บทความพิเศษ

Special Article

กรรไกรโมเลกุล

Molecular Scissors

มานพ พิทักษ์ภากร★ สมชัย บวรกิตติ★★

Manop Pithukpakorn★ Somchai Bovornkitti★★

★สาขาเวชพันธุศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10700

★Division of Medical Genetics, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 10700

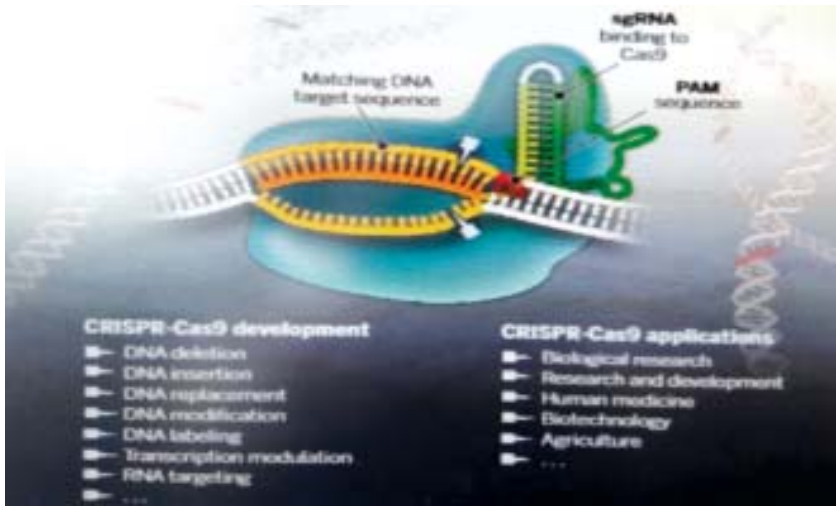
★★สำนักวิทยาศาสตร์ ราชบัณฑิตยสภา, กรุงเทพฯ 10300

★★The Academy of Science, The Royal Institute of Thailand, Bangkok 10300

Corresponding author. E-mail address:s_bovornkitti@hotmail.com

CRISPRs เป็นอักษรย่อของclustered regularly interspaced palindromic repeats คือเป็นกระจุกลำดับเบสซ้ำๆจาก ๕' ไป ๓' ท่อนสั้นๆที่คั่นด้วยลำดับสั้นๆ ในสายดีเอ็นเอ (interspaced with short sequences in the genome) พบครั้งแรกในสายดีเอนเอของแบคทีเรีย*เอสเชอริเชียโค*ไลโดยอิฌิโนะ และคณะ เมื่อ พ.ศ. ๒๕๓๐[๑] (หมายเหตุ: ในรายงานไม่พบชื่อ CRISPR มีเพียงคำบรรยายลักษณะรูปแบบลำดับนิวคลีโอไทด์และตัวคั่นตรงกับ CRISPRs) หลังจากนั้นมีการศึกษาในจุลชีพชนิดต่างๆจำนวนมาก และมีการศึกษาประสบความสำเร็จถึงขั้นเทคโนโลยีปรับแต่งสายดีเอนเอขดคู่ในมนุษย์ โดย Doudna และ Charpenter เสนอเทคนิคเรียบเรียงสายดีเอ็นเอที่เรียกว่า คริสเปอร์-คาสไนน์ เมื่อ พ.ศ. ๒๕๕๗[๒-๓]

CRISPR-Cas9เป็นเทคนิคปรับแก้รูปแบบตัวแจ้งสนเทศพันธุกรรมของเซลล์ หรือสายดีเอ็นเอ เป็นความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีการปรับแต่ง ควบคุม หรือกำหนดตำแหน่งจำเพาะที่ลำดับเบสคู่ของดีเอนเอ โดยอาศัยกรรไกรเอนซัยม์ Cas9 จึงเป็นวิธีปรับแก้ดีเอนเอที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าวิธีในสมัยก่อน โดยอาศัยการระบุลำดับดีเอนเอโอลิโกนิวคลีโอไทด์ที่เป็นอณูขนาดเล็ก หรือลำดับเบสที่ไม่ใช่รหัสในดีเอนเอ (อินทรอน) ที่ตำแหน่งตัดเชื่อมเองต่อจากนั้นก็มีวิธีใหม่ๆ เช่นการระบุโปรตีนของดีเอนเอคือเอนซัยม์ ZFNs (zinc finger nucleases) และ TALENs (TAL effector nucleases) และล่าสุดคือเทคโนโลยีตัดแต่งโดยกรรไกรโมเลกุล (CRISPR-Cas9)



รูปที่ ๑ เอนซัยม์ Cas9 (พื้นสีน้ำเงิน) ทำหน้าที่คล้ายกรรไกรอาศัยศูนย์ตัวเร่ง ๒ ตัว (ใบมีด)ไปตัดสายดีเอนเอขดคู่เป้าหมาย(สีทอง) หน้าต่อลำดับ PAM (สีแดง) และจับเข้าคู่กับ ๒๐ ลำดับนิวคลีโอไทด์ (ส้ม) ของอาร์เอนเอตัวนำเดี่ยว (sgRNA) อาร์เอนเอตัวนำเดี่ยวจะรวมลำดับคู่อาร์เอนเอที่มาจาก CRISPR RNA (สีเขียวอ่อน) และลำดับอาร์เอนเอคัดแยก (tracrRNA) สีเขียวแก่ ซึ่งจับยึดโปรตีน Cas9 ให้มีเสถียรภาพ ส่วนรอยตัดดีเอนเอที่สื่อนำด้วย Cas9-sgRNA เกิดรอยแยกของคู่สายจะกระตุ้นให้เอนซัยม์ผู้ซ่อมทำให้กระจัดกระจายหรือซ่อมลำดับดีเอนเอที่บริเวณเกิดการตัดออก

From: Science sciencemag.org Published by AAAS, November 28, 2014-Vol 346 Issue 6213, page 1077.

รูปที่ ๒ Jennifer Doudna และ Emmannelle Charpentier[๒] ได้รับรางวัลความสำเร็จจากผลงานการเรียบเรียงตัวแจ้งสนเทศพันธุกรรม โดยกลวิธานภูมิคุ้มกันสารพันธุกรรม CRISPR-Cas9 ที่พบว่าเอนซัยม์ Cas9 สามารถตัดเล็มสิ่งเสียหายในสายดีเอนเอขดคู่ออกไปและเรียบเรียงใหม่

From: http://www.bustle.com/articles/76795-what-is-emmanuelle-charpentier-jennifer-doudnas-gene-editing-technology-crispr-cas9-time-was-right-to-spotlight-it

เอกสารอ้างอิง

๑. Ishino Y, Shinakawa H, Makino K, Amemura M, Nakata A. Nucleotide sequence of the *iap* gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli, and identification of the gene product. J Bacteriol 1987; 169:5429-33.*

๒. Basalto D. These are 3 breakthrough science ideas you'll be talking about in 2015. The Washington Post November 11, 2014.

๓. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. Science 2014; 346(6213):1077-85.

เอกสารอ่านเพิ่มเติม

๔. Wang T, Wei JJ, Sabatini DM, Lander ES. Genetic screens in human cells using the CRISPR-Cas9 system. Science 2014; 343(6166): 80-84.