บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
แบบเสนอหัวข้อเรื่อง และ โครงการวิทยานิพนธ์

ข้าพเจ้า นางสาวณัฐธลักษณ์ ภักดีณรงค์ นักศึกษาสาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ รหัสประจำตัว 50312308

อาจารย์ที่ปรึกษา	1. รศ.พ.ต.อ.หญิง ดร.พัชรา สินลอยมา		ประธานกรรมการ
	2. พ.ต.ท. กฤษฎา	ริบรวมทรัพย์	กรรมการ
	3. ผศ.นพ.วรวีร์	ไวยวุฒิ	กรรมการ

1. ชื่อหัวข้อวิทยานิพนธ์

(ภาษาไทย) การเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารพันธุกรรมแบบต่าง ๆ ในวัตถุพยานประเภทเทปกาว เพื่อใช้พิสูจน์ตัวบุคคล

(ภาษาอังกฤษ) Comparative DNA extraction method from adhesive tape for Person Identification.

2. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบัน เกิดเหตุความไม่สงบใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ ซึ่งนับว่าเป็นปัญหาสำคัญอันดับต้น ๆ ที่รัฐต้องการแก้ไข โดยได้รับความร่วมมือจากหน่วยงานต่าง ๆ ทั้งสำนักงานตำรวจแห่งชาติ กระทรวงกลาโหม กระทรวงมหาดไทย และกระทรวงยุติธรรมเพื่อแก้ไขปัญหาความไม่สงบดังกล่าว ภารกิจหนึ่งซึ่งนำมาใช้ในการสืบสวน และสอบสวนผู้ต้องหาในคดีความไม่สงบ คือ การตรวจหาพยานหลักฐานที่ใช้ในการก่อความไม่สงบ โดยมักจะใช้อาวุธสงคราม เช่น อาวุธปืน และการวางระเบิด เป็นต้น

วัตถุระเบิด หมายถึง สารใด ๆ เมื่อถูกความร้อน แรงกระแทก หรือการเสียดสี แล้วจะแปรสภาพจากเดิมกลายเป็นก๊าซที่มีปริมาณมากขึ้น ทำให้เกิดความดัน และความร้อนจำนวนมาก[1] ซึ่งจากการศึกษาการใช้ระเบิดในการก่อความไม่สงบใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ พบว่า เป็นระเบิดที่ประกอบขึ้นโดยวิธีการต่าง ๆ กัน และส่วนประกอบสำคัญอีกประเภทหนึ่งที่มักจะถูกใช้เพื่อการประกอบระเบิด คือ เทปกาว โดยนำมาประกอบให้สารระเบิดนั้นติดกับแผงวงจรต่าง ๆ ทำให้ระเบิดสามารถทำงานได้

การใช้ประโยชน์จากเทปกาวในทางนิติวิทยาศาสตร์ ด้านการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรม พบว่า เทปกาวทั้งชนิดกระดาษ พลาสติก และผ้า เป็นวัสดุที่พบได้บ่อยมากในอาชญากรรมต่าง ๆ โดยเฉพาะเทปพันสายไฟ(เทปพลาสติก) ที่ใช้เป็นส่วนหนึ่งของการประกอบระเบิดในคดีระเบิด ซึ่งบนเทปกาวมักจะมีเศษผิวหนังของผู้ใช้งานเทปกาวนั้นๆ ติดอยู่ และสามารถนำมาสกัดสารพันธุกรรม

---

[1] อรรถพล แช่มสุวรรณวงศ์ และคณะ, <u>นิติวิทยาศาสตร์เพื่อการสืบสวนสอบสวนเล่ม 1</u>, พิมพ์ครั้งที่ 4 (กรุงเทพมหานคร : บริษัท ทีซีจี พริ้นติ้ง จำกัด, 2546), 270.

เพื่อนำไปใช้ในด้านการพิสูจน์บุคคลได้ ซึ่งการพิสูจน์บุคคลโดยการตรวจสารพันธุกรรม ในทางนิติวิทยาศาสตร์ ได้มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง โดยเปลี่ยนแปลงจากรูปแบบเดิมในการตรวจหาพันธุกรรมของหมู่เลือด เช่น หมู่เลือด ABO หมู่เลือด MNSs และหมู่เลือด Rh เป็นต้น

หมู่เลือด ABO เป็นหมู่เลือดในระบบแรกที่ค้นพบ และเป็นหมู่เลือดที่สำคัญที่สุดทางชีววิทยาและทางการแพทย์ ผู้ที่มีแอนติเจนชนิดใดอยู่บนเม็ดเลือดแดงจะไม่มีแอนติบอดีต่อแอนติเจนชนิดนั้นอยู่ในพลาสมาหรือซีรั่ม ทำให้สามารถทดสอบหาหมู่เลือดได้

หมู่เลือด MNSs แสดงลักษณะคล้ายกับมียีน 2 โลไซ ที่อยู่ชิดกัน คือ MN โลคัส กับ Ss โลคัส อัลลีลแต่ละโลคัสเป็น co-dominant กัน แอนติเจนแต่ละชนิดทดสอบได้โดยการทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ตรงกัน คือ anti M anti N anti S และ anti s

หมู่เลือด Rh ถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ autosomal dominant คือ ลักษณะ Rh บวก เด่นเหมือนลักษณะ Rh ลบ หมู่เลือด Rh มีลักษณะพิเศษที่แตกต่างจากหมู่เลือด ABO และหมู่เลือดอื่นๆ ตรงที่ไม่มี naturally occurring antibody คือคน Rh ลบ ไม่มี anti Rh ในร่างกาย ถ้าไม่ถูก immunize โดยการได้รับเลือด Rh บวกเข้าไปในร่างกาย[2]

ต่อมาได้พบปัญหา และข้อจำกัดในด้านกำลังการแยกแยะ(Discrimination Power) ของการตรวจหาพันธุกรรมของหมู่เลือด ซึ่งทำให้ต้องใช้ตัวอย่างวัตถุพยานเป็นจำนวนมากในกระบวนการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน และแอนติบอดีที่มีความจำเพาะ ดังนั้น จึงมีการนำการตรวจสารพันธุกรรมมาใช้ในทางนิติวิทยาศาสตร์จนถึงปัจจุบัน ซึ่งสารพันธุกรรม หรือดีเอ็นเอ ย่อมาจาก Deoxyribonucleic acid เป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต ที่มีอยู่ในนิวเคลียส และไมโทคอนเดรียของเซลล์ต่าง ๆ เช่น เซลล์เม็ดโลหิต เซลล์ผิวหนัง เยื่อบุกระพุ้งแก้ม หรือปลายรากเส้นผม เป็นต้น สารพันธุกรรมเป็นตัวกำหนดข้อมูลในการสร้างสารชีวโมเลกุล เช่น การสร้างโปรตีนชนิดต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงและชั้นต่ำ นอกจากนี้ ยังควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์ การแบ่งเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงเป็นเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ ดังนั้นการสร้างสารชีวโมเลกุลของสิ่งมีชีวิตชั้นสูงและชั้นต่ำจึงมีสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ เป็นรหัสหรือแบบพิมพ์ในการสร้าง[3] ซึ่งการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมทางนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อทำการพิสูจน์บุคคล ได้รับการยอมรับ และตีพิมพ์ในวารสาร Nature เมื่อปี ค.ศ.1986 โดย Alex J. Jeffreys และได้ถูกนำมาพัฒนาอย่างต่อเนื่อง จนเป็นชุดตรวจสำเร็จรูปที่มีความหลากหลายในปัจจุบัน ซึ่งขั้นตอนการตรวจสารพันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทต่าง ๆ ที่ถือว่ามีความสำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งคือ ขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมจากวัตถุพยานซึ่งมีวัตถุพยานหลากหลายรูปแบบที่ไม่อาจคาดเดาได้ ทำให้มีความลำบากในการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรม ดังนั้น จึงต้องอาศัยหลักวิชาการในการพิจารณาหาวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด

---

[2] วิจารณ์ พานิช และคณะ, มนุษยพันธุศาสตร์, พิมพ์ครั้งที่ 2 (กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์พิฆเณศ, 2547), 271-293.

[3] อรรถพล แช่มสุวรรณวงศ์ และคณะ, นิติวิทยาศาสตร์เพื่อการสืบสวนสอบสวนเล่ม 2, พิมพ์ครั้งที่ 4 (กรุงเทพมหานคร : บริษัท ทีซีจี พริ้นติ้ง จำกัด, 2546), 171-173.

สารพันธุกรรมจากวัตถุพยาน โดยมีผู้คิดค้นวิธีการสกัดสารพันธุกรรมโดยใช้น้ำยาเคมีต่าง ๆ และกระบวนการที่หลากหลาย เพื่อทำให้ได้ปริมาณสารพันธุกรรมจากวัตถุพยานให้มากที่สุด และปราศจากสิ่งปนเปื้อน ที่จะส่งผลให้การตรวจสารพันธุกรรมไม่ประสบผลสำเร็จ

ด้วยเหตุผลดังกล่าว ผู้ทำการวิจัยจึงต้องการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารพันธุกรรมที่ได้จากวิธีการสกัดแบบต่าง ๆ ในวัตถุพยานประเภทเทปกาว ในงานตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมทางนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อใช้ในการพิสูจน์ตัวบุคคล

3. ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

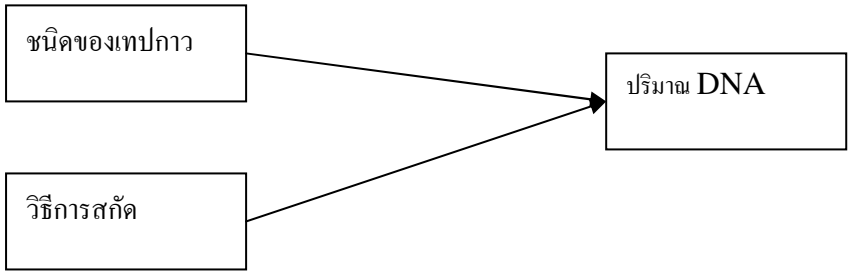
1. เพื่อศึกษา และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการสกัดสารพันธุกรรมแบบต่าง ๆ จากลายนิ้วมือแฝง บนวัตถุพยานประเภทเทปกาว

2. เพิ่มวัตถุประสงค์ อีก 1 ข้อ

3 . เพื่อศึกษาปัญหา และข้อเสนอแนะในการสกัดสารพันธุกรรมจากลายนิ้วมือแฝง บนวัตถุพยานประเภทเทปกาว

4. สมมติฐานของการศึกษา

การใช้วิธีการสกัดสารพันธุกรรมที่แตกต่างกันในวัตถุพยานประเภทเทปกาว จะให้ปริมาณสารพันธุกรรมที่แตกต่างกัน



กรอบแนวคิดในการวิจัย

5. ขอบเขตการศึกษา

ศึกษาปริมาณสารพันธุกรรมที่ได้จากขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรม หน่วยวิเคราะห์เป็นนาโนกรัม จากอาสาสมัครจำนวน 10 คน โดยให้อาสาสมัครใช้นิ้วจับเทปกาว ซึ่งเป็นเทปพันสายไฟชนิดที่มีขายอยู่ในท้องตลาด 3 ยี่ห้อ จำนวนคนละ 4 ตัวอย่างต่อหนึ่งยี่ห้อ

6. ขั้นตอนของการศึกษา

1. รวบรวมข้อมูล และวางแผนการศึกษาวิจัย
2. ดำเนินการหาอาสาสมัคร และเก็บตัวอย่าง
3. ดำเนินการศึกษาวิจัย
4. วิเคราะห์ข้อมูลจากการศึกษาวิจัย
5. สรุป และเขียนรายงานการศึกษาวิจัย
6. นำเสนอรายงานวิจัยที่สมบูรณ์

7. เวลาที่ใช้ในการวิจัย ประมาณ 8 เดือน

คิดว่าจะเริ่มงานวิจัย ตั้งแต่เดือน สิงหาคม พ.ศ.2551

และเสนอวิทยานิพนธ์ ภายในเดือน มีนาคม พ.ศ.2552

8. วิธีการศึกษา

1. ให้อาสาสมัครทั้ง 10 คน ใช้นิ้วจับเทปกาว ซึ่งเป็นเทปกาวพันสายไฟ คนละ 4 ตัวอย่างต่อหนึ่งยี่ห้อ จำนวนทั้งหมด 3 ยี่ห้อ ซึ่งเป็นยี่ห้อที่มีขายมากที่สุดในท้องตลาด

   1) 3M 1710
   2) 3M No.33+
   3) Yazaki

2. นำตัวอย่างเทปกาวที่เก็บได้มาทำการสกัดสารพันธุกรรมโดยวิธีแบบต่าง ๆ รวม 4 แบบ ซึ่งได้รับการยอมรับในห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากล (ตัดออก 1 วิธี ดังนั้น เป็น 90 ซ้ำ ปรึกษา อ.วรวีร์ หรือ อ.กฤษฎา หรือจากการ review ว่าควรตัดตัวไหน ถ้าแพง 2 ตัวประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ควรตัดออก 1 ตัว)

   1) Chelex
   2) DNA IQ
   3) Conventional method
   4) QIAamp DNA micro kit

3. นำสารพันธุกรรมที่สกัดได้ ไปวัดปริมาณสารพันธุกรรมโดยวิธี Quantitative analysis (Real-Time PCR)

4. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยการใช้ค่าปริมาณขั้นต่ำซึ่งจะสามารถนำเอาสารพันธุกรรมมาวิเคราะห์ได้

5. นำค่าปริมาณสารพันธุกรรมที่สกัดได้ มาเปรียบเทียบหาค่าความแตกต่างของปริมาณสารพันธุกรรมที่สกัดได้ในแต่ละวิธี

9. แหล่งข้อมูล

1. สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ไม่ต้องค้นที่ รร.นรต. หรือสถาบันนิติวิทย์เลยหรือ

2. หอสมุดคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

3. ห้องสมุดสตางค์มงคลสุข คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

4. www.sciencedirect.com

5. www.ncbi.nlm.nih .gov/pubmed/

10. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการค้นคว้า

<u>วัสดุ</u>

Microcentrifuge tube

Microcentrifuge tube rack

Pipette tip

Spin columm

Beakers

Forceps

Adhesive tape

กรรไกร

ถุงมือยาง

ถุงพลาสติกซิปล็อคใส

<u>อุปกรณ์</u>

Micropipettes ขนาด 100 µl, 200 µl, 1000 µl

Autoclave

Microcentrifuge

Vortex mixer

Refrigerator

Incubator

DNA thermal cycler

Real-Time PCR system

<u>สารเคมี</u>

1. <u>สารเคมีสำหรับสกัดสารพันธุกรรม</u>

1.1 สารเคมีสำหรับสกัดสารพันธุกรรมโดยใช้ Chelex

1.2 สารเคมีสำหรับสกัดสารพันธุกรรมโดยใช้ DNA IQ

1.3 สารเคมีสำหรับสกัดสารพันธุกรรมโดยใช้ Conventional method

1.4 สารเคมีสำหรับสกัดสารพันธุกรรมโดยใช้ QIAamp DNA micro kit

2. <u>สารเคมีสำหรับวัดปริมาณสารพันธุกรรม</u>

2.1 Quantifiler™ Human DNA Quantification kit

11. ค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการวิจัย

(โดยประมาณ) 55,000 บาท

12. การเสนอผลงาน

1. นำเสนอผลการวิจัยในเดือนมีนาคม พ.ศ.2552
2. นำเสนอผลงานโดยการตีพิมพ์ลงในวารสารวิชาการ

13. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบแนวทางในการนำวิธีการสกัดสารพันธุกรรม มาใช้ในวัตถุพยานประเภทเทปกาวได้อย่างมีประสิทธิภาพ
2. ทราบปัญหา และข้อเสนอแนะในการสกัดสารพันธุกรรมจากลายนิ้วมือแฝง บนวัตถุพยานประเภทเทปกาว

14. ตารางแผนการดำเนินงานตลอดโครงการ

แผนการดำเนินงาน	ส.ค. 51	ก.ย. 51	ต.ค. 51	พ.ย. 51	ธ.ค. 51	ม.ค. 52	ก.พ. 52	มี.ค. 52
1. รวบรวมข้อมูล และวางแผนการศึกษาวิจัย	↔	↔						
2. ดำเนินการหาอาสาสมัคร และเก็บตัวอย่าง			↔	↔				
3. ดำเนินการศึกษาวิจัย			↔	↔	↔			
4. วิเคราะห์ข้อมูลจากการศึกษาวิจัย					↔			
5. สรุป และเขียนรายงานการศึกษาวิจัย					↔	↔	↔	↔
6. นำเสนอรายงานวิจัยที่สมบูรณ์								↔

15. บรรณานุกรม

วิจารณ์ พานิช และคณะ. มนุษยพันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์พิฆเณศ, 2547.

อรรถพล แช่มสุวรรณวงศ์ และคณะ. นิติวิทยาศาสตร์เพื่อการสืบสวนสอบสวนเล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร : บริษัท ทีซีจี พริ้นติ้ง จำกัด, 2546.

อรรถพล แช่มสุวรรณวงศ์ และคณะ. นิติวิทยาศาสตร์เพื่อการสืบสวนสอบสวนเล่ม 2. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร : บริษัท ทีซีจี พริ้นติ้ง จำกัด, 2546.

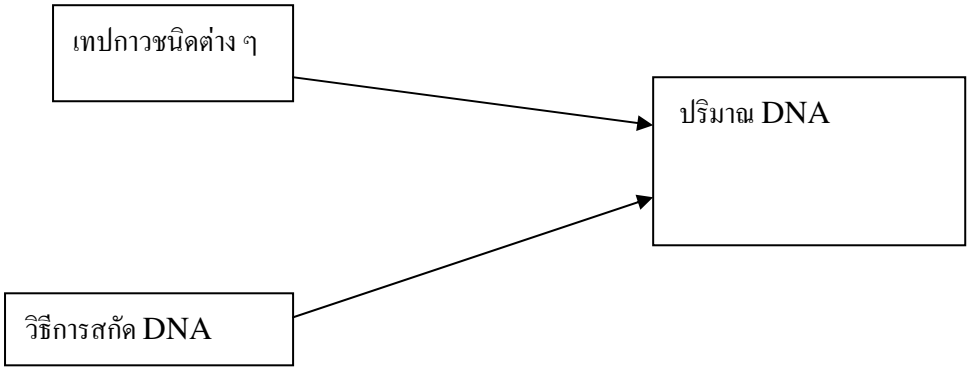
Budowle, Bruce et al. DNA Typing Protocols: Molecular Biology and Forensic Analysis. USA : Eaton Publishing, 1953.

Butler, J. M. Forensic DNA typing: Biology, Technology, and Genetics of STR Markers.2nd Edition. London : Elsevier Academic Press, 2005.

Hartl, D. L. Human Genetics. HARPER and ROW, Publishers Inc. 1983.

(ลงชื่อ) .....ผู้เสนอหัวข้อวิทยานิพนธ์

วันที่...../...../.....



กรอบแนวคิดที่ใช้ในการวิจัย