บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบวิธีการที่มีความจำเพาะเจาะจงกับการระบุสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอของวัวด้วยการวิเคราะห์ยีน Cytochrome *b* ในไมโตคอนเดรีย โดยใช้ตัวอย่างดีเอ็นเอจากวัว 30 ตัวอย่างและดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์อื่นอีก 25 ตัวอย่าง เทคนิค PCR ที่ใช้สามารถเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอของวัวในส่วนของยีน Cytochrome *b* อย่างมีประสิทธิภาพและคัดแยกดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์อื่นๆออกได้อย่างชัดเจนถูกต้องถึงร้อยละ 100 อย่างไรก็ตาม ในจากการทดสอบกับดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ชนิดอื่นทั้งหมด 25 ตัวอย่าง ยังพบแถบดีเอ็นเอจางๆ (Non-specific band) ปรากฏให้เห็นในเจลมากถึง 48 % ของตัวอย่างทั้งหมด เนื่องจากวิธีการที่ใช้ตรวจจำเพาะกับดีเอ็นเอของไมโตคอนเดรีย การปนเปื้อนของดีเอ็นเอของวัวไปกับตัวอย่างหรือน้ำยาที่ใช้ตรวจจะส่งผลให้เกิดผลบวกได้ง่าย ดังนั้น ตัวอย่างจากมนุษย์หรือสัตว์อื่นที่ใช้ทดสอบความจำเพาะของวิธีตรวจควรเป็นตัวอย่างเลือดที่เจาะจากหลอดเลือดจะไม่ใช้ตัวอย่างเยื่อบุกระพุ้งแก้มเพราะอาจเกิดการปนเปื้อนของเนื้อเยื่อวัวจากอาหารที่รับประทานเข้าไป ทั้งนี้ ดีเอ็นเอของวัวอาจตกค้างอยู่ภายในช่องปากได้ อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของดีเอ็นเอของวัวได้

การสกัดดีเอ็นเอจากรากขนวัวต้องทำความสะอาดเส้นขนอย่างดีก่อนนำไปสกัดดีเอ็นเอเพื่อให้มั่นใจว่าไม่มีสิ่งสกปรกปนเปื้อน เนื่องจากตัวอย่างเส้นขนเก็บจากบริเวณในหูซึ่งมีสิ่งสกปรกอยู่มากและยากต่อการทำความสะอาด น้ำยาที่ใช้ตรวจควรตรวจดูให้แน่ใจว่าไม่มีส่วนประกอบที่มาจากวัว ผู้วิจัยได้ทดลองใช้น้ำยาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมที่มีส่วนผสมของ Bovine serum albumin ปนอยู่ พบว่ามีแถบดีเอ็นเอหลายแถบปรากฏขึ้นมา และอยู่ในตำแหน่งใกล้เคียงกับแถบของวัวทำให้ไม่สามารถแปลผลได้ แต่เมื่อเปลี่ยนไปใช้น้ำยาที่ไม่มีส่วนผสมที่มาจากวัวปัญหานี้ก็หมดไป

ทั้งนี้เมื่อทำการทดสอบเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอของมนุษย์ทั้งหมด 5 ตัวอย่าง สามารถทราบข้อมูลเบื้องต้นว่าไพรเมอร์ของวัวไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของมนุษย์ได้ ในทางกลับกันจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการใช้ไพรเมอร์ของมนุษย์มาทำการทดสอบเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของวัวและสัตว์ชนิดอื่นร่วมด้วย เพื่อประโยชน์ในการคัดแยกดีเอ็นเอของมนุษย์และสัตว์ออกจากกัน ทั้งนี้เนื่องจากในสถานที่เกิดเหตุนั้นมักจะมีดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียจำนวนมากมาย ทั้งดีเอ็นเอไมโตคอนเดรียของมนุษย์และของสัตว์ การตรวจสอบเบื้องต้นว่ามีดีเอ็นเอของมนุษย์ในสถานที่เกิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เหตุย่อมสามารถใช้การระบุดีเอ็นเอของมนุษย์ด้วยยีนไซโตโครมบีในไมโตคอนเดรียได้ และเพื่อเป็นการประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายควรมีการใช้ multiplex PCR ซึ่งใช้ไพรเมอร์หลายคู่ที่มีความจำเพาะกับมนุษย์และสัตว์แต่ละชนิดในขนาดของดีเอ็นเอแตกต่างกัน สามารถใช้คัดแยกมนุษย์และสัตว์แต่ละชนิดออกจากกันได้ด้วยการทำพีซีอาร์แค่ครั้งเดียว เป็นการตรวจเพื่อระบุ species ของสิ่งมีชีวิตจากตัวอย่างตรวจได้ตั้งแต่แรก

การนำไปใช้ในการตรวจสอบคุณภาพอาหาร นอกจากการตรวจลงลึกถึงชนิดของเนื้อสัตว์ที่นำมาประกอบอาหารแล้ว ยังอาจต้องใช้การตรวจสอบด้วย Real-time PCR ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ด้านคุณภาพและปริมาณ ได้ในส่วนผสมตั้งแต่ 0.1–100% ของเนื้อสัตว์ที่นำมาประกอบอาหารสำเร็จรูป โดยสามารถวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอที่สังเคราะห์ได้ในเวลาต่างๆ ทำให้ทราบส่วนผสมของเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆ รวมถึงปริมาณการปนเปื้อนของเนื้อสัตว์ชนิดอื่น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการคุ้มครองสิทธิของผู้บริโภคได้ดียิ่งขึ้น (Andreo และคณะ, 2005)

กรณีในคดีเกี่ยวกับการลักลอบล่าสัตว์ป่า บางครั้งวัตถุพยานที่พบอาจไม่ได้อยู่ในลักษณะที่บ่งบอกได้ด้วยลักษณะทางกายภาพอันเนื่องมาจากการทำลายหรือการแบ่งขายเป็นชิ้นส่วน สิ่งที่เหลือเป็นสิ่งส่งตรวจอาจจะเป็นเพียง เศษชิ้นเนื้อ อวัยวะส่วนใดส่วนหนึ่ง เส้นขน หรือคราบเลือดเท่านั้น ทั้งนี้เพียงการตรวจสอบทางกายภาพคงไม่เพียงพอต่อการสรุปได้ว่าเป็นของสัตว์ชนิดใด การตรวจที่สารพันธุกรรมจึงมีบทบาทสำคัญหากวัตถุพยานทางชีวภาพที่ได้นั้นมีปริมาณน้อยมาก ดีเอ็นเอในส่วนของยีนไซโตโครมบีมีบทบาทสำคัญในการตรวจสอบชนิดของสิ่งมีชีวิตอันเป็นที่มาของวัตถุพยานดังกล่าว โดยอาจเพิ่มความไว (sensitivity) ของวิธีการด้วยการทำ Nested PCR ซึ่งสามารถคงความถูกต้องได้ 99.7% (Le-Chin และคณะ, 2007)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved