การพัฒนาเทคนิค Real - time PCR ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม

Developing of Real-time PCR Technique for Detection of Genetically Modified Maize

ขนิษฐา วงศ์วัฒนารัตน์[1/] อัญชลี ศรีสุวรรณ[1/]

ประเสริฐ วงศ์วัฒนารัตน์[2/] กิตติศักดิ์ กีรติยะอังกูร[3/]

[1/] สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

[2/] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

[3/] สำนักผู้เชี่ยวชาญ กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

การพัฒนาเทคนิค Real-time PCR ในการตรวจสอบการปนเปื้อนของข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรม ด้วยวิธี Real-time PCR ให้มีประสิทธิภาพ มีความแม่นยำ และเชื่อถือได้ โดยการสกัด DNAของข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรมสายพันธุ์ Bt11, E176, T25 และ MON810 ด้วยวิธี guanidinium-chloroform นำมาตรวจคุณภาพ DNA โดยตรวจ endogenous gene ของข้าวโพดคือ zein gene พบว่า DNA มีคุณภาพไม่มีสารยับยั้งปฏิกิริยา PCR แล้วนำมาหาความไวในการตรวจการปนข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรมสายพันธุ์ Bt11, E176, T25 และ MON810 ที่ระดับ 0, 0.1, 0.5, 1, 2 และ 5% โดยเพิ่มปริมาณยีนด้วยคู่ primer ต่างๆ ได้แก่ Intron IVS2-2/ PAT, Cry03/ Cry03, T25-F7/ T25-R3 และ VWO1/ VWO2 เพื่อจำแนกข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรมสายพันธุ์ Bt11, E176, T25 และ MON810 ตามลำดับ พบว่าทุก primer มีความไวในการตรวจการปนข้าวโพดดัดแปรพันธุกรรมสายพันธุ์ Bt11, E176, T25 และ MON810 ระดับต่ำสุดถึง 0.1% และมีความจำเพาะเจาะจงสูง โดยไม่สามารถเพิ่มปริมาณยีนของชนิดอื่นได้