บทที่ 10
การควบคุมการแสดงออกของยีน

เค้าโครงเรื่อง

10.1 รหัสพันธุกรรม

10.1.1 โคดอนและความเฉพาะกับกรดอะมิโน

10.1.2 ความเป็นสากลของรหัสพันธุกรรม

10.2 การควบคุมการทำงานของยีน

10.2.1 การควบคุมการทำงานของยีนในพวกโพรแคริโอท

10.2.2 การควบคุมการทำงานของยีนในพวกยูแคริโอท

10.3 การเปลี่ยนแปลงภายในยีน : การกลาย

10.3.1 ชนิดของการกลาย

10.3.2 การกลายบางสภาวะ

10.4 ผลกระทบต่อการควบคุมการทำงานของยีน

10.4.1 การประยุกต์การควบคุมการทำงานของยีน : รีคอมบิแนนท์ DNA

10.4.2 ผลกระทบทางด้านแพทย์พันธุศาสตร์

จากบทที่ 9 เป็นขั้นตอนต่าง ๆ ของกระบวนการสร้างโปรตีน ในบทนี้จะกล่าวถึงรายละเอียดของรหัสพันธุกรรมที่ควบคุมกำหนดลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนในโปรตีนแต่ละชนิด กลไกการควบคุมการทำงานของยีน การเปลี่ยนแปลงภายในยีนที่มีผลทำให้เกิดการกลาย ซึ่งส่วนใหญ่มักจะก่อให้เกิดโรคขึ้น อย่างไรก็ตามความรู้ที่ได้รับจากการศึกษาเรื่องยีน ย่อมมีประโยชน์เสมอในด้านของการป้องกันมิให้เกิดความผิดปกติขึ้น หรืออาจนำไปประยุกต์เพื่อให้เกิดประโยชน์ทางด้านเศรษฐกิจได้

10.1 รหัสพันธุกรรม

ความรู้ทางด้านชีวโมเลกุลเริ่มในช่วงศตวรรษ 1960 โดยได้รับพื้นฐานมาจากวัตสัน-

คริกโมเลกุลของ DNA โคดอนแรก คือ UUU (หรือ poly U) ได้มาจากการทดลองค้นคว้าของ Marshall Nirenberg (1961) พบว่าเป็นรหัสเฉพาะสำหรับกรดอะมิโน phenylalanine ต่อมามีผู้ถอดรหัสอื่น คือ AAA, GGG และ CCC ตามมา จนกระทั่งกลางศตวรรษ 1960 รหัสทั้ง 64 รหัสได้รับการถอดจนหมด (ตาราง 10-1) และทราบว่า AUG เป็นรหัสที่ทำหน้าที่นำได้ทั้ง methionine และทำหน้าที่เริ่มต้นการแปรรหัสจากกรดนิวคลีอิกมาเป็นโปรตีน (ดู 9.4.4) มีเพียง 3 รหัสคือ UAA UAG และ UGA ไม่เฉพาะกับกรดอะมิโนชนิดใด จึงทำหน้าที่หยุดการสร้างพอลิเพปไทด์

10.1.1 **โคดอนและความเฉพาะกับกรดอะมิโน** จากตาราง 10-1 จะเห็นว่า กรดอะมิโนมีความเฉพาะต่อโคดอนมากกว่าหนึ่งโคดอนเรียกว่ามี **เกินความจำเป็น (redundancy)** เช่นโคดอน CCU CCC CCA และ CCG มีความเฉพาะกับกรดอะมิโน proline ความแตกต่างของโคดอนทั้ง 4 มีเพียงเกี่ยวข้องกับตำแหน่งที่ 3 ของนิวคลิโอไทด์สุดท้ายของทริเพลท มีเพียงโคดอน 2 ตัวแรกเท่านั้นที่มีความเฉพาะกับ proline กรดอะมิโน methionine และ tryptophane เท่านั้นที่มีความเฉพาะกับโคดอนเดียว นอกนั้นจะสามารถเฉพาะได้กับโคดอนตั้งแต่ 2-6 โคดอน (เช่น arginine) เซลล์โดยทั่วไปมี tRNA ต่างชนิดกันอยู่ประมาณ 40 โมเลกุล แต่มีโคดอนสำหรับเฉพาะกับกรดอะมิโนถึง 61 โคดอน ดังนั้น tRNA บางโมเลกุลจึงจับคู่กับโคดอนได้มากกว่าหนึ่งโคดอน *Francis Crick* จึงได้เสนอ **wobble hypothesis** ซึ่งมีหลักการว่า นิวคลีโอไทด์โมเลกุลที่ 3 ซึ่งประกอบเป็น แอนติโคดอนของ tRNA อาจสามารถมีพันธะไฮโดรเจนกับเบสได้มากกว่าหนึ่งชนิด นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้ทำการทดลองศึกษาลำดับนิวคลิโอไทด์ที่เป็นแอนติโคดอนของ tRNA พบว่า เบสของนิวคลีโอไทด์โมเลกุลที่ 3 บางครั้งเป็น **เบสไม่ปกติ (unusual base)** เช่น **inosine** ซึ่งสามารถมีพันธะไฮโดรเจนกับเบส A C หรือ U ได้ เมื่อเบสเหล่านี้อยู่ในตำแหน่งที่ 3 เช่นเดียวกัน ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลที่ว่า tRNA บางโมเลกุลสามารถจำโคดอนต่างกัน 3 โคดอน ที่เฉพาะกรดอะมิโนชนิดเดียวกันได้

ตาราง 10-1 รหัสพันธุกรรม : แสดงลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ที่ทำหน้าที่เป็นทริเพลทโค้ด หรือโคดอนบนเส้น mRNA มีความเฉพาะต่อชนิดของกรดอะมิโน ให้สังเกต 3 รหัส stop ไม่มีความเฉพาะกับกรดอะมิโน และรหัส AUG Methionine นอกจากจะเฉพาะกับกรดอะมิโนชนิดนี้แล้ว ยังทำหน้าที่เป็นตัวเริ่มต้นการแปลรหัสสำหรับการสร้างโปรตีนด้วย

Table 13–1 THE GENETIC CODE: THE SEQUENCE OF NUCLEOTIDES IN THE TRIPLET CODONS OF mRNA THAT SPECIFY A GIVEN AMINO ACID

First Position (5' end)	*Second Position*	*Third Position (3' end,* U	C	A	G
U	U	UUU Phenylalanine	UUC	UUA Leucine	UUG
	C	UCU	UCC Serine	"CA	UCG
	A	UAU Tyrosine	UAC	UAA	UAG
	G	UGU Cysteine	UGC	UGA	UGG Tryptophane
C	U	CUU	CUC Leucine	CUA	CUG
	C	CCU	c c c Proline	cc.4	CCG
	A	CAU Histidine	CAC	CAA Glutamine	CAG
	G	CGU	CGC Arginine	CGA	CGG
A	U	AUU	AUC Isoleucine	AUA	AUG Methionin
	C	AC"	AC' Threonine	ACA	ACG
	A	AAU	AAC Asparagine	AAA	AAG
	G	AGU Serine	AGC	AGA Arginine	AGG
G	U	GUU	GUC Valine	GUA	GUG
	C	GCU	GCC Alanine	GCA	GCG
	A	GAU Asparagine	GAC	GAA Glutamine	GAG
	G	GGU	GGC Glycine	GGA	GGG

จาก Villee, Claude A., et al. 1989

10.1.2 **ความเป็นสากลของรหัสพันธุกรรม** สิ่งมีชีวิตนับจากแบคทีเรียขึ้นมาจนถึงมนุษย์ใช้รหัสโคดอนอย่างเดียวกัน เช่น CCG เป็นโคดอนสำหรับกรดอะมิโน proline ดังนั้นเมื่อมีรหัสนี้อยู่บน mRNA ของสิ่งมีชีวิตชนิดใด การแปรรหัสจะออกมาเป็น proline นับเป็นหลักฐาน

สำคัญที่สนับสนุนทฤษฎีวิวัฒนาการว่ารหัสพันธุกรรมได้ถือกำเนิดมาควบคู่กับกำเนิดของสิ่งมีชีวิต และมีการสืบทอดปรับเปลี่ยนมาตามวิวัฒนาการ

ประโยชน์อีกประการหนึ่งของความเป็นสากลของรหัสพันธุกรรมคือการนำมาประยุกต์ใช้ในพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) โดยสามารถนำยีนที่เป็นประโยชน์จากสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งไปใส่ในสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งซึ่งไม่มียีนชนิดนั้นได้

อย่างไรก็ตามกฎทุกอย่างย่อมมีข้อยกเว้น นักวิทยาศาสตร์พบว่า โปรโตซัวพวกซิลิเอท (*Paramecium* และ *Tetrahymena*) มียีนที่ผันแปรไปจากทริเพลทโค้ดมาตรฐาน กล่าวคือ UAA และ UAG ไม่เป็นรหัสหยุด แต่กลายเป็นรหัสเฉพาะกับกรดอะมิโน glutamine รหัสที่ผิดจากมาตรฐานพบได้อีกในไมโทคอนเดรียซึ่งมี DNA ของตัวเองและแบ่งออร์แกเนลล์ได้เอง (ดู 4.2.3) การมีรหัสพันธุกรรมต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสิ่งมีชีวิต เช่น CUA เป็นรหัสเฉพาะกับกรดอะมิโน threonine ในไมโทคอนเดรียของยีสต์ แต่จะเป็นรหัสเฉพาะกับกรดอะมิโน leucine ในไมโทคอนเดรียของมนุษย์

10.2 การควบคุมการทำงานของยีน

โดยทั่วไป ทุกเซลล์ในร่างกายมนุษย์มีกำเนิดจากไซโกต (ไข่ที่ปฏิสนธิกับอสุจิ) แล้วมีการเจริญมาจนถึงขั้นโตเต็มวัย ข้อมูลทางพันธุกรรมก็ถูกถ่ายแบบไว้เหมือนเดิมทุกประการในระยะอินเทอร์เฟสของการแบ่งเซลล์ จึงเป็นตรรกที่ว่า ยีนในทุกเซลล์ต้องเป็นเอกลักษณ์กัน แต่ที่เห็นได้ชัดคือ เซลล์ของเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ มีความแตกต่างกันทั้งขนาดรูปร่าง และหน้าที่ตลอดจนอายุการใช้งานทำไมจึงเป็นเช่นนั้น

เหตุผลที่ใช้อธิบายคือ ข้อมูลทางพันธุกรรมถูกนำมาแสดงออก (ปลุกฤทธิ์) ต่างกันตามลักษณะหน้าที่ของเซลล์ ยีนอาจไม่มีฤทธิ์ในบางเซลล์ แต่มีฤทธิ์ในเซลล์ชนิดอื่น หรือบางยีนมีฤทธิ์ได้ในทุกเซลล์แต่ผลผลิตโปรตีนบางเซลล์มากบางเซลล์น้อย ที่เป็นเช่นนี้ก็เนื่องด้วยมีการควบคุมการทำงานของยีน ซึ่งจำเป็นต่อการมีชีวิตรอด การควบคุมอาจง่ายในสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำพวกแบคทีเรีย แต่มีความซับซ้อนมากขึ้นในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง

10.2.1 **การควบคุมการทำงานของยีนในพวกโพรแคริโอท** นักวิทยาศาสตร์นิยมเลือกแบคทีเรีย *Escherichia coli* มาเป็นตัวแทนสำหรับการศึกษาสิ่งมีชีวิตพวกโพรแคริโอท

พบว่ามียีนอยู่ประมาณ 2000-4000 ยีน ยีนเหล่านี้ถูกนำมาใช้งานตลอดชีวิต บางยีนถูกนำมาใช้เฉพาะช่วงที่ต้องการการเจริญเป็นพิเศษ เช่น เมื่อแบคทีเรียอาศัยอยู่ตามปกติในลำไส้วัววัยเจริญพันธุ์ซึ่งไม่ได้กินนม แบคทีเรียจึงไม่มีโอกาสสัมผัสกับน้ำตาลแลกโทสในนม เมื่อแบคทีเรียปนออกมากับอุจจาระและติดขาแมลงวันซึ่งไปหล่นในน้ำนม แบคทีเรียมีโอกาสได้ใช้น้ำตาลแลกโทสเป็นแหล่งพลังงานและจะไม่ยอมเสียโอกาสอดตายในแหล่งอาหารที่สมบูรณ์เช่นนั้น แบคทีเรียแก้ปัญหาด้วยการผลิตเอนไซม์แลกเทสและเอนไซม์อื่น (ซึ่งเดิมมียีนควบคุมการผลิตได้อยู่แล้วแต่ยังไม่ผลิต เพราะยังไม่ได้ใช้) เพื่อตักตวงอาหารให้เป็นประโยชน์ได้อย่างรวดเร็ว

เซลล์มีวิธีควบคุมกระบวนการปลุกฤทธิ์ 2 วิธีคือ (1) ควบคุมการปลุกฤทธิ์ด้วยเอนไซม์ (2) ควบคุมจำนวนโมเลกุลของเอนไซม์ภายในเซลล์ เอนไซม์บางชนิดถูกควบคุมด้วยกลไกทั้ง 2 อย่าง *E.coli* ที่เพาะเลี้ยงในกลูโคสต้องใช้เอนไซม์ประมาณ 800 ชนิด บางชนิดอาจมีจำนวนมาก บางชนิดมีจำนวนน้อย เพื่อให้กลไกการทำงานมีประสิทธิผลสูงสุด ซึ่งจำเป็นต้องมีปัจจัยมาควบคุมอีกระดับหนึ่ง นั่นคือ การถอดรหัสควบคุมการสังเคราะห์โปรตีน หรือ **แนวคิด โอเพรอน (Operon concept)**

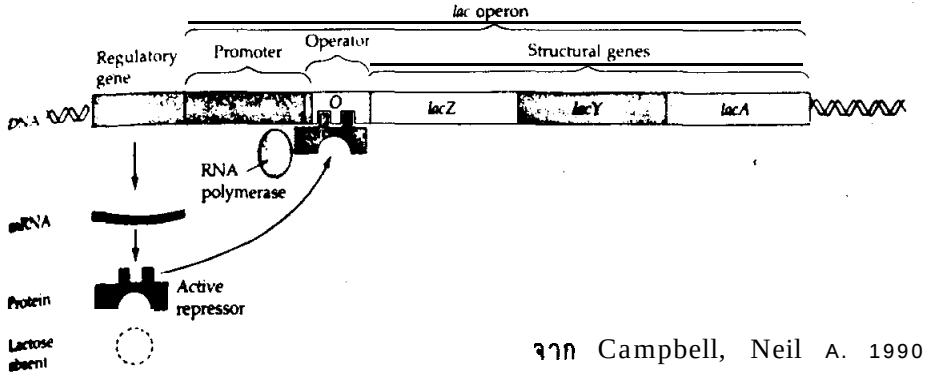
ในปี 1961 นักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศส คือ Francois Jacob และผู้ร่วมงานได้อธิบายกลไกการควบคุมกลุ่มของยีนที่เรียกว่า **lac operon** ซึ่งจำเป็นสำหรับ *E.coli* จะสามารถใช้น้ำตาลแลกโทสเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตพลังงาน น้ำตาลแลกโทสจะมีเอนไซม์ **beta-galactosidase** เปลี่ยนให้เป็นกลูโคสและแกแลกโทส แกแลกโทสจะมีเอนไซม์อื่นมาเปลี่ยนให้เป็นกลูโคสแล้วเข้าสู่กระบวนการไกลโคไลซิส ในสภาวะที่ *E.coli* ถูกเลี้ยงด้วยกลูโคส จะมีเอนไซม์ beta-galactosidase เพียงไม่กี่โมเลกุล เมื่อถูกย้ายไปเลี้ยงในแลกโทส เอนไซม์ชนิดนี้จะเพิ่มมากขึ้นถึง 3000 โมเลกุลหรือประมาณร้อยละ 3 ของโปรตีนทั้งหมด เอนไซม์อีก 2 ชนิดคือ galactoside transacetylase และ galactose permease ก็เพิ่มตามขึ้นมาด้วย galactose permease ทำหน้าที่ช่วยให้แลกโทสมีสภาพซึมผ่านได้เข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียใช้ประโยชน์จากน้ำตาลแลกโทสได้ ส่วนเอนไซม์ transacetylase ยังไม่ทราบหน้าที่

กลไกการทำงานของ operon มียีนควบคุมการทำงานของเอนไซม์ 3 ชนิด เรียก **structural gene** อยู่ติดกับ **operator** และ **repressor** ซึ่งมีบางส่วนคาบเกี่ยวกัน และ

มี **repressor gene** อยู่บนเส้น DNA ยีนเหล่านี้ถูกถอดรหัสมาอยู่บน mRNA เพื่อการสร้างโปรตีน (เอนไซม์) (รูป 10-1) ในกรณีที่ไม่มีน้ำตาลแลกโทส (รูป 10-1 ก) **repressor protein** ที่สร้างขึ้นจาก repressor gene (regulator gene) จะเข้าไปพันธะกับบริเวณ **operator** ทำให้เอนไซม์ **RNA polymerase** (ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวเริ่มต้นสำหรับการถอดรหัส) เข้าไปพันธะบริเวณคาบเกี่ยวระหว่าง **promotor** และ operator ไม่ได้ จึงไม่มีการถอดรหัสของ mRNA ส่วนที่มี structural gene สำหรับการสร้างเอนไซม์ (รูป 10-1 ก) ในกรณีที่มีน้ำตาลแลกโทส แบคทีเรียมีเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งมาเปลี่ยนบางโมเลกุลของแลกโทสให้เป็นอนุพันธ์ของแลกโทส ซึ่งจะไปมีพันธะกับ repressor protein ทำให้โมเลกุลไม่อยู่ในสภาวะมีฤทธิ์ จึงเข้าไปพันธะกับบริเวณ operator ไม่ได้ ดังนั้นเอนไซม์ RNA polymerase จึงเข้าสู่บริเวณคาบเกี่ยวระหว่าง promotor และ operator ก่อให้เกิดการสร้าง mRNA ถอดรหัส structural gene ออกมาจาก DNA ได้ จึงทำให้มีการสร้างเอนไซม์ออกมา 3 ชนิดคือ beta-galactosidase, galactose permease และ galactoside transacetylase (รูป 10-1ข) แบคทีเรียสามารถนำเอนไซม์ 2 ชนิดแรกไปใช้ประโยชน์สลายน้ำตาลแลกโทสเพื่อใช้เป็นพลังงานได้ การสังเคราะห์เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดมาจากยีนที่อยู่บนโมเลกุลของ mRNA เส้นเดียวกัน การสร้างหรือไม่สร้างจึงถูกควบคุมไปพร้อมกันด้วย repressor (regulator) gene ลักษณะควบคุมการทำงานของยีนแบบนี้เรียกได้อีกชื่อหนึ่งว่า **inducible system** เอนไซม์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาเรียกว่า **inducible enzyme**

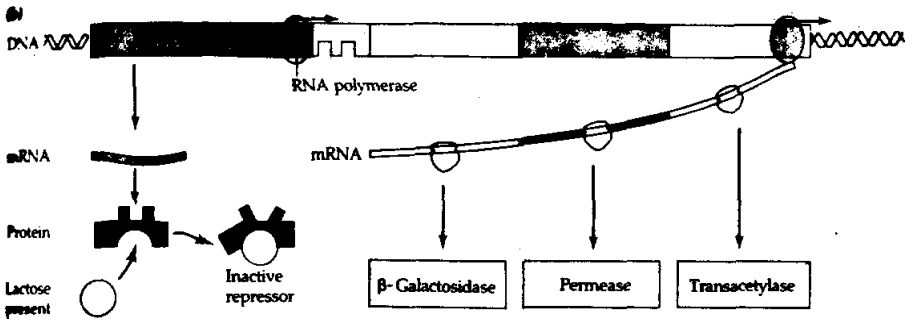
รูป 10-1 แผนภาพ lac operon แสดงกลไกการทำงานของ regulator gene ซึ่งควบคุมการผลิตเอนไซม์โดย structure gene

ก. เมื่อไม่มีน้ำตาลแลกโทส



จาก Campbell, Neil A. 1990

a. เมื่อมีน้ำตาลแลกโทส ให้สังเกตที inactive repressor เกิดจากอนุพันธ์ของแลกโทสจับกับ repressor protein



จาก Campbell, Neil A. 1990

กลไกการควบคุมมีทั้งทางบวกและทางลบ และมีความซับซ้อนมากขึ้นเมื่อมีอิทธิพลของสารอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องซึ่งจะไม่กล่าวถึงในที่นี้

10.2.2 **การควบคุมการทำงานของยีนในพวกยูแคริโอท** เซลล์ของพวกยูแคริโอทมียีนจำนวนมากและการทำงานซับซ้อน เนื่องจากยูแคริโอทมีเซลล์หลายประเภทที่แบ่งหน้าที่กันทำงาน กลไกการทำงานจึงไม่ง่ายอย่างของพวกโพรแคริโอท ความรู้เกี่ยวกับกลไกการควบคุมเพิ่งเริ่มเมื่อต้นทศวรรษ 1970 และยังเป็นเรื่องที่ต้องศึกษาต่อไป ข้อมูลที่ได้จากนักวิทยาศาสตร์หลายท่านทำให้ทราบว่า ยูแคริโอทมีกลไกเกี่ยวข้องกับ regulator และ structural gene ซึ่งมีความซับซ้อนมากขึ้นโดยที่ยีนแต่ละยีนจะมี regulator เฉพาะของตัวเอง ขั้นตอนของการควบคุมแบ่งออกได้ 2 ช่วงคือ (1) ช่วงที่มีการถอดรหัส และ (2) ช่วงที่มีการแปลรหัส (รูป 10-2) ซึ่งจะไม่กล่าวถึงโดยรายละเอียดในขั้นนี้

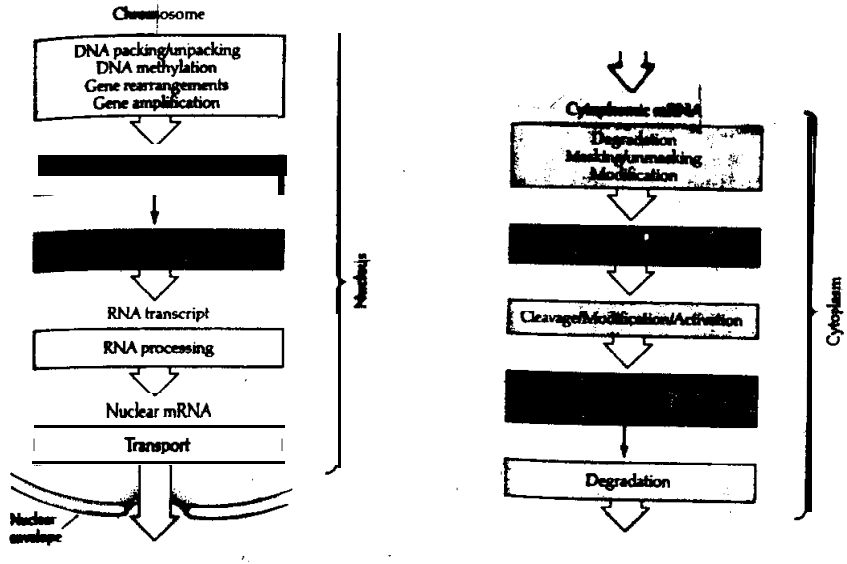
10.3 การเปลี่ยนแปลงภายในยีน : การกลาย

การเปลี่ยนแปลงภายในยีนเป็นสาเหตุหนึ่งของการกลาย เมื่อยีนเปลี่ยนไป การถ่ายแบบจากยีนที่เปลี่ยนมานั้นจะคงเป็นไปตามปกติหลายชั่วรุ่น จนกว่าจะมีสิ่งมากระตุ้นหรือสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปจึงมีการกลายเกิดขึ้น การกลายถือเป็นสาเหตุสำคัญของความหลากหลายของลักษณะถ่ายทอดทางพันธุกรรม นำไปสู่วิวัฒนาการที่เกิดขึ้นภายในแต่ละชนิดของสิ่งมีชีวิต โดยอาจจะเริ่มจากการผันแปรจากลักษณะปรากฏทั่วไปก่อนจนกระทั่งถึงการกลายของลักษณะ

ปรากฏที่เห็นได้ชัดในที่สุด

รูป 10-2 แผนภาพแสดงขั้นตอนต่าง ๆ ในการทำงานของยูแคริโอทิกเซลล์ ทั้งในส่วนของนิวเคลียสและไซโทพลาซึม เริ่มตั้งแต่เซลล์เจริญเต็มที่พร้อมที่จะแบ่งเซลล์ จนถึงภาวะถดถอย (degradation) คือตาย ช่วงที่ต้องมีกลไกควบคุมคือโครงสร้างของโครโมโซมซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการถอดรหัส (transcription) และต้องมีการควบคุมการแปลรหัส (translation) ให้ถูกต้องด้วย

จาก Campbell, Neil A. 1996



10.3.1 **ชนิดของการกลาย** การกลายในระดับยีนเกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ แบ่งออกได้ 2 ประเภทหลัก คือ (1) **base-substitution mutation** หรือ **point mutation** (รูป 10-3 ก) ถือเป็นแบบที่ง่ายที่สุด โดยมีการเปลี่ยนนิวคลีโอไทด์เพียงคู่เดียว สามารถตรวจสอบได้โดยใช้เทคนิค การตัดต่อ DNA (recombinant DNA) กลไกของการกลายแบบนี้เนื่องจากข้อผิดพลาดในการจับคู่สมของเบสในช่วงที่มีการถ่ายแบบ ทำให้แม่พิมพ์ DNA ผิดไปจากเดิม เมื่อมีการถอดรหัสมาสู่ mRNA ผลคือการแปรรหัสผิดจากเดิม ถ้าเป็นรหัสที่เฉพาะกับกรดอะมิโนต่างชนิด จะทำให้ลำดับของกรดอะมิโนในเส้นพอลิเพปไทด์เปลี่ยนไป ณ ตำแหน่งที่เกิดการกลาย เรียกแบบนี้ว่า **missense mutation** แต่ถ้ารหัสที่ผิดไปจากเดิมนั้นไม่เฉพาะกับกรดอะมิโนชนิดใด (รหัสหยุด) ผลคือพอลิเพปไทด์จะถูกหยุดการสังเคราะห์ ณ ตำแหน่งมีการกลาย เรียกแบบนี้ว่า **nonsense mutation** (2) **base-deletion or insertion mutation**

(frameshift mutation) เป็นการกลายที่เกิดจากนิวคลีโอไทด์หนึ่งคู่หรือมากกว่าหลุดหาย หรือเพิ่มเข้ามา (รูป 10-3 ข) เมื่อเป็นเช่นนี้ลำดับของทริเพลทโค้ดจะเปลี่ยนไป ทำให้ลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนตั้งแต่ตำแหน่งที่มีการกลายผิดไปจากเดิมไปจนสิ้นสุดเส้นพอลิเพปไทด์ หรือถ้าเกิดเป็นรหัสหยุดก็จะทำให้ไม่มีการสร้างพอลิเพปไทด์ เช่น

ก. เกิดการหลุดออกไป 1 นิวคลีโอไทด์ ทำให้กรอบทริเพลทเลื่อนไป (frameshift) เช่น เดิมมี AUGACUAGAAAU ถ้า AC ลำดับที่ 4,5 หลุดออกไป กรอบทริเพลทถูกเลื่อนเป็น AUG UAG AAAU... ผลคือ สังเคราะห์ได้เพียง methionine แล้วหยุด (UAG เป็นรหัสหยุด) เรียกว่า frameshift causing immediate nonsense mutation

ข. เกิดการหลุดออกไป 1 นิวคลีโอไทด์ ทำให้กรอบทริเพลทเลื่อนไปแต่ไม่ถึงกับหยุด เช่น เดิมมี AUGACUAGAAAA... ถ้า A ลำดับที่ 7 หลุดไป กรอบทริเพลทถูกเลื่อนเป็น AUGACUGAAA... ผลคือสังเคราะห์ได้ methionine-threonine-glutamine... ลำดับกรดอะมิโนจะเริ่มเปลี่ยนตั้งแต่ glutamine เรียกว่า frameshift causing extensive missense mutation

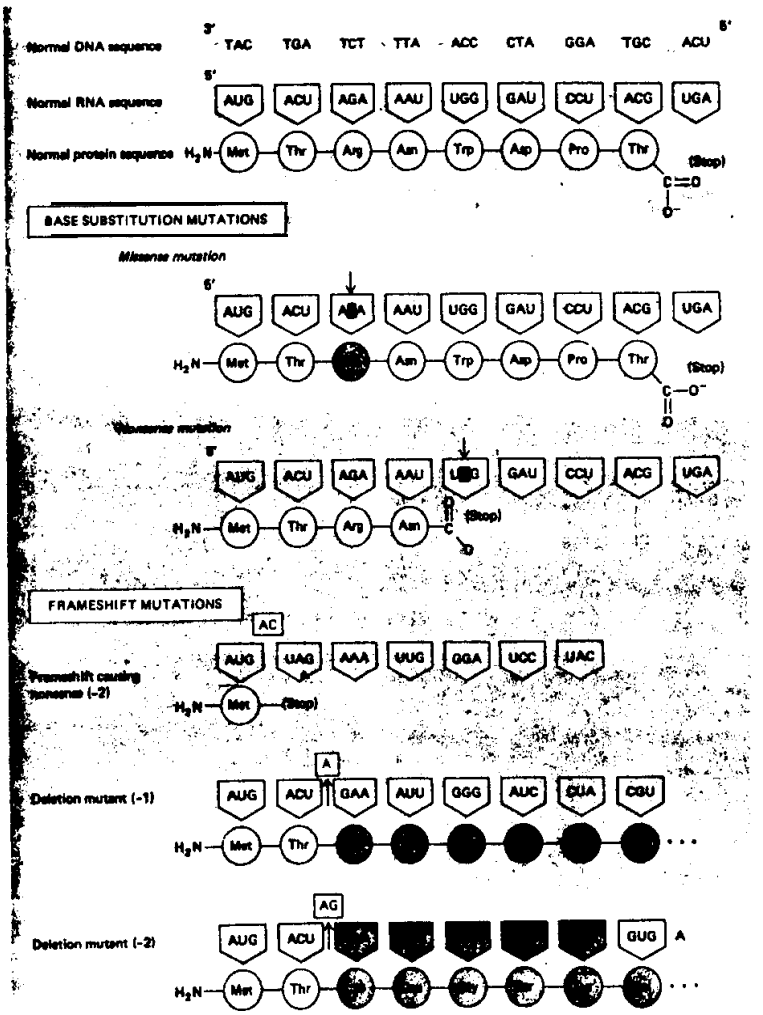
ค. เกิดการหลุดออกไป 2 นิวคลีโอไทด์เช่นเดียวกับข้อ ก. แต่ตรงลำดับที่ 7 และ 8 และไม่มีรหัสใดตรงกับรหัสหยุด ก็เกิด missense mutation เช่นเดียวกัน

ง. ถ้าเกิดการหลุดหรือเพิ่มเข้ามาทั้งชุดของทริเพลทโค้ด ผลคือกรดอะมิโนเปลี่ยนชนิดเฉพาะจุดที่หายไปหรือเข้ามา ลดลงหรือเพิ่มขึ้น เข้าลักษณะ missense mutation แต่จำนวนกรดอะมิโนจะลดลงหรือเพิ่มขึ้นตามจำนวนชุดทริเพลทโค้ด

10.3.2 **การกลายตามสภาวะ (conditional mutation)** คือการกลายที่เกิดขึ้นเฉพาะสิ่งมีชีวิตบางชนิดภายใต้สภาพแวดล้อมแบบหนึ่ง โดยที่ไม่มีผลกระทบให้เกิดการกลายขึ้นในสิ่งมีชีวิตอื่น การกลายลักษณะนี้เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตชนิดดังกล่าวเท่านั้น เช่นการกลายที่เกิดจากการเปลี่ยนอุณหภูมิ มักเกิดขึ้นในกรณีที่อุณหภูมิสูงขึ้น ถ้าอุณหภูมิต่ำลงมักไม่ก่อให้เกิดการกลายได้บ่อยนัก สาเหตุเนื่องมาจากกรดอะมิโนที่เปลี่ยนจากกรดอะมิโนเดิมจะไม่ได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิ (ปกติคืออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น) ณ องศาหนึ่งซึ่งเรียกว่า **permissive temperature** แต่จะทำให้โปรตีน (ที่มีกรดอะมิโนเหล่านั้น) ไม่มีฤทธิ์ การกลายแบบนี้อำนวยให้นักพันธุศาสตร์ศึกษาการกลายของยีนหลายชนิดที่มีหน้าที่สำคัญของสิ่งมีชีวิต เช่น การกลายที่มีผลกระทบต่อเอน-

ไซม์ของกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน จนทำให้สิ่งมีชีวิตตาย ถ้านำสิ่งมีชีวิตชนิดนั้นมาเลี้ยงไว้ในอุณหภูมิ permissive ก็สามารถจะมีชีวิตรอดอยู่ได้ แล้วนำสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันนั้นมาเลี้ยงในอุณหภูมิที่ลดลง ก็สามารถนำโปรตีนที่สังเคราะห์ออกมาศึกษาเปรียบเทียบกันได้

รูป 10-3 แผนภาพแสดงชนิดของการกลาย



จาก Villee, Claude A., et al. 1989

กระบวนการกลายเกิดขึ้นเนื่องจากหลายสาเหตุ เช่นความผิดปกติของการถ่ายแบบและซ่อมแซม DNA หรือการรวม DNA เข้ามาใหม่ ทำให้เกิดการแทนที่ การหลุด หรือการเพิ่มนิวคลีโอไทด์ที่เป็นส่วนประกอบของทริเพลทโค้ด เรียกการกลายที่เนื่องมาจากสาเหตุดังกล่าวว่า **spontaneous mutation** คือการกลายที่เกิดขึ้นได้เอง การกลายที่เนื่องมาจากสิ่งก่อให้เกิด

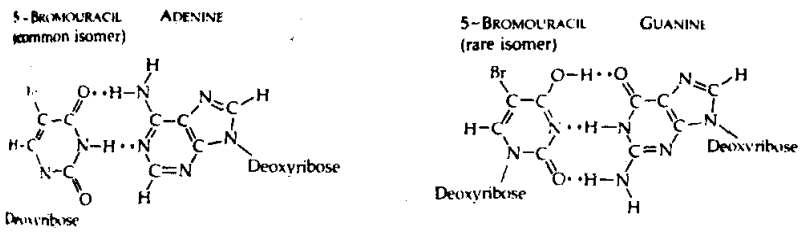
การกลายคือ **mutagen** ได้แก่สารเคมีหรือสิ่งแวดล้อมทางกายภาพ (ตาราง 10-2) เช่น รังสีเอกซ์ รังสีอัลตราไวโอเลท หรือสารเคมีที่เป็นเบสลักษณะคล้ายกับเบสของ DNA จึงมาจับคู่แทนเบสคู่สมที่แท้จริง เรียกสารเหล่านี้ว่า **base analoque** เช่น โบรโมยูเรซิลมาจับคู่กับ adenine ttnd thymine (รูป 10-4)

ตาราง 10-2 สารก่อการกลายที่สำคัญบางชนิด

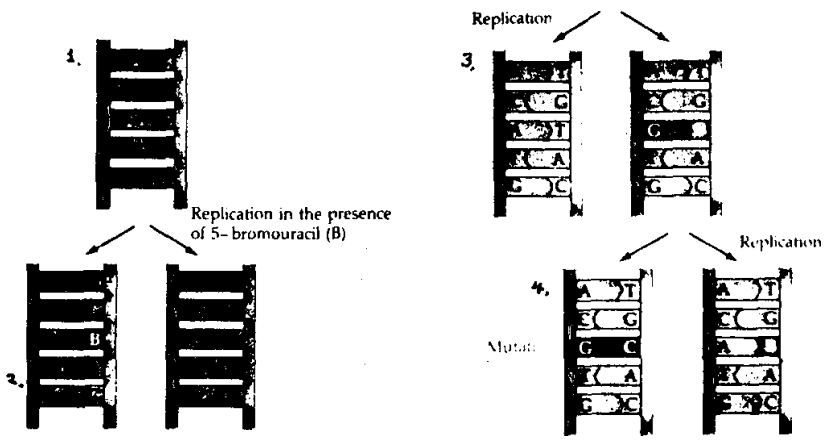
สารก่อการกลาย	ผลกระทบต่อ DNA	ชนิดของการกลาย
สิ่งแวดล้อมกายภาพ		
รังสีเอกซ์	เส้นเกลียวคู่แยกออก	จัดโครโมโซมใหม่และหลุด
รังสีอัลตราไวโอเลท	ไพริมิดีนไดเมอร์	แทนที่เบสที่เป็นคู่สม การเพิ่มหรือลดเบส
สารเคมี		
เบสแอนาลอก	แย่งที่จับคู่สมปกติของเบสทำให้ผิดคู่	แทนที่เบสที่เป็นคู่สม
สาร intercalating	เพิ่มสารก่อการกลายเข้าไปในเส้นเกลียวคู่ ทำให้เกิดการเพิ่มหรือลดนิวคลีโอไทด์ในช่วงที่มีการถ่ายแบบ	การกลายที่กรอบของทริเพลทโค้ดเปลี่ยน
สารปฏิกริยา	เพิ่มหรือลดสารเคมีเข้าไปหรือออกจากเบสปกติทำให้การจับคู่สมของเบสผิดปกติ	แทนที่เบสที่เป็นคู่สม

รูป 10-4 สารก่อการกลายที่เป็นเบสแอนาลอก ก. สูตรโครงสร้าง ข. แผนภาพกระบวนการเกิดการกลาย B คือ bromouracil adenine ซึ่งเข้ามาแย่งที่ thymine เมื่อมีการถ่ายแบบจึงมีเบสผิดคู่ คือ bromouracil guanine แล้วเกิดการกลายเป็น G=C

ก.



ข.



จาก Campbell, Neil A. 1990

10.4 ผลกระทบต่อการควบคุมการทำงานของยีน

การกลายมีผลกระทบต่อการควบคุมการทำงานของยีน ถ้าในระดับไม่รุนแรงจะทำให้เกิดการผันแปรของสิ่งมีชีวิตและนำมาสู่ความหลากหลายและวิวัฒนาการ ถ้าการกลายเกิดขึ้นรุนแรงก็ทำให้การควบคุมการทำงานของยีนเสียสมดุลถึงขั้นเกิดโรคหรือตายได้ในที่สุด ความรู้ที่ได้จากการศึกษาเรื่องของการกลายที่มีผลกระทบต่อการควบคุมการทำงานของยีนสามารถนำมาประยุกต์ให้เกิดประโยชน์ต่อมนุษย์ได้

10.4.1 **การประยุกต์การควบคุมการทำงานของยีน : รีคอมบิแนนท์ DNA** การศึกษารีคอมบิแนนท์ DNA เริ่มจากการศึกษาพันธุศาสตร์ของแบคทีเรียและไวรัส ทำให้ทราบว่าแบคทีเรียมีเอนไซม์พิเศษที่สามารถตัดโมเลกุลของ DNA ได้ที่จุดใดจุดหนึ่ง เรียกเอนไซม์นี้ว่า **restriction enzyme** จึงนำมาประยุกต์ตัด DNA ด้วย restriction enzyme แล้วตัดส่วนของ DNA จากสิ่งมีชีวิตอื่นซึ่งมีปลายของโมเลกุลมีเบสคู่สมกับ DNA ที่ถูกตัดเดิม นำมาสอดเข้าในตำแหน่งที่ถูกตัดให้แยกจากกันไว้ โมเลกุลของ DNA เดิมจะผสานกับส่วนโมเลกุลของ DNA จากตัวใหม่ได้เป็น DNA ที่มียีนของตัวใหม่เสริมเข้ามาด้วย โมเลกุลใหม่นี้เรียกว่า **recombinant DNA** (รูป 10-5) รีคอมบิแนนท์ DNA สามารถนำไปใส่ในตัวอื่น เพื่อเป็นต้นพันธุ์ของสายพันธุ์ใหม่ได้ เทคโนโลยีปัจจุบันสามารถตัดต่อ DNA ได้สำเร็จในแบคทีเรียมากชนิด สัตว์ชั้นต่ำบางชนิด และพืชหลายชนิด จึงเป็นประโยชน์ทางด้านชีวอุตสาหกรรม เช่นการทำรีคอมบิแนนท์ DNA เพื่อให้แบคทีเรียสามารถผลิตอินสุลินเพื่อใช้ผลิตยารักษาอาการเบาหวาน การทำรีคอมบิแนนท์ DNA เพื่อให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ที่มีผลผลิตสูงหรือต้านทานโรคได้ดีขึ้น

10.4.2 **ผลกระทบทางด้านแพทยพันธุศาสตร์** การกลายที่มีผลต่อการควบคุมการทำงานของยีนมีมากกรณีและกำลังศึกษากันอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะทางด้านการทำให้เกิดโรคต่อมนุษย์ ผลกระทบที่ไม่รุนแรงถึงตายเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ที่เปลี่ยนไป ก็เกิดผิดปกติของหน้าที่กลไกการทำงานของร่างกายทำให้เกิดอาการของโรค ผลกระทบที่รุนแรงถึงตายก็เนื่องจากไปหยุดการทำงานของเอนไซม์จนสร้างโปรตีนที่จำเป็นไม่ได้ การกลายที่ทำให้ได้ยีนแบบนี้เรียกว่า **lethal allele**

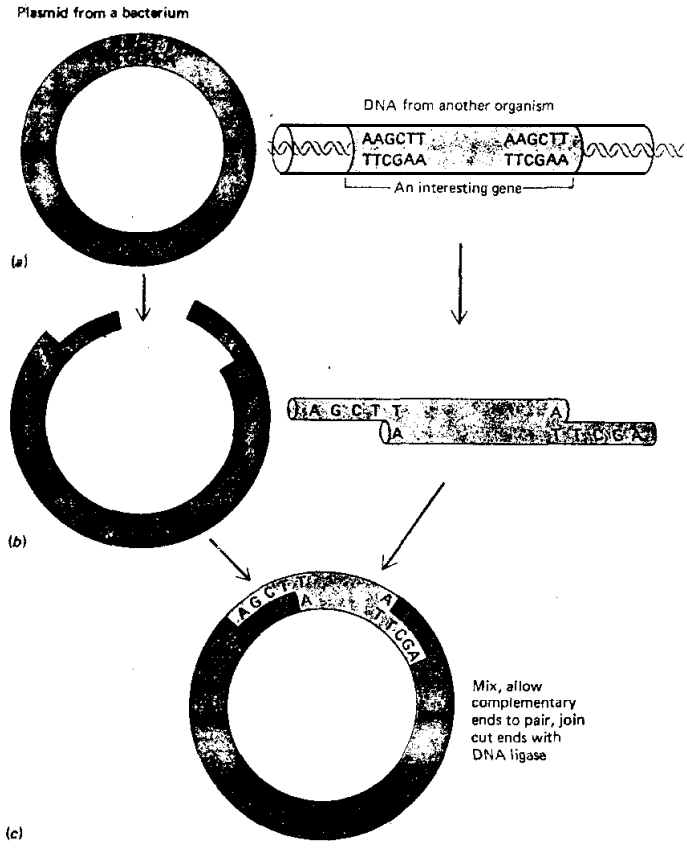
ผลกระทบต่อการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เกิดโรคได้หลายโรค เช่น

(1) **Phenylketonouria (PKU)** เกิดการกลายขึ้นในออโทโซม เป็นยีนด้อยซึ่งมีผลต่อการควบคุมการผลิตเอนไซม์ ในคนปกติจะมีเอนไซม์ phenylalanine monooxygenase คนผิดปกติไม่มีเอนไซม์ชนิดนี้ จึงทำให้หมู่ amino ใน phenylalanine ไม่สามารถถูกเปลี่ยนให้เป็น tyrosine จึงตกค้างอยู่ในเลือดนานกว่าจะถูกเปลี่ยนให้เป็น phenylpyruvic acid แล้วถูกขับออกทางปัสสาวะ ผลที่ตามมาคือ phenylanine ไปยับยั้งการเจริญของสมองจึงมีอาการปัญญาอ่อน ยิ่งไปกว่านั้น เมื่อไม่มี tyrosine เอนไซม์ซึ่งจะเปลี่ยน tyrosine ให้เป็น melanin ก็ไม่มีซับสเตรทสำหรับใช้ จึงเกิดอาการผิวและตาซีด ที่เรียกว่า **albinism**

ตามมาด้วย (รูป 10-6) ในไทยพบอาการ PKU 1 ใน 12,000 คน รักษาไม่ให้เกิดอาการรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตเร็วด้วยการควบคุมอาหารให้มี phenylalanine น้อยที่สุด

รูป 10-5 แผนภาพการทำรีคอมบิแนนท์ DNA ก. การตัดต่อยีน ให้สังเกตปลายทั้งสองข้างของ DNA ที่ถูกตัดมาใส่ต้องมีเบสคู่สมตรงกับฟาสมิด (โครโมโซมของแบคทีเรีย)ที่มีอยู่เดิม ข. ลำดับขั้นตอนจากการเริ่มต้นนำฟาสมิดมาตัดต่อแล้วใส่คืนกลับเข้าไปเพื่อให้สามารถแบ่งเซลล์ได้พันธุ์ใหม่

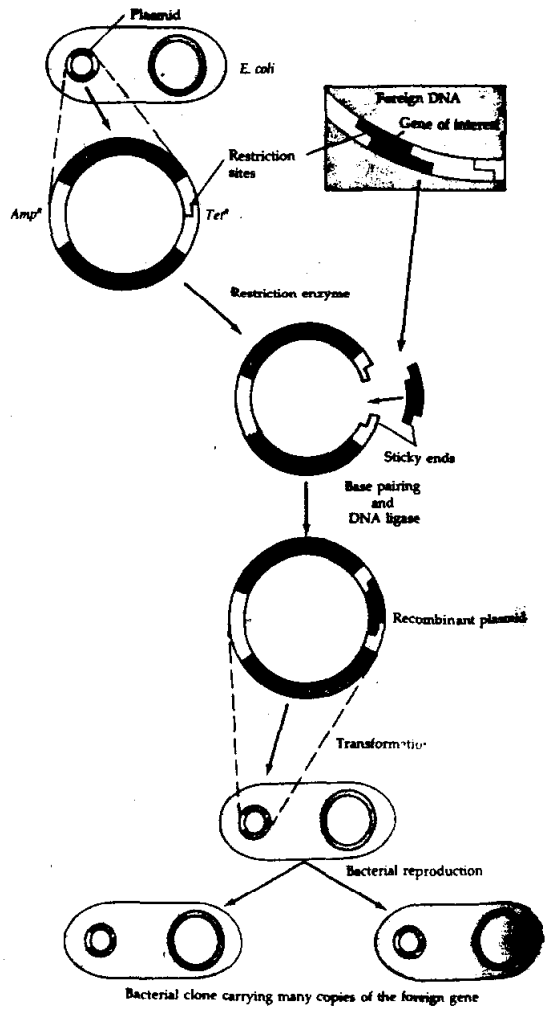
ก.



จาก Villee, Claude A., et al. 1989

ชี.

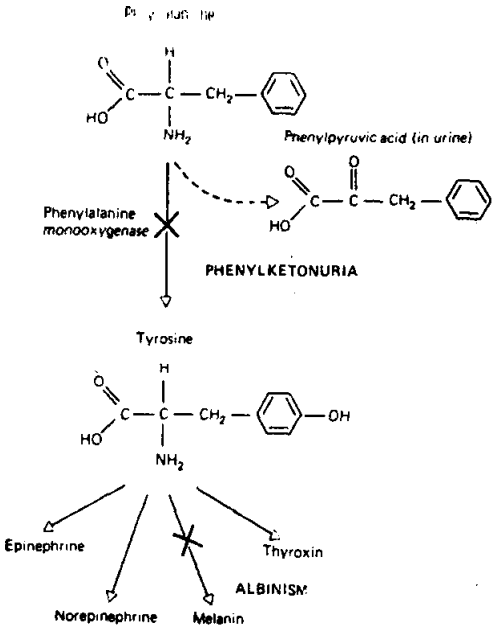
จาก Campbell. Neil A. 1990



(2) **alkaptonouria** เป็นการกลายที่เกิดขึ้นในออโทโซม ปัสสาวะมีลักษณะสีดำ เนื่องจากมีสาร homogentisic acid (alkapton) ปนออกมาด้วย สาเหตุเนื่องจากขาดเอนไซม์ homogentisic acid dehydrogenase จึงทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของ tyrosine ไปเป็น fumerate เพื่อเข้าสู่วัฏจักรเครบส์ไม่ได้ (รูป 10-7) นอกจากปัสสาวะสีดำแล้วยังมีอาการปวดข้อ ข้ออักเสบตามมาด้วย

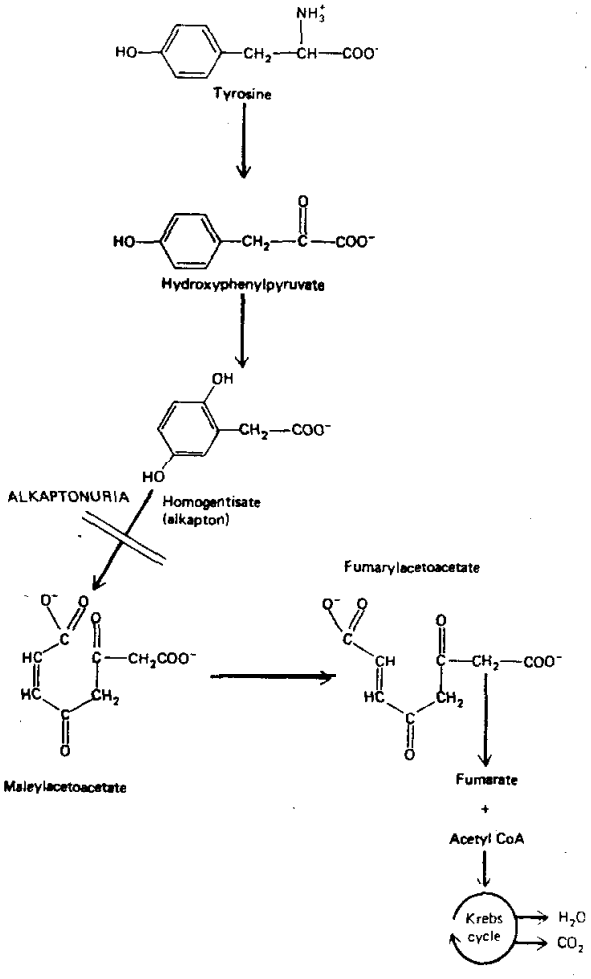
รูป 10-6 แผนภาพลำดับกระบวนการเมแทบอลิซึมของ phenylalanine เครื่องหมาย X หมายถึงตำแหน่งที่มีความผิดปกติ

จาก Arms. K. & Pamela S. Camp. 1988



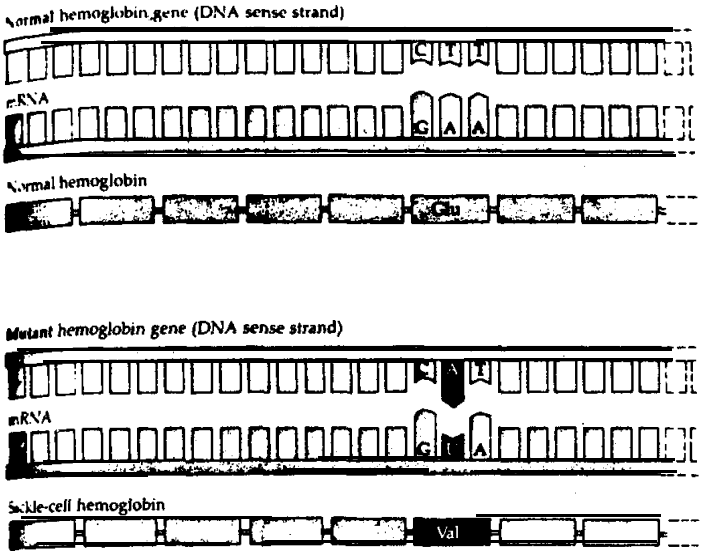
(3) **โรคทาลัสซีเมีย (thalassemia หรือ Cooley's disease หรือ Mediterranean anemia)** โรคโลหิตจางชนิดหนึ่งซึ่งลักษณะเม็ดโลหิตบิดเบี้ยวคล้ายรูปจันทร์เสี้ยว **(sickle-cell anemia)** เกิดการกลายชิ้นที่ออโทโซมโดยที่มีการกลายแบบ missesense mutation ชิ้นที่ทลิเพลทโค้ดลำดับที่ 6 ของยีนควบคุมการผลิตฮีโมโกลบิน (รูป 10-8) จึงทำให้กรดอะมิโนในตำแหน่งลำดับที่ 6 ของฮีโมโกลบินพอลิเพปไทด์เปลี่ยนจาก glutamine มาเป็น valine ความผิดปกตินี้เกิดขึ้นที่เส้นแอลฟาหรือเบทา เส้นใดเส้นหนึ่งในจำนวน 4 เส้นพอลิเทปไทด์ที่ประกอบกันเป็นฮีโมโกลบิน ทำให้การนำออกซิเจนสู่เซลล์ลดลง อายุการใช้งานของเม็ดเลือดลดลง ถ้าการกลายเกิดมากโดยไม่มียีนข่มมากำกับจะทำให้ถึงขั้นเสียชีวิตตั้งแต่ยังอยู่ในครรภ์ ผู้มียีนด้อยนี้อยู่ในรูปของเฮเทโรไซกัส สามารถมีชีวิตอยู่ได้ อาการมากหรือน้อยต่างกันขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ในไทยมียีนชนิดนี้แฝงอยู่ร้อยละ 13 บางพื้นที่มีมากถึงร้อยละ 50 ประมาณว่ามีผู้นำยีนด้อยชนิดนี้อยู่ถึง 20 ล้านคนโดยไม่แสดงอาการโรคที่ปรากฏชัด ประชากรแอฟริกันบางกลุ่มที่มียีนชนิดนี้ช่วยป้องกันการติดเชื้อโรคไข้จับสั่นได้

รูป 10-7 แผนภาพลำดับกระบวนการเมแทบอลิซึมของ tyrosine เครื่องหมาย X หมายถึง ตำแหน่งที่มีความผิดปกติ



จาก Villee, Claude A., et al. 1989

รูป 10-8 แผนภาพเส้น DNA แสดงการเกิดการกลายชิ้นที่ทริเพลทโค้ดลำดับที่ 6 ของยีนสร้างฮีโมโกลบิน ซึ่งจะทำให้กรดอะมิโนลำดับที่ 6 เปลี่ยนจากปกติ glutamine เป็นผิดปกติ valine ฮีโมโกลบินแต่ละเส้นพอลิเพปไทด์มี 150 กรดอะมิโน (ดูรูป 2-18)



จาก Campbell, Neil A. 1990