The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences

Volume 6
Issue 2 *1981*

Article 7

1-1-1981

รีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ ขทขาทในวงการวิทยาศาสตร์การแพทย์

สุกญญา นิมมานนิตย์

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/tjps

Part of the Pharmacology Commons

Recommended Citation

นิมมานนิตย์, สุกญญา (1981) "รีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ ขทขาทในวงการวิทยาศาสตร์การแพทย์," *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*: Vol. 6: Iss. 2, Article 7.
DOI: https://doi.org/10.56808/3027-7922.1661
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/tjps/vol6/iss2/7

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

6500 a Recombinant DNA

b2993865

บทคัดย่อ 156

BROAD SPECTRUM

รีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ บทบาทในวงการวิทยาศาสตร์การแพทย์

โดย ดร. สุกัญญา นิมมานนิตย์*

เทคโนโลยีใหม่ ๆ ดี ๆ บางอย่างที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่มักไม่จำกัดอยู่เฉพาะแขนงสาขาวิชาใดวิชาหนึ่งเฉพาะ ส่วนใหญ่หลังจากเทคโนโลยีดังกล่าวประสบผลสำเร็จไม่นาน มักพบว่าเราจะสามารถใช้เทคโนโลยีใหม่นี้กับแขนงสาขาวิชาอื่นๆที่ใกล้เคียงกันด้วย เทคโนโลยีที่ว่านี้ได้แก่ เทคโนโลยีในการทำรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ (Recombinant DNA) เราอาจใช้เทคโนโลยีนี้ในการศึกษาการจัดโครงสร้างและหน้าที่ของยีนของยูคารีโอท (Eukaryote) ได้ คือ เซลล์พวกที่มีนิวเคลียสเห็นได้ชัดเจน สิ่งมีชีวิตชั้นต่ำที่สุดที่มีนิวเคลียส ได้แก่ ยีสต์ และเชื้อรา) ในขณะนี้ประโยชน์ที่เห็นได้ชัดของเทคโนโลยีนี้ได้แก่ ประโยชน์ทางด้าน เภสัชกรรม, ทางเภสัชวิทยา และทางการแพทย์

อะไรคือ เทคโนโลยีในการทำรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ วิธีการทำรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ ทำได้โดยการตัดยีนส์ ของเซลล์ชนิดหนึ่ง ไปต่อเข้ากับยีนส์ของเซลล์ของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น โดยทั่วไปแล้วมีส่วนประกอบใหญ่ ๆ สามส่วนด้วยกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 คือ

1. โดเนอร์ ดี เอน เอ (donor DNA) คือ ดี เอน เอ หรือยีนส์ของเซลล์ชนิดหนึ่ง ซึ่งมีระหัสสำหรับสร้างโปรตีนที่ต้องการ ที่จะเอาไปใส่ในเซลล์อื่น อาจเป็น ดี เอน เอ ของยูคารีโอทซึ่งมีระหัสในการสร้างฮอร์โมนที่เป็นเปปไทด์ หรือโปรตีนภูมิคุ้มกัน (Antibody) ก็ได้

2. พาหะ (vector) ที่พายีนที่ต้องการนี้เข้าสู่เซลล์เป้าหมาย พานะนี้ส่วนใหญ่เป็นยีนขนาดเล็กๆซึ่งสามารถเข้าสู่เซลล์ที่ต้องการ ภาย

* ภาควิชาชีวเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 5

ในเซลล์เป้าหมายนี้จะเกิดการสร้างยีนพาหะนี้ขึ้นเป็นจำนวนมากขึ้นโดยใช้ยีนพาหะอันแรกที่เข้าไปเป็นแบบ

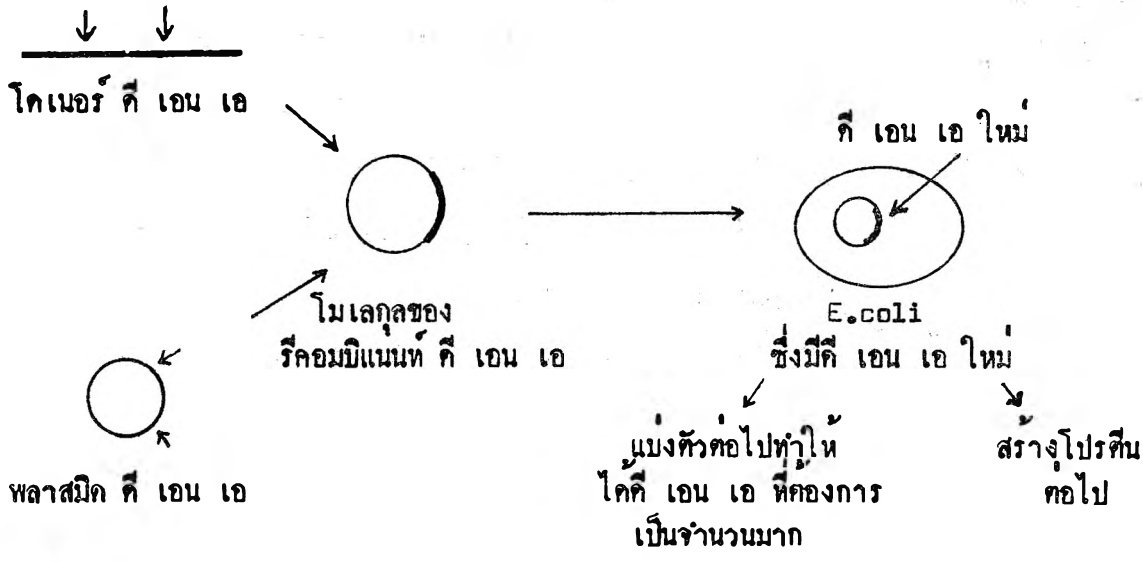
3. เซลล์เจ้าบ้าน (Host cell) เป็นเซลล์เป้าหมายที่ยีนพาหะจะเข้าไป เซลล์นี้เมื่อได้รับยีนพาหะ ที่เข้าไปจะใช้ยีนพาหะเป็นแบบและสร้างยีนนั้นขึ้นใหม่ได้อีกเป็นจำนวนมากขึ้น ถ้าเซลล์เจ้าบ้านเป็นเซลล์ของบักเตรี ยีนพาหะอาจเป็นพลาสมิด (ยีนขนาดเล็กๆซึ่งอยู่แยกออกจากโครโมโซม หลักของบักเตรีสามารถแบ่งตัวเองได้อย่างอิสระภายในเซลล์บักเตรี) หรือเป็นดีเอนเอของไวรัสชนิดที่เข้าสู่บักเตรีได้

เมื่อยีนพาหะเข้าสู่เซลล์ของบักเตรี จะสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น อาจเป็นจำนวนถึงร้อยหรือพันชุดต่อเซลล์บักเตรีได้ ซึ่งความสามารถนี้ยังคงอยู่แม้บักเตรีจะแบ่งตัวมันออกเป็นมากตัวขึ้นก็ตาม โดยวิธีนี้จะสามารถเพิ่มจำนวนของโดเนอร์ดี เอน เอ ได้อย่างมากมาย

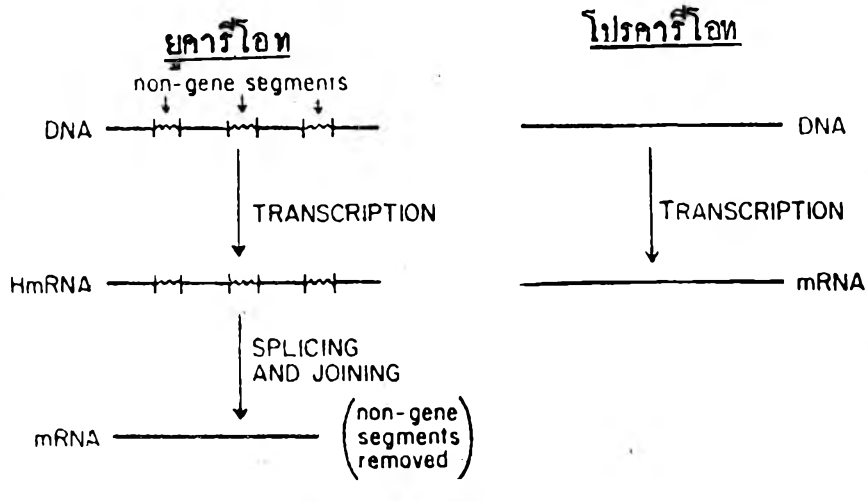
รูปที่ 1 แสดงแผนภูมิกรรมวิธีในการทำรีคอมบิแนนท์ ที เอน เอ เราอาจได้โดเนอร์ ดี เอน เอ มาโดยกรรมวิธีต่างๆดังนี้ เช่นหนึ่งถ้ารู้การเรียงตัวของกรดอะมิโนในโปรตีน หรือเปปไทด์นั้นก็อาจสังเคราะห์ยีนที่ต้องการโดยวิธีทางเคมี สอง ถ้าไม่รู้ลำดับการเรียงตัวดังกล่าวก็อาจพยายามใช้เมสเซนเยอร์ อาร์ เอน เอ ที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้น (m RNA เอม อาร์ เอน เอ ซึ่งมีระหัสที่สามารถแปลเป็นเปปไทด์หรือโปรตีนได้โดยตรง) อาร์ เอน เอ ดังกล่าวสามารถใช้เป็นแบบในการสร้างยีนขึ้นโดยการใช้เอนซัยม์ต่าง ๆ ที่จำเป็นในการสร้างยีนจากอาร์ เอน เอ สาม อาจใช้ส่วนใดส่วนหนึ่งของยีนทั้งหมดจากเซลล์ที่ต้องการโดยตรง

เมื่อได้โดเนอร์ ดี เอน เอ แล้วก็ต้องสอดชิ้นส่วนของ ดี เอน เอ นี้เข้าไปในยีนพาหะ จากนั้นจึงใส่เข้าไปในเซลล์บักเตรี เซลล์บักเตรีที่มียีนพาหะนี้เข้าไปจะถูกเลือกและแยกออกจากเซลล์ที่ไม่มียีนพาหะ เช่นโดยการที่ใช้เซลล์เจ้าบ้านเป็นบักเตรีที่ฆ่าได้โดยยาปฏิชีวนะชนิดหนึ่ง แต่ถ้าในยีนพาหะมียีนซึ่งทำให้บักเตรีต้านต่อยาปฏิชีวนะชนิดนั้นได้อยู่ด้วย หลังจากที่นำยีนพาหะเข้าสู่เซลล์เจ้าบ้านแล้ว นอกจากเซลล์บักเตรีนั้น ๆ จะได้รับโดเนอร์ยีนที่ต้องการแล้วบักเตรีชนิดนั้นยังดื้อต่อยาปฏิชีวะดังกล่าวด้วย เมื่อใส่เชื้อทั้งหมดหลังจากผสมยีนพาหะกับเชื้อด้วยกรรมวิธีพิเศษแล้ว ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมียาปฏิชีวนะที่ว่านี้ เชื้อตัวที่ภายในเซลล์ไม่มียีนพาหะอยู่ก็จะตายไป ที่เหลืออยู่จะมีเพียงเชื้อที่มียีนพาหะอยู่ในเซลล์ ซึ่งควรจะมีโดเนอร์ยีนที่ต้องการอยู่ภายในเซลล์ด้วย

มีการพัฒนากรรมวิธีต่าง ๆ เพื่อใช้ในการตัดต่อ ดี เอน เอ โดเนอร์และพาหะ วิธีที่ง่ายที่สุดในขณะนี้ก็คือการใช้เอนซัยม์รีสติคชั่นเอนโดนิวคลีเอส (restriction endonucleases)



รูปที่ 1 แสดงกรรมวิธีโดยย่อของรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ เทคโนโลยี่ลูกศรแสดงถึงตำแหน่งที่ ดี เอน เอ ถูกตัดออกโดยรีสตริคชั่นเอ็นโดนิวคลีเอสยีนที่ถูกเคลื่อนย้ายคือเส้นดำหนาทึบในรูป



รูปที่ 2 แสดงความแตกต่างของโครงสร้างของยีนในยูคารีโอทและโปรคารีโอท. (HMRNA คือ เฮทเทอโรจีเนียสอาร์ เอน เอ)

ซึ่งเปรียบเสมือนกรรไกร ใช้สำหรับตัดดี เอน เอ ดังกล่าวเฉพาะตรงที่มีการเรียงตัวของเบสในดี เอน เอ บริเวณนั้นเป็นแบบพิเศษ ให้ได้ยีนส่วนที่ต้องการทั้งหมด (บริเวณที่ลูกศรชี้ในรูป 1) ซึ่งการตัดต่อที่บริเวณนี้จะไม่มีผลกระทบกระเทือนต่อการพิมพ์แบบ (Replication) ของยีนพาหะขั้นต่อไปก็จะเป็นการนำโดเนอร์ ดี เอน เอ มาตัดต่อเข้ากับยีนพาหะเกิดเป็นลูกผสมของยีนทั้งสองชนิด ซึ่งเรียกว่า รีคอมบิแนนท์พลาสมิด (Recombinant plasmid) โดยใช้เอนซัยม์ที่เรียกว่า ดี เอน เอ ไลเกส ขั้นท้ายสุดเป็นการนำรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ ที่ทำได้ไปใส่ในเซลล์เจ้าบ้านโดยกลวิธีทำให้คุณสมบัติของผิวเซลล์เจ้าบ้านเปลี่ยนแปลงไป สามารถรับสารจากภายนอกเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ดีขึ้น ภายในเซลล์เจ้าบ้านจึงมีพลาสมิดซึ่งมีโดเนอร์ยีนอยู่ด้วยเพิ่มจาก โคร โม โซมซึ่งตัวมันเองมีอยู่เดิม เรียกเซลล์พวกนี้ว่า รีคอมบิแนนท์เซลล์ เซลล์พวกนี้มีประโยชน์มากสองประการใหญ่ ๆ คือ.-

1. ใช้ในการศึกษาการเรียงตัวของยีนต่าง ๆ ใน ยูคาริโอท ซึ่งจากเทคนิคดังกล่าวนี้พบว่าการเรียงตัวของยีนในยูคาริโอทต่างจากที่พบในโปรคาริโอทมาก (Prokaryotes ได้แก่ พวกบักเตรีต่าง ๆ) โดยที่สำหรับการสร้างโปรตีนจากยีนของบักเตรี จะต้องมีการสร้าง เอม อาร์ เอ็น เอ จากยีนซึ่งใช้แปลระหัสสร้างเป็นเปปไทด์ หรือโปรตีนต่อไปได้โดยตรง แต่ในยูคาริโอทนั้นมีขั้นตอนที่ยุ่งยากกว่า เพราะภายในยีนส่วนที่จะต้องใช้ในการสร้าง อาร์ เอน เอ และโปรตีนต่อไปนั้น มีส่วนย่อยๆอีก เป็นจำนวนมากซึ่งรหัสของส่วนเหล่านั้น ไม่ได้ใช้ในการสร้างโปรตีนขั้นตอนเกิดโดยที่จะมีการสร้าง อาร์ เอน เอ ต้นร่างขึ้นก่อน เรียกว่า เฮทเทอโรจีเนียส อาร์ เอน เอ (heterogeneous RNA) ดังในรูปที่ 2 ซึ่งจะถูกตัดต่อเอาส่วนที่ไม่ได้เป็นระหัสสำหรับสร้างโปรตีนออกไปเหลือเพียงส่วนที่ต้องการใช้จริง ๆ เท่านั้น ตัวอย่างที่เห็นชัดก็คือ ยีนของโอวัลบูมิน (Ovalbumin เป็นโปรตีนในไข่ขาว) มีขนาดใหญ่กว่า เอม อาร์ เอน เอ จริง ๆ ที่จะใช้แปลระหัสเป็นโปรตีนออกมา ถึงสามเท่า ยังไม่มีใครรู้ว่าส่วนที่สอดแทรกระหว่างระหัสจริงนั้นมีหน้าที่อะไรแน่ เพียงแต่เดา ๆ กันว่า อาจมีหน้าที่ในการควบคุมขบวนการแสดงออกของยีนในเซลล์ยูคารีโอท

2. ประโยชน์ที่เห็นอย่างเด่นชัดของเทคโนโลยีในเรื่องรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ ก็คือ การผลิตโปรตีนซึ่งเป็นผลิตผลจากยีน โดยโดยที่บักเตรีแบ่งตัวได้รวดเร็ว สร้างโปรตีนได้มากกว่าในเวลาสั้นกว่าเมื่อเทียบกับยูคาริโอท จึงใช้คุณสมบัตินี้ให้เป็นประโยชน์ โปรตีนของสัตว์ซึ่งปรกติมีอยู่เป็นจำนวนน้อยภายในเซลล์ และยังสะกัดให้บริสุทธิ์ได้ยาก ก็เอายีนที่จะใช้สร้างโปรตีนนั้นจากสัตว์ไปใส่ในเซลล์บักเตรีให้สร้างขึ้น เป็นอุตสาหกรรมใหญ่โตในขณะนี้ โดย

เฉพาะในทางอุตสาหกรรม มีการสร้างเปปไทด์ฮอร์โมนหลายตัวเพื่อใช้เป็นยาโดยใช้เทคโนโลยีนี้ปัจจุบันที่ใกล้ความสำเร็จมากที่สุดคือ อินซูลินของคนซึ่งผลิตโดยวิธีรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ โดยบริษัท Eli Lilly นอกจากนี้ยังมีเปปไทด์อีกหลายชนิด ซึ่งเป็นเป้าหมายในการผลิตโดยวิธีนี้ ได้แก่ อินเตอร์เฟียรอน (Interferon) ต้องการใช้สำหรับโรคมะเร็ง) ฮอร์โมนต่าง ๆ เช่น โซมาโตสเตติน (Somatostatin), Growth hormone, ACTH; วัคซีนต่างๆ โอปีออยด์เปปไทด์ (Opioid Peptides, เปปไทด์ที่พบในสมองมีฤทธิ์เหมือนมอร์ฟีน)

บริษัทยาใหญ่ ๆ กำลังพัฒนาในเทคโนโลยีนี้อย่างขมีขมัน นอกจากนี้ยังบริษัทเล็ก ๆ อีกหลายแห่งซึ่งเชี่ยวชาญมากทางด้าน genetic engineering ด้วยได้แก่ Biogen, Cetus Corp. และ Genentech โดยเฉพาะ Genentech มีส่วนสำคัญมากในการเร่งเร้าให้มีการตื่นตัวในการวิจัยทางด้านนี้เป็นอย่างมาก เพราะเป็นแหล่งแรกที่ประสบความสำเร็จในการวางแผนทำงานจนได้บักเตรีซึ่งสามารถสร้างอินซูลินและโซม่าโตสเตตินได้

ขณะนี้บริษัทอีไลลิลลี่ กำลังทดลองอินซูลินของคนซึ่งเตรียมมาโดยวิธีรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ นี้อยู่ใน ร.พ. Guy's Hospital ที่กรุงลอนดอน ในอาสาสมัครที่สุขภาพแข็งแรงเมื่อให้อินซูลินนี้ในขนาดต่ำ ๆ พบว่าปฏิกิริยาเฉพาะที่ (local reaction) ซึ่งเกิดขึ้นบริเวณผิวหนัง ไม่แตกต่างจากที่เกิดขึ้นเมื่อใช้อินซูลินชนิดบริสุทธิ์มากจากหมู ปัจจุบันกำลังมีการเปรียบคลีนิคอยู่อย่างไรก็ตามลิลลี่กล่าวว่าเป็นไปได้ที่ผลิตภัณฑ์ใหม่นี้อาจลด adverse reaction ซึ่งพบเมื่อใช้อินซูลินจากสัตว์ในคนไข้ได้ด้วย อินซูลินที่ใช้ที่ Guy's Hopital นี้ผลิตในสหรัฐอเมริกา ทางบริษัทกำลังเริ่มโครงการ 40 ล้านเหรียญอเมริกันเพื่อสร้างโรงงานสำหรับผลิตอินซูลินโดยเทคนิคนี้ มีโรงงานตั้งที่ Speke, Liverpool และอีกแห่งที่ Indianapolis ในเวลานี้ สร้างอินซูลินดังกล่าวได้เพียงจำนวนน้อย (พอใช้ทดลองในคนไข้ประมาณ 20 คน เท่านั้น) แต่เมื่อขยายการผลิตออกไป มีความหวังว่าต่อไปคงจะมีอินซูลินให้ใช้ได้อย่างไม่จำกัด

ทางเภสัชวิทยาอาจใช้เทคโนโลยีนี้ในการศึกษาปัญหาต่าง ๆ ที่น่าสนใจเช่นเกี่ยวกับกลไกในการออกฤทธิ์ของยาหรือปัญหาเช่นว่า ยาเช่น phenobital เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือเพิ่มปริมาณของเอนซัยม์ในระบบไมโครโซม เมตาบอไลซ์ยาอย่างไร สารพวก carcinogen ทำปฏิกริยากับ ดี เอน เอ อย่างไร จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จนกลายเป็นเซลล์มะเร็งไปได้ การติดยาเสพย์ติดและการทนต่อยานั้นเกิดที่ระดับยีนหรือไม่

ทางการแพทย์เองอาจใช้เทคโนโลยีนี้ในการแก้ไขความผิดปรกติทางกรรมพันธุ์เป็น

ห้องสมุดคณะเภสัชศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

จำนวนไม่น้อยได้ ได้แก่ โรคซึ่งขาดฮอร์โมนหรือเอนซัยม์ต่างๆ โดยเฉพาะโรคทางกรรมพันธุ์ที่เกี่ยวกับเลือด เช่นการขาดเอนซัยม์ glucocere brosidase ใน gaucher's disease ก็อาจมีการโคลน (Cloning) ยีนของเอนซัยม์นั้น แล้วนำไปใส่ใน marrow cell ของคนไข้นำเข้าไปปลูกในตัวคนไข้ต่อไปเป็นต้น

อย่างไรก็ตามการใช้เทคโนโลยีนี้ต้องมีหลักเกณฑ์ และการควบคุมในการทดลองและการปฏิบัติอย่างเคร่งครัดมาก เพื่อป้องกันอุบัติการณ์ที่อาจเกิดขึ้นซึ่งอาจทำให้เกิดเป็นสัตว์ประหลาดพิลึกกึกกือจากผลการทดลองซึ่งอาจเป็นภัยอันมหันต์ต่อมนุษยชาติได้ แม้ที่แล้วมาจะพบว่าเรื่องดังกล่าวมีโอกาลจะเกิดขึ้นได้จริงไม่มากนักกันไว้ย่อมดีกว่าแก้เสมอ ก่อนที่จะสายเกินไปเพื่อมวลมนุษย์ทั้งหลายจะได้ใช้ประโยชน์จากเทคโนโลยีรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ นี้ได้อย่างเต็มที่

References

1. weissbach, H and Skalka, A.M

Recombinant DNA – a New tool tor the pharmacologist.

IIPS (1979) October P. 23–33

2. Drugs in Use. Tests Start on Human Insulin prepared by DNA Recom bination. pharmaceutical journal (1980) 225, P. 101

3. Mercola, K.E., and Cline, M.J. M J. Techniques for Inserting New Genetic Informatin. New Eng. J. Med. (1980) 303 (22), p. 1297–1300.

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบในการสร้างรีคอมบิแนนท์ ดี เอน เอ

โดเนอร์ ดี เอน เอ	คือ ดี เอน เอ หรือยีนส์ ที่เอาออกมาจากเซเซลล์หนึ่ง
ยีนพาหะ	คือ ตัวที่จะพาโดเนอร์ยีนเข้าไปสู่เซลล์อีกชนิดหนึ่ง และสามารถจะเกิดการเพิ่มจำนวนของตัวมันเองได้
ต.ย.	1. พลาสมิด เป็นโมเลกุล ดี เอน เอ เล็กๆ ซึ่งไม่ใช่ส่วนของโครโมโซม 2. ไวรัสของบักเตรี เรียกว่า แบคเตริโอฟาจ
เซลล์เจ้าบ้าน	คือ เซลล์ซึ่งรับยีนพาหะซึ่งมีโดเนอร์ ดี เอน เอ เข้าไปและทำให้เกิดการสร้างยีนพาหะและโดเนอร์ ดี เอน เอ ขึ้นเป็นจำนวนมาก (ส่วนใหญ่เซลล์พวกนี้มักเป็น E.coli ชนิดใดชนิดหนึ่ง)

รีคอมบิแนนท์ เอน เอ เป็นเทคนิคในการตัดต่อยีน จากสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งนำเข้าไปในยีนส์ของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง