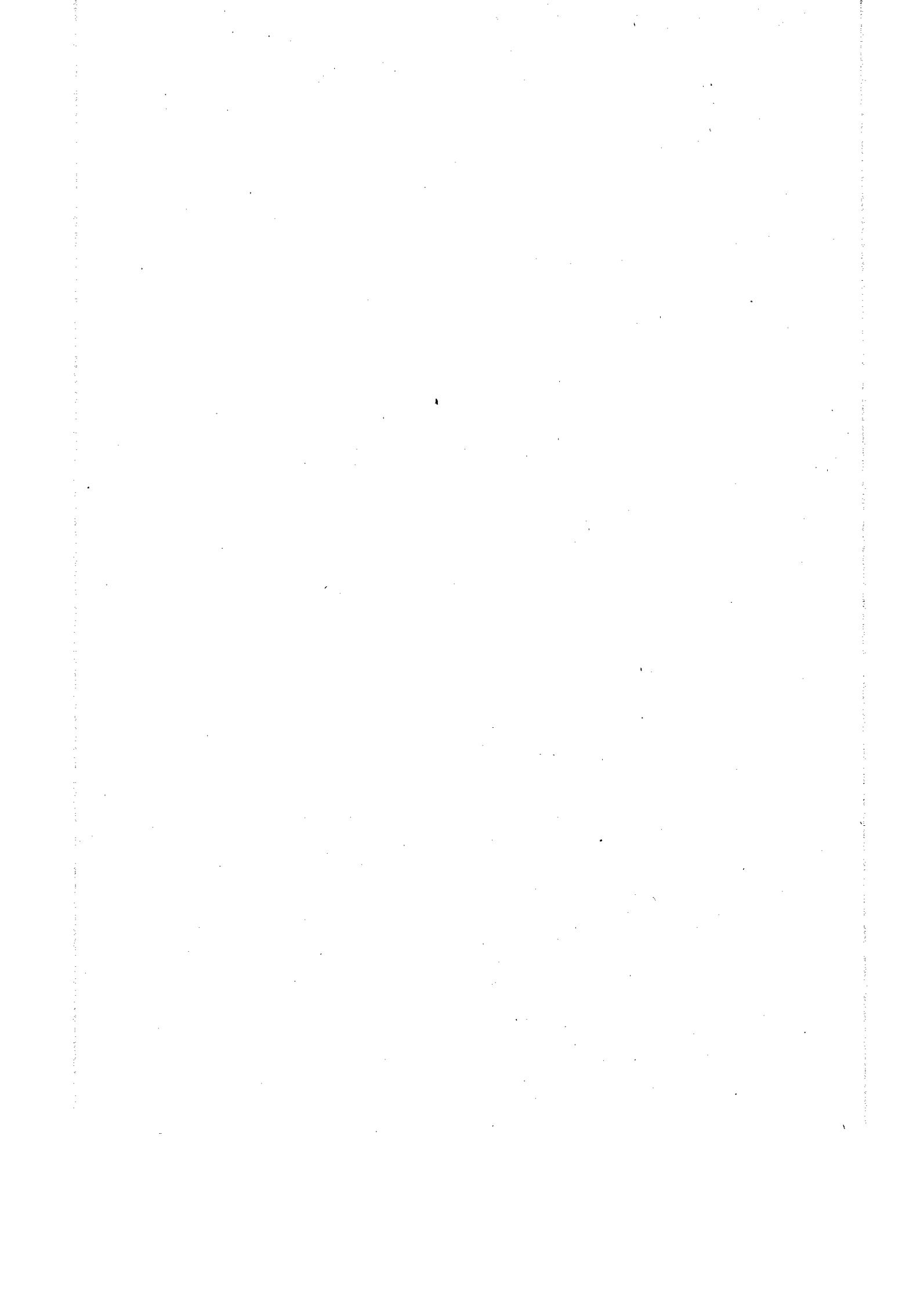


CM 464

1



บทที่ 1

วัฏจักรเซลล์

วัตถุประสงค์

1. อธิบายความหมายของวัฏจักรเซลล์ได้
2. บอกองค์ประกอบของวัฏจักรเซลล์ได้
3. อธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระยะ G₁ phase, S phase, G₂ phase และ M phase ได้
4. อธิบายความหมายของคำว่า Quiescence stage ได้
5. เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง static cells, expanding cells และ renewing cells ได้
6. บอกองค์ประกอบของ Growth factors ได้
7. อธิบายความหมายของคำว่า Signal transduction mechanisms ได้
8. เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง transduction by intracellular receptors กับ transduction by cell surface receptors ได้
9. เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง autocrine, endocrine และ paracrine ได้
10. อธิบายกลไกที่เกิดจากการทำงานของ Platelet – derived growth factor ได้
11. เผยแพร่แผนภาพแสดงการทำงานของ Platelet – derived growth factor ได้
12. อธิบายการทำงานของ cyclin dependent protein kinases กับ cyclin protein ได้
13. อธิบายกลไกการควบคุมวัฏจักรเซลล์ในระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase และระยะ G₂ phase เข้าสู่ M phase ได้
14. อธิบายความสำคัญของโปรตีน E2F ที่มีผลต่อการควบคุมวัฏจักรเซลล์ในระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase ได้
15. อธิบายการตรวจสอบวัฏจักรเซลล์ที่ G₁ / S checkpoint ได้
16. อธิบายถึงบทบาทของโปรตีน P53 ที่ G₁ / S checkpoint ได้
17. อธิบายกระบวนการตายของเซลล์แบบ Apoptosis ได้

เก้าโครงเรื่อง

วัฏจักรเซลล์

1.1 การควบคุมวัฏจักรเซลล์

1.1.1 Growth factors

1.1.1.1 การกระตุ้นผ่านตัวรับที่อยู่ภายในเซลล์

1.1.1.2 การกระตุ้นผ่านตัวรับที่อยู่บนผิวเซลล์

1.1.2 กติกาการควบคุมวัฏจักรเซลล์

1.1.2.1 ระยะ G₁ phase เป็นไป S phase

1.1.2.2 ระยะ G₂ phase เป็นไป M phase

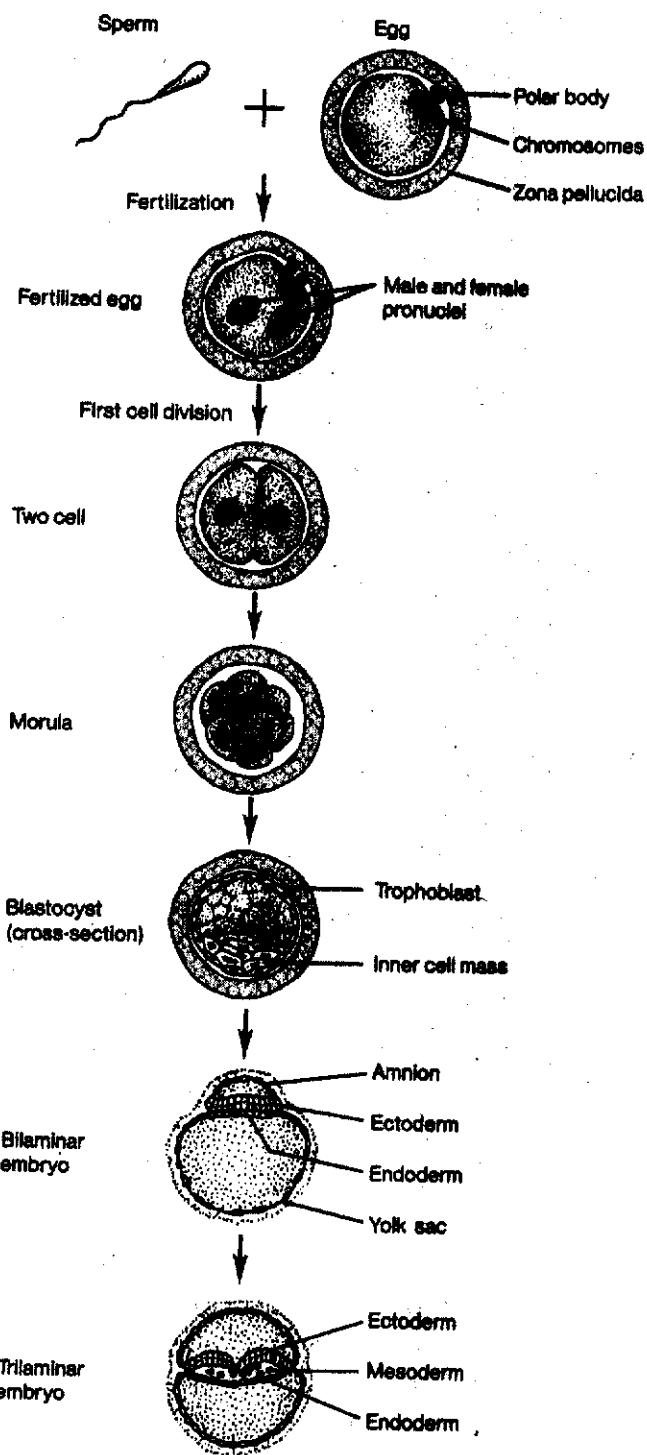
1.2 การตรวจสอบวัฏจักรเซลล์

1.3 กระบวนการตายของเซลล์

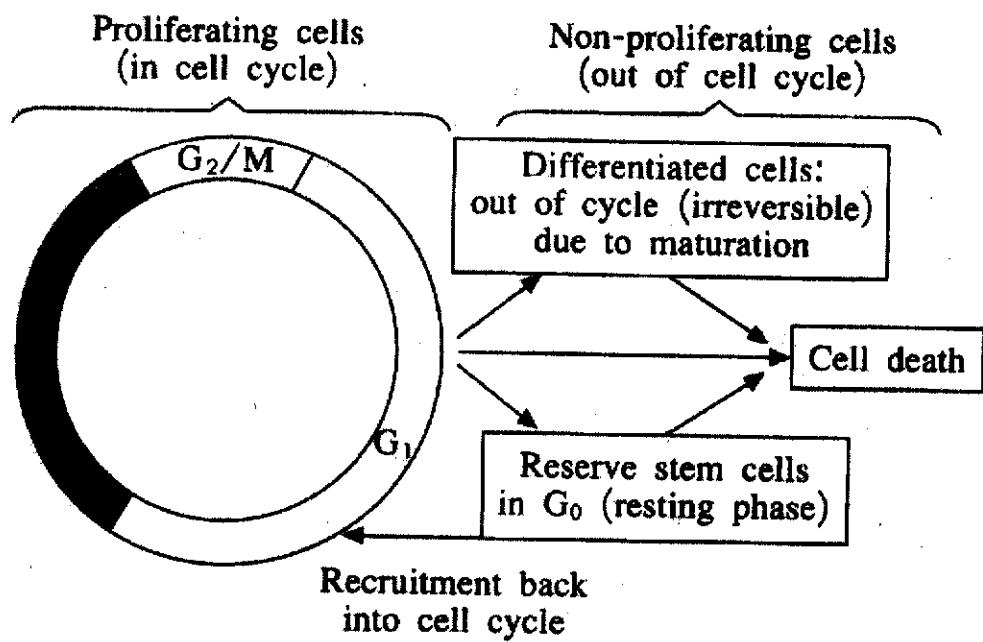
วัฏจักรเซลล์

ก่อนเราถือกำเนิดมาจากเซลล์ไข่ (egg) เพียงเซลล์เดียว เมื่อเกิดการปฏิสนธิกับสเปร์ม (sperm) ไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้ว (fertilized egg) (รูปที่ 1.1) จะเจริญเติบโตไปพร้อม ๆ กับช้อมูลหรือยีนส์ (genes) ที่ได้รับจากพ่อแม่ จากเซลล์ 1 เซลล์ ก็จะมีการแบ่งเซลล์ (cell proliferation or cell division) เพิ่มจำนวนขึ้น และมีกระบวนการพัฒนาเปลี่ยนแปลง (cell differentiation) จนมีรูปร่างและหน้าที่ที่เฉพาะเจาะจง (specific morphology and function) ประกอบขึ้นเป็นรูปร่างมนุษย์

เซลล์โดยทั่วไปจะอยู่ใน 2 สถานภาพ (รูปที่ 1.2) คือสถานภาพที่ไม่มีการแบ่งตัวของเซลล์ (non – proliferating cells) เซลล์สถานภาพนี้บางส่วนเกิดจากการพัฒนาเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (differentiated) ถ้าเป็น mature cells และไม่มีการแบ่งตัวอีก บางส่วนเซลล์อาจตาย และบางส่วนเซลล์อาจจะอยู่เฉย ๆ เรียกว่า quiescence stage หรือ resting phase โดยเซลล์จะเข้าสู่



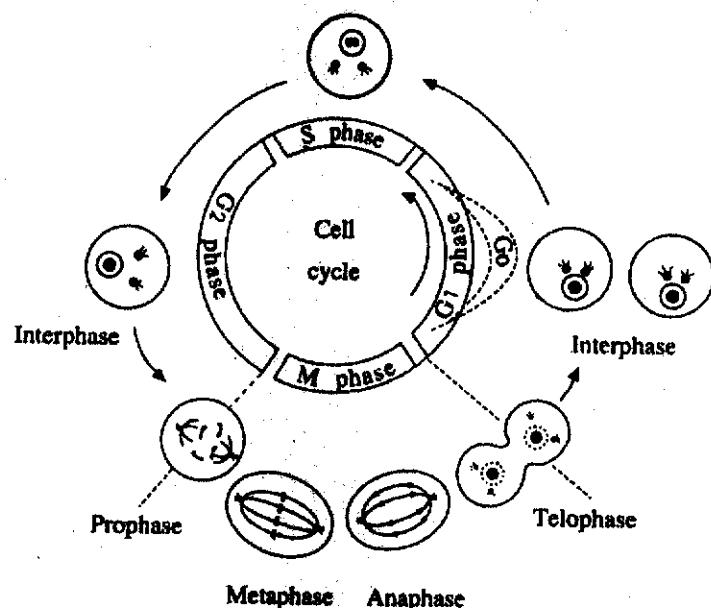
รูปที่ 1.1 การปฏิสนธิและการเจริญเติบโตไปเป็นตัวอ่อน



รูปที่ 1.2 สถานภาพของเซลล์

ระยะ G_0 ซึ่งเซลล์อาจอยู่ในสถานภาพนี้ได้นานเป็นวัน เดือน หรือเป็นปีก็ได้ ส่วนอีกสถานภาพ หนึ่งเซลล์จะมีการแบ่งตัว (proliferating cells) ในการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวน เซลล์จะเข้าสู่วงจรชีวิต ที่เรียกว่าวัฏจักรเซลล์ (cell cycle) ในแต่ละวัฏจักรเซลล์ จะเริ่มต้นแต่ระยะที่เซลล์เตรียมพร้อมในการสะสมสารต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับการแบ่งตัว เรียกระยะนี้ว่า interphase ในระยะ interphase นี้ประกอบด้วย 3 ระยะย่อยที่ G_1 phase, DNA synthetic phase (S phase), และ G_2 phase (pre – mitotic phase) จากนั้นจะเป็นระยะที่เซลล์มีการแบ่งตัว เรียกระยะนี้ว่า mitotic phase (M phase)

จึงกล่าวได้ว่าวัฏจักรเซลล์แบ่งเป็น 4 ระยะ ซึ่งแต่ละระยะจะเกิดการเปลี่ยนแปลงดังนี้ (รูปที่ 1.3)



รูปที่ 1.3 วัฏจักรเซลล์

1. **G₁ phase** หรือเรียกว่าระยะ Gap 1 เป็นระยะที่เซลล์มีการสร้าง RNA และโปรตีนเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการแบ่งไกร ในไข่ ช่วงเวลาของระยะนี้แตกต่างกันมากอาจเป็นชั่วโมง จนถึงหลายวัน เซลล์ที่อยู่ในระยะนี้สามารถที่จะออกจากรัฐ์เข้าสู่ **G₀** หรือเข้าวัฏจักรเซลล์ต่อไปยังระยะ **S phase** ก็ได้
2. **S phase** เป็นระยะที่เซลล์มีการสร้าง DNA ขึ้นอีกครั้งหนึ่ง (DNA replication) ทำให้ได้ไกรในไข่ 2 ชุดอยู่ในเซลล์เดียวกัน ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 10 – 20 ชั่วโมง
3. **G₂ phase** หรือเรียกว่าระยะ Gap 2 เป็นระยะที่เซลล์มีการสร้างโปรตีนชั้นเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการแบ่งเซลล์ เซลล์จะอยู่ใน **G₂ phase** ประมาณ 2 – 10 ชั่วโมง แล้วจึงเข้าสู่ระยะ **M phase**
4. **M phase** เป็นระยะที่มีการแบ่งตัวของไกรในไข่ และจะเกิดการแบ่งตัวของไกรให้พลาสม (cytokinesis) ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ออกเป็น 2 เซลล์ (2 daughter cells) โดยแต่ละ

เซลล์จะมีการไข่ในไขม 1 ชุดเหมือนกัน ซึ่งนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์รุ่วๆ มาก ถ้าใช้เวลาประมาณ 0.5 – 1 ชั่วโมง ซึ่งแบ่งย่อออกได้เป็น 4 ระยะ คือ prophase, metaphase, anaphase และ telophase

1.1 การควบคุมวัฏจักรเซลล์

สำหรับสิ่งมีชีวิตที่มีสูงรวมทั้งคนนี้ กระบวนการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เกิดจาก cell proliferation และ cell differentiation นั้น เริ่มนั่นจากเซลล์แบ่งตัวออกเป็น 2 เซลล์ แล้วจะแบ่งออกเป็นกลุ่มเซลล์เรียกว่า morula จากนั้นเซลล์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปทำหน้าที่เป็นขั้วยาวย่าง ๆ ของตัวอ่อน (embryo) ผ่านขั้นตอน blastocyst, bilaminar embryo และ trilaminar embryo ซึ่งในขั้นตอน trilaminar embryo นี้จะเกิดเป็นเซลล์ที่เป็นชั้น ๆ 3 ชั้น (3 germ layers) (ดูปีที่ 1.1) ได้แก่ ectoderm, mesoderm และ endoderm ซึ่งเซลล์แต่ละชั้นจะเจริญไปเป็นอย่างต่าง ๆ ของร่างกายแตกต่างกัน ดังนี้

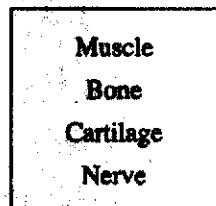
1. Ectoderm เซลล์ในชั้นนี้จะเจริญไปเป็นผิวนัง พม เล็บ และระบบประสาทเป็นต้น
2. Mesoderm เซลล์ชั้นนี้จะเจริญไปเป็นกล้ามเนื้อ กระดูก ระบบเดือด และระบบน้ำเหลือง เป็นต้น
3. Endoderm เซลล์ชั้นนี้จะเจริญไปเป็นอย่างร่างกายในต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ตับ และตับอ่อน เป็นต้น

เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว การแบ่งตัวของเซลล์จะถูกควบคุมโดยการทำางานเป็นระบบภายในร่างกาย พบว่าเซลล์แต่ละชนิดมีความสามารถในการแบ่งเซลล์ได้แตกต่างกัน แบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ 3 กลุ่ม คือ (ดูปีที่ 1.4)

1. Static cells เป็นกลุ่มเซลล์ที่เมื่อพัฒนาเต็มที่แล้วแทบทะไม่มีการแบ่งตัวอีกเลย (no proliferation) ได้แก่เซลล์กล้ามเนื้อดำ เซลล์ประสาท เป็นต้น
2. Expanding cells เป็นกลุ่มเซลล์ที่เมื่อพัฒนาเต็มที่แล้ว ในการะปกติจะไม่แบ่งตัวหรือแบ่งตัวน้อยมาก (slow proliferation) แต่ในการะบาดเจ็บจะมีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว เช่น เซลล์ตับ ซึ่งในการะปกติเซลล์ตับจะมีการแบ่งตัวเพียง 1 ครั้งในระยะ 1-2 ปี แต่เมื่อมีอันตรายต่อ

ตับจะเกิดการกระตุนให้เซลล์ตับแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว อาจเร็วถึง 1 ครั้งในระยะเวลา 1-2 วันเท่านั้น

3. Renewing cells เซลล์ก่อตุ้นนี้มีการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว (rapid proliferation) โดยการแบ่งตัวและการตายของเซลล์ก่อตุ้นนี้ จะเกิดหมุนเวียนกันเป็นปกติ เช่น เซลล์ไขกระดูก เซลล์ผิวหนัง เซลล์เส้นผม เซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ และ เซลล์อวัยวะสืบพันธุ์ เป็นต้น



1. No proliferation

Lung	Bone marrow
Liver	Gastrointestinal mucosa
Kidney	Ovary
Endocrine glands	Testis
Vascular endothelium	Hair follicles

2. Slow proliferation

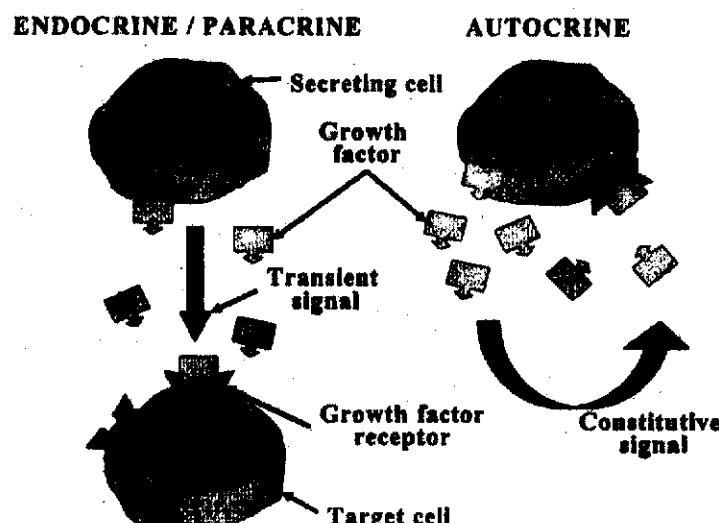
3. Rapid proliferation

รูปที่ 1.4 ชนิดของนิย়มอย่างแบ่งตาม proliferation ของเซลล์

อย่างไรก็การแบ่งเซลล์เพื่อแทนที่เซลล์ที่หมดอายุ อัตราการสร้างจะต้องสมดุลกับอัตราการตาย ไม่ว่าเซลล์จะอยู่ในก่อตุ้นใดก็ตาม ตั้งนี้จึงเป็นศักดิ์สิทธิ์ของการควบคุมปริมาณของเซลล์ในอวัยวะต่าง ๆ อย่างมีความสัมพันธ์กัน ซึ่งอาจจะเกิดจากการได้รับสัญญาณกระตุ้นเฉพาะ (specific positive signals) ที่สำคัญได้แก่ growth factors นอกจากนี้วิธีการของเซลล์องค์จะต้องมีกลไกการควบคุม เพื่อให้เกิดความสมดุลของชีวิต เพราะไม่เช่นนี้เซลล์จะเกิดการแบ่งตัว แต่เพิ่มขยะจำนวนอย่างไรขอนเขต

1.1.1 Growth factors

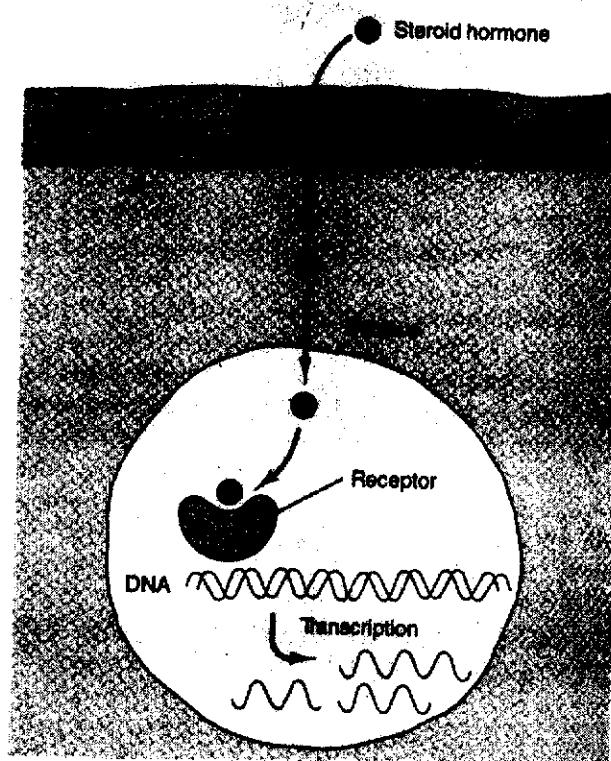
โดยปกติเมื่อมีชีวิตขึ้นสูงต้องการเพิ่มจำนวน เชลล์จะมีการหลั่ง growth factors ออกมานเพื่อไปกระตุ้นให้เซลล์เข้าสู่วัฏจักรเซลล์ เพื่อท่าน้ำที่เปล่งเซลล์ให้ໄດ่ปริมาณที่ต้องการ ซึ่งอาจจะเป็น growth factor ที่สร้างขึ้นเองโดยเซลล์ที่ถูกกระตุ้น เรียกว่า autocrine (รูปที่ 1.5) แต่ถ้าเป็น growth factor ที่สร้างขึ้นโดยเซลล์ชนิดอื่นไม่ใช่เซลล์ที่ถูกกระตุ้น เรียกว่า endocrine และ paracrine ซึ่ง endocrine และ paracrine แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับระบบห่างระหว่างเซลล์ที่ผลิต growth factor กับเซลล์ที่ถูกกระตุ้น กล่าวคือ ถ้าเป็น growth factor ที่ผลิตขึ้นโดยเซลล์ที่อยู่ห่างไกลจากเซลล์ที่ถูกกระตุ้นเรียกว่า endocrine แต่ถ้าผลิตขึ้นโดยเซลล์ที่อยู่ใกล้เคียงกับเซลล์ที่ถูกกระตุ้นเรียกว่า paracrine และไม่ว่าจะเป็น growth factor ชนิดใดก็ตามจะทำหน้าที่ได้ ก็ต่อเมื่อ growth factors นั้นจะต้องจับกับตัวรับ (receptor) ก่อนแล้วจึงจะกระตุ้นเซลล์ผ่านกลไกการส่งต่อสัญญาณ (signal transduction mechanisms) ไปสู่นิวเคลียส (nucleous) ของเซลล์ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์ต่อไป ซึ่งการส่งต่อสัญญาณการกระตุ้นนี้เกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ คือ การกระตุ้นผ่านตัวรับที่อยู่ภายในเซลล์ (transduction by intracellular receptors) และการกระตุ้นผ่านตัวรับที่อยู่บนผิวเซลล์ (transduction by cell surface receptors)



รูปที่ 1.5 Autocrine, Endocrine และ Paracrine Growth factors

1.1.1.1 การกระตุ้นผ่านตัวรับที่อยู่ภายในเซลล์

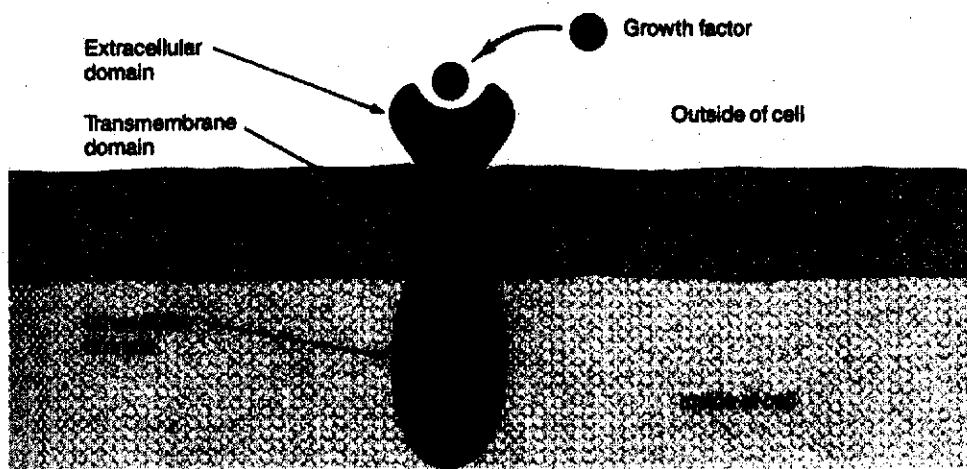
กลไกนี้เกิดขึ้นกับในเลกุณของสารหลักชนิด เช่น steroid hormone (รูปที่ 1.6) vitamin D, thyroxine และ retinoic acid เป็นต้น โดยในเลกุณของสารเหล่านี้จะซึมผ่าน (passive diffusion) เข้าไป結合กับตัวรับที่อยู่ภายในเซลล์ (intracellular receptor) ซึ่งตัวรับนี้อาจจะอยู่ในไซโตพลาสม (cytoplasm) หรือบนนิวเคลียสก็ได้ เมื่อไม่เกิดดังกล่าวขึ้น กับตัวรับแล้ว ก็กล้ายเป็นสารประกอบเรืองแสง (complex substance) ที่สามารถจับกับ regulatory elements ของยีน เพื่อกระตุ้นการทำงานของยีน ทำให้เกิดการแสดงออกของยีน (gene expression) ต่อไป ตัวอย่างเช่น การทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุมดูกุ โดยกระตุ้นให้เกิดการสร้างเซลล์ที่ผนังดูกุ เทรียมพร้อมสำหรับเป็นที่ผิงตัวของตัวอ่อนในแต่ละรอบเดือน เป็นต้น



รูปที่ 1.6 กลไกการทำงานของ Steroid hormone

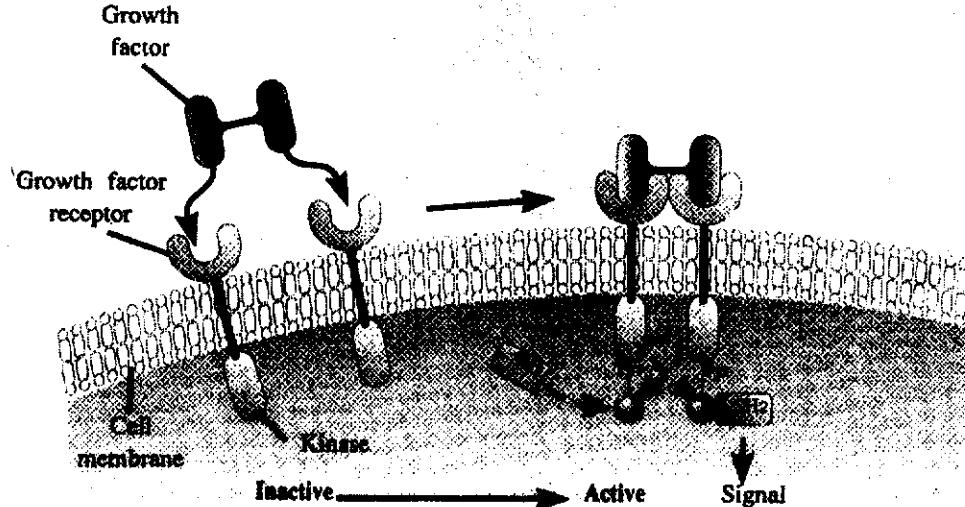
1.1.1.2 การกระตุ้นผ่านตัวรับที่อยู่บนผิวเซลล์

กลไกนี้เกิดขึ้นกับสารทางชีวภาพที่ไปกระตุ้นเซลล์ เช่น Platelet – Derived Growth Factor (PDGF), neurotransmitter, hormone หลาຍชนิด เช่น insulin, glucagon และ growth hormone เป็นต้น โดยการเหล่านี้จะไปจับกับตัวรับที่อยู่บนผิวเซลล์ (cell surface receptor) ซึ่งตัวรับโดยทั่วไปจะมีโครงสร้างคล้าย ๆ กัน ตัวอย่าง เช่น Growth factor receptor มีโครงสร้าง เป็นโปรตีนที่มีองค์ประกอบ 3 ส่วน (รูปที่ 1.7) คือส่วนที่ยื่นออกมานอกผิวเซลล์เรียกว่า extracellular domain ซึ่งเป็นส่วนที่ทำหน้าที่จับกับ growth factor ส่วนที่ 2 คือ ส่วนที่สอดแทรกกันระหว่างเยื่อเซลล์ เรียกว่า transmembrane domain ส่วนสุดท้ายเป็นส่วนที่อยู่ภายในเซลล์ เรียกว่า intracellular domain



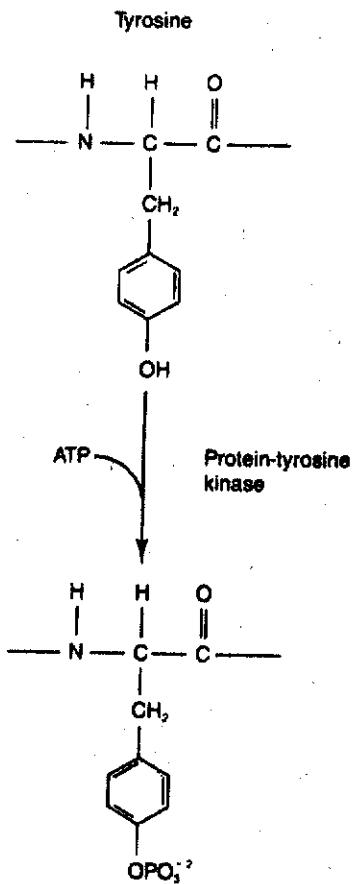
รูปที่ 1.7 องค์ประกอบของ Growth factor receptor

ด้วยช่องของกลไกประเกทานี้ เช่น platelet – derived growth factor receptor (PDGFR) ตัวรับชนิดนี้มีคุณสมบัติเป็น protein – tyrosine kinase การจับกันระหว่าง PDGF กับ PDGFR นี้มีลักษณะพิเศษ (รูปที่ 1.8) เมื่อจากไม่เลกอกของ PDGF ประกอบด้วย 2 chain ที่เชื่อมต่อกันด้วย



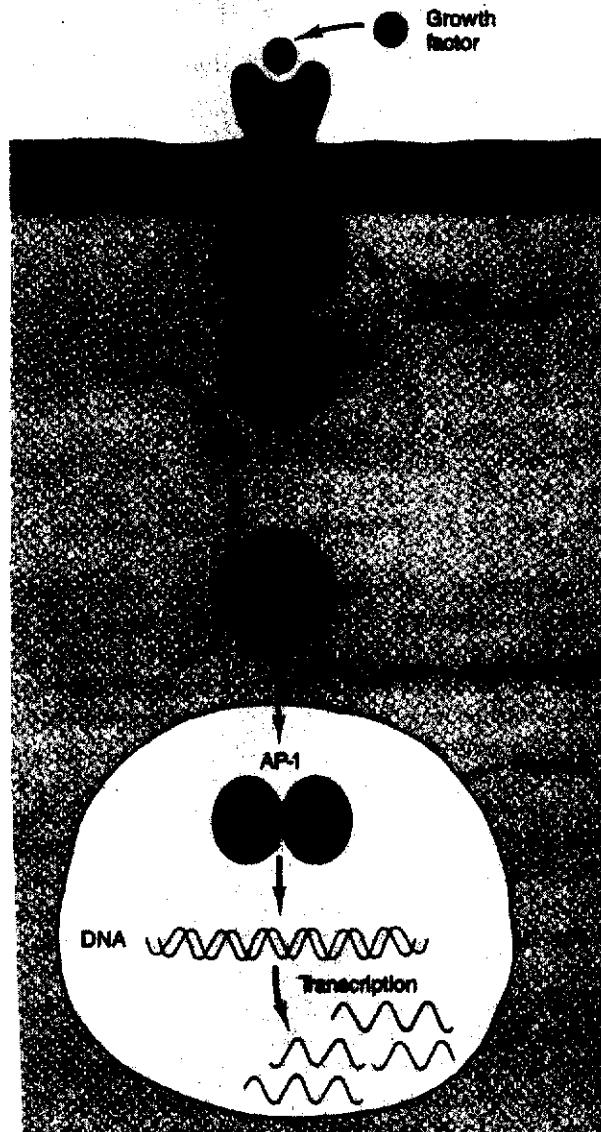
รูปที่ 1.8 การจับกันระหว่าง PDGF กับ PDGFR

พันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ดังนั้นแต่ละ chain ของ PDGF จะจับกับ extracellular domain ของ PDGFR แต่ละไม่เดกูก กระแสเมื่อ PDGF จับกับ PDGFR แล้ว จะกระตุ้นให้ PDGFR สองไม่เดกูลนาร่วมตัวกันเป็น dimer (dimerization) และทำให้ protein tyrosine kinase ตรงส่วน intracellular domain ซึ่ง inactive กลายเป็น active tyrosine kinase จึงสามารถเติมฟอสฟอไทด์กับตัวเอง (autophosphorylation) ที่กรดอะมิโนไทโรซิน ได้เป็นฟอสโฟไทโรซิน (phosphotyrosine) (รูปที่ 1.9) จากนั้นจะมีการส่งสัญญาณต่อเนื่องกันไป จนกระทั่งสัญญาณนั้นถูกนำเข้าสู่นิวเคลียส และทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนที่ต้องการขึ้น กลไกการส่งสัญญาณของ PDGF – PDGFR มีหลักระบบ ในที่นี้จะกล่าวถึงระบบที่ผ่าน phospholipase C (PLC) (รูปที่ 1.10) ในระบบนี้ ฟอสโฟไทโรซิน ใน PDGFR จะจับกับเอนไซม์ PLC ซึ่งจะทำให้เอนไซม์ PLC มีความรุ่งไวต่อการทำปฏิกิริยา (active) จึงสามารถเปลี่ยน phosphatidylinositol 4,5 –



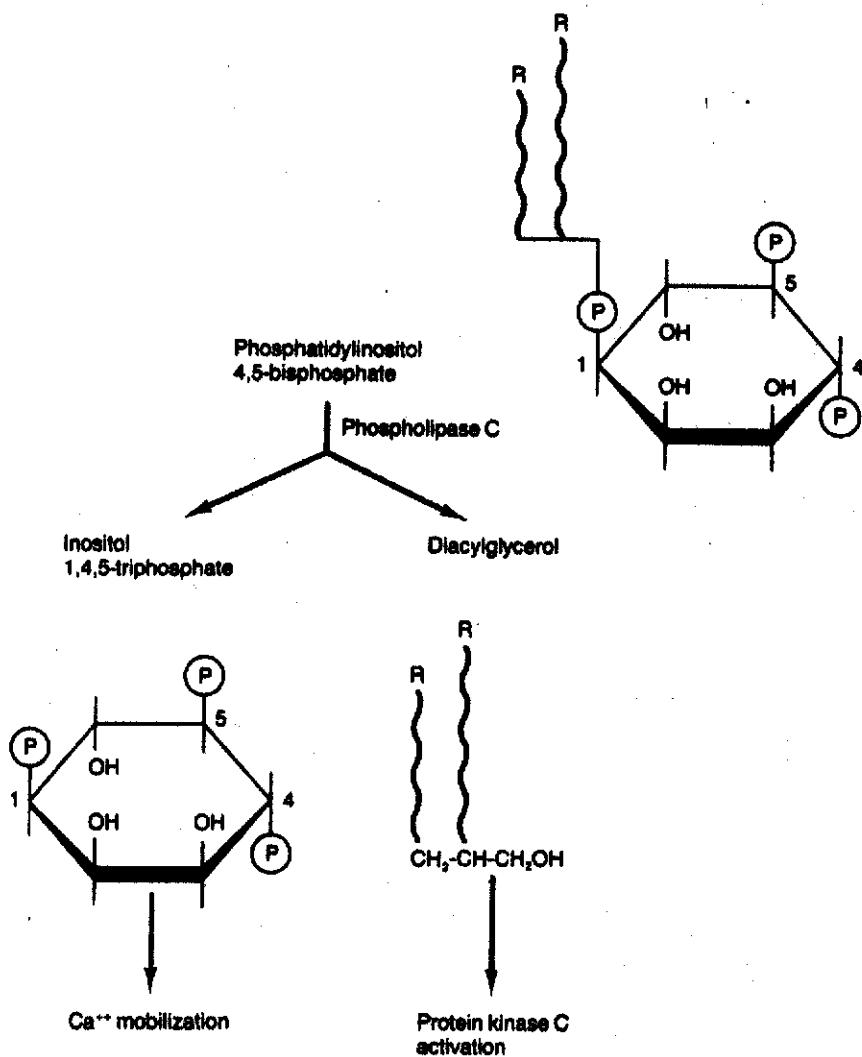
รูปที่ 1.9 การทำงานของเอนไซม์ Protein-tyrosine kinase

biphosphate (PIP_2) ให้กัดเป็น inositol 1,4,5,- triphosphate (IP_3) และ diacylglycerol (DAG) (รูปที่ 1.11) จากนั้น IP_3 จะไปกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของแคลเซียม (calcium mobilization) ออกจาก endoplasmic reticulum ในขณะเดียวกัน DAG จะกระตุ้นให้เกิดการทำงานของ protein kinase C (PKC) (รูปที่ 1.10) เอนไซม์ PKC จะทำงานได้ในสภาวะที่มีแคลเซียม โดยทำหน้าที่เติมฟอสฟอท

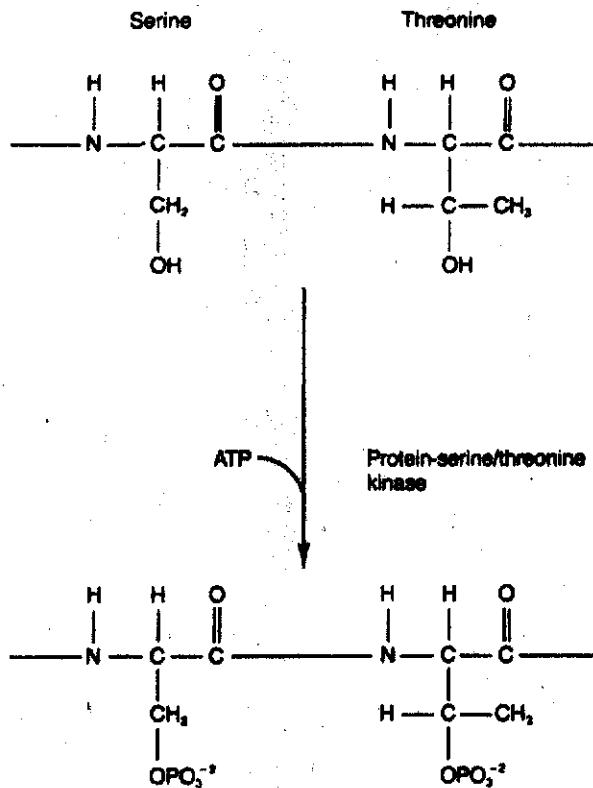


รูปที่ 1.10 กลไกการส่งสัญญาณของ PDGF – PDGFR ผ่าน PLC

ที่กรดอะมิโนซีรีนและทริโอนีนให้กับโปรตีนเม้าหมาช (รูปที่ 1.12) จึงอาจเรียกเอนไซม์ PKC อีกชื่อหนึ่งว่า Protein – serine / threonine kinase จากนั้นจะเกิดการส่งสัญญาณไปยังนิวเคลียสเพื่อกระตุ้น AP – 1 ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดกระบวนการ transcription (transcription factor) และส่งผลทำให้เกิดการแบ่งตัวของเซลล์เกิดขึ้นที่สุด AP – 1 มีโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบ 2 ตัว คือ โปรตีน fos และ โปรตีน jun (รูปที่ 1.10)



รูปที่ 1.11 การทำงานของเอนไซม์ Phospholipase C



รูปที่ 1.12 การทำงานของเอนไซม์ Protein – serine / threonine kinase

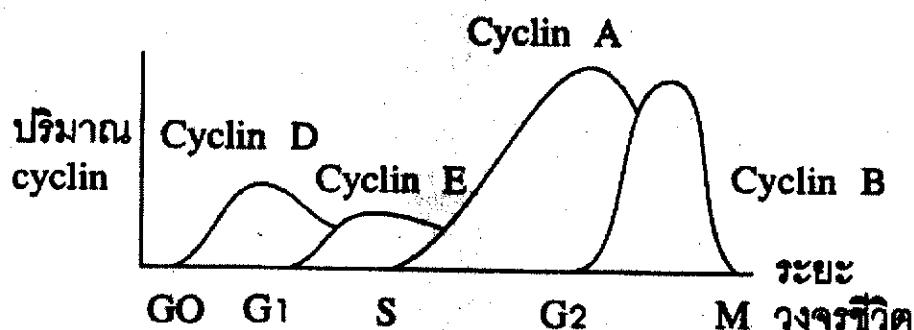
1.1.2 กติกาการควบคุมวัฏจักรเซลล์

เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้น ไม่ว่าจะเป็นการกระตุ้นผ่านตัวรับที่อยู่ภายในเซลล์ หรือผ่านตัวรับที่อยู่บนผิวเซลล์ เซลล์ก็จะเข้าสู่ระยะต่าง ๆ ในวัฏจักรเซลล์ ขึ้นได้แก่ G₁, S, G₂ และ M เพื่อให้เกิดการแบ่งเซลล์ดังกล่าวข้างต้น โดยมีกติกาการควบคุมวัฏจักรเซลล์อย่างเป็นระบบ มีจุดบันยอนรับว่ากติกาการควบคุมวัฏจักรเซลล์ เกิดจากการทำงานของโปรตีนที่มีชื่อว่า cyclin protein ดำเนินงานร่วมกับกลุ่มของเอนไซม์ protein kinase มีชื่อเรียกว่า cyclin dependent protein kinases (cdk) ในแต่ละระยะของวัฏจักรเซลล์จะมี cdk และ cyclin protein ที่ควบคุมแยกต่างกันออกไป

Phase	ชนิดของ cdk	ชนิดของ cyclin
G ₁	cdk 2, cdk 4, cdk 6	Cyclin D ₁ , D ₂ , D ₃
G ₁ – S	cdk 2	Cyclin E
G ₂	cdk 2	Cyclin A
G ₂ – M	cdk 1	Cyclin B

ตารางที่ 1.1 ชนิดของ cdk และ cyclin ในวัฏจักรเซลล์

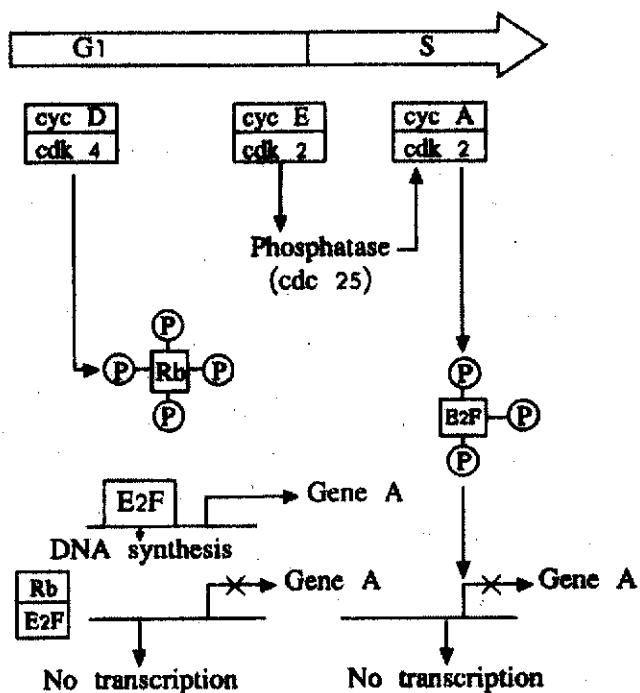
สำหรับกลุ่มของ cdk และ cyclin protein ในสัตว์ชั้นสูง สามารถสรุป เป็นกลุ่มต่าง ๆ ในแต่ละ ช่วงของวัฏจักรเซลล์ดังตารางที่ 1 พนว่าปริมาณของ cdk ก่อนเข้าจะคงที่ แต่ cyclin protein จะถูกสร้างขึ้นด้วยปริมาณที่แตกต่างกันแบ่งเป็น 4 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ cyclin D ตามด้วย cyclin E, cyclin A และ cyclin B ในวัฏจักรเซลล์ ระยะ G₁, S, G₂ และ M (รูปที่ 1.13) สำหรับ protein kinase นั้นโดยทั่วไปเป็นเอนไซม์กลุ่มที่ทำหน้าที่เดินฟอสฟेठ (phosphorylation) ให้เกิดเอนไซม์ หรือโปรตีนเป้าหมาย แล้วส่งผลให้เอนไซม์หรือโปรตีนที่ถูกเดินฟอสฟ์ทำงาน โดยการ กระตุ้นให้สร้างสารที่จำเป็นขึ้นในวัฏจักรเซลล์ แต่เอนไซม์กลุ่มนี้ทำงานร่วมกับ cyclin protein ในรูป cdk ดังกล่าวแล้ว อย่างไรก็ต้องมี cdk จะบังไม่สามารถทำงานได้ จนกว่าจะได้ form complex กับ cyclin protein ดังนั้นอาจถ้าไม่ได้ร่วมกับ cyclin protein กับ cdk เป็นการ กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา phosphorylation กับ dephosphorylation ซึ่งในแต่ละระยะของวัฏจักร เซลล์นั้นเอง ซึ่งในแต่ละระยะจะมีการทำงานต่างกัน จึงส่งผลต่อการควบคุมวัฏจักรเซลล์ให้แตก ต่างกันออกไป ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงการทำงานของ cyclin protein กับ cdk แบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase และระยะ G₂ phase เข้าสู่ M phase



รูปที่ 1.13 ปริมาณของ cyclin protein ในวัฎจักรเซลล์

1.1.2.1 ระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase

ในระยะ G₁ phase เขตที่มีการสร้าง cyclin D ซึ่งจะจับกับ cdk 4 ได้เป็น cyclin D – cdk 4 complex (รูปที่ 1.14) คู่ complex นี้จะสามารถเดินพื้นที่ให้กับโปรตีน retinoblastoma (Rb) โดยในภาวะที่ไม่มีฟอสเฟท Rb จะจับอยู่กับโปรตีน E2F แต่เมื่อมีภูมิเดินพื้นที่ให้กับ E2F ได้ ทำให้โปรตีน Rb นี้ไปกดปลดอย่างไประดับ E2F ให้หลุดออกมานอกไป ซึ่ง E2F อิสระนี้ทำให้เกิดกระบวนการ transcription ได้ โดยสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการสร้าง DNA เป้าสู่ S phase จะเห็นได้ว่าการทำงานของ E2F จึงจำเป็นอย่างยิ่งต่อการผ่านจากระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase เมื่อร่างกายต้องการหยุดสร้างเซลล์ เขตที่มีการสร้าง cyclin E ซึ่งจะจับกับ cdk 2 เป็น cyclin E – cdk 2 complex ซึ่งจะไปเดินพื้นที่ให้กับเอนไซม์ฟอสฟอตีส (phosphatase) ต่อผลให้เอนไซม์ฟอสฟอตีสไปกระตุ้นให้เกิดการจับกันระหว่าง cyclin A และ cdk 2 ซึ่ง cyclin A – cdk 2 complex นี้จะทำหน้าที่เดินพื้นที่ให้กับ E2F เมื่อ E2F ไม่เป็นอิสระ จึงไม่สามารถทำงานได้ ทำให้กระบวนการ transcription หยุดลง

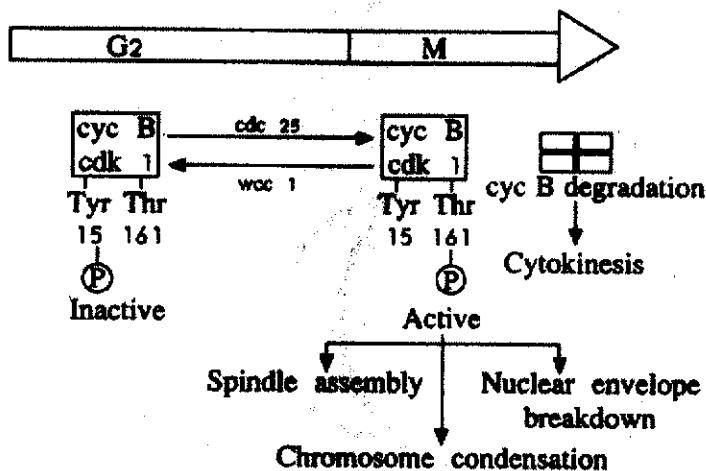


รูปที่ 1.14 การทำงานของ cyclin – cdk ในระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase

1.1.2.2 ระยะ G₂ phase เข้าสู่ M phase

ในระยะ G₂ phase เขก็จะมีการสร้าง cyclin B และจะเข้ารับกับ cdk 1 เป็น cyclin B – cdk 1 complex (รูปที่ 1.15) แล้วยังอยู่ในรูปที่ไม่สามารถทำงานได้ (inactive form) complex นี้จะทำงานได้ (active form) ที่ต่อเมื่อมีการเติมฟอสฟेठจากกระบวนการในไตรซิน ที่ตำแหน่ง 15 โดยการทำงานของเอนไซม์ phosphatase (cdc 25) และเติมฟอสฟेठเข้าที่กรดอะมิโนทรีโอนีนที่ตำแหน่ง 161 ด้วยเอนไซม์ kinase (wcc 1) ก่อน จากนั้น complex ที่ active นี้ จะสามารถเติมฟอสฟेठให้กับโปรตีนทางชีวภาพ ถึงผลต่อการเกิด chromosome condensation, spindle assembly และ nuclear envelope breakdown นอกจากนี้การสถาปัตว์ของ cyclin B จาก

cyclin B – cdk 1 จะทำให้เซลล์เกิดการแบ่งตัวของไข่ไซโทพลาสต์ (cytokinesis) เป็นผลทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ขึ้น

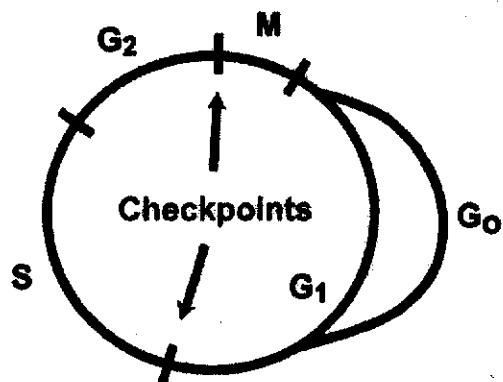


รูปที่ 1.15 การทำงานของ cyclin – cdk ในระยะ G₂ phase เข้าสู่ M phase

1.2 การตรวจสอบวัฏจักรเซลล์

นอกจากกลไกการควบคุมวัฏจักรเซลล์ดังกล่าวแล้ว เซลล์ยังมีกระบวนการตรวจสอบเซลล์ที่เข้าสู่วัฏจักรเซลล์ด้วย เพื่อป้องกันและกำจัดเซลล์ที่เกิดความผิดปกติของสารพันธุกรรมไม่ให้เข้าสู่วัฏจักรเซลล์ และแบ่งตัวเพิ่มจำนวนขึ้น เรียกกระบวนการตรวจสอบนี้ว่า cell – cycle checkpoints ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 จุด เช่นเดียวกับกลไกการควบคุมวัฏจักรเซลล์ กือระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase และ G₂ phase เข้าสู่ M phase เนื่องจากเป็นจุดที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจากระยะหนึ่งไปสู่ระยะหนึ่ง (transition point) การตรวจสอบวัฏจักรเซลล์ที่ระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase เรียกว่า G₁ / S checkpoint และระยะ G₂ phase เข้าสู่ M phase เรียกว่า G₂ / M checkpoint (รูปที่ 1.16) เมื่อมีการตรวจสอบแล้วพบว่าเซลล์มีความผิดปกติ เซลล์ที่ผิดปกตินี้จะถูกหยุดไว้ที่ระยะใดระยะหนึ่งของวัฏจักรเซลล์ เพื่อรับการแก้ไขหรือซ่อมแซมสารพันธุกรรมที่ผิดปกติก่อนที่จะเข้าสู่วัฏจักรเซลล์เพื่อแบ่งตัวต่อไป แต่ถ้าไม่สามารถแก้ไขหรือซ่อมแซมได้ เซลล์ก็จะเข้าสู่สภาวะ

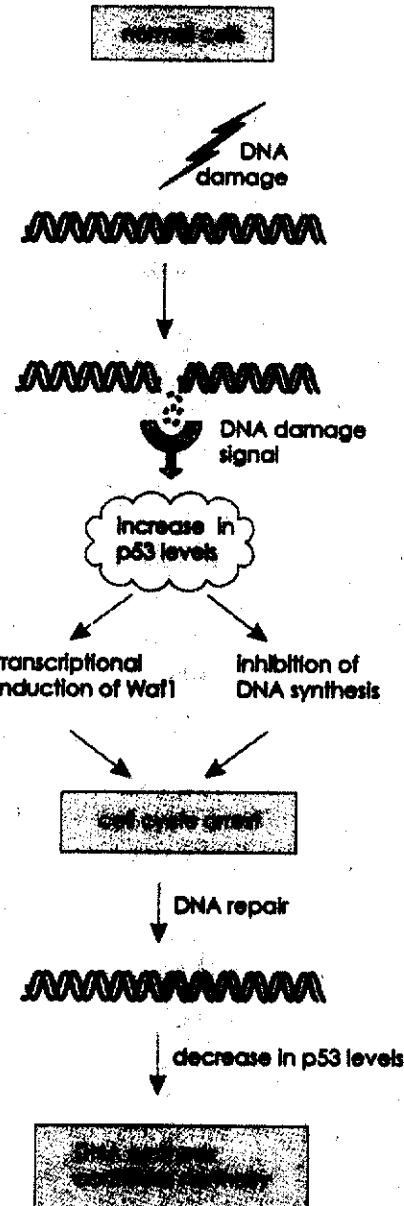
Apoptosis ซึ่งเป็นภาวะที่เซลล์มีกระบวนการการทำลายตัวเอง หรือเกิดการตายของเซลล์ ในปัจจุบัน มีการศึกษาเรื่องความเข้าใจในกดไกของ G₁ / S checkpoint อย่างกว้างขวาง ส่วน G₂ / M checkpoint ยังไม่มีความกระจ่างชัดมากนัก ในที่นี้จะขอถึง G₁ / S checkpoint เพื่อเน้น.



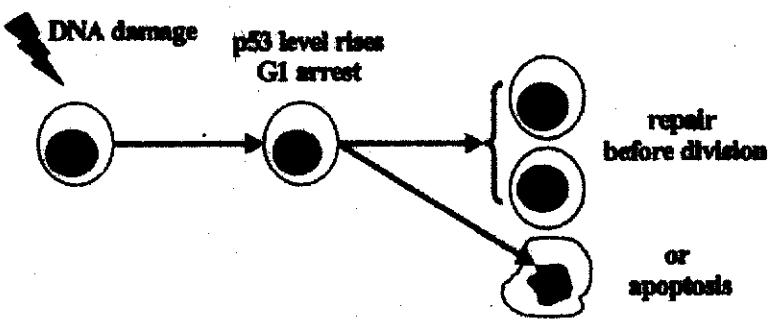
รูปที่ 1.16 Cell cycle checkpoints

G₁ / S checkpoint

ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันว่าโปรตีน P53 มีบทบาทสำคัญที่ดำเนินการ G₁ / S checkpoint โดยทำหน้าที่เป็นผู้ตรวจสอบความผิดปกติของสารพันธุกรรมของเซลล์ (genome – guarding function) ซึ่งอาจเกิดจากรังสี เนื้อไว้รัส หรือสารเคมี เป็นต้น ก่อตัวคือเมื่อเซลล์ได้รับอันตราย ณ กีดความผิดปกติของ DNA ขึ้น P53 จะถูกกระตุนให้ทำงาน (รูปที่ 1.17) โดยสร้างโปรตีน P53 ขึ้น ซึ่งโปรตีน P53 จะทำหน้าที่ควบคุมให้เกิดการหยุดของวัฏจักรเซลล์ไว้ที่ G₁ เพื่อซ่อน แซมหรือแก้ไข DNA ที่ผิดปกติ ก่อนที่จะเกิดการแบ่งตัวของเซลล์ต่อไป เซลล์ใดที่แก้ไขไม่ได้ P53 ก็จะกระตุนให้เซลล์ตายแบบ apoptosis (รูปที่ 1.18) นับเป็นวิธีการกำจัดเซลล์ที่ผิดปกติไม่ได้ เข้าสู่วัฏจักรเซลล์ เพราะมีจุดนี้จะส่งผลต่อการเกิดมะเร็งได้ กระบวนการทำงานของโปรตีน P53 เกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ เช่น ทำหน้าที่โดยการควบคุมยินให้ผิดตัวไปตีโปรตีน P21 ซึ่งเป็นโปรตีนที่สามารถขับขึ้นการทำงานของ cyclin D – cdk 4 complex ได้ ดังกล่าวแล้วว่าในสภาวะเซลล์ที่มี

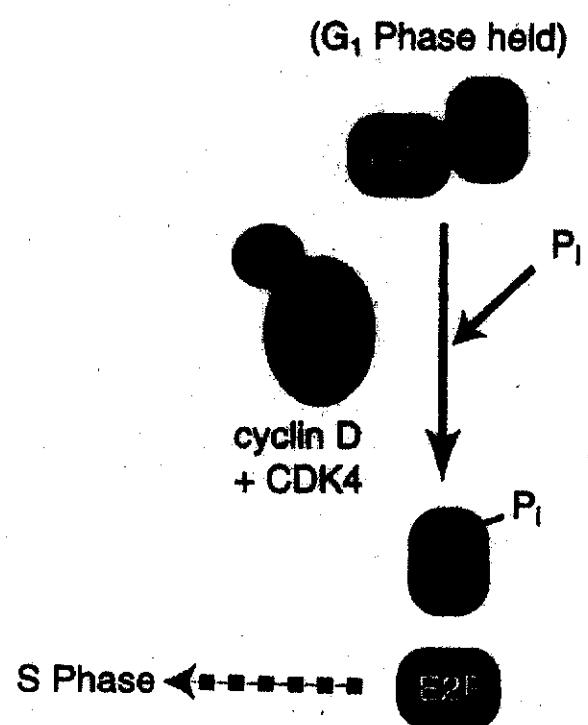


รูปที่ 1.17 การทำงานของ p53 ที่ G₁ / S checkpoint

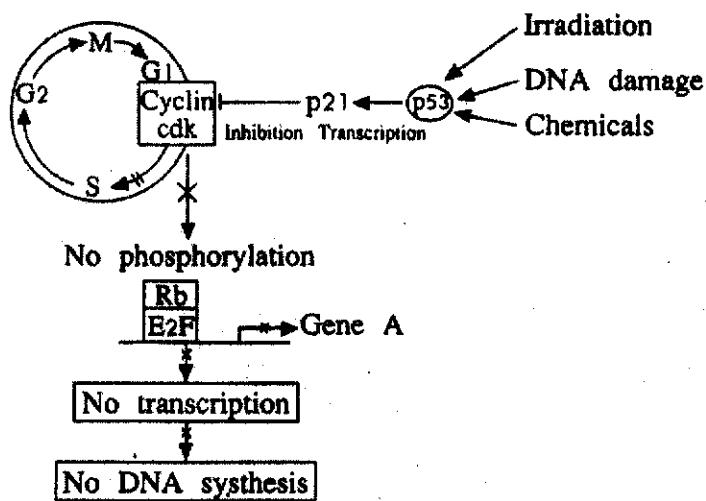


รูปที่ 1.18 P53 กระตุ้นให้เซลล์ตายแบบ apoptosis

DNA ปกติ (normal DNA) cyclin D – cdk 4 นี้เป็น complex ที่สามารถเดินฟอสฟेठให้กับ โปรตีน Rb ซึ่งส่งผลทำให้ โปรตีน E2F เป็นอิสระและทำให้เกิดกระบวนการ transcription ได้ (รูปที่ 1.19) แต่ในสภาวะ DNA ผิดปกติ (DNA damage) โปรตีน P21 ที่ถูกสร้างขึ้น จะไปขัดจักร้งงานของ cyclin D – cdk 4 กล่าวคือ cyclin D – cdk 4 ไม่สามารถเดินฟอสฟेठ (no phosphorylation) ให้กับ โปรตีน Rb ได้ ทำให้ โปรตีน Rb ขังคงอยู่ในสภาพที่จับกับ โปรตีน E2F ตามเดิม นั่นคือ กระบวนการ transcription ก็ไม่เกิดขึ้น เอนไซม์ที่จะเป็นสำหรับการสร้าง DNA ในระยะ S phase ก็ไม่มี เชกพิงค์บล็อกอยู่ในระยะ G₁ เช่นเดิม (รูปที่ 1.20) จะเห็นได้ว่า การทำงานของ โปรตีน P53 และ โปรตีน Rb จะทำงานร่วมกันเพื่อควบคุมวัฏจักรของเซลล์ ชนิดการกล่าวขานกันว่า โปรตีน P53 ทำหน้าที่เสมือนเป็น molecular policeman ในขณะที่ โปรตีน Rb ทำหน้าที่เสมือน เป็นเบรก (brake) ที่ G₁/S checkpoint



รูปที่ 1.19 การเกิดกระบวนการ G₁ transcription ในเซลล์癌



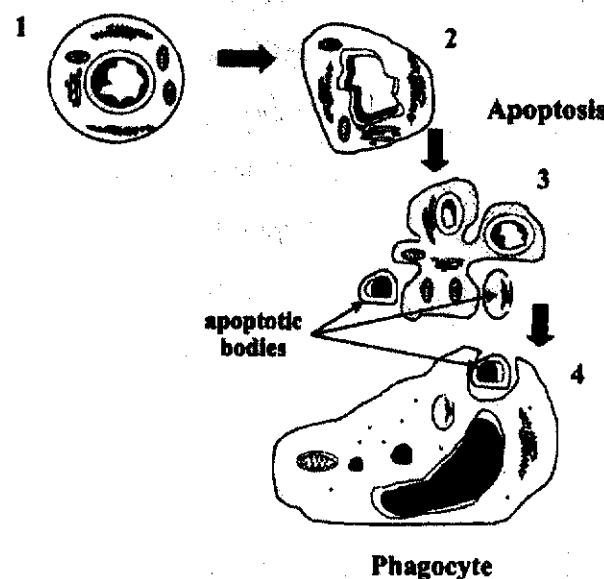
รูปที่ 1.20 การขับขึ้นกระบวนการ transcription เมื่อเซลล์ได้รับอันตราย

1.3 กระบวนการตายของเซลล์

กระบวนการตายของเซลล์ เกิดขึ้นเพื่อรักษาสมดุลของเซลล์ (cellular homeostasis) หรือกำจัดเซลล์ที่มีความผิดปกติที่ไม่สามารถแก้ไขหรือซ่อมแซมได้ ปัจจุบันได้นำคำว่า apoptosis มาใช้เรียกกระบวนการตายของเซลล์ ซึ่ง apoptosis นี้เป็นคำที่มาจากการกรีก หมายถึงการร่วงหล่น การตายของเซลล์โดยกระบวนการ apoptosis นี้ เกิดขึ้นจากการซักน้ำให้เกิด apoptosis ก่อน การซักน้ำนี้เกิดจากการกระตุ้นซึ่งอาจผ่านตัวรับที่ผิวเซลล์ หรือแทรกเข้าสู่เซลล์โดยตรงก็ได้ ตัวรับบางชนิดจะกระตุ้นให้เกิด apoptosis ได้โดยตรง แต่บางชนิดจะต้องส่งสัญญาณไปกระตุ้นตัวรับอื่น ๆ ก่อน ซึ่งจะกระตุ้นให้เกิด apoptosis ได้ อย่างไรก็คือเมื่อเซลล์เข้าสู่กระบวนการ apoptosis แล้ว จะออกจากการนี้ไม่ได้ เนื่องจากเป็นกระบวนการที่ไม่ย้อนกลับ (irreversible process) พบว่าหลังจากที่มีการกระตุ้นยืนที่ควบคุมการเกิด apoptosis แล้ว ก็จะเกิดการเปลี่ยน

เปล่งของสารภายในเซลล์ ด้วยกระบวนการสร้างสัญญาณต่อเนื่องภายในเซลล์ จากนั้นเซลล์จะเริ่มเปลี่ยนแปลงรูปร่าง พนวจจะมีการปล่อยแก๊สซีอิกออกจากเซลล์ ATP ภายในเซลล์จะลดต่ำลง โกรมาดินจะอัดแน่น มีการหดตัวของไข้ไฟลาสม์ นิวเคลียสฟื้อ มีการรักดัวของเยื่อหุ้มนิวเคลียส และเยื่อเซลล์จะหุ้มก้อนแบ่งส่วนของ DNA ที่แตกสลายออกเป็น apoptotic bodies ซึ่งจะถูกเม็ดเลือดขาวกินโดยวิธี phagocytosis (รูปที่ 1.21) อาจสรุปได้ว่ากระบวนการ apoptosis แบ่งได้เป็น 4 ระยะ คือ

1. ระยะกระตุ้นให้เกิด apoptosis
2. ระยะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆ ภายในเซลล์
3. ระยะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางลักษณะรูปร่าง
4. ระยะที่ถูกกินโดยเซลล์เม็ดเลือดขาว



รูปที่ 1.21 กระบวนการ apoptosis

สรุปสาระสำคัญ

ก่อนเรามีอีกการดำเนินมาทางเซลล์ไปที่ได้รับการปฏิสนธิ จากนั้นจะเข้าสู่วัฏจักรเซลล์เพื่อแบ่งเซลล์ (cell proliferation) และพัฒนาเปลี่ยนแปลงไปร่าง (cell differentiation) ไปท่าหน้าที่ต่าง ๆ กัน เมื่อเซลล์พัฒนาเต็มที่แล้ว เซลล์อาจจะหยุดการแบ่งตัว หรือยังคงแบ่งตัวต่อไป ขึ้นอยู่กับความต้องการของร่างกาย นั่นคือร่างกายมีระบบการควบคุมการแบ่งตัวของเซลล์ อันได้แก่ การทำงานของ growth factors ซึ่งจะกระตุ้นให้เซลล์เกิดการแบ่งตัว ผ่านกลไกการส่งต่อสัญญาณ โดยอาจขึ้นกับตัวรับภายในเซลล์ หรือตัวรับที่อยู่บนผิวเซลล์ก็ได้ นอกจากนี้ยังมีกลไกการควบคุมวัฏจักรเซลล์ ซึ่งเกิดจากการทำงานของ cyclin protein และเอนไซม์ protein kinase ในรูป complex ซึ่งจะทำงานในระยะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจากการจะหนึ่งไปสู่ระยะหนึ่ง (transition point) ของวัฏจักรเซลล์ คือระยะ G₁ phase เข้าสู่ S phase และระยะ G₂ phase เข้าสู่ M phase และนอกจากจะมีการควบคุมให้เกิดความสมดุลของเซลล์ในสิ่งมีชีวิตแล้ว เซลล์ยังมีกระบวนการตรวจสอบเซลล์ (cell cycle checkpoints) เพื่อป้องกันและกำจัดเซลล์ที่เกิดความผิดปกติ ก่อนเข้าสู่วัฏจักรเซลล์ตัวย กล่าวคือเมื่อตรวจพบว่าเซลล์มีความผิดปกติ เซลล์จะถูกหยุดเพื่อรับการแก้ไข หรือซ่อมแซมสารพันธุกรรมก่อน จึงจะเข้าสู่วัฏจักรเซลล์ต่อไปได้ แต่ถ้าไม่สามารถแก้ไขได้ เซลล์ก็จะเข้าสู่ภาวะ apoptosis หรือกระบวนการตายของเซลล์นั้นเอง