

16S Metagenome Sequencing และการประยุกต์ใช้กับงานวิจัยด้านต่างๆ

นางมนต์ระวี มีแต้ม ตำแหน่ง นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ กองเทคโนโลยีชีวภาพทางดิน
 ที่มา : e-learning เรื่อง 16S Metagenome Sequencing และการประยุกต์ใช้กับงานวิจัยด้านต่าง ๆ
 วันที่ 31 สิงหาคม 2566 โดย ดร.ชาตรี แสงสุข ตำแหน่ง NGS Consultant Ward Medic

16s Metagenome sequencing เป็นการ sequence ตำแหน่ง 16s rRNA ที่ประกอบด้วย V1-V9 regions เนื่องจากเป็นบริเวณ conserve sequence โดยบริเวณที่นิยมใช้ในการ sequence คือ บริเวณ V3-V4 ที่มีความหลากหลายสูง และจากการศึกษา 16s Metagenome sequencing จะวิเคราะห์ผล Operational Taxonomic Unit (OTU) ที่ทำให้ทราบความหลากหลายของชนิดและปริมาณของแบคทีเรียในตัวอย่าง เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของแบคทีเรียในรูปแบบต่าง ๆ อีกทั้งยังสามารถตรวจสอบแบคทีเรียที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ ซึ่งข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ในการพัฒนางานด้านต่าง ๆ ที่หลากหลาย เช่น ด้านการแพทย์ ด้านสิ่งแวดล้อม และด้านอุตสาหกรรมอาหาร

ขั้นตอนสำหรับการศึกษา 16s Metagenome sequencing ประกอบไปด้วย Sample preparation, Library construction, Sequencing และ Data analysis (Bioinformatics) ขั้นตอนแรกคือ การทำ Sample Preparation คือการเตรียมตัวอย่าง DNA ที่บริสุทธิ์ และเข้มข้นมากพอ โดยทำการสกัด DNA หรือถ้า DNA มีความเข้มข้นต่ำ ก็ PCR เพิ่มจำนวน หรือ ทำการ Purified โดยใช้ชุด Kit ในกรณีมีสิ่งปนเปื้อน เมื่อตัวอย่างพร้อมแล้ว ขั้นตอนที่ 2 คือการทำ Library Preparation เป็นอีกขั้นตอนในการเตรียมตัวอย่าง DNA ให้พร้อมสำหรับเครื่องอ่านเบส ทำให้ Sequencing Platform หลาย ๆ อย่างต้องมีการติดตั้ง Adapter บางอย่างลงไปในตัว DNA เพื่อให้ตัวอย่าง DNA เข้ากับตัวกลไกของเครื่อง Sequence ขั้นตอนที่ 3 คือการ Sequencing หรือก็คือ การโหลดตัวอย่างจากขั้นตอนก่อนหน้าลงในเครื่อง แล้วปล่อยให้มันเป็นหน้าที่ของเครื่องในการจัดการต่อไป และขั้นตอนสุดท้ายคือ Data Analysis เมื่อเราได้ข้อมูลจากเครื่อง Sequencer แล้ว เราก็จะเอาข้อมูลมาจัดการวิเคราะห์เพื่อตอบคำถามที่เราต้องการ

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ด้านการแพทย์ จากการศึกษา 16s Metagenome sequencing จากตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วยที่เป็นโรคท้องเสียจำนวน 20 คน การศึกษานี้ทำให้ผู้วิจัยพบแบคทีเรียกลุ่มหลักที่เกี่ยวข้องกับผู้ป่วยที่เป็นโรคท้องเสียโดยพบแบคทีเรียในไฟลัม Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria และ Actinobacteria จากตัวอย่างทั้ง 20 ตัวอย่าง อีกทั้งพบว่าผู้ป่วยเหล่านี้มีเชื้อโรค *Vibrio cholerae* และ *Helicobacter pylori* ที่ยังไม่แสดงอาการของโรค นอกจากนี้ยังทำให้เข้าใจเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของ gut microbiome ของผู้ป่วยที่เป็นโรคท้องเสีย และการศึกษา 16s Metagenome sequencing จากตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วยจำนวน 3 คน โดยการเก็บตัวอย่างอุจจาระในสารต่างชนิดกัน เพื่อศึกษาปัจจัยที่ช่วยในการรักษาสภาพตัวอย่าง โดยทำการเก็บตัวอย่างอุจจาระแบบสด, เก็บตัวอย่างอุจจาระใน ethanol และตัวอย่างอุจจาระใน RNA later เพื่อที่จะเลือก condition ที่ดีที่สุดในการเก็บตัวอย่าง จากการศึกษา 16s Metagenome sequencing ผลการทดลองพบว่าการเก็บตัวอย่างใน condition ที่แตกต่างกันไม่ส่งผลต่อปริมาณแบคทีเรียที่พบอย่างมีนัยสำคัญ

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ด้านสิ่งแวดล้อม การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำพุร้อน โดยการทำ 16s Metagenome sequencing ซึ่งผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่พบ

คือ Firmicutes และ Proteobacteria และพบว่าประมาณ 70% ของแบคทีเรียที่พบเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม thermophiles

ตัวอย่างการประยุกต์ใช้ด้านอุตสาหกรรมอาหาร การศึกษาแบคทีเรียในตัวอย่างกิมจิที่ผ่านกระบวนการหมัก 29 วัน ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียที่พบในกิมจิส่วนใหญ่ คือ *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, และ *Weissella* ซึ่งทำให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับกลุ่มของแบคทีเรียในตัวอย่างกิมจิ

จากตัวอย่างงานวิจัยดังกล่าวแสดงให้เห็นถึงบทบาทของ 16s Metagenome sequencing ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับงานหลากหลายด้าน