บทที่ 7
กรดนิวคลีอิค

วัตถุประสงค์ เมื่ออ่านบทนี้ตลอดจนทำแบบฝึกหัดแล้ว นักศึกษาจะต้อง

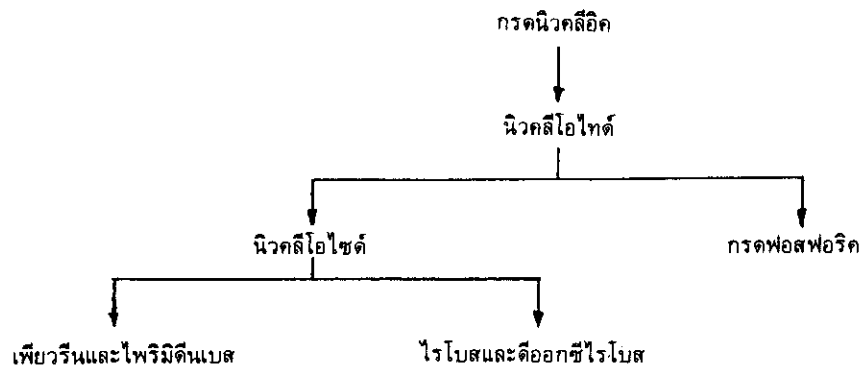
1. เขียนชื่อและตัวย่อของไนโตรเจนเบสทั้งห้าตัวที่พบในกรดนิวคลีอิค
2. บอกความแตกต่างระหว่างส่วนประกอบของ DNA และ RNA ได้
3. เขียนโครงสร้างและชื่อของนิวคลีโอไซด์และนิวคลีโอไทด์ ตลอดจนอธิบายถึงพันธะที่เชื่อมนิวคลีโอไทด์เข้าเป็นกรดนิวคลีอิคได้
4. อธิบายถึงนัยสำคัญของ A = T และ C = G ซึ่งเกี่ยวพันกับการเกิดโครงรูปเกลียวคู่ของ DNA
5. แยกแยะ RNA ออกเป็น mRNA rRNA และ tRNA ได้
6. เปรียบเทียบสภาวะที่ส่งผลกระทบให้กับกรดนิวคลีอิค อันได้แก่อุณหภูมิ กรด ด่าง และสารเคมี
7. แสดงวิธีแยก DNA และ RNA ออกจากกัน
8. เปรียบเทียบ DNA ที่พบในโปรคาริโอท และยูคาริโอทได้
9. อธิบายโครงสร้าง ส่วนประกอบ และการรุกรานเซลล์อื่น ๆ ของไวรัส

ในปี ค.ศ. 1869 Johannes Miescher ชาวเยอรมัน ได้ทำการศึกษานิวเคลียสของเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยเขาสกัดนิวเคลียสด้วยสารละลายเบส แล้วทำให้ส่วนที่สกัดออกมาได้นั้นมีฤทธิ์เป็นกรด ก็จะได้สารชนิดหนึ่งตกตะกอนลงมา จากการวิเคราะห์พบว่า สารนี้จะมีจำนวนคาร์บอน ไนโตรเจน และฟอสฟอรัสอยู่เป็นอัตราส่วนที่แตกต่างไปจากคาร์โบไฮเดรท ไขมัน หรือโปรตีน Miescher ได้ตั้งชื่อสารนี้ว่า นิวคลีอิน (nuclein) เนื่องจากเขาพบสารนี้ในนิวเคลียส ปัจจุบันสารประกอบพวกนี้ได้ถูกเรียกว่ากรดนิวคลีอิค และพบว่ากรดนิวคลีอิคนี้จะมีอยู่ในเซลล์ชนิดที่ไม่มีนิวเคลียสด้วย นั่นก็คือจะสามารถพบกรดนิวคลีอิคได้ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ตั้งแต่ในไวรัสที่มีส่วนประกอบของเซลล์น้อยที่สุดจนถึงในมนุษย์เลยทีเดียว

CM 351 229

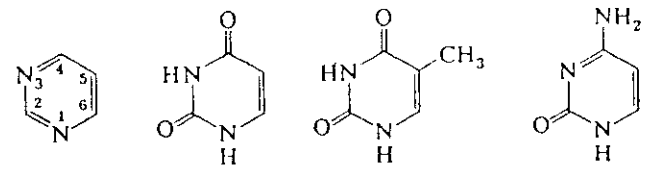
7.1 โครงสร้างของกรดนิวคลีอิค

กรดนิวคลีอิคมี 2 ประเภทใหญ่ คือ กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิค (deoxyribonucleic acid, DNA) และกรดไรโบนิวคลีอิค (ribonucleic acid, RNA) ซึ่งทั้งสองชนิดนี้จะมีส่วนประกอบ 3 ส่วนด้วยกัน คือส่วนที่เป็นไนโตรเจนเบส (nitrogenous base) ซึ่งได้แก่เฮเทโรไซคลิคเอมีน (heterocyclic amine) พวกเพียวรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) ส่วนที่เป็นน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 ตัว ซึ่งได้แก่ น้ำตาลไรโบส หรือ 2 – ดีออกซีไรโบส และส่วนที่เป็นกรดฟอสฟอริค ถ้าไฮโดรไลซ์กรดนิวคลีอิคอย่างไม่รุนแรงนัก จะได้สารพวกนิวคลีโอไทด์ (nucleotides) และนิวคลีโอไซด์ (nucleosides) และถ้าไฮโดร–ไลซ์กรดนิวคลีอิคอย่างสมบูรณ์แล้ว จะได้ส่วนประกอบทั้งสามส่วนแยกออกจากกันเป็นอิสระทั้งหมด ขั้นตอนการไฮโดรไลซ์กรดนิวคลีอิคได้แสดงไว้ในรูปที่ 7 – 1



รูปที่ 7 - 1 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์กรดนิวคลีอิค

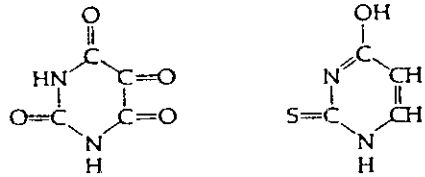
7.1.1 **ไพริมิดีนเบส** ไพริมิดีนเบสที่พบในกรดนิวคลีอิคนั้น จะเป็นอนุพันธ์ของสารประกอบตัวหนึ่งคือไพริมิดีน ซึ่งเป็นวงแหวนหกเหลี่ยมแบบเฮเทโรไซคลิคที่มีไนโตรเจนอยู่ 2 อะตอมในวงแหวนนั้น ในธรรมชาติไพริมิดีนจะไม่เกิดในรูปที่เป็นอิสระ แต่อนุพันธ์ของมันซึ่งได้แก่ ยูราซิล (uracil) ไธมีน (thymine) และไซโตซีน (cytosine) จะพบได้ในกรดนิวคลีอิค รูปที่ 7 – 2 จะแสดงโครงสร้างของไพริมิดีน และอนุพันธ์ของไพริมิดีนที่พบมาก



Pyrimidine | Uracil 2,4 dioxy pyrimidine | Thymine 5 - methyl - 2, 4 - dioxypyrimidine | Cytosine 2 - oxy - 4 amino pyrimidine

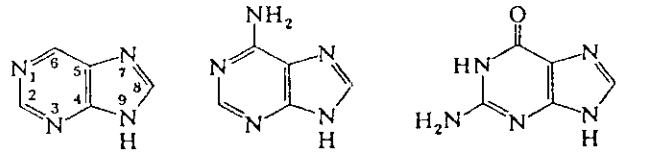
รูปที่ 7 - 2 ไพริมิดีนเบสที่พบทั่ว ๆ ไป

ความสำคัญทางชีววิทยาของไพริมิดีน มิได้จำกัดอยู่เพียงเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิคเท่านั้น แต่ยังมีไพริมิดีนนิวคลีโอไทด์อีกหลายชนิด ที่มีบทบาทสำคัญในขบวนการเมตาบอลิสมของคาร์โบไฮเดรทและลิปิด ไวตามินบีหนึ่งหรือไธอามีน (thiamine) ก็เป็นอนุพันธ์ตัวหนึ่งของไพริมิดีน นอกจากนี้ยังมีไพริมิดีนสังเคราะห์ซึ่งก็มีความสำคัญเช่นกัน ตัวอย่างได้แก่ อัลลอกแซน (Alloxan หรือ 2, 4, 5, 6- tetraoxypyrimidine) อันทำให้เกิดโรคเบาหวานในสัตว์ทดลอง ไธโอยูราซิล (thiouracil) และสารประกอบข้างเคียงซึ่งใช้ในการรักษาโรคไฮเปอร์ไทรอยด์ (hyperthyroidism)



Alloxan | 2 - Thiouracil

7.1.2 เพียวรีนเบส เพียวรีนเบสที่พบในธรรมชาติจะเป็นอนุพันธ์ของเพียวรีน ซึ่งเป็นสารประกอบพวกเฮเทโรไซคลิกเอมีน อันมีวงแหวนไพริมิดีนเชื่อมติดอยู่กับวงแหวนอิมิดาโซล (imidazole ring) เพียวรีนเบสที่เป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิคได้แก่ อดีนีน (adenine) และกัวนีน (guanine) ซึ่งได้แสดงลักษณะโครงสร้างไว้ในรูปที่ 7 – 3



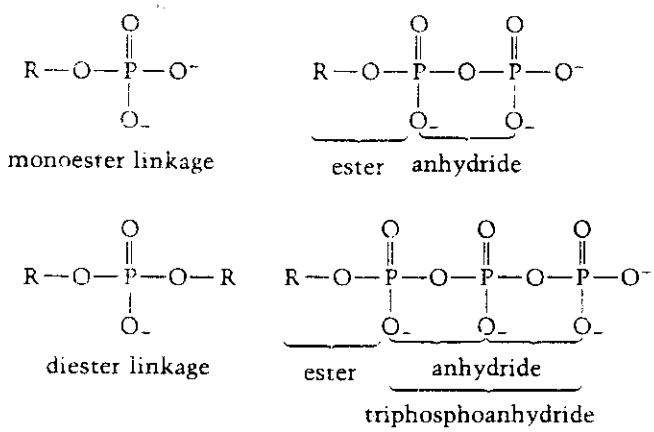
Purine | Adenine (6 - Aminopurine) | Guanine (2 - Amino - 6 - oxypurine)

รูปที่ 7 - 3 เพียวรีนเบสที่พบทั่ว ๆ ไป

CM 351 231

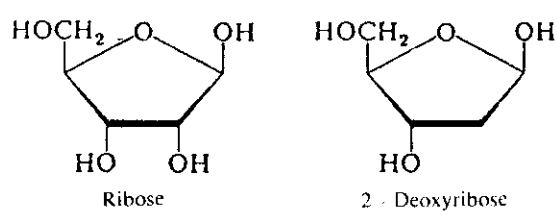
เพียวรีนก็ทำนองเดียวกับไพริมิดีน คือนอกจากจะพบในกรดนิวคลีอิคแล้ว ยังมีอีกหลายชนิดที่พบในที่ต่าง ๆ ด้วย ตัวอย่างเช่น คาเฟอีน (caffein หรือ 1, 3, 7 – trimethylxanthine) พบในกาแฟ ชา และพืชบางชนิด ธีโอโบรมีน (theobromine หรือ 3, 7 – dimethylxanthine) พบในชาโกโก้ และช็อคโกแล็ต เป็นต้น

7.1.3 ฟอสเฟท ฟอสเฟทที่พบในกรดนิวคลีอิค จะอยู่ได้ในรูปแบบที่เป็นส่วนของพันธะโมโนเอสเทอร์ พันธะไดเอสเทอร์ ตลอดจนพันธะระหว่างเอสเทอร์และแอนไฮไดรด์

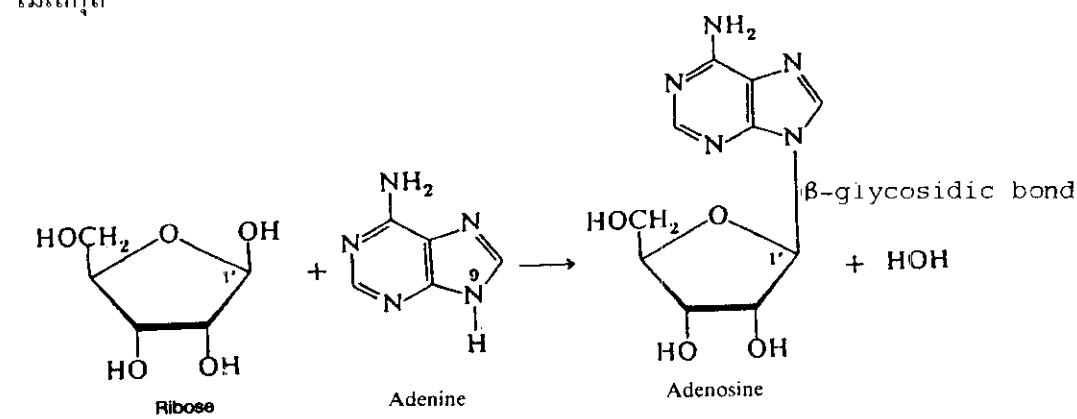


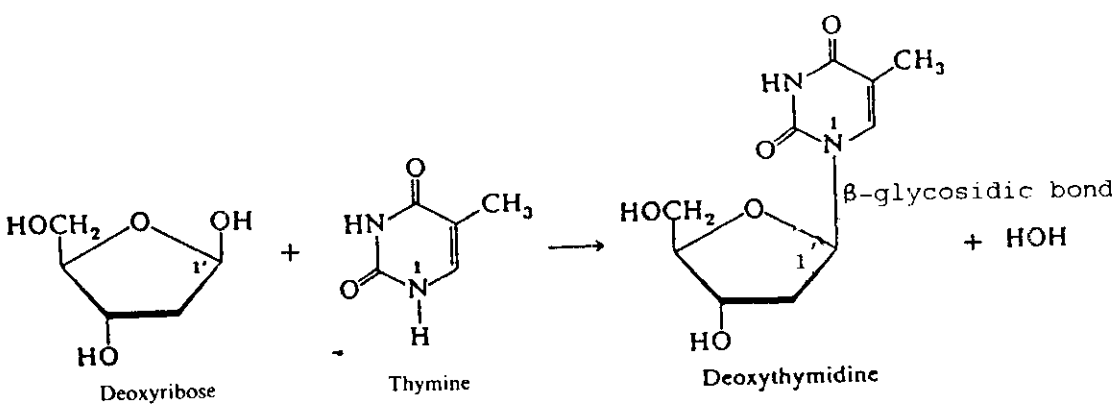
7.2 นิวคลีโอไซด์

เพียวรีนหรือไพริมิดีนเบสสามารถที่จะเกิดการรวมตัวกับโมเลกุลของน้ำตาลเพนโทสได้ แล้วเกิดเป็นสารประกอบชนิดหนึ่งคือนิวคลีโอไซด์โดยที่น้ำตาลเพนโทสนั้น อาจเป็นไรโบสหรือ 2 – ดีออกซีไรโบส ซึ่งอยู่ในรูปของฟูราโนส

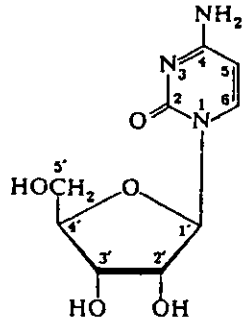
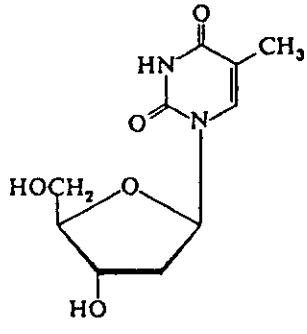
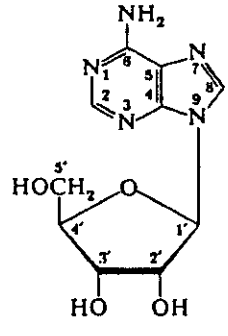
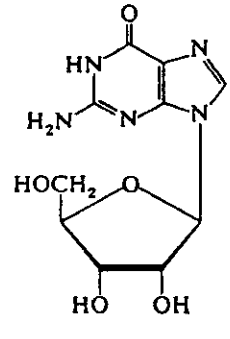


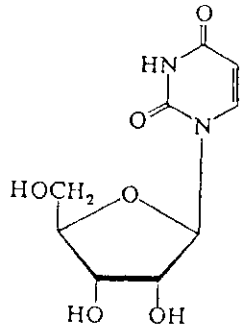
พันธะไกลโคซิล (N - glycosyl linkage) ที่พบในนิวคลีโอไซด์ธรรมชาตินั้น จะเป็นชนิดเบต้าเสมอ โดยพันธะไกลโคซิลจะเกิดระหว่างคาร์บอน 1 ของน้ำตาลและไนโตรเจน 1 ของไพริมิดีนเบส หรือไนโตรเจน 9 ของเพียวรีนเบส ปฏิกิริยาการเกิดนิวคลีโอไซด์นี้ จะมีการสูญเสียน้ำออกไป 1 โมเลกุล





ชื่อสามัญของไรโบนิวคลีโอไซด์มีรากฐานมาจากชื่อของไนโตรเจนเบส และถ้าเป็นดีออกซี-ไรโบนิวคลีโอไซด์ ซึ่งคือไนโตรเจนเบสรวมตัวกับน้ำตาลดีออกซีไรโบสแล้ว ชื่อของสารประกอบก็จะมีคำว่า "ดีออกซี" นำหน้า ตารางที่ 7 – 1 จะแสดงโครงสร้างและชื่อของนิวคลีโอไซด์ที่สำคัญบางชนิด

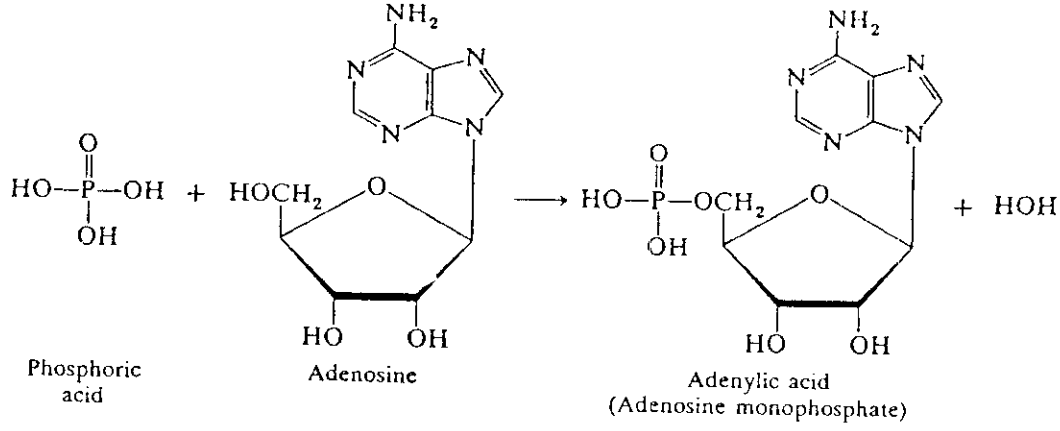
โครงสร้าง	ชื่อ
	Cytidine
	Deoxythymidine
	Adenosine
	Guanosine

โครงสร้าง	ชื่อ
	Uridine

ตารางที่ 7 - 1 โครงสร้างและชื่อของเพียวรีนและไพริมิดีนนิวคลีโอไซด์ ที่สำคัญบางชนิด

7.3 นิวคลีโอไทด์

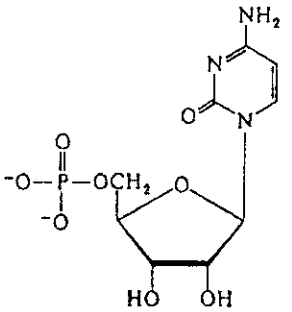
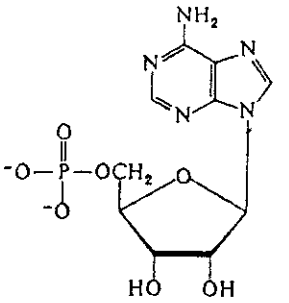
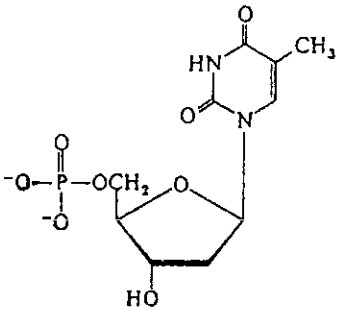
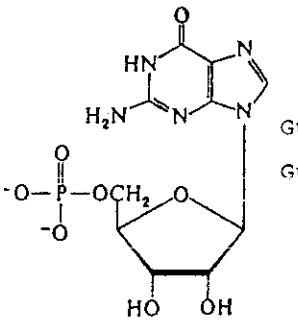
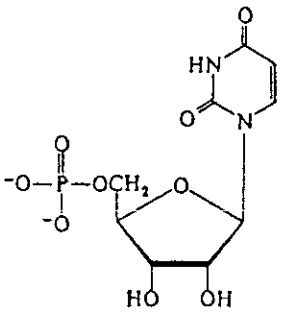
นิวคลีโอไทด์ คือ ฟอสโฟเอสเทอร์ของนิวคลีโอไซด์ ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชั่น (esterification) ของกรดฟอสฟอริค กับหมู่ไฮดรอกซิลอิสระของน้ำตาลเพนโทส



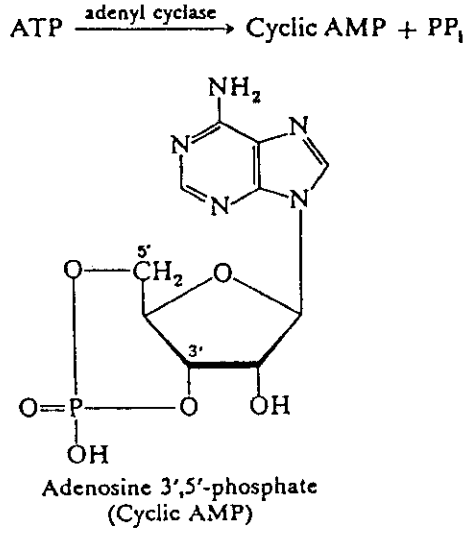
นิวคลีโอไทด์เป็นหน่วยย่อยที่เป็นพื้นฐานของกรดนิวคลีอิค เช่นเดียวกับที่กรดอมิโนเป็นหน่วยย่อยของโปรตีน นอกจากนี้ยังสามารถพบนิวคลีโอไทด์อิสระได้ในเซลล์ทุกชนิดด้วย นิวคลีโอไทด์ตัวที่คุ้นเคยกันมากที่สุดได้แก่ อดีโนซีนโมโนฟอสเฟท (AMP) และอนุพันธ์ของมันอีก 2 ตัว คือ ADP และ ATP การเรียกชื่อนิวคลีโอไทด์ ทำได้ 2 แบบด้วยกันคือเรียกเป็นนิวคลีโอไซด์โมโนฟอสเฟท เช่น กัวโนซีน 5'-โมโนฟอสเฟท (GMP) และดีออกซีกัวโนซีน 5'-โมโนฟอสเฟท

(d GMP) หรือเรียกเป็นกรด เช่น กรดไซทิดีลิค (cytidylic acid, CMP) และกรดดีออกซีไซทิดีลิค (d CMP) ชื่อและโครงสร้างของนิวคลีโอไทด์บางตัว ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 – 2

อดีโนซีนโมโนฟอสเฟทสามารถที่จะถูกเติมหมู่ฟอสเฟท ให้เกิดเป็นอดีโนซีนไดฟ่อสเฟท (ADP) และอดีโนซีนไทรฟ่อสเฟท (ATP) ได้ และ ATP ก็สามารถที่จะถูกเปลี่ยนเป็น cyclic AMP (c AMP) ได้ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์อดีนีเลทไซเคลส (adenylate cyclase หรือ adenyl cyclase) ซึ่งอยู่ที่เยื่อเซลล์ cAMP จะทำหน้าที่เป็นตัวสื่อสารแทนฮอร์โมน โดยจะนำคำสั่งของฮอร์โมนมาจากเยื่อเซลล์ แล้วไปส่งต่อให้กับเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์

โครงสร้าง	ชื่อ	โครงสร้าง	ชื่อ
	Cytidylic acid Cytidine 5'-monophosphate		Adenylic acid Adenosine 5'-monophosphate
	Deoxythymidylic acid Deoxythymidine 5'-monophosphate		Guanylic acid Guanosine 5'-monophosphate
	Uridylic acid Uridine 5'-monophosphate		

ตารางที่ 7 - 2 โครงสร้างและชื่อของนิวคลีโอไทด์บางชนิด

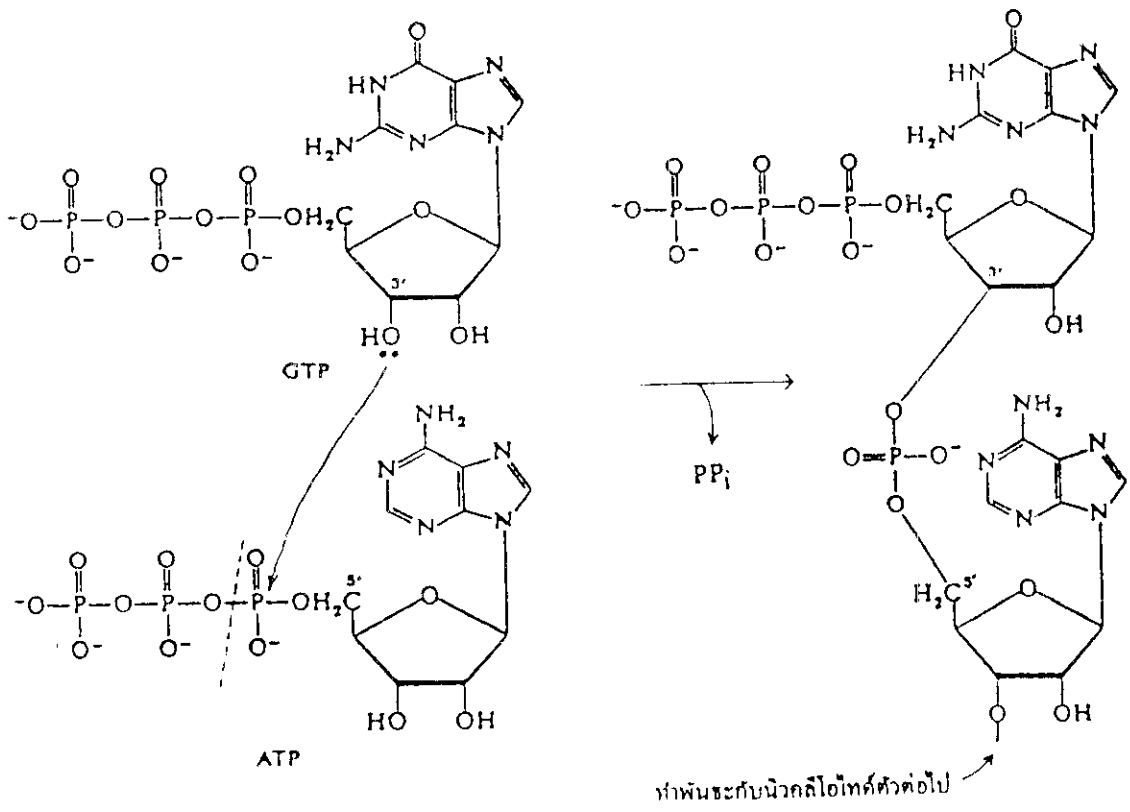


Adenosine 3',5'-phosphate
(Cyclic AMP)

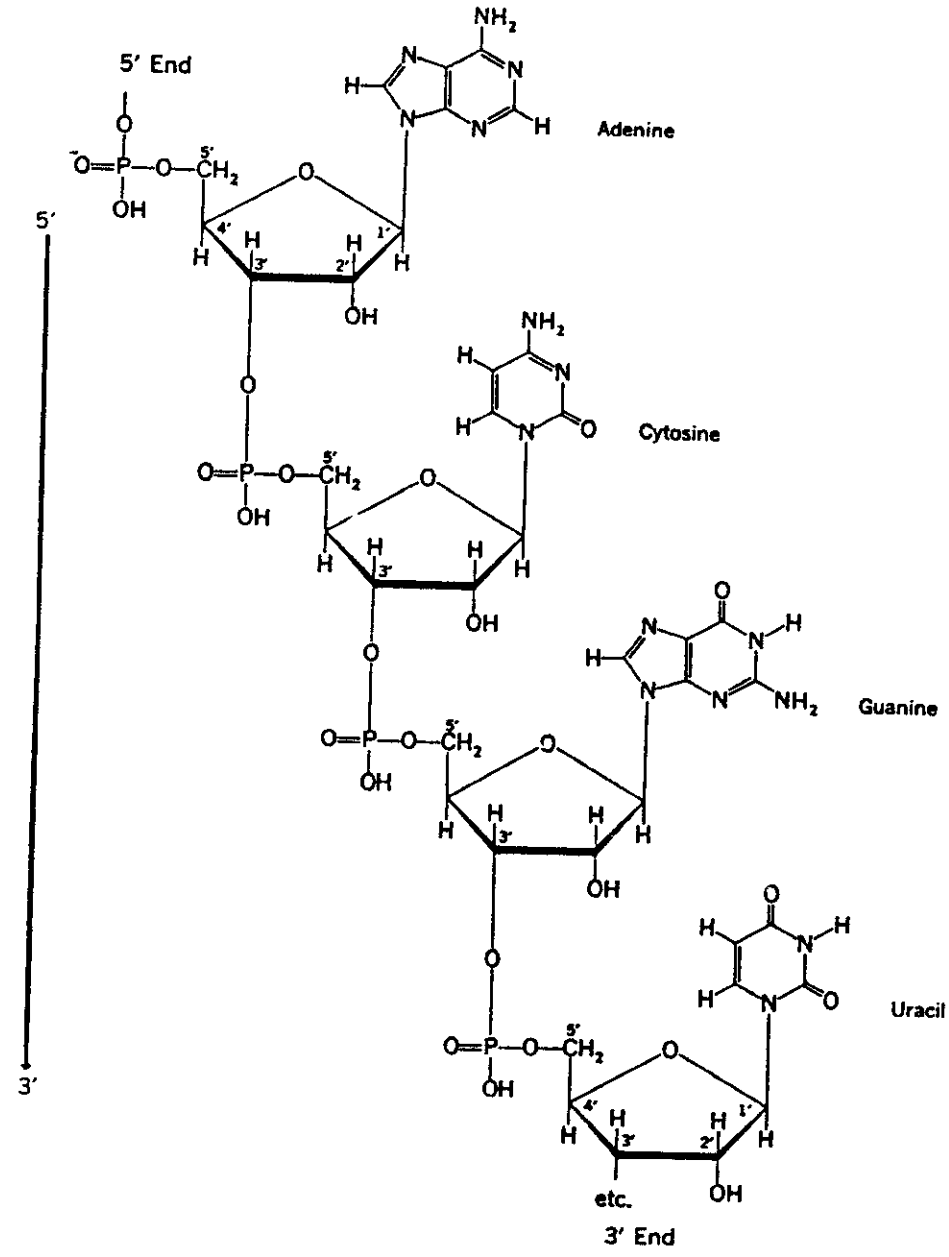
หน้าที่ของ cAMP จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการซึมผ่าน (permeability) ของเยื่อเซลล์ การเคลื่อนที่ของอิออน ตลอดจนการหลั่งของฮอร์โมนอื่น ๆ cAMP รวมทั้ง ADP และ ATP จะไม่พบเป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิคเลย

7.4 นิวคลีโอไทด์โพลีเมอร์

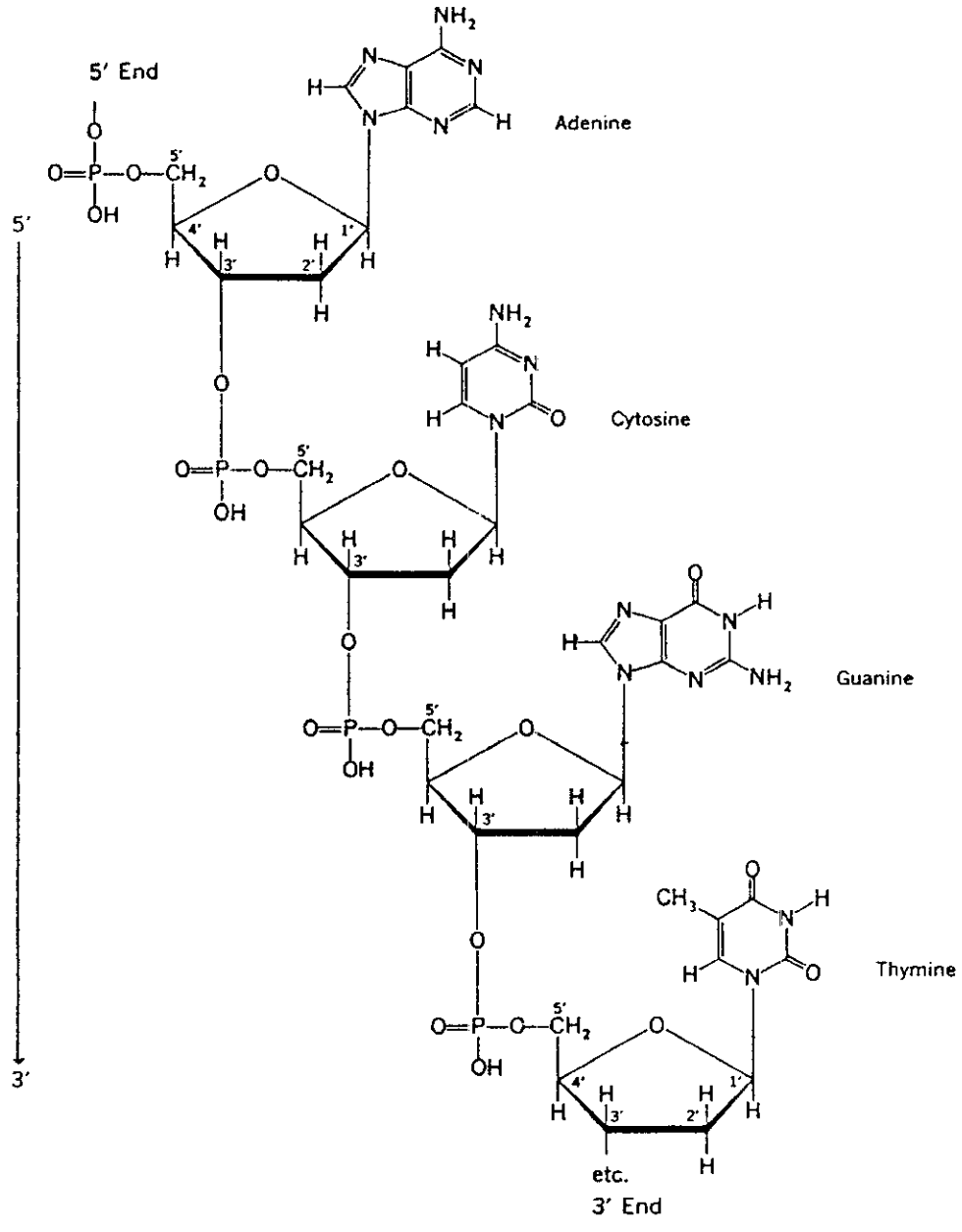
กรดนิวคลีอิคก็คือโพลีเมอร์ของนิวคลีโอไทด์นั่นเอง การสังเคราะห์กรดนิวคลีอิคเกิดโดยการที่นิวคลีโอไซด์ไทรฟอสเฟทมาต่อกันเป็นโพลีเมอร์ โดยจะมีการปล่อยหมู่ไพโรฟอสเฟทออกไป ขบวนการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิคนี้ ต้องอาศัยการทำงานของเอนไซม์ด้วย



ในขณะที่นิวคลีโอไซด์ไทรฟอสเฟทมาต่อกันเพื่อเกิดเป็นกรดนิวคลีอิคขึ้นนั้น จะมีการสร้างพันธะระหว่าง 3′ – ไฮดรอกซิลของโมเลกุลหนึ่ง กับ 5′ – ฟอสเฟทของอีกโมเลกุลหนึ่งที่อยู่ถัดไป การต่อกันเช่นนี้ ทำให้โครงนอกของโมเลกุลกรดนิวคลีอิคเป็นน้ำตาล – ฟอสเฟท โดยที่ทั้งสองส่วนนี้เชื่อมกันอยู่โดยใช้พันธะ 3′,5′- ฟอสโฟไดเอสเทอร์ โครงสร้างของสายโพลีไรโบนิวคลีโอไทด์ที่พบในกรดนิวคลีอิคพวก RNA และสายโพลีดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ที่พบใน DNA แสดงได้ดังรูปที่ 7 – 4



รูปที่ 7 - 4 (ก)



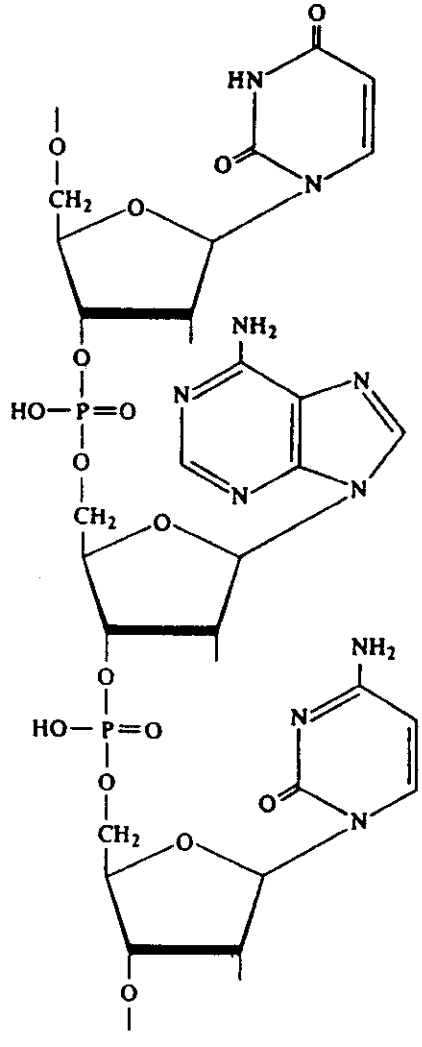
รูปที่ 7 - 4 (ข)

รูปที่ 7 - 4 โครงสร้างของสายโพลีไรโบนิวคลีโอไทด์ (ก) และโครงสร้างของสายดีออกซีไรโบนิวคลีโอ-ไทด์ (ข)

7.5 ระดับโครงสร้างของกรดนิวคลีอิค

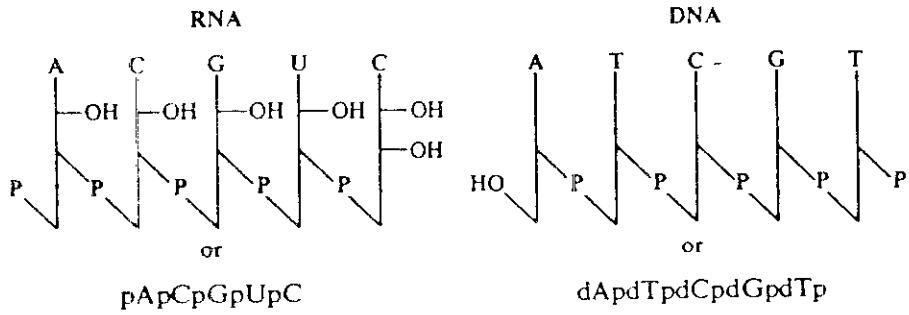
โครงสร้างของกรดนิวคลีอิค แบ่งออกได้เป็น 3 ระดับคือ

7.5.1 **โครงสร้างปฐมภูมิ** (primary structure) เป็นโครงสร้างในระดับที่นิวคลีโอไซด์มาเชื่อมต่อกันเป็นสายยาว โดยใช้พันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ระหว่าง 3′- ไฮดรอกซิลของน้ำตาลตัวหนึ่ง ไปยัง 5′ – ฟอสเฟทของน้ำตาลตัวที่อยู่ถัดไป ดังรูปข้างล่างนี้ ซึ่งจะเห็นได้ว่าสายยาวที่เกิดขึ้น จะเป็นการเรียงสลับระหว่างน้ำตาลและฟอสเฟท โดยที่เบสเพียวรีนหรือไพริมิดีนจะทำพันธะ



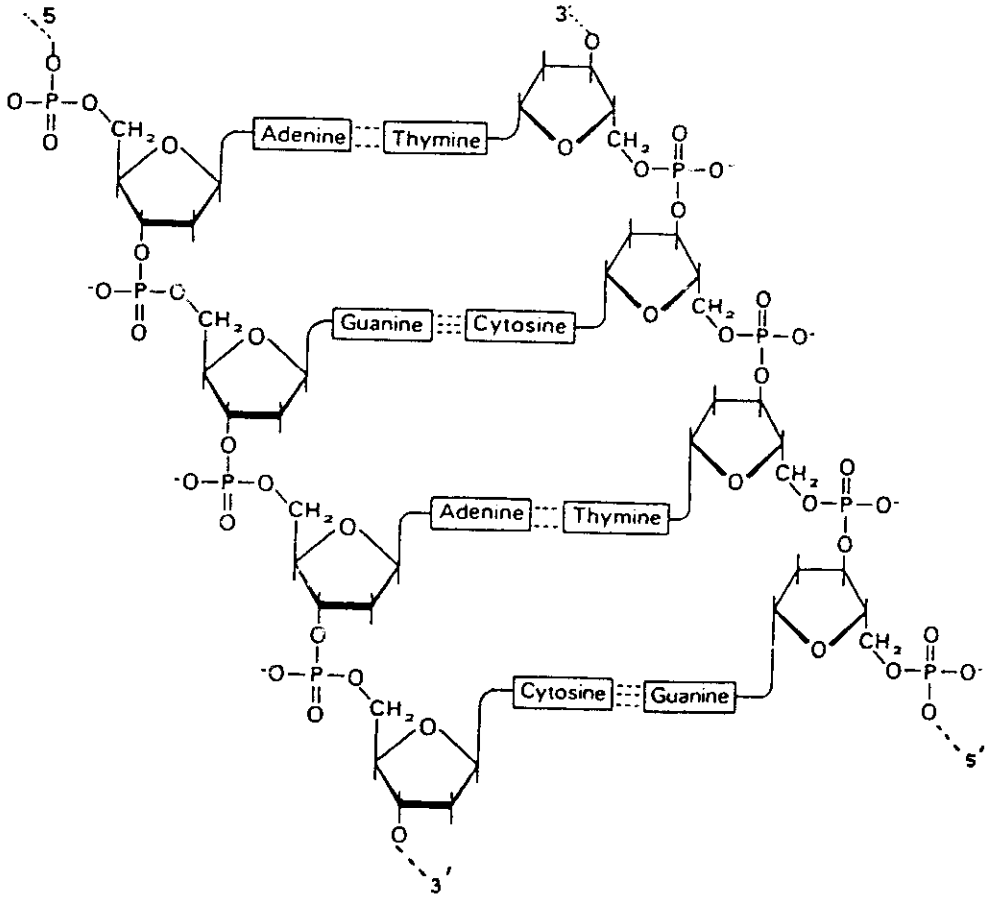
โครงสร้างปฐมภูมิของกรดนิวคลีอิค

ร่วมอยู่กับโครงสร้างน้ำตาลฟอสเฟตนี้ การเขียนโครงสร้างปฐมภูมิ มีวิธีเขียนแบบย่อได้ด้วย ดังแสดง

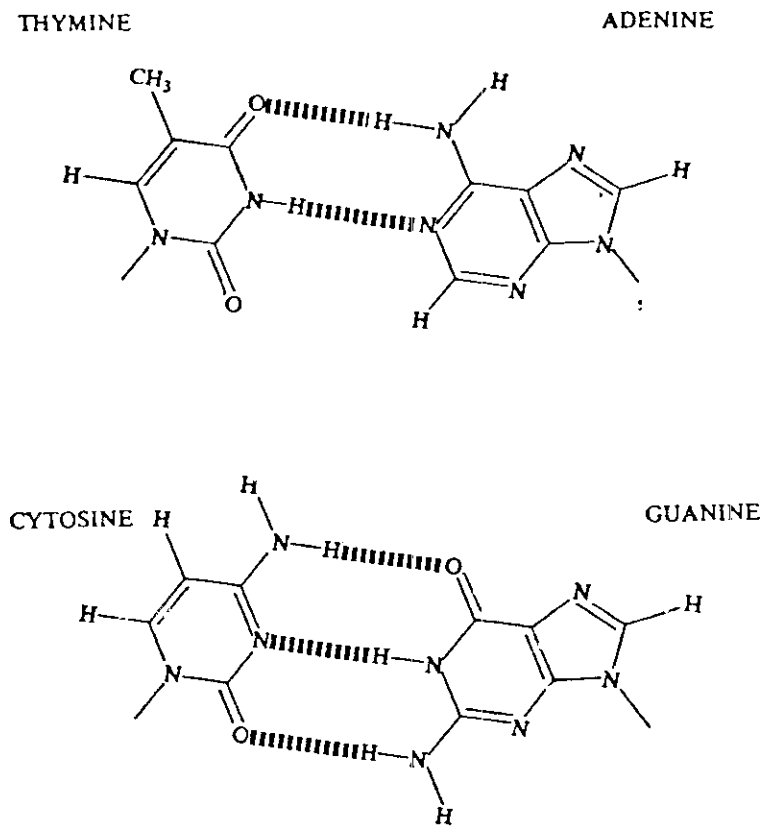


กล่าวคือ จะเขียนปลาย 5′ ไฮดรอกซิล หรือ 5′ ฟอสเฟทไว้ทางซ้ายมือ และปลาย 3′- ฟอสเฟท ไว้ทางขวามือ ในกรณี RNA จะมีการเขียน -OH เอาไว้ด้วย เพื่อให้ทราบว่าน้ำตาลที่พบนั้นเป็น ไรโบสหรือดีออกซีไรโบส ส่วนการเขียนแบบย่ออีกวิธีหนึ่งทำได้โดยใช้ตัวอักษรย่อของเบส เขียนเรียงกัน ไปโดยไม่ต้องเติม โดยมีอักษรพิเศษอีก 2 ตัวเข้ามาเกี่ยวข้องคือ p และ d อักษร p หมายถึงหมู่ฟอสเฟท ส่วน d หมายถึงน้ำตาลชนิดดีออกซีไรโบส ถ้าเขียน p ไว้ข้างหน้าอักษรย่อของเบส เช่น pA หมายความ ว่านิวคลีโอไทด์ตัวนั้นมีหมู่ฟอสเฟทอยู่ที่ตำแหน่ง 5′- ของน้ำตาล แต่ถ้าเขียน p ไว้ข้างหลังอักษรย่อ ของเบสเช่น Ap หมายความว่า หมู่ฟอสเฟทอยู่ที่ตำแหน่ง 3′- ของน้ำตาล

7.5.2 **โครงสร้างทุติยภูมิ** (Secondary Structure) เป็นโครงสร้างในระดับที่ใหญ่ขึ้นคือ หมู่เบสของกรดนิวคลีอิกจะมาอยู่รวมกันเป็นสายคู่ โดยยึดติดกันได้ด้วยพันธะไฮโดรเจน ซึ่งเกิด ระหว่างคู่ของเบสที่มีความสอดคล้องกัน กล่าวคือเบสอดีนีนจะทำพันธะไฮโดรเจน 2 พันธะได้กับ เบสไธมีนหรือยูราซิล และเบสกัวนีนจะทำพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะได้กับเบสไซโตซีน พันธะ ไฮโดรเจนนี้จะเกิดระหว่างคู่ของอิเล็กตรอนของหมู่คีโตหรือไนโตรเจนในวงแหวนของเบสตัวหนึ่ง กับไฮโดรเจนอะตอมที่ติดอยู่กับไนโตรเจนของวงแหวนหรือหมู่อะมิโนของเบสอีกตัวหนึ่ง

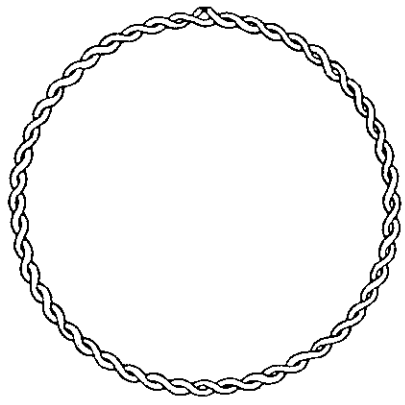


โครงสร้างทุติยภูมิของกรดนิวคลีอิค

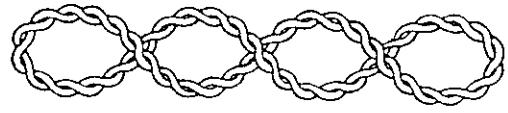


การจับคู่ระหว่างเบสที่สอดคล้องกันโดยใช้พันธะไฮโดรเจน

7.5.3 โครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) เป็นโครงสร้างที่กรดนิวคลีอิค 2 สายมาจับคู่กันแล้วเกิดการบิดตัวหรืองอตัวขึ้นได้ ทำให้เกิดเป็นรูปร่างต่าง ๆ ขึ้น เช่น พบว่า DNA ในบักเตรี ไมโตคอนเดรีย คลอโรพลาสต์ และไวรัสบางชนิด จะอยู่ในรูปที่เป็นสายคู่วงปิด และในบางครั้งยังพบรูปร่างที่ม้วนตัวเป็นเกลียว หรืออยู่รวมกันเป็นกลุ่มก้อนที่มีลักษณะขดไปมาไม่แน่นอน เช่น ในโครโมโซมของยูคาริโอทอีกด้วย



DNA วงปิดรูปวงกลม



DNA วงปิดที่ม้วนตัวเป็นเกลียว

7.6 กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิค

DNA เป็นกรดนิวคลีอิคชนิดที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ และส่วนมากจะพบในนิวเคลียสของเซลล์ สำหรับส่วนน้อยจะพบในคลอโรพลาสต์และไมโตคอนเดรีย DNA จะพบในสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิด ยกเว้นไวรัสบางประเภทเท่านั้นที่จะมี RNA แทน

DNA เป็นกรดนิวคลีอิคที่มีสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายพันกันอยู่โดยที่สายทั้งสองจะยึดเหนี่ยวกันอยู่ได้โดยใช้พันธะไฮโดรเจน ซึ่งเกิดระหว่างคู่ของเบสที่เฉพาะเจาะจง กล่าวคืออดีนีนจะทำพันธะกับไธมีนโดยใช้ 2 พันธะไฮโดรเจน และกัวนีนจะทำพันธะกับไซโตซีนโดยใช้ 3 พันธะไฮโดรเจน

7.6.1 กฎของชาร์กาฟ (Chargaff's rule) E. Chargaff และคณะได้ทำการศึกษา DNA จากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ และพบว่า DNA เหล่านั้นจะมีลักษณะบางประการที่เหมือนกัน จากข้อมูลนี้เองที่ทำให้วัตสันและคริค (Watson และ Crick) ใช้เป็นแนวทางในการหาโครงสร้างของ DNA ต่อมาได้ การค้นพบของชาร์กาฟ ในปัจจุบันเป็นที่รู้จักกันในชื่อว่า "กฎของชาร์กาฟ" ซึ่งมีใจความสรุปได้ดังนี้

1. ส่วนประกอบของเบสใน DNA ที่พบในเซลล์ร่างกายที่ไม่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ทั้งหมดจะต้องมีจำนวนคงที่เสมอ และคุณสมบัตินี้จะเป็นลักษณะเฉพาะตัวของสัตว์แต่ละสปีชีส์ (species)

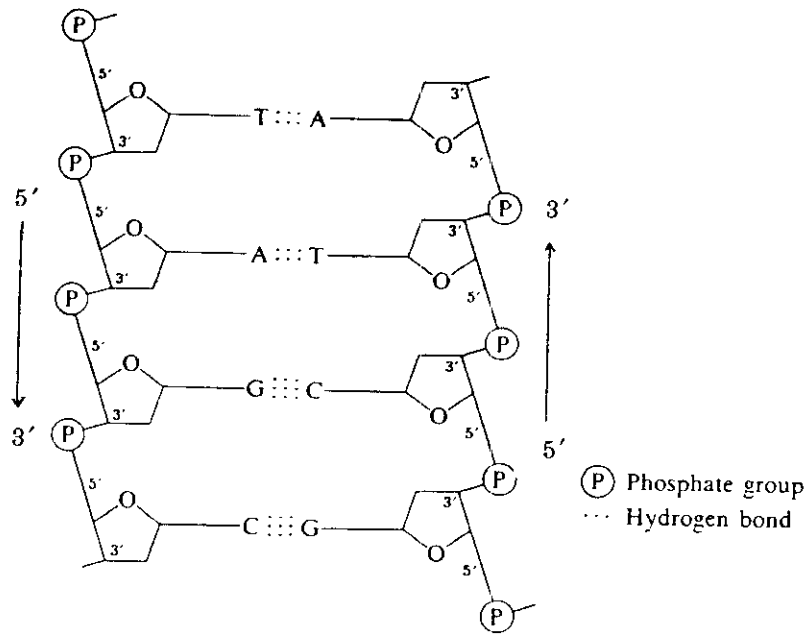
2. อัตราส่วน $\frac{A + T}{C + G}$ ในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีค่าแตกต่างกันไป

ไปทางขวา และสายทั้งสองนี้จะวิ่งสวนทางกัน

2. เพียวรีนและไพริมิดีนเบสจะอยู่ภายในเกลียวคู่ ส่วนน้ำตาลและฟอสเฟทจะอยู่ข้างนอก

3. ระนาบของเบสจะตั้งฉากกับแกนของเกลียวคู่ และระนาบของน้ำตาลจะทำมุม 90° กับเบส

4. เส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียวคู่จะเท่ากับ 20 A° ส่วนเบสแต่ละตัวจะอยู่ห่างกัน 3.4 A° ช่วงเกลียวแต่ละช่วงจะมีเบส 10 ตัว นั่นคือแต่ละช่วงจะยาว 34 A°



CM 351

3. สิ่งมีชีวิตชนิดใกล้เคียงกัน จะมีส่วนประกอบของเบสเหมือน ๆ กันและมีค่า $\frac{A+T}{C+G}$ ใกล้เคียงกันด้วย

4. ในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง ๆ จำนวนอดีนีนใน DNA จะเท่ากันกับจำนวนของไธมีน (A = T) เสมอ

5. ในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง ๆ จำนวนกัวนีนใน DNA จะเท่ากับจำนวนของไซโตซีน (G = C) เสมอ

6. ในสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่ง ๆ จำนวนเพียวรีนเบสทั้งหมดจะเท่ากับจำนวนไพริมิดีนเบสทั้งหมด (A + G = T + C) ตารางที่ 7-3 จะแสดงถึงส่วนประกอบของ DNA ที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ กัน

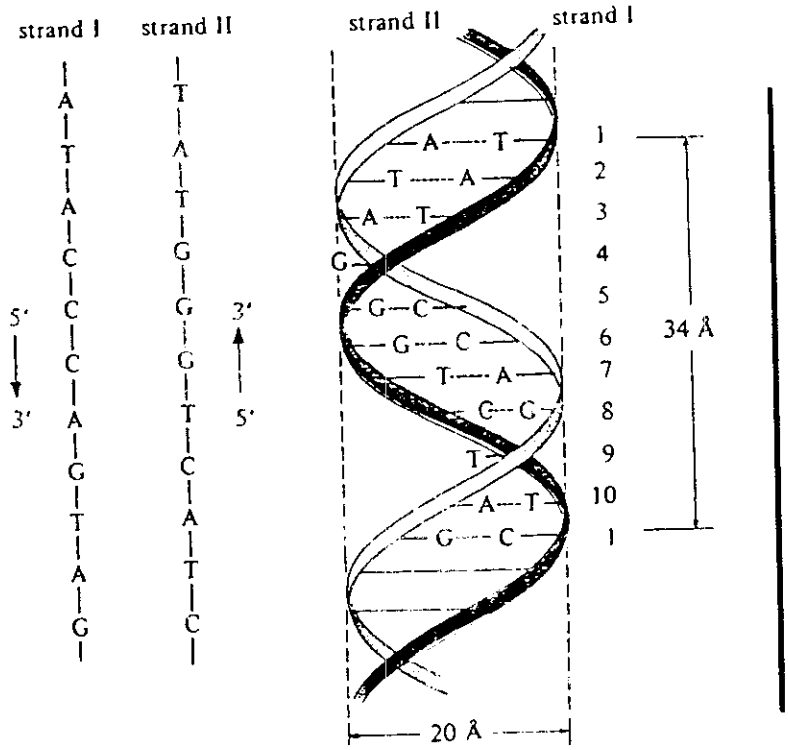
Source	A	G	C	T	$\frac{A+T}{G+C}$	$\frac{A}{T}$	$\frac{G}{C}$
Man	30.9	19.9	19.8	29.4	1.52	1.05	1.00
Calf	29.0	21.2	21.2	28.5	1.35	1.01	1.00
Hen	28.8	20.5	21.5	29.2	1.39	0.99	0.95
Salmon	29.7	20.8	20.4	29.1	1.42	1.02	1.02
Yeast	31.3	18.7	17.1	32.9	1.79	0.95	1.09
E. coli	24.7	26.0	25.7	23.6	0.93	1.04	1.01

ตารางที่ 7 - 3 ตารางแสดงจำนวนของส่วนประกอบที่เป็นเบสของ DNA *ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ*

7.6.2 โมเดลแบบวัตสัน - คริคของ DNA การค้นพบของชาร์กาฟ ได้ชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์บางประการระหว่างเพียวรีนและไพริมิดีนเบสของ DNA กล่าวคือ อดีนีนจะต้องจับคู่กับไธมีน และกัวนีนจะต้องจับคู่กับไซโตซีนเสมอ ในช่วงเวลาเดียวกับที่ชาร์กาฟ ตีพิมพ์ผลงาน (ค.ศ. 1950 – 1953) นั้น วิลกินส์ (M. Wilkins) ก็ได้ทำการทดลองโดยใช้เทคนิคของ x-ray diffraction พบว่าผลึก DNA จะมีช่วงที่ซ้ำ ๆ กันทุก 34 A° และจะมีเบส 10 หน่วยย่อยต่อหนึ่งช่วงนั้น นั่นก็คือเบสแต่ละตัวจะห่างกัน 3.4 A° จากข้อมูลทั้งของชาร์กาฟและวิลกินส์นี้เอง ที่นำไปสู่โมเดลแบบวัตสัน – คริคของ DNA ในปี ค.ศ. 1953 และวัตสัน คริคและวิลกินส์ได้รับรางวัลโนเบลในปี ค.ศ. 1962

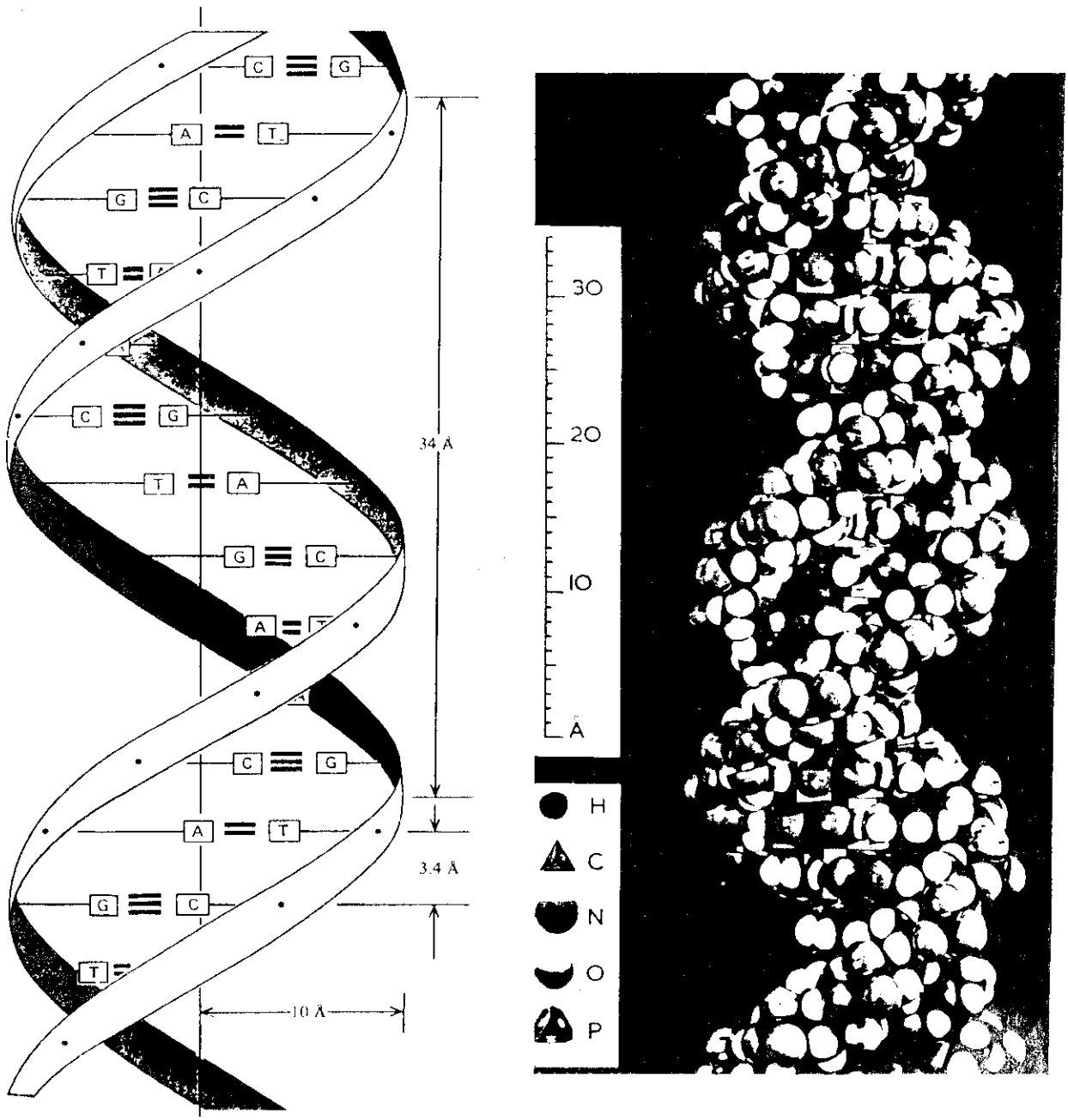
โมเดลแบบวัตสัน – คริค ของ DNA มีใจความสรุปได้ดังนี้ คือ

1. DNA ประกอบขึ้นด้วยโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายพันกันอยู่ในลักษณะเป็นเกลียวคู่ที่เวียน



โมเดลแบบวัตสัน - คริคของ DNA

CM 351 249



โมเดลแบบวัตสัน - คริคของ DNA

5. สายทั้งสองของ DNA จะยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างเบส โดยที่อดีนีนจะจับคู่กับไธมีนโดยใช้ 2 พันธะไฮโดรเจน และกัวนีนจะจับคู่กับไซโตซีนโดยใช้ 3 พันธะไฮโดรเจน เพียวรีนเบสจะไม่จับคู่กันเอง เพราะจะใหญ่เกินกว่าที่จะบรรจุลงไปในเนื้อที่ว่างระหว่างเกลียวคู่ได้ ส่วนไพริมิดีนเบสก็จะไม่จับคู่กันเองเพราะมีขนาดเล็ก และจะทำให้เบสทั้งคู่อยู่ไกลกันเกินกว่าที่จะทำพันธะไฮโดรเจนซึ่งกันและกันได้

6. ส่วนที่เป็นตัวเปลี่ยนแปลงของสายโพลีนิวคลีโอไทด์ ก็คือส่วนเบส โดยการเรียงลำดับของเบสนี้จะเป็นรหัสทางพันธุกรรม ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน

หมู่ฟอสเฟทของ DNA มี pK ค่อนข้างต่ำและจะแตกตัวเต็มที่ที่ pH 4 DNAจึงจัดเป็นโมเลกุลที่เป็นกรดแก่ และคู่ของเบสที่ทำพันธะไฮโดรเจนกันอยู่นั้น จะมีเสถียรภาพมากที่สุดที่ pH ระหว่าง 4.0 – 11.0

DNA ได้ถูกค้นพบครั้งแรกในนิวเคลียสในปี ค.ศ. 1869 โดย F. Miescher ต่อมาในปี ค.ศ. 1928 F. Griffith ได้ทำการทดลองโดยใช้บักเตรี pneumococcus อันทำให้เกิดโรคปอดบวม 2 strain คือ virulent strain ซึ่งมีโคโลนีผิวหน้าเรียบ (smooth colonies, S) กับ avirulent strain ซึ่งมีโคโลนีผิวหน้าขรุขระ (rough colony, R) S cellของบักเตรีนี้จะทำให้เกิดการติดเชื้อได้ ส่วน R cell จะไม่มีอันตรายแต่อย่างใด

เขานำเอา R cell ฉีดเข้าไปในหนู พบว่าหนูยังคงมีชีวิตอยู่ ต่อไปก็ฉีด S cell ชนิดที่ทำให้หมดสภาพแล้วโดยใช้ความร้อน (heat - killed S cell) เข้าไปในหนู พบว่าหนูก็ยังคงมีชีวิตอยู่เช่นเดิม จากนี้ Griffith ได้ใช้สารผสมระหว่าง heat - killed S cell + R cell ที่มีสภาพปกติฉีดเข้าไปในหนูอีกครั้ง ครั้งนี้พบว่าหนูนั้นตาย และสามารถสกัดเอา S cell ที่มีสภาพปกติออกมาเพาะเลี้ยงได้ แสดงว่า R cell ที่มีชีวิตได้เปลี่ยนแปลง (transform) ไปเป็น S cell โดยใช้ส่วนประกอบที่คงทนต่อความร้อนที่มีใน heat - killed S cell นั้น นอกจากนี้ยังพบอีกว่า การเปลี่ยนแปลงจาก R cell ไปเป็น S cell นี้จะถาวรและถ่ายทอดไปสู่ลูกหลานได้หลาย ๆ ชั่วอายุ คือพบว่าลูกหลานที่เพาะเลี้ยงเกิดขึ้นมาใหม่ ก็จะเป็น S cell ทั้งนั้นต่อมาในปี ค.ศ. 1940 O.T. Avery และผู้ร่วมงานได้พบว่า ตัวที่เปลี่ยนแปลงนั้นคือ DNA นั่นคือ DNA เป็นตัวเก็บและถ่ายทอดข้อความทางพันธุกรรม (genetic information) ซึ่งข้อสนับสนุน Avery นี้มีมาจากทางชีวเคมีด้วย คือพบว่าจำนวน DNA ในสิ่งมีชีวิตแต่ละสปีชีส์จะมีอยู่คงตัว และไม่เปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อม อีกประการก็คือ จำนวนของ DNA ในเซลล์จะเป็นสัดส่วนกับความซับซ้อนของเซลล์ คือจำนวน DNA จะขึ้นกับจำนวนข้อความทางพันธุกรรมที่มีอยู่ในเซลล์ ข้อความทางพันธุกรรมนี้จะถูกส่งจาก DNA ผ่านไปยัง RNA แล้วไปยังโปรตีนต่อไป

251

CM 351

ที่มีอยู่ในเซลล์ ข้อความทางพันธุกรรมนี้จะถูกส่งจาก DNA ผ่านไปยัง RNA แล้วไปยังโปรตีนต่อไป

7.7 กรดไรโบนิวคลีอิค

RNA เป็นกรดนิวคลีอิคประเภทสายเดี่ยว (single strand) ที่ประกอบขึ้นจากส่วนใหญ่ ๆ 3 ส่วน คือ ไนโตรเจนเบส น้ำตาล และฟอสเฟทเช่นเดียวกับ DNA แต่สิ่งที่แตกต่างกัน คือ

1. น้ำตาลที่พบใน RNA จะเป็นชนิดไรโบส มิใช่ดีออกซีไรโบสเหมือนใน DNA

2. RNA จะมีเบสยูราซิล (uracil, U) แทนไธมีน

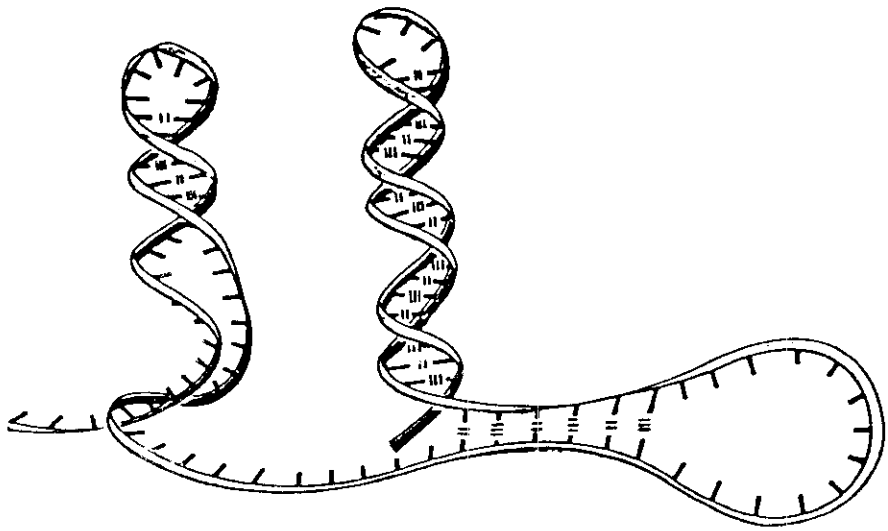
RNA ที่พบในธรรมชาติมี 3 ชนิดใหญ่ ซึ่งจะมีหน้าที่แตกต่างกันไป นอกจากนี้ความยาวของสาย น้ำหนักโมเลกุล และจำนวนที่มีในเซลล์ ก็จะแตกต่างกันด้วย ดังแสดงในตารางที่ 7 – 4

ชนิดของ RNA	ปริมาณ (%)	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย	จำนวนนิวคลีโอไทด์โดยประมาณ
Messenger RNA (mRNA)	5	4×10^5	1200
Transfer RNA (tRNA)	15	3×10^4	75
Ribosomal RNA (rRNA)	80	6×10^5	1800

ตารางที่ 7 - 4 ตารางแสดงจำนวน น้ำหนักโมเลกุล และความยาวของ RNA *ที่พบใน* E. coli

โมเลกุลของ RNA เป็นสายเดี่ยว ยกเว้นในไวรัสบางชนิด แต่อย่างไรก็ดี RNA โมเลกุลก็มีบางตอนที่เป็นลักษณะเกลียวคู่ ซึ่งเรียกว่าเกิด hairpin loop ขึ้น

ในบริเวณนี้ A จะจับคู่กับ U ส่วน G นอกจากจะจับคู่กับ C แล้ว ยังจับกับ U ได้ด้วย แต่คู่ของ เบส G - U จะมีพันธะที่แข็งแรงน้อยกว่า G - C



การจับคู่ของเบสใน hairpin loop มักจะไม่ค่อยสมบูรณ์ และจำนวนของบริเวณที่เป็นเกลียวคู่ใน RNA แต่ละชนิดจะไม่เท่ากัน โดยที่ส่วนใหญ่จะมีประมาณ 50%

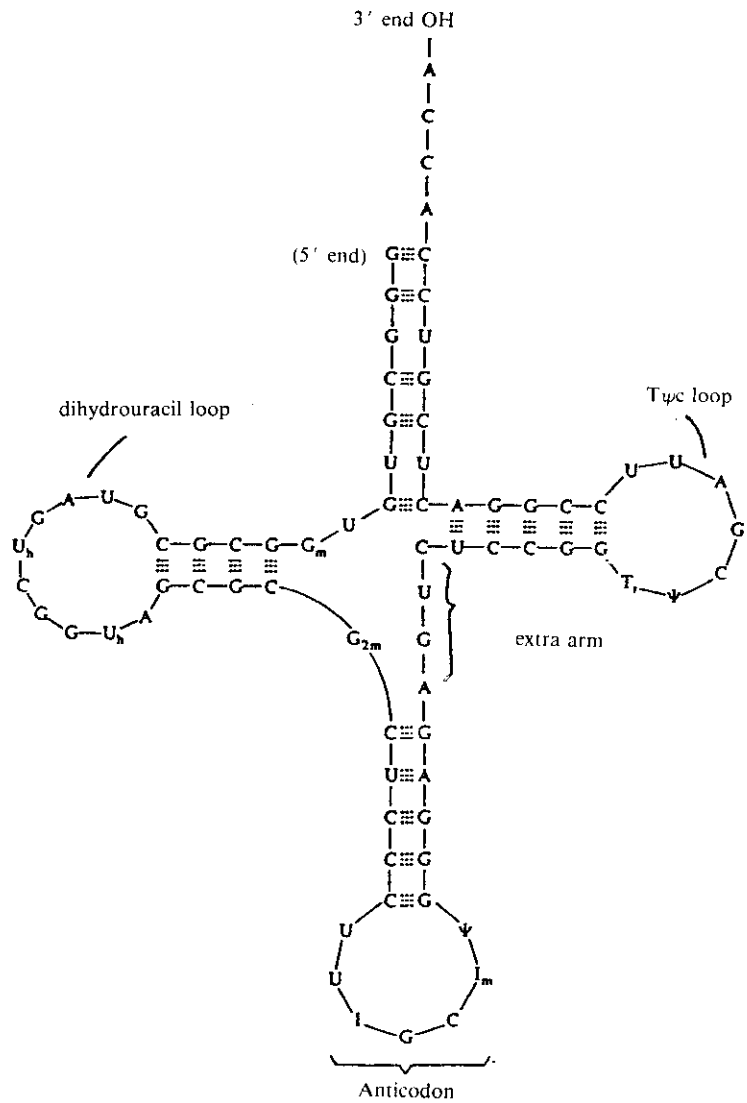
7.7.1 messenger RNA (m RNA) มีอยู่ในเซลล์เป็นจำนวนน้อยมาก และจะมี turn-over rate สูงคือ เมื่อถูกสังเคราะห์ขึ้นมาแล้ว จะมีอายุอยู่ได้ไม่นานนักแล้วก็ถูกทำลายไป mRNA จะถูกสังเคราะห์ขึ้นในนิวเคลียสของเซลล์โดยใช้ DNA เป็นแม่พิมพ์จากนั้นจะเคลื่อนตัวออกมายังไซโตปลาสม แล้วไปที่ไรโบโซมเพื่อทำหน้าที่ในการสังเคราะห์โปรตีนต่อไป

7.7.2 ribosomal RNA (rRNA) เป็นกรดไรโบนิวคลีอิคชนิดที่มีมากที่สุดในเซลล์ rRNA เป็นส่วนประกอบของโรไบโซมซึ่งอยู่ในไซโตปลาสม โดยที่ไรโบโซมประกอบขึ้นด้วย 60% rRNA และ 40% โปรตีน โรโบโซมนี้จะเป็นสถานที่ที่ทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนขึ้น

7.7.3 transfer RNA (tRNA) เป็น RNA ชนิดที่เล็กที่สุด หน้าที่ของ tRNA ก็คือเป็นตัวที่จะนำเอากรดอมิโนไปยังไรโบโซม เพื่อให้เกิดการสร้างสายโปรตีนขึ้น โดยจะมี tRNA อย่างน้อยที่สุด 1 ตัว ต่อกรดอมิโนแต่ละชนิด ลักษณะทั่ว ๆ ไปของ tRNA จะมีดังนี้คือ

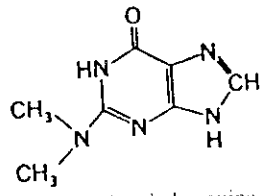
1. tRNA เป็นโพลีนิวคลีโอไทด์สายเดี่ยว ประกอบด้วย 73 – 93 ไรโบนิวคลีโอไทด์ และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25,000 ดาลตัน

CM 351 253

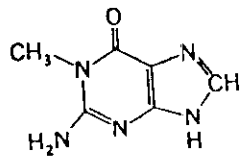


Transfer RNA (tRNA)

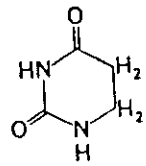
2. มีเบสที่พบน้อยในกรดนิวคลีอิค (rare base) อยู่ประมาณ 7 – 15 ตัวต่อโมเลกุล เบสพวกนี้เป็นอนุพันธ์ของ A, U, C และ G ที่ถูกเติมหมู่เมธิลหรือไดเมธิล ตัวอย่างของเบสพวกนี้เช่น ไดเมธิล–กัวนีน (G_{2m}) เมธิลกัวนีน (G_m) ไดไฮโดรยูราซิล (U_h) ซูโดยูริดีน (pseudouridine, ψ) เป็นต้น



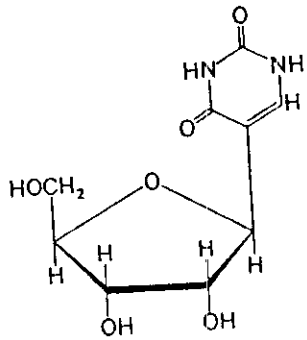
N^2 - Dimethyl guanine



1 - Methyl guanine



Dihydrouracil



Pseudouridine

หน้าที่ของเบสพวกนี้ เนื่องจากถูกเติมเมธิล ดังนั้นก็จะไม่เกิดการจับคู่ของเบสตามปกติ ซึ่งทำให้เบสเหล่านี้สามารถไปเกิดปฏิกิริยาอื่น ๆ ได้

3. ปลาย 5′ ของ t RNA จะมีหมู่ฟอสเฟท โดยที่เบสตัวสุดท้ายทางปลายนี้มักจะเป็นกัวนีน

4. ลำดับของเบสทางปลาย 3′ ของ t RNA จะเป็น CCA เสมอ

5. ประมาณครึ่งหนึ่งของนิวคลีโอไทด์ใน t RNA จะเกิดการจับคู่กันและมีลักษณะของเกลียวคู่เกิดขึ้น เบสที่ไม่จับคู่มีอยู่ 5 หมู่ คือ

ก. CCA ที่ปลาย 3′

ข. TψC loop ซึ่งได้ชื่อมาจากลำดับของเบส ไธมีน – ซูโดยูราซิล – ไซโตซีนที่พบใน loop นี้

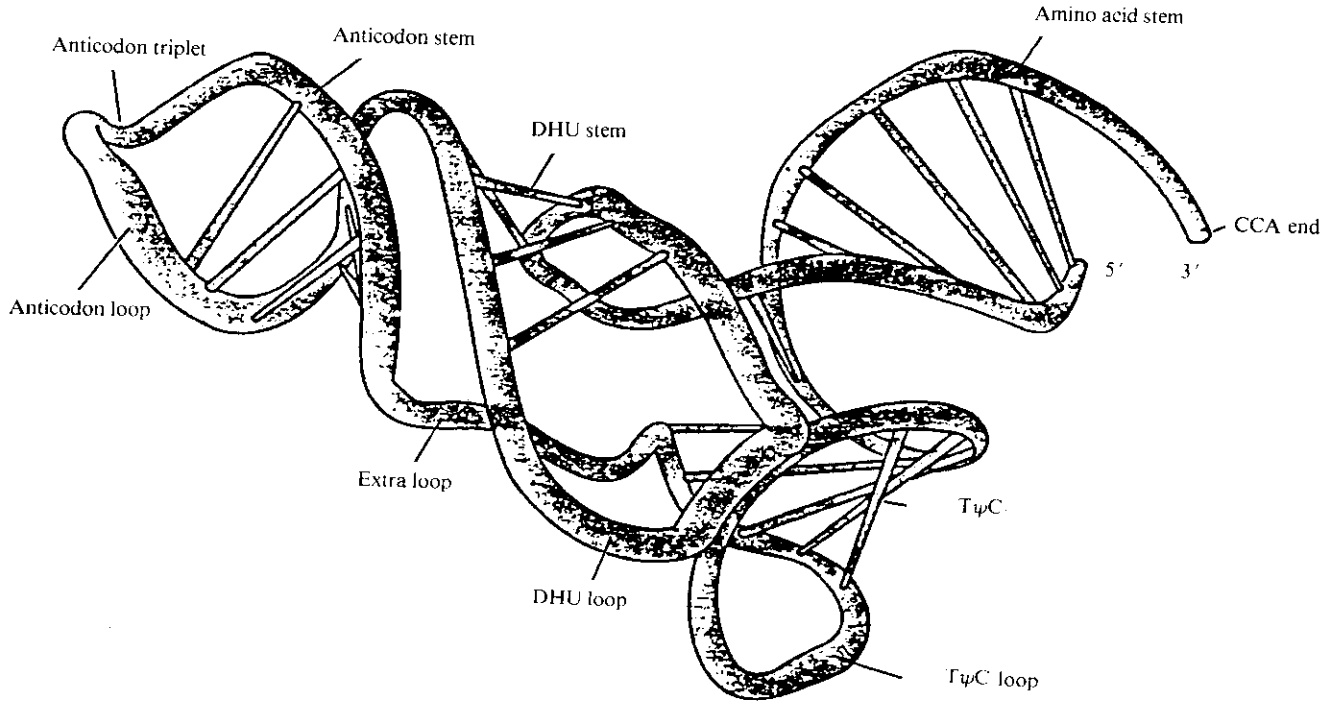
ค. extra arm ซึ่งประกอบด้วยเบสจำนวนไม่คงที่

ง. dihydrouracil loop (DHU loop) ซึ่งประกอบด้วยไดไฮโดรยูราซิลหลายตัว

จ. anticodon loop ประกอบด้วยเบส 7 ตัว ซึ่งมีการเรียงลำดับดังนี้

5′- ไพริมิดีน – ไพริมิดีน —X—Y—Z— เพียวรีนดัดแปลง – เบสตัวใดก็ได้ -3′
แอนไทโคดอน

6. แอนไทโคดอนซึ่งคือเบส 3 ตัว ใน anticodon loop ของ tRNA นี้จะเข้าคู่ได้กับโคดอน (codon) ซึ่งคือหมู่ของเบส 3 ตัวบน mRNA

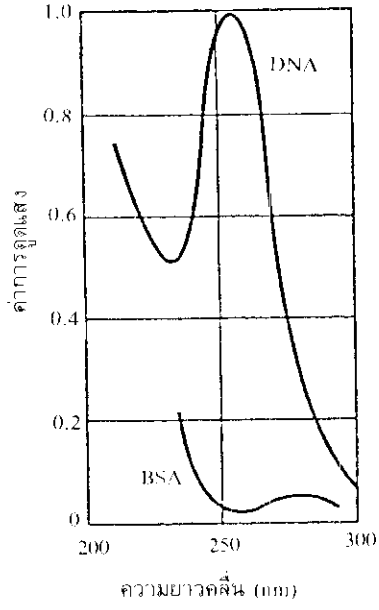


โครงสร้างดติยภูมิของ tRNA

7.8 คุณสมบัติของกรดนิวคลีอิค

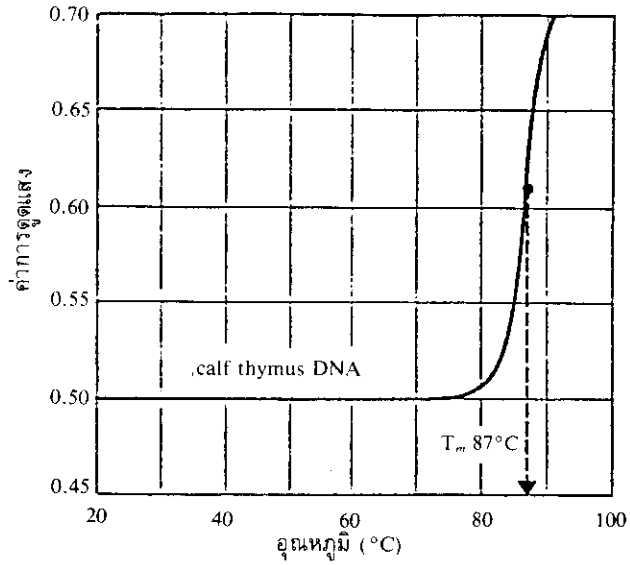
1. เพียวรีนและไพริมิดีนเบสในกรดนิวคลีอิค สามารถที่จะดูดแสงอุลตราไวโอเลตได้ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร คุณสมบัติข้อนี้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ในการหาปริมาณของเบส, นิวคลีโอไทด์ หรือกรดนิวคลีอิคได้ (รูปที่ 7–5) แต่อย่างไรก็ดี ได้มีการพบว่า DNA จะมีค่า OD_{260} (optical density ที่ 260 nm) เป็นเพียงประมาณ 60–65% ของค่า OD ที่จะได้ ถ้านำเอาเบสแต่ละตัวใน DNA นั้นมาดูดแสงที่ความยาวคลื่นนี้ ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า hypochromic effect ซึ่งเกิดขึ้นจากการที่ DNA มีลักษณะเป็นสายเกลียวคู่พันกันอยู่ ดังนั้น จึงทำให้เบสเรียงซ้อนทับกัน

ทำให้การดูดแสงเกิดขึ้นได้ไม่ดีนัก แต่ถ้า DNA เกิดสลายสภาพธรรมชาติขึ้น (denaturation) สาย โพลีนิวคลีโอไทด์ทั้งสองก็จะแยกตัวออกจากกัน ทำให้ความสามารถในการดูดแสงดีขึ้น และจะได้ค่า OD_{260} มากขึ้น ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า hyperchromic effect คุณสมบัติเกี่ยวกับการดูดแสงของกรดนิวคลีอิคนี้จะมีประโยชน์มากอีกประการหนึ่ง คือ ใช้ในการคำนวณหาขอบเขตของความเป็นเกลียวคู่ของ DNA ได้ เบสคู่ที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับการดูดแสงที่ 260 nm ก็คือ A-T ดังนั้น ถ้า DNA ตัวใดมีคู่ของเบส A-T อยู่เป็นจำนวนมาก เมื่อเกิดสูญเสียสภาพธรรมชาติขึ้นแล้ว OD_{260} ก็จะเพิ่มขึ้นมากด้วย

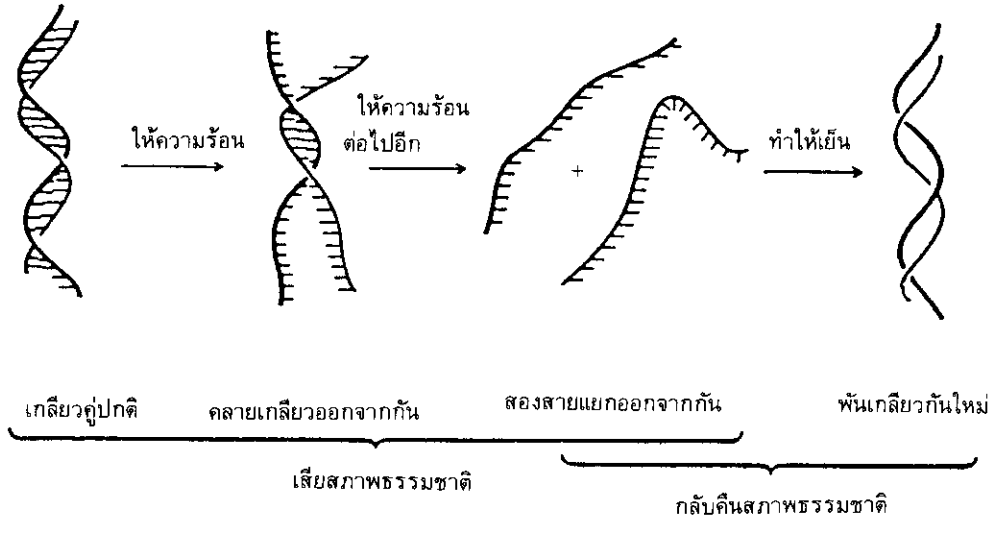


รูปที่ 7-5 การดูดแสงอุลตราไวโอเลตที่ 260 nm *ของ* DNA *และ* bovine serum albumin (BSA) *ที่มีความเข้มข้นเท่ากัน*

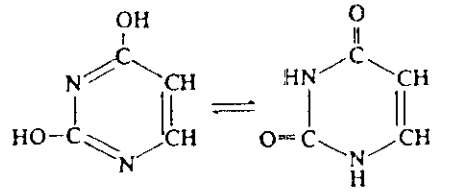
2. กรดนิวคลีอิคพวก DNA ถ้าให้ถูกความร้อนจะสูญเสียสภาพธรรมชาติไป โดยอุณหภูมิ ที่ DNA แยกตัวออกจากกันครึ่งหนึ่งเรียกว่าเป็นจุดหลอมเหลวของ DNA (melting point of DNA, T_m) ถ้า DNA มีคู่ของเบส C-G มาก DNA นั้นจะมีเสถียรภาพมากกว่ามีคู่ของเบส A-T ทั้งนี้ เพราะ C-G ยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะ ด้วยกัน ซึ่งแข็งแรงกว่า A-T อันมีเพียง 2 พันธะไฮโดรเจนเท่านั้น



การสูญเสียสภาพธรรมชาติของ DNA โดยความร้อนนี้ ถ้าทำภายใต้สภาวะที่ควบคุมอย่างดี จะทำให้ขบวนการนี้ผันกลับได้เมื่ออุณหภูมิต่ำลง ทำให้ DNA กลับเข้าสู่สภาพธรรมชาติ (renaturation) ที่เป็นเกลียวคู่ได้อีกครั้งหนึ่ง

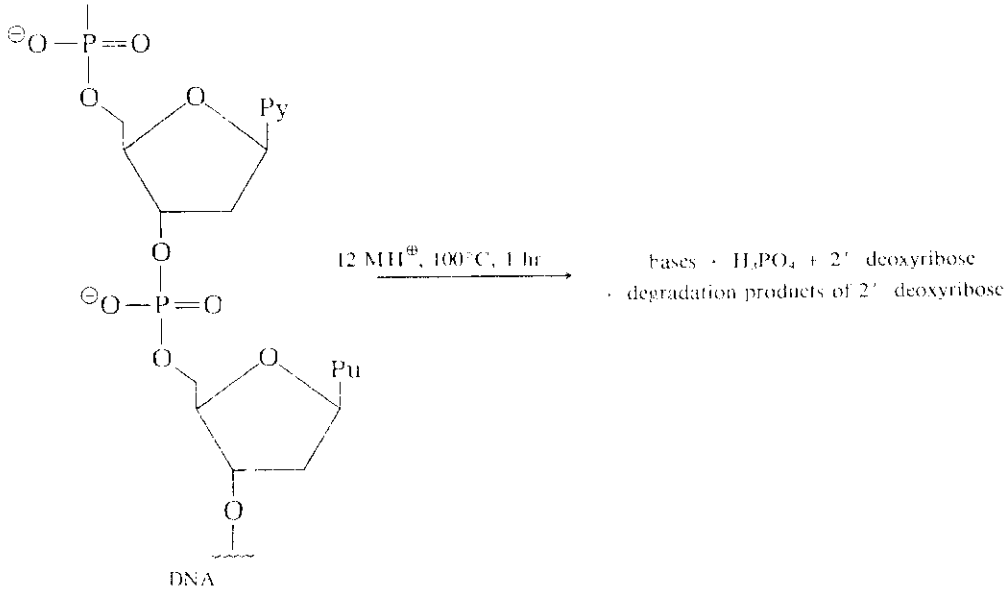


3. เบสเพียวรีนหรือไพริมิดีนก็ตามที่มีออกซิเจนอยู่ในวงแหวน สามารถเกิดทอโทเมอริสม อยู่ได้ทั้งในรูปอีนอล (enol) และคีโต (keto) โดยรูปแบบใดจะมีมากกว่ากันที่สมดุลย์นั้น ขึ้นอยู่กับ pH สำหรับในกรณีที่มีการทำพันธะเคมีกับไนโตรเจนของวงแหวน จะทำให้สมดุลย์เคลื่อนไปทางรูปคีโต

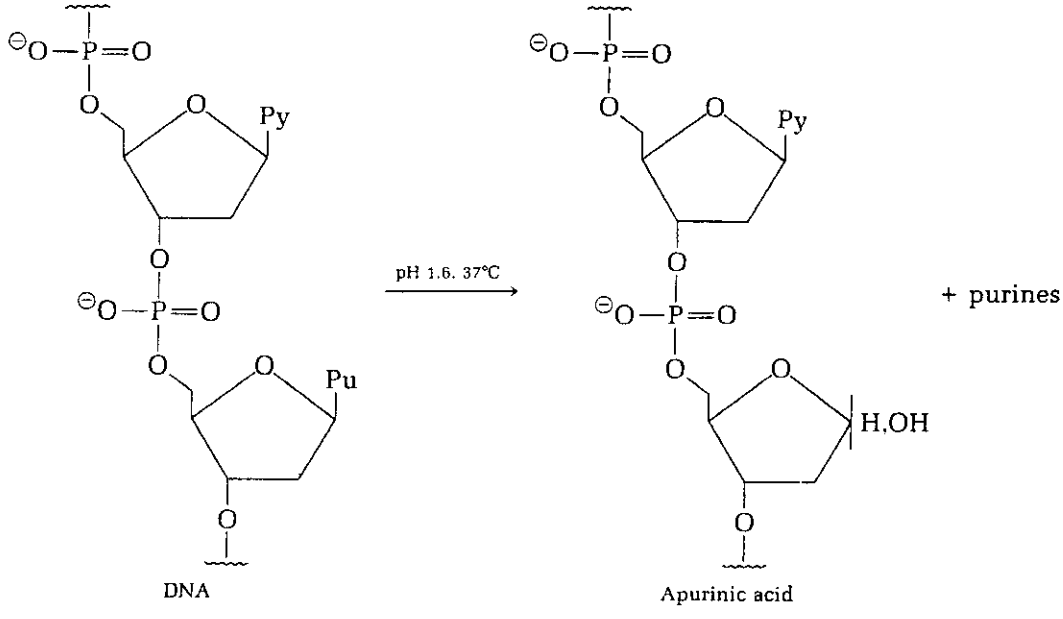


Uracil (enol or lactim) Uracil (keto or lactam)

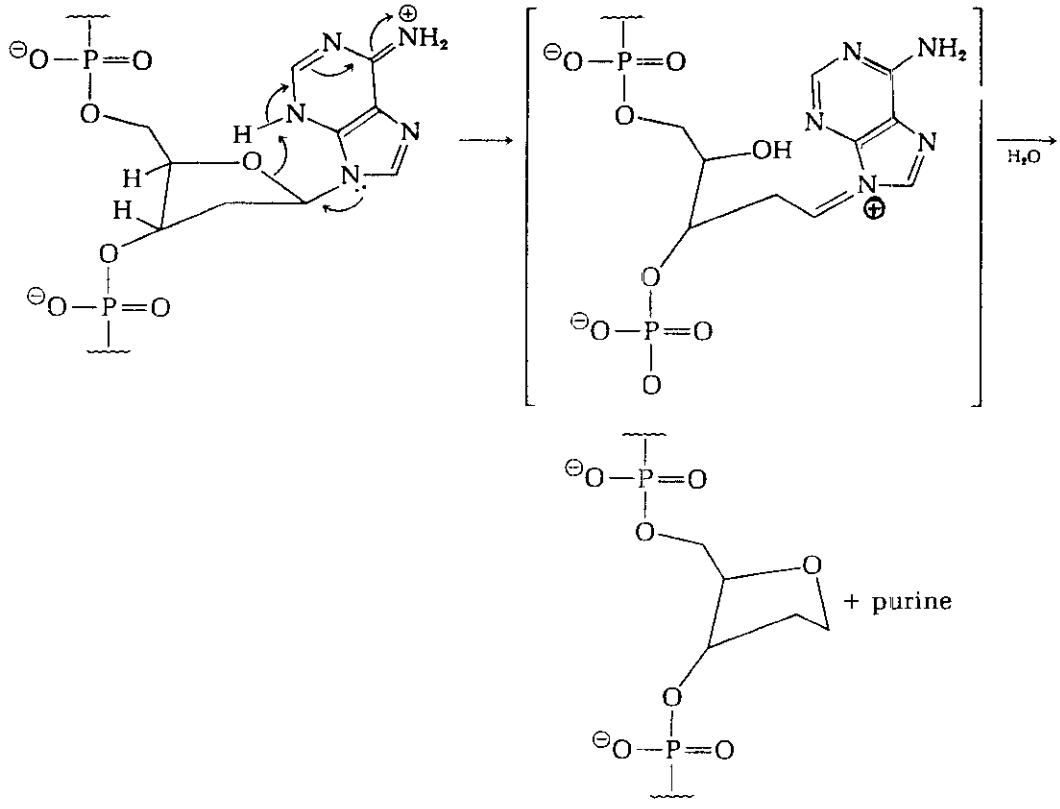
4. โครงสร้างที่เป็นแกนนอกของทั้ง DNA และ RNA จะมีพันธะอยู่ 2 ชนิด คือ 3 ,5- ฟอสโฟไดเอสเทอร์และเบต้าไกลโคซิดิค พันธะทั้งสองนี้จะถูกทำลายได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะเป็นกรด โดยถ้าให้ DNA อยู่ในสารละลายกรดความเข้มข้นสูง ๆ เช่น 12 M ของกรดเปอร์คลอริค นานเป็นชั่วโมง และอุณหภูมิ 100°ซ DNA จะถูกย่อยสลายออกเป็นเบส น้ำตาลดีออกซีไรโบส และกรดฟอสฟอริค ในทำนองเดียวกัน RNA ก็จะถูกย่อยได้เบส น้ำตาลไรโบส และกรดฟอสฟอริค



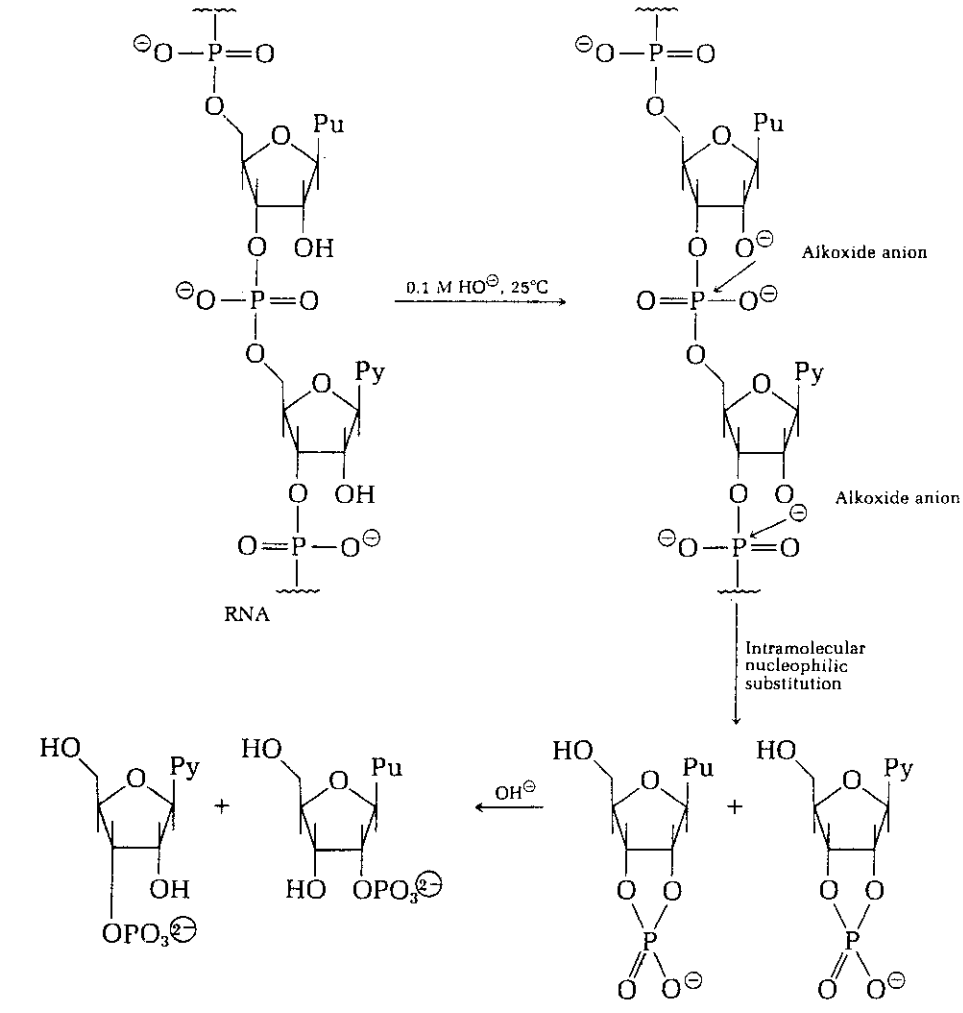
ถ้าใช้สภาวะรุนแรงน้อยลง คือที่ 37๐ซ และ pH 1.6 ในกรณีนี้จะเกิดการย่อยสลายเพียงบางส่วน (partial acid hydrolysis) โดยพันธะเบต้าไกลโคซิดิคของเบสพวกเพียวรีนใน DNA จะถูกทำลายที่เป็นเช่นนี้เพราะพันธะนี้จะมีความว่องไวในการทำปฏิกิริยามากกว่าพันธะของไพริมิดีน ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจะเป็นเบสเพียวรีนอิสระและกรดอเพียวรินิค (apurinic acid) กลไกการสลายพันธะนี้เกิด



จากโปรตอนที่ไนโตรเจนตำแหน่ง 3 ของเพียวรีนไปเร่งปฏิกิริยาภายในโมเลกุล ดังรูปหน้าถัดไป อนึ่ง RNA จะไม่ให้กรดอเพียวรินิคภายใต้สภาวะเช่นนี้เลย



5. ในสภาวะที่เป็นด่างอย่างอ่อน ๆ เช่น ใช้ด่าง 0.1 M ที่ 25°ซ DNA และ RNA จะทนต่อการไฮโดรไลซ์ได้ต่างกัน กล่าวคือ DNA จะค่อนข้างเสถียร ในขณะที่ RNA จะถูกสลายออกเป็น 2′ และ 3′ - นิวคลีโอไซด์ฟอสเฟท ที่เป็นเช่นนี้เพราะไฮดรอกไซด์อิออนของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 2′ ของ RNA จะถูกเปลี่ยนให้เป็นคอนจูเกตเบสคืออัลคอกไซด์อิออน ซึ่งเป็นนิวคลีโอไฟล์



ที่แรง นิวคลีโอไฟล์นี้จะไปทำลายพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ทำให้เกิด 2′-3′ cyclic nucleoside phosphate ขึ้น เมื่อนิวคลีโอไทด์วงปิดนี้ถูกทำลายต่อไปด้วยไฮดรอกไซด์อิออน ก็จะได้ของผสมของ 2′ และ 3′-นิวคลีโอไซด์ฟอสเฟทขึ้น

การที่ DNA มีเสถียรภาพในสารละลายด่าง ก็เนื่องมาจากที่ตำแหน่ง 2′ ของน้ำตาลดีออกซี-ไรโบสไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่จะทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาภายในโมเลกุลนั่นเอง

7.9 นิวคลีโอโปรตีน (nucleoprotein)

DNA ที่พบในเซลล์ของยูคาริโอทจะไม่ได้อยู่ในรูปที่เป็นอิสระ แต่จะจับอยู่กับโปรตีนตัว

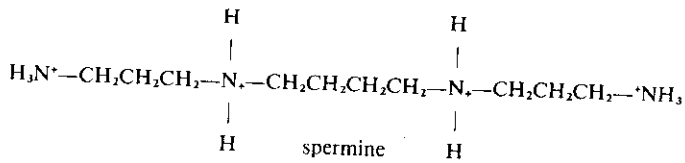
หนึ่ง คือ ฮิสโตน (histone) สารประกอบที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่านิวคลีโอโปรตีน ฮิสโตนเป็นโปรตีนที่มีไลซีนและอาร์จินีนอยู่มาก และฮิสโตนนี้จะทำพันธะ อิออนิค (ionic bonds) กับหมู่ฟอสเฟทที่เชื่อมระหว่างนิวคลีโอไทด์ของกรดนิวคลีอิค ฮิสโตนที่พบในยูคาริโอทจะแบ่งได้เป็น 5 ประเภทใหญ่ ๆ โดยแบ่งตามอัตราส่วนของไลซีน/อาร์จินีน ดังแสดงในตารางที่ 7-5

ประเภท	กรดอมิโนที่พบมาก	ไลซีน/อาร์จินีน	น้ำหนักโมเลกุล	โมลเปอร์เซ็นต์ ไลซีน	โมลเปอร์เซ็นต์ อาร์จินีน
I	Lysine rich	22	~20,000	28	1.4
IIb_1	Slightly lysine rich	2.5	~15,000	16	6
IIb_2	Slightly lysine rich	2.5	~14,000	16	6
III	Arginine rich	0.8	~15,000	10	14
IV	Arginine rich	0.7	~12,000	10	14

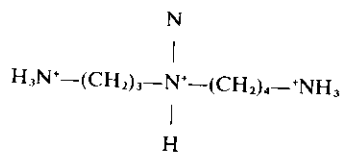
ตารางที่ 7-5 ฮิสโตนประเภทต่าง ๆ ที่พบในยูคาริโอท

สิ่งที่น่าสนใจประการหนึ่งก็คือ พบว่าฮิสโตน IV ที่พบในแม็ดถั่วลิสงและต่อมไธมัสของวัวจะมีกรดอมิโนจำนวน 102 ตัวเท่ากัน และในจำนวนนี้จะมีเพียง 2 ตัว เท่านั้นที่แตกต่างกัน ส่วนกรดอมิโนอีก 100 ตัว ที่เหลือจะมีลำดับการเรียงตัวเหมือนกันหมด ผลนี้แสดงว่า ฮิสโตน IV เป็นโปรตีนชนิดที่มีเสถียรภาพทางพันธุกรรมมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าฮิสโตนจะจับหรือฝังตัวอยู่ในร่องใหญ่ (major groove) ของ DNA เกลียวคู่ด้วย

สำหรับในโปรคาริโอท จะไม่มีฮิสโตนเลย แต่อย่างไรก็ดี ประจุลบของฟอสเฟทที่เชื่อมนิวคลีโอไทด์แต่ละหน่วยของ DNA อยู่นั้น ก็สามารถที่จะจับตัวกับอิออนที่มีประจุบวก เช่น Mg^{2+} หรือพวก polyamines เช่น spermine และ spermidine ได้ ทำให้ประจุลบนั้นถูกสะเทิน



spermine

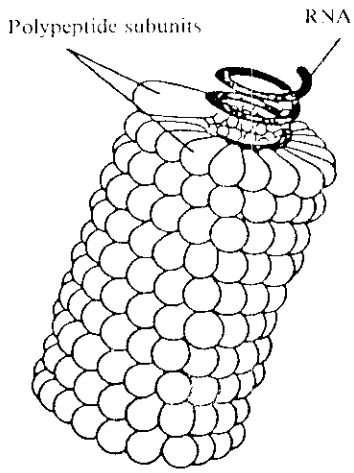


spermidine

7.10 ไวรัส (virus)

สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการศึกษานิวคลีโอโปรตีนมากที่สุด ได้แก่ ไวรัส ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าบักเตรีมาก คือ อยู่ในช่วง 0.02 ถึง 0.4 ไมโครเมตร ในขณะที่โปรคาริโอติคเซลล์มีขนาด 1 ไมโครเมตร และยูคาริโอติคเซลล์มีขนาด 10–20 ไมโครเมตร ไวรัสไม่สามารถอยู่ตามลำพังได้ และจะเพิ่มจำนวนได้ก็เมื่ออาศัยอยู่ในเซลล์อื่น (host cell) เท่านั้น การศึกษาถึงส่วนประกอบทางเคมีของไวรัสอย่างจริงจัง เริ่มต้นขึ้นในคริสตศักราช 1935 เมื่อนักวิทยาศาสตร์ผู้หนึ่งคือ Stanley สามารถแยกและตกผลึกไวรัสชนิดหนึ่ง คือ tobacco mosaic virus ได้ Stanley พบว่าไวรัสชนิดนี้ประกอบด้วยโมเลกุลของกรดไรโบนิวคลีอิก ซึ่งถูกหุ้มห่อเอาไว้ด้วยโปรตีน เรียกชั้นของโปรตีนที่อยู่ภายนอกนี้ว่า แคปซิด (capsid) ส่วนที่จะทำให้เกิดโรคต่อสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย ได้แก่ ส่วนกรดนิวคลีอิคเท่านั้น สำหรับแคปซิดจะทำหน้าที่เป็นเพียงเครื่องหุ้มห่อไวรัสไม่ให้ได้รับอันตราย และในบางครั้งจะช่วยในการที่ไวรัสรุกรานเข้าสู่เซลล์อื่น

ไวรัสสามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งในมนุษย์ สัตว์ และพืช รวมทั้งบักเตรีด้วย โดยไวรัสที่รุกรานบักเตรีได้นั้นเรียกว่า ฟาจ (phage หรือ bacteriophage) สำหรับโรคในมนุษย์ที่เกิดจากไวรัสก็เช่น ไข้หวัด คางทูม หัด ตับอักเสบ ฝีดาษ ในสัตว์รวมทั้งมนุษย์ด้วย ก็เช่น โรคพิษสุนัขบ้า ในปัจจุบันนี้ ยังเข้าใจกันอีกว่า โรคบางชนิดที่เกิดกับระบบประสาทก็มีรากฐานมาจากการกระทำของไวรัสด้วย



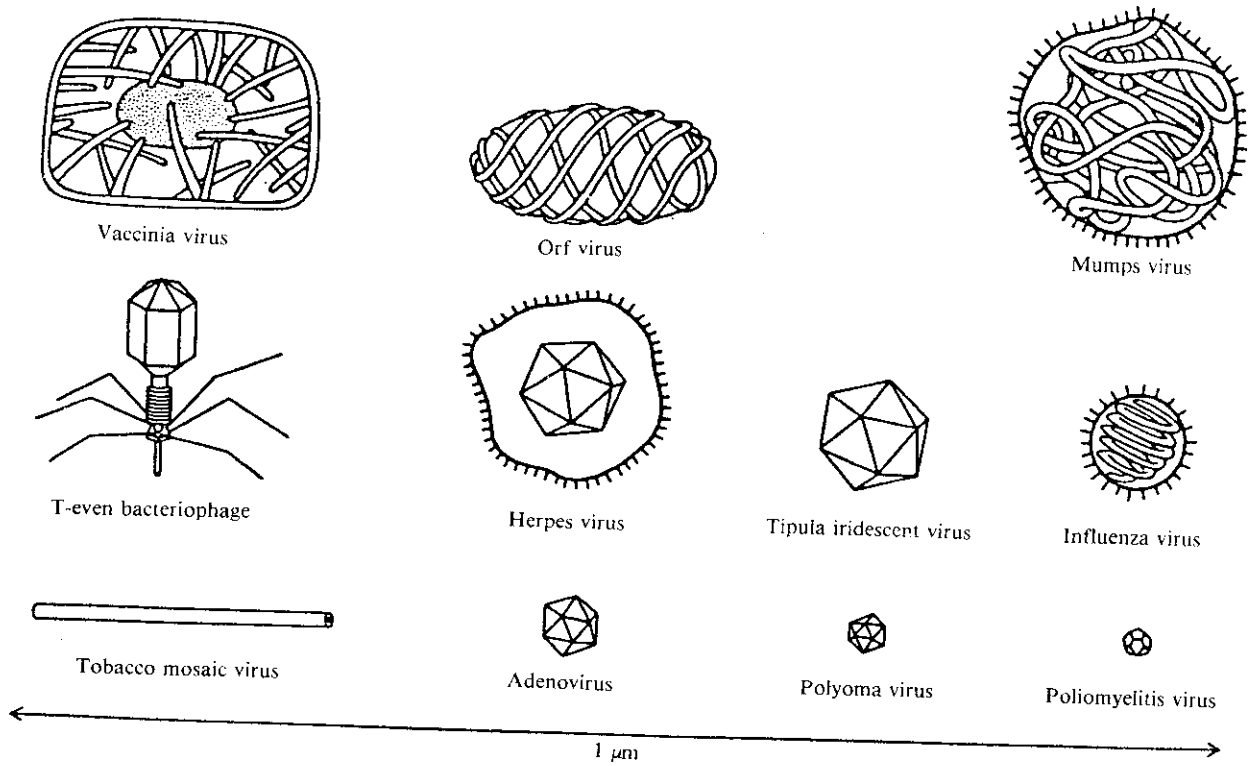
tobacco mosaic virus

7.10.1 ชนิดของไวรัส ไวรัสได้ถูกศึกษาออกไปอย่างกว้างขวาง ในด้านจำนานกรดนิวคลีอิคและโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบ น้ำหนักโมเลกุลและโครงสร้างของกรดนิวคลีอิกที่พบรวมทั้งชนิดและรูปร่างของโปรตีนชนิดต่าง ๆ นั้นด้วย จากการศึกษาพบว่าไวรัสที่รุกรานพืชทุกชนิด จะมีกรดนิวคลีอิคประเภท RNA สายเดี่ยวเป็นส่วนประกอบ ส่วนไวรัสที่รุกรานสัตว์ชั้นสูงจะมี RNA สายเดี่ยวหรือ DNA เกลียวคู่ และในบางครั้งจะพบ RNA เกลียวคู่ได้บ้าง สำหรับฟาจซึ่งรุกรานบักเตรีจะมี DNA เกลียวคู่เป็นส่วนใหญ่ ขนาดของไวรัสและจำนวนกรดนิวคลีอิกที่พบในไวรัสชนิดต่าง ๆ จะแตกต่างกันไปได้มาก ดังแสดงในตารางที่ 7–6

ไวรัส	ชนิดของกรดนิวคลีอิค	น้ำหนักไวรัส (ดาลตัน $\times 10^{-6}$)	น้ำหนักโมเลกุลกรดนิวคลีอิค (ดาลตัน $\times 10^{-6}$)	เปอร์เซ็นต์กรดนิวคลีอิค
tomato ring spot	RNA	1.5	0.66	44
poliomyelitis	RNA	6.7	2.0	22 - 30
plyoma	DNA	21.1	3.5	13 - 14
tobacco mosaic	RNA	40.0	2.2	5 - 6
adenovirus	DNA	200.0	10.0	5
bacteriophage T2	DNA	220.0	134.0	61
human influenza	RNA	280.0	2.2	0.8

ตารางที่ 7-6 คุณสมบัติของไวรัสบางชนิด

7.10.2 รูปร่างของไวรัส โดยทั่ว ๆ ไปเป็นทรงกลม เท่งยาว หรือคล้ายเส้นด้าย แต่ในบางครั้งก็มีรูปร่างที่แปลกออกไป เช่น ในฟาจบางชนิด จะมีแคปซิดลักษณะเหมือนยานสำรวจดวงจันทร์ (รูปที่ 7–6) เป็นต้น



รูปที่ 7-6 รูปร่างต่าง ๆ ของไวรัสบางชนิด

7.10.3 การลอกแบบ (replication) **ของไวรัส** ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่า ไวรัสจะมีการลอกแบบซึ่งก็คือการเพิ่มจำนวน เฉพาะเมื่ออยู่ในเซลล์อื่นเท่านั้น ขบวนการนี้ค่อนข้างยุ่งยาก และการที่ไวรัสชนิดหนึ่ง ๆ จะรุกรานเซลล์ใดได้นั้น ต้องมีความเฉพาะเจาะจงด้วย กล่าวคือ ไวรัสจะรุกรานได้เฉพาะเซลล์ที่มีบริเวณพิเศษที่สามารถดูดซับ (adsorp) ไวรัสชนิดนั้น ๆ เอาไว้ได้ เมื่อไวรัสถูกดูดซับที่ผิวหน้าของเซลล์แล้ว เฉพาะส่วนที่เป็นกรดนิวคลีอิคจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายใน เพื่อเกิดขบวนการลอกแบบต่อไป สำหรับไวรัสเล็ก ๆ บางชนิด อาจเข้าสู่เซลล์ได้ทั้งหมดโดยถูกเซลล์กลืนกิน (pinocytosis) เข้าไป

pH 1.6 และ 37°ซ เพียวรีนเบสของ DNA จะหลุดออกเป็นอิสระ และส่วนที่เหลือจะเรียกว่ากรดอเพียวรินิค สำหรับ RNA จะไม่เกิดการสลายในสภาวะนี้ แต่ถ้าเป็นในด่าง DNA จะเสถียร ในขณะที่ RNA จะเกิดการสลายได้ของผสมของ 2′ และ 3′-นิวคลีโอไซด์ฟอสเฟทเกิดขึ้น

DNA ในยูคาริโอทจะอยู่ในรูปที่ไม่เป็นอิสระเหมือนในโปรคาริโอท กล่าวคือ จะจับตัวกับโปรตีนฮิสโตน ได้สารประกอบที่เรียกว่านิวคลีโอโปรตีนเกิดขึ้น สิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการศึกษานิวคลีโอโปรตีนมากที่สุดได้แก่ไวรัส ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ DNA virus และ RNA virus รูปร่างของไวรัสอาจเป็นทรงกลม แท่งยาว หรือคล้ายเส้นด้าย และเมื่อไวรัสรุกรานเข้าไปในเซลล์ชนิดอื่น ๆ เฉพาะส่วนที่เป็นกรดนิวคลีอิคเท่านั้นที่จะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าไปภายใน

คำถามท้ายบท

1. กรดนิวคลีอิกที่พบในเซลล์มี 2 ประเภท คืออะไรบ้าง
2. ส่วนที่เป็นน้ำตาลของ DNA และ RNA แตกต่างกันอย่างไร
3. อธิบายความแตกต่างของนิวคลีโอไซด์และนิวคลีโอไทด์
4. อธิบายความแตกต่างระหว่างนิวคลีโอไทด์และกรดนิวคลีอิก
5. จงเขียนโครงสร้างพร้อมชื่อของไนโตรเจนเบสที่พบใน DNA พร้อมทั้งบอกด้วยว่าเป็นเบสพวกใด
6. ไนโตรเจนเบสของ RNA จะเหมือนกับที่พบใน DNA หรือไม่ จงอธิบาย
7. จงเขียนโครงสร้างของนิวคลีโอไซด์ที่เกิดจากการเชื่อมต่อกันระหว่างเบสอดีนีนกับน้ำตาล β-D-2-deoxyribose พร้อมทั้งเรียกชื่อด้วย
8. จงเขียนโครงสร้างและชื่อของนิวคลีโอไทด์ที่เกิดจากการเติมหมู่ฟอสเฟทเข้ากับส่วนน้ำตาลของนิวคลีโอไซด์ใน ข้อ 7
9. จงอธิบายการเชื่อมต่อกันระหว่างนิวคลีโอไทด์เพื่อเกิดเป็น RNA หรือ DNA
10. ทำไม DNA และ RNA จึงแสดงคุณสมบัติของความเป็นกรดได้
11. ข้อความต่อไปนี้ถูกหรือผิด ถ้าผิดจงแก้ให้ถูกด้วย
    - 11.1 นิวคลีโอไทด์ประกอบขึ้นจากส่วนย่อย 3 ส่วน คือ ไนโตรเจนเบส น้ำตาลเพนโทสและฟอสเฟท
    - 11.2 อดีนีนและกัวนีนต่างก็มีวงแหวนไพริมิดีน
    - 11.3 นิวคลีโอไทด์ที่ไม่มีฟอสเฟทเชื่อมต่ออยู่ เรียกว่านิวคลีโอไซด์
    - 11.4 ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์จะไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3′ ของส่วนน้ำตาล
    - 11.5 หมู่ 3′- ไฮดรอกซิลของนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ทางปลาย 5′ ของสาย RNA จะทำพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์กับหมู่ 5′- ไฮดรอกซิลของนิวคลีโอไทด์ที่อยู่ถัดเข้ามา
    - 11.6 DNA เกลียวคู่แต่ละรอบจะยาว 0.34 นาโนเมตร
    - 11.7 คู่เบส A·T จะทำ 3 พันธะไฮโดรเจนได้เหมือนคู่เบส G·C ถ้าออกซิเจนอะตอมที่คาร์บอนตำแหน่ง 2 ของไธมีนถูกแทนโปรตอนให้เป็น –OH
    - 11.8 ถ้าการเรียงลำดับของเบสในดีออกซีนิวคลีโอไทด์สายหนึ่งเป็น pCp TpG pGp ApC การเรียงลำดับของเบสบนดีออกซีนิวคลีโอไทด์อีกสายหนึ่งที่เข้าคู่กับสายแรกจะต้องเป็น pGp ApC pCp TpG
    - 11.9 ระหว่างที่เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติ DNA เกลียวคู่จะคลายเกลียวออกจากกัน

11.10 ถ้าสารตัวอย่างของกรดนิวคลีอิกแสดงการดูดแสงที่ 260 นาโนเมตร เพิ่มขึ้นถึง 30% หรือมากกว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิไปเพียงไม่กี่องศา หมายความว่า DNA นั้นอยู่ในรูปเกลียวคู่และมีการทำพันธะระหว่างเบสที่เข้าคู่กันบนแต่ละสายของ DNA

11.11 ถ้า T_m ของ DNA ตัวอย่างชนิด A ต่ำกว่า T_m ของ DNA ตัวอย่างชนิด B แสดงว่า A มีคู่เบส A-T มากกว่า B

11.12 ไม่ว่าจะเป็นในโปรคาริโอทหรือยูคาริโอท DNA จะรวมอยู่กับฮิสโตนเสมอ

12. กำหนดให้ค่า pK_a ของอดีนีน (ตำแหน่ง N-1) และกัวนีน (ตำแหน่ง N-7) เป็น 4.2 และ 3.2 ตามลำดับ

12.1 จงใช้สมการ Henderson-Hasselbalch คำนวณหาเปอร์เซนต์ที่เบสทั้งสองชนิดนี้อยู่ในรูปที่ถูกเติมโปรตอน ณ pH 7.0

12.2 รูปแบบของเบส (คือรูปที่ถูกเติมโปรตอนหรือไม่ถูกเติมโปรตอน) ที่มีมากที่ pH 7.0 นั้น จะมีความสำคัญอย่างไรกับการเกิดเกลียวคู่ของ DNA

13. นำสารละลาย DNA ไปให้ความร้อน แล้วทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องภายในช่วงเวลา 2 นาที ท่านคิดว่า ค่าการดูดแสงที่ 260 นาโนเมตร จะเปลี่ยนไปอย่างไรในระหว่างทำให้ DNA นั้นเย็นลง ถ้าขณะที่ให้ความร้อนนั้น

13.1 อุณหภูมิสูงกว่า T_m

13.2 อุณหภูมิต่ำกว่า T_m