

การศึกษา microvariant alleles และ tri-allelic patterns ที่พบใน autosomal short tandem repeat ของประชากรในประเทศไทย

Microvariant Alleles and Tri-allelic Patterns Observed in Autosomal Short Tandem Repeat of Populations in Thailand

เนาวรัตน์ ทองนำ, สิริธร แสงเพลิง, สมชาย สิงห์สุวรรณ, โอภาส ฤธีวรรณ, นงนุช บุญเดิม
กลุ่มจัดทำฐานข้อมูลสารพันธุกรรม กองสารพันธุกรรม สถาบันนิติวิทยาศาสตร์

1. บทนำ

การตรวจรูปแบบสารพันธุกรรม (DNA profiling หรือ DNA fingerprinting) ทางด้านนิติพันธุศาสตร์ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางว่าเป็นสาขาหนึ่งของนิติวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนการตรวจพิสูจน์วัตถุพยานทางคดี การพิสูจน์ความสัมพันธ์ครอบครัว และการพิสูจน์อัตลักษณ์บุคคลเพื่อติดตามบุคคลสูญหาย ศพนิรนามและคนนิรนาม เทคนิคนี้ถูกพัฒนาและเริ่มใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ครั้งแรกโดย Sir Alec John Jeffreys [1] ในปี ค.ศ. 1984 (พ.ศ. 2528) ให้ชื่อว่า Genetic Profiling จากนั้นได้ถูกพัฒนาต่อเนื่องทั้งในแง่เทคโนโลยี มีการพัฒนาเครื่องมือการตรวจที่เป็นระบบการตรวจแบบอัตโนมัติ ซึ่งเป็นการตรวจสารพันธุกรรมแบบ STR บนโครโมโซมร่างกาย (autosomal STR) ซึ่งเป็นการตรวจหาสารพันธุกรรมที่มีรูปแบบซ้ำกัน หรือ STR ซึ่งย่อมาจาก Short Tandem Repeat บนโครโมโซมในตำแหน่ง (locus) ปัจจุบันห้องปฏิบัติการส่วนมาก รวมถึงห้องปฏิบัติการกองสารพันธุกรรม สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ก็ตรวจด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป ซึ่งการอ่านค่าความซ้ำของ STR หรือค่าอัลลีลอ้างอิงจากสารที่ทำหน้าที่เป็นไม้บรรทัดมาตรฐานหรือ Allelic Ladder ซึ่งผลที่ได้เป็นตัวเลขซึ่งเป็นตัวแทนความซ้ำของ STR marker ตำแหน่งนั้น หากพบว่าอัลลีลที่ตรวจได้ไม่ตรงกับ Allelic Ladder โปรแกรมวิเคราะห์จะอ่านค่าเป็น OL หรือ out of ladder ที่ต้องทบทวนว่าเกิดจากการตรวจพิสูจน์หรือเป็นลักษณะเฉพาะของตัวอย่าง หากเกิดจากลักษณะเฉพาะของตัวอย่าง จะเรียกว่า rare allele หรือ microvariant นอกจากนั้น ลักษณะเฉพาะอีกแบบที่พบในการวิเคราะห์รูปแบบสารพันธุกรรมแบบ STR คือ tri-allelic patterns หรือ การพบ 3 อัลลีลใน STR marker (ปกติจะพบไม่เกิน 2 alleles) ซึ่งมีรายงานและรวบรวมไว้ใน www.strbase.nist.gov/var_tab.html

สำหรับกองสารพันธุกรรม สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ตรวจสารพันธุกรรมผู้ต้องขังด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อตรวจพิสูจน์ STR marker จำนวน 21 ตำแหน่งมาตั้งแต่ปี 2557 และพบตัวอย่างจำนวนมากที่มีลักษณะพิเศษทั้ง microvariant และ tri-allelic patterns จึงเห็นควรศึกษาและรวบรวมไว้ เพื่อรายงานต่อประชาคมนิติพันธุศาสตร์เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับประชากรไทย และอาจเป็นข้อมูลป้อนกลับให้บริษัทผลิตน้ำยาสำเร็จรูปดังกล่าว นำไปพิจารณาเพิ่มอัลลีลที่พบในประชากรไทยใน Allelic Ladder นอกจากนั้น หากเป็นอัลลีลที่หายากพบเพียงในประชากรไทยอาจนำไปสู่การใช้อ้างอิงเป็นอัตลักษณ์เพื่อใช้ประโยชน์ในการพิสูจน์บุคคลไม่ว่าในทางคดีหรือการพิสูจน์บุคคลสูญหาย เพื่อสนับสนุนการอำนวยความสะดวกและคุ้มครองทางสังคม

2. ทบทวนวรรณกรรม

การตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมด้วยเทคนิค STR เป็นหนึ่งในเทคนิคสำคัญในการพิสูจน์หลักฐานที่เป็นชีววัตถุที่สนับสนุนการสืบสวนสอบสวนทางคดีตรวจพิสูจน์วัตถุพยานหรือบุคคลที่พบในสถานที่เกิดเหตุ การพิสูจน์ความสัมพันธ์ครอบครัว และการพิสูจน์อัตลักษณ์บุคคลเพื่อติดตามบุคคลสูญหาย ศพนิรนามและคนนิรนาม ซึ่งเทคนิคการตรวจสารพันธุกรรมที่ใช้เป็นหลักในการพิสูจน์บุคคล และมีค่าในการจำแนกอัตลักษณ์บุคคลได้มากที่สุดคือ การตรวจสารพันธุกรรมแบบ STR บนโครโมโซมร่างกาย (autosomal STR) ซึ่งเป็นการตรวจหาสารพันธุกรรมที่มีรูปแบบซ้ำกัน หรือ STR ซึ่งย่อมาจาก Short Tandem Repeat บนโครโมโซมในตำแหน่ง (locus) ที่ไม่เกี่ยวข้องกับการดำรงชีวิตของมนุษย์ (หรือ microsatellites) ซึ่งตำแหน่งที่นำมาใช้ในการพิสูจน์อัตลักษณ์บุคคลนั้น มีการศึกษาวิจัยมาและยืนยันด้วยข้อมูลทางสถิติแล้วเป็นตำแหน่งที่ความหลากหลายสูง (morphology) เทคนิคนี้ถูกพัฒนาและเริ่มใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ครั้งแรกโดย Sir Alec John Jeffreys [1] ในปี ค.ศ. 1984 (พ.ศ. 2528) ให้ชื่อว่า Genetic Profiling จากนั้นได้ถูกพัฒนาต่อเนื่องทั้งในแง่เทคโนโลยี มีการพัฒนาเครื่องมือการตรวจที่เป็นระบบการตรวจแบบอัตโนมัติ และการเพิ่มตำแหน่งการตรวจบนโครโมโซมให้มากขึ้น และหลากหลายขึ้น ส่งผลให้การตรวจสารพันธุกรรมแบบ STR เป็นเครื่องมือหลักในการตรวจสารพันธุกรรมเพื่อพิสูจน์อัตลักษณ์บุคคล และกลายเป็นวิธีมาตรฐานในการพิสูจน์บุคคลในคดีอาญาต่าง ๆ

ช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมาชุดน้ำยาสำเร็จรูปสำหรับการตรวจ STR ถูกพัฒนาอย่างรวดเร็ว และเข้ามาเป็นส่วนสำคัญในการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมในห้องปฏิบัติการทางนิติวิทยาศาสตร์ ซึ่งชุดน้ำยาสำเร็จรูป หรือ commercial kits นั้นผ่านการศึกษาค้นคว้าตำแหน่งและจำนวน STR markers และทดสอบความใช้ได้ของคู่ primer ที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาร่วมกัน ชุดน้ำยาสำเร็จรูปสำหรับการตรวจ STR เป็นชุดน้ำยาที่ใช้ในเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเฉพาะตำแหน่งบนโครโมโซมตามที่ระบุ มีส่วนประกอบ 5 ส่วน ดังนี้ (1) PCR primer mixture ซึ่งเป็นสายดีเอ็นเอที่เฉพาะกับดีเอ็นเอเป้าหมาย (2) PCR buffer ที่มีเบส A T C G, $MgCl_2$ และสารเคมีอื่นในการทำ PCR (3) เอนไซม์ DNA polymerase (4) Allelic Ladder สำหรับเป็นหลักอ้างอิงในการวิเคราะห์รูปแบบสารพันธุกรรมเฉพาะของชุดน้ำยา และ (5) ตัวอย่างดีเอ็นเอที่เป็น Positive Control เพื่อรับรองความใช้ได้ของชุดน้ำยาว่าสามารถทำงานได้อย่างถูกต้องเหมาะสม เพื่อให้ผลการตรวจน่าเชื่อถือและนำไปใช้ในการตรวจพิสูจน์สารพันธุกรรมได้ เมื่อผ่านขั้นตอนการเพิ่มปริมาณแล้ว ก็จะเข้าสู่ขั้นตอนการแยกสารพันธุกรรมโดยเครื่องแยกสารพันธุกรรมอัตโนมัติที่เป็นระบบ capillary electrophoresis และวัดขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยระบบเลเซอร์ ข้อมูลดิบที่ได้จะถูกเก็บไว้รอการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรมเฉพาะ ซึ่งการวิเคราะห์จะเป็นการเปรียบเทียบความยาวของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้ของตัวอย่างกับ Allelic Ladder และระบุขนาดของดีเอ็นเอ เป็นตัวเลขที่บ่งบอกจำนวนซ้ำของ STR ในตำแหน่ง marker นั้น [2] หรือเรียกเทคนิคนี้ว่าการตรวจวิเคราะห์ขนาดของสารพันธุกรรม (Fragment Analysis)

การวิเคราะห์รูปแบบสารพันธุกรรมเป็นขั้นตอนสุดท้ายของการตรวจสารพันธุกรรมเพื่อให้ได้ค่าตัวเลขของอัลลีลที่เป็นตัวแทนจำนวนการซ้ำของ STR ของตัวอย่าง หรือ บุคคลนั้น กระบวนการวิเคราะห์หรือ interpretation ทำโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์อัตโนมัติหรือ Genotyping Software ที่มีการตั้งค่าการวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับชุดน้ำยาสำเร็จรูปโดยต้องผ่านการทดสอบความใช้ได้ (Validation) ของห้องปฏิบัติการแล้ว ซึ่งห้องปฏิบัติการตรวจสารพันธุกรรม สถาบันนิติวิทยาศาสตร์วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม GeneMapper ID-X ซึ่งผ่านการทดสอบความใช้ได้ และตั้งค่าการวิเคราะห์ที่เฉพาะเจาะจงกับชุดน้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์

สารพันธุกรรมแล้ว กระบวนการวิเคราะห์เริ่มจากการนำเข้าไฟล์ข้อมูลดิบของตัวอย่างที่ผ่านการแยกขนาด (Sample data file) เข้าสู่โปรแกรมซึ่งมีการตั้งค่าวิเคราะห์ (Analysis method) เทียบกับ Allelic Ladder ซึ่งมีค่า Bins และ Panels ที่เป็นไม้บรรทัดสำหรับเปรียบเทียบค่าอัลลีล ผลที่ได้ก็ถูกอ่านออกมาเป็น ตัวเลขที่เป็นตัวแทนของตำแหน่ง STR marker นั้น [3]

การตรวจ STR marker บน autosomal DNA หรือ โครโมโซมร่างกายของมนุษย์ ดังนั้น แต่ละตำแหน่ง จะตรวจพบ STR marker จำนวน 2 ตัว หรือ 2 เลข ซึ่งหากเป็นเลขที่ซ้ำกันจะเรียกว่าเป็น homologous เช่น 12, 12 หากเป็นตัวเลขที่ต่างกันเรียกว่า heterozygous เช่น 11, 12 โดยค่าที่อ่านได้โดยโปรแกรมอัตโนมัติที่อ้างอิงมาจาก Allelic Ladder ที่เป็นอัลลีลที่พบในประชากรทั่วไป แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีตัวอย่างที่ผ่านการวิเคราะห์แล้วไม่ตรงกับ Allelic Ladder ทำให้โปรแกรมอ่านค่าออกมาเป็น OL หรือ Off-Ladder เพื่อให้ผู้วิเคราะห์พิจารณาอีกครั้งว่า เกิดจากสาเหตุใด ซึ่งการเกิด OL นั้น อาจเกิดจากขั้นตอนการทำ PCR หรือ การทำ capillary electrophoresis ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์ซ้ำก็สามารถอ่านค่าเป็นตัวเลขได้ ยังมี OL อีกแบบที่เกิดจากความเฉพาะของตัวอย่างที่ตรวจซึ่งเป็นอัลลีลที่ไม่พบใน Allelic Ladder ที่มี หมายความว่า เป็นค่าอัลลีลที่ไม่พบในประชากรทั่วไป (microvariant) ซึ่งอาจบ่งบอกถึงความหายาก หรือเป็น Rare Allele ของตำแหน่ง STR marker นั้น ซึ่งอาจเป็น เฉพาะกับประชากรนั้น อัลลีลหายาก หรือ Rare Allele ของประชากรทั่วโลกได้มีการศึกษาและรวบรวมไว้ รวมถึง ตีพิมพ์ในวารสารต่าง ๆ เช่น ในเว็บไซต์ www.strbase.nist.gov/var_tab.html ในส่วน Variant Allele Report ของ John M. Butler [4] ภายใต้หน่วยงาน National Institute of Standard and Technology (NIST) เป็น แหล่งข้อมูลอ้างอิงที่เชื่อถือได้เป็นอย่างดี

นอกจากลักษณะ microvariant แล้ว บางตัวอย่างก็พบอัลลีลมากกว่า 2 อัลลีล เช่น 3 อัลลีล ซึ่งมีชื่อ เรียกเฉพาะว่า Tri-allelic Patterns หรือ Tri-Allele ซึ่งอาจเกิดจากตัวอย่างนั้นมีโครโมโซมเกินทำให้เกิดอัลลีล เพิ่มจากปกติ ตัวอย่างเช่น เกิด Trisomy ที่โครโมโซมคู่ที่ 21 ของบุคคลกลุ่มอาการดาวน์ซินโดรม ทำให้ตรวจพบ 3 อัลลีล ของ STR marker ตำแหน่ง D21S11 [5] และยังมีรายงานการพบ Tri-Allele ใน STR marker อื่นๆ [6]

สำหรับห้องปฏิบัติการตรวจสอบสารพันธุกรรมของสถาบันนิติวิทยาศาสตร์เปิดบริการตรวจพิสูจน์สาร พันธุกรรมตั้งแต่ปี พ.ศ. 2547 เป็นการตรวจสอบสารพันธุกรรมแบบ STR โดยเทคนิคการเพิ่มปริมาณแบบ Multiplex PCR ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป และในปี พ.ศ. 2557 เปลี่ยนมาใช้ชุดน้ำยา GlobalFiler™ PCR Amplification Kit ตรวจรูปแบบสารพันธุกรรม autosomal STR จำนวน 21 ตำแหน่ง ดังนี้ CSF1PO, D10S1248, D12S391, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D1S1656, D21S11, D22S1045, D2S1338, D2S441, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, FGA, SE33, TH01, TPOX และ vWA ซึ่งตำแหน่ง STR markers ที่ตรวจแต่ละ ตำแหน่งได้มีการรายงานการพบ microvariant alleles และ tri-allelic patterns ในหลายกลุ่มประชากร แต่ยังไม่พบรายงานการพบในประชากรประเทศไทย ดังนั้นการศึกษา รวบรวม และรายงานการค้นพบอัลลีลลักษณะ พิเศษดังกล่าว จะสามารถเป็นแหล่งอ้างอิงให้กับการศึกษาด้านประชากรศาสตร์ของประชากรในประเทศไทย หาก พบตำแหน่งที่จำเพาะต่อประชากรไทยเพียงชาติพันธุ์เดียวอาจนำไปสู่การเป็นอัตลักษณ์ของประชากรไทย นำไปสู่ การใช้ประโยชน์ในการพิสูจน์บุคคลต่อไป

3. วิธีการดำเนินงาน

3.1 ตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมจากกระดาดเก็บตัวอย่าง ด้วยน้ำยาสำเร็จรูป GlobalFiler™ PCR Amplification Kit แยกสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง ABI 3500 และวิเคราะห์สารพันธุกรรมด้วยโปรแกรม GeneMapper ID-X จากนั้นจัดเก็บในฐานข้อมูลสารพันธุกรรมของกองสารพันธุกรรม สถาบันนิติวิทยาศาสตร์

3.2 คัดเลือกตัวอย่างที่เป็นตัวอย่างจากฐานข้อมูลผู้ต้องขัง และนำออกจากระบบฐานข้อมูลสารพันธุกรรมในรูปแบบ Microsoft Excel spreadsheet

3.3 แยกตารางตาม STR marker จากนั้นตรวจสอบ และคัดแยกเฉพาะตัวอย่างที่มีค่า OL หรือ microvariant และ ตัวอย่างที่มี triallelic patterns

3.4 ตรวจวิเคราะห์ซ้ำ และหาค่าความถี่ของลักษณะพิเศษที่พบ จัดทำเป็นตารางรายงานผล

3.5 ตรวจสอบอัลลีลที่พบในตัวอย่างกับที่มีรายงานไว้ใน www.strbase.nist.gov/var_tab.html

3.6 วิเคราะห์ผล และสรุปผลการค้นพบ

3.7 จัดทำบทความวิจัยเพื่อเผยแพร่

4. ผลการดำเนินงาน

4.1 การศึกษา microvariant alleles

จากการศึกษารูปแบบสารพันธุกรรมจากฐานข้อมูลผู้ต้องขัง สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ จำนวน 78,810 รูปแบบ โดยการตรวจด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป GlobalFiler™ PCR Amplification Kit ทั้งหมด 21 ตำแหน่ง แยกสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง ABI 3500 และวิเคราะห์สารพันธุกรรมด้วยโปรแกรม GeneMapper ID-X พบ microvariant alleles จำนวน 753 อัลลีล มาจากบุคคลที่ไม่เกี่ยวข้องกัน โดยพบว่าเป็น 93 อัลลีลที่แตกต่างกัน ใน 17 ตำแหน่ง จาก 21 ตำแหน่ง ที่ทำการตรวจ ได้แก่ D16S539, CSF1PO, TPOX, D18S51, D21S11, D2S441, D19S433, TH01, FGA, D22S1045, D5S818, D13S317, D7S820, SE33, D1S1656, D12S391 และ D2S1338 รายละเอียดตามตารางที่ 1 และในจำนวน 93 อัลลีลที่แตกต่างกันนั้น มี 3 อัลลีล ที่อยู่ระหว่าง Allelic Ladder ของ 2 ตำแหน่ง (R)

ตารางที่ 1 แสดงผลการศึกษา microvariant alleles โดยการตรวจด้วยชุดน้ำยา GlobalFiler™ PCR Amplification Kit

ตำแหน่ง	อัลลีล	จำนวนที่พบ	ความถี่
D16S539	10.1	2	0.0013
	11.1	3	0.0019
	12.3	1	0.0006
CSF1PO	8.2*	2	0.0013
	16.3*	1	0.0006
TPOX	7.3	1	0.0006
D18S51	12.1	3	0.0019
	14.1	7	0.0044
	16.3	1	0.0006
D21S11	31.3	1	0.0006

ตำแหน่ง	อัลลีล	จำนวนที่พบ	ความถี่
D2S441	8.1	1	0.0006
	8.3*	1	0.0006
	10.1	53	0.0336
	10.2*	1	0.0006
	10.3	1	0.0006
	11.1	14	0.0089
	13.1	6	0.0038
	13.3*	1	0.0006
	14.1	50	0.0317
	15.1*	1	0.0006

ตารางที่ 1 (ต่อ) แสดงผลการศึกษา microvariant alleles โดยการตรวจด้วยชุดน้ำยา GlobalFiler™ PCR Amplification Kit

ตำแหน่ง	อัลลีล	จำนวนที่พบ	ความถี่
D19S433	4	1	0.0006
TH01	12	3	0.0019
FGA	31.1*	54	0.0343
	32.1	22	0.0140
	33.1	1	0.0006
	34*	1	0.0006
D22S1045	11.3*	1	0.0006
	12.1*	1	0.0006
	13.2	1	0.0006
	R	2	0.0013
D5S818	5	5	0.0032
	9.1	1	0.0006
	13.1*	2	0.0013
	R	5	0.0032
D13S317	5	1	0.0006
	11.1	2	0.0013
D7S820	15	1	0.0006
D12S391	15.1	2	0.0013
	16.3	1	0.0006
	19.2	57	0.0362
	20.2*	10	0.0063
	22.3	7	0.0044
	23.	2	0.0013
	25.3*	1	0.0006
	26.3*	1	0.0006
	28	2	0.0013
	R	8	0.0051
D1S1656	2.2*	1	0.0006
	5.1*	2	0.0013
	6.1*	1	0.0006
	7	1	0.0006
	15.1	12	0.0076
	16.1	9	0.0057
	R	6	0.0038
D2S1338	19.1	1	0.0006

* หมายถึง อัลลีล ที่ไม่เคยรายงานใน STRbase

(www.strbase.nist.gov/var_tab.html)

ตำแหน่ง	อัลลีล	จำนวนที่พบ	ความถี่
SE33	5.2	1	0.0006
	13.1*	2	0.0013
	14.1*	1	0.0006
	15.1	6	0.0038
	16.1	15	0.0095
	17.1	5	0.0032
	17.3	34	0.0216
	18.1	14	0.0089
	18.3	8	0.0051
	19.1	9	0.0057
	20.1	18	0.0114
	20.3	2	0.0013
	21.3*	6	0.0038
	22.1	26	0.0165
	22.2	1	0.0006
	22.3	2	0.0013
	23.1	15	0.0095
	23.3	5	0.0032
	24.1	3	0.0019
	24.3	13	0.0082
	25.1	1	0.0006
	25.3	17	0.0108
	26.1*	27	0.0171
	26.3	50	0.0317
	27.1*	10	0.0063
	27.3	10	0.0063
	28.1	3	0.0019
	28.3	1	0.0006
	29.1*	2	0.0013
	29.3	4	0.0025
	30.1	5	0.0032
	30.3	1	0.0006
	31.1*	18	0.0114
	31.3	13	0.0082
	32.1	1	0.0006
	32.3*	18	0.0114
	33.1*	2	0.0013
	33.3*	5	0.0032

4.2 การศึกษา tri-allelic patterns

พบรูปแบบ tri-allelic จำนวน 111 รูปแบบ จาก 19 ตำแหน่ง ได้แก่ D3S1358, vWA, D16S539, CSF1PO, TPOX, D18S51, D8S1179, D21S11, D2S441, D19S433, FGA, D5S818, D13S317, D7S820, SE33, D10S1248, D1S1656, D12S391 และ D2S1338 รายละเอียดตามตารางที่ 2 ตำแหน่งที่พบว่ามีอัตราการเกิด tri-allelic patterns สูงที่สุด ได้แก่ SE33 (33 รูปแบบ) รองลงมา คือ D18S51 (8 รูปแบบ) และ FGA (6 รูปแบบ)

ตารางที่ 2 แสดงผลการศึกษา tri-allelic patterns โดยการตรวจด้วยชุดน้ำยา GlobalFiler™ PCR Amplification Kit

ตำแหน่ง	จำนวนที่พบ	อัลลีล	ประเภท
D3S1358	1	15,16,17	1
vWA	4	17,18,19	1
		19,20,21*	1
		16,19,20*	1
		17,19,20	1
D16S539	2	9,10,11	1
		10,11,12	1
CSF1PO	3	7,10,12*	1
		10,11,12	1
		10,12,13	1
TPOX	4	8,9,11	1
		8,11,12	1
		9,11,12	1
		8,10,11	1
D18S51	8	11,12,13*	1
		11,21,22*	1
		11,20,21*	1
		14,19,20	1
		12,13,15	1
		11,12,14*	1
		18,23,24*	1
		13,14,18*	1
D8S1179	3	14,17,18	1
		12,13,15	1
		12,15,16	1
D21S11	5	31.2,32.2,33.2*	1
		29,30,32.2	1
		30,31,31.2*	1
		28,29,34.2*	1
		31.2,32,33*	1
D2S441	3	10,14,15*	1
		11,14,16.1*	2
		12,14,16.1*	1

ตำแหน่ง	จำนวนที่พบ	อัลลีล	ประเภท
SE33	33	13,18,31.1*	2
		15.3,20,21*	1
		16,17,20*	1
		16,17,29.2*	1
		17,18,23*	1
		17,26.2,27.2*	1
		17,27.2,28.2*	2
		17,30.2,32.2*	1
		18,19,27.2*	1
		18,27.2,28.2*	2
		18,28.2,29.2*	1
		19,20,22*	1
		19,20,25.2*	1
		19,28.2,29.2*	1
		20,21,21.2*	1
		20,21,28.2*	1
		20,26.2,27.2*	1
		20,26.2,28.2*	1
		20,27.2,28.2*	2
		20,29.3,30.3*	1
		20.2,21.2,22.2*	1
		21,27.2,28.2*	2
		21,32.2,33.2*	1
		21.2,22.2,24.2*	1
		22.2,23.2,28.2*	1
		23.2,26.2,28.2	1
		23.2,27.2,28.2*	1
		24.2,30.2,31.2*	1
		25.2,26.2,27.2*	1
		27.2,28.2,29.2*	2
		27.2,28.2,30.2*	2
		27.2,28.2,31.2*	2
		28.2,31.2,32.2*	1

ตารางที่ 2 (ต่อ) แสดงผลการศึกษา tri-allelic patterns โดยการตรวจด้วยชุดน้ำยา GlobalFiler™ PCR Amplification Kit

ตำแหน่ง	จำนวนที่พบ	อัลลีล	ประเภท
D19S433	3	13,14,15	1
		12,14,2,15*	1
		12,13,14	1
FGA	6	22,23,25*	1
		20,24,25*	1
		20,22,23	1
		20,21,22	1
		22,23,24	1
		22,25,26	1
D5S818	2	11,12,13	1
		10,11,12	1
D10S1248	2	14,15,16*	1
		12,14,15*	1
D2S1338	1	20,22,24*	1

ตำแหน่ง	จำนวนที่พบ	อัลลีล	ประเภท
D1S1656	2	15,18,3,19.3*	1
		15,16,17	1
D12S391	4	21,25,26*	1
		21,22,23*	2
		19,21,22*	1
		15,25,26*	1
D13S317	3	10,12,13	1
		9,10,11	1
		11,12,13	1
D7S820	5	10,12,13*	2
		10,11,12	1
		8,10,12*	1
		12,14,15*	1
		10,3,11,12*	1

* หมายถึง อัลลีล ที่ไม่เคยรายงานใน STRbase (www.strbase.nist.gov/var_tab.html)

5. สรุปและวิเคราะห์ผล

จากการตรวจพิสูจน์และวิเคราะห์รูปแบบสารพันธุกรรมด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป GlobalFiler™ PCR Amplification Kit ทั้งหมด 21 ตำแหน่ง ในประชากร 78,810 คนจากฐานข้อมูลผู้ต้องขัง สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ พบ microvariant alleles จำนวน 93 อัลลีลที่แตกต่างกัน โดย microvariant alleles ที่พบได้บ่อยที่สุด คือ อัลลีล 19.2 ในตำแหน่ง D12S391 ซึ่งพบ 57 ครั้ง คิดเป็นความถี่ 0.0362% รองลงมาคืออัลลีล 31.1 ในตำแหน่ง FGA ซึ่งพบ 54 ครั้ง มีความถี่เป็น 0.0343% นอกจากนี้ยังพบ microvariant alleles จำนวน 27 อัลลีล ในตำแหน่ง CSF1PO, D2S441, FGA, D22S1045, D5S818, SE33, D1S1656 และ D12S391 ซึ่งเป็นอัลลีลที่ไม่เคยรายงานมาก่อนใน STRbase ดังแสดงในตารางที่ 1 อัลลีลที่ทำเครื่องหมาย (*) ในส่วนของ microvariant alleles จำนวน 3 อัลลีล ที่อยู่ระหว่าง Allelic Ladder ของ 2 ตำแหน่งที่ตรวจพบนั้น ควรตรวจซ้ำด้วยชุดตรวจที่มีลำดับ STR marker ที่แตกต่างกัน หรือ ต้องทำการตรวจลำดับเบสด้วยเทคนิค sequence เพิ่มเติม จึงจะสามารถทราบว่า เป็น microvariant alleles ของตำแหน่งใด

ส่วนของการศึกษารูปแบบ Tri-allelic นั้น Tri-allelic pattern ถูกจัดประเภทเป็นสองประเภท คือ ประเภทที่ 1 เป็นการกลายพันธุ์ทางร่างกาย ซึ่งเกิดระหว่างการพัฒนาของแต่ละบุคคล ส่งผลให้เกิด chimera กับเซลล์บางเซลล์ที่มีอัลลีลดั้งเดิมและอัลลีลอื่นกลายพันธุ์ ซึ่งลักษณะของความสูงของกราฟจะไม่เท่ากัน ส่วนประเภทที่ 2 เป็นการเกิด aneuploidy ของโครโมโซม หรืออาจเป็นผลมาจาก autosomal trisomy ซึ่งความสูงของกราฟมักจะปรากฏความสูงเท่าๆ กัน ในการศึกษาครั้งนี้ พบรูปแบบ tri-allelic จำนวน 111 รูปแบบ จาก 19 ตำแหน่ง ได้แก่ D3S1358, vWA, D16S539, CSF1PO, TPOX, D18S51, D8S1179, D21S11, D2S441, D19S433, FGA, D5S818, D13S317, D7S820, SE33, D10S1248, D1S1656, D12S391 และ D2S1338 โดยพบว่าเป็น Tri-allelic pattern ประเภทที่ 1 จำนวน 100 รูปแบบ และประเภทที่ 2 จำนวน 11 รูปแบบ

นอกจากนี้ยังพบว่า มีรูปแบบ tri-allelic จำนวน 63 รูปแบบ ใน 13 ตำแหน่ง ได้แก่ vWA, CSF1PO, D18S51, D21S11, D2S441, D19S433, FGA, D7S820, SE33, D10S1248, D1S1656, D12S391 และ D2S1338 ที่ยังไม่เคยรายงานมาก่อนใน STRbase ดังแสดงในตารางที่ 2 อัลลีลที่ทำเครื่องหมาย (*)

โดยสรุป การศึกษานี้แนะนำเสนอเกี่ยวกับบทสรุปของอัลลีลที่ผิดปกติที่ตรวจพบในฐานข้อมูลขนาดใหญ่ของ STR การเผยแพร่ข้อมูลนี้จะช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานตระหนักถึงความผิดปกติที่อาจพบได้

6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ใช้เป็นแหล่งอ้างอิงให้กับการศึกษาด้านประชากรศาสตร์ของประชากรในประเทศไทย เพื่อใช้ประโยชน์ในการพิสูจน์บุคคลไม่ว่าในทางคดีหรือการพิสูจน์บุคคลสูญหาย เพื่อสนับสนุนการอำนวยความสะดวกและคุ้มครองทางสังคม

7. เอกสารอ้างอิง

- [1] A.J. Jeffreys, The man behind the DNA fingerprints: an interview with Professor Sir Alec Jeffreys, Investigative Genetics 4(1) (2013) 21.
- [2] J.M. Butler, Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology, Academic Press, San Diego, 2012, p108-111
- [3] J.M. Butler, Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Interpretation, Academic Press, San Diego, 2015
- [4] STRBase: <http://www.cstl.nist.gov/strbase>. Accessed Jan 23, 2022.
- [5] Yoon HR, Park YS, Kim YK. Rapid Prenatal Detection of Down and Edwards Syndromes by Fluorescent Polymerase Chain Reaction with Short Tandem Repeat Markers. Yonsei Med J. 2002 Oct;43(5):557-566. <https://doi.org/10.3349/ymj.2002.43.5.557>
- [6] Tri-Allelic Patterns on NIST STRBase website. (2014). http://www.cstl.nist.gov/strbase/tri_tab.htm. Accessed Jan 23, 2022.