# ข้อพิจารณาเกี่ยวกับการทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทลายพิมพ์นิ้วมือ

# Considerations on DNA profiling from fingerprint evidence

**ผู้วิจัย** ร.ต.อ.หญิง เกศราพร นนทิอภิรมย์, วนัสภรณ์ บุญอัครสวัสดิ์, ณัฏฐินี พันธ์วิศวาส, ปัญจภัทร โสจิกุล

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์(นานาชาติ) หน่วยสหสาขาวิชา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นถึงสิ่งที่ต้องพิจารณาเมื่อทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทลายพิมพ์นิ้วมือดังนี้ จากงานวิจัยพบว่าการทำลายพิมพ์พันธุกรรมด้วยวิธีการมาตรฐานซึ่งทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส(PCR) จำนวน 28 รอบนั้นไม่ได้ผลลายพิมพ์พันธุกรรม แต่หากใช้จำนวน 34 รอบ (Low copy number analysis; LCN) ได้ลายพิมพ์พันธุกรรมที่มี 2 half-loci และมี 8 loci กับ 2 half-loci จากลายนิ้วมือแฝง 1 และ 4 รอยตามลำดับ ในงานวิจัยได้แสดงให้เห็นว่ามีอัลลีลปรากฏในลายพิมพ์พันธุกรรมจากพื้นผิวขนแปรงของแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงใหม่จำนวน 5 จาก 10 แปรงที่ทดสอบ แต่ไม่ได้ลายพิมพ์พันธุกรรมจากผงฝุ่นดำที่ใช้ในงานวิจัย นอกจากนี้การทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากตัวอย่างสิ่งป้ายกวาด (swab) พื้นผิวกระจกที่ใช้แปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงปัดหยดน้ำลายสดก่อนที่จะปัดแปรงบนพื้นผิวสะอาด พบว่าได้ลายพิมพ์พันธุกรรมแบบไม่สมบูรณ์ที่มี 11-15 loci จากทั้ง 5 แปรงที่ทดสอบ แสดงให้เห็นว่าแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงเป็นสิ่งที่ทำให้เกิดการถ่ายโอนวัตถุทางชีวภาพได้ และเมื่อวิเคราะห์สารพันธุกรรมบนพื้นผิวขนแปรงที่ใช้นี้พบลายพิมพ์พันธุกรรมแบบไม่สมบูรณ์ที่มี 11-15 และ 1-5 loci จากขนแปรงที่ผ่านการปัดหยดน้ำลายสด 3 และ 1 แปรงตามลำดับและไม่ได้ผลลายพิมพ์เพียง 1 แปรง ส่วนแปรงที่ผ่านการปัดคราบน้ำลายแห้งได้ลายพิมพ์พันธุกรรมแบบไม่สมบูรณ์จากเพียง 1 แปรงและไม่ได้ผลลายพิมพ์ 4 แปรง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าวัตถุทางชีวภาพนั้นสามารถคงอยู่บนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงได้ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพธรรมชาติของวัตถุทางชีวภาพที่ได้สัมผัส

**คำสำคัญ :** ลายนิ้วมือแฝง, ลายพิมพ์พันธุกรรม, เทคนิค LCN, การถ่ายโอนวัตถุทางชีวภาพ

**Abstract**

This study revealed considerations to be made on DNA profiling from fingerprint evidence as follow. Null profiles were obtained when the routine DNA typing protocol, using 28 amplification cycles, was applied. However, when 34 amplification cycles (low copy number; LCN) typing protocol was applied, incomplete DNA profiles in which 2 half-loci, and 8 full-loci with 2 half-loci were obtained from 1 and 4 untreated fingerprint samples, respectively. DNA analysis of 10 new fingerprint brushes revealed that there were few alleles were present in 5 out of 10 DNA profiles. In contrast, there were no DNA profiles generated from the black fingerprint powder used in this study. Incomplete DNA profiles with 11-15 loci were obtained from the analysis of all 5 cotton swabs collected from surfaces that were dusted with fingerprint brush exposed to fresh saliva. This confirmed the transfer of biological material *via* fingerprint brush. Out of 5 samples, there were 3 and 1 incomplete DNA profiles with 11 - 15 and 1-5 loci generated from brush hair samples collected from fingerprint brushes exposed to fresh saliva; only one sample gave a null profile result. In contrast, 4 null profiles were obtained from brush hair samples collected from fingerprint brushes exposed to dried saliva stains, only 1 sample gave an incomplete DNA profile. These confirmed that biological materials persisted on fingerprint brushes, and persistence of these biological materials on brush hairs depended upon their nature.

**Key Words:** latent fingerprint, DNA profile, LCN typing, the transfer of biological material

## บทนำ

การทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทลายพิมพ์นิ้วมือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลของผู้ต้องสงสัยเมื่อการตรวจเปรียบเทียบลายนิ้วมือแฝงที่ได้จากการใช้แปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงในการตรวจสถานที่เกิดเหตุไม่สมบูรณ์หรือไม่ได้ลายเส้นของลายนิ้วมือแฝงที่ชัดเพียงพอหรือต้องการหลักฐานทางลายพิมพ์พันธุกรรมประกอบเพื่อเพิ่มความชัดเจนของพยานหลักฐาน

อย่างไรก็ตามการทำลายพิมพ์พันธุกรรมดังกล่าวมักปรากฏลายพิมพ์พันธุกรรมของหลายบุคคลทำให้การอธิบายลายพิมพ์พันธุกรรมดังกล่าวมีความซับซ้อนและต้องใช้ความระมัดระวังเพื่อให้ส่งผลกระทบในการใช้วัตถุพยานดังกล่าวน้อยที่สุด นอกจากนี้ยังมีบ่อยครั้งที่ลายพิมพ์พันธุกรรมที่ได้เข้ากันได้กับผู้ต้องสงสัยแต่ก็จะมีอัลลีลบางอัลลีลที่ไม่สอดคล้องกับผู้ต้องสงสัยปรากฏอยู่ทำให้น้ำหนักของวัตถุพยานดังกล่าวลดลง ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าการปรากฏของอัลลีลดังกล่าวนั้นอาจเกิดจากการใช้แปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงซ้ำๆ *[Alessandrini, F.(2003), Kanable, R.(2005), van Oorschot(1997)]*

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า ในปี ค.ศ. 2005 Oorschot*et al.*ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาการสะสมและการถ่ายโอนของสารพันธุกรรมผ่านทางแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงโดยใช้แปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงที่ปนเปื้อนด้วยน้ำลายไปปัดบนแผ่นพลาสติกสะอาดจำนวน 20 แผ่น อย่างต่อเนื่องเพื่อตรวจสอบปริมาณการถ่ายโอนของสารพันธุกรรม ผลปรากฏว่าปริมาณของสารพันธุกรรมจากน้ำลายบนแผ่นพลาสติกลดลงตามลำดับของแผ่นพลาสติกที่เพิ่มขึ้น *[Van Oorschot(2005)]* ต่อมาในปี ค.ศ. 2006 Proff*et al.* ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาการปนเปื้อนด้วยสารพันธุกรรมและการถ่ายโอนแบบทุติยภูมิผ่านแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงพบว่า 86% ของแปรงที่ถูกใช้ในงานตรวจสถานที่เกิดเหตุเป็นประจำตรวจพบลายพิมพ์พันธุกรรมและชี้ให้เห็นว่าสารพันธุกรรมสามารถติดอยู่บนขนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝง *[Proff, C.(2006)]* ซึ่งโดยส่วนใหญ่แล้วแปรงเหล่านี้ถูกเก็บอยู่ในกระเป๋าตรวจสถานที่เกิดเหตุมีการใช้ซ้ำโดยไม่ได้นำมาทำความสะอาดก่อน

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการทดลองเพื่อศึกษาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทลายพิมพ์นิ้วมือ และแสดงให้เห็นถึงการถ่ายโอน (transfer) และการคงอยู่ (persistence) ของวัตถุทางชีวภาพบนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝง ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องพิจารณาและระมัดระวังในการทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทลายพิมพ์นิ้วมือ

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาเงื่อนไขที่เหมาะสมในการทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทลายพิมพ์นิ้วมือ
2. ตรวจสอบการสะสมของวัตถุทางชีวภาพบนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงใหม่และผงฝุ่นที่ใช้ร่วมกัน

3. ตรวจสอบการถ่ายโอน (transfer) และการคงอยู่ (persistence) ของวัตถุทางชีวภาพบนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝง

## วิธีการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่าง

ในงานวิจัยนี้ใช้วัตถุทางชีวภาพ 2 ชนิด คือ ลายนิ้วมือแฝงและน้ำลายจากอาสาสมัครจำนวน 2 คน ลายนิ้วมือแฝงได้มาจากอาสาสมัครชายซึ่งทำภารกิจตามปกติหลังจากตื่นนอนในตอนเช้าประมาณ 3 ชั่วโมง โดยใช้นิ้วหัวแม่มือข้างขวาประทับลงบนแผ่นกระจกเป็นเวลาประมาณ 10 วินาทีต่อการประทับ 1 ครั้ง และประทับต่อเนื่องเป็นจำนวน 4 ครั้ง ส่วนน้ำลายได้มาจากอาสาสมัครหญิงซึ่งทำความสะอาดช่องปากตามปกติหลังจากตื่นนอนในตอนเช้าประมาณ 3 ชั่วโมงและยังไม่ได้รับประทานอาหารใด โดยหลั่งน้ำลายจากช่องปากลงไปในหลอดทดลองนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งจะคนให้ทั่วหลอดทดลองก่อนนำไปใช้ *[Duangshatome, W.(2011)]* สำหรับคราบน้ำลายเตรียมจากน้ำลายปริมาณ 10 ไมโครลิตรหยดลงบนแผ่นกระจก โดยใช้ทันทีในกรณีที่ทำการทดลองด้วยหยดน้ำลายสดส่วนในกรณีที่ทำการทดลองด้วยคราบน้ำลายแห้งจะรอจนกว่าหยดน้ำลายนั้นแห้งสนิทวัตถุทางชีวภาพทั้งสองชนิดถูกเตรียมและใช้ในการทดลองภายในวันเดียวกับที่เก็บวัตถุทางชีวภาพนั้น

แปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงที่ใช้ในงานวิจัยนี้ทั้งหมดเป็นแปรงใหม่และเป็นชนิดที่ทำมาจากขนอูฐ แปรงเหล่านี้ถูกตรวจสอบสารพันธุกรรมก่อนนำไปใช้ แผ่นกระจกที่ใช้ในงานวิจัยนี้ทั้งหมดผ่านการทำความสะอาดจนไม่มีสารพันธุกรรมหลงเหลืออยู่ก่อนนำไปใช้

2. การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์สารพันธุกรรม

ในงานวิจัยนี้ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารพันธุกรรมจากพื้นผิว 2 แบบ ได้แก่ พื้นผิวของขนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงและพื้นผิวของแผ่นกระจก โดยการสุ่มดึงขนแปรงออกมาจากฐานแปรงจำนวน 10 เส้นต่อแปรง มาใส่ไว้ในหลอดไมโครเซนติฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ส่วนการเก็บตัวอย่างจากพื้นผิวแผ่นกระจกใช้วิธี double swab technique

การสกัดสารพันธุกรรมใช้ Wizard® SV Genomic DNA Purification kit วัดปริมาณโดย NanoDrop™ 1000 spectrophotometerและทำลายพิมพ์พันธุกรรมโดยใช้ AmpFlSTR® Identifiler® PCR amplification Kit (Applied Biosystem,USA)ตามวิธีการที่ระบุไว้ในคู่มือ*[AmpFlSTR®Identifiler®(2006),*

*NanoDrop 1000(2008), Wizard® SV(2009)]* ซึ่งให้ทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเครื่องหมายโมเลกุลด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (PCR) จำนวน 28 รอบ และหากใช้เทคนิคการวิเคราะห์สารพันธุกรรมที่มีจำนวนน้อย (Low copy number; LCN technique) จะทำปฏิกิริยาจำนวน 34 รอบ สำหรับการวิเคราะห์แบบ LCN ใช้วิธีพิจารณา consensus DNA profiles (ข้อมูลอัลลีลที่ปรากฏขึ้นซ้ำเกินกว่า 1 ครั้ง จากการทำลายพิมพ์พันธุกรรมซ้ำ 3 รอบ) ซึ่งวิธีการนี้สามารถช่วยลดโอกาสรายงานอัลลีลคลาดเคลื่อนจากการวิเคราะห์ตัวอย่างสารพันธุกรรมที่มีคุณภาพต่ำ *[Gill, P., Budowle, B.(2000), ISFG.org.(2012)), Kloosterman, A.(2003)]*

3. ขั้นตอนการวิจัย

ทำการเปรียบเทียบคุณภาพลายพิมพ์พันธุกรรมที่ได้จากลายนิ้วมือแฝงจำนวน 1 และ 4 รอยบนแผ่นกระจก การทำลายพิมพ์พันธุกรรมโดยการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสจำนวน 28 และ 34 รอบ (เทคนิคปกติและ LCN technique)

ทำการตรวจสอบลายพิมพ์พันธุกรรมจากแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงใหม่ ผงฝุ่นดำแผ่นกระจกก่อนนำมาใช้ในการวิจัย และทำลายพิมพ์พันธุกรรมอ้างอิงจากเซลล์เยื่อบุข้างแก้มของผู้วิจัยและอาสาสมัครทั้งสองคนสำหรับใช้ในการเปรียบเทียบ

สำหรับการตรวจสอบการถ่ายโอน (transfer) และการคงอยู่ (persistence) ของวัตถุทางชีวภาพบนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงการเก็บตัวอย่างถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ก) นำแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงมาปัดบนแผ่นกระจกที่สะอาด ข) นำแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงมาปัดคราบน้ำลายแห้งก่อนนำไปปัดบนแผ่นกระจกที่สะอาด ค) นำแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงมาปัดหยดน้ำลายสดก่อนนำไปปัดบนแผ่นกระจกที่สะอาดหลังจากนั้นนำแปรงและแผ่นกระจกไปเก็บตัวอย่างตามวิธีที่กล่าวไว้ในข้อ 2 เพื่อวิเคราะห์ลายพิมพ์พันธุกรรมทำการทดลองกลุ่มละ 5 ซ้ำ (โดยใช้แปรง 5 แปรง) ภายใต้เงื่อนไขแบบ LCN

## ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

สารพันธุกรรมของลายนิ้วมือแฝง 1 รอยและ 4 รอยบนแผ่นกระจก นำมาทำลายพิมพ์พันธุกรรม ภายใต้เงื่อนไขแบบปกติและแบบ LCN ได้ผลการวิจัย (ตารางที่ 1) ออกมาว่า ไม่พบลายพิมพ์พันธุกรรมภายใต้เงื่อนไขปกติ (ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส 28 รอบ) แต่พบลายพิมพ์พันธุกรรมภายใต้

เงื่อนไขแบบ LCN โดยมี 2 half-loci ปรากฏขึ้นจากลายนิ้วมือแฝง 1 รอย และมี 8 loci กับ 2 half-loci ปรากฏขึ้นจากลายนิ้วมือแฝง 4 รอย โดยเมื่อเปรียบเทียบความสูงและพื้นที่ใต้กราฟบริเวณจุดยอด (peak height และ peak area) จากลายพิมพ์พันธุกรรมภายใต้เงื่อนไขแบบ LCN จะเห็นได้ว่า แบบลายนิ้วมือแฝง 1 รอยมีความสูงและพื้นที่ใต้กราฟบริเวณจุดยอดต่ำกว่าดีเอนเอควบคุมที่เป็นบวก (Positive control) ประมาณ 5 เท่าส่วนแบบลายนิ้วมือแฝง 4 รอย มีความสูงและพื้นที่ใต้กราฟบริเวณจุดยอดต่ำกว่าดีเอนเอควบคุมที่เป็นบวกประมาณ 3 เท่า นั้นคือ คุณภาพของลายพิมพ์พันธุกรรมแปรผันโดยตรงกับจำนวนลายนิ้วมือแฝงที่นำมาสกัดสารพันธุกรรม แสดงให้เห็นว่าปริมาณวัตถุทางชีวภาพแปรผันโดยตรงกับพื้นที่ที่ถูกสัมผัสเช่นกันเมื่อเปรียบเทียบลายพิมพ์พันธุกรรมภายใต้เงื่อนไขปกติและแบบ LCN จะเห็นได้ว่าภายใต้เงื่อนไขปกตินั้นไม่สามารถทำลายพิมพ์พันธุกรรมออกมาได้ แตกต่างกับแบบ LCN ที่สามารถทำลายพิมพ์พันธุกรรมออกมาได้แม้มีลายนิ้วมือแฝงเพียง 1 รอย ดังนั้นในการทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากลายนิ้วมือแฝงควรใช้เทคนิคแบบ LCN ซึ่งให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ยังพบอัลลีล 11 ในตำแหน่ง D5S818 จากลายนิ้วมือแฝง 4 รอย ภายใต้เงื่อนไขแบบ LCN ซึ่งไม่ตรงกับลายพิมพ์พันธุกรรมของอาสาสมัครชาย แสดงให้เห็นถึงการปนเปื้อนของสารพันธุกรรมที่เกิดขึ้นได้จากการทำภารกิจตามปกติของอาสาสมัครชายนำไปสู่การศึกษาการถ่ายโอนและการคงอยู่ของวัตถุทางชีวภาพในส่วนต่อไป

ในการทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากแหล่งสารพันธุกรรมที่มีคุณภาพต่ำนั้น Kloosterman and Kersbergen *[Kloosterman, A.(2003)]* แนะนำว่าควรใช้เทคนิค LCN เพราะการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส 34 รอบ สามารถเพิ่มจำนวนของ STR ได้ไม่เกิน 64 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส 28 รอบ อย่างไรก็ตามมีปัญหาเกิดขึ้นหลายอย่างในการอธิบายลายพิมพ์พันธุกรรมที่ได้เนื่องจากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส 34 รอบ ย่อมเพิ่มจำนวน, ความสูง, และพื้นที่ ของจุดยอดแปลกปลอม (spurious peak) ให้สูงขึ้นตามไปด้วย จึงเป็นการยากในการแยกแยะจุดยอดแท้จริงออกจากจุดยอดแปลกปลอมดังกล่าว ในทำนองเดียวกันการแยกแยะจุดยอดแท้จริงออกจากจุดยอดที่เกิดจากการปนเปื้อนจึงทำได้ยากเช่นกัน Gill *et al.[Gill, P.(2000)]* จึงแนะนำให้ใช้ consensus profile ในการอธิบายผลในลักษณะนี้ โดยทำลายพิมพ์พันธุกรรมตั้งแต่ขั้นตอนการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสซ้ำ 3 รอบ แล้วตรวจสอบอัลลีลที่ปรากฏขึ้นมากกว่า 1 ครั้ง เรียกออกมาเป็น consensus profile วิธีการของ Gill เป็นที่ยอมรับและน่าเชื่อถือในการทำลายพิมพ์พันธุกรรมภายใต้เงื่อนไขแบบ LCN และถูกนำมาใช้ในงานวิจัยนี้เช่นกัน นอกจากนี้จำนวนรอบของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสไม่ควรเกิน 34 รอบ เนื่องจากเอนไซม์

Taq polymerase ที่เป็นสารสำคัญในขั้นตอนปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสมักเสื่อมสภาพเมื่อผ่านปฏิกิริยาหลายรอบ ทำให้การทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรสเกินกว่า 34 รอบนั้นไม่เกิดประโยชน์

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของแหล่งสารพันธุกรรมกับความสามารถในการถ่ายโอนของแหล่งสารพันธุกรรมจากแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝง 5 แปรง โดยการนำแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงปัดผ่านหยดน้ำลายสดหรือคราบน้ำลายแห้งแล้วแต่กรณีก่อนนำไปปัดบนแผ่นกระจกที่สะอาด แล้วจึงเก็บตัวอย่างจากขนแปรงและแผ่นกระจกดังกล่าวเพื่อทำลายพิมพ์พันธุกรรมภายใต้เงื่อนไขแบบ LCN จึงสรุปผล consensus profiles ได้ตามตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่า ไม่พบลายพิมพ์พันธุกรรมที่สมบูรณ์ (Full DNA profile) จากกรณีใดโดยเมื่อพิจารณาที่ขนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝง จากการนำแปรงไปปัดผ่านหยดน้ำลายสดได้ลายพิมพ์พันธุกรรมที่มีอัลลีลซึ่งเข้ากันได้กับอาสาสมัครหญิงจำนวน 11 – 15 loci เป็นจำนวน 3 แปรง 1 – 5 loci เป็นจำนวน 1 แปรง และไม่พบอัลลีลใดเป็นจำนวน 1 แปรง ส่วนการนำแปรงไปปัดผ่านคราบน้ำลายแห้งได้ลายพิมพ์พันธุกรรมที่มีอัลลีลซึ่งเข้ากันได้กับอาสาสมัครหญิงปรากฏในช่วง 6 – 10 loci เป็นจำนวน 1 แปรง และไม่พบอัลลีลใดเป็นจำนวนถึง 4 แปรงนั่นคือหยดน้ำลายสดนั้นติดบนขนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงได้ดีกว่าคราบน้ำลายแห้ง และแสดงให้เห็นว่าวัตถุทางชีวภาพสามารถสะสมและคงอยู่บนขนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงได้

ในส่วนของการถ่ายโอนของแหล่งสารพันธุกรรมพิจารณาได้จากแผ่นกระจกที่ถูกปัดด้วยแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝง (ตารางที่ 2) โดยแผ่นกระจกที่ถูกปัดด้วยแปรงที่ปัดผ่านหยดน้ำลายสดได้ลายพิมพ์พันธุกรรมที่มีอัลลีลซึ่งเข้ากันได้กับอาสาสมัครหญิงปรากฏในช่วง 11 – 15 loci จากทุกแปรง ส่วนแผ่นกระจกที่ถูกปัดด้วยแปรงที่ปัดผ่านคราบน้ำลายแห้งนั้นกลับไม่พบอัลลีลใดนั่นคือหยดน้ำลายสดถูกถ่ายโอนไปยังแผ่นกระจกผ่านทางแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงได้ดี ส่วนคราบน้ำลายแห้งอาจถูกถ่ายโอนไปยังแผ่นกระจกผ่านทางแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงได้เช่นกันแต่เป็นปริมาณที่น้อยมากจนไม่สามารถทำลายพิมพ์พันธุกรรมได้ อย่างไรก็ตามผลการวิจัยในส่วนนี้แสดงให้เห็นว่าวัตถุทางชีวภาพสามารถถูกถ่ายโอนผ่านทางแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงได้ดังนั้นการนำแปรงที่ผ่านการใช้งานแล้วไปใช้ต่อจึงมีโอกาสที่จะเกิดการปนเปื้อนจากการสะสมวัตถุทางชีวภาพบนขนแปรง และถ่ายโอนจากขนแปรงลงสู่พื้นผิวขณะทำการปัดได้ โดยจำนวนอีลลีลที่เกิดจากการปนเปื้อนนี้จะมากหรือน้อยขึ้นกับลักษณะของวัตถุทางชีวภาพและระยะเวลาที่ขนแปรงไปสัมผัส รวมถึงความถี่ในการใช้งานด้วย

เมื่อพิจารณาถึงวิธีการแก้ปัญหาเรื่องการสะสมและการถ่ายโอนวัตถุทางชีวภาพผ่านทางแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงการใช้วัสดุอุปกรณ์ใหม่จะช่วยลดการปรากฏของอัลลีลที่เกิดจากการปนเปื้อน

ได้หรือไม่ ผลการวิจัยในการทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากผงฝุ่นใหม่และแปรงใหม่ปรากฏว่าผงฝุ่นใหม่นั่นไม่มีอัลลีลใดปรากฏอยู่ แต่แปรงใหม่จำนวน 5 แปรงจากทั้งหมด 10 แปรงกลับพบอัลลีล 1 – 2 อัลลีล (ตารางที่ 3) ชี้ให้เห็นว่ากระบวนการผลิตแปรงดังกล่าวไม่ได้อยู่ภายใต้สภาวะปลอดการปนเปื้อนด้วยสารพันธุกรรมดังนั้นการใช้วัสดุอุปกรณ์ใหม่จึงไม่ใช่วิธีการที่ดีในการลดการปรากฏของอัลลีลที่เกิดจากการปนเปื้อนจากแหล่งอื่น

**ตารางที่ 1** ลายพิมพ์พันธุกรรมของลายนิ้วมือแฝง 1 รอยและ 4 รอยบนแผ่นกระจก นำมาทำลายพิมพ์พันธุกรรม ภายใต้เงื่อนไขแบบปกติและแบบ LCN (ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส 28 และ 34 รอบ)

| เครื่องหมายโมเลกุล | ลายพิมพ์พันธุกรรม | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | อาสาสมัคร | ลายนิ้วมือแฝง 1 รอย | | ลายนิ้วมือแฝง 4 รอย | | ดีเอนเอควบคุมที่เป็นบวก |
| | | 28 รอบ | 34 รอบ | 28 รอบ | 34 รอบ | |
| D8S1179 | 11,12 | NR | NR | NR | 11,12 | 11,13 |
| D21S11 | 29,32.2 | NR | 29,- | NR | -,32.2 | 29,30 |
| D7S820 | 10,12 | NR | NR | NR | 10,- | 10,12 |
| CSF1PO | 11,12 | NR | NR | NR | NR | 12,12 |
| D3S1358 | 15,16 | NR | NR | NR | 15,16 | 16,17 |
| TH01 | 9,9 | NR | NR | NR | 9,9 | 8,10 |
| D13S317 | 9,9 | NR | NR | NR | 9,9 | 12,13 |
| D16S539 | 11,12 | NR | NR | NR | NR | 11,12 |
| D2S1338 | 19,19 | NR | NR | NR | NR | 22,25 |
| D19S433 | 13,13.2 | NR | NR | NR | 13,13.2 | 14,16 |
| vWA | 18,19 | NR | NR | NR | 18,19 | 14,17 |
| TPOX | 11,11 | NR | NR | NR | NR | 8,11 |
| D18S51 | 11,15 | NR | NR | NR | NR | 11,17 |
| D5S818 | 7,10 | NR | NR | NR | 10,11 | 11,11 |
| FGA | 23,24 | NR | NR | NR | NR | 21,25 |
| Amel | X,Y | NR | -,Y | NR | X,Y | X,X |
| จำนวนตำแหน่งที่พบ (16) | 16 | 0 | 2 half loci | 0 | 8 loci + 2 half loci | 16 |

NR หมายถึง ไม่มีอัลลีลที่ตำแหน่งนั้น

**ตารางที่ 2** เปรียบเทียบลายพิมพ์พันธุกรรมที่ได้จากแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงปัดผ่านหยดน้ำลายสดก่อนปัดบนแผ่นกระจกจำนวน 5 แปรง และแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงปัดผ่านคราบน้ำลายแห้งก่อนปัดบนแผ่นกระจก จำนวน 5 แปรง

| ลายพิมพ์พันธุกรรมที่ได้จาก | ชนิดน้ำลาย | จำนวนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงแบ่งตามจำนวนตำแหน่งที่มีอัลลีลปรากฏ | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | จำนวนตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุลที่ตรวจพบ | | | | |
| | | 0 loci | 1-5 loci | 6-10 loci | 11-15 loci | 16 loci |
| พื้นผิวกระจกหลังการปัดด้วยแปรง | สด | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 |
| | แห้ง | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| พื้นผิวขนแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝง | สด | 1 | 1 | 0 | 3 | 0 |
| | แห้ง | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 |

**ตารางที่ 3** ลายพิมพ์พันธุกรรมของแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงใหม่ (ภายใต้เงื่อนไขแบบปกติ)

| เครื่องหมายโมเลกุล | หมายเลขแปรง | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| D8S1179 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| D21S11 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| D7S820 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| CSF1PO | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| D3S1358 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| TH01 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| D13S317 | NR | NR | 9 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| D16S539 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| D2S1338 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| D19S433 | NR | NR | NR | 15.2 | 13.2 | NR | 16 | NR | NR | NR |
| vWA | NR | NR | NR | 15 | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| TPOX | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |
| D18S51 | NR | NR | NR | NR | 17 | 17 | NR | NR | NR | NR |
| Amelogenin | NR | NR | NR | NR | NR | Y | Y | NR | NR | NR |
| D5S818 | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR | NR |

## สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ในการทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทลายนิ้วมือควรใช้เทคนิคแบบ LCN (ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส 34 รอบ) เนื่องจากวัตถุพยานประเภทลายนิ้วมือเป็นแหล่งสารพันธุกรรมที่มีคุณภาพต่ำและยากที่จะทำลายพิมพ์พันธุกรรมโดยใช้เทคนิคแบบปกติได้ (ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส 28 รอบ) และควรอธิบายผลในรูปแบบ consensus profile (อัลลีลที่ปรากฏขึ้นมากกว่า 1 ครั้งจากการทำซ้ำ 3 ครั้ง) ซึ่งเป็นวิธีการอันเป็นที่ยอมรับและเชื่อถือได้ในการแยกแยะจุดยอดแท้จริงออกจากจุดยอดแปลกปลอม (spurious peak) ที่เพิ่มขึ้นจากการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เรส 34 รอบ

นอกจากนี้สิ่งที่ต้องพิจารณาเมื่อทำลายพิมพ์พันธุกรรมจากวัตถุพยานประเภทลายนิ้วมือก็คือการปนเปื้อนที่เกิดจากแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝง จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า วัตถุทางชีวภาพสามารถสะสมคงอยู่และถ่ายโอนไปยังวัตถุอื่นผ่านทางแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับวัตถุทางชีวภาพที่เป็นของเหลว ดังนั้นจึงควรระมัดระวังในการใช้งานรวมถึงการนำแปรงที่ผ่านการใช้งานแล้วไปใช้ต่อ เนื่องจากมีโอกาสที่วัตถุทางชีวภาพจากสถานที่เกิดเหตุก่อนหน้าจะไปปนเปื้อนกับสถานที่เกิดเหตุอีกที่หนึ่งได้ส่วนการใช้แปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงอันใหม่เสมอนั้นย่อมมีค่าใช้จ่ายสูงและผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่ามีโอกาสที่จะพบอัลลีลซึ่งปนเปื้อนจากแปรงใหม่ได้

จากปัญหาเรื่องการปนเปื้อนนี้จึงนำไปสู่การวิจัยเรื่องการกำจัดการปนเปื้อนที่เกิดจากแปรงปัดฝุ่นลายนิ้วมือแฝงในอนาคตต่อไป

## รายการอ้างอิง


Alessandrini, F., Cecati, M., Pesaresi, M., Turchi, C., Carle, F., & Tagliabracci, A. (2003). “Fingerprints as Evidence for a Genetic Profile: Morphological Study on Fingerprints and Analysis of Exogenous and Individual Factors Affecting DNA Typing.”**Journal of Forensic Sciences**, 48(3).

AmpFlSTR® Identifiler® PCR Amplification Kit User’s Manual. (2006). Applied Biosystems.

Bender, K., Farfán, M., amp, x, a, J., & Schneider, P. M. (2004). “Preparation of degraded human DNA under controlled conditions.”**Forensic Science International**, 139(2–3), 135-140. doi: 10.1016/j.forsciint.2003.10.003

Budowle, B., Hobson, D. L., Smerick, J. B., & Smith, J. A. L. (2001). “Low copy number – consideration and caution.”**Proceedings of the Twelfth International Symposium on Human Identification**; 2001; Madison, Wisconsin: Promega Corporation.

Duangshatome, W. (2011). “DNA Recovery from Black Electrical Tapes.” Master degree Forensic Science, Mahidol University, Bangkok.

Gill, P., Whitaker, J., Flaxman, C., Brown, N., & Buckleton, J. (2000). “An investigation of the rigor of interpretation rules for STRs derived from less than 100 pg of DNA.”**Forensic Sci Int**,112(1), 17-40.

ISFG.org. (2012 Mar 15). “International Society for Forensic Genetics”.Available from http://www.isfg.org

Kanable, R. (2005). “DNA From Fingerprints.”**Law Enforcement Technology**,32(7), 66,68-72,74.

Kloosterman, A. D., & Kersbergen, P. (2003). “Efficacy and limits of genotyping low copy number (LCN) DNA samples by multiplex PCR of STR loci.”**J Soc Biol**,197(4), 351-359.

NanoDrop 1000 Spectrophotometer V3.7 User’s Manual. (2008). Thermo Fisher Scientific Inc.

Proff, C., Schmitt, C., Schneider, P. M., Foerster, G., & Rothschild, M. A. (2006). “Experiments on the DNA contamination risk via latent fingerprint brushes.”**International Congress Series**,1288(0), 601-603. doi: 10.1016/j.ics.2005.10.053

Van Oorschot, R. A., Treadwell, S., Beaurepaire, J., Holding, N. L., & Mitchell, R. J. (2005). “Beware of the possibility of fingerprinting techniques transferring DNA.”**J Forensic Sci**,50(6), 1417-1422.

Van Oorschot, R. A. H., & Jones, M. K. (1997). “DNA fingerprints from fingerprints.”**Nature © Macmillan Publishers Ltd**,387, 767.

Wizard® SV Genomic DNA Purification System Manual. (2009). Promega Corporation.