

ชาลินี คงสวัสดิ์ 2553: การศึกษาโปรตีนใหม่และโปรตีนโอมิกส์ของมะละกอดัดแปลงพันธุกรรม
ต้านทานโรคไวรัสใบด่างวงแหวน ปรินญาปรัชญาคุณภูมิจิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขา
เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
หลัก: รองศาสตราจารย์ชัย โหมสตรัตน, Ph.D. 188 หน้า

การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพตามหลักการเทียบเท่า (substantial equivalence) โดยการ
ตรวจสอบการแสดงออกของโปรตีนจากชิ้นจำนวน 2 ชิ้น คือ ชิ้นของโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสใบด่างวง
แหวนมะละกอ (PRSV-CP) และ ชิ้นของโปรตีน neomycin phosphotransferase (NPTII) ที่ถ่ายเข้าสู่มะละกอ
ดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อต้านทานต่อไวรัสใบด่างวงแหวน สายพันธุ์แยกนวล 116/5 รุ่น R₄ ด้วยวิธี Western blot
จากตัวอย่าง ใบอ่อน ใบแก่ ดอก ผลและราก พบว่า มีการแสดงออกของโปรตีน neomycin phosphotransferase
ที่ถ่ายเข้าสู่เซลล์เพื่อทำหน้าที่เป็นตัวคัดเลือกมะละกอดัดแปลงพันธุกรรม โดยตรวจพบโปรตีนนี้ในทุกส่วนของ
พืช และในปริมาณที่มากในส่วนของการเนื้อเยื่อใบ แต่ตรวจไม่พบการแสดงออกของโปรตีน PRSV-CP จากนั้น
ตรวจการแสดงออกของยีน โดยใช้เทคนิค 2-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2-D PAGE) และ
วิเคราะห์เปรียบเทียบจุดโปรตีนบน 2-D PAGE ด้วยโปรแกรม ImageMaster 2D Platinum software จากนั้น นำ
โปรตีนที่แตกต่างมาจำแนกชนิดของโปรตีนด้วยเครื่อง matrix-assisted laser desorption ionization time-of-
flight mass spectrometer (MALDI-TOF/TOF MS) ผลการศึกษาพบว่า รูปแบบโปรตีนบน 2-D PAGE ของ
เนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของมะละกอดัดแปลงพันธุกรรมและมะละกอสายพันธุ์เดิมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี
นัยสำคัญ เมื่อพิจารณาจากรูปแบบของโปรตีนโดยวิเคราะห์ด้วยสายตา แต่เมื่อวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม
ImageMaster 2D Platinum software พบจำนวนจุดของโปรตีนบน 2-D PAGE ของมะละกอดัดแปลงพันธุกรรม
กับมะละกอสายพันธุ์เดิมจากเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของมะละกอในระยะต้นกล้า (60 วัน) และระยะติดผลแก่ (270
วัน) มีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนอยู่ระหว่าง 94.46 – 98.72 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่ได้ต่ำกว่าความเหมือนของจุดโปรตีน
ที่วิเคราะห์จากตัวอย่างเดียวกันในต่างซ้ำ (replication) ของการทดลอง ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 92.27 – 99.39
เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำจุดของโปรตีนที่แตกต่างไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง MALDI-TOF/TOF MS และวิเคราะห์
ลำดับกรดอะมิโน โดยเทคนิค *de novo* sequencing นำข้อมูลไปเปรียบเทียบพบว่า โปรตีนเหล่านี้ไม่เหมือนกับ
โปรตีนที่ก่อให้เกิดภูมิแพ้ใดๆ ในฐานข้อมูล AllergenOnline เวอร์ชัน 10.0 ตามมาตรฐานของคณะกรรมการ
โครงการมาตรฐานอาหาร (codex alimentarius commission)