

สารบัญ

| | |
|--|------|
| คำนำ | (1) |
| สารบัญ | (3) |
| สารบัญภาพ | (9) |
| สารบัญตาราง | (13) |
| บทที่ | |
| 1 องค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพของดีเอ็นเอ | 1 |
| 1.1 การค้นพบกรดนิวคลีอิก | 1 |
| 1.2 องค์ประกอบทางเคมีของกรดนิวคลีอิก | 1 |
| 1.3 การค้นพบดีเอ็นเอ | 7 |
| 1.4 หลักฐานเสริมที่สนับสนุนว่าดีเอ็นเอ (เกือบ) เป็นสารพันธุกรรมทั่วไป | 9 |
| 1.5 ข้อมูลที่นำไปสู่การค้นพบโครงสร้างโมเลกุลของดีเอ็นเอ | 12 |
| 1.5.1 ข้อมูลอัตราส่วนระหว่างเบสของดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ | 12 |
| 1.5.2 ข้อมูลทางกายภาพจากภาพถ่ายการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของดีเอ็นเอ | 13 |
| 1.6 โครงสร้างโมเลกุลของดีเอ็นเอ | 14 |
| 1.7 ดีเอ็นเอเป็นเกลียวคู่ | 18 |
| 1.8 ดีเอ็นเอสามารถถูกทำให้แปลงสภาพและฟื้นคืนสภาพ | 19 |
| 1.9 กรดนิวคลีอิกไฮบริดไธส์ (hybridize) โดยการจับคู่ของเบส | 21 |
| 1.10 กรดนิวคลีอิกสายเดี่ยวอาจมีโครงสร้างชั้นที่สอง | 25 |
| 1.11 ความซ้ำแบบกลับหัวกลับหาง (Inverted repeats) | 25 |
| 1.12 ดีเอ็นเอสายคู่มีโครงสร้างเกลียวคู่รูปแบบอื่นๆ | 26 |
| 1.13 ดีเอ็นเอที่เป็นวงสามารถม้วนตัวยวดยิ่งหรือซูเปอร์คอยด์ (supercoiled) | 28 |
| 1.14 การม้วนตัวยวดยิ่งหรือซูเปอร์คอยด์ส่งอิทธิพลถึงโครงสร้างของเกลียวคู่ | 30 |
| 1.15 ดีเอ็นเอโทปอโลยี (DNA topology) | 32 |
| 1.16 ความคิดรวบยอดในเรื่ององค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพ ของดีเอ็นเอ | 34 |
| 1.17 คำถามทบทวน | 35 |
| 1.18 หนังสืออ่านประกอบ | 36 |
| บทที่ | |
| 2 การถ่ายแบบดีเอ็นเอ | 37 |
| 2.1 หลักฐานการถ่ายแบบดีเอ็นเอในลักษณะกึ่งอนุรักษ์ | 37 |
| 2.2 การถ่ายแบบกึ่งอนุรักษ์ | 40 |

| | หน้า |
|---|------|
| 2.3 การสังเคราะห์สายดีเอ็นเอแบบกึ่งไม่ต่อเนื่อง (semi-discontinuous) | 40 |
| 2.4 พริโมโซม (primosome) กระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์ชิ้นส่วนโอคาซากิ | 44 |
| 2.5 ดัชนีแบบหรือเทมเพลต (template) และไพรเมอร์ | 44 |
| 2.6 กระบวนการถ่ายแบบดีเอ็นเอ | 45 |
| 2.6.1 การถ่ายแบบใน <i>E. coli</i> | 45 |
| 2.6.2 การถ่ายแบบสารพันธุกรรมเชิงเส้น (linear genetic elements) | 48 |
| 2.7 ดีเอ็นเอพอลิเมอเรสเอนไซม์ที่สร้างดีเอ็นเอหรือเอนไซม์ ที่เร่งการถ่ายแบบดีเอ็นเอ | 48 |
| 2.8 ความซื่อสัตย์ของการถ่ายแบบดีเอ็นเอ การพิสูจน์การอ่านหรือพรูฟรีดดิ้ง | 52 |
| 2.9 ความคิดรวบยอดที่สำคัญในเรื่องการถ่ายแบบดีเอ็นเอ | 53 |
| 2.10 คำถามทบทวน | 56 |
| 2.11 หนังสืออ่านประกอบ | 56 |
| บทที่ 3 จากจีนสู่โปรตีน (การถอดรหัสและการแปลรหัส) | 57 |
| 3.1 เอนไซม์ในการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ | 58 |
| 3.2 โพรโมเตอร์ | 59 |
| 3.3 การถอดรหัส | 61 |
| 3.4 การแปรรูปอาร์เอ็นเอ (RNA processing) | 63 |
| 3.5 อาร์เอ็นเอถ่ายโอน | 68 |
| 3.6 การแปลรหัส | 70 |
| 3.6.1 รหัสพันธุกรรม | 71 |
| 3.6.2 ไรโบโซม | 76 |
| 3.6.3 กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน | 79 |
| 3.7 การดัดแปลงหลังการแปลรหัส (posttranslational modification) | 83 |
| 3.8 ความคิดรวบยอดที่สำคัญในเรื่องจากจีนสู่โปรตีน (การถอดรหัสและการแปลรหัส) .. | 83 |
| 3.9 คำถามทบทวน | 83 |
| 3.10 หนังสืออ่านประกอบ | 84 |
| บทที่ 4 การควบคุมการแสดงออกของจีน | 85 |
| 4.1 การแสดงออกของจีน | 87 |
| 4.2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการควบคุมการแสดงออกของจีน | 89 |
| 4.3 การควบคุมการแสดงออกของเงินในโพรคาริโอต | 91 |
| 4.3.1 โอเพอรอน (operon) และการควบคุม | 92 |
| 4.3.2 รีเพรสซิเบิลโอเพอรอน (repressible operon) | 93 |
| 4.3.3 อินดิิวซิเบิลโอเพอรอน (inducible operon) | 95 |

| | | |
|--------------|--|-----|
| | 4.3.4 การควบคุมทางบวก | 98 |
| | 4.3.5 การควบคุมทางบวกและการควบคุมทางลบ | 100 |
| | 4.3.6 คอนสทิทิวทีฟจีน (constitutive genes) | 101 |
| | 4.3.7 ตัวหยุดหรือเทอร์มิเนเตอร์ ตัวเบาบางหรือแอทเทนนูเอเตอร์ (attenuators) และตัวต่อต้านการหยุดหรือแอนติเทอร์มิเนเตอร์ (antiterminator) | 103 |
| | 4.4 การควบคุมการแสดงออกของจีนในยูคาริโอต | 106 |
| | 4.4.1 การหีบห่อ (packing) ดีเอ็นเอในโครโมโซมของยูคาริโอต | 108 |
| | 4.4.2 บทบาทของดีเอ็นเอเมทิลเลชัน (DNA methylation) | 110 |
| | 4.4.3 การควบคุมการถอดรหัส | 111 |
| | 4.4.4 กลไกระดับโมเลกุลของการควบคุมการถอดรหัส | 112 |
| | 4.4.5 การควบคุมหลังการถอดรหัส | 112 |
| | 4.4.6 อັพสทริมแอกติเวเตอร์ซีควนส์และเอนแฮนเซอร์ | 114 |
| | 4.4.7 ตำแหน่งเชื่อมของโรโบโซม | 114 |
| | 4.4.8 มัลติจีนแฟมิลี (multigene family) | 115 |
| | 4.5 ความคิดรวบยอดที่สำคัญในเรื่องการควบคุมการแสดงออกของจีน | 117 |
| | 4.6 คำถามทบทวน | 118 |
| | 4.7 หนังสืออ่านประกอบ | 118 |
| บทที่ | | |
| 5 | รีคอมบิแนนต์ดีเอ็นเอเทคโนโลยี | 119 |
| | 5.1 รีสทริกชันเอนไซม์ | 120 |
| | 5.2 เวกเตอร์ | 124 |
| | 5.3 สิ่งมีชีวิตที่ถูกนำมาใช้ในดีเอ็นเอเทคโนโลยี | 131 |
| | 5.4 การสร้างผลผลิตของจีน | 133 |
| | 5.5 การสังเคราะห์ดีเอ็นเอและการหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ | 134 |
| | 5.6 การได้มาซึ่งจีน | 136 |
| | 5.7 ความคิดรวบยอดที่สำคัญในเรื่องรีคอมบิแนนต์ดีเอ็นเอเทคโนโลยี | 143 |
| | 5.8 คำถามทบทวน | 143 |
| | 5.9 หนังสืออ่านประกอบ | 144 |
| บทที่ | | |
| 6 | พลาสมิดเวกเตอร์และเทคนิคการแยกดีเอ็นเอ | 145 |
| | 6.1 ลักษณะทั่วไปของพลาสมิด | 145 |
| | 6.2 ชนิดของพลาสมิดเวกเตอร์ | 148 |
| | 6.3 การสกัดและการทำให้พลาสมิดดีเอ็นเอบริสุทธิ์ | 153 |
| | 6.3.1 โปรโตคอลพลาสมิดมินิเพรพโดยวิธีแอลคาไลน์ลิส | 156 |
| | 6.3.2 โปรโตคอลพลาสมิดมินิเพรพโดยวิธีการต้มหรือบอยลิง | 159 |

| | หน้า | |
|--------------|--|-----|
| 6.3.3 | พลาสติกมิเนอเพรโปรโตคอลลที่ดัดแปลงจากวิธีของ เบียร์นบอมและดอลลี..... | 160 |
| 6.3.4 | พลาสติกมิเนอเพรโปรโตคอลลที่ดัดแปลงโดยไมใช้พีนอลหรือคลอโรฟอร์ม กระบวนการไม่ซับซ้อนและใช้เวลาสั้น..... | 161 |
| 6.3.5 | การสกัดพลาสติกโดยใช้ชุดสกัดพลาสติกของไควเอเจนต์ | 161 |
| 6.3.6 | โปรโตคอลลการสกัดพลาสติกดีเอ็นเอในปริมาณมาก | 163 |
| 6.4 | โปรโตคอลลการสกัดดีเอ็นเอทั้งหมด | 166 |
| 6.5 | โปรโตคอลลการสกัดดีเอ็นเอทั้งหมดโดยไมใช้พีนอล | 166 |
| 6.6 | การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยพอลิเมอเรสเซนรีแอกชัน | 168 |
| 6.7 | โปรโตคอลลพีซีอาร์ | 169 |
| 6.8 | การวิเคราะห์ผลผลิตของพีซีอาร์โดยพอลิเอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟริสิส | 171 |
| 6.9 | ดีเอ็นเอพริงเกอร์พรีนติง | 171 |
| 6.10 | ตัวอย่างปฏิบัติการดีเอ็นเอพริงเกอร์พรีนติง | 173 |
| 6.11 | ความคิดรวบยอดที่สำคัญในเรื่องพลาสติกเวกเตอร์ และเทคนิคการแยกดีเอ็นเอ | 175 |
| 6.12 | คำถามทบทวน | 176 |
| 6.13 | หนังสืออ่านประกอบ | 176 |
| บทที่ | | |
| 7 | การทำสำเนาพันธุกรรมหรือการโคลนนิ่งดีเอ็นเอโมเลกุลในพลาสติกเวกเตอร์ | 177 |
| 7.1 | เอนไซม์ที่ใช้ในการทำสำเนาพันธุกรรมหรือการโคลนนิ่งระดับโมเลกุล | 177 |
| 7.1.1 | รีสทริกชันและดีเอ็นเอเมทิลเลชันเอนไซม์ | 177 |
| 7.1.2 | รีสทริกชันเอนไซม์ที่ใช้ในการทำแผนที่รีสทริกชัน | 179 |
| 7.1.3 | โปรโตคอลลการย่อยด้วยรีสทริกชันเอนไซม์ | 180 |
| | 7.1.3.1 โปรโตคอลลการย่อยด้วยรีสทริกชันเอนไซม์ชนิดเดียว | 180 |
| | 7.1.3.2 โปรโตคอลลการย่อยด้วยรีสทริกชันเอนไซม์ 2 ชนิด | 180 |
| 7.1.4 | เอนไซม์อื่นๆที่ใช้ในการทำสำเนาพันธุกรรมหรือการโคลนนิ่ง ระดับโมเลกุล | 182 |
| 7.2 | กลยุทธ์สำหรับไลเกชัน | 187 |
| 7.2.1 | โปรโตคอลลการดีฟอสฟอริเลชันพลาสติกดีเอ็นเอที่เป็นเส้น (dephosphorylation of linearized plasmid DNA) | 189 |
| 7.2.2 | ไลเกชันโปรโตคอลล | 190 |
| | 7.2.2.1 โปรโตคอลลการไลเกชันของพลาสติกดีเอ็นเอและดีเอ็นเอ ของสิ่งมีชีวิตต่างชนิดที่มีปลายเหนียวหรือสติกกีเอนต์ | 190 |
| | 7.2.2.2 โปรโตคอลลการโคลนนิ่งอย่างรวดเร็วในพลาสติกเวกเตอร์ | 191 |
| 7.3 | การแปลงคอมพีเทนต์ <i>E. coli</i> เซลล์ | 192 |
| 7.3.1 | โปรโตคอลลการเตรียมคอมพีเทนต์ <i>E. coli</i> โดยใช้แคลเซียมคลอไรด์ | 193 |

| | | |
|-----------|---|-----|
| 7.3.2 | โปรโตคอลทางเลือกอีกวิธีหนึ่งในการเตรียมคอมพีเทนต์เซลล์ ของ <i>E. coli</i> | 194 |
| 7.3.3 | โปรโตคอลการแปลงคอมพีเทนต์เซลล์ของ <i>E. coli</i> | 196 |
| 7.3.4 | โปรโตคอลทางเลือกวิธีอื่นในการแปลงคอมพีเทนต์ เซลล์ของ <i>E. coli</i> | 196 |
| 7.4 | การวินิจฉัยชนิด (identification) ของโคลนนิ่งแบคทีเรียที่มีรีคอมบิแนนต์พลาสมิด | 196 |
| 7.4.1 | โปรโตคอลการทดสอบแบคทีเรียสำหรับแอลฟาคอมพลีเมนเทชัน | 199 |
| 7.4.2 | การคัดเลือกโดยการไฮบริดไอเซน | 199 |
| 7.4.2.1 | โปรโตคอลโคลนไฮบริดไอเซน | 200 |
| 7.4.2.2 | เซาเทิร์นบลอตไฮบริดไอเซน (southern blot hybridization) | 201 |
| 7.4.2.2.1 | โปรโตคอลเซาเทิร์นไฮบริดไอเซนแบบที่ 1 | 202 |
| 7.4.2.2.2 | โปรโตคอลเซาเทิร์นไฮบริดไอเซนแบบที่ 2 | 205 |
| 7.4.2.2.3 | โปรโตคอลเซาเทิร์นไฮบริดไอเซนแบบที่ 3 | 206 |
| 7.4.3 | โปรโตคอลการstripping (stripping) เมมเบรนสำหรับโพรบใหม่ | 209 |
| 7.4.4 | โปรโตคอลดีเอ็นเอเดอตาและสล็อตบลอต | 210 |
| 7.5 | ความคิดรวบยอดที่สำคัญในเรื่องการทำสำเนาพันธุกรรมหรือการโคลนนิ่ง ดีเอ็นเอโมเลกุลในพลาสมิดเวกเตอร์ | 210 |
| 7.6 | คำถามทบทวน | 211 |
| 7.7 | หนังสืออ่านประกอบ | 212 |
| 8 | แบคทีเรียโอเฟลแอมบ์ดาเวกเตอร์ | 213 |
| 8.1 | ชีววิทยาระดับโมเลกุลของแบคทีเรียโอเฟลแอมบ์ดา | 213 |
| 8.2 | แบคทีเรียโอเฟลแอมบ์ดาในฐานะเป็นโคลนนิ่งเวกเตอร์ | 218 |
| 8.3 | คอสמיד | 220 |
| 8.4 | โปรโตคอลการทำให้เฟลแอมบ์ดาบริสุทธิ์ และการสกัดดีเอ็นเอของเฟลแอมบ์ดา ... | 223 |
| 8.4.1 | โปรโตคอลการเตรียมแบคทีเรียสำหรับเพลตติง | 223 |
| 8.4.2 | โปรโตคอลการเพลตติงแบคทีเรียโอเฟลแอมบ์ดา | 224 |
| 8.4.3 | โปรโตคอลการเก็บเพลกแบคทีเรียโอเฟลแอมบ์ดา | 224 |
| 8.4.4 | โปรโตคอลการเตรียมเพลตไลเซตสต็อก (stock) | 225 |
| 8.4.5 | โปรโตคอลการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวปริมาณเล็กน้อย (small scale liquid culture) | 225 |
| 8.4.6 | โปรโตคอลการทำให้แบคทีเรียโอเฟลแอมบ์ดาบริสุทธิ์ | 225 |
| 8.4.7 | โปรโตคอลการสกัดแบคทีเรียโอเฟลแอมบ์ดาดีเอ็นเอ | 227 |
| 8.4.8 | โปรโตคอลการคัดเลือกเจโนมิกไลบรารี : การสร้างไลบรารี | 228 |
| 8.4.9 | โปรโตคอลการเพลกลิฟต์ (plaque lifts) และการถ่ายโอนลงบนเมมเบรน (transfer to membrane) | 231 |

| | หน้า |
|--|------|
| 8.4.10 โปรโตคอลการคัดเลือกเพลกที่ถ่ายโอนบนเมมเบรน (screening of transferred membranes) | 232 |
| 8.4.11 โปรโตคอลการเตรียมเพลตไลเซตสดต็อก | 234 |
| 8.4.12 โปรโตคอลการเตรียมแลมบ์ดาในปริมาณขนาดใหญ่ | 234 |
| 8.5 ความคิดรวบยอดที่สำคัญในเรื่องแบคทีริโอเฟจแลมบ์ดาเวกเตอร์ | 235 |
| 8.6 คำถามทบทวน | 235 |
| 8.7 หนังสืออ่านประกอบ | 236 |
| บทที่ | |
| 9 เจลอิเล็กโทรโฟรีซิสของดีเอ็นเอ | 237 |
| 9.1 เอกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส | 238 |
| 9.1.1 ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่ออัตราการเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอบนเอกาโรสเจล ... | 238 |
| 9.1.2 เครื่องมือที่ใช้สำหรับเอกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส | 240 |
| 9.1.3 การเตรียมและการตรวจสอบเอกาโรสเจล | 242 |
| 9.1.4 การถ่ายภาพ | 244 |
| 9.1.5 การทำให้ดีเอ็นเอฟื้นคืนจากเอกาโรสเจลที่หลอมละลายที่อุณหภูมิต่ำ | 244 |
| 9.2 พอลิเอคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส | 245 |
| 9.2.1 การเตรียมอนดีเนเจอร์พอลิเอคริลาไมด์เจล | 246 |
| 9.2.2 โปรโตคอล SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis of proteins) | 248 |
| 9.3 สรุปเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับดีเอ็นเอ | |
| 9.3.1 การสกัดและการทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ | 249 |
| 9.3.2 การตรวจสอบการมีดีเอ็นเอ | 250 |
| 9.3.3 เดนสิทีเกรเดียนต์เซนตริฟิวเกชันของดีเอ็นเอ | 250 |
| 9.3.4 เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส | 250 |
| 9.3.5 การตรวจสอบดีเอ็นเอด้วยฟลูออเรสเซนซ์ | 251 |
| 9.3.6 การทำเครื่องหมายกรดนิวคลีอิก | 251 |
| 9.3.7 การทำให้กรดนิวคลีอิกแปลงสภาพ | 251 |
| 9.3.8 การไฮบริดเซชันของกรดนิวคลีอิก | 252 |
| 9.3.9 การวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอ | 252 |
| 9.4 ความคิดรวบยอดที่สำคัญในเรื่องเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสของดีเอ็นเอ | 253 |
| 9.5 คำถามทบทวน | 254 |
| 9.6 หนังสืออ่านประกอบ | 254 |
| บรรณานุกรม | 255 |
| ภาคผนวก วิธีเตรียมสารที่ใช้ในชีววิทยาระดับโมเลกุล | 259 |
| ดัชนีค้นคำ | 293 |
| อภิธานศัพท์ | 303 |

๕
ข้อ

ดีเอ็นเอเทคโนโลยี

DNA Technology

รองศาสตราจารย์อุไรวรรณ วิจารณ์กุล

ค.บ. วท.ม. Ph.D. Biological Sciences

(Molecular Microbiology)

660.65
 เลขหมู่ ๑47
 2545
 เลขทะเบียน 11299
 วันที่ 31 / 10. / 46
 0030 - 94860

BSTI DEPT. OF SCIENCE SERVICE
สำนักหอสมุดฯ กรมวิทยาศาสตร์บริการ



1110002848

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม

ISBN 974-903-356-6

2545