

## ชีวเคมีกับงานพิสูจน์หลักฐาน (From protein to DNA technology)

วิไล อโนมะศิริ\*

ความรู้ทางชีวเคมีเกี่ยวกับสารประกอบต่างๆ ในเซลล์ และในร่างกายของมนุษย์เป็นความรู้พื้นฐานที่นำไปสู่ความเข้าใจ และการอธิบายเกี่ยวกับกลไกหรือปฏิกิริยาเคมีใดๆ ที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย ในทางการแพทย์โดยเฉพาะงานเวชศาสตร์ชันสูตรได้ใช้การประยุกต์ความรู้ทางชีวเคมีในการตรวจหาสารประกอบต่างๆ ในสารตัวอย่าง เช่น เลือด ปัสสาวะ เพื่อใช้ประกอบในการวินิจฉัยหาสาเหตุของอาการผิดปกติ รวมทั้งการติดตามการรักษาโรคด้วย ในทำนองเดียวกันความรู้ทางชีวเคมีได้ถูกนำไปใช้ในงานพิสูจน์หลักฐานโดยมีพัฒนาการตามลำดับมาตั้งแต่อดีต โดยใช้สารตัวอย่าง เช่น เลือด คราบเลือดจากที่เกิดเหตุ คราบอสุจิ เส้นผม เซลล์ผิวหนังของผู้ต้องหาที่ติดอยู่ที่เล็บของเหยื่อ เป็นต้น

พัฒนาการของเทคโนโลยีที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์บุคคลเริ่มต้นตั้งแต่ปี ค.ศ.1901 ซึ่งเป็นปีที่ค้นพบการตรวจหมู่เลือด ABO ในปี ค.ศ.1927 พบวิธีตรวจเลือดระบบ MNSs ส่วนการตรวจหา RBC antigen ในระบบของ Kell, Duffy และ Kidd ได้พัฒนามาเป็นเวลากว่า 40 ปี แล้ว โดยเฉพาะในงานของศูนย์บริการโลหิตและการถ่ายเลือดที่จะต้องตรวจหาหมู่เลือด ABO และชนิดของ Rh ในงานพิสูจน์หลักฐานเช่น การตรวจความเป็นพ่อ แม่ ลูก ได้มีการประยุกต์เอาเทคนิคของ

red cell protein typing และ red cell enzyme typing เข้ามาใช้ร่วมด้วยเช่น Group specific component (Gc), acid phosphatase (ACP), phosphoglucomutase (PGM), esterase (EsD)serotyping ของ human leukocyte antigen (HLA) เป็นต้น วิธีการต่างๆ นี้มีอำนาจในการตัดออก (Power of exclusion) ไม่เท่ากัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. Power of exclusion ของสารต่างๆ ในเม็ดเลือดแดงในคนผิวขาว<sup>(1)</sup>

สารประกอบ	Power of exclusion (P.E.)
<b>Red cell antigens</b>	
ABO	0.15
MNSs	0.31
Rh	0.22
Duffy	0.18
Jk	0.19
Kell	0.04
<b>Red cell enzymes</b>	
ACP	0.22
PGM	0.15
PGM(IEF)*	0.32
EsD	0.09
EsD(IEF)*	0.10

\* IEF หมายถึงการทำ subtyping โดยวิธี isoelectric focusing

ค่าที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 ทำให้เห็นว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมากระบบที่ใช้ในการตรวจหา power of exclusion ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจำนวน alleles ของแต่ละระบบ เช่น หมู่เลือด ABO และหมู่เลือด MNSS นอกจากนี้วิธีการที่ใช้ในการศึกษาของสารแต่ละชนิดก็มีความแตกต่างเช่นกัน เช่น ค่า power of exclusion ของ PGM ที่ได้จากการทำ conventional electrophoresis และ isoelectric focusing พบว่าการศึกษา PGM โดยวิธีหลังจะได้ allotype เพิ่มขึ้น 2 ชนิด ทำให้ได้ค่า P.E. เพิ่มขึ้นจาก 0.15 เป็น 0.32 ตามลำดับ

ในการศึกษาทางชีวเคมีและนิติเวช ถ้าต้องการที่จะเพิ่มค่าอำนาจในการคัดออกนี้ จำเป็นต้องใช้วิธีการศึกษามากกว่า 1 วิธี เพื่อให้ได้ค่า cumulative power of exclusion (P<sub>cum</sub>) ที่ได้จาก

$$P_{cum} = 1 - (1 - P_1)(1 - P_2) \dots (1 - P_n)$$

ที่กล่าวมาแล้วนี้เป็นการประยุกต์นำความรู้ทางชีวเคมีมาใช้ในการพิสูจน์บุคคลของงานนิติเวช สำหรับการพิสูจน์ความเป็นพ่อ แม่ ลูกนั้นมีค่าทางสถิติอีกค่าหนึ่งเข้ามาเกี่ยวข้อง คือ ค่า paternity index หรือ PI ซึ่งก็เช่นเดียวกันคือ แต่ละระบบมีค่า PI แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2. ค่า PI สูงสุดและต่ำสุดของระบบต่างๆ ในประชากรผิวขาว

ระบบที่ใช้	PI for common allotypes	
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด
ABO	0.28	7.94
Kell	0.52	23.26
Gc	0.70	3.46
PGM <sub>1</sub>	0.65	4.37

ค่าที่อ้างถึงเหล่านี้เป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาความถี่ของการกระจายของยีนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในกลุ่มประชากรเป้าหมาย ซึ่งจำเป็นจะต้องศึกษาในกลุ่มประชากรตามเชื้อชาติด้วย เพราะในบางครั้งความถี่ของการกระจายของยีนบางชนิดอาจขึ้นอยู่กับเชื้อชาติของกลุ่มประชากรเป้าหมายด้วย นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับขนาดของกลุ่มศึกษาที่นำมาใช้เป็นฐานข้อมูลในการคำนวณอีกด้วย

จากที่กล่าวมาแล้ว จะเห็นได้ว่าปัจจัยที่ช่วยเพิ่มค่าอำนาจในการคัดออกหรือ power of exclusion ของแต่ละระบบนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของ alleles และวิธีการที่ใช้ในการศึกษาเพื่อใช้จำแนก alleles ต่างๆ ถ้าในระบบใดระบบหนึ่งมีจำนวน alleles มาก จะมีผลให้เพิ่มค่า "P.E." ด้วย

เมื่อความรู้ทางด้าน molecular biology เข้ามามีบทบาทในการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการทดลองทางชีวภาพ กลุ่มผู้สนใจในงานด้านนี้ได้เริ่มนำเอาการศึกษา ยีนหรือ DNA เข้ามาเพิ่มประสิทธิภาพของระบบนี้ เช่นการศึกษาการกระจายของยีน HLA DQα ในกลุ่มประชากรต่างๆ เนื่องจากยีนนี้มี alleles ที่พบในประชากรทั่วๆ จำนวน 6 ชนิดด้วยกันทำให้ได้ถึง 21 genotypes มีอำนาจในการจำแนกสูงขึ้น<sup>(2)</sup> ต่อมามีการพัฒนานำเอาเทคนิคของ PCR และ multiplex PCR มาช่วยในการศึกษา มีการศึกษาความถี่ของการกระจายของ DNA สายสั้นๆ บนโครโมโซม เช่นการศึกษา ระบบของ VNTR (variable numbers of tandem repeats) โดยวิธี RFLP (restriction fragment length polymorphism), ระบบ minisatellite และ microsatellite หรือ STR (short tandem repeat) โดยวิธี PCR เป็นการเพิ่มปริมาณของ DNA โดยวิธีที่เรียกว่า polymerase chain reaction<sup>(3)</sup>

ในที่ประชุม 14<sup>th</sup> Meeting of the International Association of Forensic Sciences (IAFS) มีผู้นำเสนอการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ DNA technology กับงานพิสูจน์หลักฐานมากมายทั้งในรูปแบบของ oral และ poster presentation เป็นงานที่รวบรวมการศึกษาการกระจายของยีนที่ locus ต่างๆ เพื่อหาระบบที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงสุดในการพิสูจน์บุคคล อย่างไรก็ตาม ก็ยังไม่มีการสรุปที่เป็นสากลจากการประชุมครั้งนี้ แต่ก็ได้มีการกระตุ้นให้เกิดความตื่นตัวในการประยุกต์ใช้ DNA technology ในงานพิสูจน์หลักฐานในประเทศต่าง ๆ ที่เข้าร่วมประชุม เช่น ญี่ปุ่น จีน สหรัฐอเมริกา ไทย และอื่นๆ เป็นต้น

ในวารสารฉบับนี้ได้ตีพิมพ์บทความพิเศษการประยุกต์ใช้ความรู้ทางด้านอนุชีววิทยากับงานนิติเวชที่เรียบเรียงโดย ร.ศ.พ.ญ.ธาดา สืบหลินวงศ์ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในขณะที่เดียวกัน ศาสตราจารย์ ดร.วิชัย บุญแสง ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ก็ได้เขียนนิพนธ์ต้นฉบับรายงานเกี่ยวกับการนำเอาความรู้ทางด้านนี้ไปใช้งานอย่างจริงจังในการพิสูจน์ความเป็นพ่อแม่ ลูก จำนวน 50 ครอบครัว

ไม่ว่าความรู้ทางด้านอนุชีววิทยาหรือทางด้านชีวเคมีเกี่ยวกับงานพิสูจน์หลักฐานจะได้รับการพัฒนาไปอย่างรวดเร็วแค่ไหนสิ่งที่ควรระวังไว้เสมอคือวัตถุประสงค์ในการนำไปประยุกต์ใช้และการยอมรับในสังคม ถ้าเป็นการใช้ในการช่วยให้ผู้บริสุทธิ์ไม่ถูกลงโทษหรือถูกปรับปรับ คงจะดูไม่มีอุปสรรคอะไรมากนัก แต่ถ้าเป็นการนำไปใช้เพื่อระบุตัวผู้ต้องสงสัยว่าเป็นผู้กระทำความผิด เช่น กรณีของนักฟุตบอลชาวอเมริกัน O.J. Simpson

ที่ถูกกล่าวหาในคดีฆ่าภรรยา นั้น อาจจะต้องพบกับอุปสรรคข้อขัดกตามอีกมากมายจากทนายความจำเลย ซึ่งในที่สุดอาจจะมีผลต่อรูปคดีได้ ทั้งนี้การนำไปประยุกต์ใช้ คงขึ้นอยู่กับทักษะ ความชำนาญ ในการนำเทคนิคเหล่านี้ รวมทั้งการมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับจุดอ่อนจุดแข็งของแต่ละวิธีด้วย

### อ้างอิง

1. Dykes DD. "The Use of Frequency Tables in Parentage Testing". In: Silver H, ed. Probabilities of Inclusion in Paternity Testing. The American Association of Blood Bank., 1982:15-106
2. Helmutch R., Fildes N, Blake E, Luce MC, Chimera J, Madej R, Gorodezky C, Stoneking M, Schmill N, Klitz W, Higuchi R, Erlich HA. "HLA DQ $\alpha$  Allele and Genotype Frequencies in Various Human Populations, Determined by Using Enzymatic Amplification and Oligonucleotide Probes." Am J Hum Genet 1990. 47: 515-523
3. Al-Nassar KE, Mathew J, Thomas N, Fantania HR. Analysis of the DISSO (pMCT118) VNTR locus polymorphism in a native Kuwaiti population by the polymerase chein reaction. Forensic Science Internation 1996; 78: 131-135