

การตรวจสอบพืชดัดแปลงพันธุกรรม (Detection of genetically modified plants)

จันทร์แรม รูปข้า

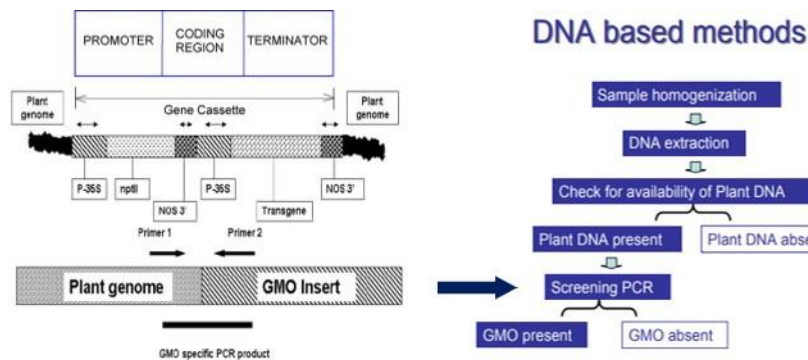
นักวิจัยชำนาญการพิเศษ ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์
สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมหรือที่เรียกกันว่า GMOs (Genetically Modified Organisms) เข้ามามีบทบาทในหลายด้านไม่ว่าจะอาหาร สินค้าเกษตร และยารักษาโรค ซึ่งประชากรที่มีทั้งต่อต้านไม่ยอมรับและประชากรที่ยอมรับและได้รับอนุญาตให้ใช้ GMOs ภายใต้ข้อกำหนดและกฎหมายของแต่ละประเทศโดยเฉพาะสินค้าเกษตร ซึ่งกระบวนการทำ GMOs ต้องใช้เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) เข้ามาดัดต่อยีนที่ต้องการแทนการผสมพันธุ์โดยวิธีธรรมชาติ ซึ่งยีนที่ต้องการนี้อาจมาจากสิ่งมีชีวิตต่างกัน เช่น จากพืช สัตว์ หรือจุลินทรีย์ เมื่อคัดเลือกได้ยีนที่สนใจแล้วนำยีนนั้นใส่เข้าไปในโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตที่ต้องการ ยีนที่สนใจหรือยีนที่ต้องการนั้นเกิดจากชุดของยีน (gene cassette) ซึ่งมีส่วนประกอบ 3 ส่วน คือ

1. ชุดยีนควบคุมการทำงานของยีน ทำหน้าที่เหมือนสวิทช์เปิดและปิดการทำงานของยีนประกอบด้วยโปรโมเตอร์ (promoter) ทำหน้าที่เปิดการทำงานของยีนและเทอร์มิเนเตอร์ (terminator) ทำหน้าที่หยุดหรือปิดการทำงานของยีน ซึ่งมีให้เลือกใช้หลายตัวแต่ที่นิยมใช้ในพืชคือ CaMV 35S promoter และ NOS terminator
2. ชุดยีนคัดเลือก (selectable marker gene) เป็นยีนที่ใช้ในการบ่งชี้ว่ามียีนใหม่ที่เข้าสู่สิ่งมีชีวิตที่ทำการดัดแปลงพันธุกรรม เช่น ยีนที่สามารถต้านสารปฏิชีวนะ (antibiotic resistant)
3. ยีนเป้าหมาย (transgene or reporter gene) เป็นยีนที่ทำให้สิ่งมีชีวิตนั้นแสดงลักษณะใหม่ที่ต้องการ เช่น ยีนต้านวัชพืช ต้านยาฆ่าแมลง ยีนชะลอการสุก เป็นต้น

ในพืชดัดแปลงพันธุกรรมหรือพืช GMOs นั้นทำเพื่อการปรับปรุงพันธุ์วิธีการถ่ายยีนเข้าสู่พืชได้ 2 วิธีคือ ทางตรงและทางอ้อม โดยการถ่ายฝากยีนทางตรง (direct gene transfer) ทำโดยใช้เครื่องยิงอนุภาคเป็นการใช้แรงดันจากกาซฮีเลียมขับเคลื่อนอนุภาคทองที่เคลือบผิวด้วยอีเอ็นเอหรือยีนที่สนใจเปรียบเหมือนกระสุนใช้ยิงอนุภาคให้ทะลุผ่านผนังเซลล์พืชให้ดีเอ็นเอที่เคลือบอยู่ที่ผิวอนุภาคทองรวมตัวกับโครโมโซมของพืช และการปลูกถ่ายยีนทางอ้อมทำได้โดยอาศัยแบคทีเรียเป็นพาหะโดยใช้อะโกรแบคทีเรีย สายพันธุ์ที่นิยมใช้คือ *Agrobacterium tumefaciens* ที่มี Ti plasmid (Tumor Inducing Plasmid) เมื่อพืชเกิดบาดแผลแบคทีเรียชนิดนี้บุกรุกเข้าสู่พืชทางบาดแผลจะทำให้พืชเกิดปุ่มปมเกิดโรคที่เรียกว่า Crow Gall Disease โดยจะส่ง T-DNA (Transfer DNA) เข้าไปสอดแทรกอยู่ในโครโมโซมของพืชทำให้เกิดโรค

สินค้าเกษตร อาหารหรืออาหารสัตว์ไม่ว่าการนำเข้าหรือส่งออกไปยังสหภาพยุโรปหรือจำหน่ายในประเทศต้องมีการตรวจสอบมาตรฐานของสินค้า GMOs การตรวจสอบสามารถตรวจสอบได้จากดีเอ็นเอและโปรตีน โดยการตรวจสอบจากโปรตีนด้วยวิธี ELISA (Enzymed Linked Immunosorbant Assay) ใช้ในการตรวจผลิตภัณฑ์ GMOs เพื่อแยกจากผลิตภัณฑ์ปกติเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วประหยัดค่าใช้จ่าย ซึ่งมีข้อจำกัดที่อาจเกิด false positive และ false negative ได้ง่าย และการตรวจสอบจากดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) (ภาพที่1)



ภาพที่ 1 การตรวจสอบพืชดัดแปลงพันธุกรรม

วิธี PCR เป็นการเพิ่มปริมาณยีนหรือบริเวณที่ต้องการตรวจสอบอาศัยการจับตัวกันของเบสคู่สมในสายดีเอ็นเอเพื่อสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ โดยมีดีเอ็นเอเริ่มต้นซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายสั้นๆ หรือไพรเมอร์ (primer) ซึ่งออกแบบมาจากของดีเอ็นเอที่อยู่บนยีนนั้นหรือบริเวณตำแหน่งที่เราต้องการตรวจสอบเข้าจับกับดีเอ็นเอต้นแบบบนชุดของยีนอาจเป็นตำแหน่งบนโปรโมเตอร์เทอร์มินเตอร์หรือบริเวณยีนคัดเลือก (ตารางที่1)

ตารางที่ 1 Marker and reporter genes for gene transfer in plant

Gene	Enzyme/protein encoded	Antibiotic resistance
Marker gene		
<i>hpt</i>	hygromycin phosphotransferase	hygromycin resistant
<i>dhfr</i>	dihydrofolate reductase	methotrexate resistant
<i>CAT</i>	chloramphenicol acetyltransferase	chloramphenicol resistant
<i>NPTII</i>	neomycin phosphotransferase	kanamycin resistant
<i>AroA</i>	5-enolpyruvate shikimate-3-phosphate synthase	glyphosate resistant
Reporter gene		
<i>CAT</i>	chloramphenicol acetyltransferase	
<i>GUS</i>	beta-glucuronidase	
<i>nos</i>	nopaline synthase	
<i>luc</i>	luciferase	
<i>b-gal</i>	beta-galactosidase	
<i>gfp</i>	green fluorescent protein	

ในสหภาพยุโรปมีการห้ามการเพาะปลูกหรือนำเข้าสินค้าหรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบที่เป็น GMOs เพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพ ยกเว้นในกรณีที่สินค้าดังกล่าวได้รับอนุญาตจากหน่วยงานของสหภาพยุโรปและต้องมีหลักฐานยืนยันข้อมูลงานวิจัยว่าสินค้านั้นหรือพืชนั้นปลอดภัยต่อสุขภาพของมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อม ที่มีความปลอดภัยไม่ต่างจากพืชปกติสำหรับประเทศไทยยังไม่มีความหมายที่เกี่ยวข้องกับพืช GMOs จึงไม่อนุญาตให้มีการเพาะปลูกหรือนำเข้าพืชหรือเมล็ดพันธุ์ GMOs ยกเว้นการศึกษาวิจัย ซึ่งสินค้าหรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของ GMOs ต้องติดฉลากบนผลิตภัณฑ์อย่างชัดเจน

วิธี PCR จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ผลิตภัณฑ์หรือส่วนประกอบของอาหาร ซึ่งเป็นวิธีที่รวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่ายและนิยมใช้ในการตรวจแยกหรือตรวจสอบการปลอมปนของผลิตภัณฑ์ GMOs

เอกสารอ้างอิง

- Dong, W., Yang, L., Shen, K., Kim, B., Kleter, G.A., Marvin, H.J., Guo, R., Liang, W. and Zhang, D., 2008. GMDD: a database of GMO detection methods. *BMC bioinformatics*, 9(1), pp.1-8.
- Lübeck, M. and Haugaard, H., 2002. *Detection of genetically modified plants: Methods to sample and analyse GMO content in plants and plant products*. Danish Forest and Nature Agency.
- McNevin, D., Wright, K., Chaseling, J. and Barash, M., 2019. Commentary on: Bright et al.(2018) Internal validation of STRmix™ – a multi laboratory response to PCAST, Forensic Science International: Genetics, 34: 11–24. Forensic Science International: Genetics, 41, pp.e14-e17.