เทคโนโลยีชีวภาพ และ พันธุวิศวกรรม

อ.กิ่งแก้ว เจริญพรสุข [1]

ในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันดีว่า งานวิจัยทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุวิศวกรรมกำลังมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาประเทศ ซึ่งจะเห็นได้จากการที่มหาอำนาจอย่างอเมริกาและญี่ปุ่นได้ทุ่มเงินงบประมาณจำนวนมากแก่งานวิจัย ค้นคว้าและพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุวิศวกรรมอย่างมากมาย และมีการแข่งขันความก้าวหน้าในการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมมาปรับปรุงในด้าน อุตสาหกรรมต่าง ๆ ทั้งนี้เพราะสามารถนำผลที่ได้จากการวิจัยมาพัฒนาและประยุกต์ใช้ได้กับผลิตผลที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิต ไม่ว่าจะเป็นเซลล์พืช เซลล์สัตว์ แบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ รวมทั้งเชื้อไวรัส ซึ่งที่กล่าวมาทั้งหมดนี้จะมีความเกี่ยวข้องทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อการเกษตร การแพทย์ สาธารณสุข อุตสาหกรรม ตลอดจนถึงทางด้านพลังงานและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเทคโนโลยีชีวภาพจึงเป็นเทคโนโลยีที่เกี่ยวเนื่องกับสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ไม่ว่าจะเป็นการนำเอาสิ่งมีชีวิตทั้งเซลล์หรือชิ้นส่วนของสิ่งมีชีวิต ตลอดจนผลผลิตของสิ่งมีชีวิตมาใช้ให้เกิดประโยชน์แล้วนำมาปรับปรุงเปลี่ยนแปลงให้มีคุณภาพดีขึ้น ล้วนจัดอยู่ในข่ายงานของเทคโนโลยีชีวภาพทั้งสิ้น ในขณะที่พันธุวิศวกรรมหมายถึง กระบวนการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรม ที่รู้จักกันว่า Gene หรือ DNA โดยการตัดต่อเปลี่ยนแปลงลำดับการเรียงตัวของ Nucleotide ใน Gene แล้วนำ Gene ที่สร้างขึ้นนี้สอดเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน (Host cell) ซึ่งจะเป็นเซลล์พืชหรือเซลล์สัตว์ก็ได้ จากวิธีการที่กล่าวมานี้ก็จะได้สิ่งมีชีวิตใหม่ที่มีลักษณะทางกรรมพันธุ์ตามที่ต้องการ ซึ่งสามารถทำให้เกิดขั้นตอนดังกล่าวได้ในหลอดทดลอง ในธรรมชาติการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมจะเกิดขึ้นได้เฉพาะในกระบวนการสืบพันธุ์โดยการผสมของไข่กับเชื้ออสุจิ [Egg+Sperm] และจะเกิดขึ้นได้เฉพาะในสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในสายพันธุ์เดียวกันเท่านั้น [Species เดียวกันจึงจะผสมพันธุ์กันได้ ในที่นี้หมายถึงสามารถให้ลูกหลานต่อไปได้] แต่ในปัจจุบันสามารถทำให้เกิดการผสม Gene ข้ามสายพันธุ์โดยใช้กระบวนการทางพันธุวิศวกรรม เช่น Gene ที่ควบคุมการสร้าง Insulin ของคนผสมกับ Gene ของ Bacteria ทำให้ Bacteria สร้าง Insulin เป็นต้น

---

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า การจะนำเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ให้เกิดประโยชน์จำต้องอาศัยเทคโนโลยีทางด้านพันธุวิศวกรรม เพื่อใช้ในการปรับปรุงเปลี่ยนแปลงและพัฒนาลักษณะทางพันธุกรรมให้มีสภาพดี หรือให้มีลักษณะทางกรรมพันธุ์ตามที่ต้องการ ซึ่งกล่าวได้อีกนัยหนึ่งคือ การพัฒนาทางเทคโนโลยีชีวภาพจะต้องพัฒนาควบคู่กันไปกับการพัฒนาทางพันธุวิศวกรรม ผลประโยชน์ที่จะได้จากการพัฒนาทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุวิศวกรรมจึงพอจะแบ่งให้เห็นอย่างเด่นชัด ดังนี้คือ

1. **ทางด้านการเกษตร :**
   - เพิ่มผลผลิต
   - ปรับปรุงสายพันธุ์พืช พันธุ์สัตว์ เช่น ข้าว ข้าวโพด ยางพารา โคนม โคเนื้อ ฯลฯ
   - การผลิตปุ๋ยจากจุลินทรีย์
   - การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยสารชีวภาพ หรือจุลินทรีย์
   - การใช้วิธีการทางชีวภาพรักษาคุณภาพของผลผลิต
   - การปรับปรุงคุณภาพของสัตว์น้ำที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น กุ้ง ปลา
   - การปรับปรุงสภาพดินที่ใช้ในการเพาะปลูกด้วยจุลินทรีย์

   ฯลฯ

2. **ทางด้านอุตสาหกรรม**
   - การแปรรูปผลิตผลทางเกษตรต่าง ๆ เช่น นม เนย น้ำตาล เบียร์ ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว น้ำปลา ฯลฯ
   - การผลิตยาปฏิชีวนะจากจุลินทรีย์ และเคมีภัณฑ์ ตลอดจน Enzyme ที่มีความสำคัญ เช่น Amylase Protease Cellulase

   ฯลฯ

3. **ทางด้านการแพทย์และสาธารณสุข**
   - การผลิตวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อต่าง ๆ เช่น โรคพิษสุนัขบ้า (โรคกลัวน้ำ) โรคไวรัสตับอักเสบชนิดบี และที่กำลังจะประสบความสำเร็จคือวัคซีนป้องกันโรคมาลาเรีย ตลอดจนวัคซีนที่ใช้ป้องกันโรคในสัตว์เศรษฐกิจ เช่น โรคปากเท้าเปื่อยในโค กระบือ ฯลฯ
   - การใช้สารพันธุกรรม (probes) วินิจฉัยโรค ที่กำลังเป็นที่กล่าวขวัญกันมากในขณะนี้ ก็คือ ใช้ตรวจหาโรคเอดส์ โรคโลหิตจาง

- การผลิต Hormone และ Enzyme ที่มีความสำคัญทางด้านการแพทย์ต่าง ๆ เช่น Growth hormone, Insulin ฯลฯ
- การปรับปรุงสายพันธุ์ Bacteria ที่ผลิตยาปฏิชีวนะ วิตามิน และกรดอะมิโน
- การทำ Monoclonal antibody
- การผสมเทียมในหลอดแก้ว
- การถ่ายฝากตัวอ่อนในสัตว์ เป็นต้น

ฯลฯ

4. ทางด้านพลังงาน

- การผลิตก๊าซชีวภาพ
- การผลิต alcohol จาก Bacteria, ยีสต์
- การเพิ่มความหนืดของน้ำมันโดย Bacteria เพื่อให้สามารถดูดขึ้นมาใช้ได้

5. ทางด้านสิ่งแวดล้อม

- การใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายของเสียหรือของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม
- การพัฒนาสายพันธุ์ Bacteria ที่สามารถย่อยสลายสาร Polyethylene ซึ่งเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เกิดมลพิษต่อสภาวะแวดล้อม

ฯลฯ

จากที่กล่าวมาเป็นการชี้ให้เห็นว่า พื้นฐานความรู้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุวิศวกรรมเกี่ยวเนื่องโดยตรงกับวิชาพื้นฐานทางด้านชีววิทยา จุลชีววิทยา ชีวเคมี และอิมมูโนวิทยา ตลอดจนสรีรวิทยาทั้งของพืชและสัตว์รวมไปถึงจุลินทรีย์ต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเทคนิคสำคัญทางด้านพันธุวิศวกรรมมีรากฐานมาจากจุลชีววิทยาและชีววิทยาระดับโมเลกุล (Molecular biology) ดังนั้นการจะพัฒนาวิชาการทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพและพันธุวิศวกรรม จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องคำนึงถึงวิชาพื้นฐานที่กล่าวมาเหล่านั้นด้วย

โดยธรรมชาติเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ภายในเซลล์จะมีกระบวนการตัดต่อ DNA หรือ Gene อยู่แล้ว ซึ่งจะเกิดขึ้นเฉพาะในกระบวนการแบ่งเซลล์ ดังนั้นพันธุวิศวกรรมจึงเป็นกระบวนการที่เลียนแบบธรรมชาติโดยทำให้เกิด DNA สายผสมที่ได้จากการตัดต่อในหลอดแก้ว และเรียก DNA สายผสมที่ได้นี้ว่า recombinant DNA จากนั้นจึงนำ DNA สายผสมนี้สอดเข้าไปในเซลล์เจ้าบ้าน ก็จะได้สิ่งมีชีวิตใหม่ที่มีลักษณะทางกรรมพันธุ์ตามที่กำหนดไว้ใน DNA สายผสมที่นำเข้าไป จากที่กล่าวมาพันธุวิศวกรรมจะทำขึ้นได้จึงจำเป็นต้องประกอบด้วยขั้นตอน และสิ่งประกอบที่จำเป็นเหล่านี้ คือ

1. แหล่งของ DNA ที่มี Gene ที่ต้องการ ซึ่งมีอยู่หลายวิธีที่จะทำได้โดย
   - สกัดจากเซลล์โดยตรง แล้วนำมาตัดให้เป็น DNA เส้นสั้น ๆ โดยใช้ enzyme จำเพาะที่เรียกว่า Restriction enzyme ซึ่งมีอยู่หลายชนิด Restriction enzyme สกัดได้จาก Bacteria ชนิดต่าง ๆ
   - การใช้ m RNA เป็นแม่พิมพ์ในการสร้าง complementary DNA
   - หรือการสังเคราะห์ DNA ขึ้น โดยวิธีการทางเคมีเมื่อรู้จักลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนในโปรตีน ก็สามารถรู้ลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์จาก Genetic Code ที่ว่า 3 นิวคลีโอไทด์เท่ากับ 1 อะมิโนอะซิด

2. DNA ที่เป็นพาหะ (Vector) เมื่อได้ DNA สายผสมที่สร้างขึ้นก็จำเป็นจะต้องหา Vector เพื่อจะเป็นตัวพา DNA สายผสมเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านที่เราต้องการ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องคัดเลือกหา DNA พาหะที่มีคุณสมบัติพิเศษที่สามารถเพิ่มปริมาณ (Replicate) ได้อย่างอิสระจาก Chromosome ปกติ และสามารถแสดง phenotype ของตัวเองได้ การที่ DNA ที่เป็นพาหะสามารถเพิ่มปริมาณได้อย่างอิสระนั้น ก็เนื่องมาจากใน DNA พาหะนั้นจะมีตำแหน่ง Nucleotide อยู่ซึ่งเป็นจุดกำหนดให้มีการ replicate ได้ เรียกตำแหน่งนี้ว่า Origin of replication หรือ ORI DNA พาหะมีอยู่หลายชนิด การจะเลือกใช้ DNA พาหะแบบใด ก็ขึ้นอยู่กับ DNA สายผสมของเราว่ามีขนาดเท่าไหร่ และชนิดของเซลล์เจ้าบ้านที่เราใช้ด้วย เช่น
   - Plasmid เช่น pBR 322 ซึ่งเป็น DNA เกลียวคู่วงแหวน พบใน Bacteria บางชนิด ซึ่งจะมี Gene ต่าง ๆ กันไปแล้วแต่ชนิดของ Bacteria ส่วนใหญ่จะมี Gene ที่ต้านยาปฏิชีวนะ หรือสร้างสารพิษ ตลอดจนสร้างยาปฏิชีวนะและวิตามิน ฯลฯ โดยปกติมักจะใช้เป็นพาหะในการนำ DNA สายผสมที่มีขนาด 5-10 Kilobase pairs เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านที่เป็น Bacteria เช่น <u>E. coli</u>
   - Phage เช่น phage (lambda phage) ซึ่งเป็น DNA เกลียวคู่ และ M13 เป็นพวก DNA สายเดียว พาหะ 2 ตัวนี้มักนิยมใช้เป็นพาหะสำหรับ DNA สายผสมที่มีขนาดใหญ่ 5-20 Kilobase pairs และมีเซลล์เจ้าบ้านเป็นเซลล์พืชหรือ เซลล์สัตว์ก็ได้

- Cosmid เช่น pHC 79 ซึ่งเป็นลูกผสมของ pBR 322 และ λ phage มักใช้เป็นพาหะของ DNA สายผสมที่มีขนาดใหญ่ 30-50 Kilobase pairs และเซลล์เจ้าบ้านจะเป็นเซลล์พืชหรือเซลล์สัตว์ก็ได้

  Plasmid เป็น DNA พาหะที่ได้มาจาก Bacteria ส่วน Phage นั้นได้มาจาก Virus ในกรณีของ Cosmid เป็นการสร้างขึ้น (Clone) โดยกระบวนการตัดต่อโดยใช้ pBR 322 กับ λ phage (ได้เป็น pHC 79)

3. Restriction enzyme หรือที่เรียกว่า Restriction endonuclease ซึ่งเป็น enzyme ที่สกัดมาจาก Bacteria หลายชนิด แต่ละชนิดของ Restriction enzyme จะมีจุดตัดจำเพาะของ DNA ตรงที่มีการเรียงลำดับของ nucleotide ที่จำเพาะ Restriction enzyme ที่รู้จักกันดี เช่น Hind III, EcoRI, BamHI, PstI, Sal I ฯลฯ

4. DNA ligase เป็น enzyme ที่ใช้เชื่อม DNA เข้าด้วยกัน ซึ่งเป็น enzyme ที่สกัดมาได้จาก Bacteria โดยเป็นตัวสร้างพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ระหว่าง 3'-OH กับ 5' phosphate.

5. เซลล์เจ้าบ้าน (Host cell) เป็นเซลล์ที่ใช้รับ DNA สายผสม ซึ่งเซลล์เจ้าบ้านจะเป็น Procaryotic หรือ Eucaryotic cell ก็ได้

6. วิธีการนำ DNA สายผสมเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน ซึ่งมีวิธีการนำเข้าอยู่ 3 วิธี จะเลือกใช้วิธีใดก็ขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์เจ้าบ้าน และขนาดของ DNA สายผสม
   - transformation เป็นวิธีที่มักจะใช้กับเซลล์เจ้าบ้านที่เป็น Bacteria และมี DNA สายผสมที่จะนำเข้ามีขนาดเล็ก และใช้ plasmid เป็นพาหะ ในการนี้เซลล์เจ้าบ้านที่จะนำมาใช้จะต้องอยู่ในระยะ log phase และต้องนำมา treat ด้วย $CaCl_2$ เพื่อให้เซลล์เจ้าบ้านอยู่ในสภาพที่เรียกว่า Competent stage
   - transfection และ transduction เป็นการนำเข้าโดยใช้พาหะเป็น Phage และ Cosmid ซึ่งเซลล์เจ้าบ้านมักจะเป็นเซลล์พืชหรือเซลล์สัตว์ก็ได้

7. Screening เป็นขั้นตอนสุดท้ายเพื่อหาว่าเซลล์เจ้าบ้านตัวใดที่ได้รับ DNA สายผสมเข้าไป ซึ่งมีอยู่หลายวิธี เช่น ในกรณีที่ใช้ pBR 322 เป็นพาหะก็มักจะเชื่อม Gene ของเราเข้าไปแทนที่ Gene ดื้อยาของ pBR 322 ดังนั้นถ้าเซลล์เจ้าบ้านเซลล์ใดได้รับ DNA สายผสมที่เข้าไปแทนที่ Gene ดื้อยาของ pBR 322 ก็จะไม่สามารถแสดง phenotype การดื้อยา นอกจากวิธีดังกล่าวแล้วก็ยังมีอีกหลายวิธี เช่น การใช้เบสคู่สมที่เรียกว่า Nucleic acid Hybridization หรือการใช้วิธีทางอิมมูโนวิทยา โดยอาศัยปฏิกริยา Ag-Ab reaction หรือการคัดเลือกโดยอาศัยสารอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์เจ้าบ้าน เป็นต้น

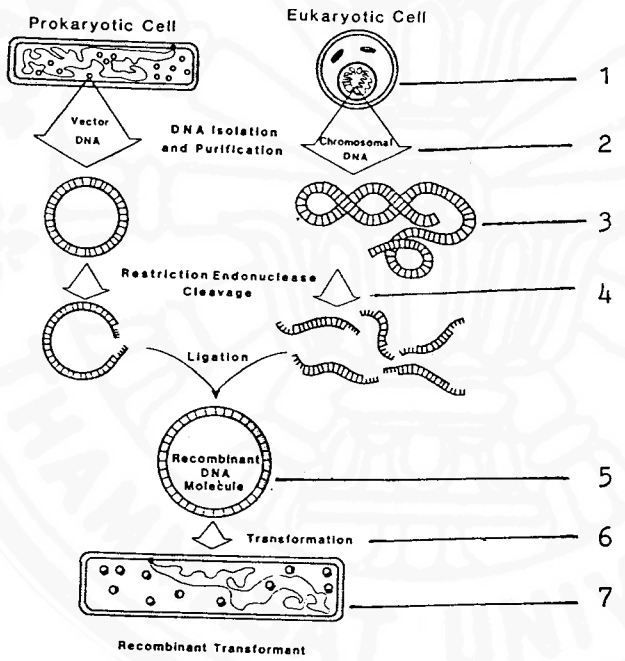
เมื่อได้เซลล์เจ้าบ้านที่มี DNA สายผสมแล้ว ก็นำมาเพาะเลี้ยงให้แบ่งตัวเพิ่มจำนวน เรียกเซลล์เจ้าบ้านที่มี DNA สายผสมนี้ว่า Clone ซึ่งพอจะสรุปเป็น Diagram ดังในรูป 1,2

จากที่ได้กล่าวมา เป็นการชี้ให้เห็นว่าความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีชีวภาพ และพันธุวิศวกรรมมีประโยชน์อย่างมากในการที่จะปรับปรุงเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรมให้ได้สิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ที่มีลักษณะทางกรรมพันธุ์ตามที่ต้องการนั้นเป็นสิ่งที่ไม่ไกลเกินฝันเลย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ได้เล็งเห็นความสำคัญของการพัฒนาประเทศโดยใช้เทคโนโลยีชีวิภาพ และพันธุวิศวกรรมจึงได้เปิดสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพขึ้น ประกอบกับเป็นการพัฒนาต่อเนื่องทางด้านวิชาการของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ซึ่งเปิดการเรียนการสอนในสาขาวิชาต่าง ๆ ที่สามารถจะใช้เทคโนโลยีชีวภาพไปพัฒนาและวิจัยให้เกิดความก้าวหน้าทางวิชาการในสาขาของตนได้อย่างต่อเนื่อง เช่น สาขาสิ่งแวดล้อม สาขาสุขภาพ สาขาเทคโนโลยีชนบท สาขาเทคโนโลยีการเกษตร และสาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร เป็นต้น อาจกล่าวได้ว่าสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพเป็นศูนย์กลางของสาขาวิชาที่กล่าวมาทั้งหมด และเป็นสาขาวิชาที่เกิดขึ้นแล้วจะทำให้คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเป็นคณะแรกของประเทศก็ว่าได้ที่อยู่ในรูปแบบที่เรียกว่ามีการพัฒนาวิชาการที่ครบวงจร หมายความว่า มีการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรม การเกษตร ควบคู่ไปกับการพัฒนาทางด้านสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของประชาชน

ศักยภาพของสาขาเทคโนโลยีชีวภาพที่พร้อมจะเปิดรับนักศึกษาในสาขา และมีการเรียนการสอนและการวิจัยได้ในเบื้องต้น ในปีการศึกษา 2536 คือ ทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร สิ่งแวดล้อม และการเกษตร ทางอุตสาหกรรมจะเน้นไปทางด้านจุลชีววิทยาและเคมีของอาหารหมักดอง เช่น น้ำปลา ซีอิ๊ว และเต้าเจี้ยว ซึ่งเป็นอาหารพื้นบ้านที่สำคัญของประเทศ รวมไปถึงอุตสาหกรรมทางด้าน Fermentation ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตแอลกอฮอล์ และผลิตภัณฑ์ของ

แอลกอฮอล์ ทางด้านสิ่งแวดล้อมจะเน้นไปในรูปของการใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลายสารมลพิษโดยเฉพาะสาร polyethylene และการย่อยสลายกากพืชโดยจุลินทรีย์ ฯลฯ ทางด้านเกษตรกรรมจะเน้นทางด้านการพัฒนาสายพันธุ์พืชและสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และการแพร่ขยายพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (plant tissue culture)

ในความฝัน [ที่ออกจะเพี้ยนของผู้เขียน] ที่จะเป็นมหาเศรษฐีคงจะเป็นจริง ถ้าค้นพบ Moneyase (Moneyase กำหนดให้เป็น enzyme ควบคุมการผลิต Money) ท่านผู้ใดมีแหล่ง Gene นี้ช่วยบอกกันมั่ง ! โรงงานกษาปณ์น่าจะมี !



รูปที่ 1 Diagram แสดงขั้นตอนของพันธุวิศวกรรม

ขั้นที่ 1 Cell ที่มี Gene ที่ต้องการ

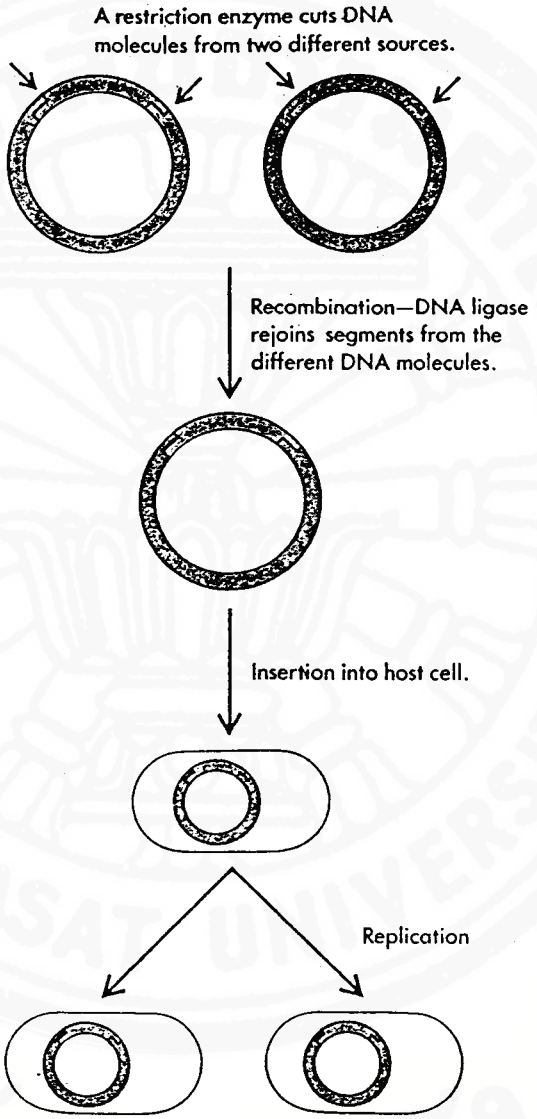
2,3 Extract เอาเฉพาะ DNA

4 ตัดด้วย Restriction Enzyme

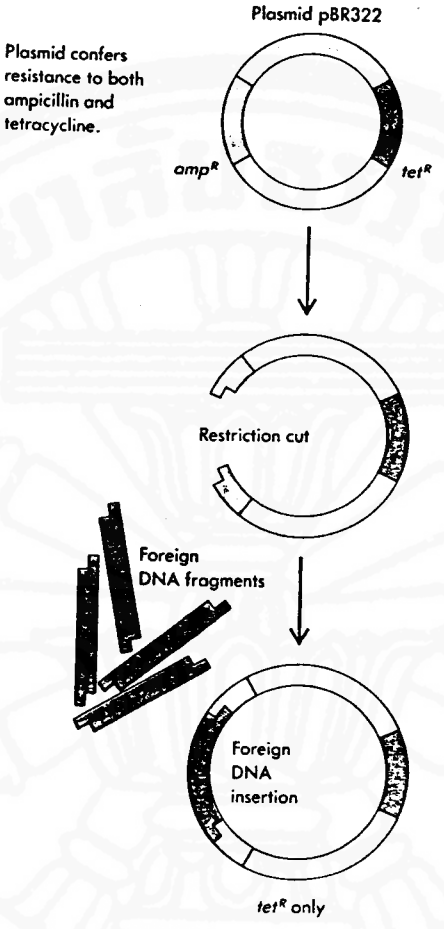
5 เชื่อม DNA จาก cells ทั้งสองด้วย Enzyme ligase

6 transform เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน

7 เซลล์เจ้าบ้านที่รับ Recombinant DNA เข้าไป เรียกว่า Clone ซึ่งสามารถที่จะแบ่งตัวเพิ่มจำนวนได้สิ่งมีชีวิตใหม่ที่มีพันธุกรรมตามที่กำหนด

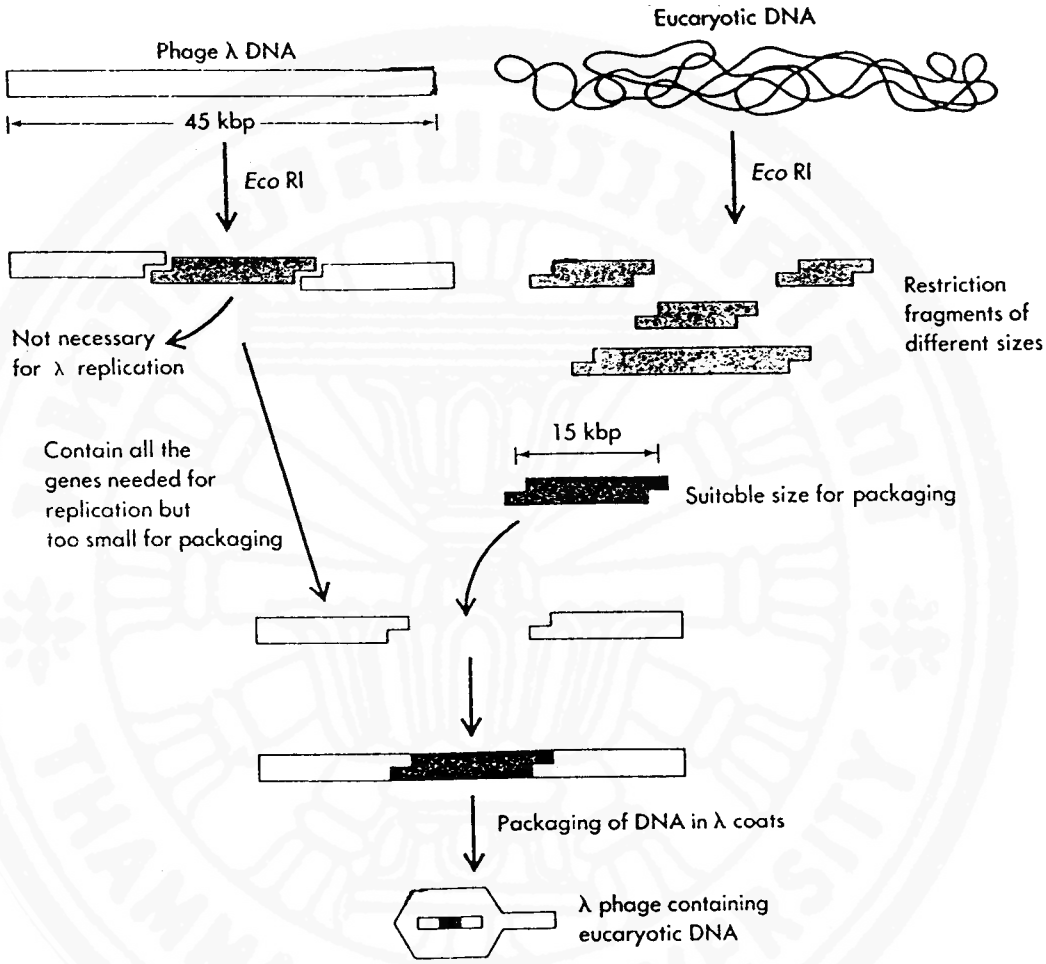


รูปที่ 2 แสดงการตัดต่อ DNA

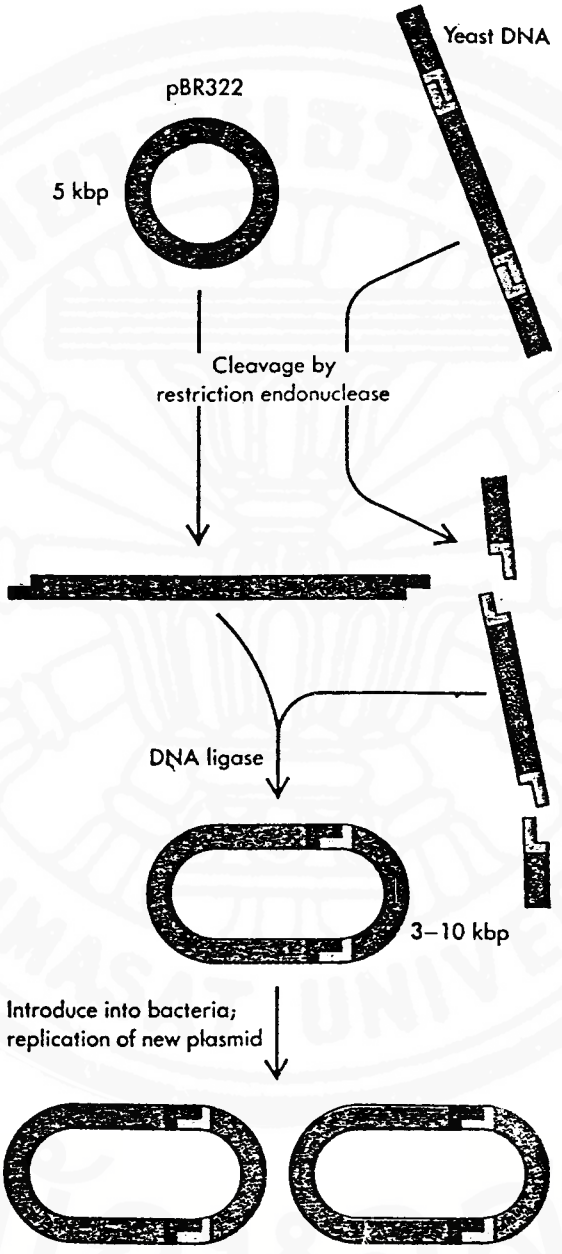


รูปที่ 3 DNA พาหะ : Plasmid pBR 322 มี Genetic marker คือมี Gene ดื้อยา Ampicillin และ tetracycline (amp^R, tet^R) ทั้ง 2 ตำแหน่งนี้สามารถสอด Gene ที่ต้องการใส่เข้าไปได้ โดยใช้ Restriction enzyme จากรูปใช้ Restriction enzyme Pst I ตัดที่จุดจำเพาะของ Gene amp^R จากนั้นก็เชื่อมกับ Gene ที่ต้องการ โดย Enzyme DNA ligasc แล้วได้ plasmid ที่มี Gene ที่ต้องการอยู่เรียก Recombinant DNA และพร้อมที่จะ transform เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้าน

การตรวจสอบว่าเซลล์เจ้าบ้านได้รับ Gene เข้าไปก็โดยการตรวจสอบคุณสมบัติการดื้อยาของ Gene amp^R ซึ่ง Plasmid ใหม่จะสูญเสียคุณสมบัติการดื้อยา Ampicillin.



รูปที่ 4 แสดงขั้นตอนของการตัดต่อ DNA จากแหล่ง Gene ที่ต่างกันระหว่าง DNA ของ Virus กับ DNA ของ Eucaryotic cell ในที่นี้ DNA ของ Virus ทำหน้าที่เป็นพาหะ เรียกว่า phage และสามารถที่จะนำมา transduction เข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านที่เป็นเซลล์พืชหรือเซลล์สัตว์ก็ได้



รูปที่ 5 แสดงการตัดต่อ DNA โดยใช้ DNA ของยีสต์เชื่อมกับพาหะชนิด pBR 322 แล้วสอดเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านที่เป็น Bacteria.

เอกสารอ้างอิง

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2528. เทคนิคการตัดต่อยีน. เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการ.

Cohen, S.N., A.C.Y., Chang and L, Hsu. 1972 Non Chromasomal antibiotic resistance in bacteria : Genetic transformation of Escherichia coli by R-factor DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 69 : 2110-2114

Hohn, B. 1979. In vitro packaging of and cosmid DNA. In Methods in Enzymology, R. Wu, ed. 68 : 299-309

Maniatis, T., E.F. Fritsch, and J, Sambrook. 1989. Molecular cloning : A Laboratory manual, 2nd edition, Cold Spring Harboz Laboratory. Book I.

Rodriguez, R.L. and R.C, Tait. 1983 Recombinant DNA techniques : An introduction, Addison-Wesley Publishing Company, Canada. 236

Rothwell, N.V. 1988 Understanding Genetic : 4th edition, Oxford University press, New York. 703

Watson, J.D., N.H, Hopkins., J.W., Roberts, J.A. Steitz, and A.M, Weiner. 1988. Molecular Biology of the Gene : 4th edition, The Burjamin/Cumming Publishing company. 1163