

บทที่ 8

DNA และโครงสร้างของโครโมโซม

(DNA and The Molecular Structure of Chromosome)

8.1 สารพันธุกรรม (The Genetic Material)

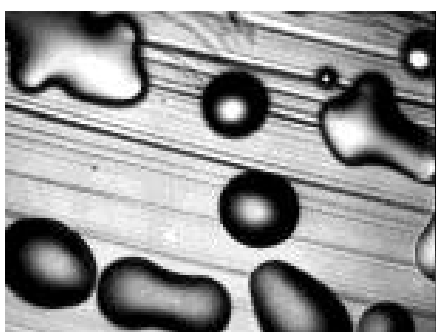
หลังจากได้ข้อสรุปของหลักการการถ่ายทอดสารพันธุกรรมจากเมลเดิล ทำให้นักวิทยาศาสตร์หลายคนสนใจศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับสารพันธุกรรม ในปี ค.ศ. 1869 เฟรดริกซ์ มิเชอร์ (Friedrich Miescher) นักเคมีชาวสวิส ศึกษาสารอินทรีย์จากส่วนประกอบของนิวเคลียสของเซลล์ที่ได้มาจากน้ำหนอง และจากสเปิร์มของปลา พบว่ามีสารชนิดหนึ่งอยู่ภายในนิวเคลียส และมีองค์ประกอบคล้ายกับโปรตีนมาก แต่สารดังกล่าวไม่มีธาตุซัลเฟอร์ แต่กลับประกอบด้วยธาตุฟอสฟอรัสปริมาณมาก มิเชอร์จึงเรียกสารชนิดนี้ว่า นิวคลีอิน (nuclein) ในสมัยต่อมาพบว่านิวคลีอินมีคุณสมบัติคล้ายกรด จึงเรียกชื่อใหม่เป็น กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid) หรือที่เรียกว่า DNA และกรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic acid) หรือที่เรียกว่า RNA ปลายศตวรรษที่ 19 นักวิทยาศาสตร์เริ่มมีแนวความคิดเกี่ยวกับการถ่ายทอดลักษณะต่างๆ จากรุ่นพ่อ และแม่ไปสู่รุ่นลูก หรือที่เรียกว่าการถ่ายทอดสารพันธุกรรม ซึ่งในสมัยนั้นนักพันธุศาสตร์มักศึกษาเรื่องสารพันธุกรรมในเชิงเคมี และในขณะนั้นพบว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ของสารพันธุกรรมเป็นโปรตีน และมีกรดนิวคลีอิกปะปนอยู่บ้างในบางกรณี ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์และนักชีววิทยาจึงมุ่งความสนใจไปที่โปรตีน เพราะคิดว่าโปรตีน คือ โครโมโซม แต่ต่อมาในปี ค.ศ. 1928-1952 มีหลักฐาน และข้อมูลหลายอย่างที่ยืนยันว่าสารพันธุกรรม หรือยีน คือ DNA

8.2 ปรากฏการณ์ทรานสฟอร์เมชันในแบคทีเรีย (Transformation in bacteria)

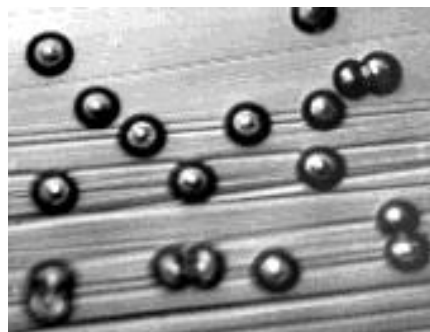
ในปี ค.ศ. 1927 นักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษ ชื่อ เฟรเดอริก กริฟฟิธ (Frederick Griffith) ทดลองเกี่ยวกับความแตกต่างของเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Streptococcus pneumoniae* หรือ *Pneumococcus* ซึ่งก่อให้เกิดโรคปอดอักเสบ แบคทีเรียชนิดนี้สามารถแบ่งออกเป็น 2 สายพันธุ์ ได้แก่

- สายพันธุ์ S (smooth strain) เป็นสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีโคโลนีขนาดใหญ่ และผิวเรียบ (Smooth) เนื่องจากมีแคปซูลพวกมิวโคโพลีแซ็กคาไรด์ (mucopolysaccharide) ห่อหุ้ม และเป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคปอดบวมอย่างรุนแรง (virulent) โดยเฉพาะคน และหนู (รูปที่ 8.1 ก)

- สายพันธุ์ R (rough strain) เป็นสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีโคโลนีขนาดเล็ก และผิวขรุขระ เนื่องจากไม่มีแคปซูลห่อหุ้ม และเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคปอดบวม หรือถ้าเป็นก็จะมีอาการที่ไม่รุนแรง (non-virulent) (รูปที่ 8.1 ข)



ก



ข

รูปที่ 8.1 โคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย *S. pneumoniae* (ก) สายพันธุ์ S (ข) สายพันธุ์ R
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

กริฟฟิตต์นำความรู้จากข้อมูลข้างต้นมาดัดแปลงเพื่อทำการทดลองกับหนูทดลอง ซึ่งการทดลองนี้สามารถแบ่งเป็น 4 กรณี ดังนี้

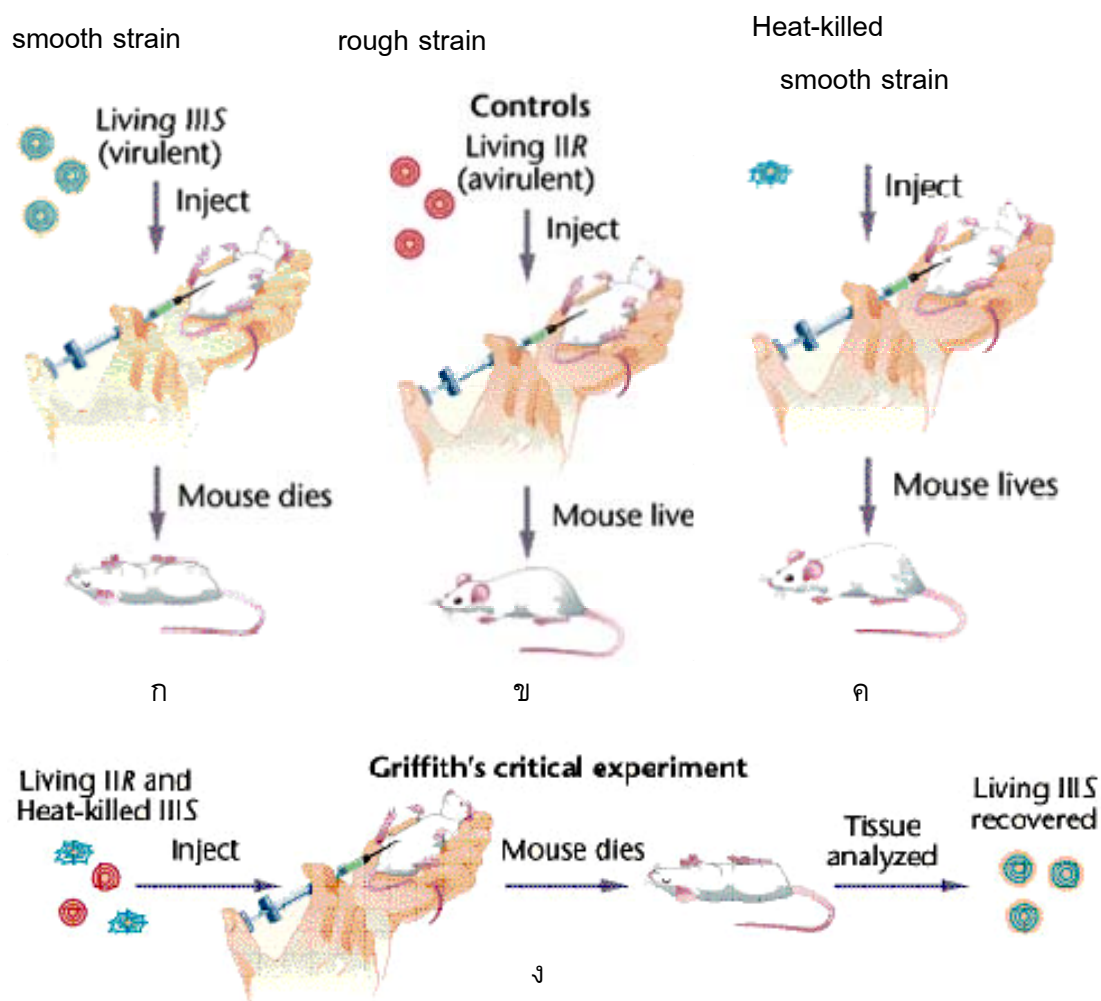
กรณีที่ 1 นำแบคทีเรียสายพันธุ์ S ฉีดเข้าไปในหนูทดลอง พบว่าหนูทดลองตาย (รูปที่ 8.2 ก)

กรณีที่ 2 นำแบคทีเรียสายพันธุ์ R ฉีดเข้าไปในหนูทดลอง พบว่าหนูทดลองไม่ตาย (รูปที่ 8.2 ข)

กรณีที่ 3 นำแบคทีเรียสายพันธุ์ S ไปฆ่าด้วยความร้อน ก่อนฉีดเข้าไปในหนูทดลอง พบว่าหนูทดลองตาย (รูปที่ 8.2 ค)

กรณีที่ 4 นำแบคทีเรียสายพันธุ์ S ไปฆ่าด้วยความร้อน แล้วนำไปผสมกับแบคทีเรียสายพันธุ์ R แล้วจึงฉีดเข้าไปในหนูทดลอง พบว่าหนูทดลองตาย และเมื่อตรวจสอบเนื้อเยื่อของหนูที่ตายพบว่ามีแบคทีเรียสายพันธุ์ S อยู่เป็นจำนวนมาก (รูปที่ 8.2 ง)

จากผลการทดลองทำให้ทราบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ R บางตัวสามารถเปลี่ยนแปลงกลายเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ S ได้ ดังนั้นกริฟฟิตต์จึงเรียกปรากฏการณ์การเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมจากรูปแบบหนึ่งไปเป็นอีกรูปแบบหนึ่งว่า ปรากฏการณ์ทรานสฟอร์เมชัน (transformation)



รูปที่ 8.2 การทดลองของกริฟฟิตต์ (ก) กรณีที่ 1 (ข) กรณีที่ 2 (ค) กรณีที่ 3 (ง) กรณีที่ 4

(แหล่งที่มา: http://www.mun.ca/biology/scarr/Transformation_Experiment.html)

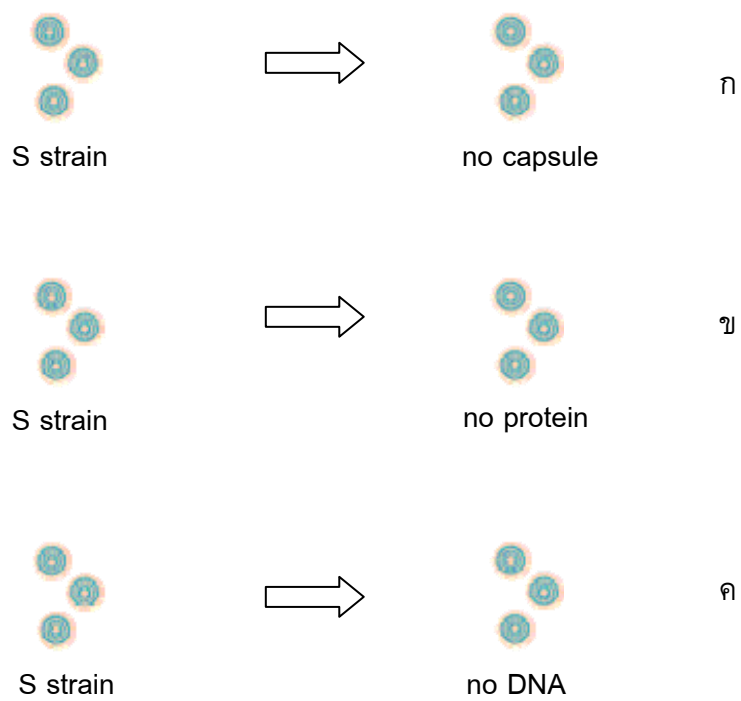
เอ็ม. เอช. ดอร์สัน (M. H. Dawson) และ อาร์. เอช. เซีย (R. H. Sia) ศึกษาปรากฏการณ์ทรานสฟอร์เมชันเช่นเดียวกับกริฟฟิตต์ แต่การทดลองนี้ทำในหลอดแก้ว (in vitro) แทนในหนูทดลอง จากการทดลองพบว่า ปรากฏการณ์ทรานสฟอร์เมชันสามารถเกิดได้เช่นเดียวกับการทดลองในหนูทดลอง การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมจากแบคทีเรียสาย

ต่อมา โอ. ที. เอเวอรี่ (O. T. Avery) เอ็ม. แมกคาร์ที (M. McCarty) และ ซี. แมกคลอยด์ (C. Macleod) ศึกษาสารที่เป็นตัวกลางทำให้เกิดทรานสฟอร์มชัน ซึ่งสารนั้นอาจเป็นแคปซูลของแบคทีเรีย หรือโปรตีน หรือ DNA ดังนั้นเอเวอรี่ และคณะจึงทำการดัดแปลงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S เป็น 3 แบบ ก่อนทำการทดลองขั้นต่อไปในหลอดทดลอง

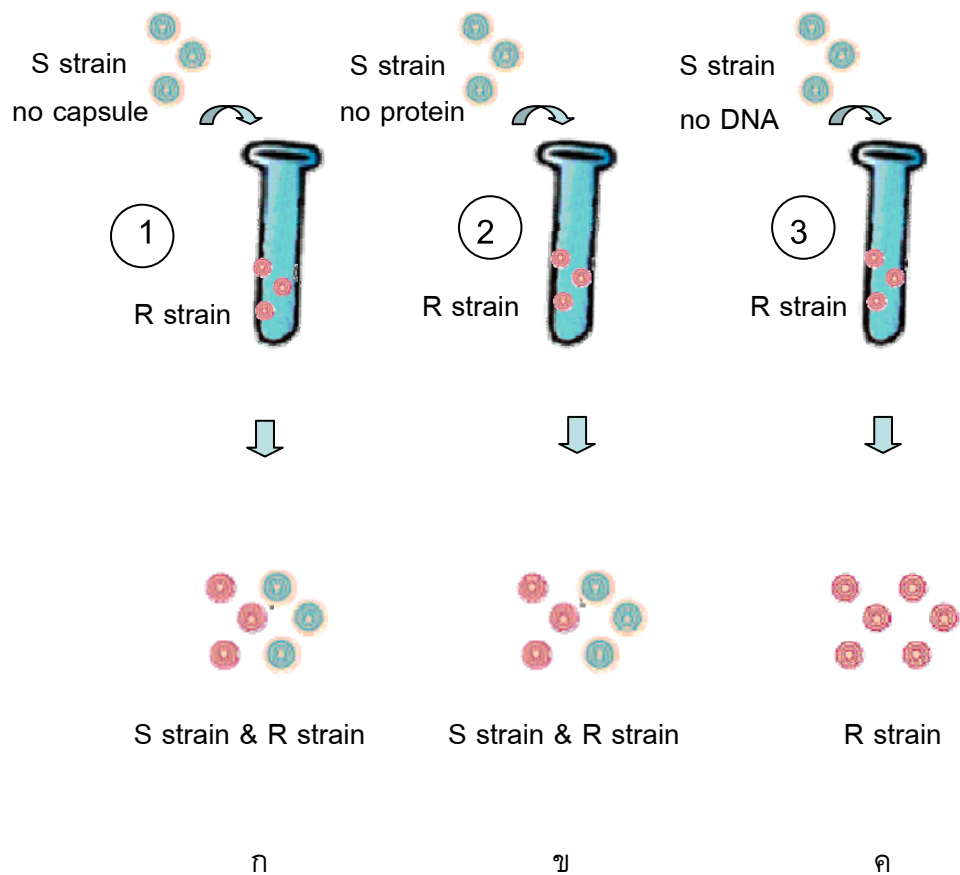
การดัดแปลงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S สามารถแบ่งเป็น 3 แบบ ได้แก่ แบบที่ 1 เป็นการสกัดแคปซูลออกจากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S (รูปที่ 8.3 ก) แบบที่ 2 เป็นการสกัดโปรตีนออกจากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S (รูปที่ 8.3 ข) และแบบที่ 3 เป็นการสกัด DNA ออกจากเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S (รูปที่ 8.3 ค)

จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S ที่ดัดแปลงทั้ง 3 แบบในหลอดทดลอง ซึ่งแต่ละหลอดมีเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R อยู่ด้วย จากการทดลองพบว่าหลอดทดลองหลอดแรกที่มีเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S แบบที่ 1 อยู่ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R สามารถพบการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมจากแบคทีเรียสายพันธุ์ R ไปเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ S (เกิดปรากฏการณ์ทรานสฟอร์มชัน) (รูปที่ 8.4 ก) ได้เช่นเดียวกับหลอดทดลองหลอดที่สองที่มีเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S แบบที่ 2 อยู่ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R (รูปที่ 8.4 ข) แต่หลอดทดลองที่สามที่มีเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S แบบที่ 3 อยู่ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมจากแบคทีเรียสายพันธุ์ R ไปเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ S (ไม่เกิดปรากฏการณ์ทรานสฟอร์มชัน) (รูปที่ 8.4 ค) จากการทดลองทำให้ทราบว่า สารเคมีในแคปซูล และสารโปรตีนของเชื้อแบคทีเรียไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมจากแบคทีเรียสายพันธุ์ R ไปเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ S แต่มีเฉพาะ DNA เท่านั้นที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมจากแบคทีเรียสายพันธุ์ R ไปเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ S

ยิ่งไปกว่านั้นเอเวอรี่ และคณะได้ทำการทดลองต่อเพื่อยืนยันว่า DNA เท่านั้นที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดปรากฏการณ์ทรานสฟอร์มชัน (รูปที่ 8.5) โดยสกัดเอาเฉพาะส่วนที่เป็น DNA จากแบคทีเรียสายพันธุ์ S แล้วนำไปอยู่ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R ในหลอดทดลองแรก และหลอดทดลองที่สอง แต่ในหลอดทดลองที่สองจะมีการเติมเอนไซม์ DNAase



รูปที่ 8.3 การดัดแปลงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S แบบต่างๆ
(ก) แบบที่ 1 (ข) แบบที่ 2 (ค) แบบที่ 3

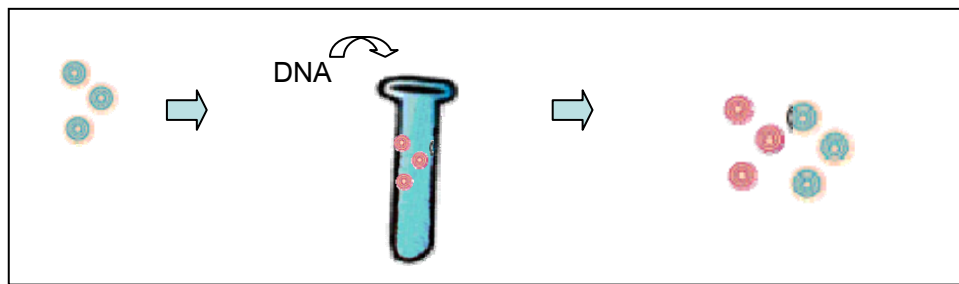


รูปที่ 8.4 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S ที่ดัดแปลงทั้ง 3 แบบในหลอดทดลอง ซึ่งในแต่ละหลอดที่มีเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R อยู่ด้วย

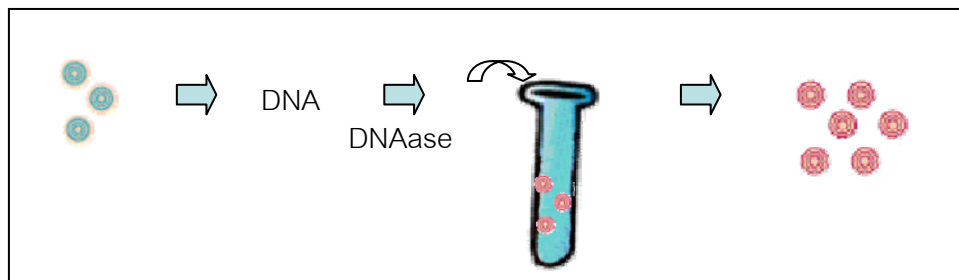
(ก) เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S แบบที่ 1 อยู่ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R

(ข) เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S แบบที่ 2 อยู่ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R

(ค) เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ S แบบที่ 3 อยู่ร่วมกับเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ R



ก

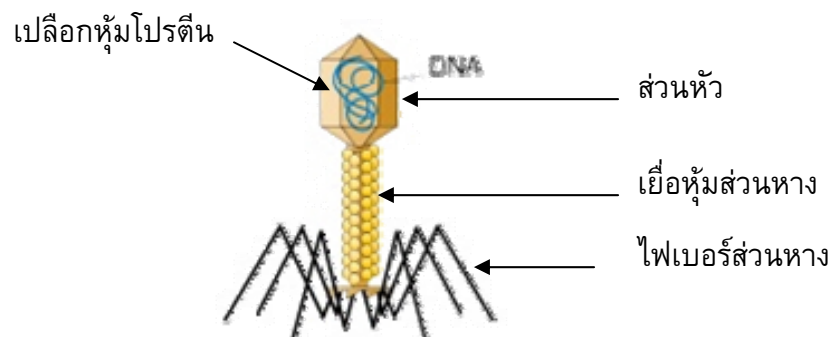


ข

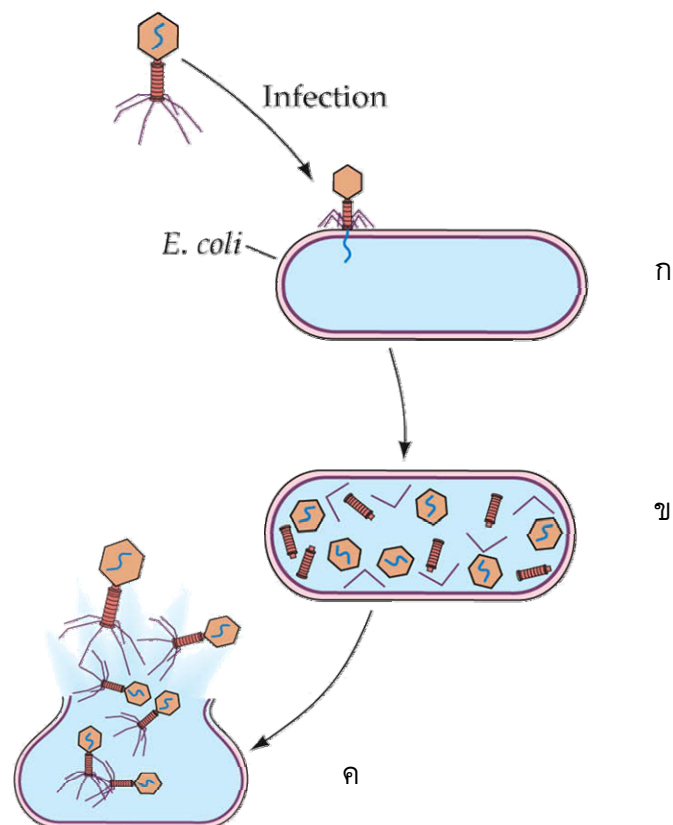
รูปที่ 8.5 การทดลองของเอเวอร์รี และคณะเพื่อยืนยันว่า DNA เท่านั้นที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดปรากฏการณ์ทรานส์ฟอร์เมชัน (ก) หลอดทดลองแรก (ข) หลอดทดลองที่สอง

ในปี ค.ศ.1952 เอ. ดี. เฮอร์เชย์ (A. D. Hershey) และเอ็ม. เซส (M. Chase) ศึกษา ระบบของเซลล์สืบพันธุ์ไวรัสบางชนิด ซึ่งมีระบบการสืบพันธุ์เกิดขึ้นเฉพาะภายในเซลล์ แบคทีเรีย *E. coli* เท่านั้น เรียกไวรัสพวกนี้ว่า แบคทีริโอเฟจ (bacteriophage) หรือ เฟจ (phage) เช่น เฟจกลุ่ม T ซึ่งมีโครงสร้างที่ประกอบด้วย เปลือกหุ้มซึ่งเป็นโปรตีน และส่วนของ สารพันธุกรรม DNA ขดม้วนอยู่ภายใน (รูปที่ 8.6) ลักษณะโครงสร้างของไวรัสเช่นนี้มีความ เหมาะสมที่จะจัดข้อสงสัยเกี่ยวกับสารพันธุกรรมว่าเป็น DNA หรือโปรตีน เนื่องจากปกติไวรัส จะมีการเจริญ และแพร่พันธุ์ภายในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* และใช้วัตถุดิบต่างๆจากแบคทีเรีย เพื่อสร้างอนุภาคของไวรัสขึ้นมาใหม่

ขั้นตอนการเจริญ และแพร่พันธุ์ของเฟจ ภายในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* (รูปที่ 8.7) คือ เฟจเข้ามาเกาะที่บริเวณผนังเซลล์ของแบคทีเรีย และเจาะผนังเซลล์ของแบคทีเรีย เพื่อปล่อย DNA เข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย (รูปที่ 8.7 ก) และใช้วัตถุดิบต่างๆของเซลล์แบคทีเรีย เพื่อ สังเคราะห์สารอินทรีย์ต่างๆที่จำเป็นสำหรับการสร้างอนุภาคเฟจขึ้นมาใหม่ ทำให้ได้เฟจ จำนวนมากมายอยู่ภายในเซลล์แบคทีเรีย (รูปที่ 8.7 ข) จนท้ายที่สุดเซลล์แบคทีเรียตาย และ



รูปที่ 8.6 โครงสร้างของแบคทีริโอเฟจ หรือเฟจ
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)



รูปที่ 8.7 ขั้นตอนการเจริญ และแพร่พันธุ์ของเฟจ T₂ ภายในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli*
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

ดังนั้นเฮอริเชย์ และเชสจิงเลือกใช้เฟลจพันธุ์ T_2 ในการทดลอง ขั้นตอนแรกเฮอริเชย์ และเชสจิงสร้างเฟลจให้มีลักษณะตามที่ต้องการ โดยนำเฟลจไปแพร่พันธุ์ในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* ซึ่งการทดลองจะแบ่งการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียออกเป็น 2 กลุ่ม (รูปที่ 8.8) ได้แก่

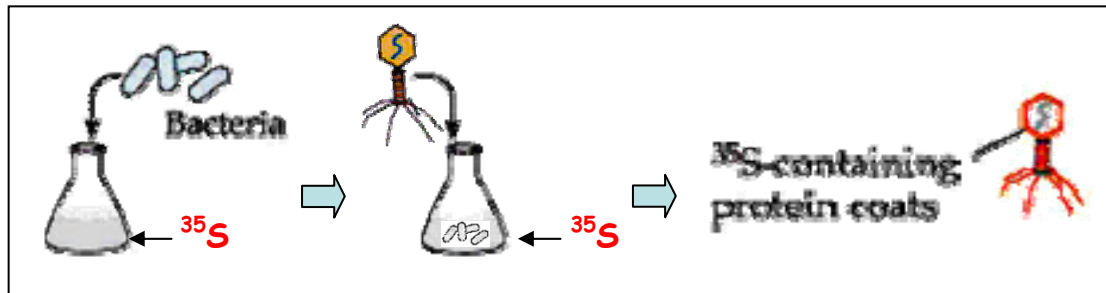
กลุ่มที่ 1: เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ในสารอาหารที่มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{35}S เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายสำหรับโปรตีน เนื่องจากโปรตีนประกอบด้วยธาตุกำมะถัน และอาจมีธาตุฟอสฟอรัสอยู่บ้างเล็กน้อย หลังจากเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในสารอาหารที่มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{35}S เฮอริเชย์กับเชสจิงนำเฟลจไปเลี้ยงในอาหารที่มีเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว เพื่อเป็นการขยายพันธุ์เฟลจ จากนั้นจะได้เฟลจที่มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{35}S เป็นองค์ประกอบของโปรตีน (รูปที่ 8.8 ก)

กลุ่มที่ 2: เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* ในสารอาหารที่มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{32}P ซึ่งใช้เป็นเครื่องหมายสำหรับ DNA เนื่องจาก DNA ประกอบด้วยธาตุฟอสฟอรัส แต่ไม่มีธาตุกำมะถัน เป็นองค์ประกอบ หลังจากเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในสารอาหารที่มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{32}P เฮอริเชย์กับเชสจิงนำเฟลจไปเลี้ยงในสารอาหารที่มีเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว เพื่อเป็นการขยายพันธุ์เฟลจ จากนั้นจะได้เฟลจที่มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{32}P เป็นองค์ประกอบของ DNA (รูปที่ 8.8 ข)

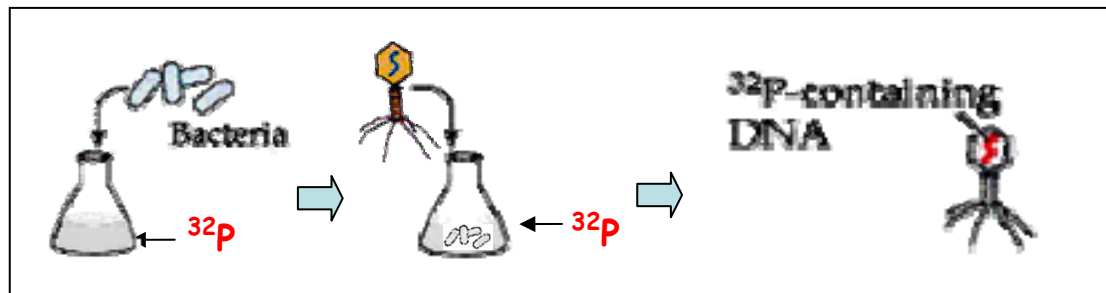
จากนั้นนำเฟลจที่ได้จากแต่ละกลุ่มไปเลี้ยงในสารอาหารปกติที่มีแบคทีเรียอยู่ แต่สารอาหารเลี้ยงเชื้อในครั้งนี้จะไม่มีธาตุกำมะถันตรังสี ทั้งนี้เพื่อเป็นการขยายพันธุ์เฟลจ หลังจากเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียร่วมกับเฟลจไประยะหนึ่ง จึงทำการยับยั้งการเจริญของเฟลจโดยการใช้เครื่องปั่น และทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเซลล์แบคทีเรียออกจากส่วนที่เป็นสารอาหารเหลว ทำให้พบว่าเฟลจที่เคยเลี้ยงในสารอาหารกลุ่มที่ 1 มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{35}S จำนวนมากปรากฏอยู่ในส่วนของสารอาหาร แสดงว่าส่วนที่เป็นโปรตีนของเฟลจถูกทิ้งไว้ภายนอกเซลล์แบคทีเรีย (รูปที่ 8.8 ค) ในขณะที่เฟลจที่เคยเลี้ยงในสารอาหารกลุ่มที่ 2 พบว่ามีธาตุกำมะถันตรังสี ^{32}P ปรากฏอยู่ในส่วนของเซลล์แบคทีเรีย แสดงว่าส่วน DNA ของเฟลจเท่านั้นที่ผ่านเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย และทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการสืบพันธุ์ และการสังเคราะห์สารต่างๆของเฟลจ (รูปที่ 8.8 ง)

จากการทดลองนี้ทำให้ทราบว่า โปรตีนไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดสารพันธุกรรมของเฟลจ เนื่องจากเปลือกหุ้มของเฟลจ ซึ่งเป็นโปรตีนถูกสลัดทิ้งไว้ภายนอกเซลล์แบคทีเรีย ในขณะที่ DNA ของเฟลจเท่านั้นที่ผ่านเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย และทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการสืบพันธุ์ แพร่พันธุ์ และสังเคราะห์สารต่างๆของเฟลจที่อยู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรีย ดังนั้นผลการทดลองของเฮอริเชย์ และเชสจิงพิสูจน์ได้ว่าสารพันธุกรรมที่อยู่ในเฟลจ T_2 คือ DNA

ความก้าวหน้าทางวิชาการดังกล่าวทำให้นักวิทยาศาสตร์หลายคนสนใจศึกษาโครงสร้างทางเคมีของ DNA นอกจากนี้ยังสนใจเกี่ยวกับการถอดแบบจำลองโมกุล DNA (DNA replication) ว่าเป็นอย่างไร และ DNA สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงได้หรือไม่



ก



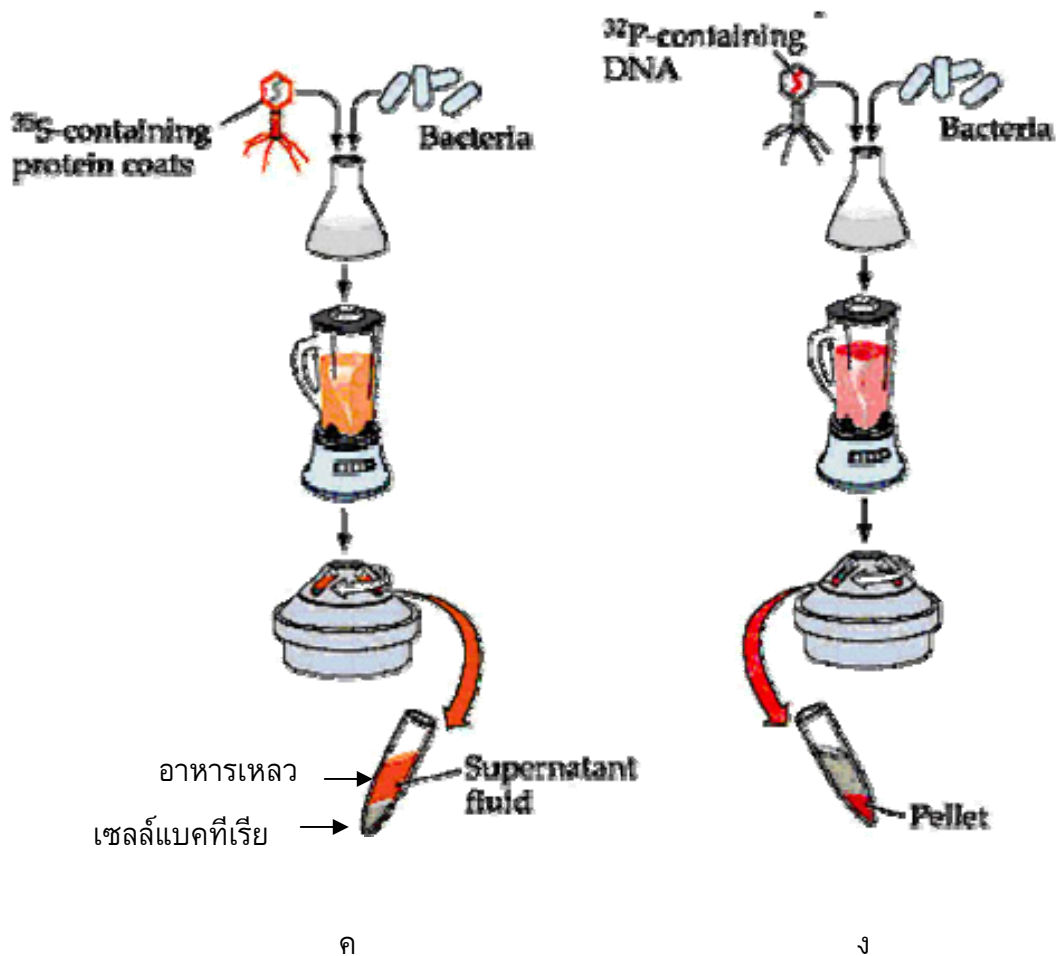
ข

รูปที่ 8.8 การทดลองของเฮอริเชย์ และเชสเพื่อพิสูจน์ว่า DNA เป็นสารพันธุกรรม

(ก) สร้างเฟจที่มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{35}S เป็นองค์ประกอบ

(ข) สร้างเฟจที่มีธาตุกำมะถันตรังสี ^{32}P เป็นองค์ประกอบ

(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)



รูปที่ 8.8 การทดลองของเฮอริเชย์ และเชสเพื่อพิสูจน์ว่า DNA เป็นสารพันธุกรรม

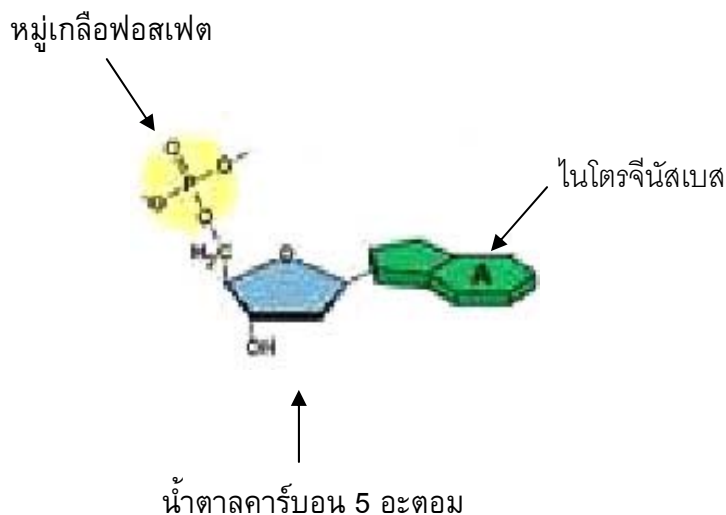
(ค) ส่วนที่เป็นโปรตีนของเฟจถูกทิ้งไว้ภายนอกเซลล์แบคทีเรีย

(ง) ส่วน DNA ของเฟจเท่านั้นที่ผ่านเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย

(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

8.3 องค์ประกอบ และโครงสร้างโมเลกุล DNA (Nature of the chemistry in DNA and Structure of DNA)

เอ. โคสเซล (A. Kossel) และเอ. ที. เลวิน (A. T. Levene) เป็นผู้มีบทบาทสำคัญในการศึกษาองค์ประกอบเคมีของกรดนิวคลีอิก เนื่องจากโคสเซล และเลวิน พบว่ากรดนิวคลีอิก



รูปที่ 8.9 กรดนิวคลีอิกทั้งสองชนิดประกอบมาจากนิวคลีโอไทด์ชิ้นเล็กๆ
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

นิวคลีโอไทด์ประกอบด้วย 3 ส่วนประกอบย่อย ดังนี้

1. ไนโตรจีนัสเบส ประกอบด้วยธาตุไนโตรเจน และเบส (รูปที่ 8.10) ซึ่งเบสสามารถแบ่งออกเป็น

- พิวรีน (Purine) โครงสร้างหลักประกอบด้วยวงแหวน 2 วง สารประกอบพิวรีนแบ่งตามสมบัติทางเคมี และธาตุที่เป็นองค์ประกอบได้ 2 ชนิด คือ อะดีนีน (adenine หรือ A) และกัวนีน (guanine หรือ G)

- ไพริมิดีน (Pyrimidine) โครงสร้างหลักประกอบด้วยวงแหวน 1 วง สารประกอบไพริมิดีนแบ่งตามสมบัติทางเคมี และธาตุที่เป็นองค์ประกอบได้ 3 ชนิด คือ ไทมีน (thymine หรือ T) ไซโตซีน (cytosine หรือ C) และยูราซิล (uracil หรือ U) แต่ไพริมิดีนชนิดยูราซิลจะพบเฉพาะในโมเลกุล RNA เท่านั้น

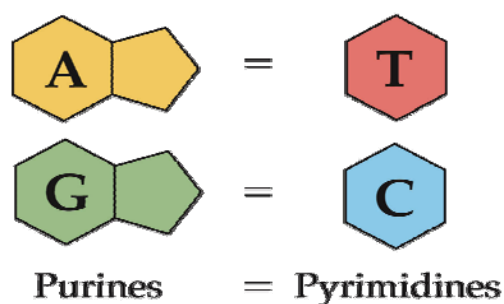
2. น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม (รูปที่ 8.11) สามารถแบ่งออกเป็น

- น้ำตาลไรโบส (ribose) เมื่อน้ำตาลไรโบสเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิกจะเรียกรดนิวคลีอิกชนิดนี้ว่า กรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic acid หรือ RNA)

- น้ำตาลดีออกซีไรโบส (deoxyribose) เมื่อน้ำตาลดีออกซีไรโบสเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิกจะเรียกรดนิวคลีอิกชนิดนี้ว่า กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid หรือ DNA)

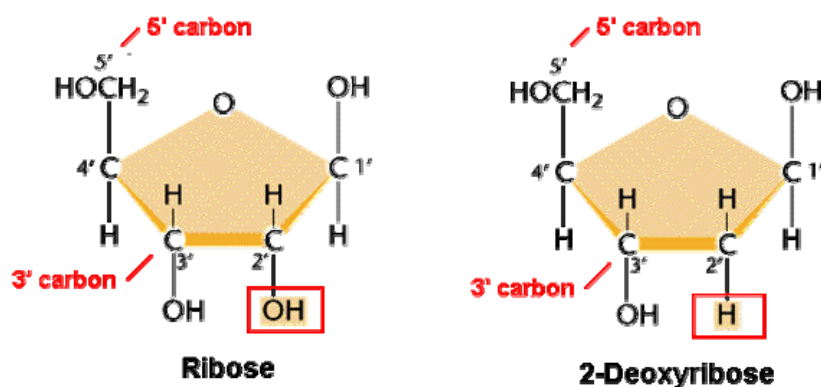
3. หมู่เกลือฟอสเฟต (PO_4^{3-})

มีคุณสมบัติทำให้โมเลกุลของกรดนิวคลีอิกมีคุณสมบัติเป็นกรด นอกจากนี้ฟอสเฟตยังเป็นตัวเชื่อม ระหว่างคาร์บอนตัวที่ 3 และ 5 ของน้ำตาลในแต่ละนิวคลีโอไทด์อีกด้วย (รูปที่ 8.12)



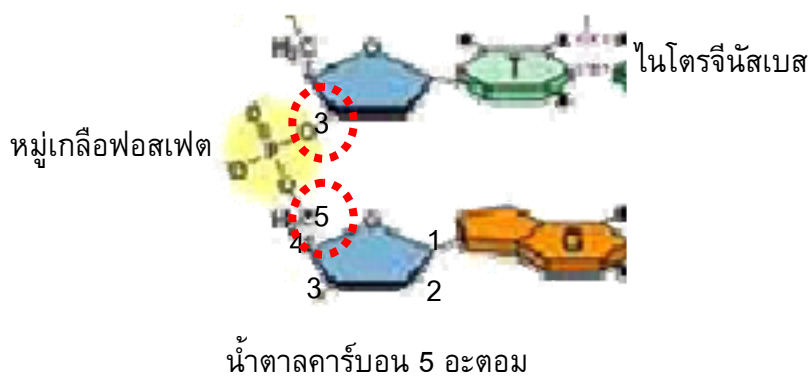
รูปที่ 8.10 โครงสร้างโมเลกุลของไนโตรจีนัสเบส ประเภทพิวรีน และไพริมิดีน

(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)



รูปที่ 8.11 โครงสร้างโมเลกุลของน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม ประเภทไรโบส และดีออกซีไรโบส

(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

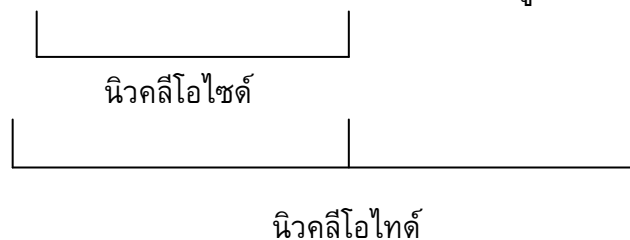


รูปที่ 8.12 หมู่เกลือฟอสเฟตเป็นตัวเชื่อมระหว่างคาร์บอนตัวที่ 3 และ 5 ของน้ำตาลในแต่ละนิวคลีโอไทด์

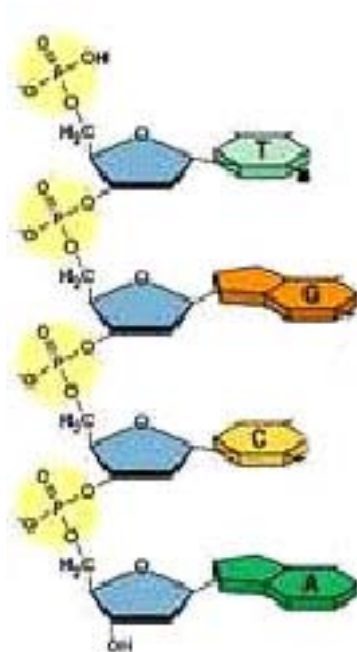
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

ดังนั้นโครงสร้างที่ประกอบด้วย ไนโตรจีนัสเบส น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม และหมู่เกลือฟอสเฟต เรียกว่า นิวคลีโอไทด์ เมื่อแต่ละนิวคลีโอไทด์มาต่อกันจนเป็นสายยาวจะเรียกว่า สายโพลีนิวคลีโอไทด์ (polynucleotide) (รูปที่ 8.13) แต่ถ้าหากโครงสร้างที่ไม่มีหมู่เกลือฟอสเฟต แต่มีเฉพาะไนโตรจีนัสเบส และน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม เรียกว่า นิวคลีโอไซด์ (nucleoside)

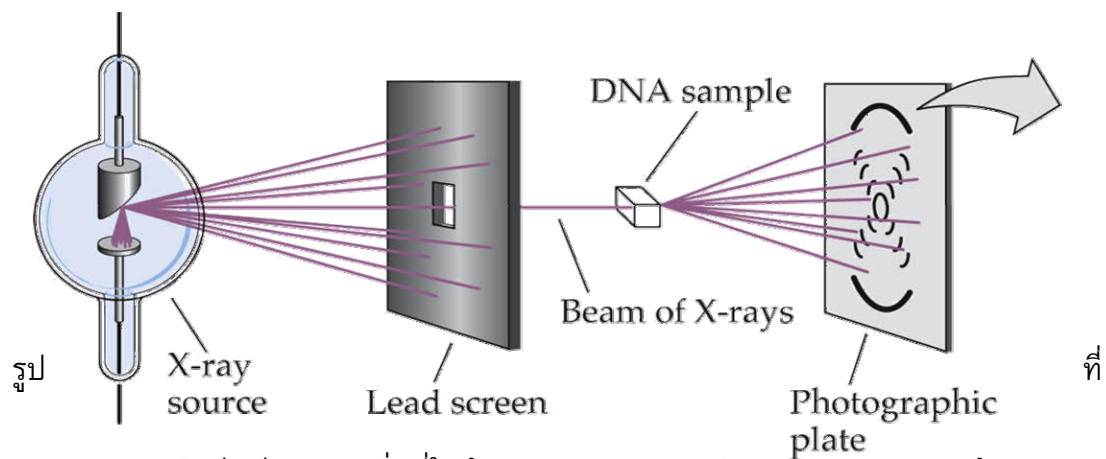
ไนโตรจีนัสเบส + น้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม + หมู่เกลือฟอสเฟต



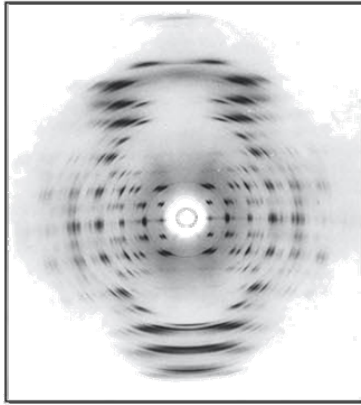
ในปี ค.ศ. 1949 อี. ชาร์แกฟฟ์ (E. Chargaff) พบว่าอัตราส่วนของคู่เบสระหว่าง A:T หรือ G:C ของโมเลกุล DNA มีค่าคงที่เสมอ ต่อปี ค.ศ. 1951 เอ็ม. เอช. เอฟ. (M. H. F. Wilkins) และ อาร์. อี. แฟรงกลิน (R. E. Franklin) ศึกษาวิธีการทำผลึกของ DNA และ ศึกษาสมบัติทางกายภาพของผลึก DNA โดยใช้เทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน (X-ray diffraction) ซึ่งเป็นการหาค่าสะท้อนของรังสีเอ็กซ์ที่ฉายผ่านผลึก DNA และทำให้เกิดภาพบนแผ่นฟิล์มแบบพิเศษ (รูปที่ 8.14) พบว่าภาพที่ได้มาจากโมเลกุล DNA ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ มีแบบแผนที่



รูปที่ 8.13 เมื่อแต่ละนิวคลีโอไทด์มาต่อกันจนเป็นสายยาวเรียกว่าสายโพลีนิวคลีโอไทด์
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)



8.14 เทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชันที่ใช้ศึกษา สมบัติทางกายภาพของผลึก DNA
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

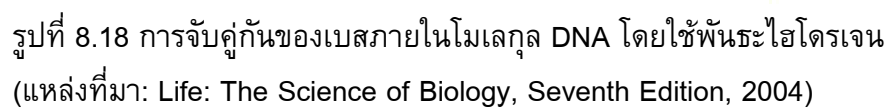
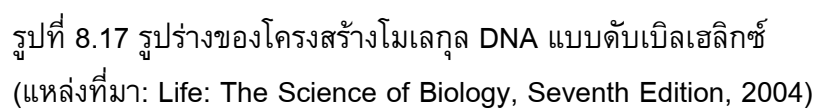


รูปที่ 8.15 ภาพของผลึก DNA ที่เกิดบนแผ่นฟิล์ม โดยใช้เทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

เจ. ดี. วัตสัน (J. D. Watson) และ เอฟ. เอช. ซี. คริก (F. H. C. Crick) (รูปที่ 8.16) รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างทางเคมีของส่วนประกอบต่างๆ ของโมเลกุล DNA และภาพจากเทคนิคเอ็กซ์เรย์ดิฟแฟรกชัน ทำให้ทราบว่าโครงสร้างโมเลกุล DNA ควรมีรูปร่างเป็นเกลียวคู่ คล้ายรอยขดลวดสปริง เรียกว่า ดับเบิลเฮลิคซ์ (double helix) (รูปที่ 8.17) นอกจากนี้ยังมีการยึดระหว่างสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายที่ขนานกัน ซึ่งมีน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอม และหมู่เกลือฟอสเฟตเป็นแกนหลัก สำหรับไนโตรจีนัสเบส จะยื่นออกมาจากน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมในสายโพลีนิวคลีโอไทด์สายหนึ่งเพื่อไปยึดจับกับสายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่เป็นสายตรงข้ามโดยใช้พันธะไฮโดรเจน นอกจากนี้เบส A จับคู่กับเบส T แบบพันธะคู่เสมอ ในขณะที่เบส C จับคู่กับเบส G แบบพันธะคู่เสมอ (รูปที่ 8.18)



รูปที่ 8.16 วัตสัน (ซ้าย) และคริก (ขวา) (แหล่งที่มา: <http://nitro.biosci.arizona.edu>)



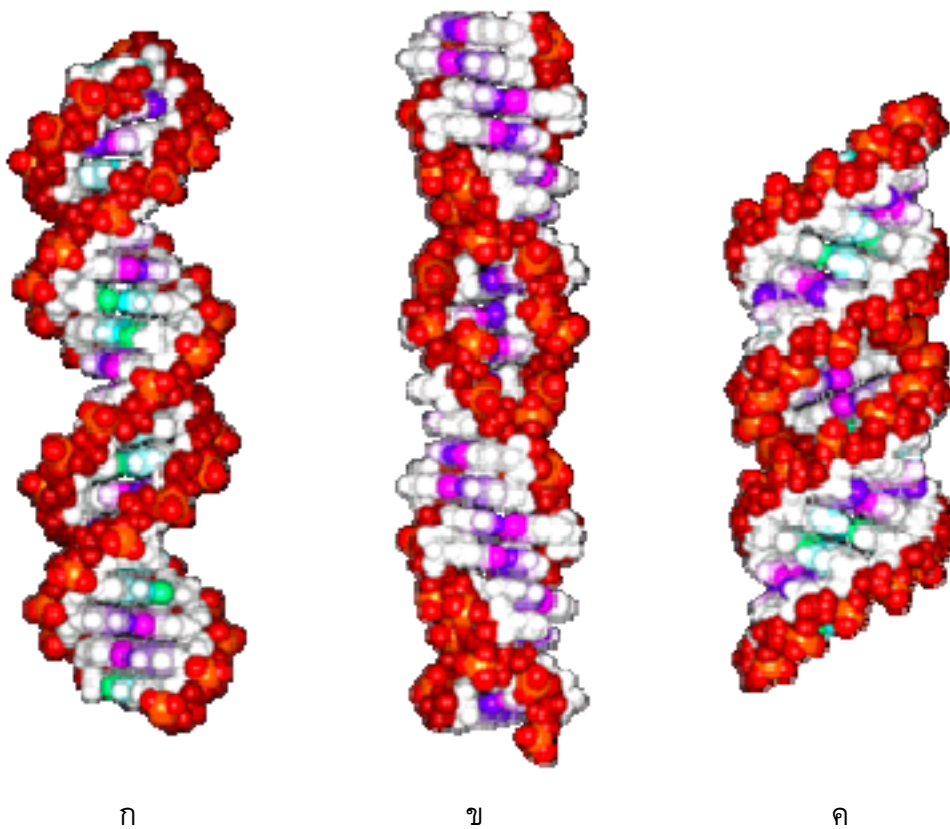
นอกจากนี้รูปแบบของโครงสร้างโมเลกุล DNA สามารถแบ่งออกได้ 3 แบบ (รูปที่ 8.19) ดังนี้

1. แบบ B เป็นแบบโมเลกุลที่อยู่ในสภาพปกติ ซึ่งเป็นแบบที่พบมากที่สุดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอต โครงสร้างโมเลกุล DNA แบบ B คั่นพบโดยวัตสัน และคริก ประกอบด้วยสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายพันกันเป็นเกลียวซึ่งกันและกัน ในทิศทางวนขวา นอกจากนี้สายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายจะขนานกัน และมีทิศทางตรงข้าม โครงสร้างโมเลกุล DNA มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเกลียวคู่ 2 นาโนเมตร ภายใน 1 เกลียวของโมเลกุล DNA ประกอบด้วย 10 คู่เบส แต่ละคู่เบสจะอยู่ห่างกัน 0.34 นาโนเมตร ดังนั้นแต่ละเกลียวของโมเลกุล DNA จึงมีขนาด 3.4 นาโนเมตร (รูปที่ 8.19 ก)

สำหรับส่วนของน้ำตาลคาร์บอน 5 อะตอมที่ต่ออยู่กับหมู่เกลือฟอสเฟต ทำหน้าที่เป็นแกนหลักซึ่งจะอยู่ด้านนอกของดับเบิลเฮลิคซ์ นอกจากนี้ส่วนเบสจะอยู่ส่วนกลางของแกน และทำหน้าที่ยึดสายโพลีนิวคลีโอไทด์ทั้ง 2 สายเข้าด้วยกันด้วยพันธะไฮโดรเจน ซึ่งมีการจับคู่กันอย่างจำเพาะเจาะจง คือ $A=T$ และ $C=G$ เรียกว่า การจับคู่แบบคอมพลีเมนต์ (complementary pair)

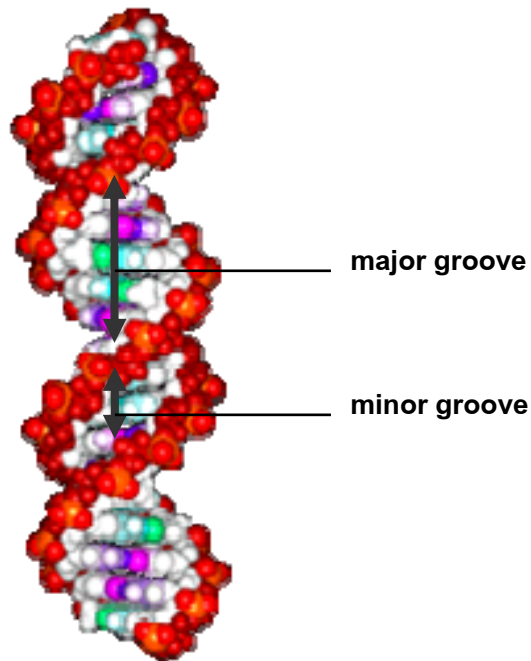
2. แบบ A เป็นแบบโมเลกุลที่อยู่ในสภาพสูญเสียน้ำ หรืออยู่ในสารละลายที่มีเกลือไฮเดียม โปแตสเซียม หรือซีเซียมอยู่ โครงสร้างโมเลกุล DNA แบบ A พบไม่บ่อยนัก ประกอบด้วยสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายพันกันเป็นเกลียวซึ่งกันและกัน ในทิศทางวนขวา (เหมือนโครงสร้างโมเลกุล DNA แบบ B) นอกจากนี้สายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายจะขนานกัน และมีทิศทางตรงข้าม โครงสร้างโมเลกุล DNA มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเกลียวคู่ 2.3 นาโนเมตร ภายใน 1 เกลียวของโมเลกุล DNA ประกอบด้วย 11-12 คู่เบส แต่ละคู่เบสจะอยู่ห่างกัน 0.26 นาโนเมตร (รูปที่ 8.19 ข)

3. แบบ Z เป็นแบบโมเลกุลที่ขึ้นอยู่กับการปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความเข้มข้นของเกลือ อุณหภูมิ โลหะบางชนิด การเรียงตัวของเบส เป็นต้น โครงสร้างโมเลกุล DNA แบบ Z พบไม่บ่อยนัก ประกอบด้วยสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายพันกันเป็นเกลียวซึ่งกันและกัน ในทิศทางวนซ้าย นอกจากนี้สายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายจะขนานกัน และมีทิศทางตรงข้าม โครงสร้างโมเลกุล DNA มีเส้นผ่านศูนย์กลางของเกลียวคู่ 1.8 นาโนเมตร ภายใน 1 เกลียวของโมเลกุล DNA ประกอบด้วย 12 คู่เบส แต่ละคู่เบสจะอยู่ห่างกัน 0.37 นาโนเมตร (รูปที่ 8.19 ค)



(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

จากรูปที่ 8.19 พบว่าการพันกันเป็นเกลียวคู่ของโมเลกุล DNA ทำให้เกิดร่อง 2 ขนาดที่เรียกว่า major groove และ minor groove

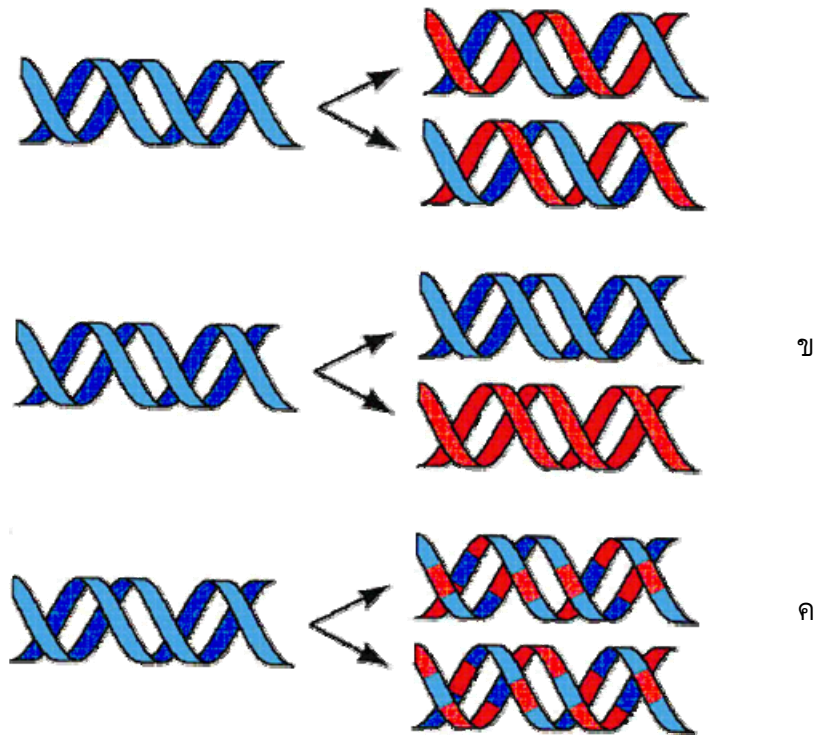


รูปที่ 8.20 ขนาดร่องที่เกิดขึ้นในการพันเกลียวของโมเลกุล DNA
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

8.4 การถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA (DNA replication)

การถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA มีไว้เพื่อให้โมเลกุล DNA สามารถสร้างตัวเองได้ จึงส่งผลให้เกิดการถ่ายทอดหน่วยพันธุกรรมจากชั่วรุ่นหนึ่ง (generation) ไปอีกชั่วรุ่นหนึ่ง

สำหรับกระบวนการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA วัตสัน และคริกได้อธิบายความเป็นไปได้ไว้ว่าโมเลกุล DNA จาก 1 โมเลกุล สามารถเพิ่มเป็น 2 โมเลกุลได้ โดยใช้สายโพลีนิวคลีโอไทด์สายเก่าเป็นสายต้นแบบ (DNA template) ดังนั้นโมเลกุล DNA ที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่จะมีสายโพลีนิวคลีโอไทด์สายหนึ่งเป็นสายใหม่ และอีกสายหนึ่งจะเป็นสายเดิม เรียกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA แบบนี้ว่า เซมิคอนเซอร์เวทีฟ (semi-conservative) (รูปที่ 8.21 ก) แต่นักวิทยาศาสตร์อีกสองกลุ่มเชื่อว่าการถอดแบบจำลองโมเลกุลของ DNA สามารถเป็นแบบคอนเซอร์เวทีฟ (conservative) คือ โมเลกุลของ DNA ที่เกิดขึ้นจะมีโมเลกุลหนึ่งซึ่งทั้งสองสายโพลีนิวคลีโอไทด์เหมือนเดิมล้วน และอีกโมเลกุลหนึ่งประกอบด้วยสายโพลีนิวคลีโอไทด์



รูปที่ 8.21 การถอดแบบจำลองโมเลกุลของ DNA

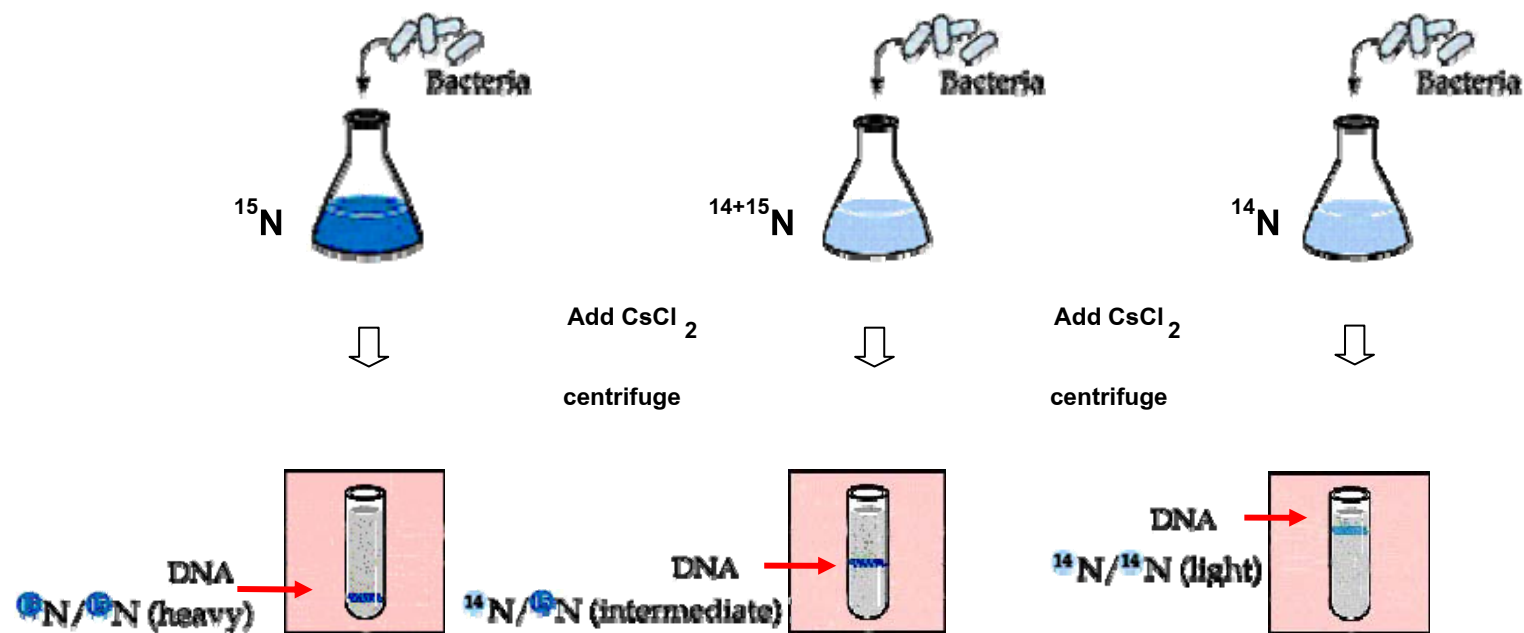
(ก) แบบเซมิคอนเซอร์เวทีฟ (ข) แบบคอนเซอร์เวทีฟ (ค) แบบดิสเพอร์ซีฟ

(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

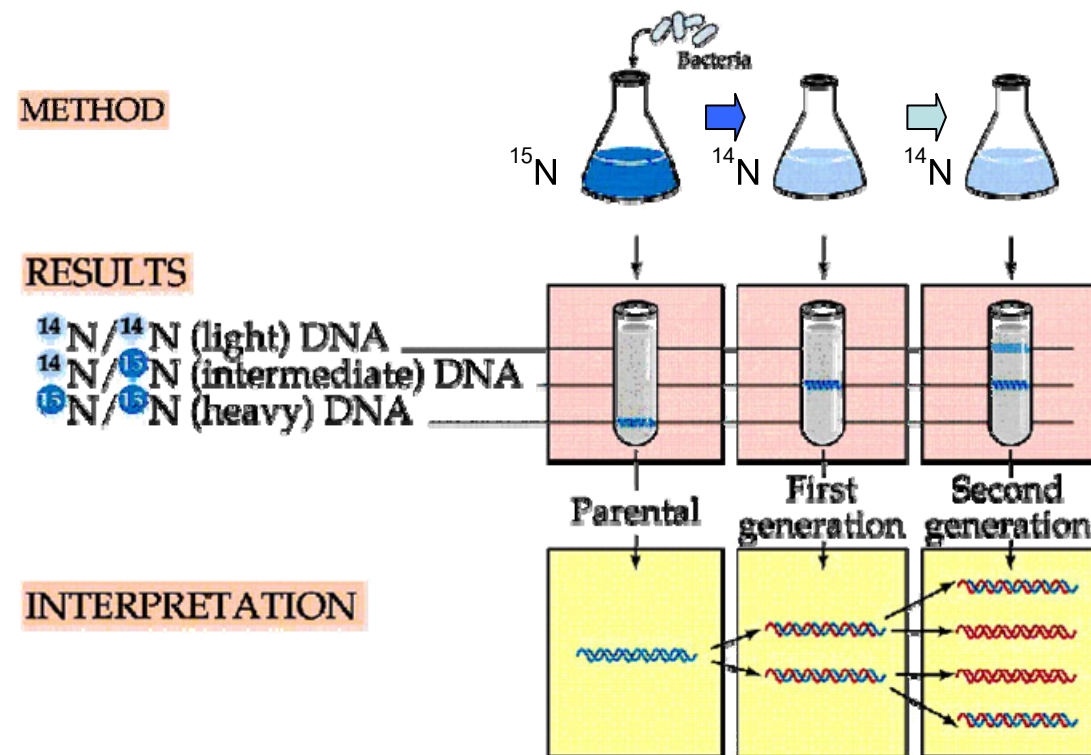
ต่อมาในปี ค.ศ. 1958 เจ. เอ็ม. เมเซลสัน (M. Meselson) และ เอฟ. ดับเบิลยู. สทอลล์ (F. W. Stahl) ทำการศึกษาการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA ในแบคทีเรีย *E. coli* โดยใช้ธาตุกัมมันตรังสี (^{14}N และ ^{15}N) สำหรับทำเป็นเครื่องหมายโมเลกุล DNA ในการทดลองจะเลี้ยงเชื้อ *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบของแอมโมเนียมซัลเฟตที่มีธาตุกัมมันตรังสีไนโตรเจน [$^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] เพื่อเปรียบเทียบกับ *E. coli* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยธาตุไนโตรเจนปกติ (^{14}N) ที่เลือกใช้ธาตุไนโตรเจน เนื่องจากโมเลกุล DNA มีองค์ประกอบของธาตุไนโตรเจน นอกจากนี้โมเลกุล DNA ที่ประกอบด้วย ^{15}N จะมีน้ำหนักที่หนักกว่า ^{14}N ดังนั้นเมื่อทำการทดลองจึงสามารถสังเกตเห็นความแตกต่างของโมเลกุลทั้งสองแบบได้ โดยใช้เทคนิคเซนตริฟิวจ์ (centrifuge) ในสารละลายซีเซียมคลอไรด์ (CsCl_2) และ

คลอไรด์ และ DNA ผสมกัน จากนั้นนำเข้าเครื่องเซนตริฟิวจ์ และใช้ความเร็วสูงในการปั่น ตกตะกอนเป็นระยะเวลาสั้นพอสมควร พบว่าโมเลกุลของซีซีเอ็มคลอไรด์อยู่บริเวณกลางหลอดทดลอง ในขณะที่โมเลกุลที่มีขนาด และน้ำหนักเบาจะอยู่ค่อนไปด้านปลายหลอดทดลอง และโมเลกุลที่มีขนาด และน้ำหนักที่หนักกว่าจะอยู่บริเวณก้นหลอดทดลอง ดังนั้นถ้า นำเอาสารผสมของ DNA ทั้ง 3 ชนิด คือ DNA ชนิดที่ประกอบด้วย ^{15}N DNA ชนิดที่ประกอบด้วย ^{14}N และ DNA ชนิดที่ประกอบด้วย $^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}$ ผสมเข้ากับสารละลายซีซีเอ็มคลอไรด์ แล้วนำเข้าเครื่องเซนตริฟิวจ์ พบว่าแถบความหนาของ DNA ทั้ง 3 ชนิดแยกออกจากกัน ซึ่ง DNA ชนิดที่ประกอบด้วย ^{15}N อยู่บริเวณก้นหลอดทดลอง DNA ชนิดที่ประกอบด้วย $^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}$ อยู่บริเวณกลางหลอดทดลอง และ DNA ชนิดที่ประกอบด้วย ^{14}N อยู่บริเวณก้นหลอดทดลอง (รูปที่ 8.22)

จากนั้นเมเซลสัน และสทาล์นำความรู้จากที่กล่าวมาข้างต้น นำมาประยุกต์ใช้กับการทดลอง ซึ่งเริ่มแรกจะเลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* ในสารอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี ^{15}N หลายชั่วอายุจนแน่ใจว่าแบคทีเรียทุกเซลล์มี DNA ที่ประกอบด้วย ^{15}N อย่างครบถ้วน จากนั้นแบ่งเซลล์แบคทีเรียออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกนำไปผสมกับสารละลายซีซีเอ็มคลอไรด์แล้วนำเข้าเครื่องเซนตริฟิวจ์ พบว่า DNA อยู่บริเวณก้นหลอดทดลอง แสดงว่า DNA ของแบคทีเรียเป็นชนิดที่ประกอบด้วย ^{15}N สำหรับเซลล์แบคทีเรียส่วนที่สองจะนำไปเลี้ยงต่อในสารอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี ^{14}N ระยะหนึ่ง จากนั้นแบ่งเซลล์แบคทีเรียออกเป็น 2 ส่วนเช่นเดียวกับข้างต้น พบว่า DNA อยู่บริเวณกลางหลอดทดลอง แสดงว่า DNA ของแบคทีเรียเป็นชนิดที่ประกอบด้วย $^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}$ และเมื่อนำแบคทีเรียส่วนที่ 2 ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี ^{14}N อีกครั้งหนึ่ง พบว่า DNA อยู่บริเวณกลางหลอดทดลอง และปลายหลอดทดลอง แสดงว่า DNA ของแบคทีเรียเป็นชนิดที่ประกอบด้วย $^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}$ และ ^{14}N ตามลำดับ (รูปที่ 8.23) จากการทดลองของเมเซลสัน และสทาล์ ทำให้ทราบว่า การจำลองโมเลกุล DNA เป็นแบบกึ่งคอนเซอร์เวทีฟ



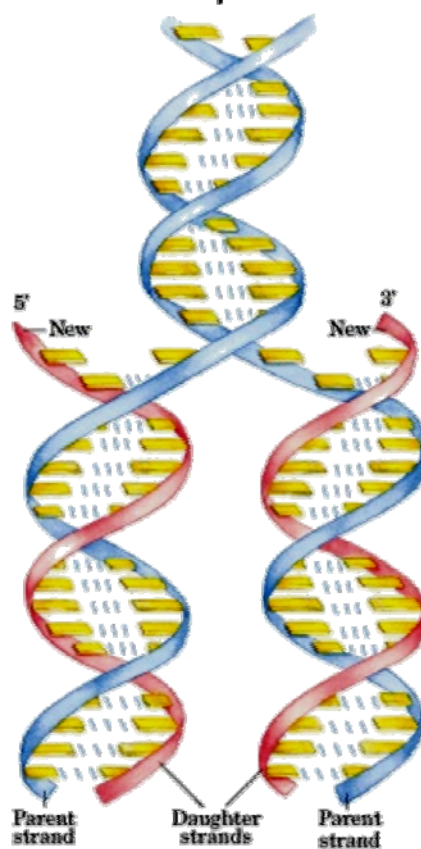
รูปที่ 8.22 การนำสารผสมของ DNA ทั้ง 3 ชนิด คือ DNA ชนิดที่มี ^{15}N DNA ชนิดที่มี ^{14}N และ DNA ชนิดที่มี $^{14}\text{N} + ^{15}\text{N}$ ผสมเข้ากับสารละลายซีเซียมคลอไรด์ แล้วนำเข้าเครื่องเซนตริฟิวจ์
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)



รูปที่ 8.23 การทดลองของเมเซลสัน และสทาล์
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA ของวัตสัน และคริก

โมเลกุล DNA เกิดการคลายเกลียว เนื่องจากพันธะไฮโดรเจนที่เชื่อมระหว่างเบสของสายโพลีนิวคลีโอไทด์ทั้ง 2 สายถูกทำลาย ทำให้โมเลกุลของ DNA มีลักษณะคล้ายการรูดซิปเปิด จากนั้นสายโพลีนิวคลีโอไทด์แต่ละสายจะทำหน้าที่เป็นต้นแบบ (template) สดทำยได้ โมเลกุล DNA เกิดขึ้นใหม่ 2 โมเลกุล ซึ่งแต่ละโมเลกุลมีการถอดแบบจำลองแบบเซมิคอนเซอร์เวทีฟ (รูปที่ 8.24)



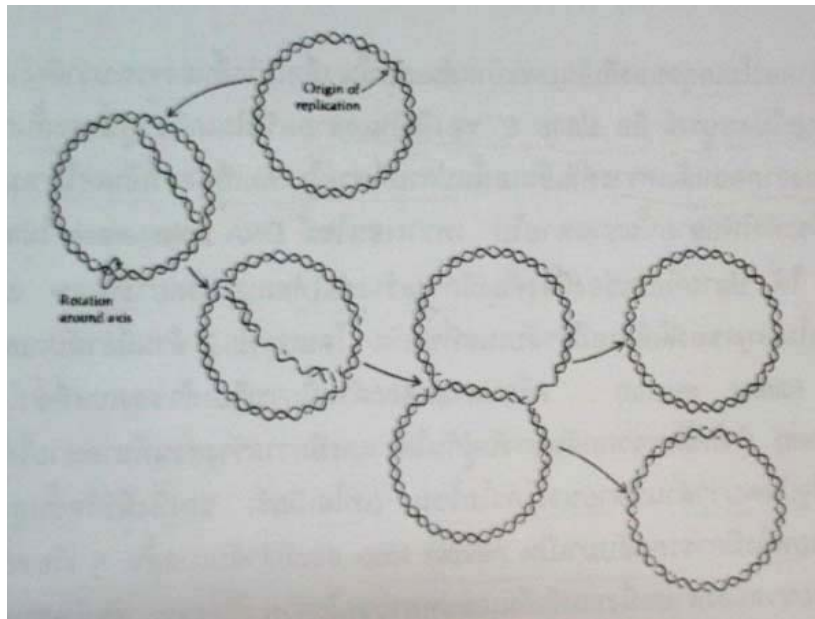
รูปที่ 8.24 กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA ของวัตสัน และคริก
(แหล่งที่มา: Life: The Science of Biology, Seventh Edition, 2004)

นอกจากนี้ยังพบว่ารูปแบบการจำลองโมเลกุลของ DNA สามารถแบ่งได้เป็น 3 แบบ ดังนี้

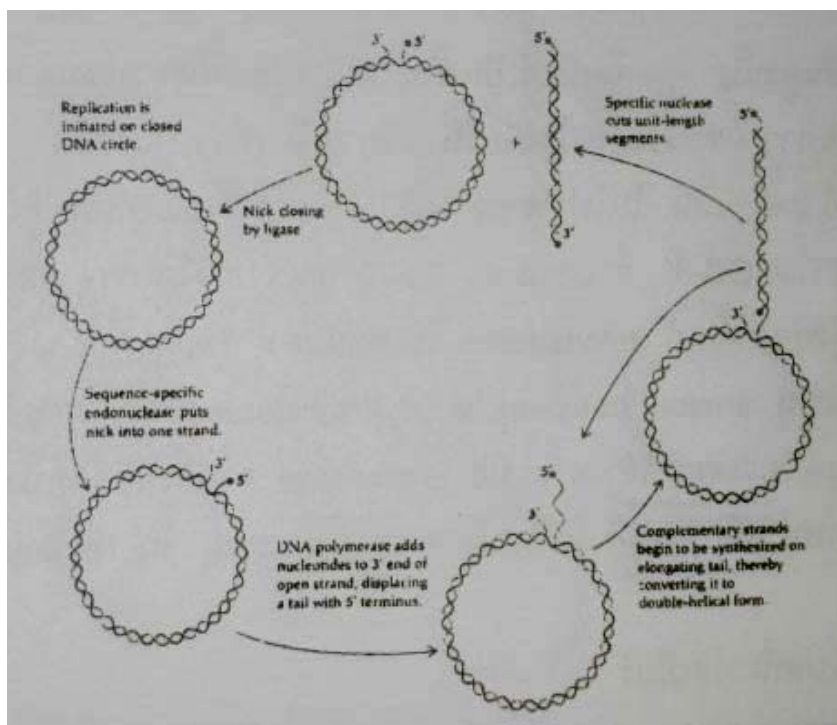
- theta model พบในกรณีที่โมเลกุล DNA เป็นวงแหวน เช่น *E. coli* และไมโตคอนเดรียของสิ่งมีชีวิตชั้นสูง โดยมีจุดเริ่มต้นที่จำเพาะเพียงจุดเดียวบนโมเลกุล DNA จากนั้นมีการจำลองตัวแบบสองทิศทาง ทำให้ระหว่างเกิดการจำลองโมเลกุล DNA มีรูปร่างคล้ายอักษร theta เมื่อจบกระบวนการจำลองโมเลกุล DNA จะได้ DNA รูปวงแหวน 2 โมเลกุล (รูปที่ 8.25)

- sigma หรือ rolling circle model พบในวงจรสิ่งมีชีวิตที่มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโมเลกุล DNA จากวงแหวนไปเป็นเส้นยาว เช่น เฝจแลมบ์ดา โดยมีจุดเริ่มต้นจุดหนึ่งที่บริเวณสาย DNA เส้นใดเส้นหนึ่ง ทำให้ปลาย 5' ของสาย DNA ที่ขาดคลายเกลียวออก และเป็นสายต้นแบบในการสังเคราะห์ DNA สายใหม่ ขณะที่ปลาย 3' ของสาย DNA ที่ขาดจะทำหน้าที่เป็นไพรเมอร์ให้ ทำให้ระหว่างเกิดการจำลองโมเลกุล DNA มีรูปร่างคล้ายอักษร sigma เมื่อจบกระบวนการจำลองโมเลกุล DNA จะได้ DNA รูปวงแหวน 1 โมเลกุล และเป็นสายยาว 1 โมเลกุล (รูปที่ 8.26)

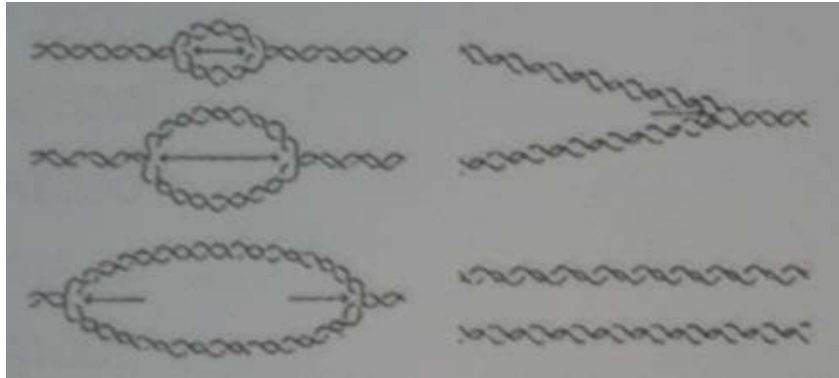
- Y-shaped model พบใน DNA ของไวรัสที่เป็นเส้นยาว และในโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตชั้นสูงที่มี DNA เป็นเส้นยาว สำหรับไวรัสมีจุดเริ่มต้นเพียง 1 จุดเท่านั้น (1 replicon) ในขณะที่สิ่งมีชีวิตชั้นสูงมีจุดเริ่มต้นได้มากกว่า 1 จุด (หลาย replicon) การสังเคราะห์ DNA สายใหม่สามารถเกิดขึ้นได้ 2 ทิศทาง ทำให้ระหว่างการจำลองโมเลกุล DNA มีรูปร่างคล้ายอักษร Y เมื่อสิ้นสุดกระบวนการจะได้ DNA ที่เป็นเส้นยาว 2 โมเลกุล (รูปที่ 8.27)



รูปที่ 8.25 การจำลองโมเลกุลของ DNA แบบ theta model
(แหล่งที่มา: สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2543)



รูปที่ 8.26 การจำลองโมเลกุลของ DNA แบบ sigma หรือ rolling circle model
(แหล่งที่มา: สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล, 2543)



รูปที่ 8.27 การจำลองโมเลกุลของ DNA แบบ Y-shaped model
(แหล่งที่มา: สุรินทร์ ปิยะโชคนากุล, 2543)

กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA ในปัจจุบัน

การสังเคราะห์สาย DNA สามารถเกิดในทิศทาง $5' \longrightarrow 3'$ เท่านั้น ดังนั้นการสังเคราะห์สาย DNA สายใหม่ที่มีสาย DNA ต้นแบบ (DNA template) อยู่ในทิศทาง $3' \longrightarrow 5'$ สามารถสังเคราะห์ได้ง่าย สำหรับสาย DNA สายใหม่ที่สร้างขึ้นในทิศทาง $5' \longrightarrow 3'$ เรียกว่าสายลีดดิ้ง (leading strand) ในขณะที่สาย DNA ที่มีสาย DNA ต้นแบบอยู่ในทิศทาง $5' \longrightarrow 3'$ ทำให้สายใหม่ที่สร้างขึ้นต้องสร้างทีละช่วงได้เป็นชิ้นส่วนสั้นๆ เรียกว่า ชิ้นส่วนโอกาซากิ (okazaki fragment) แล้วจึงเชื่อมต่อเป็นสายยาวที่เรียกว่า สายแลกกิง (lagging strand)

เอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์สาย DNA สายใหม่ที่เป็นคู่กับสาย DNA ต้นแบบ มีดังนี้

1. เอนไซม์เฮลิเคส (helicase) ทำหน้าที่สลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสของพอลินิวคลีโอไทด์ทั้ง 2 สาย
2. โปรตีนสำหรับเชื่อม DNA สายเดี่ยว (single strand DNA binding protein, SSB) ทำหน้าที่จับกับ DNA สายเดี่ยว เพื่อป้องกันไม่ให้สาย DNA กลับมาพันเป็นสายคู่อีก นอกจากนี้ยังป้องกัน DNA สายเดี่ยวไม่ให้ถูกย่อยด้วยเอนไซม์นิวคลีเอส (nuclease) อีกด้วย
3. เอนไซม์โทโปไอโซเมอเรส (topoisomerase) ทำหน้าที่ตัด DNA สายใดสายหนึ่งออกเพื่อคลายเกลียว
4. เอนไซม์ไพรมเอส (primase) ทำหน้าที่สังเคราะห์ RNA เพื่อใช้เป็นไพรมอร์ (primer) เนื่องจากเอนไซม์ DNA polymerase ไม่สามารถเริ่มสังเคราะห์โดยตัวเองได้

5. เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA polymerase) ทำหน้าที่สังเคราะห์สาย DNA โดยนำนิวคลีโอไทด์ใหม่เข้าไปต่อที่บริเวณ 3' ใน *E. coli* ประกอบด้วย

- DNA polymerase I ทำหน้าที่ต่อสายนิวคลีโอไทด์ให้ยาวขึ้น ตัด RNA ไพรมอร์ออก และทำการตรวจสอบ พร้อมทั้งแก้ไขเบสที่เข้าคู่กันผิดให้ถูกต้อง นอกจากนี้ยังสามารถเชื่อมต่อชิ้นส่วนย่อยๆ ของ DNA ให้เป็น DNA สายยาวที่ต่อเนื่องกันได้

- DNA polymerase II ทำหน้าที่เติมนิวคลีโอไทด์ (หน้าที่ไม่แน่ชัด)

- DNA polymerase III ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์หลักในการจำลองโมเลกุลของ DNA

6. เอนไซม์ไลเกส (DNA ligase) ทำหน้าที่เชื่อมโมเลกุล DNA ระหว่างการจำลองตัว การซ่อมแซม และการเรียงตัวใหม่ของ DNA เอนไซม์ ligase สร้างพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ เชื่อมระหว่างรอยขาด (nick) ของโมเลกุลน้ำตาลของนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ติดกัน

ขั้นตอนการสังเคราะห์สาย leading strand DNA ($5' \rightarrow 3'$) มีดังนี้

1. เอนไซม์เฮลิเคส สลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสของสายโพลีนิวคลีโอไทด์ทั้ง

- 2 สาย (รูปที่ 8.28 ก)

2. โปรตีนสำหรับเชื่อม DNA สายเดี่ยว (SSB) เข้าไปจับกับ DNA สายเดี่ยว หรือสายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่เพิ่งแยกออกจากกัน เพื่อป้องกันสาย DNA สายเดี่ยวกลับมาพันเป็นสายคู่อีก นอกจากนี้ยังเป็นการป้องกันเอนไซม์นิวคลีโอสมาย่อย DNA สายเดี่ยวอีกด้วย (รูปที่ 8.28 ข)

3. เอนไซม์โทโปไอโซเมอเรส ตัดสาย DNA สายคู่สายใดสายหนึ่งออก เพื่อคลายเกลียว (รูปที่ 8.28 ค)

4. เอนไซม์ไพรมีส ทำหน้าที่สังเคราะห์ RNA เพื่อใช้เป็นไพรมอร์ให้กับสาย DNA สายใหม่ (leading strand) เนื่องจากเอนไซม์ DNA polymerase ไม่สามารถเริ่มสังเคราะห์โดยตัวเองได้ ถ้าปราศจาก RNA ไพรมอร์ (รูปที่ 8.28 ง)

5. เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส ช่วยในการจำลองโมเลกุลของ DNA สายใหม่ในทิศทาง $5' \rightarrow 3'$ โดย DNA สายใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นจะต้องมีลำดับเบสที่จำเพาะเจาะจงกับสาย DNA สายเดี่ยวที่เป็นสายต้นแบบ เรียกสาย DNA สายใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นนี้ว่า leading strand DNA (รูปที่ 8.28 จ)



สลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสของสายโพลีนิวคลีโอไทด์ทั้ง

2 สาย (รูปที่ 8.28 ก)

2. โปรตีนสำหรับเชื่อม DNA สายเดี่ยว (SSB) เข้าไปจับกับ DNA สายเดี่ยว หรือสายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่เพิ่งแยกออกจากกัน เพื่อป้องกันสาย DNA สายเดี่ยวลับมาพันเป็นสายคู่อีก นอกจากนี้ยังเป็นการป้องกันเอนไซม์นิวคลีเอสมาย่อย DNA สายเดี่ยวอีกด้วย (รูปที่ 8.28 ข)

3. เอนไซม์โทโปไอโซเมอเรส ตัดสาย DNA สายคู่สายใดสายหนึ่งออก เพื่อคลายเกลียว (รูปที่ 8.28 ค)

4. เอนไซม์ไพรเมส ทำหน้าที่สังเคราะห์ RNA เพื่อใช้เป็นไพรเมอร์ให้กับสาย DNA สายใหม่ (lagging strand) เนื่องจากเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส ไม่สามารถเริ่มสังเคราะห์โดยตัวเองได้ ถ้าปราศจาก RNA ไพร์เมอร์ (รูปที่ 8.28 ง)

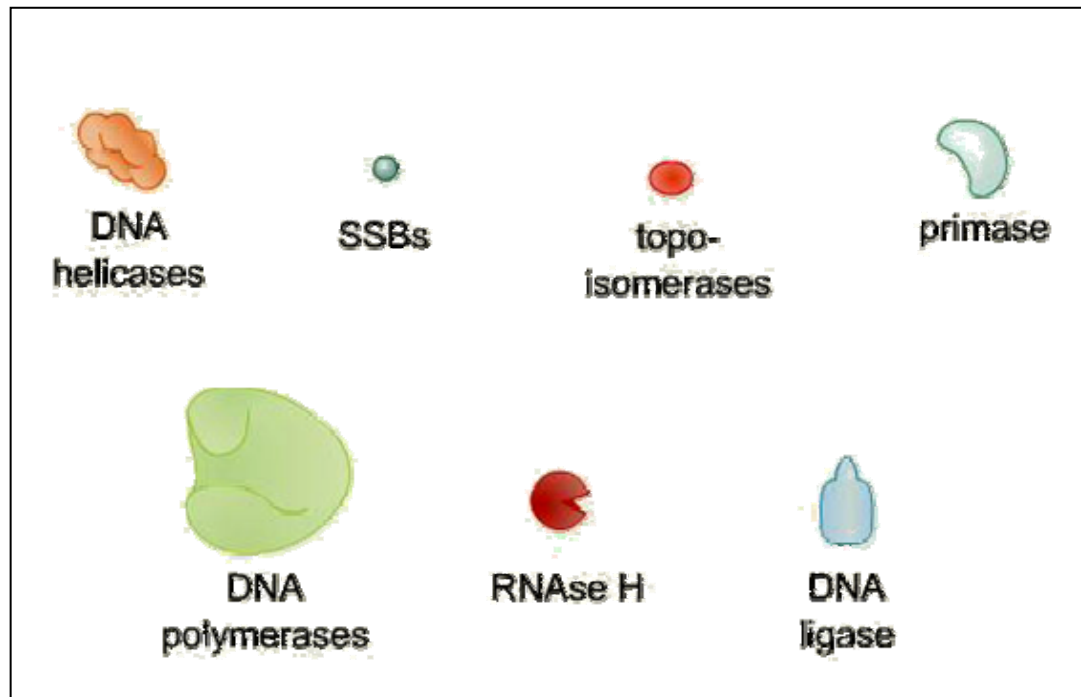
5. เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส ช่วยในการจำลองโมเลกุลของ DNA สายใหม่ในทิศทาง 5'→3' โดย DNA สายใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นจะต้องมีลำดับเบสที่จำเพาะเจาะจงกับสาย DNA สายเดี่ยวที่เป็นสายต้นแบบ เรียกสาย DNA สายใหม่ที่สังเคราะห์ขึ้นนี้ว่า lagging strand DNA (รูปที่ 8.28 จ) แต่ทิศทางการคลายเกลียว จะมีผลต่อการสังเคราะห์สาย lagging strand DNA เนื่องจากเอนไซม์เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส สามารถจำลองโมเลกุลได้ในทิศทาง 5'→3' เท่านั้น ดังนั้นจึงต้องมีการสร้าง RNA ไพร์เมอร์ขึ้นหลายชิ้น แล้วเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส จึงสังเคราะห์สาย DNA เส้นสั้นๆหลายชิ้น ซึ่งเรียกว่าชิ้นส่วนโอกาซากิ (okazaki fragment) (รูปที่ 8.28 ฉ)

6. เอนไซม์ RNAses ทำหน้าที่ทำลาย RNA ไพร์เมอร์ที่สังเคราะห์ไว้ แต่หนังสือบางเล่มอาจบอกว่าเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส I เป็นตัวทำลาย RNA ไพร์เมอร์ที่ถูกสังเคราะห์ไว้ (รูปที่ 8.28 ช)

7. เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส ช่วยเติมนิวคลีโอไทด์แทนบริเวณ RNA ไพร์เมอร์ (รูปที่ 8.28 ซ)

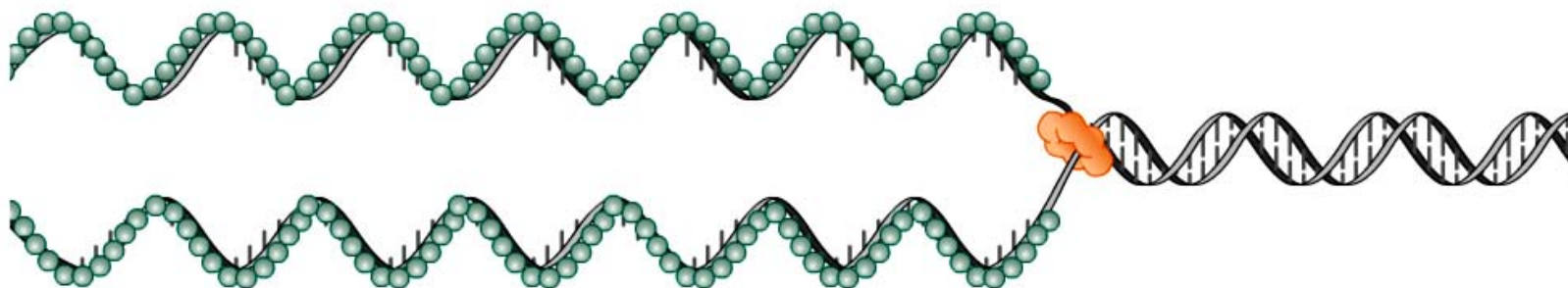
8. เอนไซม์ไลเกส สร้างพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์เชื่อมระหว่างรอยขาดของโมเลกุลน้ำตาลของนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ติดกัน (รูปที่ 8.28 ฅ)

รูปสัญลักษณ์ที่ใช้แทนเอนไซม์ และโปรตีนในกลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA



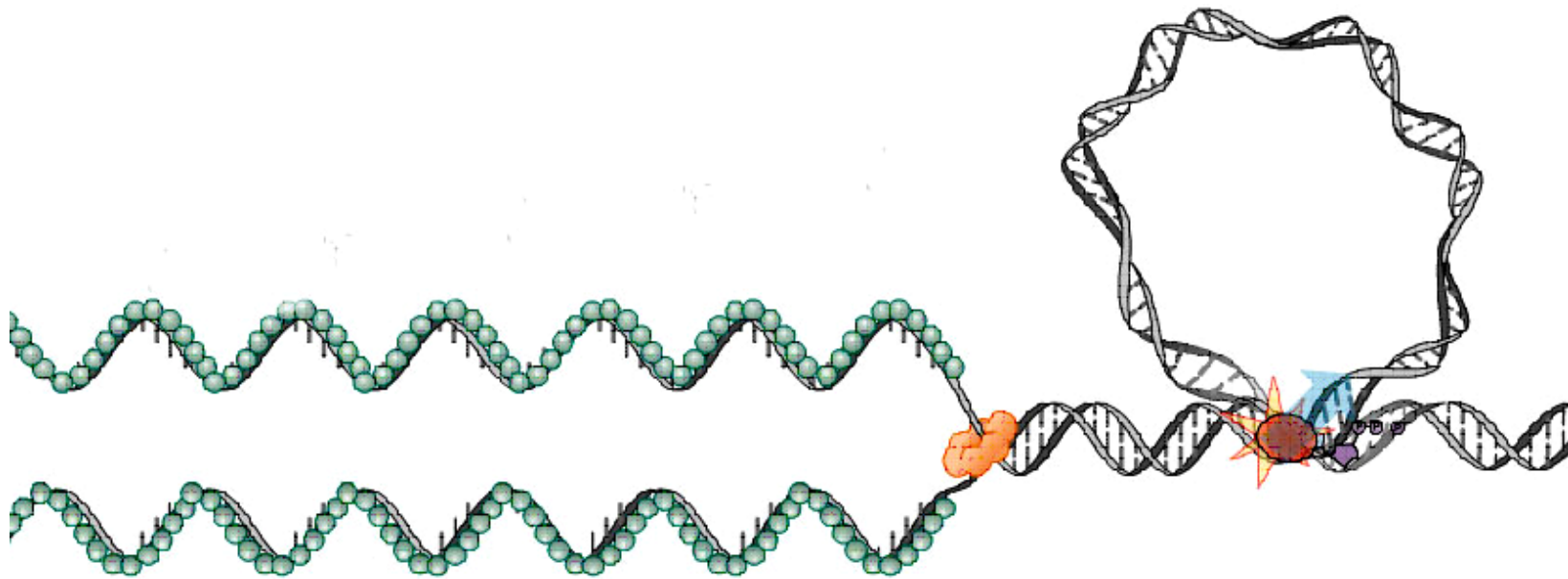


ก



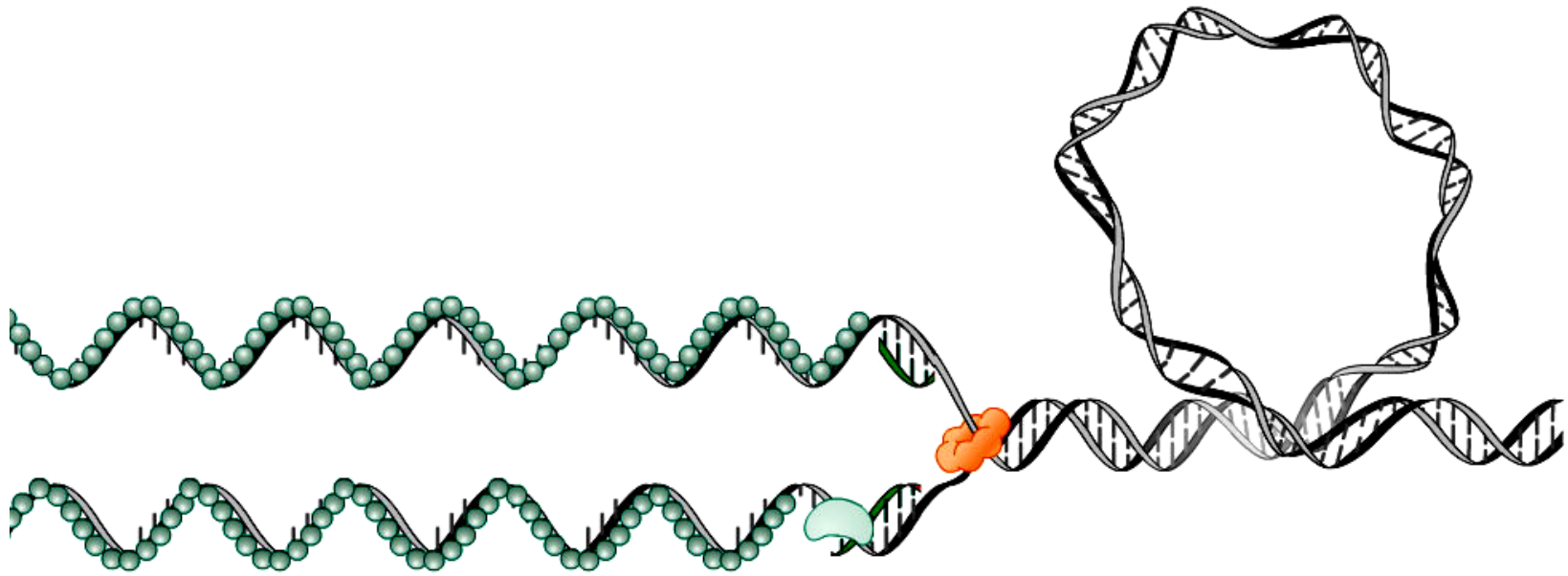
ข

รูปที่ 8.28 กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA (ก) การทำงานของเอนไซม์เฮลิเคส (ข) การทำงานของโปรตีน SSB
(แหล่งที่มา: Molecular Biology of the Gene, Fifth Edition, 2004)



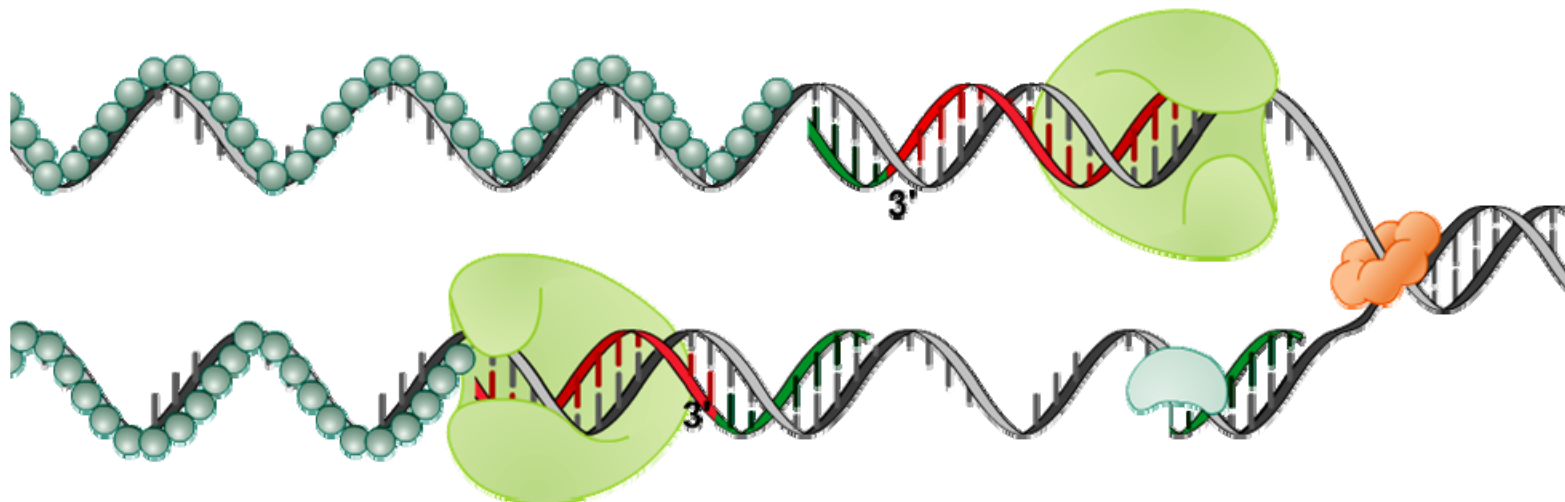
ค

รูปที่ 8.28 กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA (ค) การทำงานของเอนไซม์โทโปไอโซเมอเรส
(แหล่งที่มา: Molecular Biology of the Gene, Fifth Edition, 2004)



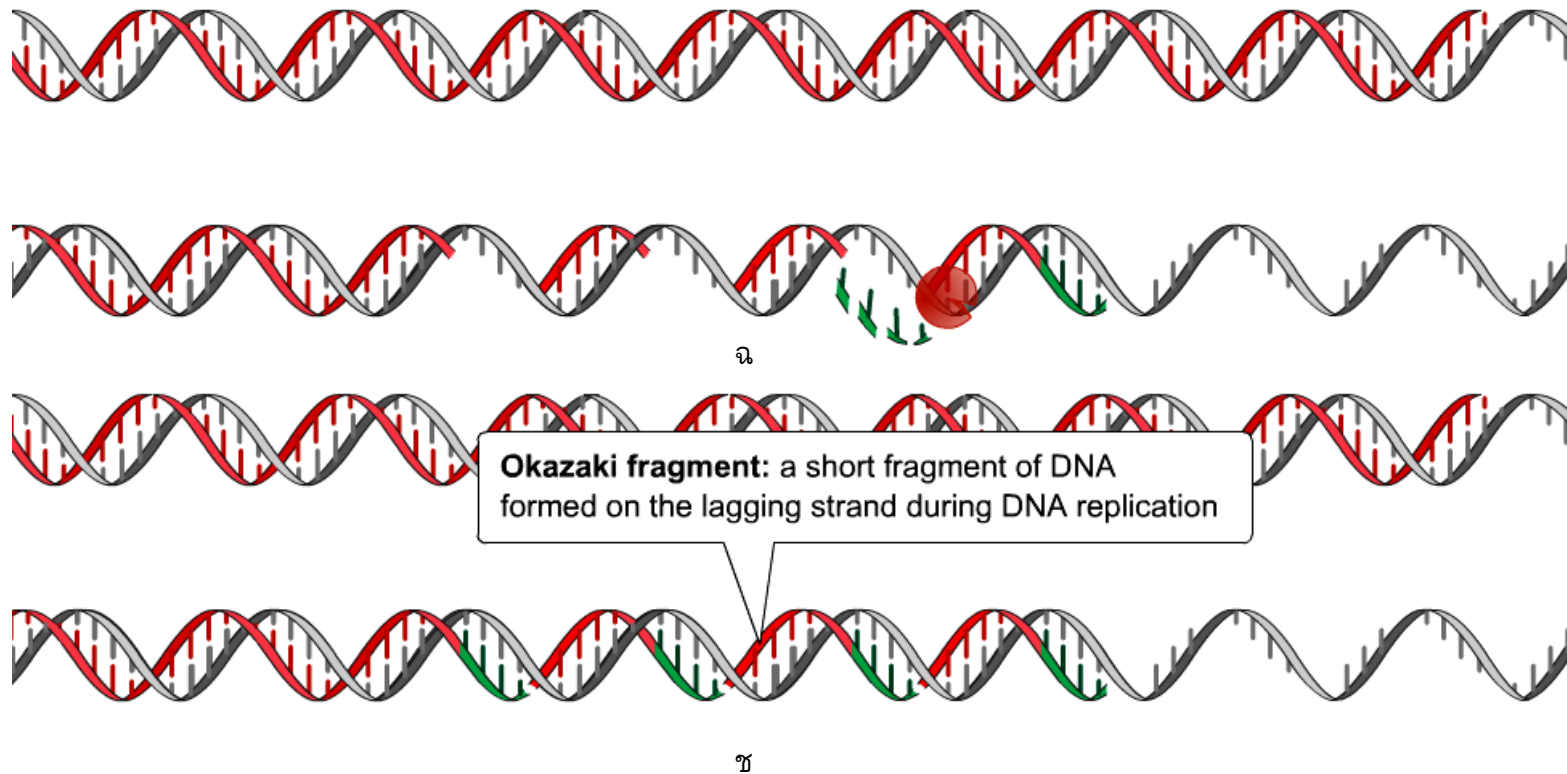
ง

รูปที่ 8.28 กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA (ง) การทำงานของเอนไซม์ไพรมเอส
(แหล่งที่มา: Molecular Biology of the Gene, Fifth Edition, 2004)

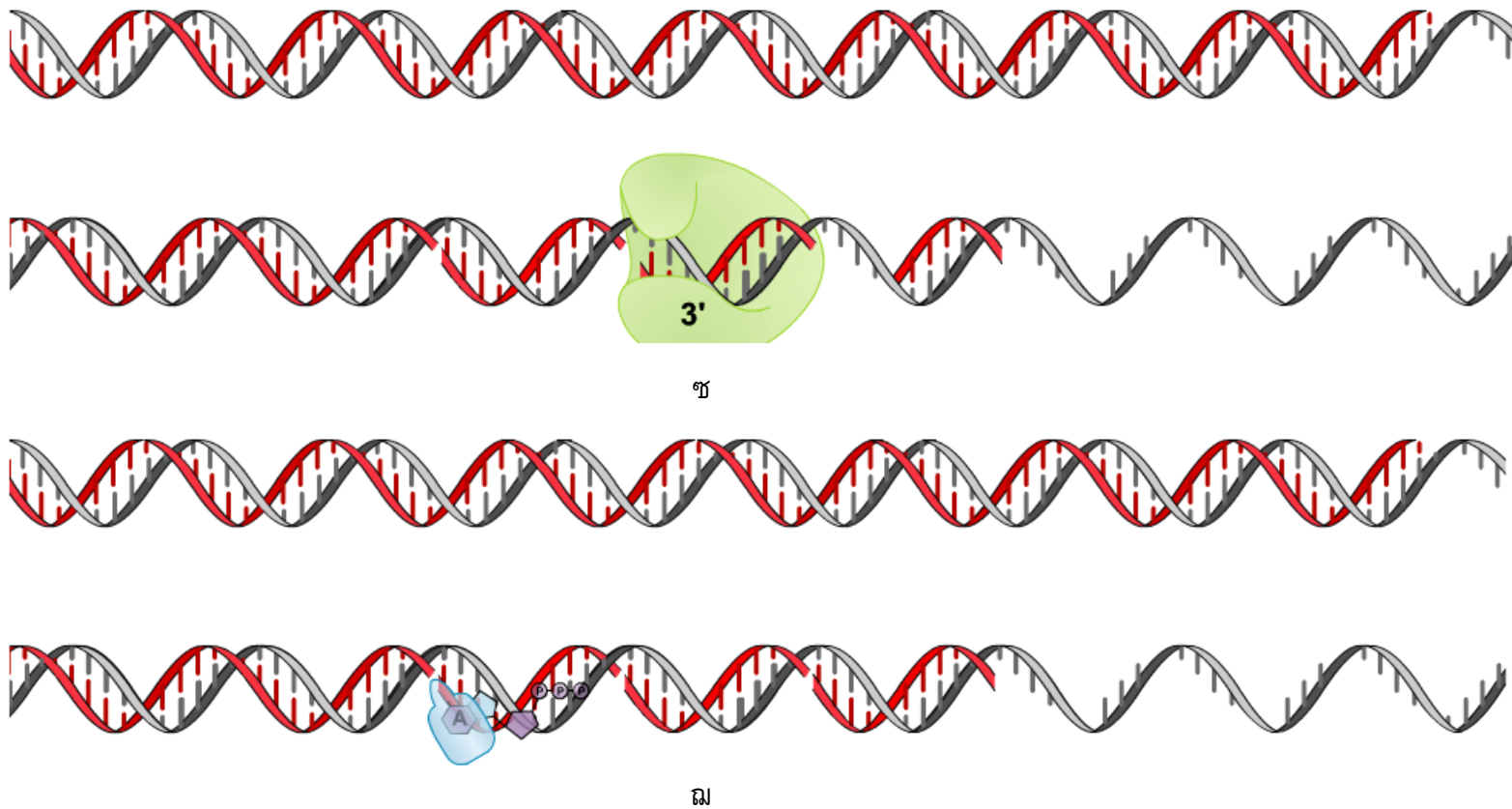


จ

รูปที่ 8.28 กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA (จ) การสังเคราะห์สาย DNA สายใหม่ที่มีชื่อว่า leading strand DNA (สายข้างบน) และสาย lagging strand DNA (สายข้างล่าง) (แหล่งที่มา: Molecular Biology of the Gene, Fifth Edition, 2004)



รูปที่ 8.28 กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA (จ) การทำงานของเอนไซม์ RNases (ข) ชิ้นส่วนโอคาซากิในสาย lagging strand (แหล่งที่มา: Molecular Biology of the Gene, Fifth Edition, 2004)



รูปที่ 8.28 กลไกการถอดแบบจำลองโมเลกุล DNA (ซ) การทำงานของเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (ฅ) เอนไซม์ดีเอ็นเอไลเกส (แหล่งที่มา: Molecular Biology of the Gene, Fifth Edition, 2004)

แบบฝึกหัดท้ายบท

1. นิวคลีโอไทด์ ประกอบด้วยส่วนประกอบย่อยกี่ส่วน และแต่ละส่วนมีอะไรบ้าง จงอธิบายอย่างละเอียด

2. จงนำตัวอักษรจากด้านขวามาเติมหน้าประโยคทางด้านซ้ายให้สอดคล้องกันมากที่สุด

- | | |
|--|-------------------|
| เอนไซม์ที่จำเป็นต่อกระบวนการทรานสคริปชัน | A: transcriptase |
| สิ่งใดที่ต้องเคลื่อนที่ออกจากนิวเคลียสโดยผ่านทาง nuclear pore เพื่อมาเป็นตัวสื่อความหมายทางพันธุกรรม | B: prophage |
| เอนไซม์ที่ทำหน้าที่สลายพันธะไฮโดรเจน แล้วส่งผลให้โมเลกุล DNA เปลี่ยนจากสายคู่เป็นสายเดี่ยว | C: lagging strand |
| DNA สายใหม่ที่เกิดจาก okazaki fragment มาเชื่อมกันเป็นสายยาว | D: mRNA |
| โปรตีนทำหน้าที่จับ DNA สายเดี่ยวเพื่อป้องกันไม่ให้กลับมาพันกันเป็นเกลียวอีกในกระบวนการจำลองโมเลกุล DNA | E: leading strand |
| | F: RNA polymerase |
| | G: helicase |
| | H: retrovirus |
| | I: SSB |