บทที่ 15
การควบคุมการแสดงออกของยีน

วัตถุประสงค์ เมื่อนักศึกษาเรียนจบบทนี้แล้ว ควรจะมีความสามารถในการ

1. จำแนกการควบคุมการแสดงออกของยีนออกเป็นการควบคุมสำหรับโปรคาริโอทยีนและสำหรับยูคาริโอทยีน

2. เขียนแผนภาพพร้อมคำอธิบายทฤษฎีเกี่ยวกับโอเปอรอน

3. อธิบายการควบคุมการแสดงออกของโปรคาริโอทยีนในระดับทรานสคริปชันแบบต่าง ๆ ได้แก่ การเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์ การกดดันการสร้างเอ็นไซม์ catabolite repression และการควบคุมแบบ attenuation

4. อธิบายการควบคุมการแสดงออกของยูคาริโอทยีนในระดับทรานสคริปชันประเภทต่าง ๆ ได้แก่ การเหนี่ยวนำและการกดดันการสร้างเอ็นไซม์ การควบคุมยีนโดยฮอร์โมน การควบคุมยีนโดยนิวคลีโอไทด์ และการควบคุมตามสมมุติฐานของ Britten-Davidson

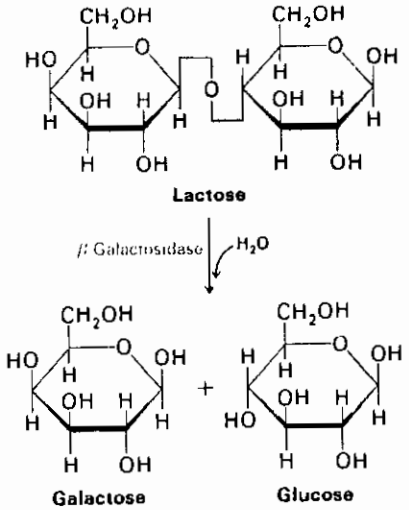
5. อธิบายการควบคุมการแสดงออกของยูคาริโอทยีนในระดับทรานสเลชัน

บทนำ

การควบคุมการแสดงออกของยีนมีหลายระดับ จะเห็นว่าโปรตีนบางชนิดถูกสังเคราะห์ขึ้นมาในรูปไซโมเจน (Zymogens) แล้วมีการกระตุ้นให้ว่องไวในภายหลังโดยการย่อยสลายบางส่วนในโมเลกุลออก โปรตีนบางชนิดถูกควบคุมโดยการเปลี่ยนแปลงพันธะโควาเลนท์ที่ตำแหน่งจำเพาะภายในโมเลกุล โปรตีนบางชนิดถูกควบคุมโดยอัลโลสเตียริคเอ็นไซม์ ในแบคทีเรียและโปรคาริโอทการควบคุมการแสดงออกของยีนมักจะเกิดที่ระดับทรานสคริปชันมากกว่าที่จะเกิดการควบคุมที่ระดับทรานสเลชัน การควบคุมการแสดงออกของยีนในยูคาริโอทค่อนข้างจะสลับซับซ้อนและยังไม่เป็นที่กระจ่างเท่าใดนัก

15.1 การควบคุมการแสดงออกของโปรคาริโอทยีน

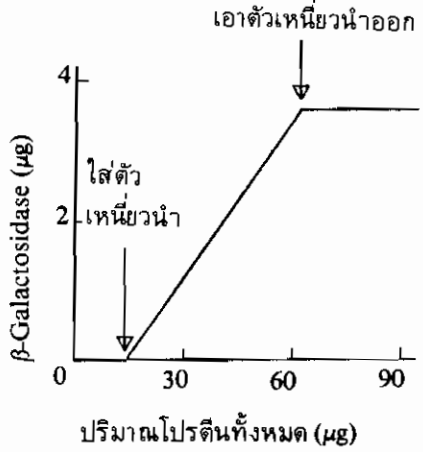
Monod เริ่มศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมยีนใน E.Coli ทำการสำรวจความสามารถของ E.Coli ในการเหนี่ยวนำ (induction) ให้มีการสังเคราะห์เอ็นไซม์ β-galactosidase โดยมีแลคโตสเป็นตัวเหนี่ยวนำ (inducer) เอ็นไซม์ดังกล่าวเรียกว่าเอ็นไซม์เหนี่ยวนำ (inducible enzyme) เอ็นไซม์ β-galactosidase ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะเบต้าไกลโคซิดิคของแลคโตสไปเป็นกาแลคโตสและกลูโคส



การย่อยสลายแลคโตสโดยเอ็นไซม์ β-galactosidase

ถ้าเลี้ยง E.Coli โดยใช้กลูโคสหรือกลีเซอรอลเป็นแหลงคาร์บอนและพลังงาน จำนวนเอ็นไซม์ β-galactosidase ในหนึ่งเซลล์จะมีน้อยกว่าสิบโมเลกุล เมื่อเติมตัวเหนี่ยวนำ คือแลคโตส

ลงในน้ำเลี้ยง จำนวนโมเลกุลของเอ็นไซม์ β-galactosidase เพิ่มขึ้นเป็นประมาณหนึ่งหมื่นโมเลกุลต่อเซลล์ การเพิ่มนี้เกิดขึ้นเร็วมากภายในเวลาเพียงสามนาทีหลังการใส่ตัวเหนี่ยวนำ และจะหยุดทันทีที่เอาตัวเหนี่ยวนำนั้นออก Monod สรุปว่าการเพิ่มจำนวนของเอ็นไซม์ β-galactosidase อย่างมากนี้ น่าจะเป็นกลไกการเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์เอ็นไซม์ในระดับยีน มิใช่เป็นการทำให้ไซโมเจนที่มีอยู่แล้วให้กลายเป็นเอ็นไซม์ที่ว่องไวขึ้นมา (รูปที่ 15-1)

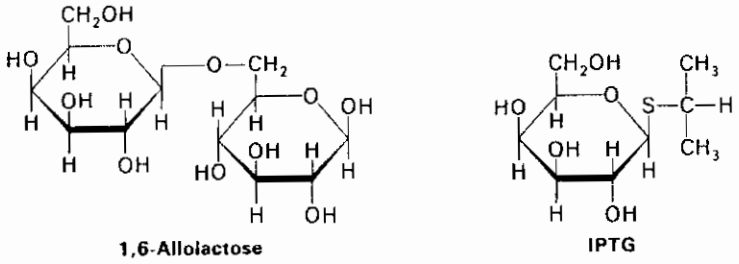


รูปที่ 15-1 การเพิ่มปริมาณเอ็นไซม์ β-galactosidase ที่เกิดขึ้นพร้อม ๆ กับการเพิ่มจำนวนเซลล์ E. Coli ในน้ำเลี้ยง เส้นตรงให้ค่าความชัน (slope) = 0.066 แสดงว่าปริมาณเอ็นไซม์ที่สังเคราะห์ขึ้นมานั้นเป็น 6.6% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด

นอกจากเอ็นไซม์ β-galactosidase แล้วยังมีเอ็นไซม์อีกสองชนิดที่ถูกเหนี่ยวนำให้สังเคราะห์ขึ้นมาพร้อม ๆ กัน คือ เอ็นไซม์ galactoside permease และเอ็นไซม์ thiogalactoside transacetylase เอ็นไซม์ galactoside permease นั้นช่วยในการส่งผ่านโมเลกุลแลคโตสเข้าสู่เซลล์ เอ็นไซม์ thiogalactoside transacetylase เร่งปฏิกิริยาการโยกย้ายหมู่อะเซทิลจากอะเซทิลโคเอไปยังหมู่ไฮดรอกซิลของ C_6 ของ thiogalactoside เอ็นไซม์นี้ไม่เกี่ยวข้องกับเมตาบอลิซึมของแลคโตส เป็นเอ็นไซม์ที่ยังไม่ทราบบทบาทและหน้าที่ทางสรีรวิทยา

ตัวเหนี่ยวนำที่แท้จริงนั้นไม่ใช่แลคโตส แต่เป็นอัลโลแลคโตส (allolactose) ซึ่งเป็นไอซอมเมอร์ของแลคโตส ก่อนที่จะมีการเหนี่ยวนำเกิดขึ้นปริมาณเอ็นไซม์ β-galactosidase ที่มีอยู่เล็กน้อยจะเร่งปฏิกิริยา transglycosylation เปลี่ยนแลคโตสซึ่งเป็นกาแลคโตสต่อกับกลูโคสด้วยพันธะไกลโคซิดิคแบบ β(1-4) ไปเป็นอัลโลแลคโตสซึ่งเป็นกาแลคโตสกับกลูโคสเหมือนกัน แต่ต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิคแบบ β(1-6) อัลโลแลคโตสจะเป็นตัวเหนี่ยวนำที่แท้จริง ทำให้เกิดการสังเคราะห์เอ็นไซม์ β-galactosidase สารกาแลคโตไซด์บางตัวสามารถเหนี่ยวนำให้มีการ

สังเคราะห์เอ็นไซม์ β-galactosidase โดยที่ตัวมันเองมิได้ทำหน้าที่เป็นซับสเตรท สารนี้คือ isopropylthiogalactoside (IPTG) ตัวเหนี่ยวนำประเภทนี้ไม่ถูกย่อยสลายจึงเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาอัตราเร็วการสังเคราะห์เอ็นไซม์ β-galactosidase เมื่อให้ความเข้มข้นของสารเหนี่ยวนำคงที่

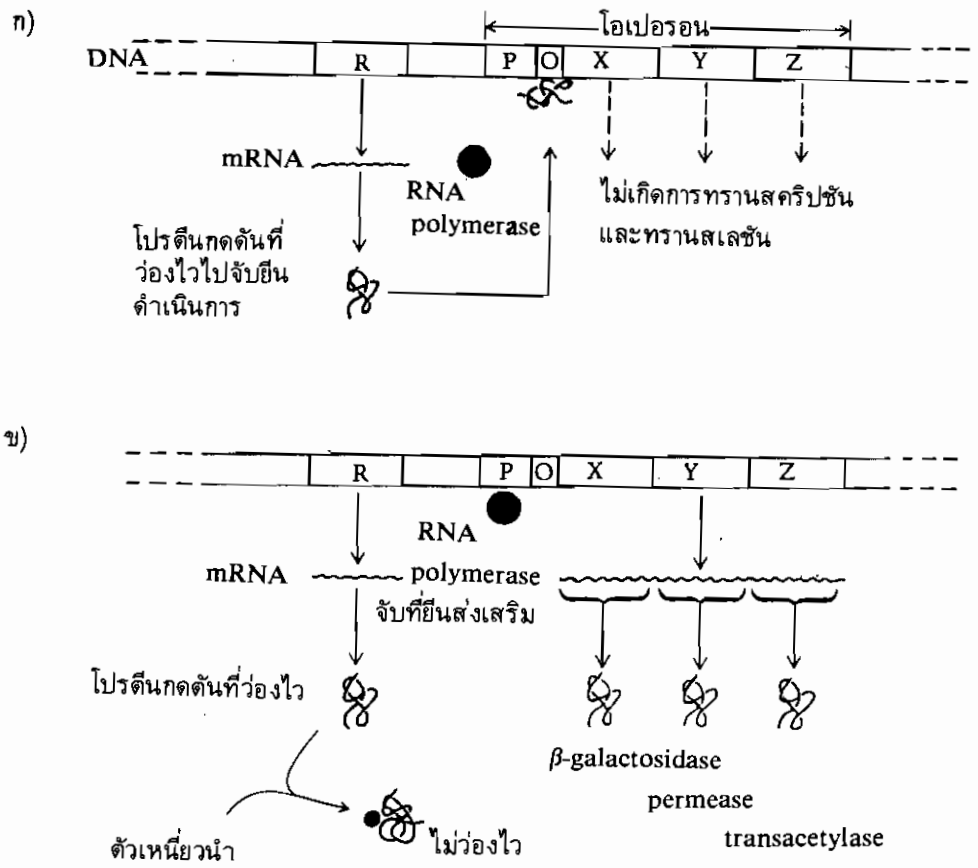


โครงสร้างอัลโลแลคโตสและ IPTG

จากการทดลองที่ได้กล่าวมาแล้ว ทำให้ F.Jacob และ J.Monod ได้เสนอทฤษฎีเกี่ยวกับโอเปอรอนว่า โอเปอรอนเป็นหน่วยร่วมของยีนหรือกลุ่มของยีนที่จะแสดงออก ประกอบด้วยยีนส่งเสริม (promoter gene หรือยีน P) ยีนดำเนินการ (Operator gene หรือยีน O) และยีนโครงสร้าง (Structural genes) เรียงกันตามลำดับ แต่ละโอเปอรอนมียีนโครงสร้างมากกว่าหนึ่งยีนได้ ยีนโครงสร้างมีข้อมูลทางพันธุกรรมที่จะนำไปสังเคราะห์โปรตีนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างหรือเมตาบอลิซึมของเซลล์ การทำงานของยีนโครงสร้างอยู่ภายใต้การควบคุมของยีนควบคุม (Regulatory gene, ยีน i หรือยีน R) โดยที่ยีนควบคุมจะสร้างโปรตีนกดดันไปจับที่ยีนดำเนินการ ทำให้ขัดขวางเอ็นไซม์ RNA polymerase ที่จะเข้าไปจับที่ยีนส่งเสริม การสังเคราะห์ mRNA เกิดขึ้นไม่ได้ การแสดงออกของยีนออกมาในรูปการสังเคราะห์เอ็นไซม์ก็เกิดขึ้นไม่ได้เช่นกัน ยีนควบคุมนี้ไม่จำเป็นต้องอยู่ติดกับโอเปอรอนที่ถูกควบคุม อาจอยู่ในโครโมโซมเดียวกันหรือไม่ก็ได้ (รูปที่ 15-2)

รูปที่ 15-2 แผนภาพแสดงส่วนประกอบของโอเปอรอน P คือยีนส่งเสริม O คือยีนดำเนินการ X, Y และ Z คือยีนโครงสร้าง ส่วน R ที่อยู่ห่างออกไปนั้นคือยีนควบคุม

15.1.1 การเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์ (enzyme induction)



รูปที่ 15-3 แผนภาพแสดงการเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์บนแลคโตสโอเปอรอน

ก) สภาวะที่ไม่มีสารเหนี่ยวนำโปรตีนกดดันจะยับยั้งมิให้มีการสังเคราะห์เอ็นไซม์ทั้งสาม

ข) สภาวะที่มีตัวเหนี่ยวนำ จะทำให้โปรตีนกดดันหมดความว่องไวไม่สามารถยับยั้งได้ จึงเกิดการสังเคราะห์เอ็นไซม์ทั้งสามชนิดขึ้นมา

ยีนโครงสร้างของแลคโตสโอเปอรอนมีสามยีนคือ ยีน X, Y และ Z จะถูกถอดรหัสไปสร้างเป็น polycistronic mRNA แล้วสังเคราะห์เป็นเอ็นไซม์ β-galactosidase, permase และ transacetylase ตามลำดับ ในสภาวะที่ไม่มีตัวเหนี่ยวนำ ยีนควบคุมจะสร้างโปรตีนกดดันที่ว่องไวสามารถไปจับที่ยีนดำเนินการ (รูปที่ 15-3) กีดขวางเอ็นไซม์ RNA polymerase ที่จะเข้าไปยังยีนส่งเสริม ทำให้ไม่มีการสังเคราะห์ mRNA และการสังเคราะห์เอ็นไซม์ทั้งสาม เมื่อมีสารเหนี่ยวนำอาจเป็นแลคโตสหรืออัลโลแลคโตส หรือ IPTG จะไปรวมตัวกับโปรตีนกดดันเป็น

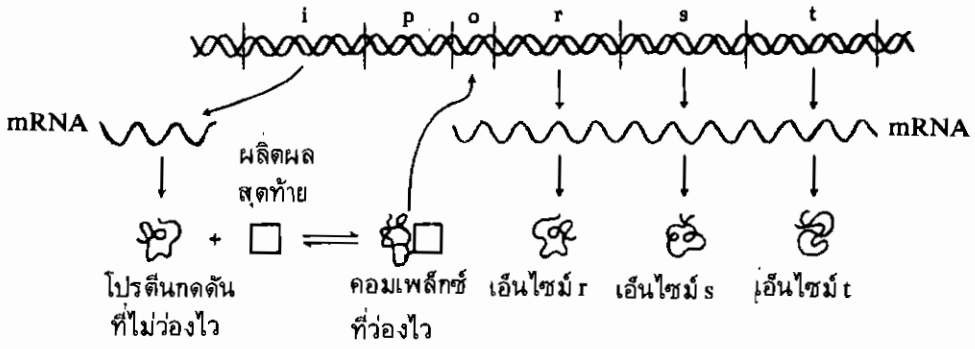
คอมเพล็กซ์หมดความว่องไวและไม่สามารถไปจับที่ยีนดำเนินการ เมื่อเอ็นไซม์ RNA polymerase เข้าไปจับที่ยีนส่งเสริม ก็จะเกิดการทรานสคริปชันและการทรานสเลชันของยีนโครงสร้างทั้งสามไปเป็นเอ็นไซม์ การที่ตัวเหนี่ยวนำชนิดเดียวสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการสังเคราะห์เอ็นไซม์มากกว่าหนึ่งชนิด เรียกว่า การเหนี่ยวนำร่วม (coordinate induction) mRNA ที่มีข้อมูลทางพันธุกรรมสำหรับสร้างโปรตีนมากกว่าหนึ่งชนิด เรียก polycistronic mRNA หรือ polygenic mRNA แต่ถ้า mRNA สายนั้นมีรหัสพันธุกรรมที่สร้างโปรตีนได้เพียงชนิดเดียว เรียกว่า monocistronic mRNA

โปรตีนกดดันสำหรับแลคโตสโอเปอรอนนั้นเป็นเตทตระเมอร์ แต่ละโมโนเมอร์มีบริเวณที่จะจับกับตัวเหนี่ยวนำ โปรตีนกดดันจะเคลื่อนตัวไปตามสายของโมเลกุล DNA เมื่อพบยีนดำเนินการก็จะเข้าไปจับอย่างรวดเร็วและแน่นหนามาก ยีนดำเนินการของแลคโตสโอเปอรอนมีการเรียงตัวของเบสเป็นแบบพาลินโดรม (palindrome) มีเบสคู่ที่ 11 เป็นแกนสมมาตรสองทบ (two-fold axis of symmetry) คาดกันว่าโปรตีนกดดันมีความจำต่อการเรียงตัวของเบสที่เป็นแบบพาลินโดรมในยีนดำเนินการ จึงสามารถเข้าไปจับได้อย่างถูกต้อง (รูปที่ 15-4)

รูปที่ 15-4 การเรียงตัวของเบสบนยีนดำเนินการในแลคโตสโอเปอรอน มีลักษณะเป็นแบบพาลินโดรม และมีเบสคู่ที่ 11 เป็นแกนสมมาตรสองทบ

15.1.2 การกดดันการสร้างเอ็นไซม์ (enzyme repression)

ปรากฏการณ์สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่มีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของเอ็นไซม์ภายในเซลล์ คือ การกดดันการสร้างเอ็นไซม์ เมื่อเลี้ยง E.Coli ในน้ำเลี้ยงที่มีเกลือแอมโมเนียมเป็นแหล่งของไนโตรเจน E.Coli ก็จะนำไปสร้างเป็นกรดอะมิโนต่าง ๆ แต่ถ้าเติมฮิสทิดีนลงในน้ำเลี้ยง กลุ่มของเอ็นไซม์ต่าง ๆ ในกระบวนการสังเคราะห์ฮิสทิดีนจะหายไปโดยเร็ว เกิดการกดดันร่วม (coordinate repression) ปรากฏการณ์เช่นนี้มักเกิดกับเอ็นไซม์ในกระบวนการสังเคราะห์ต่าง ๆ โดยมีผลิตผลสุดท้ายของกระบวนการนั้น ๆ เป็นต้นเหตุ จึงอาจเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า end-product repression



รูปที่ 15-5 แผนภาพแสดงการกดดันการสร้างเอ็นไซม์บนฮิสทิดีนโอเปอรอน

ในสภาวะปรกติยีนควบคุมของฮิสทิดีนโอเปอรอนจะสร้างโปรตีนกดดันที่ไม่ว่องไว จึงไม่สามารถไปจับที่ยีนดำเนินการ เอ็นไซม์ RNA polymerase เข้าไปจับที่ยีนส่งเสริมได้ ทำให้เกิดกระบวนการทรานสคริปชันและทรานสเลชันไปเป็นเอ็นไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการสังเคราะห์ฮิสทิดีน เมื่อฮิสทิดีนซึ่งเป็นผลิตผลสุดท้ายในกระบวนการสังเคราะห์อยู่ในน้ำเลี้ยง ฮิสทิดีนจะทำหน้าที่เป็นตัวกดดันร่วม (corepressor) รวมตัวกันเป็นคอมเพล็กซ์ระหว่างตัวกดดัน-ตัวกดดันร่วม (repressor-corepressor complex) แล้วไปจับที่ยีนดำเนินการ ขัดขวางกระบวนการทรานสคริปชันของยีนโครงสร้างและกระบวนการทรานสเลชัน ทำให้ไม่มีการสังเคราะห์เอ็นไซม์ต่าง ๆ (รูปที่ 15-5)

ปรากฏการณ์การเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์และการกดดันการสร้างเอ็นไซม์ใช้หลักการเดียวกัน ต่างกันตรงโปรตีนกดดันแรกเริ่มเท่านั้นว่าจะว่องไวหรือไม่ อย่างไรก็ตามโมเลกุลโปรตีนกดดันทั้งในสองกรณีจะมีบริเวณสำหรับจับโมเลกุลจำเพาะสองแห่ง แห่งหนึ่งสำหรับจับกับตัวเหนี่ยวนำหรือตัวกดดัน อีกแห่งหนึ่งสำหรับจับกับยีนดำเนินการ

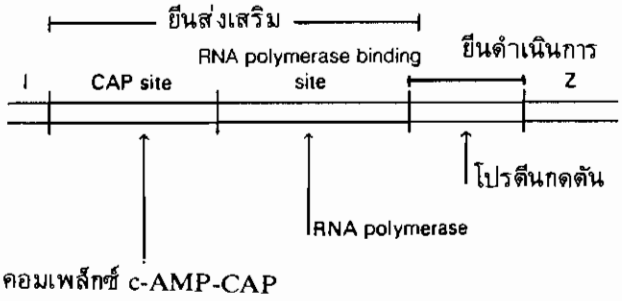
15.1.3 Catabolite repression

เป็นปรากฏการณ์การกดดันการสร้างเอ็นไซม์อีกแบบหนึ่งของพวกแบคทีเรีย มีการกดดันการสร้างเอ็นไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในกระบวนการคะตาบอลิซึม อธิบายโดยใช้แลคโตสโอเปอรอนเช่นกันแต่กลไกต่าง ๆ เกิดขึ้นที่ยีนส่งเสริม ไม่ได้เกิดที่ยีนดำเนินการเหมือนกรณีการเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์

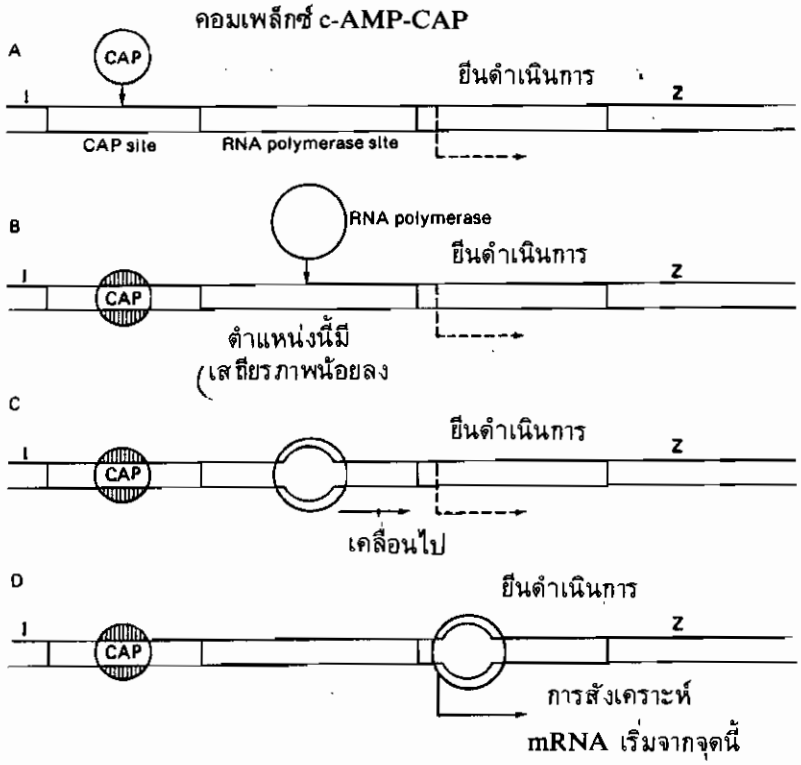
เมื่อเลี้ยง E.Coli ในน้ำเลี้ยงที่มีทั้งกลูโคสและแลคโตส E.Coli จะใช้กลูโคสอย่างเดียวก่อน ปริมาณเอ็นไซม์ β-galactosidase, permease และ acetyl transferase ซึ่งเกี่ยวข้องกับแลคโตสเมตาบอลิซึมมีอยู่น้อยมาก แสดงว่ากลูโคสสามารถกดดันไว้มิให้มีการสร้างเอ็นไซม์ที่จะไปย่อยสลายแลคโตส หรือคะตาโบไลท์ตัวอื่น ๆ ที่มีอยู่ในน้ำเลี้ยง จึงเรียกการควบคุมการแสดงออกของยีนลักษณะนี้ว่า catabolite repression กลูโคสสามารถกดดันการสร้างเอ็นไซม์ β-galactosidase ทั้ง ๆ ที่มีตัวเหนี่ยวนำคือแลคโตสอยู่ด้วย เป็นการประหยัดพลังงานของเซลล์ไม่ต้องสังเคราะห์เอ็นไซม์มาย่อยสลายแลคโตสหรือซับสเตรทอื่น เพราะมีน้ำตาลกลูโคสซึ่งสามารถเข้าวิถีไกลโคลัยซีสได้โดยตรงและรวดเร็วอยู่แล้ว

ปริมาณกลูโคสมีความสัมพันธ์กับปริมาณ c-AMP ภายในเซลล์ ถ้ามีกลูโคสมากปริมาณ c-AMP จะน้อย และถ้ากลูโคสน้อยปริมาณ c-AMP จะมาก กลไกที่กลูโคสทำให้ปริมาณ c-AMP ลดลงนั้นยังไม่มีผู้ใดทราบ c-AMP จะจับกับ CAP (catabolite activator protein อาจเรียกย่อว่า CRP ซึ่งมาจากคำเต็มคือ c-AMP receptor protein) เป็นคอมเพล็กซ์ของ c-AMP-CAP คอมเพล็กซ์นี้จะไปจับที่ CAP site ของยีนส่งเสริมซึ่งเป็นบริเวณที่มีการเรียงตัวของเบสเป็นแบบพาลินโดรม RNA polymerase entry site เสถียรภาพน้อยลง (รูปที่ 15-6) ทำให้เอ็นไซม์ RNA polymerase เข้าไปจับบริเวณดังกล่าวสะดวกและง่ายขึ้น เมื่อเอ็นไซม์ไปจับแล้วและเคลื่อนตัวไปถึงจุดเริ่มต้นจึงมีการสังเคราะห์ mRNA ดังนั้น c-AMP-CAP คอมเพล็กซ์ที่เกิดขึ้นเวลาไม่มีกลูโคสจะเป็นตัวกระตุ้นให้มีการเริ่มต้นการทรานสคริปชันของแลคโตสโอเปอรอนและการสังเคราะห์เป็นเอ็นไซม์ β-galactosidase ในเวลาต่อมา เมื่อใดกลูโคสมากปริมาณ c-AMP น้อยไม่มีคอมเพล็กซ์ c-AMP-CAP ไปจับที่ CAP site ก็จะไม่มีการทรานสคริปชันเกิดขึ้น

ก)



ข)

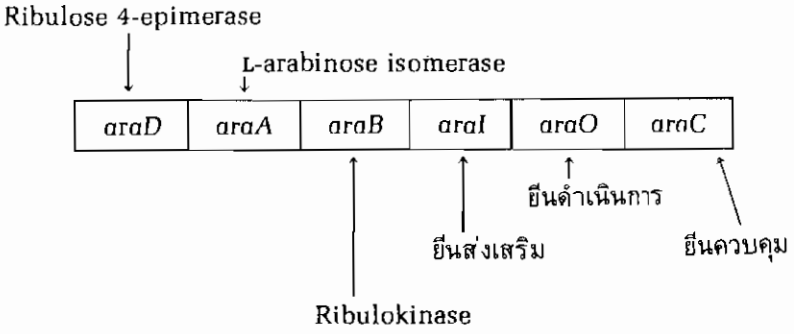


รูปที่ 15-6 ก) แผนภาพแสดงส่วนยีนส่งเสริมและยีนดำเนินการของแลคโตสโอเปอรอน
ข) แผนภาพแสดงการเริ่มต้นกระบวนการทรานสคริปชันของแลคโตสโอเปอรอน

สรุปได้ว่าเมื่อมีกลูโคสจะไม่เกิดการทรานสคริปชันของแลคโตสโอเปอรอน ไม่ว่าจะมีตัวเหนี่ยวนำหรือไม่ก็ตาม เมื่อไม่มีกลูโคสจะมีคอมเพล็กซ์ c-AMP-CAP กระตุ้นให้เริ่มการทรานสคริปชัน ในทางตรงกันข้ามเมื่อไม่มีตัวเหนี่ยวนำ โปรตีนกดดันของแลคโตสโอเปอรอนที่ว่องไวจะไปจับที่ยีนดำเนินการ สามารถยับยั้งการทรานสคริปชันได้เช่นกัน ดังนั้นแลคโตสโอเปอรอนอยู่ภายใต้การควบคุมทั้งแบบโพซิทีฟและเนกาทีฟ ถ้ามีคอมเพล็กซ์ c-AMP-CAP ไปจับที่ยีนส่งเสริมจะมีทรานสคริปชันเกิดขึ้น เป็นการควบคุมแบบโพซิทีฟ แต่ถ้าโปรตีนกดดันไปจับที่ยีนดำเนินการจะขัดขวางการทรานสคริปชัน เป็นการควบคุมแบบเนกาทีฟ

อะราบิโนสโอเปอรอนมีการควบคุมการแสดงออกของยีนที่แตกต่างไปจากแลคโตส-โอเปอรอนบ้างเล็กน้อย อะราบิโนสโอเปอรอนประกอบด้วยยีน araO เป็นยีนดำเนินการ ยีน araI เป็นยีนส่งเสริม ยีน araB, araA และ araD เป็นยีนโครงสร้างสำหรับสังเคราะห์เอ็นไซม์ ribulokinase, L-arabinose isomerase และ ribulose-4-epimerase ตามลำดับ เอ็นไซม์ทั้งสามนี้จะ

เปลี่ยน L-อะราบิโนสไปเป็น D-ไซลูโลส-5-ฟอสเฟต ซึ่งเป็นอินเตอร์มิเดียทในวิถีเปนโตส ยีน araC เป็นยีนควบคุม (รูปที่ 15-7)



รูปที่ 15-7 แผนภาพแสดงอะราบิโนสโอเปอรอนและยีนควบคุม

ยีนควบคุมจะสร้างโปรตีน araC ไปจับที่ยีนดำเนินการ ไม่มีการทรานสคริปชันและทรานสเลชันเกิดขึ้น แต่เมื่อมีอะราบิโนส อะราบิโนสจะรวมกับโปรตีน araC เป็นคอมเพล็กซ์ไปจับที่ยีนส่งเสริมพร้อม ๆ กับคอมเพล็กซ์ c-AMP-CAP คอมเพล็กซ์ทั้งสองชนิดทำให้มีการทรานสคริปชันและทรานสเลชันเกิดขึ้น

15.1.4 การควบคุมแบบ attenuation

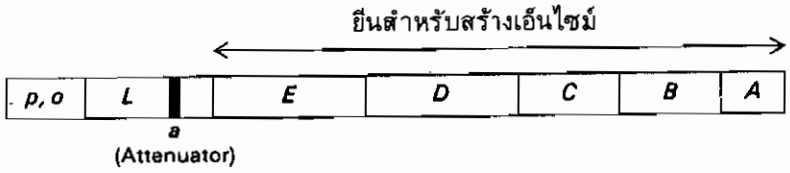
การทรานสคริปชันของโอเปอรอนต่าง ๆ ไปเป็นเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์สาร เช่น ทริปโตแฟนโอเปอรอน ฮิสทิดีนโอเปอรอน เฟนิลอะลานีนโอเปอรอน ต่างก็มีการควบคุมการแสดงออกของยีนในลักษณะที่คล้ายคลึงกัน การสังเคราะห์กรดอะมิโนต่าง ๆ อาจถูกควบคุมโดย

(1) การยับยั้งเอ็นไซม์ตอนต้นกระบวนการสังเคราะห์โดยผลิตผลสุดท้ายของกระบวนการสังเคราะห์นั้น ๆ เป็นการยับยั้งแบบป้อนกลับ (feed-back inhibition) ยับยั้งเอ็นไซม์ที่มีอยู่แล้วภายในเซลล์

(2) การควบคุมการสังเคราะห์ mRNA ที่ระดับทรานสคริปชันโดยยีนควบคุม

(3) การควบคุมของสมมุติฐาน attenuation ซึ่งเป็นการควบคุมระดับทรานสคริปชันแบบใหม่ ค้นพบโดย Charles Yanofsky และคณะ ในขณะที่ศึกษาเกี่ยวกับทริปโตแฟนโอเปอรอน

ทริปโตแฟนโอเปอรอนประกอบด้วยยีนส่งเสริม ยีนดำเนินการ ยีนสำหรับสร้าง leader เปปไทด์ และยีนโครงสร้างทั้งห้า trpE trpD trpC trpB และ trpA สำหรับสร้างเอ็นไซม์ต่าง ๆ ที่จะเปลี่ยนซับสเตรท chorismate ไปเป็นทริปโตแฟน บริเวณ attenuator จะอยู่ระหว่างยีนดำเนินการและยีนโครงสร้าง trpE (รูปที่ 15-8)



รูปที่ 15-8 แผนภาพแสดงส่วนประกอบของทริปโตแฟนโอเปอรอน ยีนควบคุมอยู่ไกลจากโอเปอรอนมากจึงมิได้แสดงไว้ในภาพ

ถ้าเป็นการควบคุมแบบ (2) ดังได้กล่าวไว้ข้างบน ยีนควบคุมจะสร้างโปรตีนกดดันแต่ยังไม่ไปจับที่โอเปอรอน เมื่อมีทริปโตแฟนจึงรวมตัวเป็นคอมเพล็กซ์ระหว่างทริปโตแฟน-โปรตีนกดดัน สามารถไปจับที่ยีนส่งเสริมและยับยั้งการทรานสคริปชัน ในที่นี้ทริปโตแฟนเป็นตัวกดดันร่วม ยับยั้งการสังเคราะห์ตัวมันเอง การเรียงตัวของเบสบนยีนส่งเสริมบริเวณที่ทริปโตแฟน-โปรตีนกดดันคอมเพล็กซ์เข้าไปจับมีลักษณะพาลินโดรมอีกเช่นกัน

ทริปโตแฟนโอเปอรอนมีการควบคุมการทรานสคริปชันอีกแบบหนึ่ง ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับแบบที่พึ่งกล่าวมา เป็นการควบคุมแบบ attenuation เกิดในขณะที่มีการทรานสเลชันไปบ้างแล้วและขึ้นกับปริมาณทริปโตแฟนด้วย (แบคทีเรียและโปรคาริโอท กระบวนการทรานสคริปชันและทรานสเลชันเกิดขึ้นพร้อมกันได้ เนื่องจากไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส)

Met - Lys - Ala - Ile - Phe - Val - Leu - Lys - Gly - Trp - Trp - Arg - Thr - Ser - Stop

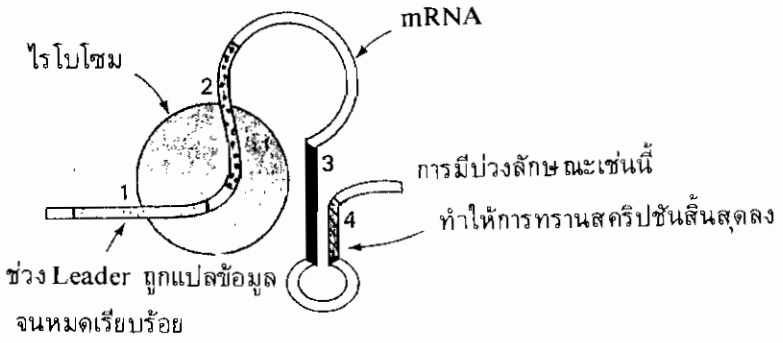
-AUG AAA GCA AUU UUC GUA CUG AAA GGU UGG UGG CGC ACU UCC UGA~~

รูปที่ 15-9 การเรียงตัวของเบสบน leader mRNA และการเรียงตัวของกรดอะมิโนบน leader peptide

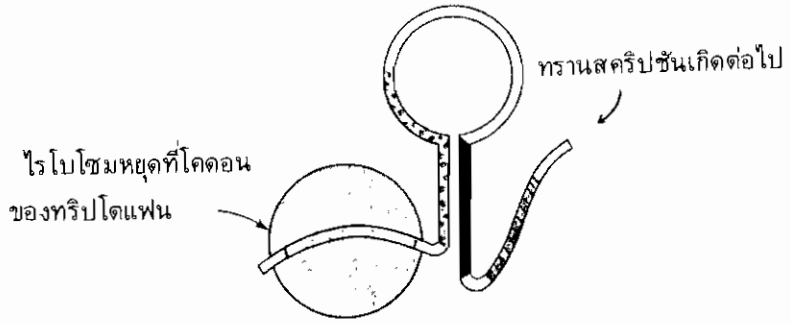
ในขณะที่การสังเคราะห์ mRNA ของทริปโตแฟนโอเปอรอนยังดำเนินการอยู่นั้น ช่วง leader mRNA จะถูกแปลรหัสไปเป็น leader peptide กรดอะมิโนตำแหน่งที่ 10 และ 11 จากกรดอะมิโนทั้งหมดในสาย 14 ตัวจะเป็นทริปโตแฟน (รูปที่ 15-9) ถ้าภายในเซลล์มีทริปโตแฟนมาก การแปลรหัสของช่วง leader (ช่วงที่ 1) ไปเป็นเปปไทด์จะเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ตลอดช่วง

ไรโบโซมจะมาหยุดอยู่ในบริเวณช่วงที่ 2 ทำให้ trp mRNA ช่วงที่ 3 และช่วงที่ 4 จับคู่เบสซึ่งกันและกัน กลายเป็นบ่วง (loop) ขึ้นมาลักษณะดังรูปที่ 15-10 (ก) เป็นสัญญาณให้เอ็นไซม์ RNA polymerase หยุดการทรานสคริปชัน หากปริมาณทริปโตแฟนมีน้อย (รูปที่ 15-10, ข) การแปลรหัสของช่วง leader จะไปหยุดอยู่ที่รหัส UGG ของทริปโตแฟน เพราะ trp-tRNA ก็มีน้อยตามปริมาณทริปโตแฟนไปด้วย การที่ไรโบโซมไปติดอยู่ช่วง leader mRNA (ช่วงที่ 1) ทำให้ trp mRNA ช่วงที่ 2 และช่วงที่ 3 จับคู่เบสกัน ไม่มีการสร้างบ่วงขึ้น เช่นนี้เอ็นไซม์ RNA polymerase ก็ทำการสังเคราะห์ trp mRNA ต่อไปได้

ก) เมื่อปริมาณทริปโตแฟนมาก



ข) เมื่อปริมาณทริปโตแฟนน้อย

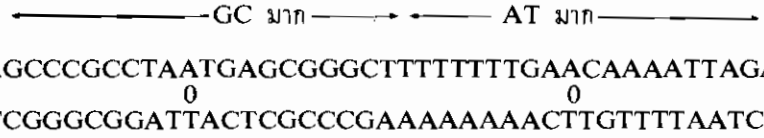


รูปที่ 15-10 สมมุติฐาน attenuation ที่เกิดขึ้นบนทริปโตแฟนโอเปอรอนของ E.Coli

ก) ปริมาณทริปโตแฟนมีมาก

ข) ปริมาณทริปโตแฟนมีน้อย

ผลการวิจัยเมื่อไม่นานมานี้พบว่า ขณะที่ปริมาณทริปโตแฟนมีน้อยและไรโบโซมไปติดอยู่ที่ช่วง leader นั้น จะเปลี่ยนโครงสร้างทุติยภูมิของ trp mRNA ไปในทางที่ทำให้เอ็นไซม์ RNA polymerase ผ่านบริเวณ attenuator ไปได้มากขึ้น ขณะที่ปริมาณทริปโตแฟนมีมาก โครงสร้างทุติยภูมิของ mRNA จะเป็นอีกแบบหนึ่ง เอ็นไซม์ RNA polymerase บางโมเลกุลเมื่อเคลื่อนตัวมาถึงบริเวณ attenuator ก็จะตกออกนอกแม่พิมพ์ไป การเรียงตัวของเบสบริเวณ attenuator เป็นดังรูปที่ 15-11



รูปที่ 15-11 การเรียงตัวของเบสที่บริเวณ attenuator ของทริปโตแฟนโอเปอรอน มีช่วงที่มีคู่เบส GC มาก และช่วงที่มีคู่เบส AT มาก แต่ละช่วงการเรียงตัวของเบสจะมีลักษณะเป็นแบบพาลินโดรม ตำแหน่งของจุดแสดงถึงแกนสมมาตรสองทบ

ฮิสทิดีนโอเปอรอนและเฟนิลอะลานีนโอเปอรอนก็มีการควบคุมแบบ attenuation เช่นกัน ความเข้มข้นของฮิสทิดีนและเฟนิลอะลานีนจะมีผลต่อการควบคุมแบบนี้ การเรียงตัวของกรดอะมิโน 14 ตัวใน leader peptide ของ his mRNA จะเป็นฮีสทิดีน 7 ตัว การเรียงตัวของกรดอะมิโน 14 ตัวใน leader peptide ของ phe mRNA จะเป็นเฟนิลอะลานีน 7 ตัวเช่นกัน จะเห็นว่ากระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโนใด กรดอะมิโนนั้น ๆ ซึ่งเป็นผลิตผลสุดท้ายจะเป็นตัวควบคุมกระบวนการดังกล่าว

15.2 การควบคุมการแสดงออกของยีนในยูคาริโอทที่ระดับทรานสคริปชัน

ข้อมูลทางพันธุกรรมในยูคาริโอทมีมากกว่าในโปรคาริโอท สาย DNA ของยูคาริโอทมีเบสิคโปรตีนที่เรียกว่า ฮีสโตน (histone) เกาะอยู่ในขณะที่ DNA ของโปรคาริโอทไม่มี โครโมโซมของยูคาริโอทมีการจัดรูปแบบและโครงสร้างอยู่ในขั้นสูงกว่าโปรคาริโอทโครโมโซม และที่สำคัญคือยูคาริโอทมีเยื่อหุ้มนิวเคลียสแต่โปรคาริโอทไม่มี สิ่งนี้เองทำให้กระบวนการทรานสคริปชันและทรานสเลชันในยูคาริโอทเกิดขึ้นในสถานที่และเวลาที่แตกต่างกันออกไป การทรานสคริปชันเกิดก่อนภายในนิวเคลียสการทรานสเลชันเกิดทีหลังภายในไซโตปลาสซึม ส่วนโปรคาริโอทนั้นทั้งสองกระบวนการเกิดขึ้นที่เดียวกันในเวลาไล่เลี่ยกันเนื่องจากไม่มีเยื่อหุ้ม

นิวเคลียส ความแตกต่างที่ได้กล่าวมาแล้วทำให้การแสดงออกของยีนในยูคาริโอทสลับซับซ้อนกว่าในโปรคาริโอทมาก

15.2.1 การเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์และการกดดันการสร้างเอ็นไซม์ในยูคาริโอท

ยีสต์, เชื้อราจำพวกนิวโรสปอรา (Neurospora) และสิ่งมีชีวิตที่มีกระดูกสันหลังมีปรากฏการณ์การเหนี่ยวนำเอ็นไซม์เกิดขึ้นเช่นกันแต่ช้าและเปลี่ยนแปลงไปน้อยกว่าใน E.Coli ซึ่งเป็นโปรคาริโอท ยกตัวอย่าง เช่น การเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์ β-galactosidase โดยแลคโตส ถ้าเกิดในยีสต์หรือในเชื้อรานิวโรสปอราจะกินเวลาในการเหนี่ยวนำนานกว่า และแอคติวิตีของเอ็นไซม์ β-galactosidase เพิ่มขึ้นประมาณสิบเท่า ไม่ใช่พันเท่าเหมือนในกรณีของ E.Coli ในยูคารีโอทจะไม่เกิด coordinate induction หรือ coordinate repression ทั้งนี้เพราะยีนโครงสร้างสำหรับสร้างกลุ่มของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเมตาบอลิซึมหนึ่ง ๆ กระจายอยู่ในโครโมโซมต่าง ๆ ไม่ได้อยู่ในโครโมโซมเดียวกันดังในโปรคาริโอทและไม่สามารถอธิบายโดยใช้ทฤษฎีเกี่ยวกับโอเปอรอน

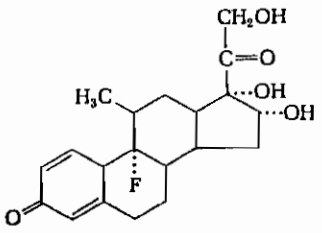
ในตับของสัตว์มีเอ็นไซม์ชนิดหนึ่ง ชื่อว่า tryptophan-2, 3-oxygenase เป็นเอ็นไซม์แรกในกระบวนการย่อยสลายทริปโตแฟน สามารถถูกเหนี่ยวนำได้โดยซับสเตรทคือทริปโตแฟนที่มีอยู่ในอาหาร และฮอร์โมนบางชนิด เวลาที่ใช้ในการเหนี่ยวนำหรือเวลาที่รอให้ความเข้มข้นของเอ็นไซม์เหนี่ยวนำกลับเข้าสู่ระดับปรกติหลังจากเอาตัวเหนี่ยวนำออกไปนั้นอาจกินเวลาเป็นชั่วโมงหรือเป็นวัน การเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์ tryptophan-2, 3-oxygenase นี้สามารถพิสูจน์ได้ว่าเป็นการสร้างเอ็นไซม์ใหม่จริง มิใช่เป็นการกระตุ้นเอ็นไซม์ที่มีอยู่แล้วให้ว่องไวขึ้นมา โดยการใช้สารแอคติโนมัยซินดีไปยับยั้งการทรานสคริปชันของ DNA ผลปรากฏว่าแอคติโนมัยซินดีสามารถยับยั้งการเหนี่ยวนำเอ็นไซม์ได้ เอ็นไซม์ในตับอีกชนิดหนึ่งที่ถูกเหนี่ยวนำได้เช่นกันคือ tyrosine aminotransferase การเหนี่ยวนำหรือการกดดันการสร้างเอ็นไซม์ในพวกมีกระดูกสันหลัง มักจะเกิดขึ้นที่ตับและเยื่อบุผิว (epithelial cells) ของลำไส้เล็ก

15.2.2 การควบคุมการแสดงออกของยีนในยูคาริโอทโดยฮอร์โมน

ฮอร์โมนนี้คือ สเตียรอยด์ฮอร์โมน ซึ่งได้แก่ ฮอร์โมนเพศพวกแอนโดรเจน (androgens) เอสโตรเจน (estrogens) และโปรเจสเตอโรน (progesterone), ฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์ (glucocorticoids) สเตียรอยด์ฮอร์โมนเหล่านี้จะจับกับโปรตีนต้อนรับที่จำเพาะ (specific receptor protein) ภายในไซโตปลาสซึมของเซลล์เป้าหมาย (target cell) เป็นคอมเพล็กซ์ของฮอร์โมน-โปรตีนต้อนรับแล้วเข้าสู่ภายในนิวเคลียส ไปจับที่จุดจำเพาะ (specific locus) บน

โครโมโซมที่เหมาะสม เร่งการทรานสคริปชันของ mRNA ที่จะนำไปสร้างเป็นโปรตีนต่าง ๆ เช่น ฮอร์โมนเอสโตรเจนจะไปมีผลที่ท่อรังไข่ของลูกไก่ (chick oviduct) โดยไปเร่งการทรานสคริปชันของ mRNA ที่จะไปสร้างเป็นโปรตีนต่าง ๆ ของไข่ เช่น โอวัลบูมิน (ovalbumin) และไลโซซายม์ ถ้าจะเปรียบเทียบกับในโปรคาริโอท คอมเพล็กซ์ของฮอร์โมน-โปรตีนต้อนรับเปรียบเสมือนตัวเหนี่ยวนำ ส่วนจุดจำเพาะบนโครโมโซมเปรียบเสมือนยีนดำเนินการ

ฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์และอนุพันธ์สังเคราะห์ชื่อ dexamethasone จะช่วยส่งเสริมการพัฒนาอวัยวะต่าง ๆ ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เหนี่ยวนำให้มีการสร้างเอ็นไซม์ต่าง ๆ ที่ใช้ในกระบวนการ gluconeogenesis ที่ตับ เช่น เอ็นไซม์ phosphoenol pyruvate carboxykinase เอ็นไซม์ tyrosine aminotransferase และเอ็นไซม์อื่นที่สามารถเปลี่ยนกรดอะมิโนไปเป็นกลูโคส เนื้อเยื่อแทบทุกชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมีโปรตีนต้อนรับที่จำเพาะต่อฮอร์โมนกลูโคคอร์ติคอยด์



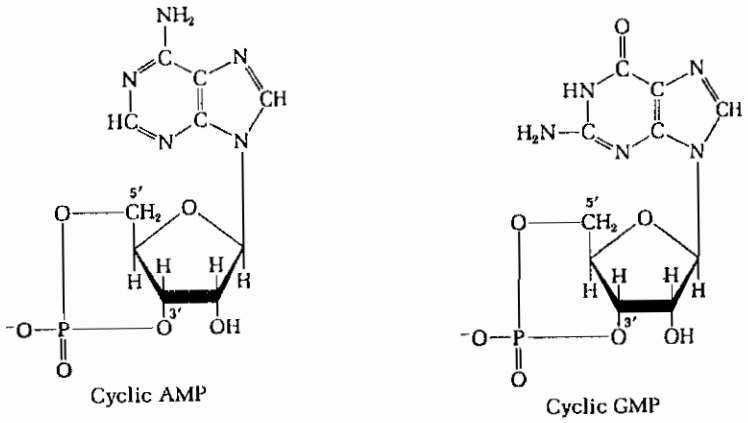
โครงสร้าง dexamethasone

นอกจากสเตียรอยด์ฮอร์โมนแล้ว ฮอร์โมนไธรอกซีนก็สามารถทำให้เกิดการสังเคราะห์เอ็นไซม์จำเพาะเช่นกัน ตัวอย่างเช่น ถ้าให้ฮอร์โมนไธรอกซีนแก่ลูกกบ (tadpole) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงร่าง (metamorphosis) จากลูกกบไปเป็นกบที่เจริญเติบโตแล้ว (adult frog) และที่ตับของกบก็มีเอ็นไซม์ต่าง ๆ เกี่ยวข้องในวัฏจักรยูเรียปรากฏขึ้นมากมาย เพราะลูกกบที่โตไปเป็นกบจะเปลี่ยนสถานะจากแอมโมโนเทลิค (ammonotelic) ไปเป็นยูริโอเทลิค (ureotelic) ซึ่งเคยขจัดอะมิโนไนโตรเจนออกในสภาพแอมโมเนียเปลี่ยนวิธีการไปเป็นการขจัดในรูปยูเรียโดยผ่านวัฏจักรยูเรีย จากการศึกษาและวิจัยพบว่าฮอร์โมนไธรอกซีนที่มีกัมมันตภาพรังสีจะไปจับอยู่ที่โครมาติน (chromatin) ภายในนิวเคลียสของเซลล์ตับของลูกกบ

15.2.3 การควบคุมการแสดงออกของยีนในยูคาริโอทโดยนิวคลีโอไทด์

มีรายงานว่า c-AMP และ c-GMP อาจจะมีบทบาทควบคุมการแสดงออกของยีนในระหว่างขั้นตอนต่าง ๆ ของวัฏจักรเซลล์ โดยที่ยังไม่ทราบกลไกการควบคุมที่จำเพาะลงไป

ในช่วงที่วัฏจักรเซลล์กำลังมีกระบวนการโพรลิเฟอเรชัน (proliferation) ซึ่งเป็นการขยายพันธุ์โดยการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วนั้น ความเข้มข้น c-AMP ภายในเซลล์ต่ำมาก แต่เมื่อถึงช่วงที่เซลล์ไม่มีการแบ่งตัวความเข้มข้น c-AMP ภายในเซลล์จะเพิ่มสูงขึ้น เช่นนี้แสดงว่า c-AMP สามารถยับยั้งหรือลดอัตราการแบ่งตัวของเซลล์



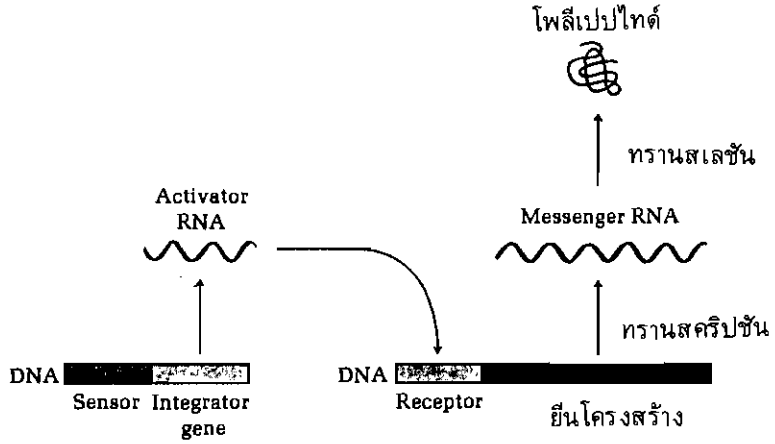
โครงสร้าง c-AMP และ c-GMP

c-GMP จะมีผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์ในทางตรงข้ามกับ c-AMP ความเข้มข้นของ c-GMP ภายในเซลล์สามารถกระตุ้นให้เซลล์มีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นถึง 50 เท่า ในขณะที่ความเข้มข้นของ c-AMP ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในทางลดลง เช่นนี้แสดงว่า c-GMP สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ขึ้น

ทั้ง c-AMP และ c-GMP สามารถควบคุมวัฏจักรเซลล์ของยูคาริโอทได้อาจเป็นเพราะนิวคลีโอไทด์ทั้งสองไปจับกับโปรตีนด้อนรับที่จำเพาะ แล้วมีผลต่อกระบวนการทรานสคริปชันอีกทีหนึ่งหรืออาจจะเป็นเพราะนิวคลีโอไทด์ทั้งสองสามารถกระตุ้นเอ็นไซม์ protein kinase ให้ว่องไว เอ็นไซม์ protein kinase ที่ว่องไวนี้ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันให้กับเอ็นไซม์ที่ควบคุมการเรพลิเคชันและการทรานสคริปชัน เป็นผลให้เอ็นไซม์เหล่านั้นว่องไวหรือไม่ก็ได้ เราอาจเรียกนิวคลีโอไทด์ในลักษณะนี้ว่า นิวคลีโอไทด์ควบคุม (regulatory nucleotide)

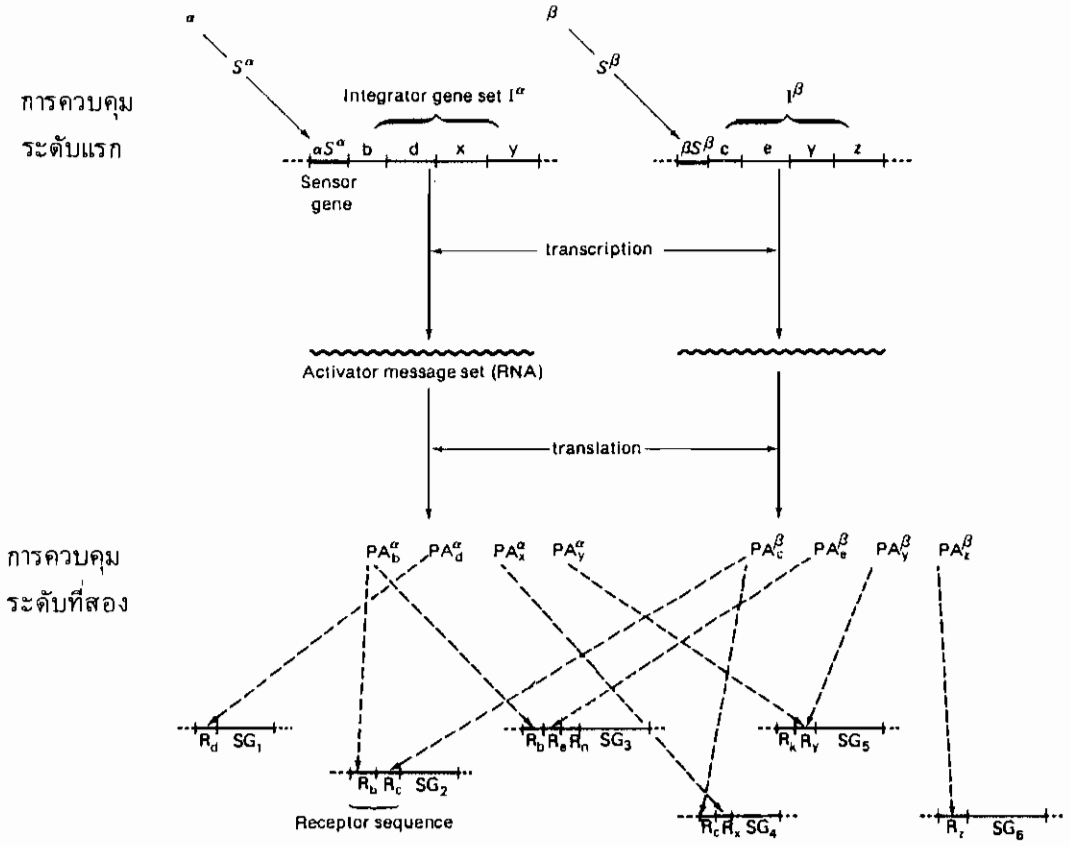
15.2.4 การควบคุมการแสดงออกของยีนในยูคาริโอทตามสมมุติฐานของ Britten-Davidson

R.J.Britten และ E.H.Davidson ร่วมกันตั้งสมมุติฐานนี้ขึ้นมา โดยมีหลักการขั้นพื้นฐานว่ายีนในยูคาริโอทจะมียีน sensor อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งคอยจดจำโมเลกุลจำเพาะต่าง ๆ ที่เข้ามา อาจเป็นซับสเตรทของเอ็นไซม์หรือคอมเพล็กซ์ของฮอร์โมน-โปรตีนต้อนรับหรืออาจเป็นนิวคลีโอไทด์ควบคุม ยีน sensor อยู่ติดกับยีน integrator เมื่อโมเลกุลจำเพาะดังกล่าวไปจับที่ยีน sensor จะไปกระตุ้นยีน integrator ให้สร้าง activator RNA และโปรตีน activator โปรตีน activator นี้จะไปจับที่ยีน receptor ที่อยู่ส่วนอื่นภายในโครโมโซมเดียวกันหรือไม่ก็ได้ เช่นนี้ทำให้ยีนโครงสร้างซึ่งอยู่ติดกับยีน receptor สังเคราะห์ mRNA ขึ้นมาแล้วนำไปแปรรหัสเป็นโปรตีนในภายหลังที่ไซโตปลาสซึม (รูปที่ 15-12)



รูปที่ 15-12 หลักการขั้นพื้นฐานตามสมมุติฐานของ Britten **และ** Davidson **ยีนโครงสร้างจะถูกกดดันไว้จนกว่าจะมีโมเลกุลจำเพาะไปกระตุ้นที่ยีน** sensor **แล้วส่งผลไปยังยีน** integrator **และยีน** receptor **ตามลำดับ จึงจะเกิดทรานสคริปชันของยีนโครงสร้างไปเป็น** mRNA **และทรานสเลชันเป็นโปรตีน**

Britten และ Davidson ขยายสมมุติฐานนี้ให้กว้างออกและมีความยืดหยุ่นมากขึ้น โดยให้ยีนโครงสร้างแต่ละยีนมียีน receptor เป็นกลุ่มของยีน และยีน sensor แต่ละยีนก็มียีน integrator เป็นกลุ่มของยีนเช่นกัน ทำให้เกิดการควบคุมร่วม (coordinate regulation) ของยีนออกมาในลักษณะต่าง ๆ กัน (รูปที่ 15-13)



รูปที่ 15-13 แผนภาพแสดงสมมุติฐานของ Britten-Davidson ที่ขยายให้กว้างและยืดหยุ่นมากกว่าเดิม (รูปเดิมคือ รูปที่ 15-12)

การควบคุมตามสมมุติฐานนี้แบ่งเป็นสองระดับ ระดับแรกเริ่มจากโมเลกุลจำเพาะเรียกว่า effector, α รวมตัวกับโปรตีน sensor (S^{α}) แล้วไปจับที่ยีน sensor ซึ่งควบคุมการทรานสคริปชันของกลุ่มยีน integrator I^{α} ประกอบด้วยยีน b, d, x และ y ทำให้เกิดการสร้าง activator message set ซึ่งเป็น RNA ขึ้นมา แล้วแปลรหัสไปเป็นโปรตีน activator (การทรานสคริปชันของกลุ่มยีน integrator I^{α} ไปเป็น RNA activator คล้ายกับการทรานสคริปชันไปเป็น polycistronic mRNA ของแลคโตสโอเปอรอนในโปรคาริโอท ตามสมมุติฐานของ Jacob และ Monod) β นั้นเป็น effector อีกตัวหนึ่งกลไกเป็นไปเหมือนกับ effector α เพียงแต่กลุ่มยีน integrator I^{β} ประกอบด้วยยีน c, e, y และ z

การควบคุมระดับที่สอง กลุ่มโปรตีน activator ที่สร้างขึ้นมาจะไปจับที่ยีน receptor เพื่อส่งเสริมให้มีการแสดงออกของยีน เกิดทรานสคริปชันของยีนโครงสร้าง การควบคุมทั้งสองระดับนี้เป็นแบบโพซิทีฟ โปรตีน activator (PA) จะมีตัวอักษรกำกับเพิ่มเติมทางด้านบนขวาและล่างขวา ทางด้านบนขวาบอกถึงกลุ่มยีน integrator ที่เป็นที่มาของโปรตีน activator ทางด้านล่างขวาบอกถึงยีน receptor ที่โปรตีน activator จะไปจับ เช่น PA_b^{α} แสดงว่า PA นี้มาจากกลุ่มยีน integrator I^{α} และไปจับที่ยีน receptor b

จากการควบคุมทั้งสองระดับจะเห็นว่า

(1) effector α ไปมีผลต่อการทรานสคริปชันของยีนโครงสร้าง SG_1 ถึง SG_5 (รูปที่ 15-13) ส่วน effector β มีผลต่อการทรานสคริปชันของยีนโครงสร้าง SG_2 ถึง SG_6

(2) ให้สังเกตยีนโครงสร้าง SG_2 ถึง SG_5 ว่ามียีน receptor มากกว่าหนึ่งยีน หมายความว่า SG_2 ถึง SG_5 นั้นถูกกระตุ้นได้โดย effector หลายตัวด้วยกัน

(3) โปรตีน activator ที่มาจากกลุ่มยีน integrator ที่ต่างกันสามารถจับยีน receptor เดียวกันได้ คือ PA_c^{α} และ PA_c^{β} มาจากกลุ่มยีน integrator I^{α} และ I^{β} แต่ไปจับที่ยีน receptor y เดียวกัน

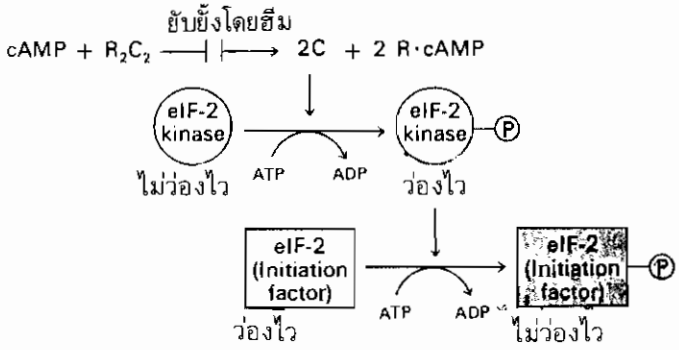
(4) ยีน receptor อันเดียวกันอาจมีผลถึงยีนโครงสร้างมากกว่าหนึ่งยีน ในรูปที่ 15-13 คือ R_c และ R_b ยีน receptor c มีผลต่อยีนโครงสร้าง SG_2 และ SG_4 ยีน receptor b มีผลต่อยีนโครงสร้าง SG_2 และ SG_3

เท่าที่กล่าวมาในหัวข้อ 15.3.1-15.3.4 นั้นเป็นการควบคุมการแสดงออกของยูคาริโอทยีนที่ระดับทรานสคริปชัน สำหรับยีนของยูคาริโอทมีการควบคุมที่ระดับทรานสเลชันด้วย เนื่องจาก mRNA ของยูคาริโอทยีนมีครึ่งชีวิต (half-lifes) อยู่ในช่วงประมาณ 10 นาทีถึง 20 ชั่วโมง นานกว่าครึ่งชีวิตของ mRNA ของโปรคาริโอทยีนมาก การที่ mRNA ของโปรคาริโอทมีอายุสั้นนี้เอง ทำให้การควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนในโปรคาริโอท มักจะอยู่ที่ระดับทรานสคริปชันหรือในเวลาไล่เลี่ยกันมากกว่าที่จะเป็นระดับทรานสเลชัน

15.3 การควบคุมการแสดงออกของยูคาริโอทยีนที่ระดับทรานสเลชัน

การควบคุมแบบนี้จะเห็นได้จากการควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนในเรติคูโลไซท์ (reticulocytes) โดยเอ็นไซม์ c-AMP dependent protein kinase เรติคูโลไซท์เป็นเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ยังไม่โตเต็มที่ (immature) ทำหน้าที่สังเคราะห์โปรตีนกลอบินเพื่อไปรวมกับหมู่พรอสเธติคฮีมเป็นโมเลกุลฮีโมกลอบิน ในขณะที่ไม่มีฮีมกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนกลอบินจะถูกยับยั้ง

โดยเอ็นไซม์ c-AMP dependent protein kinase เอ็นไซม์นี้จะไปทำให้ initiation factor (eIF-2) หมดความว่องไว บทบาทของ eIF-2 ก็คือรวมกับ GTP แล้วทำหน้าที่เป็นตัวพา N-f-met tRNA$^{f\text{-}met}$ ไปยัง 40 S ไรโบโซม ถ้า eIF-2 หมดความว่องไวไม่สามารถทำหน้าที่เป็นตัวพานี้ได้ การสังเคราะห์โปรตีนก็จะหยุดชะงัก



รูปที่ 15-14 แผนผังแสดงการควบคุม eIF-2

c-AMP dependent protein kinase เป็นเอ็นไซม์ควบคุมที่เป็นเตทตระเมอร์ ประกอบด้วย 4 หน่วยย่อย แบ่งเป็นหน่วยเร่งปฏิกิริยา (catalytic subunit) 2 หน่วยย่อย และหน่วยควบคุม (regulatory subunit) 2 หน่วยย่อย รวมกันอยู่เป็นคอมเพล็กซ์ R_2C_2 ที่ไม่ว่องไว เมื่อไม่มีฮีม คอมเพล็กซ์ R_2C_2 จะแตกออกโดย c-AMP กลายเป็น 2R.c-AMP และ 2C (รูปที่ 15-14) เป็นหน่วยเร่งปฏิกิริยาที่ว่องไวจะไปเร่งปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันให้กับเอ็นไซม์ eIF-2 kinase ทำให้เอ็นไซม์ eIF-2 kinase ว่องไวขึ้นมา ไปเร่งปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันให้กับ eIF-2 อีกต่อหนึ่ง เป็นผลให้ eIF-2 หมดความว่องไวหยุดการสังเคราะห์โปรตีนกลอบินเพียงแค่นั้น แต่ขณะที่มีฮีม ฮีมสามารถยับยั้งการแตกตัวของ R_2C_2 คอมเพล็กซ์โดย c-AMP ดังนั้น eIF-2 จึงว่องไวและมีการสังเคราะห์โปรตีนกลอบินตลอดเวลาที่มีฮีม การควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนแบบนี้เป็นปฏิกิริยาที่เกิดต่อเนื่องกันไปเป็นลำดับ (cascade reaction) อาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงพันธะโควาเลนท์ที่ตำแหน่งจำเพาะภายในโมเลกุลเอ็นไซม์หรือสารชนิดใดชนิดหนึ่ง คล้ายคลึงการควบคุมในเรื่องไกลโคเจนเมตาบอลิซึม

บทสรุป

จากการค้นพบการเหนี่ยวนำให้มีการสร้างเอ็นไซม์ β-galactosidase โดยตัวเหนี่ยวนำ ซึ่งอาจเป็นแลคโตส อัลโลแลคโตส หรือ IPTG ก็ตาม ทำให้เกิดทฤษฎีเกี่ยวกับโอเปอรอนขึ้นมา ทฤษฎีนี้ใช้อธิบายการควบคุมการแสดงออกของโปรคาริโอทยีนในระดับทรานสคริปชัน ซึ่งโอเปอรอนเป็นกลุ่มของยีนประกอบด้วยยีนส่งเสริม ยีนดำเนินการ และยีนโครงสร้าง การทำงานของโอเปอรอนอยู่ภายใต้การควบคุมของยีนควบคุมซึ่งอยู่ห่างออกไป จะอยู่ในโครโมโซมเดียวกันหรือไม่ก็ได้

การควบคุมแบบเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์ ยีนควบคุมสร้างโปรตีนกดดันที่ว่องไวไปจับยีนดำเนินการจึงไม่มีการสังเคร่าะห์เอ็นไซม์ เมื่อมีตัวเหนี่ยวนำไปจับโปรตีนกดดันรวมตัวกันเป็นคอมเพล็กซ์ ทำให้ไปจับยีนดำเนินการไม่ได้จึงมีการสังเคราะห์เอ็นไซม์ขึ้นมา

ส่วนการควบคุมแบบการกดดันการสร้างเอ็นไซม์นั้น ยีนควบคุมจะสร้างโปรตีนกดดันที่ไม่ว่องไว ไม่สามารถไปจับยีนดำเนินการจึงมีการสังเคราะห์เอ็นไซม์ แต่เมื่อมีตัวกดดันร่วมอยู่ด้วย จะรวมตัวกับโปรตีนกดดันเป็นคอมเพล็กซ์ที่สามารถไปจับที่ยีนดำเนินการจึงกดดันการสร้างเอ็นไซม์ไว้ได้ การควบคุมสองแบบนี้อาศัยหลักการเดียวกัน คือ ถ้ามีโมเลกุลหรือคอมเพล็กซ์ที่จำเพาะไปจับที่ยีนดำเนินการเมื่อใด เมื่อนั้นจะไม่มีการสังเคราะห์เอ็นไซม์

การควบคุมแบบ catabolite repression เกี่ยวข้องกับ c-AMP คือ เมื่อใดมี c-AMP มากจะรวมตัวกับ CAP เป็น c-AMP-CAP คอมเพล็กซ์เข้าไปจับที่ CAP site ของยีนส่งเสริมบนโอเปอรอนจึงมีการสังเคราะห์เอ็นไซม์ ถ้าปริมาณ c-AMP น้อยก็ส่งผลให้ไม่มีคอมเพล็กซ์ไปจับที่ยีนส่งเสริม ไม่มีการสังเคราะห์เอ็นไซม์เกิดขึ้น ปริมาณ c-AMP และปริมาณกลูโคสภายในเซลล์มีความสัมพันธ์ในทางตรงข้าม

การควบคุมแบบ attenuation เป็นการควบคุมระดับทรานสคริปชันที่ค้นพบใหม่ เกิดขึ้นในโอเปอรอนที่สร้างเอ็นไซม์ต่าง ๆ ในกระบวนการสังเคราะห์กรดอะมิโน ถ้ากรดอะมิโนชนิดนั้นมีน้อย ไรโบโซมซึ่งกำลังสังเคราะห์โปรตีนจะไปติดอยู่ช่วง leader เปลี่ยนโครงสร้างทุติยภูมิของ mRNA ไปในทางที่ทำให้เอ็นไซม์ RNA polymerase ทำการทรานสคริปชัน mRNA ต่อไป ทำให้มีเอ็นไซม์ต่าง ๆ ที่จะไปสังเคราะห์กรดอะมิโนชนิดนั้น ๆ แต่ถ้ากรดอะมิโนนั้นมีมากโครงสร้างทุติยภูมิของ mRNA จะมีบ่วงเกิดขึ้น ขัดขวางการทรานสคริปชันและไม่มีการสังเคราะห์เอ็นไซม์เกิดขึ้น

การควบคุมการแสดงออกของยูคาริโอทในระดับทรานสคริปชันที่เป็นไปในลักษณะการเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์และการกดดันการสร้างเอ็นไซม์ก็เกิดได้เช่นกัน แต่ใช้เวลานาน

กว่าและเห็นการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าในโปรคาริโอทยีน การควบคุมยูคาริโอทยีนโดยฮอร์โมนนั้น ฮอร์โมนจะรวมตัวกับโปรตีนต้อนรับเป็นคอมเพล็กซ์แล้วไปจับที่จุดจำเพาะบนโครโมโซม ภายในนิวเคลียส เร่งการทรานสคริปชันของ mRNA ไปสร้างเป็นโปรตีนต่าง ๆ c-AMP และ c-GMP สามารถควบคุมยูคาริโอทยีนด้วยกลไกที่ยังไม่สามารถชี้ชัด อาจรวมตัวกับโปรตีนต้อนรับที่จำเพาะ หรืออาจทำหน้าที่เป็นนิวคลีโอไทด์ควบคุมเอ็นไซม์ protein kinase แล้วเอ็นไซม์นี้ไปมีผลต่อเอ็นไซม์ต่าง ๆ ในกระบวนการเรพลิเคชันและทรานสคริปชันอีกทีหนึ่ง

การควบคุมตามสมมุติฐานของ Britten-Davidson ยีนโครงสร้างจะถูกกดดันไว้จนกว่าจะมีโมเลกุลจำเพาะไปกระตุ้นยีน sensor แล้วส่งผลกระทบไปยังยีน integrator และยีน receptor ตามลำดับ จึงจะเกิดการทรานสคริปชันขึ้น ถ้ายีน receptor และยีน integrator เป็นกลุ่มของยีนไม่ใช่ยีนเดียวเดี่ยว ๆ สมมุติฐานนี้จะอธิบายได้กว้างและมีความยืดหยุ่นมากขึ้น

การควบคุมยูคาริโอทยีนในระดับทรานสเลชัน พบได้ในเซลล์เรติคูโลไซท์ เป็นการควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนโดยที่ฮีมไปมีผลต่อ c-AMP dependent protein kinase และเอ็นไซม์นี้ส่งผลกระทบไปยัง eIF-2 เวลามีฮีมผลจากการกระทบทำให้ eIF-2 ว่องไว เกิดการสังเคราะห์โปรตีนตลอดเวลา เมื่อไม่มีฮีม eIF-2 จะหมดความว่องไวและไม่มีการสังเคราะห์โปรตีนกลอบินออกมาโดยไม่จำเป็น

คำถามท้ายบท

1. อธิบายความหมายของคำว่า "เอ็นไซม์เหนี่ยวนำ"
2. ตัวเหนี่ยวนำที่แท้จริงในการสังเคราะห์เอ็นไซม์ β-galactosidase คือสารใด
3. โอเปอรอนคืออะไร
4. เขียนแผนภาพแสดงการเหนี่ยวนำการสร้างเอ็นไซม์บนแลคโตสโอเปอรอนพร้อมคำอธิบาย
5. mRNA ที่มีข้อมูลทางพันธุกรรมสำหรับสร้างโปรตีนเพียงชนิดเดียวเรียกว่าอะไร และถ้ามีข้อมูลสำหรับสร้างโปรตีนมากกว่าหนึ่งชนิดเรียกว่าอะไร
6. การเหนี่ยวนำร่วมหมายถึงอะไร
7. อธิบายการกดดันการสร้างเอ็นไซม์บนฮีสทิดีนโอเปอรอน
8. Catabolite repression เกิดขึ้นที่ตำแหน่งใดบนโอเปอรอน การเหนี่ยวนำและการกดดันการสร้างเอ็นไซม์เกิดขึ้นที่ตำแหน่งใดบนโอเปอรอน
9. Catabolite repression มีการควบคุมการแสดงออกของยีนในลักษณะเช่นไร
10. แสดงแผนภาพพร้อมคำอธิบายสมมุติฐาน attenuation ที่เกิดบนทริปโตแฟนโอเปอรอน
11. การเรียงตัวของเบสเป็นแบบลักษณะพาลินโดรม มีความสำคัญอย่างไร
12. การเหนี่ยวนำและการกดดันการสร้างเอ็นไซม์ในยูคาริโอทต่างกับในโปรคาริโอทหรือไม่อย่างไร
13. สเตียรอยด์ฮอร์โมนควบคุมการแสดงออกของยีนในยูคาริโอทอย่างไร
14. บอกชื่อนิวคลีโอไทด์ ที่สามารถควบคุมการแสดงออกของยีนในยูคาริโอท
15. บอกหลักการขั้นพื้นฐานของ Britten และ Davidson
16. จากแผนภาพแสดงสมมุติฐานของ Britten-Davidson ให้อธิบายกลไกการควบคุมของยีนในยูคาริโอทตามสมมุติฐานนี้
17. อธิบายการควบคุมการแสดงออกของยูคาริโอทยีนที่ระดับทรานสเลชันในเรติคูโลไซท์