

เทคโนโลยีการวิเคราะห์สารพันธุกรรม: การเปรียบเทียบ PCR, Sanger Sequencing และ NGS

Genetic analysis technologies: A comparison of PCR, Sanger Sequencing, and NGS

จันทร์แรม ฐาปชา

นักวิจัยชำนาญการพิเศษ ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เทคนิคทางอณูชีววิทยามีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษาสารพันธุกรรมทั้ง DNA และ RNA โดยเฉพาะเทคนิค PCR (Polymerase Chain Reaction, Sanger Sequencing และ Next Generation Sequencing (NGS) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในงานวิจัย การวินิจฉัยโรค และการแพทย์แม่นยำ โดยได้สรุปหลักการทำงาน จุดเด่น ข้อจำกัด และความแตกต่างของเทคโนโลยีทั้งสาม รวมถึงความสัมพันธ์และการประยุกต์ใช้ในงานวิจัยและงานคลินิก

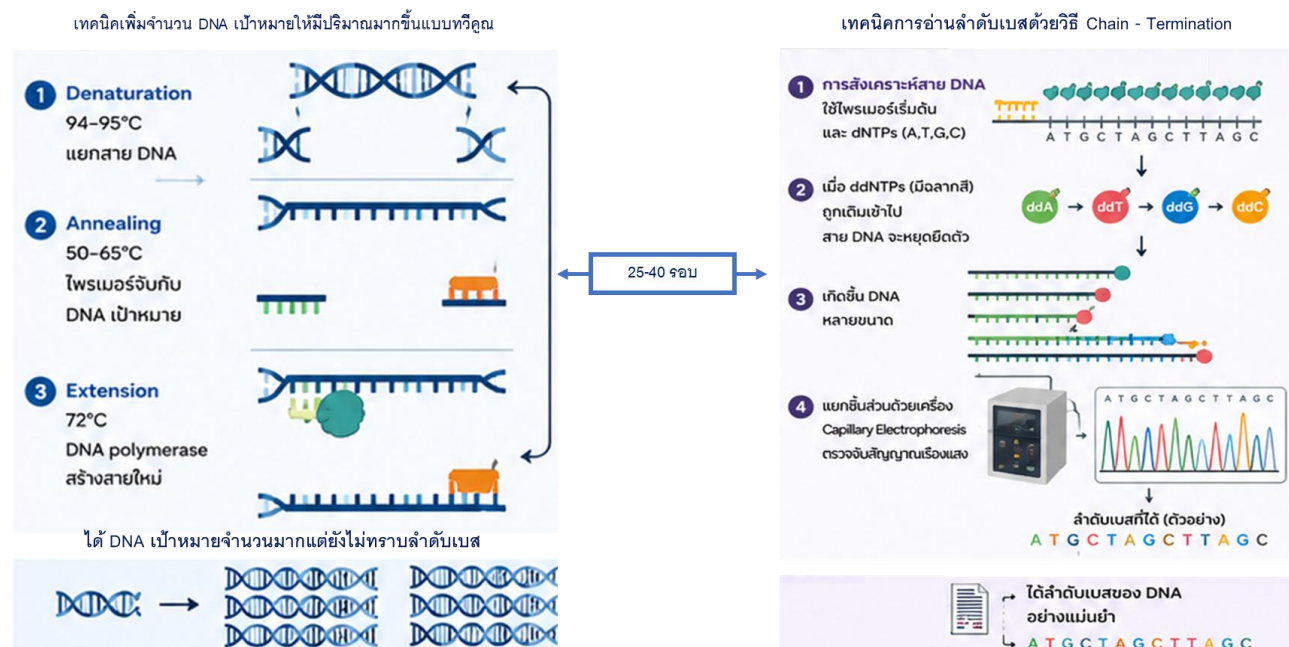
จากการศึกษา พบว่า PCR เป็นเทคนิคเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมาย, Sanger Sequencing ใช้สำหรับอ่านลำดับเบสของ DNA บริเวณที่เฉพาะ มีความแม่นยำสูง (ภาพที่ 1) ส่วน NGS สามารถอ่านลำดับเบสได้ทั้งจีโนม ซึ่งทั้ง 3 เป็นเทคโนโลยีสำคัญที่มีบทบาทในห้วงปฏิบัติการทางการแพทย์และงานวิจัย (Goodwin, McPherson, & McCombie, 2016) แม้เทคนิคเหล่านี้จะเกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ DNA เหมือนกัน แต่มีหลักการ วัตถุประสงค์ และศักยภาพในการให้ข้อมูลแตกต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งสามารถอธิบายและเปรียบเทียบแต่ละเทคโนโลยีได้ดังนี้

1. PCR (Polymerase Chain Reaction)

PCR เป็นเทคนิคที่ใช้เพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA เป้าหมายให้มีจำนวนมากเพียงพอสำหรับการนำไปวิเคราะห์ขั้นต่อไป โดยอาศัย DNA polymerase, primers, dNTPs และแม่แบบ DNA กระบวนการเกิดขึ้นในเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (Thermal cycle) ผ่าน 3 ขั้นตอนหลักและทำซ้ำ 25-40 รอบ (Mullis & Faloona, 1987)

2. Sanger Sequencing (Chain-Termination Sequencing)

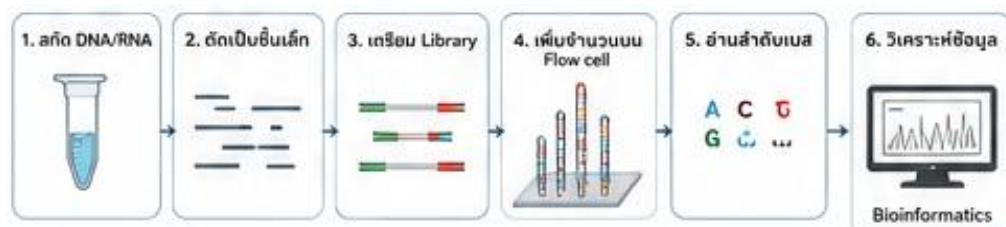
อาศัยการสังเคราะห์สาย DNA โดยใช้ dNTPs ร่วมกับ ddNTPs (dideoxynucleotides) ซึ่งเมื่อ ddNTPs ถูกเติมเข้าไป จะทำให้การยืดยาวหยุดลง เกิดขึ้นส่วน DNA ที่มีความยาว DNA ที่แตกต่างกัน จากนั้นนำไปแยกขนาดด้วย Capillary electrophoresis ตรวจจับสัญญาณเกิดแสงเพื่ออ่านลำดับเบส (Sanger, Nicklen, & Coulson, 1977)



ภาพที่ 1 หลักการทำงานของ Polymerase Chain Reaction และ Sanger Sequencing

3. Next – Generation Sequencing (NGS)

NGS คือเทคโนโลยีการหาลำดับสารพันธุกรรม (DNA/RNA sequencing) รุ่นใหม่ ที่สามารถอ่านลำดับเบสจำนวนมากหลายล้านล้านครั้งพร้อมกัน (massively parallel sequencing) ทำให้วิเคราะห์ข้อมูลพันธุกรรมได้รวดเร็ว แม่นยำ NGS ถือเป็นเทคโนโลยีสำคัญในยุคชีววิทยาระดับโมเลกุล เพราะช่วยให้สามารถศึกษาจีโนมทั้งหมดของสิ่งมีชีวิต วิเคราะห์การกลายพันธุ์ ตรวจเชื้อโรค และศึกษาการแสดงออกของยีนได้ในระดับลึก เหมาะสำหรับงานด้าน Whole genome sequencing, Exome sequencing, Transcriptomic, Metagenomics เป็นต้น มีหลักการทำงานโดยสรุป ดังภาพที่ 2

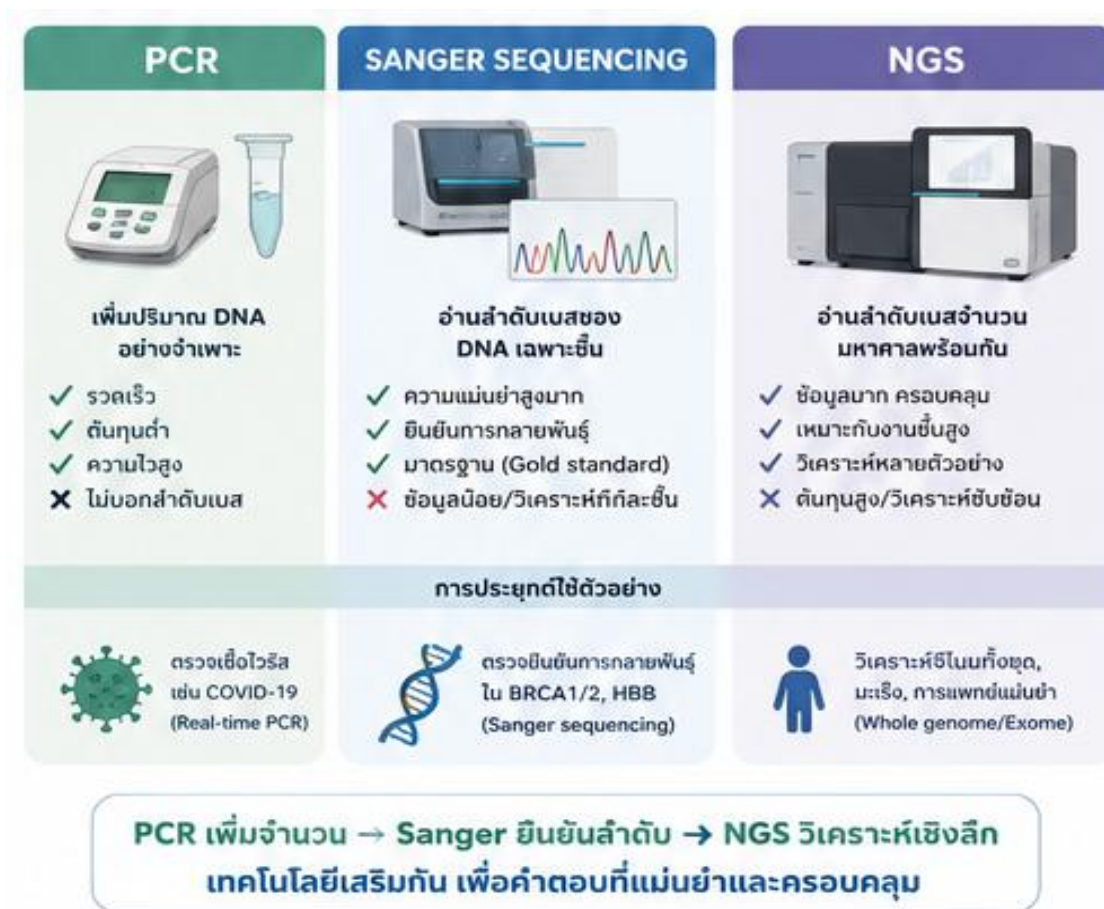


ภาพที่ 2 หลักการทำงานของ Next – Generation Sequencing (NGS)

ดังนั้น การทำความเข้าใจความเหมือน ความแตกต่าง จุดเด่น และข้อจำกัดของแต่ละเทคโนโลยี จึงมีความสำคัญต่อการเลือกใช่วิธีการที่เหมาะสมในงานวิจัยและการวินิจฉัยทางการแพทย์ หลักการทำงาน การประยุกต์ใช้ และการเปรียบเทียบเทคโนโลยี PCR, Sanger Sequencing และ NGS อย่างเป็นระบบ (ตารางที่ 1, ภาพที่ 3)

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบเทคนิค Polymerase Chain Reaction, Sanger Sequencing และ Next-Generation Sequencing

หัวข้อ	PCR	Sanger Sequencing	NGS
วัตถุประสงค์	เพิ่มปริมาณ DNA	อ่านลำดับเบส	อ่านลำดับเบสจำนวนมาก
ปริมาณข้อมูล	ต่ำ	ปานกลาง	สูงมาก
ความยาวที่อ่านได้	ไม่อ่านลำดับ	500–1000 bp	75–600 bp/read
ความแม่นยำ	สูง	สูงมาก	สูง
ความเร็ว	เร็ว	ปานกลาง	เร็วมาก
ต้นทุนต่อตัวอย่าง	ต่ำ	ปานกลาง	สูง
งานที่เหมาะสม	ตรวจเชื้อ, ตรวจยีน	ยืนยันการกลายพันธุ์	Whole Genome, Metagenomics



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง PCR, Sanger Sequencing และ NGS

PCR, Sanger Sequencing และ NGS เป็นเทคโนโลยีสำคัญทางพันธุศาสตร์ที่มีบทบาทแตกต่างกัน โดย PCR ใช้เพิ่มจำนวน DNA, Sanger Sequencing ใช้อ่านลำดับเบสของ DNA เป้าหมายด้วยความแม่นยำสูง และ NGS ใช้อ่านลำดับเบสจำนวนมหาศาลพร้อมกัน ทำให้สามารถศึกษาทั้งจีโนมได้อย่างครอบคลุม ปัจจุบัน NGS ได้กลายเป็นเทคโนโลยีหลักในงานจีโนมิกส์ และเมตาจีโนมิกส์ (Goodwin et al., 2016) ขณะที่ PCR และ Sanger Sequencing ยังคงมีความสำคัญในงานวินิจฉัยและการยืนยันผลการวิเคราะห์ทางพันธุกรรม

เอกสารอ้างอิง

- Frederick Sanger, S., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463–5467.
- Goodwin, S., McPherson, J. D., & McCombie, W. R. (2016). Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*, 17(6), 333–351.
- Kary Mullis, F., & Faloona, F. A. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology*, 155, 335–350.
- Mardis, E. R. (2008). Next-generation DNA sequencing methods. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 9, 387–402.
- World Health Organization. (2024). Genomic sequencing guide for public health laboratories.
- National Human Genome Research Institute. (2025). DNA Sequencing Fact Sheet.