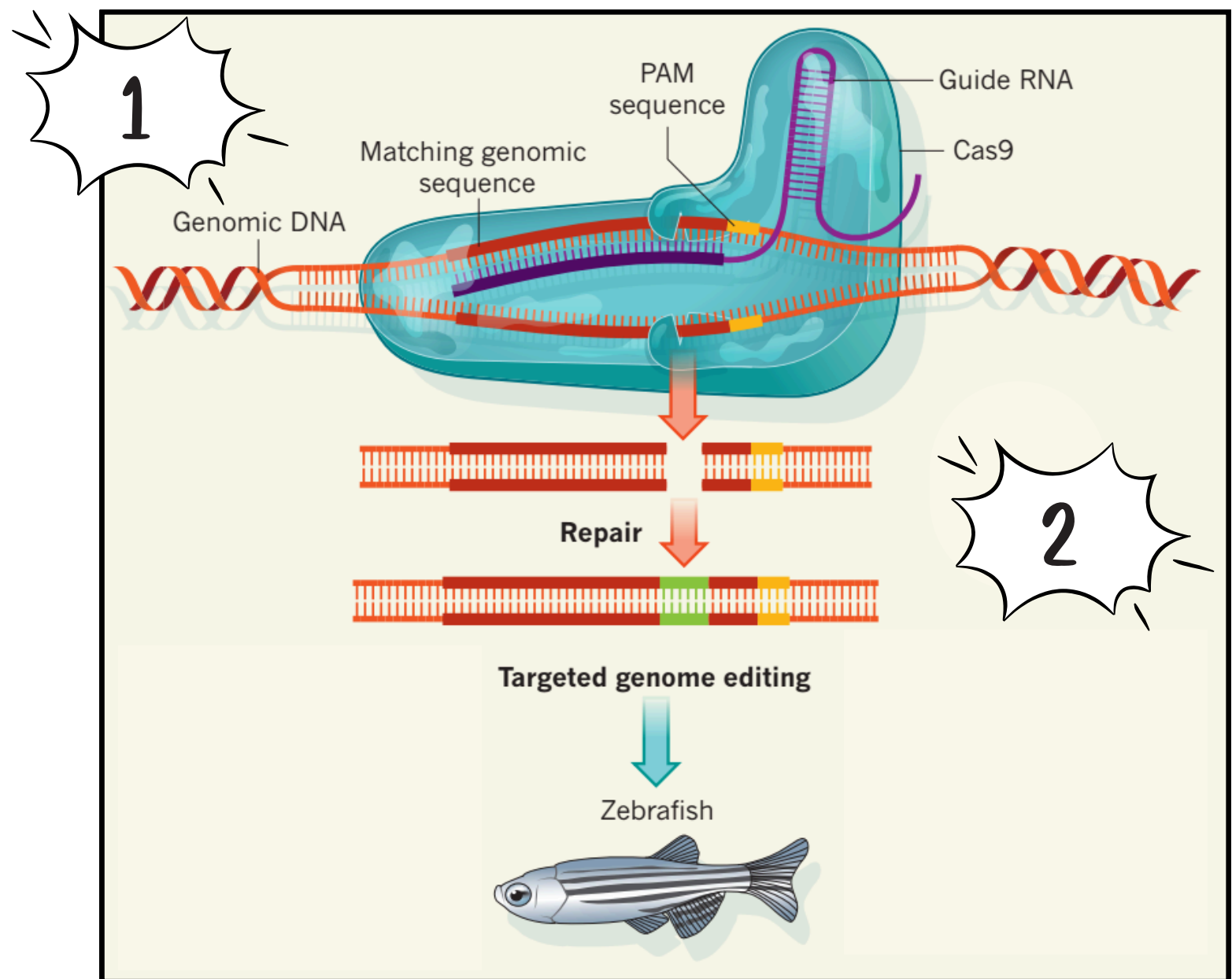


GENOME EDITING WITH CRISPR-CAS9



หลักการทำงานของ CRISPR-Cas9

1.) CRISPR-Cas9 จะประกอบด้วย 2 ส่วนนั่นก็คือ

-Cas 9 (CRISPR-associated protein 9) : คือส่วนที่เป็นเอนไซม์ซึ่งมีความสามารถในการตัดสาย DNA

-Guide rna : คือสาย RNA สายเดียวที่มีหน้าที่ในการจับกับ ตัวของ Cas 9 และพาไปยังตำแหน่ง DNA เป้าหมายที่ต้องการดัดแปลง

โดยที่จะต้องทำการออกแบบ Guide RNA ให้มีความจำเพาะกับ DNA ตำแหน่งที่เราต้องการดัดแปลง และต้องให้ตำแหน่งนั้นอยู่ใกล้ๆกับ PAM sequence ด้วยซึ่งเป็นบริเวณที่ CAS 9 สามารถจับกับ DNA เป้าหมายได้ และเมื่อออกแบบเสร็จแล้วก็นำทั้ง 2 อย่างใส่ไปยัง nuclease ในเซลล์ของเป้าหมายที่ต้องการดัดแปลง และหลังจากนั้น Guide RNA ก็จะไปจับกับ CAS 9 และพาไปยัง DNA ของเป้าหมายที่ตำแหน่งที่ต้องการดัดแปลง จากนั้น CAS 9 ก็จะตัด DNA เป้าหมาย

2.) และเมื่อถูกตัดสาย DNA แล้ว เซลล์ก็จะมีกระบวนการซ่อมแซมสาย DNA ที่ถูกตัด ซึ่งการมีจะซ่อมแซมได้อย่างถูกต้องได้นั้นจะต้องอาศัยสาย DNA สายตรงเข้ามาใช้เป็นเทมเพลตในการซ่อมแซมให้ถูกต้อง แต่เนื่องจากถูกตัดสาย DNA ทั้งสองสายเลย ไม่มีอีกสายให้มาใช้เป็นเทมเพลตในการซ่อม มันจึงเกิดการซ่อมแบบลุ่มหรือซ่อมมั่วเกิดขึ้น ซึ่งก็จะทำให้สาย DNA มี sequence ที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งก็จะทำให้ยีนตำแหน่งที่เปลี่ยนไปนั้นไม่ทำงาน