การพัฒนาเทคนิค Real-time PCR ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม

Developing of Real-time PCR Technique for Detection of Genetically Modifield Papaya

อัญชลี ศรีสุวรรณ[1/] ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์[1/]
หทัยรัตน์ อุไรรงค์[1/] กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร[2/]

[1/] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ [2/] สำนักผู้เชี่ยวชาญ

บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิค Real-time PCR ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม วัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการตรวจวิเคราะห์มะละกอดัดแปรพันธุกรรม ด้วยวิธี Real-time PCR ให้มีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำ และเชื่อถือได้ โดยตรวจมะละกอดัดแปรพันธุกรรม 8 ตัวอย่าง ได้แก่ Sunup GM, Rainbow GM, แขกดำ GM , มะละกอ Non-GM และ มะละกอ unknown เบอร์ A B C และ D นำตัวอย่างมาสกัด DNA ด้วยวิธี 2%CTAB นำมาตรวจคุณภาพ DNA โดยตรวจ endogenous gene ของมะละกอคือ Papain gene พบว่า DNA มีคุณภาพคือไม่มีสารยับยั้งปฏิกิริยา PCR แล้วนำ DNA มาเพิ่มปริมาณยีนด้วยคู่ primer ต่างๆ ได้แก่ 35SF / 35SR, Nos-1/ Nos-3, Nos C5' / CaM N-3' และ CaM 03-5'/ GUS n-3' เพื่อจำแนกมะละกอดัดแปรพันธุกรรม ด้วยวิธี Real-time PCR พบว่า primer 35SF / 35SR, Nos-1/ Nos-3 และ CaM 03-5'/ GUS n-3' สามารถเพิ่มปริมาณมะละกอ GM ชนิด Sunup GM, Rainbow GM ซึ่งเป็นของฮาวาย และแขกดำ GM ของไทย แต่ primer Nos C5' / CaM N-3' ไม่สามารถเพิ่มปริมาณยีน แขกดำ GM ได้ ซึ่งแสดงว่ายีนช่วง Nos-terminator ถึง 35S CaMV promoter มะละกอแขกดำ GM ของไทย มีความแตกต่างกันกับมะละกอฮาวาย ซึ่งเป็นจุดที่ใช้แยกความแตกต่างของมะละกอดัดแปรพันธุกรรมระหว่างแขกดำของไทย และฮาวาย และจากการตรวจตัวอย่าง unknown เบอร์ A B C และ D พบว่าตัวอย่าง A B และ D เป็นมะละกอ GM ซึ่งให้ผลเหมือนมะละกอ GM ของฮาวายคือ Sunup GM และ Rainbow GM สำหรับ C เป็นมะละกอ Non GM