

กดปุ่ม Submit แล้ว จะได้ผลออกมาหน้าตาแบบนี้ครับ

สำหรับวิชานี้ จะแนะนำการใช้งานเบื้องต้นเท่านั้น นิสิตที่สนใจเรียนทางด้านนี้โดยเฉพาะ สามารถศึกษาเพิ่มเติมเชิงลึกได้ด้วยตนเองครับ

NEBcutter[®] version 3.0.15

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

Create New Project

M28443.1 [Download](#)

Graphical View

Enzyme List

Sequence

ORF Summary

Flanking Sites

Custom Digest

Results For: [Edit](#)

- Enzymes:
 - Supplier: NEB
 - Type: Type I, II, III, Homing, Nicking
- ORFs:
 - Min: 100 aa
 - Loaded from input file

Sequence Information: [?](#)

1574 bp, Linear

GC = 41%, AT = 59%

Display [?](#)

- Circular
- Linear
- Alternative
- Show flanks

1 cutters

2 cutters

3 cutters

List 0 cutters

Cleavage [?](#)

- Blunt-End Cut
- Cuts 1 strand
- 5' Extension
- 3' Extension

Supplier [?](#)

- NEB
- Other supplier
- Not commercially available

Site [?](#)

- Affected by CpG methylation
- Affected by other methylation
- Ambiguous site

AMY2A

1 1574

-BglII

-StyI

-BsaI

-BtgZI*

-BamII

-Bsp1286I

-BseYI

-EcoRV*

-BsaAI*

-BsiII

-PflMI

-MslI

-NdeI

-BsgI

-PstI

-SbfI

-SfcI

-AflIII

-PciI

-BsaAI*

-EcoRI

-NciI*

-HpaII*

-MspI*

-BtsI

-Nb.BtsI

-NmeAIII

-Acil*

-PluTI*

-SfoI*

-BsaHI*

-NarI*

-BamI

-KasI*

-BspDI*

-ClaI*

-PflFI

-Tth111I

-Sau96I

-HincII*

-HpaI

-Nb.BssSI

-BssSI

-BsrGI

-MmeI

-BseRI

-AfeI*

-MfeI

-NsiI

-DraI

-BstAPI

-Acl

-Nt.AIwI#

-AlwI#

ซ้ายบน คือ หมายเลข GenBank ของยีนที่เราป้อนเข้าไป คือ M28443.1

ขวาบน ปุ่ม Download ผลการวิเคราะห์การตัดชิ้น DNA ด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

ลองกดปุ่ม Download ดูครับ ว่าผลเป็นอย่างไร

NEBcutter®
version 3.0.15

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

Create New Project

M28443.1 [Download](#)

Graphical View

Enzyme List

Sequence

ORF Summary

Flanking Sites

Custom Digest

Results For: [Edit](#)

- Enzymes:
 - Supplier: NEB
 - Type: Type I, II, III, Homing, Nicking
- ORFs:
 - Min: 100 aa
 - Loaded from input file

Sequence Information: [?](#)

1574 bp, Linear
GC = 41%, AT = 59%

Display [?](#)

Circular 1 cutters
 Linear 2 cutters
 Alternative 3 cutters
[List 0 cutters](#)

Show flanks

Cleavage [?](#)

- Blunt-End Cut
- Cuts 1 strand
- 5' Extension
- 3' Extension

Supplier [?](#)

- NEB
- Other supplier
- Not commercially available

Site [?](#)

- * Affected by CpG methylation
- # Affected by other methylation
- () Ambiguous site

AMY2A

1 1574

BglII, BsaI, EcoRI, BspI, BseI, Bsp1286I, BseYI, BstI, NdeI, MspI, PstI, SbfI, SfcI, NmeAIII, EcoRI, NciI, HpaII, MspI, BtsI, Nb.BtsI, BsaI, PciI, AfIII, BsaI, EcoRV, BspI, PflMI, BsgI, MslI, NdeI, Acil*, PluTI*, SfoI*, BsaHI*, NarI*, BanI, KasI*, BspDI*, ClaI*, PflFI, Tth111I, Sau96I, HincII*, HpaI, Nb.BssSI, BssSI, BsrGI, MmeI, BseRI, Afel*, MfeI, NsiI, DraI, BstAPI, Acul, Nt.AlwI#, AlwI#

กดปุ่ม Download จะมีรูปแบบไฟล์ให้เลือกหลายแบบ

หากจะนำไปใช้ในงานพิมพ์ ขยายใหญ่ ๆ เท่าฝ่าบ้าน แนะนำให้ใช้ไฟล์แบบ EPS แต่นิสิตต้องมีโปรแกรมที่อ่านไฟล์ EPS ได้ เช่น Adobe Photoshop

สำหรับงานทั่ว ๆ ไป เช่น แปะรายงาน ปัญหาพิเศษ วิทยานิพนธ์ ใช้ไฟล์ JPG หรือ PNG ก็พอครับ ส่วน PDF คงไม่ต้องอธิบาย นิสิตทุกคนรู้จักดีอยู่แล้ว

Download

Choose a preferred file type below to export graphics. For publication-quality graphics, we recommended downloading the EPS format, or exporting at a JPG or PNG at a resolution of 300dpi.

To print the whole screen, please use the print feature in your web browser.

SVG

EPS (high-resolution/publication-quality)

PDF

JPG at a resolution of dpi

PNG at a resolution of dpi

มาดูแผนผังด้านล่างบ้าง

ลักษณะแผนผังแบบนี้ มีคำศัพท์ทางเทคโนโลยีชีวภาพ เรียกว่า Restriction mapping แปลว่า แผนที่การตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

NEBcutter®
version 3.0.15

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

Create New Project

M28443.1 [Download](#)

Graphical View

- Enzyme List
- Sequence
- ORF Summary
- Flanking Sites
- Custom Digest**

Results For: [Edit](#)

- Enzymes:
 - Supplier: NEB
 - Type: Type I, II, III, Homing, Nicking
- ORFs:
 - Min: 100 aa
 - Loaded from input file

Sequence Information: [?](#)

1574 bp, Linear
GC = 41%, AT = 59%

Display

- Circular 1 cutters
- Linear 2 cutters
- Alternative 3 cutters
- [List 0 cutters](#)
- Show flanks

Cleavage

- Blunt-End Cut
- Cuts 1 strand
- 5' Extension
- 3' Extension

Supplier

- NEB
- Other supplier
- Not commercially available

Site

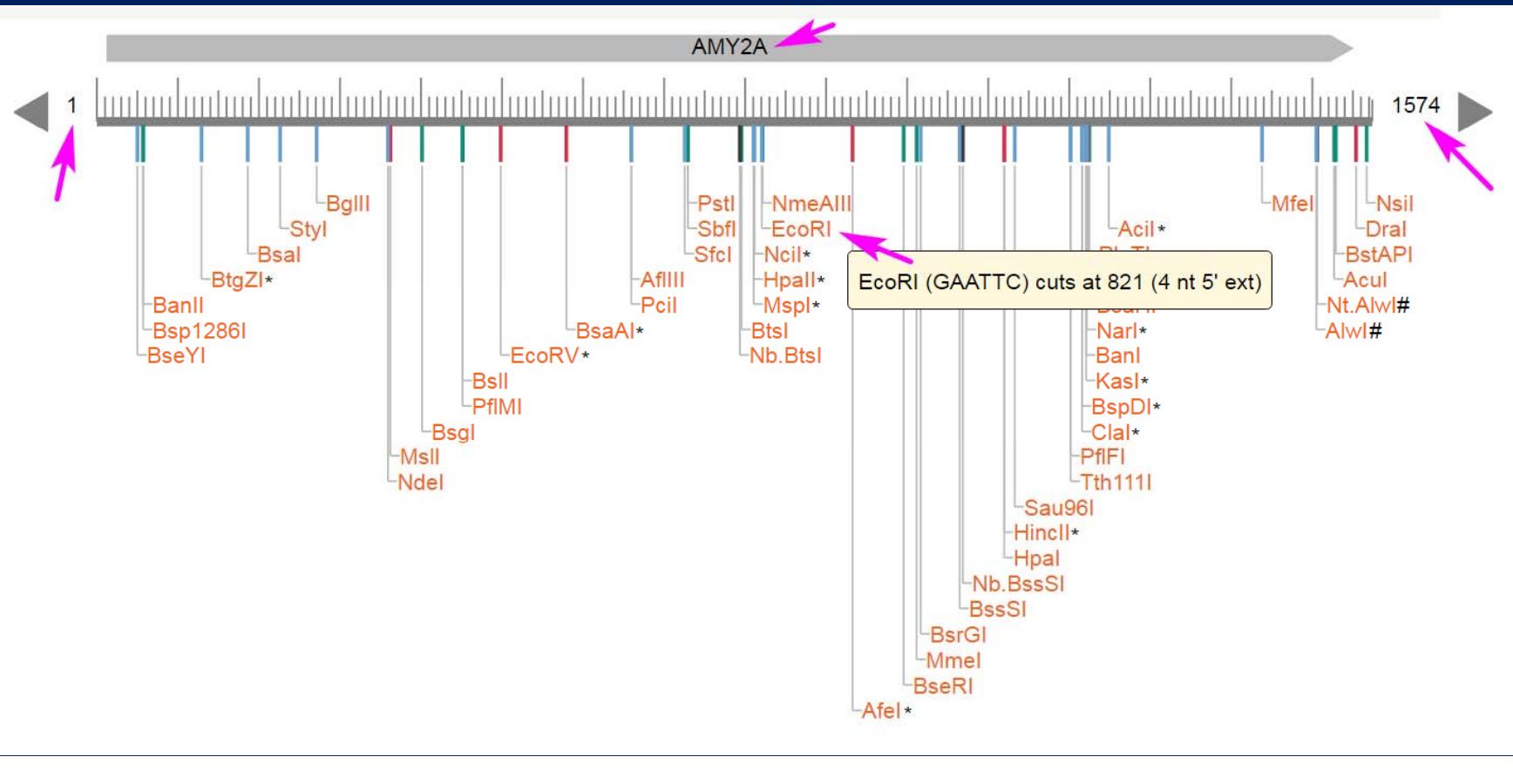
- * Affected by CpG methylation
- # Affected by other methylation
- () Ambiguous site

AMYZA

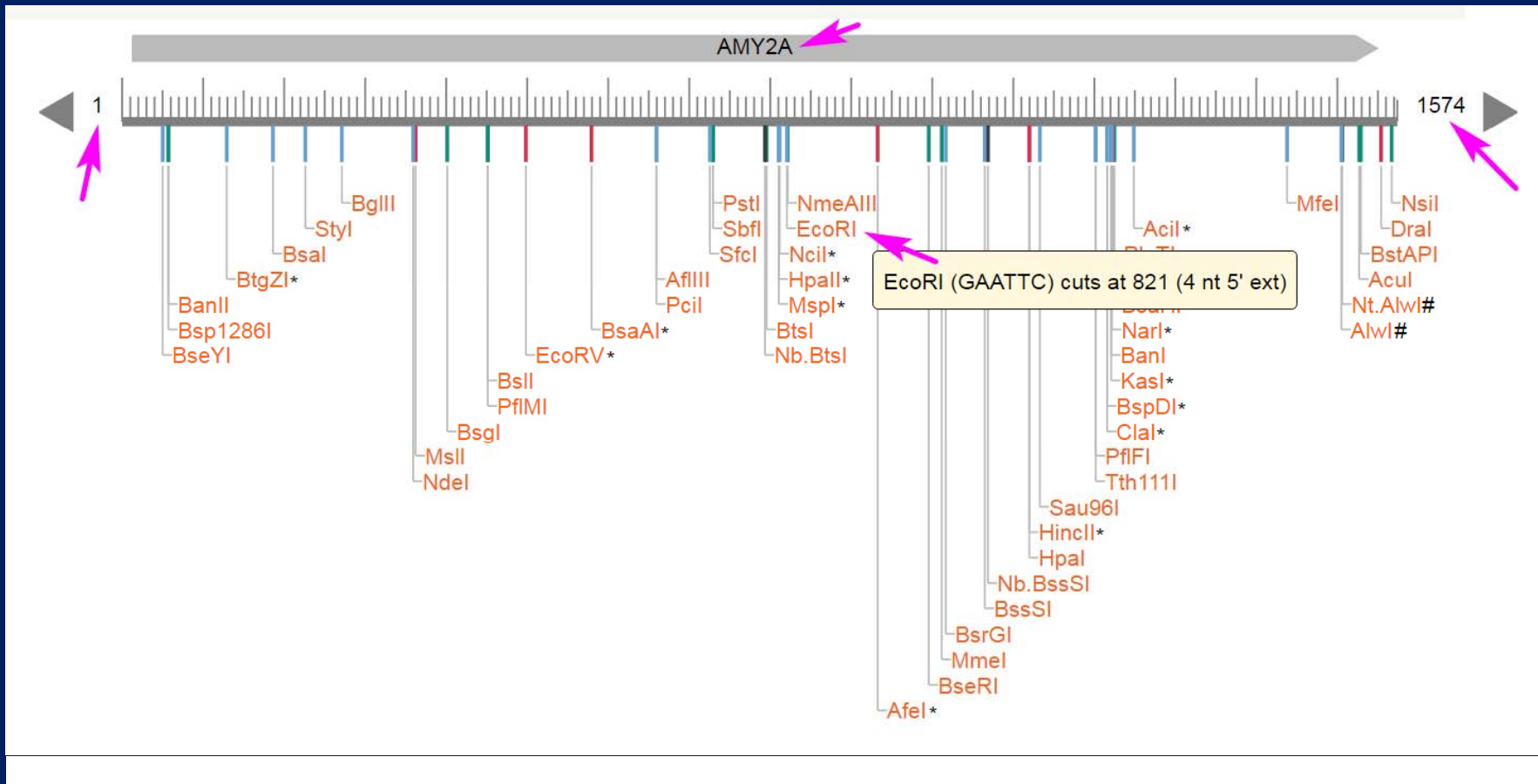
1 1574

Enzyme sites: -BglII, -StyI, -BsaI, -BtgZI*, -BanII, -Bsp1286I, -BseYI, -EcoRV*, -BsaAI*, -PstI, -SbfI, -SfcI, -NmeAIII, -EcoRI, -NciI*, -HpaII*, -MspI*, -BtsI, -Nb.BtsI, -MfeI, -NsiI, -DraI, -BstAPI, -AclI*, -PvuTI*, -SfoI*, -BsaHI*, -NarI*, -BanI, -KasI*, -BspDI*, -ClaI*, -PfiFI, -Tth111I, -Sau96I, -HincII*, -HpaI, -Nb.BssSI, -BssSI, -BsrGI, -MmeI, -BseRI, -AfeI*, -AlwI#

แผนที่นี้ จะแสดงตำแหน่งลำดับนิวคลีโอไทด์ของ DNA ของยีนที่เราเอามาวิเคราะห์
ตั้งแต่ลำดับที่ 1 ซ้ายสุด ถึงตัวสุดท้ายคือ 1574 ทางขวาสุด
ส่วนแถบสีเทาด้านบน คือตำแหน่งและทิศทางของ ORF (ถ้าจำไม่ได้ว่า ORF คืออะไร
กลับไปอ่านเรื่อง ORF Finder ที่ผ่านมานะครับ)



กรณีนี้ โปรแกรม NEB Cutter ยังดึงข้อมูลชื่อยีนของ ORF มาให้ด้วย คือ AMY2A
ถ้าสนใจว่า AMY2A คือยีนอะไร ก็ค้น Google ดูต่อนะครับ
และถ้าสนใจเอาเมาส์หรือเคอร์เซอร์รูปมือ ไปชี้ตรงเอ็นไซม์ EcoRI ก็จะมีปรากฏคำอธิบาย
มาให้ความ ตัดตรง GAATTC ที่ตำแหน่ง 821 ครับ



คราวนี้มาดู เมนูซ้ายกลาง Custom Digest ดูบ้าง

คลิกที่ปุ่ม Custom Digest ดูครับ (Custom ในที่นี้แปลว่า ตามสั่ง ตามต้องการ)

หมายถึง การย่อยหรือตัดยีน ด้วยเอนไซม์ที่เราเลือกตามต้องการว่าจะตัดด้วยเอนไซม์อะไรดี

The screenshot displays the NEBcutter web application interface. At the top left is the NEBcutter logo and version 3.0.15. At the top right is the BioLabs logo and navigation links: WELCOME GUEST, SIGN IN OR SIGN UP, FEEDBACK, and HELP. A pink arrow points to a 'Download' button in the top right corner.

On the left sidebar, the 'Custom Digest' menu item is highlighted with a pink box. Below it, the 'Results For:' section shows 'Edit' and a list of enzymes: NEB, Type I, II, III, Homing, Nicking, and ORFs (Min: 100 aa, Loaded from input file). The 'Sequence Information' section shows '1574 bp, Linear' and 'GC = 41%, AT = 59%'.

The main area shows a graphical view of the 'AMY2A' gene sequence (1 to 1574 bp). A pink arrow points to the 'Custom Digest' section, which includes a 'Display' panel with options for 'Circular', 'Linear', and 'Alternative' views, and '1 cutters', '2 cutters', and '3 cutters' options. The 'Cleavage' panel shows options for 'Blunt-End Cut', 'Cuts 1 strand', '5' Extension', and '3' Extension'. The 'Supplier' panel shows 'NEB', 'Other supplier', and 'Not commercially available'. The 'Site' panel shows 'Affected by CpG methylation', 'Affected by other methylation', and 'Ambiguous site'.

The graphical view shows a horizontal bar representing the gene sequence with various restriction enzyme sites indicated by colored lines and labels below it. A pink arrow points to a specific enzyme site, 'NmeAIII', on the sequence.

เราสามารถตัดด้วยเอนไซม์หลาย ๆ ชนิดพร้อมกันก็ได้ DNA ของเราก็จะขาดเป็นท่อน ๆ ตามจำนวนครั้งของการตัด แต่สำหรับวันนี้ ลองตัดด้วยเอนไซม์ชนิดเดียว พอเป็นไอเดีย คือ EcoRI ดูครับ ก็ติกเลือก EcoRI แล้วกดปุ่ม Digest สีส้มขวามือ

NEBcutter[®] version 3.0.15

WELCOME GUEST, SIGN IN OR SIGN UP FEEDBACK HELP

Create New Project

M28443.1

Select Enzymes Graphical View Enzyme List Fragments Gel

Display

Buffer rCutSmart Buffer Specificity length between: 1.5 bp - 1.5 bp

End produced Blunt Number of sites \geq - cut

Non-palindromic Enzymes that flank region

14 - 1549 within 200 bp OK

Enter enzyme name

Digest

Results For: Edit

- Enzymes:
 - Supplier: NEB
 - Type: Type I, II, III, Homing, Nicking
- ORFs:
 - Min: 100 aa
 - Loaded from input file

Sequence Information: 1574 bp, Linear GC = 41%, AT = 59%

Selections: clear all

- EcoRI

Select	Enzyme	Recognition Sequence	Cuts	% activity in:			
				r1.1	r2.1	r3.1	rCS
<input type="checkbox"/>	DpnI	GA ₂ TC	4	100	100	75	100
<input type="checkbox"/>	DpnII	^GATC ₂	4	25	25	100*	25
<input type="checkbox"/>	DraI	TTT ₂ AAA	1	75	75	50	100
<input type="checkbox"/>	EaeI	Y^GGCC ₂ R	3	10	50	10	100
<input type="checkbox"/>	EcoP15I	CAGCAG(N) ₂₅ ^NN ₂	4	75	100	100	100
<input checked="" type="checkbox"/>	EcoRI	G^AATT ₂ C	1	25	100*	50	50*
<input type="checkbox"/>	EcoRI-HF	G^AATT ₂ C	1	10	100	10	100
<input type="checkbox"/>	EcoRV	GAT ₂ ATC	1	10	50	100	10
<input type="checkbox"/>	EcoRV-HF	GAT ₂ ATC	1	25	100	100	100
<input type="checkbox"/>	FatI	^CATG ₂	7	10	100	50	50
<input type="checkbox"/>	FokI	GGATG(N) ₉ ^NNNN ₂	5	100	100	75	100
<input type="checkbox"/>	FspEI	CC(N) ₁₂ ^NNNN ₂	158	10	10	10	100

คราวนี้ Restriction map ของเราก็จะเหลือแค่เอนไซม์ตัวเดียว ที่เราเลือกคือ EcoRI และตัดในช่วงกลาง ๆ ของยีนพอดี
นี่คือลองกดแถบ Fragments ดูครับ

NEBcutter®
version 3.0.15

WELCOME GUEST, SIGN IN OR SIGN UP FEEDBACK HELP

Create New Project

M28443.1 Download

Select Enzymes Graphical View Enzyme List Fragments Gel

Display ?
 Circular
 Linear
 Alternative
 Show flanks

Cleavage ?
 Blunt-End Cut
 Cuts 1 strand
 5' Extension
 3' Extension

Supplier ?
 NEB
 Other supplier
 Not commercially available

Site ?
 Affected by CpG methylation
 Affected by other methylation
 Ambiguous site

AMY2A

1 1574

EcoRI

Results For: Edit

- Enzymes:
 - Supplier: NEB
 - Type: Type I, II, III, Homing, Nicking
- ORFs:
 - Min: 100 aa
 - Loaded from input file

Sequence Information: ?
1574 bp, Linear
GC = 41%, AT = 59%

ก็จะมีตารางให้ดูว่า ผลการตัด DNA ของเรา ได้ 2 ชิ้น คือ ชิ้นแรก จากปลายด้านซ้ายถึงตำแหน่งที่ถูกตัดด้วย EcoRI กับชิ้นที่สอง จาก EcoRI ถึงปลายด้านขวา
ชิ้นแรกยาว 821 คู่เบส ชิ้นที่สองยาว 753 คู่เบส (ชิ้นแรกยาวกว่าชิ้นที่สอง)

NEBcutter®
version 3.0.15

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

Create New Project

M28443.1

Select Enzymes Graphical View Enzyme List **Fragments** Gel

Methylation ?
 CpG Dam Dcm
 EcoBI EcoKI

#	Ends	Coordinates	Length (bp)	Affected by Methylation
1	(LeftEnd) - EcoRI	1-821	821	
2	EcoRI - (RightEnd)	822-1574	753	

Results For: ? Edit

- Enzymes:
 - Supplier: NEB
 - Type: Type I, II, III, Homing, Nicking
- ORFs:
 - Min: 100 aa
 - Loaded from input file

Sequence Information: ?
1574 bp, Linear

ที่นี้มากแถบ Gel ขวาสุดดูครับ

Gel คือ การนำชิ้น DNA ที่เราตัดเสร็จแล้ว มาวิเคราะห์ด้วยวิธี Gel Electrophoresis คือการเอา DNA มาใส่ในช่องของเจลหรือวุ้น แล้วปล่อยกระแสไฟฟ้า ชิ้น DNA จะเคลื่อนที่ไปตามกระแสไฟฟ้าในเจล ชิ้นใหญ่จะเคลื่อนที่ได้ระยะทางสั้นกว่าชิ้นเล็ก

NEBcutter®
version 3.0.15

WELCOME GUEST, SIGN IN OR SIGN UP FEEDBACK HELP

Create New Project

M28443.1 Download

Select Enzymes Graphical View Enzyme List Fragments Gel

Display ?
 Circular
 Linear
 Alternative
 Show flanks

Cleavage ?
Blunt-End Cut
Cuts 1 strand
5' Extension
3' Extension

Supplier ?
NEB
Other supplier
Not commercially available

Site ?
* Affected by CpG methylation
Affected by other methylation
() Ambiguous site

AMY2A
1 1574
EcoRI

Results For: Edit
Enzymes:
- Supplier: NEB
- Type: Type I, II, III, Homing, Nicking
ORFs:
- Min: 100 aa
- Loaded from input file
Sequence Information: ?
1574 bp, Linear
GC = 41%, AT = 59%

ก็จะได้ภาพจำลองของการทดลอง Gel Electrophoresis ที่จะปรากฏแถบ DNA ขึ้น 2 แถบ โดยแถบบน ลูกศรสีเขียว คือ ชิ้นใหญ่ ความยาว 821 คู่เบส ส่วนชิ้นเล็ก สั้นกว่า ความยาว 753 คู่เบส ก็จะอยู่ด้านล่าง ก็ขอจบการใช้งาน NEB Cutter เบื้องต้นเพียงเท่านี้ครับ

Create New Project **M28443.1** Download

Graphical View | Select Enzymes | Graphical View | Enzyme List | Fragments | Gel

Specifications **?**
Gel: Agarose 0.7%
Marker: None
Methylation **?** Mark affected bands
 CpG Dam Dcm
 EcoBI EcoKI

Parameters **?**
Length: 102 mm
Time: minutes
Electrical Field: V/cm
Ok Reset

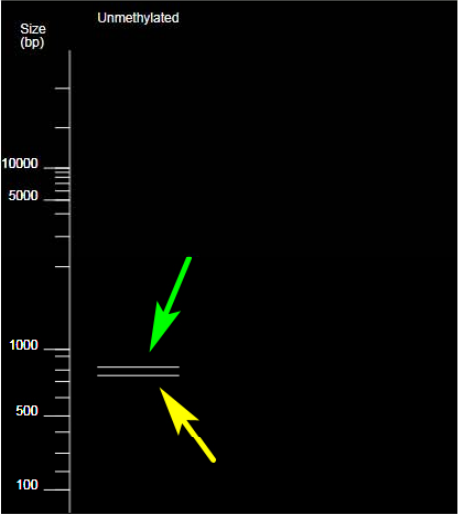
Color **?**
 White on black
 Black on white

Results For: **?** Edit

- Enzymes:
 - Supplier: NEB
 - Type: Type I, II, III, Homing, Nicking
- ORFs:
 - Min: 100 aa
 - Loaded from input file

Sequence Information: **?**
1574 bp, Linear
GC = 41%, AT = 59%

Unmethylated



#	Ends	Coordinates	Length (bp)	Affected by Methylation
1	(LeftEnd) - EcoRI	1-821	821	
2	EcoRI - (RightEnd)	822-1574	753	