บทที่ 4
ยีนและโครโมโซม
Gene and Chromosome

ยีนเป็นตัวควบคุมลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิต บนโครโมโซมจะมียีนจำนวนมากอยู่รวมกัน รูปร่างและขนาดของโครโมโซมจะแปรผันในระหว่างวัฏจักรชีวิตของเซลล์ ทั้งนี้ขนาดของโครโมโซมไม่ได้เป็นสัดส่วนกับจำนวนยีนที่อยู่บนโครโมโซม ในสภาพปกติจำนวนโครโมโซมของเซลล์ร่างกายพืชเรียก โซมาติก (somatic) ไซโกติก (zygotic) หรือดิพลอยด์นัมเบอร์ (diploid number) จำนวนโครโมโซมในเซลล์สืบพันธุ์เรียกแฮพลอยด์ (haploid) หรือ แกมิติกนัมเบอร์ (gametic number) จำนวนโครโมโซมในแต่ละจีโนมเรียกเบสิกนัมเบอร์ (basic number) ให้ 2n และ n แทนจำนวนโครโมโซมในไซโกตและเซลล์สืบพันธุ์ และให้ X แทนจำนวนเบสิกโครโมโซม เช่น ข้าวสาลี มีจำนวน 2n เท่ากับ 14 28 42 จะมีจำนวน n เท่ากับ 7 14 และ 21 ตามลำดับ และ X เท่ากับ 7 ดังนั้น ข้าวสาลีจึงมีโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ เททราพลอยด์ และ เฮกซาพลอยด์ ตามลำดับ

ยีน (gene)

ยีนที่อยู่บนโครโมโซมจะมีการเรียงตัวไม่ต่อเนื่องคือ ช่วงรหัสสำหรับกำหนดชนิดของกรดอะมิโนเรียกว่าเอ็กซอน (exon) และช่วงที่ไม่ใช่รหัสสำหรับกรดอะมิโนเรียกว่าอินทรอน (intron)

หน้าที่ของยีนคือ การควบคุมและส่งผลมายังฟีโนไทป์ ในปี ค.ศ. 1941 Beadle และ Tatum ได้ค้นพบปฏิกริยาทางชีวเคมีที่ผิดปกติใน Neurospora จึงได้เสนอทฤษฎีเกี่ยวกับยีนขึ้นเรียกว่า ทฤษฎี "one gene-one enzyme" มีใจความสำคัญดังนี้

1. ปฏิกิริยาทางชีวเคมีทุกปฏิกริยาในสิ่งมีชีวิตจะควบคุมด้วยยีน

2. ปฏิกริยาทางชีวเคมีทุกปฏิกริยาสามารถจะศึกษาและทราบขั้นตอนของการเปลี่ยนแปลงในปฏิกริยานั้นๆ ได้

3. ในแต่ละขั้นตอนของปฏิกริยาเคมีจะควบคุมด้วยยีน 1 ยีน

4. ถ้าเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ในยีนตัวใดตัวหนึ่งจะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถของเซลล์ที่จะทำให้ปฏิกริยานั้นดำเนินต่อไปได้

การแสดงออกของยีน

Wardlaw (1970) ได้อธิบายการแสดงออกของยีนว่า "ยีนทุกยีนจะทำหน้าที่ในบางเวลาและมีบางยีนเท่านั้นที่จะแสดงออกตลอดเวลาแต่ไม่ทุกยีนที่จะทำหน้าที่ตลอดเวลา" จากการทดลองของ Goldberg และคณะ (1978) ทำการสกัดเอ็มอาร์เอ็นเอจากเนื้อเยื่อใบยาสูบแล้วทดสอบการเข้าคู่ของเอ็มอาร์เอ็นเอกับโมเลกุลของดีเอ็นเอที่มียีนทั้งหมดของยาสูบพบว่ามีการเข้าคู่ได้เพียง 5 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น แสดงให้เห็นว่ายีนที่แสดงออกในส่วนของใบอ่อนนั้นเป็นเพียงส่วนน้อยเมื่อเทียบกับยีนทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าการแสดงออกของยีนมีความแตกต่างกันไปตามการพัฒนาของเนื้อเยื่อ

เมื่อมีการอภิปรายเกี่ยวกับพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอทมักวิเคราะห์ถึงโครงสร้างและการแสดงออกของยีนบนโครโมโซมในนิวเคลียสและมีข้อจำกัดเกี่ยวกับกฎการกระจายของยีนในนิวเคลียส อย่างไรก็ตามดีเอ็นเอไม่ได้ตั้งอยู่เฉพาะในนิวเคลียสเท่านั้นแต่ยังพบดีเอ็นเอได้ในไมโทคอนเดรีย(พืชและสัตว์) และคลอโรพลาสต์ (พืช) ยีนที่ตั้งอยู่ในออร์แกเนลทั้งสองมีชื่อเรียกต่างๆ เช่น extrachromosomal genes, cytoplasmic genes, non-Mendelian genes, organellar genes หรือ extranuclear genes เป็นต้น สำหรับดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรีย (mitochondria DNA; mtDNA) มีการแสดงออกที่เป็นอิสระจากดีเอ็นเอในนิวเคลียส สิ่งมีชีวิตพวกยูคาริโอทมีประมาณ 2,000 ไมโทคอนเดรียต่อเซลล์ จีโนไมโทคอนเดรียของพืชมีขนาดประมาณประมาณ 570 กิโล

เบส ทั้งรูปแบบวงกลมและเป็นเส้น มีรายงานว่ารหัสพันธุกรรมของไมโทคอนเดรียดีเอ็นเอบางส่วนมีความแตกต่างจากรหัสสากล (universal genetic code) เช่น ไมโทคอนเดรียของคนใช้ AUA เป็นรหัสของเมทไทโอนีนมากกว่าที่จะเป็นรหัสของไอโซลูซีน และใช้ UGA เป็นรหัสสำหรับทริพโทเฟนขณะที่รหัสสากลเป็นรหัสหยุด (terminator codon) เป็นต้น

สำหรับดีเอ็นเอของคลอโรพลาสต์ (chloroplast DNA; cpDNA) ประกอบด้วยดีเอ็นเอวงแหวนเกลียวคู่ในพืชชั้นสูงมีดีเอ็นเอยาวประมาณ 120 - 160 กิโลเบส ในสาหร่ายมีขนาด 85 – 292 กิโลเบส ในสาหร่ายสีเขียวสกุล *Acetabularia* มีคลอโรพลาสต์ดีเอ็นเอขนาดใหญ่มากถึงประมาณ 2,000 กิโลเบส ในเซลล์แต่ละชนิดมีจำนวนโมเลกุลของดีเอ็นเอและจำนวนโมเลกุลของคลอโรพลาสต์แตกต่างกันไป เช่น สาหร่ายเซลล์เดียวพวก *Chlamydomonas reinhardtii* มี 1 คลอโรพลาสต์ต่อเซลล์ แต่ละคลอโรพลาสต์มี 100 ชุดของดีเอ็นเอ ขณะที่ *Euglena gracilis* มีประมาณ 15 คลอโรพลาสต์ต่อเซลล์ ที่มี 40 ชุดดีเอ็นเอต่อคลอโรพลาสต์ โดยเฉลี่ยในพืชจะมียีนอยู่ประมาณ 100 - 150 ยีน เรียงติดกัน ผลผลิตของยีนหลายยีนที่จำเป็นต่อการทำงานของคลอโรพลาสต์มาจากนิวเคลียส เช่น เอนไซม์ไรบูโรสบิสฟอสเฟต คาร์บอกซิเลส (riburose bisphosphate carboxylase) การใช้จีโนมในคลอโรพลาสต์เพื่อศึกษาวิวัฒนาการของพืชด้วยเทคนิค RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) โดยอาศัยความแตกต่างหรือความหลากหลายของขนาดดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ในการจำแนกความแตกต่างของชนิดพืชเนื่องจากจีโนมในคลอโรพลาสต์มีขนาดเล็กดีเอ็นเอและคลอโรพลาสต์ของพืชต่างๆ มีลักษณะคล้ายกัน การใช้เอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดต่างๆ จึงสามารถใช้ระบุความสัมพันธ์ของชนิดพืชได้

ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับจีโนมที่อยู่นอกนิวเคลียส

นอกจากนิวเคลียสแล้วดีเอ็นเอซึ่งเป็นสารพันธุกรรมยังบรรจุอยู่ในไมโทคอนเดรียและคลอโรพลาสต์โดยที่ดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่และดีเอ็นเอใน

คลอโรพลาสต์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดมีลักษณะเช่นเดียวกับดีเอ็นเอในนิวเคลียสคือมีรูปร่างกลม พันเกลียวคู่ ในขณะที่ดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียของสิ่งมีชีวิตบางชนิดเป็นเส้นตรง ลักษณะเฉพาะของไมโทคอนเดรียและคลอโรพลาสต์จะมีตำแหน่งของดีเอ็นเอจำนวนมาก เรียกว่า nucleiod region โดยแต่ละตำแหน่งนั้นจะมีโมเลกุลของดีเอ็นเออยู่หลายชุด

จีโนมในไมโทคอนเดรียและคลอโรพลาสต์จะประกอบด้วยยีนที่เป็นส่วนอาร์อาร์เอ็นเอของไรโบโซมของออร์แกแนลทั้งสองนี้สำหรับทีอาร์เอ็นเอจำนวนมากใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน มีโปรตีนจำนวนหนึ่งที่ยังคงอยู่และแสดงหน้าที่จำเพาะต่อออร์แกแนลนี้ ส่วนโปรตีนอื่นๆ จะอยู่ภายในนิวเคลียส สังเคราะห์บนไซโทพลาสมิกไรโบโซมแล้วจึงส่งมายังออร์แกแนลต่างๆ มีการค้นพบว่ารหัสพันธุกรรมที่แตกต่างกันของสิ่งมีชีวิตบางชนิดมีผลเนื่องจากยีนที่มาจากไมโทคอนเดรียนั่นเอง ด้วยเหตุนี้การวิเคราะห์ดีเอ็นเอในไมโทคอนเดรียจึงถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตที่น่าจะมีลักษณะอันสืบทอดมาจากแม่เพียงฝ่ายเดียว

ลักษณะพันธุกรรมที่ถูกควบคุมและถ่ายทอดมาสู่รุ่นลูกซึ่งเป็นผลมาจากยีนในไมโทคอนเดรียและคลอโรพลาสต์นั้นแตกต่างจากลักษณะพันธุกรรมที่ควบคุมจากสารพันธุกรรมในนิวเคลียส เนื่องจากไม่มีการกระจายอันเนื่องจากการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส เป็นลักษณะจากแม่เพียงฝ่ายเดียว ถูกกำหนดให้แสดงออกอย่างเฉพาะเจาะจง ไม่สามารถทำแผนที่ยีนเชื่อมต่อกับกลุ่มลิงเกจในนิวเคลียสได้ และลักษณะทางฟีโนไทป์ที่เป็นผลจากการกลายของสารพันธุกรรมภายนอกนิวเคลียสนั้นจะแสดงออกภายหลังการแลกเปลี่ยนโครโมโซมในนิวเคลียส

ตัวอย่างที่ปรากฏลักษณะการกลายพันธุ์จากยีนที่อยู่ในไมโทคอนเดรียหรือคลอโรพลาสต์ได้แก่ ลักษณะใบด่างในต้น four o'clock (*Mirabilis jalapa*) การเติบโตลดลงของเชื้อรา และการต้านทานสารปฏิชีวนะหรือพฤติกรรมที่ไม่เป็นอิสระใน *Chlamydomonas* เป็นต้น

ไม่ใช่ทุกกรณีของลักษณะที่ถ่ายทอดซึ่งถูกควบคุมจากภายนอกนิวเคลียสจะมาจากยีนในไมโทคอนเดรียหรือคลอโรพลาสต์ มีหลายตัวอย่างที่ปรากฏในยูคาริโอทเป็นผลมาจากแบคทีเรียหรือไวรัสที่อาศัยอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่นแล้วเกิดการส่งถ่ายยีนเข้าสู่สิ่งมีชีวิตนั้นหลังจากเกิดการผสมไซโทพลาซึม

ผลจากฝ่ายแม่ (maternal effect) ถูกจำกัดด้วยลักษณะฟีโนไทป์เฉพาะของแต่ละสิ่งมีชีวิตซึ่งก่อกำเนิดโดยจีโนมในนิวเคลียสของฝ่ายแม่มีผลมาจากเอ็มอาร์เอ็นเอและ/หรือโปรตีนซึ่งอยู่ในไข่ (oocyte) ก่อนเข้าปฏิสนธิ โดยส่วนประกอบต่างๆ เหล่านี้เข้าสู่กระบวนการพัฒนาของเอมบริโอตั้งแต่เริ่มแรก ผลจากฝ่ายแม่มีความแตกต่างจากลักษณะถ่ายทอดที่ถูกควบคุมจากภายนอกนิวเคลียส โดยรูปแบบของลักษณะที่มาจากฝ่ายแม่ของยีนที่อยู่นอกนิวเคลียสปรากฏขึ้นเนื่องจากไซโกทได้รับออร์แนเนลทั้งหมดที่มีอยู่ในเซลล์จากฝ่ายแม่

การแสดงออกของยีนถูกกำหนดโดยที่ว่าได้มาจากพ่อหรือแม่ขณะเดียวกันยีนทั้งหมดของพ่อและแม่สามารถแสดงออกได้อย่างอิสระ ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า genomic imprinting ปัจจุบันกำลังสนใจว่า methylation patterns เป็นพื้นฐานของปรากฏการณ์นี้

ตัวอย่างพืชที่มีการถ่ายทอดลักษณะที่ควบคุมด้วยจีโนมนอกนิวเคลียส

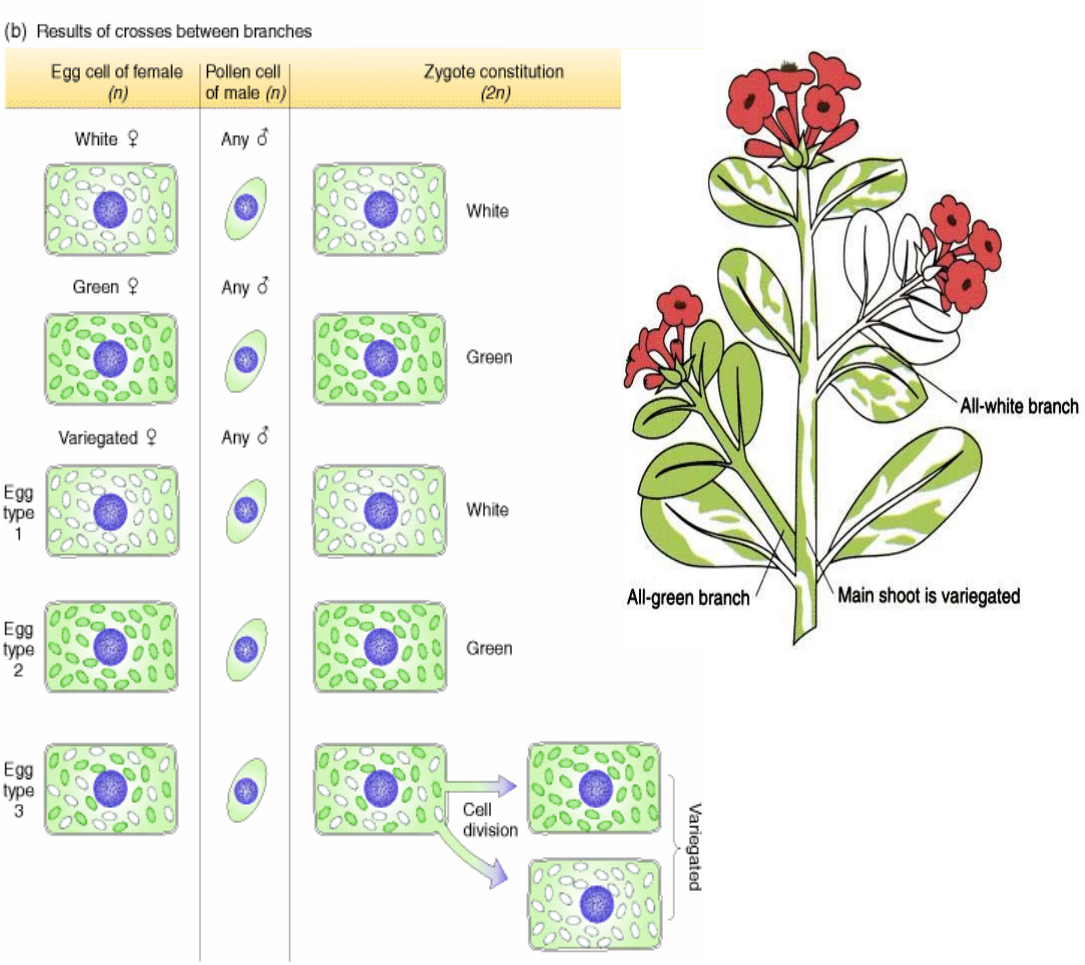
ลักษณะด่างของต้นบานเย็น (*Mirabilis jalapa*)

ในปี ค.ศ. 1908 คาร์ล คอร์เรนส์ ผู้ซึ่งเป็นหนึ่งในทีมนักวิจัยที่ทำการทดลองยืนยันผลงานของเมนเดลได้ยกตัวอย่างพืชชนิดแรกที่มีลักษณะการถ่ายทอดซึ่งควบคุมด้วยยีนที่อยู่ในคลอโรพลาสต์ เขาเป็นผู้ค้นพบความผันแปรของลักษณะฟีโนไทป์ของต้นบานเย็น ซึ่งเป็นพืชที่แต่ละกิ่งมีใบแต่ละสี ได้แก่ สีเขียว ขาว หรือ ใบด่าง (ภาพที่ 5.1) ฟีโนไทป์ทุกแบบของต้นบานเย็นถูกกำหนดโดยไข่โดยที่แหล่งของเรณูไม่มีส่วนเกี่ยวข้อง เช่น เมล็ดได้จากไข่ที่เกิดบนกิ่งที่มีใบสีเขียวเมื่อนำไปปลูกต้นลูกทั้งหมดจะมีใบสีเขียว

เท่านั้น คอร์เรนส์สรุปว่าลักษณะที่ปรากฏถูกถ่ายทอดผ่านทางไซโทพลาซึมของฝ่ายแม่ เพราะเรณูมีส่วนเกี่ยวข้องเพียงเล็กน้อยหรือไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับไซโทพลาซึมที่ถ่ายทอดไปสู่ไซโกทดังนั้นจึงไม่มีอิทธิพลต่อฟีโนไทป์ของต้นลูก นอกจากนี้ยังแน่ใจได้ว่าข้อมูลพันธุกรรมที่บรรจุอยู่ในแต่ละออร์แกเนลหรืออยู่ในไซโทพลาซึมด้วยเหตุใดเหตุหนึ่งแล้วไปมีอิทธิพลต่อคลอโรพลาสต์มีผลต่อรูปแบบการถ่ายทอดลักษณะดังกล่าวเนื่องจากสีของใบมีความสัมพันธ์กับคลอโรพลาสต์นั่นเอง

ตารางที่ 4.1 ผลจากการผสม *Mirabilis jalapa* ที่มีลักษณะฟีโนไทป์แบบต่างๆ (ดัดแปลงจาก : Russell, 1998)

ฟีโนไทป์ของกิ่ง (ต้นแม่)	**ฟีโนไทป์ของกิ่ง (ต้นพ่อ)**	**ฟีโนไทป์ของต้นลูก**
ขาว	ขาว	ขาว
	เขียว	ขาว
	ด่าง	ขาว
เขียว	ขาว	เขียว
	เขียว	เขียว
	ด่าง	เขียว
ด่าง	ขาว	ด่าง, เขียวหรือขาว
	เขียว	ด่าง, เขียวหรือขาว
	ด่าง	ด่าง, เขียวหรือขาว



ภาพที่ 4.1 ฟีโนไทป์ของต้นบานเย็น (*Mirabilis jalapa*)

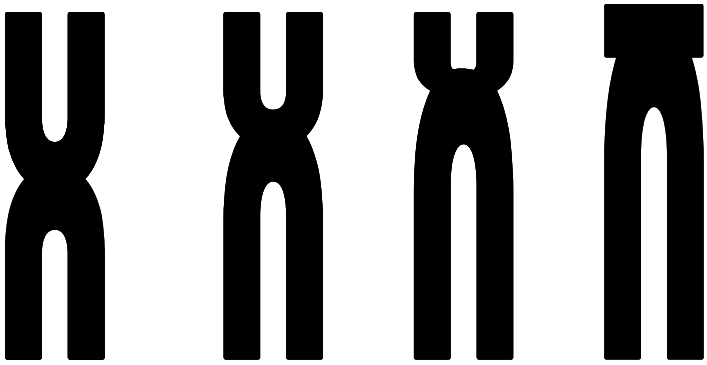
ที่มา : http://www.cbs.dtu.dk/staff/dave/roanoke/genetics44.html,

http://fai.unne.edu.ar/biologia/genetica/genet3_archivos/ch4f30.gif

โครโมโซม (chromosome)

โครโมโซมประกอบด้วยโปรตีนและดีเอ็นเอซึ่งอยู่ในรูปของโครมาทิน (Chromatin) มี 2 ประเภทคือ ยูโครมาทิน (euchromatin) เป็นส่วนที่ทำงาน มีการหดตัวไม่เท่ากันและเฮเทอโรโครมาทิน (heterochromatin) ประกอบด้วยลำดับเบสซ้ำๆ กัน (repeated sequences) มีการหดตัวมาก มีความสำคัญต่อหน้าที่การทำงานของโครโมโซม

รูปร่างของโครโมโซมสามารถจำแนกโดยอาศัยชนิดและตำแหน่งของเซนโทเมียร์ได้เป็น 4 ชนิด ได้แก่ เมทาเซนทริก (metacentric) ซับเมทาเซนทริก (submetacentric) อะโครเซนทริก (acrocentric) และ ทีโลเซนทริก (terocentric) ดังภาพที่ 4.2



(a) (b) (c) (d)

ภาพที่ 4.2 การจัดจำแนกโครโมโซมโดยใช้ตำแหน่งของเซนโทเมียร์
(ดัดแปลงจาก นิตย์ศรี, 2542)

(a) metacentric : ตำแหน่งเซนโทเมียร์อยู่กลาง

(b) submetacentric : เซนโทเมียร์ไม่อยู่กลาง

(c) acrocentric : เซนโทเมียร์อยู่ค่อนไปทางใดทางหนึ่งมากกว่า

(d) terocentric : เซนโทเมียร์อยู่ปลายโครโมโซม

การทราบโครงสร้างและส่วนประกอบต่างๆ ของโครโมโซมจะทำให้สามารถสร้างโครโมโซมเทียม (artificial chromosome) ได้ตามต้องการซึ่งเป็นความหวังของนักวิทยาศาสตร์ที่จะสร้างพืชที่มีลักษณะดีสมบูรณ์ทุกอย่างตามต้องการ

ส่วนประกอบโครงสร้างของโครโมโซมจำแนกได้ดังนี้

1. เซนโทรเมียร์ (centromere) เรียกอีกอย่างว่า ไคนีโทคอร์ (kinetochore) เป็นตำแหน่งที่แขนทั้ง 2 ข้างของโครโมโซมมาพบกัน มีโครงสร้างเชิงประกอบ ทำหน้าที่ควบคุมการเคลื่อนที่ของโครโมโซมในการแบ่งเซลล์ โครโมโซมที่มีเซนโทรเมียร์ 1 ตำแหน่งเรียกว่า โมโนเซนทริกโครโมโซม (monocentric chromosome) ถ้ามี 2 ตำแหน่งเรียกว่า ไดเซนทริกโครโมโซม (dicentric chromosome) นอกจากนี้อาจมีเซนโทรเมียร์ได้หลายตำแหน่งเรียกว่า โพลีเซนทริกโครโมโซม (polycentric chromosome) พบได้ในแมลงพวก Hemiptera และ Heteroptera จัดเป็นดิฟฟิวส์เซนโทรเมียร์ (diffuse centromere) สังเกตได้จากการที่พบสปินเดิลไฟเบอร์จำนวนมากเชื่อมแต่ละเซนโทรเมียร์กับขั้วเซลล์ เมื่อดิฟฟิวส์เซนโทรเมียร์ผ่านการฉายรังสีจะได้โครโมโซมที่มีขนาดต่างๆ กัน แต่ยังมีเซนโทรเมียร์อยู่ทำให้การเคลื่อนที่ของโครโมโซมเป็นไปอย่างปกติในหลายๆ วัฏจักรของการแบ่งเซลล์

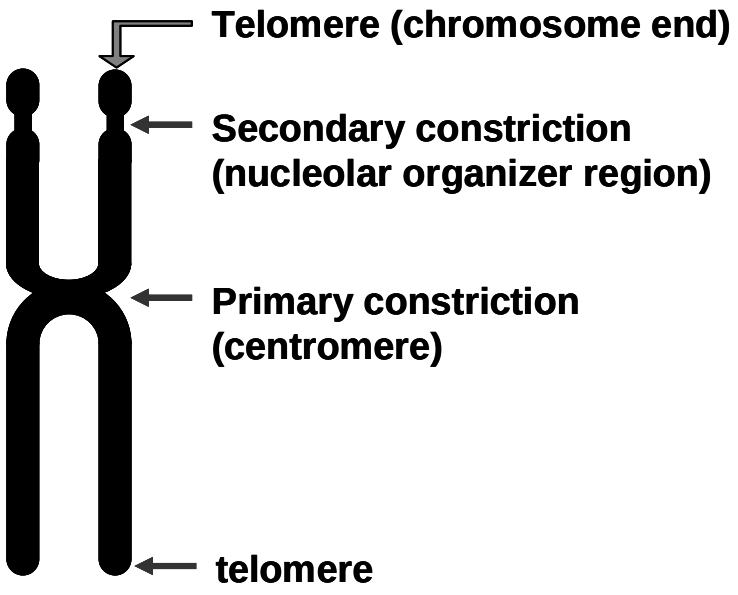
2. Secondary Constriction และ Satellite เป็นตำแหน่งที่มีเบสซ้ำๆ กัน จะเห็นได้ชัดในระยะแพไคนีมา แต่อาจมียีนอาร์อาร์เอ็นเอ (rRNA gene) ได้หลายชุดที่บนแขนข้างหนึ่งหรือทั้งสองแขน พบการสร้างนิวคลีโอไล นอกจากนี้ในบางพืชยังพบโครโมโซมที่มี Satellite ขนาดต่างๆ กัน เรียกว่า SAT-chromosome ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับหรือเล็กกว่าโครโมโซม โดยเส้นใยฟิลาเมนต์ที่เชื่อม satellite กับโครโมโซมนั้นอาจสั้นหรือยาวก็ได้ แต่ทั้ง satellite และฟิลาเมนต์จะมีรูปแบบและขนาดคงที่ในแต่ละโครโมโซม ตำแหน่ง Secondary Constriction หรือเรียกว่า nucleolar organizing region (NOR) สามารถใช้เป็นเครื่องหมายได้เป็นอย่างดีเนื่องจากพบได้เฉพาะในสิ่งมีชีวิตบางชนิดเท่านั้น

3. โครโมนีมาทา (chromonemata) เป็นหน่วยย่อยของโครมาทิด ซึ่งในทางพันธุศาสตร์ถือว่าไม่ใช่สิ่งสำคัญ เนื่องจากหน่วยย่อยของโครโมโซมที่ทำหน้าที่ต่างๆ เกิดขึ้นที่โครมาทิด ไม่ใช่โครโมนีมาทา กิจกรรมดังกล่าวได้แก่ การแบ่งเซลล์ การแลกเปลี่ยนชิ้นส่วน การขดตัวของโครโมโซม เป็นต้น นอกจากนี้ความผิดปกติต่างๆ ที่เกิดขึ้นเมื่อได้รับรังสีระหว่างหรือหลังจากการสังเคราะห์ดีเอ็นเอมักจะเกิดที่โครมาทิดมากกว่าที่โครโมโซม

4. เมทริกซ์ (metrix) ยังไม่ทราบหน้าที่และโครงสร้างชัดเจน เป็นส่วนที่อยู่ล้อมรอบโครโมนีมาทามีผนังชั้นนอกเป็นเนื้อเยื่อหุ้ม (sheath หรือ pellicle) สันนิษฐานว่าเป็นโครงสร้างที่ช่วยในการรวมตัวของโครโมนีมาทาเพื่อการทำหน้าที่ของโครโมโซมและเป็นชั้นที่ห่อหุ้มยีนในระหว่างการแบ่งเซลล์

5. โครโมเมียร์ (chromomere) เป็นโครงสร้างที่เกิดจากการขดตัวของโครโมโซม เป็นตำแหน่งที่มีการลอกรหัสและการคลายตัวออกเป็นลูป มีการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ ส่วนบริเวณที่มีการคลายตัวออกจะไม่มีการลอกรหัส ในการแบ่งเซลล์ระยะแพไคนีมาจะเห็นโครโมเมียร์เป็นจุดเรียงอยู่บนโครโมโซม

6. ทีโลเมียร์ (telomere) เป็นส่วนปลายของโครโมโซม มีลำดับเบสซ้ำๆ กัน เป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละสิ่งมีชีวิต ถ้าส่วนนี้ขาดหายไปปลายที่หักจะเข้ามาเชื่อมกันเอง เช่น ถ้ามีโครโมโซม 2 แท่ง ปลายที่หักของโครโมโซมทั้งสองจะมาเชื่อมกัน



ภาพที่ 4.3 ส่วนประกอบต่างๆ ของโครโมโซม (ดัดแปลงจาก นิตย์ศรี, 2542)

โครงสร้างของโครโมโซมระดับโมเลกุล

โครโมโซมประกอบด้วยโปรตีนเป็นแกนกลางมีดีเอ็นเอพันอยู่รอบโปรตีน เรียกว่า DNA-binding protene โปรตีนแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ฮีสโทน (histone) และ นอนฮีสโทน (non-histone)

เมื่อทำการย้อมสีโครมาทินจะสามารถจำแนกออกเป็น 2 พวก คือ

1. ยูโครมาทิน (euchromatin) จะเห็นเป็นแถบสีจางเรียงกันเป็นระเบียบ เป็นที่ตั้งของยีนจำนวนมากและเป็นยีนที่ทำหน้าที่

2. เฮเทอโรโครมาทิน (heterochromatin) จะเห็นเป็นแถบสีเข้ม ยีนบริเวณนี้มีจำนวนน้อยและส่วนมากไม่ทำหน้าที่

2.1 Facultative heterochromatin : สามารถเปลี่ยนกับไปเป็นยูโครมาทินได้

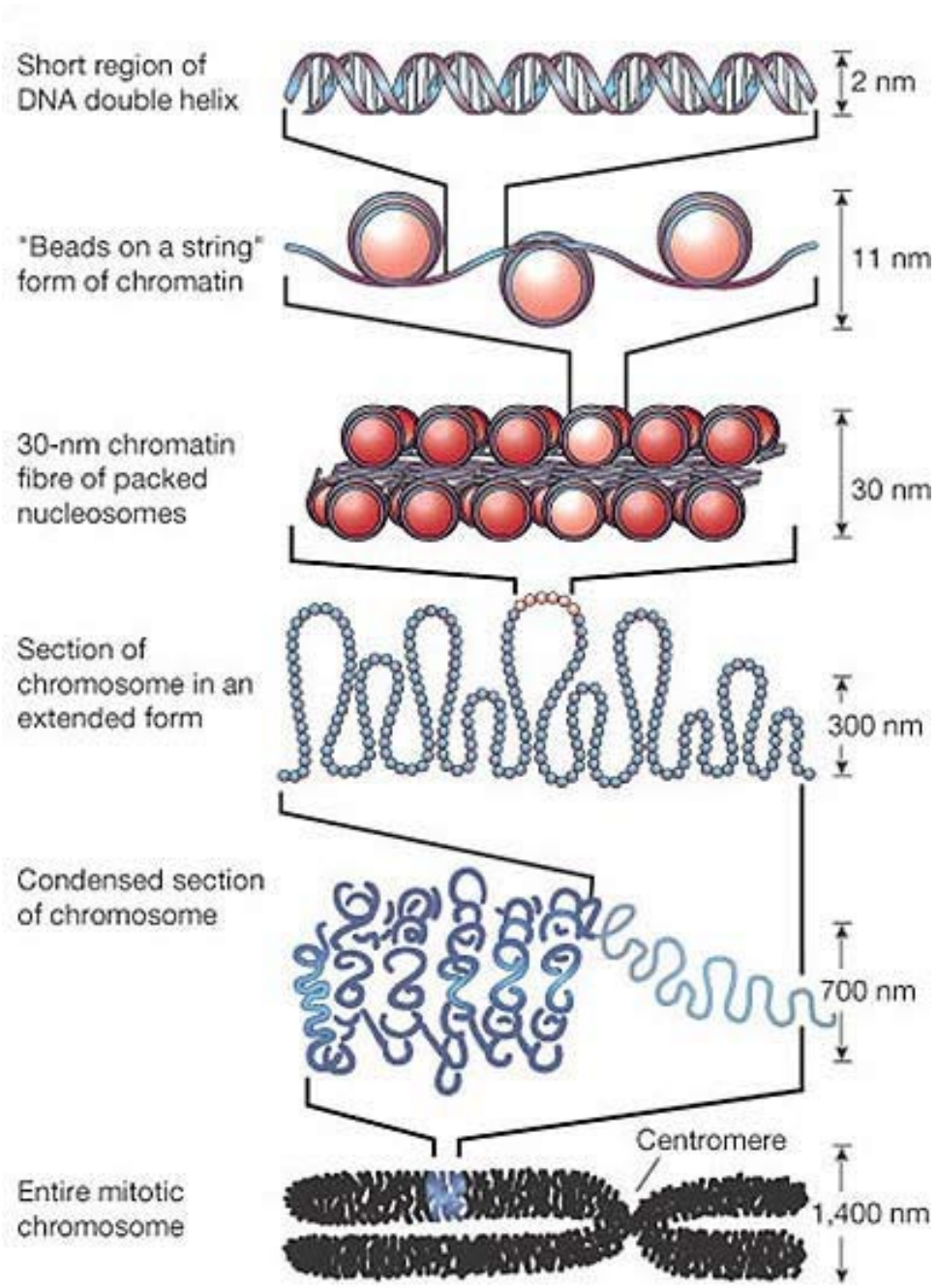
2.2 Constitutive heterochromatin : อยู่ใกล้เซนโทเมียร์ ทีโลเมียร์ NOR และ บางส่วนของแขนโครโมโซม มีดีเอ็นเอซ้ำๆ กัน แบบ Tandem (AGGTAGGT)

สามารถจำแนกข้อแตกต่างระหว่างยูโครมาทินและเฮเทอโรโครมาทินได้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบระหว่างยูโครมาทินและเฮเทอโรโครมาทิน (ดัดแปลงจาก นิตย์ศรี, 2542)

ยูโครมาทิน	เฮเทอโรโครมาทิน
1. เป็นที่ตั้งของยีนจำนวนมาก	1.เป็นที่ตั้งของยีนจำนวนน้อยและเป็นยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงปริมาณมากกว่าเชิงคุณภาพ
2.เป็นส่วนของยีนทำหน้าที่	2.เป็นยีนไม่ได้ทำหน้าที่
3.เห็นแถบสีจางเรียงเป็นระเบียบ	3.เห็นเป็นแถบสีเข้ม
4.ตำแหน่งบนโครโมโซมยกเว้นใกล้เซนโทเมียร์	4.อยู่บริเวณใกล้กับเซนโทเมียร์
5.ตรวจสอบได้ถ้าเกิดมิวเทชันและถ่ายทอดได้ตามกฎของเมนเดล	5.ตรวจสอบไม่ได้และการถ่ายทอดไม่เป็นไปตามกฎของเมนเดล
6.มีการหดตัวและคลายตัวระยะอินเทอร์เฟส	6.ไม่มีการหดและคลายตัวในระยะอินเทอร์เฟส
7.สามารถเปลี่ยนเป็นเฮเทอโรโครมาทินได้ทำให้มีการแสดงออกได้แตกต่างกัน	7.มีบางชนิดเท่านั้นที่เปลี่ยนกลับเป็นยูโครมาทินได้
8.สังเคราะห์ได้เร็วกว่าเฮเทอโรโครมาทิน	8.การสังเคราะห์ช้ากว่ายูโครมาทิน

จีโนมของสิ่งมีชีวิตต่างๆ มีขนาดใหญ่ดังนั้นดีเอ็นเอซึ่งมีความยาวกว่าเซลล์หลายเท่าจำเป็นต้องมีการพับซ้อนหรือหดตัวอย่างมากเพื่อบรรจุลงในนิวเคลียสให้ได้ จากเกลียวคู่ของดีเอ็นเอขนาด 2 นาโนเมตร (20 A^{o}) เมื่อเกาะกับฮีสโทนเป็นโครมาทินจะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 นาโนเมตร และโครมาทินจะมีการพันเกลียวให้มีขนาดใหญ่ขึ้นประมาณ 30 นาโนเมตร เป็นนิวคลีโอโซมเรียกว่า โซลีนอยด์ (solenoil) ซึ่งพันเกลียวซ้อนกันเรียกว่าฟิลาเมนต์ (filament) และมีการพันเกลียวแน่นขึ้นเรียกว่าซูเปอร์คอล์ยฟิลาเมนต์ (supercoil filament) และโครโมโซมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 300 700 และ 1400 นาโนเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 การจัดเรียงตัวของโครมาทินระดับต่างๆ

(ที่มา : http://home.planet.nl/~gkorthof/images/chromosome_structure.jpg)

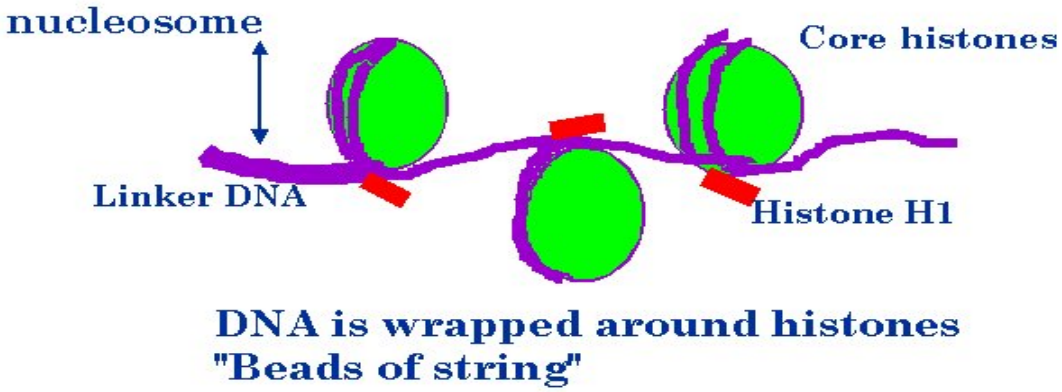
องค์ประกอบทางเคมีของดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ

หน่วยย่อยทางเคมีของดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอคือ นิวคลีโอไทป์ ประกอบด้วย เบส น้ำตาล และหมู่ฟอสเฟต ซึ่งเบส มี 2 ประเภท คือ พิวรีน (Purine) ได้แก่ อะดินีน (adenine; A) กัวนีน (guanine; G) และ ไพริมิดีน (Pyrimidine) ได้แก่ ไซโทซีน (cytocine; C), และ ไทมีน (thymine; T) ซึ่งพบเฉพาะดีเอ็นเอหรือยูราซิล (uracil; U) ในอาร์เอ็นเอ โดยเบสจะต่ออยู่กับน้ำตาลดีออกซีไรโบสในดีเอ็นเอหรือน้ำตาลไรโบสในอาร์เอ็นเอแล้วมีหมู่ฟอสเฟตเป็นตัวเชื่อมระหว่างตำแหน่ง 5' ของน้ำตาลโมเลกุลหนึ่งกับ 3' ของน้ำตาลอีกโมเลกุลหนึ่งด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์

อาร์เอ็นเอในเซลล์มีมากกว่าดีเอ็นเอประมาณ 5 - 10 เท่า มีหน้าที่หลักเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์โปรตีน อาร์เอ็นเอมีหลายชนิดได้แก่ ไรโบโซมัล อาร์เอ็นเอ (ribosomal RNA; rRNA) ทรานส์เฟอร์อาร์เอ็นเอ (transfer RNA; tRNA) และ เมซเซ็นเจอร์อาร์เอ็นเอ (messenger RNA; mRNA) และ อาร์เอ็นเอขนาดเล็กอีกหลายชนิดที่พบในนิวเคลียสและไซโทพลาซึม โดยอาร์เอ็นเอในพืชจะพบเป็นสายเดี่ยว (single strand) ส่วนในไวรัสบางชนิดจะพบอาร์เอ็นเอสายคู่ (double strand)

การจับตัวระหว่างดีเอ็นเอและฮีสโทนเกิดเป็นหน่วยย่อยเรียกว่านิวคลีโอโซม มีรูปร่างเป็นแผ่นกลม ประกอบด้วยฮีสโทน 4 ชนิดได้แก่ H2A H2B H3 และ H4 อย่างละ 2 โมเลกุล รวมเป็น 8 โมเลกุล (octamer) โดยมีเกลียวคู่ของดีเอ็นเอขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 A^{o} (2 นาโนเมตร) พันเกลียวคู่เวียนซ้าย (leaf hand super helix) 1.8 รอบ ความยาว 145 คู่เบส เรียกว่านิวคลีโอโซมคอร์พาร์ทิเคิล (nucleosome core particle) แต่ละอันนี้มีสายดีเอ็นเอ เกลียวคู่ 60 คู่เบส เป็นตัวเชื่อมคล้ายกับสายลูกปัด เมื่อรวมกลุ่มที่เป็นแกนและสายที่เชื่อมจึงเรียกว่านิวคลีโอโซมประกอบด้วยเบสประมาณ 200 คู่เบส และฮีสโทน H1 จะเกาะอยู่กับส่วนปลายเชื่อมนั้น (ภาพที่ 4.5)

สำหรับนอนฮีสโทน (non-histone) มีหน้าที่ต่างๆ เช่น เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการจำลองตัวของดีเอ็นเอ การลอกรหัสจากดีเอ็นเอไปเป็นอาร์เอ็นเอ (transcription) และการแปลรหัสไปเป็นโปรตีนต่างๆ (translation) เป็นต้น



ภาพที่ 4.5 โครงสร้างระดับโมเลกุลของโครโมโซม
(ที่มา : http://homepages.uel.ac.uk/V.K.Sieber/dnato.htm)

การจำลองโมเลกุลดีเอ็นเอ

มีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการจำลองโมเลกุลของดีเอ็นเอ ดังนี้

1. เฮลิกซ์ อันคอยลิงโปรตีน (helix uncoiling protein) หรือ เฮลิเคส (helicase)

2. เฮลิกซ์ ดีสเตบิไลซิง โปรตีน (helix-destabilizing protein) หรือ ซิงเกิล สแตรนด์ ดีเอ็นเอ ไบดิง โปรตีน (single strand DNA binding protein)

3. เฮลิกซ์ รีแลคซิง โปรตีน (helix relaxing protein) หรือ ดีเอ็นเอไจเรส (DNA gyrase) หรือ โทโพไอโซเมอเรส (topoisomerase)

4. อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส (RNA polymerase) หรือ ไพรเมส (primase)

5. ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส (DNA polymerase)

6. ดีเอ็นเอไลเกส (DNA ligase)

ขั้นตอนการจำลองโมเลกุลดีเอ็นเอ

1. เอนไซม์เฮลิเคสสลายพันธะไฮโดรเจน (H-bond) เพื่อให้ดีเอ็นเอแยกเป็นสายเดี่ยวเกิดส่วนที่โป่งออกมา (bubble) จากนั้นเฮลิกซ์ ดีสเตบิไลซิง โปรตีนจะเข้ามาจับกับดีเอ็นเอสายเดี่ยวเพื่อป้องกันไม่ให้กลับมาเข้าคู่กันอีก

2. เอนไซม์ดีเอ็นเอไจเรสคลายปมเหนือจุดแยก (replication fork) โดยการตัดดีเอ็นเอสายหนึ่งออกเพื่อให้ดีเอ็นเอคลายตัวออกได้แล้วจึงต่อกลับเข้าดังเดิม บริเวณคลายตัวนี้เป็นจุดเริ่มต้นของการจำลองโมเลกุล (initiation point)

3. เอนไซม์อาร์เอ็นเอไพรเมสสังเคราะห์อาร์เอ็นเอสายเริ่มต้น (RNA primer) เป็นจุดตั้งต้นแล้วจากนั้นดีเอ็นเอโพลีเมอเรส 3 จะเติมนิวคลีโอไทด์ที่ปลายด้าน 3' -OH ของอาร์เอ็นเอสายเริ่มต้นนั้นในทิศทางการคลายเกลียวโดยมีดีเอ็นเอสายเดิมเป็น ดังนั้นจึงได้

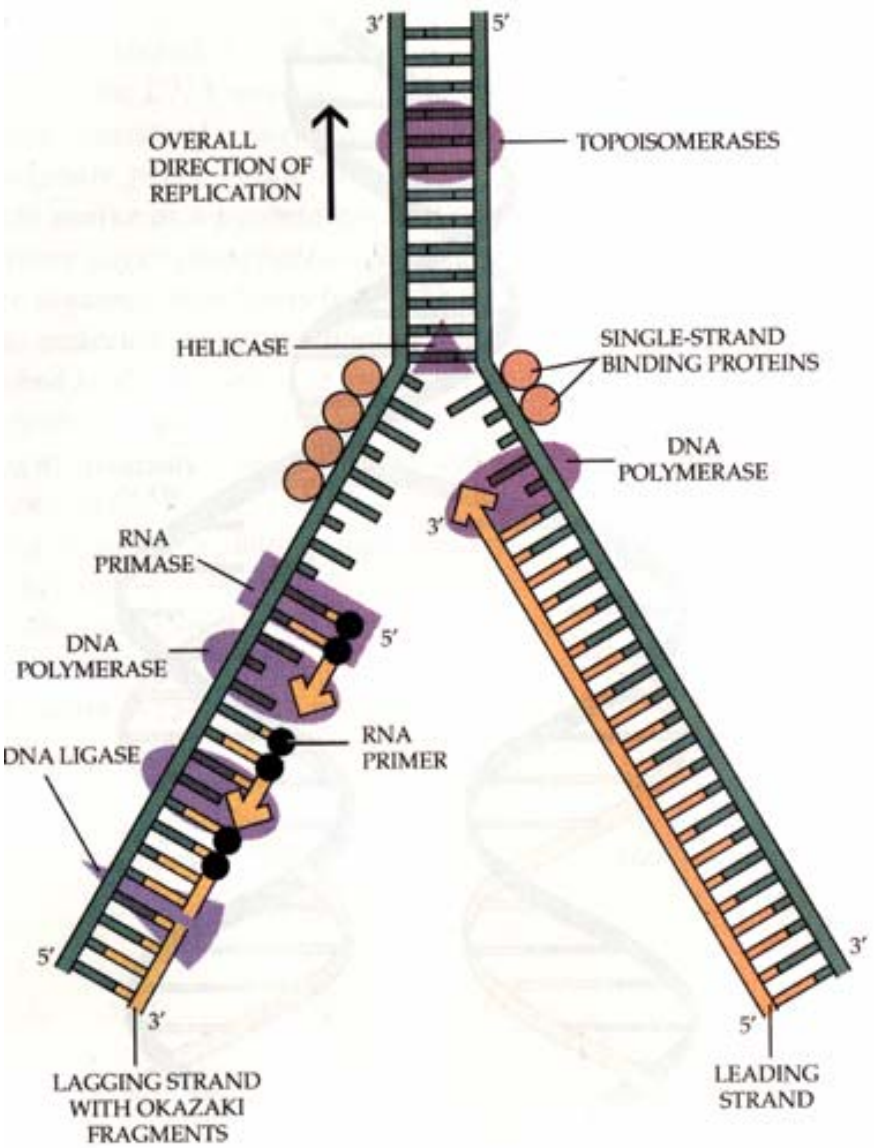
ดีเอ็นเอสายใหม่ที่ต่อเนื่องเป็นสายลีดดิง (leading strand) ส่วนอีกสายหนึ่งมีทิศทางตรงข้ามจะมีการสังเคราะห์โดยเอนไซม์ไพรเมสสร้างอาร์เอ็นเอสายเริ่มต้นขึ้นมาแล้วเอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส 3 จะเติมนิวคลีโอไทด์เข้าที่ปลาย 3' –OH ได้เป็นสายสั้นๆ เรียกว่า โอคาซากิ แฟรกเมนท์ (Okazaki fragment) ขนาดประมาณ 1,000 – 2,000 นิวคลีโอไทด์ เมื่อมีการคลายเกลียวต่อไปก็จะมีการสร้างอาร์เอ็นเอสายเริ่มต้นใหม่และดีเอ็นเอโพลีเมอเรส 3 นำนิวคลีโอไทด์เข้ามาต่อได้เป็น โอคาซากิ แฟรกเมนท์ อีกเรียกสายดีเอ็นเอที่ได้จากการสังเคราะห์แบบนี้ว่าสายแลกกิง (lagging strand)

4. เอนไซม์ดีเอ็นเอโพลีเมอเรส 1 ตัดสายอาร์เอ็นเอเริ่มต้นออกทั้งหมดและเติมนิวคลีโอไทด์ที่ปลาย 3' –OH ของ โอคาซากิ แฟรกเมนท์ จนกระทั่งเหลือช่องว่างเฉพาะที่ปลาย 3' –OH และ 5' –PO_4 เรียกช่องว่างนี้ว่านิค (nick) ซึ่งจุดนิคจะมีปลาย 3' -OH เรียกว่า นิค ทรานสเลชัน (nick translation)

5. เมื่อกำจัดอาร์เอ็นเอออกหมดแล้วดีเอ็นเอไลเกสจะเชื่อมจุดนิคที่ปลาย 3' –OH และ 5' –PO_4 ด้วยพันธะเอสเตอร์ (ester bond) ได้เป็นดีเอ็นเอสายยาว

จากหลักฐานปัจจุบันที่พบว่าส่วนปลายของโครโมโซม (telomere) มีดีเอ็นเอสายหนึ่งวกกลับมาเป็นแฮร์พิน ลูป (hairpin loop) และมีลำดับเบสสั้นๆ เรียกซ้ำกันอยู่หลายซ้ำเนื่องจากเมื่อการจำลองโมเลกุลดีเอ็นเอสิ้นสุดลงสายลีดดิงจะถูกตัดอาร์เอ็นเอสายเริ่มต้นออกไปจึงสั้นกว่าอีกสายหนึ่งจึงมีการเติมส่วนปลายทีโลเมียร์ของอีกสายหนึ่งที่ยาวกว่าด้วยเอนไซม์ทีโลเมอเรสเพื่อทำหน้าที่เป็นต้นแบบสำหรับเอนไซม์ไพรเมสและดีเอ็นเอโพลีเมอเรสในการสังเคราะห์ดีเอ็นเออีกสายให้สมบูรณ์ เมื่อสิ้นสุดแล้วปลาย 3' –OH ที่เป็น จี ริช (G rich) จะวกกลับมาเป็นลูปอีกครั้งหนึ่ง ขณะที่มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอเชื่อว่าดีเอ็นเอไลเกสทำหน้าที่ไม่สมบูรณ์จึงพบรอยขาดหลายแห่งบริเวณใกล้ๆ กับลูปบนสายที่มี ซี ริช (C rich)

กระบวนการจำลองตัวของดีเอ็นเอจะเกิดจุดแยกหลายจุด ถ้ามีจุดแยกเคลื่อนไปทางเดียวเรียกว่าการจำลองโมเลกุลแบบทิศทางเดียว (unidirection replication) ถ้ามีสองทางเรียกว่า การจำลองโมเลกุลแบบ 2 ทิศทาง (bidirection replication) ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงจะมีจุดแยกจำนวนมากเนื่องจากจีโนมมีขนาดใหญ่ เช่น พืชจะมีประมาณ 35,000 จุด การที่มีจุดแยกจำนวนมากเป็นการลดระยะเวลาในการจำลองโมเลกุลดีเอ็นเอให้เกิดได้เร็วขึ้น



ภาพที่ 4.6 การจำลองโมเลกุลดีเอ็นเอ

(ที่มา : http://oak.cats.ohiou.edu/~ballardh/pbio475/Heredity/DNA-replication.JPG)

การสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ

ในการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอนั้นจะเป็นไปในทิศทางจาก 5' –PO_4 ไป 3' –OH ด้วยเอนไซม์ดีเอ็นเอไดเรคเท็ด อาร์เอ็นเอโพลิเมอเรส (DNA directed RNA polymerase) โดยอาศัยดีเอ็นเอสายหนึ่งเป็นต้นแบบเรียกว่าสายแอนไทเซนซ์ (antisense strand) หรือสายเทมเพลท (template strand) อีกสายหนึ่งจะมีลำดับเบสเหมือนอาร์เอ็นเอ ยกเว้นมีตำแหน่ง U แทนที่ T ในดีเอ็นเอ เรียกว่าสายเซนซ์ (sense strand) หรือสายโคดิง (coding strand) และยังต้องอาศัยไรโบนิวคลีโอไซด์ 5' –ไทรฟอสเฟต (ribonucleoside 5'-triphosphate) 4 ชนิด คือ ATP GTP CTP และ UTP เป็นซับเสตรท (substrate) และใช้แมกนีเซียมไอออนเป็นตัวเร่งปฏิกริยาของเอนไซม์แต่ไม่ต้องใช้อาร์เอ็นเอสายเริ่มต้น

ตำแหน่งที่ควบคุมการเริ่มต้นลอกรหัสจากดีเอ็นเอเป็นอาร์เอ็นเอเรียกว่าโปรโมเตอร์ (promoter) อยู่ทางด้าน 5'-PO_4 ของสายโคดิงก่อนถึงจุดเริ่มต้นของการลอกรหัส (upstream) เป็นบริเวณที่เอนไซม์อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรสเข้ามาเกาะ โดยทั่วไปจะกำหนดให้เบสตัวแรกที่ถูกลอกรหัสเป็นอาร์เอ็นเอมีตำแหน่ง +1 เมื่อลอกรหัสผ่านไปยังเบสถัดไปเป็น +2, +3 เบสที่อยู่ก่อนการลอกรหัสมีตำแหน่ง -1 และนับต่อไปเรื่อยๆ เมื่อเริ่มกระบวนการถอดรหัส (transcription) สายคู่ของดีเอ็นเอที่จะมีการถอดรหัสถูกแยกจากกัน เอนไซม์เริ่มทำงานถอดรหัสจนกว่าจะพบตำแหน่งที่จะหยุด (termination)

สิ่งมีชีวิตชั้นสูงมีเอนไซม์ดีเอ็นเอ ไดเร็คเต็ด อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส 3 ชนิด ได้แก่

1. อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส 1 (RNA polymerase I) พบในนิวคลีโอลัส เกี่ยวข้องกับกระบวนการถอดรหัสของอาร์อาร์เอ็นเอ (rRNA) ยกเว้น 5s อาร์อาร์เอ็นเอ (5srRNA)

โปรโมเตอร์ของอาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส 1 จะมีลักษณะเป็นซูเปอร์ รีพีท โปรโมเตอร์ (super repeat promoter) คือจะมี 2 - 7 ชุดเรียงอยู่ติดกันและมีลำดับเบสด้าน

ปลาย 3'-OH ของเอ็มอาร์เอ็นเอแทบทุกชนิดจะพบโพลี A ประมาณ 20-30 เบส ก่อนถึงปลาย 3'-OH เรียกว่า โพลีอะดีนีเลชัน ซิกแนล (polyadenylation signal)

2. อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส 2 (RNA polymerase II) พบในนิวคลีโอพลาซึม ทำหน้าที่ถอดรหัสในการสังเคราะห์เอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) และสมอล นิวเคลียส อาร์เอ็นเอ (small nucleus RNA ; sn RNA) ซึ่งส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับกระบวนการตัดแต่งอาร์เอ็นเอ

โปรโมเตอร์จะเป็นลักษณะเฉพาะของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด มักพบว่ามีลำดับเบสเหมือนหรือคล้ายกันในช่วงสั้นๆ บริเวณ -35 และ -10 เรียกว่า คอนเซนซัส ซีเควนซ์ (consensus sequence) เรียกบริเวณนี้ว่าพริบนาว บอกซ์ (pribnow box) และบริเวณใกล้จุดจบมีลำดับเบสในทิศทางตรงข้าม (inverted repeat) ทำให้อาร์เอ็นเอที่สังเคราะห์ขึ้นมีการจับตัวเป็นเกลียวคู่ตรงปลาย 3'-OH บางครั้งพบลำดับเบสคอนเซนซัสที่ประมาณ -25 เรียกว่าทาทา บอกซ์ (TATA box) หรือฮอกเนส บอกซ์ (Hogness box) มีลำดับเบส 5'-TATAAA-3' และที่บริเวณประมาณ -75 ซึ่งอาจไม่พบทุกยีนเรียกว่าแคท บอกซ์ (CAAT box) มีลำดับเบส 5'-GGNCAATCT-3' เป็นต้น

3. อาร์เอ็นเอโพลีเมอเรส 3 (RNA polymerase III) พบในนิวคลีโอพลาซึม ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ทีอาร์เอ็นเอ (tRNA) และ 5s อาร์อาร์เอ็นเอ (5srRNA) และสมอลไซโทพลาสมิก อาร์เอ็นเอ (small cytoplasmic RNA ; scRNA)

พบโปรโมเตอร์บริเวณที่ถูกลอกรหัสออกมาเป็นอาร์เอ็นเอเรียกว่าอินเทอนัล คอนโทรล รีเจียน (internal control region ; IRC) ดังนั้นลำดับเบสและการเรียงตัวของเบสจะเป็นตัวกำหนดว่าจะต้องลอกรหัสโดยเอนไซม์ตัวใด

ก่อนที่จะมีการถอดรหัสเป็นโปรตีนนั้น อาร์เอ็นเอจะมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อให้เหมาะสมในการทำงาน เช่น ทีอาร์เอ็นเอจะมีการตัดส่วนปลายหรือส่วนกลางโมเลกุล อาร์อาร์เอ็นเอจะเติมหมู่เมธิลเข้าที่เบสบางตัว แทนที่ออกซิเจนด้วยซัลเฟอร์ หรือตัดสายอาร์เอ็นเอให้ได้ขนาดเหมาะสมและสำหรับเอ็มอาร์เอ็นเอจะมีการเติมนิวคลีโอไทด์ 7- เมทิล

กัวโนซีน (7-methyl guanosine) เข้าที่ปลาย 5'- PO_4 เรียกว่าแคปปิ้ง (capping) เติมโพลี A ที่ปลาย 3'-OH ประมาณ 150 - 200 เบส หรือตัดช่วงกลางโมเลกุล (splicing)

การถ่ายทอดพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตซึ่งนำไปสู่การแสดงออกของข้อมูลทางพันธุกรรมนั้นเกิดจากกิจกรรมของยีน ซึ่งประกอบด้วยกระบวนการส่งผ่านข้อมูลจากดีเอ็นเอสู่อาร์เอ็นเอ (transcription) แล้วจึงแปลรหัสจากอาร์เอ็นเอเป็นกรดอะมิโน (translation) ได้สารโพลีเปปไทด์ ทำหน้าที่ต่างๆ เช่น เป็นโครงสร้างเอนไซม์ ส่งผลให้เซลล์ของสิ่งมีชีวิตมีลักษณะต่างๆ ปรากฏขึ้น