

การวิเคราะห์หาลำดับดีเอ็นเอ (DNA Sequencing)

จันทร์แรม รูปข้า

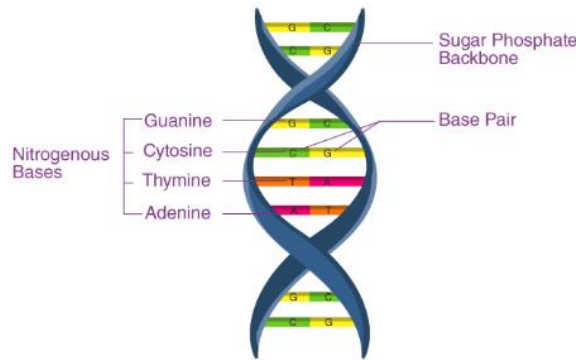
นักวิจัยชำนาญการพิเศษ ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์หาลำดับดีเอ็นเอ (DNA Sequencing) เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลของสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ (Deoxyribonucleic Acid ; DNA) ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดลักษณะของสิ่งมีชีวิตจากรุ่นสู่รุ่นเมื่อมีการแบ่งเซลล์ โครงสร้างของดีเอ็นเอเกิดจากหน่วยย่อยที่เรียกว่านิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นสารประกอบไนโตรจีนัสเบส แบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่

1. กลุ่มพิวรีนเบส (purine) ได้แก่ ไทมีน (thymine; T) และ ไซโตซีน (cytosine; C)
2. กลุ่มไพริมิดีนเบส ได้แก่ อะดีนีน (adenine; A) และ กัวนีน (guanine; G)

สารประกอบไนโตรจีนัสเบสนี้จะรวมตัวกับน้ำตาลดีออกซีไรโบสและหมู่ฟอสเฟต ซึ่งเรียงต่อกันเป็นสายคู่สมโดยเบสพิวรีนเข้าคู่กับเบสไพริมิดีน (A-T, G-C) (ภาพที่ 1) การเรียงต่อกันของสายนิวคลีโอไทด์ทั้ง 4 ชนิดนี้สามารถใช้แยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ ทำให้สิ่งมีชีวิตความหลากหลายทางพันธุกรรมและมีความจำเพาะในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด



ภาพที่ 1 โครงสร้างดีเอ็นเอ

<https://cdn1.byjus.com/wp-content/uploads/2023/07/DNA-Structure-Updated-1.png>

การหาลำดับดีเอ็นเอมี 2 เทคนิค ได้แก่

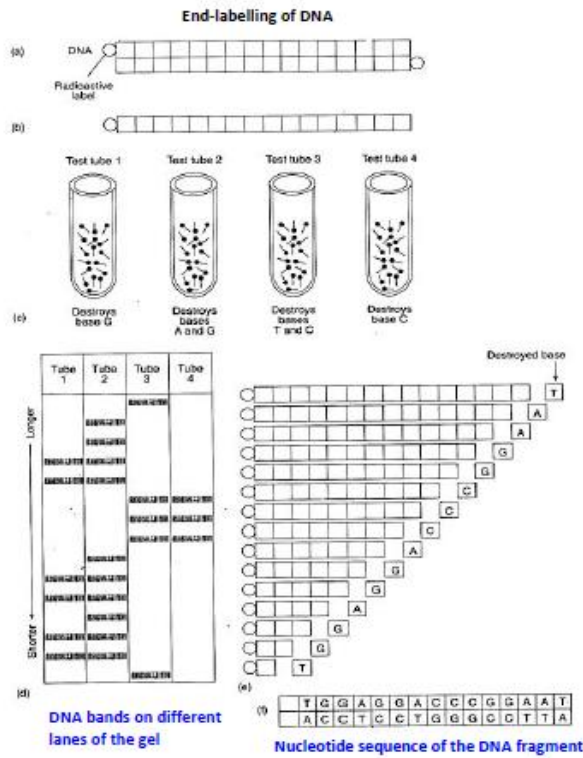
1. Chemical sequencing พัฒนาขึ้นโดย Allan Maxam และ Walter Gilbert หรือเรียกว่า Maxam-Gilbert sequencing เป็นการใช้นิวคลีโอไทด์สาย DNA ที่ตำแหน่งต่างๆ โดยติดฉลากสายดีเอ็นเอด้วยสารกัมมันตรังสี (^{32}P) และตัดสายดีเอ็นเอที่ตำแหน่งของแต่ละเบสแล้วนำมาแยกขนาดตามความยาวของเบส (ภาพที่ 2) ซึ่งวิธีนี้ยุ่งยากและไม่ใช้แล้วในปัจจุบัน

2. Enzymatic sequencing หรือ dideoxy sequencing หรือเรียกว่า Sanger sequencing ซึ่งพัฒนาขึ้นมาโดย Frederick Sanger เทคนิคนี้อาศัย dideoxynucleotide triphosphates (ddNTPs) เป็นตัวหยุดการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอมาต่อสาย DNA จาก primer วิธี dideoxy เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก และได้รับการพัฒนามาตลอดจนถึงปัจจุบันนี้ (ภาพที่ 3) ที่มีเครื่องหาลำดับดีเอ็นเอแบบอัตโนมัติ ซึ่งทำได้ง่ายไม่ยุ่งยากซับซ้อนเหมือนเมื่อก่อน

การหาลำดับดีเอ็นเอมีประโยชน์สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ หลากหลาย ได้แก่

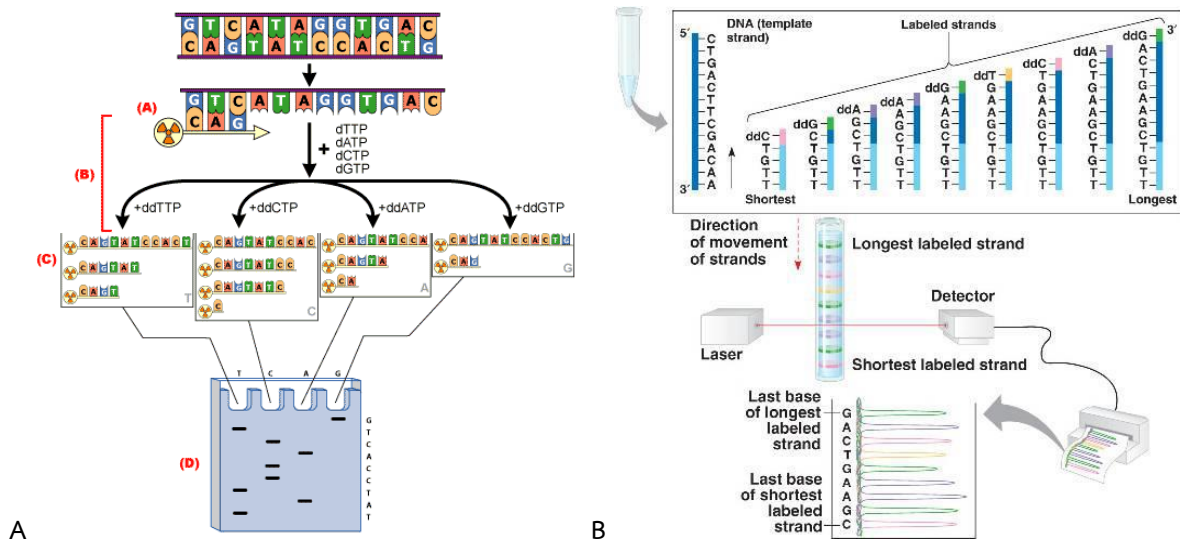
1. การวิจัยพื้นฐานทางอณูชีววิทยาในการศึกษายีนต่างๆ ทั้งในคน สัตว์ และพืช
2. การวิจัยทางการแพทย์ด้านโรคทางพันธุกรรม การยืนยันความเป็นพ่อแม่ลูก
3. ทางนิติวิทยาศาสตร์เป็นหลักฐานประกอบสำนวนในคดีต่างๆ เป็นต้น

DNA sequencing by Maxam & Gilbert Technique



ภาพที่ 2 การหาลำดับดีเอ็นเอด้วยวิธีทางเคมี Maxam-Gilbert sequencing

https://edscl.in/pluginfile.php/4276/mod_folder/content/0/100004147.pdf?forcedownload=1



ภาพที่ 3 การหาลำดับดีเอ็นเอโดยใช้เอนไซม์ Enzymatic sequencing หรือ dideoxy sequencing

- A. Enzymatic procedure of DNA sequencing
- B. Automated DNA Sequencing

https://edscl.in/pluginfile.php/4276/mod_folder/content/0/100004147.pdf?forcedownload=1

เอกสารอ้างอิง

<https://www.molecularcloud.org/p/sanger-sequencing-vs.-next-generation-sequencing-ngs>