

บทที่ 15

Gene Mutation

โดยทั่วไปแล้วมักจะเข้าใจกันว่า genotype ของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งนั้นจะคงที่ตั้งแต่เริ่มปฏิสนธิจนตาย แมว่ามันจะมี phenotype เปลี่ยนแปลงไปตลอดเวลาอันขึ้นอยู่กับระยะเวลา เติบโตและอิทธิพลของสภาพแวดล้อมก็ตาม แต่แท้จริงแล้วความเข้าใจดังกล่าวไม่คงจะถูกต้องนัก อาจจะยกตัวอย่างให้เห็นได้ในคนที่โตเต็มที่แล้วนั้น ไม่ใช่จะมียีนส์ทุกอย่างที่เขามีนี้นั้นเหมือนทารกอยู่ ยีนส์ที่เขามีนี้นั้นที่โตแล้วนั้น เป็นแค่เพียง copies ของยีนส์เดิมที่มาจากพ่อแม่ ซึ่งก็คือว่าการที่เขาคิดขึ้นมาเป็นผลจากการแบ่งตัวของเซลล์สืบพันธุ์ไม่ว่าจะเป็นยีนส์ที่อยู่ในโครโมโซมที่โตแล้วจริง เป็น copies ของยีนส์ในขณะที่เป็นเด็ก แต่ไม่ใช่เป็นยีนส์ที่มีอยู่ในสมัยเป็นเด็ก และในทางอื่น ๆ เกี่ยวกับการสืบทอดยีนส์จากตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งนั้น ไม่ใช่จะเป็นไปในแบบที่ลูกได้รับยีนส์ตัวเดิมมาจากพ่อแม่โดยตรงแล้วจึงมียีนส์เหล่านั้นไปยังตัวหลานต่อไป ซึ่งถ้าหากมีการสืบทอดแบบนี้จริงแล้ว ยีนส์ดังกล่าวจึงไม่ควรจะมีการเปลี่ยนแปลงใด แต่ในความเป็นจริงแล้วสิ่งที่ได้รับการถ่ายทอดกันต่อ ๆ ไปนั้น เป็นแค่เพียง copies ของยีนส์ต่างหาก นั่นก็หมายความว่าลูกไม่ได้รับการถ่ายทอดยีนส์ของพ่อแม่โดยตรง แต่เป็น copies of parental genes โดยในการแบ่งตัวของโครโมโซมแต่ละครั้งนั้นจะเกิดโครโมโซมใหม่ขึ้นมาสองอันที่มียีนส์เหมือนกับที่อยู่ในโครโมโซมเดิม ดังนั้นในการสร้างยีนส์ขึ้นมาใหม่จะคงสร้างให้เหมือนเดิมทุกครั้งไป แต่ก็มีบางครั้งที่การสร้างยีนส์ขึ้นมาใหม่ในโครโมโซม copies ของยีนส์ที่คัดไปจากเดิมทำให้เกิดยีนส์ใหม่ขึ้นมา ซึ่งเมื่อยีนส์ใหม่แบ่งตัวต่อไป มันก็จะให้ยีนส์ที่เหมือนกับตัวมันเองขึ้นมา เช่นเดียวกัน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเรียกว่า gene mutations or point mutations การเปลี่ยนแปลงแบบนี้ไม่สามารถจะตรวจสอบทาง cytology ได้ (submicroscopic changes) แต่มันจะส่งผลออกมาให้เห็นทาง phenotype ส่วนทางด้านโครโมโซมก็เช่นเดียวกัน ปกติการแบ่งตัวของมันจะถูกของแน่นอน แต่ในบางครั้งโครโมโซมก็อาจมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น เช่นมีการสูญเสียไปหรือเกินขึ้นมา หรือมีการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้าง หรือเกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนกัน เรียกว่า chromosome mutations or chromosome changes or chromosome aberration สามารถจะมองเห็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับโครโมโซมภายใน nucleus ได้ เมื่อทำการตรวจสอบทาง cytology (microscopic changes)

อาจให้คำนิยามของคำว่า mutation ได้ดังนี้ คือ การเปลี่ยนแปลงในลำดับหรือจำนวนของ nucleotides ในสารพันธุกรรม แล้วลำดับหรือจำนวนของ nucleotides ที่เกิดขึ้นใหม่นั้น สามารถจะถ่ายทอดจากตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้

การเปลี่ยนแปลงในลำดับของ nucleotides อาจเกิดขึ้นได้ ถ้าหาก bases คู่ใดคู่หนึ่งใน DNA ถูกสับเปลี่ยนไป เช่น AT แทนที่ GC หรือ bases คู่ใดคู่หนึ่งถูกตัดออกไป หรือเพิ่มเข้ามา ในบางกรณีการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่ในบางครั้ง อาจเกิดขึ้นกับ bases หลายคู่ หรือเกิดขึ้นในบางส่วนของทอนโครโมโซมก็ได้ ส่วนการเปลี่ยนแปลงในจำนวนของ nucleotides นั้น เป็น mutation ที่เกิดจากการที่จำนวนโครโมโซมของสิ่งมีชีวิตเพิ่มขึ้นมา เช่น จากเดิมสองชุดเป็นสี่ชุด หรืออาจมีโครโมโซมบางอัน หรือ nucleotides บางส่วนเพิ่มเข้ามาหรือสูญหายไปก็ได้ การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวมานี้ อาจถูกถ่ายทอดไปยังชั่วตอ ๆ ไปได้

โดยทั่วไปแล้ว เมื่อกล่าวถึง mutation มักจะหมายถึง gene mutation กันมากกว่า คือมีการเปลี่ยนจาก allele หนึ่งไปเป็นอีก allele หนึ่งของยีนส์ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่ง หรืออาจมี mutation ในยีนส์ตำแหน่งเดียวกันนี้หลายครั้งได้ alleles ชนิดต่าง ๆ ขึ้นมาโดย alleles เหล่านั้นอาจมี phenotypes ที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด หรือเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อยจนแยกออกไม่ชัดนัก ดังที่กล่าวมาแล้วในบทที่เกี่ยวกับ multiple alleles ถ้าหากการเปลี่ยนแปลงนั้นเกิดจากการที่ wild type หรือ normal เปลี่ยนไปเป็น mutant type เรียกว่า forward mutation มักพบโดยง่าย แต่ก็มี back mutation หรือ reverse mutation เกิดขึ้นได้เช่นเดียวกัน คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก mutant type ไปเป็น wild type เช่นในกรณีของ reverse biochemical or nutritional mutation ที่เกิดขึ้นใน bacteria Escherichia coli ถ้าหากนำ mutant ที่ไม่สามารถจะทำการสังเคราะห์ amino acid tryptophan (trp^-) ไปเลี้ยงบนอาหารที่ขาด amino acid ชนิดนี้แล้ว เก็บ bacteria บางส่วนสามารถจะเจริญเติบโตได้ แสดงว่าเป็นพวก revertant (trp^+)

ความสำคัญของ mutations

ความสามารถที่จะ mutate ได้เป็นคุณสมบัติที่สำคัญอันหนึ่งของสารพันธุกรรม mutation จะเกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด และจะทำให้การวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตดำเนินต่อไปได้ ถ้าหากไม่มี mutation ก็จะไม่มีความผันแปรในลักษณะต่าง ๆ เกิดขึ้น การคัดเลือก (selection) ก็เกิดขึ้นไม่ได้ ผลของ mutation จึงก่อให้เกิดความผันแปรหรือ variability ขึ้น เป็นวัตถุดิบสำหรับการวิวัฒนาการ โดยธรรมชาติจะเป็นผู้ทำการคัดเลือกพวกที่มีลักษณะที่ดีที่สุดไว้สืบพันธุ์และขยายพันธุ์ต่อไป

ปรากฏการณ์ของ mutations เป็นที่พบเห็นกันมานานแล้วจนที่ทุกคนจะเข้าใจถึงหลักการของพันธุศาสตร์เสียอีก โดยมีสิ่ง เกิดเห็นวาว ๆ ในพืชหรือสัตว์บาง อย่างจะมี phenotypes ใหม่เกิดขึ้นอย่างปฏิกิริยาที่เรียกกันว่า sports ซึ่งในปัจจุบันนี้ก็คือ mutations นั้นเอง และในบางครั้งลักษณะ เหล่านั้นสามารถจะถูกถ่ายทอดไปยังชั่วลูกหลานได้ เช่นลักษณะแกะชาสั้นที่ทำให้นมวัวกระโถกขามรั้ว เตี้ย ๆ ไม้โค ลักษณะไม่มีเขา (hornless) ในพวกวัวทำให้ไม่เป็นอันตรายของคนเลี้ยง หรือในพวกไม้ผสมบาง อย่าง อย ๆ ก็มีบางกิ่งที่ให้ผลที่มีลักษณะและคุณภาพที่ดีขึ้นกว่าเดิมเกิดขึ้นมา เมื่อใช้กิ่งนั้นขยายพันธุ์ต่อไปก็จะได้พืชคนใหม่หรือพันธุ์ใหม่ออกมา

เนื่องจาก mutation จะเกิดขึ้นแบบสุ่มผลของมันจึง เป็น โคทั้งดีและเลว หรือเป็นกลางต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ mutation บางอย่างที่เกิดขึ้นอาจมีผลต่อ phenotype เพียงเล็กน้อย และอาจมันทำให้เกิดผลในทางเสถียร (disadvantageous) เรียกว่ามันมี deleterious effect แต่ mutation บางอย่างอาจยังผลให้สิ่งมีชีวิตถึงกับตายได้เรียกว่ามันมี lethal effect โดยทั่วไปแล้วถ้าเกิด mutation ขึ้นในสิ่งมีชีวิตที่มีการปรับตัวที่แล้วมันก็จะ เป็นไปในทางที่ทำให้เสถียรมากกว่าที่จะเป็นผลดี แต่อย่างไรก็ตาม แม้ว่า mutation ส่วนใหญ่จะไม่เป็นประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิต เหล่านั้นโดยตรง แต่บางอย่างก็อาจ เป็นประโยชน์ต่อมนุษยเรา เช่น ในกรณีของ sports ทั้งในพืชและสัตว์หรือในบางครั้ง mutation ที่เกิดขึ้นในระยะใดระยะหนึ่งนั้น อาจไม่เป็นผลดีเสียแต่อาจมีลักษณะใหม่ออกมาในขณะนั้น แต่โดยมัน เป็น recessive mutant จึงถูกปิดบังไว้ภายหลังที่สภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงไปแล้ว มันจึงมีโอกาสปรากฏลักษณะใหม่ออกมา แล้วลักษณะนั้นอาจทำให้มันดำรงชีวิตอยู่ได้ก็กว่าพวก เก่าก็เป็นได้

ในมนุษย์ก็มีลักษณะเลว ๆ หลายอย่างที่ เกิดจาก mutation เช่น sex-linked recessive mutation ที่น่าโรค hemophilia ซึ่งเกิดขึ้นในสมเด็จพระนางเจ้าวิคตอเรียแห่งอังกฤษ หรือโรค amaurotic idiocy ไม่มีใครทราบแน่นอนว่าในบรรดาโรคทั้งหลายของมนุษย์นั้น มีสักกี่เปอร์เซ็นต์ที่เกิดจาก mutation แต่เข้าใจว่าจะมีมาก และบางทีทุก ๆ คน อาจมี recessive gene เลว ๆ ซ่อนอยู่ก็ได้ ถ้าหากมันปรากฏออกมาในสภาพ homozygous เมื่อไรก็อาจแสดง lethal effect ออกมาได้

Mutation ที่เกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิตที่เป็น haploid และ diploid

เนื่องจาก mutation อาจเกิดขึ้นกับเซลล์ใด ๆ ในระยะใดก็ได้ ดังนั้นในการศึกษาและทดลอง เกี่ยวกับ mutation ที่จะเกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ นั้น จะได้ออกมาแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับว่าสิ่งมีชีวิตเหล่านั้น เป็นพวกที่มีเพียง เซลเดี่ยวหรือประกอบด้วยหลาย เซลล์ และสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในสภาพ haploid หรือ diploid ถ้าหากว่าเป็นพวกที่มีเพียง เซลเดี่ยว และเป็น haploid เมื่อเกิด mutation ขึ้นจะแสดงผลออกมาได้ทันที ไม่ว่า mutation นั้น จะเป็นลักษณะเด่นหรือด้อย เช่น ในพวก *Chlamydomonas reinhardi* ถ้าหากว่ายีนส์ที่ควบคุมการสร้าง arginine เกิด mutate จาก wild type (arg^+) ไปเป็น mutant (arg^-) จะทำให้มันไม่สามารถสังเคราะห์ arginine ได้เอง ต้องพึ่งพาจากภายนอกและ เมื่อมันมีการแบ่งตัวต่อไป ก็กระจายทอดลักษณะนี้ไปยัง เซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นโดย

ในสิ่งมีชีวิตที่ประกอบด้วยเซลล์เป็นจำนวนมาก สามารถจะแบ่ง เซลล์ออกได้เป็นสองพวกด้วยกัน คือ somatic cell ในกรณีของสัตว์ หรือ vegetative cell ในกรณีของพืช ซึ่งเกือบทั้งหมดของส่วนต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตทั้งหลายจะประกอบไปด้วย เซลล์พวกนี้ ส่วน เซลล์อีกพวกหนึ่งนั้น เรียกว่า germinal or gametophytic cell ซึ่งจะทำหน้าที่สร้าง haploid gametes ขึ้นมา ดังนั้นถ้ามีการเปลี่ยนแปลงในลำดับหรือจำนวนของ nucleotides เกิดขึ้นในโครโมโซมของ somatic or vegetative cells จึงเรียกว่า somatic mutation ผลของ mutation แบบนี้จะถูกถ่ายทอดไปยัง เซลล์ที่ได้จากการแบ่งตัวแบบ mitosis ซึ่งถ้าหากว่ามัน เกิดขึ้นในพืชที่สามารถจะขยายพันธุ์ได้ทาง vegetative เช่น การตอน ปักชำ ริดดา หรือ คอกกิ่ง หรือ เซสพริเวณที่เกิด mutation นั้น สามารถจะสร้าง sex cells คือสร้าง ดอก ผล หรือ เมล็ดขึ้นมาได้ ลักษณะใหม่นั้นจะถูกถ่ายทอดไปโดยเร็ว ๆ และก็อาจทำให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ขึ้นมาได้ เช่น ในกรณีของ Delicious apple และ Navel orange เป็นผลจาก somatic mutation ที่เกิดขึ้นในเซลล์เพียง เซลล์เดียวในต้นแอปเปิ้ล และต้นส้ม ต่อมา เซสพริแบ่งตัวต่อไปจนกลายเป็นกิ่งใหม่สร้างผลแอปเปิ้ลและผลส้ม ที่มีลักษณะแตกต่างไปจากผลของกิ่งอื่น ๆ ในต้นเดียวกัน และยังมีคุณภาพดีกว่าอีกด้วย จึงใช้กิ่งที่เกิดจาก mutations นั้นทำพันธุ์ต่อไป โดยการ ริดดา คอกกิ่ง หรือ ตอน ทำให้ได้แอปเปิ้ลและส้มพันธุ์ใหม่ที่มีคุณภาพดีกว่า แพรหลาย แต่หากว่าสิ่งมีชีวิตนั้นสามารถจะขยายพันธุ์ได้เฉพาะแต่การสืบพันธุ์แบบมีเพศเท่านั้น mutation นั้นก็จะไม่ได้รับการถ่ายทอดไป ส่วน mutation ที่เกิดขึ้นในเซลล์พวกหลังนั้น เรียกว่า germinal mutation สามารถจะถูกถ่ายทอดไปยังชั่วคอ ๆ ไปได้ mutation แบบนี้อาจจะเกิดขึ้นในระยะใดก็ได้เช่น

เดียวกัน ถ้าหากมันเกิดขึ้นใน gamete เพียงอันเดียวก็อาจมีลูกเพียงตนเดียวหรือตัวเดียวเท่านั้นที่จะได้รับ mutant gene ไป แต่ถ้ามันเกิดขึ้นในระยะแรก ๆ ของ gametogenesis ก็อาจมี gametes เป็นจำนวนมากที่มี mutant genes อยู่ จึงมีลูกหลานที่เป็น mutant ได้ในจำนวนที่มากกว่า

ในสิ่งมีชีวิตที่เป็น diploid ถ้าเกิด mutation แล้วได้ยีนส์ใหม่ที่นำลักษณะเด่นก็จะทำให้ลักษณะนั้นปรากฏออกมาได้ทันทีแม้จะอยู่ในสภาพ heterozygous ก็ตาม อาจทำให้เกิดลักษณะคาง หรือ mosaics ขึ้น แต่ถ้ายีนส์ที่เกิดใหม่นั้นนำลักษณะคอบย มันอาจจะยังไม่แสดงผลออกมาจนกว่าจะอยู่ในสภาพ homozygous ซึ่งอาจกินเวลานานอยู่หลายชั่ว ดังนั้นโดยมากแล้ว germinal mutation ที่เป็นลักษณะคอบยจึงไม่สามารถจะตรวจพบได้ในชั่วแรก ๆ ที่มันเกิดขึ้น

ถ้ามองพิจารณาถึงผลจาก lethal mutation แล้ว ในสิ่งมีชีวิตที่เป็น haploid พวก mutant ที่เกิดขึ้นหรือลูกหลานของมันจะอยู่รอดไม่ได้อยู่เลยในสภาพแวดล้อมปกติ แต่ในพวก diploid นั้น recessive lethal gene สามารถจะแฝงอยู่ได้ในสภาพ heterozygous โดยไม่ทำให้สิ่งมีชีวิตนั้นตาย จนกว่ามันจะปรากฏอยู่ในสภาพ homozygous

อัตราการเกิด mutation

โดยปกติแล้วอัตราการเกิด mutation ของยีนจะต่ำมาก แต่ก็แตกต่างกันไป แล้วแต่วิธีของสิ่งมีชีวิต และขึ้นอยู่กับยีนส์แต่ละตำแหน่งด้วย นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ อีก เช่น สภาพแวดล้อม เพศ และพันธุ์ ในตารางที่ 15 - 1 แสดงให้เห็นถึงอัตราการ

ตารางที่ 15 - 1 อัตราการเกิด mutation ความธรรมชาติของยีนส์บางตำแหน่งในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ

Organism	Trait	Mutation per 100,000 Gametes
bacteria		
<i>E. coli</i> (K12)	to streptomycin resistance	.00004
	to phage T1 resistance	.003
	to leucine independence ($leu^- \rightarrow leu^+$)	.00007
	to arginine independence	.0004
	to tryptophan independence	.006
	to arabinose dependence ($ara^+ \rightarrow ara^-$)	.2

การวิจัย 15-1 (ทอ)

Organism	Trait	Mutation per 100,000 Gametes
<u>Salmonella typhimurium</u>	to threonine resistance	.41
	to histidine dependence	.2
	to tryptophan independence	.005
<u>Diplococcus pneumoniae</u>	to penicillin resistance	.01
<u>Neurospora crassa</u>	to adenine independence	.0008-.029
	to inositol independence	.001-.010
<u>Drosophila melanogaster</u> males	y ⁺ to yellow	12
	bw ⁺ to brown	3
	e ⁺ to ebony	2
	ey ⁺ to eyeless	6
	corn	Wx to waxy
	Sh to shrunken	.12
	C to colorless	.23
	Su to sugary	.24
	Pr to purple	1.10
	I to i	10.60
	R ^R to r ^R	49.20
mouse	a ⁺ to nonagouti	2.97
	b ⁺ to brown	.39
	c ⁺ to albino	1.02
	d ⁺ to dilute	1.25
	ln ⁺ to leaden	.80
	reverse mutations for above genes	.27
Chinese hamster somatic cell tissue culture	to azaguanine resistance	.0015
	to glutamine independence	.014
man	epiloia	
	England	.4-.8
	retinoblastoma	
	England	1.2
	USA, Michigan	2.3
	USA, Ohio	1.8
	Germany	1.7
	Switzerland	2.1
	Japan	2.1
	aniridia	
	Denmark	.5
	USA, Michigan	.5
	achondroplasia (chondrodys- trophy)	
	Denmark	4.2
	North Ireland	14.3
	Sweden	7.0
	Japan	12.2
	partial albinism with deafness	
	Holland	.4

ตารางที่ 15-1 (ต่อ)

Organism	Trait	Mutation per 100,000 Gametes
	Pelger's anomaly	
	Germany	2.7
	Japan	1.7
	neurofibromatosis	
	USA, Michigan	13.0-25.0
	microphthalmos-anophthalmos	
	Sweden	.5
	Huntington's chorea	
	USA, Michigan	.5

mutation ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติที่เรียกว่า spontaneous mutation ในยีนส์บางตำแหน่ง จากสิ่งมีชีวิตหลายชนิดด้วยกัน จะเห็นได้ว่าความถี่ของ mutation ในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน แตกต่างตำแหน่งกันก็มีอัตราการ mutation แตกต่างกันไปไ้มาก เช่น ในกรณีของชาวโพลจะมีตั้งแต่ตรวจไม่พบ ใน waxy gene ไปจนถึง 45 mutations ต่อ 100,000 gametes ใน R⁺ gene เป็นต้น

Spontaneous and Induced Mutations

การเกิด mutation นั้น สามารถจะเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติที่เรียกว่า spontaneous mutation ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญอันหนึ่งที่ทำให้เกิดความแปรปรวนในลักษณะต่าง ๆ แต่เนื่องจากว่า spontaneous mutation นั้นเกิดขึ้นในอัตราที่ต่ำมาก และส่วนใหญ่ของ mutation ที่เกิดขึ้นมักเป็นไปในทางที่เสถียร จึงเป็นการยากที่จะพบ mutant ที่มีลักษณะที่ใด ดังนั้นจึงมีผู้พยายามหาวิธีการที่จะชักนำให้เกิด mutation ขึ้นในอัตราที่มากกว่าธรรมชาติให้ได้ เรียกว่า induced mutation

ในปี ค.ศ. 1927 Muller ได้แสดงให้เห็นว่าการใช้ x-rays สามารถจะเพิ่มอัตราการเกิด mutation ในแมลงหวี่ได้ถึง 150 เท่า และในเวลาไล่เรี่ยกันนั้น Stadler ซึ่งทำการศึกษากับข้าวบาเลย์ก็พบผลที่คล้ายคลึงกัน และในเวลาต่อมาก็มีนักวิทยาศาสตร์คนอื่น ๆ ได้รายงานผลการทดลองแบบเดียวกันนี้ แต่ทำกับสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ กัน

นอกจาก x-rays แล้ว ภายหลังก็มักมีการพบว่ามี agents ต่าง ๆ อีกหลายชนิดที่สามารถกระตุ้นให้เกิด mutation ขึ้นได้ เรียก agents เหล่านี้ว่า mutagenic agents หรือ mutagens ในที่นี้จะแบ่งออกเป็นสองพวกด้วยกัน คือ

1. Radiation สามารถจะแบ่งรังสีออกเป็นชนิดต่าง ๆ ได้ตามช่วงคลื่นของมัน บังรังสีในช่วงคลื่นสั้นลงมากเท่าไร จะยังมีอำนาจทะลุทะลวงสูงขึ้นเรื่อย ๆ

a) Ionizing radiation เป็นรังสีคลื่นสั้นที่มีพลังงานและอำนาจทะลุทะลวงสูง เช่น x-rays, electrons, protons, neutrons, alpha rays, beta rays, และ gamma rays

เมื่อรังสีพวกนี้ผ่านเข้าไปในร่างกายของสิ่งมีชีวิต มันจะเข้ากระแทกใน electrons หลุดออกมาจากรอบนอกของ atoms ทำให้ atoms กลายเป็น positively charged ions ในขณะที่เกี่ยวกับ electrons ตัวที่หลุดออกไปด้วยความเร็วสูงก็จะไปกระแทกใน electrons ของ atoms ตัวอื่น ๆ ไปหลุดออกไปอีก จนกระทั่งพลังงานถูกปลดปล่อยออกไปจาก electrons หมกแล้ว มันจึงไปเกาะเข้ากับ atoms ตัวอื่น ทำให้ atoms เหล่านี้กลายเป็น negatively charged ions ขึ้นมาด้วย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าแต่ละ atom นั้น จะมีทั้งการสูญเสีย electron ของตนเองไป และในขณะเดียวกันก็จะโคจร electron ของอีก atom หนึ่งเข้ามาแทน จึงทำให้เกิด ions ขึ้นเป็นคู่ ๆ ตลอดแนวที่รังสีผ่านไป และในการที่จะทำให้ประจุเหล่านั้นหายไปเพื่อที่มันจะโคจรกลับมาอยู่ในรูปที่อยูตัว (stable configuration) ก็จำเป็นต้องมีปฏิกิริยาทางเคมีเกิดขึ้น (neutralize their charge) เช่นกันว่า mutagenic effect คงจะเกิดขึ้นในขณะที่กำลังมีปฏิกิริยาทางเคมีเอง

ผลจาก ionizing radiation อันหนึ่งที่เป็นที่ทราบกันก็คือ การทำให้โครโมโซมหรือ chromatids ซากออกจากกัน ถ้าหากทั้งสอง strands ใน double helix ซากออกจากกัน จะทำให้มีโครโมโซมที่มีปลายข้างหนึ่งหายไปเกิดขึ้น และจะเกิด breakage-fusion-bridge cycle ตามมาเมื่อมี replication แต่ถ้าโครโมโซมเกิดซากออกจากกันสองแห่งด้วยกัน อาจก่อให้เกิด deletion หรือ inversion หรือหากมีการซากออกจากกันเกิดขึ้นกับโครโมโซมสองอันที่ไม่ใช่คู่กัน ก็อาจทำให้เกิด translocation ขึ้น ซึ่งจะกล่าวถึงในบทต่อไป

b) Non-ionizing radiation เช่น รังสี ultraviolet จะมีอำนาจทะลุทะลวงผ่านเนื้อเยื่อได้และยังถูกดูดซับไว้โดยเนื้อเยื่อไขมันอีกด้วย จึงทำให้ทวี realm ที่ถูกรังสีถูกทำลายไขมันดีกว่าพวกแรก

โดยทั่วไปแล้วอัตราการของ mutation ที่จะเกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณรังสีที่ใส่ ถ้าใช้มากเกินไปอาจก่อให้เกิดความเสียหายแก่ยีนส์และโครโมโซมมาก จนทำให้การอยู่รอดของ mutant ลดต่ำลง

2. Chemical mutagens มีสาร เคมีหลายชนิดด้วยกันที่พบว่าสามารถจะชักนำให้เกิด mutation ขึ้นได้ทั้งในพืชหรือสัตว์ เช่น formaldehyde, nitrous acid, hydroxylamine, mustard gas, dimethyl and diethyl sulfonate, methyl and ethyl methanesulfonate, nitrosoguanadine.

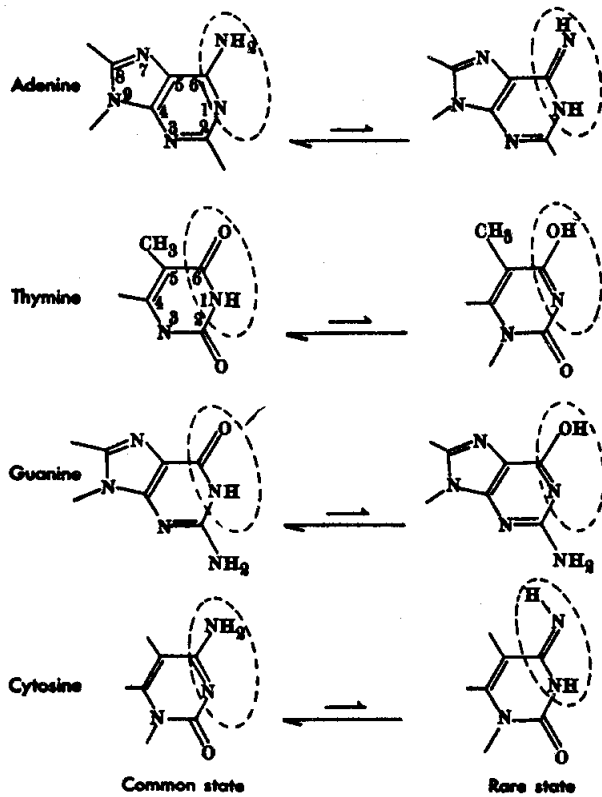
Mutation ในระดัยยอยของยีนส์

จากการศึกษาเกี่ยวกับ genetic code ของยีนส์ เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่า ถ้ายกเว้นสาม triplets คือ UAA, UAG, และ UGA แล้ว triplets ที่เหลือต่างก็จะ code amino acid กันออกมาคนละชนิดอย่างเฉพาะเจาะจง ดังนั้น เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นกับ genetic code ก็จะส่งผลให้เกิด amino acid ต่างชนิดออกมา การเปลี่ยนแปลงใน genetic code นั้น อาจเกิดขึ้นได้หลายทาง เช่น โดยการเพิ่ม nucleotide เข้าไป หรือ ทำให้สูญหายไปจาก polynucleotide strand หรือการเอา nucleotide ตัวใหม่ใส่เข้าไปแทนที่ตัวเดิม ในสองกรณีแรกไม่เพียงแต่จะก่อให้เกิดความกระทบกระทั่งต่อ code ใด code หนึ่ง เท่านั้น แต่จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงใน message ส่วนที่ต่อเนื่องไปจาก triplet ที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นแล้วด้วย ผลสุดท้ายก็จะทำให้มีการสร้างโปรตีนที่ผิด ๆ ออกมา และอาจทำให้เซลล์ถึงกับตายได้ ส่วนในกรณีที่สาม คือการที่มี nucleotide ชนิดใหม่เข้าแทนที่ใน triplet ยีนใดยีนหนึ่ง จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเฉพาะ codon ยีนนั้น เท่านั้น คือทำให้มันบ่ง amino acid ผิดไปจากเดิม อาจทำให้มีการสังเคราะห์โปรตีนชนิดใหม่ที่มี amino acid แตกต่างไปจากเดิมเพียงตัวเดียว ตัวอย่างที่เห็นชัดที่สุด คือ กรณีของโรค hemophilia ที่เกิดขึ้นกับมนุษย์

เท่าที่โลกกล่าวมานี้ เป็นการเปลี่ยนแปลงในระดัยยอยที่สุดของยีนส์ คือ เกิดขึ้นกับ nucleotide เพียงตัวเดียว ทั้งนี้ไม่ได้นิยามความว่า mutants ทั้งหลายจะเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงแบบนี้ แต่คงจะชี้ให้เห็นว่า mutation อาจเกิดขึ้นได้ แม้จะมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในลำดับของ nucleotides

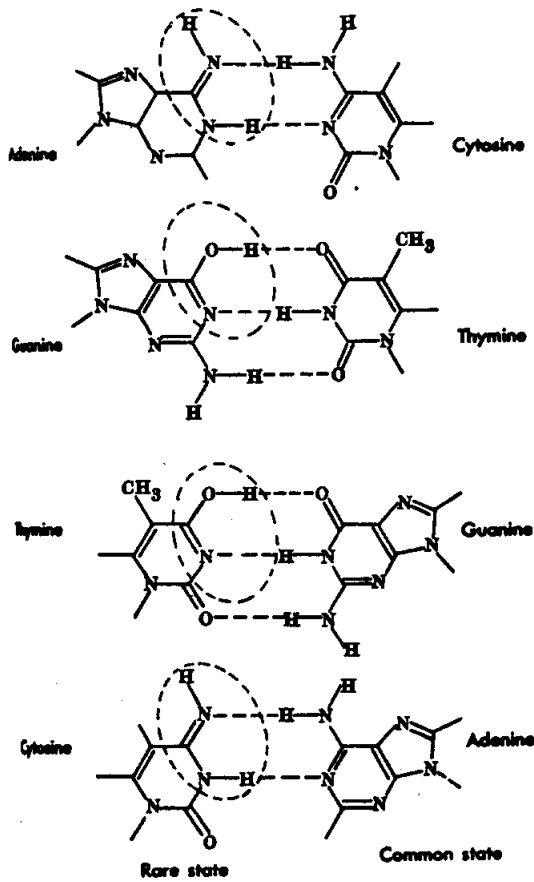
รากฐานทางเคมีของ mutations: transitions

ความปกติในโมเลกุลของ DNA นั้น adenine (A) จะเกาะกับ thymine (T) โดย two hydrogen bonds และ guanine (G) จะเกาะกับ cytosine (C) โดย three hydrogen bonds แต่ในบางโอกาส (rare states) bases ทั้งสี่อาจเปลี่ยนรูปได้ โดยจะเกิดการจัดเรียงใหม่ (rearrangements) ของ hydrogen atoms ภายในแต่ละโมเลกุลของมัน การจัดเรียงใหม่แบบนี้เรียกว่า tautomeric shifts ซึ่งแสดงไว้ในรูปที่ 15-1 เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกิดขึ้น จะทำให้ bases ที่อยู่ในรูปใหม่ไม่สามารถจะ



รูปที่ 15-1 Tautomerism ของ bases ทั้งสี่ตัวของ DNA

จับคู่กับ bases ตัวใหม่ในรูปปกติได้ แต่จะไปจับคู่กับตัวอื่นแทน เช่น A ในรูปใหม่ก็จะไปจับคู่กับ C ในรูปเดิม ในรูปที่ 15-2 แสดงถึงการจับคู่ที่จะเกิดขึ้นจาก tautomerization ใน bases ทั้งสี่ตัว โดยจะทำให้ A มีความสามารถในการจับคู่สายกับ G, G คลายกับ A



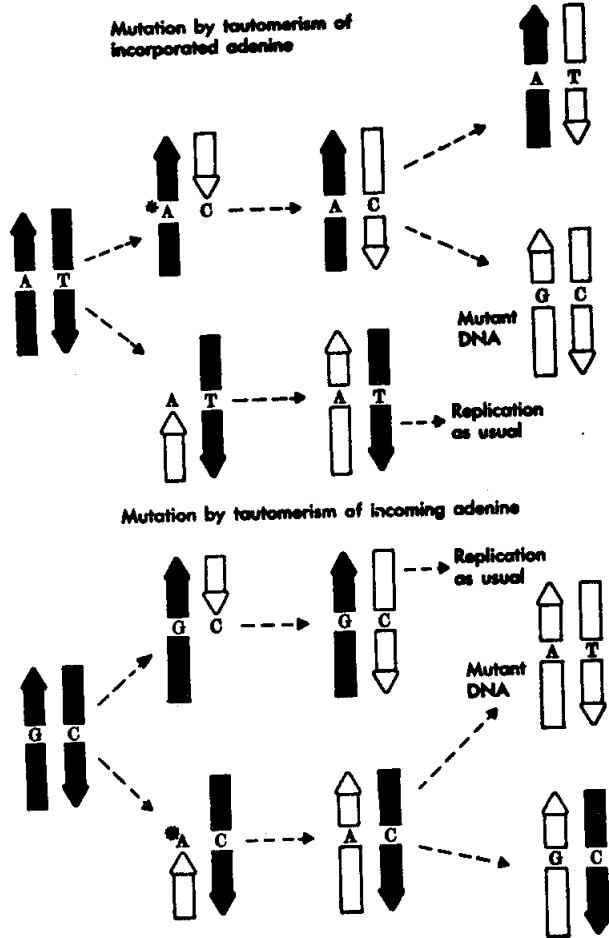
รูปที่ 15-2 การจับคู่ที่เกิดขึ้นจาก tautomerization

T คลายกับ C และ C คลายกับ T

ในปี ค.ศ. 1953 Watson และ Crick ได้อธิบายว่า การที่มี tautomeric shifts ซึ่งเกิดขึ้นไต่ยากและเกิดเพียงชั่วระยะเวลาสั้น เป็นกลไกหนึ่งที่ทำให้เกิด mutation ขึ้น เช่น ในกรณีที่ DNA replication เกิดขึ้นนั้น ถ้าใน DNA strand เดิมเกิดมี A อยู่ ใน rare state เมื่อมันสร้าง strand ใหม่ที่เป็นคู่กันขึ้นมา A จะจับคู่กับ C ทำให้ในตำแหน่งดังกล่าวแทนที่จะเป็น base T กลับกลายเป็น C ไป และเมื่อ A กลับมาอยู่ในรูปเดิม replication ครั้งต่อไป จะทำให้มันจับคู่กับ T ตามปกติ ส่วนใน strand ใหม่ที่มี C เข้าแทนที่ T นั้น ในการจับคู่ครั้งต่อไปมันก็จะไปจับกับ G ตามปกติเช่นกัน ดังนั้นจะมีโมเลกุล DNA

เกิดขึ้นมาโคสองแบบควบกัน คือ พวกที่เหมือนของเดิมทุกประการ กับอีกพวกหนึ่งที่มี GC เข้าแทนที่ AT การเปลี่ยนแปลงที่เป็นผลจากการจับคู่ที่ผิดพลาดทำให้ purine ตัวหนึ่งไปอยู่ใน pairing form ของ purine อีกตัวหนึ่ง (เช่น A \rightarrow G) ใน polynucleotide chain และจะทำให้ pyrimidine ตัวหนึ่งไปอยู่ใน pairing form ของ pyrimidine อีกตัวหนึ่ง (เช่น T \rightarrow C) ใน complementary chain เรียกว่า transition ผลของมันจะทำให้เกิดการ code amino acid ตัวใหม่ขึ้นตรงตำแหน่งของ DNA ที่มี การเปลี่ยนแปลงดังกล่าว mutation ที่เกิดขึ้นในขณะที่มี DNA replication แบบนี้เรียกว่า copy error mutation ถ้าหาก mutation ที่เกิดขึ้นยังผลให้มีการสร้าง terminator or nonsense triplets (UAA, UAG, or UGA) ขึ้นมา จะทำให้การอ่าน code ของ mRNA สิ้นสุดลงตรงจุดเหล่านี้ และทำให้การสร้าง polypeptide ไม่สมบูรณ์ อาจก่อให้เกิด lethal mutation ได้

ในรูปที่ 15-3 ได้แสดงขั้นตอนของ base-pair transition หลังจากที่เกิด tautomerism แล้ว จากรูปนี้จะเห็นได้ว่า นอกจาก transition จะเกิดขึ้นได้จากการที่ base ใน strand เก่าเกิด tautomeric shift ทำให้มันจับคู่กับ base ที่จะมาเรียงกันใน strand ใหม่ผิดไปแล้ว ยังอาจเกิดขึ้นได้จากการที่ base ที่จะมาต่อกันเข้าเป็น strand ใหม่ นั้นอยู่ใน rare state อีกด้วย เช่น การที่มี AT เข้าแทนที่ GC

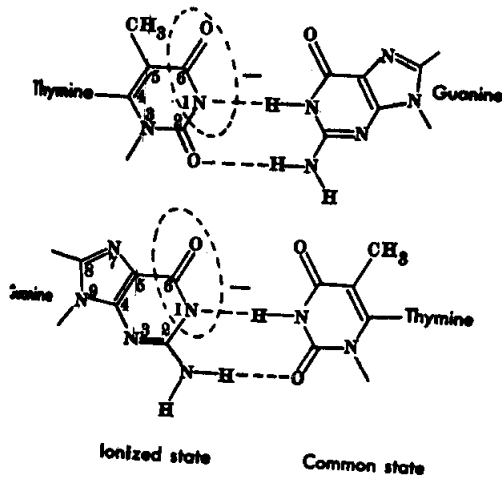


รูปที่ 15-3 ผลจาก tautomerization ของ adenine ตัวหนึ่ง (*A) ที่เกิดขึ้น เมื่อมี DNA replication

สันนิษฐานกันว่าการที่รังสี ultraviolet ก่อให้เกิด mutation ใต้นั้น เนื่องจากว่า tautomeric shift ที่เกิดขึ้นกับ nucleotide นั้น ต้องการพลังงานมากเพื่อใช้ในการจัดเรียงใหม่ของ hydrogen atoms ประกอบกับ purines และ pyrimidines สามารถจะถูกขยับรังสีนี้ได้ จึงได้พลังงานจากรังสีไปใช้ ทำให้เพิ่ม spontaneous mutation ได้

transition สามารถจะเกิดขึ้นได้อีกทางหนึ่งคือ ionization ของ base ตัวหนึ่งตัวใด ในขณะที่มี DNA replication โดย ionization จะทำให้เกิดการสูญเสียไฮโดรเจนไปจากในโครเมอตัวที่หนึ่งของ base ทำให้นั้นสามารถจะไปจับกับ base ตัวอื่นที่ไม่ใช่

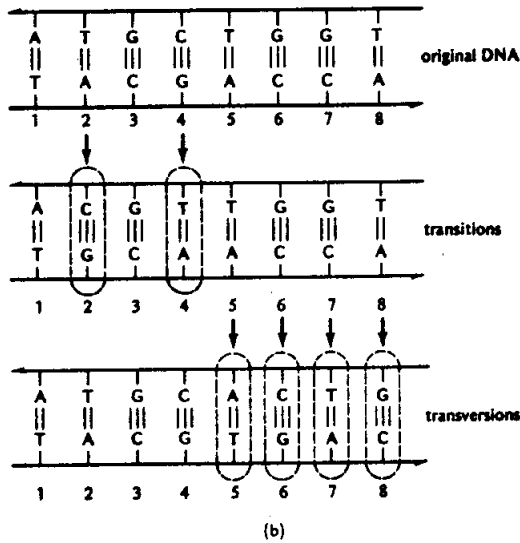
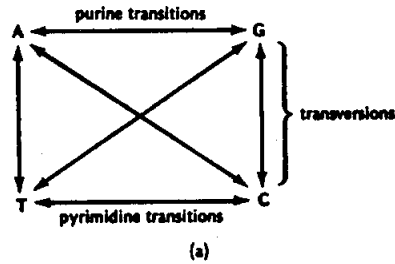
คู่ปกติของมีนได้ เช่น T เมื่ออยู่ใน ionized state สามารถจะจับคู่ได้กับ G ในรูปปกติ และในทางตรงกันข้าม G ใน ionized state ก็สามารถจะจับคู่ได้กับ T ในรูปปกติ ดังนั้น bases คู่ใดก็ตามที่ไม่อยู่ตัวจะก่อให้เกิด transition โคเซนเกี่ยวกับการเกิด tautomeric shift รูปที่ 15-4 แสดงถึงการจับคู่ของ bases TG และ GT ที่เกิดขึ้นจาก ionization ของ bases ทั้งสองตัว



รูปที่ 15-4 การจับคู่ที่เกิดขึ้นจาก ionization ของไนโตร เบสตัวที่หนึ่ง

รากฐานทางเคมีของ mutations : transversions

ในปี ค.ศ. 1959 Freese ได้เสนอสมมติฐานขึ้นมาอีกแบบหนึ่ง เพื่อใช้อธิบายถึงสาเหตุของการเกิด mutation เรียกว่า transversion โดยมันจะเกิดจากการแทนที่ของ bases ระหว่างพวกที่เป็น purine กับ pyrimidine เช่น A → C หรือ T → G (รูปที่ 15-5) จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในลำดับของ nucleotides เกิดขึ้นภายหลัง replication เช่นเดียวกัน



รูปที่ 15-5 การแทนที่ของ nucleotides แบบต่าง ๆ (a) การเปลี่ยนแปลงทั้งสองแบบที่เกิดขึ้นกับ purines และ pyrimidines (b) ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในส่วนหนึ่งของ double-stranded DNA

รากฐานทางเคมีของ mutations: additions and deletions

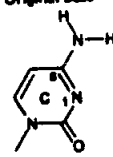
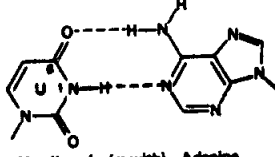
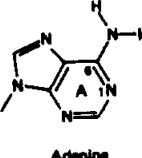
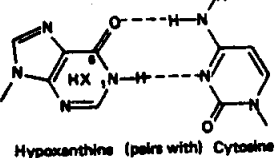
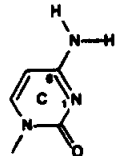
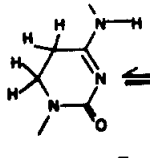
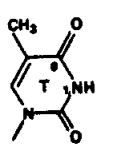
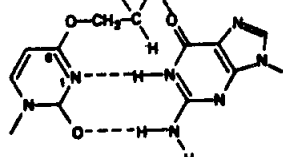
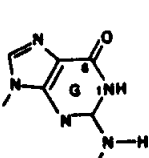
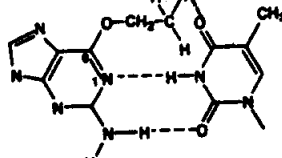
Mutants อีกพวกหนึ่งสามารถจะชักนำให้เกิดขึ้นได้โดยการใช้ acridine dye proflavin เป็นที่เชื่อกันว่าโมเลกุลของ proflavin สามารถจะเข้าไปแทรกตัวระหว่าง bases สองตัวใน DNA strand ใดก็ได้ จะทำให้ DNA strand นั้นยืตัวออกไป เมื่อมี replication เกิดขึ้น จะเปิดโอกาสใหม่ nucleotide เพิ่มเข้ามาได้อีกหนึ่งตัวใน complementary chain ที่ถูกสร้างขึ้นมาตรงตำแหน่งที่ proflavin แทรกตัวอยู่ เมื่อมีการสร้าง DNA ขึ้นมาอีกครั้งหนึ่งก็จะทำให้ DNA ที่เกิดใหม่มี nucleotides เกินมาหนึ่งคู่

(addition) และในทำนองเดียวกัน mutation อีกแบบหนึ่งอาจเกิดขึ้นได้โดยในขณะที่มี DNA replication นั้น โมเลกุลของ proflavin อาจเข้าไปแทรกตัวอยู่ชั่วคราวในระหว่าง bases ของ strand ใหม่ที่กำลังสร้างขึ้น จึงทำให้ strand นั้นขาด nucleotide ไปหนึ่งตัว หลังจาก that proflavin แยกตัวออกไปแล้ว ใน replication ครั้งต่อไป DNA ที่เกิดขึ้นก็จะขาด nucleotides ไปหนึ่งคู่ (deletion) นอกจากนั้นยังเชื่อกันว่า proflavin สามารถจะทำให้โมเลกุลของ DNA มี nucleotides เกินมาหรือขาดไปไ้มากกว่าหนึ่งคู่

สันนิษฐานกันว่าอาจมีกลวิธีอื่น ๆ อีกใน spontaneous mutation ที่ทำให้เกิด addition และ deletion ขึ้นในลำดับของ nucleotides โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเกิด mutation เช่นนี้จะเป็นผลเสียต่อการสังเคราะห์โปรตีนเป็นอย่างมาก ยกเว้นแต่ในกรณีที่มี mutation กับ nucleotides ที่ละสามตัวหรือเป็นเท่าของสาม ทั้งนี้เพราะการอ่าน genetic message จากจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงไปจนสุดก็ออกไปเลยหนึ่งนั้น จะทำให้มีการสร้างโปรตีนขึ้นมาอย่างผิดพลาดมักทำให้ mutants อยู่ไม่รอด แต่ถ้ามองว่าชีวิตนั้นสามารถขมอดต่อไปได้เมื่อเกิด replication ต่อไป จะโคโรโมโซมที่มีลำดับของ bases บางคนเปลี่ยนไปจากเดิม

การเปลี่ยนแปลงอย่างถาวรที่เกิดขึ้นในโครงสร้างของ nucleotide

มี mutation อีกแบบหนึ่งที่แตกต่างไปจากกรณีของ tautomeric shift ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเพียงชั่วคราวทำให้เกิด copy error ขึ้นมา การเปลี่ยนแปลงที่ถาวรต่อไปนี้เป็นกรณีที่น่าฉงนใจเกิดขึ้นโดยถาวร โดยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของ base ใน parental DNA or RNA molecule จาก base หนึ่งไปเป็น base อีกตัวหนึ่ง หรือไม่ก็เปลี่ยน bonding properties ของ base ใดตัวหนึ่ง จนทำให้มันสามารถจะจับคู่ได้กับ base ตัวอื่นที่ไม่ใช่คู่ตามปกติของมัน การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวไม่จำเป็นจะต้องเกิดขึ้นในขณะที่มี replication ทั่วๆ ไป แต่ภายหลังจากที่มี replication เกิดขึ้นแล้วก็จะทำให้ลำดับของ base ใน nucleotides ที่เกิดขึ้นผิดไปจากเดิม การชักนำให้เกิด mutation โดยถาวรสามารถจะกระทำได้โดยการให้สารเคมีหลายชนิดด้วยกัน ที่นิยมใช้กันมากได้แก่ nitrous acid (HNO_2), hydroxylamine (NH_2OH), ethyl methanesulfonate (EMS) รูปที่ 15-6 แสดงให้เห็นถึงปฏิกิริยาและผลที่เกิดขึ้นจากการให้สารเคมีดังกล่าว จากรูปนี้ จะเห็นว่าในกรณี (a) การให้ HNO_2 เป็น mutagen กับ C มันจะไปดึงเอา amino group ($-\text{NH}_2$) ออกจาก keto group ($=\text{O}$) เข้าไปแทน ทำให้ C กลายเป็น U

Mutagen	Proposed mutagenic effects		Predicted transition	
	Original base	Modified base	Pairing partner	
(a) Nitrous acid	 Cytosine	$\xrightarrow{\text{HNO}_2}$  Uraacil	(pairs with) Adenine	GC \rightarrow AT
	 Adenine	$\xrightarrow{\text{HNO}_2}$  Hypoxanthine	(pairs with) Cytosine	AT \rightarrow GC
(b) Hydroxylamine	 Cytosine	$\xrightarrow{\text{NH}_2\text{OH}}$ $\xrightarrow{\text{NH}_2\text{OH}}$  Tautomeric shift likely	(pairs with) Adenine	CG \rightarrow AT
			(pairs with) Adenine	CG \rightarrow AT
(c) Ethyl methane-sulfonate (EMS)	 Thymine	$\xrightarrow{\text{EMS}}$  (pairs with) Guanine	(pairs with) Guanine	AT \rightarrow GC
	 Guanine	$\xrightarrow{\text{EMS}}$  (pairs with) Thymine	(pairs with) Thymine	GC \rightarrow AT

รูปที่ 15-6

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีของ bases ที่เกิดจาก mutagens
 สามชนิดด้วยกัน

ซึ่งจะจับคู่กับ A ใน replication ครั้งต่อไป ดังนั้นจากคู่ของ bases GC ก็จะเปลี่ยนไปเป็น AT แทน ส่วนการใช้ HNO_2 กับ A นั้นก็จะทำให้ A กลายเป็น hypoxanthine ซึ่งจะจับคู่ได้กับ C เมื่อมี replication ขึ้นจาก bases AT ก็จะกลายเป็น GC แทนผลของ nitrous acid ในการก่อให้เกิด mutation จึงเป็นไปทั้งสองทาง (bidirectional) คือ transition อาจเกิดจาก $\text{AT} \rightarrow \text{GC}$ หรือ $\text{GC} \rightarrow \text{AT}$ ในกรณี (b) การใช้ hydroxylamine นั้นมันจะไปทำปฏิกิริยาเฉพาะกับ pyrimidines และคาดว่าจะมีเสียงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับ C เท่านั้นที่จะทำให้เกิด mutation แต่ยังไม่เป็นที่ลง เอกแน่นอนว่ามันไปเปลี่ยนแปลง C โดยอย่างไร เท่าที่สันนิษฐานกันไว้ก็มีอยู่สองวิธีด้วยกัน โดยวิธีแรกมันอาจไปทำปฏิกิริยากับ amino group แล้วเปลี่ยนไปอยู่ใน oxime form ($=\text{N}-\text{OH}$) ทำให้ nucleotide ดังกล่าวจับคู่ได้กับ A ส่วนอีกวิธีหนึ่งนั้น hydroxylamine เขาทำปฏิกิริยากับ C ตรง double bond ในตำแหน่งที่ 4 และ 5 ทำให้ nucleotide เกิด tautomeric shift ไปอยู่ใน oxime form จึงจับคู่ได้กับ A เช่นเดียวกับวิธีแรก ดังนั้นกรณีนี้ mutation จึงเกิดขึ้นได้เพียงทางเดียว (unidirectional) คือ transition เกิดจาก $\text{GC} \rightarrow \text{AT}$ ส่วนในกรณี (c) EMS จะเพิ่ม alkyl group (CH_3-) ใน nucleotides โดยเขาทำปฏิกิริยากับ keto group ตรงตำแหน่งที่ 6 ของ T และ G ทำให้เกิด tautomerization ขึ้น เป็นผลให้ T จับคู่ได้กับ G และ G จับคู่ได้กับ T ดังนั้น mutation จึงสามารถเกิดขึ้นได้สองทาง เช่นเดียวกัน