บทที่ 1
ธรรมชาติและหน้าที่ของสารกรรมพันธุ์
(Nature and Functions of Heriditary Material)

พันธุศาสตร์ (Genetics) เป็นสาขาหนึ่งของชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับกรรมพันธุ์และความผันแปรของลักษณะต่าง ๆ ผู้ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นผู้ให้กำเนิดวิชาพันธุศาสตร์คือ Mendel เราถือว่าวิชาพันธุศาสตร์สมัยใหม่ได้เริ่มต้นขึ้นเมื่อ Mendel ได้ค้นพบว่าลักษณะต่าง ๆ ที่สืบทอดต่อ ๆ กันมานั้น จะถูกควบคุมโดยหน่วยพันธุกรรมที่เขาเรียกว่า units จากชั่วหนึ่งไปยังอีกชั่วหนึ่ง units เหล่านั้นอาจเรียกได้ว่าเป็น genetic units หรือ genes (ยีนส์)

การพิสูจน์สารกรรมพันธุ์

(Identification of Genetic Material)

ในการศึกษาเกี่ยวกับพันธุศาสตร์นั้น เราจำเป็นจะต้องกล่าวถึงการพิสูจน์และวิเคราะห์สารกรรมพันธุ์ (genetic material) เสียก่อนว่ามันคืออะไรแน่ ซึ่งที่จริงแล้วเรื่องราวเกี่ยวกับวิธีการและกฎเกณฑ์ในการถ่ายทอดลักษณะและความสัมพันธ์ระหว่างยีนส์ต่าง ๆ ตลอดจนความรู้ทางด้านคุณสมบัติทางเคมีของสารกรรมพันธุ์ก็เป็นที่ทราบกันดีแล้ว ก่อนที่นักวิทยาศาสตร์จะสามารถพิสูจน์ได้ว่า สารเคมีอะไรในเซลล์ทำหน้าที่ควบคุมการถ่ายทอดลักษณะเสียอีก ซึ่งเราพอจะทราบความไปถึงงานของนักวิทยาศาสตร์เหล่านั้นได้ดังนี้

ในปี ค.ศ. 1807 นักเคมีสามารถจะบอกได้ถึงความแตกต่างระหว่างสารประกอบอินทรีย์และสารประกอบอนินทรีย์

ในปี ค.ศ. 1820 มีผู้ทำการจัดแบ่งสารอินทรีย์ออกเป็นสามพวกกว้าง ๆ คือ คาร์โบไฮเดรท lipids และโปรตีน

ในกลางศตวรรษที่ 19 ก็เป็นที่แน่ชัดว่าในบรรดาสารอินทรีย์ทั้งสามพวก โปรตีนจัดว่าเป็นสารที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อนและมีหน้าที่สำคัญที่สุด

ในปี ค.ศ. 1860 มีนักเคมีคนหนึ่งชื่อ Miescher ได้ทำการแยกสารชนิดหนึ่งออกมาจาก nucleusของเซล ซึ่งสารนี้ไม่ใช่ทั้งคาร์โบไฮเดรท lipids, หรือโปรตีน เขาจึงตั้งชื่อให้ว่า nuclein แต่เขาไม่ทราบว่ามันมีความสำคัญอย่างไร ต่อมามีผู้พบว่าสารนี้มีคุณสมบัติเป็นกรด จึงได้รับการเรียกชื่อใหม่ว่า nucleic acid

Transformation in bacteria

ในปี ค.ศ. 1928 มีนักวิทยาศาสตร์ชาวอังกฤษคนหนึ่งชื่อ **Griffith** ได้พบปรากฏการณ์ของ **genetic transformation** จากการทดลองกับ **pneumococcus bacteria** ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคปอดอักเสบ **(pneumonia)** เกิดจากเชื้อ **Diplococcus pneumoniae** เชื้อนี้มีอยู่สองชนิดคือ

1. พวก **smooth (S)** จะสร้างสาร **polysaccharide** แล้วขับออกมาหุ้มรอบ ๆ เซลเป็น **capsule** ทำให้ **colony** ของมันเป็นมันเรียบ พวกนี้สามารถจะทำให้เกิดโรค **pneumonia** ได้ **(virulent)**
2. พวก **rough (R)** ไม่สร้างสาร **polysaccharide** ออกมาหุ้มเซล **colony** จึงขรุขระ พวกนี้จะไม่เป็นอันตรายแต่อย่างใด **(nonvirulent)**

Griffith ได้ทำการทดลองดังนี้ คือ นำ **bacteria** พวก S มาฆ่าด้วยความร้อนแล้วนำไปผสมรวมกับพวก R ที่ยังมีชีวิตอยู่ นำไปฉีดใส่หนู ปรากฏว่ามีหนูบางส่วนตายจากการเป็นโรค และเมื่อทำการแยกเชื้อจากหนูที่ตายก็พบพวก S และ **bacteria** พวกนี้สามารถจะถ่ายทอดลักษณะ **virulent** ต่อไปได้ แต่เมื่อเขาฉีดแต่ **bacteria** พวก R ที่มีชีวิตอยู่หรือฉีดพวก S แต่ฆ่าเชื้อแล้วเข้าใส่ร่างกายหนู ก็ไม่ปรากฏว่ามีหนูตายหรือมีการแยกพวก S ออกมาจากตัวหนูแต่อย่างใด เขารู้ว่ามันมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นแต่ก็ไม่สามารถจะอธิบายได้ว่ามันเกิดขึ้นได้โดยวิธีใด การทดลองของเขาอาจสรุปได้ดังนี้ คือ

living avirulent (R) + หนู ⟶ หนูไม่ตายและไม่พบ **bacteria**

heated virulent (S) + หนู ⟶ หนูไม่ตายและไม่พบ **bacteria**

living avirulent (R) + **heated virulent (S)** + หนู ⟶ หนูตายและพบ **living virulent (S)**

ในระยะต่อ ๆ มาก็มีการถกเถียงกันว่าสารกรรมพันธุ์ควรจะเป็นพวกไหนแน่ จากการวิเคราะห์โครโมโซมซึ่งเป็นแหล่งที่ยีนส์อยู่พบว่ามันประกอบด้วย **protein** และ **nucleic acid** ทำให้เกิดการแตกแยกความเห็นออกเป็นสองพวก พวกแรกเชื่อว่าคงเป็นโปรตีน ส่วนอีกพวกเชื่อว่าคงเป็น **nucleic acids** แต่ก็ไม่มีผู้ใดสามารถให้คำตอบได้อย่างแน่ชัด จนเวลาล่วงเลยมาถึงปี ค.ศ. 1944 มีนักวิทยาศาสตร์ 3 คน คือ **Avery, MacLeod** และ **McCarty** ได้รายงานผลการทดลองเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลง **(transformation)** ในพวก **pneumococcus bacteria** อีกครั้ง โดยเขาได้ทำการปั่นเซลของพวก S ให้แตกออกแล้วทำการแยกสารประกอบทางเคมีต่าง ๆ เช่น โปรตีน **lipids** คาร์โบไฮเดรต **DNA** และอื่น ๆ

ออกจากกัน จากนั้นจึงนำเอาสารประกอบแต่ละชนิดดังกล่าวมาใส่รวมกับ bacteria พวก R ที่ยังมีชีวิตอยู่ แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนวุ้นอาหาร เพื่อจะดูว่าสารประกอบชนิดไหนที่จะทำให้พวก R เปลี่ยนเป็น S ได้บ้าง ปรากฏว่ามีแต่ DNA เท่านั้นที่สามารถจะชักนำให้ R เปลี่ยนเป็น S ได้ จากผลการทดลองนี้จึงเป็นการยืนยันว่าสารที่เกี่ยวข้องกับการสราง capsule ของ bacteria ดังกล่าวคือ DNA เท่านั้น

R + protein from S ⟶ R

R + lipids from S ⟶ R

R + carbohydrates from S ⟶ R

R + DNA from S ⟶ R + S

ผลจากการทดลองนี้อาจจะยังทำให้พวกที่มีความเชื่อถือว่า protein เป็นสารที่ควบคุมการถ่ายทอดลักษณะสงสัยว่าในส่วนผสมของ R + DNA from S นั้นอาจมีโปรตีนปนอยู่ก็ได้ จึงทำให้เกิดมี bacteria พวก S ขึ้นมา ดังนั้นจึงมีการทดลองติดตามมาอีก โดยการนำ DNA จาก S ไปใส่กับ enzyme deoxyribonuclease (DNase) เพื่อให้ DNA ถูกย่อยหมดความสามารถไปเสียก่อน แล้วจึงนำไปใส่รวมกับเซลของพวก R ปรากฏว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงแต่อย่างใด แต่เมื่อนำ DNA จาก S ไปใส่รวมกับ enzyme proteinase เพื่อทำลายโปรตีนที่อาจปนมากับ DNA เสียก่อน แล้วจึงนำไปใส่รวมกับเซลของพวก R ปรากฏว่ามีการชักนำให้เกิดพวก S ขึ้นมาได้ ผลการทดลองนี้จึงเป็นการตัดปัญหาที่ว่า protein จะมีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวให้หมดไป

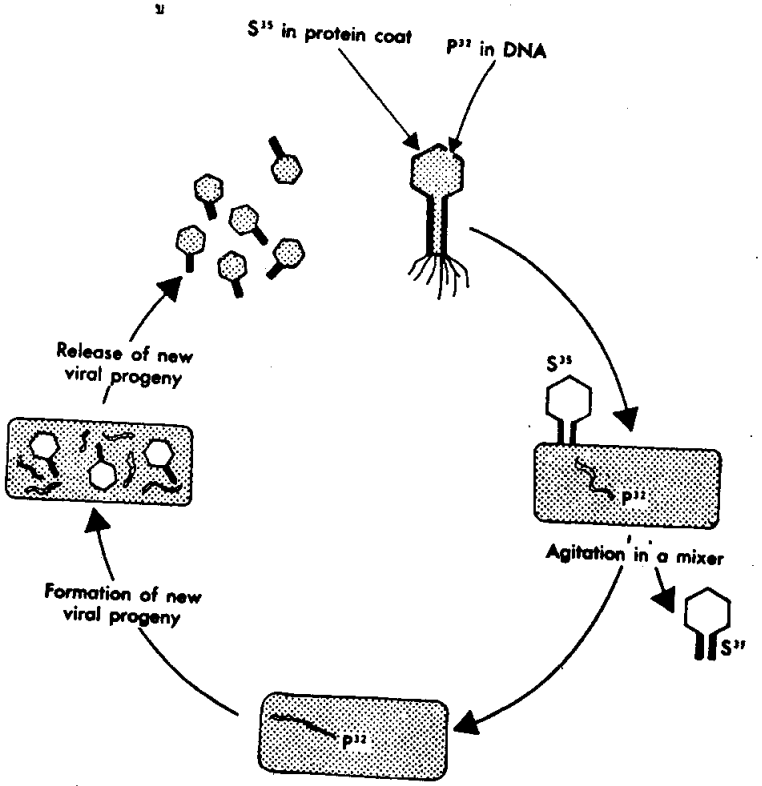
DNA from S + DNase ⟶ + R ⟶ R

DNA from S + proteinase ⟶ + R ⟶ R + S

<u>Bacteriophage T2</u>

การพิสูจน์ว่า DNA เป็นสารกรรมพันธุ์ก็ยังคงมีอยู่ต่อไป โดยการทดลองกับพวก virus ชนิดหนึ่งที่เป็น parasite ของ bacteria ซึ่งเรียกว่า bacteriophage หรือ phage virus พวกนี้จะทำการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนภายในเซลของ bacteria สารประกอบที่สำคัญของ virus มีอยู่สองอย่างคือ โปรตีน และ nucleic acid ซึ่งอาจเป็น DNA และ RNA ก็ได้ โดยโปรตีนจะทำหน้าที่เป็นเปลือกนอกหรือ coat หุ้ม DNA หรือ RNA ที่เป็นไส้ในหรือ core อยู่

ในปี 1952 Hershey และ Chase ได้ตีพิมพ์รายงานผลการทดลองออกมาอันหนึ่ง จากการศึกษากับ T2 phage โดยใช้สาร radioactive isotopes ของ S^{35} และ P^{32} ประกอบเป็นอาหารในการเพาะเลี้ยง bacteria แล้วใช้เป็น host ของ phage ให้ phage ทำการขยายพันธุ์ทวีจำนวนหลาย ๆ ชั่ว เนื่องจากในโปรตีนปกติจะมีกำมะถันอยู่และอาจมีฟอสฟอรัสบ้างเล็กน้อย แต่ใน nucleic acid จะมีแต่ฟอสฟอรัส เท่านั้นไม่มีกำมะถันเลย ดังนั้นเมื่อ phage เข้าทำลาย bacteria ที่เลี้ยงบนอาหารดังกล่าวแล้วขยายพันธุ์เพิ่มขึ้น phage ใหม่ ๆ ก็จะมี S^{35} อยู่ในเปลือกนอกและ P^{32} อยู่ใน DNA เมื่อเขานำ phage ที่มีสาร radioactive ดังกล่าวไปปล่อยลงใส่ bacteria ที่เลี้ยงในอาหารธรรมดา ก็พบว่า S^{35} ซึ่งอยู่ใน protein coat จะถูกทิ้งอยู่รอบนอกของเซล bacteria และอาจถูกเขย่าให้หลุดออกไปได้ โดยไม่กระทบกระเทือนต่อการขยายพันธุ์ของ phage ที่จะเกิดขึ้นต่อไปภายหลัง ส่วน P^{32} นั้นจะถูกส่งเข้าไปอยู่ในเซลของ bacteria และในเวลาประมาณ 20–25 นาทีต่อมา เซลของ bacteria จะแตกมี phage ปล่อยออกมา 100–150 ตัว โดยมี DNA core และ protein coat อย่างครบถ้วน จึงสรุปได้ว่า DNA คือสารที่ทำหน้าที่ในการถ่ายทอดลักษณะสร้าง phage ขึ้นมาใหม่ ดังรูปที่ 1-1



รูปที่ 1-1 การทดลองที่แสดงให้เห็นว่า DNA ของ phage T2 เท่านั้นที่มี genetic information อยู่

Tobacco Mosaic Virus

ในปี 1955 **Fraenkel-Conrat** ได้รายงานผลการทดลองกับ **virus** พวกหนึ่งที่เป็นสาเหตุของโรค **Tobacco Mosiac Disease** โดยมันจะเข้าไปทำเซลของใบยาสูบทำให้เกิดรอยด่างสีเหลืองขึ้นมา จึงได้รับการตั้งชื่อว่า **Tobacco Mosaic Virus (TMV)** **virus** พวกนี้มีโปรตีนเป็นเปลือกนอกหุ้ม **nucleic acid** ที่อยู่ข้างในเช่นเดียวกัน แต่ **nucleic acid** ของ **TMV** จะเป็น **RNA** แทนที่จะเป็น **DNA** เขาได้นำ **TMV** ไปปั่นแล้วแยก **RNA** และโปรตีนออกจากกัน จากนั้นก็นำ **RNA** ไปถูใบยาสูบที่ไม่เป็นโรคก็พบว่ามันก่อให้เกิดโรคได้ และเมื่อแยกเอา **cell sap** ไปตรวจดูก็พบว่ามี **TMV** เหมือนเดิมทุกประการ แต่เมื่อเอาส่วนที่เป็นโปรตีนไป **inoculate** ต้นที่เป็นปกติดูบ้าง ก็ไม่พบว่ามันทำให้เกิดโรคขึ้น จากผลการทดลองนี้จึงแสดงให้เห็นว่าสำคัญ **RNA** ของ **virus** เพียงอย่างเดียวก็สามารถจะควบคุมให้มีการสร้าง **virus** ทวีจำนวนขึ้นมาได้ โดย **virus** เหล่านั้นจะมี **RNA** และ **protein coat** เหมือนเดิมทุกประการ (รูปที่ 1-2)

จากผลการทดลองต่าง ๆ ดังกล่าวมาแล้วก็เป็นการพิสูจน์ได้ว่า **nucleic acid** เป็นสารกรรมพันธุ์ (**hereditary material**) ซึ่งอาจเป็น **DNA** หรือ **RNA** ก็ได้ แล้วแต่ชนิดของสิ่งมีชีวิต แต่ส่วนใหญ่จะเป็น **DNA**

สารที่จะเป็นตัวนำในการถ่ายทอดลักษณะ (**hereditary material**) ได้ จะต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญอย่างน้อยสองอย่างคือ

1. มันจะต้องสามารถสร้างตัวเองขึ้นมาใหม่ให้เหมือนเดิมได้ (duplication หรือ replication)
2. มันจะต้องสามารถทำหน้าที่ควบคุมโครงสร้าง (**structure**) หน้าที่ (**function**) และลักษณะอื่น ๆ ในสิ่งที่มีชีวิตที่เป็น **carrier** ของ **hereditary material** เหล่านั้นได้

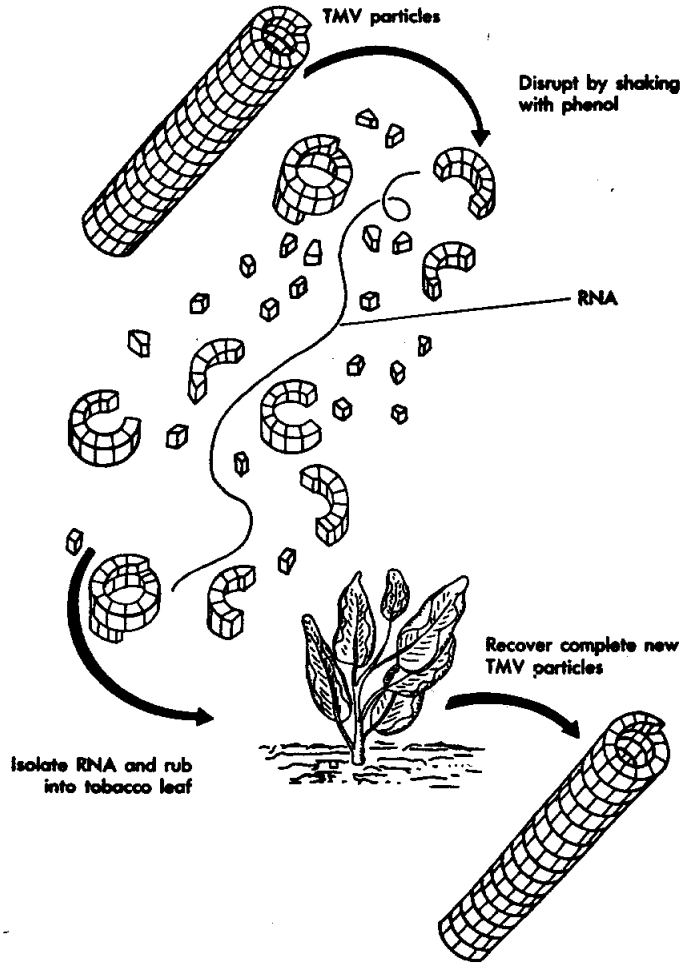
Nature of the hereditary material

Nucleic acids เป็นสารพวก **polymeric molecules** คือมันประกอบขึ้นด้วยชิ้นส่วนเล็ก ๆ ที่นำมาเชื่อมต่อกันเข้าเป็นสายยาว ชิ้นส่วนเล็ก ๆ เหล่านี้เรียกว่า **nucleotides** แต่ละอันจะประกอบด้วย 3 **subunits** คือ

1. **nitrogenous bases**
2. **5-carbon sugar**
3. **phosphate unit**

Nucleic acid สามารถจะแบ่งออกได้เป็นสองชนิดด้วยกันคือ

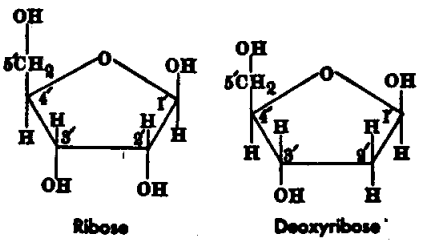
1. ribonucleic acid (RNA)
2. deoxyribonucleic acid (DNA)



รูปที่ 1-2 การทดลองที่แสดงให้เห็นว่า RNA ของ tobacco mosaic virus เท่านั้นที่มี genetic information อยู่

ข้อแตกต่างที่สำคัญระหว่าง RNA และ DNA ได้แก่

1. ส่วนที่เป็นน้ำตาลใน nucleotides ของ RNA จะมี hydroxyl group (OH) ปรากฏอยู่ที่ carbon ตัวที่ 2 ส่วน DNA Oxygen ที่ carbon ตัวที่ 2 จะหายไป มีแต่ hydrogen จึงได้คำเติมหน้าเป็น deoxy - สูตรโครงสร้างของน้ำตาลทั้งสองชนิดได้แสดงไว้แล้วในรูปที่ 1-3

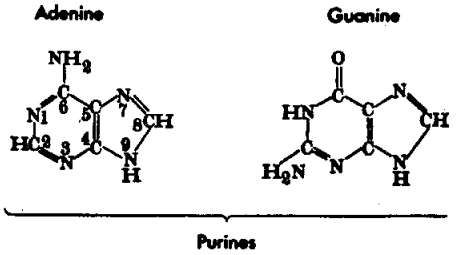


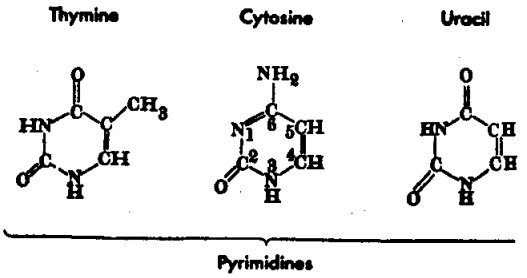
รูปที่ 1-3 น้ำตาล pentoses ที่พบใน nucleic acids

2. ข้อแตกต่างอีกอย่างได้แก่ชนิดของ base ใน nucleotide ซึ่งพวก nitrogenous base จะแบ่งออกได้เป็นสองพวกใหญ่ ๆ คือ

		RNA		DNA
(1) Purines	ได้แก่	Adenine	(A)	A
		Guanine	(G)	G
(2) Pyrimidine	ได้แก่	Cytosine	(C)	C
		Uracil	(U)	Thymine (T)

สูตรโครงสร้างของ bases ต่าง ๆ ได้แสดงไว้แล้วในรูปที่ 1-4





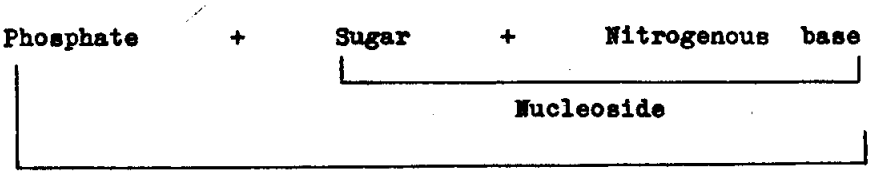
รูปที่ 1-4 Nitrogenous bases ของ DNA และ RNA

ส่วนของ nucleotide ที่ประกอบด้วย base และน้ำตาล เรียกว่า nucleoside โดยจะเรียกชื่อเฉพาะตามชนิดของ base ที่ RNA หรือ DNA มีอยู่ ถ้าหากว่ามันมีน้ำตาล ribose ก็จะเรียกชื่อตามชื่อ base นั้นเลย แต่ถ้าหากมันมีน้ำตาล deoxyribose ก็เติมคำว่า deoxy- ไว้ข้างหน้า ยกเว้นแต่ nucleoside ที่มี thymine อยู่จะเรียกว่า thymidine โดยไม่จำเป็นต้องมี deoxy- นำหน้า เนื่องจาก base ชนิดนี้จะพบเฉพาะใน DNA เท่านั้น

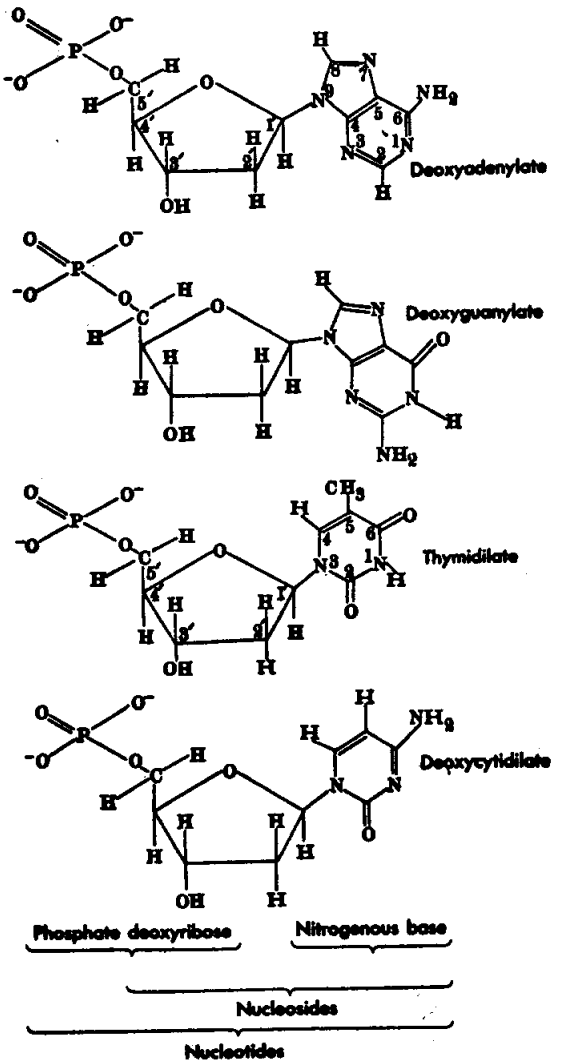
	ใน RNA		ใน DNA	
Base	Nucleoside	ตัวย่อ	Nucleoside	ตัวย่อ
Adenine	Adenosine	A	Deoxyadenosine	dA
Guanine	Guanosine	G	Deoxyguanosine	dG
Cytosine	Cytidine	C	Deoxycytidine	dC
Uracil	Uridine	U	-	-
Thymine	-	-	Thymidine	T

ส่วนพวก nucleotides ที่มีทั้ง base, sugar และ phosphate group ครบก็จะเรียกชื่อตามชนิดของ base เช่นเดียวกัน หรืออาจจะเรียกได้อีกวิธีหนึ่งคือเรียกชื่อของ nucleoside ก่อน แล้วตามด้วยจำนวน phosphate group เช่นพวกที่มีน้ำตาล ribose อยู่จะเรียกว่า Adenosine monophosphate, Adenosine diphosphate, Adenosine triphosphate ส่วน nucleotide ที่มีน้ำตาล deoxyribose ก็จะขึ้นต้นด้วย deoxy - เช่นเดียวกัน ยกเว้นที่มี thymidine

	ใน RNA		ใน DNA	
Base	Nucleotide	ตัวย่อ	Nucleotide	ตัวย่อ
Adenine	Adenylic acid	AMP	Deoxyadenylic acid	dAMP
Guanine	Guanylic acid	GMP	Deoxyguanylic acid	dGMP
Cytosine	Cytidylic acid	CMP	Deoxycytidylic acid	dCMP
Uracil	Uridylic acid	UMP	-	-
Thymine	-	-	Thymidylic acid	TMP



ตัวอย่างโครงสร้างทางเคมีของ deoxyribonucleotides สี่ชนิดที่พบทั่ว ๆ ไปได้แสดงให้ดูในรูปที่ 1-5

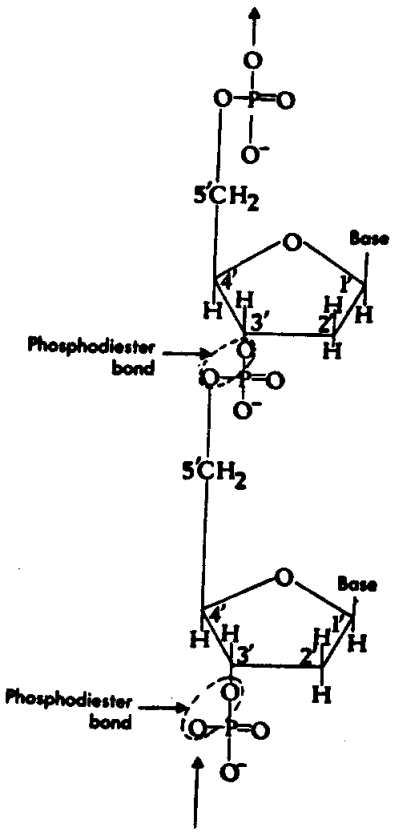


รูปที่ 1-5 Deoxyribonucleotides สี่ชนิดที่พบมาก แต่ละชนิดจะมี nitrogenous base เกาะกับน้ำตาล deoxyribose โดยการเชื่อมกันระหว่าง ring nitrogen atom ตัวใดตัวหนึ่งกับ carbon atom ตัวที่ 1 ของน้ำตาล deoxyribose

ภายในเซลของสิ่งมีชีวิตไม่เพียงแต่จะมี nucleotides อยู่ในรูปของ nucleoside monophosphate แต่นั้น มันอาจมี nucleoside ที่มี diphosphate หรือ triphosphate group อยู่ด้วย เพราะฉะนั้น เราก็จะสามารถเรียกชื่อได้อีกมากมายตามชนิดของ nucleoside และจำนวน phosphate groups (nucleotide = nucleoside + phosphate group) เช่น ADP, ATP, GDP, GTP เป็นต้น พวกที่เป็น nucleoside triphosphate จะมีความสำคัญมาก เนื่องจากในการสังเคราะห์ nucleic acids ขึ้นมา เช่น DNA หรือ RNA มันไม่สามารถจะสร้างได้โดยตรงจาก nucleotide ที่มี monophosphate หรือ diphosphate groups โดยตรง พวก enzymes ต่าง ๆ ในเซลจะต้องสร้าง nucleic acid ขึ้นมาจาก nucleotide ที่มี triphosphate group เท่านั้น โดยในขบวนการสังเคราะห์นั้น phosphate 2 ตัวจะถูกแยกออกไปจากแต่ละ nucleotide ส่วนตัวที่สามจะถูกนำไปเชื่อมเข้ากับน้ำตาลของ nucleotide อีกตัวหนึ่ง สร้าง phosphodiester bond ขึ้นมา เราจึงพบว่า nucleotide ของ DNA หรือ RNA นั้นจะมี phosphate group เพียงเท่านั้น ดังนั้นสารจำเป็นเบื้องต้น (precursors) ของ DNA ก็จะเป็นพวก deoxyribonucleoside triphosphate ทั้งหลาย เช่น dATP, dCTP, dGTP และ TTP ส่วน RNA จะถูกสังเคราะห์ขึ้นจาก ribonucleoside triphosphate ทั้งหลาย เช่น ATP, CTP, GTP, และ UTP

พวก ribonucleoside triphosphate นอกจากจะเป็นสารเบื้องต้นในการสังเคราะห์ RNA แล้ว ยังเป็นสารที่จำเป็นมากในฐานะที่เป็นตัวที่ให้พลังงาน (energy carrier) เมื่อ phosphate group ถูกแยกออกไป มันจะปลดปล่อยพลังงานออกมาให้ใช้ตามส่วนต่าง ๆ ของร่างกายที่มีความต้องการ เช่น ในการยืดหดของกล้ามเนื้อ การสร้างน้ำตาลในพืชที่มีสีเขียว การสร้าง nucleic acid และ protein เป็นต้น

สรุปแล้ว nucleic acid จะเป็น polymeric molecule ที่มี nucleotide มาต่อกัน โดยมี phosphate เชื่อมต่อระหว่าง carbon ตัวที่ 3 และ 5 ของน้ำตาลสองตัว เกิดเป็น polynucleotide chain คือน้ำตาลของ nucleotide ตัวหนึ่งจะเชื่อมกับ phosphate group ของ nucleotide อีกตัวหนึ่ง ดังรูปที่ 1-6



รูปที่ 1-6 Polydeoxyribonucleotide ซึ่งอาจมี base เป็นพวก purine หรือ pyrimidine ก็ได้

Geometric Organisation of DNA

ความรู้เกี่ยวกับส่วนประกอบทางเคมีของ DNA แต่เพียงด้านเดียว ไม่ได้ทำให้เราทราบได้ว่าโมเลกุลของมันมีรูปร่างเป็นแบบไหน มี nucleotides ต่อกันเป็นเส้นสายยาวเพียงเส้นเดียวหรือมีหลาย ๆ เส้นประกบกันอยู่ เพราะฉะนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องศึกษาดูว่ารูปร่างของมันควรจะเป็นอย่างไร และรูปร่างของมันนั้นจะต้องสามารถนำมาอธิบายได้ถึงการปฏิบัติหน้าที่ ๆ สำคัญของ DNA สองอย่างคือ การสร้างตัวเองให้เหมือนเดิมได้ (self duplication หรือ replication) และการสร้างโปรตีน

ในปี ค.ศ. 1947 มีรายงานจากการวิเคราะห์ทางเคมีของ DNA จากสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ พบว่ามันจะมีความสัมพันธ์เฉพาะเจาะจงระหว่าง nucleotides ทั้งหลาย เช่น ถ้ามี adenine อยู่หนึ่ง nucleotideก็จะมี thymine อยู่หนึ่ง nucleotide ด้วย และถ้ามี guanine อยู่หนึ่ง nucleotideก็จะมี cytosine หนึ่ง nucleotide เช่นเดียวกัน เพราะฉะนั้นอัตราส่วนระหว่างจำนวน nucleotides ของ A:T และ G:C ก็จะพบว่าเป็น 1:1 ในทุก ๆ DNA แต่ว่าอัตราส่วนของ A+T:G+C จะไม่แน่นอน เปลี่ยนแปลงไปได้ แล้วแต่ชนิดของสิ่งมีชีวิต

ในคนพบว่า A:T = 31.0:31.5 $\simeq$ 1:1

G:C = 19.1:18.4 $\simeq$ 1:1

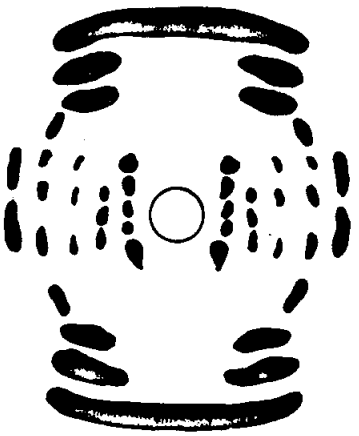
ใน <u>Escherichia coli</u>

A:T = 26.1:23.9 $\simeq$ 1:1

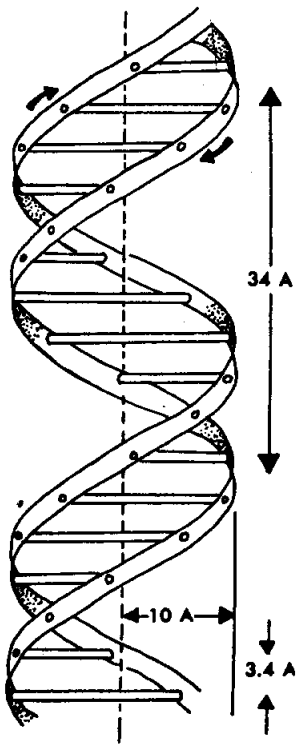
G:C = 24.9:25.1 $\simeq$ 1:1

จากอัตราส่วนขององค์ประกอบของ DNA ดังกล่าวยังไม่เพียงพอที่จะทำให้เราทราบถึงโครงสร้างทางกายภาพของมันได้ จนเวลาล่วงมาถึงปี 1953 Wilkins ได้รายงานการศึกษาถึงรูปร่างของ DNA strand โดยใช้ x-ray diffraction pattern (รูปที่ 1-7) เขาพบว่า DNA จากสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ จะมีรูปร่างเหมือนกันและมี pattern ที่แน่นอน นั่นก็หมายความว่า nucleotides ใน DNA โมเลกุลของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ จะจัดเรียงในแบบเดียวกัน เขาสรุปว่า DNA จะมีโครงสร้างเป็นแบบ helix (single strand)

ในปีเดียวกันนี้เอง Watson และ Crick ได้อาศัยข้อมูลที่ได้จาก x-ray diffraction และจากการวิเคราะห์ทางเคมีเสนอ model ของ DNA ขึ้นมา โดยตั้งสมมุติฐานว่า DNA จะมีโครงสร้างแบบ double-stranded helix (รูปที่ 1-8)



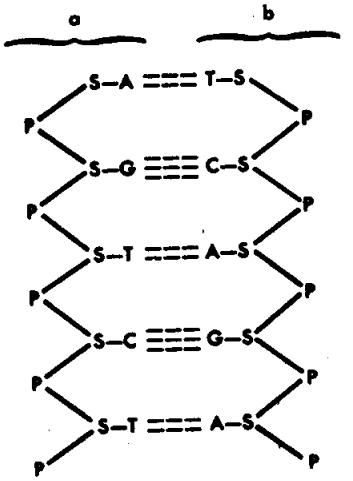
รูปที่ 1-7 Diagram ของ x-ray diffraction pattern ของ DNA



รูปที่ 1-8 โครงสร้างของ DNA ที่เป็นแบบ double-stranded helix ตามข้อเสนอของ Watson-Crick

โดยมี polynucleotide chains 2 เส้นประกบกันอยู่แบบบันไดวน มี phosphate และน้ำตาลเป็นกรอบนอก และมี base เชื่อมกันระหว่างกรอบทั้งสองเป็นขั้นบันได โดย adenine จะเกาะเฉพาะกับ thymine และ guanine จะเกาะเฉพาะกับ cytosine เช่นเดียวกัน (ทำให้ได้อัตราส่วน 1:1) การเรียงลำดับของขั้นบันไดอาจเรียงลำดับไหนก็ได้ เช่น AT, GC, CG, AT, CG, TA, AT เป็นต้น ส่วนการที่ polynucleotide chains สองสายสามารถมาเชื่อมกันได้ ก็เนื่องจากมี hydrogen bonds เชื่อมระหว่าง bases แต่ละคู่ดังกล่าวมาแล้ว แต่การที่มันเชื่อมกันได้ด้วย hydrogen bonds จะทำให้ bases เกาะกันไม่แน่น และอาจถูกทำลายลงได้ง่าย ๆ จากการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น และมันจะกลับเกาะกันได้อีกครั้งหนึ่ง เมื่ออุณหภูมิลดลง

จาก model ของ Watson-Crick ทำให้เห็นได้ว่าจะมี hydrogen bond ที่เฉพาะเจาะจงระหว่าง base สองพวกคือ purines และ pyrimidines โดย nucleotide ของ adenine จะสร้าง H-bond 2 อัน เพื่อเกาะกับ thymine และ guanine จะเกาะกับ cytosine ด้วย H-bond 3 อัน ดังรูปที่ 1-9



รูปที่ 1-9 แสดงส่วนหนึ่งของ double-stranded helix P = phosphate, S = sugar, A = adenine, T = thymine, G = guanine และ C = cytosine a และ b เป็นสอง strands ที่ประกบกันอยู่ เส้นประที่อยู่ระหว่างกลางหมายถึง hydrogen bonds ที่ทำหน้าที่ยึดให้ทั้งสอง strands อยู่ด้วยกัน

อย่างไรก็ตามการจับคู่ที่ผิดปกติหรือผิดพลาดระหว่าง bases ของ purine และ pyrimidines ก็จะเกิดขึ้นได้อยู่เหมือนกัน แต่มักจะไม่อยู่ตัว เป็นสาเหตุอันหนึ่งที่ทำให้เกิด mutation ขึ้น ซึ่งจะกล่าวถึงภายหลัง

จาก model ของ DNA ที่เสนอโดย Watson-Crick นี้จะทำให้ bases ของทั้งสอง strands เป็น complementary ต่อกัน นั่นคือถ้าเรารู้ว่าลำดับของ bases ใน strand หนึ่งเป็นอย่างไร เราก็สามารถจะรู้ลำดับของ bases ในอีก strand หนึ่งได้ โดยการเอา base ที่เป็นคู่กันแต่ตรงกันข้ามใส่เข้าไป เช่น

- A - T - T - A - C - A - G - G - C - (กำหนดให้ข้างหนึ่ง)

. . . .

. . . .

. . . .

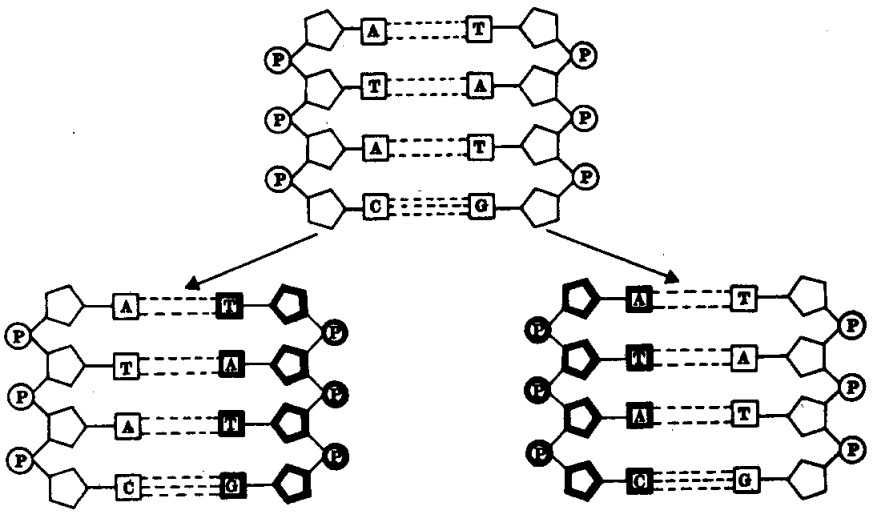
- T - A - A - T - G - T - C - C - G -

จาก model ของ DNA ที่เป็น double helix ดังกล่าวมาแล้วนั้น มีข้อยกเว้นสำหรับ DNA ของสิ่งมีชีวิตบางอย่างอยู่เหมือนกัน เช่น ในพวก virus particles ที่มี DNA เป็น single strand เพราะฉะนั้น ratio ของ nucleotides จึงไม่แน่นอน เช่น ใน bacteriophage ชนิดหนึ่งของ Escherichia coli จะมี adenine, thymine, guanine และ cytosine ในอัตราส่วน 1:1.33:0.98:0.75 จากการศึกษาโดยใช้ x-ray diffraction ก็พบว่ามันมีโครงสร้างที่แตกต่างออกไปด้วย

DNA Replication

คุณสมบัติอันหนึ่งของ DNA คือความสามารถในการสร้างตัวเองได้ ทำให้ genetic information ที่ถูกถ่ายทอดจากชั่วหนึ่งไปยังอีกชั่วหนึ่งต้องเหมือนกัน ดังนั้นโครงสร้างของ DNA ที่ใครจะเสนอขึ้นมาก็ตาม จะต้องสามารถนำมาอธิบายถึงขบวนการดังกล่าวได้ด้วย Watson-Crick ได้เสนอว่า จาก model ของเขาก่อนที่จะมีการ duplicate นั้น H-bonds ที่เชื่อมระหว่าง bases สองชนิดจะขาดออก แล้ว polynucleotide ทั้งสอง strand จะแยกออกจากกันตามยาวคล้ายกับการรูดซิป จากนั้นแต่ละ strand จะทำหน้าที่เหมือนกับแม่พิมพ์ (template) สำหรับสราง strand ตรงข้ามที่เป็นคู่กันขึ้นมา โดยหลังจากที่ทั้งสอง strand แยกออกจากกันแล้ว ภายใน nucleus ก็จะมีสาร nucleotides

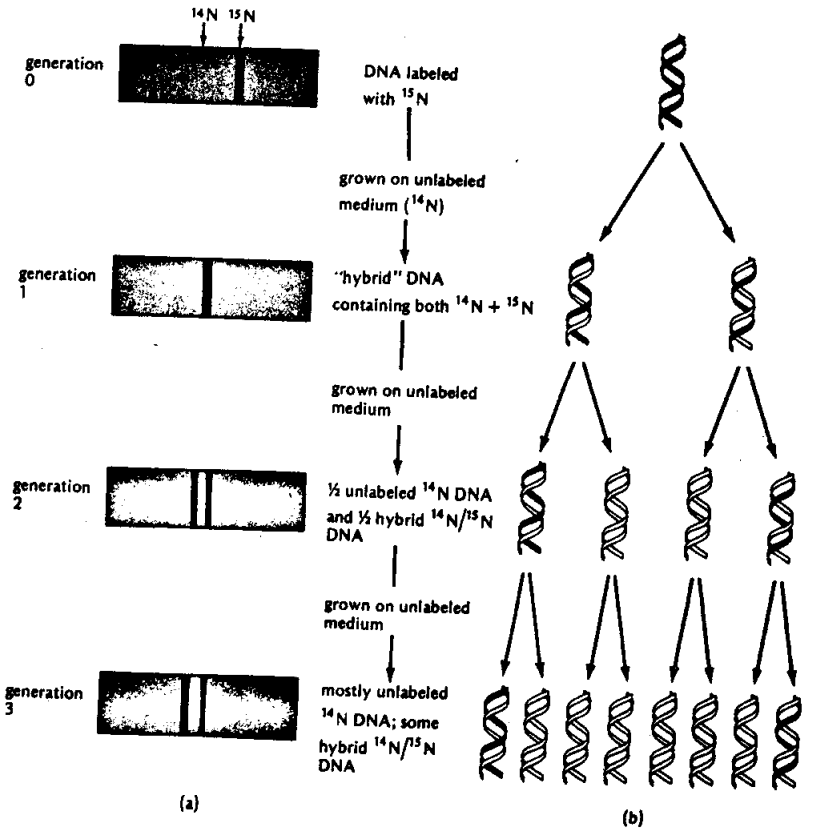
ที่ได้รับการสร้างขึ้นมาแล้ว จะมาจับกับ base ที่ว่างอยู่ และลักษณะที่เป็น sugar และ phosphate ที่จะทำหน้าที่เป็นกรอบนอกก็จะต่อกันไปเรื่อย ๆ ด้วย ทำให้เกิดมี DNA ขึ้นมาสองโมเลกุลจากเดิมเพียงโมเลกุลเดียว ด้วยเหตุนี้ลำดับของ bases ใน DNA โมเลกุลเดิมก็จะถูกถ่ายทอดไปเหมือนเดิมทุกอย่าง และใน DNA ใหม่ทั้งสองโมเลกุลจะมี polynucleotide strand อันหนึ่งเป็นของเก่าจากโมเลกุลเดิม ส่วนอีกอันหนึ่งเป็นของใหม่ (รูปที่ 1-10) วิธีสร้าง DNA แบบนี้เรียกว่า semiconservative replication



รูปที่ 1-10 การสร้าง strands ใหม่ของ DNA จาก strand เก่า โดย adenine ใน strand เก่าจะมี thymine เข้ามาจับใน strand ใหม่ และ guanineจะจับกับ cytosine และ bases ตัวอื่น ๆ ก็เช่นเดียวกัน

Meselson และ Stahl ได้ทำการทดลองสนับสนุนวิธีการของ DNA replication ดังกล่าว โดยการเลี้ยง bacteria E. coli หลาย ๆ ชั่วในอาหารที่ประกอบด้วยสารประกอบไนโตรเจนที่เป็น isotope คือ N^{15} ล้วน ๆ เพื่อจะทำการ label DNA ของ bacteria ทั้งหมดด้วยสารกัมมันตภาพรังสีดังกล่าวเสียก่อน จากนั้นจึงย้ายไปเลี้ยงในอาหารธรรมดาที่มีแต่ N^{14} แล้วปล่อยมันไว้จนมีการแบ่งตัว จึงนำมาตรวจดู DNA ก็พบว่าในชั่วแรก DNA จะมี $N^{14}N^{15}$ แบบลูกผสมเพียงอย่างเดียว เมื่อปล่อยให้แบ่งตัวต่อไปในชั่วที่สองจะมี DNA แบบ $N^{14}N^{15}$ และ $N^{14}N^{14}$ ในปริมาณเท่า ๆ กัน และในชั่วที่สามจะมี $N^{14}N^{15}$

และ $N^{14}N^{14}$ ในอัตราส่วน 1:3 จึงเป็นการสนับสนุนเป็นอย่างดีว่า DNA แต่ละโมเลกุลที่เกิดขึ้นใหม่จะประกอบด้วย polynucleotides ของเกา 1 strand และของใหม่อีก 1 strand ผลการทดลองของเขาได้แสดงไว้แล้วในรูปที่ 1-11



รูปที่ 1-11 แสดงการเปรียบเทียบระหว่างสมมุติฐานของ Watson-Crick เกี่ยวกับ DNA replication และผลการทดลองของ Meselson-Stahl

The Basic Blueprint of Life

จากที่ได้กล่าวมาแล้วว่าสารที่จะทำหน้าที่ในการถ่ายทอดลักษณะได้นั้น จะต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญสองประการคือ

1. สามารถจะสร้างตัวเองได้ เพื่อจะได้ถ่ายทอด message จากพ่อแม่ไปยังลูก แม้ว่าพ่อเป็นพ่อแม่จะตายไปแล้ว แต่ลำดับของ bases ต่าง ๆ จะถูก duplicate ต่อไปซ้ำแล้วซ้ำเล่า ทำให้ลักษณะต่าง ๆ ที่มันควบคุมอยู่สามารถจะปรากฏออกมาได้อีก ลำดับของ bases ก็เช่นเดียวกับแท่นพิมพ์หรือแม่พิมพ์ที่จะทำให้ผลิตผลที่ออกมานั้นเหมือนกันทุกอย่าง ความเฉพาะเจาะจงของลำดับ bases และความยาวของ nucleotide chains (sugar-phosphate-base pattern) ในโมเลกุล DNA ในแต่ละสิ่งมีชีวิตจะทำให้มันคงรักษาลักษณะเหล่านั้นไว้ได้ตลอดไป เช่น ลำดับของ nucleotides ใน DNA ของม้าจะยังคงทำให้ลูกของมันที่เกิดมามีลักษณะของม้าอยู่ แทนที่จะเป็นวัว ลำดับของ nucleotides ใน DNA ของคนก็จะทำให้คนยังคงมีลักษณะเป็นคนอยู่ไม่ออกลูกมาเป็นลิง อย่างที่บางคนอาจถูกกล่าวหาว่าถ้ามีลูกออกมาคงจะเป็นเหมือนลิง (แต่สาร basic ของ DNA ของคนกับลิงก็คงเหมือน ๆ กัน)

2. มันจะต้องทำหน้าที่ควบคุมขบวนการต่าง ๆ หรือการแสดงออกของลักษณะต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งมันสามารถจะทำได้โดยผ่านขบวนการสร้างโปรตีนขึ้นมา แม้ว่าโปรตีนจะมีอยู่นับเป็นพัน ๆ ชนิด แต่มันก็มีสิ่งหนึ่งเหมือนกันคือ มันจะถูกสร้างขึ้นโดยคำสั่งหรือ code ที่แน่นอนจาก DNA

การถ่ายทอด message และการสร้างโปรตีนของ DNA อาจแสดงได้ด้วยแผนผังต่อไปนี้คือ