บทที่ 9
โมเลกุลพื้นฐานของพันธุกรรมและการสังเคราะห์โปรตีน

เค้าโครงเรื่อง

9.1 DNA : โมเลกุลพื้นฐานของพันธุกรรม

9.2 การถ่ายแบบ DNA

9.3 การถอดรหัส : การสังเคราะห์ RNA

9.3.1 กระบวนการถอดรหัส

9.3.2 โครงสร้างของ mRNA

9.4 การแปลรหัส : การสังเคราะห์โปรตีน

9.4.1 การปลุกฤทธิ์ของกรดอะมิโน

9.4.2 โครงสร้างของ tRNA

9.4.3 ไรโบโซม

9.4.4 กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน

สิ่งมีชีวิตทั้งโพรแคริโอทและยูแคริโอทมี DNA ทำหน้าที่ควบคุมกลไกการทำงานของเซลล์ และการถ่ายทอดทางพันธุกรรม โดยมียีนซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครโมโซม (เส้น DNA) ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะถ่ายทอดต่าง ๆ โดยมีกลไกการทำงานที่ซับซ้อนหลายขั้นตอน เริ่มตั้งแต่การถ่ายแบบ การถอดรหัส การแปลรหัสเพื่อสร้างโปรตีนโดยเฉพาะพวกที่เป็นเอนไซม์ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการชีวเคมีสำหรับการดำรงชีพ หรือเพื่อการสังเคราะห์สารหรือโครงสร้างอื่นจนทำให้ได้ลักษณะปรากฏของสิ่งมีชีวิต

9.1 DNA : โมเลกุลพื้นฐานของพันธุกรรม

การจะเข้าใจบทบาทการทำงานของ DNA ได้จำเป็นต้องทราบรายละเอียดโครงสร้างโมเลกุลของ DNA ซึ่งเป็นโมเลกุลพื้นฐานของสารพันธุกรรมไว้ก่อนจึงจะสามารถเข้าใจกลไกการทำงานของ DNA ได้

ความรู้เบื้องต้นจากบทที่ 2 และบทที่ 8 ทำให้ทราบว่า DNA เป็นสารประกอบพอลิเพปไทด์ชนิดหนึ่งในสองชนิดของกรดนิวคลิอิก และเมื่อรวมอยู่กับโปรตีนประกอบเป็นเส้นโครโมโซมโดยมียีนอยู่บนเส้นโครโมโซม ดังนั้นยีนคือโมเลกุลของนิวคลีโอไทด์ กลุ่มหนึ่งซึ่งเป็นรหัสควบคุมการทำงานของเซลล์ และหลายยีนก็ควบคุมลักษณะทั้งหมดของสิ่งมีชีวิต

เพื่อให้เป็นที่เข้าใจหัวข้อเรื่องในบทนี้จึงควรพิจารณาความหมายของคำว่าพันธุกรรมและการสังเคราะห์โปรตีน

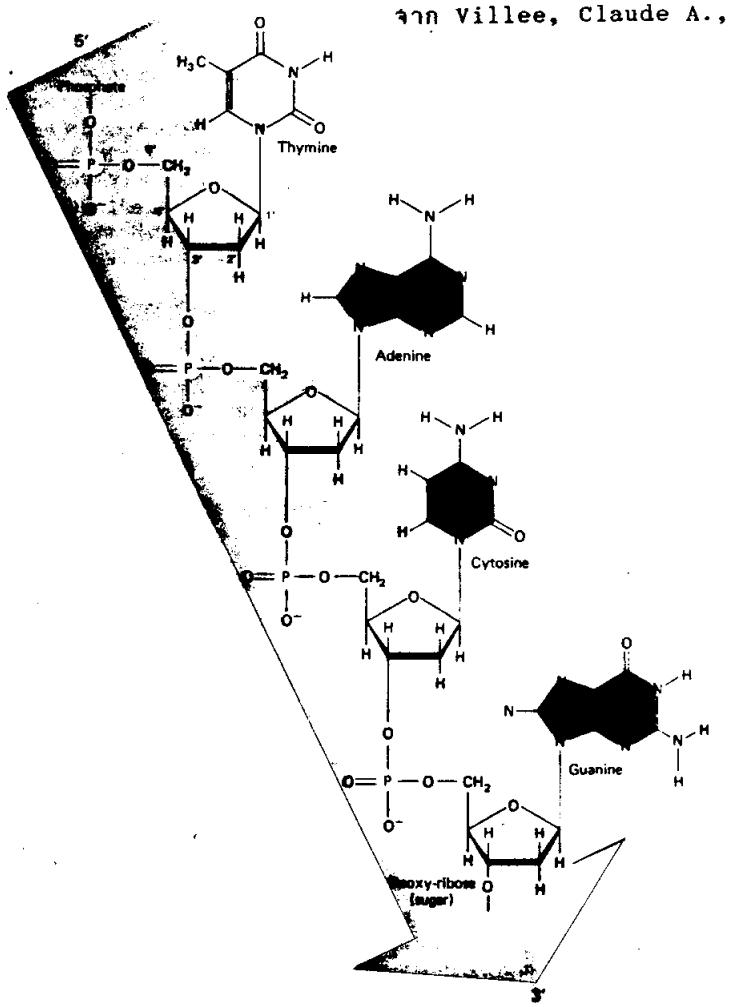
พันธุกรรมสามารถได้รับการถ่ายทอดจากรุ่นหนึ่งไปยังรุ่นถัดไปโดยถ่ายทอดผ่านทาง DNA (โครโมโซม) ซึ่งมีลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ (รูป 9-1) ที่เฉพาะในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ถ้ามีจำนวน DNA หลายเส้น และแต่ละเส้นมีหลายยีน ลักษณะถ่ายทอดทางพันธุกรรมก็มีมากขึ้น การถ่ายทอดทางพันธุกรรมทำได้โดยการถ่ายแบบ DNA แต่ละเส้นขึ้นมาใหม่ในระยะ interphase I ของการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสช่วง meiosis I DNA ซึ่งได้รับการถ่ายแบบมานี้จะมีลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์เหมือนต้นแบบทุกประการ (ตามทฤษฎี) ลักษณะต่าง ๆ ที่มีอยู่ใน DNA ของพ่อหรือแม่ จึงได้รับการถ่ายทอดไปยังลูกผ่านทางเซลล์สืบพันธุ์

การสังเคราะห์โปรตีน เป็นการสังเคราะห์โปรตีนทั้งที่เป็นเอนไซม์และโปรตีนอื่นของเซลล์โดยมีลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนในโปรตีน (พอลิเพปไทด์) ตามรหัสที่มีอยู่บน DNA คือยีนนั่นเอง แต่ขั้นตอนการทำงานต่างวัตถุประสงค์กัน กล่าวคือ การสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้นในไซโทซอล หรือในเอนโดพลาสมิกเรทิคิวลัมเพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมโดยยีนบน DNA ที่ได้รับมาจากบรรพบุรุษทั้งหมด (ทั้งฝ่ายเพศผู้และเพศเมีย) ยีนเหล่านี้คือกลุ่มของนิวคลีโอไทด์ เมื่อจะมีการสร้างโปรตีน DNA จะทำการถอดรหัสจากแม่พิมพ์ DNA (DNA ต้นแบบ) มาจัดลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์เป็นเส้น mRNA (ตามหลักการจับคู่สมของเบส) แล้วจึงจะเป็นการแปลรหัสบน mRNA เพื่อการสังเคราะห์โปรตีนให้ลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนในเส้นพอลิเพปไทด์ที่จะสร้างขึ้นมานั้นเป็นไปตามรหัสที่กำหนดโดย mRNA (ซึ่งถอดรหัสมาจาก DNA) เอนไซม์ (พอลิเพปไทด์) ที่สร้างขึ้นนี้จะทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมต่าง ๆ ของเซลล์ให้ถูกต้องจนทำให้สิ่งมีชีวิตได้ลักษณะปรากฏตามการสืบทอดทางพันธุกรรม เช่น ยีนควบคุมการสร้างเอนไซม์ที่ควบคุมกระบวนการสร้างฮีโมโกลบิน ถ้าปกติลูกก็

จะมีเม็ดเลือดแดงปกติเหมือนต้นแบบคือ DNA แต่ถ้ามีการกลายเกิดการผิดปกติของยีน (ลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในเส้น DNA เปลี่ยนไป) เอนไซม์ (พอลิเพปไทด์) ที่สร้างขึ้นก็ทำงานผิดปกติ กระบวนการสร้างฮีโมโกลบินก็ผิดปกติ ลักษณะปรากฏก็ผิดปกติตามไปด้วย ทำให้เกิดอาการ sickle cell anemia

รูป 9-1 สูตรโครงสร้างของ DNA ที่มีลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์เป็นแบบ TACG โดยใช้อักษรย่อของเบสแทนแต่ละหน่วยของนิวคลีโอไทด์ หมู่ฟอสเฟตจะพันธะกับคาร์บอนอะตอมตัวที่ 3 และ 5 ของโมเลกุลน้ำตาลไรโบส ทำหน้าที่เป็นแกน (backbone) หรือแม่บันไดของเส้น DNA (DNA strand)

จาก Villee, Claude A., et al. 1989



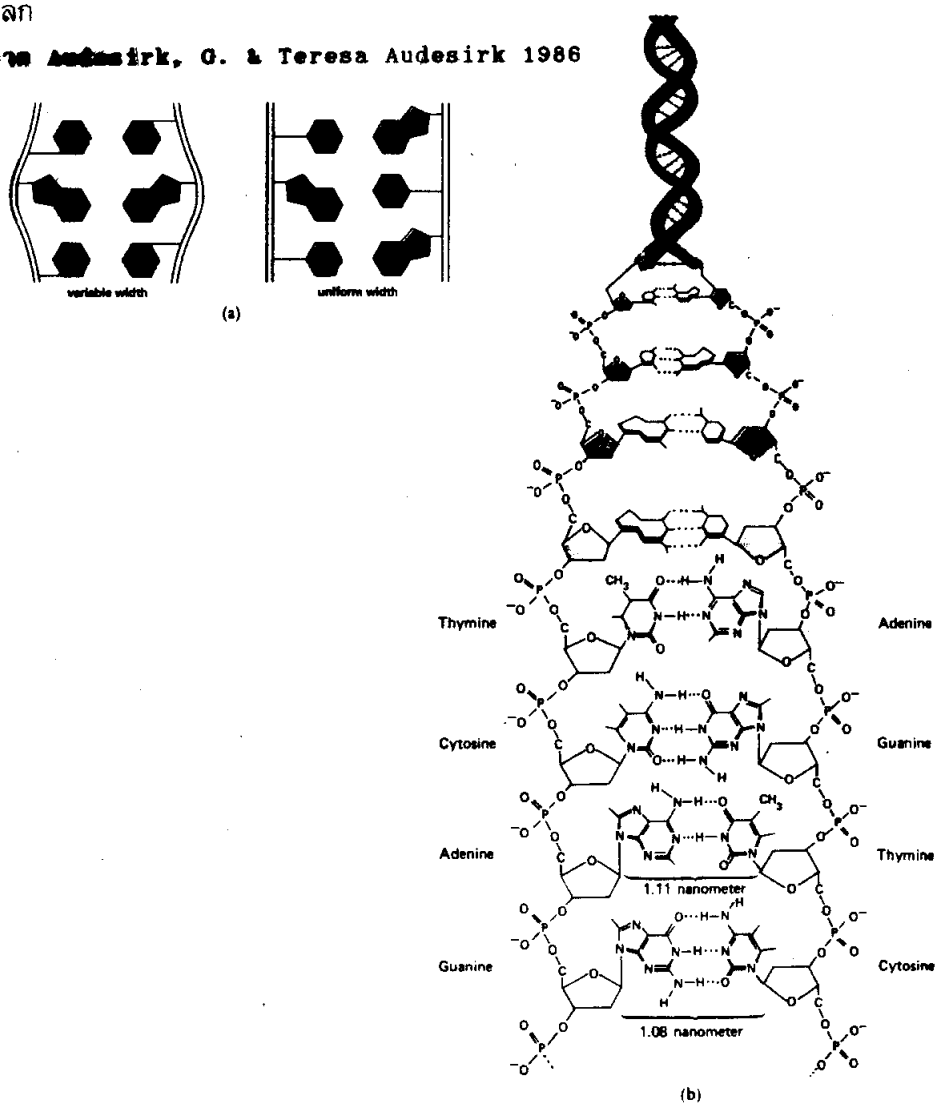
ในปี 1950 ชาร์กาฟ (Chargaff) และผู้ร่วมงานได้ศึกษาส่วนประกอบที่เป็นเบสของ DNA จากสิ่งมีชีวิตหลายชนิดนับจากแบคทีเรียขึ้นมาจนถึงมนุษย์ (ตาราง 9-1) พบว่าอัตราส่วนระหว่างเบส A : T และ G : C จะเท่ากับ 1 : 1 เสมอไม่ว่าปริมาณของเบสในสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันจะต่างกันก็ตาม จากการค้นพบนี้จึงเป็นที่มาของ **Chargaff's rule** ที่ว่า เบส A ต้องพันธะกับเบส T และ เบส G ต้องพันธะกับเบส C กล่าวคือ A กับ T และ G กับ C แต่ละคู่เป็นคู่สมกัน (base pairs) ยึดไว้ด้วยพันธะไฮโดรเจน (รูป 9-2)

ตาราง 9-1 ปริมาณของเบสที่มีอยู่ใน DNA ของสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน

สิ่งมีชีวิต	ส่วนประกอบของเบส (หน่วยเป็นร้อยละของโมเลกุล)			
	A	T	G	C
Escherichia coli	*26.0*	*23.9*	*24.9*	*25.2*
Streptococcus pneumoniae	29.8	31.6	*20.5*	la.0
Mycobacterium tuberculosis	15.1	*14.6*	*34.9*	*35.4*
yeast	*31.3*	*32.9*	18.7	17.1
sea urchin (หอยเม่น)	32.8	32.1	17.7	18.4
herring (ปลาชนิดหนึ่ง)	27.8	*2'7.5*	*22.2*	*22.6*
หนู	28.6	28.4	21.4	*21.5*
คน	*30.9*	*29.4*	*19.9*	19.8

รูป 9-2 แผนภาพแสดงการจับคู่สมของเบสด้วยพันธะไฮโดรเจน ให้สังเกตว่าถ้าเบสโมเลกุลใหญ่มาจับคู่กันจะทำให้ช่วงแกนห่างกันมากกว่าการจับคู่ระหว่างเบสโมเลกุลใหญ่และโมเลกุลเล็ก

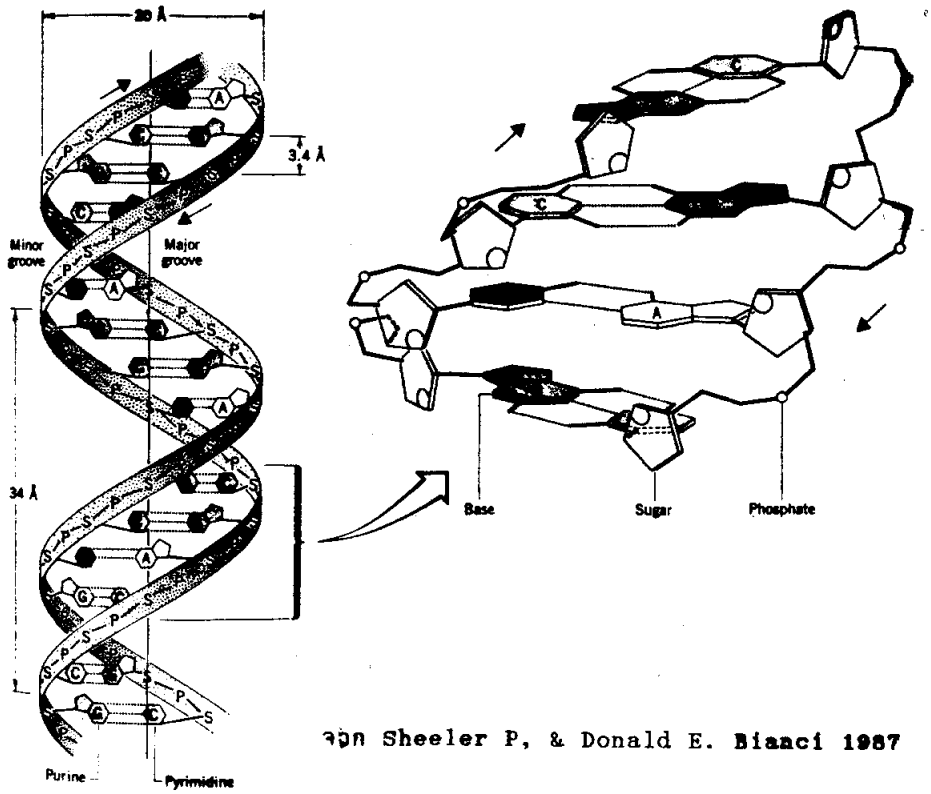
จาก Audesirk, G. & Teresa Audesirk 1986



แฟรงคลินและวิลเคนส์ (Franklin and Wilkens) ใช้เทคนีกของ X-ray diffraction ศึกษาผลึก DNA บริสุทธิ์พบว่า พิวรีนและไพริมิดีนเบสอยู่ห่างกัน 0.34 นาโนมิเตอร์และตั้งฉากกับแกนเส้น DNA โดยมีแนวจางของอิเล็กตรอน (ออกซิเจนและฟอสฟอรัส) วนอยู่รอบแกนระหว่างแกนและเบสรวมทั้งวนเป็นแนววงกลมรอบแกนระหว่างเบสด้วย ทำให้ **วัตสันและคริก (Watson and Crick)** ได้ความคิดว่า DNA น่าจะมีรูปแบบ **เส้นบิดเกลียว 2**

เส้น (double stranded helices) และจากข้อมูลอื่นนำมาประมวลเข้าด้วยกันจึงสร้างแบบจำลองของเส้นเกลียว DNA ขึ้นในปี 1953 เป็นที่ยอมรับกันอยู่ในปัจจุบัน (รูป 9-3)

รูป 9-3 แบบจำลองแสดงอะตอมในโมเลกุลของ DNA สองโมเลกุลซึ่งจัดตัวเป็นรูปบันไดเวียน



จาก Sheeler P, & Donald E. **Bianci 1987**

9.2 การถ่ายแบบ DNA

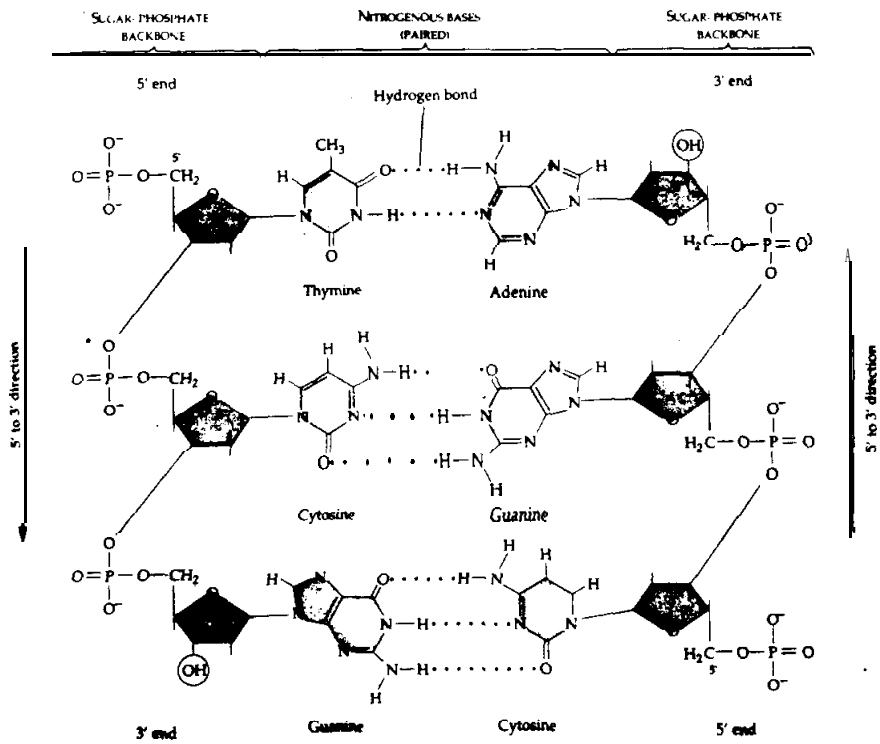
คุณสมบัติสำคัญอย่างหนึ่งของสารพันธุกรรมคือการคัดลอกข้อมูลทั้งชุดที่สมบูรณ์ของตัวเองเพื่อส่งมอบให้กับชั่วรุ่นถัดไป ก่อนการค้นพบ DNA นักชีววิทยาบางกลุ่มเชื่อว่า ลักษณะถ่ายทอดทางพันธุกรรมเปรียบเสมือนการหล่อพิมพ์จากตัวต้นแบบ เมื่อลอกพิมพ์ออกแล้วก็เทปูนเข้าไปในตัวพิมพ์ จะได้ลักษณะเหมือนต้นแบบ (แม่พิมพ์) ทุกประการ เมื่อมีการค้นพบ DNA แล้ว แนวคิดว่า **DNA เป็นต้นแบบหรือแม่พิมพ์ (DNA template)** จึงเป็นหลัก **การถ่ายแบบ (replication)** ของ DNA ที่ใช้อธิบายกลไกการถ่ายทอดทางพันธุกรรมอยู่ในปัจจุบัน

การจัดตัวเป็นเส้นเกลียวคู่ของ DNA นั้น แกนคือโมเลกุลของน้ำตาลและฟอสเฟตจะพันธะกันที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 3 และที่ 5 แต่ละเส้นของแกน DNA น้ำตาลโมเลกุล

แรกจึงยังคงอยู่ที่หมู่ OH ณ คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 3 เป็นอิสระอยู่ (รูป 9-4) โดยมีหมู่ฟอสเฟตพันธะอยู่ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 5 ของน้ำตาลโมเลกุลสุดท้าย ซึ่งเป็นการเรียงตัวแบบตำแหน่งที่ 5 ไปยังตำแหน่งที่ 3 (5′ - 3′ orientation) และเมื่อเส้น DNA สองเส้นมาจัดตัวเป็นเส้นเกลียวคู่โดยมีพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่สมของเบสจึงจำเป็นต้องกลับทิศโมเลกุลตามแนวยาว จะจับกันโดยไม่กลับทิศไม่ได้เพราะคู่สมของเบสจะไม่เข้าสู่ตำแหน่งที่ตรงพอดีกัน

รูป 9-4 การจัดตัวเข้าคู่กันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างเบสที่เป็นคู่สม (เส้นประ) ให้สังเกตหมู่ OH (ในวงกลม) อยู่ตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 3 ในโมเลกุลแรกของน้ำตาลที่พันธะกับฟอสเฟตเป็นแกนของเส้น DNA ทั้งสองเส้น คู่สมของเบสเป็นปัจจัยกำหนดให้เส้น DNA จัดตัวกลับทิศกัน

จาก Campbell, neil A. 1990

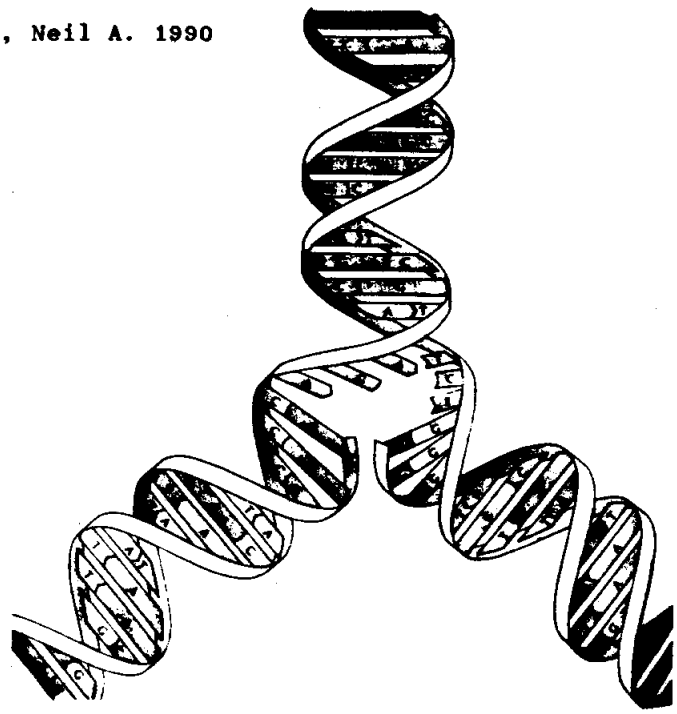


การถ่ายแบบ DNA ซึ่งเสนอโดยวัตสัน และคริก จะเป็นไปในลักษณะที่เส้นเกลียวคู่ของ DNA ยังคงเกาะกันอยู่ จะมีรอยแยกเพียงจุดใดจุดหนึ่งแล้วจึงมีการนำโมเลกุลใหม่ของนิวคลีโอไดท์มาถ่ายแบบไปจากตำแหน่งที่มีรอยแยกควบคู่ไปกับเส้นเดิมได้เป็นเส้นเกลียวคู่ใหม่ 2

เส้น เรียกว่า **semiconservation replication** (รูป 9-5) เส้นเกลียวคู่ใหม่นี้แต่ละคู่จะได้เส้น DNA จากเส้นเกลียวคู่เดิมมาหนึ่งเส้น

รูป 9-5 ภาพจำลองการถ่ายแบบ DNA ในลักษณะ semiconservative replication แต่ละเส้น DNA ในเส้นคู่เดิมจะค่อย ๆ แยกออกพร้อมกับการสร้างเส้นใหม่เข้าไปเป็นเกลียวขนานกับเส้นเดิมตามลักษณะการจับคู่สมของเบส เส้นคู่ใหม่จะมีลำดับการเรียงตัวโมเลกุลของนิวคลีโอไทด์เหมือนเส้นเดิมทุกประการ

จาก Campbell, Neil A. 1990

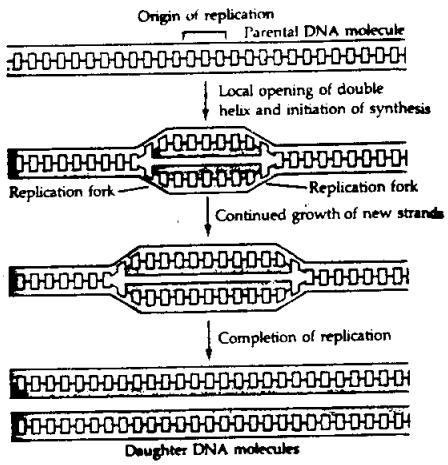


ข้อคิดของวัตสันและคริกได้รับการพิสูจน์ว่าเป็นจริงโดย Meselson and Stahl ซึ่งทดลองโดยใช้แบคทีเรีย *E.coli* และใส่เบสที่มีไอโซโทปของไนโตรเจนเพื่อให้แบคทีเรียสามารถนำไปสังเคราะห์ได้ ผลการทดลองสรุปได้ว่า การถ่ายแบบจะเริ่มต้นจากตำแหน่งพิเศษบนเส้นคู่ DNA (รูป 9-6) เรียกว่า **ต้นกำเนิดของการถ่ายแบบ (origin of replication)** ซึ่งมีทั้งในแบคทีเรียและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ณ ตำแหน่งนี้จะมีการคลายเกลียวออก แล้วจึงมีโปรตีนเฉพาะมาทำหน้าที่เริ่มต้นนำโมเลกุลของนิวคลีโอไทด์ใหม่เข้าไปพันธะกับ DNA เส้นเดิมทั้ง 2 เส้น โดยมีเอนไซม์ **DNA polymerase** ทำหน้าที่ต่อโมเลกุลของนิวคลีโอไทด์ใหม่เข้าด้วยกัน ตำแหน่งที่เกลียวคู่เดิมแยกออกจากกันเรียก **replication fork** เพราะมีลักษณะ

คล้ายซี่ของล้อม พลังงานสำหรับการทำให้นิวคลีโอไทด์เป็นพอลิเมอร์มาจากหมู่ฟอสเฟต การถ่ายแบบเกิดขึ้นรวดเร็วมาก ในพวกสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม สามารถถ่ายแบบพอลินิวคลีโอไทด์ที่มี 50 โมเลกุลของนิวคลีโอไทด์ได้ในเวลา 1 วินาที ในแบคทีเรียได้มากกว่าคือ 500 โมเลกุลในเวลาเท่ากัน การทำงานได้รวดเร็วเช่นนี้ต้องใช้เอนไซม์เร่งปฏิกริยาและโปรตีนอื่นมากกว่า 10 ชนิดขึ้นไป การผิดปกติของการถ่ายแบบซึ่งเป็นสาเหตุของการกลายเกิดขึ้นได้ 1 ในล้านนิวคลีโอไทด์

รูป 9-6 ลำดับการถ่ายแบบเส้นคู่ DNA จากตำแหน่งต้นกำเนิดของการถ่ายแบบจนได้เส้นคู่ DNA ใหม่สองเส้น ให้สังเกตเส้นเดิมอยู่ด้านนอกของคู่ใหม่

ก. ภาพจำลอง



ข. ภาพจากกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอน ลูกศรชี้ที่ตำแหน่ง replication fork และทิศทางของการถ่ายแบบ

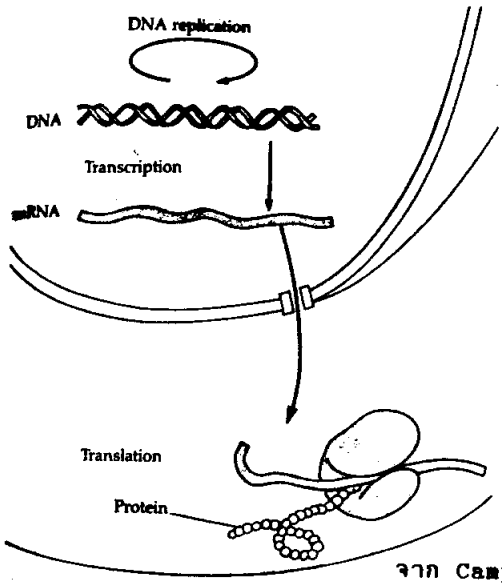
จาก Campbell, Neil A. 1990

9.3 การถอดรหัส : การสังเคราะห์ RNA

DNA ที่ได้รับการถ่ายทอดทางพันธุกรรมมาทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ โดยการสังเคราะห์เอนไซม์ที่เฉพาะและโปรตีนชนิดอื่น แต่ยีนบน DNA ไม่ได้สร้าง

โปรตีนโดยตรง ทำหน้าที่สั่งการโดยการถอดรหัส (transcription) ให้มาอยู่ใน RNA แล้วจึงมีการแปลรหัส (translation) จาก RNA ให้เป็นโปรตีน (รูป 9-7)

รูป 9-7 กลไกการทำงานของชีวโมเลกุล จากยีนใน DNA จนถึงโปรตีน

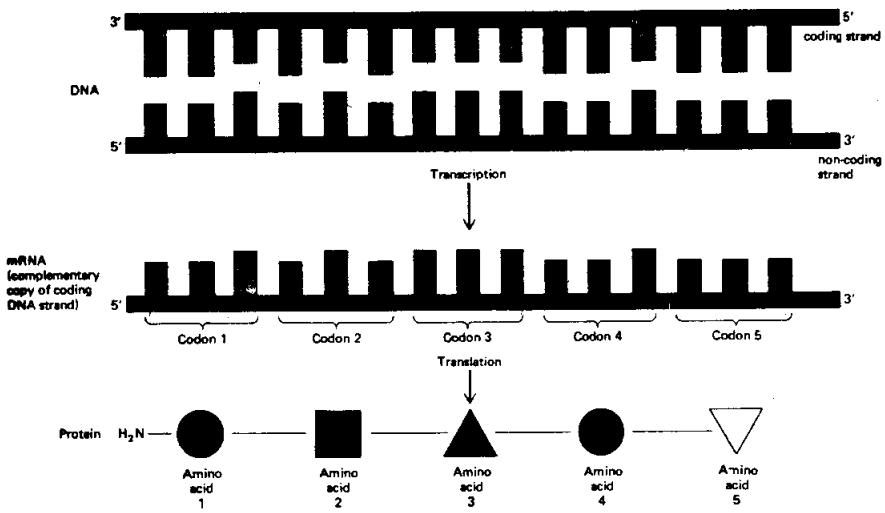


จาก Campbell, Neil A. 1990

การถอดรหัสอยู่บนพื้นฐานของสมมติฐานที่ว่า หนึ่งยีน-หนึ่งเอนไซม์ กล่าวคือหนึ่งยีนทำหน้าที่สร้างโปรตีนที่เป็นเอนไซม์หนึ่งชนิด ถ้าเป็นโปรตีนที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น เคราทินซึ่งประกอบเป็นขนของสัตว์ เป็นโปรตีนที่มาจากการรวมโปรตีนหลายชนิดเข้าด้วยกัน ซึ่งก็ต้องควบคุมโดยการทำงานของโปรตีนที่เป็นเอนไซม์ซึ่งถอดรหัสมาจากยีนนั่นเอง

รหัสทางพันธุกรรมที่ถอดมาจาก DNA สู่ mRNA เรียกว่า **โคดอน (codon)** 1 โคดอนทำหน้าที่เป็นรหัสของกรดอะมิโนได้หนึ่งชนิด เนื่องจากกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบของโปรตีนมี 20 ชนิด และเบสมี 4 ชนิด ดังนั้นจึงต้องใช้เบส 3 โมเลกุล เป็นรหัสจึงจะให้การเรียงตัวของเบสมีค่าความต่างออกมาเป็น 64 ซึ่งมากกว่าจำนวนชนิดของกรดอะมิโน รหัสทางพันธุกรรมจึงเป็นรหัส **triplet code** แต่ละโคดอนประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ 3 โมเลกุลเรียงติดกัน (รูป 9-8) นิยมเขียนเฉพาะอักษรตัวแรกของเบสในนิวคลีโอไทด์เท่านั้นมาเป็นรหัส เช่น ATC คือโคดอนที่มีนิวคลีโอไทด์ของเบส adenine thymine และ cytosine

รูป 9-8 แผนภาพแสดงโคดอนที่ประกอบด้วย 3 นิวคลีโอไทด์ซึ่งถอดรหัสจาก DNA มาอยู่บน mRNA แต่ละรหัสเฉพาะกับกรดอะมิโนเพียง 1 ชนิด



จาก Villee, Claude A., et al. 1989

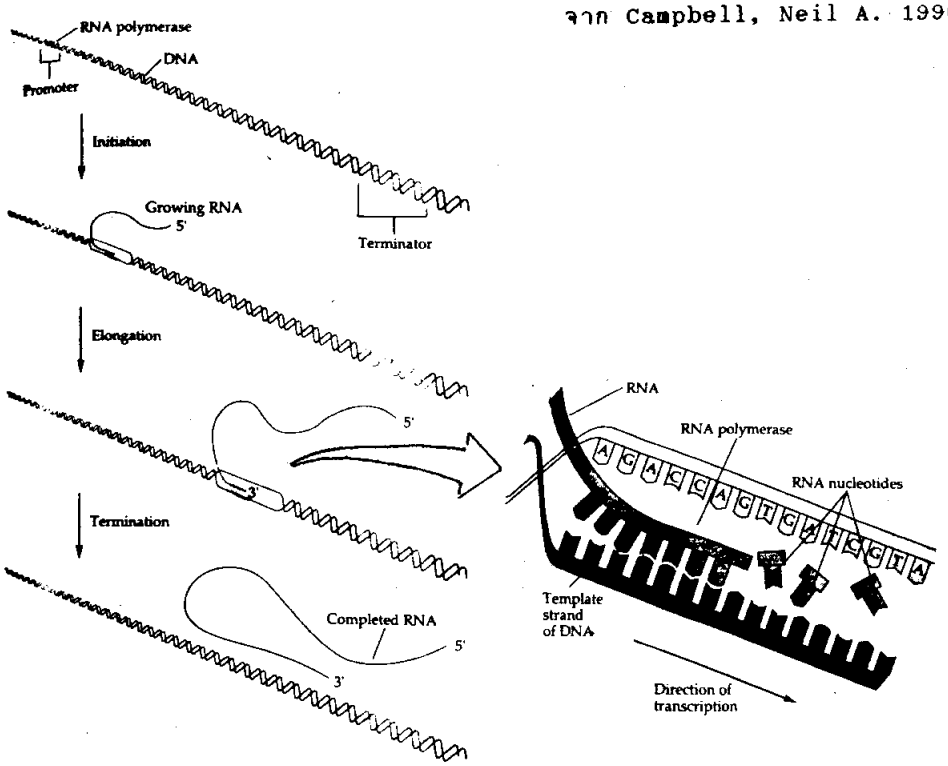
9.3.1 **กระบวนการถอดรหัส** RNA ถอดรหัสมาจากแม่พิมพ์ DNA ด้วยกระบวนการคล้ายคลึงกับการถ่ายแบบ DNA เส้นเกลียวคู่ DNA ต้องคลายเกลียว ณ ตำแหน่งหนึ่งเรียก **promotor** (รูป 9-9) โดยมีเอนไซม์ **RNA polymerase** เป็นตัวเริ่มต้นจับที่นิวคลีโอไทด์ ณ ตำแหน่งนั้น การจับคู่ของนิวคลีโอไทด์ใช้หลักคู่สมของเบส ในกรณีนี้ที่พิเศษคือ A คู่กับ U (ใน DNA นั้น A คู่กับ T) RNA polymerase จะทำหน้าที่ต่อโมเลกุลของนิวคลีโอไทด์ใหม่ที่เข้าไปตามหลักการจับคู่สมของเบสบนเส้น DNA ที่คลายเกลียวออก RNA เส้นใหม่จะมีทิศทางการเป็นเส้นพอลิเมอร์จากตำแหน่งที่ 5-3 ในการถอดรหัสนี้ถอดจาก DNA เพียงเส้นเดียว หนึ่งยีนสร้าง mRNA เพียงหนึ่งเส้น หลายยีนก็สร้างขึ้นหลายเส้น การสร้างไม่จำเป็นต้องจากแม่พิมพ์บน DNA เส้นเดียวเสมอไป ขึ้นอยู่กับว่ายีนใดจะอยู่บน DNA (โครโมโซม) เส้นใด การสร้างสิ้นสุดลงเมื่อมาถึงนิวคลีโอไทด์ที่เป็นรหัสหยุดบนเส้น DNA

ยีนเพียงหนึ่งยีนสามารถถอดรหัสต่อเนื่องด้วยโมเลกุลของ RNA polymerase หลายโมเลกุลซึ่งเป็นกลไกหนึ่งที่ช่วยให้เซลล์สามารถผลิตโปรตีนชนิดใดชนิดหนึ่งได้ครั้งละจำนวนมาก ในโพรแคริโอท การถอดรหัส RNA จากแม่พิมพ์ DNA นั้นจะได้ออกมาเป็นเส้น mRNA ในพวกยูแคริโอท เมื่อสร้าง RNA ได้แล้วจึงจะมีการปรับเปลี่ยนเป็น mRNA แล้วส่งผ่านเยื่อหุ้ม

นิวเคลียสออกมาอยู่ในไซโทซอลเพื่อใช้สังเคราะห์โปรตีน

รูป 9-9 การถอดรหัส RNA จากแม่พิมพ์ DNA ในแผนภาพขยายให้เห็น RNA polymerase ขนาดเปรียบเทียบตามความเป็นจริงจะยาวเพียง 1/10 ของโมเลกุล DNA ที่มีจำนวนนิวคลีโอไทด์ประมาณ 30-60 โมเลกุล

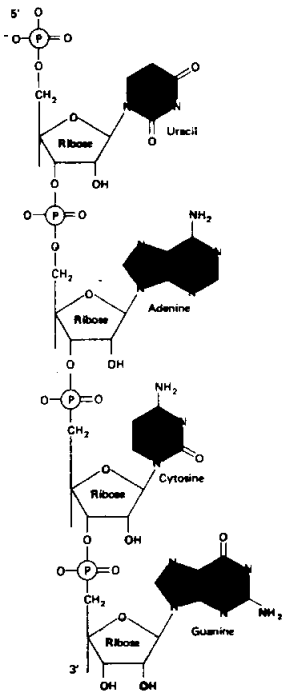
จาก Campbell, Neil A. 1990



9.3.2 **โครงสร้างของ mRNA** RNA ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ซึ่งมีโมเลกุลของน้ำตาลไรโบสและฟอสเฟตเป็นแกน โดยมี พิวรีนหรือไพริมิดีนเกาะอยู่ที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่หนึ่งของโมเลกุลน้ำตาลไรโบส (รูป 9-10) คู่สมของเบสใน RNA คือ A คู่กับ U (uracil) และ C คู่กับ G การเป็นพอลิเมอร์เริ่มจากตำแหน่งที่ 5 - 3 เช่นเดียวกับของ DNA

mRNA มีโครงสร้างต่างไปจาก RNA ชนิดอื่นคือขนาดและส่วนประกอบของเบสมีช่วงกว้างคือเป็นเส้นเกลียวเดี่ยวที่มีจำนวนหน่วยนิวคลีโอไทด์สั้นหรือยาวขึ้นอยู่กับยีนที่อยู่บนเส้น DNA เป็นตัวกำหนด (รูป 9-11)

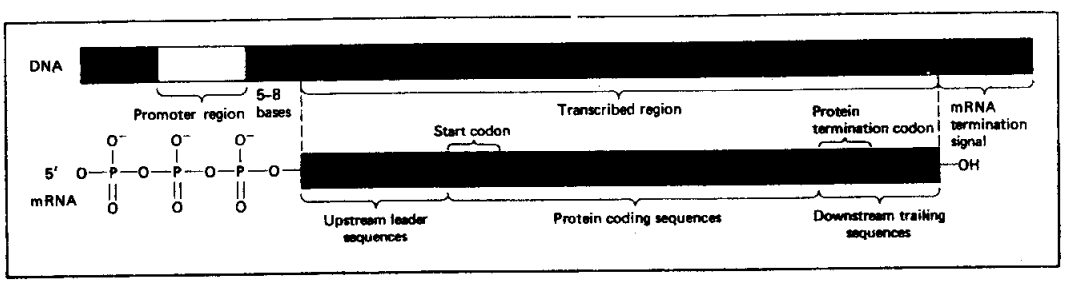
รูป 9-10 โครงสร้างโมเลกุลทางเคมีของ RNA แสดงการมีพันธะระหว่างไรโบส ฟอสเฟตและเบสซึ่งประกอบกันเป็นพอลินิวคลีโอไทด์ การปรับเปลี่ยนรูปร่างของโครงสร้างจะต่างกันใน rRNA, mRNA และ tRNA



จาก Villee, Claude A., et al. 1989

รูป 9-11 แผนภาพโครงสร้าง mRNA ของแบคทีเรียที่ถูกถอดรหัสมาจาก DNA ให้สังเกตบริเวณ promoter ซึ่ง RNA polymerase จะจำได้ อยู่เหนือจากจุดเริ่มต้น (start codon) ขึ้นไป 5-8 นิวคลีโอไทด์ ส่วนท้ายของ mRNA ที่ไม่มีรหัส (downstream trailing sequence) มีความยาวต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย

จาก Villee, Claude A., et al. 1989



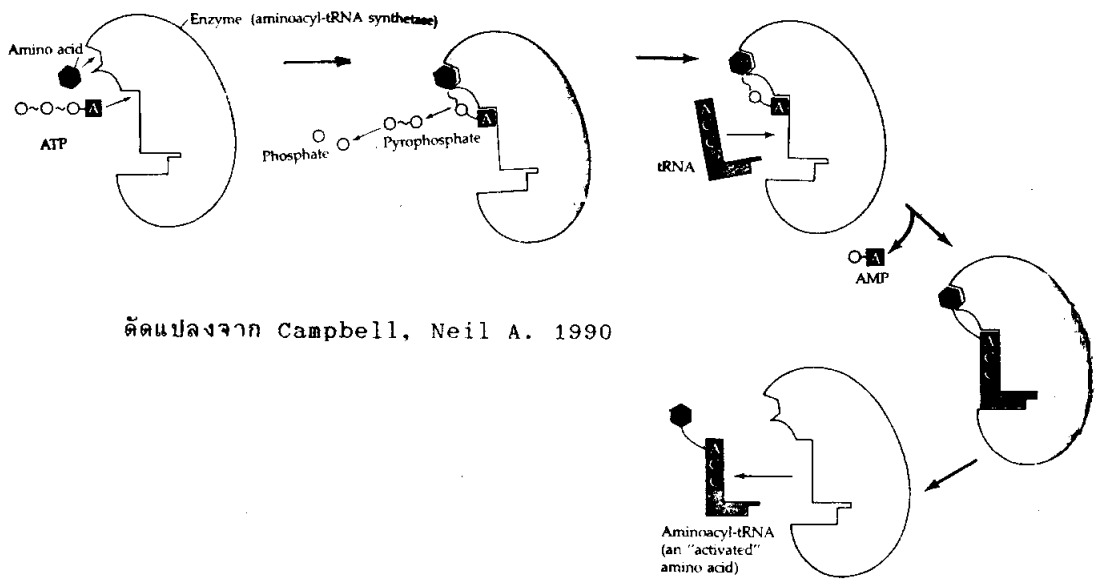
9.4 การแปลรหัส : การสังเคราะห์โปรตีน

ลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนในเส้นพอลิเพปไทด์ที่จะสังเคราะห์ขึ้นนั้นถูกกำหนดโดยลำดับของโคดอนบนเส้น mRNA ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่า **การแปรรหัส (translation)** เป็นกระบวนการที่ซับซ้อนมากขึ้น เนื่องจากเป็นการเปลี่ยนข้อมูลจากทริเพลทโค้ดให้มาเป็นกรดอะมิโน 20 ชนิดที่เป็นส่วนประกอบของพอลิเพปไทด์ การแปรรหัสเกี่ยวข้องกับ mRNA, tRNA, ribosome และสารโมเลกุลใหญ่รวมแล้วมากกว่า 100 ชนิด

9.4.1 **การปลุกฤทธิ์ของกรดอะมิโน** กรดอะมิโนในสภาวะปกติไม่ได้อยู่เป็นโมเลกุลโดดเดี่ยว แต่อยู่ในรูปของพอลิเพปไทด์ จึงต้องมีการปลุกฤทธิ์ให้พร้อมสำหรับการถูกนำไปสร้างเป็นโปรตีนซึ่งประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ (1) ใช้พลังงาน ATP ช่วยได้กรดอะมิโนต่อกับโมเลกุลของ AMP (2) เอนไซม์เฉพาะของกรดอะมิโนแต่ละชนิดทำหน้าที่เร่งปฏิกริยาถ่ายโอนกรดอะมิโนจาก AMP ไปยัง tRNA ที่เฉพาะสำหรับกรดอะมิโนชนิดนั้นได้เป็น **aminoacyl tRNA** (รูป 9-12) อะมิโนเอซิล tRNA ทำหน้าที่เป็นตัวปรับ (adaptor) ให้แอนติโคดอนจำโคดอนเฉพาะที่เป็นคู่สมกันของกรดอะมิโนในแต่ละชนิดได้ และยังทำหน้าที่ปรับบริเวณที่กรดอะมิโนเคยมีพันธะโคเวเลนท์อยู่ด้วย เมื่อพันธะหักจะได้พลังงานเพียงพอสำหรับการที่กรดอะมิโนจะมีพันธะกันเป็นพอลิเพปไทด์

9.4.2 **โครงสร้างของ tRNA** โมเลกุลของ tRNA มีส่วนประกอบพื้นฐานของ RNA เช่นเดียวกันกับ rRNA และ mRNA แต่ขนาดเล็กกว่า โดยทั่วไปประกอบด้วย 70-80 นิวคลีโอไทด์ tRNA แต่ละโมเลกุลมีลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์บางส่วนเหมือนกันบางส่วนมีความเฉพาะของตัวเอง รูปร่างโมเลกุลมีหลายแบบ ที่เห็นตามธรรมชาติโดยใช้เทคนิคของกล้องจุลทัศน์อิเล็กตรอนเป็นโครงสร้าง 3 มิติรูปคล้ายตัวอักษร L (รูป 9-13 ก) โดยมีตำแหน่งของแอนติโคดอนอยู่ที่ปลาย L ด้านหนึ่ง และตำแหน่งที่จะมีพันธะกับกรดอะมิโนอยู่ที่ปลาย L ด้านที่มีโมเลกุลของของน้ำตาลมี OH อยู่ตำแหน่งที่ 3 (3) รูปร่างที่ปรากฏนี้เนื่องจากการพับจับคู่สมของเบสภายในโมเลกุลด้วยพันธะไฮโดรเจนจึงทำให้เกิดวงขึ้นหลายวง เนื่องจากเบสบริเวณนั้นไม่มีคู่สม หมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนจะเข้าไปมีพันธะกับหมู่ -OH ที่ตำแหน่งคาร์บอนอะตอมที่ 3 ของน้ำตาลไรโบสที่เป็นส่วนประกอบของนิวคลีโอไทด์ปลายสุด

รูป 9-12 ภาพจำลองขั้นตอนการปลุกฤทธิ์กรดอะมิโนโดยมี ATP ทำให้กรดอะมิโนเป็น aminoacil AMP แล้วมีเอนไซม์ aminoacyl tRNA synthetase เป็นตัวเร่งปฏิกริยาเปลี่ยนให้เป็น aminoacyl tRNA พร้อมทั้งปล่อย AMP ออกไป



ดัดแปลงจาก Campbell, Neil A. 1990

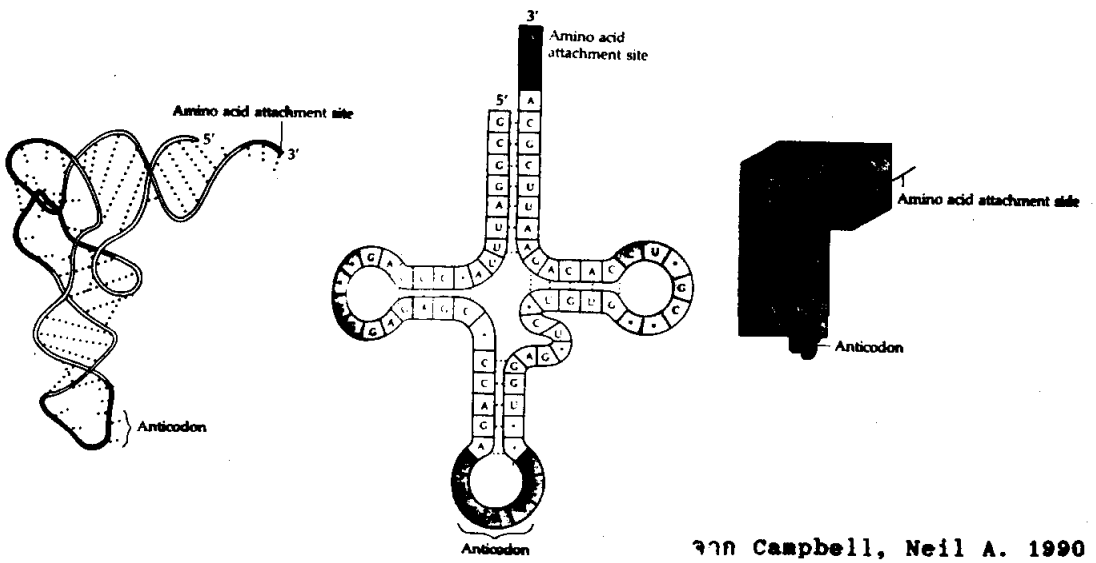
tRNA แต่ละโมเลกุลต้องมีคุณสมบัติดังนี้คือ (1) จำเอนไซม์เฉพาะที่จะเติมกรดอะมิโนที่ถูกปลุกฤทธิ์ (aminoacyl AMP) ได้ (2) ต้องถูกจำได้โดยไรโบโซม (3) ต้องมีความเฉพาะพันธะคู่สมตามลำดับโคดอนที่ถูกต้องบนเส้น mRNA และต้องมีบริเวณ (หรือตำแหน่ง) ที่กรดอะมิโนมีประจุเข้ามามีพันธะด้วยได้ เพื่อให้ได้ aminoacyl tRNA (9-13 ข)

9.4.3 **ไรโบโซม** หน่วยที่ทำหน้าที่จับคู่อะมิโนเอซิล tRNA เข้ากับลำดับของโคดอนบน mRNA คือไรโบโซม ไรโบโซมประกอบด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วยคือ หน่วยเล็ก (small subunit) และหน่วยใหญ่ (large subunit) ในพวกโพรแคริโอท หน่วยเล็กประกอบด้วยโปรตีน 21 ชนิด และ rRNA 1 โมเลกุล เรียกว่า **30s** (s เป็นค่า sedimentation constant) หน่วยใหญ่มีโปรตีน 34 ชนิดและมี rRNA 2 โมเลกุล เรียกว่า **50 s** ทั้ง 2 หน่วยรวมกันมีร่องอยู่กลางประกอบเป็นไรโบโซมสมบูรณ์เรียก **70 s** (รูป 9-14) ในพวกยูแคริโอทโครงสร้างคล้ายกัน แต่มีโมเลกุลของโปรตีนและ rRNA มากกว่า หน่วยเล็กเรียก **40 s** หน่วยใหญ่เรียก **60 s** และหน่วยรวมเรียก **80 s** ในแบคทีเรีย *E.coli* มีไรโบโซม

ถึง 15,000 อัน

รูป 9-13 แผนภาพรูปร่างโครงสร้างของ tRNA ก. ภาพจำลอง 3 มิติ L-form ข. clover leaf form ซึ่งเป็นรูปร่างที่พบได้ทั่วไป ให้สังเกตวงที่ 2 มีแอนติโคดอนที่จะจับคู่เฉพาะกับโคดอน และปลายด้าน 3′ ซึ่งเป็นตำแหน่งมีพันธะกับกรดอะมิโน ค. ภาพจำลองการมีพันธะกันระหว่างโมเลกุลของ tRNA และกรดอะมิโน

ก. ข. ค.



จาก Campbell, Neil A. 1990

รูป 9-14 โครงสร้างไรโบโซมของโพรแคริโอท แสดงหน่วยเล็กหน่วยใหญ่และหน่วยรวม

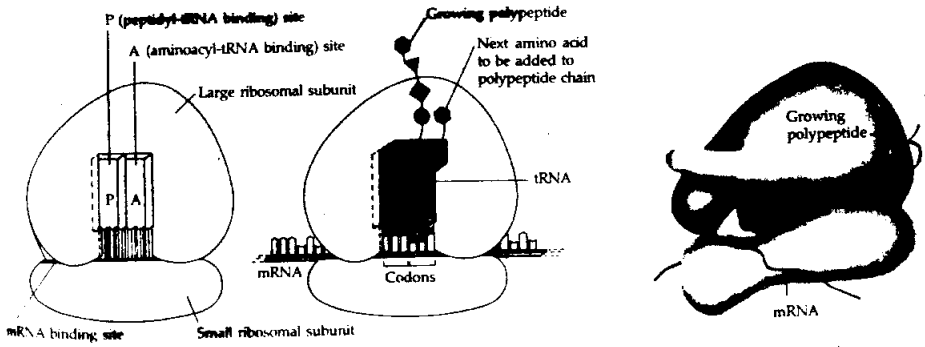
จาก Campbell, Neil A. 1990

ภายในโรโบโซมมีตำแหน่งพันธะ (binding site) 2 แห่ง คือ A (aminoacyl tRNA site) และ P (peptidyl tRNA site) ทำหน้าที่รับโมเลกุลของ tRNA (รูป

9-15 ข) ไรโบโซมจะรับ aminoacyl tRNA ที่มีประจุเข้าที่ตำแหน่ง A ซึ่งอยู่ข้างตำแหน่ง P ซึ่งมี tRNA ที่มีพอลิเมอร์ของกรดอะมิโนเกาะอยู่ เมื่อเกิดพันธะเพปไทด์ระหว่างพอลิเพปไทด์เดิมกับกรดอะมิโนที่เพิ่งเข้าไปใหม่ tRNA ใหม่ จะเลื่อนจากตำแหน่ง A ไปยัง P โดยดัน tRNA ที่ตำแหน่ง P เดิมออกไป ทำให้ตำแหน่ง A ว่างลง พร้อมที่จะรับ aminoacyl tRNA โมเลกุลใหม่ได้อีก

รูป 9-15 ภาพจำลอง แสดงตำแหน่ง A และ P ภายในไรโบโซม ตำแหน่ง A เป็นตำแหน่งแรกที่ aminoacyl tRNA จะเข้าไปจับคู่กับโคดอนที่ตรงกันบน mRNA

ก. ข. ค.



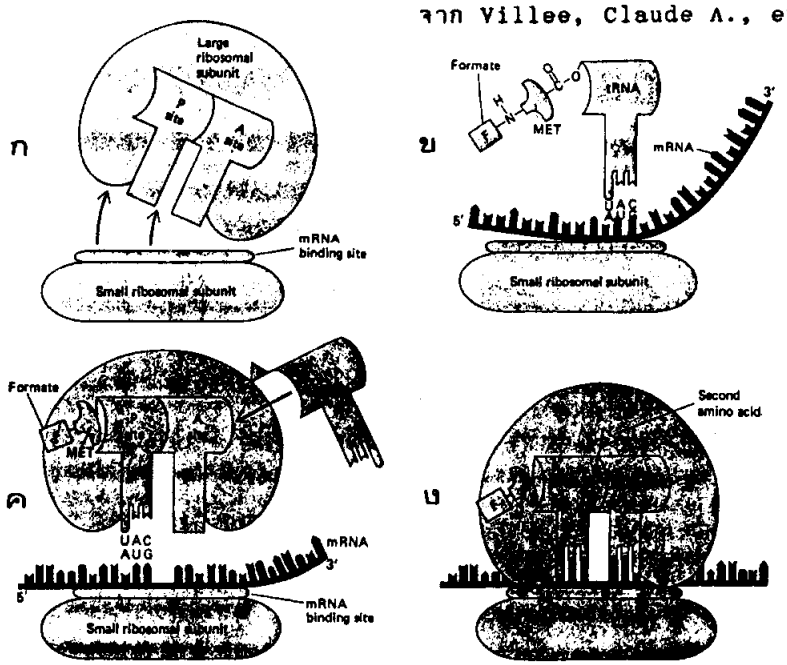
จาก Campbell, Neil A. 1990

9.4.4 **กระบวนการสังเคราะห์โปร์ตีน** ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักคือ

(1) **การเริ่มต้น (initiation)** เริ่มจากการมี **initiation factor** ซึ่งเป็นโปรตีนเข้าไปเปิดหน่วยเล็กและหน่วยใหญ่ของไรโบโซมออก mRNA จะสอดอยู่บนร่องของหน่วยเล็ก (รูป 9-16) **initiation tRNA** ที่จะนำกรดอะมิโนโมเลกุลแรกเข้าไปมีรหัสเหมือนกันในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด คือ **AUG** ซึ่งเป็นรหัสสำหรับ methionine ในกรณีของ *E.coli* มี methionine tRNA 2 ชนิดที่สามารถจำรหัส AUG ได้ คือ MET tRNA เอง และอีกชนิดหนึ่งคือ F-MET tRNA (มีการเติมกรดฟอร์มิกเข้าไปที่หมู่อะมิโนของ methionine เป็น N-formyl methionine) F-MET tRNA จะเป็นตัวจำรหัสนี้เอง

รูป 9-16 การเริ่มต้นกระบวนการสร้างโปรตีน ให้สังเกต F.MET tRNA จะเป็นตัวเริ่มต้นเข้าสู่ตำแหน่ง A ตรงกับรหัส AUG บนทาง RNA เมื่อมีการเลื่อนไปสู่ตำแหน่ง P (ค) ตำแหน่ง A เปิดว่างเพื่อให้ aminoacyl tRNA โมเลกุลใหม่เข้าได้

จาก Villee, Claude A., et al. 1989



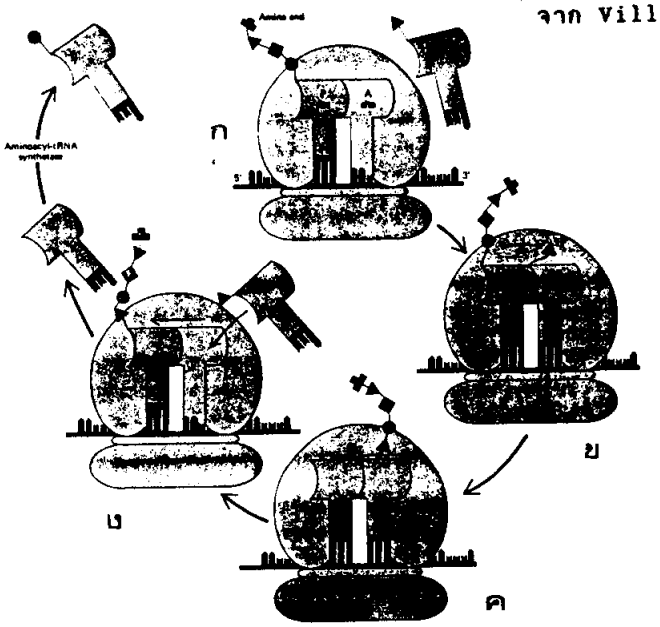
(2) การยืดยาว เป็นพอลิเพปไทด์ เรียกระยะนี้ว่า **elongation** initiator tRNA เลื่อนไปอยู่ที่ตำแหน่ง P ตำแหน่ง A ที่ว่างถูกแทนที่ด้วย aminoacyl tRNA ตามรหัสที่อยู่บน mRNA มีเอนไซม์ในกลุ่ม transferase มาถ่ายโอนกรดอะมิโนจากตำแหน่ง P มาอยู่ที่ tRNA ตรงตำแหน่ง A แล้วมีเอนไซม์มาต่อปลายหมู่อะมิโนของกรดอะมิโนโมเลกุลแรกเข้ากับหมู่คาร์บอกซิลของกรดอะมิโนโมเลกุลที่สอง (การสังเคราะห์โปรตีนจะเริ่มต้นเช่นนี้เสมอ ต่อเนื่องตลอดเส้นพอลิเพปไทด์)

เมื่อกรดอะมิโนต่อกันด้วยพันธะเพปไทด์แล้ว tRNA โมเลกุลแรกที่ว่างก็หลุดออกจากตำแหน่ง P กรดอะมิโนสองโมเลกุลที่ต่ออยู่กับ tRNA ที่ตำแหน่ง A ก็ถูกเลื่อนมาสู่ตำแหน่ง P ตำแหน่ง A จึงว่างสำหรับ aminoacyl tRNA โมเลกุลที่ 3 ที่จะเข้ามา กระบวนการเป็นเช่นนี้เรื่อย ๆ (รูป 9-17) จนได้พอลิเพปไทด์เส้นยาว จำนวนกรดอะมิโนจะมีมากหรือน้อยหรือลำดับการเรียงตัวจะเป็นอย่างใดขึ้นอยู่กับรหัสบน mRNA

ทิศทางของการแปลรหัสจะเริ่มจากตำแหน่งที่ 5 -> 3 เสมอ การสังเคราะห์โปรตีนเกิดขึ้นเร็วมาก พันธะเพปไทด์ใช้เวลาสังเคราะห์ประมาณ 1 ส่วน 20 ของวินาที ดังนั้น การสังเคราะห์โปรตีนจะได้พอลิเพปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 360 โมเลกุลในเวลาประมาณ 18 วินาที

รูป 9-17 ขั้นตอนการยืดยาว (elongation) ของ กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ให้สังเกตการถ่ายโอนพอลิเพปไทด์จากตำแหน่ง P ไปยังตำแหน่ง A (รูป ข) และการหลุดออกจากตำแหน่ง P ของ tRNA ที่ถ่ายโอนพอลิเพปไทด์ไปแล้ว (รูป ง)

จาก Villee, Claude A., et al. 1989



(4) **การหยุด (termination หรือ stop)** เส้นพอลิเพปไทด์หยุดการสร้างด้วย release factor ซึ่งจะจำรหัสหยุดบน mRNA ได้ รหัสหยุดมี 3 รหัสคือ UAA, UGA และ UAG release factor จะทำหน้าที่รวมไรโบโซมที่เปิดออกให้เป็นหน่วยรวมตามเดิม และสามารถใช้ประโยชน์สำหรับกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนจาก mRNA เส้นอื่นได้อีก