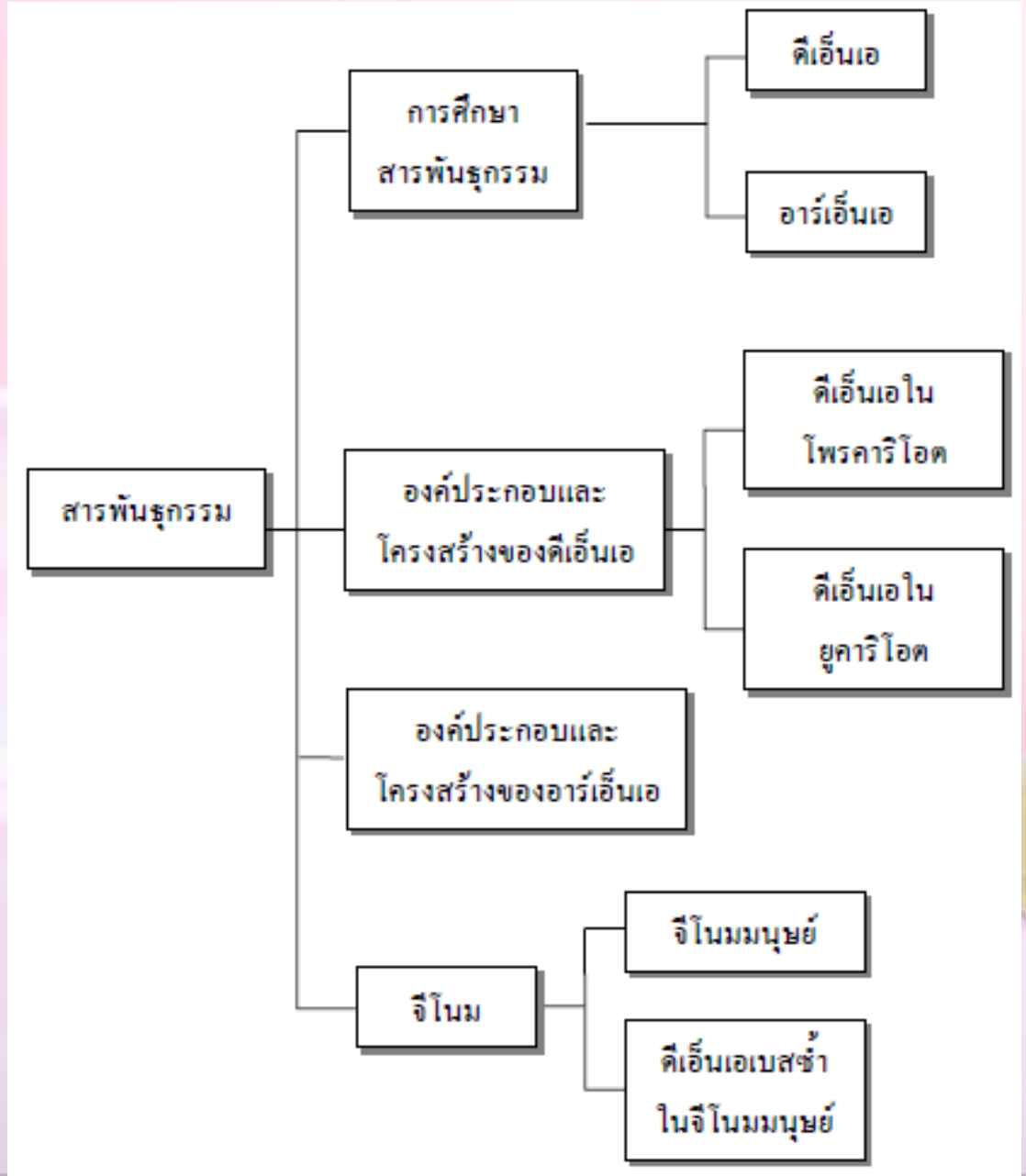
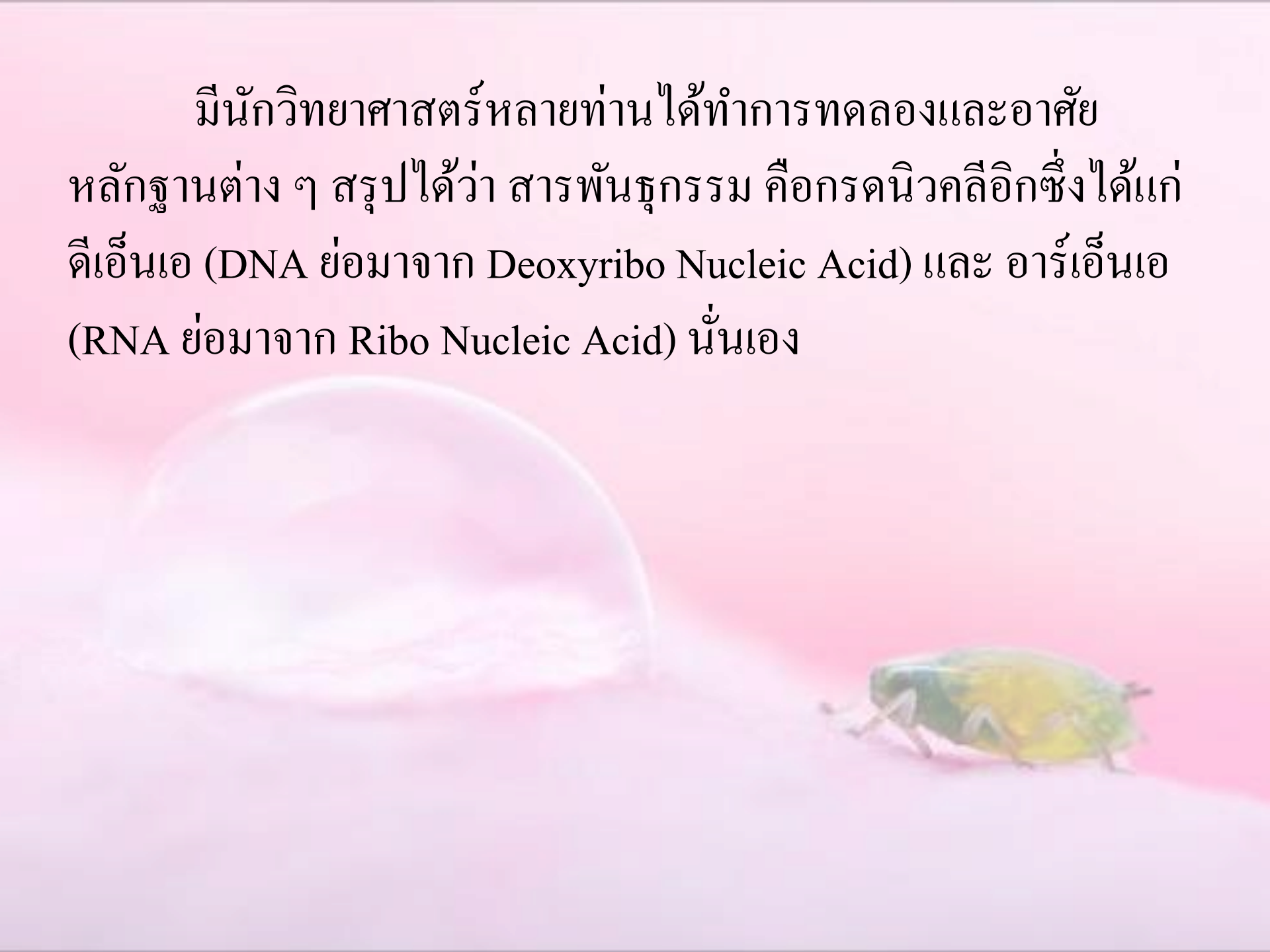
บทที่ 5 สารพันธุกรรม



การศึกษาสารพันธุกรรม

การที่สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีลักษณะพันธุกรรมเฉพาะตัวไม่เหมือนกับสิ่งมีชีวิตอื่น หรือลักษณะพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวมีหลายลักษณะที่แตกต่างกัน เนื่องจากภายในเซลล์สิ่งมีชีวิตมีจีนซึ่งเป็นสารพันธุกรรมเป็นตัวควบคุม นักวิทยาศาสตร์จึงได้พยายามศึกษาค้นคว้าเพื่อพิสูจน์ว่า สารพันธุกรรมเป็นสารชนิดใด มีองค์ประกอบโครงสร้างอย่างไร โดยมีแนวความคิดว่าสารพันธุกรรมควรมีโครงสร้างถาวรหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงได้น้อย มีข้อมูลพันธุกรรม (Genetic information) ที่สามารถถ่ายทอดไปยังสิ่งมีชีวิตรุ่นต่อไปได้ รวมทั้งสามารถสร้างขึ้นใหม่ให้เหมือนเดิมในระหว่างการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์

มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ทำการทดลองและอาศัยหลักฐานต่าง ๆ สรุปได้ว่า สารพันธุกรรม คือกรดนิวคลีอิกซึ่งได้แก่ ดีเอ็นเอ (DNA ย่อมาจาก Deoxyribo Nucleic Acid) และ อาร์เอ็นเอ (RNA ย่อมาจาก Ribo Nucleic Acid) นั่นเอง



ดีเอ็นเอ

หลักฐานและการทดลองที่แสดงว่าดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรม มีดังนี้

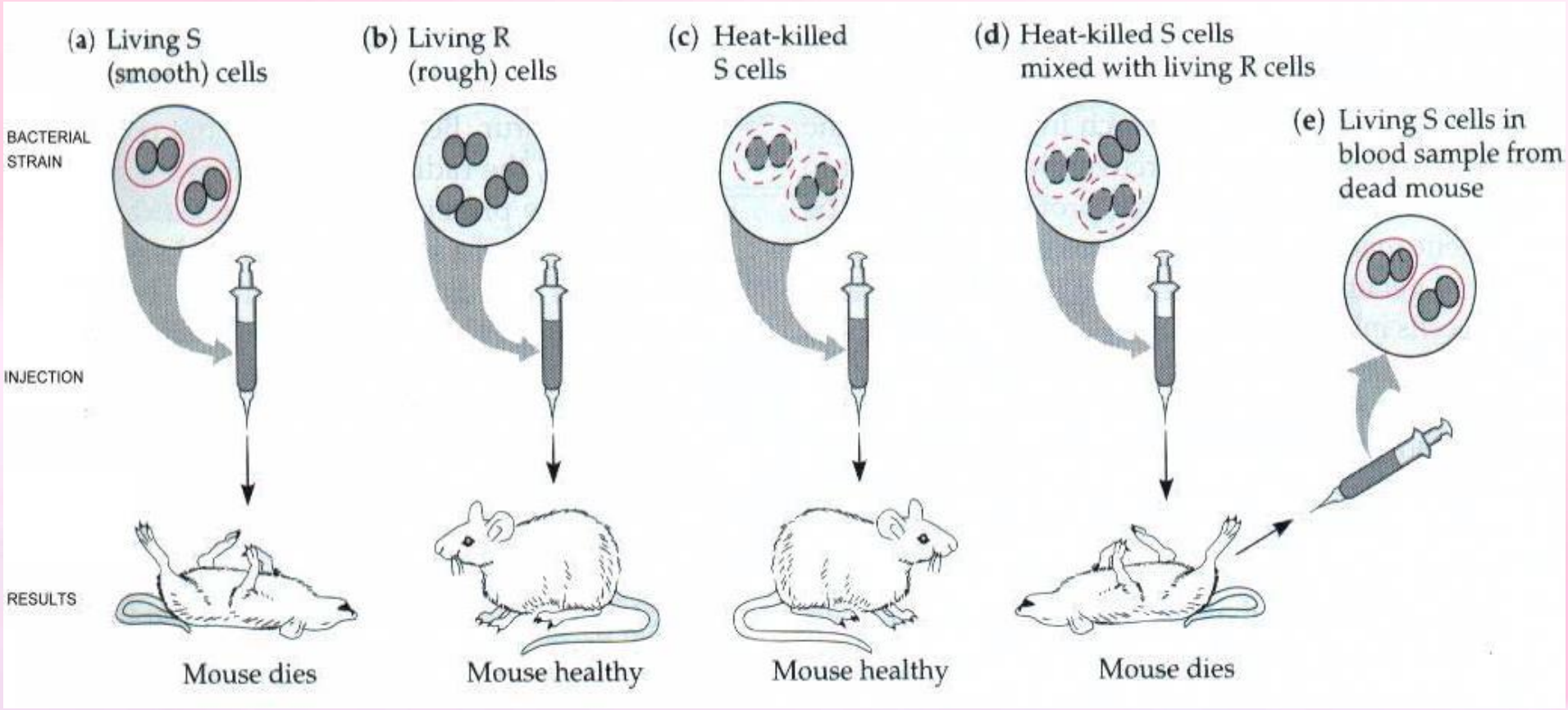
■ 1. ดีเอ็นเอส่วนใหญ่มักจะปรากฏในโครโมโซม ส่วนอาร์เอ็นเอและโปรตีนมักจะปรากฏในไซโทพลาสซึม

■ 2. ปริมาณดีเอ็นเอจะสัมพันธ์กับจำนวนชุดของโครโมโซม คือ ปริมาณของดีเอ็นเอในเซลล์ร่างกายจะเป็น 2 เท่าของปริมาณดีเอ็นเอในเซลล์สืบพันธุ์

■ 3. ดีเอ็นเอในเซลล์เนื้อเยื่อต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งจะมีปริมาณเท่ากัน และคงที่เสมอไม่ว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม อาหาร อายุ หรือสภาพของเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอในเซลล์เนื้อเยื่อต่าง ๆ ของมนุษย์จะเท่ากัน

■ 4. สัตว์หรือพืชต่างชนิดกัน มักจะมีปริมาณดีเอ็นเอต่างกัน เซลล์ที่มีโครงสร้างง่าย ๆ จะมีดีเอ็นเอน้อยกว่าเซลล์ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น ปริมาณดีเอ็นเอของแบคทีเรียจะน้อยกว่าของรา และปริมาณดีเอ็นเอของราจะน้อยกว่าของมนุษย์หรือพืช ทั้งนี้เพราะแบคทีเรียมีจำนวนจีนน้อยกว่า รา คน และพืช

ในปีค.ศ. 1928 **เฟรด กริฟฟิท (Fred Griffith) แพทย์ชาวอังกฤษศึกษาแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคปอดบวมในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม** *(Streptococcus pneumoniae)*



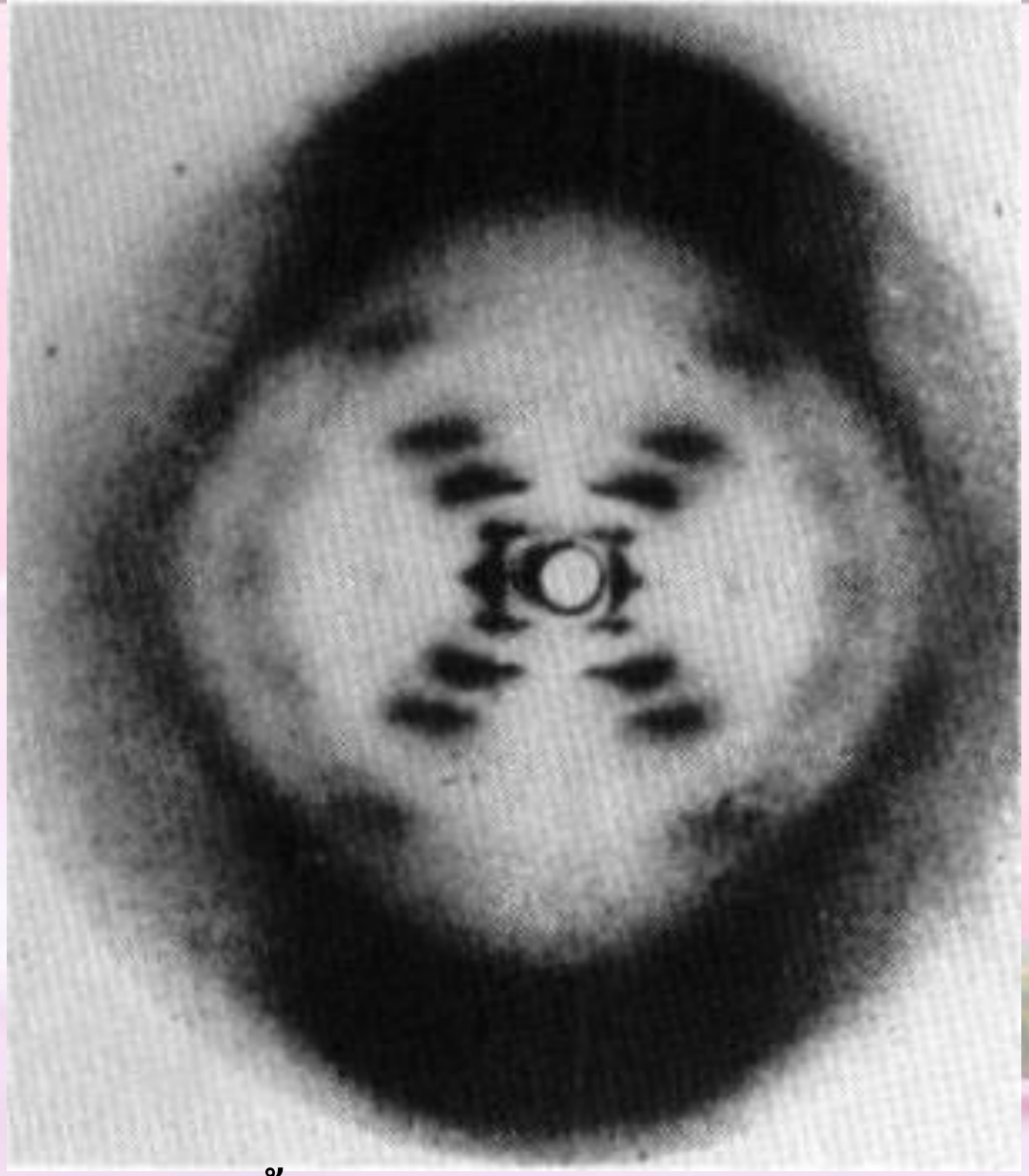
การทดลองของเฟรด กริฟฟิต และคณะ

(Campbell. 1993 : 301)

สายพันธุ์แรกสามารถสร้างแคปซูลห่อหุ้มเซลล์ป้องกันไม่ให้เซลล์ถูกทำลายโดยระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ เมื่อใส่แบคทีเรียสายพันธุ์นี้เข้าไปในตัวหนู จะทำให้หนูเป็นโรคและตาย ส่วนอีกสายพันธุ์หนึ่งไม่ทำให้เกิดโรคและไม่ทำให้หนูตายเมื่อเอาแบคทีเรียชนิดที่ทำให้เกิดโรคฆ่าด้วยความร้อนใส่เข้าไปในตัวหนูพร้อมกับแบคทีเรียที่ไม่ทำให้เกิดโรค หนูจะตาย กริฟฟิทตั้งสมมติฐานว่า การที่หนูตายเนื่องสารพันธุกรรมจากแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคและทำให้ตายโดยความร้อนเข้าไปก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในแบคทีเรียที่ไม่ทำให้เกิดโรคกลายเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค การทดลองนี้แสดงว่า ***ข้อมูลพันธุกรรมในดีเอ็นเอสามารถถ่ายทอดได้***

องค์ประกอบและโครงสร้างของดีเอ็นเอ

ค.ศ. 1953 **เจมส์ ดิวอีย์ วอตสัน** (James Dewey Watson) ชาวอเมริกัน **และฟรานซิส แฮร์รี คอมป์ตัน คริก** (Francis Harry Compton Crick) ชาวอังกฤษได้ร่วมกันเสนอโครงสร้างสามมิติของดีเอ็นเอ โดยอาศัยหลักฐานของ มอริช วิลคินส์ (Maurice Wilkins) และ โรซาไลนด์ แฟรงคลิน (Resalind Franklind) ซึ่งเป็นภาพการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ ของดีเอ็นเอ วอตสันและคริก สรุปว่า **ดีเอ็นเอมีโครงสร้างเป็นเกลียวคู่ (Double helix)** คล้ายขดลวดสปริง และเกลียวมีลักษณะวนขวา



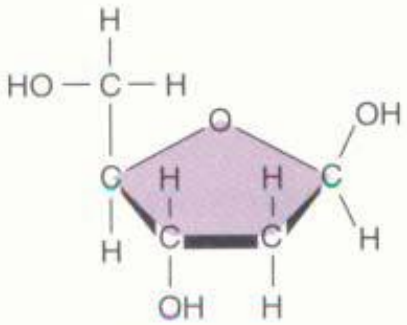
ภาพการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของดีเอ็นเอ

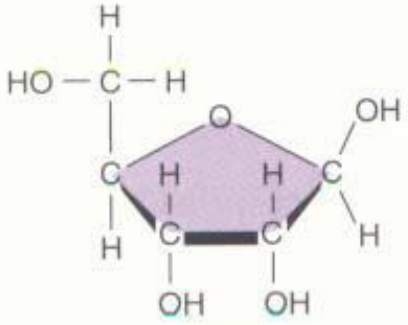
(Mix, Farber and King. 1992 : 274)

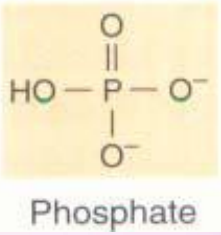
- ดีเอ็นเอจัดเป็นสารประกอบกรดนิวคลีอิก โมเลกุลของกรดนิวคลีอิกประกอบด้วย น้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม หมู่ฟอสเฟต(Phosphate) และเบส (Base) ในสัดส่วน 1 : 1 : 1
- เบสในดีเอ็นเอมี 4 ชนิด และแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

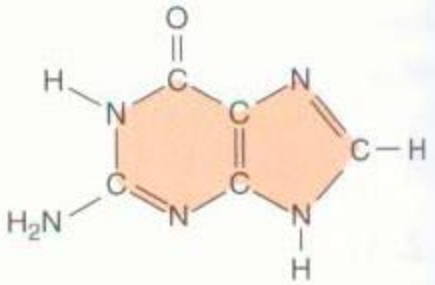
1.1 เบสไพริมิดีน (Pyrimidine) ประกอบด้วยวงแหวน 1 วง เบสในกลุ่มนี้ได้แก่ไซโทซีน (Cytocine ใช้สัญลักษณ์ C) และไทมีน (Thymine ใช้สัญลักษณ์ T)

1.2 เบสพิวรีน (Purine) ประกอบด้วยวงแหวน 2 วง คือ วงแหวนไพริมิดีนเชื่อมกับวงแหวนอิมิดาโซล (Imidazole) เบสในกลุ่มนี้ได้แก่ อะดีนีน (Adenine ใช้สัญลักษณ์ A) และกัวนีน (Guanine ใช้สัญลักษณ์ G)

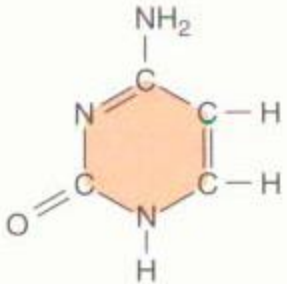


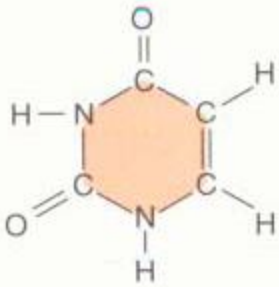


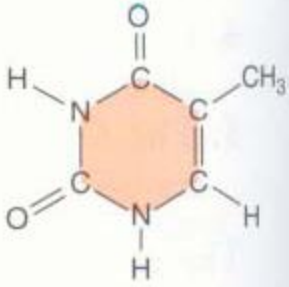




Purines



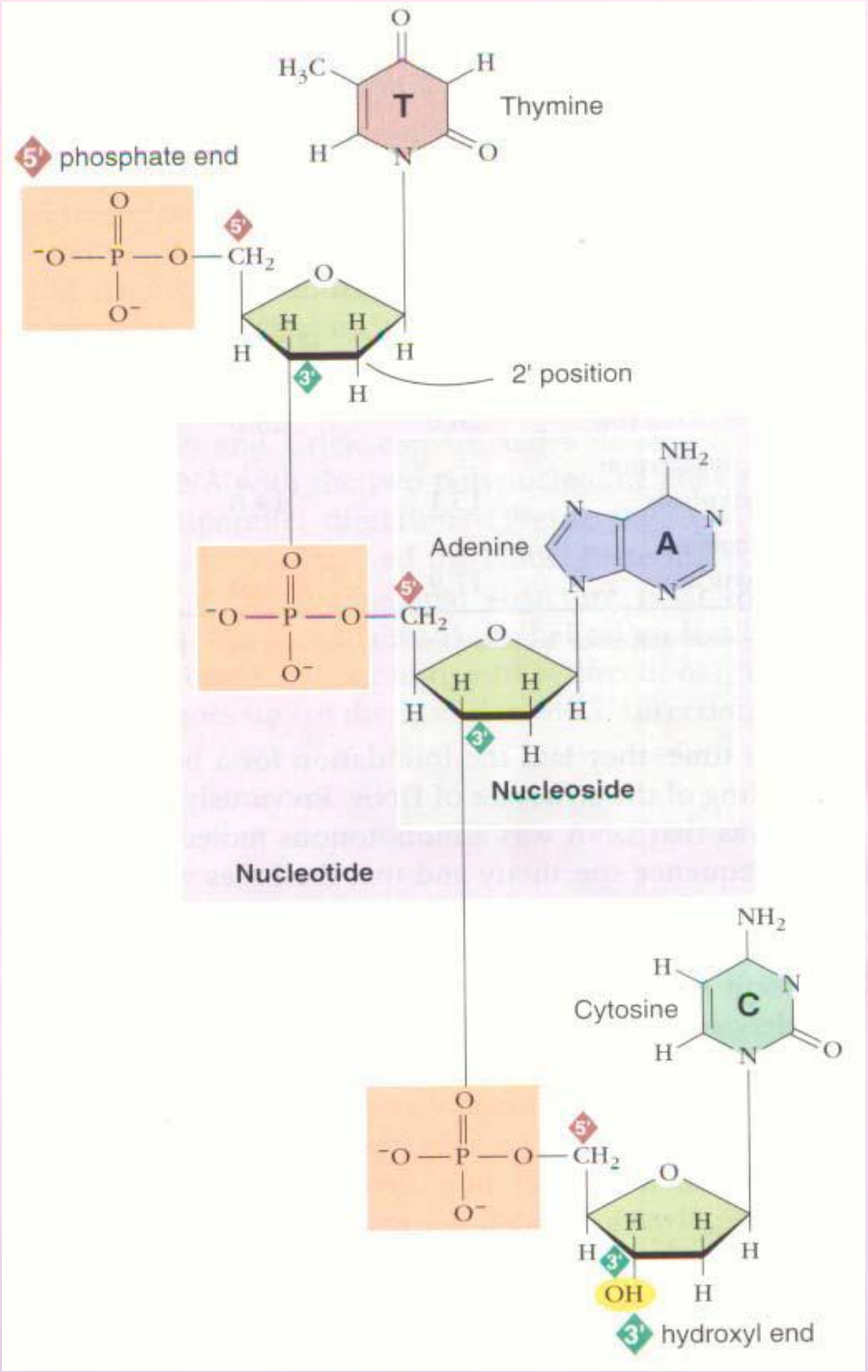


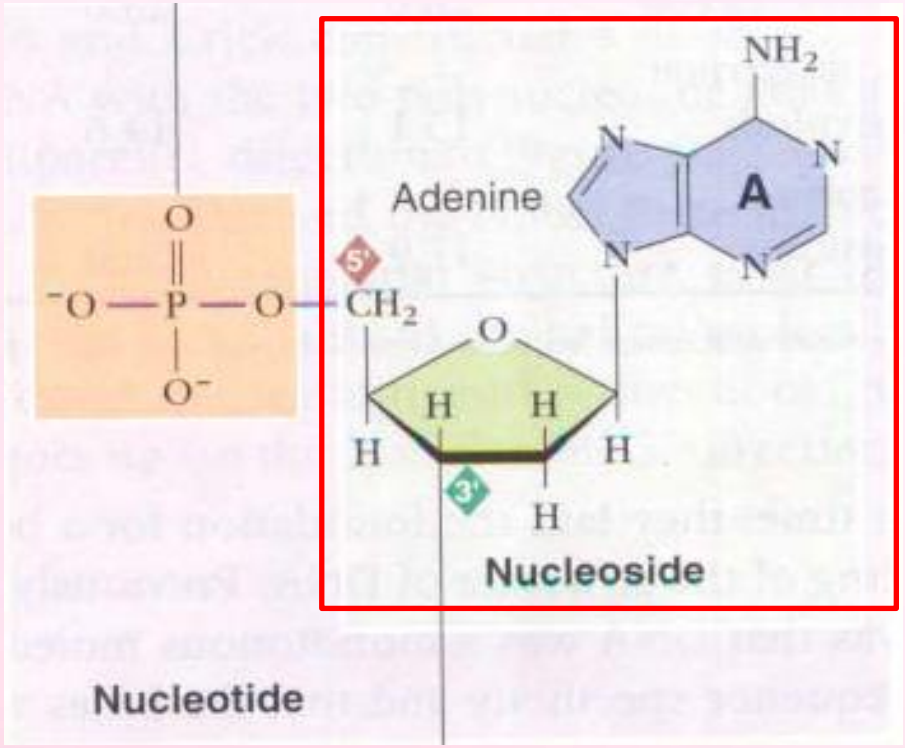


Pyrimidines

แสดงสูตรโครงสร้างของน้ำตาล หมู่ฟอสเฟต และเบส ในสารประกอบกรดนิวคลีอิก

(Raven and Johnson. 2002 : 284)



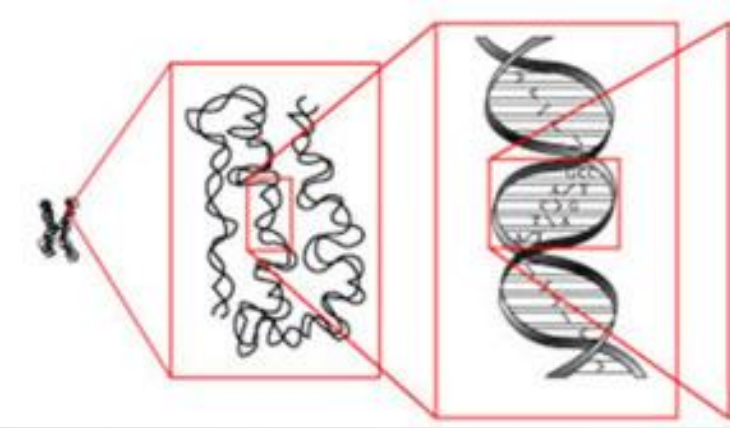


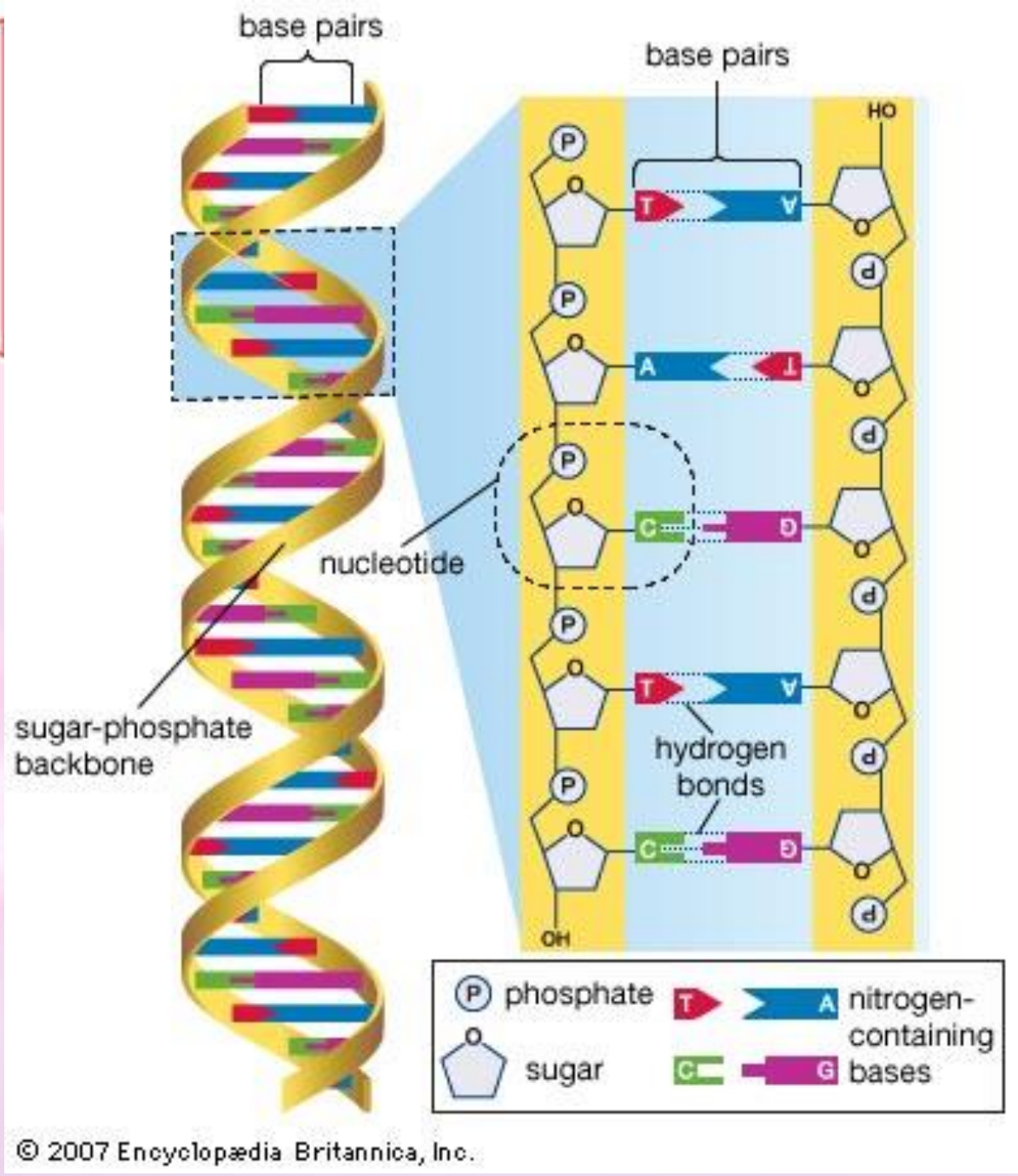
โครงสร้างทางเคมีของสายดีเอ็นเอหนึ่งสาย (Atherly, Girton and McDonald. 1999 : 257)

J.D. Watson นักชีววิทยาอเมริกัน & F.H.C. Crick นักฟิสิกส์อังกฤษ เสนอโครงสร้างของ DNA ได้รับ Nobel Prize ตีพิมพ์ผลงานใน Nature ฉบับวันที่ 25 เดือนเมษายน ค.ศ. 1953

- 1. ประกอบด้วย 2 polynucleotides ยึดกันโดยการจับคู่กันของเบส โดย H-bond
- 2. ทั้ง 2 สายขนานกันและมีทิศทางตรงข้าม (antiparallel)
- 3. การจับคู่กันของเบสระหว่าง A - T (2 H-bonds), C - G (3 H-bonds) = complementary basepairs (เบสที่เป็นเบสคู่สมกัน คือ A จับคู่กับ T ด้วยพันธะไฮโดรเจน 2 พันธะ และGจับคู่กับ C ด้วยพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะ)
- 4. ทั้ง 2 สายจะพันกันเป็นเกลียวเวียนขวา (right handed double strand helix)
- 5. แต่ละคู่เบสห่างกัน 3.4 อังสตรอม (.34 nm) เอียงทำมุม 36 องศา

1 รอบ = 10 คู่เบส = 34 อังสตรอมเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 อังสตรอม





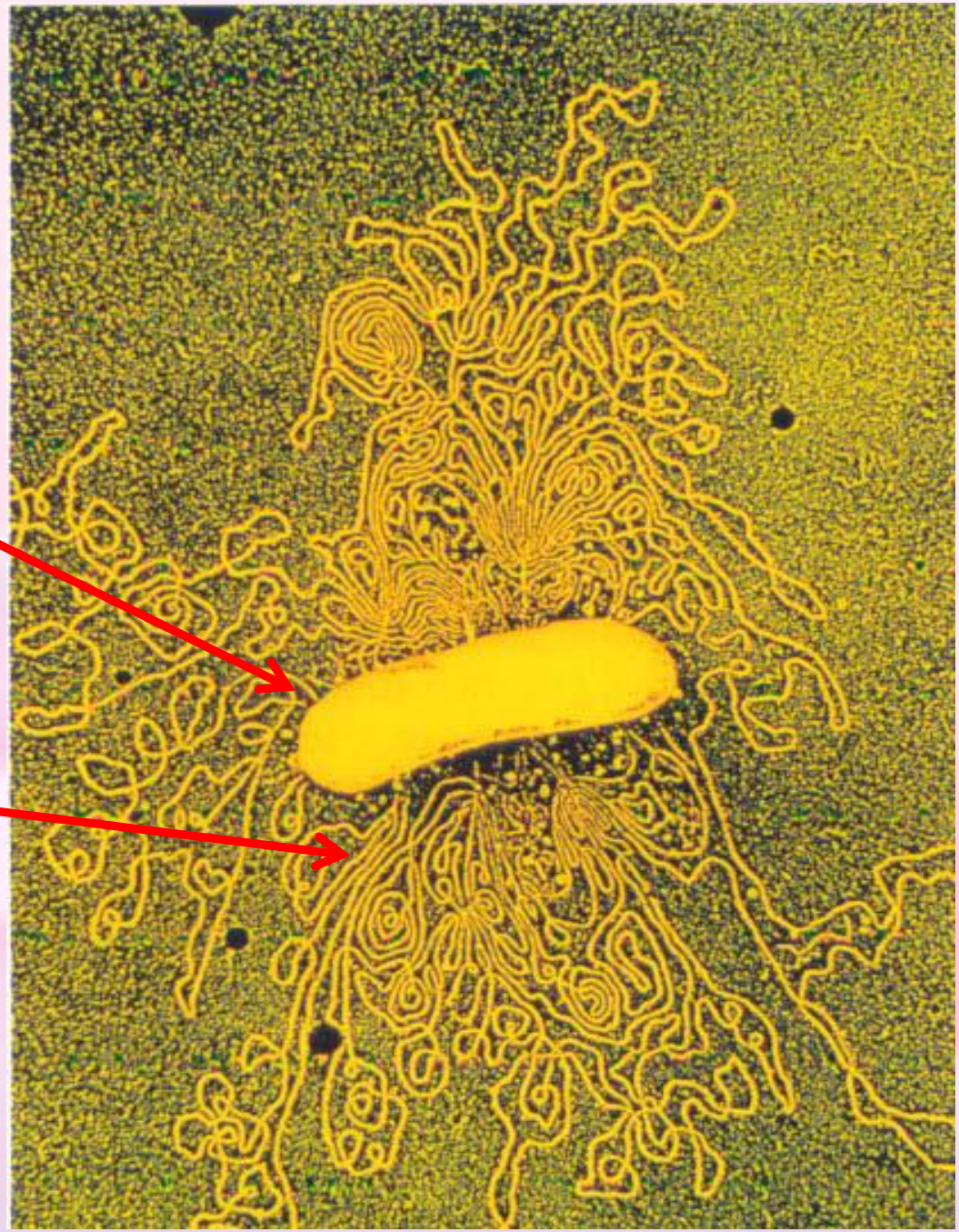
© 2007 Encyclopædia Britannica, Inc.

ดีเอ็นเอในโพรคาริโอต

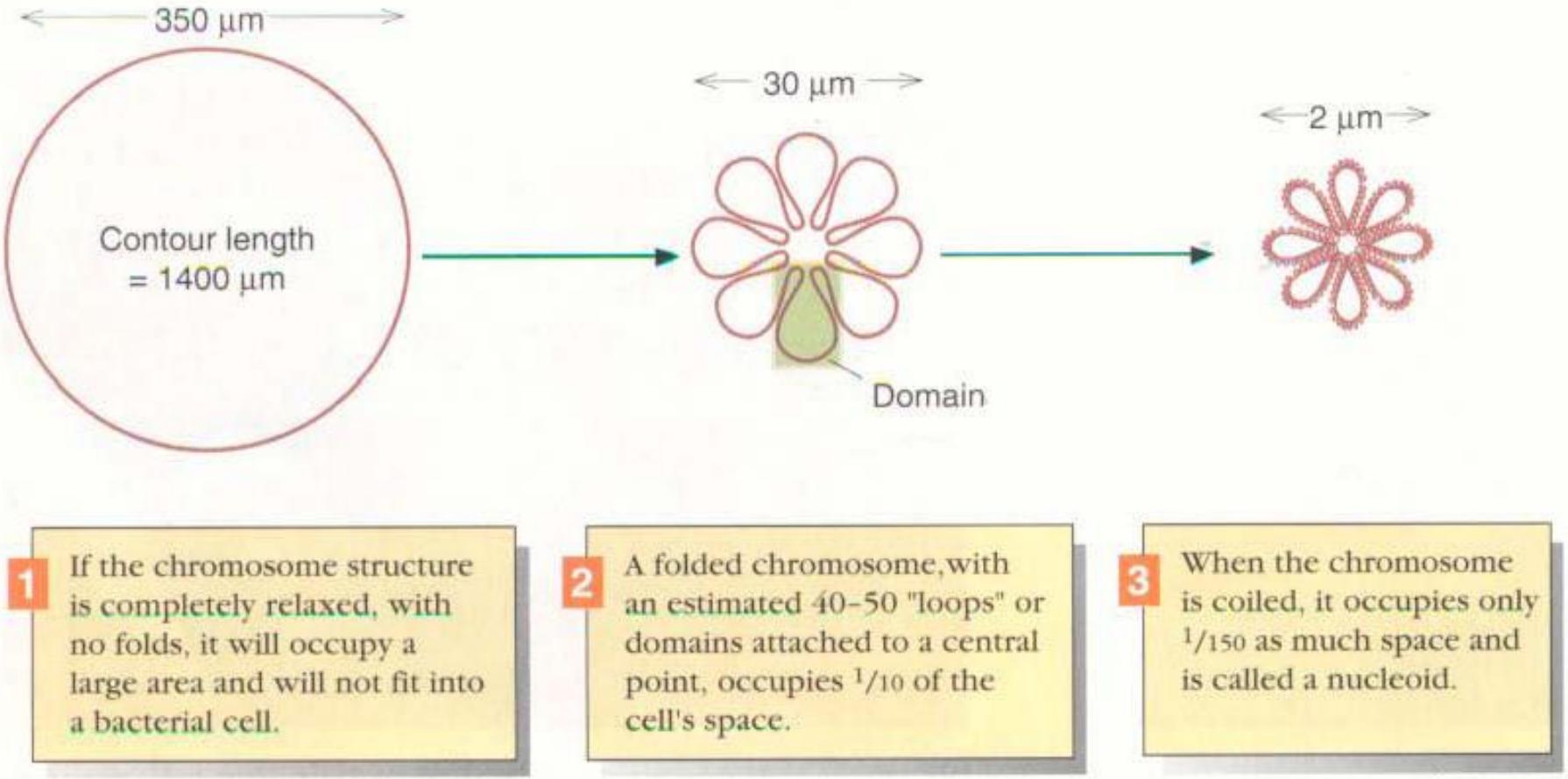
แบคทีเรียเป็นโพรคาริโอตที่มีดีเอ็นเอซึ่งอาจเรียกว่าโครโมโซม และมีโครงสร้างไม่ซับซ้อนประกอบด้วยดีเอ็นเอรูปวงแหวน 1 โมเลกุล ขนาดความยาวประมาณ 1,100 ไมโครเมตร (μm) มีการสร้างห่วง (Loop) ขึ้นมาประมาณ 40-100 ห่วง แต่ละห่วงจะยึดติดอยู่กับแกนกลางซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอและโปรตีน (RNA-protein core) โดยแต่ละห่วงเป็นอิสระต่อกันและเกิดการพันกันแน่นเรียกว่า **นิวคลอยด์ (Nucloid)**

Ruptured bacterium

Bacterial chromosome



โครโมโซมของ *E. coli*

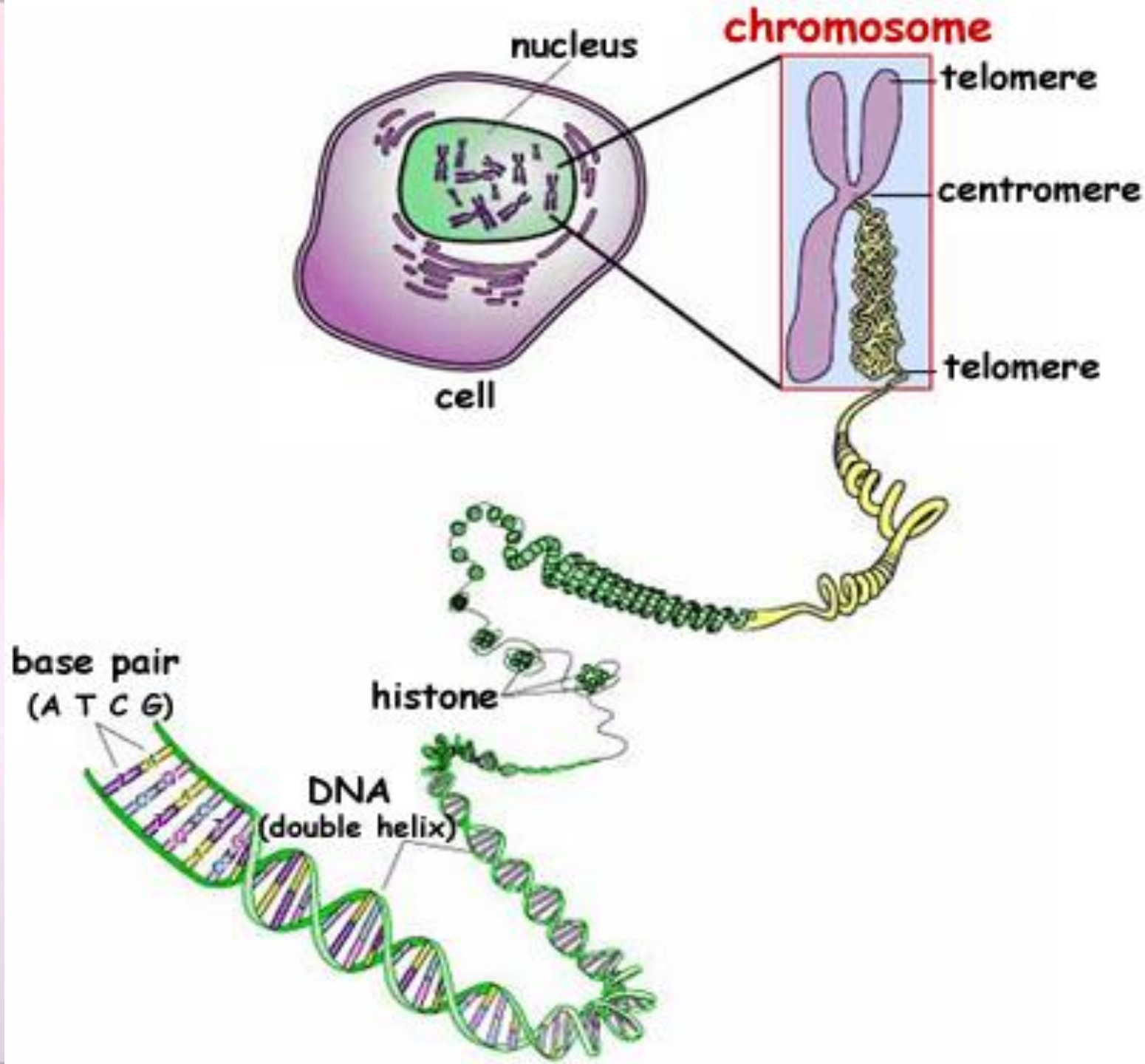


แสดงการพันกันของโครโมโซมหรือดีเอ็นเอของ *E. coli* เป็นนิวคลอยด์

(Atherly, Girton and McDonald. 1999 : 284)

ดีเอ็นเอในยูคาริโอต

สำหรับยูคาริโอตโครโมโซมมีขนาดใหญ่กว่าของโพรคาริโอตโครโมโซมแต่ละแท่งของยูคาริโอต ประกอบด้วยดีเอ็นเอ 1 โมเลกุล พันกันแน่นและเกาะตัวอยู่กับโปรตีนฮีสโตน และโปรตีนที่ไม่ใช่ฮีสโตน ในระยะอินเทอร์เฟสดีเอ็นเอของยูคาริโอตจะอยู่ในสภาพโครมาทินซึ่งเกิดจากดีเอ็นเอรวมกับโปรตีนกลายเป็นองค์ประกอบที่ซับซ้อนของนิวคลีโอโปรตีน และจะเกิดการพันเกลียวซ้อนเกลียวของสายโครมาทินกลายเป็นแท่งโครโมโซมที่สามารถเห็นได้ชัดเจนในระยะโพรเฟส

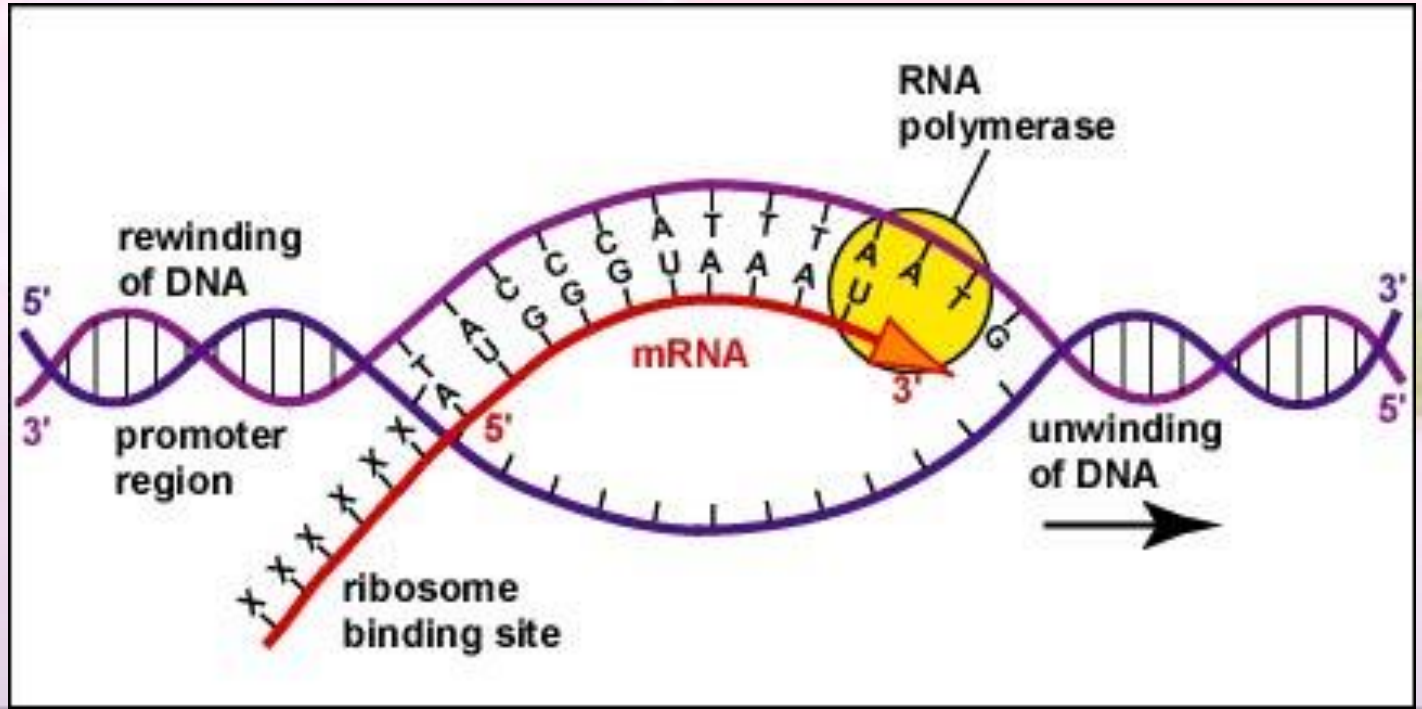

chromosome
nucleus
telomere
centromere
telomere
cell
base pair
(A T C G)
histone
DNA
(double helix)

องค์ประกอบและโครงสร้างของอาร์เอ็นเอ

อาร์เอ็นเอ เป็นสารประกอบกรดนิวคลีนิกเช่นดียวกับดีเอ็นเอ มีส่วนประกอบทางเคมีคล้ายดีเอ็นเอมาก แตกต่างกันตรงชนิดของน้ำตาลและเบส คืออาร์เอ็นเอมีน้ำตาลไรโบส (Ribose)แทนที่จะเป็นดีออกซีไรโบส และจะมีเบสยูราซิล (Uracil ใช้สัญลักษณ์ U) แทนไทมีน อาร์เอ็นเอแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

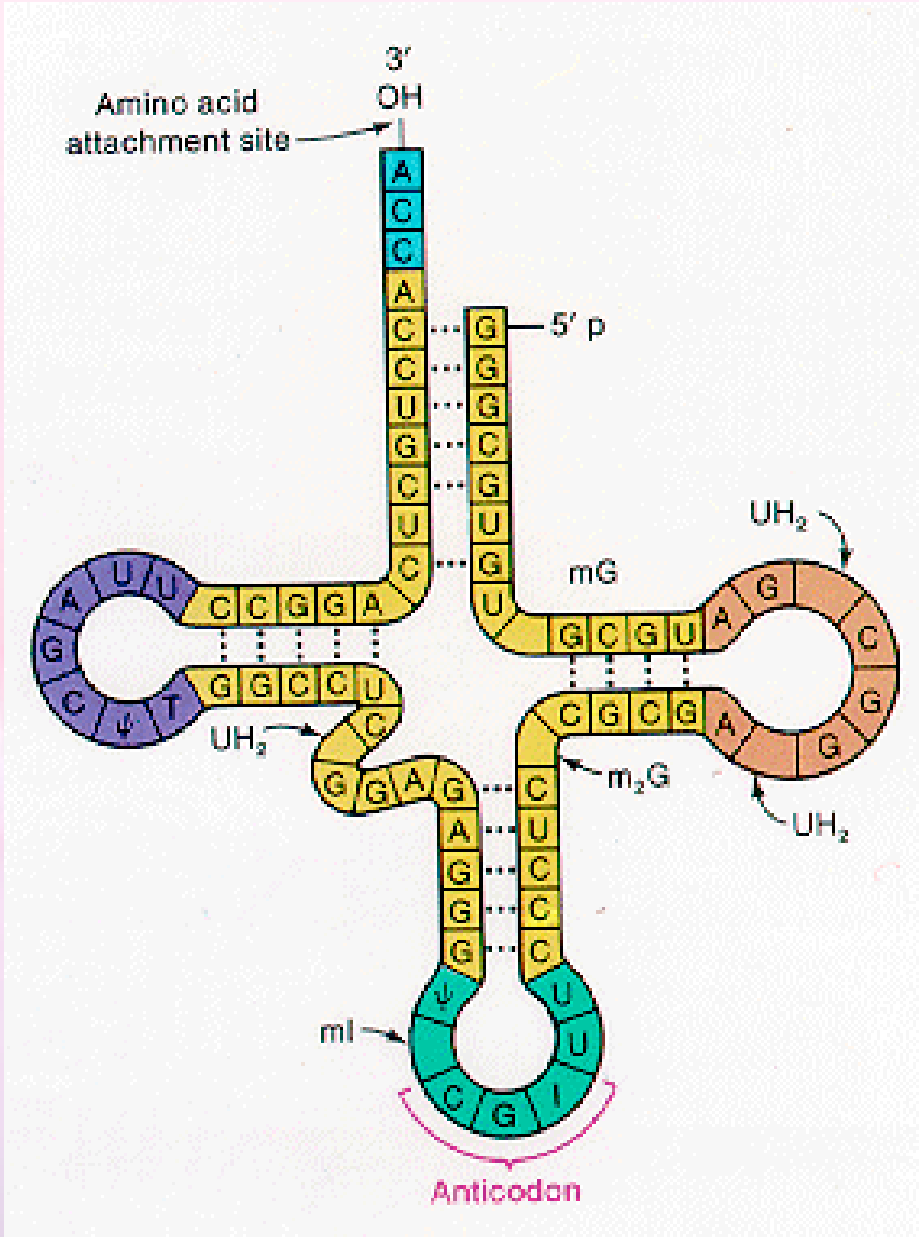
1. เอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA)

เอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) หรือ อาร์เอ็นเอนำรหัส (Messenger RNA) ***อาร์เอ็นเอชนิดนี้มี***ประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ ของอาร์เอ็นเอทั้งหมดที่พบภายในเซลล์ mRNA ทำหน้าที่เป็นสื่อกลางระหว่างดีเอ็นเอในนิวเคลียสและไรโบโซมในไซโทพลาสซึม คือ เป็นตัวนำ***รหัสพันธุกรรม*** (Genetic code) บนดีเอ็นเอในนิวเคลียส ผ่านผนังนิวเคลียสไปยังไรโบโซมซึ่งอยู่ในไซโทพลาสซึมเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน



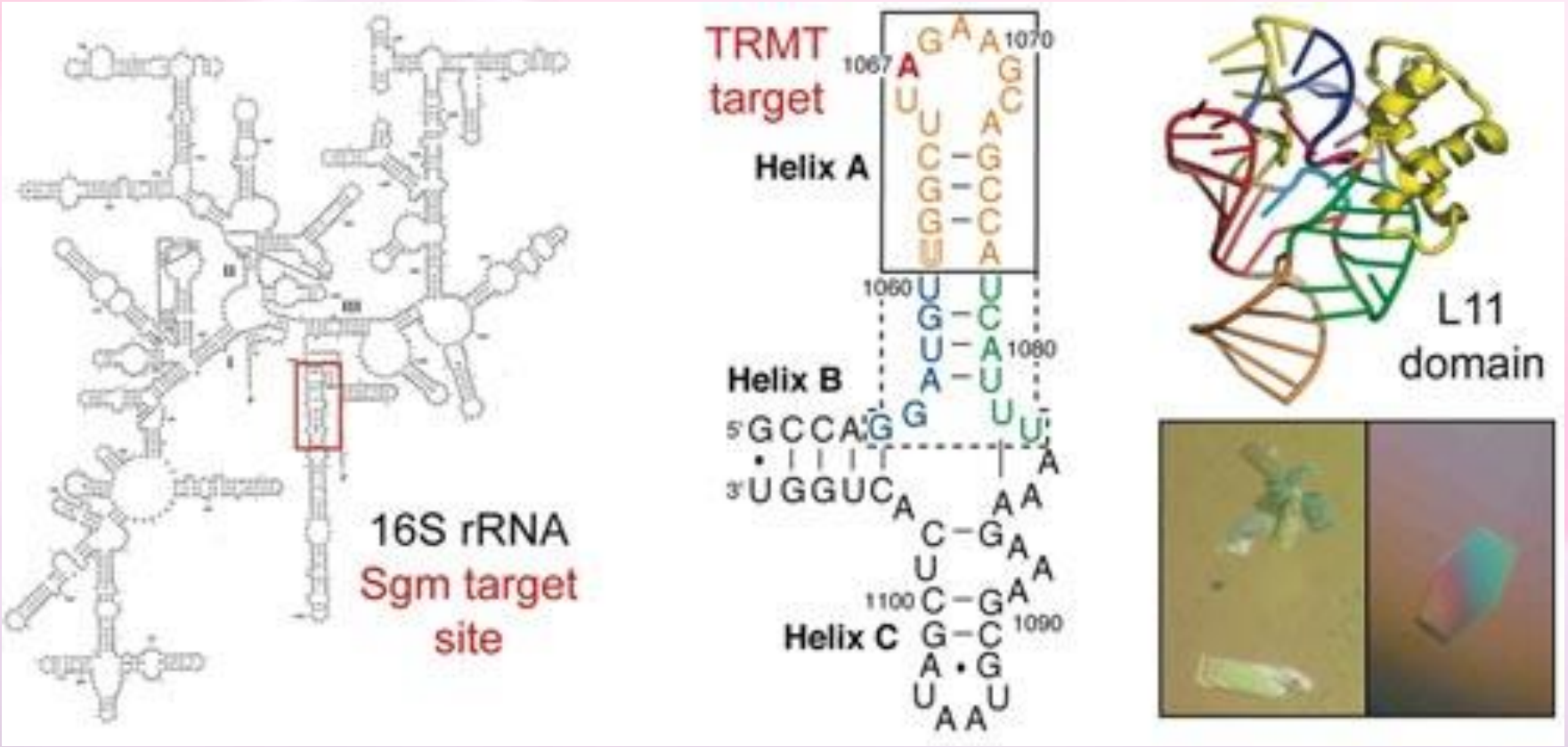
2. ทีอาร์เอ็นเอ (tRNA)

ทีอาร์เอ็นเอ (tRNA) หรือ อาร์เอ็นเอถ่ายโอน (Transfer RNA) อาร์เอ็นเอชนิดนี้มีหน้าที่นำกรดอะมิโนไปยังไรโบโซม เพื่อใช้ในการสร้างสายพอลิเพปไทด์ของโปรตีน กรดอะมิโนแต่ละชนิดจะมี tRNA เฉพาะตัวอย่างน้อยหนึ่งชนิด tRNAแต่ละชนิดมีรูปร่างและลำดับของนิวคลีโอไทด์แตกต่างกัน แต่มักมีขนาดใกล้เคียงกันประมาณ 75 ถึง 85 นิวเคลีโอไทด์ ส่วนปริมาณของ tRNA ภายในเซลล์มีประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ของอาร์เอ็นเอทั้งหมด



3. อาร์อาร์เอ็นเอ (rRNA)

อาร์อาร์เอ็นเอ (rRNA) หรือ อาร์เอ็นเอไรโบโซม (Ribosomal RNA) เป็นอาร์เอ็นเอที่พบประมาณ 85 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ของอาร์เอ็นเอทั้งหมดภายในเซลล์ อยู่ในส่วนของไรโบโซมซึ่งเป็นแหล่งที่มีการสังเคราะห์โปรตีนในไซโทพลาสซึม



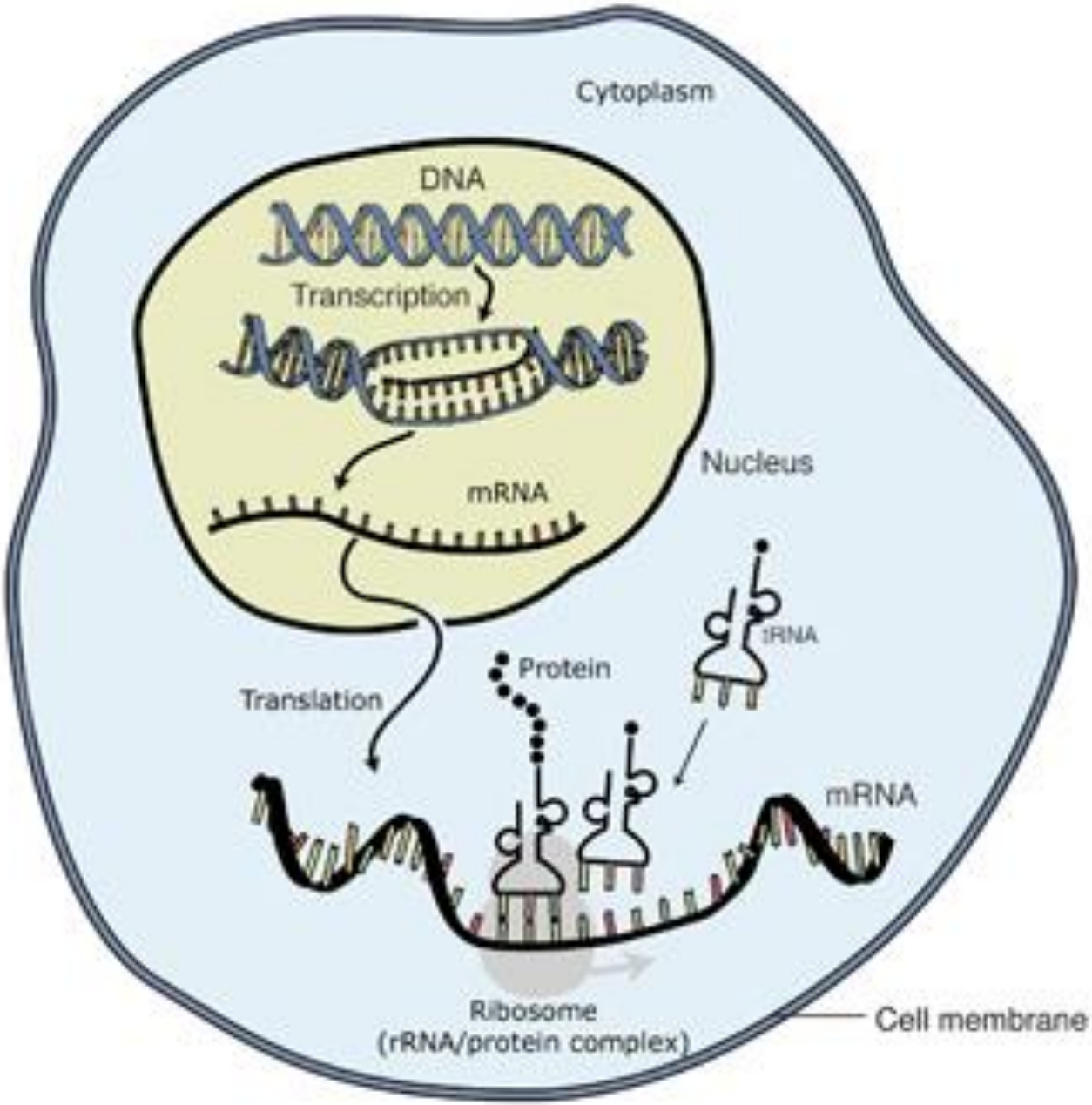


Image adapted from: National Human Genome Research Institute.

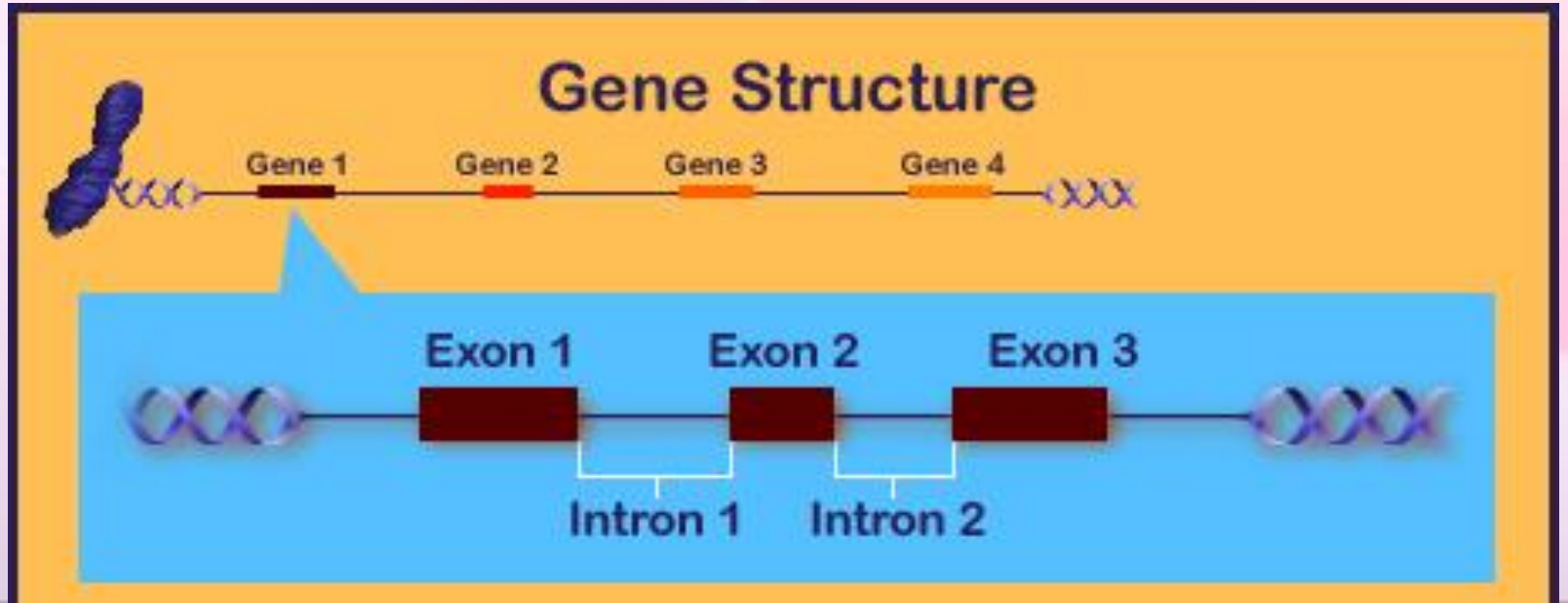
จีโนม (Genome)

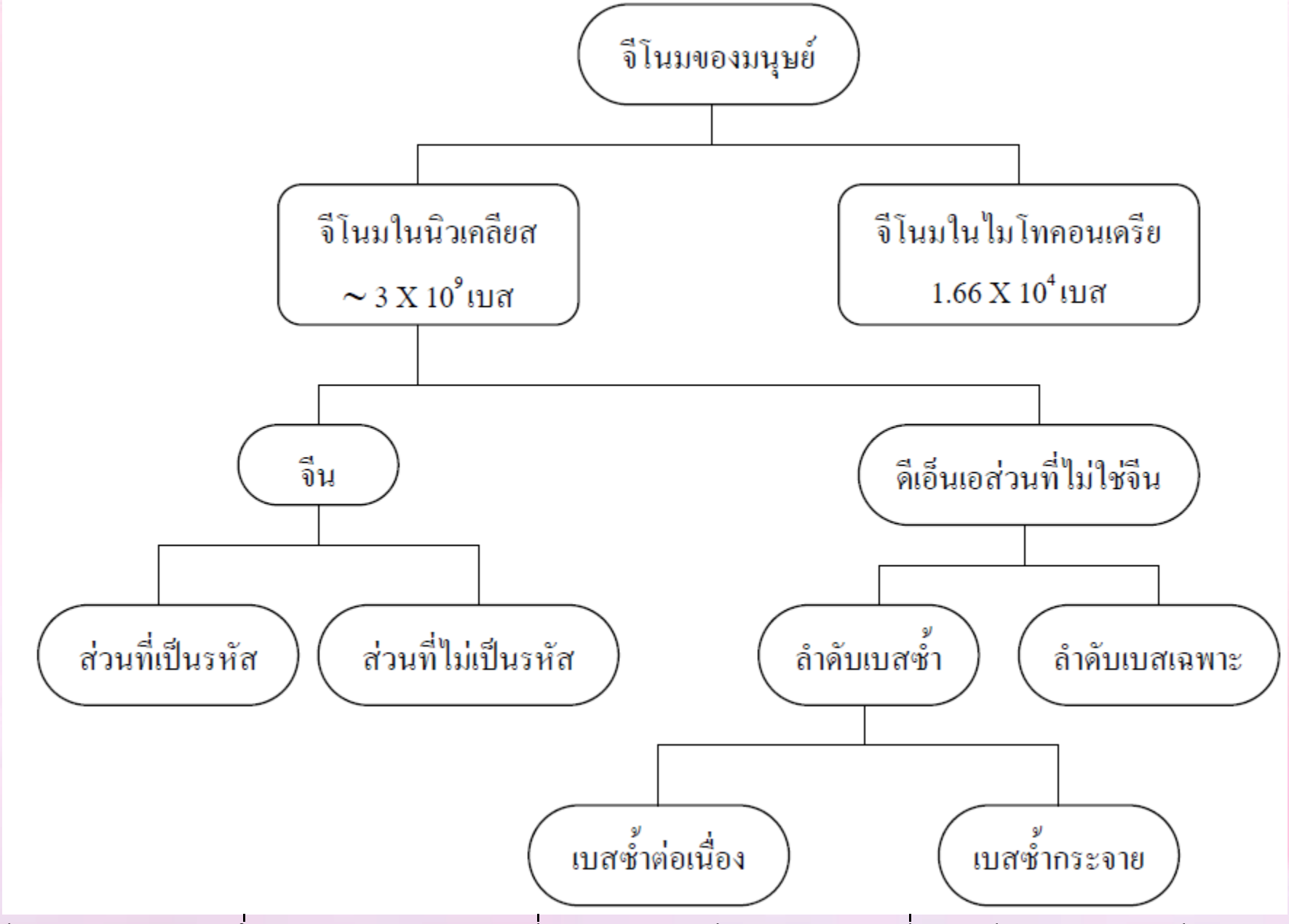
จีโนม (Genome) หมายถึงสารพันธุกรรม หรือดีเอ็นเอทั้งหมดในเซลล์ที่เป็นแฮพลอยด์ 1 เซลล์ ขนาดของจีโนมนิยมบอกเป็นกิโลเบส (kb) ซึ่งหมายถึงจำนวนเบสบนเกลียวคู่ของสายดีเอ็นเอ คูณด้วย 10^3

จีโนมมนุษย์

การศึกษาจีโนมในสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ รวมทั้งมนุษย์ ทำได้โดยการทำ**แผนที่จีโนม (Genome** mapping) หรือ**แผนที่จีน (Gene mapping) โดยใช้ทคโนโลยีพันธุกรรม** (พบว่าจีโนมมนุษย์ประกอบด้วยส่วนที่อยู่ในนิวเคลียสและไมโทคอนเดรีย จีโนมในนิวเคลียสเป็นดีเอ็นเอสายเกลียวคู่ มีขนาด $3X10^9$ เบส กระจายอยู่ในโครโมโซมทั้ง 23 แท่ง

จีโนมดีเอ็นเอในนิวเคลียส 80 เปอร์เซ็นต์เป็นส่วนที่ไม่ใช่จีน (Extragenic) 20 เปอร์เซ็นต์เป็นจีนซึ่งแยกเป็นจีนที่มีลำดับเบสที่ไม่เป็นชุดรหัส (Non-coding sequences) ของจีน เรียกว่า **อินทรอน (Intron)** ส่วนที่เป็นชุดรหัส (Coding sequences) ของจีนเรียกว่า **เอกซอน (Exon) มีเพียง 50,000-130,000 จีน** คิดเป็น 5-10 เปอร์เซ็นต์ของจีโนมทั้งหมด โดยเฉลี่ยยีนของมนุษย์มีขนาดประมาณ 5-10 กิโลเบส ซึ่งสามารถสร้างโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนประมาณ 300 โมเลกุล นอกจากนี้พบว่าส่วนที่ไม่ใช่จีนจะมีลำดับเบสซ้ำ (Repetitive sequences) ซึ่งยังไม่ทราบหน้าที่ชัดเจน





จีโนมของมนุษย์ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่อยู่ในนิวเคลียสและส่วนที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย (วิชัย บุญแสง และคณะ. 2541 : 15)

การจำลองตัวเองของ DNA (DNA REPLICATION)

การสังเคราะห์ DNA

วอตสันและคริกค้นพบโครงสร้างทางเคมีของ **DNA** ขั้นตอนต่อไปก็คือ การพิสูจน์และตรวจสอบว่าโครงสร้างของ **DNA** นี้ มีสมบัติเพียงพอที่จะเป็นสารพันธุกรรมได้หรือไม่ ซึ่งการที่จะเป็นสารพันธุกรรมได้นั้นย่อมต้องมีสมบัติสำคัญ คือ

ประการแรก ต้องสามารถเพิ่มจำนวนตัวเองได้โดยมีลักษณะเหมือนเดิม เพื่อให้สามารถถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมจากรุ่นพ่อแม่ไปยังรุ่นลูกได้

ประการที่สอง สามารถควบคุมให้เซลล์สังเคราะห์สารต่างๆเพื่อแสดงลักษณะทางพันธุกรรมให้ปรากฏ

ประการที่สาม ต้องสามารถเปลี่ยนแปลงได้บ้าง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอาจก่อให้เกิดลักษณะพันธุกรรมที่ผิดแปลกไปจาก เดิม

การจำลองตัวเองของ DNA

การจำลองตัวเองของ DNA ตามสมมติฐานของนักวิทยาศาสตร์มีดังนี้

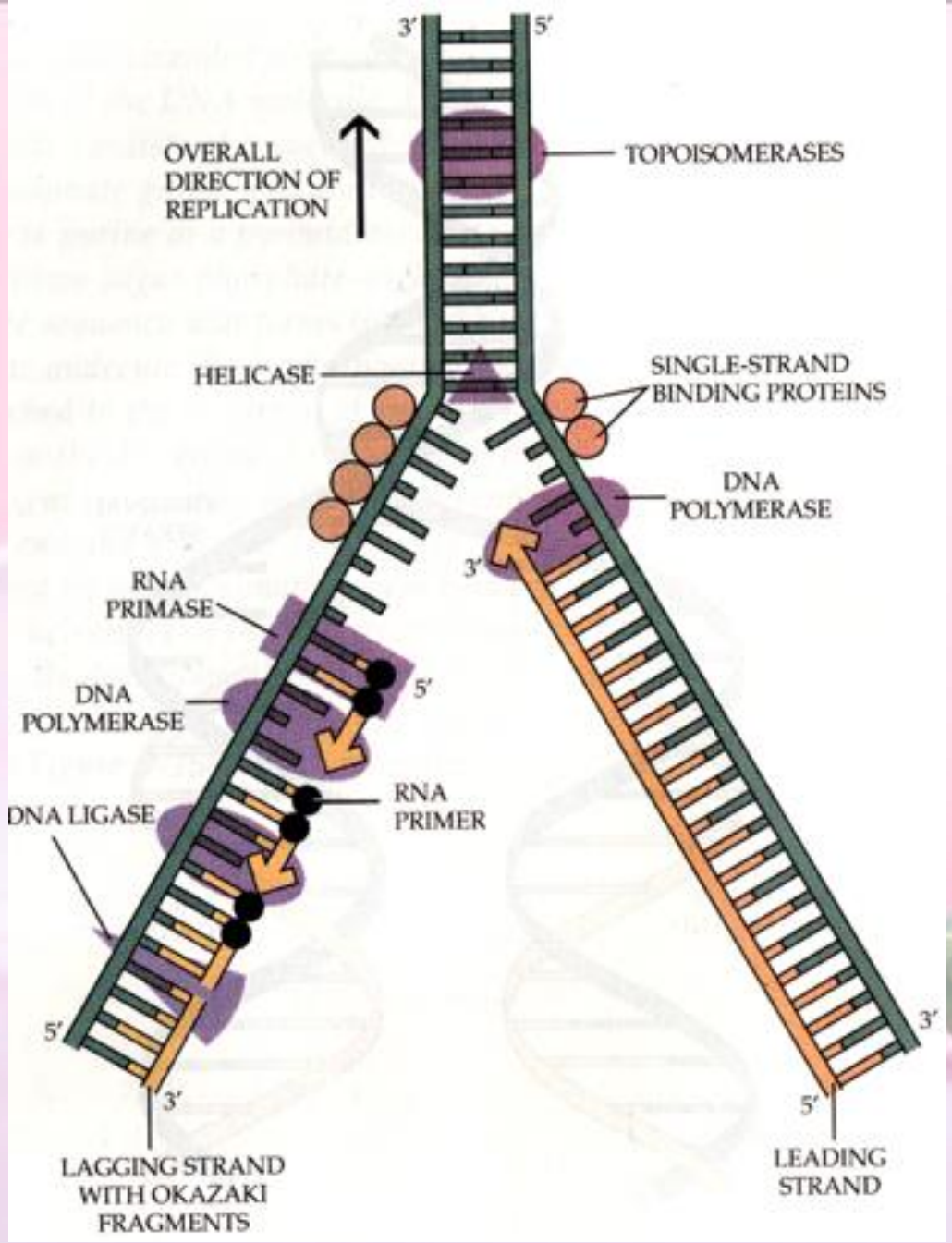
1. แบบกึ่งอนุรักษ์ (semiconservative replication) เมื่อมีการจำลองตัวเองของ DNA แล้ว DNA แต่ละโมเลกุลมีพอลินิวคลีโอไทด์ สายเดิมและสายใหม่ ซึ่งเป็นแบบจำลองของวอตสันและคลิก

2 แบบอนุรักษ์ (conservative replication) เมื่อมีการจำลองตัวเองของ DNA แล้ว พอลินิวคลีโอไทด์ทั้งสองสายไม่แยกจากกันยังเป็นสายเดิม จะได้ DNA โมเลกุลใหม่ที่มีสายของโมเลกุลพอลินิวคลีโอไทด์สายใหม่ทั้งสองสาย

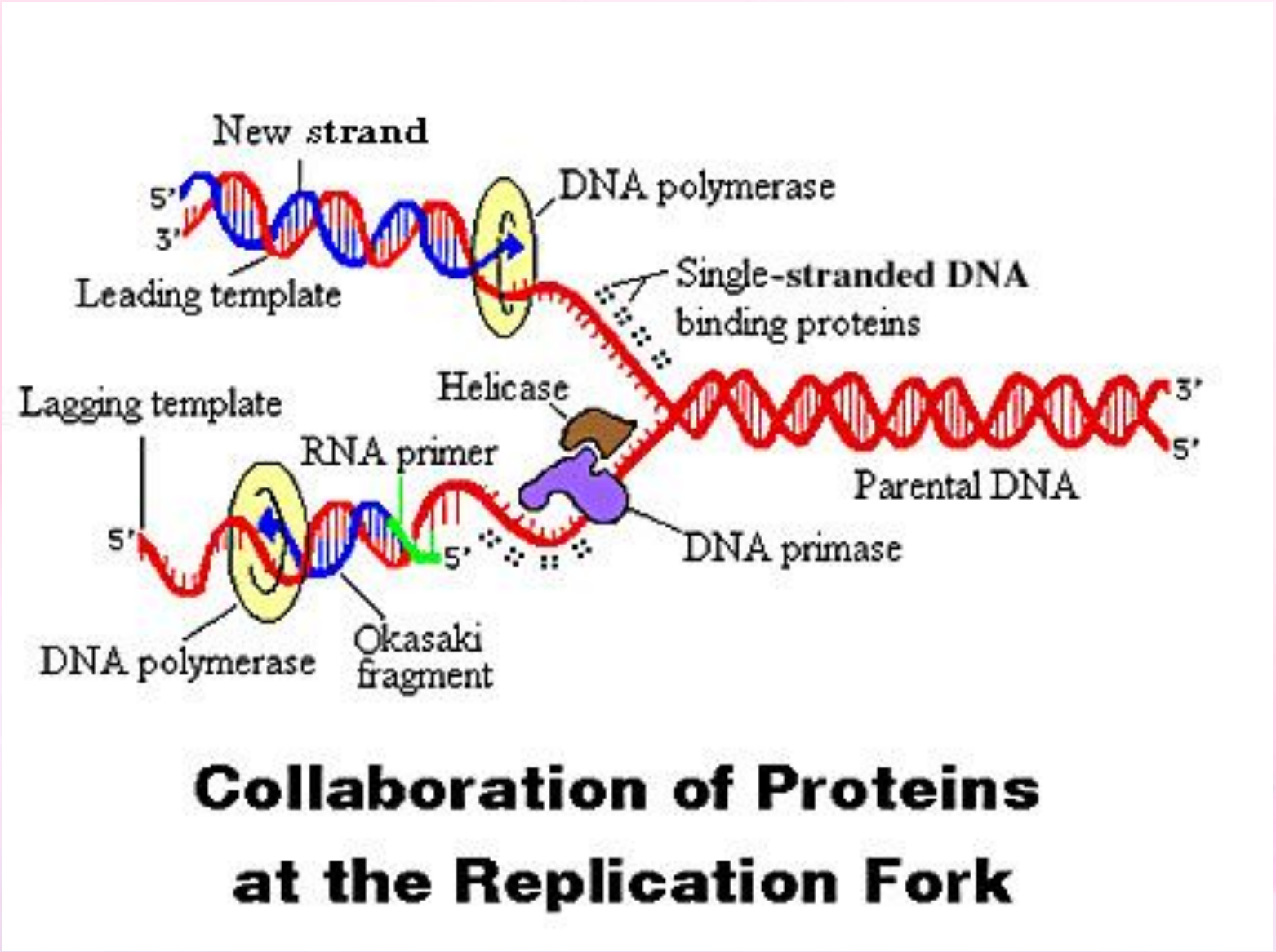
3. แบบกระจัดกระจาย (dispersive replication) เมื่อมีการจำลองตัวเองของ DNA จะได้ DNA ที่เป็นของเดิมและของใหม่ปะปนกันไม่เป็นระเบียบ

การจำลองตัวเองของ DNA

ในการแบ่งเซลล์ระยะ S ของอินเตอร์เฟส จะมีการจำลองตัวเองของ DNA(DNA REPLICATION) แบบกึ่งอนุรักษ์(SEMI-CONSERVATIVE) ทำให้เกิดเป็น DNA สายใหม่ที่เหมือนเดิมทุกประการ สำหรับการสร้าง RNA ทั้ง 3 ชนิดจะเกิดขึ้นโดยการจำลองจากDNA เช่นกัน แต่จะใช้ DNA เพียงสายเดียว เป็นต้นแบบ



การจำลองตัวเองของ DNA (DNA REPLICATION)



Collaboration of Proteins at the Replication Fork

DNA replication

1. เริ่มด้วยเอนไซม์ helicase เข้าไปตัด H-bond ของเบสที่สาย DNA ที่จับคู่กันให้แยกจากกัน โดยอาศัย ATP ซึ่งการตัดนี้ทำให้เกิด replication fork

2. จะมี single strand binding protein มาช่วยจับDNA สายเดี่ยวนี้บริเวณ fork เพื่อให้รักษาสภาพสายไว้อย่างนั้น

3. Primase จะสร้าง RNA primer ขึ้นมา ต่อกับDNA สายต้นแบบ เพื่อเป็นตัวเริ่มต้นให้กับสายใหม่ที่กำลังจะเกิดขึ้น (สังเกตว่าเป็น RNA)

4. DNA polymerase III จะเข้ามาเพิ่มความยาวDNA สายใหม่โดยนำ nucleotide มาต่อกับ RNA primer ไปในทิศ **5’–>3’ ในสายใหม่**

จะเห็นว่าสาย DNAต้นแบบ สายหนึ่งจะไม่มีปัญหาเพราะสามารถต่อสายไปทาง5’–>3’ได้ตามปกติ (สายต้นแบบเป็น 3’–>5’) เรียกสายใหม่ที่ได้ว่า leading strand

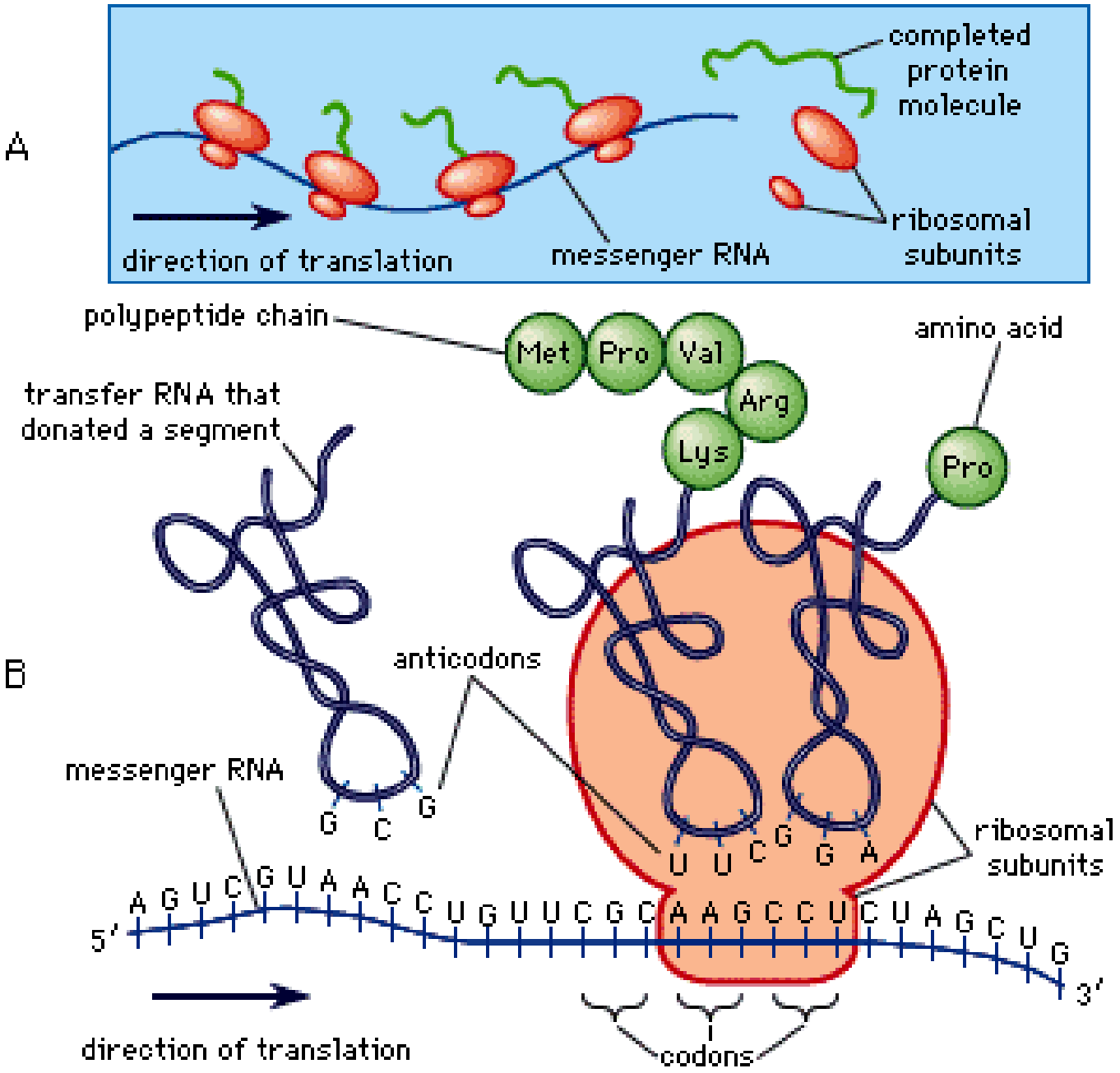
ส่วนอีกสายหนึ่ง lagging strand จะมีปัญหา (สายต้นแบบเป็น 5’–>3’) ดังนั้น จึงมีการใช้primer เป็นช่วงๆ เพื่อให้เป็นตัวเริ่มต้นของสายสั้นๆ ในทิศ 3’–>5’ ก็คือจะได้สายใหม่ที่เป็นท่อนๆ (okazaki fragment)

5. RNA primer จะถูกเอาออกไปเพราะมันเป็น RNA ไม่ใช่ DNA (ไม่ใช่พวกเดียวกัน) โดย DNA polemerase I มาจัดการพร้อมทั้งเติม nucleotide เข้าไปที่แทน

6. สำหรับ lagging srtand การถมของ polymerase I ก็ยังทำให้เหลือช่องว่าง (nick) อยู่ DNA ligase จะเข้ามาเชื่อมช่องว่างนั้น โดยใช้ ATP ทำให้ท่อนๆ มาเชื่อมกันเป็นสายยาวได้

รหัสทางพันธุกรรม (Genetic code)

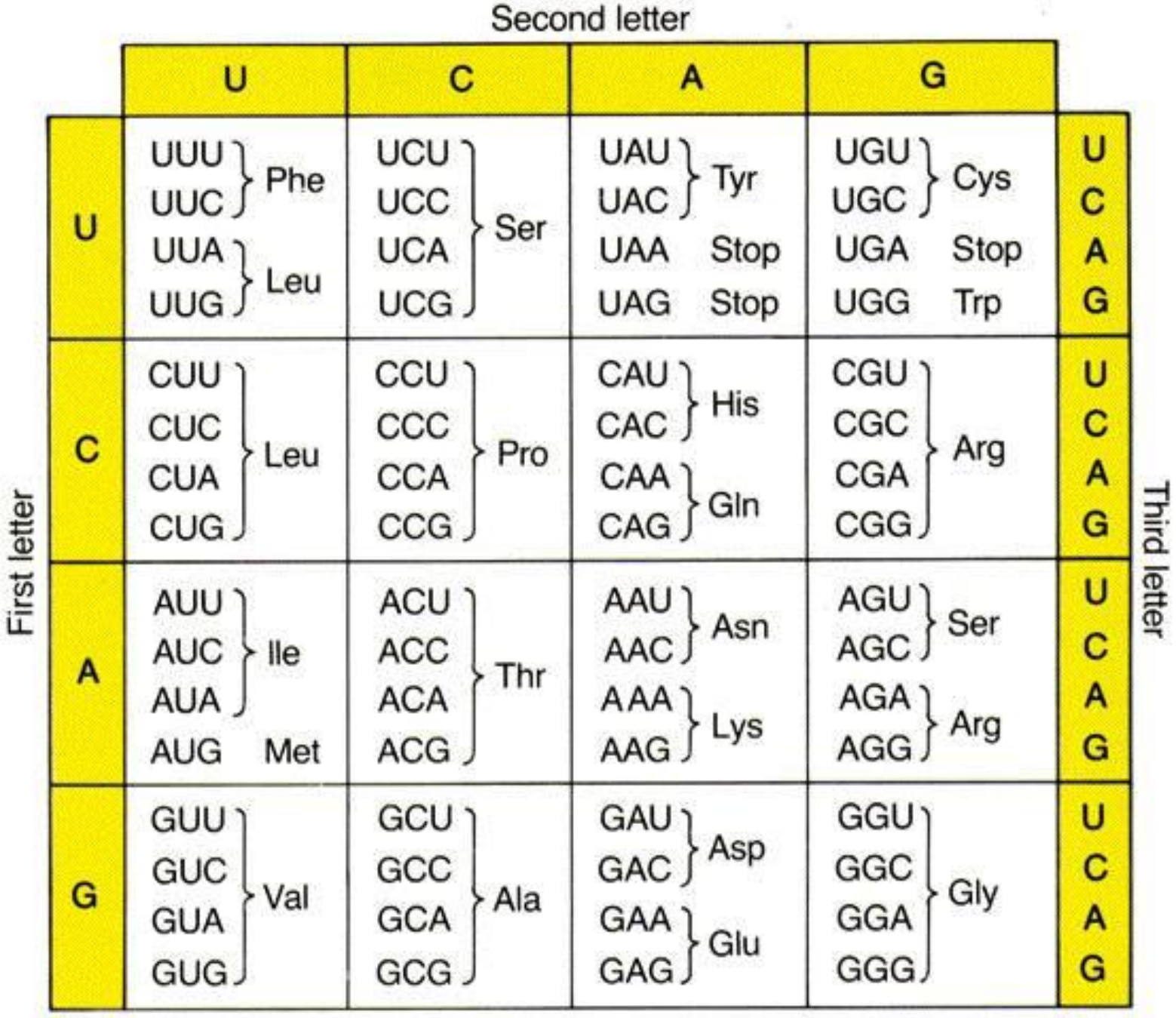
กรดอะมิโนมีทั้งสิ้น 20 ชนิดการที่กรดอะมิโนตัวใดจะมาจับสาย mRNA ขึ้นอยู่กับลำดับของนิวคลีโอไทด์ซึ่งแตกต่างกันที่เบส 4 ชนิดคือ A G C และ U โดยเบส 4 ชนิด จะเรียงลำดับ 3 ตัวเป็น 1 รหัส สำหรับกรดอะมิโน 1 โมเลกุล นักพันธุศาสตร์ ได้ศึกษาและถอดรหัสเหล่านี้ได้ รหัสพันธุกรรมที่สำคัญ คือ AUG เป็นรหัสเริ่มการสังเคราะห์และการนำกรดอะมิโนชื่อเมไทโอนีนเข้ามาต่อกับ mRNA ส่วน UAA , UAG และ UGA เป็นรหัสสั่งให้หยุดการสังเคราะห์



© 2006 Encyclopædia Britannica, Inc.

The Genetic Code

	U	C	A	G	
U	UUU Phenyl alanine UUC UUG Leucine UUA	UCU UCC UCA Serine UCG	UAU Tyrosine UAC UAA Stop UAG	UGU Cysteine UGC UGA Stop UGG Tryptophan	U C A G
C	CUU CUC CUA Leucine CUG	CCU CCC CCA Proline CCG	CAU Histidine CAC CAA Glutamine CAG	CGU CGC CGA Arginine CGG	U C A G
A	AUU AUC Isoleucine AUA AUG Methionine	ACU ACC ACA Threonine ACG	AAU Asparagine AAC AAA Lysine AAG	AGU Serine AGC AGA Arginine AGG	U C A G
G	GUU GUC Valine GUA GUG	GCU GCC Alanine GCA GCG	GAU Aspartic acid GAC GAA Glutamic acid GAG	GGU GGC Glycine GGA GGG	U C A G


Second letter
U
C
A
G
First letter
Third letter
U
UUU Phe
UUC
UUA Leu
UUG
UCU Ser
UCC
UCA
UCG
UAU Tyr
UAC
UAA Stop
UAG Stop
UGU Cys
UGC
UGA Stop
UGG Trp
C
CUU Leu
CUC
CUA
CUG
CCU Pro
CCC
CCA
CCG
CAU His
CAC
CAA Gln
CAG
CGU Arg
CGC
CGA
CGG
A
AUU Ile
AUC
AUA
AUG Met
ACU Thr
ACC
ACA
ACG
AAU Asn
AAC
AAA Lys
AAG
AGU Ser
AGC
AGA Arg
AGG
G
GUU Val
GUC
GUA
GUG
GCU Ala
GCC
GCA
GCG
GAU Asp
GAC
GAA Glu
GAG
GGU Gly
GGC
GGA
GGG