ก 2011

เดลินิวส์
ฉบับที่ 16,413 วันอังคารที่ 20 กันยายน พ.ศ.2537 ราคา 5.00 บาท DAILY NEWS

เทคโนโลยีชีวภาพกับการวิเคราะห์จุลินทรีย์ในอาหาร : นิวคลีโอไทด์โพรบ

โครงการเผยแพร่ความรู้ผ่านสื่อสารมวลชน ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ห้องสมุดกรมวิทยาศาสตร์บริการ

ในการตรวจหาจุลินทรีย์เชื้อโรคที่ปนเปื้อนมาในอาหารนั้น ได้หันมานิยมใช้วิธีที่อาศัยเทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพกันมากขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่มีความรวดเร็ว (rapid) และไว (sensitivity) ต่อการเกิดปฏิกิริยา รวมทั้งมีความถูกต้องแม่นยำสูง (accuracy) ในกรณีนี้อาจใช้การตรวจหาสารนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) หลายชนิดของจุลินทรีย์เป้าหมายเช่น อาจตรวจหา ดีเอ็นเอ หรืออาร์เอ็นเอ ชนิดต่าง ๆ แต่ในทางด้านการวิเคราะห์หาเชื้อโรคในอาหารนิยมใช้การตรวจหา อาร์เอ็นเอที่เป็นองค์ประกอบของไรโบโซม (rRNA) เนื่องจากมีจำนวนก๊อปปี้มาก คือมีราว 1,000-10,000 ก๊อปปี้ต่อหนึ่งเซลล์ ต่างจากดีเอ็นเอ ที่อาจมีจำนวนชุดเพียงหนึ่งหรือมากกว่านี้เพียงเล็กน้อยต่อเซลล์ขึ้นอยู่กับช่วงของการเจริญ เหตุที่ต้องการให้มีในปริมาณก๊อปปี้ต่อเซลล์มากก็เนื่องจากว่า ปกติมักมีเชื้อโรคปนเปื้อนมากับอาหารในปริมาณน้อย เช่น 1-1,000 เซลล์ต่ออาหารหนึ่งกรัม ฉะนั้นการวัดหาอาร์เอ็นเอจึงมีความแม่นยำสูงกว่าการวัดดีเอ็นเอ

อย่างไรก็ตาม rRNA ของแบคทีเรียในกลุ่มที่เป็นเชื้อโรคทางเดินอาหารมีความคล้ายคลึงกันมาก อันเป็นปัญหาต่อการเลือกจุดบนสายนิวคลีโอไทด์ที่มีความแตกต่างกันออกมาให้ได้ ในทางปฏิบัติจึงต้องออกแบบโพรบ (probe) ให้จับกับ rRNA หลาย ๆ จุด ซึ่งจะทำให้เห็นความแตกต่างระหว่างจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคกับจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นเชื้อโรค หรือเชื้ออื่น ๆ ที่มีความสัมพันธ์ของสารพันธุกรรมที่ใกล้ชิดกันมากออกจากกันได้.

การตรวจสอบอาศัยหลักการของความจำเพาะเจาะจงสูงในการเข้าจับคู่กัน หรือที่เรียกว่าไฮบริไดเซชั่น (hybridization) ระหว่างสายนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) สองสาย โดยสายหนึ่งจะยึดติดกับแท่งพลาสติก (dipstick) หรือลูกแก้ว เพื่อให้สามารถล้างและแยกออกจากสารละลายได้ง่าย ในสายเดียวกันนี้จะมีส่วนที่จะเกิดไฮบริไดเซชั่น หรือเกาะกับนิวคลีโอไทด์ที่แยกสกัดออกมาจากเซลล์จุลินทรีย์ที่ต้องการตรวจหา หากมีจุลินทรีย์ชนิดนี้อยู่ในตัวอย่างจะเกิดการเกาะกันของสายนิวคลีโอไทด์ทั้งสอง เมื่อผ่านการล้างเพื่อกำจัดส่วนที่ไม่จับกันออกไป นิวคลีโอไทด์ส่วนนี้ก็จะยังคงอยู่ แต่ถ้าไม่มีก็จะไม่เกาะกัน เมื่อล้างแล้วก็จะไม่มีนิวคลีโอไทด์เป้าหมายมาเกาะกับโพรบ (probe) เลย

ในการตรวจสอบมักใช้ปฏิกิริยาที่เกิดสีจากกิจกรรมของเอนไซม์เพื่อให้การตรวจเป็นไปได้ง่ายขึ้น จึงต้องมีนิวคลีโอไทด์สายที่สามที่ปลายข้างหนึ่งมีเอนไซม์เกาะอยู่ ส่วนอีกข้างเข้าเกาะกับสายนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์เป้าหมายอีกจุดหนึ่ง ที่นิยมกันมากคือเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจากพืช (horseradish peroxidase) ดังนี้เมื่อเกิดการเกาะกันตามที่ต้องการแล้วก็สามารถตรวจสอบได้โดยการเติมสับสเตรท (substrate) ของเอนไซม์คือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ลงไป ในสภาพที่มีสารให้สีได้แก่ เตทตระเมธิลเบนซิดีน (tetramethyl benzidine) จะทำให้เกิดสีฟ้า หรือสีน้ำเงินขึ้น ความเข้มข้นของสีผันแปรโดยตรงต่อปริมาณนิวคลีโอไทด์ของจุลินทรีย์เป้าหมาย ในกรณีนี้ใช้เวลาทั้งหมดเพียง 40 นาที หากรวมเวลาของการทำให้มีปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นแล้วจะกินเวลาทั้งหมดไม่ถึง 24 ชั่วโมง.