บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ชาเป็นพืชในสกุล *Camellia* ที่มีความหลากหลายของชนิด พบประมาณ 120 ชนิด กระจายอยู่ในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น ประเทศจีน ญี่ปุ่น ภูฏาน อินเดีย ศรีลังกา เวียดนาม และไทย เป็นต้น โดยพบมากที่สุดในประเทศจีน ประมาณ 97 ชนิด (Shu, 2007) ผลผลิตชาทั่วโลกในปี พ.ศ. 2555 มีประมาณ 3.8 ล้านตัน สำหรับประเทศไทยมีการผลิตชาร้อยละ 0.2 ของปริมาณการผลิตชาทั้งหมดในตลาดโลกในปี พ.ศ. 2555 มีผลผลิตใบชาสดรวม 40,847 ตัน โดยจังหวัดเชียงรายมีการเพาะปลูกชาและได้ผลผลิตใบชามากที่สุด (สำนักเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) และในปัจจุบันการบริโภคชาเพื่อสุขภาพกำลังได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นสาเหตุประการหนึ่งมาจากสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิในใบชา คือคาเทชินที่มีมากที่สุดในใบอ่อนนั้นมีสรรพคุณทางยาโดยเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารต้านมะเร็ง สารต้านความดันโลหิตสูง สารต้านทานเกี่ยวกับโรคหลอดเลือด สารต้านทานกระบวนการอักเสบ (Adrian & Bolwell, 2000) ดังนั้นจึงมีผลิตภัณฑ์ชา เช่น ชาห่อ ชาผง ชาผสมสมุนไพร หลากชนิดวางขายในท้องตลาด ซึ่งการตรวจสอบการระบุชนิดของชาตามที่ปรากฏบนฉลากสินค้าโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาอย่างเดียวย่อมเป็นไปได้ยาก

ปัจจุบันเทคโนโลยีชีวโมเลกุลถูกนำมาประยุกต์ใช้เพื่อการดังกล่าวในผลิตภัณฑ์จากสัตว์และพืชหลายชนิด เทคนิคที่นิยมใช้ เช่น เทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR; Polymerase Chain Reaction) สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอจากที่มีปริมาณน้อยและจากเนื้อเยื่อที่เสียสภาพได้ ซึ่งข้อความพันธุกรรมบางบริเวณสามารถนำไปใช้บ่งชี้ชนิดสิ่งมีชีวิตและผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปได้อย่างจำเพาะ ปัจจุบันมีข้อมูลพันธุกรรมของพืชที่ศึกษาและบันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank จำนวนมาก ดังนั้นการพิจารณาใช้ประโยชน์จากชีวสารสนเทศศาสตร์ โดยจัดการข้อมูลก่อนปฏิบัติการทดลองจริง นำลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *Chalcone synthase* (*ChS*) ที่มีความจำเป็นต่อการสังเคราะห์ phenylpropanoids และกระบวนการป้องกันการถูกทำลายโดยรังสีอัลตราไวโอเลตจากแสงอาทิตย์ของชาสกุล *Camellia* แต่ละสายพันธุ์ ที่มีการบันทึกไว้มาจำลองเป็นลายพิมพ์ดีเอ็นเอเอกลักษณ์ในระดับชนิดหรือสายพันธุ์ของชา และเน้นชนิดที่มีการปลูกอยู่ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ ชาอัสสัม (*Camellia sinensis* var. *assamica*) ชาจีน (*C. sinensis*) และชาน้ำมัน (*C. oleifera*) โดยหาความแตกต่างของลำดับเบสในส่วนของยีน *ChS* เลือกเอนไซม์ตัดจำเพาะที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอย่อยจากเทคนิค RFLP (Restriction Fragment Length

Polymorphism) ที่สามารถตรวจสอบผลได้บนเจลอะกาโรสภายหลังทำอิเล็กโตรโฟริซีส ทำให้ลดความผิดพลาด และลดค่าใช้จ่ายสำหรับการปฏิบัติในห้องปฏิบัติการในลำดับขั้นต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อสร้างรูปแบบลายพิมพ์ดีเอ็นเอของชาสกุล *Camellia* จากลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน *Chalcone synthase* ที่มีการบันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank

1.3 ขอบเขตการวิจัย

สืบค้นข้อมูลลำดับเบสของยีน *Chalcone synthase* ของชาสกุล *Camellia* แต่ละชนิดหรือสายพันธุ์ที่บันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank ณ เดือนมีนาคม พ.ศ. 2555 จากนั้นทำการเทียบเคียงลำดับเบสแต่ละข้อมูลโดยใช้โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) คัดเลือกเอนไซม์ตัดจำเพาะที่เหมาะสมแล้วจำลองรูปแบบของแถบดีเอ็นเอ จากนั้นวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้โปรแกรม MEGA Ver. 5.1 เพื่อยืนยันผล

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1.4.1 สามารถประยุกต์ใช้ข้อมูลสารสนเทศ เพื่อการจัดจำแนกชนิด หรือระบุสายพันธุ์ของชาสกุล *Camellia*

1.4.2 สามารถนำข้อมูลสารสนเทศไปใช้ในการบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของชาสกุล *Camellia* ที่ปลูกในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย และผลิตภัณฑ์ชาที่จำหน่ายในท้องตลาด

1.4.3 สามารถนำมาใช้ตรวจสอบการปลอมปนของผลิตภัณฑ์ชาในท้องตลาดได้

1.4.3 ทำให้การทดลองกับชาตัวอย่างจริงในห้องปฏิบัติการมีความแม่นยำ ลดโอกาสการเกิดข้อผิดพลาดในการทดลอง

1.4.4 สามารถย่นระยะเวลาการทดลองในห้องปฏิบัติการ และประหยัดงบประมาณ

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

Chalcone synthase คือ ยีนที่ทำหน้าที่สร้างเอนไซม์ Chalcone synthase ในวิถีการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์ การสังเคราะห์ Chalcone เกิดในปฏิกิริยา polyketide ที่เกิดจากการควบแน่นระหว่าง p-coumaroyl จำนวน 1 โมเลกุล และ malonyl-coenzyme A thioesters จำนวน 3 โมเลกุล (Ferrer, Joseph, Marianne, Richard, & Joseph, 1999)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ชีวสารสนเทศศาสตร์ หรือ Bioinformatics คือ ศาสตร์ที่ว่าด้วยการนำข้อมูลทางชีววิทยามาใช้อย่างเป็นระบบ รวมทั้งการจัดเก็บ การพัฒนาโปรแกรมประยุกต์ต่าง ๆ เพื่อเปรียบเทียบ วิเคราะห์ คำนวณและประเมินผลข้อมูลที่ได้จากการสืบค้นผ่านเครือข่ายสารสนเทศต่าง ๆ (วีระพงศ์ ลุลิตานนท์, 2544)

เทคนิค PCR (Polymerase chain reaction) คือ เทคนิคการเพิ่มขยายปริมาณชิ้นส่วนของดีเอ็นเอในหลอดทดลองทั้งนี้ในการเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอจำเป็นต้องอาศัยองค์ประกอบต่าง ๆ ดังนี้ คือ ดีเอ็นเอแม่พิมพ์ (template DNA), thermostable DNA polymerase, deoxyribonucleotide triphosphates (dNTPs) 4 ชนิด ไพรเมอร์ (oligonucleotide primers) และบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม ปฏิกิริยาการสังเคราะห์จะเกิดต่อเนื่องซ้ำกันเป็นวงจรลูกโซ่ (วีระพงศ์ ลุลิตานนท์ และนิภาภรณ์ แสนคุณท้าว, 2551)

เทคนิค RFLP (Restriction fragment length polymorphism) หมายถึง ความแตกต่างหรือความหลากหลายของขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2552)

GenBank คือ ฐานข้อมูลที่บรรจุข้อมูลทางอณูชีววิทยาที่เป็นข้อมูลดิบหรือเป็นข้อมูลที่ได้รับการวิเคราะห์ในเบื้องต้นบ้างแล้ว พร้อมกับลักษณะที่สำคัญทางชีววิทยา สัณฐานวิทยา และข้อมูลที่สำคัญ เช่น accession number ชื่อเจ้าของข้อมูลวารสารที่ถูกอ้างถึงข้อมูล เป็นต้น (สิทธิรักษ์ รอยตระกูล, 2544)

BLAST เป็นกลุ่มของ โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำหรับเปรียบเทียบหาความคล้ายคลึงของดีเอ็นเอหรือโปรตีน โดย BLAST เป็นโปรแกรมที่ทำงานและแสดงผลได้เร็ว (ชิเน ธำมรงค์ธรรม และประสิทธิ์ ผลิตผลการพิมพ์, 2544)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University