เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ

การตรวจพิสูจน์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์

Forensic Mitochondrial DNA Typing

11-12 กันยายน 2557

ภาควิชาพยาธิวิทยา
คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา

เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ

การตรวจพิสูจน์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์

Forensic mitochondrial DNA typing

จัดโดย

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่ 11-12 กันยายน 2557

ณ ห้องประชุม 2 ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สารบัญ

		หน้า
1.	ทฤษฎี และสิ่งที่ต้องรู้เกี่ยวกับไมโตคอนเดรีย บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค	1
2.	การประยุกต์ใช้ไมโตคอนเดรียในงานด้านนิติเวชศาสตร์ บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค	14
3.	ข้อกฎหมายเกี่ยวกับการตรวจวัตถุพยาน ที่เกี่ยวกับดีเอ็นเอทางนิติเวชศาสตร์ในประเทศไทย สุวิทย์ เรืองกิตติสกุล	22
4.	การอ่านผล และการบันทึกตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง สุคนธ์ ประดุจกาญจนา	34
5.	การคำนวณทางสถิติสำหรับการตรวจพิสูจน์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์ สุคนธ์ ประดุจกาญจนา	49
6.	การใช้ฐานข้อมูลจาก EMPOP ในการวิเคราะห์ความถี่ haplotype สุคนธ์ ประดุจกาญจนา	59
7.	การคำนวณค่าความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธีของ Clopper and Pearson สุคนธ์ ประดุจกาญจนา	66
8.	คู่มือการใช้โปรแกรม PSU CalPat v1.2 สุคนธ์ ประดุจกาญจนา	69

รายนามและประวัติวิทยากร

บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค, รองศาสตราจารย์ ดร.
D.M.Sc. (Basic Medicine); M.Sc. (Genetics)
อาจารย์
หน่วยมนุษย์พันธุศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี
มหาวิทยาลัยมหิดล

สุวิทย์ เรืองกิตติสกุล, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์
พ.บ. วท.ม. (นิติวิทยาศาสตร์); ว.ว. (นิติเวชศาสตร์)
อาจารย์
หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สุคนธ์ ประดุจกาญจนา
วท.ม. (จุลชีววิทยา)
นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

จินตนา ประดุจกาญจนา
วท.ม. (จุลชีววิทยาการแพทย์)
นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

คำนำ

การตรวจพิสูจน์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์ เป็นการทดสอบที่ใช้ตรวจความสัมพันธ์ญาติร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน เช่น พี่-น้องร่วมมารดาเดียวกัน ลุง(พี่ชายของแม่)-หลาน ป้า(พี่สาวของแม่)-หลาน น้า(น้องชายหรือน้องสาวของแม่)-หลาน ยาย(แม่ของแม่)-หลาน หรือใช้ตรวจวัตถุพยานที่ดีเอ็นเอในตัวอย่างตรวจเริ่มเสื่อมสภาพทำให้ไม่สามารถตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอด้วย autosomal STR ได้ตามปกติ วิธีการตรวจไมโตคอนเดรียมีการทดสอบที่ยุ่งยากซับซ้อน จำเป็นต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ลำดับเบสอัตโนมัติ และใช้โปรแกรมในการเปรียบเทียบลำดับเบส ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานด้านนี้จำเป็นต้องมีความรู้ ความชำนาญ และทักษะในการปฏิบัติงานขั้นสูง

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา ได้ร่วมกับเครือข่ายนิติพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย เป็นเจ้าภาพจัดการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการสำหรับตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอทางนิติเวชศาสตร์ ประจำปี พ.ศ. 2556 โดยมีห้องปฏิบัติการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอทางนิติเวชศาสตร์ในประเทศไทยเข้าร่วม 13 แห่ง จากผลการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการดังกล่าวพบว่า การตรวจพิสูจน์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์ เป็นการทดสอบที่มีความคลาดเคลื่อนระหว่างห้องปฏิบัติการสูงที่สุด โดยมีปัญหาตั้งแต่ระดับการทำการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ การบันทึกตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง การคำนวณทางสถิติ และการรายงานผลการทดสอบ

คณะผู้จัดงานหวังเป็นอย่างยิ่งว่า การจัดการอบรมเชิงปฏิบัติการครั้งนี้จะช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานเข้าใจเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวิเคราะห์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์ สามารถเปรียบเทียบรูปแบบดีเอ็นเอของไมโตคอนเดรียได้ตามมาตรฐานที่กำหนด สามารถคำนวณค่าทางสถิติประกอบการตัดสินใจ และรายงานผลการทดสอบ โดยมีรายละเอียดประกอบการตัดสินใจที่ครบถ้วน สมบูรณ์ อันจะเป็นการยกระดับให้การตรวจพิสูจน์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์ของห้องปฏิบัติการในประเทศไทยมีมาตรฐานที่สอดคล้องกัน

สุวิทย์ เรืองกิตติสกุล

ประธานคณะกรรมการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

กำหนดการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง

การตรวจพิสูจน์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์ (forensic mitochondrial DNA typing)

ณ ห้องประชุม 2 ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

วันที่ 11 – 12 กันยายน 2557

วันที่ 11 กันยายน 2557

เวลา	เนื้อหาและหลักสูตร	วิทยากร
08:30 - 09:00 น.	ลงทะเบียน หัวหน้าภาควิชากล่าวเปิดการประชุม	
09:00 - 10:00 น.	**ทฤษฎี และสิ่งที่ต้องรู้เกี่ยวกับไมโตคอนเดรีย** - ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไมโตคอนเดรีย - การใช้ไมโตคอนเดรียในงานด้านนิติเวชศาสตร์ - การแปลผลการตรวจไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์	รศ.ดร. บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค
10:00 - 10:15 น.	*พักรับประทานอาหารว่าง*	
10:15 - 11:15 น.	**การประยุกต์ใช้ไมโตคอนเดรียในงานด้านนิติเวชศาสตร์** - การพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล - การพิสูจน์ความสัมพันธ์ร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน - การระบุชนิดของสัตว์ (species identification) - case study	รศ.ดร. บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค
11:15 - 12:15 น.	**ข้อกฎหมายเกี่ยวกับการตรวจวัตถุพยาน ที่เกี่ยวกับดีเอ็นเอทางนิติเวชศาสตร์ในประเทศไทย** - การปรับข้อกฎหมายเรื่องวัตถุพยาน มาประยุกต์ใช้กับการตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอ - ตัวอย่างกฎหมายเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้สารพันธุกรรมในต่างประเทศ - case study	ผศ.นพ.สุวิทย์ เรืองกิติสกุล
12:15 - 13:00 น.	*พักรับประทานอาหารกลางวัน*	
13:00 - 14:00 น.	**การอ่านผล และการบันทึกตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง** - ทางเลือกในการทำ PCR (separated or overlap fragments) - substitution, deletion และ insertion - ข้อกำหนดในการบันทึกตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง	นายสุคนธ์ ประดุจกาญจนา
14:00 - 14:15 น.	*พักรับประทานอาหารว่าง*	
14:15 - 16:00 น.	**การคำนวณทางสถิติสำหรับการตรวจพิสูจน์ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์** - สถิติเบื้องต้น สำหรับงานด้านนิติเวชศาสตร์ - การคำนวณ haplotype frequency - การใช้ likelihood ratio และ posterior probability จาก autosomal STR ร่วมในการแปลผลความสัมพันธ์ญาติร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน	นายสุคนธ์ ประดุจกาญจนา

วันที่ 12 กันยายน 2557		
08:30 - 09:00 น.	ลงทะเบียน	
09:00 – 10:00 น.	**การใช้โปรแกรม sequencher ในการทำ mtDNA alignment** - การติดตั้งโปรแกรม - การใช้โปรแกรม - การแก้ไข ตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง ให้เป็นไปตามข้อกำหนด	นายสุคนธ์ ประดุจกาญจนา
10:00 - 10:15 น.	*พักรับประทานอาหารว่าง*	
10:15 - 11:15 น.	**การใช้ฐานข้อมูลจาก EMPOP ในการวิเคราะห์ความถี่ haplotype** - การใช้โปรแกรม - การอ่านผลความถี่ haplotype	นายสุคนธ์ ประดุจกาญจนา
11:15 - 12:00 น.	**การใช้โปรแกรม PSU CalPat รุ่น 1.4 ในการรายงานผล mtDNA** - การติดตั้งโปรแกรม - การลงทะเบียนข้อมูล - การคำนวณค่าทางสถิติ - การอ่านผลรายงานการทดสอบ - ทดลองใช้โปรแกรม	นายสุคนธ์ ประดุจกาญจนา
12:00 - 13:00 น.	*พักรับประทานอาหารกลางวัน*	
13:00 - 16.00 น.	**workshop จัดกลุ่ม แจก Case study** ให้วิเคราะห์โจทย์ วิเคราะห์ผลการทดสอบ คำนวณค่าทางสถิติ และรายงานผลการทดสอบ แล้วนำเสนอ	นางจินตนา ประดุจกาญจนา รศ.ดร.บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค ผศ.นพ.สุวิทย์ เรืองกิตติสกุล นายสุคนธ์ ประดุจกาญจนา
16.00	พิธีปิดการอบรม	

ทฤษฎี และสิ่งที่ต้องรู้เกี่ยวกับไมโตคอนเดรีย

บุษบา ฤกษ์อำนวยโชค

Outline :

- บทนำ
- ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไมโตคอนเดรีย
- การใช้ไมโตคอนเดรียในงานด้านนิติเวชศาสตร์
- การแปลผลการตรวจไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์

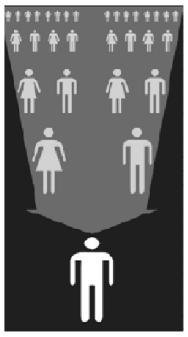
บทนำ

Conventional STR typing systems do not work in every instance :

Ancient DNA specimens / highly degraded samples often fail to produce results with nuclear DNA.

Because of high copies of mtDNA, the probability of obtaining mtDNA result is higher than nuclear DNA

บทนำ



Autosomal DNA marker

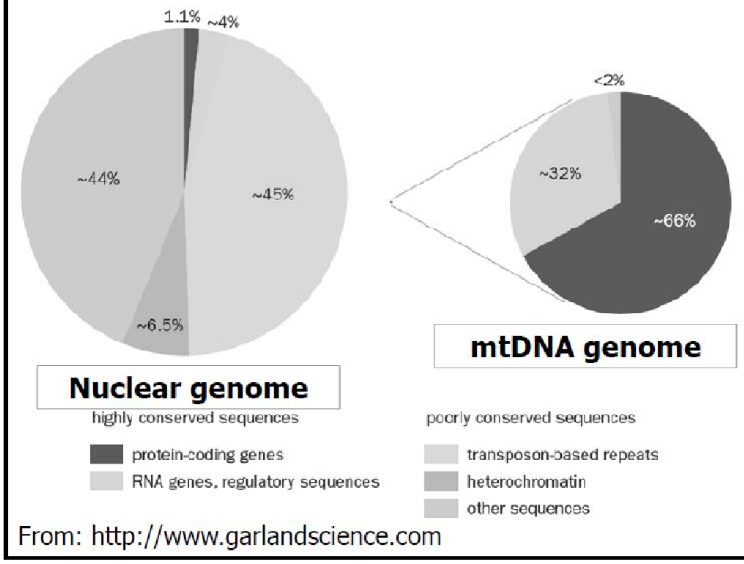
Mendelian transmission

บทนำ

Lineage marker

- **Y chromosomal DNA**
- **mtDNA**

Pass down from generation to generation without changing (except mutation)



From: http://www.garlandscience.com

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไมโตคอนเดรีย 1

Comparison of nuclear DNA and mtDNA

characteristics	nuclear DNA	mtDNA
Size of genome	~ 3.3 Billion bp	~ 16,596 bp
Copies per cell	2 (1 alleles from each parent)	can be >1,000
Percent of total DNA per cell	99.75%	0.25% content
Structure	linear, packaged in chromosome	circular

Butler JM 2012

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไมโตคอนเดรีย 2

Comparison of nuclear DNA and mtDNA

characteristics	nuclear DNA	mtDNA
Inherited from	Father and mother	mother
Chromosomal pairing	Diploid	Haploid
Generational recombination	Yes	No
Replication repair	Yes	No

Butler JM 2012

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับไมโตคอนเดรีย 3

Comparison of nuclear DNA and mtDNA

characteristics	nuclear DNA	mtDNA
unique	Unique to individual (except identical twins)	Not unique to individual (same as m)
Mutation rate	Low	At least 5-10 times nDNA
Reference sequence	Described in 2001 by the Human Genome Project	Described in 1981 by Anderson et al.

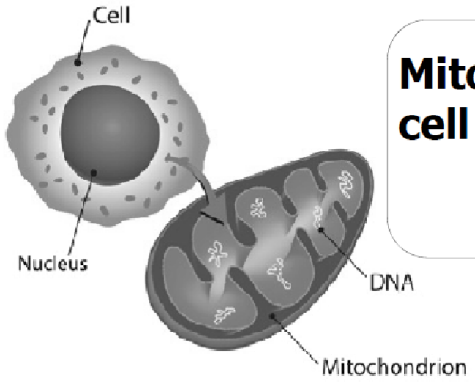
Butler JM 2012

Comparison of nuclear DNA and mtDNA		
characteristics	**nuclear DNA**	**mtDNA**
Occurrence in human genome	~ 1 in every 15 Kb	~ 1 in every 1 Kb
General informativeness	high	Low, only 20-30% as informative as STRs
Marker type	Di-, tri-, tetranucleotide repeat markers	Bi-allelic markers
Number of alleles per marker	Typically > 5	Typically 2
Detection method	Gel/CE	Sequencing, microarray

Butler JM 2001

Average mtDNA/mitochondria : 4-5 copies

Satoh & Kuroiwa 1991



Mitochondria/ cell : hundreds

Robin & Wong 1988

Average mtDNA/ cell : ~ 500 copies

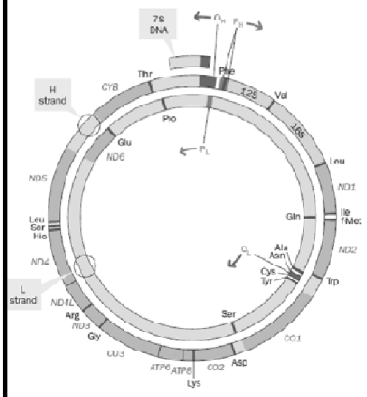
Satoh & Kuroiwa 1991

Greater success with biological samples that may be damaged with heat and humidity than nDNA

Mitochondria have circular genomes : A scanning electron micrograph of mitochondrial DNA.

Hudson, B. *et al.* 1967

The mitochondrial genome is densely packed with genetic information

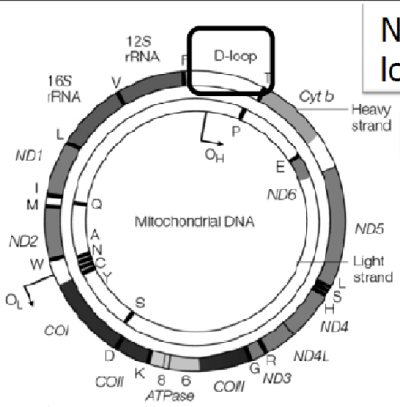


2 mtDNA strands have significantly different base composition :

- heavy (H) strand is richer in G
- light(L) strand is richer in C

mtDNA ~ 16,569 bp

mtGenome contains for 37 gene products

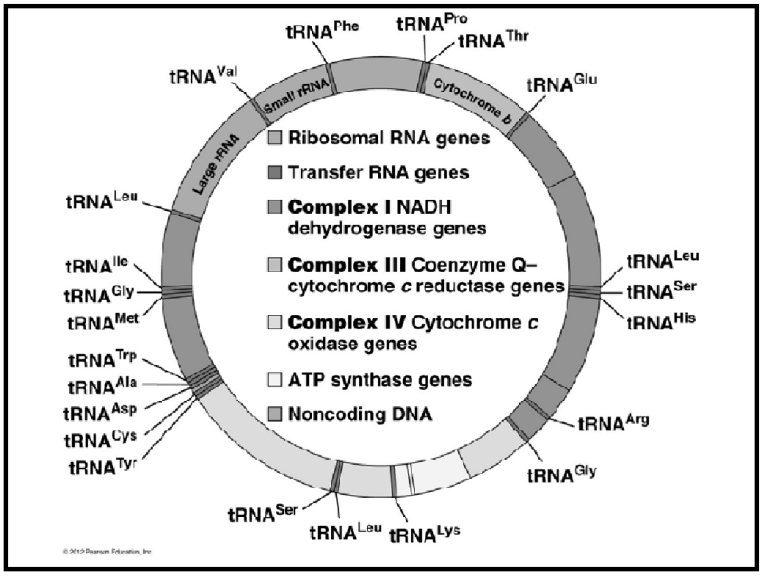


Non-coding region (D-loop) or control region

Coding region encode

- 13 proteins
- 22 tRNAs
- 2 rRNAs

Taylor et al 2005



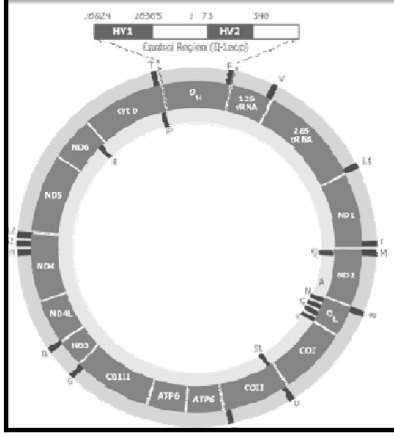
1.The coding region :

responsible for the production of various biological molecules involved in the process of energy production in the cell.

2.The non-coding region :

responsible for regulation of the mtDNA molecule.

Non-coding region (D-loop) or control region



- Does not code for gene product
- polymorphism between individuals

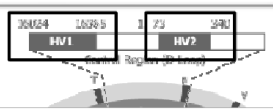
Greenberg et al. 1983

Two regions of mtDNA within the non-coding (control) region are highly polymorphic, or variable, within the human population

Hypervariable Regions

Hypervariable Regions

16,024 -16,365



73-340

1. Hypervariable Region I (HV1)
   position 16,024 ~ 16,365
   ~342 bp length
2. Hypervariable Region II (HV2)
   position 73 ~ 340
   ~ 268 bp length

Hypervariable Regions

Forensic mtDNA examinations are performed using these two regions (HV1 and HV2) because of the high degree of variability found among individuals.

HV3 shows less polymorphic than HV1 and HV2 but may resolve some cases where additional discrimination is desired.

Human mtDNA reference sequences

First sequenced in 1981 in the laboratory of Frederick Sanger in Cambridge, England (Anderson et al. 1981)

- **Anderson sequence/**
- **Cambridge reference sequence**

The sequence was derived primarily from a single individual of Europe descent and it also contained somw HeLa and bovine sequences to fill in gaps resulting from incomplete sequencing procedure (Anderson et al.1981)

Revised Cambridge reference sequences (rCRS)

In 1999, the original placental material used by Anderson and co-workers to generate the CRS was re-sequenced (Andrews et al.1999)

With the improvements in DNA sequencing technology, the reanalysis effort confirmed all of the original nucleotides published but 11 positions were corrected.

Other interesting differences between mtDNA and nDNA

- mtDNA uses a different genetic code than nDNA (Scheffler 1999)

mtDNA : UGA --- tryptophan
nDNA : UGA --- stop codon

mtDNA : AUA --- methionine
nDNA : AUA --- isoleucine

Other interesting differences between mtDNA and nDNA

- Fewer DNA repair mechanisms exist in mitochondria

⇩

Higher mutation rate than nDNA

⇩

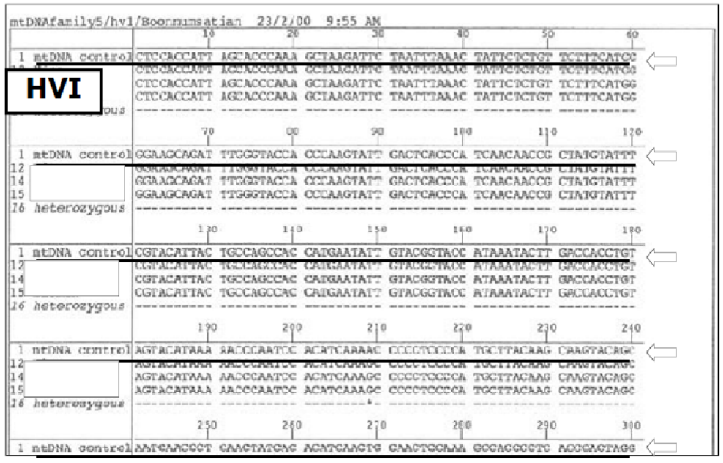
More variability in samples from identical maternal lineages

Other interesting differences between mtDNA and nDNA

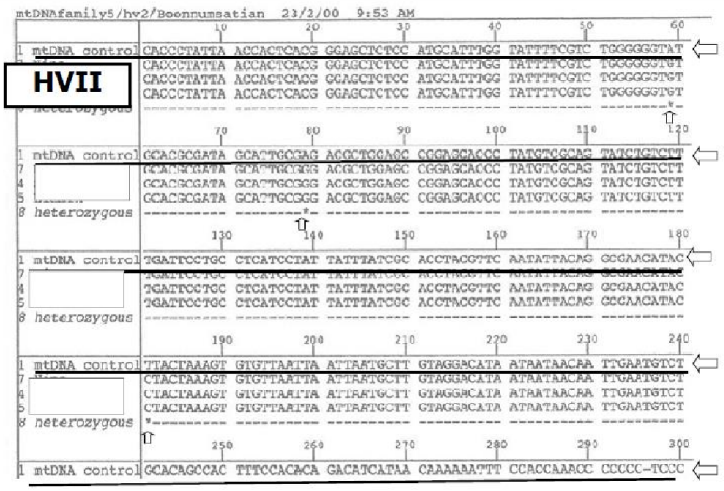
- Circular nature of mtDNA makes it less susceptible than nDNA to exonuclease that break down DNA molecules

- The encapsulation of mtDNA in a two-walled organelle enhances mtDNA survival rate.

Revised Cambridge reference sequences (rCRS)



Revised Cambridge reference sequences (rCRS)



Revised Cambridge reference sequences (rCRS)

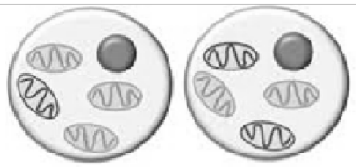
Each base pair in this sequence is assigned a number.

Deviations from this reference sequence are recorded as the number of the position demonstrating a difference and a letter designation of the different base.

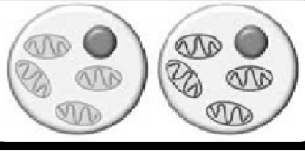
Example : a transition from A to G at Position 263 would be recorded as 263 G

Heteroplasmy

The presence of a mixture of more than one type of an mitochondrial DNA genome within a cell or individual.



Homoplasmy

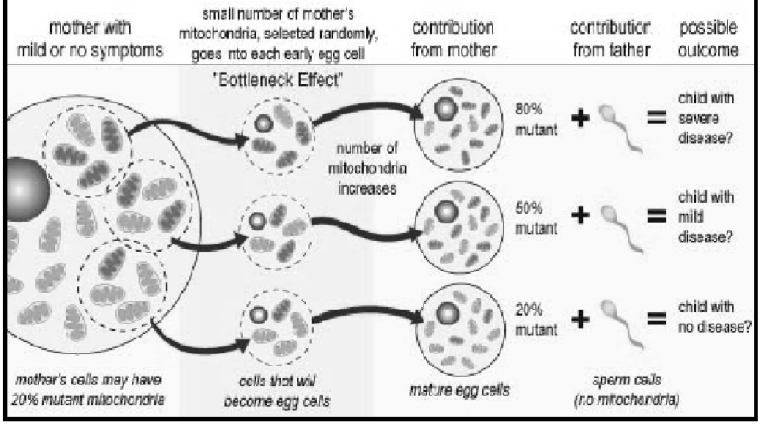


Two forms of heteroplasmy in mtDNA :

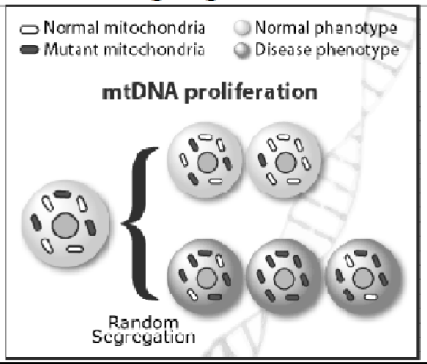
1. Sequence heteroplasmy **(point heteroplasmy)** is the occurrence of more than one base at a particular position or positions in the mtDNA sequence.

2. Length heteroplasmy is the occurrence of more than one length of a stretch of the same base in a mtDNA sequence.

During cell division, the multiple mtDNA molecules in a dividing cell segregate in a random way to the two daughter cells.



At cell division, the mitochondria and their genomes are randomly distributed to the daughter cells, a process known as replicative segregation.



Causes of Heteroplasmy

- Molecular events not quite understood
- Most probable explanation: mutations in female germ line followed by subsequent differentiation during embryonic development
- HVI and HVII (Hypervariable sequences) are typically analyzed for forensic use
- Hotspots are prone to heteroplasmy

Heteroplasmy and Human Hair

- Human hair has high frequency of heteroplasmy
- Example: hair from same individual may have different mtDNA
- Although hair contains heteroplasmy, other tissues from same individual may not, i.e. blood, muscle, skin

1st hair

2nd hair

3rd hair

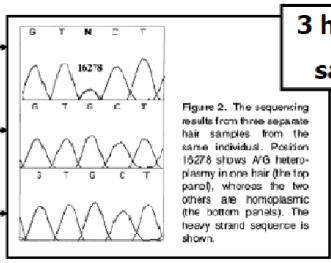


Figure 2. The sequencing results from three separate hair samples from the same individual. Position 16278 shows A/G heteroplasmy in one hair (the top panel), whereas the two others are homoplasmic (the bottom panels). The heavy strand sequence is shown.

3 hair from the same person

Het+

Het-

Heteroplasmy complicates forensic mtDNA testing

May not always be detected depending on the tissue type and analysis procedure

- May be difficult to form a basis of exclusion
- In case of non-mutation, sequence frequency is determined from a mtDNA database

Heteroplasmy Benefits Forensic mtDNA Testing

- Rarity of a particular heteroplasmy may increase discriminating power

Table 2. Actual casework example in which heteroplasmy was found

Sample	mtDNA position 16090
Q hair	T/C
R blood	T
R hair 1	T
R hair 2	T
R hair 3	T
R hair 4	T/C

Q, questioned
R, reference

Summary of heteroplasmy

- An individual may have different versions of mtDNA
- Heteroplasmy may complicate mtDNA testing, but may also make it more efficient
- Tissue type is important when analyzing mtDNA
- Standardization is needed in mtDNA testing procedures

การใช้ไมโตคอนเดรียในงานด้านนิติเวชศาสตร์

Reasons for using mtDNA analysis

- These markers occur in males and females and are inherited through the maternal line.
- Forensic Casework
  - ** Analyze sample materials that are not suitable for nuclear DNA
  - ** Test hair strands without the root
  - ** Test highly degraded tissue
  - ** Test skeletal remains Maternity Testing
- Sibling Studies (from the same mother)
- Grandmaternity (from the same grandmother)
- Maternal kinship analysis

Forensic application :

Mitochondrial DNA analysis is an appropriate method for:

- **Charred remains**
- **Degraded specimens**
- **Old skeletal and fingernail samples**
- **Hair shafts**

การแปลผลการตรวจ ไมโตคอนเดรียทางนิติเวชศาสตร์

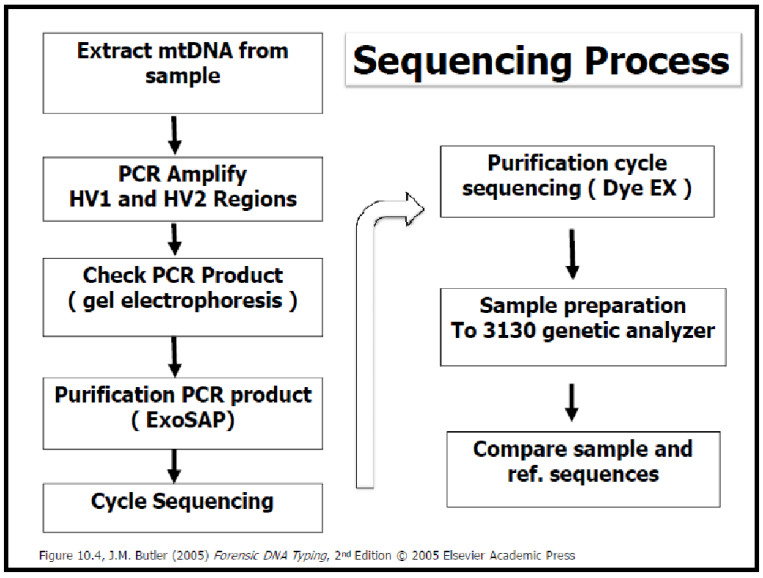
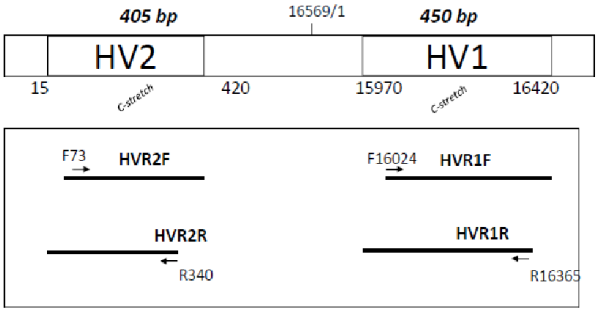
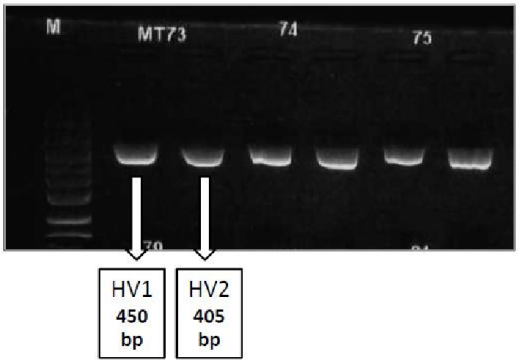


Figure 10.4, J.M. Butler (2005) *Forensic DNA Typing*, 2nd Edition © 2005 Elsevier Academic Press

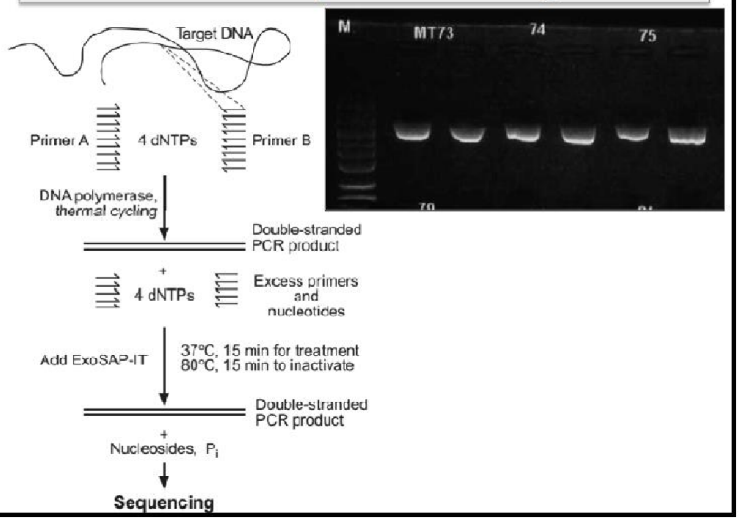
PCR Amplification HV1 and HV2 Regions



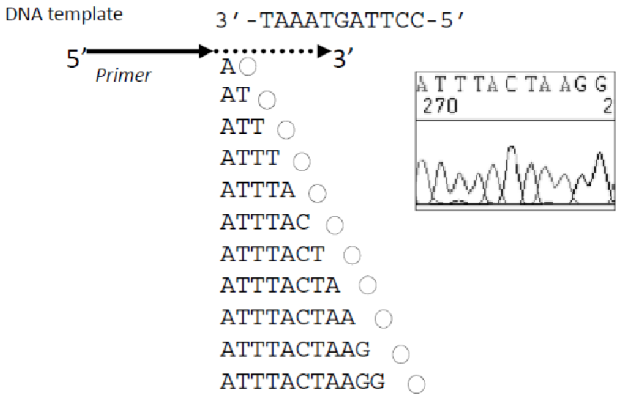
Check PCR Products using agarose gel electrophoresis



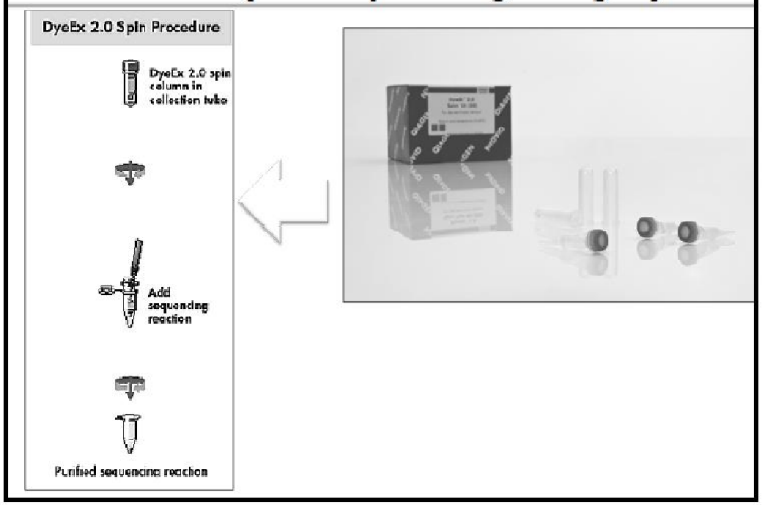
Purification PCR products using ExoSAP



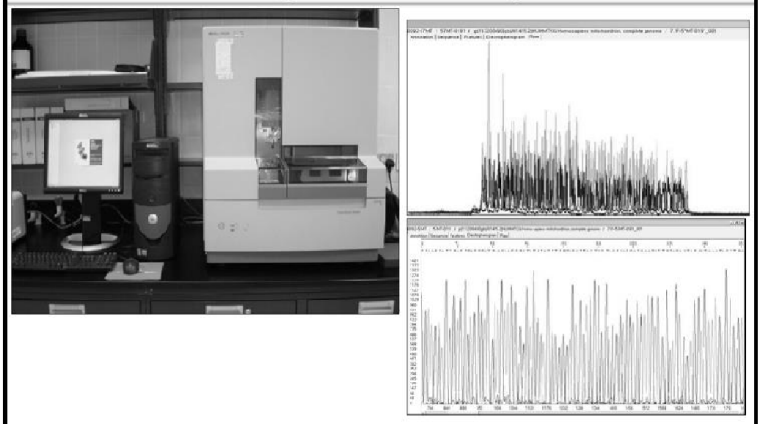
Cycle Sequencing



Purification cycle sequencing using Dye EX



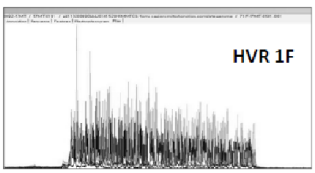
Sample preparation to 3130 genetic analyzer

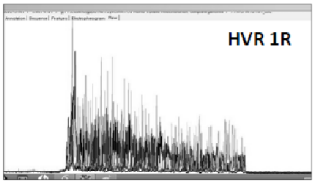


Compare sample and reference sequences

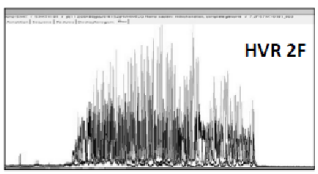
Raw data from Genetic Analyzer

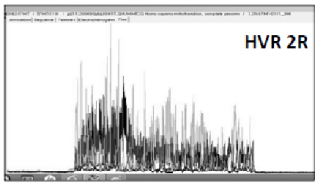
HVR1





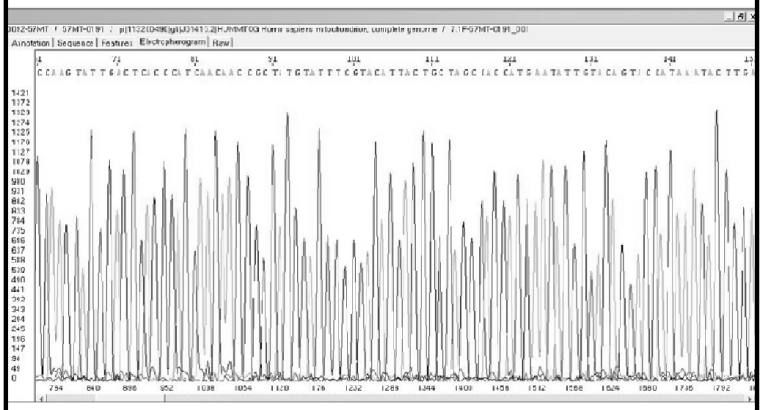
HVR2





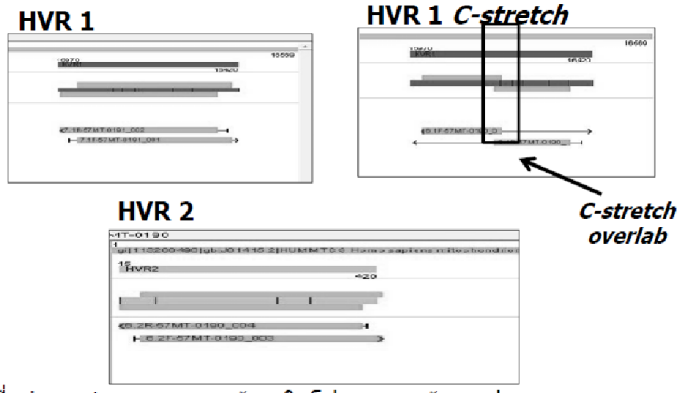
Compare sample and reference sequences

Electropherogram from Genetic Analyzer



Compare sample and reference sequences

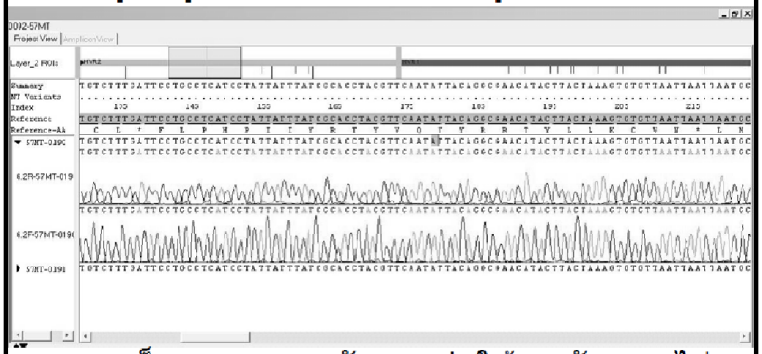
SeqScape v2.5 When Analyzed import sequence



เมื่อ import sequence เข้ามาในโปรแกรมแล้ว analyze sequence

Compare sample and reference sequences

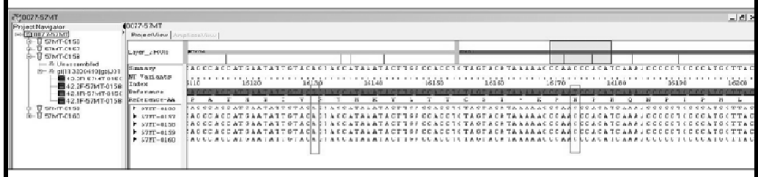
SeqScape v2.5 : Edit Sequence



ตรวจเช็ค sequence กับ peak ให้ตรงกัน หากไม่ตรงกันให้ทำการแก้ไข sequence ให้ตรงกับ peak

Compare sample and reference sequences

SeqScape v2.5: (A) mtDNA sequences aligned with rCRS



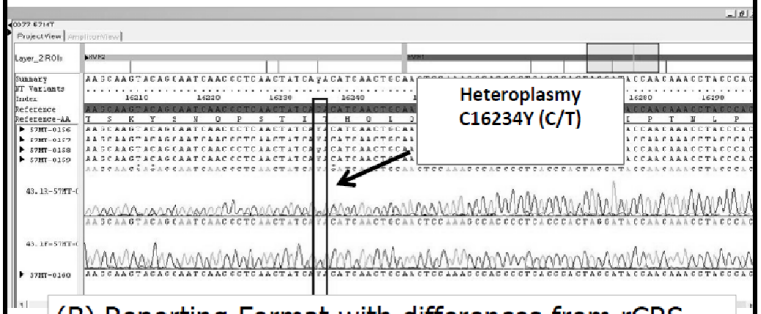
(B) Reporting Format with Differences from rCRS

Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
16129A	16129A	16129A	16129A	16129A
16172C	16172C	16172C	16172C	16172C

Compare sample and reference sequences

SeqScape v2.5: (A) mtDNA sequences aligned with rCRS

Heteroplasmy

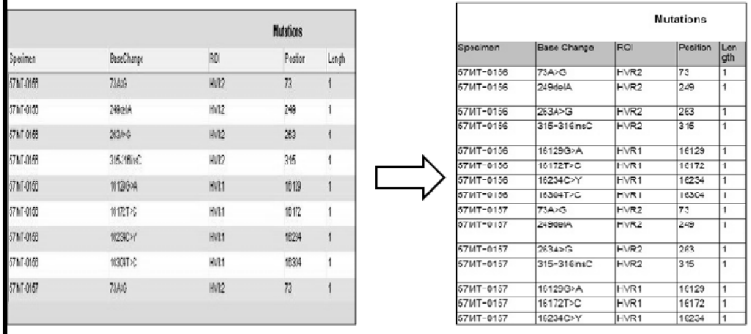


(B) Reporting Format with differences from rCRS

Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
16234C/T	16234C/T	16234C/T	16234C/T	16234C/T

Compare sample and reference sequences

SeqScape v2.5: Export Report



Mutations

Specimen	Base Change	RCI	Position	Length
57MT-0156	73A>G	HVR2	73	1
57MT-0156	249delA	HVR2	249	1
57MT-0156	263A>G	HVR2	263	1
57MT-0156	315-316insC	HVR2	315	1
57MT-0156	16129G>A	HVR1	16129	1
57MT-0156	16172T>C	HVR1	16172	1
57MT-0156	16234C>Y	HVR1	16234	1
57MT-0156	16304T>C	HVR1	16304	1
57MT-0157	73A>G	HVR2	73	1
57MT-0157	249delA	HVR2	249	1
57MT-0157	263A>G	HVR2	263	1
57MT-0157	315-316insC	HVR2	315	1
57MT-0157	16129G>A	HVR1	16129	1
57MT-0157	16172T>C	HVR1	16172	1
57MT-0157	16234C>Y	HVR1	16234	1

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์

ผลการตรวจวิเคราะห์ : ไม่ขัดแย้ง (Identical) หมายถึง ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบุคคลที่นำมาเปรียบเทียบกันจะมีชนิดและตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง (rCRS, 1999) เหมือนกันทุกตำแหน่ง

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์

ผลการตรวจวิเคราะห์ : ขัดแย้ง (Unidentical)
หมายถึง ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบุคคลที่นำมาเปรียบเทียบกันจะมีชนิดและตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง (rCRS, 1999) ไม่เหมือนกัน 2 ตำแหน่งขึ้นไป

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์

ผลการตรวจวิเคราะห์ : ไม่สามารถสรุปผลได้ (Inconclusive) หมายถึง ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบุคคลที่นำมาเปรียบเทียบกันจะมีชนิดและตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่แตกต่างจากลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิง (rCRS, 1999) ไม่เหมือนกันเพียง 1 ตำแหน่ง

ข้อจำกัดในการรายงานผล

การแปลผลการตรวจวิเคราะห์ทั้งสามกรณีข้างต้น จะไม่นำนิวคลีโอไทด์ในบางตำแหน่งมาแปลผลร่วมกับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งอื่นๆ ดังนี้

- ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ **16193** ของ **HVR I** ซึ่งเป็นบริเวณ **C- Stretch** ที่ไม่สามารถระบุจำนวนนิวคลีโอไทด์ **C** ที่แน่นอนได้

- ตำแหน่งนิวคลีโอไทด์ที่ **309** ของ **HVR II** ที่มี **insertion** ของนิวคลีโอไทด์ **C** จำนวนไม่เท่ากัน

ข้อเสนอแนะในการรายงานผล

กรณีที่ผลเป็น Inconclusive

ให้ผู้ปฏิบัติงานดำเนินการตรวจวิเคราะห์ซ้ำอีกครั้ง โดยเริ่มต้นตั้งแต่ขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมดีเอ็นเอจากตัวอย่างเดิมจนเสร็จสิ้นขบวนการ หรือทำการวิเคราะห์โดยเพิ่ม **region** ในการทดสอบเพิ่มขึ้น หากได้ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่แตกต่างจากเดิม จะแปลผลการตรวจวิเคราะห์ว่า “ไม่สามารถสรุปผลการตรวจวิเคราะห์ได้”

ข้อกฎหมายการตรวจวัตถุพยานเกี่ยวกับดีเอ็นเอในประเทศไทย

ผศ.น.พ. สุวิทย์ เรืองกิตติสกุล **๑๓ สิงหาคม ๒๕๕๗**

กฎหมายไทยที่เกี่ยวกับการตรวจดีเอ็นเอโดยตรงนั้นไม่ได้มีการบัญญัติตราเป็นกฎหมายใดๆ ไว้ชัดเจน ยกเว้นในพระราชบัญญัติแก้ไขเพิ่มเติมประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา พ.ศ. ๒๕๕๑ เรื่องการตรวจพิสูจน์พยานหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อการพิสูจน์ข้อเท็จจริงมาตรา ๗ เพิ่มความในมาตรา ๑๓๑/๑ เกี่ยวข้องกับพนักงานสอบสวน และมาตรา ๒๑ เพิ่มความในมาตรา ๒๔๔/๑ เกี่ยวข้องกับศาล กฎหมายฉบับนี้พออณุโลมให้นำมาใช้เทียบเคียงปรับเข้ากับข้อกฎหมายในเรื่องของดีเอ็นเอได้

สหรัฐอเมริกามีกฎหมายหลายฉบับที่กล่าวถึงเรื่องดีเอ็นเอ เช่น กฎหมายเกี่ยวกับการตรวจหาความสัมพันธ์ทางสายเลือดระหว่างพ่อ แม่ ลูก (NIFORM PARENTAGE ACT (2000)*) ส่วนประเทศทางทวีปยุโรปก็ได้มีการบัญญัติและกำหนดข้อตกลงของคณะกรรมการรัฐมนตรีว่าการกระทรวงแห่งสภายุโรป (Council of Europe Committee of Ministers) ต่อรัฐสมาชิกเกี่ยวกับการใช้ดีเอ็นเอ (DNA) วิเคราะห์ภายใต้กรอบของกระบวนการยุติธรรมทางอาญา ตามข้อเสนอแนะที่ อาร์ (92)1 (Recommendation No. R (92) 1) โดยคณะกรรมการรัฐมนตรีว่าการกระทรวงเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 1992 จุดมุ่งหมายของคำแนะนำข้อตกลงในฉบับนี้ก็เพื่อเป็นการคุ้มครองสิทธิผู้ต้องสงสัย หรือผู้ต้องหาอย่างเป็นทางการนั่นเอง

ก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีด้านดีเอ็นเอนั้น มีความสำคัญอย่างมากในการนำมาใช้ค้นหาข้อเท็จจริงเพื่อนำคนผิดมาลงโทษ การรู้ข้อกฎหมายของประเทศที่มีความก้าวหน้าด้านนี้ รวมทั้งการศึกษาคดีตัวอย่างที่มีเรื่องดีเอ็นเอเข้ามามีบทบาทช่วยค้นหาตัวผู้กระทำผิดมาลงโทษ และตัวอย่างคำพิพากษาของศาลต่างๆ สิ่งเหล่านี้ย่อมก่อให้เกิดประโยชน์อย่างยิ่งต่อกระบวนการยุติธรรม ความรู้ความเข้าใจเทคโนโลยีด้านดีเอ็นเอได้ลึกซึ้งพอก็จะทำให้หน่วยงานที่รับผิดชอบสามารถออกกฎหมายดีเอ็นเอครอบคลุมได้ทุกแง่มุมของปัญหาอย่างมีประสิทธิภาพ ยุติธรรม และเป็นที่ยอมรับได้ของทุกฝ่าย

กฎหมายเกี่ยวกับการพิสูจน์พยานหลักฐานทางวิทยาศาสตร์

ปรากฏอยู่ในพระราชบัญญัติแก้ไขเพิ่มเติมประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา ฉบับที่ ๒๘ ลงวันที่ ๗ มกราคม ๒๕๕๑ มีอยู่ ๒ มาตรา คือ

มาตรา ๗ เพิ่มความในมาตรา ๑๓๑/๑ เป็นการเพิ่มอำนาจให้แก่พนักงานสอบสวน

มาตรา ๒๑ เพิ่มความในมาตรา ๒๔๔/๑ เป็นการเพิ่มอำนาจให้แก่ศาล

มาตรา ๑๓๑ ให้พนักงานสอบสวนรวบรวม**หลักฐานทุกชนิด**เท่าที่สามารถจะทำได้ เพื่อประสงค์จะทราบข้อเท็จจริงและพฤติการณ์ต่างๆอันเกี่ยวกับความผิดที่ถูกกล่าวหา เพื่อจะรู้ตัวผู้กระทำผิดและพิสูจน์ให้เห็นความผิดหรือความบริสุทธิ์ของผู้ต้องหา

มาตรา ๑๓๑/๑ ในกรณีที่จำเป็นต้องใช้พยานหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริงตามมาตรา ๑๓๑ ให้พนักงานสอบสวนมีอำนาจให้ทำการตรวจพิสูจน์บุคคล วัตถุ หรือเอกสารใดๆ โดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ได้

ในกรณี**ความผิดอาญาที่มีอัตราโทษจำคุกอย่างสูงเกิน ๓ ปี** หากการตรวจพิสูจน์ตามวรรคหนึ่งจำเป็นต้องตรวจเก็บตัวอย่าง เลือด เนื้อเยื่อ ผิวหนัง เส้นผมหรือขน น้ำลาย ปัสสาวะ อุจจาระ สารคัดหลั่ง **สารพันธุกรรม**หรือส่วนประกอบของร่างกายจากผู้ต้องหา ผู้เสียหายหรือบุคคลที่เกี่ยวข้อง ให้พนักงานสอบสวนผู้รับผิดชอบมีอำนาจให้แพทย์หรือผู้เชี่ยวชาญดำเนินดารตรวจดังกล่าวไต้องกระทำเพียงเท่าที่จำเป็นและสมควรโดยใช้วิธีการที่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดน้อยที่สุดเท่าที่จะกระทำได้ ทั้งจะต้องไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายหรืออนามัยของบุคคลนั้น และผู้ต้องหา ผู้เสียหายหรือบุคคลที่เกี่ยวข้องต้องให้ความยินยอม หากผู้ต้องหาหรือผู้เสียหายไม่ยินยอมโดยไม่มีเหตุอันสมควรหรือผู้ต้องหาหรือผู้เสียหายกระทำการป้องปัดขัดขวางมิให้บุคคลที่เกี่ยวข้องให้ความยินยอมโดยไม่มีเหตุอันสมควรให้สันนิษฐานไว้เบื้องต้นว่าข้อเท็จจริงเป็นไปตามผลการตรวจพิสูจน์ที่หากได้ตรวจพิสูจน์แล้วจะเป็นผลเสียต่อผู้ต้องหาหรือผู้เสียหายนั้นแล้วแต่กรณีได้

ค่าใช้จ่ายในการตรวจพิสูจน์ตามมาตรานี้ ให้สั่งจ่ายจากงบประมาณตามระเบียบที่สำนักงานตำรวจแห่งชาติ กระทรวงมหาดไทย กระทรวงยุติธรรม หรือสำนักงานอัยการสูงสุด แล้วแต่กรณีกำหนดโดยได้รับความเห็นชอบจากกระทรวงการคลัง

การตรวจพิสูจน์พยานหลักฐานตามมาตรา ๑๓๑/๑

1. จุดประสงค์เพื่อกำหนดหลักเกณฑ์เกี่ยวกับการตรวจพิสูจน์บุคคล วัตถุ หรือเอกสารใดๆ โดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ไว้เป็นครั้งแรกในประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา เช่น การตรวจพิสูจน์ทางดีเอ็นเอ ซึ่งคนร้ายจนด้วยหลักฐานด้านดีเอ็นเอทำให้ได้ผู้กระทำผิดมาลงโทษ เช่นคดี นายแพทย์ฆ่าหั่นศพภรรยาแพทย์หญิงตามฎีกาที่ ๒๒๓๖-๗/๒๕๕๐

2. มาตรานี้ให้อำนาจแก่**พนักงานสอบสวน**ที่จะทำการตรวจพิสูจน์เพื่อหาพยานหลักฐานทั้งบุคคล วัตถุหรือเอกสารใดๆโดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ได้

3. การตรวจสารคัดหลั่งจากร่างกายของบุคคล ต้องทำ ดังนี้

3.1 หลักเกณฑ์ในการบังคับตรวจโดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ ดังนี้

ก. เป็นคดีอาญาที่มีอัตราโทษจำคุกอย่างสูงเกินสามปี

ข. มีความจำเป็นต้องตรวจเก็บตัวอย่างสารคัดหลั่งจากร่างกาย ได้แก่ เลือด เนื้อเยื่อ ผิวหนัง เส้นผมหรือขน น้ำลาย ปัสสาวะ อุจจาระ สารคัดหลั่ง สารพันธุกรรมหรือส่วนประกอบของร่างกายจากผู้ต้องหา ผู้เสียหาย หรือบุคคลที่เกี่ยวข้อง

หากเข้ากับหลักเกณฑ์ข้างต้นแล้ว พนักงานสอบสวนผู้รับผิดชอบมีอำนาจให้แพทย์ หรือผู้เชี่ยวชาญดำเนินการตรวจพิสูจน์ดังกล่าวได้

3.2 ข้อจำกัด การตรวจและดำเนินการต้องกระทำเพียงเท่าที่จำเป็นและสมควร โดยวิธีการที่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดน้อยที่สุดเท่าที่จะกระทำได้และต้องไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายหรืออนามัยของบุคคลนั้น

3.3 ผู้ต้องถูกตรวจต้องให้ความร่วมมือเพื่อให้การค้นหาความจริงในคดีอาญาบรรลุผลตามวัตถุประสงค์ ผู้ต้องหา ผู้เสียหาย หรือบุคคลที่เกี่ยวข้องต้องให้ความยินยอมในการตรวจโดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ด้วย

3.4 ข้อสันนิษฐานในกรณีที่ผู้ต้องหา หรือผู้เสียหายไม่ให้ความร่วมมือโดยไม่มีเหตุอันสมควร หรือกระทำการป้องปัดขัดขวางมิให้บุคคลที่เกี่ยวข้องให้ความยินยอมโดยไม่มีเหตุอันสมควร ให้สันนิษฐานไว้เบื้องต้นว่าข้อเท็จจริงเป็นไปตามผลการตรวจพิสูจน์ที่หากได้ตรวจพิสูจน์แล้วจะเป็นผลเสียต่อผู้ต้องหาหรือผู้เสียหายนั้นแล้วแต่กรณี หรือให้สันนิษฐานเป็นผลร้ายตามที่คู่ความอีกฝ่ายกล่าวอ้าง

4. ค่าใช้จ่ายในการตรวจพิสูจน์ตามมาตรานี้สั่งจ่ายจากงบประมาณตามระเบียบที่สำนักงานตำรวจแห่งชาติ กระทรวงมหาดไทย กระทรวงยุติธรรม หรือสำนักงานอัยการสูงสุดแล้วแต่กรณี โดยความเห็นชอบจากกระทรวงการคลัง

มาตรา ๒๔๔ ถ้าศาลหรือพนักงานฝ่ายปกครองหรือตำรวจชั้นผู้ใหญ่เห็นจำเป็นเนื่องในการไต่สวนมูลฟ้อง พิจารณา หรือสอบสวน ที่จะต้องตรวจศพ แม้ว่าจะได้บรรจุหรือฝังแล้วก็ตาม ให้มีอำนาจสั่งให้เอาศพนั้นให้ผู้เชี่ยวชาญตรวจได้ แต่การกระทำตามคำสั่งดังกล่าวจะต้องคำนึงถึงหลักทางศาสนาและไม่ก่อให้เกิดอันตรายร้ายแรงอย่างอื่น

มาตรา ๒๔๔/๑ ในกรณี**ความผิดอาญาที่มีอัตราโทษจำคุก**หากมีความจำเป็นต้องใช้พยานหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เพื่อพิสูจน์ข้อเท็จจริงใดที่เป็นประเด็นสำคัญแห่งคดี ให้ศาลมีอำนาจสั่งให้ทำการตรวจพิสูจน์บุคคล วัตถุ หรือเอกสารใด โดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ได้

ในกรณีที่การตรวจพิสูจน์ตามวรรคหนึ่ง จำเป็นต้องตรวจเก็บตัวอย่างเลือด เนื้อเยื่อ ผิวหนัง เส้นผมหรือขน น้ำลาย ปัสสาวะอุจจาระ สารคัดหลั่ง **สารพันธุกรรม**หรือส่วนประกอบของร่างกายจากคู่ความหรือบุคคลใด ให้ศาลมีอำนาจสั่งให้แพทย์หรือผู้เชี่ยวชาญดำเนินการตรวจดังกล่าวได้ แต่ต้องกระทำเพียงเท่าที่จำเป็นและสมควรโดยใช้วิธีการที่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดน้อยที่สุดเท่าที่จะกระทำได้ทั้งจะต้องไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายหรืออนามัยของบุคคลนั้น และคู่ความหรือบุคคลที่เกี่ยวข้องต้องให้ความยินยอม หากคู่ความฝ่ายใดไม่ยินยอมหรือ

กระทำการป้องปัดขัดขวางมิให้บุคคลที่เกี่ยวข้องให้ความยินยอมโดยไม่มีเหตุอันสมควร ให้สันนิษฐานไว้เบื้องต้นว่าข้อเท็จจริงเป็นไปตามที่คู่ความฝ่ายตรงข้ามกล่าวอ้าง

ในกรณีที่พยานหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สามารถพิสูจน์ให้เห็นถึงข้อเท็จจริงที่อาจทำให้ศาลวินิจฉัยชี้ขาดคดีได้โดยไม่ต้องสืบพยานหลักฐานอื่นอีก หรือมีเหตุอันควรเชื่อว่าหากมีการเนิ่นช้ากว่าจะนำพยานหลักฐานทางวิทยาศาสตร์อันสำคัญมาสืบในภายหน้าพยานหลักฐานนั้นจะสูญเสียไปหรือยากแก่การตรวจพิสูจน์ เมื่อคู่ความฝ่ายใดฝ่ายหนึ่งร้องขอหรือเมื่อศาลเห็นสมควร ศาลอาจสั่งให้ทำการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ตามความในวรรคหนึ่งและวรรคสองได้ทันทีโดยไม่จำเป็นต้องรอให้ถึงกำหนดวันสืบพยานตามปกติ ทั้งนี้ ให้นำบทบัญญัติในมาตรา ๒๓๗ ทวิ มาใช้บังคับโดยอนุโลม

ค่าใช้จ่ายในการตรวจพิสูจน์ตามมาตรานี้ให้สั่งจ่ายจากงบประมาณตามระเบียบที่คณะกรรมการบริหารศาลยุติธรรมกำหนดโดยความเห็นชอบจากกระทรวงการคลัง

การตรวจพิสูจน์พยานหลักฐานในมาตรา ๒๔๔/๑

1. หลักเกณฑ์และข้อกำหนดเงื่อนไขต่างๆ ที่ใช้ในการตรวจพิสูจน์อัตลักษณ์ และการตรวจสารคัดหลั่งจากร่างกายของบุคคล ล้อตามไปกับมาตรา ๑๓๓/๑

2. เกี่ยวข้องกับการสืบพยานล่วงหน้า มี ๒ กรณี

2.1 การสืบพยานล่วงหน้าก่อนฟ้องคดีต่อศาล ตามมาตรา ๒๓๗ ทวิ

2.2 การสืบพยานล่วงหน้าหลังจากโจทก์ยื่นฟ้องคดีต่อศาลแล้ว กรณี

ก. พนักงานอัยการขอให้ศาลสืบพยานก่อนถึงวันที่ศาลกำหนดนัดไว้ ตามมาตรา ๕๕/๑ วรรคหนึ่ง

ข. ก่อนถึงกำหนดวันนัดสืบพยาน ตามมาตรา ๑๗๓/๒ วรรคสอง

ค. ศาลสั่งให้ทำการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ก่อนถึงกำหนดวันสืบพยานตามปกติ ตามมาตรา ๒๒๔/๑ วรรคสาม ได้ทันที โดยนำบทบัญญัติ มาตรา ๒๓๗ ทวิ เรื่องการสืบพยานล่วงหน้าก่อนฟ้องคดีต่อศาลมาใช้บังคับโดยอนุโลม

3. หลักเกณฑ์เกี่ยวกับการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ในชั้นพิจารณาตามมาตรา ๒๔๔/๑ หลักเกณฑ์คล้ายกับการตรวจพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์ในชั้นสอบสวนตามมาตรา ๑๓๑/๑ แต่มาตรา ๒๒๔/๑ กำหนด

4. ค่าใช้จ่ายในการตรวจพิสูจน์โดยวิธีการทางวิทยาศาสตร์ตามมาตรานี้ ให้สั่งจ่ายจากงบประมาณตามระเบียบที่คณะกรรมการบริหารศาลยุติธรรมกำหนด โดยความเห็นชอบจากกระทรวงการคลัง

ตัวอย่างคดีและกฎหมาย

1. คำพิพากษาศาลอุทธรณ์ภาค ๙ ยกฟ้องจำเลย

คดีหมายเลขดำที่ ๑๓๓๖/๒๕๕๖ คดีหมายเลขแดงที่ ๑๗๖๑/๒๕๕๖ วันที่ ๓ ธันวาคม ๒๕๕๖ ผู้สนใจสามารถค้นหาและอ่านรายละเอียดเพิ่มเติมได้

โดยสรุปคดีนี้เกิดขึ้นเมื่อวันที่ ๑๒ สิงหาคม ๒๕๕๒ เวลากลางวัน จำเลยกับพวกร่วมกันหมิ่นประมาทดูหมิ่น หรือแสดงความอาฆาตมาดร้ายต่อพระราชินีด้วยการนำป้ายแขวนด้วยเชือกฟาง มีรูปและข้อความอันเป็นการดูหมิ่นพระบรมเดชานุภาพ ทำให้พระราชินีเสื่อมเสียที่ตำบลยะรัง จังหวัดปัตตานี จำเลยให้การปฏิเสธ ศาลชั้นต้นพิพากษาว่า จำเลยมีความผิด จำคุก ๗ ปี ศาลอุทธรณ์ภาค ๙ พิพากษากลับให้ยกฟ้องด้วยสองเหตุผลคือ ๑. ความเห็นเรื่องผลการตรวจดีเอ็นเอที่ว่า พบสารพันธุกรรมบนเชือกฟางตรงกับของจำเลย โอกาสผิดพลาดเกิดขึ้นได้หนึ่งต่อสองแสนล้านล้านคน ก็มิได้หมายความว่าไม่มีโอกาสผิดพลาดเลย.. ๒. เรื่องการส่งต่อวัตถุพยาน ฟังว่าเชือกฟางสีฟ้าที่พบตัวอย่างสารพันธุกรรมของจำเลย แต่ไม่ปรากฏว่าพบอยู่ในที่อื่น ครบทั้ง ๕๐ ป้าย และเชือกฟางที่นำมาขึงป้ายก็เกิดจากการผูกเชือกฟางต่อกัน ๒ เส้น

ข้อกล่าวอ้างในการยกฟ้องกรณีข้อ ๒. พอจะยอมรับได้ ก็เพราะมีทางเป็นไปได้ที่คนร้ายอาจจะเก็บเชือกฟางของจำเลยไปใช้ แต่ข้ออ้างกรณีข้อ ๑. ที่ว่า **โอกาสผิดพลาดเกิดขึ้นได้หนึ่งต่อสองแสนล้านล้านคน ก็มิได้หมายความว่าไม่มีโอกาสผิดพลาดเลย** เหตุผลข้อนี้ไม่อาจยอมรับได้ เพราะแสดงได้ว่าผู้พิพากษายังมีความรู้ไม่เพียงพอเกี่ยวกับเรื่องการทำความเข้าใจการตรวจพิสูจน์และรายงานผลการตรวจดีเอ็นเอ เพื่อนำมาใช้ประกอบการตัดสินคดีความ โดยเฉพาะเรื่องค่าทางสถิติที่สามารถนำมาใช้ในการยืนยัน หรือการปฏิเสธ

หมายเหตุ

1. สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล ประมาณการจำนวนประชากรไทย ประมาณ 64.9 ล้านคน (พ.ศ. 2557) อ้างอิงจาก http://www.ipsr.mahidol.ac.th/ipsr-th/population_thai.html

2. U.S. Census Bureau ประมาณว่าประชากรโลกมีจำนวนประมาณ 7,100 ล้านคน (พ.ศ. 2557) จากhttp://www.census.gov/popclock/

3. Power of discrimination หมายถึงโอกาสที่คนสองคนในประชากรเดียวกัน (ประชากรไทย) ที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์เป็นญาติกัน จะมีรูปแบบดีเอ็นเอบนโครโมโซมร่างกาย จำนวน 15 ตำแหน่ง ไม่เหมือนกัน มีค่าเท่ากับร้อยละ 99.99999999999999943

4. Match probability หมายถึง โอกาสที่คนสองคนในประชากรเดียวกัน (ประชากรไทย) ที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์เป็นญาติกัน จะมีรูปแบบดีเอ็นเอบนโครโมโซมร่างกาย จำนวน 15 ตำแหน่ง เหมือนกัน ซึ่งเกิดขึ้นโดยบังเอิญ มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.00000000000000057 หรือมีโอกาสเกิดขึ้นเท่ากับ 1 ใน 2 แสนล้านล้านคน

2. ขอรับการตรวจดีเอ็นเอเพื่อปฏิเสธความเป็นพ่อลูก

นาย สข, ยินยอมให้นางสาว ชม. แจ้งชื่อตนเองว่าเป็นพ่อของทารกชายแรกเกิด เจ้าหน้าที่โรงพยาบาลจึงบันทึกชื่อพ่อเป็นนาย สข. ลงในเอกสารสูติบัตรเป็นหลักฐานไว้เรียบร้อย ต่อมาญาติภรรยาและภรรยาของนาย สข. ไม่พอใจอย่างมากและมีความประสงค์ต้องการให้นาย สข. เพิกถอนชื่อออกจากการเป็นพ่อของทารกชายแต่เทศบาลที่รับแจ้งการเกิดไม่สามารถเพิกถอนชื่อให้ได้ และสั่งให้มาตรวจดีเอ็นเอไว้เป็นหลักฐานยืนยันว่าไม่ใช่พ่อทารกชายนี้จริง ขณะนั้นทารกชายมีอายุประมาณ ๑ เดือนกว่า นาย สข, และภรรยาจึงมาติดต่อหน่วยนิติเวช.เพื่อ

ขอรับการตรวจพ่อลูก ทางนิติเวช.ก็ไม่สามารถให้บริการตรวจพิสูจน์ให้ได้เนื่องจากต้องให้นางสาว ชม. มารดาทารกมาลงชื่อยินยอมให้ตรวจดีเอ็นเอบุตรชายของตนก่อนซึ่งนางสาว ชม. ก็ได้หลบหนีหายไปตั้งแต่หลังการคลอดบุตรชายแล้วประมาณหนึ่งสัปดาห์ และยังไม่สามารถตามตัวมาได้

ปัญหาคือ ไม่สามารถติดตามมารดาของทารกซึ่งขณะนี้อายุได้ ๒ เดือนกว่าแล้วให้มาลงชื่อยินยอมให้ทารกเข้ารับการตรวจหาความสัมพันธ์ทางสายเลือดกับนาย สข. โดยวิธีการตรวจดีเอ็นเอ ช่องทางแก้ไขหนึ่งคือการฟ้องทางแพ่งเพื่อให้ศาลสั่งนาย สข. และทารกชายคนนี้เข้ารับการตรวจดีเอ็นเอเพื่อพิสูจน์ความสัมพันธ์เป็นพ่อลูกกันก่อนนำผลไปใช้ขอยกเลิกชื่อพ่อในสูติบัตรต่อไป

3. ตัวอย่างข้อกฎหมายของยุโรป

การแปลต้นฉบับภาษาอังกฤษ **รายละเอียดบัญญัติและข้อตกลงของคณะกรรมการรัฐมนตรีว่าการกระทรวงแห่งสภายุโรป** เป็นภาษาไทยนี้ได้รับความกรุณาช่วยเหลือจาก นาง ศรวณีย์ ศรีบุญ อัยการจังหวัดประจำสำนักงานอัยการสูงสุด สำนักงานอัยการพิเศษฝ่ายคดียาเสพติด ๙ ทำให้ทราบว่ากลุ่มประเทศทางยุโรปส่วนใหญ่และสหรัฐอเมริกาได้ให้ความสำคัญกับเรื่องดีเอ็นเออย่างไรบ้าง โดยเฉพาะเรื่องของการคุ้มครองสิทธิผู้ต้องสงสัย หรือผู้ต้องหา จึงขอยกเป็นตัวอย่างข้อกฎหมายเกี่ยวกับดีเอ็นเอไว้เป็นแนวทางการออกกฎหมายเกี่ยวกับดีเอ็นเอในบ้านเราต่อไปในอนาคต

รายละเอียดบัญญัติและข้อตกลงของคณะกรรมการรัฐมนตรีว่าการกระทรวงแห่งสภายุโรป

1. นิยาม เพื่อการบรรลุวัตถุประสงค์ตามคำแนะนำนี้

“การวิเคราะห์ดีเอ็นเอ” ให้หมายความถึง กระบวนการใดๆ ที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอสารพันธุกรรม พื้นฐานของมนุษย์ (The basic genetic material of human) และสิ่งมีชีวิตอื่น

“ตัวอย่าง” ให้หมายความถึง สสารต่างๆ ของแหล่งกำเนิดที่มีชีวิตซึ่งอาจนำมาใช้ในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

“แฟ้มดีเอ็นเอ” ให้หมายความถึง การเก็บรวบรวมผลการวิเคราะห์ดีเอ็นเอไม่ว่าจะอยู่ในรูปแบบที่ทำการบันทึกขึ้นเองหรืออยู่ในฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์

2. ขอบเขตและข้อจำกัด คำแนะนำนี้ให้นำไปใช้กับกรณีการเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ดีเอ็นเอที่มีวัตถุประสงค์เพื่อนำไปใช้ในการระบุตัวผู้ต้องสงสัยหรือระบุตัวบุคคลภายใต้กรอบของการสืบสวนสอบสวนและการดำเนินคดีอาญา

3. การใช้ตัวอย่างและข้อมูลที่ได้มา ตัวอย่างที่เก็บมาใช้ในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอและข้อมูลที่ได้มาจากการวิเคราะห์ดังกล่าวจะต้องถูกนำไปใช้เพื่อการการสืบสวนสอบสวนและการดำเนินคดีอาญาเท่านั้น โดยที่จะต้องไม่ถูกนำไปใช้ด้วยวัตถุประสงค์อื่น อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่บุคคลที่ถูกเก็บตัวอย่างร้องขอ ต้องมอบข้อมูลดังกล่าวให้กับบุคคลนั้นๆ ตามที่ร้องขอ

การเก็บตัวอย่างจากบุคคลที่มีชีวิตเพื่อนำมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอตามวัตถุประสงค์ทางการแพทย์และข้อมูลที่ได้มาจากตัวอย่างดังกล่าว จะต้องไม่ถูกนำมาใช้เพื่อวัตถุประสงค์ในการสืบสวน สอบสวนและการดำเนินคดีอาญา เว้นแต่จะมีกฎหมายภายในของประเทศกำหนดให้อำนาจกระทำได้

ตัวอย่างที่ถูกนำมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอและข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ดังกล่าวอาจมีความจำเป็นต่อวัตถุประสงค์ในการวิจัยหรือเป็นข้อมูลทางสถิติที่อาจช่วยระบุตัวบุคคลที่ไม่สามรถยืนยันตัวบุคคลได้ แต่ชื่อหรือสิ่งอื่นๆ ที่อ้างอิงถึงตัวบุคคลนั้น จะต้องถูกลบก่อนการใช้งาน

4. การเก็บตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ การเก็บตัวอย่างเพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ควรดำเนินการตามที่กฎหมายภายในประเทศได้กำหนดไว้ ซึ่งในบางประเทศ อาจจำเป็นจะต้องได้รับอนุญาตจากผู้มีอำนาจตามกฎหมาย

เมื่อกฎหมายภายในประเทศอนุญาตให้สามารถเก็บตัวอย่างได้โดยปราศจากความยินยอมของผู้ต้องสงสัย การเก็บตัวอย่างดังกล่าวควรจะดำเนินการเฉพาะในกรณีที่จำเป็นเท่านั้น

5. การร้องขอให้วิเคราะห์ดีเอ็นเอ การร้องขอให้วิเคราะห์ดีเอ็นเอ ควรได้รับการอนุญาตในทุกกรณีที่มีความเหมาะสม โดยไม่จำต้องคำนึงถึงระดับความร้ายแรงของการกระทำความผิด

6. การรับรองห้องปฏิบัติการและหน่วยงาน และการควบคุมการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ การวิเคราะห์ดีเอ็นเอเป็นกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ที่มีขั้นตอนที่ซับซ้อนซึ่งควรดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมือและประสบการณ์ที่เหมาะสมเพียงพอ

ประเทศสมาชิกควรทำให้แน่ใจว่า รายชื่อของห้องปฏิบัติการและหน่วยงานที่ได้รับการรับรองต้องเป็นไปตามหลักเกณฑ์ดังนี้

- มีความรู้ในวิชาชีพระดับสูงและมีความเชี่ยวชาญ ควบคู่ไปกับขั้นตอนการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการที่เหมาะสม

- มีคุณธรรมตามหลักวิทยาศาสตร์

- มีการรักษาความปลอดภัยที่เพียงพอในการติดตั้งและสสารอยู่ภายใต้การตรวจสอบ

- มีระบบการป้องกันที่เพียงพอที่ทำให้แน่ใจเป็นอย่างยิ่งว่า มีการรักษาความลับเกี่ยวกับการระบุตัวบุคคลที่ถูกวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

- มีการรับรองว่า ได้มีการปฏิบัติตามเงื่อนไขที่วางไว้โดยคำแนะนำนี้

ประเทศสมาชิกควรจัดให้มีการควบคุมดูแลห้องปฏิบัติการ

7. การป้องกันข้อมูล การเก็บตัวอย่างและการใช้การดีเอ็นเอวิเคราะห์ จะต้องสอดคล้องกับมาตรฐานของสภายุโรปเกี่ยวกับการป้องกันข้อมูลตามที่กำหนดไว้ในอนุสัญญาว่าด้วยการคุ้มครองข้อมูลและคำแนะนำในการ

ป้องกันข้อมูล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คำแนะนำฉบับที่ อาร์ (87) 15 เรื่อง การควบคุมการใช้งานข้อมูลส่วนบุคคลในภาคส่วนของตำรวจ

8. การเก็บรักษาตัวอย่างและข้อมูล ตัวอย่างหรือเนื้อเยื่อที่ถูกเก็บจากตัวบุคคลเพื่อนำมาวิเคราะห์ดีเอ็นเอหลังจากที่ได้นำไปใช้ในการพิจารณาคดีและศาลได้มีคำตัดสินแล้ว ไม่ควรถูกเก็บไว้ (ควรทำลายทิ้ง) เว้นแต่มีเหตุหรือความจำเป็นอื่นเพื่อวัตถุประสงค์ที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับผู้ที่ถูกเก็บตัวอย่าง

ควรมีมาตรการในการดำเนินการที่เป็นหลักประกันว่า ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอและข้อมูลที่ได้มา จะต้องถูกทำลายทิ้ง เมื่อไม่มีความจำเป็นที่จะต้องเก็บรักษาไว้เพื่อนำมาใช้อีกต่อไป แต่ผลและข้อมูลดังกล่าวอาจถูกเก็บไว้ได้ในกรณีที่บุคคลที่เกี่ยวข้องได้กระทำความผิดร้ายแรงเกี่ยวกับชีวิตหรือความมั่นคงหรือความปลอดภัยของบุคคล ในกรณีนี้ กฎหมายภายในประเทศควรจะต้องกำหนดระยะเวลาการเก็บรักษาไว้ด้วย

ตัวอย่างและเนื้อเยื่ออื่นๆ ของร่างกาย หรือข้อมูลที่ได้มาจากตัวอย่างและเนื้อเยื่อดังกล่าวอาจเก็บไว้เป็นระยะเวลานานเมื่อ

- บุคคลที่เกี่ยวข้องร้องขอ
- ตัวอย่างไม่สามารถระบุตัวบุคคลได้ เช่น มีการพบตัวอย่างในที่เกิดเหตุที่มีการกระทำความผิดเกิดขึ้น

กรณีเพื่อการรักษาความปลอดภัยของรัฐ ประเทศสมาชิกอาจออกกฎหมายภายในกำหนดให้ทำการเก็บรักษาตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ดีเอ็นเอ และข้อมูลที่ได้มา แม้ว่าบุคคลที่เกี่ยวข้องจะไม่ได้ถูกกล่าวหาหรือพิพากษาว่ามีความผิด

การจัดให้มีและการดำเนินการเกี่ยวกับแฟ้มดีเอ็นเอใดๆ เพื่อวัตถุประสงค์ในการสืบสวนสอบสวนหรือการดำเนินคดีอาญาควรตราเป็นกฎหมาย

9. ความเท่าเทียมของข้อต่อสู้ รัฐควรมีหลักประกันว่า การใช้การวิเคราะห์ดีเอ็นเอ ผู้ต้องหาต้องมีสิทธิเข้าถึงการวิเคราะห์ดีเอ็นเอดังกล่าวในการพิสูจน์ความผิดอย่างเท่าเทียมกัน ไม่ว่าจะโดยความเห็นหรือคำสั่งของเจ้าหน้าที่ผู้มีอำนาจในกระบวนการยุติธรรมหรือโดยความเห็นของผู้เชี่ยวชาญอิสระ

กรณีที่ปริมาณสสารที่ถูกใช้มีอยู่อย่างจำกัดจะต้องมีการดำเนินการเพื่อให้แน่ใจว่าต้องไม่กระทบสิทธิของจำเลย

10. มาตรฐานทางเทคนิค ประเทศสมาชิกควรส่งเสริมมาตรฐานการวิเคราะห์ดีเอ็นเอทั้งในระดับชาติและระดับนานาชาติ ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการให้ความร่วมมือระหว่างห้องปฏิบัติการในส่วนที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์ และกระบวนการควบคุมขั้นตอน

11. ทรัพย์สินทางปัญญา ในขณะที่จะต้องมีการตระหนักถึงว่า สิทธิทางทรัพย์ทางปัญญาในส่วนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการวิเคราะห์ดีเอ็นเอเป็นสิทธิของห้องปฏิบัติการ แต่ประเทศสมาชิกต้องทำให้แน่ใจว่า จะไม่เป็นการขัดขวางการเข้าถึงการใช้การวิเคราะห์ดีเอ็นเอ

12. การแลกเปลี่ยนข้อมูลระหว่างรัฐ การวิเคราะห์ดีเอ็นเออาจได้รับมาจากห้องปฏิบัติการหรือหน่วยงานที่จัดตั้งขึ้นในประเทศอื่น โดยมีข้อแม้ว่าห้องปฏิบัติการหรือหน่วยงานนั้นๆ ได้ปฏิบัติตามคำแนะนำที่กำหนดไว้แล้วนี้

การติดต่อระหว่างรัฐเกี่ยวกับข้อสรุปการวิเคราะห์ดีเอ็นเอควรดำเนินการตามข้อกำหนดของคำแนะนำนี้ และตามที่กำหนดในสนธิสัญญาระหว่างประเทศเกี่ยวกับการแลกเปลี่ยนข้อมูลทางอาญา และมาตรา 12 ของอนุสัญญาว่าด้วยการคุ้มครองข้อมูล

เอกสารประกอบการเรียบเรียง

1. สุรศักดิ์ ลิขสิทธิ์วัฒนกุล ประมวลกฎหมายวิธีพิจารณาความอาญา ฉบับอ้างอิง. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ : วิญญูชน, 2551.

2. COUNCIL OF EUROPE COMMITTEE OF MINISTERS, RECOMMENDATION No. R (92) 1 OF THE COMMITTEE OFMINISTERS TO MEMBER STATES ON THE USE OF ANALYSIS OF DEOXYRIBONUCLEIC ACID (DNA) WITHIN THE FRAMEWORK OF THE CRIMINAL JUSTICE SYSTEM. 1992, pp. 1-3.

สถิติในงานตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอทางนิติเวชศาสตร์ โดย สุคนธ์ ประดุจกาญจนา

1. การพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล (Person identification)

1.1 Power of discrimination หมายถึงโอกาสที่คนสองคนในประชากรเดียวกัน (ประชากรไทย) ที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์เป็นญาติกัน จะมีรูปแบบดีเอ็นเอบนโครโมโซมร่างกาย จำนวน 15 ตำแหน่ง ไม่เหมือนกัน มีค่าเท่ากับร้อยละ 99.99999999999999943

1.2 Match probability หมายถึง โอกาสที่คนสองคนในประชากรเดียวกัน (ประชากรไทย) ที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์เป็นญาติกัน จะมีรูปแบบดีเอ็นเอบนโครโมโซมร่างกาย จำนวน 15 ตำแหน่ง เหมือนกัน ซึ่งเกิดขึ้นโดยบังเอิญ มีค่าเท่ากับร้อยละ 0.00000000000000057 หรือมีโอกาสเกิดขึ้นเท่ากับ 1 ใน 2 แสนล้านล้านคน

1.3 likelihood ratio (LR) หมายถึง โอกาสที่รูปแบบดีเอ็นเอจากวัตถุพยานเป็นของผู้ต้องสงสัย มีค่าเท่ากับกี่เท่าของโอกาสที่รูปแบบดีเอ็นเอนี้จะเป็นของบุคคลอื่นในประชากรเดียวกัน

เนื่องจาก LR มีค่าเป็นตัวเลขค่อนข้างมาก การนำเสนอจึงอาจมีข้อจำกัดทำให้สับสนได้ค่อนข้างง่าย จึงมีผู้เทียบเคียงเป็นน้ำหนักการสนับสนุนสมมติฐาน (verbal equivalent) เพื่อให้เข้าใจได้ง่ายยิ่งขึ้น

Likelihood ratio	น้ำหนักการสนับสนุนสมมติฐาน (verbal equivalent)
1,000,000	สนับสนุนอย่างมากที่สุดต่อสมมติฐานฝ่ายโจทย์
100,000	สนับสนุนอย่างมากๆต่อสมมติฐานฝ่ายโจทย์
10,000	สนับสนุนอย่างมากต่อสมมติฐานฝ่ายโจทย์
1,000	สนับสนุนค่อนข้างมากต่อสมมติฐานฝ่ายโจทย์
100	สนับสนุนปานกลางต่อสมมติฐานฝ่ายโจทย์
10	สนับสนุนเล็กน้อยต่อสมมติฐานฝ่ายโจทย์
1	ไม่สามารถสรุปผลได้
0.1	สนับสนุนเล็กน้อยต่อสมมติฐานฝ่ายจำเลย
0.01	สนับสนุนปานกลางต่อสมมติฐานฝ่ายจำเลย
0.001	สนับสนุนค่อนข้างมากต่อสมมติฐานฝ่ายจำเลย
0.0001	สนับสนุนอย่างมากต่อสมมติฐานฝ่ายจำเลย
0.00001	สนับสนุนอย่างมากๆต่อสมมติฐานฝ่ายจำเลย
0.000001	สนับสนุนอย่างมากที่สุดต่อสมมติฐานฝ่ายจำเลย

1.4 Posterior probability หมายถึงโอกาสที่ผู้ต้องสงสัยจะเป็นเจ้าของรูปแบบดีเอ็นเอจากวัตถุพยาน มีหน่วยเป็นร้อยละ เป็นการคำนวณโดยใช้ค่าทางสถิติที่คำนวณได้จากหลักฐานด้านดีเอ็นเอ คือ likelihood ratio กับหลักฐานอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับงานด้านดีเอ็นเอ คือค่า prior probability ทำให้ได้ค่าที่สะท้อนความเป็นจริงมากยิ่งขึ้น

2. การพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด

กรณี บิดา-มารดา-บุตร หรือ บิดา-บุตร หรือ มารดา-บุตร

2.1 combined paternity index (CPI) หมายถึง โอกาสที่ผู้ถูกกล่าวหาว่าเป็นบิดาของเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็ก เป็นกี่เท่า เมื่อเทียบกับโอกาสที่ชายอื่นในกลุ่มประชากรเดียวกันที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเข้าได้กับเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็ก

หน่วยงาน The American Association of Blood Banks (AABB) กำหนดเกณฑ์การตัดสินใจในการระบุว่า เชื่อว่าผู้ถูกกล่าวหาว่าเป็นบิดาของเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็ก ที่ระดับ 100 ต่อ 1

2.2 probability of paternity (W) หมายถึงโอกาสที่ผู้ถูกกล่าวหาว่าเป็นบิดาของเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็ก เมื่อเทียบกับโอกาสที่ชายอื่นในกลุ่มประชากรเดียวกันที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเข้าได้กับเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็ก มีหน่วยเป็นร้อยละ

หน่วยงาน The American Association of Blood Banks กำหนดเกณฑ์การตัดสินใจในการระบุว่า เชื่อว่าผู้ถูกกล่าวหาว่าเป็นบิดาของเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็ก ที่ระดับ ร้อยละ 99

U.S. Census Bureau ประมาณว่าประชากรโลกมีจำนวนประมาณ 7,100 ล้านคน (ปี 2557) อ้างอิงจาก http://www.census.gov/popclock/

สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล ประมาณการจำนวนประชากรไทย ประมาณ 64.9 ล้านคน (ปี 2557) อ้างอิงจาก http://www.ipsr.mahidol.ac.th/ipsr-th/population_thai.html

อนึ่งการแปรผลตรวจ DNA มีการประยุกต์ใช้ในทางนิติเวชศาสตร์ และนิติวิทยาศาสตร์ ๒ กรณีหลัก คือ (1) **การพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล** มีการใช้ค่าสถิติหลายค่า ได้แก่ Power of discrimination โอกาสที่คนสองคนในประชากรไทยที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์เป็นญาติกันจะมีรูปแบบดีเอ็นเอบนโครโมโซมร่างกาย จำนวน 15 ตำแหน่ง ไม่เหมือนกัน มีค่าเท่ากับร้อยละ 99.99999999999999943, Match probability โอกาสที่คนสองคนในประชากรไทยที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์เป็นญาติกันจะมีรูปแบบดีเอ็นเอบนโครโมโซมร่างกาย จำนวน 15 ตำแหน่ง เหมือนกันซึ่งเกิดขึ้นโดยบังเอิญมีค่าเท่ากับร้อยละ 0.00000000000000057 หรือมีโอกาสเกิดขึ้นเท่ากับ 1 ใน 2 แสนล้านล้านคน, Likelihood ratio (LR) โอกาสที่รูปแบบดีเอ็นเอจากวัตถุพยานเป็นของผู้ต้องสงสัยมีค่าเท่ากับกี่เท่าของโอกาสที่รูปแบบดีเอ็นเอนี้จะเป็นของบุคคลอื่นในประชากรไทย, Posterior probability โอกาสที่ผู้ต้องสงสัยจะเป็นเจ้าของรูปแบบดีเอ็นเอจากวัตถุพยาน หน่วยเป็นร้อยละ เป็นการคำนวณโดยใช้ค่าสถิติจากหลักฐานด้านดีเอ็นเอ

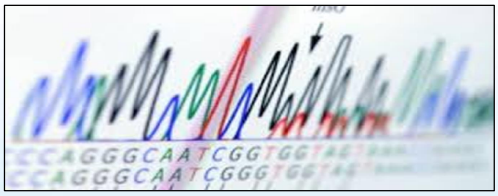
คือ Likelihood ratio กับหลักฐานอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับงานด้านดีเอ็นเอ คือค่า Prior probability ทำให้ได้ค่าที่สะท้อนความเป็นจริงมากยิ่งขึ้น และ (2) **การพิสูจน์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด** ใช้ค่าสถิติ Combined Paternity Index (CPI) คือโอกาสที่ผู้ถูกกล่าวหาว่าเป็นบิดาจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็กเป็นกี่เท่าเมื่อเทียบกับโอกาสที่ชายอื่นในกลุ่มประชากรเดียวกันที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเข้าได้กับเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริง หน่วยงาน The American Association of Blood Banks (AABB) กำหนดเกณฑ์ตัดสินใจ เชื่อว่าผู้ถูกกล่าวหาเป็นบิดาจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็กที่ระดับ 100 ต่อ 1 และ Probability of paternity (W) โอกาสที่ผู้ถูกกล่าวหาเป็นบิดาของเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริงเมื่อเทียบกับโอกาสที่ชายอื่นในกลุ่มประชากรเดียวกันที่มีรูปแบบดีเอ็นเอเข้าได้กับเด็กจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็ก หน่วยเป็นร้อยละ หน่วยงาน **AABB** กำหนดเกณฑ์ตัดสินใจ เชื่อว่าผู้ถูกกล่าวหาเป็นบิดาจะเป็นบิดาที่แท้จริงของเด็กที่ระดับร้อยละ 99

หมายเหตุ 1. U.S. Census Bureau ประมาณว่าประชากรโลกมีจำนวนประมาณ 7,100 ล้านคน (ปี 2557) จากhttp://www.census.gov/popclock/

2. สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล ประมาณการจำนวนประชากรไทยประมาณ 64.9 ล้านคน (ปี 2557) จาก http://www.ipsr.mahidol.ac.th/ipsr-th/population_thai.html

3. Power of discrimination และ match probability อ้างอิงจาก Shotivaranon J, Chirachariyavej T, Leetrakool N, et al. DNA database of populations from different parts in the Kingdom of Thailand. Forensic Science International: Genetics 2009; 4:e37-e8.

การอ่านผล และการบันทึกตำแหน่ง ที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง



สุคนธ์ ประดุจกาญจนา

11 กันยายน 2557

How important does HVIII?

Should we investigate HVIII?

mtDNA control region

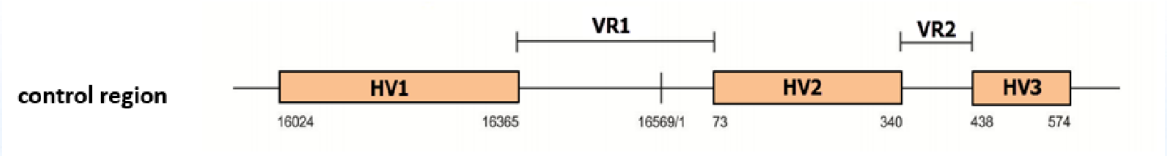


Table 1
Comparison of diversity indices in 100 individuals from Bologna (Italy)

	HVI	HVII	HVIII	HVI + HVII	HVI + HVII + HVIII
Haplotype diversity	0.967 ± 0.012	0.965 ± 0.008	0.590 ± 0.056	0.992 ± 0.004	0.995 ± 0.003
Mean number of pairwise differences	4.533 ± 2.248	3.418 ± 1.762	1.342 ± 0.051	7.951 ± 3.727	9.293 ± 4.305
Random match probability (*P*)	0.042	0.044	0.415	0.017	0.015
Nucleotide diversity	0.070 ± 0.038	0.092 ± 0.052	0.074 ± 0.051	0.078 ± 0.040	0.078 ± 0.040
Observed substitutions	67	35	9	102	111
Observed insertion/deletion	1	3	9	4	13
Polymorphic sites	64	36	18	100	118
Haplotypes	66	52	15	85	88

ELSEVIER
Forensic Science International

Different informativeness of the three hypervariable mitochondrial DNA regions in the population of Bologna (Italy)

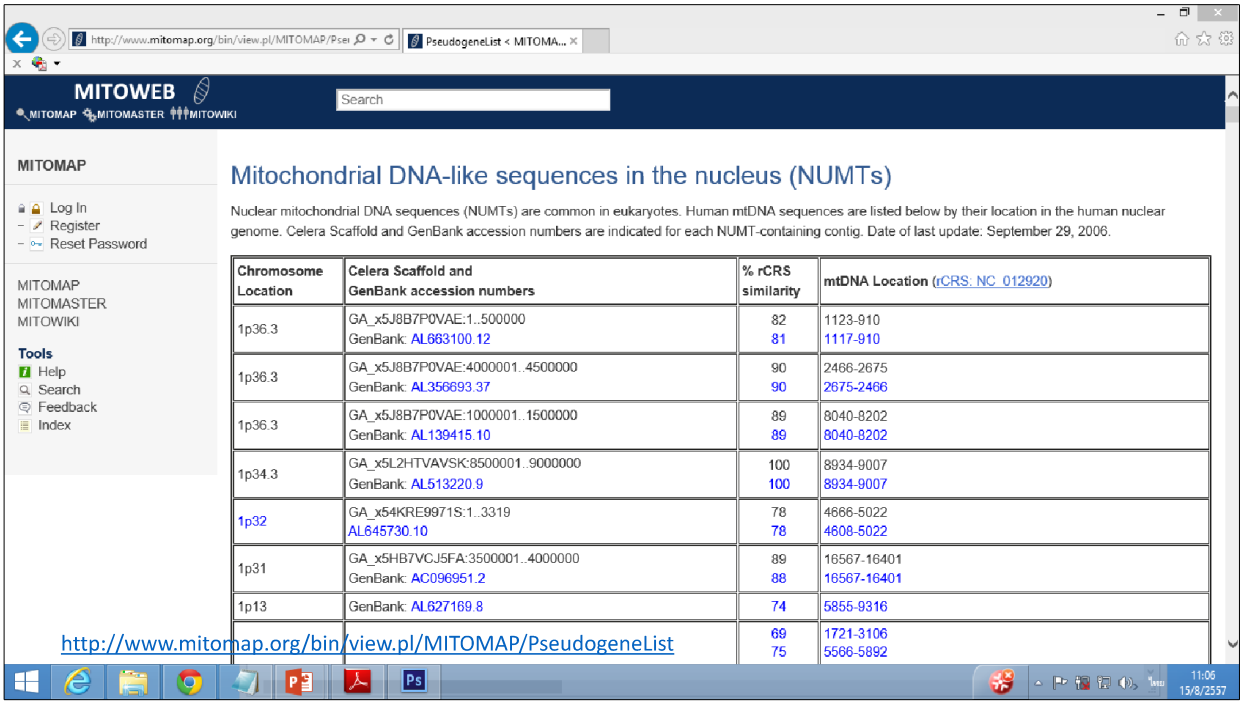
C. Bini[a], S. Ceccardi[a], D. Luiselli[b], G. Ferri[a], S. Pelotti[a], C. Colalongo[a], M. Falconi[a], G. Pappalardo[a,*]

ตารางที่ 3 ค่าสถิติทางพันธุศาสตร์ในตำแหน่งการตรวจต่างๆ และในตำแหน่งการตรวจเมื่อนำมาวิเคราะห์ร่วมกัน

ตำแหน่งการตรวจวิเคราะห์	จำนวนของรูปแบบสารพันธุกรรม	Statistic (*n*=100)		
		ค่าความน่าจะเป็นในการจับคู่แบบสุ่ม (*P*)	ค่ากำลังการแยกแยะ (*Dp*)	ค่าความหลากหลายของรูปแบบสารพันธุกรรม (*h*)
HVR I	81	0.0156	0.9844	0.9943
HVR II	74	0.0246	0.9754	0.9853
HVR III	16	0.2142	0.7858	0.7973
HVR I และ II ร่วมกัน	98	0.0104	0.9896	0.9996
ทั้ง 3 HVR ร่วมกัน	100	0.0100	0.9900	1.0000

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 4 ฉบับที่ 1
กันยายน – ธันวาคม พ.ศ.2554

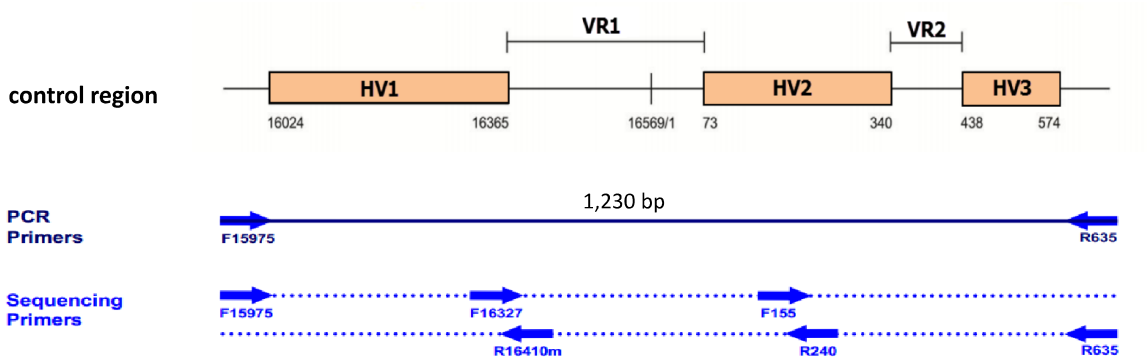
การใช้ HVR III เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจพิสูจน์บุคคลด้วยไมโตคอนเดรียลดีเอ็นเอในกลุ่มประชากรภาคกลางของประเทศไทย



http://www.mitomap.org/bin/view.pl/MITOMAP/PseudogeneList

Alternative in performing PCR for mitochondrial control region analysis

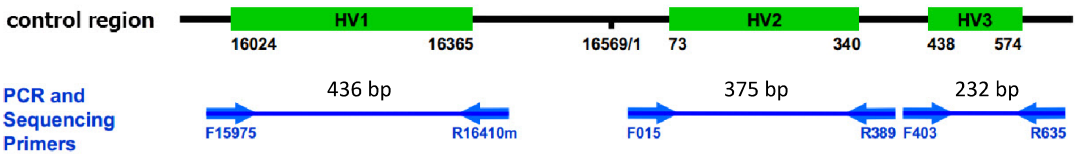
1. Entire control region



Primers for PCR and Sequencing:

Primer	Sequence (5'→3')	Usage
F15975	CTC CAC CAT TAG CAC CCA AA	PCR and Sequencing
F16327	CCG TAC ATA GCA CAT TAC AGT C	Sequencing
F155	TAT TTA TCG CAC CTA CGT TC	Sequencing
R16410m	GAG GAT GGT GGT CAA GGG A	Sequencing
R240	TAT TAT TAT GTC CTA CAA GCA	Sequencing
R635	GAT GTG AGC CCG TCT AAA CA	PCR and Sequencing

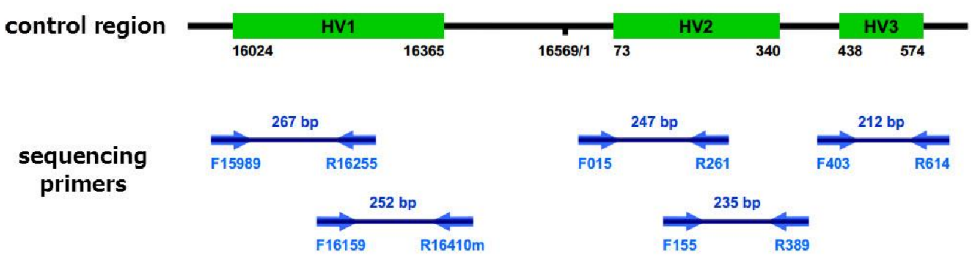
2. Only hypervariable regions



Primers for PCR and Sequencing:

Primer	Sequence (5'→3')	Usage
F15975	CTC CAC CAT TAG CAC CCA AA	PCR and Sequencing
F015	CAC CCT ATT AAC CAC TCA CG	〃
F403	TCT TTT GGC GGT ATG CAC TTT	〃
R16410m	GAG GAT GGT GGT CAA GGG A	〃
R389	CTG GTT AGG CTG GTG TTA GG	〃
R635	GAT GTG AGC CCG TCT AAA CA	〃

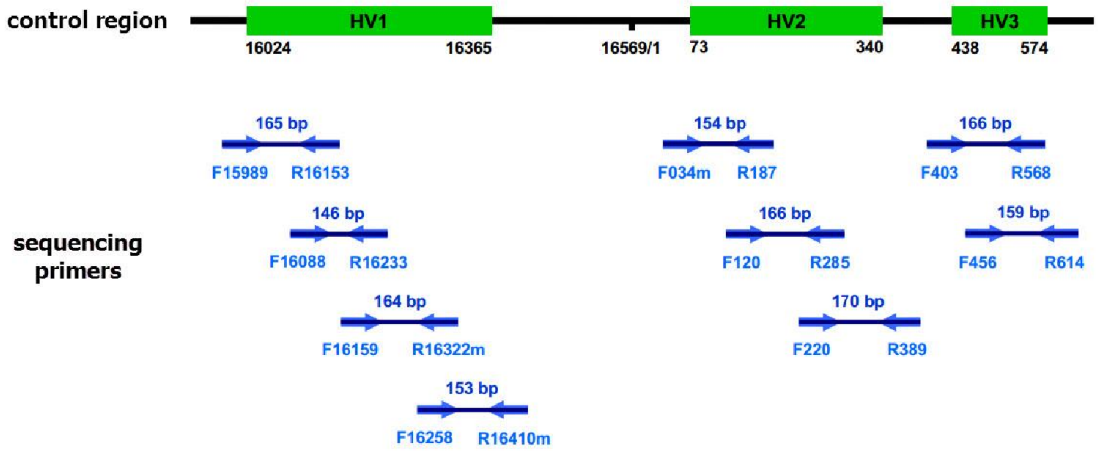
3. Degraded samples



Primers for PCR and sequencing in case of degraded samples

Region	Amplicon	Primer	Sequence (5'→3')
HV1	P11	F15989	CCC AAA GCT AAG ATT CTA AT
		R16255	CTT TGG AGT TGC AGT TGA TG
	P12	F16159	CAT AAA AAC CCA ATC CAC AT
		R16410m	GAG GAT GGT GGT CAA GGG A
HV2	P21	F015	CAC CCT ATT AAC CAC TCA CG
		R261	GCT GTG CAG ACA TTC AAT TGT T
	P22	F155	TAT TTA TCG CAC CTA CGT TC
		R389	CTG GTT AGG CTG GTG TTA GG
HV3	P31	F403	TCT TTT GGC GGT ATG CAC TTT
		R614	TTT CAG TGT ATT GCT TTG AGG A

3. Highly degraded samples

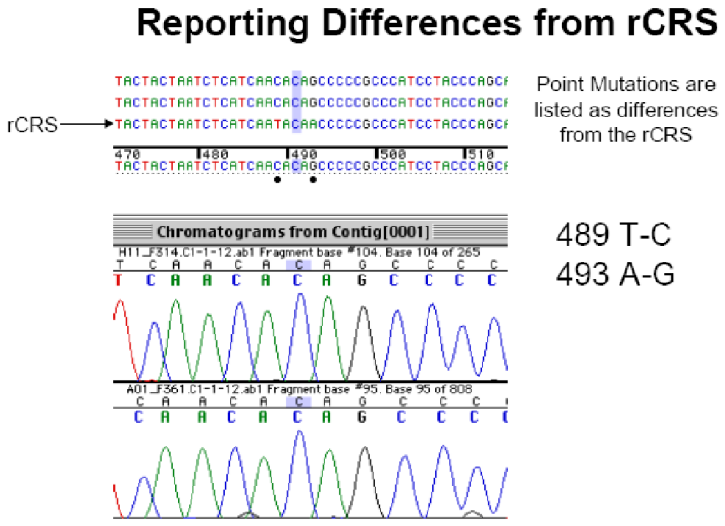


Primers for PCR and sequencing in case of highly degraded samples

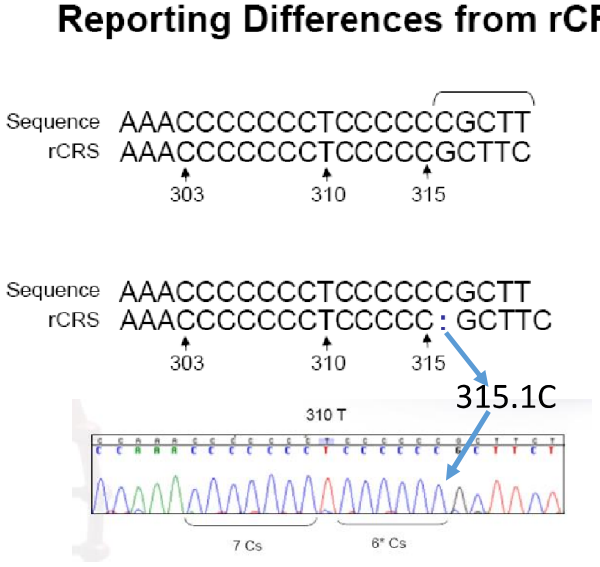
Region	Amplicon	Primer	Sequence (5'→3')
HV1	M11	F15989	CCC AAA GCT AAG ATT CTA AT
		R16153	CAG GTG GTC AAG TAT TTA TGG
	M12	F16088	TGT ATT TCG TAC ATT ACT GC
		R16233	TGA TAG TTG AAG GTT GAT TGC TGT
	M13	F16159	CAT AAA AAC CCA ATC CAC AT
		R16322m	TGG CTT TAT GTA CTA TGT ACT G
	M14	F16258	ACC CCT CAC CCA CTA GGA TA
		R16410m	GAG GAT GGT GGT CAA GGG A
HV2	M21	F034m	GGG AGC TCT CCA TGC ATT T
		R187	CGC CTG TAA TAT TGA ACG TA
	M22	F120	CGC AGT ATC TGT CTT TGA TTC C
		R285	GTT ATG ATG TCT GTG TGG AA
	M23	F220	TGC TTG TAG GAC ATA ATA AT
		R389	CTG GTT AGG CTG GTG TTA GG
HV3	M31	F403	TCT TTT GGC GGT ATG CAC TTT
		R568	GTG TCT TTG GGG TTT GGT TG
	M32	F456	CCC CTC CCA CTC CCA TAC T
		R614	TTT CAG TGT ATT GCT TTG AGG A

Polymorphisms in mitochondrial sequencing

1. substitution

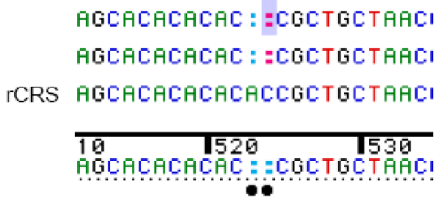


2. insertion

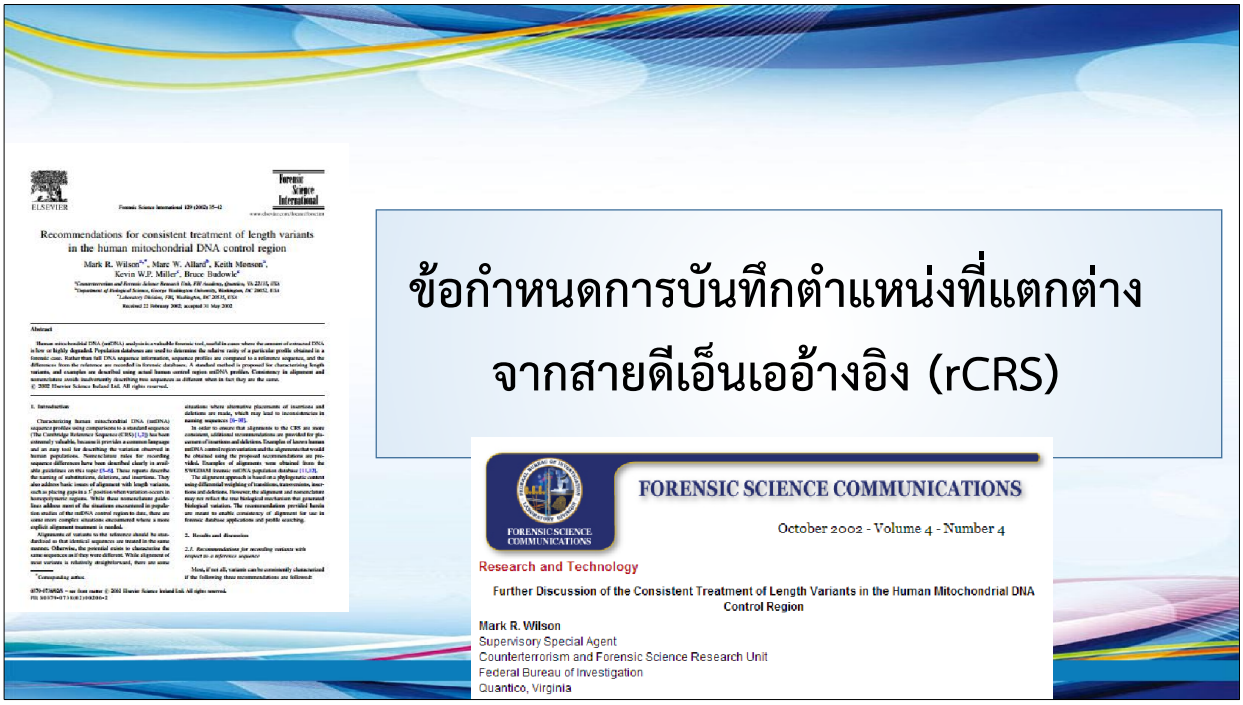


Deletions

- Deletions – report the position and bases deleted…



523 A-del
524 C-del



ข้อกำหนด

1. บันทึกความแตกต่างของลำดับเบสเมื่อเปรียบเทียบกับสายอ้างอิง ให้มีจำนวนน้อยที่สุด
2. ที่ตำแหน่งใดๆ หากพบว่าสามารถบันทึกความแตกต่างของลำดับเบสจากสายอ้างอิงได้มากกว่า 1

วิธี ให้จัดเรียงลำดับความสำคัญของการบันทึกความแตกต่างของลำดับเบส ดังนี้

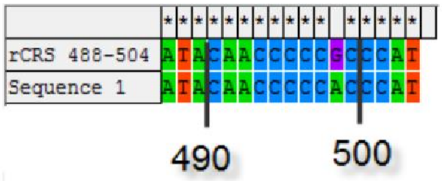
2.1 การแทรก (insertion) หรือการขาดหาย (deletion) : Indels

2.2 Transition หรือการเปลี่ยนแปลงจากเบส purine เป็น purine เช่น A ↔ G หรือเปลี่ยนแปลงจากเบส pyrimidine เป็น pyrimidine เช่น C ↔ T

2.3 Transversion หรือการเปลี่ยนแปลงจากเบส purine เป็น pyrimidine หรือ pyrimidine เป็น purine เช่น A ↔ T หรือ A ↔ C หรือ G ↔ C หรือ G ↔ T

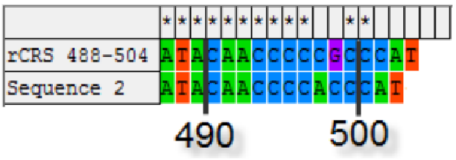
3. การแทรกและการขาดหาย ต้องจัดเรียงตามทิศ 3' ของสาย light strand ให้มากที่สุด

ข้อ 1

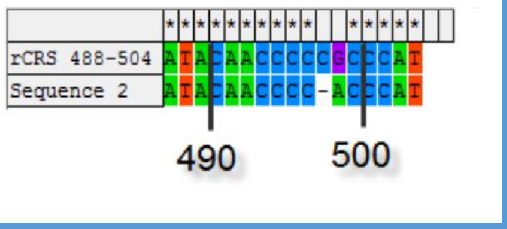


499A

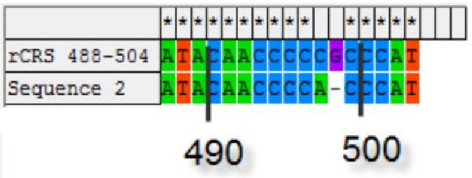
ข้อ 2



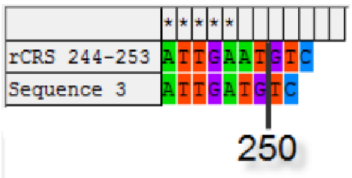
498DEL, 499A



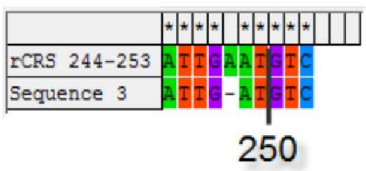
498A, 499DEL



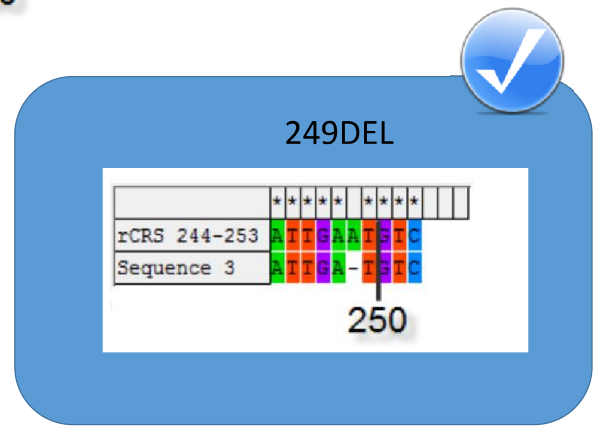
ข้อ 3



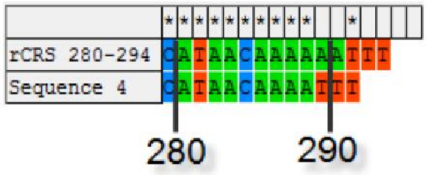
248DEL



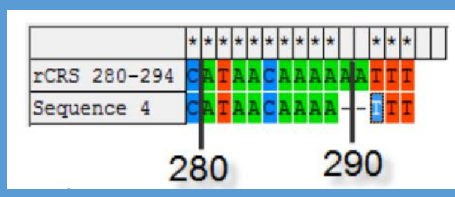
249DEL



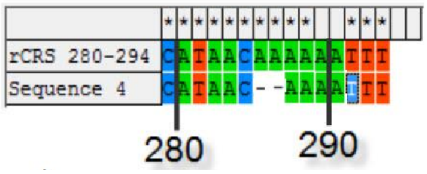
ข้อ 4



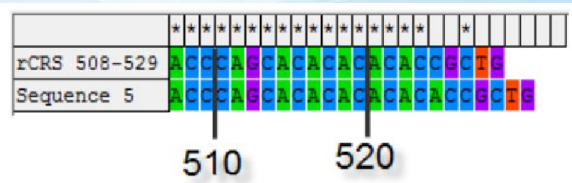
290DEL, 291DEL



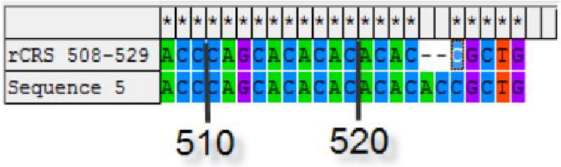
286DEL, 287DEL



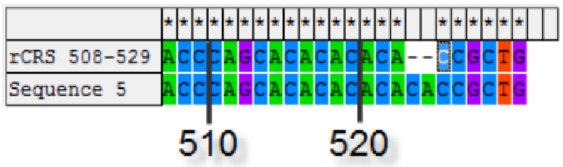
ข้อ 5



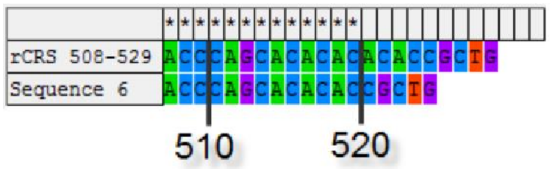
524.1A, 524.2C



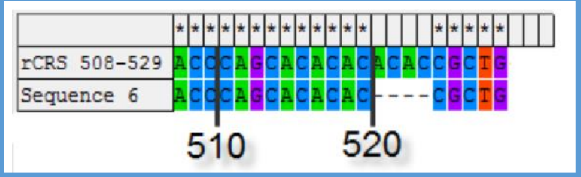
523.1C, 523.2A



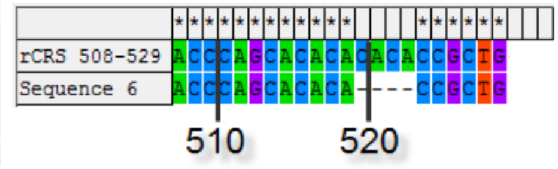
ข้อ 6



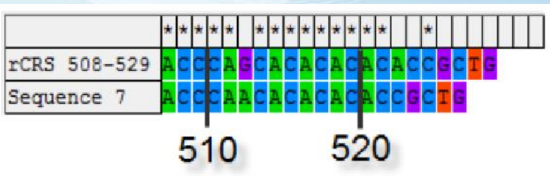
521DEL, 522DEL, 523DEL, 524DEL



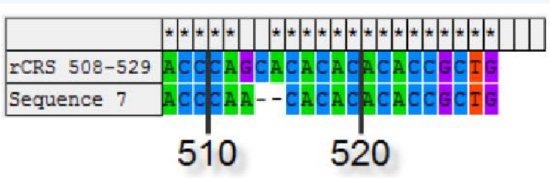
520DEL, 521DEL, 522DEL, 523DEL



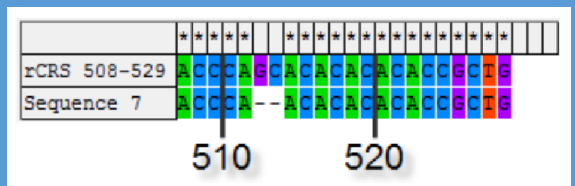
ข้อ 7



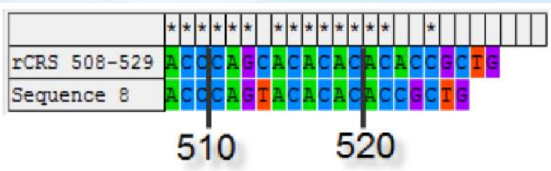
513A, 514DEL, 515DEL



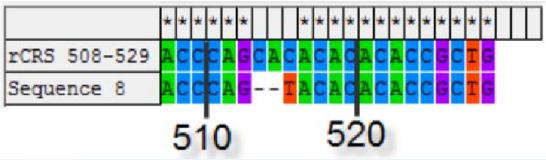
513DEL, 514DEL



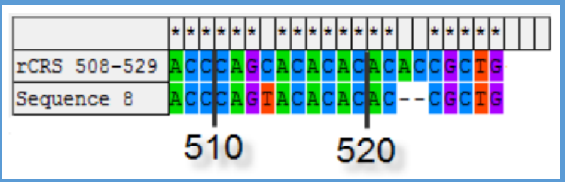
ข้อ 8



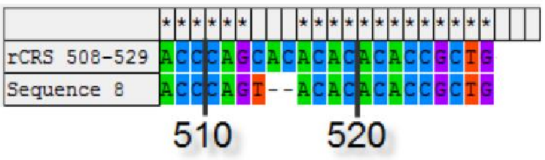
514DEL, 515DEL, 516T



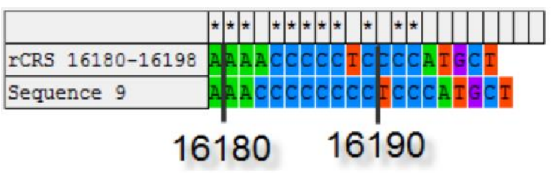
514T, 523DEL, 524DEL



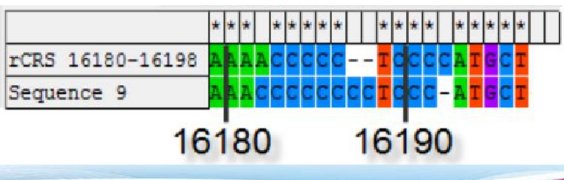
514T, 515DEL, 516DEL



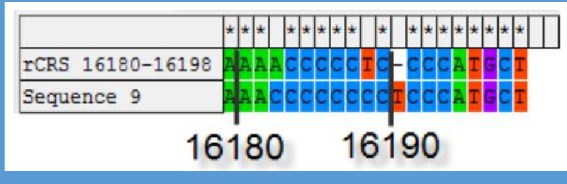
ข้อ 9



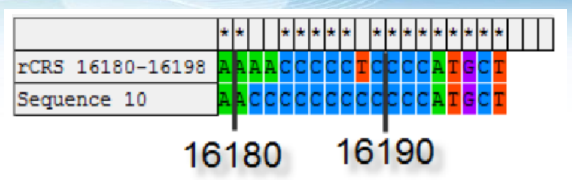
16183C, 16188.1C,
16188.2C, 16193DEL



16183C, 16189C, 16190.1T

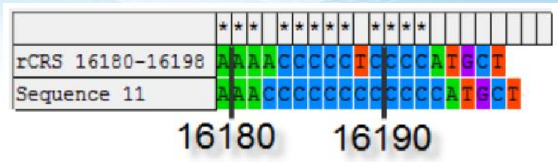


ข้อ 10

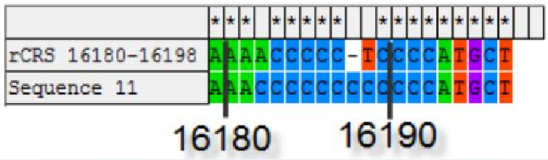


16182C, 16183C, 16189C

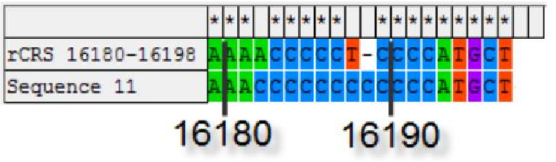
ข้อ 11



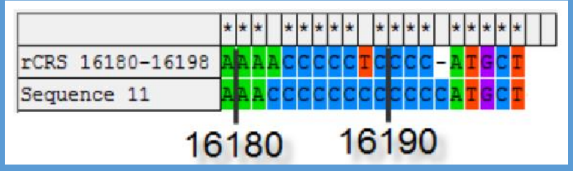
16183C, 16188.1C, 16189C



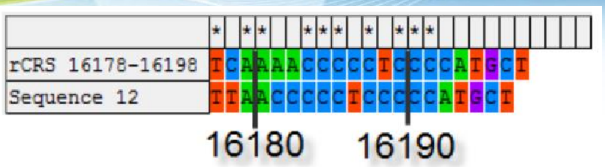
16183C, 16189C, 16189.1C



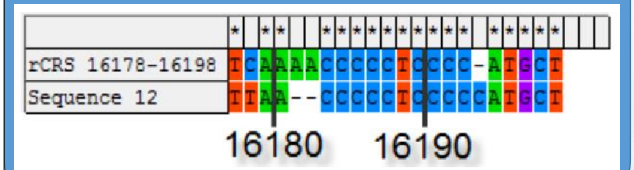
16183C, 16189C, 16193.1C,



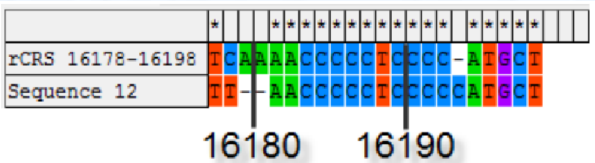
ข้อ 12



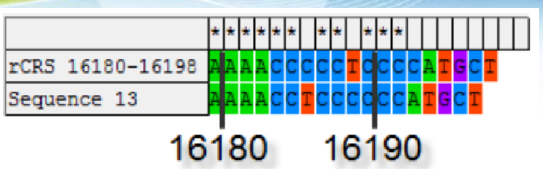
16179T, 16182DEL,
16183DEL, 16193.1C



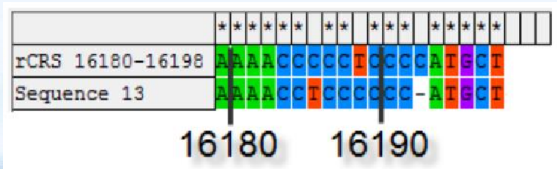
16179T, 16180DEL,
16181DEL, 16193.1C



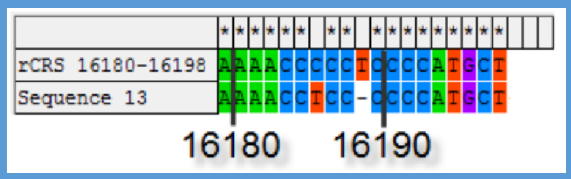
ข้อ 13



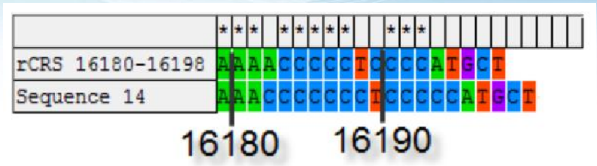
16186T, 16189C, 16193DEL



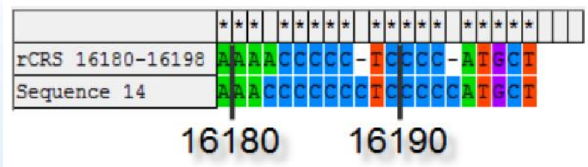
16186T, 16189DEL



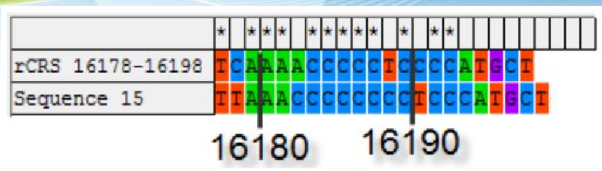
ข้อ 14



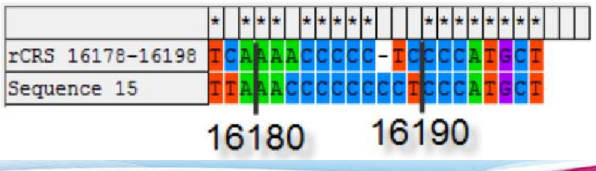
16183C, 16188.1C, 16193.1C



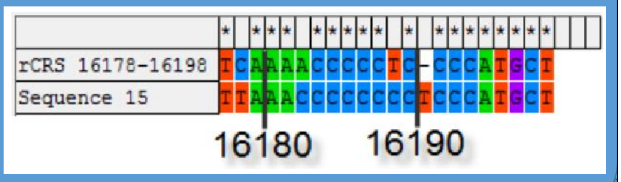
ข้อ 15



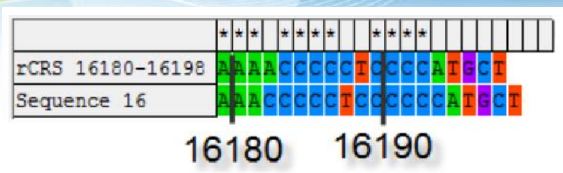
16179T, 16183C, 16188.1C, 16189C, 16190T



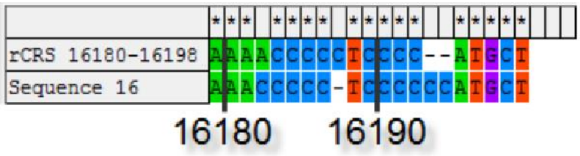
16179T, 16183C, 16189C, 16190.1T



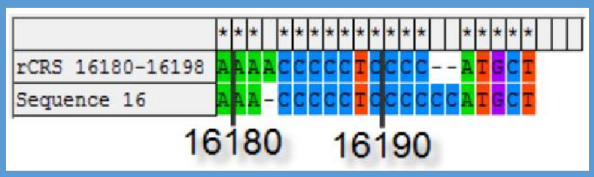
ข้อ 16



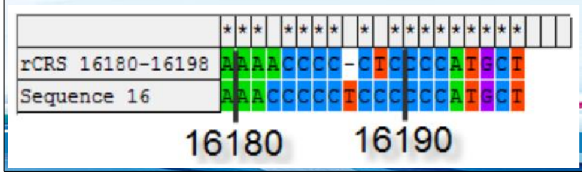
16183C, 16188DEL, 16193.1C, 16193.2C



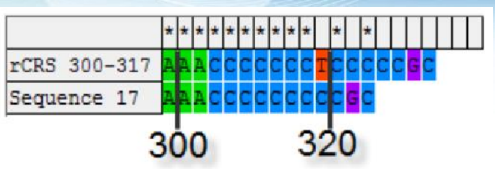
16183DEL, 16193.1C, 16193.2C,



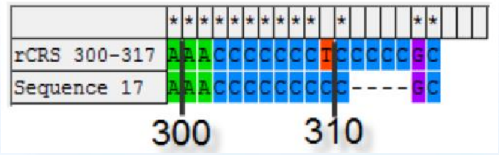
16183C, 16187.1T, 16189C



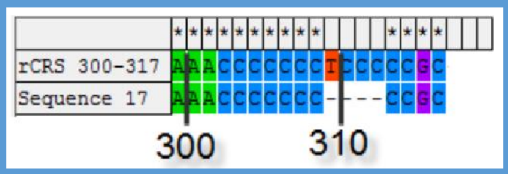
ข้อ 17



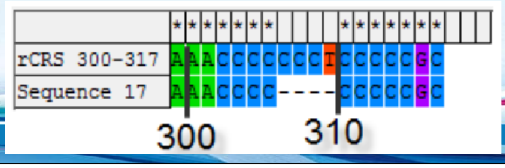
310C, 312DEL, 313DEL, 314DEL, 315DEL



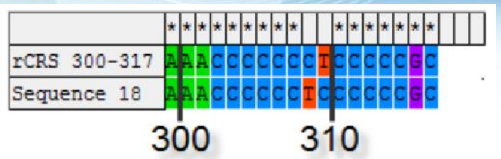
310DEL, 311DEL, 312DEL, 313DEL



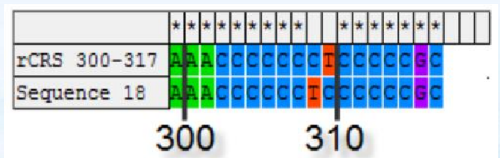
307DEL, 308DEL, 309DEL, 310DEL



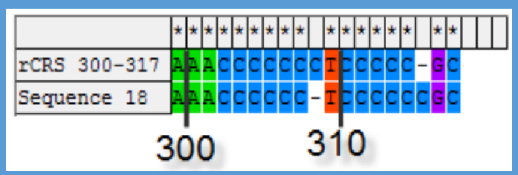
ข้อ 18



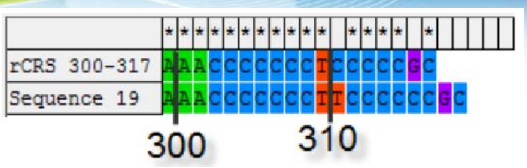
309T, 310C



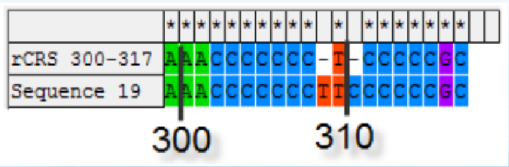
309DEL, 315.1C



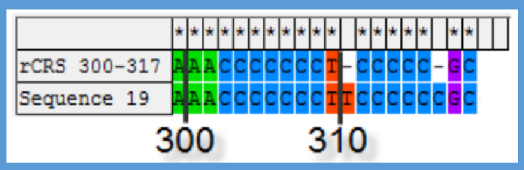
ข้อ 19



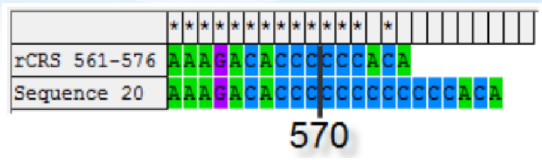
309.1T, 310.1C



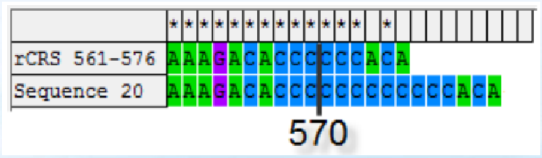
310.1T, 315.1C



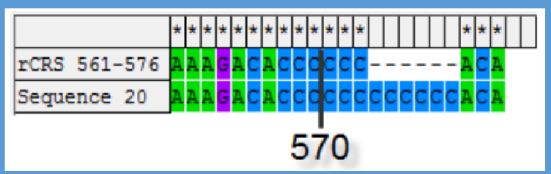
ข้อ 20



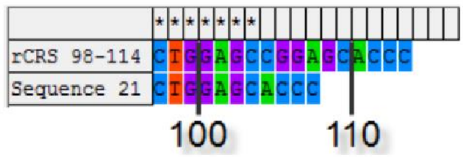
574C, 576C



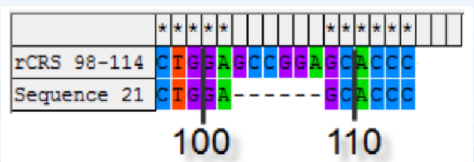
573.1C, 573.2C, 573.3C,
573.4C, 573.5C, 573.6C



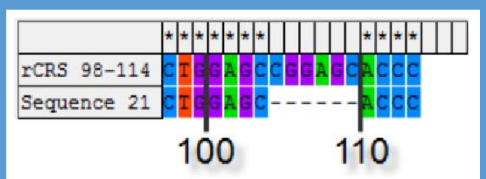
ข้อ 21



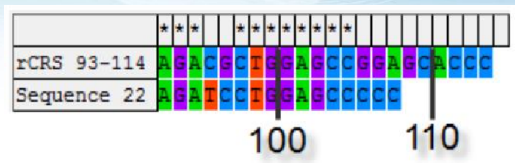
103DEL, 104DEL, 105DEL,
106DEL, 107DEL, 108DEL



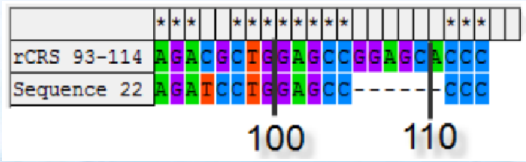
105DEL, 106DEL, 107DEL,
108DEL, 109DEL, 110DEL



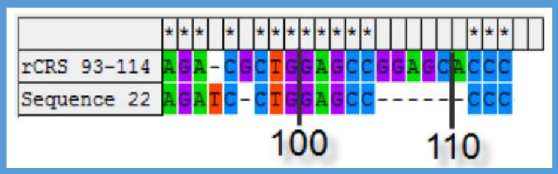
ข้อ 22



96T, 97C, 106DEL, 107DEL, 108DEL, 109DEL, 110DEL, 111DEL



95.1T, 97D, 106DEL, 107DEL, 108DEL, 109DEL, 110DEL, 111DEL



สถิติสำหรับงานตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ ทางนิติเวชศาสตร์

สุคนธ์ ประดุจกาญจนา

11 กันยายน 2557

ความรู้พื้นฐานทางสถิติ

ความน่าจะเป็น (Probability)

โยนลูกเต๋า 1 ลูก โอกาสที่จะทอดออกมาได้ 1 หรือ

P(1) = ?

1/6

โยนลูกเต๋าทีละ 2 ลูก พร้อมกัน ให้ได้ หน้า 1 ทั้งสองลูก มี โอกาสเท่าใด

1/36

โยนลูกเต๋าทีละ 2 ลูก พร้อมกัน ให้ได้ หน้า 1 และหน้า 6 มี โอกาสเท่าใด

1/18

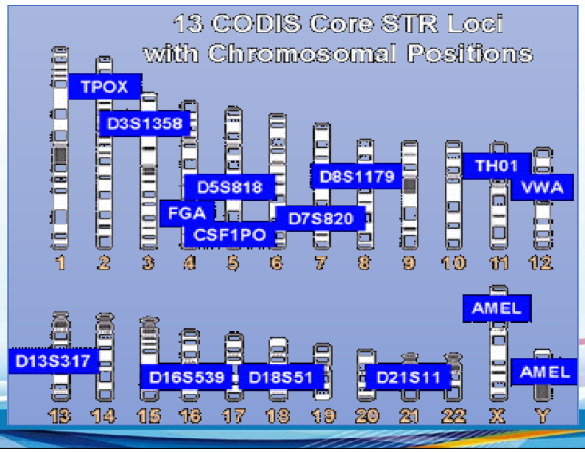
โยนลูกเต๋าทีละ 2 ลูก พร้อมกัน ให้ลูกเต๋าลูกใหญ่ได้หน้า 1 และลูกเล็กได้หน้า 6 มี โอกาสเท่าใด

1/36

Microsatellite DNA

หากตรวจพิสูจน์ 15 ตำแหน่ง ผลที่ได้จะเหมือน

การโยนลูกเต๋าทีละ 2 ลูก 15 ครั้ง



MtDNA

การตรวจ mtDNA กี่ region ก็ตาม ผลที่ได้จะเหมือนการโยน

ลูกเต๋าหลายหน้า 1 ลูก เพียงครั้งเดียวเท่านั้น

Prior Probability

เครื่องบินตก มีคนตาย 100 คน

Prior Probability = ถ้าไม่ทำอะไรเลย แล้วมีคนมาขอรับศพ 1 คน โอกาสที่จะปล่อยศพได้ถูกต้องมีเท่าไร ?

Prior Probability = 1/100

Posterior Probability

Posterior Probability = โอกาสที่จะปล่อยศพได้ถูกต้อง หลังจากใช้ผลตรวจ DNA มาพิจารณาร่วมด้วย

= LR/[LR +[(1/ Prior Prob) −1)]

* LR = likelihood ratio

Likelihood Ratio (LR)

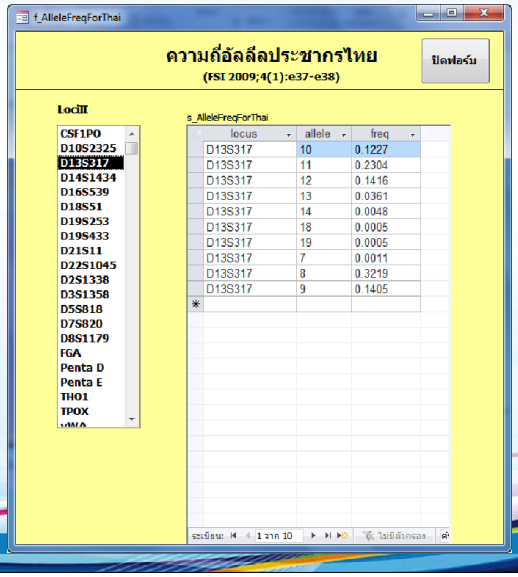
- Likelihood Ratio = สัดส่วนความน่าจะเป็นระหว่าง ใช่/ไม่ใช่
- กรณีของการพิสูจน์บุคคล ถ้าคราบเลือดและผู้ต้องสงสัยมีรูปแบบดีเอ็นเอตรงกัน แล้วคำนวณ Likelihood Ratio ได้ = 1,000 แสดงว่า โอกาสที่คราบเลือดนี้จะเป็นของผู้ต้องสงสัยรายนี้ เท่ากับ 1,000 เท่า เมื่อเทียบกับโอกาสที่คราบเลือดนี้จะเป็นของบุคคลอื่นในกลุ่มประชากรเดียวกัน
- Likelihood Ratio = 1/Match probability

Match probability

Match probability โอกาสที่คนสองคนที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์เป็นญาติกัน จะมีรูปแบบดีเอ็นเอเหมือนกันโดยบังเอิญ

Match prob = ความถี่ของ DNA marker ในฐานข้อมูล

ค่าความถี่ของอัลลีลต่าง ๆ ที่ตำแหน่ง D13S317 ในประชากรไทย



Random Matching probability(RMP)

- RMP = โอกาสที่ตัวอย่างตรวจจะเป็นของบุคคลอื่นโดยบังเอิญ มีค่าเท่ากับ 1 ใน .....
- RMP = 1/profile frequency
- ใช้อธิบายกรณีการตรวจเอกลักษณ์บุคคลเท่านั้น ไม่ใช้อธิบายการตรวจความสัมพันธ์ทางสายเลือด

เกณฑ์ตัดสินใจ

LR > 99 Post Prob > 99%	เชื่อว่า....ใช่
LR >1-99 Post Prob 50-99%	ไม่แน่ใจ...น่าจะใช่
LR 0.01-1 Post Prob 0.01-50%	ไม่แน่ใจ...น่าจะไม่ใช่
LR <0.01 Post Prob <0.01%	ไม่ใช่

Statistic calculation for mtDNA typing

1. Haplotype frequency calculation

1.1 direct counting method

$$p = \frac{x}{n}$$

p = haplotype frequency
x = matches in the database
n = database size

In cases where a **mtDNA** profile is observed a particular number of times (X) in a database containing N profiles, its frequency (p) can be calculated as follows:

$p = X/N$

7 matches in 27,773

p = 7/27,773 = 0.000252 = **0.025%**

Statistic calculation for mtDNA typing

1. Haplotype frequency calculation

1.2 modified direct counting method

$$p = \frac{x+1}{n+1}$$

p = haplotype frequency
x = matches in the database
n = database size

In cases where a **mtDNA** profile is observed a particular number of times (X) in a database containing N profiles, its frequency (p) can be calculated as follows:

$p = \frac{x+1}{n+1}$

7 matches in 27,773

$p = 8/27,774 = 0.000288 = 0.029\%$

Statistic calculation for mtDNA typing

1. Haplotype frequency calculation

1.3 "pseudo-count" Estimate:

David Balding, Weight-of-Evidence for Forensic DNA Profiles, Wiley, 2005

$$p = \frac{x+2}{n+2}$$

p = haplotype frequency
x = matches in the database
n = database size

In cases where a **mtDNA** profile is observed a particular number of times (X) in a database containing N profiles, its frequency (p) can be calculated as follows:

$p = \frac{x+2}{n+2}$

7 matches in 27,773

$p = 9/27,775 = 0.000324 = 0.032\%$

Statistic calculation for mtDNA typing

2. Confidence interval estimation

2.1 normal distribution : Holland & Parsons (1999) Forensic Sci Rev

$$p + 1.96\sqrt{\frac{(p)(1-p)}{n}}$$

p = haplotype frequency
n = database size

p = X/N

7 matches in 27,773

p = 7/27,773 = 0.000252 = **0.025%**

An upper bound confidence interval can be placed on the profile's frequency using:

$$p + 1.96\sqrt{\frac{(p)(1-p)}{N}}$$

$$0.000252 + 1.96\sqrt{\frac{(0.000252)(1-0.000252)}{27,773}}$$

= 0.000252 + 0.000187 = 0.000439
= **0.044% (~1 in 2270)**

Recommended by SWGDAM (2003)

Statistic calculation for mtDNA typing

2. Confidence interval estimation

2.1 exact binomial CI : Clopper and Pearson (1934)

$$\sum_{k=0}^{x}\binom{n}{k}p_0^k(1-p_0)^{n-k} = 0.05 \quad (x>0)$$

$$p_0 = 1-0.05^{1/n} \quad (x=0)$$

p_o = haplotype frequency
n = database size
X = matches in the database

$1\text{-}\alpha^{1/N}$

0 matches in 4,004

where α is the confidence coefficient (0.05 for a 95% confidence interval) and N is the number of individuals in the database.

$1\text{-}\alpha^{1/N} = 1\text{-}(0.05)^{[1/4,004]} = 0.000748$
= **0.075% (~1 in 1340)**

Recommended by SWGDAM (2013)

Statistic calculation for mtDNA typing

2. Confidence interval estimation

2.1 exact binomial CI : Clopper and Pearson (1934)

Input Values

Sample size : 27773
Number positive : 7
Confidence level : 0.90
Decimal places in answer : 6
Submit

Results

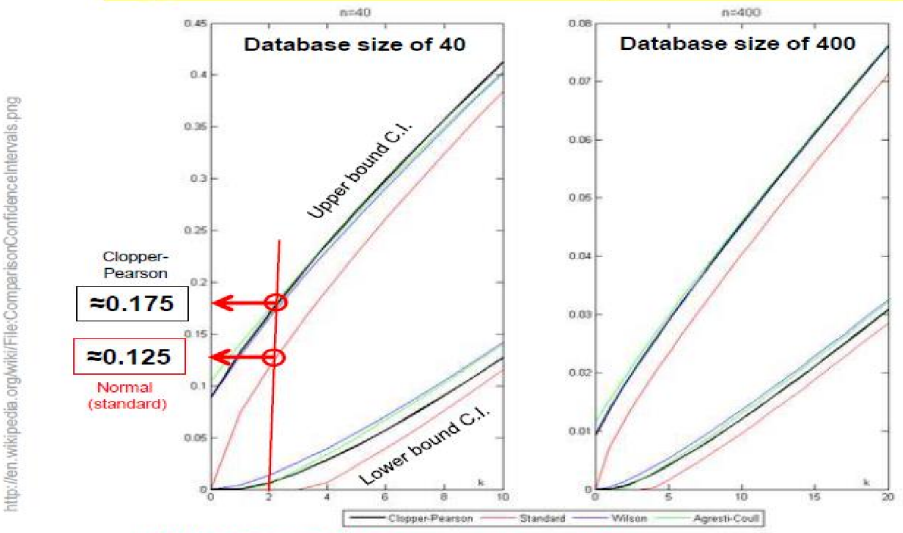
Using 5 different methods

	Asymptotic (Wald)	Exact Binomial (Clopper-Pearson)	Wilson (Score)	Agresti-Coull (adjusted Wald)	Jeffreys
Number positive	7	7	7	7	7
Sample size	27773	27773	27773	27773	27773
Prevalence estimate	0.000252	0.000252	0.000252	0.000301	0.000252
Lower 90% confidence limit	9.5e-05	0.000118	0.000137	0.00013	0.000131
Upper 90% confidence limit	0.000409	0.000473	0.000465	0.000472	0.00045

http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=CIProportion&SampleSize=1000&Positive=1&Conf=0.90&Digits=6

Comparison of Clopper-Pearson to Normal (Standard) Confidence Intervals (C.I.)

Higher value is more conservative (favors the defendant)



Clopper-Pearson ≈0.175

Normal (standard) ≈0.125

Note that the Wilson upper bound interval is very close to the Clopper-Pearson

With two matches in a database of 40

http://en.wikipedia.org/wiki/File:ComparisonConfidenceIntervals.png

Statistic calculation for mtDNA typing

3. Likelihood ratio calculation

LR = 1/freq

- Likelihood Ratio = สัดส่วนความน่าจะเป็นระหว่าง ใช่/ไม่ใช่
- กรณีของการพิสูจน์บุคคล ถ้าคราบเลือดและผู้ต้องสงสัยมีรูปแบบดีเอ็นเอตรงกัน แล้วคำนวณ Likelihood Ratio ได้ = 1,000 แสดงว่า โอกาสที่คราบเลือดนี้จะเป็นของผู้ต้องสงสัยรายนี้ เท่ากับ 1,000 เท่า เมื่อเทียบกับโอกาสที่คราบเลือดนี้จะเป็นของบุคคลอื่นในกลุ่มประชากรเดียวกัน
- Likelihood Ratio = 1/Match probability

ตัวอย่าง กรณีตรวจความสัมพันธ์ญาติสายมารดา

ลำดับที่	F003M-1	F002M-2
1	16167T	16129A
2	16223T	16162G
3	16274A	16172C
4	16320T	16304C
5	16362C	16399G
6	73G	16519C
7	94A	73G
8	263G	152C
9	309.1C	249D
10	315.1C	263G
11	489C	309.1C
12		315.1C
13		338T
14		523D
15		524D
Likelihood ratio	0	*Probability* 0.00000000%

จากการเปรียบเทียบลำดับเบสของสารพันธุกรรมบริเวณ control region บนสายไมโตคอนเดรียของผู้รับการตรวจกับสารพันธุกรรมอ้างอิง (rCRS: NC012920; Andrews et al.,1990) พบว่า

*** นาย บัญชา สากลวารี ไม่ใช่พี่-น้อง(ญาติร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน) กับ นางสาว ศรีวลา ชาติยอ้น โดยมีตำแหน่งที่เข้ากันไม่ได้ ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป

ตัวอย่าง กรณีตรวจความสัมพันธ์ญาติสายมารดา

ลำดับที่	F003M-1	F003M-2
1	16108T	16108T
2	16129A	16129A
3	16162G	16162G
4	16172C	16172C
5	16304C	16304C
6	16519C	16519C
7	73G	73G
8	200G	200G
9	249D	249D
10	315.1C	263G
11	523D	315.1C
12	524D	523D
13		524D
Likelihood ratio	**0**	***Probability***	**0.00000000%**

จากการเปรียบเทียบลำดับเบสของสารพันธุกรรมบริเวณ control region บนสายไมโตคอนเดรียของผู้รับการตรวจกับสารพันธุกรรมอ้างอิง (rCRS: NC012920; Andrews et al.,1990) พบว่า

**** ไม่สามารถสรุปผลได้ว่า นาง สายลม เป็นญาติร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน เช่น พี่-น้อง กับ นาย แสงแดด
เนื่องจากมีตำแหน่งที่เข้ากันไม่ได้เพียง 1 ตำแหน่ง ซึ่งอาจเกิดจากการกลายพันธุ์ (mutation) ได้

ตัวอย่าง กรณีตรวจความสัมพันธ์ญาติสายมารดา

ลำดับที่	F001M-1	F001M-2
1	16167T	16167T
2	16223T	16223T
3	16274A	16274A
4	16302G	16302G
5	16320T	16320T
6	16362C	16362C
7	73G	73G
8	94A	94A
9	263G	263G
10	309.1C	309.1C
11	315.1C	315.1C
12	489C	489C
Likelihood ratio	**315**	***Probability***	**99.68382446%**

จากการเปรียบเทียบลำดับเบสของสารพันธุกรรมบริเวณ control region บนสายไมโตคอนเดรียของผู้รับการตรวจกับสารพันธุกรรมอ้างอิง (rCRS: NC012920; Andrews et al.,1990) พบว่า

1. นาย ประจักษ์ พิสุจน์พี่ ไม่ถูกคัดออกจากการเป็นญาติร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน เช่น พี่ - น้อง กับ นาง วนิดา พิสุจน์น้อง
2. ความเชื่อมั่นที่ นาย ประจักษ์ พิสุจน์พี่ เป็นญาติร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน กับนาง วนิดา พิสุจน์น้อง เท่ากับ ร้อยละ 99.68382446 เมื่อคำนวณจากฐานข้อมูลประชากรเอเชียตะวันออก ด้วยโปรแกรม mtDNA population Database (FBI, USA)

Table 2
Overview of database query settings, search results and LR values provided by 31 participating laboratories.

Lab	Database, population	Data source	Match type	Matches (x/N)	Frequency calculation	LR
1	EMPOP, Europe	F	Pattern	8/2636[a]	$x+1/N+1$	1/freq = 293.0
2	EMPOP, all	F+L	Pattern	35/8410	x/N	1/freq = 240.3[b]
3	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	$x+2/N+2$	1/freq = 95.3[c]
4	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	x/N	1/freq = 102.6[c]
5	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	$x+2/N+2$	1/freq = 95.3[c]
6	EMPOP, all	F+L	Pattern	35/7973	x/N	1/freq = 227.8[b]
7	EMPOP, all	F+L	Pattern	43/8558	$x+1/N+1$	1/freq = 194.5
8	EMPOP, all	F+L	Pattern	35/8410	$x+1/N+1$	1/freq = 233.6[b]
9	EMPOP, Europe	F	Pattern	26/2636	$x+2/N+2$	1/freq = 94.2[c]
	EMPOP, all	F	Pattern	35/7015	$x+2/N+2$	1/freq = 189.6
10	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	x/N	1/freq = 102.6[c]
11	EMPOP, Europe	F+L	Literal	24/2667	$x+1/N+1$	1/freq = 106.7[c]
12	EMPOP, all	F	Pattern	35/7015	x/N	1/freq = 200.4[b]
13	EMPOP, all	F+L	Pattern	35/8410	x/N	1/freq = 240.3[b]
14	EMPOP, Europe	F	Pattern	26/2636	$x+1/N+1$	1/freq = 97.7[c]
15	EMPOP, Spain	F+L	Pattern	0/31	$x+1/N+1$	1/freq = 32.0
16	EMPOP, Europe	F	Pattern	26/2636	$x+1/N+1$	1/freq = 97.7[c]
17	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	8/2667[a]	x/N	1/freq = 333.4
18	EMPOP, S-Europe	F	Pattern	6/742	x/N	1/freq = 123.7[c]
19	EMPOP, all	F+L	Pattern	35/8410	$x+2/N+2$	1/freq = 227.3[b]
20	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	$x+2/N+2$	1/freq = 95.3[c]
21	EMPOP, all	F+L	Pattern	35/8410	x/N	1/freq = 240.3[b]
22	EMPOP, all	F+L	Pattern	35/8410	$x+1/N+1$	1/freq = 233.6[b]
23	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	$x+1/N+1$ and Wilson interval	1/freq = 68.0
24	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	x/N	1/freq = 102.6[c]
25	OWN (Chile)	n.a.	Pattern	2/1040	$(x/N)+1.96\sqrt{(pq/N)}$	1/freq = 218.0[b]
26	EMPOP, all	F+L	Pattern	35/8410	$x+1/N+1$	$e^{-\beta/c}$/freq = 233.6[b]
27	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	x/N	1/freq = 102.6[c]
28	EMPOP, Europe	F+L	Literal	24/2667	$x+1/N+1$	1/freq = 106.7[c]
29	EMPOP, Europe	F	Pattern	26/2636	$x+1/N+1$	1/freq = 97.7[c]
30	EMPOP, Europe	F+L	Pattern	26/2667	$x+1/N+1$	1/freq = 98.8[c]
31	EMPOP, Spain	F+L	Pattern	0/31	$x+1/N+1$	1/freq = 32.0

FSI: Genetics. 2013 Jan;7(1):10-5. doi: 10.1016/j.fsigen.2012.04.006. Epub 2012 May 19.

Combining Statistic values

1. mtDNA and autosomal result

   combine LR = $LR^*_{mt} \times LR^*_{aSTR}$

2. mtDNA and YSTR

   combine LR = $LR^*_{mt} \times LR^*_{YSTR}$

*All LR should be calculated from the same reference population

	LociName	F003M-1	F003M-2	PI	FS	HS	FC	II
1	D8S1179	15, 17	13, 14	0.0020	0.2500	0.5000	0.7500	0.0020
2	D21S11	29, 30	29, 30	2.0020	3.2286	1.5010	1.2505	1.5077
3	D7S820	8, 13	8, 12	1.4262	0.9631	1.2131	1.1066	0.5000
4	CSF1PO	11, 12	11, 12	1.4700	2.0392	1.2350	1.1175	1.2235
5	D3S1358	16, 18	16, 18	4.0517	6.9108	2.5258	1.7629	1.6745
6	THO1	5, 7	7, 7	1.4593	0.9797	1.2297	1.1148	1.2512
7	D13S317	8, 10	8, 10	2.7154	4.5877	1.8577	1.4288	1.6246
8	D16S539	9, 11	11, 12	0.8240	0.6620	0.9120	0.9560	0.5000
9	D2S1338	19, 19	19, 19	4.0707	6.5579	2.5353	1.7677	2.7442
10	D19S433	13, 15.2	15.2, 15.2	2.6692	1.5846	1.8346	1.4173	1.9468
11	vWA	14, 19	16, 19	2.3268	1.4134	1.6634	1.3317	0.5000
12	TPOX	8, 9	8, 11	0.4416	0.4708	0.7208	0.8604	0.5000
13	D18S51	14, 15	16, 18	0.0032	0.2500	0.5000	0.7500	0.0032
14	D5S818	10, 12	10, 12	2.1795	3.6913	1.5898	1.2949	1.6047
15	FGA	19, 19	19, 22	5.9970	3.2485	3.4985	2.2492	0.5000
16	Amelogenin	X, Y	X, X	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
17	Blood Group	A (ւձ)	A (ւձ)	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

CPI	0.05242699	*PostProbPI*	4.981531925 %		
CFS	675.62	*PostProbFS*	99.85220704 %	*Theta*	0.010
CHS	91.76	*PostProbHS*	98.92190453 %	*Prior Prob.*	0.500
CFC	19.52	*PostProbFC*	95.1273494 %		
CII	0.00001088	*PostProbII*	.00108839 %	*(Theta = 0.0; Prior Prob =*	0.500*)*
Mutation	2	(D18S51, D8S1179,)			

สุคนธ์ ประดุจกาญจนา
mitojin@live.com

การใช้ฐานข้อมูลจาก EMPOP ในการวิเคราะห์ความถี่ haplotype

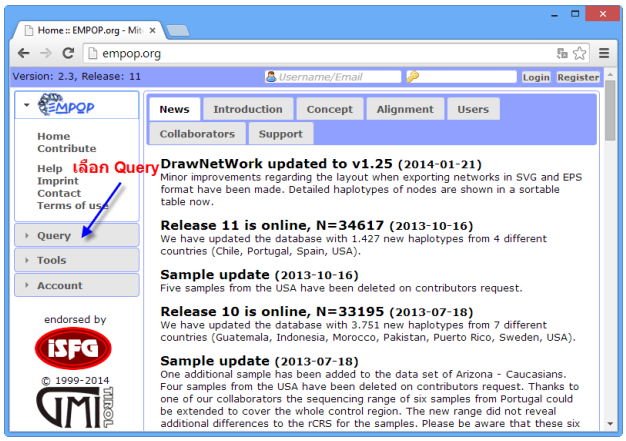
สุคนธ์ ประดุจกาญจนา

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์

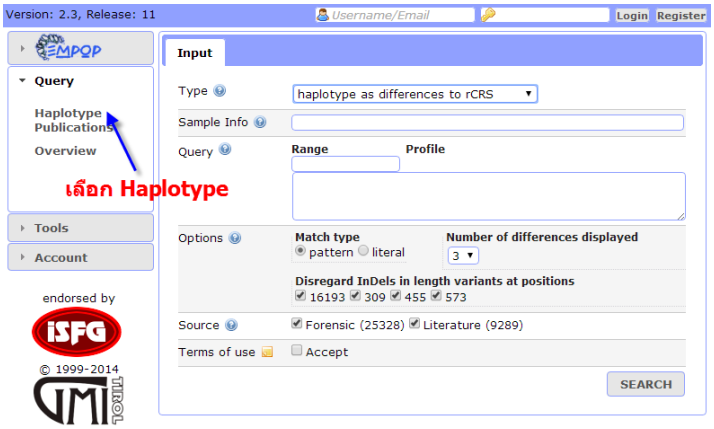
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90110.

E-mail address: mitojin@live.com

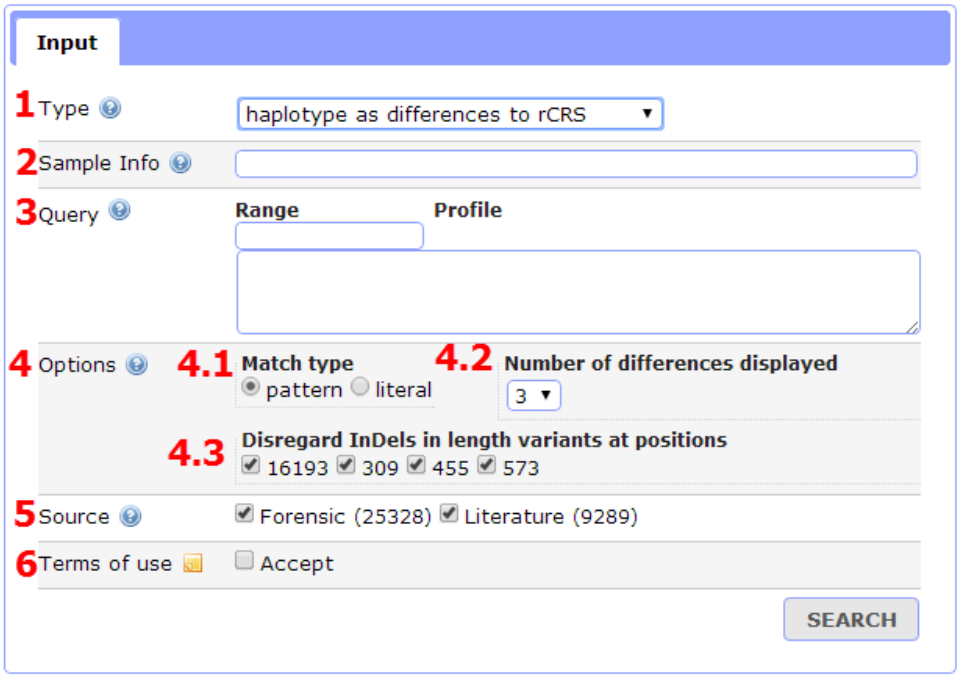
เว็บ http://empop.org เป็นหน้าเว็บไซต์สำหรับใช้ค้นหารูปแบบดีเอ็นเอบนไมโตคอนเดรียที่เราสนใจโดยเปรียบเทียบกับรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลว่ามีรูปแบบตรงกันหรือเหมือนกันหรือไม่ จำนวนเท่าไร เพื่อที่จะใช้วิเคราะห์ความถี่ haplotype นอกจากนั้น ยังสามารถใช้ตรวจสอบคุณภาพของลำดับเบสบนไมโตคอนเดรียที่ได้ว่ามีคุณภาพที่น่าเชื่อถือมากน้อยเพียงใด โดยใช้วิธี phylogeny แบบ quasi-median network สำหรับเนื้อหาในบทนี้จะขอกล่าวถึงเฉพาะการค้นหารูปแบบดีเอ็นเอบนไมโตคอนเดรียเพื่อวิเคราะห์หาความถี่ haplotype เท่านั้น



ให้เลือก Query แล้วเลือก Haplotype หน้าเว็บจะแสดงหน้าใส่ข้อมูล ดังภาพ



จากนั้นให้ใส่ข้อมูลต่างๆ ดังนี้



1. Type เป็นช่อง drop down list ให้เลือกใส่ข้อมูลได้ 2 แบบ ได้แก่

1.1 ตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง rCRS

1.2 การเรียงตัวของลำดับเบส (sequence string หรือ FASTA)

2. Sample info เป็นข้อมูลของตัวอย่างที่ต้องการค้นหาเพื่อเปรียบเทียบรูปแบบดีเอ็นเอบนไมโตคอนเดรียกับรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล ข้อมูลนี้เป็นข้อมูลเฉพาะที่แสดงเอกลักษณ์ของตัวอย่าง เช่น หมายเลขรหัสตัวอย่างตรวจ เป็นต้น

3. Query

หากเลือก Type (ข้อ 1) เป็น ตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง rCRS ในช่อง Profile ท่านสามารถใส่ตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิง rCRS แต่ละตำแหน่ง โดยแยกกันด้วยเครื่องหมายวรรค เช่น 263G 309.1C 309.2C เป็นต้น การขาดหายไป (deletion) สามารถพิมพ์ข้อมูลเข้าได้หลายวิธี เช่น 16193DEL หรือ 16193del หรือ 16193- สำหรับ 16193D โปรแกรมจะเข้าใจว่าเป็นเบสผสมระหว่าง A, G, และ T ตามวิธีกำหนดรหัสเบสผสมของ IUB code

หากเลือก Type (ข้อ 1) เป็น การเรียงตัวของลำดับเบส ในช่อง Profile ท่านสามารถพิมพ์ลำดับเบสในรูปแบบที่เป็นตัวอักษร (รูปแบบ FASTA แต่ไม่มีข้อมูลส่วนหัวที่แสดงข้อมูลเฉพาะของตัวอย่าง: เฉพาะลำดับเบสที่เรียงตัวเท่านั้น) ซึ่งท่านสามารถใช้วิธีการ copy & paste ลำดับเบสที่ได้จากการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ alignment หรือ จากข้อความก็ได้

Range : ช่วงลำดับเบส ที่ต้องการค้นหา เช่น

บริเวณ HV1 ตำแหน่งที่ 16024-16365

บริเวณ HV2 ตำแหน่งที่ 73-340

บริเวณ HV3 ตำแหน่งที่ 438-576

บริเวณทั้ง control region ตำแหน่งที่ 16024-576

ตำแหน่ง insertion หลังตำแหน่งสุดท้ายของช่วงลำดับเบสที่ค้นหาอาจถูกพิจารณาว่า ออกนอกช่วงที่ค้นหาได้ เช่น ตำแหน่ง 455.1C โปรแกรมจะคิดว่าอยู่นอกช่วงค้นหา 450-455 เป็นต้น ในกรณีนี้จึงต้องขยายช่วงค้นหาให้ครอบคลุมบริเวณ insertion ทั้งหมด เช่น กำหนดว่าเป็น 450-456 เป็นต้น

4. Option กำหนดเงื่อนไขการค้นหาต่างๆ

4.1 Match type เป็นการกำหนดเงื่อนไขการค้นหารูปแบบดีเอ็นเอบนไมโตคอนเดรีย

- Pattern match : ตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิงที่เป็นเบสผสม เมื่อค้นด้วยเงื่อนไขนี้ จะเข้าได้กับลำดับเบสที่เป็นส่วนผสมของเบสผสมนั้นๆ เช่น Y = {C, T, Y} เป็นต้น

ตัวอย่างเช่น ตำแหน่ง 152Y เข้าได้กับ 152T และ 152C

- Literal match : ตำแหน่งที่แตกต่างจากสายดีเอ็นเออ้างอิงที่เป็นเบสผสม เมื่อค้นด้วยเงื่อนไขนี้ จะเข้าได้กับลำดับเบสแบบผสมที่เหมือนกันเท่านั้น เช่น Y = {Y} เป็นต้น

ตัวอย่างเช่น ตำแหน่ง 152Y เข้าได้กับ 152Y เท่านั้น ทำให้เงื่อนไขการค้นหาแบบนี้ มีประโยชน์ในการค้นหารูปแบบดีเอ็นเอที่เป็น heteroplasmic ในฐานข้อมูล EMPOP

4.2 Number of differences displayed เป็นการแสดงจำนวนที่แตกต่างระหว่างรูปแบบดีเอ็นเอที่ต้องการค้นหากับรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล (กำหนดช่วงระหว่าง 1-5) สำหรับจำนวนที่แตกต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลที่ค้นได้แล้วมีจำนวนมากกว่าช่วงที่กำหนดจะไม่ถูกแสดงผล

กำหนดค่าเริ่มต้น ที่ 5 (หรือ 3 สำหรับผู้ใช้ที่ไม่ได้ลงทะเบียนการใช้ฐานข้อมูล)

4.3 ไม่สนใจ InDels ในความแตกต่างด้านความยาวที่ตำแหน่ง 16193, 309, 455 และ 573

Indels บริเวณที่เกิดการกลายพันธุ์บ่อยๆ ทำให้มีความยาวแตกต่างกัน สามารถกำหนดให้ไม่นำมาใช้ค้นหา เงื่อนไขนี้มักเกี่ยวพันกับการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของเบส C ที่ตำแหน่ง 16193, 309 และ 573 และการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของเบส T ที่ตำแหน่ง 455 ผู้ใช้สามารถกำหนดเงื่อนไขการยกเว้นตำแหน่งเหล่านี้ในการค้นหาได้อย่างอิสระ

ตัวอย่างที่ 1 : รูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล เป็น 16189C 16193.1C 16519C 263G 315.1C เปรียบเทียบกับรูปแบบดีเอ็นเอที่ต้องการค้นหา เป็น 16189C 16519C 263G 315.1C หากกำหนดเงื่อนไขการยกเว้นการค้นหาที่ตำแหน่ง 16193 จะทำให้ ตำแหน่ง 16193.1 ไม่ถูกนำไปใช้ในการค้นหา

ตัวอย่างที่ 2 : รูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล เป็น 16189C 16192T 16270T 16398A 73G 150T 263G 315.1C เปรียบเทียบกับรูปแบบดีเอ็นเอที่ต้องการค้นหา เป็น 16189C 16191.1C 16192T 16270T 16398A 73G 150T 263G 315.1C ตำแหน่งที่ 16191.1C จะไม่ถูกยกเว้นการค้นหาแม้ว่าจะกำหนดเงื่อนไขให้ตำแหน่ง 16193 เป็นตำแหน่งที่ยกเว้นการค้นหาก็ตาม

5. Source แหล่งข้อมูลประชากร ประกอบด้วย 2 แหล่ง ได้แก่

- Forensic data : ข้อมูลด้านนิติเวชศาสตร์ เป็นรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลที่มีการเชื่อมโยงไว้กับข้อมูลดิบที่เป็นลำดับเบสที่มีคุณภาพสูง สามารถตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลได้ทันทีที่ต้องการ

- Literature data : ข้อมูลที่ได้จากการตีพิมพ์ แม้จะเป็นลำดับเบสที่มีคุณภาพสูง แต่การตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลไม่อาจจะทำได้ทันที เนื่องจากไม่ได้มีการเก็บข้อมูลดิบไว้ในฐานข้อมูล

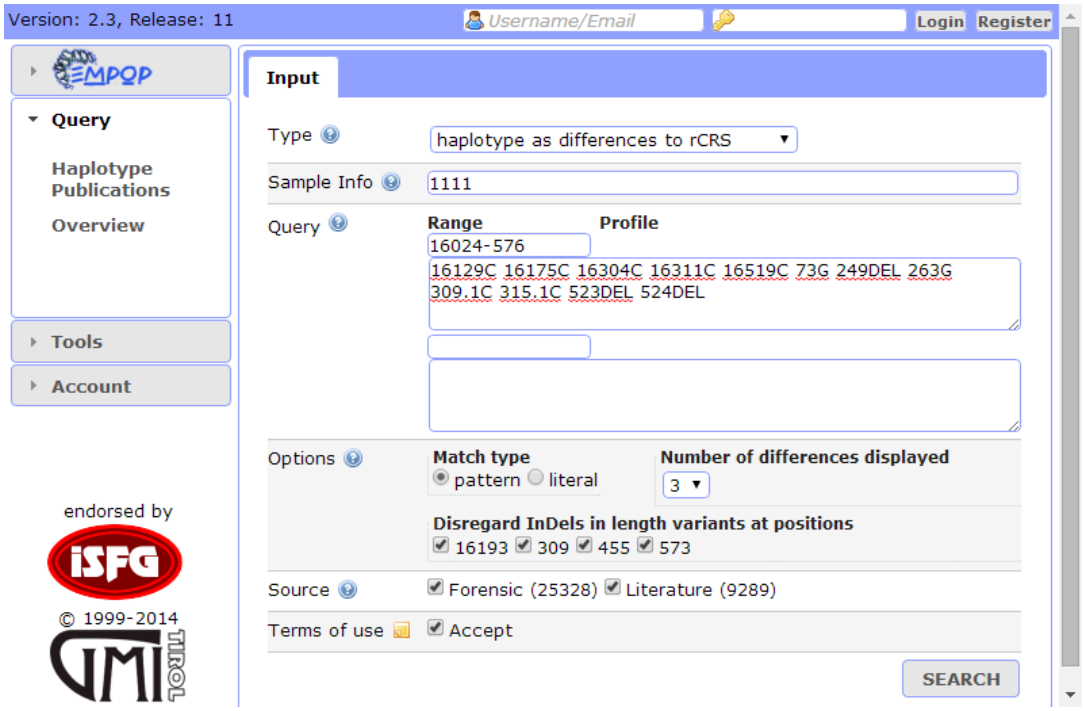
ฐานข้อมูล EMPOP 2 มีการใช้โครงสร้างใหม่สำหรับเก็บรูปแบบดีเอ็นเอ ซึ่งเหมาะสมอย่างยิ่งกับการใช้งานทางนิติเวชศาสตร์ โดยรูปแบบดีเอ็นเอเหล่านี้ถูกจัดกลุ่มข้อมูลตามลักษณะต่อไปนี้

- ลักษณะทางภูมิศาสตร์ เช่น ตามทวีป ภูมิภาค ประเทศ หรือท้องถิ่น เป็นต้น
- กลุ่มประชากร โดยกำหนดลำดับชั้นของประชากรมากถึง 4 ลำดับชั้น

ข้อมูลเหล่านี้ สามารถกำหนดได้จากหน้าแสดงผลการค้นหารูปแบบดีเอ็นเอที่ได้จากฐานข้อมูล

6. Term of use : เป็นรายละเอียดแสดงข้อตกลงในการใช้งาน ให้คลิ๊กเลือกช่อง Accept จากนั้นกดปุ่ม SEARCH โปรแกรมจะทำการค้นหารูปแบบดีเอ็นเอที่ต้องการ เปรียบเทียบกับข้อมูลรูปแบบดีเอ็นเอที่อยู่ในฐานข้อมูล

ภาพแสดงการใส่ข้อมูลสำหรับค้นหารูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล EMPOP



เมื่อกดปุ่ม SEARCH แล้ว โปรแกรมจะทำการค้นหารูปแบบดีเอ็นเอที่ต้องการเปรียบเทียบกับรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล แล้วแสดงผลการค้นหาดังนี้

Sample Info	1111
Type	string-based search: haplotype as differences to rCRS
Options	Match type: **pattern** Maximum differences displayed: **3** Disregard InDels in length variants at positions: **16193 309 455 573**
Source	**Forensic data (22516/25328)** **Literature data (3611/9289)**
Query	16024-576 G16129C A16175C T16304C T16311C T16519C A73G

Geographic affiliation All

Metapopulation All

DIFFERENCES TO QUERY PROFILE	NUMBER OF HAPLOTYPES	CUMULATIVE NUMBER OF HAPLOTYPES
0	0	0
1	0	0
2	1	1
3	19	20
4+	26107	26127

NUMBER OF HAPLOTYPES

สำหรับการใช้งานของผู้ใช้ที่ไม่ได้ลงทะเบียนการใช้งานกับฐานข้อมูล EMPOP จะกำหนดเงื่อนไขจำนวนที่แตกต่างระหว่างรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหากับรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลได้สูงสุดไม่เกิน 3 ตำแหน่งร่วมกับสามารถค้นข้อมูลประเภท Forensic data ในฐานข้อมูลได้เพียง 22,516 ข้อมูล และค้นข้อมูลประเภท Literature data ในฐานข้อมูลได้เพียง 3,611 ข้อมูลเท่านั้น รวมเป็นจำนวน 26,127 ข้อมูล

ผู้ใช้ที่มีการลงทะเบียนการใช้งานกับฐานข้อมูล จะกำหนดเงื่อนไขจำนวนที่แตกต่างระหว่างรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหากับรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลได้สูงสุดไม่เกิน 5 ตำแหน่ง ร่วมกับสามารถค้นข้อมูลประเภท Forensic data ในฐานข้อมูลได้ 25,328 ข้อมูล และค้นข้อมูลประเภท Literature data ในฐานข้อมูลได้ 9,289 ข้อมูล รวมเป็นจำนวน 34,617 ข้อมูล

ในช่อง Geographic affiliation กำหนดค่าเริ่มต้นไว้ที่ all หมายถึงค้นหาจากทุกทวีป ผู้ใช้สามารถเลือกค้นหาเฉพาะทวีป หรือ ภูมิภาค หรือ ประเทศที่ต้องการได้

ผู้ใช้สามารถเลือก metapopulation ซึ่งเป็นการกำหนดให้แสดงเฉพาะกลุ่มประชากรที่สนใจได้

สำหรับการใช้งานด้านการวิเคราะห์ความถี่ haplotype ของไมโตคอนเดรียนั้น ข้อมูลรูปแบบดีเอ็นเอในประชากรไทย มีจำนวนเพียง 190 ข้อมูลเท่านั้น ซึ่งน้อยเกินไปที่จะใช้คำนวณค่าทางสถิติ ในทางปฏิบัติแล้วจะกำหนดให้ค้นหารูปแบบดีเอ็นเอในประเทศแถบภูมิภาค South East Asia ซึ่งมีข้อมูลรวมกันจำนวน 1,144 ข้อมูล แล้วเลือก metapopulation ให้เป็น all

Geographic affiliation South-Eastern Asia ▾ **Metapopulation** All ▾

DIFFERENCES TO QUERY PROFILE	NUMBER OF HAPLOTYPES	CUMULATIVE NUMBER OF HAPLOTYPES
0	0	0
1	0	0
2	1	1
3	14	15
4+	1129	1144

NUMBER OF HAPLOTYPES

จากภาพแสดงผลการค้นหารูปแบบดีเอ็นเอที่ต้องการ ในภูมิภาค South East Asia ในประชากรทุกกลุ่ม (all metapopulation) พบว่ามีรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลที่แตกต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหา มีจำนวนเท่ากับ 0 (รูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหาเหมือนกับรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล) มีผลการค้นหาเท่ากับ 0 แสดงว่า ไม่พบรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหานี้ในฐานข้อมูล จากจำนวนข้อมูลในฐานทั้งสิ้น 1,144 ข้อมูล

รูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลที่แตกต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหา มีจำนวนเท่ากับ 1 (รูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหาต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลเพียง 1 ตำแหน่ง) มีผลการค้นหาเท่ากับ 0 แสดงว่า แม้กำหนดให้รูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหาสามารถแตกต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลได้ 1 ตำแหน่ง ก็ยังไม่พบในฐานข้อมูล จากจำนวนข้อมูลในฐานทั้งสิ้น 1,144 ข้อมูล

รูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลที่แตกต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหา มีจำนวนเท่ากับ 2 (รูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหาต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล 2 ตำแหน่ง) มีผลการค้นหาเท่ากับ 1 แสดงว่า การกำหนดให้รูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหาสามารถแตกต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลได้ 2 ตำแหน่งนั้น พบว่ามีรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลที่เข้าได้กับเงื่อนไขนี้ จำนวน 1 ข้อมูล จากจำนวนข้อมูลในฐานทั้งสิ้น 1,144 ข้อมูล

สำหรับการคำนวณความถี่ haplotype ในเว็บไซต์นี้จะมีสูตรคำนวณ อยู่ 2 สูตร ด้วยกันคือ

สูตรที่ 1. ความถี่ haplotype = k/n เมื่อ k = จำนวนรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลที่เหมือนกับรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหา และ n = จำนวนข้อมูลทั้งหมดในฐานข้อมูล

สูตรที่ 2. ความถี่ haplotype = (k+1)/(n+1)

นอกจากนั้นในเว็บไซต์นี้ ยังมีการประมาณค่าช่วงความเชื่อมั่นที่ 95% ของค่าความถี่ haplotype ที่คำนวณได้ ด้วยวิธีของ Wilson, 1927 อย่างไรก็ตามวิธีการประมาณค่าช่วงความเชื่อมั่นยังมีอีกหลายวิธี ซึ่งข้อกำหนดของ SWGDAM ฉบับปี 2013 กำหนดให้ใช้การคำนวณความถี่ haplotype ตามสูตรที่ 1 แล้วคำนวณค่าช่วงบนของความเชื่อมั่นที่ 95% ด้วยวิธีของ Clopper and Pearson, 1934 ซึ่งวิธีการคำนวณนี้สามารถใช้โปรแกรมคำนวณค่าทางสถิติ บนเว็บไซต์ได้

เอกสารอ้างอิง

1. ฐานข้อมูลไมโตคอนเดรีย ออนไลน์ EMPOP [cited 2014 Sep 4]. Available from : http://empop.org/

การคำนวณค่าความเชื่อมั่น 95% ด้วยวิธีของ Clopper and Pearson

สุคนธ์ ประดุจกาญจนา

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90110.

E-mail address: mitojin@live.com

ค่าความถี่ haplotype ที่คำนวณได้ จากการค้นหารูปแบบดีเอ็นเอ เปรียบเทียบกับรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูล โดยใช้สูตร ความถี่ = จำนวนข้อมูลของรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหาพบในฐานข้อมูล /จำนวนข้อมูลทั้งหมดที่มีอยู่ในฐานข้อมูล เป็นความถี่ haplotype ที่แท้จริง ถือว่าเป็นที่ยอมรับให้สามารถนำมาใช้ในการคำนวณค่า likelihood ratio (LR) เพื่อใช้ประเมินค่าน้ำหนักของวัตถุพยานว่ามีความน่าเชื่อถือมากน้อยเพียงใด ในทางปฏิบัติแล้ว การจัดทำฐานข้อมูล โดยเฉพาะหากจำนวนข้อมูลในฐานไม่ได้มีปริมาณมาก อาจมีข้อผิดพลาดจากการสุ่มตัวอย่างได้ ทำให้การใช้ความถี่ haplotype ที่แท้จริงโดยตรงนำไปใช้คำนวณค่า LR อาจเสี่ยงที่จะผิดพลาดได้ จึงมีผู้เสนอให้ใช้วิธีการปรับปรุงค่า เพื่อให้ได้ค่าความถี่ haplotype ที่อนุรักษ์ และลดความผิดพลาดจากการใช้ฐานข้อมูลได้ วิธีการปรับปรุงค่านี้ มีหลายวิธี หนึ่งในวิธีการเหล่านี้ คือการใช้ค่าบนของช่วงค่าความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 แบบวิธี exact binomial ซึ่งเป็นวิธีคำนวณของ Clopper and Pearson, 1934

$$\sum_{k=0}^{x}\binom{n}{k}p_0^k(1-p_0)^{n-k}=0.05 \quad (x>0)$$

$$p_0=1-0.05^{1/n} \quad (x=0)$$

การคำนวณด้วยวิธีนี้ มีความซับซ้อน จึงมักคำนวณด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ หนึ่งในหน้าเว็บไซต์ที่เปิดให้บริการคำนวณค่านี้ ได้แก่ http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=CIProportion

การใช้งานในหน้าเว็บไซต์ ค่อนข้างง่าย ไม่ซับซ้อน เพียงใส่ข้อมูลที่จำเป็น เข้าไปดังนี้

1. Sample size : ให้พิมพ์จำนวนข้อมูลรวมของฐานข้อมูล เช่น ค้นจากฐานข้อมูลประชากร South East Asia ที่มีข้อมูลรวม 1,144 ข้อมูล

2. Number positive : ให้พิมพ์จำนวน haplotype ที่พบในฐานข้อมูลว่า มีความแตกต่างจากรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหาจำนวน 0 ตำแหน่ง (หมายความว่า รูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลเหมือนกับรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหาทุกตำแหน่ง หรือมีรูปแบบดีเอ็นเอไม่แตกต่างกัน) เช่น ในที่นี้ ไม่พบว่ามีรูปแบบดีเอ็นเอในฐานข้อมูลที่เหมือนกับรูปแบบดีเอ็นเอที่ค้นหา ให้พิมพ์ 0 เข้าไปในช่องนี้

3. Confidence level : โปรแกรมนี้จะคำนวณค่าความเชื่อมั่นแบบสองทาง ในขณะที่ค่าความเชื่อมั่นในการคำนวณตามที่แนะนำโดย SWGDAM, 2013 เป็นแบบทางเดียว (p = 5%) ดังนั้นเมื่อคำนวณด้วยโปรแกรมในหน้าเว็บไซต์นี้ จึงต้องปรับค่าความเชื่อมั่นลงเหลือ 0.90 (p = 10%) เพื่อให้ค่าช่วงบนของความเชื่อมั่นแบบทางเดียวมีค่า p = 5% ตามต้องการ

4. Decimal places in answer : จำนวนทศนิยม ที่ต้องการ ให้ระบุว่า ต้องการทศนิยม 6 ตำแหน่ง

หลังจากนั้นจึงกดปุ่ม Submit คอยสักครู่ โปรแกรมจะแสดงการผลคำนวณค่าความเชื่อมั่นแบบต่างๆ ดังนี้

Inputs

Sample size	1144
Number positive	0
Confidence level	0.9
Decimal digits	6

Results

Using 5 different methods

	Asymptotic (Wald)	Exact Binomial (Clopper-Pearson)	Wilson (Score)	Agresti-Coull (adjusted Wald)	Jeffreys
Number positive	0	0	0	0	0
Sample size	1144	1144	1144	1144	1144
Prevalence estimate	0	0	0	0.00118	0
Lower 90% confidence limit	0	0	0	-0.000488	2e-06
Upper 90% confidence limit	0	0.002615	0.002359	0.002847	0.001677

ให้เลือกค่าผลการคำนวณช่วงบนค่าความเชื่อมั่น ด้วยวิธี Exact Binomial (Clopper-Pearson) ซึ่งในที่นี้มีค่าเท่ากับ 0.002615 โดยให้นำค่านี้ไปใส่ในโปรแกรม PSU CalPat รุ่น 1.4 เพื่อใช้ในการคำนวณค่าทางสถิติอื่นๆ เช่น likelihood ratio และ posterior probability ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. [Website] Calculate confidence limits for a sample proportion. In EpiTools epidemiological calculators. AusVet Animal Health Services. Australia. [cited 2014 Sep 4]. Available from : http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=CIProportion&SampleSize=1144&Positive=0&Conf=0.90&Digits=6

คู่มือการใช้โปรแกรม PSU CalPat v1.2

สุคนธ์ ประดุจกาญจนา

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90110.

E-mail address: mitojin@live.com

โปรแกรมนี้เป็นฐานข้อมูลที่ใช้ในการเก็บข้อมูลรูปแบบดีเอ็นเอทั้งชนิด autosomal STR, Y-STR, X-STR และ mitochondrial DNA (mtDNA) โดยสามารถคำนวณค่าทางสถิติในการพิสูจน์ความสัมพันธ์ด้านนิติเวชศาสตร์ ได้หลากหลายรูปแบบ เช่น

1. การคำนวณค่าทางสถิติในการพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล (autosomal STR)
2. คำนวณค่าทางสถิติในการพิสูจน์พ่อ-ลูกหรือแม่-ลูก (autosomal STR)
3. คำนวณค่าทางสถิติในการพิสูจน์พี่น้องร่วมบิดามารดาเดียวกัน (full sibling) โดยการตรวจดีเอ็นเอชนิด autosomal STR
4. คำนวณค่าทางสถิติในการพิสูจน์กึ่งพี่น้อง (half sibling) โดยการตรวจดีเอ็นเอชนิด autosomal STR
5. คำนวณค่าทางสถิติในการพิสูจน์ความสัมพันธ์ร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน (mtDNA)
6. คำนวณค่าทางสถิติในการพิสูจน์ความสัมพันธ์ร่วมบรรพบุรุษสายบิดาเดียวกัน (Y-STR)
7. เปรียบเทียบรูปแบบดีเอ็นเอเพื่อพิสูจน์ความสัมพันธ์ของพี่น้องเพศหญิงร่วมบิดาเดียวกัน หรือความสัมพันธ์ย่า-หลานเพศหญิง (X-STR)

โปรแกรมนี้สามารถพิมพ์รายงานการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอทั้ง 7 รูปแบบ พร้อมค่าทางสถิติที่จำเป็น เช่น Likelihood ratio (LR), combined paternity index (CPI) และ posterior probability มีการแปลผลการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์ชนิดต่างๆ เป็นภาษาไทย ทำให้ผู้ใช้งานโปรแกรมนี้สามารถใช้ใบรายงานที่พิมพ์จากโปรแกรมนี้เป็นใบรายงานการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอได้ โดยไม่ต้องคัดลอกผลการตรวจใหม่

นอกจากนั้นโปรแกรมนี้ยังสามารถเก็บข้อมูลตัวอย่างตรวจที่น่าสนใจ เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยได้อีก 2 โครงการ โดยสามารถให้โปรแกรมแสดงข้อมูลรหัสตัวอย่างตรวจและรหัสครอบครัว ของตัวอย่างตรวจที่ถูกคัดเลือกในแต่ละโครงการ ทำให้สะดวกในการจัดเก็บตัวอย่างที่สนใจมาศึกษาวิจัยต่อไปในอนาคต

โปรแกรม PSU CalPat รุ่น 1.2 พัฒนาขึ้นโดยคุณสุคนธ์ ประดุจกาญจนา นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ สังกัดหน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ผู้พัฒนาตั้งใจให้โปรแกรมนี้เป็นส่วนหนึ่งในการพัฒนาวิชาชีพด้านการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ จึงมอบลิขสิทธิ์โปรแกรมนี้ให้แก่เครือข่ายนิติพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย ผู้สนใจสามารถใช้โปรแกรมนี้ได้ฟรี โดยสามารถ download ได้จาก http://portal.in.th/files/5/3/1/2011/03/09/PSUCalPatv1_21.mdb หรือ http://portal.in.th/files/5/3/1/2011/03/09/PSUCalPatv1_21.rar

สำหรับสูตรคำนวณค่าทางสถิติกรณีต่างๆ ที่ใช้ในโปรแกรมนี้ ผู้พัฒนาได้ตีพิมพ์ในวารสารสงขลานครินทร์เวชสาร 2011; 29 (3): 143-53. ผู้สนใจสามารถ download ได้จาก http://medinfo.psu.ac.th/smj2/29_3/05-sukon.pdf

การใช้งาน

โปรแกรม PSU CalPat รุ่น 1.2 พัฒนาขึ้นบนโปรแกรมจัดการฐานข้อมูล Microsoft Access รุ่น 2003 ดังนั้นการใช้งานโปรแกรมนี้จึงจำเป็นต้องมีโปรแกรม Microsoft Access รุ่น 2003 อยู่บนระบบปฏิบัติการ Window XP หรือ Window 7 กรณีที่ต้องการใช้งานโปรแกรมนี้ด้วยโปรแกรม Microsoft Access รุ่น 2007 หรือสูงกว่า ท่านต้องลงโปรแกรม Microsoft Access รุ่น 2003 ไว้ในเครื่องคอมพิวเตอร์ร่วมด้วย แต่เรียกใช้งานจากโปรแกรม Microsoft Access รุ่น 2007 หรือสูงกว่า

เมื่อเปิดโปรแกรม PSU CalPat โปรแกรมจะแสดงหน้าแรก เป็นลักษณะ multi-tab ผู้ใช้สามารถเลือก tab ที่ต้องการ โดยคลิ๊กเลือกที่ tab ชื่อหัวข้อ โดยมี tab ให้เลือกดังนี้

- การจัดการทั่วไป
- Autosomal STR
- Lineage markers
- พิสูจน์ตัวบุคคล
- Project
- V 1.2

การจัดการทั่วไป (tab)

เป็นหน้าหลัก (default) มีปุ่มให้ผู้ใช้สามารถเลือกกดได้ ดังนี้

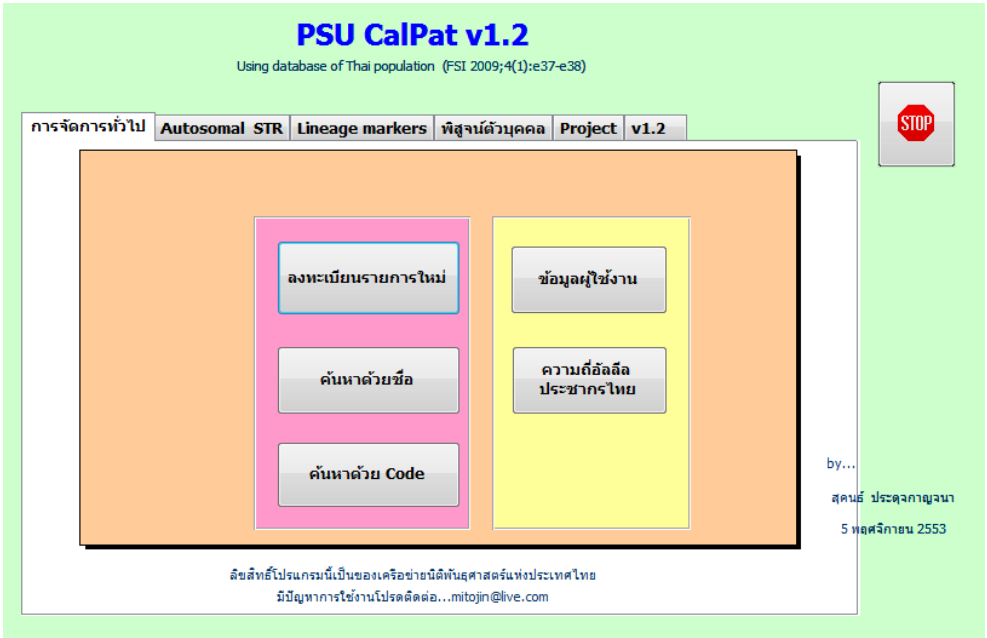
1.1 ลงทะเบียนรายการใหม่ : สำหรับใส่รายละเอียดของตัวอย่างตรวจ ความสัมพันธ์ของตัวอย่างตรวจกับบุคคลอ้างอิงผลการตรวจดีเอ็นเอชนิดต่างๆ วันที่รับตัวอย่าง วันที่รายงานผลการทดสอบ ฯลฯ

1.2 ค้นหาด้วยชื่อ : สำหรับค้นหาตัวอย่าง โดยเรียงชื่อตามตัวอักษร

1.3 ค้นหาด้วย Code : สำหรับค้นหาตัวอย่าง โดยเรียงตามรหัสครอบครัว และรหัสตัวอย่างตรวจ

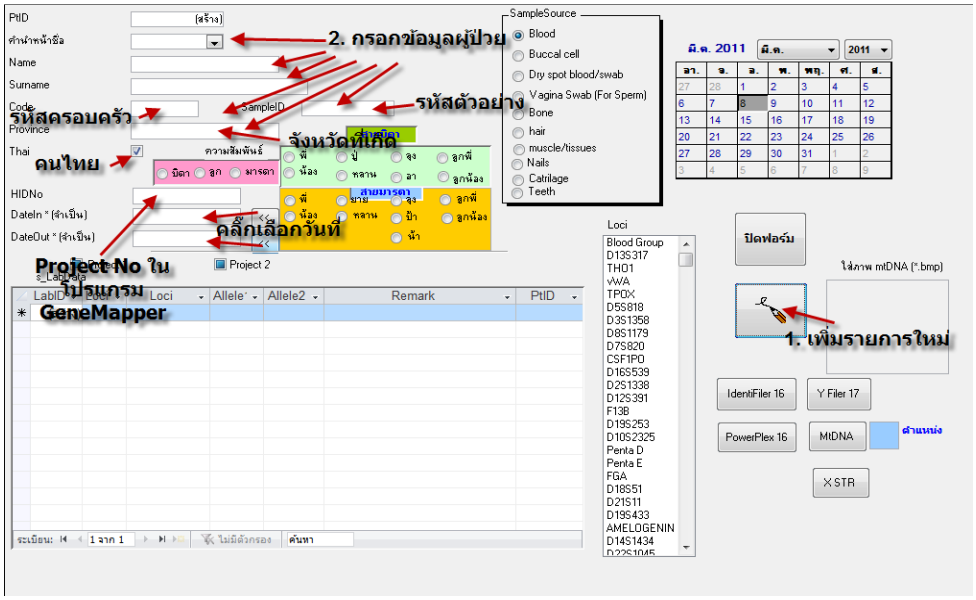
1.4 ข้อมูลผู้ใช้งาน : สำหรับบันทึกชื่อห้องปฏิบัติการ ชื่อและตำแหน่งของผู้รายงานผล ชื่อและตำแหน่งของผู้ตรวจสอบ และชื่อและตำแหน่งของผู้รับรองผล

1.5 ความถี่อัลลีลประชากรไทย : แสดงความถี่อัลลีลของดีเอ็นเอตำแหน่งต่างๆในประชากรไทย



1.1 การเพิ่มข้อมูลใหม่

คลิ๊กที่ปุ่ม ลงทะเบียนรายการใหม่ (หน้า tab การจัดการทั่วไป) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่างใหม่สำหรับการลงทะเบียนข้อมูลตัวอย่าง โดยแสดงรายการข้อมูลตัวอย่างที่มีอยู่ในฐานข้อมูล หากต้องการเพิ่มข้อมูลตัวอย่างใหม่ ให้กดปุ่ม โปรแกรมจะเพิ่มหน้าข้อมูลใหม่



กรอกข้อมูลผู้ป่วย ดังนี้

- คำนำหน้าชื่อ
- Name (ชื่อ)
- Surname (นามสกุล)
- Code (รหัสครอบครัว)
- SampleID (รหัสตัวอย่าง)
- Province (จังหวัดที่เกิด)
- Thai (สถานะความเป็นคนไทย)
- ความสัมพันธ์ทางสายเลือด
- HID No (project No ในโปรแกรม GeneMapper)
- DateIn (วันที่รับตัวอย่าง) ช่องนี้จำเป็นต้องใส่วันที่ มิฉะนั้นจะเกิด error เมื่อคำนวณค่าทางสถิติ
- DateOut (วันที่รายงานผล) ช่องนี้จำเป็นต้องใส่วันที่ มิฉะนั้นจะเกิด error เมื่อคำนวณค่าทางสถิติ

- Project1 คลิ๊กเลือก เมื่อต้องการคัดเลือกตัวอย่างนี้ ไว้ศึกษาวิจัยในโครงการวิจัย 1
- Project2 คลิ๊กเลือก เมื่อต้องการคัดเลือกตัวอย่างนี้ ไว้ศึกษาวิจัยในโครงการวิจัย 2
- SampleSource (ชนิดของตัวอย่าง) ให้เลือกเพียงข้อใดข้อหนึ่ง

การเพิ่มตำแหน่งดีเอ็นเอที่ตรวจ อาจใช้วิธีการ double click ตำแหน่งดีเอ็นเอในช่อง loci ทีละตำแหน่ง หรือใช้วิธีการกดที่ปุ่ม ต่อไปนี้

เมื่อต้องการเพิ่มดีเอ็นเอชนิด autosomal STRจำนวน 16 ตำแหน่งตามชุดน้ำยา Identifiler

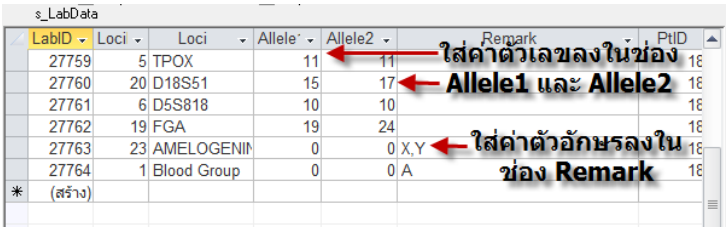
เมื่อต้องการเพิ่มดีเอ็นเอชนิด autosomal STRจำนวน 16 ตำแหน่ง ตามชุดน้ำยา PowerPlex

เมื่อต้องการเพิ่มดีเอ็นเอชนิด Y-STR จำนวน 17 ตำแหน่ง ตามชุดน้ำยา Y Filer

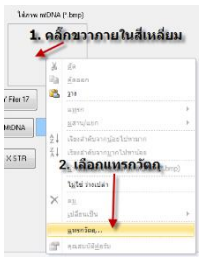
เมื่อต้องการเพิ่มดีเอ็นเอชนิด mtDNA โดยระบุจำนวน ตัวเลขลงในช่องว่างสีฟ้า ก่อนกดปุ่ม

เมื่อต้องการเพิ่มดีเอ็นเอชนิด X-STR จำนวน 9 ตำแหน่ง

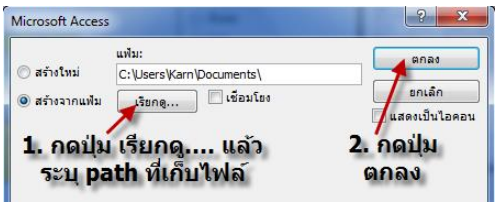
การใส่ค่าผลการทดสอบลงในตาราง s_LabData มีข้อสังเกตดังนี้ หากผลรูปแบบดีเอ็นเอเป็นตัวเลข เช่น ผล autosomal STR ให้ใส่ค่าตัวเลขในช่อง Allele1 และ Allele2 กรณีที่มีผลเพียงค่าเดียว เช่น Y-STR ให้ใส่ค่าตัวเลขในช่อง Allele1 เท่านั้น หากผลรูปแบบดีเอ็นเอเป็นตัวอักษร เช่น Amelogenin, Blood group หรือ mtDNA ให้ใส่ตัวอักษรในช่อง Remark



กรณีที่ต้องการบันทึกภาพรูปแบบ mtDNA ของแต่ละตัวอย่าง สามารถเชื่อมโยงภาพได้ โดยคลิ๊กขวาภายในช่องสี่เหลี่ยม ใส่ภาพ mtDNA แล้วเลือกแทรกวัตถุโปรแกรมจะเปิดหน้าต่างใหม่ เลือก สร้างจากแฟ้ม แล้วกดปุ่ม เรียกดู จากนั้นระบุ pathที่ใช้เก็บไฟล์ภาพรูปแบบ mtDNA แล้วกดปุ่ม ตกลง



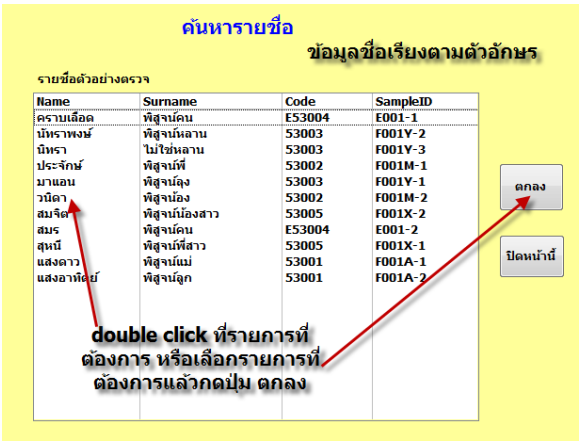
สำหรับไฟล์ภาพ mtDNA ที่ต้องการเชื่อมโยงกับฐานข้อมูล ให้ใช้ไฟล์ภาพชนิดที่เป็น bitmap (*.bmp) เท่านั้น

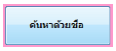


หากต้องการปิดหน้าลงทะเบียนรายการ ให้กดปุ่ม

โปรแกรมจะทำการบันทึกข้อมูล และออกจากหน้าต่างลงทะเบียนรายการใหม่

1.2 การค้นหาด้วยชื่อ

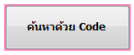


กดปุ่ม 

(หน้า tab การจัดการทั่วไป) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง ค้นหาด้วยชื่อ โดยโปรแกรมจะเรียงชื่อตามตัวอักษร เมื่อค้นหารายการจนพบชื่อที่ต้องการเรียกดูข้อมูลแล้ว ให้ double click ที่ชื่อนั้น หรือเลือกชื่อนั้น แล้วกดปุ่ม

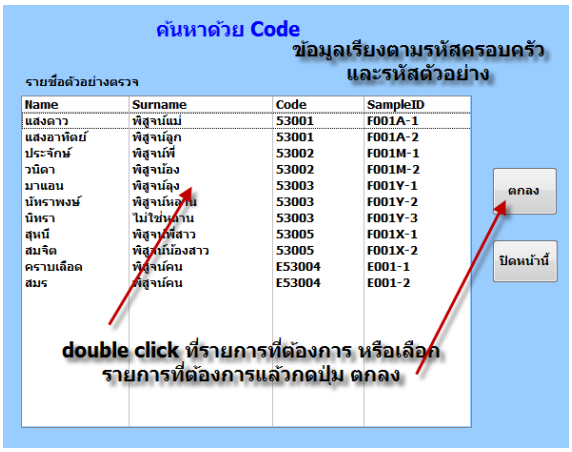
โปรแกรมจะเปิดหน้าต่างแสดงรายการของข้อมูลรายนั้น หากต้องการออกจากหน้าต่างนี้ ให้กดปุ่ม

1.3 การค้นหาด้วย Code

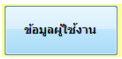
กดปุ่ม 

(หน้า tab การจัดการทั่วไป) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง ค้นหาด้วย Code โดยโปรแกรมจะเรียงตามรหัสครอบครัวและรหัสตัวอย่าง เมื่อค้นหาจนพบรายการที่ต้องการ ให้ double click ที่รายการนั้น หรือเลือกรายการที่ต้องการ แล้วกดปุ่ม

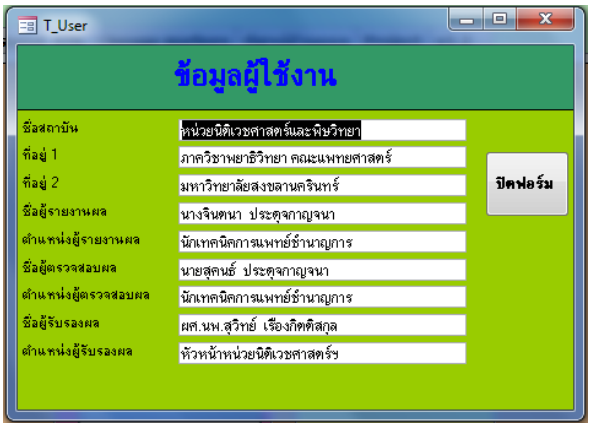
โปรแกรมจะเปิดหน้าต่างแสดงรายการของข้อมูลที่เลือก หากต้องการออกจากหน้าต่างนี้ ให้กดปุ่ม



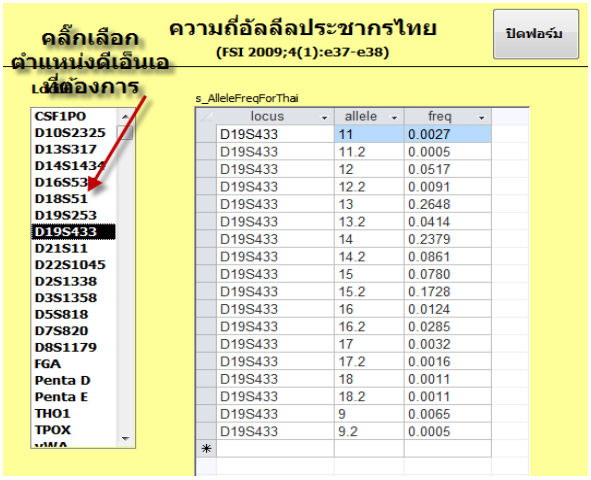
1.4 ข้อมูลผู้ใช้งาน

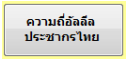
กดปุ่ม 

(หน้า tab การจัดการทั่วไป) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่างข้อมูลผู้ใช้งาน ผู้ใช้งานสามารถแก้ไขรายการต่างๆ ในหน้านี้ ให้เป็นชื่อสถาบันหรือชื่อห้องปฏิบัติการของผู้ใช้ พร้อมทั้งแก้ไขชื่อและตำแหน่งของ ผู้รายงานผล ผู้ตรวจสอบผล และผู้รับรองผล ข้อมูลผู้ใช้งานที่ระบุในหน้านี้ จะถูกพิมพ์ออกมาในใบรายงานผลการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ หากต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม



1.5 ความถี่อัลลีลประชากรไทย



กดปุ่ม 

(หน้า tab การจัดการทั่วไป)โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง ความถี่อัลลีลประชากรไทย ผู้ใช้สามารถเลือกให้แสดงความถี่อัลลีลของดีเอ็นเอที่ตำแหน่งต่างๆ โดยคลิ๊กเลือกตำแหน่งดีเอ็นเอที่ต้องการได้จากช่องซ้ายมือ โปรแกรมจะแสดงตารางความถี่อัลลีลของตำแหน่งดีเอ็นเอที่เลือกทางช่องขวามือ หากต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม

2. Autosomal STR (tab)

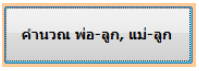
เป็นหน้าที่ให้เลือกใช้การคำนวณสถิติสำหรับการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอชนิด autosomal STR มีปุ่มให้เลือกได้ 3 ปุ่มดังนี้

2.1 คำนวณพ่อ-ลูก หรือ แม่-ลูก

2.2 คำนวณพี่น้อง Full sibling ใช้ในการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์พี่น้องร่วมบิดามารดาเดียวกันเท่านั้น

2.3 คำนวณกึ่งพี่น้อง Half sibling ใช้ในการตรวจพิสูจน์ความสัมพันธ์กึ่งพี่น้อง เช่น พี่น้องร่วมบิดาแต่คนละมารดา หรือ พี่น้องร่วมมารดาแต่คนละบิดา หรือมีความสัมพันธ์เป็นญาติกัน เช่น ปู่-หลาน ย่า-หลาน ตา-หลาน ยาย-หลาน ลุง-หลาน อา-หลาน ป้า-หลาน น้า-หลาน

2.1 คำนวณพ่อ-ลูก หรือ แม่-ลูก

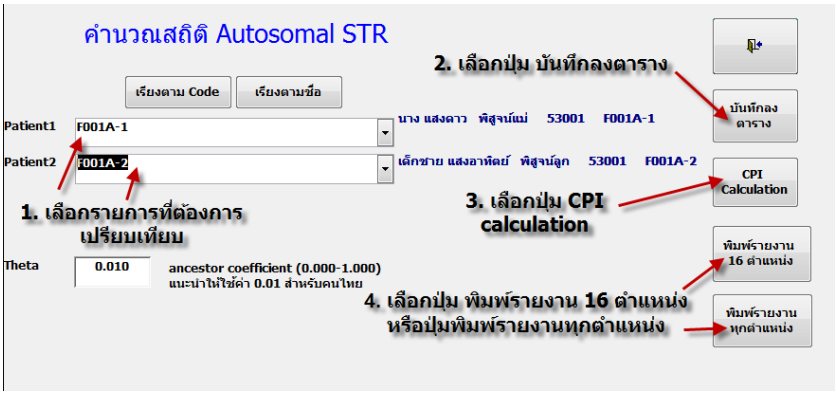
กดปุ่ม 

(หน้า tab Autosomal STR) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง การคำนวณทางสถิติพ่อ-ลูก หรือ แม่-ลูก โดยการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอชนิด autosomal STR ให้เลือกเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของ Patient1 และ Patient2 โดยอาจเลือกให้เรียงชื่อตามตัวอักษรโดยการกดปุ่ม

หรืออาจเลือกให้เรียงตามรหัสครอบครัวและรหัสตัวอย่าง โดยการกดปุ่ม

จากนั้นพิมพ์ชื่อหรือรหัสตัวอย่างในช่อง Patient1 และ Patient2 แล้วกดปุ่ม

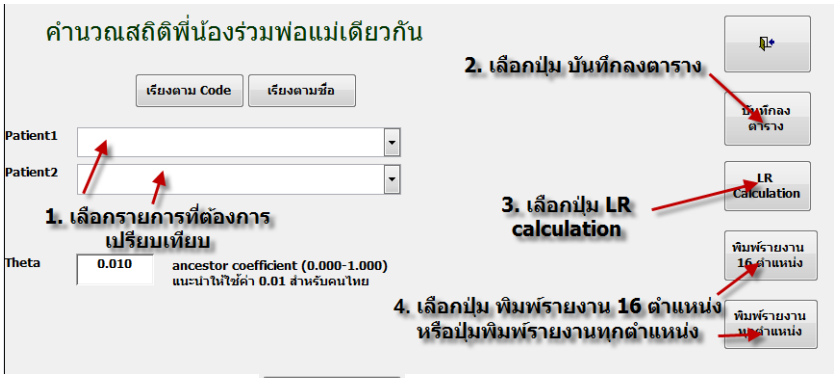
จากนั้นกดปุ่ม



โปรแกรมจะแสดงสถานะ กำลังคำนวณ ให้คอยจนเปลี่ยนเป็นสถานะพร้อมใช้งาน แล้วจึงกดปุ่ม พิมพ์รายงาน 16 ตำแหน่ง สำหรับการทดสอบด้วยน้ำยา Identifiler หรือกดปุ่ม พิมพ์รายงาน ทุกตำแหน่ง สำหรับการทดสอบด้วยน้ำยาอื่นๆ สำหรับการระบุค่าสัมประสิทธิ์การมีบุพการีร่วม (ancestor coefficient) หรือค่า Theta (θ) โปรแกรมจะยอมให้สามารถใส่ค่าตัวเลขระหว่าง 0.000-1.000 เนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานค่าสัมประสิทธิ์การมีบุพการีร่วมในประชากรไทย ดังนั้นค่าที่ใช้จึงควรเป็นค่ากลางที่สามารถใช้ได้ในประชากรทั่วไป จึงแนะนำให้ใช้ค่า 0.010 (กำหนดเป็นค่าหลัก) เมื่อต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม

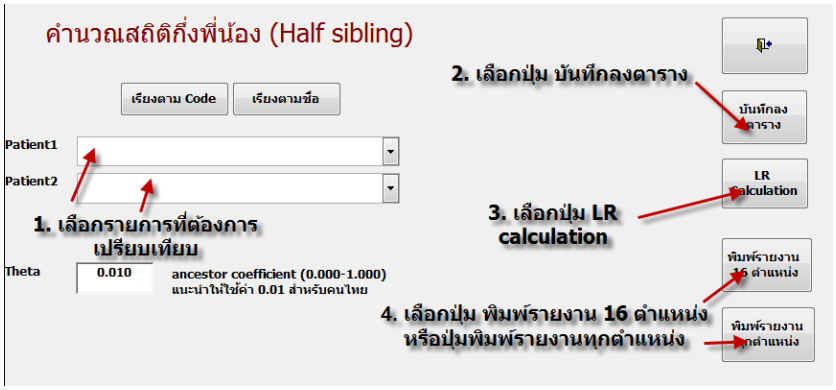
2.2 คำนวณพี่น้องร่วมบิดามารดาเดียวกัน (full sibling)

กดปุ่ม คำนวณพี่น้อง Full Sibling (หน้า tab Autosomal STR) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง การคำนวณทางสถิติกรณีพี่น้องร่วมบิดามารดาเดียวกันโดยการตรวจดีเอ็นเอชนิด autosomal STR ให้เลือกเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของ Patient1 และ Patient2 โดยอาจเลือกให้เรียงชื่อตามตัวอักษรโดยการกดปุ่ม เรียงตามชื่อ หรืออาจเลือกให้เรียงตามรหัสครอบครัวและรหัสตัวอย่าง โดยการกดปุ่ม เรียงตาม Code จากนั้นพิมพ์ชื่อหรือรหัสตัวอย่างในช่อง Patient1 และ Patient2 แล้วกดปุ่ม บันทึกลงตาราง จากนั้นกดปุ่ม LR Calculation โปรแกรมจะแสดงสถานะ กำลังคำนวณ ให้คอยจนเปลี่ยนเป็นสถานะพร้อมใช้งาน แล้วจึงกดปุ่ม พิมพ์รายงาน 16 ตำแหน่ง สำหรับการทดสอบด้วยน้ำยา Identifiler หรือกดปุ่ม พิมพ์รายงาน ทุกตำแหน่ง สำหรับการทดสอบด้วยน้ำยาอื่นๆ สำหรับการระบุค่าสัมประสิทธิ์การมีบุพการีร่วม (ancestor coefficient) หรือค่า Theta (θ) โปรแกรมจะยอมให้สามารถใส่ค่าตัวเลขระหว่าง 0.000-1.000 แต่เนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานค่าสัมประสิทธิ์การมีบุพการีร่วมในประชากรไทย ดังนั้นค่าที่ใช้จึงควรเป็นค่ากลางที่สามารถใช้ได้ในประชากรทั่วไป จึงแนะนำให้ใส่ค่า 0.010 (กำหนดเป็นค่าหลัก) เมื่อต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม



2.3 คำนวณกึ่งพี่น้อง (half sibling)

กดปุ่ม คำนวณกึ่งพี่น้อง Half Sibling (หน้า tab Autosomal STR) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง การคำนวณทางสถิติกรณีกึ่งพี่น้อง ได้แก่ พี่น้องร่วมบิดาแต่คนละมารดา หรือ พี่น้องร่วมมารดาแต่คนละบิดา หรือมีความสัมพันธ์เป็นญาติกัน เช่น ปู่-หลาน ย่า-หลาน ตา-หลาน ยาย-หลาน ลุง-หลาน อา-หลาน ป้า-หลาน น้า-หลาน โดยการ



ตรวจดีเอ็นเอชนิด autosomal STR ให้เลือกเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของ Patient1 และ Patient2 โดยอาจเลือกให้เรียงชื่อตามตัวอักษรโดยการกดปุ่ม เรียงตามชื่อ หรืออาจเลือกให้เรียงตามรหัสครอบครัวและรหัสตัวอย่าง โดยการกดปุ่ม เรียงตาม Code จากนั้นพิมพ์ชื่อหรือรหัสตัวอย่างในช่อง Patient1 และ Patient2 แล้วกดปุ่ม บันทึกลงตาราง จากนั้นกดปุ่ม LR Calculation โปรแกรมจะแสดงสถานะ กำลังคำนวณ ให้คอยจนเปลี่ยนเป็นสถานะพร้อมใช้งาน แล้วจึงกดปุ่ม พิมพ์รายงาน 16 ตำแหน่ง สำหรับการทดสอบด้วยน้ำยา Identifiler หรือกดปุ่ม พิมพ์รายงานทุกตำแหน่ง สำหรับการทดสอบด้วยน้ำยาอื่นๆ สำหรับการระบุค่าสัมประสิทธิ์การมีบุพการีร่วม (ancestor coefficient) หรือค่า Theta (θ) โปรแกรมจะยอมให้สามารถใส่ค่าตัวเลขระหว่าง 0.000-1.000 แต่เนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานค่าสัมประสิทธิ์การมีบุพการีร่วมในประชากรไทย ดังนั้นค่าที่ใช้จึงควรเป็นค่ากลางที่สามารถใช้ได้ในประชากรทั่วไป จึงแนะนำให้ใส่ค่า 0.010 (กำหนดเป็นค่าหลัก) เมื่อต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม

3. Lineage markers (tab)

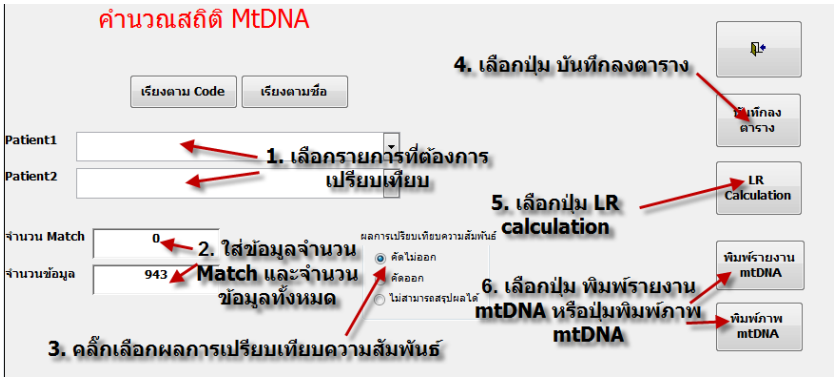
เป็นหน้าที่ให้เลือกใช้การคำนวณสถิติสำหรับการตรวจความสัมพันธ์ร่วมบรรพบุรุษเดียวกัน มีปุ่มให้เลือกได้ 3 ปุ่มดังนี้

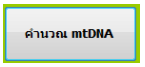
3.1 คำนวณ mtDNA ใช้ในการคำนวณค่าทางสถิติ เพื่อพิสูจน์ความสัมพันธ์ญาติร่วมบรรพบุรุษสายมารดาเดียวกัน เช่น พี่-น้อง ยาย-หลาน น้า-หลาน ป้า(พี่ของแม่)-หลาน ลุง(พี่ของแม่)-หลาน เป็นต้น

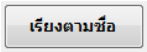
3.2 คำนวณ Y-STR ใช้ในการคำนวณค่าทางสถิติ เพื่อพิสูจน์ความสัมพันธ์ญาติร่วมบรรพบุรุษสายบิดาเดียวกัน เช่น พี่-น้อง ปู่-หลาน อา-หลาน ลุง(พี่ของพ่อ)-หลาน เป็นต้นแต่ผู้ตรวจต้องเป็นเพศชายเท่านั้น

3.3 คำนวณ X-STR ใช้คำนวณค่าทางสถิติเพื่อพิสูจน์ความสัมพันธ์พี่น้องเพศหญิงร่วมบิดาเดียวกัน หรือ ความสัมพันธ์ย่า-หลานเพศหญิง

3.1 คำนวณ mtDNA



กดปุ่ม 

(หน้า tab Lineage markers) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง การคำนวณทางสถิติสำหรับการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอชนิด mtDNA ให้เลือกเปรียบเทียบ ความสัมพันธ์ของ Patient1 และ Patient2 โดยอาจเลือกให้เรียงชื่อตามตัวอักษรโดยการกดปุ่ม 

หรืออาจเลือกให้เรียงตามรหัสครอบครัวและรหัสตัวอย่าง โดยการกดปุ่ม

จากนั้นพิมพ์ชื่อหรือรหัสตัวอย่างในช่อง Patient1 และ Patient2 แล้วใส่ข้อมูลจำนวน Match และจำนวนข้อมูลทั้งหมดลงในช่องว่าง ค่าจำนวน Match และ จำนวนข้อมูลทั้งหมด เป็นค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบรูปแบบดีเอ็นเอชนิด mtDNA กับข้อมูลในฐานข้อมูล ด้วยโปรแกรม mtDNA Population Database ที่พัฒนาขึ้นโดย Federal Bureau of Investigation : FBI กระทรวงยุติธรรม ประเทศสหรัฐอเมริกา (http://www2.fbi.gov/hq/lab/fsc/backissu/april2002/miller1.htm#Accessing the mtDNA Population Database) แล้วเลือกผลการเปรียบเทียบรูปแบบดีเอ็นเอขั้นต้นว่า

- คัดไม่ออก เมื่อรูปแบบ mtDNA ของบุคคลทั้งสองเหมือนกันทุกประการ
- คัดออก เมื่อรูปแบบ mtDNA ของบุคคลทั้งสองต่างกันตั้งแต่สองตำแหน่งขึ้นไป
- ไม่สามารถสรุปผลได้ เมื่อรูปแบบ mtDNA ของบุคคลทั้งสองต่างกันเพียง 1 ตำแหน่งเท่านั้น

กดปุ่ม

แล้วกดปุ่ม

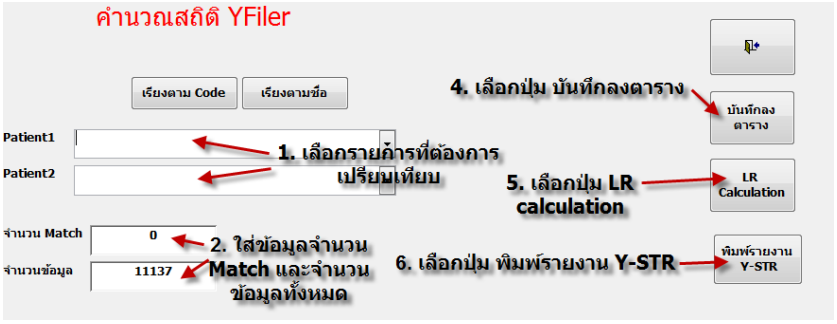
โปรแกรมจะแสดงสถานะ กำลังคำนวณ ให้คอยจนเปลี่ยนเป็นสถานะพร้อมใช้งาน จากนั้นจึงกดปุ่ม

เพื่อพิมพ์รายงานผลการตรวจพิสูจน์ mtDNA กรณีที่ต้องการพิมพ์ภาพ mtDNA เปรียบเทียบกัน ให้กดปุ่ม

เมื่อต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม

3.2 คำนวณ Y-STR

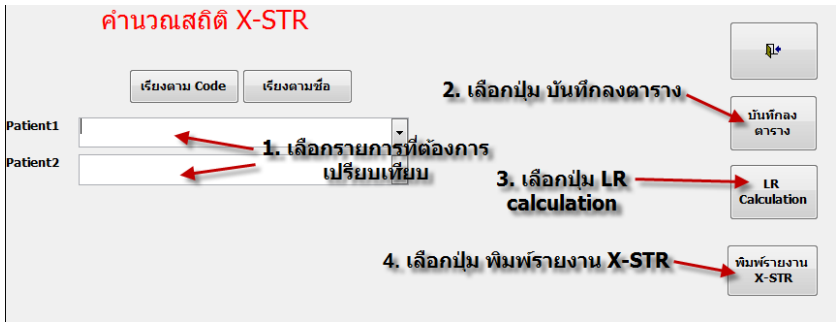
กดปุ่ม คำนวณ Y-STR (หน้า tab Lineage markers) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง การคำนวณทางสถิติ



สำหรับการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอชนิด Y-STR ให้เลือกเปรียบเทียบ ความสัมพันธ์ของ Patient1 และ Patient2 โดยอาจเลือกให้เรียงชื่อตามตัวอักษรโดยการกดปุ่ม เรียงตามชื่อ หรืออาจเลือกให้เรียงตามรหัสครอบครัวและรหัสตัวอย่าง โดยการกดปุ่ม เรียงตาม Code จากนั้นพิมพ์ชื่อหรือรหัสตัวอย่างในช่อง Patient1 และ Patient2 แล้วใส่ข้อมูลจำนวน Match และจำนวนข้อมูลทั้งหมดลงในช่องว่าง ค่าจำนวน Match และจำนวนข้อมูลทั้งหมด เป็นค่าที่ได้จากการเปรียบเทียบรูปแบบดีเอ็นเอชนิด Y-STR กับข้อมูลในฐานข้อมูล ที่ website http://www.yhrd.org โดยเลือกโปรแกรม Search Haplotypes กดปุ่ม บันทึกลงตาราง แล้วกดปุ่ม LR Calculation โปรแกรมจะแสดงสถานะ กำลังคำนวณ ให้คอยจนเปลี่ยนเป็นสถานะพร้อมใช้งาน จากนั้นจึงกดปุ่ม พิมพ์รายงาน Y-STR เพื่อพิมพ์รายงานผลการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอชนิด Y-STR เมื่อต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม

3.3 คำนวณ X-STR

กดปุ่ม คำนวณ X-STR (หน้า tab Lineage markers) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง การคำนวณทางสถิติสำหรับการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอชนิด X-STR ให้เลือกเปรียบเทียบ ความสัมพันธ์ของ Patient1 และ Patient2 โดยอาจเลือกให้เรียงชื่อตามตัวอักษรโดยการกดปุ่ม เรียงตามชื่อ หรืออาจเลือกให้เรียงตามรหัสครอบครัว



และรหัสตัวอย่าง โดยการกดปุ่ม เรียงตาม Code จากนั้นพิมพ์ชื่อหรือรหัสตัวอย่างในช่อง Patient1 และ Patient2 กดปุ่ม บันทึกลงตาราง แล้วกดปุ่ม LR Calculation โปรแกรมจะแสดงสถานะ กำลังคำนวณ ให้คอยจนเปลี่ยนเป็นสถานะพร้อมใช้งาน จากนั้นจึงกดปุ่ม

พิมพ์รายงาน X-STR เพื่อพิมพ์รายงานผลการตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอชนิด X-STR เมื่อต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม

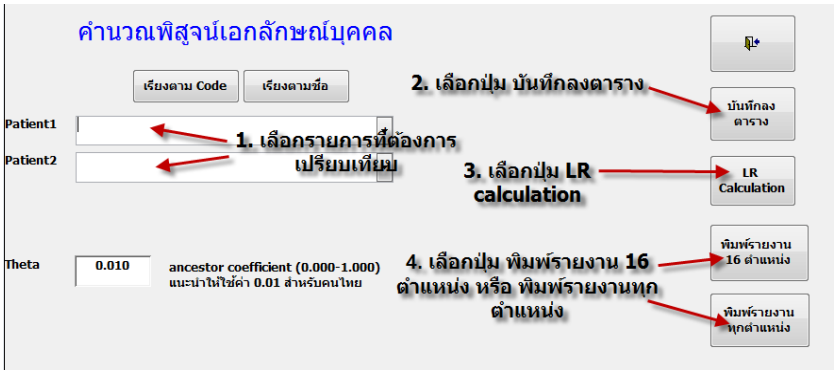
4. พิสูจน์ตัวบุคคล (tab)

เป็นหน้าที่ให้เลือกใช้การคำนวณสถิติสำหรับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคล โดยการตรวจดีเอ็นเอชนิด autosomal STR มีปุ่มให้เลือกเพียง 1 ปุ่ม

4.1 คำนวณพิสูจน์ตัวบุคคล เป็นการคำนวณเพื่อค้นหาว่าวัตถุพยานที่เก็บได้จากที่เกิดเหตุเป็นของผู้ใด

4.1 คำนวณพิสูจน์ตัวบุคคล

กดปุ่ม คำนวณพิสูจน์ตัวบุคคล (หน้า tab Autosomal STR) โปรแกรมจะเปิดหน้าต่าง การคำนวณทางสถิติสำหรับการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์บุคคลด้วยดีเอ็นเอชนิด autosomal STR ให้เลือกเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของ Patient1 และ Patient2 โดยอาจเลือกให้เรียงชื่อตามตัวอักษรโดยการกดปุ่ม เรียงตามชื่อ หรืออาจเลือกให้เรียงตามรหัสครอบครัวและรหัสตัวอย่าง โดยการกดปุ่ม เรียงตาม Code จากนั้นพิมพ์ชื่อหรือ



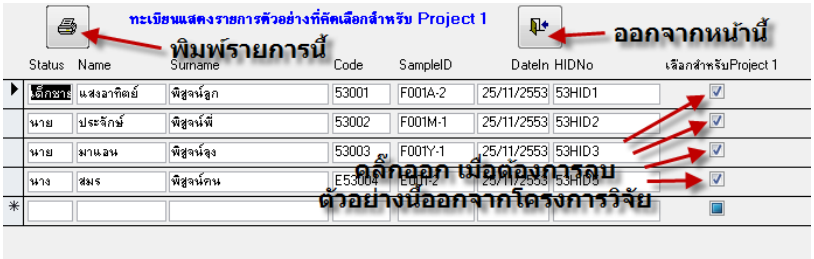
รหัสตัวอย่างในช่อง Patient1 และ Patient2 แล้วกดปุ่ม บันทึกลงตาราง จากนั้นกดปุ่ม LR Calculation โปรแกรมจะแสดงสถานะ กำลังคำนวณ ให้คอยจนเปลี่ยนเป็นสถานะพร้อมใช้งาน แล้วจึงกดปุ่ม พิมพ์รายงาน 16 ตำแหน่ง สำหรับการทดสอบด้วยน้ำยา Identifiler หรือกดปุ่ม พิมพ์รายงานทุกตำแหน่ง สำหรับการทดสอบด้วยน้ำยาอื่นๆ สำหรับการระบุค่าสัมประสิทธิ์การมีบุพการีร่วม (ancestor coefficient) หรือค่า Theta (θ) โปรแกรมจะยอมให้สามารถใส่ค่าตัวเลขระหว่าง 0.000-1.000 เนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานค่าสัมประสิทธิ์การมีบุพการีร่วมในประชากรไทย ดังนั้นค่าที่ใช้จึงควรเป็นค่ากลางที่สามารถใช้ได้ในประชากรทั่วไป จึงแนะนำให้ใส่ค่า 0.010 (กำหนดเป็นค่าหลัก) เมื่อต้องการออกจากหน้านี้ ให้กดปุ่ม

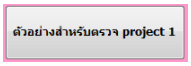
5. **Project (tab)**

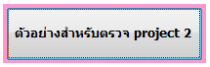
เป็นหน้าที่แสดงโครงการวิจัยจำนวน 2 โครงการ มีตัวอย่างที่ถูกคัดเลือกเข้าศึกษาในโครงการมากน้อยเพียงใด มีปุ่มให้เลือก 2 ปุ่ม

5.1 ตัวอย่างสำหรับตรวจ Project 1

5.2 ตัวอย่างสำหรับตรวจ Project 2



กดปุ่ม 

หรือกดปุ่ม 

เพื่อแสดงรายการตัวอย่างที่คัดเลือกเข้าศึกษาในโครงการวิจัย โปรแกรมจะแสดง ชื่อ นามสกุล รหัสครอบครัว รหัสตัวอย่าง HID No และสถานะการถูกเลือกเข้าสู่โครงการวิจัย ผู้ใช้สามารถคลิ๊กเครื่องหมายถูก ออก เมื่อต้องการลบตัวอย่างนั้นออกจากโครงการวิจัย หรือกดปุ่ม เมื่อต้องการพิมพ์ทะเบียนรายการนี้ หรือกดปุ่ม เมื่อต้องการออกจากหน้านี้

6. **V 1.2 (tab)**

เป็นหน้าที่แสดงรายการปรับปรุงโปรแกรม PSU CalPat รุ่น 1.2

หมายเหตุ

โปรแกรม PSU CalPat รุ่น 1.22 ได้มีการปรับเปลี่ยนให้ใช้ค่าความถี่น้อยที่สุด (minimum allele frequency : MAF) คำนวณแทนความถี่อัลลีลที่มีค่าน้อยมากๆหรือไม่พบอัลลีลนั้นๆในประชากร ตามที่กำหนดโดย National Research Council (NRC) II และปรับหน้าแบบฟอร์มการคำนวณค่าทางสถิติต่างๆ ให้ใช้ค่าเรียงตาม code เป็นค่าเริ่มต้น

โจทย์ตัวอย่างสำหรับการใช้โปรแกรม PSU CalPat รุ่น 1.4

จงเพิ่มข้อมูลต่อไปนี้ เข้าไปในโปรแกรม PSU CalPat รุ่น 1.4 พร้อมทั้งวิเคราะห์และรายงานความสัมพันธ์ทางสายเลือด

1. นางสาว ศรุตา ทรายสีเพลิง ถูกอ้างว่าเป็นพี่น้องร่วมบิดามารดาเดียวกันกัน นางสาว ลูกศร ทรายสีฟ้า จึงพากันมาตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอ ได้ผลการตรวจดังตารางต่อไปนี้

นางสาว ศรุตา ทรายสีเพลิง Family Code 57300 Sample ID F300M-1
เกิดที่จังหวัด นครศรีธรรมราช ตัวอย่างตรวจเป็น เลือด
ความสัมพันธ์ พี่
GeneMapperID Project No 57HID100
วันที่รับตัวอย่างตรวจ วันที่ 1 กันยายน 2557
วันที่รายงานผล วันที่ 5 กันยายน 2557

ตำแหน่ง	ASTR
Blood group	O
D8S1179	10, 12
D21S11	31.2, 32.2
D7S820	12, 13
CSF1PO	10, 11
D3S1358	15, 16
THO1	6, 9
D13S317	11, 12
D16S539	12, 12
D2S433	24, 24
D19S433	15, 15
vWA	14, 19
TPOX	8, 9
D18S51	15, 15
D5S818	10, 11
FGA	20.2, 26
Amelogenin	X, X

ลำดับที่	mtDNA
1	16223T
2	16274A
3	16278T
4	16295T
5	16311C
6	16519C
7	73G
8	152C
9	263G
10	309.1C
11	315.1C
12	523DEL
13	524DEL

นางสาว ลูกศร ทรายสีฟ้า Family Code 57300 Sample ID F300M-2

เกิดที่จังหวัด นครศรีธรรมราช ตัวอย่างตรวจเป็น เลือด

ความสัมพันธ์ น้อง

GeneMapperID Project No 57HID100

วันที่รับตัวอย่างตรวจ วันที่ 1 กันยายน 2557

วันที่รายงานผล วันที่ 5 กันยายน 2557

ตำแหน่ง	ASTR
Blood group	O
D8S1179	10, 13
D21S11	29, 29
D7S820	12, 13
CSF1PO	11, 12
D3S1358	15, 15
THO1	6, 6
D13S317	8, 12
D16S539	12, 12
D2S433	18, 18
D19S433	14, 15
vWA	14, 19
TPOX	8, 8
D18S51	13, 15
D5S818	10, 11
FGA	18, 20.2
Amelogenin	X,X

ลำดับที่	mtDNA
1	16223T
2	16274A
3	16278T
4	16295T
5	16311C
6	16519C
7	73G
8	152C
9	263G
10	309.1C
11	315.1C
12	523DEL
13	524DEL

ผลการตรวจวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด
กรณีญาติร่วมบรรพบุรุษสายแม่เดียวกัน

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เลขที่ **57300**

บุคคลที่ 1 : นางสาว ศรุตา ทรายสีเพลิง (ผู้ถูกกล่าวอ้างว่าเป็น พี่) :

เลขที่ตัวอย่าง F300M-1 วันที่รับตัวอย่าง : 1 กันยายน 2557 ตัวอย่างตรวจ : Blood

บุคคลที่ 2 : นางสาว ลูกศร ทรายสีฟ้า (น้อง) :

เลขที่ตัวอย่าง F300M-2 วันที่รับตัวอย่าง : 1 กันยายน 2557 ตัวอย่างตรวจ : Blood

ลำดับที่	F300M-1	F300M-2
1	16223T	16223T
2	16274A	16274A
3	16278T	16278T
4	16295T	16295T
5	16311C	16311C
6	16519C	16519C
7	73G	73G
8	152C	152C
9	263G	263G
10	309.1C	309.1C
11	315.1C	315.1C
12	523D	523D
13	524D	524D

Likelihood ratio	**382**	*Prior Prob*	**0.500**	*Probability*	**99.73918260** *%*
Match type	**Pattern**	*Disregard indels at position*		**16193, 309, 455, 573**	
No of match record	**0**	*Total records in Database*		**1,144**	
Haplotype frequency (upper 95%CI)	**0.261500**	*% (Using Clopper-Pearson method)*			

จากการเปรียบเทียบลำดับเบสของสารพันธุกรรมบริเวณ control region บนไมโตคอนเดรียของผู้รับการตรวจกับสารพันธุกรรมอ้างอิง (rCRS: NC012920; Andrews et al.,1990) พบว่า

1. นางสาว ศรุตา ทรายสีเพลิง ไม่ถูกคัดออกจากการเป็นญาติร่วมบรรพบุรุษสายแม่เดียวกัน เช่น พี่-น้อง (ร่วมแม่เดียวกัน) กับ นางสาว ลูกศร ทรายสีฟ้า
2. ความเชื่อมั่นที่ นางสาว ศรุตา ทรายสีเพลิง เป็นญาติร่วมบรรพบุรุษสายแม่เดียวกัน กับนางสาว ลูกศร ทรายสีฟ้า เท่ากับ ร้อยละ 99.73918260 เมื่อคำนวณจากฐานข้อมูลประชากรเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (http://empop.org) โดยสันนิษฐานค่า Prior Prob = 0.50

.....
(นางจินดนา ประดุจกาญจนา)
นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
ผู้รายงานผลการตรวจ
วันที่

.....
(นายสุคนธ์ ประดุจกาญจนา)
นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
ผู้ตรวจสอบผลการตรวจ
วันที่

ผลการตรวจวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด
กรณี PI, FS, HS, FC, II

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เลขที่ **57300**

บุคคลที่ 1 : นางสาว ศรุตา ทรายสีเพลิง (ผู้ถูกกล่าวอ้างว่าเป็น พี่) :

เลขที่ตัวอย่าง F300M-1 วันที่รับตัวอย่าง : 1 กันยายน 2557 ตัวอย่างตรวจ : Blood

บุคคลที่ 2 : นางสาว ลูกศร ทรายสีฟ้า (น้อง) :

เลขที่ตัวอย่าง F300M-2 วันที่รับตัวอย่าง : 1 กันยายน 2557 ตัวอย่างตรวจ : Blood

	LociName	F300M-1	F300M-2	PI	FS	HS	FC	II
1	D8S1179	10, 12	10, 13	1.5909	1.0455	1.2955	1.1477	0.5000
2	D21S11	31.2, 32.2	29, 29	0.0029	0.2500	0.5000	0.7500	0.0029
3	D7S820	12, 13	12, 13	8.4401	23.1400	4.7201	2.8600	2.8764
4	CSF1PO	10, 11	11, 12	0.8240	0.6620	0.9120	0.9560	0.5000
5	D3S1358	15, 16	15, 15	1.7109	1.1054	1.3554	1.1777	1.3900
6	THO1	6, 9	6, 6	4.6959	2.5980	2.8480	1.9240	3.2933
7	D13S317	11, 12	8, 12	1.6979	1.0990	1.3490	1.1745	0.5000
8	D16S539	12, 12	12, 12	3.4784	5.0900	2.2392	1.6196	2.3804
9	D2S1338	24, 24	18, 18	0.0017	0.2500	0.5000	0.7500	0.0017
10	D19S433	15, 15	14, 15	5.2458	2.8729	3.1229	2.0615	0.5000
11	vWA	14, 19	14, 19	3.2713	6.2380	2.1357	1.5678	1.8767
12	TPOX	8, 9	8, 8	0.8681	0.6841	0.9341	0.9670	0.9361
13	D18S51	15, 15	13, 15	1.8911	1.1956	1.4456	1.2228	0.5000
14	D5S818	10, 11	10, 11	1.9540	3.0853	1.4770	1.2385	1.4686
15	FGA	20.2, 26	18, 20.2	20.1357	10.3178	10.5678	5.7839	0.5000
16	Amelogenin	X, Y	X, Y	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
17	Blood Group	O (โอ)	O (โอ)	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

CPI **2.82249314** *PostProbPI* **73.8390636** %

CFS **7,502.36** *PostProbFS* **99.98667264** % *Theta* **0.010**

CHS **2,285.02** *PostProbHS* **99.95625587** % *Prior Prob.* **0.500**

CFC **208.29** *PostProbFC* **99.52219701** %

CII **0.00000613** *PostProbII* **.000612825** % *(Theta = 0.0; Prior Prob =* **0.500***)*

Mutation **2** **(D21S11, D2S1338,)**

2. นางสาวลันตา ดรีม ถูกฟ้องเพื่อขอแบ่งมรดก โดย นางสาว ธัญญาเรศ ลาเบล อ้างว่าเป็นพี่-น้องร่วมมารดาเดียวกันแต่คนละบิดา ศาลจึงสั่งให้ทั้งสองคนมาตรวจพิสูจน์ดีเอ็นเอที่หน่วยงานท่าน ได้ผลดังแสดง

นางสาวลันตา ดรีม Family Code 57301 Sample ID F301M-1

เกิดที่จังหวัด ชลบุรี ตัวอย่างตรวจเป็น เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม

ความสัมพันธ์ พี่

GeneMapperID Project No 57HID100

วันที่รับตัวอย่างตรวจ วันที่ 2 กันยายน 2557

วันที่รายงานผล วันที่ 7 กันยายน 2557

ตำแหน่ง	ASTR
D8S1179	11, 13
D21S11	30, 31
D7S820	8, 11
CSF1PO	10, 11
D3S1358	14, 16
THO1	6, 8
D13S317	9, 12
D16S539	9, 12
D2S433	23, 25
D19S433	14, 15.2
vWA	16, 17
TPOX	8, 8
D18S51	16, 17
D5S818	10, 12
FGA	18, 24
Amelogenin	X, X

ลำดับที่	mtDNA
1	16140C
2	16183C
3	16189C
4	16266A
5	16519C
6	73G
7	210G
8	228A
9	263G
10	309.1C
11	315.1C
12	385T
13	523DEL
14	524DEL

นางสาวธัญญาเรศ ลาเบล Family Code 57301 Sample ID F301M-2

เกิดที่จังหวัด ชลบุรี ตัวอย่างตรวจเป็น เซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้ม

ความสัมพันธ์ น้อง

GeneMapperID Project No 57HID100

วันที่รับตัวอย่างตรวจ วันที่ 2 กันยายน 2557

วันที่รายงานผล วันที่ 7 กันยายน 2557

ตำแหน่ง	ASTR
D8S1179	11, 13
D21S11	29, 30
D7S820	9, 12
CSF1PO	10, 11
D3S1358	16, 17
THO1	6, 7
D13S317	8, 8
D16S539	10, 11
D2S433	20, 23
D19S433	13, 14
vWA	18, 18
TPOX	8, 8
D18S51	11, 16
D5S818	12, 14
FGA	24, 25
Amelogenin	X, X

ลำดับที่	mtDNA
1	16111T
2	16168T
3	16172C
4	16183C
5	16189C
6	16223T
7	16354A
8	16362C
9	16519C
10	73G
11	152C
12	263G
13	309.1C
14	309.2C
15	315.1C

ผลการตรวจวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด

กรณีญาติร่วมบรรพบุรุษสายแม่เดียวกัน

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เลขที่ **57301**

บุคคลที่ 1 : นางสาว ลันตา ดรีม (ผู้ถูกกล่าวอ้างว่าเป็น พี่) :

เลขที่ตัวอย่าง F301M-1 วันที่รับตัวอย่าง : 2 กันยายน 2557 ตัวอย่างตรวจ : Buccal cells

บุคคลที่ 2 : นางสาว ธัญญาเรศ ลาเบล (น้อง) :

เลขที่ตัวอย่าง F301M-2 วันที่รับตัวอย่าง : 2 กันยายน 2557 ตัวอย่างตรวจ : Buccal cells

ลำดับที่	F301M-1	F301M-2
1	16140C	16111T
2	16183C	16168T
3	16189C	16172C
4	16266A	16183C
5	16519C	16189C
6	73G	16223T
7	210G	16354A
8	228A	16362C
9	263G	16519C
10	309.1C	73G
11	315.1C	152C
12	385T	263G
13	523D	309.1C
14	524D	309.2C
15		315.1C

Likelihood ratio	**0**	*Prior Prob*	**0.500**	*Probability*	**0.00000000** *%*
Match type	**Pattern**	*Disregard indels at position*		**16193, 309, 455, 573**	
No of match record	**0**	*Total records in Database*		**0**	
Haplotype frequency (upper 95%CI)	**0.000000**	*% (Using Clopper-Pearson method)*			

จากการเปรียบเทียบลำดับเบสของสารพันธุกรรมบริเวณ control region บนไมโตคอนเดรียของผู้รับการตรวจกับสารพันธุกรรมอ้างอิง (rCRS: NC012920; Andrews et al.,1990) พบว่า

*** นางสาว ลันตา ดรีม ไม่มีความสัมพันธ์เป็นญาติร่วมบรรพบุรุษสายแม่เดียวกัน เช่น พี่-น้อง กับ นางสาว ธัญญาเรศ ลาเบล โดยมีตำแหน่งที่เข้ากันไม่ได้ ตั้งแต่ 2 ตำแหน่งขึ้นไป

.....
(นางจินดนา ประดุจกาญจนา)
นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
ผู้รายงานผลการตรวจ
วันที่

.....
(นายสุคนธ์ ประดุจกาญจนา)
นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
ผู้ตรวจสอบผลการตรวจ
วันที่

ผลการตรวจวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสายเลือด

กรณี PI, FS, HS, FC, II

หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เลขที่ **57301**

บุคคลที่ 1 : นางสาว ลันตา ดรีม (ผู้ถูกกล่าวอ้างว่าเป็น พี่) :

เลขที่ตัวอย่าง F301M-1 วันที่รับตัวอย่าง : 2 กันยายน 2557 ตัวอย่างตรวจ : Buccal cells

บุคคลที่ 2 : นางสาว ธัญญาเรศ ลาเบล (น้อง) :

เลขที่ตัวอย่าง F301M-2 วันที่รับตัวอย่าง : 2 กันยายน 2557 ตัวอย่างตรวจ : Buccal cells

	LociName	F301M-1	F301M-2	PI	FS	HS	FC	II
1	D8S1179	11, 13	11, 13	3.4542	7.6463	2.2271	1.6136	2.2206
2	D21S11	30, 31	29, 30	1.0595	0.7798	1.0298	1.0149	0.5000
3	D7S820	8, 11	9, 12	0.0018	0.2500	0.5000	0.7500	0.0018
4	CSF1PO	10, 11	10, 11	2.0611	3.2993	1.5306	1.2653	1.4988
5	D3S1358	14, 16	16, 17	0.6978	0.5989	0.8489	0.9245	0.5000
6	THO1	6, 8	6, 7	2.5861	1.5430	1.7930	1.3965	0.5000
7	D13S317	9, 12	8, 8	0.0026	0.2500	0.5000	0.7500	0.0026
8	D16S539	9, 12	10, 11	0.0019	0.2500	0.5000	0.7500	0.0019
9	D2S1338	23, 25	20, 23	1.4294	0.9647	1.2147	1.1073	0.5000
10	D19S433	14, 15.2	13, 14	1.0386	0.7693	1.0193	1.0097	0.5000
11	vWA	16, 17	18, 18	0.0029	0.2500	0.5000	0.7500	0.0029
12	TPOX	8, 8	8, 8	1.7072	1.8374	1.3536	1.1768	1.3723
13	D18S51	16, 17	11, 16	1.4635	0.9817	1.2317	1.1159	0.5000
14	D5S818	10, 12	12, 14	1.0750	0.7875	1.0375	1.0188	0.5000
15	FGA	18, 24	24, 25	1.7103	1.1052	1.3552	1.1776	0.5000
16	Amelogenin	X, X	X, X	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
17	Blood Group	B (บี)	B (บี)	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000

CPI **0.00000000** *PostProbPI* **2.31061E-07** %

CFS **0.08274033** *PostProbFS* **7.641751968** % *Theta* **0.010**

CHS **0.96924764** *PostProbHS* **49.21918505** %

Prior Prob. **0.500**

CFC **1.49073643** *PostProbFC* **59.85123163** %

CII **0.00000000** *PostProbII* **4.44020E-11** % *(Theta = 0.0; Prior Prob =* **0.500** *)*

Mutation **4** **(D13S317, D16S539, D7S820, vWA,)**

applied biosystems
part of life technologies

Gene Plus Co., Ltd.
240/56, 240/58 Fl.24, Ayothaya Tower, Ratchadaphisek Rd.,
Huay Kwang, Bangkok 10310 Thailand
Tel.66(0) 2692 9330 Fax.66(0) 269 9550 info@gene-plus.com

จัดโดย....หน่วยนิติเวชศาสตร์และพิษวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
อ. หาดใหญ่ จ. สงขลา โทรศัพท์ : 0 7445 1570