



สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

พันธวิศकरण :

เทคโนโลยีของยีน

กิตติพัฒน์ อโฆษกิจ

พันธกิจ: เทคโนโลยีที่ยั่งยืน

โครงการหนังสือวิชาการที่นำพิมพ์ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ให้จัดพิมพ์และจำหน่ายในราคาเย่อเยา



ถ่ายเอกสารแทนการใช้หนังสือ
คือการทำลายภูมิปัญญาสร้างสรรค์

พันธกิจ: เทคโนโลยีของยีน

ดร. กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ

รองศาสตราจารย์

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

หนังสือที่ได้รับทุนสนับสนุนการเขียนตำราจากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. 2555

กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ.

พันธุ์วิศวกรรม: เทคโนโลยีของยีน.

1. พันธุ์วิศวกรรม. 2. ดีเอ็นเอ. 3. จีโนม. 4. โคลนนิ่ง.

QH442

ISBN 978-616-314-086-9

eISBN 978-616-314-141-5

ลิขสิทธิ์ของรองศาสตราจารย์ ดร. กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ

สงวนลิขสิทธิ์

ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 1 เดือนมิถุนายน 2557

จำนวน 300 เล่ม

ฉบับอิเล็กทรอนิกส์ (e-book) มกราคม 2558

จัดพิมพ์และจำหน่ายโดยสำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

อาคารธรรมศาสตร์ 60 ปี ชั้น U1 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ถนนพระจันทร์ กรุงเทพฯ 10200

โทร. 0-2223-9232, 0-2613-3801-2

โทรสาร 0-2226-2083

(สำนักงานศูนย์รังสิต โทร. 0-2564-2859-60)

e-mail address: unipress@tu.ac.th

พิมพ์ที่ห้างหุ้นส่วนจำกัด เอ็มแอนด์เอ็มเลเซอร์พริ้นต์

นายสมชาย คำขำ ผู้พิมพ์ผู้โฆษณา

ภาพปกโดยรองศาสตราจารย์ ดร. กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ

ราคาเล่มละ 380.-บาท

สารบัญ

หน้า

คำนำ.....	(15)
-----------	------

บทที่ 1 ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และจีโนม (DNA, RNA and Genome)	1
---	----------

1.1 ความเชื่อมโยงของข้อมูลพันธุกรรม	1
1.2 โครงสร้างสารพันธุกรรม	3
1.3 ความสำคัญของโครงสร้างดีเอ็นเอ	7
1.4 คุณสมบัติการเสียสภาพธรรมชาติและการคืนสภาพธรรมชาติของดีเอ็นเอ	9
1.4.1 การเสียสภาพธรรมชาติของดีเอ็นเอ (DNA denaturation).....	9
1.4.2 การคืนสภาพธรรมชาติของดีเอ็นเอ (DNA renaturation)	11
1.4.3 ปฏิกริยาต่อกรดและเบสของดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ	12
1.4.4 คุณสมบัติการตกตะกอน (Sedimentation) ของดีเอ็นเอ	14
1.5 การจำลองดีเอ็นเอ (DNA replication)	16
1.6 โครงสร้างยีน	21
1.6.1 โครงสร้างยีนของโพรแคริโอต	22
1.6.2 โครงสร้างยีนของยูแคริโอต	23
1.7 การแสดงออกของยีน	24
1.8 ยีนกับจีโนม	27
1.8.1 ขนาดและความซับซ้อนของจีโนม (Genome size and complexity).....	27
1.8.2 โครงสร้างจีโนม	33

บทที่ 2 บทนำพันธุวิศวกรรม (Introduction to Genetic Engineering)	35
--	-----------

2.1 ความหมายพันธุวิศวกรรม.....	35
2.2 พื้นฐานของพันธุวิศวกรรม.....	36
2.3 ขั้นตอนพื้นฐานของพันธุวิศวกรรม	37
2.3.1 พาหะดีเอ็นเอ (DNA vector)	38
2.3.2 เทคนิคการจัดการดีเอ็นเอ.....	39
2.4 ความสำคัญของการโคลนยีน	40
2.5 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่ หรือพีซีอาร์	41
2.6 การใช้ประโยชน์จากพันธุวิศวกรรม.....	43

บทที่ 3 เครื่องมือสำหรับพันธุวิศวกรรม: เอนไซม์สำหรับการตัดดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ

(Enzymes for DNA and RNA manipulations)	45
3.1 เอนไซม์นิวคลีเอส (Nuclease).....	46
3.2 เอนไซม์ไลเกส (Ligase).....	48
3.3 เอนไซม์พอลิเมอเรส (Polymerase).....	51
3.4 เอนไซม์ที่ใช้ดัดแปลงหมู่เคมีของโมเลกุลดีเอ็นเอ (Modifying enzymes)	53
3.5 เอนไซม์ตัดจำเพาะ (Restriction enzyme หรือ Restriction endonuclease)	55
3.5.1 การค้นพบเอนไซม์ตัดจำเพาะและระบบการตั้งชื่อ	56
3.5.2 ชนิดของเอนไซม์ตัดจำเพาะ.....	58
3.5.3 การทำงานของเอนไซม์ตัดจำเพาะแบบที่ 2	60
• ลักษณะการตัดดีเอ็นเอ.....	62
• ความถี่ของการตัดโมเลกุลดีเอ็นเอ.....	63
• การเตรียมปฏิกิริยาการตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ	64
3.5.4 การวิเคราะห์แผนที่จุดตัดเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction mapping).....	66

บทที่ 4 เครื่องมือสำหรับพันธุวิศวกรรม: เซลล์เจ้าบ้านและพาหะดีเอ็นเอ (Host cells and vectors) ... 69

4.1 เซลล์เจ้าบ้าน <i>E. coli</i>	70
4.1.1 ข้อมูลทั่วไปแบคทีเรีย <i>E. coli</i> K-12	71
4.1.2 แล็กโอเปอรอน (<i>lac</i> operon) และการประยุกต์ใช้.....	72
4.1.3 แบคทีเรีย <i>E. coli</i> K-12 จีโนไทป์ต่างๆ สำหรับการโคลนนิ่ง	78
4.2 พาหะดีเอ็นเอที่ใช้กับเซลล์เจ้าบ้าน <i>E. coli</i>	79
4.2.1 พลาสมิด (Plasmid)	80
ลักษณะทั่วไปของพลาสมิด	80
• คุณสมบัติคอนจูเกชัน (conjugation) และการเข้ากันได้ (compatibility) ของพลาสมิด.....	82
• การจัดกลุ่มพลาสมิด.....	82
• พาหะพลาสมิด (Plasmid vector)	84
• พลาสมิด pBR	87
• พลาสมิด pUC	89
• พลาสมิด pGEM3Z	92
4.2.2 แบคทีเรียเฟจหรือเฟจ (Bacteriophage หรือ Phage).....	95
• ลักษณะทั่วไปของเฟจ.....	95
• เฟจ λ (Lamda phage)	102
• พาหะเฟจ λ (Phage λ vector).....	105
• ชนิดของพาหะเฟจ λ	105

• พาหะเฟจ λ ชนิดต่อแทรก (Phage λ insertion vectors)	105
• พาหะ λ ชนิดแทนที่ (Phage λ replacement vectors)	106
• วิธีการโคลนดีเอ็นเอด้วยพาหะ λ	109
• การบรรจุดีเอ็นเอเฟจ λ เข้าในโปรตีนเปลือกหุ้มในหลอดทดลอง (<i>in vitro</i> packaging)	110
• เฟจ M13 (M13 phage)	111
• พาหะเฟจ M13 (M13 vector)	114
4.2.3 เฟจมิด (Phagemid) พาหะเฟจ M13 ลูกผสม	118
4.2.4 คอสมิด (Cosmid) พาหะเฟจ λ ลูกผสม	121
4.3 พาหะดีเอ็นเอที่ใช้กับเซลล์เจ้าบ้านยีสต์	124
4.3.1 พาหะดีเอ็นเอของยีสต์ที่มีองค์ประกอบของพลาสมิด 2 ไมครอน	126
4.3.2 พาหะดีเอ็นเอของยีสต์ชนิดอื่น	128

บทที่ 5 เทคนิคการจัดการดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ (Techniques in DNA and RNA manipulation).. 131

5.1 การสกัดดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ	131
5.1.1 การสกัดดีเอ็นเอโครโมโซมแบบที่เร็ว	132
• การเลี้ยงแบคทีเรียเพื่อเก็บเซลล์สำหรับสกัดดีเอ็นเอ	132
• การทำให้แบคทีเรียเซลล์แตกเพื่อปลดปล่อยองค์ประกอบต่างๆ ออกจากเซลล์	133
• การแยกองค์ประกอบของเซลล์ที่แตก (cell extract) ให้เหลือเฉพาะ ดีเอ็นเอ	134
• การเพิ่มความเข้มข้นของดีเอ็นเอ	135
5.1.2 การสกัดดีเอ็นเอของพลาสมิด	135
• การแยกดีเอ็นเอพลาสมิดโดยอาศัยความแตกต่างของขนาด	136
• การแยกดีเอ็นเอพลาสมิดโดยอาศัยความแตกต่างของรูปร่าง	136
5.1.3 การสกัดดีเอ็นเอเฟจ	139
• การเตรียมแบคทีเรียเจ้าบ้านเพื่อการบุกรุกของเฟจ λ	139
• การเตรียมเฟจ λ	141
• การรวบรวมอนุภาคเฟจ λ เพื่อสกัดดีเอ็นเอ	141
• การสกัดดีเอ็นเอจากอนุภาคเฟจ λ	142
• การสกัดดีเอ็นเอจากอนุภาคเฟจ M13	142
5.1.4 การสกัดดีเอ็นเอจากพืชและสัตว์	144
5.1.5 การสกัดอาร์เอ็นเอทั้งหมดและเอ็มอาร์เอ็นเอ	146
5.2 การหาความเข้มข้นของสารละลายกรดนิวคลีอิก	147
5.3 การนำดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียเจ้าบ้าน	149

5.4	การวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิส (Electrophoresis)	152
5.4.1	การวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิสที่ใช้เจลอะกาโรสเป็นตัวกลาง (Agarose gel electrophoresis)	153
5.4.2	การวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิสที่ใช้เจลพอลิอะคริลาไมด์ เป็นตัวกลาง (Polyacrylamide gel electrophoresis; PAGE)	157
5.4.3	การวิเคราะห์ดีเอ็นเอด้วยพัลส์-ฟิลด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (Pulsed-field gel electrophoresis)	158
5.5	การทำให้เห็นดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอที่วิเคราะห์ในเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส	161
5.5.1	การย้อมดีเอ็นเอ (Staining)	161
5.5.2	การทำออโตเรดิโอกราฟ (Autoradiography)	163
5.6	ไฮบริไดเซชันของกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid hybridization)	163
5.6.1	เซาเทิร์นบลอต (Southern blot)	164
5.6.2	นอร์เทิร์นบลอต (Northern blot)	166
5.6.3	เทคนิคเวสเทิร์นบลอต (Western blot หรือ Immuno blot)	167
5.6.4	เทคนิคเซาท์-เวสเทิร์น บลอต (South-western blot)	168
5.7	การติดฉลากกรดนิวคลีอิก (Labelling of nucleic acids)	168
5.7.1	โมเลกุลกรดนิวคลีอิกที่ใช้ทำโพรบ	168
5.7.2	การติดฉลากโดยวิธีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอในหลอด ทดลอง	169
	• การติดฉลากโพรบดีเอ็นเอด้วยกระบวนการนิทราเนสเลชัน (Labelling DNA by nick translation)	169
	• การติดฉลากโพรบดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์สายสั้นลำดับเบสสุ่ม (Random primed DNA labelling)	170
	• การติดฉลากโพรบอาร์เอ็นเอ (Labelling of RNA)	171
	• การติดฉลากโพรบดีเอ็นเอที่ปลายโมเลกุล (End labelling of DNA) ..	172
5.7.3	นิวคลีโอไทด์สามารถติดฉลากด้วยสารกัมมันตรังสีและสารปลด กัมมันตรังสี	174
	• การติดฉลากนิวคลีโอไทด์ด้วยสารกัมมันตรังสี	174
	• การติดฉลากนิวคลีโอไทด์ด้วยสารปลดกัมมันตรังสีและการตรวจผล ..	175
บทที่ 6	การคัดเลือกโคลนที่ต้องการ (Selection of a specific clone gene)	179
6.1	การคัดเลือกโคลนโดยตรง (Direct selection)	181
6.2	การคัดเลือกโคลนจากคลังดีเอ็นเอ (Selection of a cloned gene from DNA library)	184
6.2.1	คลังจีโนมิกดีเอ็นเอ (Genomic library)	184
	• การย่อยจีโนมิกดีเอ็นเอ	185

• การเชื่อมดีเอ็นเอปลายทู่กับพาหะดีเอ็นเอ	186
• ขนาดคลังจีโนมิกดีเอ็นเอ	190
• พาหะดีเอ็นเอที่ใช้สร้างคลังจีโนมิกดีเอ็นเอ	191
• พาหะโครโมโซมเทียมของยีสต์ (Yeast artificial chromosome; YAC).....	192
• พาหะโครโมโซมเทียมของแบคทีเรีย (Bacterial artificial chromosome; BAC)	194
• พาหะโครโมโซมเทียมของเฟจ (P1 bacteriophage artificial chromosome).....	195
6.2.2 คลังซีดีเอ็นเอ (cDNA library)	197
6.3 กลยุทธ์การคัดเลือกโคลนยืนจากคลังดีเอ็นเอ	204
6.3.1 การคัดเลือกโคลนยืนโดยกระบวนการไฮบริไดเซชันของกรดนิวคลีอิก (Screening a cloned gene by nucleic acid hybridization)	205
• การใช้โพรบไฮบริไดซ์กับโคลนีหรือพลาไกในคลังดีเอ็นเอ (Colony and plaque hybridization probing).....	206
• ที่มาของโพรบ	207
6.3.2 การคัดเลือกโคลนยืนโดยเทคนิคการตรวจหาภูมิคุ้มกัน (Immunological screening).....	213
6.3.3 การคัดเลือกโคลนยืนจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน-โปรตีน (Screening a cloned gene by Protein-protein interaction).....	217
• เฟจดิสเพลย์ (Phage display)	217
• การคัดเลือกโดยใช้โปรตีนลูกผสมสองระบบในยีสต์ (Yeast two hybrid system).....	218
บทที่ 7 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Polymerase Chain Reaction; PCR)	223
7.1 หลักการของพีซีอาร์.....	224
7.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับพีซีอาร์	228
7.2.1 การปรับสภาพองค์ประกอบของปฏิกิริยา.....	228
7.2.2 เอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรสชนิดทนความร้อน (Thermostable DNA polymerase).....	230
7.2.3 ดีเอ็นเอต้นแบบ (Template DNA)	232
7.2.4 การออกแบบลำดับเบสไพรเมอร์สำหรับพีซีอาร์ (Designing oligonucleotide primers for a PCR)	233
• ความยาวของไพรเมอร์	234
• เสถียรภาพของดูเพล็กซ์ (duplex stability)	235
• ลำดับเบสของไพรเมอร์.....	235

7.2.5	การกำหนดอุณหภูมิสำหรับการจับของไพรเมอร์กับดีเอ็นเอต้นแบบ (Annealing temperature)	237
7.3	การศึกษาผลผลิตพีซีอาร์	237
7.3.1	การศึกษาผลผลิตพีซีอาร์ด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิส	238
7.3.2	การโคลนผลผลิตพีซีอาร์	239
7.4	รีเวิร์สทรานสคริปชัน-พีซีอาร์ (Reverse transcription PCR; RT-PCR)	240
7.4.1	การสร้างคลังซีดีเอ็นเอโดยอาร์ที-พีซีอาร์	242
7.4.2	การเพิ่มปริมาณปลายซีดีเอ็นเออย่างรวดเร็ว (Rapid amplification of cDNA ends; RACE)	243
7.4.3	การวิเคราะห์ปริมาณเอ็มอาร์เอ็นเอโดยอาร์ที-พีซีอาร์ (mRNA quantitation by RT-PCR)	245
7.4.4	การใช้อาร์ที-พีซีอาร์เพิ่มปริมาณยีนที่แสดงออกต่างกัน (Amplification of differentially expressed genes)	248
7.5	การประยุกต์ใช้พีซีอาร์	250

บทที่ 8 การวิเคราะห์โครงสร้างและหน้าที่ของโคลนยีน

(Analysis of gene structure and function)	251
8.1 การวิเคราะห์ตำแหน่งยีน	252
8.1.1 การวิเคราะห์ตำแหน่งยีนในโมเลกุลดีเอ็นเอขนาดเล็ก	252
8.1.2 การวิเคราะห์ตำแหน่งยีนในโมเลกุลดีเอ็นเอขนาดใหญ่	255
• การแยกโครโมโซมด้วยอิเล็กโตรโฟรีซิส	255
• การทำอินซิทูไฮบริไดเซชัน (In situ hybridization)	256
8.2 การวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอ (DNA sequencing)	257
8.2.1 การวิเคราะห์ลำดับเบสดีเอ็นเอด้วยวิธีใช้สารเคมีของแม็คแซม-กิลเบิร์ต (Chemical sequencing)	258
8.2.2 การวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยวิธีแซงเจอร์-คูลชัน หรือการใช้เอนไซม์ (Enzymatic sequencing)	261
8.2.3 การวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเครื่องมืออัตโนมัติ (Automated DNA sequencing)	264
8.2.4 การวิเคราะห์ลำดับเบสโมเลกุลดีเอ็นเอขนาดใหญ่	267
8.3 การวิเคราะห์โครงสร้างยีน	268
8.3.1 การวิเคราะห์จำนวนและตำแหน่งของอินตรอนหรือเอ็กซอน	268
• การวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	268
• การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคการย่อยดีเอ็นเอสายเดี่ยว	270

8.3.2	การวิเคราะห์ตำแหน่งดีเอ็นเอที่ถอดรหัสเป็นอาร์เอ็นเอในจีโนมิก ดีเอ็นเอที่โคลนได้	270
8.3.3	การวิเคราะห์ตำแหน่งเริ่มกระบวนการถอดรหัสบนจีโนมิกดีเอ็นเอ ที่โคลนได้.....	272
	• การทำแผนที่ S1 (S1 mapping)	272
	• ไพรมเมอร์เอ็กเทนชัน (Primer extension).....	273
8.3.4	การวิเคราะห์ตำแหน่งลำดับเบสการควบคุมการแสดงออกอื่น	274
	• เจลรีทาร์เดชัน (Gel retardation).....	275
	• ฟุตพริ้นทิง (Foot printing)	277
	• การเปลี่ยนแปลงเบสเพื่อขัดขวางการจับของโปรตีนควบคุม การแสดงออก (Modification interference assay)	278
8.4	การวิเคราะห์หน้าที่ลำดับเบส	280
8.4.1	ยีนรายงานผล (Reporter gene).....	280
8.4.2	การชักนำการกลายพันธุ์ในโคลนยีน (Mutagenesis of cloned genes)..	282
8.4.3	การชักนำการกลายพันธุ์ให้เกิดการขาดหายของลำดับเบส (Deletion mutagenesis)	282
8.4.4	การชักนำการกลายพันธุ์ให้เกิดการเพิ่มของลำดับเบส (Insertion mutagenesis)	284
8.4.5	การชักนำการกลายพันธุ์ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเบสแบบสุ่ม (Random point mutagenesis).....	285
8.4.6	การชักนำการกลายพันธุ์เบสโดยการเปลี่ยนแปลงเบสตำแหน่งจำเพาะ (Site-directed mutagenesis).....	286
8.5	การวิเคราะห์การแสดงออกของปริมาณเอ็มอาร์เอ็นเอในเซลล์เป้าหมาย	290
8.5.1	นอร์เทิร์นไฮบริไดเซชัน (Northern hybridization)	290
8.5.2	การวิเคราะห์อาร์เอ็นเอสโพรเทคชัน (RNase protection assay)	290
8.5.3	การวิเคราะห์นิวเคลียร์รันออน (Nuclear run-on assay).....	292
8.6	การวิเคราะห์และศึกษาผลผลิตโปรตีนของโคลนยีน	294
8.6.1	การสังเคราะห์โปรตีนจากเอ็มอาร์เอ็นเอในหลอดทดลอง (Cell-free translation system).....	294
8.6.2	ไฮบริด-รีลีส ทรานสเลชัน (Hybrid-release translation; HRT)	295
8.6.3	ไฮบริด-แอเรสต์ ทรานสเลชัน (hybrid-arrest translation; HART)	296

บทที่ 9 การศึกษาจีโนม (Studying genomes)..... 299

9.1	การวิเคราะห์โครงสร้างจีโนม (Structural genomic analysis).....	300
-----	---	-----

9.1.1	การวิเคราะห์ลำดับเบสทั้งจีโนม (Genome sequencing).....	300
•	การวิเคราะห์ลำดับเบสทั้งจีโนมด้วยวิธีช็อตกัน (Shotgun approach).....	301
•	การวิเคราะห์ลำดับเบสทั้งจีโนมด้วยวิธีช็อตกันแบบลำดับชั้น (Hierarchical shotgun approach).....	305
•	เทคนิคการวิเคราะห์ลายพิมพ์ของโคลน (Clone fingerprinting)	308
•	เทคนิคซีควเอนแทกไซต์ หรือ STS (sequence tagged site).....	309
9.1.2	แผนที่พันธุกรรม (Genetic map).....	310
•	ความสำคัญของแผนที่พันธุกรรมกับโครงการหาลำดับเบสทั้งจีโนม ..	312
9.1.3	แผนที่กายภาพ (physical map).....	312
9.2	การวิเคราะห์หน้าที่จีโนม (Functional genomic analysis)	314
9.2.1	การวิเคราะห์ตำแหน่งยีนในจีโนม	315
9.2.2	การวิเคราะห์หน้าที่ยีน	317
•	การทำยีนน็อคเอาต์ (Gene knock-out).....	318
•	แอนติเซนส์และอาร์เอ็นเออินเตอร์เฟียร์เรนซ์ (Antisense and RNA interference; RNAi)	318
9.2.3	การศึกษาการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกยีนในจีโนม (Global changes in gene expression).....	322
•	การศึกษาทรานสคริปโตม (Studying the transcriptome)	322
•	การศึกษาโปรตีโอม (Studying the proteome).....	326

บทที่ 10 การผลิตโปรตีนจากยีนที่โคลนได้ (Production of protein from cloned genes)..... 329

10.1	การแสดงออกยีนเพื่อผลิตโปรตีนในแบคทีเรีย <i>E. coli</i>	331
10.1.1	โปรโมเตอร์พาหะดีเอ็นเอสำหรับแสดงออกยีน.....	331
•	โปรโมเตอร์ <i>lac</i> (<i>lac</i> promoter).....	333
•	โปรโมเตอร์ <i>trp</i> (<i>trp</i> promoter).....	333
•	โปรโมเตอร์ <i>tac</i> (<i>tac</i> promoter)	333
•	โปรโมเตอร์ λ PL (λ PL promoter).....	334
10.1.2	การออกแบบพาหะดีเอ็นเอสำหรับแสดงออกยีนลูกผสม (Hybrid gene).....	335
•	ฮิส-แท็ก (His-tag)	337
•	จีเอสที-แท็ก (GST - tag)	338
10.1.3	ปัญหาของการผลิตโปรตีนโดยใช้แบคทีเรีย <i>E. coli</i> เป็นเซลล์เจ้าบ้าน..	340
10.2	การแสดงออกยีนเพื่อผลิตโปรตีนในเซลล์ยูแคริโอต.....	343
10.2.1	การแสดงออกยีนเพื่อผลิตโปรตีนในยีสต์	343
10.2.2	การแสดงออกยีนเพื่อผลิตโปรตีนในยีสต์ชนิดอื่นและราบางชนิด	344

10.2.3	การแสดงออกยีนเพื่อผลิตโปรตีนในเซลล์สัตว์	346
•	การแสดงออกยีนเพื่อผลิตโปรตีนในเซลล์แมลง	346
•	การแสดงออกยีนเพื่อผลิตโปรตีนในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	348
10.2.4	การผลิตโปรตีนโดยสัตว์และพืชดัดแปลงพันธุกรรม	351
บทที่ 11	การถ่ายยีนสู่พืช (Genetic engineering in plants)	353
11.1	การถ่ายยีนสู่พืชโดยใช้อะโกรแบคทีเรีย	355
11.1.1	พาหะสำหรับการถ่ายยีนสู่พืชโดยใช้อะโกรแบคทีเรีย	357
•	พาหะแบบไบนารี (Binary vectors)	358
•	พาหะแบบโคอินทิเกรต (Co-integrated vector)	359
11.1.2	กระบวนการถ่ายยีนสู่พืชด้วยพลาสมิด Ti	360
11.1.3	การถ่ายยีนในพืชโดยใช้พลาสมิด Ri จาก <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	363
11.2	การถ่ายยีนสู่พืชโดยวิธีทางตรง	363
11.2.1	การถ่ายยีนเข้าสู่โปรโตพลาสต์	363
11.2.2	การถ่ายยีนโดยเครื่องยิงอนุภาค (Biolistic or Particle bombardment)	364
11.2.3	การถ่ายยีนสู่พืชโดยวิธีทางตรงวิธีอื่นๆ	365
11.3	การถ่ายยีนสู่พืชโดยใช้ไวรัส	366
11.3.1	คอกลิโมไวรัส (Caulimovirus)	366
11.3.2	เจมินิไวรัส (Gemini virus)	367
11.3.3	อาร์เอ็นเอไวรัสพืช	368
11.4	การถ่ายยีนเข้าสู่คลอโรพลาสต์	369
11.5	การประยุกต์พันธุวิศวกรรมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช	370
11.5.1	การสร้างพืชต้านทานแมลง	371
11.5.2	การสร้างพืชต้านทานไวรัส	373
11.5.3	การสร้างพืชต้านทานเชื้อรา	373
11.5.4	การสร้างพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช	374
11.5.5	การสร้างพืชชะลอการสุกแก่	375
11.5.6	เทคโนโลยีเทอร์มินเตอร์ (Terminator technology)	376
11.5.7	ปัญหาเกี่ยวกับพืชดัดแปลงพันธุกรรมและแนวทางแก้ไข	377
บทที่ 12	การถ่ายยีนสู่สัตว์ (Genetic engineering in animals)	381
12.1	การทำพันธุวิศวกรรมในเซลล์สัตว์	382
12.1.1	เซลล์สัตว์เพาะเลี้ยง	382
12.1.2	เทคนิคการถ่ายยีนสู่เซลล์สัตว์	382
•	การถ่ายยีนโดยวิธีตรง (Direct gene transfer)	384

• การทรานสเฟคชันด้วยการใช้สารเคมี (Chemical transfection)	384
• การทรานสเฟคชันด้วยกระแสไฟฟ้า (Electroporation)	385
• การทรานสเฟคชันด้วยไลโปโซม (Liposome-mediated transfection)	385
• การถ่ายยีนโดยกระบวนการทรานสดักชัน (Transduction)	386
• ไวรัสเอนโดไวรัส 40 (SV40)	386
• อะดีโนไวรัส (Adenovirus)	387
• รีโทรไวรัส (Retrovirus)	389
• ยีนเครื่องหมายสำหรับคัดเลือกเซลล์สัตว์ (Selectable markers for animal cells)	392
12.2 การสร้างสัตว์ดัดแปลงพันธุกรรม	394
12.2.1 การใช้เข็มถ่ายยีนเข้าสู่โปรนิวเคลียส (Pronuclear microinjection)	395
12.2.2 การใช้เซลล์ต้นกำเนิดจากตัวอ่อนหรือเซลล์ ES (Embryonic stem cells หรือ ES cells)	396
12.2.3 การเปลี่ยนถ่ายนิวเคลียส (Nuclear transfer)	399
12.3 การรักษาโรคโดยยีนบำบัด (Gene therapy)	410
บรรณานุกรม	405
ดัชนี	415

คำนำ

กล่าวได้ว่าพันธุวิศวกรรม หรือเทคโนโลยีของยีน เป็นศาสตร์แขนงหนึ่งได้ถือกำเนิดมาประมาณกว่า 40 ปีที่แล้ววิชาการด้านนี้ได้ก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็วถึงจุดที่ห้องปฏิบัติการทั่วโลกทางด้านวิทยาศาสตร์ชีวภาพมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้ นักวิทยาศาสตร์แต่ละคนสามารถลงมือปฏิบัติเกี่ยวกับเทคโนโลยีการจัดการยีนได้อย่างสะดวกมีประสิทธิภาพ เนื่องจากอุปกรณ์เครื่องมือ สารเคมีได้รับการพัฒนาให้ก้าวหน้าอย่างมาก ในปัจจุบันนี้การสกัดแยกชิ้นดีเอ็นเอจำเพาะจากดีเอ็นเอทั้งจีโนมของสิ่งมีชีวิต การวิเคราะห์ลำดับเบสของชิ้นดีเอ็นเอ และการศึกษาหน้าที่ของชิ้นดีเอ็นเอกลายเป็นงานประจำที่นักวิจัยปฏิบัติ เทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรมที่พัฒนาขึ้นได้ถูกนำไปประยุกต์ใช้ในงานต่างๆ อย่างมากมาย เช่น การพิสูจน์หลักฐานในกระบวนการทางศาล การวิเคราะห์วินิจฉัยทางการแพทย์ การทำแผนที่จีโนม การปรับปรุงพันธุ์พืชและสัตว์ รวมทั้งอุตสาหกรรมต่างๆ ทางเทคโนโลยีชีวภาพ เป็นต้น

พันธุวิศวกรรม (Genetic engineering) เป็นคำศัพท์ที่มีความหมายทำนองเดียวกับคำศัพท์อีกหลายคำ เช่น เทคโนโลยียีน (Gene technology) การจัดการยีน (gene manipulation) ยีนโคลนนิ่ง (gene cloning) เทคโนโลยีการสร้างดีเอ็นเอสายผสม (recombinant DNA technology) เป็นต้น พันธุวิศวกรรมเป็นเทคโนโลยีที่มีพื้นฐานเกี่ยวกับการจัดการข้อมูลพันธุกรรมที่เก็บในรูปแบบของลำดับเบสในโมเลกุลดีเอ็นเอซึ่งมีการเรียงตัวกันเป็นยีนโดยใช้วิธีการปฏิบัติวิธีต่างๆ หลายวิธีเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ ซึ่งอาจเป็นวัตถุประสงค์ในเชิงสร้างความรู้วิทยาศาสตร์พื้นฐาน เช่น ศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ของยีน หรือการพัฒนาเทคโนโลยีสำหรับวิทยาศาสตร์ประยุกต์เช่น การประยุกต์ใช้พันธุวิศวกรรมในงานต่างๆ ดังกล่าวข้างต้น

พันธุวิศวกรรมเป็นสาขาวิชาที่ค่อนข้างใหม่มีรากฐานมาจากวิชาการต่างๆ หลายสาขา ทั้งพันธุศาสตร์ ชีวเคมี จุลชีววิทยา ความรู้ในสาขาวิชาเหล่านี้ได้ถูกนำมาประยุกต์รวมกันเพื่อให้ นักวิทยาศาสตร์เข้าใจถึงข้อมูลพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต จากความรู้เริ่มแรกเกี่ยวกับยีนในพันธุศาสตร์ของเมนเดล หรือพันธุศาสตร์บริสุทธ์ (Mendelian genetic หรือ Classical genetic) ทำให้เกิดความรู้ที่สำคัญต่อมาว่ายีนมีตำแหน่งบนโครโมโซมโดยซัทตัน (W. Sutton) ในปี ค.ศ. 1903 ต่อมาในปี 1910 มอร์แกน (T.H. Morgan) และคณะ พัฒนาเทคนิคการสร้างแผนที่ยีน (gene mapping) ในแมลงหวี่ ในราวปี ค.ศ. 1928 พันธุศาสตร์จุลชีววิทยา (Microbial genetics) ได้เข้ามามีบทบาทที่สำคัญเกี่ยวกับการศึกษาสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ ปี ค.ศ. 1928 กริฟฟิธ (F. Griffith) และคณะ

ค้นพบกระบวนการนำดีเอ็นเอจากภายนอกเซลล์ใส่เข้าไปในเซลล์แบคทีเรียเรียกกระบวนการนี้ว่า ทรานสฟอร์เมชัน (transformation) ซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญของกระบวนการพันธุวิศวกรรม

ในระหว่างปี ค.ศ. 1971-1973 งานวิจัยทางด้านอณูพันธุศาสตร์ยุคใหม่ที่น่าไปสู่การเปลี่ยนแปลงครั้งสำคัญในการทดลองทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพคือ การวิจัยของเบิร์ก (P. Berg) เกี่ยวกับเทคโนโลยีการสร้างดีเอ็นเอสายผสม หรือพันธุวิศวกรรม ซึ่งเป็นกระบวนการหลักของการโคลนนิ่ง ในปี ค.ศ. 1977 การวิเคราะห์ครั้งสำคัญของโมเลกุลดีเอ็นเอคือ การวิเคราะห์ลำดับเบส ได้ถูกคิดค้นขึ้นโดยห้องปฏิบัติการสองแห่งคือ แมคแซม (A. Maxam) และกิลเบิร์ต (W. Gilbert) ใช้วิธีการวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยวิธีการทางเคมี กับแซงเจอร์ (F. Sanger) ใช้วิธีการวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยเอนไซม์ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้กันในปัจจุบันนี้ จากความก้าวหน้าของเทคโนโลยีการวิเคราะห์ลำดับเบส การวิเคราะห์ลำดับเบสไม่จำกัดเพียงศึกษายีนแต่ละยีน แต่เป็นการศึกษาลำดับเบสทั้งจีโนม โครงการที่สำคัญเช่น โครงการศึกษาจีโนมมนุษย์ (Human Genome Project) สามารถทำได้เสร็จสิ้นในปี ค.ศ. 2000 จากความสำเร็จนี้ทำให้นักวิทยาศาสตร์สามารถเข้าใจกลไกต่างๆ เกี่ยวกับการหาสาเหตุของโรคในมนุษย์โดยเฉพาะโรคทางพันธุกรรม รวมทั้งมะเร็ง ความรู้พื้นฐานและการพัฒนาเทคโนโลยีต่างๆ ได้นำไปสู่ยุคเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตโปรตีนหรือสารประกอบต่างๆ ใช้ในวงการแพทย์ อุตสาหกรรม และเกษตรกรรมอย่างมากมาย

การศึกษาวิชาพันธุวิศวกรรมซึ่งนับเป็นวิชาพื้นฐานที่สำคัญ และมีความจำเป็นสำหรับผู้ศึกษาในสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ การศึกษาเพิ่มเติมนอกเหนือจากการฟังบรรยายในห้องเรียน มีความจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับผู้เรียนเพื่อให้เกิดความเข้าใจอย่างถ่องแท้ การศึกษาจากตำราภาษาอังกฤษที่มีคุณภาพสูงที่ผลิตจากผู้เชี่ยวชาญและผู้ทรงคุณวุฒิทั่วโลกจะช่วยให้ผู้เรียนเกิดความเข้าใจได้เป็นอย่างดี แต่ด้วยความสามารถที่จำกัดของการเข้าใจภาษาต่างประเทศของนักศึกษาไทยอาจเป็นอุปสรรคทำให้เข้าใจเนื้อหาได้น้อยกว่าที่ควรจะได้รับ ดังนั้นการมีตำราพันธุวิศวกรรมภาษาไทยจะช่วยส่งเสริมและกระตุ้นให้นักศึกษาและผู้สนใจสามารถทำความเข้าใจเนื้อหาได้ดีขึ้นและจะช่วยลดปัญหาความยากของเนื้อหาของวิชาได้อีกทางหนึ่ง ตำราพันธุวิศวกรรม: เทคโนโลยีของยีนเล่มนี้สามารถใช้ศึกษาได้ทั้งผู้เรียนในระดับปริญญาตรีและระดับบัณฑิตศึกษาในสาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ โดยมีวัตถุประสงค์ในการนำเสนอพื้นฐานแนวคิด หลักการของเทคนิคการวิเคราะห์ และการใช้ประโยชน์จากพันธุวิศวกรรมซึ่งเป็นวิชาที่เกิดจากการประยุกต์หลายสาขาวิชาเข้าด้วยกันดังกล่าวกว่าข้างต้น ดังนั้นผู้ศึกษาดำราเล่มนี้จึงควรมีความรู้พื้นฐานมาบ้าง เช่น อณูพันธุศาสตร์ จุลชีววิทยา หรือชีวเคมี เพื่อให้เกิดความเข้าใจในเนื้อหาของตำราได้ดีขึ้น

ผู้เรียบเรียงได้เรียบเรียงพันธุวิศวกรรม: เทคโนโลยีของยีนเล่มนี้จากการอ่านค้นคว้าตำราและวารสารวิชาการภาษาอังกฤษเกี่ยวกับพันธุวิศวกรรมหลายๆ เล่ม และจากความรู้และประสบการณ์ของผู้เรียบเรียงเอง แล้วนำมาเรียบเรียงใหม่ให้เป็นประโยชน์ที่ผู้อ่านสามารถทำความเข้าใจ

เข้าใจได้ง่าย ในบางกรณีโดยเฉพาะหัวข้อของเนื้อหาหรือการแปลศัพท์บางคำจะมีการวงเล็บภาษาอังกฤษเพื่อให้ผู้อ่านเกิดความคุ้นเคยและความเข้าใจที่ดีขึ้นเมื่อต้องการศึกษาในระดับที่ก้าวหน้ามากขึ้น อย่างไรก็ตาม การทำความเข้าใจกับเนื้อหาเฉพาะการอ่านจะทำให้ยากต่อความเข้าใจ และเกิดความเบื่อหน่าย การอธิบายโดยใช้รูปภาพประกอบแสดงขั้นตอนต่างๆ ของเทคนิคและกระบวนการตามลำดับขั้นจะช่วยให้ผู้ศึกษาเกิดความเข้าใจได้ดีขึ้นอย่างมาก ผู้เรียบเรียงจึงได้วาดรูปขึ้นเองโดยดัดแปลงปรับปรุงมาจากตำราภาษาต่างประเทศ เว็บไซต์ต่างๆ ในเครือข่ายสารสนเทศ ประกอบกับการจินตนาการ ความนึกคิด และความเข้าใจของผู้เรียบเรียงเอง เพื่ออธิบายให้เกิดความชัดเจนของเนื้อหาเพิ่มมากขึ้น โดยในตำราจะประกอบด้วยภาพวาดรวมแล้วมากกว่า 270 รูป ภาพวาดส่วนใหญ่มีคำบรรยายเป็นภาษาไทย บางส่วนเป็นภาษาอังกฤษ หรือเป็นภาษาไทยแล้ววงเล็บด้วยภาษาอังกฤษตามความเหมาะสมเพื่อความเข้าใจที่ง่ายขึ้น

พันธูวิศวรรม: เทคโนโลยีของยีนเล่มนี้ได้รับทุนสนับสนุนการเขียนตำราจากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ พ.ศ. 2555 ผู้เรียบเรียงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่สร้างสรรค์โครงการอันมีประโยชน์อย่างมากในการเผยแพร่ความรู้ในสาขาวิชานี้ ทั้งต่อนักศึกษา อาจารย์ รวมถึงบุคคลทั่วไป และผู้เรียบเรียงหวังว่าโครงการทุนสนับสนุนการเขียนตำราจากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์นี้จะสามารถช่วยส่งเสริมอาจารย์และบุคลากรให้สามารถผลิตตำราในทุกสาขาวิชาได้เป็นอย่างดี ผู้เรียบเรียงขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. สุรินทร์ ปริยะโชคนากุล จากภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยแก้ไข ให้คำแนะนำที่มีประโยชน์อย่างมากต่อตำราเล่มนี้

นับเป็นครั้งแรกที่ผู้เรียบเรียงได้จัดทำ**พันธูวิศวรรม: เทคโนโลยีของยีนเล่มนี้** ซึ่งอาจจะยังมีข้อบกพร่องผิดพลาด ผู้เรียบเรียงขอน้อมรับ คำแนะนำ คำแก้ไข เพื่อนำมาปรับปรุงให้ตำรานี้มีความทันสมัยถูกต้องมากที่สุด จึงขอขอบพระคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

รองศาสตราจารย์ ดร. กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์



ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีน

บทนำของสารพันธุกรรมบทนี้เป็น การกล่าวสรุปภาพรวมของโครงสร้าง คุณสมบัติและหน้าที่ของสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ (DNA; deoxyribonucleic acid) และอาร์เอ็นเอ (RNA; ribonucleic acid) รวมทั้งการจัดตัวของดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบของจีโนม (genome; ดีเอ็นเอทั้งหมดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต) บทนำนี้เป็นการนำเสนอความรู้พื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ผู้อ่านที่ต้องการความรู้เพิ่มเติมในรายละเอียดสามารถศึกษาได้จากตำราพันธุศาสตร์หรือชีวเคมีที่อ้างถึงในเอกสารอ้างอิงท้ายเล่ม



1.1 ความเชื่อมโยงของข้อมูลพันธุกรรม (The flow of genetic information)

เป็นที่ทราบกันดีว่าฟีโนไทป์ (phenotype) หรือลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตที่ปรากฏออกมาถูกกำหนดโดยข้อมูลพันธุกรรมที่จัดเก็บไว้ในสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ (ยกเว้นไวรัสบางชนิดที่เก็บข้อมูลพันธุกรรมในอาร์เอ็นเอ) ซึ่งเปรียบได้กับภาษาที่ใช้ร่วมกันของสิ่งมีชีวิตที่ปรากฏในโลกนี้

ที่ประกอบด้วยตัวอักษรเพียง 4 ตัวคือ อะดีนีน (adenine; A) กวานีน (guanine; G) ไซโทซีน (cytosine; C) และไทมีน (thymine; T) จัดเรียงกันเป็นคำ แต่ละคำประกอบด้วยตัวอักษรสามตัวเปรียบได้กับรหัสพันธุกรรม (genetic code) และแต่ละคำก็ประกอบกันเป็นประโยคที่มีความหมายซึ่งเปรียบได้กับยีน (gene) นั่นเอง

การแสดงออกในลำดับสุดท้ายของข้อมูลพันธุกรรมคือ โปรตีน (protein) ซึ่งเป็นสารประกอบสำคัญในการกำหนดฟีโนไทป์ของสิ่งมีชีวิต มีทั้งโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของสิ่งมีชีวิต และโปรตีนที่เป็นเอนไซม์ (enzyme) ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) ต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต โปรตีนเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างมีลักษณะเป็นสายยาว (polymer) ของกรดอะมิโน (amino acid) เรียงต่อกัน จำนวนชนิดของกรดอะมิโนมีทั้งหมด 20 ชนิด ความแตกต่างของโปรตีนแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับจำนวนและการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนซึ่งมีรูปแบบได้อย่างไม่จำกัด จำนวนและการจัดเรียงตัวของกรดอะมิโนดังกล่าวนี้ถูกกำหนดโดยรหัสพันธุกรรม ซึ่งเป็นข้อมูลพันธุกรรมที่ถูกเก็บไว้ในโมเลกุลดีเอ็นเอนั่นเอง

ความเชื่อมโยงของข้อมูลพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตทั่วไปจะมีลักษณะเป็นทิศทางเดียวคือ เริ่มจากดีเอ็นเอในบริเวณที่เป็นยีน เมื่อมีการแสดงออกก็เกิดกระบวนการถอดรหัส (transcription) เป็นเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA; messenger RNA) ซึ่งเป็นสารประกอบที่เป็นโมเลกุลตัวกลางระหว่างดีเอ็นเอและโปรตีน จากนั้นรหัสพันธุกรรมบนเอ็มอาร์เอ็นเอจะถูกแปลเป็นลำดับของกรดอะมิโนซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีนโดยกระบวนการแปลรหัส (translation) แนวคิดเรื่องความเชื่อมโยงสัมพันธ์กันของข้อมูลพันธุกรรม ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีน เรียกว่า เซ็นทรัลด็อกมา (Central Dogma; รูปที่ 1.1) ซึ่งเป็นการศึกษาเกี่ยวกับรูปแบบทั้งหมดของการแสดงออกของยีน (gene expression)

นอกจากเรื่องการแสดงออกของยีนแล้ว ความเชื่อมโยงของข้อมูลพันธุกรรมยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการที่สำคัญสองกระบวนการ กระบวนการแรกคือ กระบวนการจำลองดีเอ็นเอ (DNA replication) เป็นการถ่ายแบบดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสเหมือนโมเลกุลต้นแบบทุกประการ กระบวนการนี้เกิดขึ้นเมื่อเซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน กระบวนการจำลองดีเอ็นเอนี้เกิดกับสิ่งมีชีวิตทั่วไป กระบวนการที่สอง เป็นกระบวนการเปลี่ยนอาร์เอ็นเอเป็นดีเอ็นเอ (reverse transcription) กระบวนการนี้เกิดกับไวรัสบางชนิดเท่านั้น (เช่นไวรัสในกลุ่ม retrovirus) ไวรัสเหล่านี้จะเก็บข้อมูลพันธุกรรมในโมเลกุลอาร์เอ็นเอไม่ใช่ดีเอ็นเอ ในช่วงหนึ่งของวงจรชีวิตจีโนมของไวรัสซึ่งเป็นโมเลกุลอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวจะถูกเปลี่ยนเป็นโมเลกุลดีเอ็นเอสายคู่โดยใช้เอนไซม์รีเวิร์สทรานสคริปเตส (reverse transcriptase) เอนไซม์นี้เป็นเอนไซม์ดีเอ็นเอพอลิเมอเรสที่ใช้อาร์เอ็นเอเป็นต้นแบบ (RNA-dependent DNA polymerase) กระบวนการเปลี่ยนอาร์เอ็นเอเป็นดีเอ็นเอนี้แม้ว่าไม่สำคัญและไม่เกิดในสิ่งมีชีวิตทั่วไป แต่กระบวนการนี้ก็มีความสำคัญอย่างมากสำหรับการนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการทางพันธุวิศวกรรม