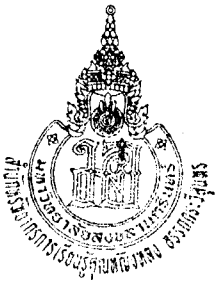

ผลของเวลา ความชื้น และแสงแดด ต่อคุณภาพดีเอ็นเอของเส้นผม

Effect of timing, humidity and sunlight on quality of DNA from hair.

ปรัชญา ละงู

Pratya La-Ngu

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Forensic science
Prince of Songkla University

2552

© ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เลขหมู่ QP88.3 ป46 2552 ฉ.1
Bib Key 374551
- 1 ก.ค. 2553

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของเวลา ความชื้น และแสงแดด ต่อคุณภาพดีเอ็นเอของเส้นผม
ผู้เขียน นายปรัชญา ละงู
สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ พรหมวิกร)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราภรณ์ พรหมวิกร)

.....กรรมการ
(ดร.ชุติมา มัญชวินทร์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของเวลา ความชื้น และแสงแดด ต่อคุณภาพดีเอ็นเอของเส้นผม
ผู้เขียน นายปรัชญา ละงู
สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์
ปีการศึกษา 2552

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเวลา ความชื้น และแสงแดดต่อคุณภาพดีเอ็นเอของเส้นผม และเพิ่มสมรรถนะการตรวจสอบตัวอย่างดีเอ็นเอที่เสื่อมสภาพ โดยการนำเส้นผมไปเก็บรักษาไว้ในสภาพแวดล้อม 3 ปัจจัย คือ ระยะเวลา 0, 2, 5, 7 และ 10 เดือน ความชื้น 30, 60 และ 90 เปอร์เซ็นต์ และแสงชนิดต่างๆ เป็นเวลา 4 และ 8 ชั่วโมง โดยทุกการทดลองมีเยื่อบุกระพุ้งแก้มเป็นกลุ่มเปรียบเทียบ จากนั้นจึงสกัดดีเอ็นเอ เพิ่มปริมาณยีน amelogenin ของดีเอ็นเอในนิวเคลียส และบริเวณ HV-2 ของดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย ด้วยปฏิกิริยา PCR แยกแถบดีเอ็นเอด้วย agarose gel electrophoresis ย้อมสีด้วย ethidium bromide วัดความเข้มของแถบดีเอ็นเอโดยใช้โปรแกรม ImageQuant TL และวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าความเข้มของแถบดีเอ็นเอด้วยสถิติ โดยใช้สถิติ one way ANOVA เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่าง 3 กลุ่มขึ้นไป (n=5) และใช้สถิติ t-test (one-tailed) เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่ม (n=5) ผลการศึกษาพบว่าคุณภาพดีเอ็นเอของเส้นผมและเยื่อบุกระพุ้งแก้มลดลงเมื่อ 1) วางตัวอย่างไว้เป็นระยะเวลานาน โดยดีเอ็นเอในนิวเคลียสเริ่มลดลงที่ระยะเวลา 2 เดือน และลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่ระยะเวลา 7 เดือน และดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียเริ่มลดลงที่ระยะเวลา 5 เดือน และลดลงอย่างเห็นได้ชัดที่ระยะเวลา 10 เดือน 2) วางตัวอย่างไว้ในสภาพความชื้นสูง โดยดีเอ็นเอในนิวเคลียสจะเริ่มลดลงในสภาพความชื้น 30 เปอร์เซ็นต์ และลดลงอย่างเห็นได้ชัดในสภาพความชื้น 90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียจะลดลงในสภาพความชื้น 90 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น และ 3) วางตัวอย่างภายใต้แสงแดดหรือหลอดไฟทังสเตนเป็นเวลาตั้งแต่ 4 ชั่วโมงขึ้นไป โดยจะมีผลต่อดีเอ็นเอในนิวเคลียสเท่านั้น แต่ไม่มีผลต่อดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มรอบปฏิกิริยา PCR น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มสมรรถนะการตรวจดีเอ็นเอที่เสื่อมสภาพ ผลของการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประเมินคุณภาพเบื้องต้นของวัตถุพยานเส้นผมและเยื่อบุกระพุ้งแก้มที่พบในที่เกิดเหตุ และสามารถใช้เป็นมาตรฐานในการปรับสภาพแวดล้อมของห้องปฏิบัติการนิติวิทยาศาสตร์ ให้เหมาะสมต่อการเก็บรักษาวัตถุพยานประเภทเส้นผมหรือเยื่อบุกระพุ้งแก้มให้มีประสิทธิภาพต่อการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

Thesis Title	Effect of timing, humidity and sunlight on quality of DNA from hair.
Author	Mr. Pratya La-Ngu
Major Program	Forensic science
Academic Year	2009

ABSTRACT

This study was aimed to investigate the effect of timing, humidity and sunlight on the quality of DNA in human head hair and develop a method to improve capability of degraded DNA analysis. Human head hairs were treated by leaving for a period of time; 0, 2, 5, 7 and 10 months, in certain humidities; 30%, 60% and 90%, or exposed to different sources of light for 4 and 8 hours. The buccal swabs were used as control samples in all experiments. DNA from hairs and buccal tissue samples were extracted, amplified at amelogenin gene of nuclear DNA and HV-2 region of mitochondrial DNA, separated with agarose gel electrophoresis, and stained with ethidium bromide. DNA band intensities were then measured using ImageQuant TL software, and analysed with statistics, one way ANOVA compared among 3 sample groups or more (n = 5), and t-test (one-tailed) compared between 2 sample groups (n = 5). The results showed that the DNA quality from hairs and buccal tissue samples was reduced, when i) samples were left for too long, by which the nuclear DNA was decreased at significant level in the 2nd month and at highly significant level in the 7th month, while the mitochondrial DNA was decreased in the 5th and 10th month, respectively, ii) samples were left in high humidity conditions, by which nuclear DNA was decreased at significant level in the 30% humidity and at highly significant level in the 90% humidity, while the mitochondrial DNA was decreased only in the 90% humidity, and iii) samples were exposed to sunlight or a tangsten light-bulb for 4 hours or more, by which only the nuclear, not mitochondrial, DNA was affected. It was also found that an increase of PCR cycles might be an alternative method for improvement of degraded DNA analysis. The results of this study can be used as guidelines for assessing hair / buccal tissue quality in the crime scene, and accommodating environmental factors in the forensic laboratories for a better preservation of hair / buccal swab evidences to get more efficient DNA typing.