



บันทึกข้อความ

ส่วนงาน คณะวิทยาศาสตร์ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพันธุศาสตร์ โทร. ๓๙๓๕

ที่ อว ๖๙.๕.๙.๑ / ๑๒๔

วันที่ ๒๓/ กันยายน ๒๕๖๒

เรื่อง ขอส่งรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์จากการเข้าร่วมโครงการ

เรียน คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

ตามบันทึกข้อความ ที่ อว ๖๙.๕.๙.๑/ ๒๓ ลงวันที่ ๒๓ กรกฎาคม ๒๕๖๒ ได้อนุญาตให้ ข้าพเจ้า ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์ สังกัดสาขาวิชาพันธุศาสตร์ เข้าร่วมโครงการ Frontiers in AgTech Seminar Series Part ๓ “Genome Editing in Agriculture” งานสัมมนาด้านเทคโนโลยี ชันแนวหน้าในภาคการเกษตร ครอบคลุมเนื้อที่เกี่ยวกับเทคโนโลยีเชิงลึก (Deep Tech) โดยวิทยากร ผู้เชี่ยวชาญจาก มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ภาครัฐ และเอกชน ในวันที่ ๘ สิงหาคม ๒๕๖๒ เวลา ๐๘.๓๐ - ๑๖.๐๐ น. ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ นั้น

บัดนี้ การเข้าร่วมโครงการดังกล่าวฯ ได้เสร็จสิ้นเป็นที่เรียบร้อยแล้ว ข้าพเจ้าจึงขอส่ง รายงานสรุปเนื้อหา และการนำไปใช้ประโยชน์จากการเข้าร่วมโครงการฯ ให้กับทางคณะวิทยาศาสตร์ เพื่อบริหารจัดการต่อไปใช้ประโยชน์ตามเอกสารที่แนบมาพร้อมนี้

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ช่อทิพา สกุลสิงหาโรจน์)

ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

// ลวท -

(รองศาสตราจารย์ ดร.แสงทอง พงษ์เจริญกิต)

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพันธุศาสตร์

รายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์จากการเข้าอบรม สัมมนา หรือประชุมวิชาการ

ข้าพเจ้านางสาวช่อทิพา สกกุลสิงหาโรจน์ ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สังกัด หลักสูตรพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ ขอนำเสนอรายงานสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์จากการเข้าร่วมโครงการ Frontiers in AgTech Seminar Series Part ๓ “Genome Editing in Agriculture” เมื่อวันที่ ๘ สิงหาคม ๒๕๖๒ ณ ศูนย์การศึกษาและฝึกอบรมนานาชาติ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ตามหนังสือขออนุญาตเข้าร่วมโครงการ เลขที่ อว ๖๙.๕.๙.๑/๒๓ ลงวันที่ ๒๓ เดือน กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๖๒ ดังนั้น จึงขอนำเสนอสรุปเนื้อหาและการนำไปใช้ประโยชน์ของการเข้าร่วมประชุม ดังต่อไปนี้

บทนำเกี่ยวกับเทคโนโลยีการแก้ไขจีโนม

เทคโนโลยีการแก้ไขจีโนม (Genome editing) คือ การเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตที่ตำแหน่งเฉพาะในจีโนม โดยทำได้หลายวิธี เช่น ZFNs, TALENs และ CRISPR/Cas๙ ในปัจจุบันวิธี CRISPR/Cas๙ เป็นที่นิยมเนื่องจากทำได้รวดเร็ว ราคาถูก มีความถูกต้อง และมีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีแก้ไขจีโนมแบบอื่น เทคนิค CRISPR/Cas๙ ย่อมาจาก CRISPR คือ clustered regularly interspersed short palindromic repeats และ Cas๙ คือ CRISPR-associated protein ๙

CRISPR/Cas๙ พัฒนามาจากระบบการแก้ไขจีโนมของแบคทีเรียในธรรมชาติ CRISPR เป็นลำดับเบสของดีเอ็นเอที่อยู่ในจีโนมของแบคทีเรีย อยู่เรียงต่อกันเป็นแถว (CRISPR arrays) ซึ่งจะทำให้แบคทีเรียสามารถจดจำไวรัสได้ เมื่อไวรัสบุกรุก แบคทีเรียจะสร้างชิ้นส่วนอาร์เอ็นเอมาจาก CRISPR arrays เพื่อไปจับกับดีเอ็นเอของไวรัสเป้าหมาย แล้วแบคทีเรียมีโปรตีน Cas๙ ซึ่งเป็นเอนไซม์นิวคลีเอสทำหน้าที่ตัดดีเอ็นเอของไวรัส ทำให้ไวรัสไม่สามารถแพร่กระจายได้

การนำ CRISPR/Cas๙ มาประยุกต์ใช้โดยการสร้างอาร์เอ็นเอสายสั้น ๆ ที่มีลำดับเบสทำหน้าที่เป็นไกด์ (short guide RNA) ซึ่งจะจับกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมายในจีโนม และอาร์เอ็นเอยังสามารถจับกับเอนไซม์ Cas๙ ได้อีกด้วย หลักการทำงานคล้ายกับระบบของแบคทีเรียในธรรมชาติโดย RNA ที่ได้รับการดัดแปลงนี้จะทำหน้าที่จดจำลำดับเบสของดีเอ็นเอ ส่วน Cas๙ ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์ตัดดีเอ็นเอเป้าหมาย นอกจากเอนไซม์ Cas ๙ ที่นิยมใช้มากที่สุดแล้ว ยังมีเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ อีก เช่น Cpf๑ เป็นต้น หลังจากที่ดีเอ็นเอถูกตัดแล้ว ระบบซ่อมแซมดีเอ็นเอภายในเซลล์จะทำการเพิ่มหรือลบเบส หรือเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอโดยการแทนที่ชิ้นดีเอ็นเอที่มีอยู่แล้วด้วยชิ้นที่มีลำดับเบสใหม่

องค์ประกอบหลักของ CRISPR/Cas๙ คือ guide RNA, Cas๙, ยีนเป้าหมาย (target gene), ลำดับเบสเฉพาะ (PAM) ของตำแหน่งดีเอ็นเอเป้าหมาย การขนส่งระบบการแก้ไขยีนเข้าสู่เซลล์ (delivery methods) รูปแบบการแก้ไขยีนที่ต้องการหลังจากการตัด มีพืชหลายชนิดที่มีการแก้ไขจีโนมโดยเทคนิค CRISPR/Cas๙ ได้แก่ แอปเปิ้ล ส้ม มะละกอ แตงโม มะเขือเทศ

เทคโนโลยีการแก้ไขจีโนมในการพัฒนาพันธุ์พืช

องค์ประกอบของเทคนิคการแก้ไขจีโนมในพืช ได้แก่ ชนิดของพืชและยีนเป้าหมาย การทราบลำดับเบสของจีโนม ศักยภาพของเซลล์พืชในการเกิด somatic embryogenesis เพื่อทำให้เกิดพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์

ระบบการถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์พืช ระบบเวกเตอร์ที่เหมาะสมในการใช้เป็น Toolbox ของการแก้ไขจีโนมในยีนเป้าหมาย และวิธีการวิเคราะห์และประเมินพืชที่ได้รับการแก้ไขจีโนม (edited plants) ที่มีประสิทธิภาพ

การขนส่งระบบการแก้ไขจีโนมเข้าสู่เซลล์พืช แบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ

๑. วิธีใช้ดีเอ็นเอ (DNA-based) ทำได้โดยวิธีการถ่ายยีนโดยอะโกรแบคทีเรีย (*Agrobacterium*-mediated transformation) การใช้เครื่องยิงอนุภาค (particle bombardment) และการใช้ไวรัส (viral infection) ทำโดยการถ่ายดีเอ็นเอของยีน Cas α และ single guide RNA (sgRNA) โดยมีระบบของ Cas α expression system เพื่อให้ยีนไปแสดงออกในเซลล์พืช วิธีนี้สามารถใช้ถ่ายยีนเข้าสู่เนื้อเยื่อของพืชได้
๒. วิธีใช้อาร์เอ็นเอ (RNA-based) ทำได้โดยการถ่ายอาร์เอ็นเอโดยตรง (Direct transfection) โดยการถ่ายอาร์เอ็นเอเข้าสู่โปรโตพลาสต์ (protoplast transformation) โดยการถ่าย Cas α -mRNA และ synthetic sgRNA เข้าสู่เซลล์พืช แคลลัส หรือโปรโตพลาสต์
๓. วิธีใช้โปรตีน (Protein-based) หรือวิธีใช้ไรโบนิวคลีโอโปรตีน (Ribonucleoprotein [RNP] transfection) ทำได้โดยการถ่ายโปรตีนโดยตรง (Direct transfection) โดยการถ่ายโปรตีนเข้าสู่โปรโตพลาสต์ การใช้เครื่องยิงอนุภาค การใช้กระแสไฟฟ้า (electroporation) โดยการถ่ายโปรตีน Cas α ที่แยกบริสุทธิ์ ร่วมกับ synthetic sgRNA เข้าสู่เซลล์พืช แคลลัส หรือโปรโตพลาสต์

ตัวอย่างของพืชที่ได้รับการแก้ไขจีโนมและมีลักษณะที่ดีทางการค้า เช่น แอปเปิ้ลที่ไม่เกิดสีน้ำตาล (non-browning) คาร์เนชั่นที่ต้านทานสารปราบวัชพืช ชิคอรี่ที่ต้านทานสารปราบวัชพืชและมีระบบควบคุมการผสมเกสร กุหลาบที่มีคุณภาพดี สควอชต้านทานโรค พริกต้านทานโรค มะเขือเทศต้านทานโรคและแมลง แตงกวาด้านทานไวรัส นอกจากนี้ยังมี

- การขนส่งระบบการแก้ไขจีโนมโดยวิธีไรโบนิวคลีโอโปรตีน (RNPs) โดยการถ่ายโอน RNPs โดยตรงเข้าสู่เซลล์ขององุ่นและแอปเปิ้ล
- การแก้ไขจีโนมในข้าว เช่น การพัฒนาให้ข้าวมีเกสรตัวผู้เป็นหมันที่ตอบสนองต่ออุณหภูมิ (thermo-sensitive genic male sterile; TGMS) เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการสร้างข้าวลูกผสม (hybrid rice)
- การแก้ไขจีโนมมันสำปะหลังทำให้ไม่สร้างสารไซยาไนด์ cyanide-free cassava
- การแก้ไขจีโนมข้าวโพดโดยวิธี RNPs ทำให้เกสรเพศผู้เป็นหมัน โดยการเกิด biallelic mutation

การพัฒนาพันธุ์พืชด้วยเทคนิคการแก้ไขจีโนมจะประสบความสำเร็จจำเป็นต้องมีข้อมูลจีโนมของพืชที่สมบูรณ์และถูกต้อง ข้อมูลด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลของพืช ข้อมูลของยีนเป้าหมายและทราบหน้าที่ของยีน และมีระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการพัฒนาเป็นต้นของพืชที่ดี

ดังนั้น เทคโนโลยีการแก้ไขจีโนมสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยช่วยเร่งระยะเวลา ทำให้มีการแก้ไขยีนเป้าหมายได้อย่างแม่นยำ และมีประสิทธิภาพ โดยมีปัจจัยสำคัญที่ทำให้เทคโนโลยีการแก้ไขจีโนมประสบความสำเร็จ คือ ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการพัฒนาเป็นต้นได้ ระบบการถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์พืชที่มีประสิทธิภาพ และข้อมูลลำดับเบสของจีโนมพืชที่สมบูรณ์

ในการเข้าร่วมประชุมวิชาการครั้งนี้ทำให้ได้รับความรู้เกี่ยวกับความก้าวหน้าของเทคโนโลยีการแก้ไข
จีโนมพืช และการประยุกต์ใช้ด้านการเกษตรในการศึกษาหน้าที่ของยีนในพืช และการพัฒนาพันธุ์พืช ซึ่งจะเป็น
ประโยชน์ต่อการนำมาพัฒนาการเรียนการสอน และการทำงานวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์พืชต่อไป

.....
ช่อทิพา สกุลสิงห์โรจน์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ช่อทิพา สกุลสิงห์โรจน์)

.....
27 / 11 / 62

ความคิดเห็นของผู้บังคับบัญชาชั้นต้น (ประธานหลักสูตร/เลขานุการคณะ/หัวหน้างาน)

.....
ผ.ว. ช่อทิพา สกุลสิงห์โรจน์

.....

.....
แสงทอง พงษ์เจริญกิต

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. แสงทอง พงษ์เจริญกิต)

.....

ความคิดเห็นของคณบดีคณะวิทยาศาสตร์หรือผู้แทน

.....

.....

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รุปน ชื่นบาล)

.....