บทฟื้นฟูวิชาการ • Review Article

การประยุกต์ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์

วันชนะ สืบไวย*, วิรุจน์ คุณกิตติ
ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Application of Molecular Biology Techniques on Forensic Sciences

Wunchana Seubwai*, Wirut Khunkitti
Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, 40002, Thailand

ปัจจุบันเทคนิคชีววิทยาโมเลกุลได้เข้ามามีบทบาทอย่างมากในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลโดยเทคนิคการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ถูกใช้งานอย่างแพร่หลาย นอกจากนี้เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลยังถูกทดสอบเพื่อประยุกต์ใช้ในงานนิติวิทยาศาสตร์ด้านอื่นๆอีกด้วย บททบทวนวรรณกรรมเรื่องนี้จะแสดงให้เห็นถึงการประยุกต์เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลในงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เช่น การประเมินอายุของวัตถุพยาน การหาชนิดของชีววัตถุพยาน และการระบุพฤติกรรมการเสียชีวิต

คำสำคัญ: นิติวิทยาศาสตร์, นิติเวชศาสตร์, ชีววิทยาโมเลกุล, ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

At present, techniques of molecular biology have been widely used in forensic science, especially DNA fingerprint technique which applied in various aspects of human identification. In addition, molecular biology techniques also have shown the possibility to using in many forensic applications. This review literature will provides the applications of molecular biology techniques in forensic science for example deposition age estimation, tissue identification and manner of death examination.

Keyword: Forensic sciences, Forensic Medicine, Molecular Biology, DNA fingerprint

ศรีนครินทร์เวชสาร 2557; 29 (3): 321-326. ♦ Srinagarind Med J 2014 ;29 (3): 321-326.

บทนำ

เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เช่นการหาความสัมพันธ์ทางสายเลือด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพิสูจน์ความเป็นบิดามารดา (Paternity testing) และการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล (Personal identification) ซึ่งได้เริ่มต้นใช้งานในปี ค.ศ. 1985 นับตั้งแต่นั้นมาเทคนิคชีววิทยาโมเลกุลหลายเทคนิค เช่น Polymerase Chain Reaction (PCR), DNA sequencing, Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) genotyping และ cDNA microarray ได้ถูกพัฒนาเพื่อช่วยสนับสนุนงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ ตัวอย่างเช่นการชันสูตรพลิกศพเพื่อหาสาเหตุ และพฤติกรรมในการเสียชีวิต ซึ่งข้อมูลต่างๆ ทางนิติวิทยาศาสตร์ที่ได้จากเทคนิคชีววิทยาโมเลกุลสามารถนำไปใช้เพื่อการสืบสวนสอบสวน หรือคลี่คลายคดีได้ โดยจะได้นำเสนอรายละเอียดต่างๆ ในบทความนี้

การพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลและความสัมพันธ์ทางสายเลือดโดยลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Deoxyribonucleic acid) หรือดีเอ็นเอ เป็นสารพันธุกรรมที่พบในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยดีเอ็นเอสามารถถ่ายทอดคุณสมบัติต่างๆ จากรุ่นพ่อและแม่ไปยังรุ่นลูกได้ เนื่องจากลูกจะได้รับดีเอ็นเอจากพ่อและแม่อย่างละครึ่งหนึ่ง จึงทำให้แต่ละบุคคลมีรูปแบบของดีเอ็นเอที่ไม่เหมือนกัน (ยกเว้นฝาแฝดแท้) ซึ่งในปัจจุบันการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอเป็นวิธีที่มีความน่าเชื่อถือมากที่สุดในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลหรือความสัมพันธ์ทางสายเลือด

การวิเคราะห์หาลายพิมพ์ดีเอ็นเอเริ่มในปี ค.ศ.1983 โดย Alec Jeffreys บิดาแห่งเทคโนโลยีลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ซึ่งทำการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี RFLPs Technique[1, 2] โดยใช้เทคนิคดังกล่าวในการตามหาฆาตกรที่ก่อ เหตุฆาตกรรมและ

* **ผู้รับผิดชอบบทความ** : วันชนะ สืบไวย
ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ข่มขืนได้ อย่างไรก็ตามเทคนิค RFLPs ก็ยังมีข้อจำกัด เนื่องจากเทคนิคนี้ต้องการดีเอ็นเอที่ไม่มีการเสื่อมสภาพ อย่างไรก็ตามตัวอย่างดีเอ็นเอที่ได้จากสถานที่เกิดเหตุส่วนใหญ่มักจะอยู่ในสภาพที่ไม่สมบูรณ์อาจทำให้ การหาลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากวิธีนี้อาจเกิดความข้อผิดพลาดได้ นอกจากนี้ RFLPs ยังต้องใช้ดีเอ็นเอปริมาณมาก จากข้อจำกัดของเทคนิค RFLPs ที่กล่าวมา ทำให้มีการพัฒนาเทคนิคการหาลายพิมพ์ดีเอ็นเอรูปแบบใหม่ที่ไม่มีข้อจำกัด ในปริมาณ และความสมบูรณ์ของดีเอ็นเอ

ในปี ค.ศ. 1985 Kary Mullis ได้พัฒนาเทคนิคที่สามารถเพิ่ม จำนวนดีเอ็นเอในหลอดทดลองได้ โดยเทคนิคมีชื่อว่า PCR[3] ซึ่งเทคนิคนี้ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์อีกด้วย ข้อดีของการใช้เทคนิค PCR ในการทำลายพิมพ์ดีเอ็นเอคือ สามารถใช้ดีเอ็นเอปริมาณน้อยกว่า 1 ng ซึ่ง จะมีความแตกต่างกับเทคนิค RFLP ที่ต้องการดีเอ็นเอขั้นต่ำถึง 50 ng การประยุกต์ใช้เทคนิค PCR ในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลนั้น สามารถทำได้โดยออกแบบ DNA primer ให้จำเพาะกับของส่วนดีเอ็นเอบริเวณที่มีลำดับ เบสซ้ำที่เรียกว่า microsatellite หรือ short tandem repeat (STR) (ลำดับเบสที่ซ้ำนี้จะมีแกนของเบส (core base) ขนาด 2 -6 เบสซ้ำกันจำนวนซ้ำไม่เกิน 100 ซ้ำ) ซึ่งในปี ค.ศ.1997 Federal Bureau of Investigation (FBI) ได้ประกาศการใช้งานชุดของ STRs ในการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ซึ่งประกอบด้วย STRs 13 ตำแหน่ง ได้แก่ CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 และ D21S11[4] เพื่อใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล นอกจากนี้ FBI ได้พัฒนาฐานข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เรียกว่า Combined DNA Index System (CODIS) เพื่อใช้ในการเก็บข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอจากผู้กระทำผิดในคดีต่างๆ และสามารถช่วยในการสืบสวนสอบสวนหาตัวคนร้ายได้รวดเร็วขึ้น ในปัจจุบันมีบริษัทผลิตชุดสาร เคมีและเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้ PCR-Based technique เช่น Applied Biosystems และ Promega Corporation เป็นต้น นอกจากการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดย PCR-Based technique ในโคโมโซมร่างกายแล้ว ในปัจจุบันยังมีการหาลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยการตรวจ STR ในโครโมโซม Y[5] และในโครโมโซม X[6]

ไมโทคอนเดรียเป็นออร์แกเนลล์ที่พบในไซโตพลาซึมของเซลล์ มีหน้าที่ในการผลิตพลังงานให้เซลล์โดยกระบวนการหายใจระดับเซลล์ ภายในไมโทคอนเดรียจะบรรจุด้วยไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ซึ่งมีโครงสร้างที่แตกต่างจากนิวเคลียสดีเอ็นเอ ซึ่งในมนุษย์จะได้ไมโทคอนเดรียรับจากเซลล์ไข่ของแม่เท่านั้น ดังนั้นเราสามารถตรวจหาความสัมพันธ์ทางเครือญาติสายแม่โดยการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ในส่วนของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ การตรวจลายพิมพ์ ดีเอ็นเอจากไมโทคอนเดรียยังมีข้อดีอย่างอื่นคือ ไมโทคอน เดรียดีเอ็นเอจะมีความคงทนมากกว่านิวเคลียสดีเอ็นเอ ทำให้สามารถตรวจไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอในวัตถุพยานที่มีอายุสูง เช่น ทหารที่เสียชีวิตในสงครามนานหลายปี หรือกระดูกมัมมี่โบราณ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยการตรวจไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอในวัตถุพยานที่ไม่มีนิวเคลียสดีเอ็นเอ เช่น เส้นผมที่ไม่มีรากผม เป็นต้น โดยการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอนั้น จะใช้เทคนิคที่เรียกว่า DNA sequencing ซึ่งเป็นการหาลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในส่วนของ Hypervariable region I และ II โดย จะเทียบการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์กับลำดับนิวคลีโอไทด์ มาตรฐาน Cambridge reference sequence นอกจากการใช้การตรวจไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอ ในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์แล้ว ยังมีการประยุกต์ใช้ในงาน ด้านประชากรศาสตร์ เพื่อศึกษาการตั้งถิ่นฐาน การอพยพ และการค้าทาสอีกด้วย[7-10]

การทำนายรูปพรรณจากชีววัตถุพยาน

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาการทำนายรูปพรรณบุคคลโดยอาศัยข้อมูลทางจากดีเอ็นเอ (Forensic DNA Phenotyping, FDP) เพื่อใช้งานด้านนิติวิทยาศาสตร์ โดยสามารถใช้ทำนายรูปพรรณจากชีววัตถุพยานหลายชนิด เช่น เลือด และเส้นผม เป็นต้น ซึ่งการทำ FDP จะอาศัยการหา SNPs ที่แตกต่างกันในแต่ละบุคคล

SNPs คือการเปลี่ยนแปลงชนิดของนิวคลีโอไทด์ 1 ตัว ในสายดีเอ็นเอ โดยจะพบการเปลี่ยนแปลงนี้อย่างน้อยร้อยละ 1 ของจำนวนประชากร โดยมักจะพบการเกิด SNPs ในทุกๆ 100-300 นิวคลีโอไทด์ในจีโนม ซึ่ง SNPs ในแต่ละบุคคลจะมีความแตกต่างกันและเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อปัจจัยแวดล้อมต่างๆ เช่น โรค สิ่งแวดล้อม สารพิษ สารเคมี หรือยารักษาโรค

IrisPlex system คือระบบทำนายสีม่านตา โดยการตรวจสอบ SNPs ในยีนที่ควบคุมการสร้างเม็ดสี (Pigmentation) เช่น HECT and RLD domain containing E3 ubiquitin protein ligase 2 (HERC2), Oculocutaneous albinism II (OCA2), Solute carrier family 24 (sodium/potassium/calcium exchanger), member 4 (SLC24A4) และ Tyrosinase (TYR) เป็นต้น ซึ่งสามารถใช้ดีเอ็นเอตั้งต้นในปริมาณน้อยมาก (31 pg) และมีความถูกต้องแม่นยำสูงถึงร้อยละ 94 จากการตรวจสอบในประชาการชาวยุโรปจำนวน 3,840 ราย[11-13] นอกจากทำนายสีม่านตาแล้ว ปัจจุบันยังมีความพยายามในการใช้ SNPs เพื่อทำนายลักษณะอื่นๆ จากวัตถุพยานอีกด้วย เช่น

สีผม (HIrisPlex system) ลักษณะเส้นผม ลักษณะการร่วงของเส้นผม (male baldness) สีผิว และส่วนสูง ซึ่งข้อมูลดังกล่าวมีประโยชน์ในการช่วยพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล หรือใช้ในการสืบสวนสอบสวนเพื่อหาผู้ต้องสงสัยได้[14]

การระบุชนิดของสารคัดหลั่ง

การวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอสามารถใช้ในการระบุพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลได้ แต่ไม่สามารถระบุชนิดของชีววัตถุพยานได้ เช่น เลือดจากประจำเดือน น้ำลาย หรือน้ำอสุจิ การระบุชนิดของสารคัดหลั่งที่ออกมาจากร่างกายสามารถทำให้เกิดความชัดเจนในการคลี่คลายคดีได้

จากความรู้ด้านชีววิทยาโมเลกุลพบว่าเซลล์แต่ละชนิดจะมีการแสดงออกของ mRNA บางชนิดที่มีความจำเพาะต่อเซลล์ (Cell-specific mRNA) ซึ่งสามารถนำความรู้ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้เพื่อระบุชนิดของสารคัดหลั่ง นอกจากนี้การระบุชนิดของสารคัดหลั่งจากร่างกายโดยใช้ Cell-specific mRNA ยังมีข้อดีคือ มีความจำเพาะสูง (High specificity) เนื่องจากการแสดงออกของยีนบางชนิดจะมีความจำเพาะกับเซลล์แต่ละชนิด และความไวสูง (High sensitivity) จากการวิเคราะห์ที่ใช้วิธี PCR ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณของ mRNA ในหลอดทดลองได้มากขึ้นเป็นล้านเท่าในระยะเพียง 1 ถึง 2 ชั่วโมง

ผลการศึกษาของ Bauer และ Patzelt ในปี ค.ศ. 2008 สามารถระบุชนิดของเลือดจากประจำเดือนโดยหาการแสดงออกของ matrix metalloproteinases 7 (MMP-7) mRNA ซึ่งมีความจำเพาะกับเลือดจากประจำเดือน โดยไม่พบการแสดงของ MMP-7 mRNA ในเลือดจากร่างกาย ซึ่งการระบุเลือดจากประจำเดือนด้วยวิธีนี้สามารถยืนยันตัวอย่างเลือดได้ถึง 54 จาก 60 ราย (ความแม่นยำร้อยละ 90)[15] นอกจากนี้ยังอาศัยหลักการเดียวกันนี้ในการระบุชนิดสารคัดหลั่งอื่นๆ เช่น น้ำลายโดยใช้ยีน Statherin (STATH) และ Histatin 3 (HTN3) อสุจิโดยใช้ยีน Protamine 1 (PRM1), Protamine 2 (PRM2) และ Semenogelin 1 (SEMG1) เป็นต้น[16]

นอกจากวิเคราะห์ชนิดของชีววัตถุพยานโดยใช้ Cell-specific mRNA แล้ว ยังมีความพยายามในการวิเคราะห์ชนิดของชีววัตถุพยานโดยการใช้เทคนิค real time PCR เพื่อหาดีเอ็นเอของจุลินทรีย์ (Microflora DNA) ที่จำเพาะกับสารคัดหลั่งต่างๆจากร่างกาย[17]

การประเมินหาอายุของชีววัตถุพยาน

การประเมินหาอายุของชีววัตถุพยานจากสถานที่เกิดเหตุ เช่น คราบเลือด และเส้นผม มีความสำคัญต่อการสืบสวนสอบสวนอย่างมาก เนื่องจากชีววัตถุพยานนั้นอาจ เกี่ยวข้องหรือไม่เกี่ยวข้องกับคดีก็ได้ ดังนั้นการประเมินหาอายุของชีววัตถุพยานจึงมีประโยชน์อย่างยิ่งในการหาความสัมพันธ์ระหว่างวัตถุพยานกับคดีที่เกิดขึ้น

ปัจจุบันมีการศึกษาที่ใช้การวิเคราะห์ชีววัตถุพยาน ซึ่งอาศัยหลักการ ในการหาอัตราการย่อยสลายของ RNA (RNA degradation rates)ในชีววัตถุพยาน เพื่อใช้ในการประเมินอายุของชีววัตถุพยานต่างๆ ผลงานวิจัยโดย Anderson และคณะในปี ค.ศ. 2005 พัฒนาการใช้เทคนิค reverse transcription quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) assay ในการหาอายุของคราบเลือด โดยหาอัตราส่วนระหว่างอัตรา การเปลี่ยนแปลงระดับของ 18S rRNA และ β-actin กับ อายุของคราบเลือด ซึ่งได้กราฟเส้นตรงที่สามารถประเมินอายุ ของคราบเลือดได้ถึง 150 วัน[18] การทดลองของ Bauer และ คณะในปี ค.ศ. 2003 หาอายุคราบเลือดโดยวิธี semi-quantitative duplex PCR โดยหาการแสดงออกของ β-actin ซึ่ง สามารถประเมินหาอายุของคราบเลือดได้ถึง 60 เดือน[19] นอกจากนี้ยังมีผลงานวิจัยที่ใช้การหาระดับการแสดงออกของ housekeeping mRNA ในการหาอายุของชีววัตถุพยานอื่นๆ ยกตัวอย่าง เช่น Hampson และคณะ ในปีค.ศ. 2011 ซึ่ง ได้ทำการประเมินอายุของเส้นผมด้วยวิธี Quantitative Real-time PCR โดยใช้อัตราส่วนการแสดงออกของ 18S rRNA และ β-actin ซึ่งสามารถหาอายุของเส้นผมได้ถึง 60 วัน หลังจากหลุดร่วงออกมาจากศีรษะ[20]

การระบุพฤติกรรมการเสียชีวิต

การระบุพฤติกรรมการเสียชีวิตว่าเป็นการเสียชีวิตโดยอุบัติเหตุ (Accident) ฆาตกรรม (Homicide) หรือฆ่าตัวตาย (Suicide) เป็นปัญหาสำคัญของการชันสูตรพลิกศพ ซึ่งแพทย์ต้องระบุพฤติกรรมการเสียชีวิตให้กับตำรวจ การให้ความเห็นนี้อาจ ไม่สามารถยืนยันได้ด้วยการชันสูตรพลิกศพหรือการตรวจสถานที่เกิดเหตุเท่านั้น ซึ่งหากสามารถใช้ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (Biological Marker) ในการระบุพฤติกรรมการเสียชีวิตได้ ก็จะมีประโยชน์ช่วยในการสืบสวนสอบสวนได้

การฆ่าตัวตายเป็นหนึ่งในปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย โดยสถิติการฆ่าตัวตายในประเทศไทยระหว่างปี ค.ศ.1998-2003 มีจำนวนสูงถึง 7.9 ต่อแสนประชากร[21] ในทางประสาทชีววิทยาส่วนใหญ่การฆ่าตัวตายเกิดจาก 2 สาเหตุหลัก ประกอบด้วย พันธุกรรม (Genetics)[22] และ ปัจจัยแวดล้อม (Environmental factors)[23] ซึ่งผู้ที่มีพฤติกรรมฆ่าตัวตายส่วนใหญ่จะเกิดสภาวะซึมเศร้าและเกิดความเครียดร่วมกันส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลต่างๆเกิดขึ้นในสมอง ทำให้นักวิจัยพยายามหาตัวบ่งชี้ชีวภาพ ที่สามารถใช้ในการระบุกลุ่มคนที่มีความเสี่ยงในการฆ่าตัวตาย หรือมีพฤติกรรมฆ่าตัวตาย[24-26] อย่างไรก็ตามการใช้ตัวบ่งชี้ชีวภาพเพียง 1 ชนิดเพื่อระบุพฤติกรรมการตายก็ยังมีข้อจำกัดหลายประการ โดยเฉพาะ

อย่างยิ่งความจำเพาะต่อพฤติกรรมการตายแต่ละรูปแบบ จึงมีความพยายามในการหากลุ่มของยีน (Biological profiling) ที่มีความจำเพาะกับพฤติกรรมการตายแต่ละชนิดทั้งในระดับโปรตีน และ RNA เพิ่มเติมด้วย

Thalmeier และคณะ ศึกษาโดยเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมที่เสียชีวิตโดยไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะทางจิต (Non-psychiatric controls) เช่น ผู้เสียชีวิตจากโรคหัวใจ และกลุ่มผู้เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย เช่น การผูกคอตาย กระโดดจากที่สูง หรือแทงตัวเอง ซึ่งพบยีนที่มีการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกในกลุ่มผู้เสียชีวิตจากการฆ่าตัวตาย 124 ยีน โดยเป็นยีนที่มีการเพิ่มการแสดงออก 65 ยีน และลดลง 59 ยีน โดยเป็นกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับ “central nervous system development” “homophilic cell adhesion” “regulation of cell proliferation” และ “transmission of nerve impulse” พบว่าสามารถใช้การแสดงออกของยีนในการแบ่งกลุ่มผู้เสียชีวิตได้สองกลุ่ม[27] Schlicht และคณะในปี ค.ศ. 2007 ตรวจสอบหาการแสดงออกของโปรตีนในสมองส่วน prefrontal cortex ของกลุ่มผู้เสียชีวิตสองแบบทั้งการฆ่าตัวตาย และเสียชีวิตจากอุบัติเหตุหรือโรคหัวใจ พบโปรตีนที่มีการแสดงออกที่แตกต่างกันในกลุ่มผู้เสียชีวิตทั้งสองกลุ่ม[28] ซึ่งมีประโยชน์ในการทำนายพฤติกรรมในการตาย หรือใช้ในการศึกษากลไกการเปลี่ยนแปลงทางประสาทวิทยาต่างๆ ในผู้เสียชีวิตจากการ ฆ่าตัวตายได้

การประเมินอายุของผู้เสียชีวิต

การประเมินอายุของผู้เสียชีวิต สามารถนำมาใช้เป็นหลักฐานสนับสนุนงานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ ในกรณีที่ศพอยู่ในสภาพที่อาจจะถูกทำลายไปเพื่ออำพรางคดีเช่นถูกเผา ถูกฆ่าหั่นศพ ถูกกัดแทะจากสัตว์ หรืออาจถูกย่อยสลายไปโดยกระบวนการทางธรรมชาติ เทคนิคมากมายหลายอย่างถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อประเมินอายุของผู้เสียชีวิต เช่น การตรวจสอบข้อต่อที่กระดูกศีรษะ (cranial sutures) แผ่นปิดกระดูก (epiphysial plate) รอยต่อระหว่างกระดูกหัวหน่าว (pubic symphysis) ส่วนของกระดูกอ่อนที่เชื่อมระหว่างกระดูกหน้าอกและกระดูกซี่โครง (ribs) กระดูกสันหลัง (vertebrae) และฟัน (teeth)

แต่อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวเหล่านี้มีความถูกต้องแม่นยำในการประเมินอายุของเด็กและวัยรุ่นเท่านั้น แต่จะมีความคลาดเคลื่อนสูงในกลุ่มคนวัยกลางคนและผู้สูงอายุ ดังนั้นจึงมีความพยายามหาวิธีประเมินอายุวิธีอื่นๆ โดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล เช่น การประเมินอายุโดยอาศัยการวัดความยาวของบริเวณเทโลเมียร์ (telomere) และการเกิด มิวเทชั่นที่บริเวณไมโทคอนเดรีย

Telomere shortening

Telomere อยู่บริเวณปลายโครโมโซมและจะมีขนาดสั้นลง ทุกหลังที่เซลล์มีการแบ่งตัวซึ่งพบปรากฏการณ์นี้ได้ในเซลล์หลายชนิด เช่น fibroblasts[29], lymphocytes[30], peripheral blood cells[31], colonic mucosa[32] และkidneys[33] ทำให้นักวิจัยทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของ telomere และอายุของผู้เสียชีวิตในเลือด ผิวหนัง และฟันโดยเทคนิคต่างๆ เช่น การศึกษาตัวอย่างเลือดของคนญี่ปุ่นได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ของความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของ telomere และอายุเท่ากับ 0.832[34] และความยาวของ telomere ในเนื้อเยื่อในโพรงประสาทฟัน (Dental Pulp) ซึ่งก็ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.74[35]

Mitochondrial mutations

ตามทฤษฎีการแก่ตัว (aging theory) พบว่าจำนวนอนุมูลอิสระในร่างกายจะมีการเพิ่มขึ้นตามอายุและอนุมูลอิสระนี้จะมีบทบาทในกระบวนการแก่ตัวของมนุษย์[36] ภายในเซลล์ที่มีการผลิตอนุมูลอิสระมาก ได้แก่ mitochondrial ส่งผลให้ mitochondrial DNA มีโอกาสเกิด mutations ได้สูง เนื่องจากภายในนั้นไม่มีเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่ในการซ่อมแซม DNA ที่ปกติจึงเป็นผลให้เกิด mutations ได้ โดยมีรายงานแสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเกิด mutations แบบ deletion ซึ่งเป็นการที่โครโมโซมบางส่วนหายไปใน mitochondrial DNA และอายุที่เพิ่มมากขึ้น[37-40] ปัจจุบันนักวิจัยหลายกลุ่มได้ใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลเทคนิคต่างๆ ในการหา mutations ที่เกิดที่ mitochondrial โดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณ nucleotideที่ 4977 bp ซึ่งพบว่าเป็นบริเวณที่เกิด mutations ได้สูง และมีความสัมพันธ์กับอายุที่เพิ่มขึ้น[41]

สรุป

เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุลสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อสนับสนุนการทำงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้อย่างหลากหลาย เช่น เทคนิคการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอเพื่อช่วยในการตรวจสอบเอกลักษณ์บุคคลหรือความสัมพันธ์ทางสายเลือด การตรวจสอบหา SNPs เพื่อบ่งบอกรูปพรรคของบุคคลที่เป็นเจ้าของวัตถุพยาน ซึ่งทั้งสองเทคนิคที่กล่าวมาแล้วนั้นได้พิสูจน์ว่าสามารถใช้งานได้จริง และเป็นข้อมูลสำคัญเพื่อช่วยในการสืบสวนสอบสวน นอกจากนี้เทคนิคอื่นๆที่ได้กล่าวไปแล้วในบทความก็ยังแสดงถึงความเป็นไปได้ในการใช้งานทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. Nature 1985; 316:76-9.
2. Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. Hypervariable 'minisatellite' regions in human DNA. Nature 1985; 314:67-73.
3. Mullis KB. Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction. Ann Biol Clin (Paris) 1990; 48:579-82.
4. Butler JM. Genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing. J Forensic Sci 2006; 51:253-65.
5. Roewer L. Y chromosome STR typing in crime casework. Forensic Sci Med Pathol 2009; 5:77-84.
6. Szibor R. X-chromosomal markers: past, present and future. Forensic Sci Int Genet 2007; 1:93-9.
7. Melton T, Dimick G, Higgins B, Lindstrom L, Nelson K. Forensic mitochondrial DNA analysis of 691 casework hairs. J Forensic Sci 2005 ; 50:73-80.
8. Just RS, Irwin JA, O'Callaghan JE, Saunier JL, Coble MD, Vallone PM, et al. Toward increased utility of mtDNA in forensic identifications. Forensic Sci Int 2004; 146 Suppl:S147-9.
9. Linch CA, Whiting DA, Holland MM. Human hair histogenesis for the mitochondrial DNA forensic scientist. J Forensic Sci 2001; 46:844-53.
10. Umetsu K, Yuasa I. Recent progress in mitochondrial DNA analysis. Leg Med (Tokyo) 2005; 7:259-62.
11. Walsh S, Wollstein A, Liu F, Chakravarthy U, Rahu M, Seland JH, et al. DNA-based eye colour prediction across Europe with the IrisPlex system. Forensic Sci Int Genet 2012; 6:330-40.
12. Walsh S, Lindenbergh A, Zuniga SB, Sijen T, de Knijff P, Kayser M, et al. Developmental validation of the IrisPlex system: determination of blue and brown iris colour for forensic intelligence. Forensic Sci Int Genet 2011; 5:464-71.
13. Walsh S, Liu F, Ballantyne KN, van Oven M, Lao O, Kayser M. IrisPlex: a sensitive DNA tool for accurate prediction of blue and brown eye colour in the absence of ancestry information. Forensic Sci Int Genet 2011; 5:170-80.
14. Walsh S, Liu F, Wollstein A, Kovatsi L, Ralf A, Kosiniak-Kamysz A, et al. The HIrisPlex system for simultaneous prediction of hair and eye colour from DNA. Forensic Sci Int Genet 2013; 7:98-115.
15. Bauer M, Patzelt D. Identification of menstrual blood by real time RT-PCR: technical improvements and the practical value of negative test results. Forensic Sci Int 2008; 174:55-9.
16. Sakurada K, Akutsu T, Fukushima H, Watanabe K, Yoshino M. Detection of dermcidin for sweat identification by real-time RT-PCR and ELISA. Forensic Sci Int 2010; 194:80-4.
17. Giampaoli S, Berti A, Valeriani F, Gianfranceschi G, Piccolella A, Buggiotti L, et al. Molecular identification of vaginal fluid by microbial signature. Forensic Sci Int Genet 2012; 6:559-64.
18. Anderson S, Howard B, Hobbs GR, Bishop CP. A method for determining the age of a bloodstain. Forensic Sci Int 2005; 148:37-45.
19. Bauer M, Polzin S, Patzelt D. Quantification of RNA degradation by semi-quantitative duplex and competitive RT-PCR: a possible indicator of the age of bloodstains? Forensic Sci Int 2003; 138:94-103.
20. Hampson C, Louhelainen J, McColl S. An RNA expression method for aging forensic hair samples. J Forensic Sci 2011; 56:359-65.
21. Lotrakul M. Suicide in Thailand during the period 1998-2003. Psychiatry Clin Neurosci 2006; 60:90-5.
22. Marusic A, Farmer A. Genetic risk factors as possible causes of the variation in European suicide rates. Br J Psychiatry 20011; 79:194-6.
23. Brent DA. Risk factors for adolescent suicide and suicidal behavior: mental and substance abuse disorders, family environmental factors, and life stress. Suicide Life Threat Behav 1995; 25 Suppl:52-63.
24. Buttenschon HN, Flint TJ, Foldager L, Qin P, Christoffersen S, Hansen NF, et al. An association study of suicide and candidate genes in the serotonergic system. J Affect Disord 2013.
25. Judy JT, Seifuddin F, Mahon PB, Huo Y, Goes FS, Jancic D, et al. Association study of serotonin pathway genes in attempted suicide. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2012; 159B:112-9.
26. Azenha D, Alves M, Matos R, Santa JF, Silva B, Cordeiro C, et al. Male specific association between the 5-HTR6 gene 267C/T SNP and suicide in the Portuguese population. Neurosci Lett 2009; 466:128-30.
27. Thalmeier A, Dickmann M, Giegling I, Schneider B, A MH, Maurer K, et al. Gene expression profiling of post-mortem orbitofrontal cortex in violent suicide victims. Int J Neuropsychopharmacol 2008; 11:217-28.
28. Schlicht K, Buttner A, Siedler F, Scheffer B, Zill P, Eisenmenger W, et al. Comparative proteomic analysis with postmortem prefrontal cortex tissues of suicide victims versus controls. J Psychiatr Res 2007; 41:493-501.
29. Harley CB, Futcher AB, Greider CW. Telomeres shorten during ageing of human fibroblasts. Nature 1990; 345:458-60.
30. Son NH, Murray S, Yanovski J, Hodes RJ, Weng N. Lineage-specific telomere shortening and unaltered capacity for telomerase expression in human T and B lymphocytes with age. J Immunol 2000; 165:1191-6.

31. Iwama H, Ohyashiki K, Ohyashiki JH, Hayashi S, Yahata N, Ando K, et al. Telomeric length and telomerase activity vary with age in peripheral blood cells obtained from normal individuals. Hum Genet 1998; 102:397-402.

32. Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. Nature 1990; 346:866-8.

33. Melk A, Ramassar V, Helms LM, Moore R, Rayner D, Solez K, et al. Telomere shortening in kidneys with age. J Am Soc Nephrol 2000; 11:444-53.

34. Tsuji A, Ishiko A, Takasaki T, Ikeda N. Estimating age of humans based on telomere shortening. Forensic Sci Int 2002; 126:197-9.

35. Takasaki T, Tsuji A, Ikeda N, Ohishi M. Age estimation in dental pulp DNA based on human telomere shortening. Int J Legal Med 2003; 117:232-4.

36. Harman D. The free radical theory of aging: the effect of age on serum mercaptan levels. J Gerontol 1960; 15:38-40.

37. Corral-Debrinski M, Horton T, Lott MT, Shoffner JM, Beal MF, Wallace DC. Mitochondrial DNA deletions in human brain: regional variability and increase with advanced age. Nat Genet 1992; 2:324-9.

38. Corral-Debrinski M, Shoffner JM, Lott MT, Wallace DC. Association of mitochondrial DNA damage with aging and coronary atherosclerotic heart disease. Mutat Res 1992; 275:169-80.

39. Lee HC, Pang CY, Hsu HS, Wei YH. Differential accumulations of 4,977 bp deletion in mitochondrial DNA of various tissues in human ageing. Biochim Biophys Acta 1994; 1226:37-43.

40. Yang JH, Lee HC, Lin KJ, Wei YH. A specific 4977-bp deletion of mitochondrial DNA in human ageing skin. Arch Dermatol Res 1994; 286:386-90.

41. Meissner C, Ritz-Timme S. Molecular pathology and age estimation. Forensic Sci Int 2010; 203:34-43.