ชื่อเรื่องการค้นคว้าแบบอิสระ

การศึกษาความไวและความจำเพาะของการ ตรวจวิเคราะห์ยืนไซโตโครม บี ของมนุษย์ จาก

ตัวอย่างคราบเลือด

นางสาวอนุสรา วังกาวี

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (นิติวิทยาศาสตร์)

ศาสตราจารย์ แพทย์หญิง เลิศลักขณา ภู่พัฒน์

ผู้เขียน ปริญญา อาจารย์ที่ปรึกษาการค้นคว้าแบบอิสระ

บทคัดย่อ

้วัตถุพยานทางชีวภาพที่พบในสถานที่เกิดเหตุ สามารถเชื่อมโยงไปยังผู้กระทำผิดได้เสมอ ้ดังนั้นหากสามารถระบุแหล่งที่มาของหลักฐานได้ จะมีประโยชน์อย่างมากในงานนิติวิทยาศาสตร์ และความแตกต่างกันของลำดับเบสในยืน ใชโตโครม บี บนไมโตคอนเครียลดีเอ็นเอ สามารถ นำมาใช้แยกกลุ่มสิ่งมีชีวิตในระดับสปีชีย์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในมนุษย์กับสัตว์ การศึกษานี้มี ้วัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของการตรวจวิเคราะห์ยืนไซโตโครม บี ของ มนุษย์ โดยศึกษาจากตัวอย่างคราบเลือดมนุษย์ บนผ้าฝ้ายขนาด $0.5 \ge 0.5$ ซม. จำนวน 45 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากสัตว์อื่น ได้แก่ ไก่ สุนัข หมู และวัว ชนิดละ 25 ตัวอย่าง นำมาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Chelex แล้วใช้เทคนิค PCR ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ที่มีความยาวในช่วง 157 bp โดยใช้ primer ที่จำเพาะต่อยืนไซโตโครม บี ของมนุษย์เท่านั้น ก่อนนำไปตรวจสอบการเพิ่มปริมาณด้วย 2% agarose gel electrophoresis จากผลการศึกษาพบว่าสามารถตรวจพบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ที่มีขนาด ประมาณ 157 bp ได้ชัดเจนทั้งหมดในตัวอย่างดีเอ็นเอของมนุษย์ ในขณะที่การตรวจสอบกับ ตัวอย่างดีเอ็นเอของสัตว์ชนิดอื่นทั้งหมด ไม่พบผลิตภัณฑ์พีซิอาร์ นอกจากนี้ในการศึกษาความไว ของการตรวจวิเคราะห์ พบว่าเมื่อเจือจางความเข้มข้นของตัวอย่างดีเอ็นเอจากมนุษย์ลง สามารถ ตรวจพิสูจน์ได้ในระดับอย่างน้อยที่สุด 1:1000 จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การวิเคราะห์ ้ยืนตำแหน่งไซโตโครม บี มีความจำเพาะและเชื่อถือได้ สามารถใช้ตรวจระบุดีเอ็นเอซึ่งมีแหล่งที่มา จากมนษย์ได้

Independent Study Title

A Study of the Sensitivity and Specificity of

Human Cytochrome b Gene Analysis from

Bloodstain Samples

Author

Miss Anusara Wangkawee

Degree

Master of Science (Forensic Science)

Independent Study Advisor

Prof. Lertlakana Bhoopat, M.D.

ABSTRACT

Biological evidence was often found in the crime scene that could be linked to the offender. The confirmation of source of evidence was likely to be useful in routine forensic cases. The difference on cytochrome b gene sequence in mitochondrial DNA has been used for species determination especially between humans and animals. Therefore, this study aims to investigate the sensitivity and specificity of human cytochrome b gene using PCR technique. The method consisted of taking 45 samples of human bloodstains on cotton, 0.5 x 0.5 cm² area, and 25 each samples from other animals such as chicken, dog, pig and cattle. DNA samples were extracted by Chelex method. Then, using human-specific primers to amplify 157 bp DNA portion of extracted DNA by PCR technique. After that, the PCR products were analyzed by 2% agarose gel electrophoresis. It was found that 157 bp PCR products were certainly observed for all human DNA samples. Whereas, PCR products were not observed in animal DNA samples. Furthermore, the serial dilution of human DNA was limit detected at 1:1000. These results showed that cytochrome b gene was specific and reliable for human DNA identification.