

การตัดต่อพันธุกรรม การตัดต่อยีน หรือพันธุวิศวกรรม
ลักษณะทางพันธุกรรม หรือยีนต่าง ๆ อยู่บนโครโมโซมหรือดีเอ็นเอ
ดังนั้น การตัดต่อยีน ก็ต้องมีเครื่องมือในการตัดต่อ เราไม่สามารถใช้กรรไกรตัดดีเอ็นเอ
ได้แบบการตัดเชือกหรือตัดกระดาษ

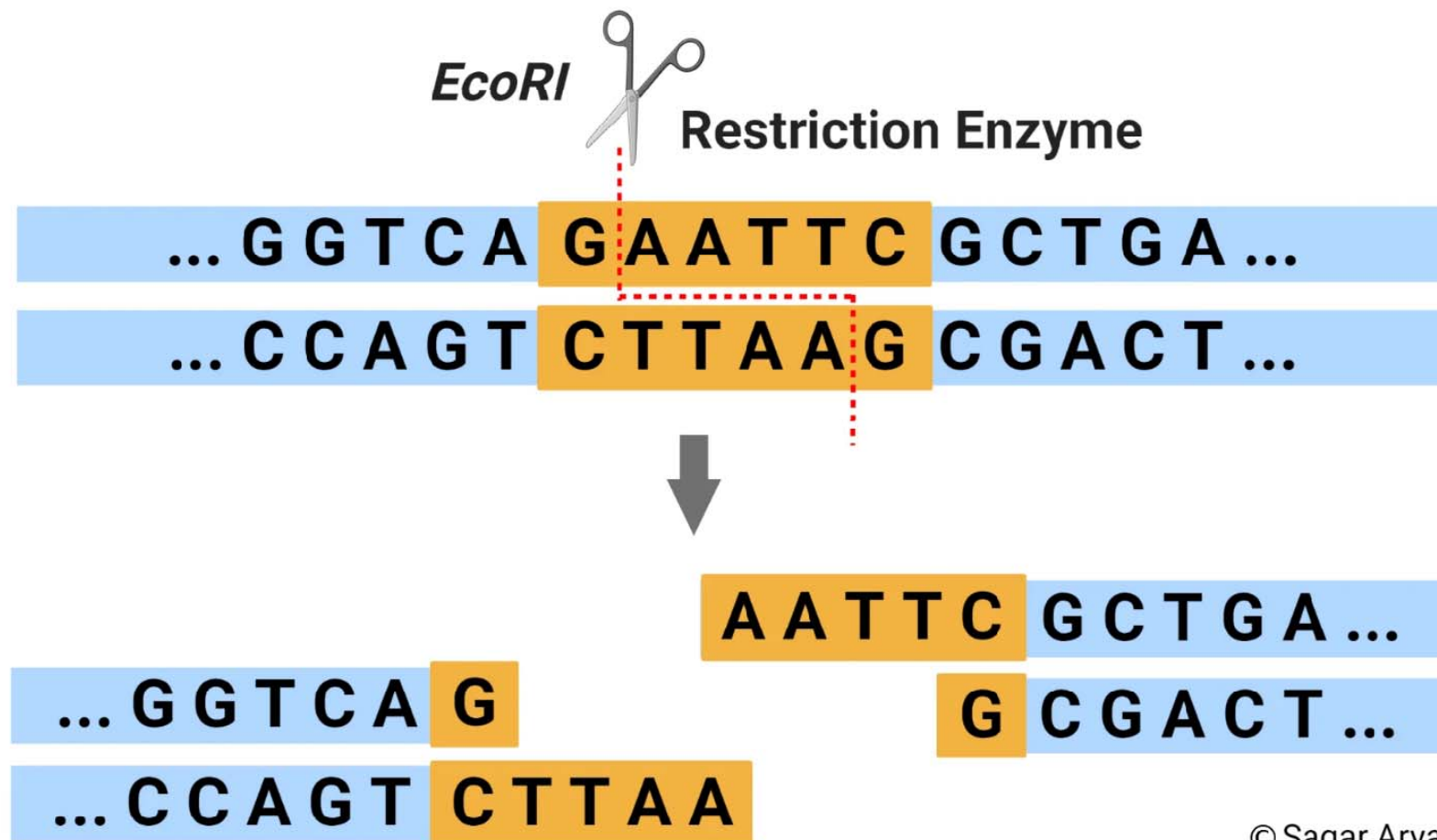


เครื่องมือที่ใช้ตัด DNA ให้ขาดเป็นชิ้น ๆ ตามที่เราต้องการ เป็นเอนไซม์ที่เรียกว่า Restriction endonuclease หรือ Restriction enzyme ภาษาไทยนิยมเรียกว่า เอนไซม์ตัดจำเพาะ หมายความว่า จะตัดเฉพาะจุดที่เฉพาะเจาะจง ไม่ตัดมั่ว ๆ

Restriction endonucleases



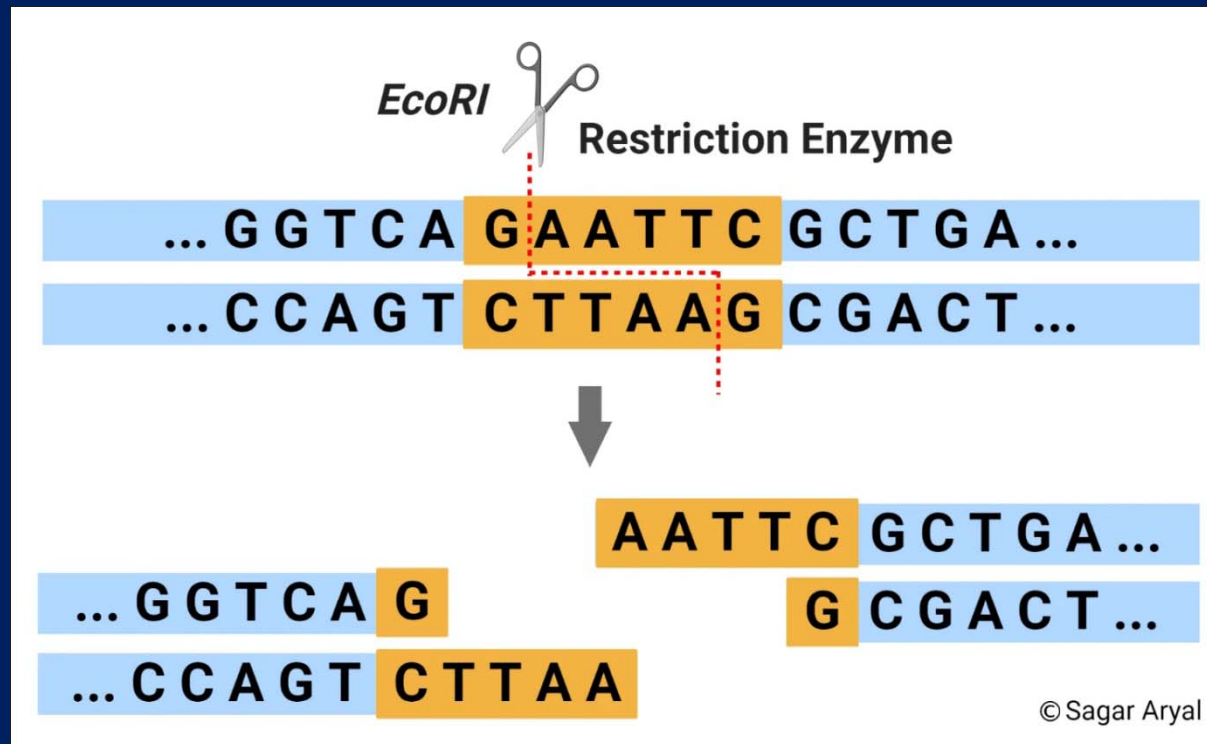
เอนไซม์ตัดจำเพาะ หรือ Restriction enzyme มีมากมายหลายชนิดให้เลือกใช้ แต่ละชนิดจะมีความจำเพาะกับลำดับนิวคลีโอไทด์ (AGCT) ไม่เหมือนกัน เช่น ชนิดที่มีชื่อว่า *EcoRI* จะตัด DNA ได้ก็ต่อเมื่อไปเจอกับลำดับเบส (นิวคลีโอไทด์) GAATTC เท่านั้น ถ้าลำดับเบสต่างไปแม้แต่ตัวเดียว ก็จะไม่ตัด เช่น เจอ GAATAC ก็ไม่ตัด



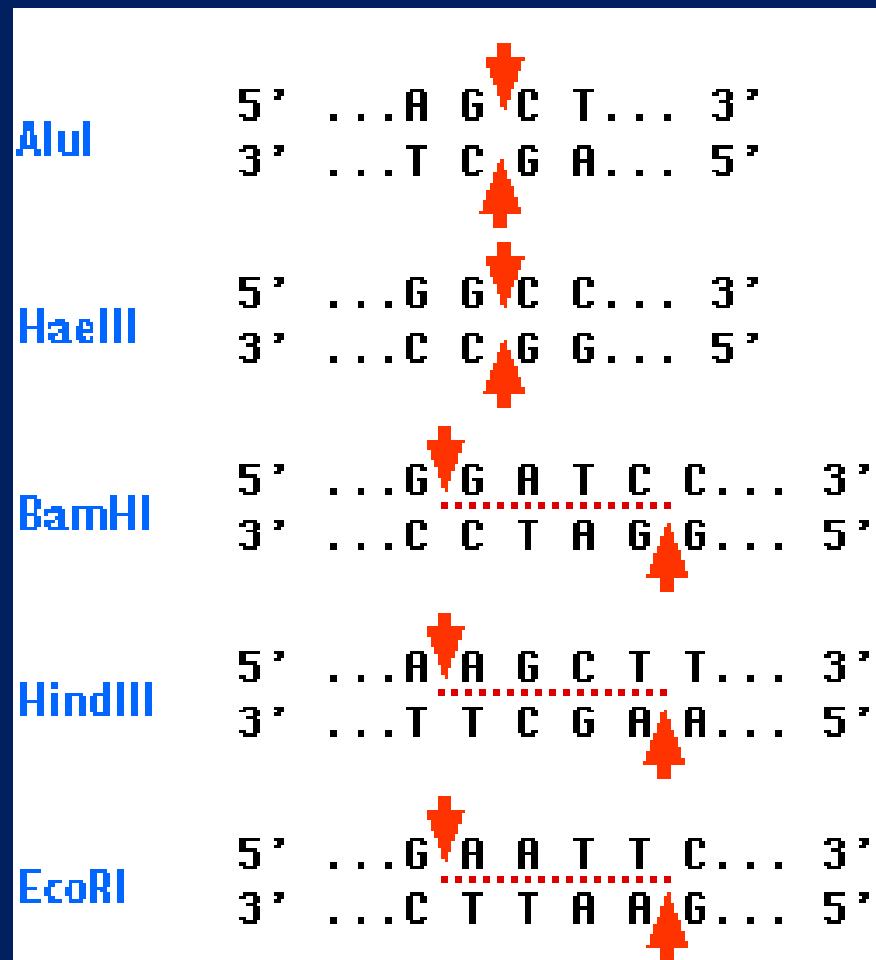
การตั้งชื่อเอนไซม์ตัดจำเพาะ จะตั้งชื่อจากสิ่งมีชีวิตเช่นแบคทีเรียที่ค้นพบและแยก
เอนไซม์ออกมาได้ โดยเอาอักษรตัวแรกของชื่อจีนัส กับสองตัวแรกของชื่อสปีชีส์ ในชื่อ
วิทยาศาสตร์มาตั้ง ตามด้วยสายพันธุ์ และลำดับที่ค้นพบ

ตัวอย่างเช่น EcoRI อ่านว่า อี โค อาร์ วัน เพราะมาจากแบคทีเรียชื่อ *Escherichia coli*
สายพันธุ์ R และค้นพบตัวแรก

EcoRI จะตัดตรงลำดับเบส GAATTC โดยตัดตรงระหว่าง G กับ A ตามภาพ



ตัวอย่างเอนไซม์ตัดจำเพาะอื่น ๆ แต่ละตัวก็มีจุดและลำดับเบสที่ตัดไม่เหมือนกัน



AluI and **HaeIII** produce blunt ends

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

ตัวอย่าง ถ้านิสิตมี DNA ของยีนสำหรับสร้างเอนไซม์อะไมเลสในตับอ่อนของคน
ซึ่งในฐานข้อมูล NCBI ระบุว่า มีความยาว 1,574 คู่เบส
แล้วนิสิตอยากรู้ว่าเอาเอนไซม์ *EcoRI* มาตัด จะตัดได้ไหม และถ้าตัดได้ ได้กี่ชิ้น ตัดกี่แห่ง

นิสิตก็โหลดลำดับนิวคลีโอไทด์มาดู โดยกดตรงปุ่ม FASTA ก็ได้

[Human pancreatic amylase \(amy2A\) mRNA, complete cds](#)

1. 1,574 bp linear mRNA

Accession: M28443.1 GI: 529396

[PubMed](#) [Taxonomy](#)

[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)

เราทราบแล้วว่า จะตัดด้วย *EcoRI* ได้ ต้องมีลำดับเบส GAATTC
ดังนั้นก็ค่อย ๆ ใช้ตาเปล่าไล่ดูตั้งแต่เบสตัวแรกจนถึงตัวสุดท้ายก็ได้ ว่ามี GAATTC อยู่
ตรงไหนบ้าง ซึ่งเป็นงานที่น่าเบื่อ เสียเวลามาก
หรือจะใช้ปุ่ม Ctrl + F ค้นหาคำว่า GAATTC ก็ได้ ก็พบ 1 แห่งตามภาพนี้

Human pancreatic amylase (amy2A) mRNA, complete cds

GenBank: M28443.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

>M28443.1 Human pancreatic amylase (amy2A) mRNA, complete cds

```
ACTTCAAAGCAAATGAAGTTCCTTCTGTTGCTTTTCACCATTGGGTTCTGCTGGGCTCAGTATCCCCA
AATACACAACAAGGACGGACATCTATTGTTTCATCTGTTTGAATGGCGATGGGTTGATATTGCTCTTGAAT
GTGAGCGATATTTAGCTCCGAAGGGATTGGAGGGGGTTCAGGTCTCTCCACCAAATGAAAATGTTGCAAT
TTACAACCCTTTCAGACCTTGGTGGGAAAGATACCAACCAGTTAGCTATAAATTATGCACAAGATCTGGA
AATGAAGATGAATTTAGAAACATGGTGACTAGATGTAACAATGTTGGGGTTCGTATTTATGTGGATGCTG
TAATTAATCATATGTGTGGTAACGCTGTGAGTGCAGGAACAAGCAGTACCTGTGGAAGTTACTTCAACCC
TGGAAGTAGGGACTTTCAGCAGTCCCATTCTGGATGGGATTTCAATGATGGTAAATGTAAAAGTGGGA
AGTGGAGATATCGAGAATTACAATGATGCTACTCAGGTCAGAGATTGTCGTCTGACTGGTCTTCTTGATC
TTGCACTGGAGAAGGATTACGTGCGTTCTAAGATTGCCGAATATATGAACCATCTCATTGACATTGGTGT
TGCAGGGTTCAGACTTGATGCTTCCAAGCACATGTGGCCTGGAGACATAAAGGCAATTTTGGACAAACTG
CATAATCTAAACAGTAACTGGTCCCTGCAGGAAGTAAACCTTTCATTTACCAGGAGGTAATTGATCTGG
GTGGTGAGCCAATTAAGCAGTGACTACTTTGGTAAATGGCCGGGTGACAGAATTCAAGTATGGTGCAAAA
ACTCGGCACAGTTATTCGCAAGTGGAAATGGAGAGAAGATGTCTTACTTAAAGAACTGGGGAGAAGGTTGG
GGTTTCGTACCTTCTGACAGAGCGCTTGTCTTTGTGGATAACCATGACAATCAACGAGGACATGGGGCTG
GAGGAGCCTCTATTCTTACCTTCTGGGATGCTAGGCTGTACAAAATGGCAGTTGGATTTATGCTTGCTCA
TCCTTACGGATTTACACGAGTAATGTCAAGCTACCGTTGGCCAAGACAGTTTCAAATGGAAACGATGTT
AACGATTGGGTTGGGCCACCAATAAATGGAGTAATTAAGAAAGTTACTATTAATCCAGACTACTT
GTGGCAATGACTGGGTCTGTGAACATCGATGGCGCCAAATAAGGAACATGGTTATTTTCCGCAATGTAGT
GGATGGCCAGCCTTTTACAAATTGGTATGATAATGGGAGCAACCAAGTGGCTTTTGGGAGAGGAAACAGA
GGATTCATTGTTTTCAACAATGATGACTGGTCATTTCTTTAACTTTGCAAACCTGGTCTTCTGCTGGCA
CATACTGTGATGTCATTTCTGGAGATAAAATTAATGGCAATTGCACAGGCATTAATAATTTACGTTTCTGA
TGATGGCAAAGCTCATTTTCTATTAGTAACTCTGCTGAAGATCCATTTATTGCAATTCATGCTGAATCT
AAATTGTAATAATTAATAATGATGCTGCTC
```

แต่มีโปรแกรม Bioinformatics มาช่วย ซึ่งใช้งานสะดวกกว่ามานั่งกด Ctrl + F หรือใช้
ตาเปล่าไล่ดูทีละตัว เช่น NEB Cutter ปัจจุบันออกมาถึง version 3 แล้ว
สามารถใช้งานได้

<https://nc3.neb.com/NEBcutter>

NEBcutter®

version 3.0.15

WELCOME GUEST, [SIGN IN](#) OR [SIGN UP](#) [FEEDBACK](#) [HELP](#)

NEW ENGLAND
BioLabs Inc. be INSPIRED
drive DISCOVERY
stay GENUINE

Open Recent Project
Projects will be automatically deleted 7 day(s) after they were last accessed.

529396

Disable cookies

Enter a DNA sequence, or select from other options, to identify cut sites. Once you submit a sequence, you may choose to customize your digest.

1. Input or choose sequence.

Type or paste sequence

2. Set preferences.

Circular

3. Name project (optional).

Enter project name

การป้อนข้อมูล ทำได้ 3 แบบ คือ (1) พิมพ์เข้าไปทีละตัวหรือ Copy มา paste ก็ได้ หรือ (2) เลือกแท็บ File ก็สามารอัปโหลดไฟล์ text เข้าไปก็ได้ หรือ (3) เอาเลข GenBank มาป้อนเข้าไปเลยก็ได้

NEBcutter®
version 3.0.15

WELCOME GUEST, [SIGN IN](#) OR [SIGN UP](#) [FEEDBACK](#) [HELP](#)

NEW ENGLAND
BioLabs Inc. be INSPIRED
drive DISCOVERY
stay GENUINE

Open Recent Project
Projects will be automatically deleted 7 day(s) after they were last accessed.

529396

Disable cookies [?](#)

Enter a DNA sequence, or select from other options, to identify cut sites. Once you submit a sequence, you may choose to customize your digest.

1. Input or choose sequence. [?](#)

Text | File | GenBank | Plasmid Vector | Viral & Phage

Type or paste sequence

2. Set preferences. [?](#)

Circular

3. Name project (optional). [?](#)

Submit

เพื่อความสะดวกสำหรับการทดลองวันนี้ จะป้อนเลข GenBank นะครับ

1. Input or choose sequence. ?

Text	File	GenBank	Plasmid Vector	Viral & Phage
------	------	---------	----------------	---------------

GenBank Enter GenBank accession number

2. Set preferences. ?

Circular Additional Preferences (enzymes, oligos, etc)

3. Name project (optional). ?

Enter project name

Submit

เราก็เอาเลข GenBank มาป้อนเข้าไปดูครับ คือ M28443.1

Human pancreatic amylase (amy2A) mRNA, complete cds

GenBank: M28443.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

>M28443.1 Human pancreatic amylase (amy2A) mRNA, complete cds

```
ACTTCAAAGCAAATGAAGTTCTTTCTGTTGCTTTTCACCATTGGGTTCTGCTGGGCTCAGTATTCCCCA
AATACACAACAAGGACGGACATCTATTGTTTCATCTGTTTGAATGGCGATGGGTTGATATTGCTCTTGAAT
GTGAGCGATATTTAGCTCCGAAGGGATTTGGAGGGGTTGAGGTCTCTCCACCAAATGAAAATGTTGCAAT
TTACAACCCTTTTCAGACCTTGGTGGGAAAGATACCAACCAGTTAGCTATAAATTATGCACAAGATCTGGA
AATGAAGATGAATTTAGAAACATGGTGACTAGATGTAACAATGTTGGGGTTCGTATTTATGTGGATGCTG
TAATTAATCATATGTGTGGTAACGCTGTGAGTGCAGGAACAAGCAGTACCTGTGGAAGTTACTTCAACCC
TGGAAGTAGGGACTTTCCAGCAGTCCCATATTCTGGATGGGATTTCAATGATGGTAAATGTAAAACCTGGA
AGTGGAGATATCGAGAATTACAATGATGCTACTCAGGTCAGAGATTGTCGTCTGACTGGTCTTCTTGATC
TTGCACTGGAGAAGGATTACGTGCGTTCTAAGATTGCCGAATATATGAACCATCTCATTGACATTGGTGT
TGCAGGGTTCAGACTTGATGCTTCCAAGCACATGTGGCCTGGAGACATAAAGGCAATTTTGGACAACTG
CATAATCTAAACAGTAACTGGTTCCTGCAGGAAGTAAACCTTTCAATACCAGGAGGTAATTGATCTGG
GTGGTGAGCCAATTTAAAGCAGTGACTACTTTGGTAATGGCCGGGTGACA GAATTC AAGTATGGTGCAAA
ACTCGGCACAGTTATTCGCAAGTGAATGGAGAGAAGATGTCTTACTTAAAGAACTGGGGAGAAGGTTGG
GGTTTCGTACCTTCTGACAGAGCGCTTGTCTTTGTGGATAACCATGACAATCAACGAGGACATGGGGCTG
GAGGAGCCTCTATTCTTACCTTCTGGGATGCTAGGCTGTACAAAATGGCAGTTGGATTTATGCTTGCTCA
TCCTTACGGATTTACACGAGTAATGTCAAGCTACCGTTGGCCAAGACAGTTTCAAATGGAAACGATGTT
AACGATTGGGTTGGGCCACCAATAATAATGGAGTAATTAAGAAGTTACTATTAATCCAGACACTACTT
GTGGCAATGACTGGGTCTGTGAACATCGATGGCGCCAATAAGGAACATGGTTATTTTCCGCAATGTAGT
GGATGGCCAGCCTTTTACAAATTGGTATGATAATGGGAGCAACCAAGTGGCTTTTGGGAGAGGAAACAGA
GGATTCATTGTTTTCAACAATGATGACTGGTCATTTTCTTAACTTTGCAAACCTGGTCTTCCTGCTGGCA
CATACTGTGATGTCATTTCTGGAGATAAAATTAATGGCAATTGCACAGGCATTAATAATTTACGTTTCTGA
TGATGGCAAAGCTCATTTTTCTATTAGTAACTCTGCTGAAGATCCATTTATTGCAATTCATGCTGAATCT
AAATTGTAATAATTTAAATTAATGCATGTCCTC
```

ป้อน M28443.1 แล้วก็กด Submit ดูครับ
ผลเป็นอย่างไร พรุ่งนี้มาดูกันต่อครับ

1. Input or choose sequence. ?

Text	File	GenBank	Plasmid Vector	Viral & Phage
------	------	---------	----------------	---------------

GenBank M28443.1

2. Set preferences. ?

Circular

3. Name project (optional). ?

Enter project name

Submit