่ ลูก เป็นที่สนใจและต้องการมากขึ้นในสังคม เพื่อนำไปใช้เป็นหลักฐานสำคัญสำหรับประกอบการพิจารณาทางกฎหมายในศาล เช่น กรณีการฟ้องร้องเรียกค่าเลี้ยงดูบุตรเมื่อสตรีถูกทอดทิ้ง หรือการตรวจเพื่อรับรองความเป็นบุตร เมื่อมีการอพยพย้ายถิ่นหรือกรณีที่สงสัยว่าไม่ใช่บุตรของตนเอง เช่น อาจเกิดการสลับกันในโรงพยาบาล หรือเด็กเกิดในประเทศไทยที่ไม่ได้แจ้งเกิดตั้งแต่ต้น นอกจากนี้กรณีการรับมรดกบ้างครั้งมีการร้องเรียนให้มีการตรวจดีเอ็นเอเพื่อยืนยัน เป็นต้น

ลายพิมพ์ดีเอ็นเอสามารถนำมาประยุกต์ใช้แก้ปัญหาทางสังคม เพื่อการพิสูจน์หาความสัมพันธ์ทางสายเลือด โดยบางตัวอย่างในสังคมไทยเป็นที่สนใจของสื่อมวลชนและประชาชนทั่วไป เช่น การตรวจสอบหาความเป็นพ่อ ดังในคดีของนักร้องลูกทุ่งชื่อดังได้มีความสัมพันธ์กับผู้หญิงที่ทำงานอยู่ด้วยกัน หลังจากนั้นหญิงคนดังกล่าวได้ให้กำเนิดลูกสาว ซึ่งทำให้นักร้องผู้นี้ถูกกล่าวหาว่าเป็นพ่อของเด็กและต้องให้ความรับผิดชอบต่อเด็ก ในขั้นต้นนักร้องลูกทุ่งได้ให้การปฏิเสธความสัมพันธ์กับผู้หญิงสาวและปฏิเสธความเป็นพ่อ ต่อมาเมื่อมีสื่อมวลชนกลุ่มต่างๆ ให้คำแนะนำ จึงทำการตรวจเพื่อพิสูจน์ความเป็นพ่อ โดยใช้เทคนิคลายพิมพ์ดีเอ็นเอ การพิสูจน์ครั้งนี้ใช้การตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากมินิแซทเทลไลท์ 4 โลกัส คือ D1S80, D4S43, D17S30 และ APOB และไมโครแซทเทลไลท์ 6 โลกัส คือ CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, FESFPS และ VWF โดยแถว M เป็นดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder แถวที่ 1 คือพ่อ แถวที่ 2 คือแม่ และแถวที่ 3 คือลูก ผลปรากฏว่าแถบดีเอ็นเอของเด็กในแต่ละโลกัสตรงกับตำแหน่งแถบดีเอ็นเอของนักร้องหรือแม่ ทั้ง 10 โลกัส ดังนั้นสามารถเชื่อได้ว่าเด็กมีความสัมพันธ์ทางสายเลือดกับพ่อจริงตามคำกล่าวอ้าง ผลการตรวจดีเอ็นเอแสดง (ภาพที่ 2.11) (วิชัย และคณะ, 2547)



ภาพที่ 2.12 แสดงลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยเทคนิคพีซีอาร์จำนวน 10 ตำแหน่ง

ก. การตรวจดีเอ็นเอจากมินิแซทเทลไลท์ จำนวน 4 ตำแหน่ง

ข. การตรวจดีเอ็นเอจากไมโครแซทเทลไลท์ จำนวน 6 ตำแหน่ง

2.5 การศึกษาความถี่ของอัลลีลในประชากรและค่าทางสถิติต่าง ๆ เพื่องานตรวจพิสูจน์บุคคล

การตรวจดีเอ็นเอเพื่อใช้พิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลของสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจในปัจจุบันนั้น เป็นการตรวจรูปแบบดีเอ็นเอไมโครแซทเทลไลท์ หรือ STR ที่ให้ผลการตรวจเป็นรหัสตัวเลข ซึ่งแทนอัลลีลที่พบในแต่ละตำแหน่งที่ตรวจ การแปลผลเพื่อระบุความแม่นยำ นำเชื่อถือ และบอกถึงความน่าจะเป็นว่าบุคคลนั้นเป็นผู้โจรจริงหรือไม่ มีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องอาศัยการคำนวณค่าทางสถิติเป็นตัวบ่งชี้ และช่วยให้สามารถสื่อสารกันเข้าใจเป็นที่ยอมรับของผู้ที่เกี่ยวข้องได้

2.5.1 สถิติพื้นฐานสำหรับดีเอ็นเอ

เมื่อเครื่องวิเคราะห์ดีเอ็นเออัตโนมัติ ถอดรหัสลักษณะ STR ออกมาเป็นตัวเลขแล้ว สามารถทราบว่าคุณลักษณะของสารพันธุกรรมในแต่ละช่วงนั้นเป็นอย่างไร เช่น เมื่อตรวจดีเอ็นเอตำแหน่ง D8S1179 ซึ่งอยู่บน โครโมโซมที่ 8 แล้วได้รหัสออกมาเป็น (8,9) แสดงว่าคุณลักษณะดีเอ็นเอตำแหน่งดังกล่าวบนแท่งโครโมโซมแต่ละแท่งที่คู่กัน มีจำนวนเบสซ้ำบนแท่งหนึ่ง 8 ชุด และอีกแท่งหนึ่ง 9 ชุด ซึ่งเป็นลักษณะพันธุกรรม (Heterozygous) แต่หากถอดรหัสออกมาเป็น (8,8) แสดงว่าโครโมโซมทั้งสองแท่งที่คู่กัน มีจำนวนเบสซ้ำเท่ากัน คือ 8 ชุด ซึ่งเป็นลักษณะพันธุ์แท้ (Homozygous)

การตรวจดีเอ็นเอตำแหน่งหนึ่งๆ แล้วได้ผลออกมาเป็นเลขอะไร เปรียบเสมือนการโยนลูกเต๋าสองลูก แล้วดูว่าหน้าของลูกเต๋าสองลูกออกมาเป็นเลขใด และการตรวจดีเอ็นเอหลายๆ ตำแหน่ง ก็เปรียบเสมือนจำนวนครั้งที่โยนลูกเต๋า หากตรวจ 15 ตำแหน่ง ก็เปรียบกับการโยนลูกเต๋า 15 ครั้ง ตามหลักสถิติ หากโอกาสเกิดเหตุการณ์ $A = P(a)$ และโอกาสเกิดเหตุการณ์ $B = P(b)$ โอกาสที่จะเกิดเหตุการณ์ A และ B พร้อมกัน เท่ากับ $P(a) \times P(b)$ หากพิจารณาเหตุการณ์การออกแต้มของลูกเต๋าสีดำและสีแดง จะพิจารณาเป็นกรณีได้ ดังนี้

กรณีที่ 1 การทอดลูกเต๋าสีดำและสีแดง 2 ลูก พร้อมกัน ให้ลูกสีดำออกแต้ม 2 และ ลูกสีแดงออกแต้ม 4 โอกาสที่จะเกิดเช่นนี้ มีเท่ากับ $1/6 \times 1/6$

กรณีที่ 2 การทอดลูกเต๋าสีดำและสีแดง 2 ลูก พร้อมกัน ให้ลูกเต๋าสองลูกออกแต้ม 2 โอกาสที่จะเกิดเช่นนี้ มีเท่ากับ $1/6 \times 1/6$ เช่นกัน

กรณีที่ 3 การทอดลูกเต๋าสองลูก พร้อมกัน โดยกำหนดว่าให้ลูกใดลูกหนึ่งออก 2 ส่วนอีกลูกออก 4 โอกาสที่จะเกิดเช่นนี้มีเท่ากับ $2 \times 1/6 \times 1/6$

ดังนั้น ดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ ถ้ารูปแบบของ STR ออกมาเป็น Heterozygous เช่น (9,11) โอกาสที่จะพบรูปแบบดีเอ็นเอเช่นนี้โดยบังเอิญ น่าจะเท่ากับโอกาสที่ลักษณะดีเอ็นเอแบบ 9 มาเจอกับลักษณะดีเอ็นเอแบบ 11 ซึ่งเท่ากับ $2 \times P(9) \times P(11)$ แต่หากเป็นรูปแบบ

Homozygous เช่น (9,9) โอกาสที่จะพบรูปแบบดีเอ็นเอเช่นนี้โดยบังเอิญ น่าจะเท่ากับโอกาสที่ลักษณะดีเอ็นเอแบบ 9 มาเจอกับลักษณะดีเอ็นเอแบบ 9 ซึ่งเท่ากับ $P(9) \times P(9)$ ในความเป็นจริงแล้วการตรวจดีเอ็นเอเพื่อพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลของสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจจะใช้ดีเอ็นเอจำนวน 15 ตำแหน่ง เพราะฉะนั้นรูปแบบดีเอ็นเอ ที่ปรากฏในแต่ละตำแหน่งย่อมมีโอกาสเกิดของมันเองในแต่ละตำแหน่งแยกกัน ตัวอย่างเช่น การตรวจดีเอ็นเอของนายก ก จำนวน จำนวน 15 ตำแหน่งพบว่า

ตำแหน่งที่ 1 D8S1179 ออกมาเป็น (13,14) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(13)P(14)$

ตำแหน่งที่ 2 D21S11 ออกมาเป็น (28,30) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(28)P(30)$

ตำแหน่งที่ 3 D21S11 ออกมาเป็น (9,11) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(9)P(11)$

ตำแหน่งที่ 4 CSF1PO ออกมาเป็น (12,12) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $P(12)^2$

ตำแหน่งที่ 5 D3S1358 ออกมาเป็น (15,18) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(15)P(18)$

ตำแหน่งที่ 6 TH01 ออกมาเป็น (7,9.3) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(7)P(9.3)$

ตำแหน่งที่ 7 D13S317 ออกมาเป็น (8,8) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $P(8)^2$

ตำแหน่งที่ 8 D16S539 ออกมาเป็น (12,13) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(12)P(13)$

ตำแหน่งที่ 9 D2S1338 ออกมาเป็น (19,20) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(19)P(20)$

ตำแหน่งที่ 10 D19S433 ออกมาเป็น (15,16.2) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(15)P(16.2)$

ตำแหน่งที่ 11 vWA ออกมาเป็น (14,18) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(14)P(18)$

ตำแหน่งที่ 12 TPOX ออกมาเป็น (8,11) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(8)P(11)$

ตำแหน่งที่ 13 D18S51 ออกมาเป็น (15,16) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(15)P(16)$

ตำแหน่งที่ 14 D5S818 ออกมาเป็น (11,13) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(11)P(13)$

ตำแหน่งที่ 15 FGA ออกมาเป็น (18,20) โอกาสที่จะพบดีเอ็นเอแบบนี้เท่ากับ $2P(18)P(20)$

ดังนั้นพิจารณาโอกาสที่ตรวจดีเอ็นเอจากคนหนึ่งๆ แล้วได้ลักษณะทั้ง 15 ตำแหน่งดังกล่าวข้างต้นจะเป็น $2P(13)P(14) \times 2P(28)P(30) \times 2P(9)P(11) \times P(12)^2 \times 2P(15)P(18) \times 2P(7)P(9.3) \times P(8)^2 \times 2P(12)P(13) \times 2P(19)P(20) \times 2P(15)P(16.2) \times 2P(14)P(18) \times 2P(8)P(11) \times 2P(15)P(16) \times 2P(11)P(13) \times 2P(18)P(20)$ โดยแทนค่า P ด้วย ความถี่ของอัลลีลต่างๆ ในตำแหน่งดีเอ็นเอที่ตรวจนั้น ในกรณีที่จะคำนวณ โดยวิธีนี้จะต้องนึกไว้เสมอว่า ลักษณะทางพันธุกรรมในแต่ละตำแหน่งต้องเป็นอิสระต่อกัน ลักษณะเช่นนี้เรียกว่ามี linkage equilibrium และอัลลีลจากพ่อแม่ที่ไม่มีความเกี่ยวพันกันนี้ จึงกล่าวว่าตำแหน่งดังกล่าวอยู่ใน Hardy-Weinberg equilibrium

Hardy-Weinberg Law เป็นกฎที่สำคัญที่สุดของการศึกษาพันธุศาสตร์ประชากร ซึ่งเสนอโดยนักคณิตศาสตร์ชาวอังกฤษชื่อ Hardy และแพทย์ชาวเยอรมันชื่อ Weinberg เมื่อปีพ.ศ. 2451 โดยต่างคนต่างคิดขึ้นได้เอง Hardy-Weinberg Law กล่าวว่าอัตราความถี่อัลลีล และความถี่ของยีนโตนไทป์ จะคงที่ตลอดไปทุก generation ของประชากรที่มีจำนวนมาก (infinitely large population) ที่มีการแต่งงานแบบสุ่ม (random) และไม่มีการคัดเลือก การอพยพและการผ่าเหล่า ในภาวะดังกล่าว ถ้าอัลลีล A และ B เป็นอัลลีลที่ ตำแหน่งเดียวกัน และให้ allele frequency ของ $A = p, B = q; p+q$ ย่อมเท่ากับ 1 และ genotype frequency AA, AB, BB ย่อมเท่ากับ $p^2, 2pq, q^2$ ตามลำดับตลอดไปทุก generation และ allele frequency p และ q ก็คงที่ตลอดไป และ

$$p^2+2pq+q^2 = 1$$

ตารางที่ 2.3 กฎสมมูลของ Hardy-Weinberg

อัลลีล (ความถี่) จากแม่	อัลลีล (ความถี่) จากพ่อ	
	$A(p)$	$a(q)$
$A(p)$	P^2	pq
$A(q)$	Pq	q^2

ที่มา : Aitken และคณะ, 2004

ของโลโก้หนึ่งๆ ซึ่งมี 2 อัลลีล คือ A และ a มีความถี่ของยีนเท่ากับ p และ q ตามลำดับ ซึ่ง $p+q$ เท่ากับ 1

อย่างไรก็ตามกฎนี้จะใช้อย่างสมเหตุสมผลได้ ต้องไม่ปรากฏมีลักษณะประชากรกลุ่มย่อย (Population substructure) แทรกอยู่ในกลุ่มประชากรที่อ้างถึง โดยในกลุ่มประชากรที่มีกลุ่มคนที่มีอัลลีลเฉพาะสำหรับกลุ่มคนนั้น สามารถตรวจพบอัลลีลเฉพาะนั้นเพื่อบ่งชี้ได้ว่าบุคคลนั้นมาจากประชากรกลุ่มใด ซึ่งหากมีกลุ่มคนที่มีอัลลีลเฉพาะนี้อยู่เป็นส่วนหนึ่งของกลุ่มประชากรที่อ้างถึงนี้ ย่อมเปลี่ยนแปลงค่าความถี่ของอัลลีลต่างๆ ให้ผิดไปจากค่าคาดหวังที่ได้จากการคำนวณทางสถิติได้

จากการศึกษาความถี่ของอัลลีลจาก 15 ตำแหน่ง โดยใช้ชุดสารเคมี AmpF/STR Identifier PCR Amplification Kits ในประเทศสหรัฐอเมริกาโดยแบ่งประชากรออกเป็น 4 กลุ่มย่อย คือ African-American U.S. Caucasian U.S. Hispanic และ Native American แสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวของอัลลีลที่แตกต่างกันแม้ว่าจะเป็นประชากรที่อาศัยอยู่ในประเทศเดียวกัน แสดงดังตารางในภาคผนวก ก ข้อมูลนี้เป็นข้อมูลที่ช่วยสนับสนุนให้เห็นถึงความสำคัญในการหาค่าความถี่และการกระจายตัวของอัลลีลในแต่ละกลุ่มประชากรเพื่อนำไปสู่ความถูกต้องและความน่าเชื่อถือในการแปลผลการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

2.5.2 การนำสูตรทางสถิติไปใช้แปลผลดีเอ็นเอ

ในการตรวจพิสูจน์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ นอกจากต้องเข้าใจวิธีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเออย่างถูกต้องชัดเจนแล้ว ยังจำเป็นต้องรู้วิธีการคำนวณหาค่าทางสถิติต่างๆ เพื่อใช้ชี้แจงให้ผู้อื่นได้เข้าใจความหมายและประสิทธิภาพของการตรวจดีเอ็นเอค่าที่ใช้ศึกษาได้แก่

1) ค่า Power of discrimination (PD) หรือ Discriminating power (DP) เป็นค่ากำลังการแยกแยะ ซึ่งบอกถึงประสิทธิภาพของการตรวจนั้น สามารถแยกแยะแต่ละบุคคลออกจากกันได้มากน้อยเท่าใด

คำนวณได้จากสูตร
$$\text{Power of discrimination (PD)} = 1 - \sum_{i=1}^n (p_i)^2$$

โดย p_i คือ ค่าความถี่ของแต่ละ phenotype

ตัวอย่าง สมมติว่าในการสำรวจลักษณะ phenotype ต่างๆ ในระบบ STR ตำแหน่ง D7S820 จากตัวอย่างประชากรไทยกลุ่มหนึ่ง พบว่ามีค่าความถี่ของ phenotype ต่างๆ ดังนี้

Phenotype	ความถี่ (p_i)	Phenotype	ความถี่ (p_i)
(7,11)	0.01	(8,11)	0.18
(7,12)	0.05	(8,12)	0.11

(8,8)	0.12	(8,13)	0.03
(8,9)	0.08	(8,14)	0.15
(8,10)	0.07	(9,10)	0.20
หาค่า $(p_i)^2$ ของแต่ละ phenotype			
Phenotype	ค่า (p_i)	ค่า $(p_i)^2$	
(7,11)	0.01	0.0001	
(7,12)	0.05	0.0025	
(8,8)	0.12	0.0144	
(8,9)	0.08	0.0064	
(8,10)	0.07	0.0049	
(8,11)	0.18	0.0324	
(8,12)	0.11	0.0121	
(8,13)	0.03	0.0009	
(8,14)	0.15	0.0225	
(9,10)	0.20	0.04	

$$\text{ผลรวมของ}(p_i)^2 = 0.0001+0.0025+0.0144+0.0064+0.0049+0.0324+0.0121+0.0009+0.0225+0.04 \\ = 0.1362$$

นำค่า 0.1362 ไปแทนค่าในสูตร จะได้ค่า PD = $1-0.1362 = 0.8638$ หรือ 86.38%
ค่า PD บอกถึง โอกาสที่เมื่อสุ่มเลือกคนสองคนในกลุ่มประชากรแล้วจะได้ phenotype ของตำแหน่งที่ศึกษาต่างกัน เช่นในกรณีตัวอย่าง โอกาสนั้นมี 86.38%

2) ค่า probability of a match (PM) หรือ probability of non-discrimination เป็นค่าบอกถึงโอกาสที่จะพบว่าคนสองคนมีลักษณะดีเอ็นเอเหมือนกัน

$$\text{คำนวณได้จากสูตร } \text{probability of a match (PM)} = \sum_{i=1}^n (p_i)^2 \text{ หรือ เท่ากับ } 1-\text{PD}$$

โดย P_i คือ ค่าความถี่ของแต่ละ phenotype

จากตัวอย่างข้อ 1) จะเห็นว่าโอกาสที่จะพบว่าคนสองคนมี phenotype ใน STR ตำแหน่ง D7S820 เหมือนกันเท่ากับ $100- 86.38\% = 13.62\%$

3) ค่า Probability of exclusion (PE) เป็นค่ากำลังการคัดออกซึ่งนำไปใช้ในกรณีของการตรวจพิสูจน์พ่อ-แม่-ลูก เพื่อช่วยในการคัดคนที่ไม่ใช่พ่อหรือแม่อกในกรณีของการพิสูจน์บุตร ซึ่งมี 3 สูตร ที่ใช้กันคือ

3.1) ค่า average power of exclusion (no parent) คือ ค่ากำลังการคัดออกเฉลี่ยในกรณีที่พิสูจน์ความเป็นพ่อ-ลูก หรือ แม่-ลูก โดยมีเด็กมากับผู้ถูกกล่าวหาเพียงคนเดียว

โดยมีสูตรคือ
$$\sum_{i=1} P_i^2 (1 - P_i)^2 + \sum_{i=1} 2P_i P_j (1 - P_i - P_j)^2$$

3.2) ค่า average power of exclusion (one parent) คือ ค่ากำลังการคัดออกเฉลี่ยในกรณีที่พิสูจน์ความเป็นพ่อ-ลูก โดยมีเด็กมากับแม่แท้ๆ แล้วกล่าวหาว่าชายคนหนึ่งเป็นพ่อเด็ก วิธีนี้จะมีโอกาสคัดคนที่ไม่ใช่พ่อเด็กออกได้ในเปอร์เซ็นต์สูงขึ้น

โดยมีสูตร
$$\sum_{i=1} P_i^2 (1 - P_i)^2 + \sum_{i=1} (P_i P_j)^2 (3P_i + 3P_j - 4)$$

3.3) ค่า average power of exclusion เป็นค่ากำลังการคัดออกซึ่งนำไปใช้ในกรณีของการตรวจพิสูจน์พ่อ-แม่-ลูก โดยไม่ได้กำหนดจำนวนบุพการีที่มากับเด็กแต่เป็นค่ารวมๆ ไม่แยกเป็นกรณี โดยมีสูตรคือ

$$\sum P_i^3 (1 - P_i)^2 + \sum P_i (1 - P_i)^3 + \sum_{i=1} P_i P_j (P_i + P_j) (1 - P_i - P_j)^2$$

การใช้ค่าสถิติ Probability of exclusion (PE) ในการแปลผลการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอเพื่อพิสูจน์บุตรนั้นจะบ่งชี้ได้เพียงประสิทธิภาพของระบบที่ใช้ ซึ่งหากค่าที่คำนวณได้นั้นสามารถคัดผู้ถูกกล่าวหาออกจากความสัมพันธ์กับเด็กได้ย่อมไม่มีปัญหาในการแปลผลแต่หากไม่สามารถคัดผู้ถูกกล่าวหาออกได้ จำเป็นต้องใช้ค่าสถิติตัวอื่นที่มีการคำนวณโอกาสความเป็นพ่อได้จำเพาะซึ่งแล้วแต่กรณีที่สนใจ (ชานินทร์, 2538)

4) ค่า Paternity Index (PI) เป็นค่าดัชนีความเป็นพ่อ คำนี้ออกถึงสัดส่วนของการเป็นพ่อเทียบกับไม่ใช่พ่อ สูตรที่นำมาใช้คำนวณค่านี้มี ความแตกต่างกันไปแล้วแต่กรณี (ตาราง 2.4)

สูตรดังกล่าวเป็นการคำนวณค่า PI ในแต่ละตำแหน่งหากมีการตรวจเปรียบเทียบจำนวนหลายตำแหน่งให้หาค่า PI จาก ค่า combined PI ซึ่งเท่ากับผลคูณของค่า PI ในแต่ละตำแหน่งทุกตำแหน่ง

ตารางที่ 2.4 สูตรการคำนวณค่า Paternity Index ให้ P Q และ R คือ รูปแบบของอัลลีล และ p q และ r คือ ความถี่ของอัลลีล p q และ r

แบบ ที่	รูปแบบอัลลีลของแม่	รูปแบบอัลลีลของลูก	รูปแบบอัลลีลของผู้ถูกกล่าวหา ว่าเป็นพ่อ	ค่า PI ที่คำนวณได้
1	P	P	P	$1/p$
2	P	P	PQ	$1/2p$
3	P	PQ	PQ	$1/2q$
4	PQ	PQ	PQ	$1/(p+q)$
5	PQ	P	P	$1/p$
6	PQ	PQ	P	$1/(p+q)$
7	PQ	P	PQ	$1/2p$
8	P	PQ	Q	$1/q$
9	PQ	QR	PR or RS	$1/r$
10	P	PR	QR	$1/2r$
11	PQ	QR	PR or RS	$1/2r$
12	PR	PR	QR	$1/(2(p+r))$
13	PR	QR	QR	$1/2q$
14	PR	R	QR	$1/2r$
15	Absent	PQ	QR	$1/4q$
16	Absent	PQ	Q	$1/2q$
17	Absent	PQ	PQ	$(p+q)/4pq$
18	Absent	Q	QR	$1/2q$
19	Absent	Q	Q	$1/q$

ที่มา Kobilinsky และคณะ, 2005

2.5.3 Bayes' Throrem

กฎของเบย์เป็นส่วนสำคัญในกระบวนการพิจารณาหาค่าความเป็นไปได้ในผลของเหตุการณ์ต่างๆ โดยกฎของเบย์จะเป็นตัววัดความไม่แน่นอนของผลการทดลองที่ได้ซึ่งอาจเป็นจริงหรืออาจไม่เป็นจริงตามผลการทดลองที่ได้นั้น โดยทั่วไปแล้วกระบวนการพิจารณาดังกล่าวจะใช้ในงานทางวิทยาศาสตร์ซึ่งจะมีการรวบรวมข้อมูลความเป็นไปได้ตั้งแต่ก่อนทำการทดลองจนให้ผลที่มีความน่าจะเป็นไปได้หลังทำการทดลองซึ่งสุดท้ายให้ผลออกมาเรียบร้อยแล้ว ความจำเป็นของผลที่ได้จากกฎของเบย์คือทราบถึงโอกาสที่เป็นไปได้หรือทราบถึงความเปลี่ยนแปลงที่เป็นไปได้ที่สามารถเกิดขึ้นก่อนเกิดเหตุการณ์ (initial หรือ pre-test) จนถึงความเป็นไปได้ที่เหตุการณ์นั้นได้เกิดขึ้นจริงๆแล้ว (final หรือ post-test)

กฎของเบย์ใช้ในการอธิบายผลการตรวจพิสูจน์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอ โดยวิธีทางครุทวิทยาได้ดังนี้

ความน่าจะเป็น (odds form) ตาม Bayes' Throrem คือ

$$\Pr(E/A) = \frac{\Pr(E \text{ and } A)}{\Pr(A)} = \frac{\Pr(A/E) \Pr(E)}{\Pr(A)} \quad \text{และ}$$

$$\Pr(A)$$

$$\Pr(\bar{E}/A) = \frac{\Pr(\bar{E} \text{ and } A)}{\Pr(A)} = \frac{\Pr(A/\bar{E}) \Pr(\bar{E})}{\Pr(A)}$$

$$\Pr(A)$$

จะได้ $\frac{\Pr(E/A)}{\Pr(\bar{E}/A)} = \frac{\Pr(A/E)}{\Pr(A/\bar{E})} \times \frac{\Pr(E)}{\Pr(\bar{E})}$

$$\Pr(\bar{E}/A)$$

จากสมการดังกล่าว จะได้ว่า ค่า posterior odds มีค่าเท่ากับ

$$\text{Prior odds} \left(\frac{\Pr(E)}{\Pr(\bar{E})} \right) \times \text{likelihood ratio} \left(\frac{\Pr(A/E)}{\Pr(A/\bar{E})} \right) \quad (\text{Huston, 1998})$$

$$\Pr(\bar{E})$$

$$\Pr(A/\bar{E})$$

ค่า Prior odds เป็นอัตราส่วนของความน่าจะเป็นของดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยส่วนความน่าจะเป็นของดีเอ็นเอของบุคคลอื่น (ก่อนใช้ผลตรวจดีเอ็นเอเข้ามาพิจารณา) แทนด้วย $H_0: H_1$ สามารถหาค่า Prior probability ได้จากอัตราส่วนของโอกาสที่จะใช้ดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยหรือของตัวอย่างส่วนด้วยโอกาสที่เป็นไปได้ทั้งหมด

ค่า Posterior odds เป็นอัตราส่วนความน่าจะเป็นที่ดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยจะเหมือนกับดีเอ็นเอที่พบในที่เกิดเหตุหรือดีเอ็นเอของตัวอย่างที่มี (หลังใช้ผลตรวจดีเอ็นเอเข้ามาพิจารณา)

ค่า Posterior probability เป็นค่าสถิติตัวที่จะบอกว่าโอกาสที่จะเป็นไปตามที่คาดไว้หรือโอกาสถูกเป็นเท่าไร ซึ่งจะขึ้นอยู่กับค่า Likelihood ratio และ Prior probability

$$\text{Posterior probability} = \frac{\text{Likelihood ratio}}{\text{Likelihood ratio} + (1/\text{Prior probability}) - 1}$$

Likelihood ratio (LR) เป็นอัตราส่วนของความน่าจะเป็นของสองเหตุการณ์ คือ ความน่าจะเป็นของดีเอ็นเอจากตัวอย่างกับดีเอ็นเอที่พบในที่เกิดเหตุมาจากที่เดียวกันส่วนความน่าจะเป็นของดีเอ็นเอจากตัวอย่างกับดีเอ็นเอที่พบในที่เกิดเหตุมาจากที่ต่างกันซึ่งนำไปใช้ในกรณีต่างๆ ได้แก่

ก. ใช้ในกรณีของ ค่า match probability (PM)

โดยทั่วไปแล้วนักสถิติและนักวิทยาศาสตร์ผู้ทำงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ ของต่างประเทศมักใช้ค่า Likelihood ratio มากกว่าค่า match probability เนื่องจากแปลผลง่ายและ เข้าใจกว่า ซึ่ง ค่า Likelihood ratio (LR) = 1/match probability

$$\text{จะได้ค่า posterior odds} = \text{Prior odds} \times 1/\text{PM}$$

ตัวอย่างเช่น ถ้าค่า Prior odds มีค่าเท่ากับ 1:1 แสดงว่าอัตราส่วนของโอกาสที่จะเป็นดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยเป็น 1 ส่วนด้วยโอกาสที่จะไม่ใช่ดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยเป็น 1 และ ค่า PM = 0.00001 แสดงว่า LR มีค่า $1/0.00001 = 100,000$ จะได้ค่า posterior odds = $1/2 \times 1000 = 500 : 1$ หมายความว่าใน 500 คน จะมีโอกาสพบดีเอ็นเอที่เหมือนกับดีเอ็นเอในที่เกิดเหตุหรือดีเอ็นเอของตัวอย่างที่มี 1 คน ค่า prior probability มีค่าเท่ากับ 1/2 หรือ 50% ส่วนค่า posterior probability คำนวณจาก $\text{likelihood ratio} / (\text{likelihood ratio} + 1) = 100,000/100,001 = 0.99999$ แสดงว่าเมื่อมีคำถามว่าดีเอ็นเอที่พบในที่เกิดเหตุเป็นดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยหรือไม่ เมื่อตรวจดีเอ็นเอทุกตำแหน่งแล้วตรงกัน ตอบว่าโอกาสที่จะใช่ดีเอ็นเอของผู้ต้องสงสัยเป็น 0.99999 หรือ 99.999% และมีโอกาสผิดพลาดน้อยกว่า 0.00001 หรือ 1/100000 คนนั่นเอง

ข. ใช้ในกรณีของค่า Paternity Index (PI)

ค่า PI นี้จะใช้คำนวณในกรณีที่มีการแปลผลด้วยวิธีอื่นไม่อาจถูกคัดออกได้อาจ โดยใช้ blood-group enzyme และ DNA evidence และมีประโยชน์อย่างยิ่งในการตรวจพิสูจน์ศพ ในกรณีของสึนามิเพราะ ไม่เพียงจะเปรียบเทียบดีเอ็นเอของศพกับสิ่งต่างๆที่เป็นของผู้เสียชีวิตอย่าง เดียวแต่ยังต้องใช้ในการเปรียบเทียบดีเอ็นเอจากญาติสายตรง ซึ่งไม่สามารถนำค่า Match probability มาใช้ได้ เพราะการเปรียบเทียบ โดยใช้ญาติพี่น้องเป็นการเปรียบเทียบเพื่อระบุว่าศพนั้นเป็นลูกหรือ พ่อหรือแม่ของผู้ที่นำมาเปรียบเทียบ ดังนั้นการคำนวณค่า Likelihood ratio จึงแตกต่างจากการหา จาก Match probability โดยในกรณีนี้ ค่า Likelihood ratio จะเท่ากับค่า Paternity Index

จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าจะมีการคำนวณค่า PI ได้จากหลายกรณีในการตรวจ พิสูจน์ศพในเหตุการณ์สึนามิก็เช่นกันสามารถปรับใช้สูตรดังกล่าวแล้วแต่กรณีไป ตัวอย่างเช่น มีผู้

มาตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ 3 คน คือ ชาย 1 คน หญิง 1 คน มาตรวจกับเด็ก 1 คน ต้องการพิสูจน์ว่าชายหญิงนั้นเป็นพ่อแม่เด็กหรือไม่ ผลดีเอ็นเอปรากฏดังนี้

ตำแหน่งดีเอ็นเอ	ชาย	เด็ก	หญิง	ค่า PI
A	5/5	5/5	5/6	$1/2P(5)$
B	6/6	6/6	6/6	$1/P(7)^2$
C	7/8	7/7	7/7	$1/2P(7)^2$
D	11/12	11/12	11/11,11/12,12/12	$1/4P(11)P(12)$
E	9/10	10/12	12/12	$1/4P(10)P(12)$

โดยทั่วไปในการพิสูจน์บุตรค่า Prior odds ที่ใช้จะเป็นโอกาสที่จะใช่ (H_1) : โอกาสที่จะไม่ใช่ (H_0) = 1:1 จะได้ค่า prior probability เท่ากับ 1/2 แต่ถ้าใช้ในกรณีของบุคคลสูญหายในเหตุการณ์สึนามิที่มีคนเสียชีวิตจำนวนมากจะต้องมีการคำนวณค่า prior probability โดยพิจารณาจำนวนศพผู้เสียชีวิตทั้งหมด เช่น หากในเหตุการณ์คาดว่ามีผู้เสียชีวิตจำนวน 8,000 คน หากจะค้นหาศพหนึ่งๆ ให้แก่ญาติผู้เสียชีวิตโอกาสที่จะค้นถูกจะเป็น 1/8,000 ดังนั้นค่า prior probability = 1/8,000 จากนั้นนำไปหาค่า Posterior probability ซึ่งเป็นค่าสถิติตัวที่จะบอกว่าโอกาสการส่งศพนั้นถูกเป็นเท่าไร

ในการพิสูจน์ศพผู้เสียชีวิตจำนวนมากซึ่งจำเป็นต้องส่งมอบศพโดยไม่ให้เกิดข้อผิดพลาด ก่อนจะปล่อยศพจำเป็นต้องคำนวณค่า Posterior probability เช่น กรณีมีศพจำนวน 10,000 ศพในเหตุการณ์สึนามิใช้ค่า Posterior probability > 99.99% หรือ 0.9999 เพราะโอกาสผิดพลาดจะน้อยกว่า 0.0001 หรือ น้อยกว่า 1/10,000 หมายความว่าหากปล่อยศพจำนวน 10,000 ศพ จะมีโอกาสผิดพลาดในการปล่อยศพน้อยกว่า 1 ศพ

2.6 การนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ในคดีอาญาของไทย

ปัจจุบันการนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้เป็นพยานหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อพิสูจน์ความบริสุทธิ์ของบุคคลมีความสำคัญและน่าสนใจอย่างยิ่งแต่ในกระบวนการยุติธรรมกฎหมายที่นำมารองรับเทคโนโลยียังมีความแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศและในหลายประเทศมีรูปแบบที่ไม่แน่นอนตายตัว ประเทศที่มีการนำเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ในกระบวนการยุติธรรม ได้แก่ อังกฤษซึ่งเป็นประเทศแรกที่น่าลายพิมพ์ดีเอ็นเอของมนุษย์มาใช้ตรวจสอบความเกี่ยวพันระหว่างบุคคลในปี 1983 สหรัฐอเมริกา ศาลได้ให้การยอมรับว่าสามารถนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอไปใช้เป็นประจักษ์พยานในการพิสูจน์บุคคลเพราะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่มีความน่าเชื่อถือแต่ศาลยังมีการพัฒนากฎหมายพิจารณาความอาญา โดยเน้นความสำคัญในการคุ้มครองสิทธิขั้นพื้นฐานของ

ประชาชนเป็นหลัก ดังนั้นการได้สิ่งส่งตรวจที่เป็นการละเมิดสิทธิส่วนบุคคลอาจใช้ดุลพินิจในการไม่รับฟังพยานหลักฐานได้ ซึ่งแล้วแต่กรณีเห็นสมควรของศาลนั้นๆ ดังเช่นในคดีของนายโอ เจ ซิมป์สัน เป็นต้น สำหรับประเทศ แคนาดา ออสเตรเลีย และนิวซีแลนด์ เป็นประเทศที่นำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้เป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการยุติธรรมเช่นกันแต่มีความแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศตามบรรทัดฐานของกฎหมายที่ใช้

สำหรับการนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้เป็นพยานหลักฐานในคดีอาญาของประเทศไทย ต้องประสบปัญหาในมากมาย เนื่องจากเทคโนโลยีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพิ่งเป็นที่ยอมรับและรู้จักเมื่อไม่นานนี้ การให้ศาลรับฟังและเชื่อถือในผลตรวจพิสูจน์จึงต้องให้ความสำคัญกับส่วนประกอบต่างๆ ดังนี้

2.6.1 วิธีการได้มาซึ่งหลักฐานทางชีวภาพ ได้แก่ สิ่งส่งตรวจพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ วิธีการได้มาซึ่งหลักฐานทางชีวภาพ ได้แก่ สิ่งส่งตรวจพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอต่างๆ การเก็บรวบรวมพยานหลักฐานอันเป็นสิ่งส่งตรวจและการแสวงหาสิ่งส่งตรวจพิสูจน์จากผู้ต้องหา หรือผู้ที่เกี่ยวข้อง เพื่อเปรียบเทียบกับลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากสถานที่เกิดเหตุ เป็นต้น

2.6.2 คุณสมบัติของพยานผู้เชี่ยวชาญในการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ ในส่วนของคดีอาญา เรียกว่า ผู้ชำนาญการพิเศษ ซึ่งในส่วนนี้ไม่ค่อยพบปัญหามากนักเนื่องจากผู้ทำหน้าที่ตรวจพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ย่อมมีคุณสมบัติและประสบการณ์ที่เพียงพออยู่แล้ว

2.6.3 การยอมรับทฤษฎีทางวิทยาศาสตร์ ปัจจุบันทฤษฎีเกี่ยวกับการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ เป็นที่ยอมรับกัน โดยทั่วไปในหมู่นักวิทยาศาสตร์ว่ามีความถูกต้องรวมถึงประเทศไทยด้วย จึงไม่ค่อยมีปัญหามากนักในเรื่องนี้

2.6.4 มาตรฐานการทดลองทางห้องปฏิบัติการและวิธีการคำนวณความน่าจะเป็นทางสถิติ จะพบว่าเป็นปัญหาในทุกประเทศ ตัวอย่างจากบรรทัดฐานคำพิพากษาของศาลเกี่ยวกับปัญหาการคำนวณความน่าจะเป็นทางสถิติในประเทศอังกฤษและสหรัฐอเมริกา มีการโต้แย้งกันอยู่เสมอ โดยในส่วนของทฤษฎีพื้นฐานและเทคนิคการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ นั้น The Office of Technology Assessment of the United States Congress (OTA) และ The National Research Council (NRC) ได้ลงนามร่วมกันในการให้ความรับรองถึงความน่าเชื่อถือดังกล่าว แต่ในส่วนของการนำวิธีการคำนวณความน่าจะเป็นทางสถิติในโอกาสที่คนจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกัน โดยบังเอิญมาใช้ในการแปลผลตรวจพิสูจน์นั้นยังต้องให้ความสำคัญในการต่อพิจารณาในด้านความน่าเชื่อถือของการนำวิธีการคำนวณความน่าจะเป็นทางสถิติมาปรับใช้กับการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอให้มากขึ้น ส่วนในระบบการพิจารณาความของไทย หากมีการนำสืบพยานหลักฐานจากการพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ศาลจะให้ความเชื่อถือพยานหลักฐานดังกล่าวในระดับใดจึงขึ้นอยู่กับดุลพินิจเนื่องจากยัง

ไม่เคยมีแนวคำพิพากษาวางบรรทัดฐานมาก่อน นักวิชาการในประเทศไทยบางท่านให้ความเห็นไว้ดังนี้ ดร.จิรนิติ หะวานนท์ แสดงความเห็นว่ายานหลักฐานจากการพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ นั้นถือว่ามีความน่าเชื่อถือ ส่วนจะเชื่อถือมากน้อยเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับ การนำสืบพยานผู้เชี่ยวชาญเกี่ยวกับโอกาสของความผิดพลาดที่บุคคลจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอซ้ำกัน โดยบังเอิญว่าอยู่ในระดับใด อาจารย์รัล ภักดีธนากุล เห็นว่าในปัจจุบันพยานหลักฐานจากการพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีความน่าเชื่อถือมาก แต่ไม่ควรถึงขนาดร้อยเปอร์เซ็นต์ ซึ่งต้องพิจารณาตามพฤติการณ์แห่งคดีเป็นคดีๆ ไป ในขณะที่เดียวกันก็ไม่ควรที่จะวางกฎเกณฑ์เป็นการตายตัวว่าการพิจารณาชี้หน้าพยานหลักฐานจากการพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จะต้องมิพยานหลักฐานประกอบ เพราะการนำหลักในเรื่องพยานหลักฐานประกอบมาเป็นข้อพิจารณา ร่วมในการชี้หน้าพยานหลักฐานนั้นมักจะใช้ในกรณีที่พยานหลักฐานมีข้อบกพร่อง แต่ในกรณีของการพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ยังไม่ปรากฏว่าเป็นพยานหลักฐานที่มีข้อบกพร่องแต่อย่างใด (รุ่งระวี, 2539) จากข้อคิดเห็นของนักวิชาการและการพัฒนาของเทคโนโลยีจึงคาดว่าในอนาคตศาลไทยต้องให้ความสำคัญกับความน่าจะเป็นทางสถิติในการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอมากขึ้นเพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือและบอกที่มาที่ไปของผลตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอได้ชัดเจนที่สุด

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาความถี่ของยีนและค่าทางสถิติ

สำหรับประเทศไทยในช่วงแรกได้มีการศึกษาข้อมูลประชากรจาก 8 STR loci ของคนไทยในตำแหน่ง CSF1PO, TPOX, TH01, F13A01, F13B, LPL และ vWA โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 200 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด พบว่าทุกตำแหน่งเป็นไปตามกฎของ Hardy-Weinberg ($P > 0.05$) และค่า combined discrimination power และ combined power of exclusion ของทั้ง 8 ตำแหน่งมีค่าเท่ากับ 0.9999995 และ 0.9911 ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นตัวแทนของประชากรเพื่อนำไปใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลและความเป็นพ่อแม่ (Sueblinvong และคณะ, 1999) การกระจายของอัลลีลทั้ง 8 ตำแหน่งดังกล่าว พบว่าบางตำแหน่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) และบางตำแหน่งมีความคล้ายกัน ($P > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับญี่ปุ่น (Brinkmann และคณะ, 1996) จีนที่อาศัยในไต้หวัน (Chun-I Lee และคณะ, 1997) UK Caucasian (Lareu และคณะ, 1994), ออสเตรีย (Neuhuber และคณะ, 1997) สเปน (Martin และคณะ, 1995) Caucasian-American และ African-American (Lins และคณะ, 1996) ส่วนผลจากการศึกษาเปรียบเทียบ heterozygosity ของแต่ละ loci ของคนไทยกับ ไต้หวัน Caucasian-American และ African-American พบว่า ที่ตำแหน่ง TPOX F13B และ LPL ไม่มีความหลากหลายสูงเท่าประชากรกลุ่มนี้ ต่อมามีการพัฒนาชุดตรวจสอบให้สามารถตรวจสอบตำแหน่งอื่นได้เพิ่มขึ้นและได้มีการ

ศึกษาการกระจายตัวของยีนจาก 9 STR loci ได้แก่ D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 และ D7S820 โดยใช้ชุดตรวจสอบ AmpF/STR Profiler Plus kit ของประชากรไทยจำนวน 300 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด พบว่าทุกตำแหน่งมีความหลากหลายสูง (highly polymorphism) และสอดคล้องกับ Hardy-Weinberg equilibrium (Rerkamnuaychoke และคณะ, 2001) เหมือนกับรายงานที่พบในประเทศจีน (Lee และคณะ, 1997) เกาหลี (Park และคณะ, 1997) ออสเตรีย (Neuhuber และคณะ, 1997 และ Ambach และคณะ, 1997) โปรตุเกส (Santos และคณะ, 1996 และ Geada และคณะ, 2000) และสวิส คอเคเซียน (Gehrig และคณะ, 1999) และได้มีการศึกษาความถี่ของยีนในตำแหน่งใหม่เพิ่มขึ้น โดยทำการศึกษาจาก 9 STR loci ได้แก่ D3S1358, vWA, FGA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317 และ D7S820 ซึ่งใช้ชุดตรวจสอบ AmpF/STR Identifier kit กับประชากรไทยจำนวน 100 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด พบว่าสอดคล้องกับ Hardy-Weinberg equilibrium เช่นเดียวกับการศึกษาครั้งก่อน (Chantratita และคณะ, 2001) และให้ผลการศึกษาเหมือนกับประเทศจีน (Lee และคณะ, 1997) เกาหลี (Park และคณะ, 1997) ออสเตรีย (Neuhuber และคณะ, 1997 และ Ambach และคณะ, 1997) และ โปรตุเกส (Santos และคณะ, 1996)

มีการศึกษาค่าความถี่และค่าทางสถิติเพื่อใช้ในงานทางนิติเวชจาก 9 STR loci ของประชากรทางภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ ตำแหน่ง D3S1358 D5S818 D7S820 D8S1179 D13S317 TH01 vWA TPOX และ LPL จากประชากรทางจำนวน 545 คนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด โดยทุกตำแหน่งที่ทำการศึกษาเป็นไปตามกฎของ Hardy-Weinberg จากการศึกษาค่า discrimination power ในแต่ละ loci พบว่าที่ TPOX และ LPL มีค่าต่ำกว่าตำแหน่งอื่นๆ และจะมีค่าความถี่ของอัลลีลตำแหน่งหนึ่งสูงมาก เท่ากับ 0.583 และ 0.658 ตามลำดับ สำหรับค่า combined power of discrimination ของทั้ง 9 loci มีค่าเท่ากับ 0.9999999979 ซึ่งความเป็นไปได้ที่จะพบว่าประชากรจะมีดีเอ็นเอเหมือนกันเป็น 1 ใน 476,000,000 คน แต่เนื่องจากประชากรในประเทศไทยมีเพียง 60 ล้านคน ดังนั้นค่า power of discrimination จึงมีความเพียงพอเพื่อชี้เฉพาะในแต่ละบุคคล ส่วนค่า combined power of exclusion ของทั้ง 9 loci มีค่าเท่ากับ 0.99798 และค่า observed และ expected heterozygosity ที่ทำการศึกษามีความสอดคล้องกันจำนวน 6 loci จากทั้งหมด (Bhoopat และคณะ, 2006)

มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุศาสตร์จาก 9 STR loci ในประชากรชาวฟิลิปปินส์จำนวน 273 คนและชาวไทยจำนวน 146 คน ที่อาศัยอยู่ในได้หวัน ตำแหน่งที่ใช้ศึกษาได้แก่ ตำแหน่ง D3S1358 vWA FGA TH01 TPOX CSF1PO D5S818 D13S317 D7S820 โดยใช้ AmpF/STR Profiler Amplification kit พบว่าประชากรทั้งสองกลุ่มมีจำนวนอัลลีลทั้งหมด 73

แบบ ความถี่ของยีนไม่เบี่ยงเบนไปจากสมการของ Hardy-Weinberg ค่า mean exclusion power (MEP) ของชาวฟิลิปปินส์ อยู่ในช่วง 0.327 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 0.706 ของตำแหน่ง FGA ค่า discrimination power (DP) อยู่ในช่วง 0.790 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 0.963 ของตำแหน่ง FGA ส่วนของคนไทยค่า mean exclusion power (MEP) อยู่ในช่วง 0.247 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 0.723 ของตำแหน่ง FGA ค่า discrimination power (DP) อยู่ในช่วง 0.761 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 0.968 ของตำแหน่ง FGA และค่า combined MEP >0.9988 กับ combined DP >0.999999993 (Pu และคณะ, 1999) ในประชากรทั้งสองกลุ่ม เมื่อเปรียบเทียบประชากรสองกลุ่มนี้กับชาวจีนของไต้หวัน (Lee และคณะ, 1997) จะเห็นว่าที่ตำแหน่ง D3S1358 ประชากรสองกลุ่มที่ศึกษามีความถี่ของอัลลีลสูงสุดที่ความถี่แบบ 16 ส่วนของชาวจีนเป็น 15 ที่ตำแหน่ง FGA ประชากรของจีนและฟิลิปปินส์มีความถี่ของอัลลีลสูงสุดที่ความถี่แบบ 23 ส่วนของไทยคือ 22 และตำแหน่ง D5S818 และ D13S317 มีความแตกต่างกัน การกระจายความถี่ของยีนทุกตำแหน่งทั้ง 3 กลุ่มประชากรไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ค่า p value มากกว่า 0.05 ในตำแหน่ง vWA และ TH01 พบว่าการกระจายความถี่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเหมือนที่มีการศึกษาในประชากรทางภาคเหนือของประเทศไทย (Bhoopat และคณะ, 1997 และ Horst และคณะ, 1997) และประชากรฟิลิปปินส์จากกรุงมะนิลา

การศึกษาความถี่ของยีนและค่าทางสถิติเพื่อประโยชน์ในงานทางนิติวิทยาศาสตร์ที่ศึกษาจากประชากรเป็นกลุ่มๆ ในประเทศเดียวกัน มีรายงานดังนี้ ประเทศโปแลนด์ตอนเหนือซึ่งศึกษา 15 autosomal STR loci โดยใช้ชุด AmpFISTR Identifiler kit ของชาวโปแลนด์ตอนเหนือจำนวน 145 คนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด พบว่า มีค่า combined power of discrimination สูงกว่า 0.9999999999999999 ค่า combined power of exclusion สูงกว่า 0.99999 และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการกระจายของความถี่ยีนเมื่อเปรียบเทียบกับประชากรทางตะวันออกเฉียงใต้ของโปแลนด์ (Kozioł และคณะ, 2004) จากสาธารณรัฐกรีซ (Vanek และคณะ, 2001) และจากชนกลุ่มน้อยของบัลแกเรียที่อาศัยอยู่ทางตะวันออกเฉียงเหนือของโปแลนด์ จำนวนโดยใช้ Utility Programs for Analysis of Genetic Linkage Counting Version 2.81 ผลจากการศึกษาครั้งนี้สรุปว่าการใช้ AmpFISTR Identifiler PCR system เป็นเครื่องมือที่ใช้ตรวจสอบจะมีความหลากหลายสูงและนำไปใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลและทดสอบความเป็นพ่อแม่ของประชากรทางภาคเหนือของโปแลนด์ได้ (Szczerkowska และคณะ, 2004)

การศึกษารูปแบบดีเอ็นเอของประชากรตอนกลางของเวเนซุเอล่าที่อาศัยอยู่ในเมืองคาร์สกัส โดยใช้ 15 STR markers โดยใช้ชุด AmpFISTR Identifiler kit ตัวอย่างประชากรที่ใช้ครั้งนี้มาจากประชากรจากเมืองคาร์สกัสจำนวน 255 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด โดยจำนวน 206 คนมีบรรพบุรุษที่เกิดในเวเนซุเอล่า ส่วนอีก 49 คน ไม่ทราบที่มาของบรรพบุรุษ พบว่า

การกระจายความถี่ของจีโนไทป์ของทั้ง 15 ตำแหน่งที่ศึกษาเป็นไปตามกฎของ Hardy-Weinberg ค่า P มากกว่า 0.05 (Chiurillo และคณะ, 2003) เมื่อวิเคราะห์ค่าสมการถดถอย (regression analysis) เปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างที่ทำการศึกษา กับ 7 Markers ของเมืองมาแรคไซโบทางตะวันตกของ เวเนซุเอล่า (Pineda-Bemal และคณะ, 2002) 13 Markers ในบราซิล (Grattapaglia และคณะ, 2001) และ โคลัมเบีย (Vargas และคณะ, 2003) พบว่าไม่มีความเบี่ยงเบนอย่างมีนัยสำคัญ (R^2 range = 0.8279-0.9969) แต่เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลจาก ลูกครึ่ง US Hispanic (Budowle และคณะ, 1999 และ Budowle และคณะ, 2001) ซึ่งมี 15 STRs ที่เหมือนกันจะมีความเบี่ยงเบนของค่าความถี่ยีนใน ตำแหน่ง D13S317 ($R^2 = 0.7062$) และตำแหน่ง D2S1338 ($R^2 = 0.6319$) และข้อมูลจากประเทศ อาเจนติน่าซึ่งมี 13 STRs (Gangitano และคณะ, 2002) มีความเบี่ยงเบนเช่นกันที่ตำแหน่ง D13S317 ($R^2 = 0.7387$) สรุปได้ว่าการทดสอบด้วย 15 STRs นี้เป็นประโยชน์ในการทดสอบความเป็นพ่อแม่ และงานทางนิติวิทยาศาสตร์ของเมืองคาร์สกาส์ แต่ต้องคำนึงถึงกลุ่มคนที่ใช้ในการศึกษาและต้น กำเนิดของบรรพบุรุษ รวมทั้งผลที่มีความเบี่ยงเบนไปเล็กน้อยเมื่อเทียบกับของเมืองมาแรคไซโบดังกล่าวข้างต้นด้วย จากข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรทั้งหมดของเวเนซุเอล่า ได้

มีการศึกษาค่าความถี่ของยีน 15 AmpF/STR Identifier loci ของประชากร 3 กลุ่ม จาก จังหวัดควอจโวดิน่า เซอร์เบีย และมอนเตเนโกร จำนวน 100 คนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด พบว่ามีความสอดคล้องกับ Hardy Weinberg equilibrium (ทดสอบด้วย exact test และ X^2 - test) ยกเว้นตำแหน่งที่ D7S820 (ทดสอบด้วย X^2 - test) ค่า probability of match (PM) อยู่ในช่วง 0.034 ของตำแหน่ง D18S51 ถึง 0.253 ของตำแหน่ง TPOX ค่า power of discrimination (PD) มีค่ามากกว่า 0.747 ในทุกตำแหน่ง ค่า power of exclusion อยู่ในช่วง 0.291 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 0.836 ของ ตำแหน่ง D2S1338 ค่า combined power of discrimination เท่ากับ 0.9999999999999995 ค่า combined power of exclusion เท่ากับ 0.9999990 และผลจากการคำนวณค่า heterozygosity และ ค่า polymorphic information content ตำแหน่ง D2S1338 และตำแหน่ง D18S51 จะมีค่าสูงสุด (Veselinovic และคณะ, 2003) สรุปได้ว่าการศึกษาค่าความถี่ยีนและค่าทางสถิติต่างๆ โดยใช้การตรวจสอบด้วย AmpF/STR Identifier system เพื่องานทางนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศเซอร์เบียมี ประสิทธิภาพเพียงพอและใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลและความเป็นพ่อแม่ได้ดี

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

3.1.1 ตัวอย่างที่นำมาสกัดดีเอ็นเอได้จากของกลางที่ถูกส่งมาตรวจพิสูจน์ที่สำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจ สำนักงานตำรวจแห่งชาติ ได้แก่ เส้นผม เส้นขน จำนวน 50 ตัวอย่าง เยื่อหูข้างแก้ม จำนวน 56 ตัวอย่าง คราบเลือด จำนวน 82 ตัวอย่าง คราบอสุจิ จำนวน 25 ตัวอย่าง และก้นบุหรี่ จำนวน 45 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 258 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างทั้งหมดได้จากคนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของประชากรไทย

3.1.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอของ QIAamp DNA Mini Kits ได้แก่

- 1) Proteinase K
- 2) Buffer AW1
- 3) Buffer AW2
- 4) Buffer AE (10mM Tris-Cl; 0.5mM EDTA; pH 9.0)
- 5) Buffer AL
- 6) PBS (phosphate-buffered saline)
- 7) Ethanol 95-100%

3.1.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอของ DNA IQ™ System ได้แก่

- 1) Lysis Buffer
- 2) 2x Wash Buffer
- 3) Elution Buffer
- 4) Ethanol 95-100%
- 5) 1M DTT
- 6) Proteinase K
- 7) Incubation Buffer
- 8) Isopropanol

3.1.2.3 สารเคมีที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์ ของ AmpF/STR Identifiler™ PCR Amplification kit

- 1) AmpF/STR PCR Reaction Mix
- 2) AmpF/STR Identifiler™ Primer Set
- 3) Ampli Tag Gold DNA Polymerase

3.1.2.4 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer ได้แก่

- 1) AmpF/STR Control DNA 9947A
- 2) Formamide
- 3) GeneScan™-500LIZ™ size standard หรือ GS-500
- 4) AmpF/STR Identifiler™ Allelic Ladder

3.2 วิธีการวิจัย

3.2.1 การศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของประชากรไทย

3.2.1.1 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างของกลางโดยใช้ชุดสารเคมีของ QIAamp DNA Mini Kits ได้แก่

- 1) การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นผม เส้นขน

นำรากผมหรือขนประมาณ 5 เส้น ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml เติม buffer ATL 180 μ l และ Proteinase K 20 μ l spin down นำไป incubate 56°C เป็นเวลา 1 ชม. จากนั้นเติม buffer AL 200 μ l incubate 70°C เป็นเวลา 10 นาที และ spin down เติม ethanol 200 μ l แล้วนำไป spin down อีกครั้ง หลังจากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดโดยใช้ tip ที่มี filter ใส่ใน spin column ซึ่งซ่อนใน collection tube ขนาด 2 ml (มาพร้อมกับชุด kits) แล้วปั่นด้วยความเร็ว 6,000xg เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง collection tube จากนั้นนำ spin column ที่ซ่อนใน collection tube ขนาด 2 ml อันใหม่เติมด้วย buffer AW1 500 μ l แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 6,000xg เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง collection tube เดิม แล้วนำ collection tube อันใหม่มาแทนที่ หลังจากนั้นเติม buffer AW2 500 μ l แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 20,000xg เป็นเวลา 3 นาที ย้าย spin column เดิมนี้วางใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml อันใหม่ ส่วน collection tube เดิมทิ้งไป เติม AE buffer 150 μ l ใน spin column แล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที แล้วปั่นด้วยความเร็ว 6,000 g เป็นเวลา 1 นาที

2) การสกัดดีเอ็นเอจากเยื่อรูปร่างแก้ว

ตัดลำลึที่ ทำการเช็ดจากเยื่อรูปร่างแก้ว ทั้งสองข้างใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml แล้วเติม PBS จำนวน 400 μ l proteinase K จำนวน 20 μ l และ buffer AL จำนวน 400 μ l จากนั้นนำไป vortex ประมาณ 15 วินาที incubate ที่ 56°C เป็นเวลา 10 นาที แล้ว spin down หลังจากนั้นนำ microcentrifuge tube ดังกล่าวมาเจาะรูที่ก้นแล้วซ้อนด้วย microcentrifuge tube อันใหม่ นำไปปั่นด้วยความเร็ว 6,000xg เป็นเวลา 8 นาที เพื่อนำเศษลำลึออก นำ microcentrifuge tube ที่เจาะรูซึ่งมีเศษลำลึออกทิ้งไป เอาของเหลวที่ได้มาเติม ethanol จำนวน 400 μ l นำไป spin down คุณสารละลายทั้งหมดโดยใช้ tip ที่มี filter ใส่ใน spin column ที่ซ้อนใน collection tube ขนาด 2 ml เติมด้วย buffer AW1 500 μ l แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 6,000xg เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง collection tube เติม แล้วนำ collection tube อันใหม่มาแทนที่ หลังจากนั้นเติม buffer AW2 500 μ l แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 20,000xg เป็นเวลา 3 นาที ย้าย spin column เติมนั้นวางใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml อันใหม่ ส่วน collection tube เติมทิ้งไป เติม AE buffer 150 μ l ใน spin column แล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที แล้วปั่นด้วยความเร็ว 6,000 g เป็นเวลา 1 นาที

3) การสกัดดีเอ็นเอจากคราบเลือด

ตัดผ้าที่มีคราบเลือดติดอยู่ขนาด 3x3 มม. จำนวน 1 ชิ้นใส่ลงใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml เติม Buffer ATL จำนวน 180 μ l นำไป incubate ที่ 85 C เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติม proteinase K จำนวน 20 μ l vortex และ incubate ที่ 56 C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เสร็จแล้ว spin down แล้วเติม buffer AL จำนวน 200 μ l spin down อีกครั้งแล้วนำไป incubate ที่ 70 C เป็นเวลา 10 นาที spin down อีกครั้งหนึ่ง เติม absolute ethanol จำนวน 200 μ l แล้ว spin down คุณสารละลายทั้งหมดโดยใช้ tip ที่มี filter ใส่ใน Spin Column ที่ซ้อนใน collection tube ขนาด 2 ml เติมด้วย buffer AW1 500 μ l แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 6,000xg เป็นเวลา 1 นาที ทิ้ง collection tube เติม แล้วนำ collection tube อันใหม่มาแทนที่ หลังจากนั้นเติม buffer AW2 500 μ l แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 20,000xg เป็นเวลา 3 นาที ย้าย spin column เติมนั้นวางใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml อันใหม่ ส่วน collection tube เติมทิ้งไป เติม AE buffer 150 μ l ใน spin column แล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที แล้วปั่นด้วยความเร็ว 6,000 g เป็นเวลา 1 นาที

4) การสกัดดีเอ็นเอจากก้นบุหรี่

ตัดกระดาษบริเวณก้นกรองบุหรี่บริเวณที่สัมผัสกับริมฝีปากใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml แล้วทำตามวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากเยื่อรูปร่างแก้ว

3.2.1.2 การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างของกลางโดยใช้ชุดสารเคมีของ DNA IQ™ System ได้แก่

1) การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นผม เส้นขน

ตัดปลายรากผม ประมาณ 5 เส้นใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml. เติม 50 µl ของ incubation buffer/proteinaseK solution/DTT อัตราส่วน 8:1:1 และ incubate 56°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติม lysis buffer จำนวน 100 µl และใส่ resin จำนวน 7 µl แล้ว vortex เป็นเวลา 3 วินาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 3 วินาที แล้วนำไปวางบน magnetic stand จากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดออกทิ้งไป เติม lysis buffer จำนวน 100 µl ลงใน tube เติมแล้วนำไป vortex เป็นเวลา 2 วินาที นำ tube วางบน magnetic stand อีกครั้งแล้วดูด lysis buffer ออกให้หมด เติม wash buffer 100 µl แล้ว vortex เป็นเวลา 3 วินาที นำ tube วางบน magnetic stand แล้วดูด wash buffer ออกให้หมด ขั้นตอนตรงนี้ทำซ้ำกัน 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 3 เปิดฝาแห้งบน magnetic stand ประมาณ 5 นาที เติม elution buffer 50 µl แล้ว vortex เป็นเวลา 2 วินาที และ incubate ที่ 65°C เป็นเวลา 5 นาที นำไป vortex เป็นเวลา 3 วินาที แล้วนำไปวางบน magnetic stand ทิ้งที่ ดูด DNA solution ใส่ microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml

2) การสกัดดีเอ็นเอจากเยื่อข้างแก้ว

ตัดลำไส้ส่วนที่มีเยื่อข้างแก้วมาใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml เติม prepared lysis buffer จำนวน 200 µl และ incubate ที่ 95°C เป็นเวลา 30 นาที ย้ายสารทั้งหมดใส่ spin basket ซึ่งวางอยู่บน microcentrifuge tube อันใหม่ ปั่นด้วยความเร็ว 8,000 รอบต่อ นาที เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำ spin basket ออกไปที่ทิ้ง เติม resin จำนวน 7 µl แล้ว vortex เป็นเวลา 3 วินาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 3 วินาที แล้วเมื่อนำไปวางบน magnetic stand จากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดออกทิ้งไป เติม prepared lysis buffer จำนวน 100 µl ลงใน tube เติมแล้วนำไป vortex เป็นเวลา 2 วินาที นำ tube วางบน magnetic stand อีกครั้ง แล้วดูด lysis buffer ออกให้หมด เติม wash buffer 100 µl แล้ว vortex เป็นเวลา 3 วินาที นำ tube วางบน magnetic stand แล้วดูด wash buffer ออกให้หมด ขั้นตอนตรงนี้ทำซ้ำกัน 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 3 เปิดฝาแห้งบน magnetic stand ประมาณ 5 นาที เติม elution buffer 50 µl แล้ว vortex เป็นเวลา 2 วินาที และ incubate ที่ 65°C เป็นเวลา 5 นาที นำไป vortex เป็นเวลา 3 วินาที แล้วนำไปวางบน magnetic stand ทิ้งที่ ดูด DNA solution ใส่ microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml

3) การสกัดดีเอ็นเอจากคราบอสุจิ

ตัดเศษผ้าที่มีคราบอสุจิ ขนาดประมาณ 3x3 มม. ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml เติม 100 µl ของ incubation buffer/PK solution/DTT และ

incubate 56°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เติม lysis buffer จำนวน 200 μ l ข้ายเศษผ้าและของเหลวทั้งหมด ใส่ spin basket ซึ่งวางอยู่บน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml อันใหม่ ปั่นด้วยความเร็ว 8,000 รอบ เป็นเวลา 2 นาที แล้วนำ spin basket ออก และใส่ resin จำนวน 7 μ l แล้ว vortex เป็นเวลา 3 วินาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไป vortex เป็นเวลา 3 วินาที แล้วเมื่อนำไปวางบน magnetic stand จากนั้นดูดสารละลายทั้งหมดออกทิ้งไป เติม prepared lysis buffer จำนวน 100 μ l ลงใน tube เติมแล้วนำไป vortex เป็นเวลา 2 วินาที นำ tube วางบน magnetic stand อีกครั้งแล้วดูด lysis buffer ออกให้หมด เติม wash buffer 100 μ l แล้ว vortex เป็นเวลา 3 วินาที นำ tube วางบน magnetic stand แล้วดูด wash buffer ออกให้หมด ขั้นตอนตรงนี้ทำซ้ำกัน 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 3 เปิดฝาแท่งบน magnetic stand ประมาณ 5 นาที เติม elution buffer 50 μ l แล้ว vortex เป็นเวลา 2 วินาที และ incubate ที่ 65°C เป็นเวลา 5 นาที นำไป vortex เป็นเวลา 3 วินาที แล้วนำไปวางบน magnetic stand ทันที ดูด DNA solution ใส่ microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml

4) การสกัดดีเอ็นเอจากก้นบุหรี่

ตัดกระดาษบริเวณก้นกรองบุหรี่บริเวณที่สัมผัสกับริมฝีปากขนาด 3x3 มม. ใส่ใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 ml แล้วทำตามวิธีการสกัดดีเอ็นเอจากเยื่อข้างแก้ม

3.2.1.3 การศึกษาสายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์

เตรียม master mix โดยปีเปิดสารต่างๆ ตามปริมาณ ดังนี้

- 1) จำนวนตัวอย่าง x 10.5 μ l ของ reaction mix
- 2) จำนวนตัวอย่าง x 0.5 μ l ของ Ampli Tag Gold
- 3) จำนวนตัวอย่าง x 5.5 μ l ของ primer

นำ mater mix ใส่ใน PCR tube ขนาด 0.2 ml หลอดละ 15 μ l และเติม DNA template จำนวน 10 μ l ปีเปิดขึ้นลงเพื่อผสมสาร และนำไป spin down

นำ PCR tube ที่ได้ลงเครื่อง Thermal Cycler โดยตั้งโปรแกรม ดังนี้

Pre-heat	ที่	95°C	11 นาที
Denature	ที่	94°C	1 นาที
Annealing	ที่	59°C	1 นาที
Extention	ที่	72°C	1 นาที

โดยเครื่องจะทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอตามโปรแกรมจนครบ 28 รอบ และเมื่อครบแล้วจะคงอุณหภูมิที่ 60°C เป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นเก็บผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ไว้ที่ 4°C และเตรียมสารเพื่อการวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่ทำการเพิ่มปริมาณแล้วด้วยเครื่อง ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer โดยเตรียมจาก

- 1) จำนวนตัวอย่าง x 24 μ l ของ Formamide
- 2) จำนวนตัวอย่าง x 1 μ l ของ GeneScan™-500LIZ™ size standard

นำไป vortex และ spin down ก่อนแบ่งสารที่เตรียมใส่ sample tube ขนาด 0.5 ml หลอดละ 25 μ l เติม allelic ladder ในหลอดที่ 1 จำนวน 2 μ l ส่วนหลอดที่เหลือเติมผลผลิตพีซีอาร์ จำนวน 1.5 μ l ปิดฝาด้วย Septa แล้วนำไปใส่ใน heating box 95°C เป็นเวลา 3 นาที และนำไปแช่แข็งทันทีเป็นเวลา 3 นาที นำไปใส่ sample tray ของเครื่อง ABI PRISM™310 Genetic Analyzer เก็บข้อมูลแล้ววิเคราะห์ผลด้วย software ดังนี้

- 1) Data collection software
- 2) Gene scan analysis software
- 3) Genotyper software

3.2.2 การศึกษาความถี่ของยีนและคำนวณค่าทางสถิติ

หลังจากทำการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างของกลาง จำนวน 258 คน ที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดและนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ABI PRISM™310 Genetic Analyzer แล้วนำผลการวิเคราะห์ในรูปของอิเล็กโทรฟีโรแกรมมารวบรวมเป็น DNA Profile จำนวน 16 ตำแหน่ง (ผนวก ก) และนำ DNA Profile ทั้งหมดมาหาค่าความถี่ของยีนและค่าทางสถิติต่างๆ ได้แก่

3.2.2.1 ค่า expected heterozygosity (H_{exp}) เป็นค่าที่คำนวณจากค่าที่ได้ตามทฤษฎีของกลุ่มประชากรทั้งหมดที่น่าจะมีอัลลีลแบบ Heterozygous จาก 15 ตำแหน่ง

$$H_{exp} = \sum (\text{ความถี่ของแต่ละอัลลีลในแต่ละโลกัส} / \text{จำนวนตัวอย่างทั้งหมด} \times 2)^2$$

3.2.2.2 ค่า observed heterozygosity (H_{obs}) เป็นค่าที่คำนวณจากค่าที่ได้จากการทดลองของกลุ่มประชากรทั้งหมดที่มีอัลลีลแบบ Heterozygous จาก 15 ตำแหน่ง

$$H_{obs} = \sum (\text{ความถี่ของแต่ละ genotype แบบ heterozygous ของแต่ละโลกัส} / \text{จำนวนตัวอย่างทั้งหมด})$$

3.2.2.3 ค่า probability of a match (PM) หรือเรียกว่า probability of non-discrimination เป็นค่าความน่าจะเป็นที่คน 2 คนในกลุ่มประชากรเดียวกันจะมี genotype เหมือนกันในโลกัสเดียวกัน

$PM = \sum_{i=1}^n (P_i)^2$ หรือ เท่ากับ 1-PD โดย P_i คือ ค่าความถี่ของแต่ละ phenotype (Aitken et al, 2004)

3.2.2.4 ค่า power of discrimination (PD) เป็นค่าความน่าจะเป็นที่คน 2 คน ในกลุ่มประชากรเดียวกันจะมี genotype ต่างกันในโลกัสเดียวกัน

$$PD = 1 - \sum_{i=1}^n (P_i)^2 \quad \text{โดย } P_i \text{ คือ ค่าความถี่ของแต่ละ phenotype (Aitken et al, 2004)}$$

3.2.2.5 ค่า power of exclusion (PE) เป็นค่ากำลังการคัดออก ในการคัดคนที่ไม่ใช่พ่อหรือแม่ออกไปในกรณีของการพิสูจน์บุตร เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของการตรวจในการพิสูจน์พ่อ-แม่-ลูก

$$PE = h^2(1 - 2 \times h \times H^2)$$

H คือ ค่าความถี่ homozygote, h คือ ความถี่ของ heterozygote

3.2.2.6 ค่า polymorphism information content (PIC) เป็นค่าที่แสดงความหลากหลายของยีนที่มีในแต่ละตำแหน่งที่ทำการศึกษา

$$PIC = 1 - \sum_{i=a}^n \sum_{j=b}^n P_{ij}^2 - \left(\left(\sum_{i=a}^n \sum_{j=b}^n P_{ij}^2 \right)^2 + \sum_{i=a}^n \sum_{j=b}^n P_{ij}^4 \right)$$

3.2.2.7 ค่า Typical Paternity Index (PI_{Typical}) เป็นตัวแทนที่บ่งบอกถึงดัชนีความ
เป็นพ่อ

$$PI_{\text{Typical}} = (H + h) / 2H = 1 / 2H$$

3.2.2.8 ค่า Combined power of discrimination เป็นผลรวมของค่า PD ทุกตำแหน่งที่ทำการศึกษา

$$\text{Combined PD} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - PD_i)$$

3.2.2.9 ค่า Combined power of exclusion เป็นผลรวมของค่า PE ทุกตำแหน่งที่ทำการศึกษา

$$\text{Combined PE} = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - PE_i)$$

3.2.2.10 ค่า Combined Paternity Index เป็นผลรวมของค่า PI_{Typical} ทุกตำแหน่งที่ทำการศึกษา

$$\text{Combined } PI_{\text{Typical}} = \prod_{i=1}^n (1 - PI_{\text{Typical}})$$

3.2.2.11 ค่า Chance of paternity

$$\text{Chance of paternity} = CPI / (CPI + 1) \times 100\%$$

CPI คือ ค่า Combined Paternity Index

3.2.2.12 ค่า the exact tests for Hardy-Weinberg equilibrium เป็นค่าความน่าจะเป็นที่บอกให้ทราบว่ารูปแบบของประชากรที่ทำการศึกษามีความสอดคล้องตามสมมติฐานของกฎของ Hardy-Weinberg หรือไม่

คำนวณค่า Exact tests โดยใช้โปรแกรม Genepop version 3.4 มาจาก
http://wbiomed.curtin.edu.au/genepop/genepop_Op1.html

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาลายพิมพ์ดีเอ็นเอของประชากรไทย

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างของกลาง จำนวน 258 ตัวอย่างโดยใช้ชุดสารเคมีของ QIAamp DNA Mini Kits และชุดสารเคมีของ DNA IQ™ System แล้วนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ และตรวจสอบผลด้วยเครื่อง ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer แล้วพบว่าผลการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันโดยประกอบด้วยอิเล็กโทรโฟรีโแกรม 4 แบบต่อ 1 ตัวอย่างแยกตามขนาดของดีเอ็นเอ ซึ่งแต่ละแบบแสดงด้วยสีที่แตกต่างกัน คือ

แบบที่ 1 สีน้ำเงิน แสดงค่าที่ตำแหน่ง D8S1179 D21S11 D7S820 และ CSF1PO

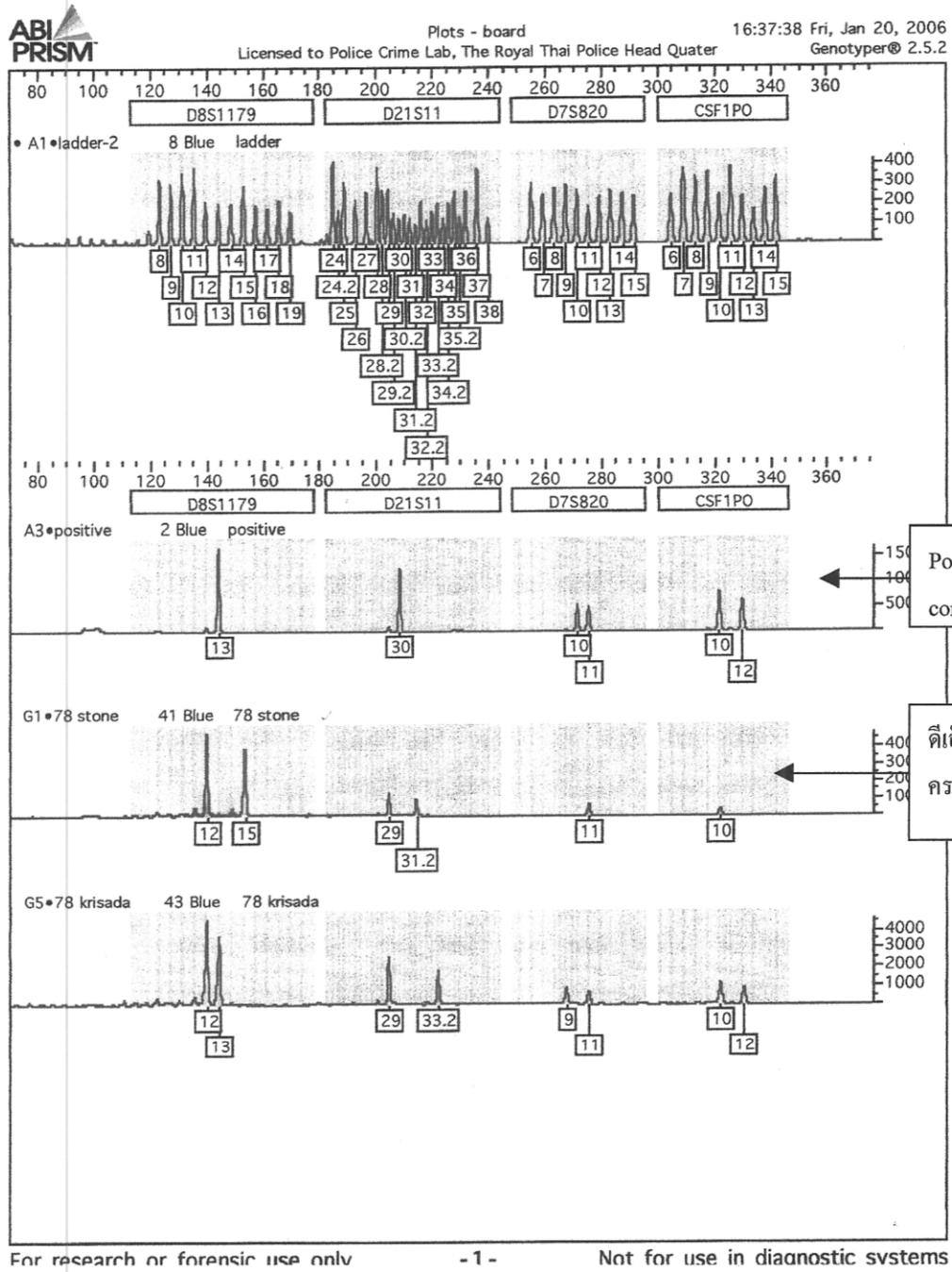
แบบที่ 2 สีเขียว แสดงค่าที่ตำแหน่ง D3S1358 TH01 D13S317 D16S539 และ D2S1338

แบบที่ 3 สีดำ แสดงค่าที่ตำแหน่ง D19S433 vWA TPOX และ D18S51

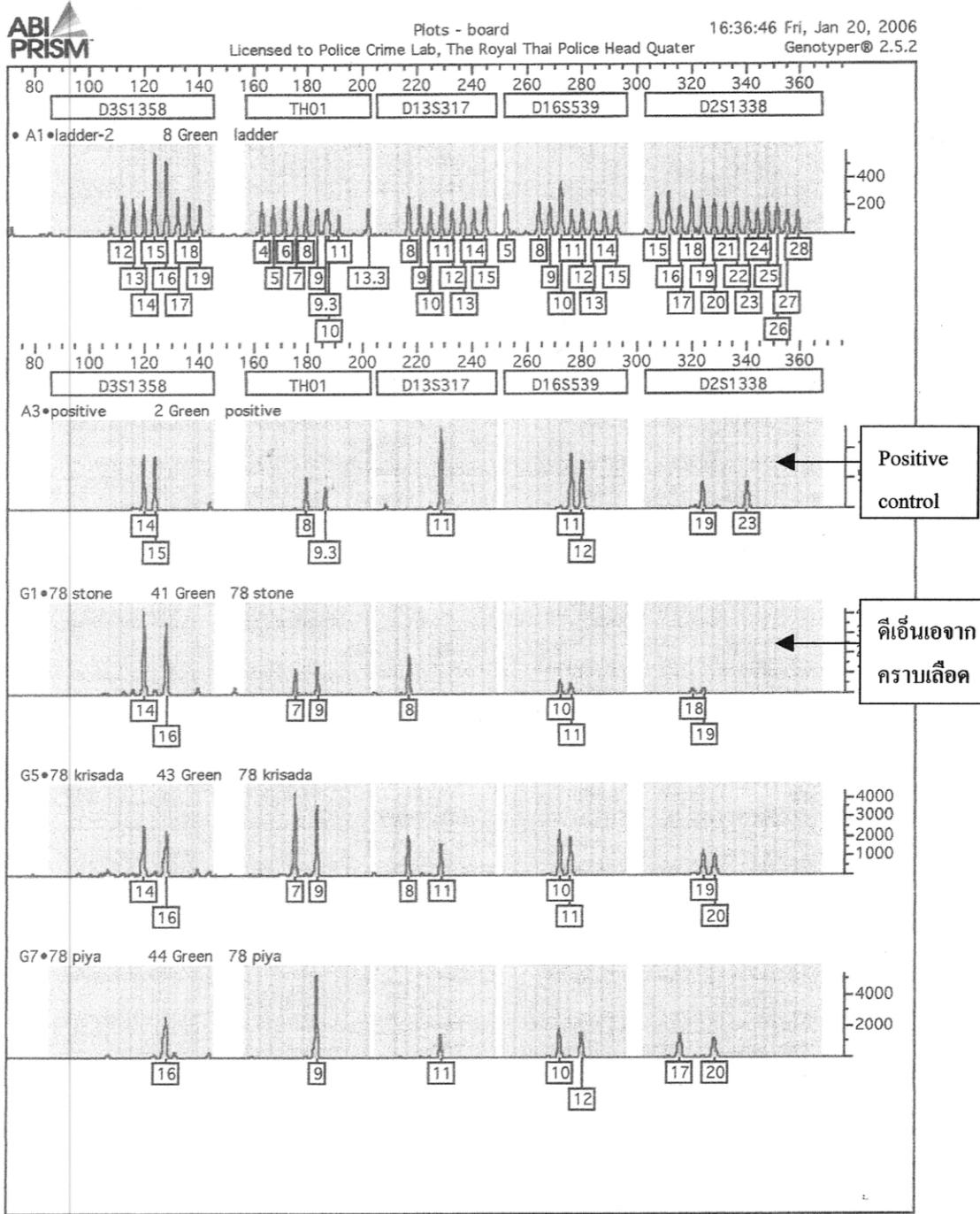
แบบที่ 4 สีแดง แสดงค่าที่ตำแหน่ง Amelogenin D5S818 และ FGA

อิเล็กโทรโฟรีโแกรมแต่ละแบบจะแสดง marker ที่ใช้ในตำแหน่งต่าง ๆ

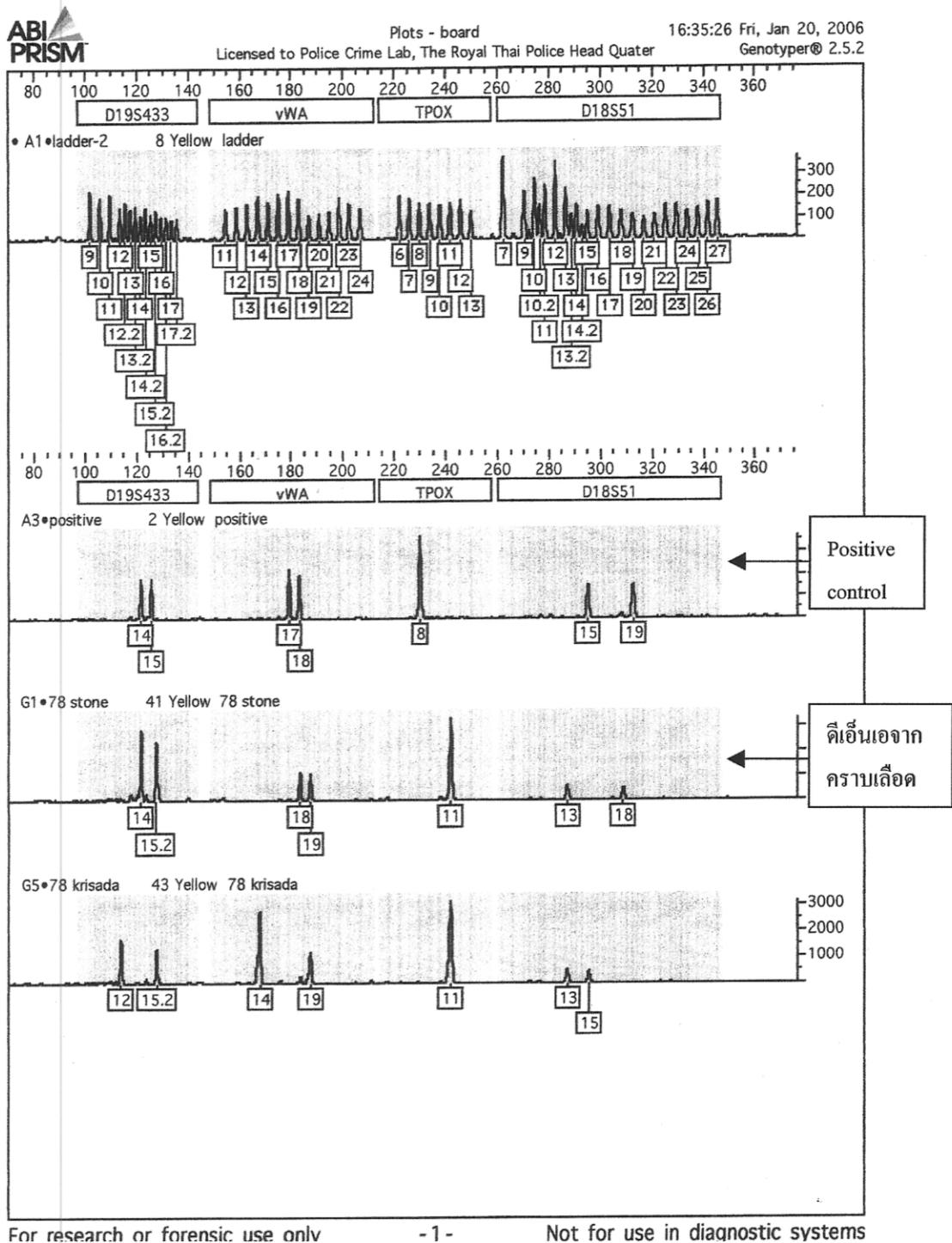
รูปที่ 4.1-4.4 เป็นรูปแบบของดีเอ็นเอที่สกัดจากตัวอย่างของกลางที่เป็นคราบเลือด พบว่ามีทั้งหมด 16 ตำแหน่ง ที่มีรูปแบบดีเอ็นเอดังนี้ ตำแหน่ง D8S1179 มีรูปแบบ (12, 15) ตำแหน่ง D21S11 มีรูปแบบ (29, 31.2) ตำแหน่ง D7S820 มีรูปแบบ (11, 11) ตำแหน่ง CSF1PO มีรูปแบบ (10, 10) ตำแหน่ง D3S1358 มีรูปแบบ (14, 16) ตำแหน่ง TH01 มีรูปแบบ (7, 9) ตำแหน่ง D13S317 มีรูปแบบ (8, 8) ตำแหน่ง D16S539 มีรูปแบบ (10, 11) ตำแหน่ง D2S1338 มีรูปแบบ (18, 19) ตำแหน่ง D19S433 มีรูปแบบ (14, 15.2) ตำแหน่ง vWA มีรูปแบบ (18, 19) ตำแหน่ง TPOX มีรูปแบบ (11, 11) ตำแหน่ง D18S51 มีรูปแบบ (13, 18) ตำแหน่ง Amelogenin เป็นรูปแบบ (X, Y) ตำแหน่ง D5S818 เป็นรูปแบบ (10, 11) และ ตำแหน่ง FGA เป็นรูปแบบ (21.2, 22.2) โดยตำแหน่งที่เป็น heterozygous ได้แก่ ตำแหน่ง D8S1179 D21S11 D3S1358 TH01 D16S539 D2S1338 D19S433 vWA D18S51 D5S818 และ FGA ส่วนตำแหน่งที่เป็น homozygous ได้แก่ ตำแหน่ง D7S820 CSF1PO D13S317 และ TPOX



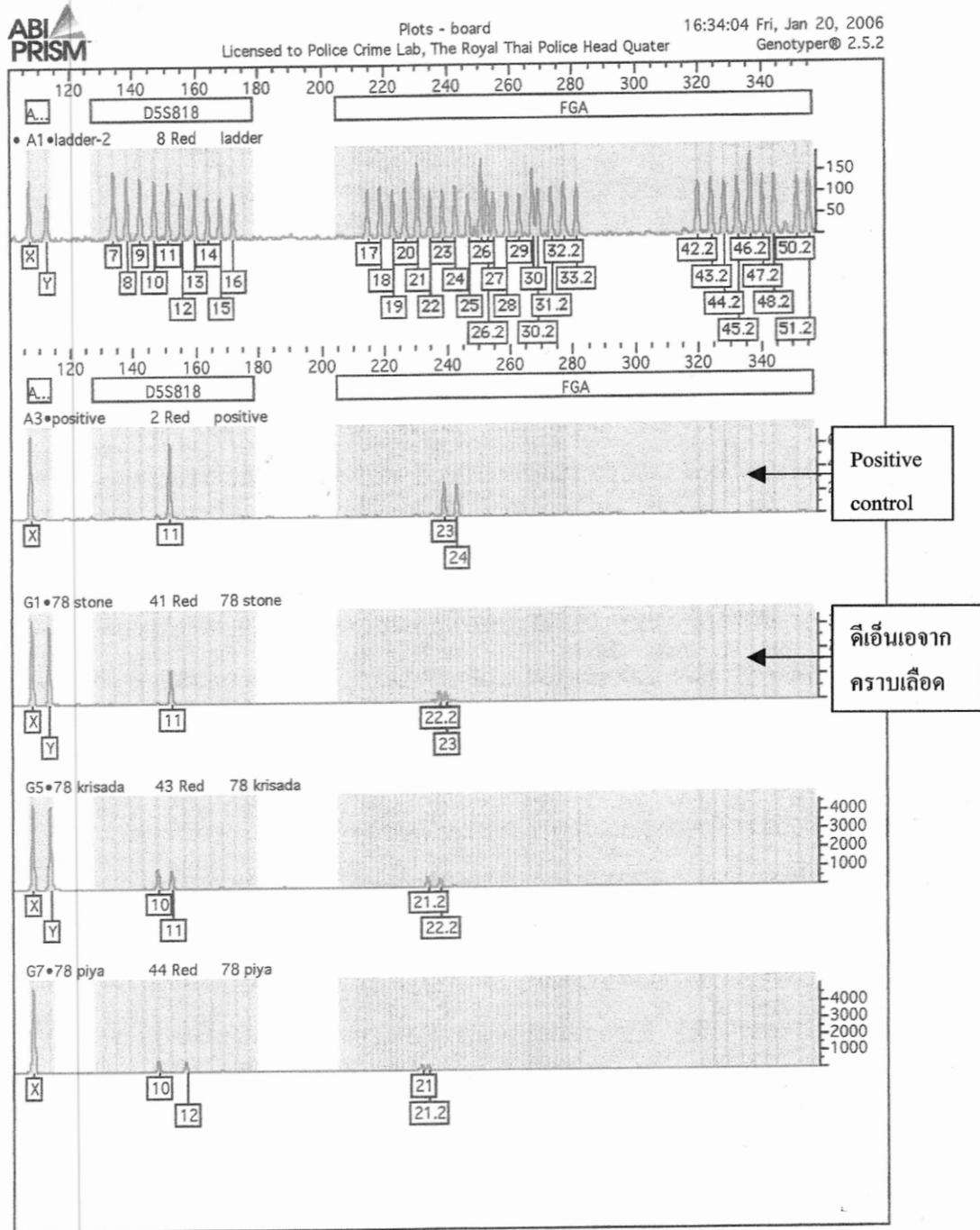
ภาพที่ 4.1 รูปแบบดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดจากคราบเลือดที่ตำแหน่งโลกัส D8S1179 D21S11 D7S820 และ CSF1PO



ภาพที่ 4.2 รูปแบบดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดจากคราบเลือดที่ตำแหน่งโลกัส D3S1358 TH01 D13S317 D16S539 และ D2S1338



ภาพที่ 4.3 รูปแบบดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดจากคราบเลือดที่ตำแหน่งโลกัส D19S433 vWA TPOX และ D18S51



ภาพที่ 4.4 รูปแบบดีเอ็นเอของตัวอย่างที่สกัดจากคราบเลือดคอสู่จีที่ตำแหน่งโลกัสAmelogenin D5S818 และ FGA

4.2 การศึกษาความถี่ของอัลลีลและจีโนไทป์ของ 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย

เมื่อทำการจำแนกความถี่ของอัลลีลจาก DNA profile ของประชากรไทยที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด จำนวน 258 คน (ตารางที่ 4.1) ทั้ง 15 ตำแหน่ง ได้แก่ D8S1179 D21S11 D7S820 CSF1PO D3S1358 TH01 D13S317 D16S539 D2S1338 D19S433 vWA TPOX D18S51 D5S818 และ FGA พบว่าตำแหน่ง FGA เป็นตำแหน่งที่พบรูปแบบของอัลลีลมากที่สุด จำนวน 19 แบบ ตำแหน่ง D19S433 พบจำนวน 14 แบบ ตำแหน่ง D18S51 พบจำนวน 12 แบบ ตำแหน่ง D8S1179 D2S1138 และ D5S818 พบจำนวน 10 แบบ ตำแหน่ง D7S820 และ vWA พบจำนวน 9 แบบ ตำแหน่ง D3S1358 และ D13S317 พบจำนวน 8 แบบ ตำแหน่ง CSF1PO TH01 และ D16S539 พบจำนวน 7 แบบ และตำแหน่ง TPOX พบจำนวน 6 แบบ รายงานครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกของความถี่อัลลีลและค่าทางสถิติของตำแหน่ง D16S539, D2S1338 และ D19S433 ของประชากรในประเทศไทย

จากการศึกษาพบว่าอัลลีลในบางตำแหน่งมีความถี่ต่ำมาก เนื่องจากเป็นอัลลีลที่พบน้อยในตัวอย่างประชากรดังกล่าว จากรายงานของ Chakraborty, 1992 กล่าวว่าหากศึกษาตำแหน่งของ STR ที่มีจำนวนอัลลีลในช่วง 5-15 แบบ และใช้ตัวอย่างจากคนที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดแล้ว ตัวอย่างดีเอ็นเอจำนวน 100-150 ตัวอย่าง ถือว่ามีการสุ่มตัวอย่างเพียงพอสำหรับประชากรกลุ่มนั้น ยกเว้นอัลลีลที่มีค่าต่ำกว่า 1% ห้ามใช้ในการคำนวณค่าทางสถิติ ตามข้อตกลงของ National Research Council (NRC) การคำนวณค่าความถี่ของอัลลีลจะขาดความแม่นยำหากอัลลีลที่พบในแต่ละตำแหน่งมีจำนวนน้อยมาก เช่นครั้งเดียว หรือ 2-3 ครั้ง และอัลลีลดังกล่าวนี้ก็ไม่อาจเป็นตัวแทนของกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาได้ (NRC II, p.148 ตามอ้างใน Butler, 2005) จึงแนะนำว่าแต่ละอัลลีลควรจะถูกสุ่มตัวอย่างพบอย่างน้อย 5 ครั้งในกลุ่มประชากรนั้นๆ หากจะนำค่าความถี่ของอัลลีลนี้ไปใช้ในการคำนวณทางสถิติ ต้องมีการปรับเป็นค่าความถี่ต่ำสุด (minimum allele frequency) ซึ่งคำนวณได้จากสูตร ความถี่ต่ำสุด = $5/2N$ โดย N คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่นำมาศึกษา จากผลการศึกษาครั้งนี้ ค่าความถี่ต่ำสุดที่รับได้ของกลุ่มตัวอย่างนี้ได้เท่ากับ $5/2(258) = 0.0097$ พบว่าเกือบทุกตำแหน่งมีอัลลีลบางอัลลีลมีค่าความถี่ต่ำกว่า 0.0097 ยกเว้นตำแหน่ง D16S539

ส่วนอัลลีลที่มีความถี่สูงสุดในแต่ละตำแหน่งมีดังนี้ ตำแหน่ง D8S1179 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 13 ซ้ำ ตำแหน่ง D21S11 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 30 ซ้ำ ตำแหน่ง D7S820 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 11 ซ้ำ ตำแหน่ง CSF1PO คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 12 ซ้ำ ตำแหน่ง D3S1358 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 16 ซ้ำ ตำแหน่ง TH01 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 9 ซ้ำ ตำแหน่ง D13S317 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 8 ซ้ำ ตำแหน่ง D16S539 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 12 ซ้ำ ตำแหน่ง D2S1338 คืออัลลีลที่มี

จำนวนซ้ำ 19 ชุด ตำแหน่ง D19S433 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 13 ชุด ตำแหน่ง vWA คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 14 ชุด ตำแหน่ง TPOX คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 8 ชุด ตำแหน่ง D18S51 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 15 ชุด ตำแหน่ง D5S818 คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 11 ชุด ตำแหน่ง FGA คืออัลลีลที่มีจำนวนซ้ำ 22 ชุด และ 23 ชุด

นอกจากนี้เมื่อศึกษาอัลลีลในตำแหน่งต่างๆ แล้วยังพบว่าบางตำแหน่งมีอัลลีลที่มีจำนวนซ้ำไม่ปกติ ได้แก่ ตำแหน่ง D21S11 มีอัลลีลที่มีจำนวนซ้ำแบบ 30.2 31.2 32.2 33.2 และ 34.2 ชุด ตำแหน่ง D7S820 มีอัลลีลที่มีจำนวนซ้ำแบบ 9.1 ชุด ตำแหน่ง TH01 มีอัลลีลที่มีจำนวนซ้ำแบบ 9.3 ชุด ตำแหน่ง D19S433 มีอัลลีลที่มีจำนวนซ้ำแบบ 12.2 13.2 14.2 15.2 16.2 17.2 และ 18.2 ชุด และตำแหน่ง FGA มีอัลลีลที่มีจำนวนซ้ำแบบ 21.2 22.2 23.2 24.2 24.3 25.2 ชุด อย่างไรก็ตาม อัลลีลเหล่านี้ส่วนใหญ่มีค่าความถี่สูงกว่าค่าความถี่ต่ำสุดที่ยอมรับได้

จำนวนจีโนไทป์ที่พบจริงในการศึกษาครั้งนี้ เปรียบเทียบกับจำนวนของจีโนไทป์ที่เป็นไปได้ทั้งหมดโดยทฤษฎีที่คำนวณได้จากจำนวนอัลลีลที่พบในประชากรกลุ่มนี้ (ตารางที่ 4.2) จำนวน จีโนไทป์ที่พบจริงมีปริมาณน้อยกว่าจำนวนจีโนไทป์ที่เป็นไปได้ค่อนข้างมาก เนื่องจากมีบางอัลลีลที่พบน้อย นอกจากนี้เมื่อเทียบกับอัลลีลทั้งหมดที่มีรายงาน พบว่าจำนวนจีโนไทป์ที่พบในประชากรกลุ่มนี้ของประเทศไทยมีไม่ถึงครึ่งหนึ่งของจีโนไทป์ที่เป็นไปได้ ยกตัวอย่างเช่น ตำแหน่ง D21S11 มีอัลลีลรายงานทั้งสิ้น 89 อัลลีล ค่าจีโนไทป์ที่เป็นไปได้ทั้งสิ้นคือ 4,005 แต่จีโนไทป์ที่พบจริงในการศึกษาครั้งนี้มีเพียง 46 จีโนไทป์ (Butler, 2005)

ตารางที่ 4.2 จำนวนของจีโนไทป์ที่พบในประชากรไทย

STR Locus	จำนวนของอัลลีลที่พบ	จำนวนของจีโนไทป์ ที่เป็นไปได้	จำนวนของจีโนไทป์ ที่พบจริง
	N	$N(N+1)/2$	
D8S1179	10	55	34
D21S11	12	78	46
D7S820	9	45	25
CSF1PO	7	28	17
D3S1358	8	36	23
TH01	7	28	25
D13S317	8	36	23
D16S539	7	28	23
D2S1338	12	78	47
D19S433	14	105	47
v WA	9	45	27
TPOX	6	21	12
D18S51	13	91	53
D5S818	10	55	26
FGA	19	190	63

จากตารางที่ 4.3 เป็นการนำความถี่ของอัลลีลแต่ละชุดมาคำนวณเป็นความถี่ของจีโนไทป์แบบที่พบมากที่สุดในทุกชุดดีเอ็นเอทั้ง 15 ตำแหน่งที่ทำการศึกษา ซึ่งค่าความถี่ของจีโนไทป์ดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 5.15×10^{-14} หรือ 1 ใน 19,400,000,000,000 และเมื่อใช้ค่าที่คำนวณจากสูตรที่กำหนดเกณฑ์ของความถี่อัลลีลต่ำสุด ($5/2N$) มาคิดเป็นความถี่ของจีโนไทป์แบบที่พบน้อยที่สุดในกรณีเป็น heterozygous จะมีค่า $(2pq)^{15} = (2(0.0097)(0.0097))^{15} = 6.98 \times 10^{-53}$ ดังนั้นหากอัลลีลทุกชุดและตำแหน่งที่ศึกษาทุกตำแหน่งเป็นอิสระต่อกันการคำนวณค่าความถี่ของจีโนไทป์แต่ละจีโนไทป์จะอยู่ในช่วง 6.98×10^{-53} ถึง 5.15×10^{-14}

ตารางที่ 4.3 การคำนวณค่าความถี่ของจีโนไทป์ในอัลลีลแบบที่พบมากที่สุด ให้ A1 คือ จำนวนชุดของอัลลีลตัวที่ 1 และ A2 คือ จำนวนชุดของอัลลีลตัวที่ 2

Locus	A1	A2	ความถี่ของยีน แบบที่ 1 (p)	ความถี่ของยีน แบบที่ 2 (q)		ความถี่ของจีโนไทป์ แบบที่พบมากที่สุด
D8S1179	13	14	0.182	0.167	2pq	0.060788
D21S11	29	30	0.233	0.25	2pq	0.1165
D7S820	11	12	0.353	0.165	2pq	0.11649
CSFIPO	11	12	0.316	0.397	2pq	0.250904
D3S1358	15	16	0.291	0.331	2pq	0.192642
TH01	7	9	0.302	0.353	2pq	0.213212
D13S317	8	11	0.304	0.26	2pq	0.15808
D16S539	11	12	0.271	0.297	2pq	0.160974
D2S1338	19	23	0.242	0.163	2pq	0.078892
D19S433	13	14	0.277	0.238	2pq	0.131852
vWA	17	18	0.238	0.202	2pq	0.096152
TPOX	8	11	0.547	0.256	2pq	0.280064
D18S51	15	16	0.229	0.184	2pq	0.084272
D5S818	10	11	0.234	0.264	2pq	0.123552
FGA	22	23	0.202	0.202	2pq	0.081608
						5.15×10^{-14}
						ใน
						19,400,000,000,000

4.3 การศึกษาค่าทางสถิติของ 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าที่ได้ตามทฤษฎีของกลุ่มประชากรทั้งหมดที่หน้าจะมีอัลลีลแบบ Heterozygous (Expected Heterozygosity, H_{exp}) มีค่าอยู่ในช่วง 0.865 ของตำแหน่ง FGA ถึง 0.616 ของตำแหน่ง TPOX ส่วนค่าที่คำนวณจากค่าที่ได้จากการทดลองของกลุ่มประชากรทั้งหมดที่หน้าจะมีอัลลีลแบบ Heterozygous (Observed Heterozygosity, H_{obs}) มีค่าอยู่ในช่วง 0.605 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 0.880 ของตำแหน่ง D18S51 ทุกตำแหน่งของกลุ่มประชากรที่ศึกษามีอัลลีลแบบ Homozygous น้อยกว่าครึ่งหนึ่งของอัลลีลแบบ Heterozygous แสดงว่าไม่มีการเกิด allele dropout ขึ้นเหมือนที่พบในรายงานการศึกษาประชากรของ Chamoros และ Filipinos โดยใช้ตำแหน่ง STR ซึ่งเพิ่มขยายดีเอ็นเอด้วย AmpF/STR Profiler Plus PCR Amplification kit (Leibelt, 2003) ซึ่งพบว่าค่า Observed homozygosity มีค่าสูงมากที่ตำแหน่ง D8S1179 เนื่องจากเกิด allele dropout จึงทำให้ตำแหน่งที่ควรจะมีอัลลีลแบบ Heterozygous กลายเป็นมีอัลลีลแบบ Homozygous แทน ทั้งนี้เนื่องจากการกลายพันธุ์ในตำแหน่งจับของไพรเมอร์ จากการค้นพบครั้งนั้นทำให้มีการเพิ่มไพรเมอร์ใหม่ลงในชุดตรวจ AmpF/STR Identifier PCR Amplification kit (Leibelt, 2003)

ค่า Typical Paternity Index ที่ศึกษาอยู่ในช่วง 1.26 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 4.16 ของตำแหน่ง D18S51 ส่วนตำแหน่งที่มีความหลากหลายสูงสุดคือ ตำแหน่ง D2S1338 และ FGA ซึ่งมีค่า polymorphism information content (PIC) เท่ากับ 0.850 ส่วนตำแหน่งที่มีความหลากหลายน้อยที่สุด คือ ตำแหน่ง TPOX มีค่า PIC เท่ากับ 0.560 ส่วนค่า probability of match (PM) อยู่ในช่วง 0.035 ของตำแหน่ง D2S1338 ถึง 0.201 ของตำแหน่ง TPOX ค่า PM เป็นค่าที่มีประโยชน์สำหรับงานตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอของสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นค่าที่สร้างความเชื่อมั่นในผลการตรวจพิสูจน์โดยบอกโอกาสที่จะพบว่ามีบุคคล 2 คนที่มี DNA profile เหมือนกันในประชากรกลุ่มเดียวกันเป็นเท่าไร โดยยังใช้ดีเอ็นเอในการตรวจหลายตำแหน่งยังทำให้ค่า PM น้อยลงไปเท่านั้น และยิ่งค่า PM ยิ่งต่ำลงเท่าไร โอกาสที่ดีเอ็นเอทั้งสองนั้นน่าจะมาจากแหล่งเดียวกันยิ่งสูงเท่านั้น

ค่า power of discrimination (PD) เป็นค่ากำลังการแยกแยะซึ่งมีความสัมพันธ์กับค่า PM ถ้าหากค่า PM มีค่าน้อยเท่าไร ค่า PD ก็จะมีค่าสูงขึ้นไปเท่านั้น ในทำนองเดียวกันหากค่า PD มีค่าสูงเท่าไร โอกาสที่ดีเอ็นเอทั้งสองตัวอย่างน่าจะมาจากแหล่งเดียวกันยิ่งสูงเท่านั้น จากการศึกษาพบว่าค่า PD อยู่ในช่วง 0.799 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 0.965 ของตำแหน่ง D2S1338 สำหรับค่า power of exclusion (PE) อยู่ในช่วง 0.299 ของตำแหน่ง TPOX ถึง 0.754 ของตำแหน่ง D18S51 และจากตำแหน่งที่ทำการศึกษาพบว่าตำแหน่ง D2S1338 เป็นตำแหน่งที่มีค่า PD และ PIC สูงที่สุด

จึงมีความเหมาะสมที่สุดในการใช้ตรวจพิสูจน์บุคคล ส่วนตำแหน่ง TPOX เป็นตำแหน่งที่มีค่า PD และ PIC ต่ำที่สุด จึงมีความเหมาะสมน้อยที่สุดในการใช้ตรวจพิสูจน์บุคคล

ค่า combined power of discrimination มีค่าเท่ากับ 0.999999999999987 แสดงว่าเมื่อตรวจดีเอ็นเอโดยใช้ AmpF/STR Identifiler PCR amplification kit ซึ่งคำนวณจากผลรวมของค่า PD ทั้ง 15 ตำแหน่ง (ไม่รวมตำแหน่ง Amelogenin) โอกาสที่จะพบบุคคลที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกันเป็น 1 ใน 10,000,000,000 คน แต่เนื่องจากประชากรในประเทศไทยมีเพียง 60,000,000 คน จึงมีโอกาสน้อยมาก ๆ ที่จะพบบุคคลที่มีลายพิมพ์ดีเอ็นเอเหมือนกันในประเทศไทย สำหรับค่า combined power of exclusion มีค่าเท่ากับ 0.99999229 แสดงให้เห็นว่าค่ากำลังการคัดออกรวมของชายทั่วไปในการทดสอบความเป็นพ่อแม่ลูกมีค่าสูงมาก

ค่าความถี่ของอัลลีลจาก 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย มีความสอดคล้องกับ สมการของ Hardy-Weinberg เมื่อทดสอบโดยใช้ exact test ($p > 0.05$) และทำการ shuffling 3,000 ครั้ง (ค่า SE < 0.01) ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ exact test เนื่องจากเคยมีรายงานว่า การใช้ Goodness of fit test อาจได้ค่าไม่ถูกต้องเมื่อจำนวนตัวอย่างน้อยหรือมีความถี่ของอัลลีลบางตำแหน่งน้อยเกินไป (Guo and Thomson, 1992) ในการศึกษาความถี่ของอัลลีลครั้งนี้ที่ตำแหน่ง D7S820 CSF1PO D3S1358 TH01 D13S317 vWA TPOX D18S51 D5S818 และ FGA มีจำนวนซ้ำของอัลลีลที่มีความถี่สูงสุดเช่นเดียวกับผลการศึกษาค่าความถี่ของอัลลีลจากประชากรไทยของ Rerkamnuaychoke และคณะ (2001) Chantratita และคณะ (2001) Sueblinvong และคณะ (1999) และของประชากรทางภาคเหนือจาก Bhoopat และคณะ (2006)

ตารางที่ 4.4 ค่าทางสถิติของ 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย

N = 258															
	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA
H_{exp}	0.854	0.836	0.776	0.701	0.747	0.754	0.788	0.784	0.862	0.827	0.811	0.616	0.852	0.791	0.865
H_{obs}	0.829	0.853	0.764	0.698	0.740	0.725	0.802	0.818	0.853	0.822	0.837	0.605	0.880	0.787	0.868
PM	0.042	0.051	0.084	0.142	0.106	0.093	0.079	0.086	0.035	0.051	0.070	0.201	0.043	0.080	0.036
PD	0.958	0.949	0.916	0.858	0.894	0.907	0.921	0.914	0.965	0.949	0.930	0.799	0.957	0.920	0.964
PE	0.655	0.700	0.533	0.425	0.493	0.468	0.603	0.633	0.700	0.640	0.670	0.296	0.754	0.575	0.731
$PI_{Typical}$	2.93	3.39	2.11	1.65	1.93	1.82	2.53	2.74	3.39	2.80	3.07	1.26	4.16	2.35	3.79
PIC	0.830	0.810	0.740	0.650	0.700	0.720	0.760	0.750	0.850	0.800	0.780	0.560	0.830	0.750	0.850
P	0.316	0.087	0.345	0.867	0.419	0.193	0.054	0.454	0.598	0.920	0.326	0.311	0.847	0.201	0.543

H_{exp} (expected heterozygosity), H_{obs} (observed heterozygosity), PM (probability of match), PD (power of discrimination), PE (power of exclusion), $PI_{Typical}$ (Typical Paternity Index), PIC (polymorphism information content), P (the exact tests for Hardy-Weinberg equilibrium)

ผลการคำนวณค่าความถี่ของอัลลีลทั้ง 15 ตำแหน่ง (ตารางที่ 4.1) สามารถนำไปใช้คำนวณค่าทางสถิติเพื่อบอกความเป็นไปได้ของเหตุการณ์ของกรณีตัวอย่างดังกล่าวต่อไปนี้

กรณีตัวอย่างเป็นคดีฆาตกรรมที่เกิดในห้องที่แห่งหนึ่งซึ่งพนักงานสอบสวนได้รับแจ้งว่าพบศพหญิงสาวในป่าละเมาะใกล้หมู่บ้านซึ่งคาดว่าเป็นการนำศพมาทิ้งไว้เพื่ออำพรางคดีจากนั้นจึงทำการสืบสวนทราบว่าหญิงสาวคนนั้นชื่อ นาง ข มีสามีชื่อนาย ก ก่อนวันที่พบ ศพนาย ก กล่าวว่าได้พาภรรยาไปเที่ยวที่ต่างจังหวัดพร้อมกับครอบครัวเพื่อน และอ้างว่าได้รับโทรศัพท์จากหัวหน้าที่บริษัทที่ตนทำงานอยู่เพื่อให้กลับมาทำธุระด่วนของบริษัทจึงให้ภรรยาอยู่เกี่ยวกับเพื่อนๆ เมื่อเสร็จธุระแล้วจะกลับมา วันรุ่งขึ้นก่อนที่ตนจะเดินทางมาหาภรรยาได้รับแจ้งจากตำรวจว่าภรรยาของตนเสียชีวิต ซึ่งจากคำให้การของนาย ก นั้นพนักงานสอบสวนยังไม่ปักใจเชื่อ จึงทำการค้นหาพยานหลักฐานต่อไป เมื่อเจ้าหน้าที่ตำรวจของสำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ได้เข้าเก็บพยานหลักฐานในห้องของโรงแรมที่นาง ข พักในคืนก่อนเสียชีวิตพบว่า มีเศษก้นบุหรี่ในถังขยะจำนวน 1 ชิ้น และคราบเลือดติดอยู่ที่ประตูห้องน้ำจำนวนหนึ่ง จึงทำการเก็บหลักฐานดังกล่าวมาตรวจพิสูจน์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ผลการตรวจพิสูจน์แสดงผลดังนี้

	ก้นบุหรี่	คราบเลือด	นาย ก	นาง ข
ตำแหน่งที่ 1 D8S1179	13,15	14,15	13,15	14,15
ตำแหน่งที่ 2 D21S11	28,30	29,29	28,30	29,29
ตำแหน่งที่ 3 D21S11	9,11	12,13	9,11	12,13
ตำแหน่งที่ 4 CSF1PO	12,12	10,12	12,12	10,12
ตำแหน่งที่ 5 D3S1358	15,18	15,16	15,18	15,16
ตำแหน่งที่ 6 TH01	7,7	7,8	7,7	7,8
	ก้นบุหรี่	คราบเลือด	นาย ก	นาง ข
ตำแหน่งที่ 7 D13S317	8,13	9,12	8,13	9,12
ตำแหน่งที่ 8 D16S539	12,12	12,12	12,12	12,12
ตำแหน่งที่ 9 D2S1338	19,23	17,26	19,23	17,26
ตำแหน่งที่ 10 D19S433	14,15.2	13,13	14,15.2	13,13
ตำแหน่งที่ 11 vWA	17,19	14,17	17,19	14,17
ตำแหน่งที่ 12 TPOX	8,8	8,11	8,8	8,11
ตำแหน่งที่ 13 D18S51	15,16	12,14	15,16	12,14
ตำแหน่งที่ 14 D5S818	10,13	7,10	10,13	7,10

ตำแหน่งที่ 15 FGA	23,24	20,22	23,24	20,22
ตำแหน่งที่ 16 Amelogenin	x,y	x,x	x,y	x,x

จากผลการตรวจพิสูจน์พบว่าลักษณะลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากกันบูหรี่ที่พบตรงกับดีเอ็นเอของนาย ก และลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากคราบเลือดที่พบตรงกับดีเอ็นเอของนาง ข การแปรผลการตรวจต้องการเหตุผลทางวิทยาศาสตร์ในการที่จะประมาณโอกาสของคนๆ หนึ่งจะมีรูปแบบของดีเอ็นเอเหมือนกับรูปแบบของดีเอ็นเอจากวัตถุพยาน โดยบังเอิญ ซึ่งคำนวณค่าได้ดังนี้

ค่า Match probability โอกาสที่จะพบลักษณะดีเอ็นเอแบบที่พบจากกันบูหรี่ทั้ง 15 ตำแหน่งรวมกัน เท่ากับ $2P(13)P(15) \times 2P(28)P(30) \times 2P(9)P(11) \times P(12)P(12) \times 2P(15)P(18) \times P(7)P(7) \times 2P(8)P(13) \times P(12)P(12) \times 2P(19)P(23) \times 2P(14)P(15.2) \times 2P(17)P(19) \times P(8)P(8) \times 2P(15)P(16) \times 2P(10)P(13) \times 2P(23)P(23) = 2(0.182)(0.167) \times 2(0.072)(0.25) \times 2(0.056)(0.353) \times (0.397)(0.397) \times 2(0.291)(0.085) \times (0.302)(0.302) \times 2(0.304)(0.035) \times (0.297)(0.297) \times 2(0.242)(0.163) \times 2(0.238) (0.14) \times 2(0.238)(0.103) \times (0.547)(0.547) \times 2(0.229)(0.184) \times 2(0.234)(0.192) \times 2(0.202)(0.126) = 3.43 \times 10^{-18}$

จะพบว่าค่า Match probability มีค่าต่ำมาก แสดงว่าโอกาสที่ดีเอ็นเอทั้งสองน่าจะมาจากแหล่งเดียวกันสูงมาก โอกาสที่แสดงความเป็นนี้เรียกว่า Likelihood Ratio (LR) ซึ่งค่านี้เป็นค่าผกผันของ Match probability ดังนั้น

$$\text{Likelihood Ratio} = 1/\text{Match probability}$$

จากกรณีนี้สามารถสรุปได้ว่า โอกาสที่ดีเอ็นเอจากกันบูหรี่จะเป็นดีเอ็นเอของ นาย ก มากกว่าจะเป็นดีเอ็นเอจากคนอื่น $1/3.43 \times 10^{-18} = 2.92 \times 10^{17}$ เท่า

การแปลผลโดยใช้ค่าสถิติในกรณีนี้สามารถเพิ่มน้ำหนักและประสิทธิภาพของผลการตรวจดีเอ็นเอ ประกอบกับผู้ต้องสงสัยจำนนต่อหลักฐานจึงรับสารภาพว่าตนได้ใช้มีดปลายแหลมฆ่าภรรยาของตนในห้องน้ำของโรงแรมแล้วจึงนำศพไปทิ้งที่อื่นเพื่อทำลายหลักฐาน หลังจากนั้นผู้ต้องหาจึงถูกส่งตัวไปดำเนินคดีตามกฎหมายต่อไป

การศึกษาความถี่ของอัลลีลและค่าทางสถิติของ 15 ของ AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทยในครั้ง นี้ มีความเห็นว่ามีผลสำคัญอย่างยิ่งในปัจจุบันและอนาคต เพราะการนำผลของลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้ประโยชน์ทั้งในทางพิสูจน์ความเป็นพ่อแม่ลูก พิสูจน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ หากไม่มีเหตุผลทางสถิติมาอ้างแล้วจะมั่นใจได้อย่างไรว่าผลการตรวจพิสูจน์นั้นมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือจริงและเนื่องจากหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เป็นข้อเท็จจริงที่พบ เพราะฉะนั้นผลที่ตรวจพิสูจน์ก็ต้องมีเหตุผลมารองรับที่มีความเป็นเหตุเป็นผลเช่นกัน แม้ว่าขณะนี้ผู้ที่มิ

ความเกี่ยวข้องในการใช้ประโยชน์จากผลดีเอ็นเอจะไม่ได้คำนึงตรงจุดนี้ก็ตาม ซึ่งหากเป็นในต่างประเทศแล้วค่าทางสถิติต่างๆ เหล่านี้มีความจำเป็นและเป็นหลักปฏิบัติโดยทั่วไป อีกประการหนึ่งที่ทำให้เห็นความสำคัญของการใช้ค่าทางสถิติเพื่องานด้านนิติวิทยาศาสตร์ก็คือเหตุการณ์สีนามิที่เกิดขึ้นเมื่อเดือนธันวาคม 2547 ซึ่งมีจำนวนศพผู้เสียชีวิตจำนวนมากและมีการตรวจพิสูจน์ด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอเข้ามาช่วย การนำศพคืนให้แก่ญาติของผู้เสียชีวิตในกรณีที่ไม่มีข้อมูลดีเอ็นเอของผู้เสียชีวิตจากญาติเพื่อนำมาเปรียบเทียบจำเป็นต้องใช้ดีเอ็นเอของญาติผู้เสียชีวิตมาเปรียบเทียบแทน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้ค่าสถิติที่บอกถึงโอกาสความเป็นไปได้ที่ศพจะเป็นของครอบครัวที่ถูกต้องและเป็นหลักเกณฑ์ในการปล่อยศพ

ในอนาคตควรมีการศึกษาความถี่ของอัลลีลในกลุ่มประชากรย่อยที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรม เช่น ประชากรชาวมอญ ชาวพม่า ชาวเขาเผ่าต่างๆ หรือชาวกัมพูชาที่อยู่ในประเทศไทย หรือประชากรชาวมุสลิม ในภาคใต้ของประเทศไทย เปรียบเทียบกับประชากรชาวเหนือ ชาวตะวันออกเฉียงเหนือ ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์มากถ้าหากอัลลีลบางอัลลีลมีความถี่สูงในประชากรย่อยบางกลุ่ม แต่ไม่พบเลยในประชากรกลุ่มอื่นๆ

นอกจากนี้การสร้างฐานข้อมูลดีเอ็นเอของประชากรไทย ฐานข้อมูลคนหาย และฐานข้อมูลดีเอ็นเอที่ได้จากที่เกิดเหตุ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการคลี่คลายคดีด้านอาชญากรรม การตรวจพิสูจน์บุคคลสูญหาย การตรวจพิสูจน์ความเป็นพ่อแม่ลูก ฐานข้อมูลเหล่านี้มีการเก็บรวบรวมไว้ตามหน่วยงานต่างๆ ยังไม่มีความต่อเนื่องและไม่ถูกรวบรวมไว้เป็นกลุ่มเดียวกัน ซึ่งในอนาคตหากสามารถรวบรวมข้อมูลดีเอ็นเอที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้กับงานศึกษาวิจัยของท่านอื่นๆ ให้เป็นฐานข้อมูลเดียวกัน ฐานข้อมูลดีเอ็นเอนี้ก็ น่าจะสามารถให้ประโยชน์ตามที่ได้กล่าวมาและพร้อมที่จะพัฒนาไปเป็นฐานข้อมูลดีเอ็นเอระดับชาติเพื่อใช้อ้างอิงในระดับสากลต่อไป

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาความถี่ของอัลลีลและค่าทางสถิติของ 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทยที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด จำนวน 258 คน สรุปได้ว่า

5.1 ความถี่ของอัลลีลจาก 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย

การศึกษาความถี่ของอัลลีลจาก 15 AmpF/STR identifier loci ของประชากรไทย 258 คน ซึ่งไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือด พบว่าเป็นไปตามกฎของ Hardy-Weinberg แสดงว่ากลุ่มตัวอย่างดังกล่าวมีความถี่ของอัลลีลคงที่ในทุกรุ่น และสามารถนำค่าความถี่ของอัลลีลไปคำนวณค่าทางสถิติเพื่อใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลและความเป็นพ่อแม่ได้ นอกจากนี้ยังเป็นศึกษาความถี่ของอัลลีลและค่าทางสถิติในตำแหน่ง D16S539, D2S1338 และ D19S433 ของประชากรไทยเป็นครั้งแรกอีกด้วย

5.2 ค่าสถิติกับการแปลผลดีเอ็นเอ

จากการศึกษาค่าทางสถิติของกลุ่มประชากรนี้ พบว่าตำแหน่ง D2S1338 เป็นตำแหน่งที่มีความเหมาะสมที่สุดในการนำไปใช้ตรวจพิสูจน์บุคคล เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่มีค่ากำลังการแยกแยะ (PD) และมีความหลากหลายของอัลลีล (PIC) มากที่สุด ส่วนตำแหน่ง TPOX เป็นค่าที่มีความเหมาะสมน้อยที่สุดในการนำไปใช้ตรวจพิสูจน์บุคคลเพราะมีกำลังการแยกแยะต่ำที่สุดและมีความหลากหลายของอัลลีลน้อยที่สุด โดยค่า combined power of discrimination มีค่าเท่ากับ 0.9999999999999987 และค่า combined power of exclusion มีค่าเท่ากับ 0.999999229 จึงมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นตัวแทนของประชากรไทยเพื่อใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลและทดสอบความเป็นพ่อแม่

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

- กรมศิลปากร. 2548. เหตุการณ์ธรณีพิบัติจากคลื่นสึนามิ 26 ธันวาคม 2547. ม.ป.ท., กรุงเทพฯ.
- ธานินทร์ ภูพัฒน์. 2538. วิทยาการดีเอ็นเอในงานนิติเวช. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่, เชียงใหม่.
- บุญร่วม เข็มจันทร์. 2548. คำพิพากษาคดีดังที่เคยเป็นข่าวครึกโครมทั่วประเทศ. อนิเมทกรุ๊ป,
กรุงเทพฯ.
- รุ่งระวี โสขุมา. 2539. การนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมาใช้เป็นพยานในคดีอาญา. วิทยานิพนธ์ปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วิจารณ์ พานิช เพ็ญศรี ภูตระกูล สรรใจ แสงวิเชียร ปราณี วินิจจะกุล และ สุทัศน์ ภูตระกูล. 2524.
มนุษย์พันธุศาสตร์. พิมพ์, กรุงเทพฯ.
- วิชัย บุญแสง, อัญชลี ศักนาขจร, ชัยณรงค์ วงศ์ธีรทรัพย์, นุสรา สิทธิคิดกรัตน์ และ สกต พันธุ์ยิ้ม.
2547. ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล. สำนักงานพัฒนา
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, ปทุมธานี.
- สุรางค์ นุชประยูร, จินตนา จิรถาวร และ ณีฎฐิยา หิรัญกาญจน์. 2546. เวชศาสตร์โมเลกุล. Text
and journal publication Co., Ltd., กรุงเทพฯ.
- อรรถพล แซ่มสุวรรณวงศ์. 2544. นิติวิทยาศาสตร์ 2 เพื่อการสอบสวน. บริษัทดาวฤกษ์และบริษัท
ทีซีจี จำกัด, กรุงเทพฯ.
- _____. 2544. นิติวิทยาศาสตร์ 4 เพื่อการสอบสวน. บริษัทดาวฤกษ์และบริษัท
ทีซีจี จำกัด, กรุงเทพฯ.
- Aitken, C. and Taroni, F. 2004. **Statistics and the Evaluation of Evidence of Evidence for
Forensic Scientists. 2nd**. John Wiley & Sons, Ltd, England.
- Ambach, E., Parson, W., Niederstatter, H. and Budowle, B. 1997. **Austrain caucasian
population data for the quadruplex plus amelogenin: refined mutation rate for
Humv WFA 31/A.** *Journal Forensic Science*, 42:1136-1139.
- Bender, K., Bellinghausan, B.S., Rittner, C. and Schneider, P.M. 2003. **Comparative analysis
of short tandem repeat and single nucleotide polymorphisms on the Y –
chromosome in Germans, Chinese and Thais.** *Legal Medicine*, 5:164-168.
- Bhoopat, T., Leaungsiyakul, T. and Steger, H.F. 2006. **Forensic value of nine STR loci in
Northern Thai.** *Legal Medicine*, 1-3.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Bhoopat, T., Sriduangkaew, S. and Steger, H.F. 1997. **An investigation of the TH01 locus in population from northern Thailand.** *Legal Medicine*, 110: 286-287.
- Brinkmann, B., Sajantila, A., Goedde, H.W., Matsumoto, H., Nishi, K. and Wiegand, P. 1996. **Population genetic comparisons among eight populations using allele frequency and sequence data from three microsatellite loci.** *Human Genetics*, 4:175-182.
- Budowle, B., Collins, P.J., Dimsoski, P., Ganong, C.K., Hennessy, L.K., Leibelt, C.S., Roa-Coticone, S. and Reeder, D. 2001. **Population data on the STR loci D2S1338 and D19S433.** *Forensic Science*, 3.
- Budowle, B., Moretti, T.R., Baumstark, A.L., Defenbaugh, D.A. and Keys, K.M. 1999. **Population data of the thirteen CODIS core short tandem repeat loci in African Americans, US Caucasians, Hispanics, Bahamians, Jamaicans and Trinitarians.** *Forensic Science*, 44:1277-1286.
- Butler, J.M. 2005. **Forensic DNA Typing.** 2nd. Elsevier Academic Press, USA.
- Chantratita, W., Rerkamnuaychoke, B., Jomsawat, U., Thanakitgosate, J., Ruangvithayanon, T. and Rojanasunan, P. 2001. **Thai population data on nine tetrameric STR loci – D3S1358, vWA, FGA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D13S317 and D7S820.** *Forensic Science International*, 115: 113-115.
- Chiurillo, M.A., Morales, A., Mendes, A.M., Lander, N., Tovar, F., Fuentes, A. and Ramirez, J.L. 2003. **Genetic profiling of a central Venezuelan population using 15 STR markers that may be of forensic importance.** *Forensic Science International*, 136: 99-101.
- Chun-I Lee, J., Chen, C.H., Tsai, L.C., Linares, A. and Chang, J.G. 1997. **The screening of 13 short tandem repeat loci in the Chinese population.** *Forensic Science International*, 87:37-144.
- Gangitano, D.A., Garofalo, M.G., Juvenal, G.J., Budowle, B., Lorente, J.A. and Padula, R.A. 2002. **STR data for the Powerplex 16 loci in Buenos Aires population (Argentina).** *Forensic Science*, 47:418-420.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Geadá, H., Brio, R.M., Ribeiro, T. and Espinheira, R. 2000. **Portuguese population and paternity investigation studies with a multiplex PCR- the AmpFISTR profiler plus.** *Forensic Science International*, 108:31-37.
- Gehrig, C., Hochmeister, M., Dirnhofer, R. and Budowle, B. 1999. **Swiss Caucasian population data for 13 STR loci using AmpFISTR profiler plus and cofiler PCR amplification kits.** *Forensic Science*, 44:1035-1038.
- Grattapaglia, D., Schmidt, A.B., Costa e Silva, C., Stringher, C., Fernandes, A.P. and Ferreira, M.E. 2001. **Brazilian population database for the 13 STR loci of the AmpFISTR Profiler Plus and Cofiler multiplex kits.** *Forensic Science International*, 118:91-94.
- Guo, S.W. and Thompson, E.A. 1992. **Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles.** *Biometrics*, 48:361-372.
- Huston, K.A. 1998. **Statistical analysis of STR data.** *Profiles in DNA*, P:14-15
- Horst, B., Eigel, A., Sanguansermsri, T. and Rolf, B. 1997. **Analysis of the short tandem repeat system HumVWA and HumF13B in a population sample from northern Thailand.** *Legal Medicine*, 110:235-237.
- Kashyap, V. K., Sitalaximi, T., Chattopadhyay, P. and Trivedi, R. 2004. **DNA Profiling Technologies in Forensic Analysis.** *Human Genetic*, 4(1): 11-30.
- Kobilinsky, L., Liotti, T.F. and Oeser-Sweat, J. 2005. **DNA: Forensic and legal applications.** John Wiley & Sons, Inc., Canada.
- Kozioł, P., Ciesielka, M., Madro, R., and Krajka, A. 2004. **Genetic data on 19 STR loci in south-east Poland.** *Forensic Science International*, 139:89-92.
- Lareu, M.V., Philips, C.P., Carracedo, A., Lincoln, P.J., Syndercombe Court, D. and Thomson, J.A. 1994. **Investigation of the STR locus HUMTH01 using PCR and two electrophoresis formats: UK and Gallician Caucasian population surveys and usefulness in paternity investigation.** *Forensic Science International*, 66:41-52.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Lee, C.I., Chen, C.H., Tsai, L.C., Linacre, A. and Chang, J.G. 1997. **The screening of 13 short tandem repeat loci in the Chinese population.** *Forensic Science International*, 87: 137-144.
- Leibelt, C., Budowle, B., Collins, P., Daoudi, Y., Moretti, T., Nunn, G., Reeder, D. and Roby, R. 2003. **Identification of a D8S1179 primer binding site mutation and the validation of a primer designed to recover null alleles.** *Forensic Science International*, 133:220-227.
- Lins, A.M., Sprecher, C.J., Puers, C. And Schumm, J.W. 1996. **Multiplex sets for the amplification of polymorphic short tandem repeat loci – silver stain and fluorescence detection.** *BioTechniques*, 20(5):882-889.
- Martin, P., Alonso, A., Budowle, B., Cristina, C., Garcia, O. and Sancho, M. 1995. **Spanish population data on 7 tetrameric short tandem repeat loci.** *International journal legal medicine*, 108:145-149.
- Neuhuber, F. and Radacher, M. 1997. **A genetic study of the short tandem repeat system vWA and TH01 in an Austrian population.** *Forensic Science International*. 87:211-217.
- Park, S.J., Lee, W.G., Lee, S.W., Kim, S.H., Koo, B.s., Budowle, B. And Rho, H.M. 1997. **Genetic variations of four tetrameric tandem repeat loci in Korean population.** *Forensic Science*, 42:125-129.
- Pineda-Bernal, L., Borjas-Fajardo, L., Zabala, W., Fernandez, E., Delgado, W., Salas, A., Sanchez-Diaz and Carracedo, A. 2002. **Data for nine autosomal STRs markers (CSF1PO, D13S31, D16S539, D7S820, F13A01, FESFPS, TH01, Vwa, TPOX) from Venezuela.** *Forensic Science International*, 125:277-278.
- Pu, C.E., Hsieh, C.M., Chen, M.Y., Wu, F.C. and Sun, C.F. 1999. **Genetic variation at nine STR loci in populations from the Philippines and Thailand living in Taiwan.** *Forensic Science International*. 106: 1-6.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Rerkamnuaychoke, B., Chantratita, W., Jomsawat, U., thanakitgosate, J., Ruangvithayanon, T. and Rojanasunan, P. 2001. **Database of nine tetrameric STR loci-D3S1358, vWA, FGA, D8S1179, D21S11, D18S51, D5S818, D13S317 and D7S820 in Thai population.** *Forensic Science International*, 119:123-125.
- Santos, S.M.M., Budowle, B., Smerick, J.B., Keys, K.M. and Moretti, T.R. 1996. **Portuguese population data on the six short tandem repeat loci – CSF1P0, TPOX, D3S1358, vWA and FGA.** *Forensic Science International*, 83:229-235.
- Spencer, C.A. 2004. **Genetic Testimony : A Guide to Forensic DNA Profiling.** Pearson Education, Inc., New Jersey.
- Sueblinwong, T., Kongsrisook, U. 1999. **Population data of 8 short tandem repeat loci in the Thai population.** *Forensic Science International*, 103:199-205.
- Szczerkowska, Z., Kapinska, E., Wysocka, J. and Cybulska, L. 2004. **Northern Polish population data and forensic usefulness of 15 autosomal STR loci.** *Forensic Science International*. 144: 69-71.
- Vanek, D., Hradil, R. and Budowle, B. 2001. **Czech population data on 10 short tandem repeat loci of SGM plus STR system kit using DNA purified in FTA card.** *Forensic Science International*, 119:107-108.
- Vasgas, C.I., Castillo, A., Gill, A.M., Pico, A.L. and Garcia, O. 2003. **Population genetic data for 13 STR loci in northeast Colombian (Department of Santander) population, in: B. Brinkmann, A. Carracedo (Eds.).** *Progress in Forensic Genetics*, 9:197-200.
- Veselinovic, I., Kubat, M., Furac, I., Skavic, J., Martinovic Klaric, I. and Tasic, M. 2003. **Allele frequencies of the 15 AmpFISTR Identifiler loci in the population of Vojvodina Province, Serbia and Montenegro.** *Legal Medicine*, 118:184-186.
- “DNA and structure”. 2006. [online]. Available; <http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/molecular%20biology/16-05-doublehelix.jpg> (April, 2006).
- “Nucleus and mitochondria”. 2006. [online]. Available; http://www.biotechnologyonline.gov.au/popupslimg_cellwithlabels.cfm (April, 2006).

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

“Mitochondrial DNA”. 2006.[online];

http://www.montegen.com/Montegen/Nature_of_Business/The_Library/The_Pocket-Science/The_Pocket-Science_Vol__8/body_the_pocket-science_vol__8.htm (April, 2006).

“STR marker and forensic”. 2006. [online]; <http://www.hartnell.cc.ca.us/faculty/jhughey/files/strandcodis.ptt> (April, 2006).

“Y STR”. 2006. [online]; <http://www.hartnell.cc.ca.us/faculty/jhughey/files/strandcodis.ptt> (April, 2006).

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

**ความถี่ของอัลลีลจำนวน 15 ตำแหน่งของประชากร 4 กลุ่มคือ
African-American, U.S.Caucasian, U.S. Hispanic และ Native American
โดยใช้ชุดสารเคมี AmpF/STR Identifier kit**

ภาคผนวก ก

ความถี่ของอัลลีลจำนวน 15 ตำแหน่งของประชากร 4 กลุ่มคือ African-American, U.S. Caucasian, U.S. Hispanic และ Native American โดยใช้ชุดสารเคมี AmpF/STR Identifier kit

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
CSF1PO				
6	*	*	*	*
7	4.62	0.14*	0.34*	*
8	7.56	0.29*	0.17*	0.52*
9	3.78	1.72	0.86*	8.38
10	27.87	24.21	23.10	30.89
11	20.59	31.81	28.28	21.99
11.3	0.14*	*	*	*
12	29.13	32.81	39.66	32.72
13	5.32	7.31	6.38	4.71
14	0.98	1.43	0.86*	0.79*
15	*	0.29*	0.34*	*
D2S1338				
15	0.14*	*	*	*
16	5.32	4.73	2.41	2.62
17	10.78	17.34	21.21	9.95
18	5.60	6.30	4.14	7.07
19	14.15	13.75	22.76	29.58
20	6.02	14.61	13.79	9.69
21	14.01	2.58	2.59	2.36
22	13.17	4.01	7.41	15.18
23	10.78	11.46	11.38	11.78

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
24	9.80	11.75	8.45	7.85
25	8.12	10.60	5.17	3.14
26	1.96	2.72	0.69*	0.79*
27	0.14*	0.14*	*	*
28	*	*	*	*
D3S1358				
< 11	0.42*	0.14*	*	*
11	*	*	*	0.26*
12	0.56*	*	0.17*	*
13	0.70*	0.29*	0.17*	*
14	12.04	15.76	7.41	6.81
15	30.53	25.36	39.14	40.84
15.2	0.14*	*	*	*
16	28.57	22.78	26.72	32.98
17	19.47	18.19	16.03	9.95
18	6.72	16.48	8.97	8.38
19	0.84	1.00	1.03	0.79*
20	*	*	0.34*	*
D3S1358				
< 11	28.57	22.78	26.72	32.98
11	19.47	18.19	16.03	9.95
12	6.72	16.48	8.97	8.38
13	0.84	1.00	1.03	0.79*
14	*	*	0.34*	*
15	0.42*	0.14*	*	*
15.2	*	*	*	0.26*

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
16	0.56*	*	0.17*	*
17	0.70*	0.29*	0.17*	*
18	12.04	15.76	7.41	6.81
19	30.53	25.36	39.14	40.84
20	0.14*	*	*	*
D5S818				
7	0.14*	*	6.72	15.71
8	5.46	*	0.69*	*
9	1.68	4.15	5.17	6.02
10	6.72	5.44	5.17	4.19
11	25.49	39.26	39.14	41.10
12	36.41	35.24	29.31	23.30
13	21.57	15.47	12.59	9.42
14	2.38	0.14*	0.69*	0.26*
15	*	0.29*	0.18*	*
16	*	*	0.17*	*
17	0.14*	*	0.17*	*
D7S820				
6	*	0.14*	0.17*	*
7	0.42*	1.29	1.72	0.52*
8	18.77	16.48	11.72	13.09
9	13.73	17.62	6.21	8.12
10	34.45	27.22	27.41	21.99
11	19.89	18.05	28.79	28.80
12	10.78	14.76	20.17	24.08
13	1.54	3.72	3.45	3.40

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
14	0.42*	0.72	0.34*	*
15	*	*	*	*
D8S1179				
8	0.42*	2.29	0.34*	0.52*
9	0.42*	1.15	0.34*	0.26*
10	2.38	9.74	8.45	4.71
11	3.92	6.02	5.86	3.40
12	13.31	14.04	12.07	11.52
13	23.25	32.52	32.93	37.43
14	30.11	21.35	26.21	30.63
15	20.17	9.89	10.86	9.42
16	4.62	2.72	2.41	1.57
17	1.12*	0.29*	0.52*	0.52*
18	0.28*	*	*	*
19	*	*	*	*
D13S317				
8	3.08	12.18	9.66	4.97
9	2.52	7.74	21.72	14.80
10	3.78	4.44	9.14	13.61
11	24.51	29.80	23.10	24.35
12	46.22	30.80	20.86	23.04
13	15.41	11.17	10.17	7.85
14	4.34	3.72	5.34	8.12
15	0.14*	0.14*	*	0.26*
D16S539				
5	*	*	*	*

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
8	3.22	1.72	1.72	0.79*
9	19.05	10.46	9.31	12.30
10	10.92	5.59	15.69	15.45
11	31.51	31.95	30.17	30.89
12	18.77	30.23	29.48	27.75
13	14.85	16.76	11.55	10.73
14	1.54	3.01	2.07	2.09
	0.14*	0.29*	*	*
D18S51				
7	*	*	*	*
9	0.14*	*	*	*
10	0.28*	0.86	0.52*	0.79*
10.2	0.14*	*	*	*
11	0.28*	1.15	1.21*	*
12	7.00	13.90	10.34	14.92
13	4.34	12.18	14.48	9.16
13.2	0.42*	*	*	*
14	6.86	16.76	15.52	26.96
14.2	0.28*	*	*	*
15	19.47	13.61	16.55	12.04
16	16.53	13.61	11.72	10.73
17	18.21	12.32	14.14	14.66
18	11.90	7.74	6.72	2.62
19	6.02	4.44	4.14	3.93
20	4.90	1.72	2.24	1.83
21	2.10	1.00	1.03	1.31

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
22	0.70*	0.43*	0.52*	0.79*
23	0.42*	0.14*	0.52*	0.26*
24	*	0.14*	0.17*	*
25	*	*	0.17*	*
26	*	*	*	*
27	*	*	*	*
D19S433				
9	*	0.14*	0.17*	*
10	1.54	*	*	*
11	7.14	0.72	0.52*	0.52*
11.2	0.14*	*	0.17*	*
12	10.78	7.74	6.21	3.14
12.2	6.30	0.57*	1.90	*
13	29.83	28.94	16.03	17.80
13.2	5.74	1.72	8.62	15.45
14	21.01	34.10	31.72	24.87
14.2	4.20	0.86	5.00	3.66
15	4.76	15.76	13.45	13.35
15.2	3.36	2.72	8.79	10.73
16	2.38	4.15	4.31	3.93
16.2	2.38	1.72	2.93	1.83
17	*	0.29*	0.17*	0.79*
17.2	0.28*	0.29*	*	2.88
18.2	0.14*	0.29*	*	1.05*
D21S11				
24	*	*	*	*

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
24.2	0.14*	0.43*	0.17*	*
24.3	0.28*	*	*	*
25	*	*	*	*
25.2	*	0.14*	0.17*	*
26	0.14*	0.14*	0.17*	*
27	5.04	4.58	1.21	0.52*
28	22.97	16.76	9.14	6.28
28.2	*	*	*	*
29	19.33	20.49	21.21	16.75
29.2	0.14*	*	0.52*	0.26*
29.3	0.14*	*	*	*
30	17.23	25.21	29.31	34.29
30.2	1.40	3.30	2.93	1.83
31	7.98	7.16	6.72	5.76
31.2	7.98	9.46	8.62	18.85
32	1.12	1.43	1.55	0.79*
32.2	5.88	7.16	12.93	9.69
33	0.56*	*	*	0.52*
33.2	3.78	3.30	4.14	3.66
34	1.26	*	*	*
34.1	0.14*	*	*	*
34.2	0.14*	0.29*	0.86*	0.79*
35	2.94	*	0.34*	*
35.1	0.14*	*	*	*
35.2	*	0.14*	*	*
36	0.84	*	*	*

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
37	0.28*	*	*	*
38	0.14*	*	*	*
FGA				
16	*	0.14*	*	*
16.1	0.14*	*	*	*
17	*	0.29*	0.17*	*
17.2	0.14*	*	*	*
18	0.70*	2.72	0.52*	1.31
18.2	1.40	*	*	*
19	6.72	6.16	7.07	10.21
19.2	0.28*	*	*	*
20	7.00	13.90	7.41	12.30
20.2	*	0.14*	*	*
21	12.89	16.91	14.66	12.83
21.2	*	0.29*	0.17*	*
22	21.57	16.91	17.24	10.47
22.2	0.28*	1.29	0.34*	0.26*
22.3	0.14*	*	*	*
23	14.99	15.19	11.90	15.97
23.2	0.14*	*	0.86*	0.26*
24	17.51	13.75	15.34	15.71
24.2	*	0.14*	0.17*	*
25	7.98	8.60	14.14	14.14
26	3.50	2.72	6.90	4.45
26.2	*	*	*	0.52
27	1.82	0.72	2.41	0.79*

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
28	1.40	0.14*	0.69*	0.52*
29	0.56*	*	*	*
30	*	*	*	*
30.2	0.14*	*	*	*
31.2	*	*	*	*
32.2	*	*	*	*
33.2	*	*	*	*
34.2	0.14*	*	*	*
42.2	*	*	*	*
43.2	*	*	*	*
44.2	0.28*	*	*	*
45.2	*	*	*	0.26*
46.2	0.14*	*	*	*
47.2	*	*	*	*
48.2	0.14*	*	*	*
50.2	*	*	*	*
51.2	*	*	*	*
TH01				
4	*	*	*	*
5	0.28*	0.43*	0.17*	*
6	11.06	20.49	22.76	20.68
7	42.86	21.78	33.62	43.98
8	20.73	11.46	8.45	5.24
8.3	*	0.14*	*	*
9	12.32	16.19	14.14	6.28

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
9.3	11.62	29.08	20.34	23.56
10	0.98	0.43*	0.52*	0.26*
11	*	*	*	*
13.3	0.14*	*	*	*
TPOX				
6	6.72	0.14*	0.34*	*
7	2.24	*	0.34*	0.26*
8	36.13	53.30	49.66	37.96
9	21.15	11.60	7.24	4.19
10	9.24	4.30	4.66	3.40
11	21.43	25.93	27.24	39.27
12	3.08	4.73	10.52	14.92
13	*	*	*	*
vWA				
11	0.28*	*	0.17*	*
12	*	*	*	0.26*
13	1.26	0.43*	*	0.26*
14	7.14	8.31	6.90	4.45
15	20.03	11.32	10.00	7.07
16	26.75	23.35	34.31	32.98
17	20.59	24.50	21.55	33.51
18	14.71	22.49	18.45	15.45
19	6.72	8.31	7.07	4.71
20	1.96	1.15	1.38	1.05*
21	0.28*	*	0.17*	0.26*
22	0.28*	*	*	*

Allele	African-American (n = 257)	U.S. Caucasian (n = 349)	U.S. Hispanic (n = 290)	Native American (n = 191)
23	*	*	*	*
24	*	0.14*	*	*

หมายเหตุ * แทนความถี่ของอัลลีลที่มีค่าต่ำที่สุด (0.7% สำหรับ African-American, 0.7% สำหรับ U.S. Caucasian, 0.9% สำหรับ U.S. Hispanic และ 1.3% สำหรับ Native American)

ที่มา : AmpF/STR Identifiler PCR Amplification Kits User's Manual

ภาคผนวก ข
สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

ภาคผนวก ข
สารเคมีและการเตรียมสารเคมี

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 Block Heater

1.1.2 ปิเปต (Gilson)

1.1.3 Incubator (Hybrid)

1.1.4 เครื่อง PCR (GeneAmp PCR System 9700 Applied Biosystem)

1.1.5 Micro Centrifuge (Hettich)

1.1.6 ตู้เย็น (Kelvinator)

1.1.7 เครื่อง ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Perkin Elmer)

1.1.8 Vortex

1.2 สารเคมีและวิธีการเตรียมใช้ในขั้นตอนต่างๆ

1.2.1 การเตรียมสารเคมีสำหรับการสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสารเคมีสำเร็จรูป QIAamp

DNA Mini Kits

1.2.1.1 การเตรียม Buffer AW1

ก่อนนำ Buffer AW1 มาใช้ต้องเติมด้วย ethanol (96-100%) ในอัตราส่วนที่กำหนดดังตาราง และสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ปี

Kit size	AW1 concentrate (ml)	Ethanol (ml)	Final volume(ml)
50	19	25	44
250	95	125	120

1.2.1.2 การเตรียม Buffer AW2

ก่อนนำ Buffer AW2 มาใช้ต้องเติมด้วย ethanol (96-100%) ในอัตราส่วนที่กำหนดดังตาราง และสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ปี

Kit size	AW2 concentrate (ml)	Ethanol (ml)	Final volume(ml)
50	13	30	43
250	66	160	226

1.2.1.3 การเตรียม 1xPBS มีดังนี้

- 1) NaCl 8 g
- 2) KCl 0.2 g
- 3) Na₂HPO₄ 1.42 g
- 4) KH₂PO₄ 0.2 g
- 5) distilled water 1,000 ml

1.2.2 การเตรียมสารเคมีสำหรับสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสารเคมีสำเร็จรูป DNA IQ™

System

1.2.2.1 การเตรียม Stock Proteinase K Solution

โดยการเติม Incubation buffer จำนวน 5.5 ml ในขวด Proteinase K ที่มากับชุดสารเคมีสำเร็จรูป จะให้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 18 mg/ml

1.2.2.2 การเตรียม 1M DTT

โดยละลาย DTT จำนวน 5 กรัม ใน nuclease-free water ให้มีปริมาตรเท่ากับ 32.4 ml. และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C

1.2.2.3 การเตรียม Incubation buffer/Proteinase K Solution/DTT

เตรียมโดยการผสมรวมกันระหว่าง Incubation Buffer ,1M DTT และ Stock Proteinase K Solution ในอัตราส่วน 8:1:1 และต้องอยู่ในที่เย็นระหว่างการใช้

1.2.2.4 การเตรียม 1xWash Buffer

เตรียมโดยการเติม absolute ethanol จำนวน 35 ml และ isopropyl alcohol 35 ml ใน 2x Wash Buffer(จากชุด kits) ของชุดสารเคมีสำเร็จรูปสำหรับใช้กับ 400 samples ทำการผสมโดยการกลับไปมาจนเข้ากัน และสามารถเก็บที่อุณหภูมิห้อง

1.2.2.5 การเตรียม Lysis Buffer

เตรียมโดยการผสม 1M DTT กับ Lysis solution ในชุดสารเคมีสำเร็จรูป ในอัตราส่วน 1:100 ผสมให้เข้ากันโดยการกลับไปมา และสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้อง

1.2.3 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในเทคนิคพีซีอาร์ด้วย AmpF/STR Identifiler™ PCR

Amplification kit

1.2.3.1 เตรียม AmpF/STR PCR Reaction Mix จำนวน 10.5 x

1.2.3.2 เตรียม AmpF/STR Identifiler™ Primer Set จำนวน 5.5 x

1.2.3.3 เตรียม Ampli Tag Gold DNA Polymerase จำนวน 0.5 x

x คือ จำนวนตัวอย่างที่ทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์

1.2.4 การเตรียมสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ด้วยเครื่อง ABI Prism 310 Genetic Analyzer

1.2.4.1 เตรียม Formamide 24 x

1.2.4.2 เตรียม GeneScan™-500LIZ™ size standard 1 x

x คือ จำนวนตัวอย่างทั้งหมด

1.2.5 การใช้เครื่อง ABI Prism 310 Genetic Analyzer ในการวิเคราะห์

1.2.5.1 เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ เข้าโปรแกรม ABI Prism 310

1.2.5.2 เลือก File แล้วเลือก new จะมีไอคอนต่างๆและ ให้เลือก GeneScan™

Smpl Sheet 48 Tube จะปรากฏเป็นตาราง

1.2.5.3 ตารางช่องแรก คือ A1 ให้ใส่ชื่อ ladder

1.2.5.4 ช่องต่อไปเป็น A3 A5 A7 ให้ใส่ชื่อตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์

แล้ว Save ข้อมูลไว้

1.2.5.5 เลือก ไอคอน GeneScan™ Injection list

1.2.5.6 เลือกชื่อ Sample Sheet ที่ save ไว้ขึ้นมา

1.2.5.7 คลิก Run เครื่องเริ่มทำงาน

ภาคผนวก ค
รูปแบบดีเอ็นเอ ของประชากรไทย จำนวน 258 ตัวอย่าง

ภาคผนวก ค

รูปแบบดีเอ็นเอ ของประชากรไทย จำนวน 258 ตัวอย่าง

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Ametogenin	D5S818	FGA
1	11,13	29,31.2	8,13	11,12	16,17	9,9	8,11	12,12	21,25	15,2,16,2	14,19	8,8	16,18	X,Y	9,11	23,24
2	13,14	28,30	9,11	12,12	15,18	7,9,3	8,8	12,13	19,20	15,16,2	14,18	8,11	15,16	X,Y	11,13	18,20
3	14,14	28,28	11,13	12,12	15,16	7,9,3	8,11	11,13	20,24	14,15	14,17	8,8	15,18	X,Y	11,11	20,20
4	13,15	30,31.2	8,9	11,12	14,18	7,7	8,13	12,12	19,23	14,2,16,2	18,18	8,11	15,16	X,X	11,13	18,22
5	10,16	29,30	11,12	11,11	17,19	8,9	8,12	11,11	23,23	13,15,2	17,19	8,8	15,16	X,Y	11,11	22,23
6	11,13	29,31.2	7,11	10,10	16,16	7,9,3	9,11	9,11	17,25	14,14,2	14,17	8,9	15,15	X,Y	10,13	23,24
7	12,16	28,29	8,10	9,11	16,18	6,9	11,13	9,13	18,22	13,14	16,17	11,11	15,16	X,Y	11,12	22,24
8	10,13	29,31	11,12	10,11	16,18	6,9	8,9	9,10	17,24	14,15,2	17,18	8,8	12,14	X,Y	10,13	22,22
9	14,16	29,32.2	9,12	11,12	15,18	6,9	8,10	9,12	23,24	14,16,2	17,18	11,11	14,15	X,Y	11,13	21,23
10	10,10	30,31	8,11	10,10	15,17	8,8	8,8	10,11	17,19	14,2,16	17,18	8,9	13,15	X,Y	12,12	22,24
11	10,12	28,33.2	8,10	10,10	16,17	6,7	8,9	12,14	17,24	14,14	14,16	8,10	13,19	X,Y	10,11	23,24
12	13,14	31,32.2	10,12	10,12	16,17	6,9	10,10	9,12	18,20	13,14,2	17,19	8,11	16,16	X,Y	10,10	21,2,22
13	11,16	29,30	10,12	11,12	15,16	6,6	8,10	9,11	18,24	15,13	18,18	8,11	15,16	X,Y	10,12	23,23
14	10,13	29,33.2	8,10	12,12	16,17	6,9	8,10	11,13	20,21	13,13	17,18	8,8	15,22	X,Y	11,12	22,23
15	10,13	29,33.2	8,10	12,12	16,17	6,9	8,10	11,13	20,21	13,13	17,18	8,8	15,22	X,Y	11,12	22,23
16	13,15	28,32.2	11,11	10,10	15,16	7,7	8,11	9,11	17,22	13,15,2	16,18	8,8	15,16	X,Y	11,12	24,24
17	15,16	38,31.2	11,11	11,12	17,17	7,9	1,1,12	11,12	19,19	13,15,2	16,17	11,11	13,16	X,Y	10,11	21,23
18	10,14	30,30.2	11,11	10,12	16,17	9,9	8,11	11,11	19,23	13,2,17,2	16,17	8,11	15,18	X,Y	10,12	22,2,23

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	AmeIogenin	D5S818	FGA
19	10,15	29,33,2	12,12	10,12	13,17	6,7	9,12	11,12	17,19	12,15	18,18	8,9	15,17	X,Y	10,11	21,25
20	11,12	29,29	9,12	12,12	15,16	6,9	10,11	10,10	19,22	14,15	18,19	8,11	16,16	X,Y	10,10	20,23
21	12,12	31,2,32,2	9,11	11,11	15,15	7,9	8,13	12,12	18,20	15,2,15,2	14,14	8,9	13,17	X,Y	12,14	23,25
22	12,13	29,32,2	10,12	12,12	16,16	7,7	11,12	9,11	21,23	13,14	14,15	8,11	16,18	X,X	12,13	24,24,3
23	11,13	29,30	10,12	11,11	15,16	6,7	8,11	11,13	19,21	15,2,16,2	14,19	8,8	12,20	X,Y	12,14	19,21
24	11,11	29,32,2	11,11	10,11	15,16	7,9	9,12	9,10	17,23	15,15,2	17,23	8,8	15,17	X,Y	11,13	22,23
25	10,15	30,31,2	9,11	11,12	15,16	6,10	11,12	12,13	19,21	14,15	15,18	9,11	16,16	X,X	10,11	18,22
26	14,15	29,29	12,13	10,12	15,16	7,8	9,12	12,12	17,26	13,13	14,17	8,11	12,14	X,Y	7,10	20,22
27	14,16	31,33	11,12	9,11	16,17	7,7	8,11	9,11	19,21	13,15	16,18	8,8	13,22	X,X	11,12	20,25
28	14,16	29,33	11,22	9,10	15,16	7,7	9,11	9,12	21,26	13,15	17,18	8,8	12,22	X,Y	7,11	20,20
29	15,15	30,32,2	8,11	10,12	15,16	7,8	11,12	11,12	19,22	14,14	18,20	8,10	13,16	X,Y	7,11	23,23
30	10,15	28,30	10,10	11,12	16,17	6,7	8,12	9,11	17,19	13,13	14,14	8,8	13,19	X,X	10,13	19,25
31	11,15	30,31	8,12	12,12	16,18	6,9	8,10	11,12	24,24	13,14,2	14,17	8,9	15,16	X,Y	11,12	21,22
32	12,13	30,31	10,11	12,12	14,16	6,8	8,9	11,12	23,24	13,14	14,20	8,11	13,14	X,Y	10,13	23,23
33	10,15	28,32,2	8,11	10,11	15,15	7,8	10,12	11,12	20,23	14,2,15,2	19,19	8,8	11,14	X,Y	11,11	21,23
34	13,15	32,2,32,2	11,13	12,12	14,16	6,7	8,11	9,11	23,24	14,14	14,17	8,8	15,16	X,Y	10,11	21,22
35	13,15	30,32,2	10,11	11,12	15,17	7,9	11,11	11,12	19,25	13,13,2	17,18	8,11	14,16	X,Y	11,13	19,21
36	14,16	29,30	8,11	11,12	16,16	9,9	8,11	11,13	17,19	14,15	14,17	8,11	15,15	X,Y	9,13	19,20
37	12,16	31,2,32,2	11,12	10,11	16,17	9,9	10,11	9,12	19,24	13,15	18,19	8,11	15,15	X,Y	12,13	29,23
38	14,16	29,33	11,12	9,10	15,16	7,7	9,11	9,12	21,26	13,15	17,18	8,8	12,22	X,Y	7,11	20,20
39	13,16	29,31	10,11	12,13	16,17	7,9	11,12	11,12	16,25	12,13	14,16	8,9	13,18	X,Y	11,12	21,24

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
40	11,12	29,30,2	11,11	10,12	15,16	8,9	10,11	9,9	19,25	12,14,2	14,19	8,11	18,20	X,X	11,12	18,22
41	10,12	30,2,31	10,10	12,12	15,17	9,9,3	8,12	11,11	17,19	13,14	14,16	8,11	13,14	X,Y	11,13	19,24
42	11,15	30,34,2	9,12	11,12	16,18	6,10	9,12	12,13	20,21	13,14	15,17	11,11	16,17	X,X	18,22	21,22
43	14,16	30,31	11,12	11,12	15,16	7,9,3	9,11	11,12	19,25	12,16,2	16,18	8,8	12,15	X,X	12,12	20,21
44	13,14	29,30	10,12	10,11	15,17	7,9	8,8	10,13	17,23	13,15,2	18,19	8,11	14,16	X,Y	7,10	20,22
45	10,13	29,29	7,12	11,11	16,18	8,9	11,13	11,14	19,19	13,14	17,18	11,11	14,15	X,Y	10,11	21,25
46	11,13	32,2,32,2	10,12	12,12	15,16	9,9,3	8,10	9,10	19,19	13,14	17,18	8,8	16,21	X,Y	10,12	23,23
47	12,15	29,33,2	11,11	11,12	15,16	6,9	10,11	11,13	18,19	13,2,15,2	14,17	8,8	15,21	X,Y	10,11	24,25
48	14,14	29,31,2	8,11	12,12	15,15	9,9	8,11	10,12	22,23	14,15	17,18	8,8	15,21	X,Y	11,13	24,26
49	14,14	31,2,34,2	8,10	10,12	15,17	7,9	8,11	10,11	24,24	13,15	14,16	8,11	15,16	X,Y	10,12	22,24,2
50	11,14	31,31,2	8,12	11,12	17,17	8,10	11,11	10,12	19,19	13,14,2	14,19	8,12	15,17	X,Y	9,11	24,2,25
51	13,15	29,29	11,11	12,14	16,17	8,9	9,10	11,12	23,24	14,14	14,18	8,9	13,21	X,Y	10,11	23,24
52	14,15	29,31,2	8,10	11,12	16,17	9,9	9,11	12,12	17,24	9,13	14,17	8,8	12,14	X,Y	12,12	21,24
53	12,14	29,32,2	7,12	10,12	14,16	9,9	8,8	12,12	19,20	13,15,2	14,14	8,11	12,19	X,Y	10,10	21,26
54	11,12	29,32,2	9,10	10,12	16,17	7,9	9,11	10,11	17,19	14,15,2	14,19	11,11	15,15	X,Y	10,11	19,22
55	10,12	30,30	8,9	10,11	16,16	9,9	8,8	12,12	19,19	13,16,2	17,18	8,11	14,17	X,Y	10,13	23,25
56	13,15	29,30	11,11	10,12	15,16	7,9	8,11	9,11	20,21	19,14	15,18	8,9	16,20	X,Y	7,12	18,23
57	14,15	30,34,2	8,8	10,12	16,16	9,9,3	8,8	11,12	20,23	12,2,14	14,19	8,11	12,16	X,Y	10,11	21,23
58	12,14	29,30	8,10	10,12	12,15	7,7	9,11	12,12	19,23	13,14	18,19	10,10	14,14	X,Y	10,11	23,24
59	13,15	28,33	8,12	10,11	16,17	6,7	8,10	11,14	23,23	13,15	17,18	11,11	15,16	X,Y	11,12	21,23
60	12,15	28,30	11,11	11,12	15,17	9,9	9,12	9,9	21,24	13,14,2	17,18	8,8	15,16	X,Y	11,13	21,23

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSFIPO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
61	10,12	30,30.2	11,12	10,13	17,17	7,8	8,12	9,11	9,21	14,14	17,18	8,8	13,15	X,Y	12,14	22,22
62	10,10	30,30	8,12	11,12	15,17	9,9	8,8	11,12	18,20	13,2,15.2	14,19	9,11	15,17	X,X	11,13	20,22
63	14,16	31,2,32	9,10	12,13	15,16	7,7	10,12	9,12	19,24	14,15.2	14,18	11,11	14,17	X,X	10,10	22,24
64	11,14	31,31	11,12	9,12	16,16	7,9	8,9	12,12	19,22	14,14	17,17	8,11	14,16	X,X	10,10	22,26
65	12,15	31,32.2	11,13	11,12	15,18	7,10	8,13	11,13	17,23	14,2,15.2	14,19	8,8	16,20	X,Y	10,13	23,25
66	10,11	29,31.2	8,13	11,12	17,18	9,9	11,12	9,12	23,23	14,15.2	14,19	8,11	12,16	X,Y	12,13	21,22
67	11,14	30,32.2	11,12	11,11	16,16	7,9	8,8	10,12	19,24	12,14	14,16	8,10	13,15	X,Y	13,14	22,24
68	13,13	29,33.2	11,12	12,12	15,18	6,9	9,11	8,9	19,20	12,15.2	16,19	8,9	13,16	X,Y	10,13	21,23
69	14,15	29,30	8,8	10,12	15,17	9,10	10,11	10,11	17,22	13,2,14.2	17,19	8,9	13,13	X,Y	13,13	22,23
70	10,11	29,31.2	8,13	11,12	17,18	9,9	11,12	9,12	23,23	14,15.2	14,19	8,11	12,16	X,Y	12,13	21,22
71	11,14	30,32.2	11,12	11,11	16,16	7,9	8,8	10,12	19,24	12,14	14,16	8,10	13,15	X,Y	13,14	22,24
72	13,13	29,33.2	11,12	12,12	15,18	6,9	9,11	8,9	19,20	12,15.2	16,19	8,9	13,16	X,Y	10,13	21,23
73	14,15	29,30	8,8	10,12	15,17	9,10	10,11	10,11	17,22	13,2,14.2	17,19	8,9	13,13	X,Y	13,13	22,23
74	11,11	31,2,32	10,12	10,11	15,16	7,9	10,11	13,13	19,19	13,15.2	17,18	8,9	14,16	X,X	10,11	21,22
75	10,14	31,2,33.2	10,11	10,11	15,18	7,9	8,11	10,12	19,20	13,14.2	16,19	8,11	14,15	X,Y	10,13	22,23
76	10,16	31,32.2	11,11	12,12	13,15	6,7	8,8	11,12	19,24	13,14	16,18	10,11	14,15	X,X	10,10	21,22
77	8,16	28,30	10,10	11,13	16,17	7,8	12,12	11,12	20,21	13,16	16,18	8,9	15,15	X,Y	9,12	22,22
78	15,15	30,32.2	11,11	11,13	17,17	7,9,3	9,12	13,13	17,22	13,13	17,17	8,11	15,17	X,Y	11,12	19,25
79	13,14	30,2,31	8,8	11,11	16,17	9,9,3	9,9	10,13	19,20	14,16	14,14	8,8	12,13	X,Y	10,11	23,25
80	10,15	30,30.2	10,10	10,12	14,17	6,9,3	10,13	9,12	19,19	14,14	16,17	9,9	12,14	X,X	12,12	19,22
81	15,15	28,33.2	10,11	11,12	15,17	7,9,3	11,13	9,12	23,24	14,15.2	17,17	8,8	14,16	X,Y	10,11	21,23

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
82	10,13	30,31.2	10,10	9,10	15,16	7,7	10,12	8,11	19,19	13,15	14,17	11,11	12,15	X,Y	11,11	22,26
83	13,14	29,30	8,8	10,12	15,18	6,7	8,12	12,12	20,25	14,2,15.2	18,19	9,11	13,15	X,Y	10,13	22,24
84	12,13	29,31	11,11	11,11	16,17	8,9	8,11	11,12	17,21	13,14	14,17	8,11	13,17	X,X	10,11	19,23.2
85	12,16	30,33.2	11,12	11,13	16,16	9,9	8,12	9,9	16,20	16,2,16.2	14,14	8,8	13,14	X,X	11,12	19,24
86	12,15	31,32.2	11,13	11,12	15,18	7,10	8,13	11,13	17,23	14,2,15.2	14,19	8,8	16,20	X,Y	10,13	23,25
87	13,14	29,30	11,11	10,12	16,17	6,7	8,10	10,11	17,19	12,13	14,18	11,11	12,15	X,Y	10,13	23,24
88	11,13	30,32.2	8,12	11,12	15,18	7,10	11,12	11,13	24,26	14,15.2	18,19	9,11	16,22	X,Y	10,13	19,25
89	10,14	30,32.2	11,11	10,12	17,17	9,9	11,12	11,14	17,20	13,14.2	15,18	8,10	14,16	X,Y	12,12	23,23
90	10,13	30,32.2	8,10	7,11	17,17	6,9	9,11	11,12	19,23	13,14	16,16	8,9	14,20	X,Y	11,13	18,24
91	12,14	28,32.2	11,11	11,13	15,15	9,9	10,13	12,12	19,23	12,2,14	16,17	8,8	15,16	X,X	10,13	21,24
92	12,15	30,32.2	11,11	11,12	15,17	7,9	8,13	12,13	19,22	14,15.2	17,18	8,11	15,16	X,Y	10,11	19,24
93	13,13	29,33.2	10,10	10,12	14,15	9,9.3	11,12	9,12	24,26	13,14	16,17	11,11	13,13	X,Y	12,13	21,25
94	10,10	30,31.2	9,12	10,12	15,16	6,7	8,10	9,11	19,24	13,15.2	17,18	8,8	14,15	X,Y	12,12	23,25
95	13,15	28,33.2	8,10	11,11	15,16	9,9	8,12	10,11	18,23	14,14.2	16,17	8,8	14,16	X,Y	10,11	23,25
96	11,15	29,32.2	8,11	10,11	15,16	7,9	8,11	10,12	20,20	14,15.2	14,18	8,10	14,20	X,Y	11,11	21,23
97	13,13	30,30	10,11	10,10	13,17	7,7	8,11	9,12	19,23	13,15	16,18	10,10	13,17	X,Y	11,13	21,23
98	13,15	29,29	10,11	12,12	15,15	7,7	8,8	10,13	17,20	14,15	16,19	8,8	15,15	X,Y	10,12	22,23
99	10,14	30,32.2	10,11	11,12	14,15	7,9	8,8	11,12	19,22	14,2,15	14,18	10,11	15,18	X,X	11,12	23,24
100	10,16	31,34.2	10,10	11,12	15,16	8,10	9,11	9,10	18,20	14,15.2	16,17	8,9	13,20	X,X	10,12	19,22
101	12,12	30,32.2	11,12	12,12	17,18	9,9.3	8,10	8,11	17,23	13,14.2	14,14	8,11	14,15	X,Y	10,12	22,25.2
102	12,15	30,31.2	8,10	12,12	14,16	7,9	8,12	12,12	19,24	12,14	15,17	9,9	15,17	X,Y	10,12	23,24

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
103	10,11	29,30	10,11	10,11	15,15	7,7	9,11	11,12	17,21	13,14	14,14	8,8	15,18	X,Y	10,10	21,22
104	11,13	31,2,34,2	11,11	10,10	15,17	7,9,3	11,12	11,12	19,22	13,14,2	14,17	8,8	14,14	X,Y	7,13	23,24
105	14,14	30,31,2	8,12	11,12	14,16	7,10	8,9	9,11	19,19	13,13,2	14,20	8,11	16,17	X,Y	11,12	21,22
106	12,15	29,31,2	9,11	11,11	15,15	7,9	11,12	10,12	19,24	13,15,2	14,20	8,8	17,17	X,Y	11,11	20,25
107	11,15	30,31	8,12	12,12	16,18	6,9	8,10	11,12	24,24	13,14,2	14,17	8,9	15,16	X,Y	11,12	21,22
108	13,14	29,31	11,12	11,11	16,17	7,9	9,12	9,11	17,22	12,13	15,18	8,10	16,18	X,Y	11,11	23,26
109	10,15	29,32,2	11,12	12,12	12,14	6,9	7,8	11,11	19,21	14,14,2	15,19	8,9	15,16	X,Y	10,15	23,25
110	10,12	30,32,2	11,11	11,12	15,16	9,10	12,14	11,12	19,19	12,18,2	14,16	9,11	12,20	X,Y	12,13	23,24
111	15,15	29,31	11,12	9,11	15,17	7,9	10,11	12,12	17,22	15,15,2	16,17	8,11	14,17	X,Y	10,12	19,24
112	11,11	29,30	10,12	11,11	16,17	9,9	10,11	9,11	20,23	14,14,2	17,19	8,8	16,16	X,Y	10,13	20,24
113	11,16	29,30	8,11	10,11	15,16	7,10	9,10	11,12	19,25	14,2,15,2	16,17	8,9	15,16	X,Y	10,12	23,26
114	11,13	29,32,2	10,12	9,10	16,16	7,9	10,11	11,11	20,24	13,14,2	14,19	11,11	16,16	X,Y	10,12	21,2,25
115	15,15	28,29	8,10	10,11	15,15	9,3,10	8,12	11,12	19,20	12,2,13	14,17	9,9	17,19	X,Y	10,10	22,24
116	11,13	29,30	8,11	11,12	16,17	7,7	10,11	9,13	17,25	13,14	14,18	8,8	12,17	X,Y	9,12	19,22
117	10,11	29,32,2	10,11	11,12	16,19	9,10	8,10	10,12	20,20	12,15,2	14,20	8,9	16,17	X,x	10,13	22,23
118	10,14	28,33,2	10,11	12,12	15,17	9,10	9,12	11,12	19,19	13,16,2	14,17	8,8	14,19	X,X	11,11	23,25
119	10,12	29,32,2	11,11	10,11	16,17	6,7	8,12	9,13	17,19	13,14	17,20	8,8	14,16	X,Y	13,14	22,23
120	11,15	30,30	8,9	10,11	16,16	7,9	8,12	10,12	19,19	14,14,2	14,14	8,9	14,20	X,Y	10,11	20,25
121	13,14	30,33,2	8,9	11,11	15,15	7,10	11,12	10,13	22,24	13,13	16,16	8,11	14,15	X,X	11,11	22,25
122	13,14	28,32,2	8,12	11,11	16,16	6,8	8,12	10,13	17,23	14,2,15	14,17	11,11	15,16	X,Y	10,11	21,22
123	10,11	30,2,30,2	8,12	11,13	15,16	6,8	11,12	10,13	19,23	15,15	16,17	8,11	14,15	X,Y	11,12	21,22

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
124	13,15	30,32.2	11,12	10,11	15,17	7,9	8,12	9,11	19,25	13,13	14,17	9,11	15,16	X,Y	11,11	21,21
125	11,13	29,30	11,11	10,11	14,19	7,7	8,12	10,12	19,23	13,15	17,17	8,11	15,21	X,Y	9,10	24,24
126	12,15	28,30	11,11	12,13	16,16	6,8	11,11	9,11	19,20	12,13.2	17,17	9,11	14,16	X,Y	10,12	23,23
127	14,15	28,30	12,12	10,11	15,17	9,9.3	8,8	9,9	19,21	14,15	16,17	8,8	17,22	X,Y	7,10	23,23
128	10,10	30,30	10,12	11,13	15,15	9,9	11,11	10,11	20,20	13,14	14,18	8,9	12,16	X,Y	12,13	19,22
129	11,15	30,31.2	9,13	11,12	17,17	8,9	8,8	10,11	19,24	13,15.2	14,19	8,11	13,16	X,Y	12,12	20,22
130	11,11	29,29	10,12	11,12	15,16	7,10	8,11	10,12	19,20	12,15	17,20	8,9	15,17	X,Y	12,13	21,22
131	10,15	29,30.2	10,11	10,11	17,17	6,7	8,11	10,13	17,19	13,15	17,17	8,11	14,15	X,X	12,13	19,23
132	13,14	30,32.2	11,11	12,12	15,17	9,9	8,9	9,13	17,18	13,13	14,18	8,11	13,15	X,Y	11,12	23,24
133	11,13	29,30	9,11	11,11	16,16	7,9.3	8,11	10,10	19,19	14,16	14,14	8,9	14,16	X,Y	13,13	22,23
134	11,14	29,30	10,10	11,12	16,16	9,3,9.3	11,12	12,12	19,24	13,2,14	14,18	8,11	14,16	X,Y	10,13	25,25
135	11,16	28,29	8,10	12,12	15,15	7,9	8,9	11,13	17,21	13,15.2	14,16	9,10	15,15	X,X	7,9	19,24
136	10,13	28,29	8,10	11,11	15,17	6,7	8,11	9,11	23,23	14,14	18,18	8,11	15,15	X,Y	11,13	24,25
137	10,12	32,2,33.2	9,11	11,12	16,17	7,7	9,11	9,11	22,24	13,2,15	17,18	8,9	15,15	X,Y	10,13	22,22
138	12,14	30,30	8,10	7,11	15,17	8,9	10,12	9,10	20,24	14,14	14,19	8,8	12,15	X,Y	11,12	21,24
139	13,14	31,2,32.2	8,14	11,11	14,15	7,9.3	8,11	13,13	17,20	14,15	16,19	8,8	13,13	X,Y	11,11	24,24.2
140	11,15	29,30	8,10	10,10	16,17	7,9	8,8	11,11	23,24	14,2,15	14,18	8,9	13,15	X,X	13,13	21,22
141	10,14	29,33.2	12,12	12,2	16,17	7,9	8,8	11,12	18,24	13,14.2	18,18	11,11	13,17	X,X	9,10	20,25
142	10,13	29,31.2	10,11	11,12	15,16	9,9	9,11	12,12	21,22	13,13	18,18	8,8	13,14	X,Y	12,13	19,20
143	11,18	32,2,32.2	11,12	11,12	16,18	8,9	10,11	10,12	17,24	13,13	16,18	8,11	12,15	X,X	10,12	22,22.2
144	12,14	29,30	8,11	10,12	17,17	7,9	8,10	11,13	18,22	13,2,15	16,17	9,11	15,15	X,Y	11,11	21,24

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
145	10,11	29,32	11,12	10,11	15,16	9,9	8,9	11,12	18,19	14,2,15,2	15,19	8,8	16,19	X,Y	11,12	19,21
146	14,16	28,28	9,11	11,12	16,17	7,9,3	8,11	10,12	17,20	14,15,2	17,17	8,8	14,15	X,Y	10,11	23,2,25
147	15,17	29,30,2	11,12	12,12	17,17	8,9	10,12	9,12	23,25	13,15,2	14,16	9,11	14,16	X,Y	10,10	23,23
148	10,14	32,2,32,2	11,13	11,13	15,16	8,9	8,11	12,12	19,23	13,16	15,18	9,9	13,13	X,X	11,13	23,25
149	13,16	30,30	10,13	11,12	16,16	6,10	11,13	11,11	17,19	14,14	16,17	8,8	11,14	X,Y	12,14	16,23
150	10,15	30,30	8,10	12,12	16,16	9,9	12,12	9,12	21,26	12,12	17,17	8,8	17,20	X,Y	11,13	22,24
151	12,15	29,30	10,10	11,12	15,16	8,9,3	11,11	9,10	17,22	13,15,2	14,14	8,8	13,15	X,Y	11,16	23,25
152	13,16	30,2,33,2	10,10	11,13	15,17	6,9	11,12	9,11	24,24	12,15,2	14,18	8,11	13,14	X,Y	11,11	22,22
153	14,15	30,32	10,11	12,12	16,17	8,9	8,8	10,12	18,23	13,15,2	14,18	8,9	13,15	X,Y	7,13	20,21
154	11,11	30,33,2	9,12	11,12	14,17	8,9	11,11	11,12	18,24	12,14,2	16,18	9,11	18,19	X,Y	10,11	20,24
155	11,15	29,30	11,11	11,12	14,15	9,9	12,12	9,12	20,25	16,16,2	19,19	8,9	14,16	X,Y	10,11	22,24
156	12,15	30,31,2	8,10	10,12	15,16	7,7	9,11	10,11	17,21	13,16,2	16,17	8,11	14,15	X,Y	10,12	22,23
157	14,15	29,32,2	8,11	10,10	16,18	9,9	8,9	11,13	19,23	14,14	17,18	8,9	13,16	X,X	11,12	22,22
158	13,14	30,31,2	9,11	11,12	15,16	7,7	8,10	11,14	18,23	13,13,2	16,17	8,11	13,14	X,Y	13,13	19,24
159	10,15	28,32,2	11,13	12,12	15,17	8,9	9,11	9,11	17,23	14,15,2	16,17	9,11	13,18	X,Y	11,11	18,24
160	11,13	32,2,32,2	11,12	11,12	17,18	9,3,9,3	12,12	8,12	19,22	14,15,2	16,18	8,10	14,15	X,Y	12,13	23,26
161	10,11	32,2,33,2	8,11	9,13	15,17	9,10	9,11	9,12	18,23	13,14	14,17	8,11	12,15	X,Y	10,12	21,2,22
162	11,13	32,2,32,2	11,12	11,12	17,18	9,3,9,3	12,12	8,12	19,22	14,15,2	16,18	8,10	14,15	X,Y	12,13	23,26
163	10,16	30,30	8,12	10,11	15,16	7,7	8,13	11,12	17,20	13,2,14,2	18,19	8,12	12,17	X,X	10,11	22,24
164	11,13	31,2,32,2	10,11	11,13	17,18	9,10	8,9	11,13	21,24	14,14,2	14,16	8,11	16,17	X,X	11,12	24,24
165	10,10	29,31,2	12,13	11,12	16,16	7,7	8,8	8,11	18,23	14,15,2	17,19	8,8	16,18	X,Y	13,13	23,23

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
166	10,13	29,32,2	11,12	10,13	16,18	6,10	9,12	11,12	19,24	13,15,2	14,17	11,11	12,14	X,Y	10,11	22,24
167	13,13	29,30	11,12	12,12	16,18	6,10	8,9	12,13	20,23	13,2,14	14,21	11,11	12,14	X,X	12,12	20,22
168	10,11	30,33,2	9,11	10,11	15,15	9,9	9,10	12,12	18,19	15,2,15,2	17,18	8,8	15,15	X,Y	12,12	23,23
169	14,15	30,31	10,13	10,11	15,16	8,9,3	12,14	11,12	19,19	15,15	16,19	8,11	12,13	X,Y	11,13	21,21
170	14,14	28,30	8,11	11,12	16,17	7,9,3	13,14	8,12	23,23	14,15,2	17,19	8,11	13,17	X,Y	10,11	20,21
171	12,13	31,2,32,2	11,12	10,14	17,17	7,10	8,12	12,12	17,23	13,13	14,18	8,11	12,19	X,Y	10,10	23,25
172	11,14	29,29	10,11	12,12	16,17	9,9	9,11	9,12	19,23	14,14,2	17,18	5,8	12,20	X,Y	11,13	23,24,2
173	13,13	28,32,2	8,11	10,12	16,16	7,7	9,9	11,12	19,25	13,13,2	16,18	8,11	13,15	X,Y	11,12	22,23
174	10,11	31,2,31,2	11,12	10,13	15,15	9,3,9,3	8,9	10,12	24,25	14,14,2	17,18	8,8	11,19	X,Y	11,12	22,22
175	13,13	28,29	10,11	11,12	15,17	7,9	8,8	9,12	19,19	15,2,15,2	16,17	8,9	14,17	X,X	10,12	21,23
176	10,11	30,30	11,13	11,12	13,16	7,9	8,10	9,11	18,24	13,14	16,19	8,9	15,16	X,Y	12,14	22,23
177	12,14	30,33,2	9,13	10,11	17,18	6,6	8,10	12,13	17,23	14,15,2	14,18	8,10	15,16	X,Y	10,13	22,23
178	11,14	30,31	8,12	12,12	16,18	7,9	8,8	9,12	19,19	13,14	15,16	11,11	14,15	X,Y	10,10	18,23
179	13,15	28,28	8,9	10,11	15,17	9,9	8,11	12,12	23,24	13,14	16,17	8,8	13,14	X,Y	12,14	20,26
180	13,15	31,2,32	8,11	12,13	15,16	7,7	8,8	11,12	18,23	13,13	17,17	10,11	13,17	X,Y	10,11	22,25
181	11,13	29,32,2	11,11	11,12	16,18	9,10	10,11	10,11	19,24	13,13	14,16	8,8	11,13	X,X	10,11	19,25
182	12,15	30,33,2	11,11	10,12	15,15	8,9	11,14	10,12	23,24	12,16,2	17,18	8,12	14,15	X,Y	11,13	22,24
183	14,14	30,32,2	11,11	12,13	16,19	6,7	11,13	9,14	19,21	13,13	16,16	9,11	17,18	X,Y	10,10	21,2,22
184	10,14	30,32,2	9,11	10,12	15,16	7,9	12,12	9,11	19,24	13,15	14,14	8,9	16,17	X,Y	10,13	19,24
185	13,15	29,32,2	8,11	12,13	16,18	6,7	11,12	9,11	20,21	15,2,15,2	17,18	8,11	12,14	X,Y	10,13	21,22
186	16,16	30,32,2	8,10	10,11	16,16	7,9	8,11	11,12	19,23	13,14	14,19	8,11	14,16	X,Y	10,10	22,25

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
187	14,16	30,30	11,12	9,12	15,16	7,10	11,12	9,12	20,23	13,15,2	14,14	8,11	14,16	X,Y	11,13	17,23,2
188	10,13	29,30	12,13	10,11	15,16	7,9	9,11	10,12	18,23	13,16	14,17	8,11	13,14	X,X	11,13	19,24
189	15,15	21,32,2	8,10	11,11	15,18	7,9,3	10,11	10,12	18,21	12,14	16,18	9,11	15,19	X,X	11,11	22,22
190	13,14	31,32,2	11,11	10,12	16,16	9,12	8,11	11,12	18,19	14,14,2	18,18	8,9	15,16	X,Y	9,13	21,2,27
191	10,10	29,30	11,11	10,11	15,15	8,9	8,12	11,13	19,20	14,14,2	14,17	8,8	14,16	X,Y	9,11	21,23,2
192	11,15	31,31	11,12	11,12	16,17	7,9	9,11	9,9	18,24	13,15	19,19	8,11	15,19	X,Y	10,13	21,22
193	11,15	29,32,2	8,8	9,12	17,18	9,9,3	9,9	9,11	17,17	14,15	14,18	8,11	12,15	X,X	7,12	21,24
194	14,14	30,31,2	9,10	11,12	16,18	7,9	11,11	9,10	20,24	14,15	14,17	8,8	14,15	X,Y	10,11	23,25
195	15,17	32,2,32,2	10,12	10,11	16,18	9,10	8,10	10,11	24,24	13,13	17,18	10,11	13,13	X,Y	10,11	19,22
196	11,14	29,33,2	12,12	12,13	16,17	7,7	8,12	10,13	24,25	13,14	14,16	8,8	14,16	X,Y	11,12	18,23
197	10,10	29,30,2	8,11	12,12	15,17	7,9	8,12	11,12	20,24	12,2,13	14,14	8,8	14,17	X,Y	11,12	23,24
198	14,17	28,29	10,11	11,11	15,16	7,10	8,12	10,13	22,23	13,15,2	14,18	8,9	13,15	X,X	10,12	24,25
199	10,13	31,2,32,2	8,9	11,12	15,16	9,9	10,11	11,12	17,23	14,15	14,15	8,8	13,13	X,X	11,12	22,2,25
200	12,14	29,31,2	9,1,11	12,12	15,18	6,7	8,11	10,12	20,23	13,2,15,2	14,17	8,8	14,15	X,X	9,13	22,22
201	10,11	29,30	7,12	10,12	14,17	9,9	8,11	9,12	20,23	13,14	16,16	8,11	16,16	X,X	10,10	19,21
202	13,14	32,32,2	8,8	10,13	16,16	9,9,3	8,11	11,13	20,24	14,2,15	14,15	8,11	15,16	X,X	11,11	20,22
203	12,15	32,2,33,2	10,11	11,11	14,16	6,9	11,12	9,11	17,23	12,13	14,16	8,11	14,15	X,X	10,12	21,25
204	11,13	30,32,2	10,11	12,12	17,17	6,9	9,12	11,11	20,23	13,14,2	17,18	8,12	15,16	X,X	12,12	21,23
205	11,13	30,32,2	10,11	12,12	17,17	6,9	9,12	11,11	20,23	13,14,2	17,18	8,12	15,16	X,X	12,12	21,23
206	12,13	29,30	8,10	10,11	15,15	9,10	8,11	9,10	22,24	14,2,15	16,16	8,11	12,13	X,X	11,13	20,23
207	14,16	29,30	8,10	9,12	16,16	6,7	11,12	11,12	18,23	13,14,2	15,18	8,8	14,15	X,X	11,13	23,25

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
208	11,12	30,32,2	11,11	11,11	16,16	6,8	8,8	9,12	19,23	14,15,2	17,20	9,9	12,16	X,X	11,13	21,24
209	10,11	30,30,2	11,12	11,12	15,17	6,7	13,13	12,14	19,21	12,14,2	14,17	8,11	14,16	X,X	11,12	21,23
210	12,13	29,30	8,10	10,11	15,15	9,10	8,11	9,10	22,24	14,2,15	16,16	8,11	12,13	X,X	11,13	20,23
211	11,15	29,32,2	8,8	9,12	17,18	9,9,3	9,9	9,11	17,17	14,15	14,18	8,11	12,15	X,X	7,12	21,24
212	10,17	28,29	11,11	12,12	15,18	7,9	8,8	9,12	18,19	14,2,16,2	15,16	8,8	14,14	X,X	9,10	22,24
213	11,12	28,29	11,11	10,12	15,18	6,7	9,11	10,11	19,23	14,15,2	16,18	8,11	15,17	X,X	9,10	21,21
214	10,14	29,32,2	10,10	10,12	15,17	6,7	8,11	12,12	21,24	14,14	16,18	8,8	15,17	X,X	10,11	25,25
215	11,17	29,33,2	10,11	12,13	15,18	6,7	8,12	9,11	17,18	13,16	14,17	9,11	13,15	X,X	9,13	19,23
216	13,16	29,32,2	11,11	11,12	16,18	6,9	11,11	10,13	19,24	12,2,14	14,16	8,8	12,16	X,X	13,13	20,22
217	14,17	28,29	10,11	11,11	15,16	7,10	8,12	10,13	22,23	13,15,2	14,18	8,9	13,15	X,X	10,12	24,25
218	14,15	29,31	8,11	12,13	17,17	7,7	10,11	10,12	19,23	13,13	15,19	8,9	13,14	X,X	11,11	20,25
219	13,14	30,2,31	11,13	12,12	15,15	7,8	8,11	11,12	21,23	13,14	16,18	8,11	14,14	X,X	10,12	22,21
220	10,16	31,32	11,11	11,12	15,16	7,9	10,11	9,10	19,20	14,16,2	17,18	8,11	13,16	X,X	13,14	21,24,2
221	11,12	29,31	10,11	10,12	16,17	9,9	8,11	9,10	19,21	13,2,14,2	17,18	11,11	16,17	X,X	12,12	21,24
222	15,16	30,30	8,9	12,12	15,15	7,9	11,11	12,12	18,24	13,2,24	17,18	8,8	13,14	X,X	12,13	22,23
223	10,16	30,32,2	11,12	11,12	15,15	6,7	11,11	10,11	23,25	14,14	14,18	8,11	13,17	X,X	7,13	24,25
224	13,15	27,30	12,14	10,11	16,18	8,9	11,11	12,14	19,23	13,15,2	15,17	8,8	16,18	X,X	11,13	23,26
225	10,11	31,32,2	12,13	12,12	16,17	7,9	11,12	12,13	19,20	15,15,2	14,17	8,9	13,16	X,X	11,12	21,22,2
226	13,13	28,32,2	11,11	10,12	16,16	7,7	10,11	10,14	20,22	13,13	16,19	8,11	14,16	X,X	7,11	22,27
227	11,16	30,30	10,11	10,11	14,17	7,9,3	8,12	11,11	19,24	14,16,2	15,16	8,11	12,14	X,X	9,13	24,25
228	10,16	29,31	10,12	10,10	15,15	6,9	8,10	9,12	22,25	13,13	17,17	8,11	15,16	X,X	11,13	21,23

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
229	12,15	31,2,34,2	8,11	11,12	14,17	9,9,3	8,10	11,12	21,24	15,2,15,2	14,18	8,11	14,16	X,X	10,11	22,22
230	12,12	30,31	11,12	12,12	15,17	7,7	8,10	9,11	18,24	14,15	17,18	11,11	13,14	X,X	12,12	22,23
231	13,13	30,32,2	8,12	12,13	17,17	6,9	9,12	11,11	17,24	14,2,15,2	14,17	8,9	14,16	X,X	9,10	21,23
232	12,15	29,30	10,12	10,12	16,17	9,10	8,9	11,12	24,24	12,14	14,17	8,8	13,18	X,X	11,13	21,22
233	12,15	28,32,2	8,8	9,10	16,18	9,9	8,10	11,11	22,24	13,13	16,19	8,8	13,15	X,X	12,12	23,24
234	14,15	30,33,2	9,12	10,12	16,17	6,9	8,9	9,12	19,23	13,17,2	17,18	8,10	11,12	X,X	10,13	19,19
235	13,13	30,30	8,11	11,12	16,17	7,9,3	8,10	11,12	19,20	15,2,16	16,18	8,8	13,16	X,X	10,11	22,2,23
236	12,13	29,32,2	9,11	10,11	14,16	8,9	10,13	11,11	17,17	13,13	14,19	8,9	14,16	X,X	11,12	22,24
237	12,15	30,30	8,11	11,12	15,15	7,7	8,12	10,11	19,23	13,2,15,2	15,20	8,8	12,16	X,X	12,12	20,25
238	11,15	30,30,2	8,11	10,12	17,18	6,9	10,13	10,12	23,23	13,17,2	18,20	8,9	13,15	X,X	11,11	22,25
239	14,14	29,33	10,10	10,12	15,16	7,8	8,10	10,11	18,19	13,14	14,17	8,8	14,17	X,X	10,12	18,19
240	14,15	30,31,2	11,12	12,12	15,15	7,9	8,11	9,12	20,20	14,16,2	15,19	9,11	12,13	X,X	12,13	22,25
241	14,14	29,33,2	11,12	11,11	15,16	7,9	10,11	9,11	19,24	13,16,2	14,17	8,8	13,14	X,X	11,12	20,23
242	11,14	30,31,2	8,10	10,10	16,17	6,6	8,12	10,12	19,23	14,16,2	14,18	8,8	14,27	X,X	10,13	20,21
243	13,15	29,32,2	10,11	11,12	12,16	9,9	8,11	10,12	24,25	13,15,2	17,19	8,8	15,20	X,X	12,13	22,23
244	12,13	29,31	11,11	11,11	12,13	6,8	10,11	12,14	21,23	12,14,2	14,16	8,9	16,18	X,X	10,10	23,24
245	12,13	29,29	8,11	11,12	15,16	9,9	10,12	11,13	23,23	14,15,2	14,20	11,12	14,19	X,X	10,12	19,22
246	13,14	30,2,31	11,13	12,12	15,15	7,8	8,11	11,12	21,23	13,14	16,18	8,11	14,14	X,X	10,12	22,26
247	15,15	32,34,2	10,12	10,12	14,16	8,9	8,9	10,12	19,25	13,14	14,19	8,8	13,18	X,X	12,13	21,24
248	13,14	29,32,2	11,12	10,12	15,15	9,3,9,3	11,11	11,12	19,25	13,16,2	16,17	10,11	15,20	X,X	10,11	20,25
249	12,13	29,32,2	10,10	11,11	14,16	7,9	9,9	10,12	16,23	9,14	16,18	8,11	13,16	X,X	10,11	21,21

	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	Amelogenin	D5S818	FGA
250	11,17	29,33.2	10,11	12,13	15,18	6,7	8,12	9,11	17,18	13,16	14,17	9,11	13,15	X,X	9,13	19,23
251	10,10	31,2,32.2	10,11	11,12	16,17	6,10	8,9	9,9	22,24	14,14	17,18	9,11	12,18	X,X	11,13	20,22
252	13,14	29,32.2	10,11	12,12	16,16	9,9	10,11	9,9	19,21	13,13	16,18	8,8	13,15	X,X	12,13	18,21
253	12,15	30,34.2	11,13	11,12	15,16	9,9.3	11,12	9,11	17,20	13,14	14,14	10,10	12,15	X,X	10,13	21,26
254	10,15	29,29	10,11	12,13	15,17	7,7	8,8	12,12	19,23	13,15.2	17,17	8,12	12,15	X,X	11,14	21,21
255	10,15	30,31.2	10,11	12,13	15,16	9,9	11,11	9,11	19,19	14,14	17,19	8,9	16,17	X,X	12,13	18,24.2
256	11,15	31,32.2	8,10	11,12	15,17	7,10	8,12	10,11	16,23	13,15	14,17	8,9	15,15	X,X	12,13	22,25
257	10,14	29,30	8,13	10,11	15,17	7,9	8,9	8,10	19,23	13,15.2	14,14	8,8	14,20	X,X	9,14	25,27
258	12,12	28,30	8,10	9,12	16,16	8,9	11,11	12,13	17,18	14,16	15,19	8,11	15,18	X,X	11,12	23,24

ภาคผนวก ง
ผลงานที่เผยแพร่

ภาคผนวก ง
ผลงานที่เผยแพร่

ความถี่ของยีนและค่าทางสถิติของ 15AmpF/STR Identifiler loci ของประชากรไทย

ALLELE FREQUENCIES AND STATISTIC VALUES OF THE 15 AMPF/STR
IDENTIFILER LOCI IN THAI POPULATION

วิมลธรา คำศรี¹, แววกาญจน์ ดวงชาตม², อรัญญา พิมพ์มงคล¹, บรรทม สุระพร³, นิชาร์ตน์
สวาสดิพันธ์¹,

Wimonthara Kumsri, Weawgarn Duangshatome, Aranya Pimmongkol, Banthom Suraporn and
Nicharat Swasdipan

¹Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubonratchatani University,
Ubonratchatani, 34190, Thailand.

²DNA and Biological examination section, Scientific crime detection division, Office of forensic,
Royal Thai Police.

³Department of Mathematics and Computer Science, Faculty of Science, Ubonratchatani
University, Ubonratchatani, 34190, Thailand.

บทคัดย่อ: ความถี่ของยีน 15AmpF/STR Identifiler loci (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 และ FGA) จากตัวอย่างประชากรในประเทศไทยที่ไม่มีความสัมพันธ์กันทางสายเลือดจำนวน 258 คน มีความสอดคล้องกับ Hardy-Weinberg equilibrium ยกเว้นตำแหน่ง D21S11 ลักษณะความถี่ของยีนและค่าทางสถิติของกลุ่มตัวอย่างดังกล่าว มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะใช้เป็นตัวแทนของประชากรในประเทศไทย อีกทั้งสามารถช่วยสร้างความเชื่อมั่นในการยืนยันผลการตรวจพิสูจน์ในทางนิติวิทยาศาสตร์

Abstract: allele frequencies for the 15 STR loci (D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 and FGA) included in the AmpF/STR Identifiler kit were determined in a Thai population of 258 unrelated individuals. The agreement with Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was confirmed

for all loci with the exception of D21S11. The allelic frequencies and statistical parameters for forensic testing suggested that the AmpF/STR Identifiler detection system offered a powerful strategy for individual identification in the Thai population.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	ร.ต.ท.หญิง วิมลธรา คำศรี
ประวัติการศึกษา	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, พ.ศ. 2541
ประวัติการทำงาน	ปี พ.ศ. 2544 เข้ารับราชการตำรวจ ตำแหน่งรองสารวัตร งาน 2 กองกำกับ การวิทยาการเขต 5 จังหวัดอุบลราชธานี ปี พ.ศ. 2548 – ปัจจุบัน ดำรงตำแหน่งรองสารวัตรอำนวยการ ศูนย์พัฒนานิติวิทยาศาสตร์ สำนักงานนิติวิทยาศาสตร์ตำรวจ
ประวัติการวิจัย	Kumsri, W., Duangshatome, W., Pimmongkol, A., Suraporn, B. and Swasdipan, N. " ALLELE FREQUENCIES AND STATISTIC VALUES OF THE 15 AMPFLSTR IDENTIFILER LOCI IN THAI POPULATION" 31 th Congress on Science and Technology of Thailand.