พันธุศาสตร์และเทคโนโลยีทาง DNA
Genetics and DNA Technology

O-Phart Phrathep
Department of Biology, Mahidol Wittayanusorn School

เทคโนโลยีชีวภาพ (Biotechnology)

การประยุกต์ใช้สิ่งมีชีวิต หรือผลิตภัณฑ์ต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต เช่น เอนไซม์ หรือโปรตีนชนิดต่างๆ เป็นต้น เพื่อให้เกิดประโยชน์กับมนุษยชาติ

พันธุวิศวกรรม (Genetic Engineering)

: กระบวนการตัดต่อยีนจากสิ่งมีชีวิตหนึ่ง แล้วใส่เข้าไปในอีกสิ่งมีชีวิตหนึ่ง
เพื่อให้มีลักษณะตามต้องการ
สิ่งมีชีวิตที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรม = GMOs (Genetically modified organisms)

ปลาม้าลายเรืองแสง

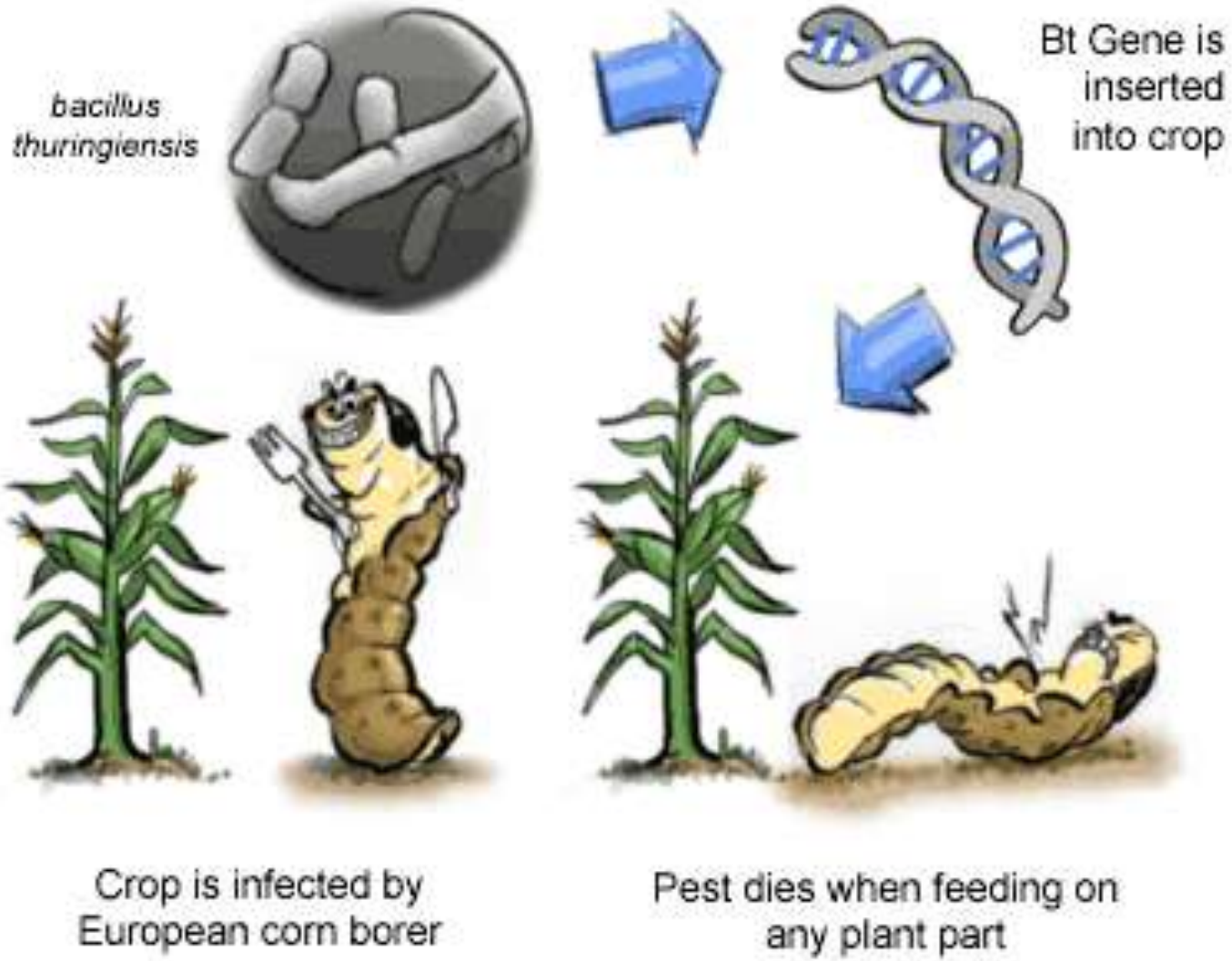
มะละกอต้านไวรัสโรคใบด่างวงแหวน

ปลา salmon และหนูที่ถูกตัดต่อยีน
สร้างฮอร์โมนต์ควบคุมการเจริญเติบโต (Growth Hormone)

ข้าวสีทอง (Golden rice)

- ข้าวสร้าง beta carotene โดยตัดต่อยีนจากแบคทีเรีย Erwinia และต้น daffodils ใส่เข้าไปในต้นข้าว

ข้าวโพดและฝ้าย *Bt* (*Bt* Corn and *Bt* Cotton)



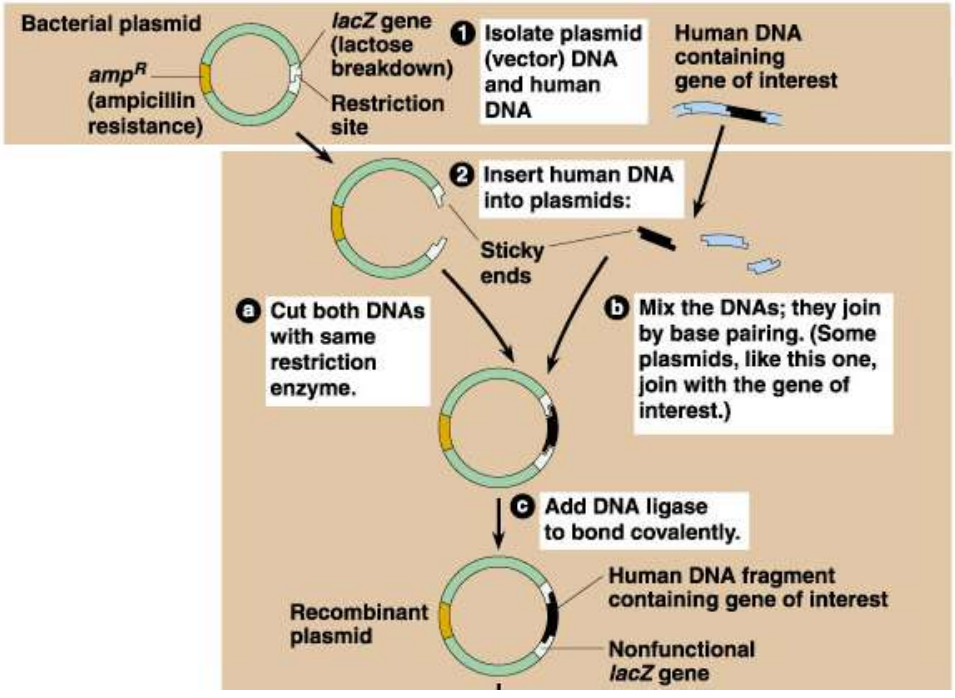
Bt = Bacillus thuringiensis

พืชที่ปลูกได้ในถิ่นทุรกันดาร

เช่น สภาวะแห้งแล้ง, น้ำท่วม, ดินเค็ม, ดินที่มีโลหะหนักปนเปื้อนสูง

GMOs **Non-GMOs**

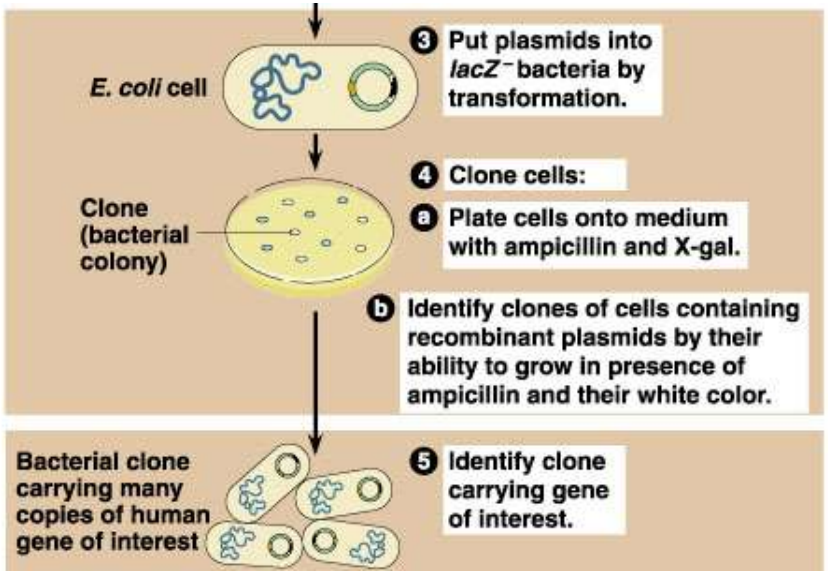
กระบวนการและลำดับขั้นตอนของพันธุวิศวกรรม



1. การสร้าง DNA สายผสม (Recombinant DNA)

2. นำ DNA สายผสม เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน (Host)

3. คัดเลือกเซลล์เจ้าบ้าน (Host) ที่ได้รับ DNA สายผสม



1. การสร้าง DNA สายผสม (Recombinant DNA)

สิ่งที่ต้องใช้

1) ชิ้นส่วน DNA หรือ ยีนที่เราสนใจ (foreign DNA)

2) DNA พาหะ (DNA vector)

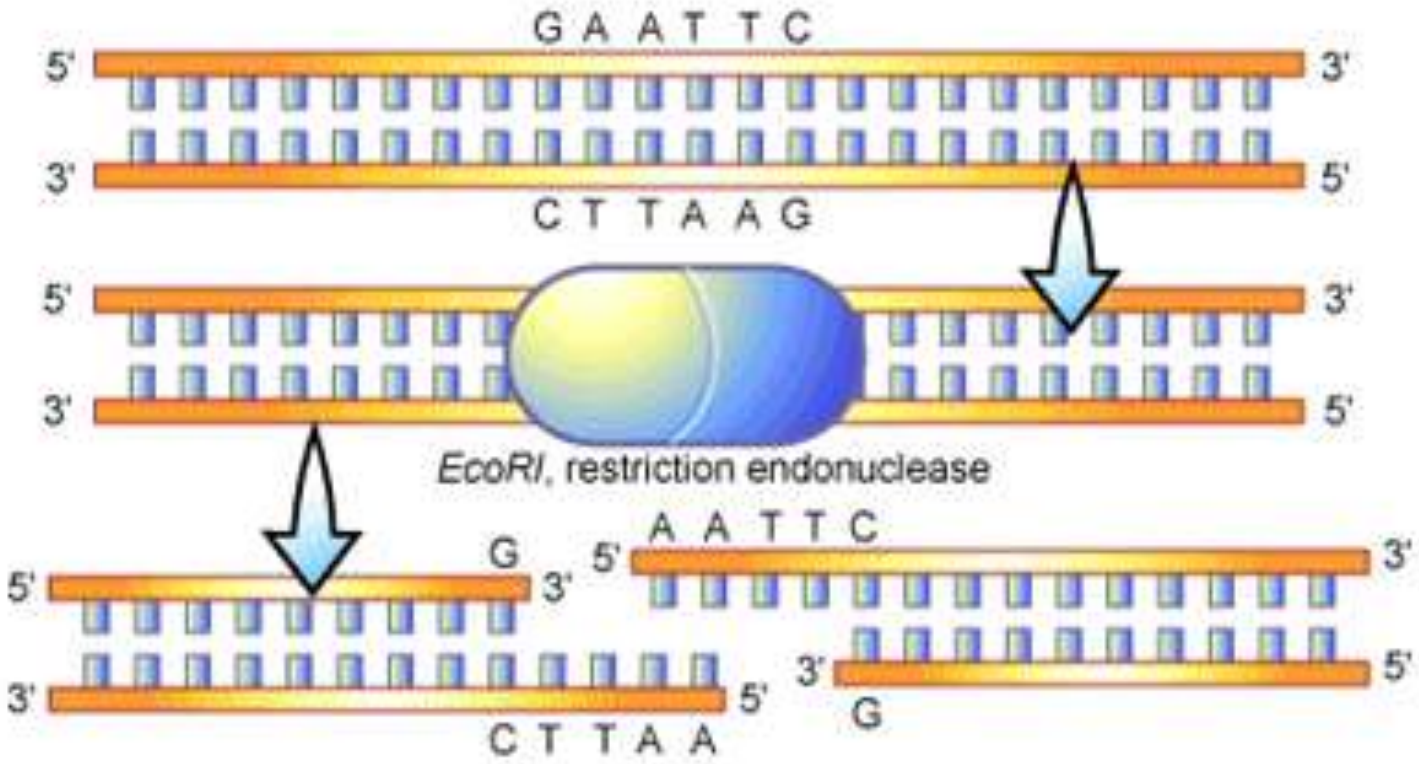
3) เอนไซม์

   3.1 เอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme): ตัด

   3.2 เอนไซม์ DNA ligase: ต่อ

Restriction Enzyme (เอนไซม์ตัดจำเพาะ)

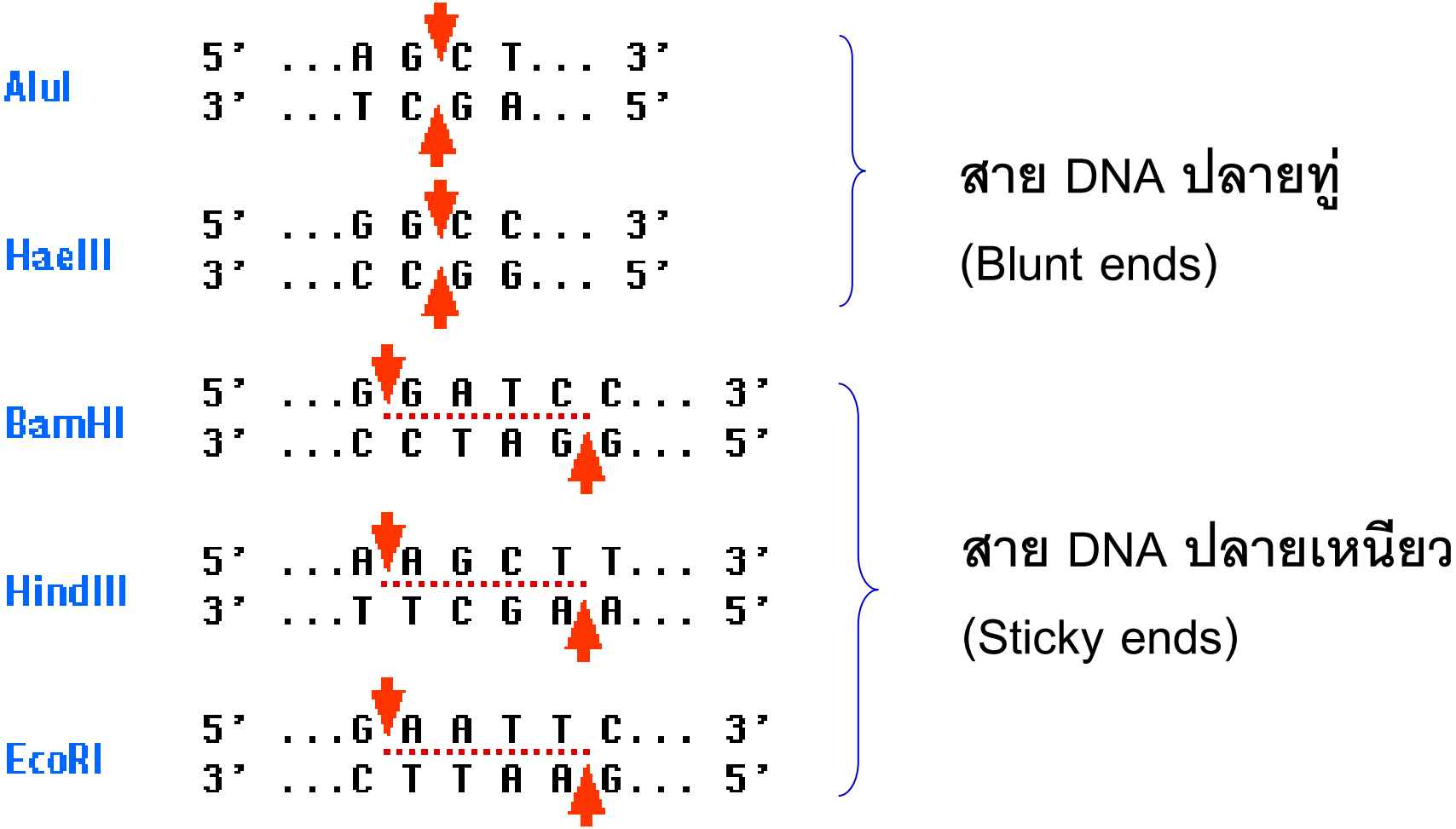
เป็นเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการตัดสายกรดนิวคลีอิก (nuclease)
โดยจะตัดในตำแหน่งเบสที่จำเพาะ



ตัวอย่างของ restriction enzyme และจุดจำเพาะที่ตัด (recognition site)

Enzyme	Source	Recognition site
AluI	*Arthrobacter luteus*	AG↓CT TC↑GA
BamHI	*Bacillus amyloliquefaciens H*	G↓GATC C C CTAG↑G
EcoRI	*Escherichia coli R factor*	G↓AATT C C TTAA↑G
HaeIII	*Hemophilus aegyptus*	GG↓CC CC↑GG
HindIII	*Hemophilus influenzae Rd*	A↓AGCT T T TCGA↑A
NotI	*Norcadia otitidis-caviarum*	GC↓GGCC GC CG CCGG↑CG
PstI	*Providencia stuartii*	C TGCA↓G G↑ACGT C
TaqI	*Thermus aquaticus*	T↓CG A A GC↑T

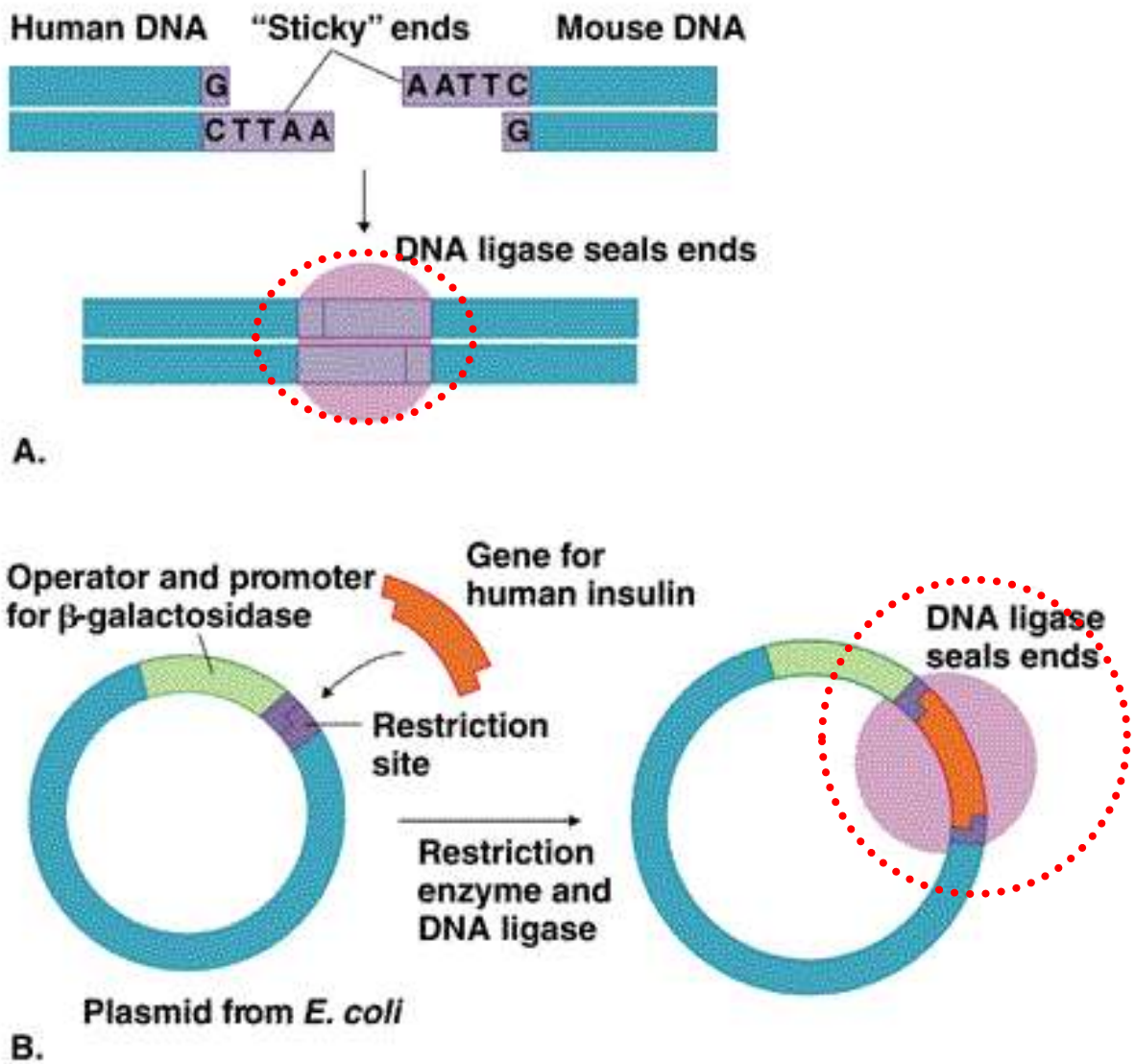
ผลลัพธ์จากการตัดสาย DNA ด้วย restriction enzyme



AluI and **HaeIII** produce blunt ends

BamHI **HindIII** and **EcoRI** produce "sticky" ends

นำ foreign DNA ที่ตัดออกมาไปเชื่อมกับ DNA พาหะ (vector) เพื่อสร้างเป็น DNA สายผสม

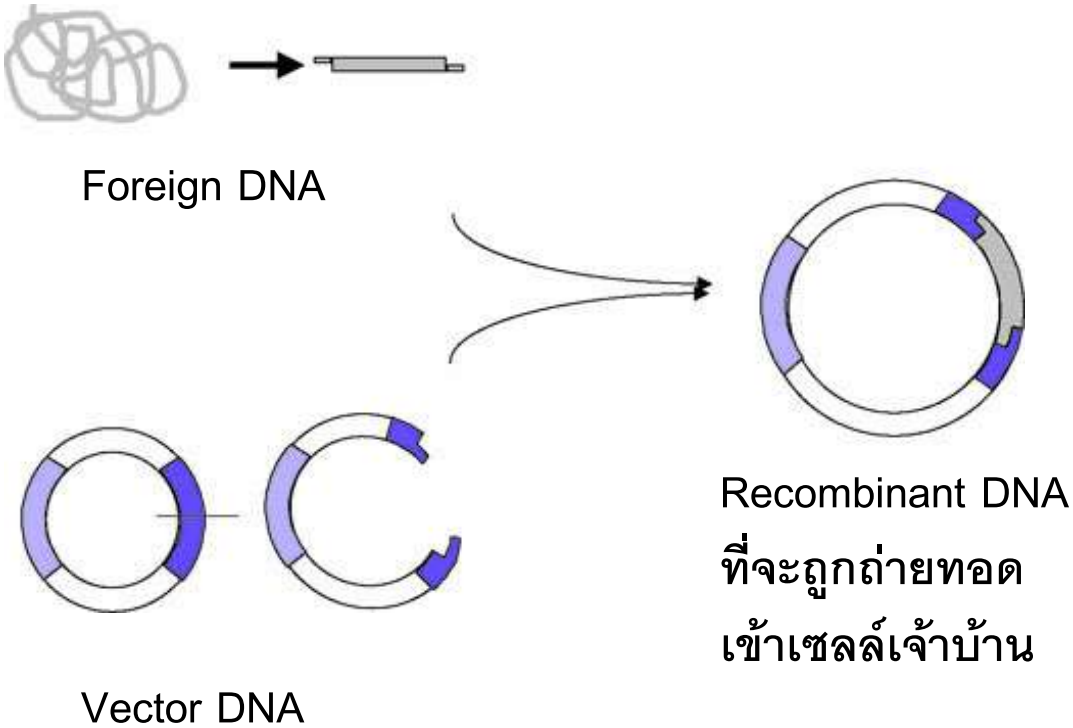


DNA พาหะ (Vector DNA)

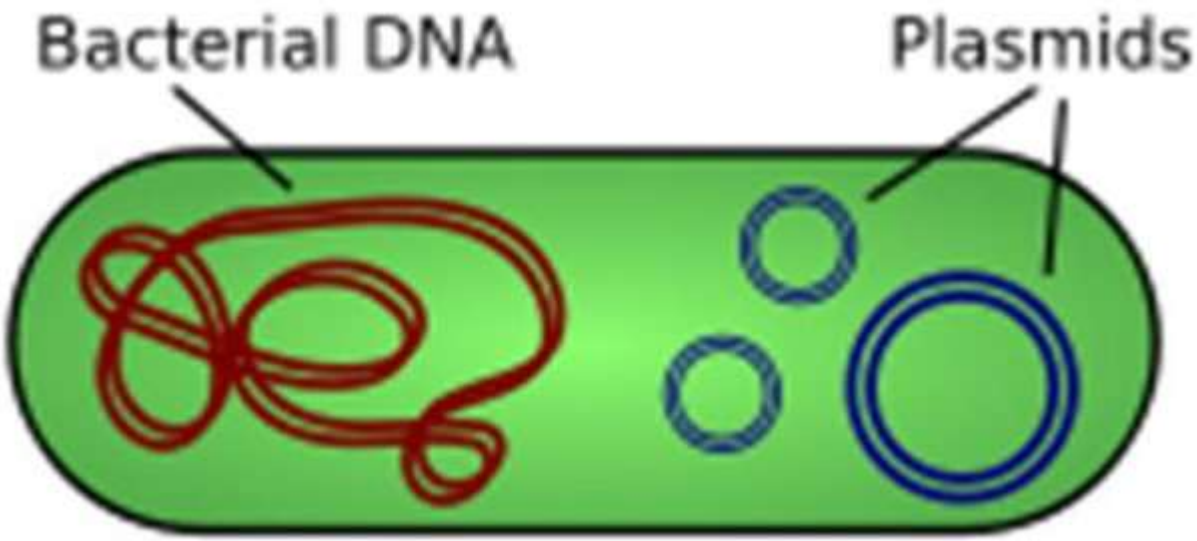
: เป็น DNA ที่จะนำพา DNA ที่เราสนใจเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน และช่วยให้ DNA ที่พามาเพิ่มปริมาณและแสดงลักษณะได้

Vector ที่นิยมใช้ได้แก่

- พลาสมิด (plasmid)
- Ti plasmid
- ฟาจ (bacteriophage)
- คอสมิด (cosmid)

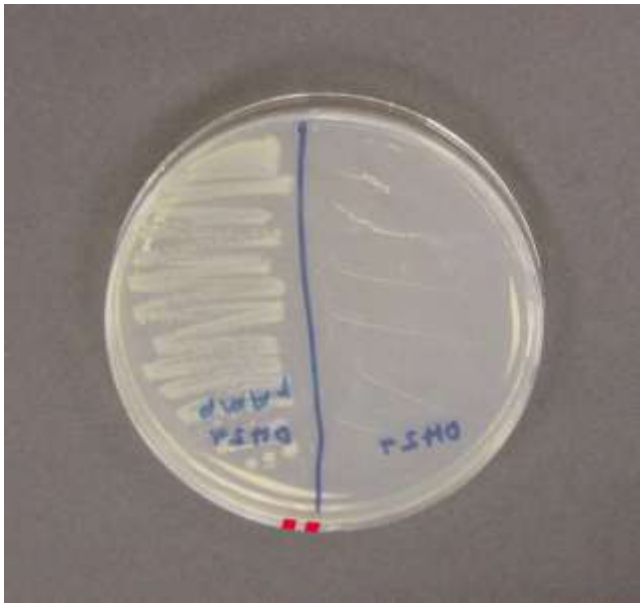


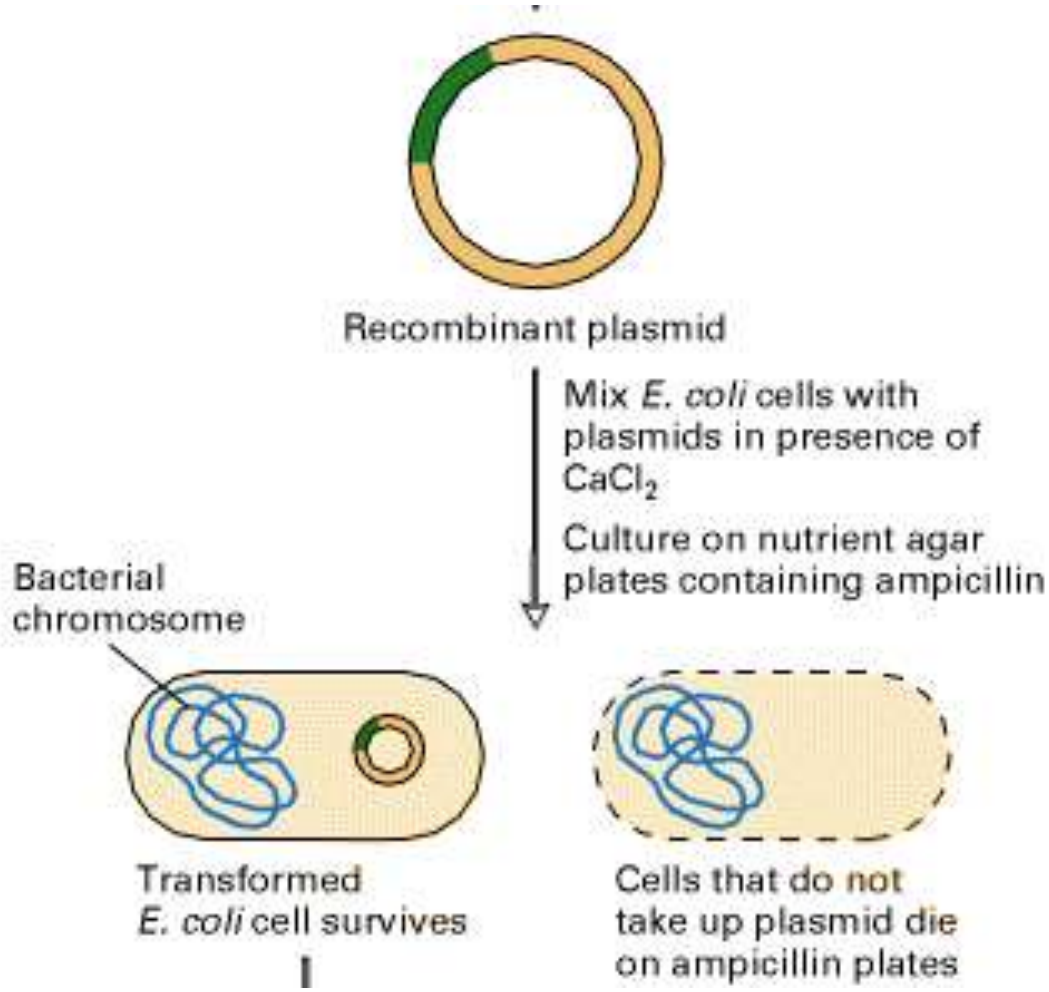
พลาสมิด (Plasmid)



- DNA วงกลมที่อยู่นอก โครโมโซมของ bacteria
- มักมียีนที่ทำให้ bacteria มีลักษณะเฉพาะ เช่น ยีนต้านยาปฏิชีวนะ
- ใช้เป็นพาหะในการถ่ายยีนหรือ DNA เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน
- ใช้ในการเพิ่มปริมาณ DNA ที่ต้องการ

2. การนำ recombinant DNA เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน (recombinant DNA transfer) และ 3. การคัดเลือกเซลล์ที่ได้รับ DNA



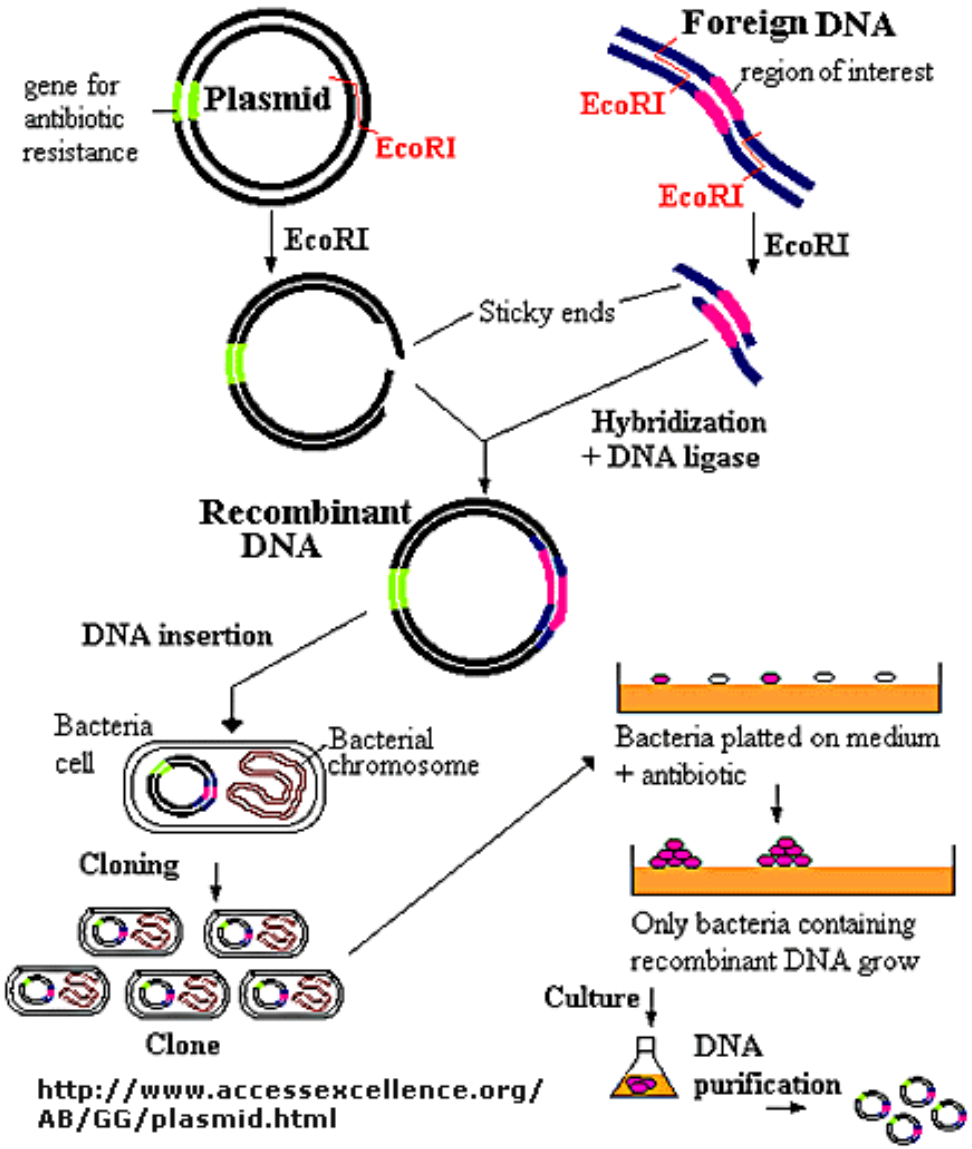


DNA Cloning (การโคลน DNA)

: เป็นการเพิ่มปริมาณ (copy) DNA หรือยีน
ที่เราต้องการให้มีจำนวนมากขึ้น

1. การโคลนยีนโดยใช้ Plasmid
2. การโคลนยีนโดยวิธี PCR

การโคลน DNA หรือยีนโดยใช้ Plasmid



Cloning into a plasmid

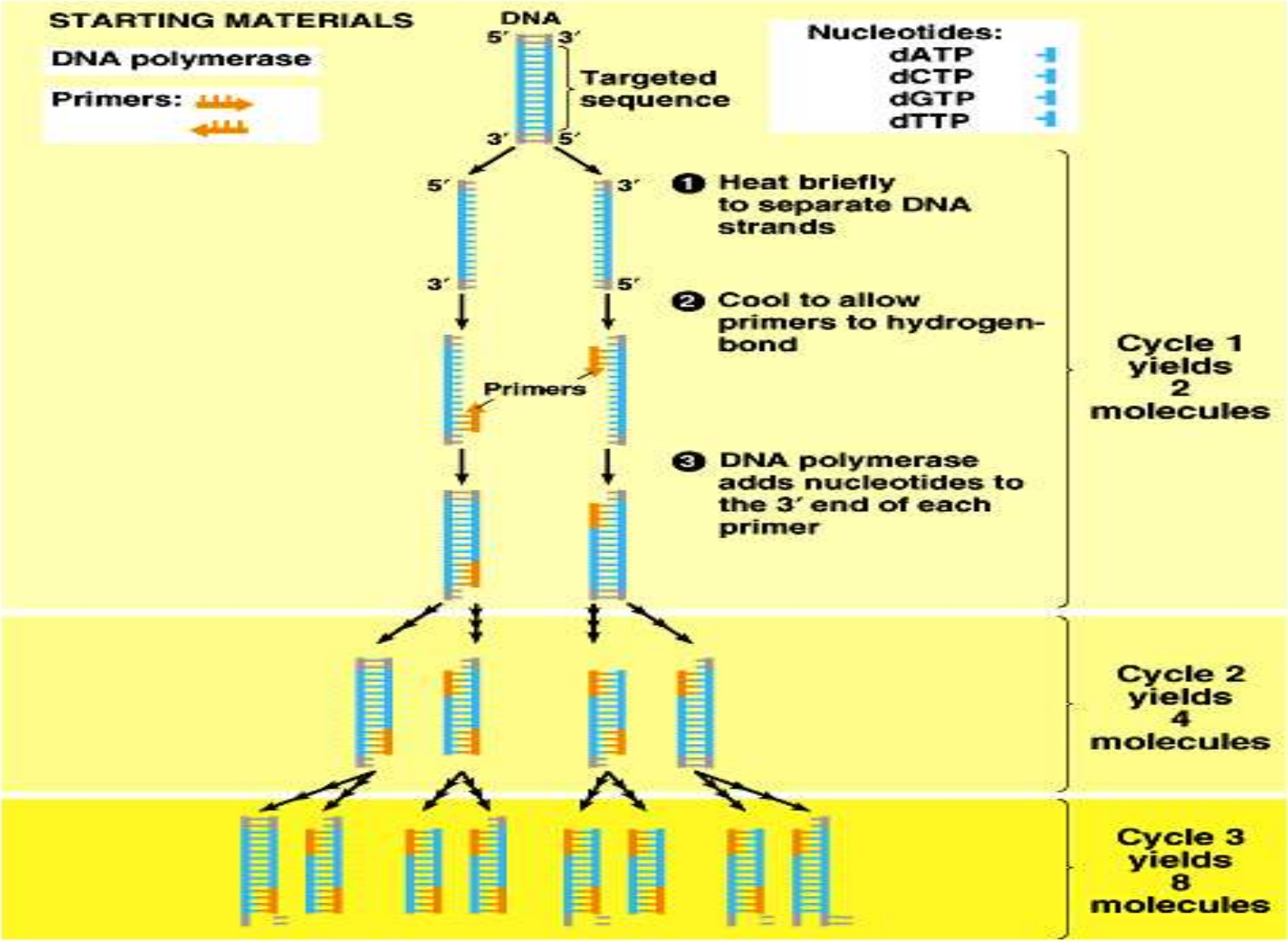
การโคลน DNA หรือยีนโดยวิธี PCR

PCR: Polymerase Chain Reaction (**ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส**)

สิ่งที่ต้องใช้

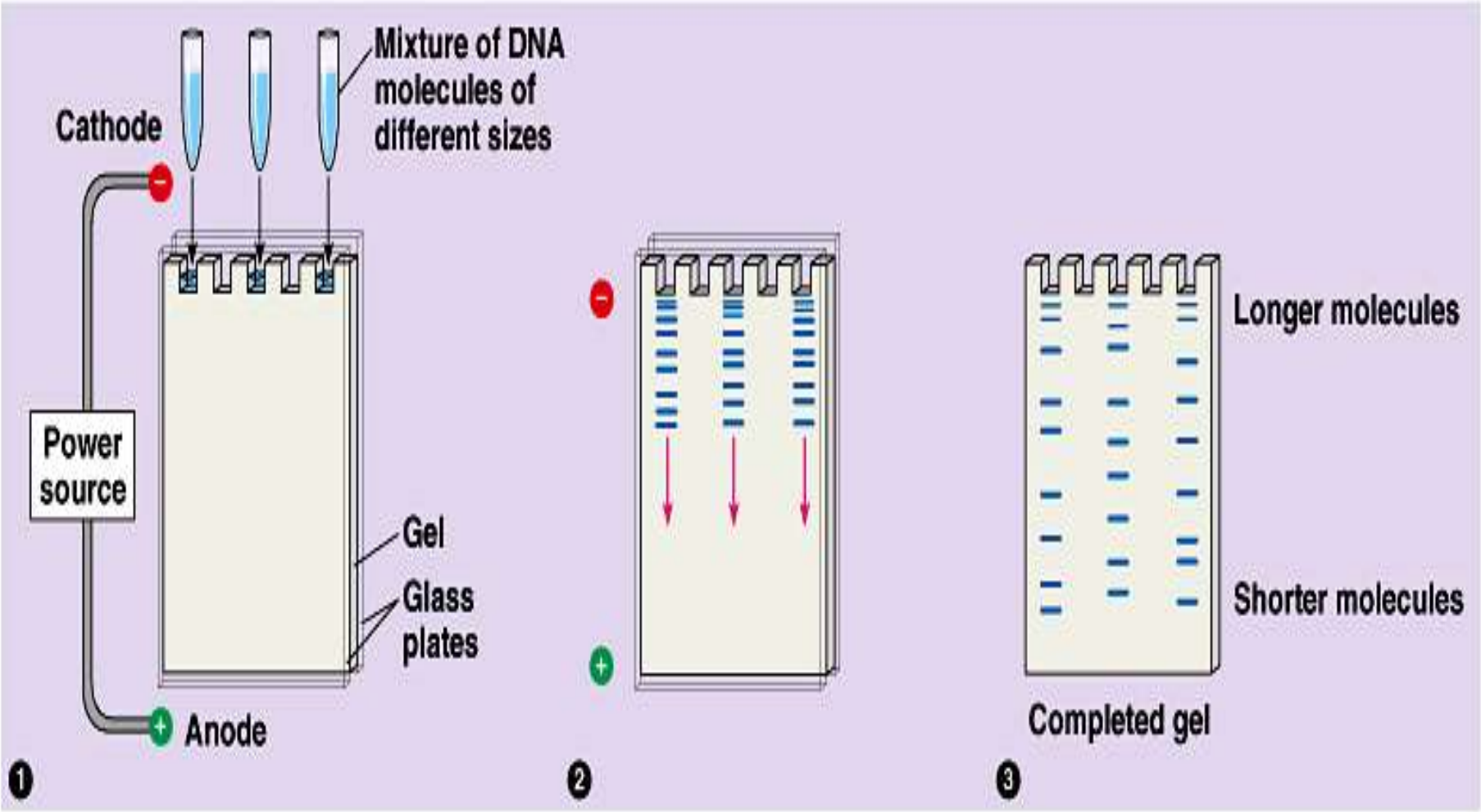
1. DNA ต้นแบบที่ต้องการโคลน
2. DNA primer
3. Nucleotide ทั้ง 4 ชนิด (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)
4. DNA polymerase (Taq polymerase)
5. เครื่อง Thermocycler

ปฏิกิริยา PCR โดยสรุป



http://www.youtube.com/watch?v=ZmqqRPISg0g

การวิเคราะห์ DNA และการศึกษา genome โดย Gel Electrophoresis

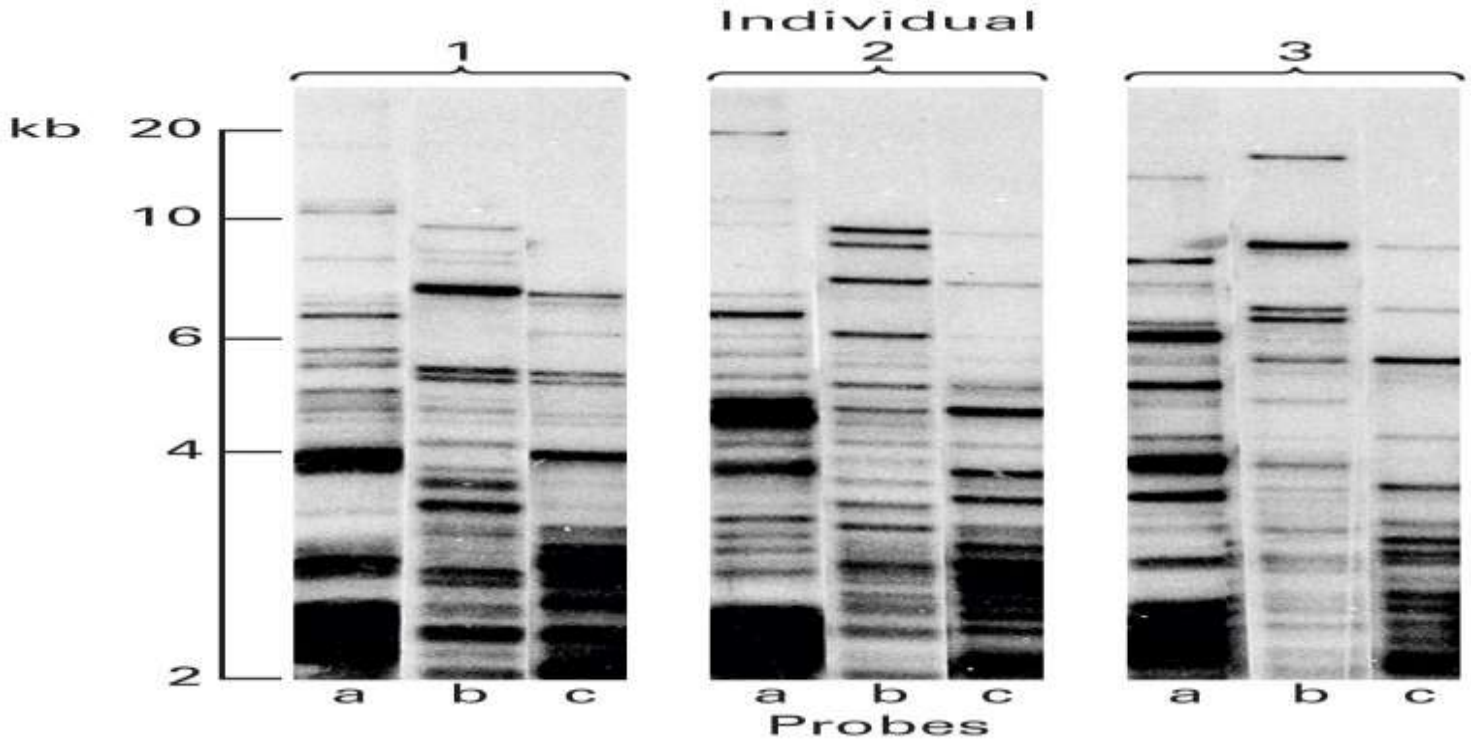


http://www.youtube.com/watch?v=Wwgs-FjvWlw&feature=related

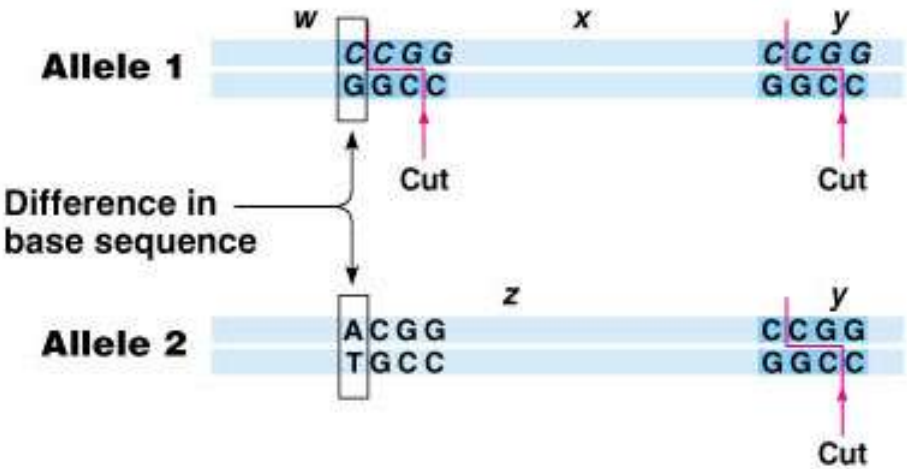
Genetic marker (เครื่องหมายทางพันธุกรรม)

- ใช้บอกความเหมือนหรือแตกต่างทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต โดยอาศัยลายพิมพ์ DNA (DNA fingerprint)

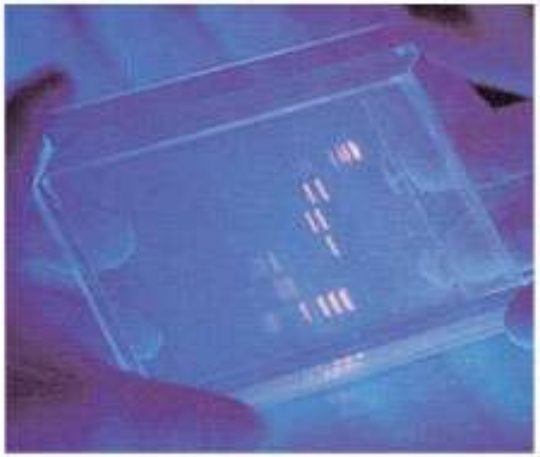
ได้แก่ เทคนิค RFLP (Restriction Fracment Length Polymorphism)



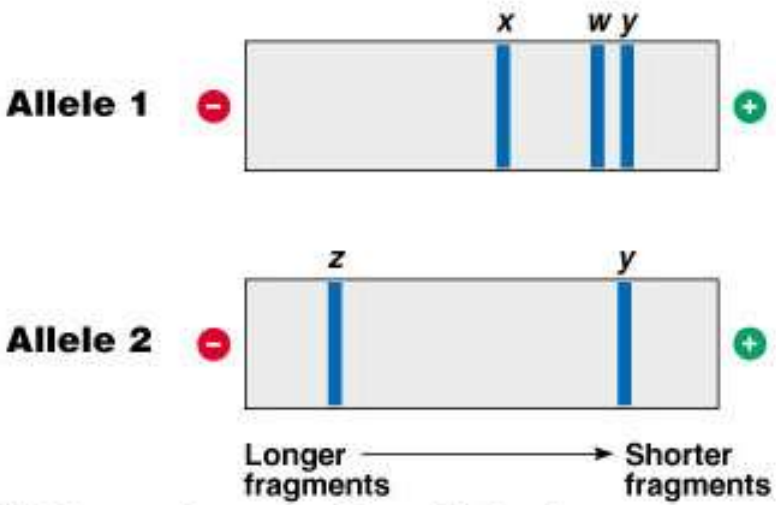
การวิเคราะห์ DNA โดยเทคนิค RFLP



(a) DNA from two alleles



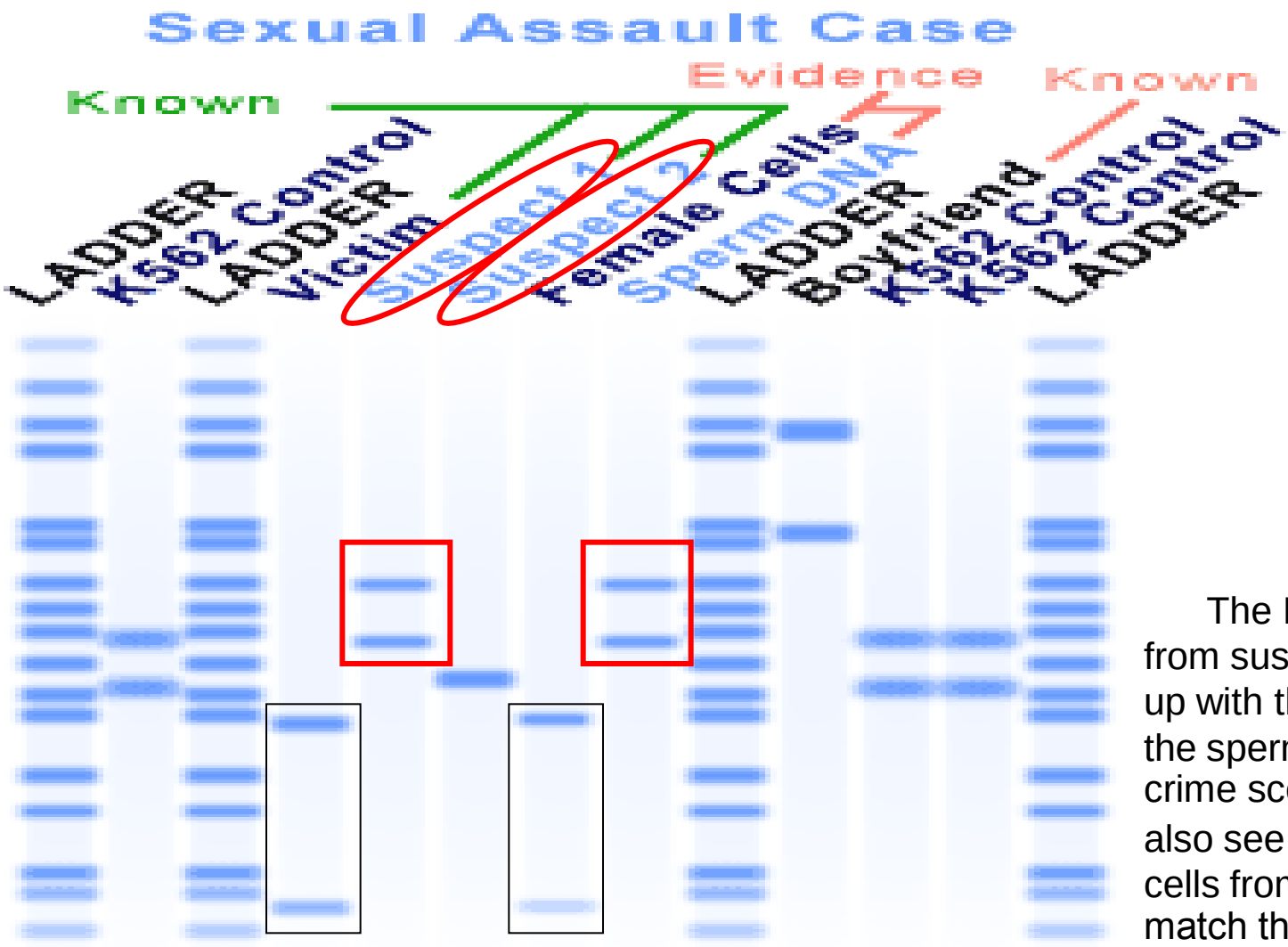
(c) Completed gel



(b) Electrophoresis of restriction fragments

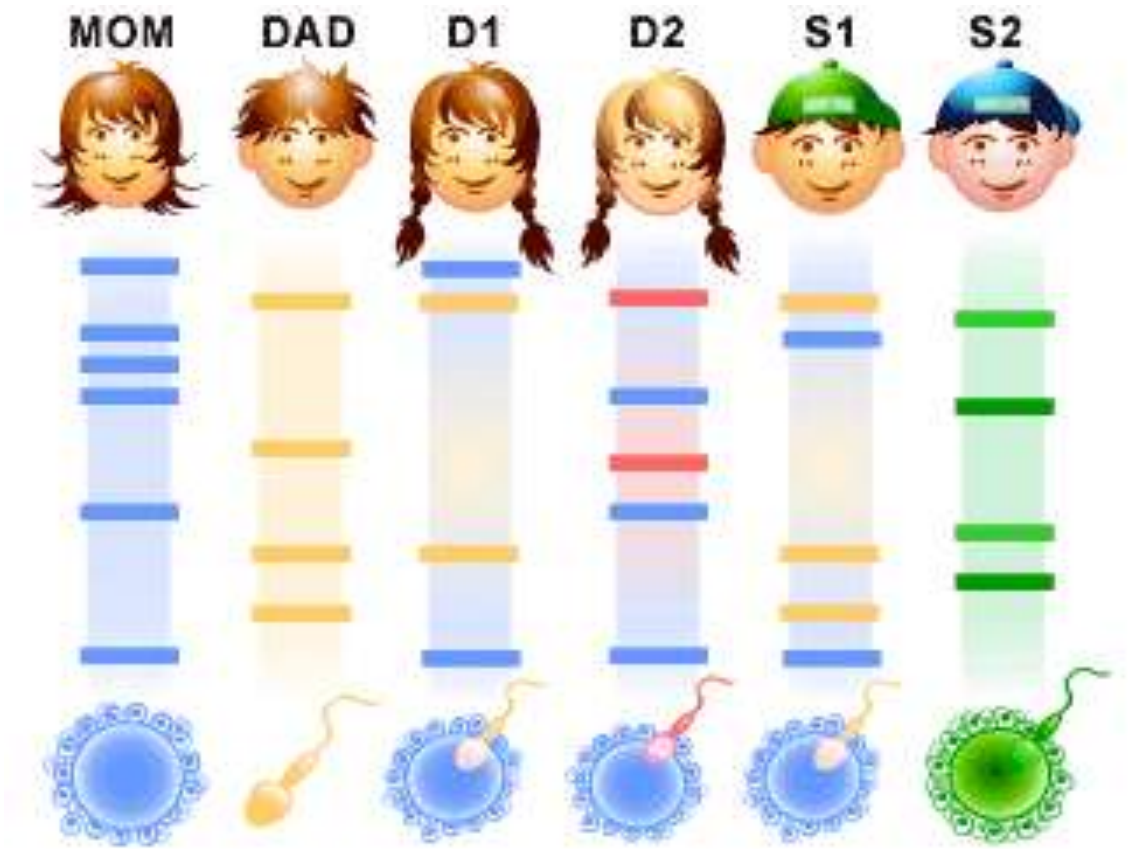
การประยุกต์ใช้เทคโนโลยี DNA

การประยุกต์ใช้ในเชิงนิติวิทยาศาสตร์



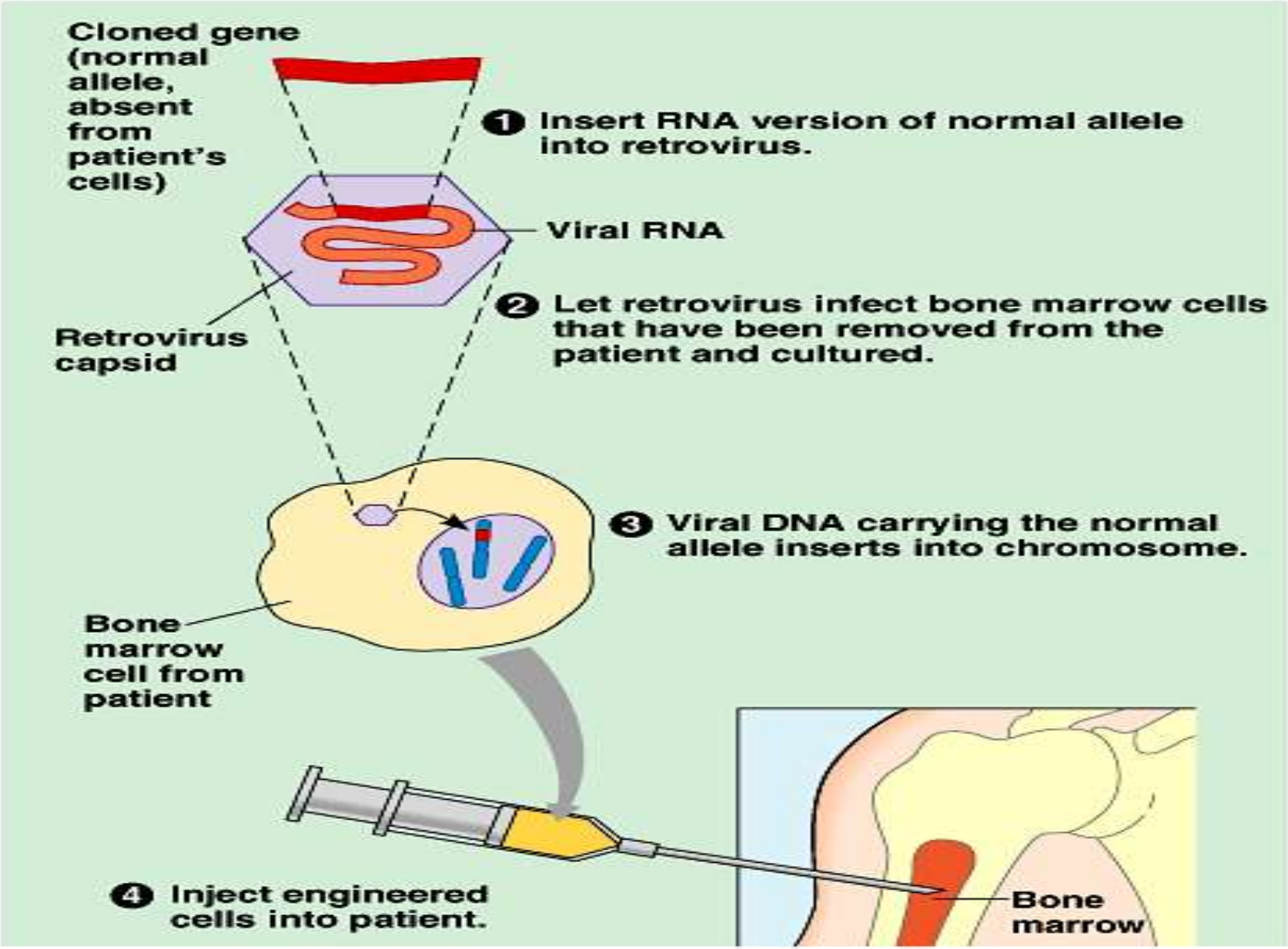
The DNA fingerprint from suspect 1 matches up with the fingerprint of the sperm DNA from the crime scene. You can also see that the female cells from the scene match the victim's DNA.

การพิสูจน์ความเป็นบิดา-มารดา-บุตร

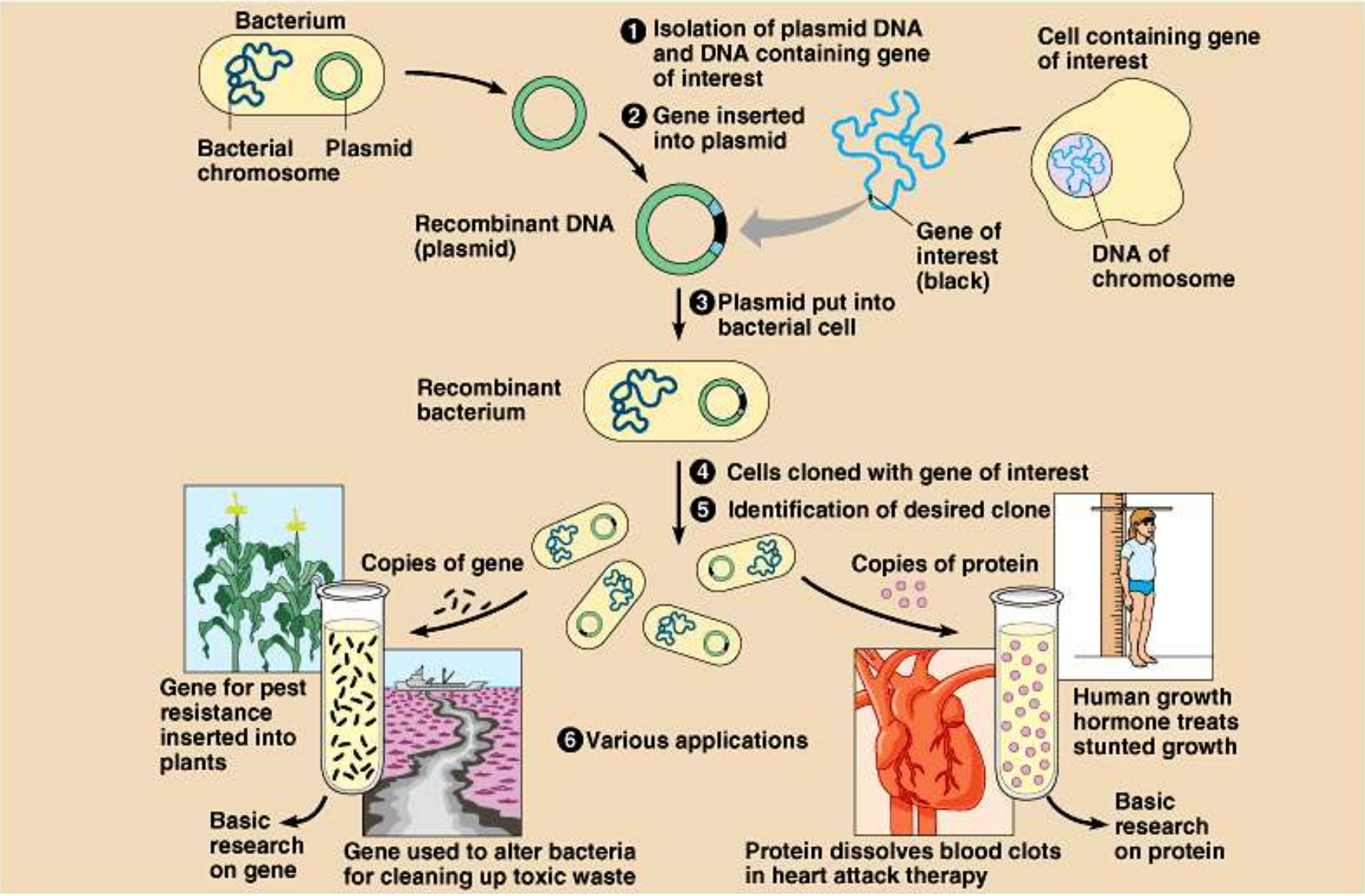


It is easy to see in this example that daughter 2 is the child from the mother's previous marriage and son 2 is adopted. You can see that both daughter 1 and son 1 share RFLPs with both the mom and dad (coloured blue and yellow respectively), while daughter 2 has RFLPs of the mom but not the dad, and son 2 does not have RFLPs from either parent.

การบำบัดด้วยยีน (gene therapy)



การผลิตยีนหรือโปรตีนที่ต้องการโดย gene cloning



การประยุกต์ใช้ด้านสิ่งแวดล้อม

สร้างสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีความสามารถย่อยสลายสารที่ไม่พึงประสงค์ในดิน น้ำ หรือของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม

ความปลอดภัยของเทคโนโลยีทาง DNA และมุมมองทางสังคมและจริยธรรม

ปัญหาที่อาจเผชิญของ GMOs

1. อาจจะมีอันตรายโดยตรง
2. อาจจะไม่คุ้มทุน
3. (อาจจะ) มีบริษัทยักษ์ใหญ่เป็นเจ้าของไม่กี่บริษัท (มีการคว้าจากภาครัฐเช่นกัน) มีแต่ศูนย์วิจัยของรัฐเท่านั้น ที่สนใจค้นคว้าพืชเพื่อผู้หิวโหย ส่วนบริษัทใหญ่ๆนั้นเน้นเฉพาะพืชอุตสาหกรรม ผิดวัตถุประสงค์ที่หลายคนอยากให้ GMO แก้ปัญหาความอดอยาก
4. อาจจะเป็นอันตรายกับสายพันธุ์ธรรมชาติ

ปัญหาที่เรากำลังเผชิญ ไม่ใช่อันตราย แต่เป็นความไม่แน่นอนของผลกระทบที่ยังไม่เกิดขึ้น

ขณะนี้เราไม่ได้เผชิญกับ อันตราย แต่กำลังเผชิญกับ ความไม่แน่นอน เพราะวิทยาศาสตร์ไม่สามารถสรุปได้ว่าการใช้ GMO จะส่งผลอย่างไรบ้าง ดังนั้นเราจะพูดถึงคำว่าอันตรายไม่ได้ทีเดียวนัก ปัญหาที่เกิดขึ้นเป็นปัญหาทางด้าน **มนุษยธรรม และวัฒนธรรมความเคยชิน**

วิทยาศาสตร์ ไม่สามารถให้คำตอบได้ว่า GMOs อันตรายหรือไม่

1. การทดลอง (บางอย่าง) ไม่สามารถทำซ้ำได้
2. มีองค์ประกอบหลายอย่าง ในชีวิตจริง (แตกต่างจากในห้องปฏิบัติการ)
3. การทดลองเพื่อให้ได้ผลแน่นอนนั้น ช้า ไม่ทันใจภาคธุรกิจ
4. การทดลองเล็กๆ แต่หากได้ผลชัด จะได้รับความสนใจมาก
5. ผลกระทบต่อธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ใช้เวลานานกว่าจะรู้
6. เราไม่รู้ว่าเราไม่รู้
7. ตัววิทยาศาสตร์เองไม่ได้รับความเชื่อถือ “โอกาสจะเกิดขึ้นน้อยมาก” หรือ “ไม่มีเลย” หรือพูดว่า "ยังไม่มีอะไรชี้ว่าจะเป็นอันตราย"