

## ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ DNA ที่สกัดจากเลือดของผู้เสียชีวิต โดยวิธี Salting-out กับวิธี Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol

กาญจนา สุจิระชาโต<sup>1</sup>, ปิยะ วงศ์ญาณิน<sup>1</sup>, มณีรัตน์ ปัสสะ<sup>1</sup>, ศุภาวรรณ เพชรโต<sup>1</sup>,  
ภัทรภณ หมั่นกิจ<sup>1</sup>, วิชาญ เปี้ยวนิม<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้าน  
สมเด็จพระเจ้าพระยา กรุงเทพมหานคร

<sup>2</sup>สาขาวิชานิติเวชศาสตร์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี  
มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร

\*Corresponding author email: nitvejrama@hotmail.com

ได้รับบทความ: 20 มีนาคม 2563

ได้รับบทความแก้ไข: 31 พฤษภาคม 2563

ยอมรับตีพิมพ์: 5 มิถุนายน 2563

### บทคัดย่อ

การตรวจดีเอ็นเอเป็นการตรวจที่มีความน่าเชื่อถือมากในงานนิติวิทยาศาสตร์เพื่อใช้ยืนยันผู้กระทำผิด ดีเอ็นเอต้องมีคุณภาพดีเพื่อให้ผลการตรวจถูกต้อง การสกัดดีเอ็นเอจากเลือดมีหลายวิธี ที่นิยมใช้กันมากคือวิธี Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol และวิธี Salting-out การศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอที่สกัดโดยวิธีฟินอลคลอโรฟอร์มไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ และวิธี Salting-out ได้สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดของผู้เสียชีวิตจำนวน 50 ราย แล้ววัดปริมาณและความบริสุทธิ์ (A260/280) ของดีเอ็นเอ ด้วยเครื่องวัดปริมาณสารพันธุกรรมในปริมาณน้อย และทดสอบคุณภาพโดยพีซีอาร์ เปรียบเทียบวิธีสกัดดีเอ็นเอโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS พบว่าวิธีฟินอลคลอโรฟอร์มไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ได้ปริมาณดีเอ็นเอสูงกว่าวิธี Salting-out อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.0001$ ) จากตัวอย่างเลือด 0.7 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณของดีเอ็นเอเฉลี่ยโดยวิธีฟินอลคลอโรฟอร์มไอโซเอมิลแอลกอฮอล์เท่ากับ  $198.8 \pm 164.7$  นาโนกรัมต่อไมโครลิตรในปริมาตร 300 ไมโครลิตร ขณะที่วิธี Salting-out ได้ดีเอ็นเอเฉลี่ยเท่ากับ  $108.7 \pm 120.3$  นาโนกรัมต่อไมโครลิตร รายที่มีดีเอ็นเอน้อยกว่า 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร พบ 16 รายในกลุ่ม Salting-out และ 2 รายในกลุ่มฟินอลคลอโรฟอร์มไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ความ

บริสุทธิ์ของดีเอ็นเอ ทั้ง 2 วิธีไม่แตกต่างกัน ทุกรายมีค่า A260/280 มากกว่า 1.5 ไม่มีปัญหาในการทำพีซีอาร์ ค่าใช้จ่ายและเวลาสกัดดีเอ็นเอทั้ง 2 วิธีใกล้เคียงกัน สรุปวิธีฟีนอลคลอโรฟอร์มไอโซเอมิลแอลกอฮอล์และวิธี Salting-out สามารถใช้สกัดดีเอ็นเอจากเลือดได้ วิธีฟีนอลคลอโรฟอร์มไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ดีสำหรับปริมาณเลือดน้อย

**คำสำคัญ:** สกัดดีเอ็นเอจากเลือด / Salting-out /  
ฟีนอลคลอโรฟอร์มไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

## Comparative Study of DNA Extracted from Blood by Salting-Out and Phenol/Chloroform/Isoamyl Alcohol

Kanchana Sujirachato<sup>1</sup>, Piya Wongyanin<sup>1</sup>, Maneerat Passa<sup>1</sup>, Supawan Petto<sup>1</sup>,  
Pattarapon Mongid<sup>1</sup>, Vichan Peonim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Technology, Faculty of Science and Technology,  
Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok

<sup>2</sup>Division of Forensic Medicine, Department of Pathology, Faculty of Medicine,  
Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok

\*Corresponding author email: nitivejrama@hotmail.com

Received: 20 March 2020

Revised: 31 May 2020

Accepted: 5 June 2020

### Abstract

DNA testing is a highly sensitive and reliable method for personal identification especially for justice process. An accurate result will be obtained from good quality DNA outcome. There are many methods of DNA extraction from blood. Two widely used manual techniques are phenol/chloroform/isoamyl alcohol and salting-out. The aim of this study is to compare DNA extraction techniques by phenol/chloroform/isoamyl alcohol and salting-out. Fifty postmortem EDTA blood samples were studied. The DNA concentration and purity (A260/280) were determined by Nanodrop and PCR amplification. SPSS was used for comparison analysis. Phenol/chloroform/isoamyl alcohol gave significantly higher DNA concentration than salting-out ( $p < 0.0001$ ). From 0.7 ml of blood sample, the result showed that average DNA concentration from phenol/chloroform/isoamyl alcohol was  $198.8 \pm 164.7$  ng/ $\mu$ l in 300  $\mu$ l whereas  $108.7 \pm 120.3$  ng/ $\mu$ l was obtained from salting-out. Samples with DNA less than 50 ng/ $\mu$ l were found in 16 cases and 2 cases of salting-out and

phenol/chloroform/isoamyl alcohol, respectively. The purity of DNA from both techniques was similar. All subjects had A260/280 value (purity) greater than 1.5. The cost and time for DNA extraction by both techniques were not quite different. Both techniques can be used for DNA extraction from blood. Phenol/chloroform/isoamyl alcohol would be better for small amount of blood.

**Keywords:** DNA extraction / Salting-out /  
Phenol/Chloroform/Isoamyl alcohol