# บทที่ 13
# พันธุกรรมของแบคทีเรีย
# (Bacterial Genetics)

หลังจากที่ Mandel ค้นพบการถ่ายทอดลักษณะต่าง ๆ ในพืชและ Beijerinck เสนอความคิดเห็นว่าแบคทีเรียมีหลักการในการถ่ายทอดลักษณะต่าง ๆ เหมือนกับสิ่งมีชีวิตชั้นสูง นักวิทยาศาสตร์ได้ทำการศึกษาพันธุกรรมของแบคทีเรียกันอย่างกว้างขวาง ในระหว่างแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ แบคทีเรียที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษามากที่สุด ได้แก่ *Escherichia coli* ผลของการศึกษาพบว่า กรดนิวคลีอิคคือ DNA เป็นสารพันธุกรรมซึ่งทำหน้าที่ในการถ่ายทอดลักษณะต่าง ๆ ไปยังลูกหลาน โดยมีหน่วยพันธุกรรม (genetic unit)หรือยีนควบคุมลักษณะต่าง ๆ ที่ถ่ายทอด ยีนเป็นลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ช่วงหนึ่งในเส้น DNA ซึ่งมีลำดับการเรียงตัวของเบสเฉพาะ

การใช้แบคทีเรียศึกษาพันธุศาสตร์มีข้อดีมากกว่าการใช้พืชหรือสัตว์ชั้นสูง ทั้งนี้เนื่องจากในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียใช้พื้นที่น้อยและแบคทีเรียยังสามารถแบ่งเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้ประชากรมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นในชั่วระยะเวลาอันสั้น จึงเป็นเหตุให้มีโอกาสพบเซลล์ซึ่งมียีนเปลี่ยนไปอย่างถาวรแล้วถ่ายทอดยีนที่เปลี่ยนไปยังลูกหลานได้ในระยะเวลาอันสั้นด้วย แบคทีเรียที่มียีนเปลี่ยนไปดังกล่าวเรียกว่ามิวแต้นต์ (mutant) ส่วนการเปลี่ยนไปของยีนตามที่กล่าวมาเรียกว่ามิวเตชั่น (mutation) การเปลี่ยนแปลงของยีนนอกจากเกิดขึ้นเนื่องจากมิวเตชั่นแล้วยังเกิดขึ้นเนื่องจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ซึ่งมีการถ่ายทอดสารพันธุกรรมจากแบคทีเรียตัวให้สารพันธุกรรม (genetic donor) ไปยังแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรม (genetic recipient) แล้วเกิดการรวมตัวใหม่ของยีน (recombination) การถ่ายทอดสารพันธุกรรมดังกล่าวนี้เกิดขึ้นได้ 3 วิธีคือ ทรานสดักชั่น (transduction)ทรานสฟอร์เมชั่น (transformation) และคอนจูเกชั่น (conjugation)

## มิวเตชั่น

แบคทีเรียที่ทำการเพาะเลี้ยงอาจจะแสดงลักษณะต่าง ๆ แตกต่างกันเมื่อมีอายุไม่เท่ากันและเจริญในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมือนกัน เช่น *Escherichia coli* ซึ่งมีอายุ 2-3 ชั่วโมง เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนยาวแต่เมื่อมีอายุมากขึ้นเซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น *Rhizobium* sp. ซึ่งเจริญตามธรรมชาติในรากพืชตระกูลถั่วมีรูปร่างไม่แน่นอนอาจจะคล้ายตัว T, W, X หรือ Z แต่เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีรูปร่างเป็นรูปท่อน *Bacillus antracis* สร้างแคปซูลเมื่อเจริญในร่างกายของสัตว์ *Leuconostoc* sp. สร้างแคปซูลเมื่อเจริญในอาหารที่มีซูโครส *Escherichia coli* สังเคราะห์เอ็นไซม์เหนี่ยวนำเพื่อย่อยแลคโตสเมื่อเจริญในที่มีแลคโตส *Lactobacillus arabinosus* สังเคราะห์ไทโรซีนและเฟนิลอะลานีนขึ้นได้เองเมื่อเจริญที่อุณหภูมิ 26°ซ. แต่ไม่สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดนี้ขึ้นได้เองเมื่อเจริญที่อุณหภูมิ 37°ซ. การเปลี่ยนแปลงตามที่ได้กล่าวมาไม่ได้เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของยีนและไม่สามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงนั้นยังกลับคืนสู่สภาพเดิมเมื่ออายุและสภาวะแวดล้อมที่แบคทีเรียเจริญกลับมาเหมือนเดิม เราเรียกการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียแบบนี้ว่าการเปลี่ยนพันธุ์ของแบคทีเรีย (bacterial variation)

สำหรับมิวเตชั่นของแบคทีเรียเป็นการเปลี่ยนไปของยีนซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากลำดับของนิวคลีโอไทด์หรือลำดับของเบสในเส้นสาย DNA เปลี่ยนไป นิวคลีโอไทด์ในเส้นสาย DNA หายไปหรือเพิ่มขึ้นมา ทั้งนี้เพราะว่าเกิดการผิดพลาดในการลอก (replication) เส้นสาย DNA ใหม่ เช่น AT เข้าไปแทนที่ GC AT หายไปหรือเพิ่มขึ้นมา มิวเตชั่นของแบคทีเรียเกิดขึ้นแบบสุ่ม คือ ไม่สามารถทำนายได้ว่าจะเกิดขึ้นกับเซลล์ไหนหรือเกิดขึ้นตรงตำแหน่งใดของโครโมโซม และเนื่องจากแบคทีเรียมีโครโมโซมเพียงอันเดียว ดังนั้นเมื่อเกิดมิวเตชั่น แบคทีเรียจะแสดงลักษณะการเกิดมิวเตชั่นออกมาให้เห็นได้ทันที แบ่งมิวเตชั่นของแบคทีเรียออกได้เป็น 2 แบบคือ มิวเตชั่น

ซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญ (spontaneous mutation) และมิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากมีตัวเหนี่ยวนำ (induced mutation)

**มิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญ** ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย เซลล์ส่วนใหญ่ซึ่งได้จากการแบ่งเซลล์มีลักษณะเหมือนเดิม ขณะเดียวกันมีแบคทีเรียบางเซลล์ซึ่งเป็นส่วนน้อยมากเกิดมิวเตชั่นขึ้นแต่เราไม่สามารถพบได้ เนื่องจากถูกแบคทีเรียซึ่งเป็นประชากรส่วนใหญ่ครอบคลุมลักษณะที่เกิดมิวเตชั่นไว้ ด้วยเหตุนี้เมื่อต้องการแยกแบคทีเรียที่เกิดมิวเตชั่นออกจากประชากรส่วนใหญ่จึงต้องใช้วิธีเฉพาะ

สมัยแรกที่พบมิวเตชั่นของแบคทีเรีย นักวิทยาศาสตร์มีความคิดเห็นขัดแย้งกันว่ามิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญเกิดขึ้นเองหรือสิ่งแวดล้อมเป็นตัวทำให้เกิดขึ้น ความคิดเห็นขัดแย้งดังกล่าวยุติลงในปี คศ. 1943 โดย Luria และ Delbruck ได้แสดงให้เห็นว่ามิวเตชั่นของแบคทีเรียซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ด้วยการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่อ่อนแอต่อฝาจ (phage) แล้วแบ่งเซลล์ที่ทำการเพาะเลี้ยงออกเป็นหลายส่วนเท่า ๆ กัน ต่อมานำแบคทีเรียที่แบ่งนี้ไปเพาะเลี้ยงเหมือน ๆ กันบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีฝาจอยู่ พบว่าแต่ละส่วนมีจำนวนแบคทีเรียซึ่งต้านทานต่อฝาจเจริญอยู่ไม่เท่ากัน แสดงให้เห็นว่ามิวเตชั่นที่ต้านทานต่อฝาจนี้เกิดขึ้นเองโดยบังเอิญและเกิดขึ้นก่อนที่แบคทีเรียจะมาสัมผัสกับฝาจ ทั้งนี้เพราะว่าถ้าเป็นการปรับตัวเพื่อเข้ากับสภาวะแวดล้อมแล้วจำนวนแบคทีเรียซึ่งต้านทานต่อฝาจในแต่ละส่วนจะเท่ากัน ต่อมาในปี ค.ศ. 1952 J. Lederberg และE.M. Lederberg ได้สนับสนุนผลงานของ Luria และ Delbruck จากการประสบความสำเร็จในการคิดวิธีแยกมิวแต้นต์ที่เรียกว่า เร็พพลิกา-เพลตติ้งเทคนิค (replica-plating technique)

โดยทั่วไปมิวแต้นต์ที่ต้านทานต่อฝาจจะมีลักษณะอื่น ๆ เหมือนเซลล์เดิมที่ยอมรับฝาจ แต่ในบางครั้งมิวแต้นต์ที่ต้านทานต่อฝาจอาจจะมีลักษณะบางลักษณะแตกต่างไปจากเซลล์เดิมที่อ่อนแอต่อฝาจ เช่น รูปร่าง คุณสมบัติทางชีวเคมีและลักษณะโคโลนี เมื่อนำมิวแต้นต์ที่ต้านทานต่อฝาจ

ไปเพาะเลี้ยงในที่ไม่มีฝาจหลาย ๆ เจนเนอเรชั่น แบคทีเรียยังคงมีความต้านทานต่อฝาจอยู่

การเปลี่ยนแปลงแบคทีเรียเนื่องจากมิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญมีการเปลี่ยนแปลงบางอย่างเหมือนกับการเปลี่ยนพันธุ์ของแบคทีเรียเนื่องจากสภาวะแวดล้อม เช่น การเปลี่ยนแปลงสีของโคโลนีและการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการเจริญบางชนิด ด้วยเหตุนี้เมื่อพบการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียจึงควรทำการตรวจสอบให้แน่นอนว่าเกิดขึ้นเนื่องจากสภาวะแวดล้อมหรือมิวเตชั่น การเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียเนื่องจากมิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญมีหลายประเภทคือ

1. การเปลี่ยนแปลงลักษณะโคโลนี เช่น โคโลนีเรียบกลายเป็นโคโลนีหยาบและการเปลี่ยนแปลงสีของโคโลนี

2. การมีความต้านทานต่อสารเคมีและสารปฏิชีวนะ

3. การมีความต้านทานต่อฝาจหรือแบคเทอริโอฝาจ (bacteriophage)

4. การมีความต้านทานต่อรังสี

5. การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางชีวเคมี เช่น การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการใช้สารประกอบซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอน ความสามารถในการหมักและความสามารถในการสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการเจริญ

6. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์แล้วทำให้คุณสมบัติในการเป็นแอนติเจนเปลี่ยนไป เช่น แบคทีเรียเปลี่ยนแปลงแล้วไม่สร้างแฟลกเจลล่าและแคปซูลทำให้สูญเสียแอนติเจนของแฟลกเจลล่าและแคปซูลไป

**มิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากมีตัวเหนี่ยวนำ** มิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากมีตัวเหนี่ยวนำเป็นมิวเตชั่นที่เกิดขึ้นจากการใช้มิวตาเจน (mutagen) มิวเตชั่นแบบนี้จะเกิดขึ้นในอัตราที่สูงมากกว่ามิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญมาก ทั้งนี้เพราะว่ามิวตาเจนช่วยเพิ่มอัตราการเกิด

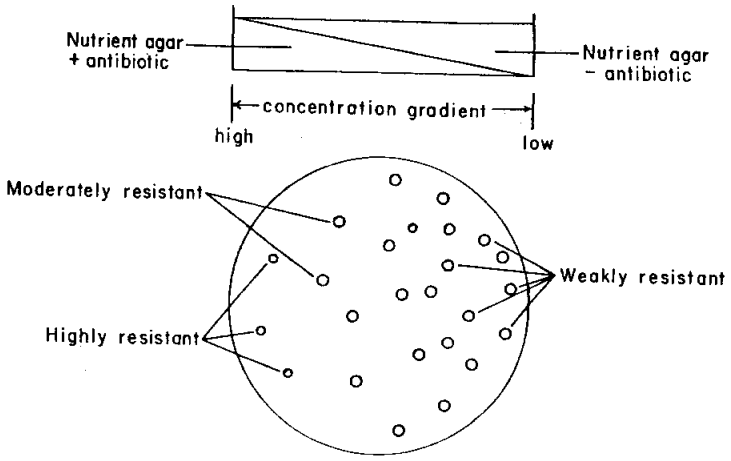
มิวเตชั่นโดยบังเอิญให้มากขึ้น มิวตาเจนที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ รังสีเอกซ์ รังสีคอสมิค แสงอุลตราไวโอเล็ตและสารประกอบมัสตาร์ด (mustard compound)

**วิธีแยกมิวแต้นต์** การแยกมิวแต้นต์ออกจากประชากรส่วนใหญ่ทำได้หลายวิธีดังนี้

1. วิธีแยกมิวแต้นต์ที่มีความต้านทานโดยตรง วิธีนี้ใส่สารที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ เช่น สแตรปโตมัยซิน (streptomycin) ลงบนอาหารเพาะเชื้อ หลังจากนั้นนำแบคทีเรียจำนวนเซลล์สูง ๆ มาทำการเพาะเลี้ยง ผลจากการเพาะเลี้ยงจะพบโคโลนีของแบคทีเรียซึ่งมีความต้านทานต่อสแตรปโตมัยซิน 2-3 โคโลนีเจริญอยู่ ต่อมาแยกเชื้อที่มีความต้านทานต่อสแตรปโตมัยซินให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์แล้วทำการตรวจความต้านทานต่อสแตรปโตมัยซินอีกครั้งหนึ่ง เพื่อให้แน่ใจว่าได้มิวแต้นต์ที่มีความต้านทานต่อสแตรปโตมัยซินจริง

2. เกรเดี้ยนต์เพลตเทคนิค (gradient plate technique) ในปี ค.ศ. 1952 Szybalski และ Bryson เป็นคนแรกซึ่งนำวิธีนี้มาใช้แยกมิวแต้นต์ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีชนิดเดียวกันไม่เท่ากัน

วิธีแยกมิวแต้นต์แบบนี้ทำได้โดยเติมสารเคมีที่ต้องการตรวจสอบในปริมาณที่ต้องการลงไปในอาหารเพาะเชื้อซึ่งหลอมเหลวอยู่ เขย่าให้เข้ากันแล้วเทลงไปในจานเพาะเชื้อซึ่งวางเอียงไว้ ปล่อยให้อาหารเพาะเชื้อที่มีสารเคมีผสมอยู่นี้แข็ง ต่อมาวางจานเพาะเชื้อให้เสมอเทอาหารเพาะเชื้อที่ไม่มีสารเคมีทับลงไปอีกชั้นหนึ่งแล้ววางทิ้งไว้จนอาหารเพาะเชื้อแข็ง ดังรูปที่ 13-1 ต่อมานำแบคทีเรียซึ่งมีจำนวนเซลล์ประมาณ $10^6$ - $10^9$ เซลล์มาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ ผลจากการเพาะเลี้ยงจะได้แบคทีเรียที่ทนทานต่อสารเคมีไม่เท่ากันจากตำแหน่งต่าง ๆ บนอาหารเพาะเชื้อ แบคทีเรียซึ่งแยกได้จากอาหารเพาะเชื้อด้านที่มีความเข้มข้นของสารเคมีสูงก็จะมีความต้านทานต่อสารเคมีสูงกว่าแบคทีเรียที่แยกได้จากอาหารเพาะเชื้อด้านที่มีความเข้มข้นของสารเคมีต่ำ




รูปที่ 13-1 เกรเดี้ยงต์เพลตเทคนิคสำหรับแยกมิวแต้นต์

3. เร็พพลิกาเพลตติ้งเทคนิค เป็นวิธีที่ใช้แยกแบคทีเรียพวกออโซโทรฟและมิวแต้นต์ที่มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ แบคทีเรียพวกออโซโทรฟไม่สามารถเจริญบนอาหารที่มีอาหารสำหรับการเจริญน้อย (minimal medium) เนื่องจากไม่สามารถสังเคราะห์สารบางชนิดซึ่งจำเป็นสำหรับการเจริญขึ้นได้เอง ด้วยเหตุนี้ในการเพาะเลี้ยงจึงต้องใช้อาหารซึ่งมีธาตุอาหารสำหรับการเจริญอยู่ครบ (complete medium) แบคทีเรียชนิดนี้เป็นมิวแต้นต์ของแบคทีเรียพวกโปรโตโทรฟซึ่งเจริญได้บนอาหารที่มีอาหารสำหรับการเจริญน้อยอัตราการเกิดมิวแต้นต์ดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นเมื่อทำให้แบคทีเรียพวกโปรโตโทรฟโดนแสงอุลตราไวโอเล็ต

ในการแยกแบคทีเรียพวกออโซโทรฟโดยวิธีนี้ เริ่มด้วยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหารซึ่งมีธาตุอาหารสำหรับการเจริญอยู่ครบ ต่อมาใช้กระบอกไม้ปราศจากเชื้อที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับจานเพาะเชื้อและมีผ้ากำมะหยี่ห่ออยู่ตรงส่วนปลายกดลงบนจานเพาะเชื้อ เพื่อให้โคโลนีของแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อติดบนผ้ากำมะหยี่เป็นจำ ๆ ตามตำแหน่งของโคโลนี หลังจากนั้น

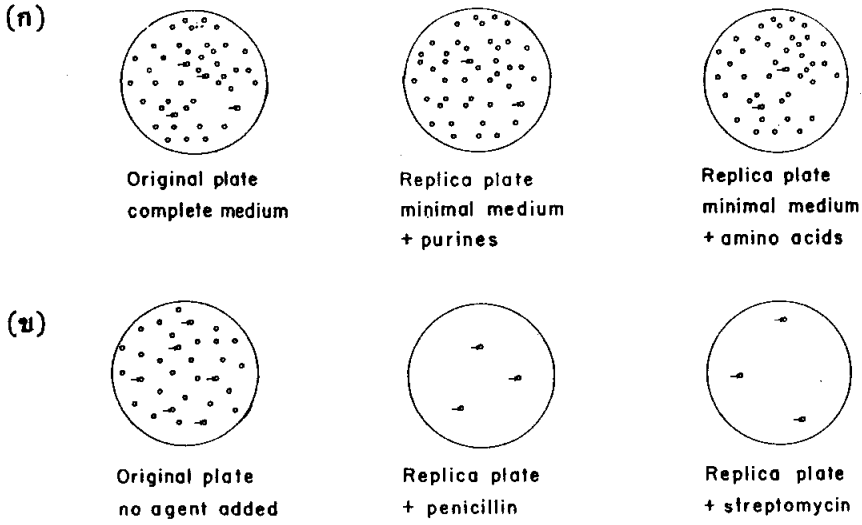
นำกระบอกไม้ไปกดลงบนจาน เพาะ เชื้อใหม่ที่มีอาหารสำหรับการ เจริญน้อยผสมกับ เพียวรีนหรือ กรดอะมิโน การกดกระบอกไม้ลงบนจาน เพาะ เชื้อใหม่นี้ตำแหน่งโคโลนีในจาน เพาะ เชื้อ เดิมตรง กับตำแหน่งในจาน เพาะ เชื้อใหม่ทำให้สามารถตรวจสอบโคโลนีที่หายไปในจาน เพาะ เชื้อใหม่ได้ ทั้งนี้เพราะว่า เฉพาะแบคที เรียพวกโปรโตโทรฟ เท่านั้นที่สามารถ เจริญบนจาน เพาะ เชื้อใหม่ ส่วนแบคที เรียพวกออโซโทรฟที่มีอยู่ในจาน เพาะ เชื้อ เดิมจะไม่สามารถ เจริญบนจาน เพาะ เชื้อใหม่ ได้ (รูปที่ 13-2)

สำหรับการแยกแบคที เรียที่มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะโดยวิธีนี้ก็ปฏิบัติในทำนอง เดียวกันกับการแยกแบคที เรียพวกออโซโทรฟ ต่างกันตรงส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ในการ เพาะ เลี้ยง คือ ในการแยกแบคที เรียที่มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ อาหารที่ใช้ในการ เพาะ เลี้ยง แต่ละครั้ง เป็นชนิด เดียวกัน แต่การ เพาะ เลี้ยงแบคที เรียครั้งแรกไม่ได้ เติมสารปฏิชีวนะลงไปใน อาหาร ส่วนการ เพาะ เลี้ยงแบคที เรียใหม่จากแบคที เรียที่ เพาะ เลี้ยงครั้งแรกมีการ เติมสาร ปฏิชีวนะที่ต้องการตรวจสอบลงไปในอาหารด้วย โคโลนีที่ เจริญในอาหาร เพาะ เชื้อที่ เติมสาร ปฏิชีวนะ เป็นโคโลนีของแบคที เรียที่มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะนั้น ดังรูปที่ 13-2

เร็พพลิกา เพลตติ้ง เทคนิคนอกจากจะใช้แยกมิวแต้นต์ของแบคที เรียแล้วยัง เป็นวิธีที่ แสดงให้เห็นว่า มิวแต้นต์นั้น เกิดขึ้น เองโดยบัง เอิญและ เกิดขึ้นก่อนที่จะมาสัมผัสกับสารปฏิชีวนะ

4. เพ็นนิซิลลินซิ เล็คชั่น เทคนิค (penicillin selection technique) นิยมใช้วิธีนี้แยกแบคที เรียพวกออโซโทรฟ โดยถือหลักว่า เพ็นนิซิลลินฆ่า เซลล์ที่กำลังแบ่ง เซลล์ได้ดี ดังนั้นจึงใช้ เพ็นนิซิลลินฆ่าแบคที เรียพวกโปรโตโทรฟ เพื่อทำให้มีจำนวน เซลล์ลดลงแล้วแยกแบคที เรีย พวกออโซโทรฟได้ง่ายขึ้น

การแยกแบคที เรียโดยวิธีนี้ เริ่มด้วยการใช้มิวตา เจนทำให้แบคที เรียพวกออโซโทรฟที่มี อยู่ในประชากรของแบคที เรียมีจำนวน เพิ่มมากขึ้น ต่อมา เพาะ เชื้อลงบนอาหารซึ่งมีธาตุอาหาร สำหรับการ เจริญอยู่ครบ หลังจากนั้นนำ เชื้อที่ เจริญบนอาหารซึ่งมีธาตุอาหารอยู่ครบไปล้างด้วยน้ำ




รูปที่ 13-2 เร็พพลิกา เพลตติ้ง เทคนิค

(ก) วิธีแยกแบคทีเรียพวกออโซโทรฟ

(ข) วิธีแยกแบคทีเรียที่มีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ

กลั้น เพื่อขจัดเศษอาหารที่ติดมากับเซลล์แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีอาหารสำหรับการเจริญน้อยซึ่งมีเพ็นนิซิลลินผสมอยู่ด้วย ในตอนนี้เฉพาะแบคทีเรียพวกโปรโตโทรฟเท่านั้นที่เจริญได้และเซลล์ที่เจริญจะถูกฆ่าโดยเพ็นนิซิลลิน ส่วนแบคทีเรียพวกออโซโทรฟไม่เจริญและยังคงมีชีวิตอยู่ ต่อมานำแบคทีเรียที่ยังคงมีชีวิตอยู่ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารซึ่งมีธาตุอาหารอยู่ครบแล้วนำแบคทีเรียที่เจริญไปตรวจสอบหาพวกออโซโทรฟ โดยใช้เร็พพลิกา เพลตติ้ง เทคนิค คือ เพาะเลี้ยงบนอาหารซึ่งมีธาตุอาหารอยู่ครบและบนอาหารที่มีอาหารสำหรับการเจริญน้อยแล้วตรวจสอบโคโลนีที่หายไป

## ทรานสดักชั่น

ในปี ค.ศ.1952 N. Zinder และ J. Lederberg ศึกษาการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA หรือยีนของ *Salmonella* sp. แล้วค้นพบวิธีทรานสดักชั่น การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยวิธีนี้ มีแบคเทอริโอฟาจเป็นตัวนำชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียตัวหนึ่งไปยังแบคทีเรียอีกตัวหนึ่ง ดังนั้นในการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA จึงไม่จำเป็นต้องมีการสัมผัสระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสอง การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA จะเกิดขึ้นระหว่างสายพันธุ์ต่าง ๆ ของแบคทีเรียซึ่งอยู่ในจีนัสและสปีชี่เดียวกันหรือเกิดขึ้นกับแบคทีเรียจีนัสเดียวกันแต่ต่างสปีชี่ที่มีความใกล้ชิดกันมาก

ปกติการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยวิธีนี้ถ่ายทอดได้เฉพาะชิ้นส่วนเล็ก ๆ ของ DNA ทั้งนี้เพราะว่าเปลือกหุ้มของแบคเทอริโอฟาจมีความจุจำกัดคือ นำได้เฉพาะชิ้นส่วนเล็ก ๆ ของ DNA ด้วยเหตุนี้เมื่อเกิดทรานสดักชั่นมักจะพบการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่าง ๆ ครั้งละ 1 ลักษณะ ยกเว้นในกรณีที่ลักษณะ 2 ลักษณะนั้นอยู่ติดกันมาก แบคเทอริโอฟาจจึงสามารถนำไปครั้งละ 2 ลักษณะแล้วถ่ายทอดไปพร้อม ๆ กัน เราเรียกทรานสดักชั่นที่ถ่ายทอดไปครั้งละ 2 ลักษณะว่าโคทรานสดักชั่น (cotransduction)

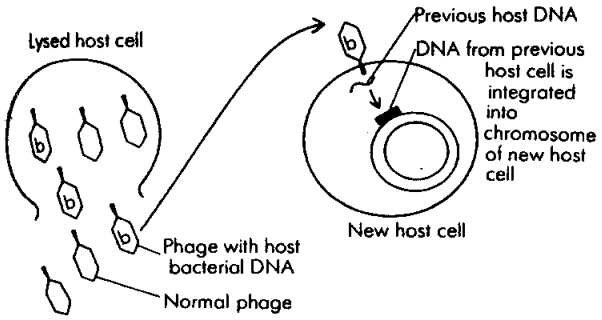
**กระบวนการทรานสดักชั่น** แบคทีเรียบางสายพันธุ์มีแบคเทอริโอฟาจเข้าไปอยู่โดยมิได้ทำลายเซลล์แบคทีเรีย คือ มันจะเพิ่มจำนวนต่อเมื่อแบคทีเรียซึ่งเป็นโฮสต์ (host) เพิ่มจำนวนเท่านั้น แบคเทอริโอฟาจชนิดนี้เมื่ออยู่ภายในเซลล์แบคทีเรียตรงส่วนไซโตพลาสซึมเรียกว่าเท็มเพอเรตฟาจ (temperate phage) หรือเวเจ็ทเตตีฟาจ (vegetative phage) แต่เมื่อแบคเทอริโอฟาจชนิดนี้เข้าไปอยู่ตรงส่วนโครโมโซมของแบคทีเรียด้วยการไปเชื่อมต่อกับ DNA ของแบคทีเรียเรียกว่า โปรฟาจ (prophage) เซลล์แบคทีเรียซึ่งมีโปรฟาจอยู่ภายในเซลล์เรียกว่า ไลโซจินิคแบคทีเรีย (lysogenic bacteria) ส่วนปรากฏการณ์ที่ยีนของโปรฟาจไปมีอิทธิพลต่อฟีโนไทพ์ (phenotype) ของแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์เรียกว่า ไลโซจินิค-คอนเวอร์ชั่น (lysogenic conversion) เช่น ทำให้แบคทีเรียสร้างแฟลกเจลล่า ทำให้

แบคทีเรียมีความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะและทำให้แบคทีเรียสร้างท้อกซิน แบคทีเรียที่สร้างท้อกซินเนื่องจากยีนของไปรฝาจได้แก่ *Corynebacterium diphtheriae* สแตรปโตคอคไคหมู่เอ *Clostridium botulinum* ชนิดซี (C) และดี (D)

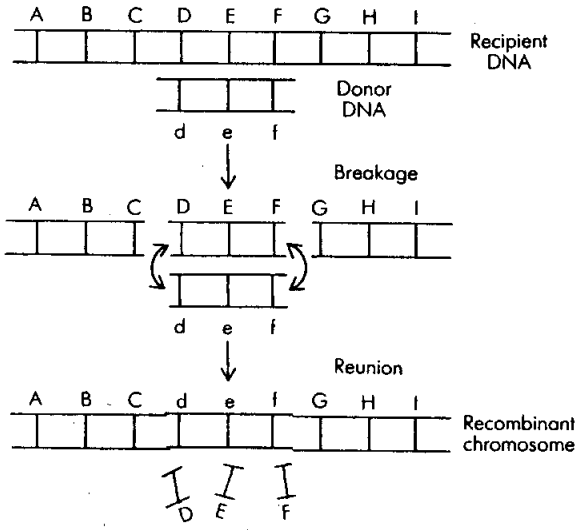
ยีนของไปรฝาจซึ่งทำให้ให้ฟีโนไทพ์ของแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์เปลี่ยนแปลงไม่มีผลใด ๆ ต่อการดำรงชีวิตของฝาจ คือ เมื่อกำจัดออกไปแล้วไปรฝาจนั้นยังคงเพิ่มจำนวนได้ตามปกติ โดยทั่วไปเมื่อไปรฝาจเข้าไปอยู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์แล้วจะป้องกันมิให้ไปรฝาจอื่นเข้าไปได้อีก ยกเว้นมีไวรูเล้นต์ฝาจ (virulent phage) จำนวนมากมายในสภาวะแวดล้อมที่ไลโซจินิคแบคทีเรียอยู่ ไวรูเล้นต์ฝาจอาจจะเข้าไปภายในเซลล์ไลโซจินิคแบคทีเรียได้

ในบางครั้งไปรฝาจที่อยู่ภายในเซลล์แบคทีเรียจะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วและมากมายแบบไวรูเล้นต์ฝาจ แล้วทำให้เซลล์แบคทีเรียที่เป็นโฮสต์แตก ปรากฏการณ์นี้จะเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญและเกิดขึ้นกับประชากรส่วนน้อยคือ ประมาณ 2-3 เซลล์ของประชากรแบคทีเรียทั้งหมด เราสามารถชักนำให้เกิดปรากฏการณ์นี้เพิ่มขึ้นด้วยการใช้แสงอุลตราไวโอเล็ต ไปรฝาจที่ถูกปล่อยออกมาเมื่อเซลล์แบคทีเรียที่เป็นโฮสต์แตกจะนำชิ้นส่วน DNA ของแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์ติดมาด้วย แล้วปล่อยชิ้นส่วน DNA ของแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์ผ่านรูที่ผนังเซลล์เข้าไปยังไซโตพลาสซึมของแบคทีเรียใหม่ (รูปที่ 13-3) เมื่อแบคทีเรียใหม่ได้รับชิ้นส่วนของ DNA จากไปรฝาจ แบคทีเรียใหม่จะสังเคราะห์ DNA อีก 1 เส้นขึ้นมาจับคู่กับชิ้นส่วนของ DNA ที่ได้รับ โดยอาศัยกฎการจับคู่ของเบส ต่อมา DNA ของแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์เดิมและ DNA ของแบคทีเรียใหม่จะรวมเป็นอันหนึ่งอันเดียวกัน โดยเกิดการรวมตัวใหม่ของยีน (recombination) แล้วได้โครโมโซมที่เกิดจากการรวมตัวใหม่ของยีน ดังรูปที่ 13-4

การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ตามที่ได้กล่าวมาจะเห็นว่าเฉพาะชิ้นส่วน DNA ของแบคทีเรียถูกถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียเซลล์ใหม่ ทำให้แบคทีเรียเซลล์ใหม่กลายเป็นมิโรไซโกต (merozygote) คือมีโครโมโซมเป็นดิพพลอยด์ (diploid) ไม่สมบูรณ์ เป็นดิพพลอยด์เฉพาะ




รูปที่ 13-3 การถ่ายทอดยีนแบบทรานสดักชั่น




รูปที่ 13-4 โครโมโซมที่เกิดจากการรวมตัวใหม่ของยีน

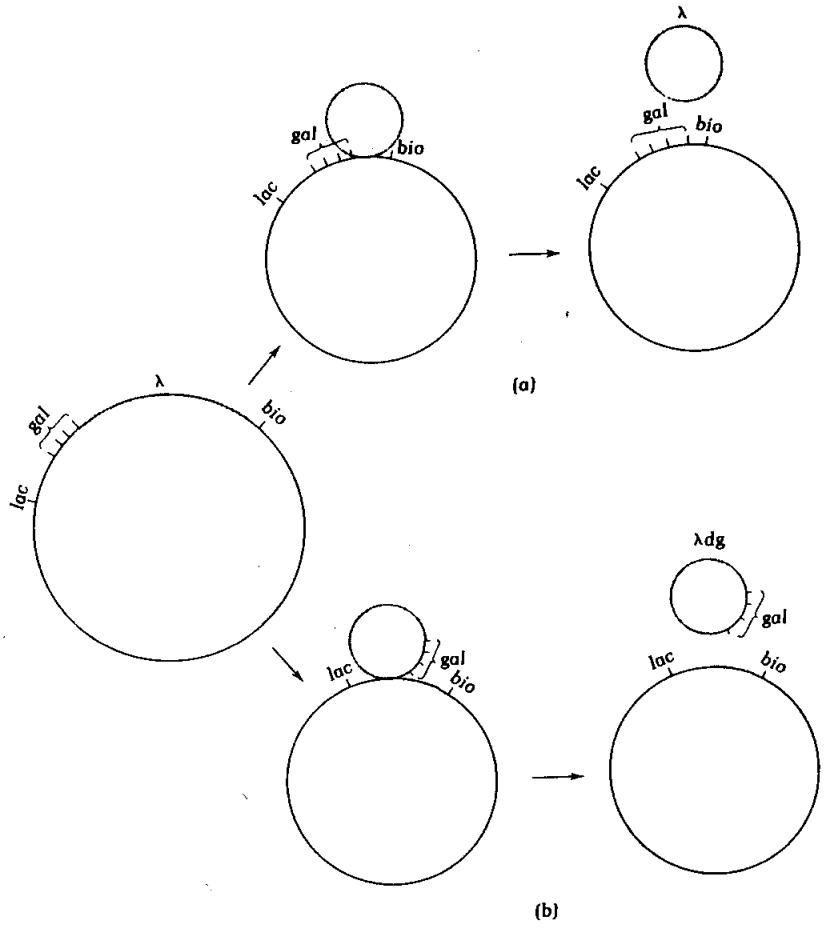
ตรงส่วน DNA ที่ถูกถ่ายทอดและตรงส่วน DNA ของเซลล์รับสารพันธุกรรมที่จะเกิดการรวมตัวใหม่ของยีน (รูปที่ 13-4) การรวมตัวใหม่ของยีนจะเกิดขึ้นเฉพาะตรงส่วนดิพพลอยด์เท่านั้น หลังจากเกิดการรวมตัวใหม่ของยีนแล้วแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมมี 1 โครโมโซมเหมือนเดิม

**ชนิดของทรานสดักชั่น** โดยทั่วไปแบ่งทรานสดักชั่นออกได้ดังนี้

1. เจ็นเนอราลไลส์ทรานสดักชั่น (generalized transduction) เป็นทรานสดักชั่นที่เกิดขึ้นเนื่องจากแบคเทอริโอฝาจทำหน้าที่ถ่ายทอดยีนช่วงใดช่วงหนึ่งก็ได้ของโครโมโซมของแบคทีเรีย

2. เรสทริคเต็ดทรานสดักชั่น (restricted transduction) หรือสเพ็คเชี่ยลไลส์ทรานสดักชั่น (specialized transduction) เป็นทรานสดักชั่นที่เกิดขึ้นเนื่องจากแบคเทอริโอฝาจทำหน้าที่ถ่ายทอดเฉพาะยีนช่วงใดช่วงหนึ่งของโครโมโซมของแบคทีเรีย ยีนที่ถูกถ่ายทอดโดยวิธีเรสทริคเต็ดทรานสดักชั่นเป็นยีนของแบคทีเรียซึ่งอยู่ใกล้ชิดกับโปรฝาจเท่านั้น โดยเกิดการผิดพลาดในการตัดขาดของโปรฝาจ ทำให้โปรฝาจมียีนของแบคทีเรียบางส่วนมาแทนที่ยีนของตนเอง เช่น แลมบ์ดาโปรฝาจ (λ prophage) ของ *Escherichia coli* ทำหน้าที่ถ่ายทอดเฉพาะยีนซึ่งเกี่ยวข้องในการหมักน้ำตาลกาแลคโตส (gal gene) เมื่อเกิดการผิดพลาดในการตัดขาดของโปรฝาจ หน่วยของฝาจที่หลุดออกจากโครโมโซมของแบคทีเรียซึ่งนำยีนที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำตาลกาแลคโตสเรียกว่า แลมบ์ดาดีจีฝาจ (λdg phage = λ defective, carrying the gal loci phage) ดังรูปที่ 13-5

3. อะบอร์ตีบทรานสดักชั่น (abortive transduction) เป็นทรานสดักชั่นที่เกิดขึ้นเนื่องจากโปรฝาจที่อยู่ภายในเซลล์แบคทีเรียไม่ได้เพิ่มจำนวนตามโครโมโซมของแบคทีเรีย ทำให้เซลล์ที่ได้จากการแบ่งเซลล์ เซลล์หนึ่งมีโปรฝาจอยู่แต่อีกเซลล์หนึ่งไม่มีโปรฝาจอยู่ การเกิด




รูปที่ 13-5 การตัดขาดของโปรฝาจตามปกติ (a) และการผิดพลาดในการตัดขาดของโปรฝาจ (b)

แบบนี้จะเห็นได้ชัดในกรณีที่เป็นไลโซจินิคคอนเวอชั่น เช่น ยีนของโปรฝาจทำให้แบคทีเรียสร้างแฟลกเจลล่า ถ้าโปรฝาจเพิ่มจำนวนตามโครโมโซมของแบคทีเรีย เซลล์แบคทีเรียที่ได้จากการแบ่งเซลล์ทุกเซลล์จะมีแฟลกเจลล่า แต่ถ้าโปรฝาจไม่ได้เพิ่มจำนวนตามโครโมโซมของแบคทีเรีย

เซลล์แบคทีเรียที่ได้จากการแบ่งเซลล์จะมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มมีแฟลกเจลล่าซึ่งเป็นไลโซจินิคแบคทีเรียและกลุ่มไม่มีแฟลกเจลล่าซึ่งเป็นนันไลโซจินิคแบคทีเรีย

4. คอมพลีตทรานสดักชั่น (complete transduction) หรือสเตเบิ้ลทรานสดักชั่น (stable transduction) เป็นทรานสดักชั่นที่เกิดขึ้นเนื่องจากโปรฝาจที่มีอยู่ภายในเซลล์แบคทีเรียเพิ่มจำนวนตามไครโมโซมของแบคทีเรีย ทำให้เซลล์แบคทีเรียที่ได้จากการแบ่งเซลล์ทุก ๆ เซลล์มีจีโนไทพ์ (genotype) และฟีโนไทพ์เหมือนเซลล์เดิม แบคทีเรียที่มีโปรฝาจภายในเซลล์โดยส่วนใหญ่มีทรานสดักชั่นแบบนี้

## ทรานสฟอร์เมชั่น

ทรานสฟอร์เมชั่นเป็นการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA อิสระจากแบคทีเรียเซลล์หนึ่งไปยังแบคทีเรียอีกเซลล์หนึ่ง ด้วยการผ่านรูที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมเข้าไปภายในเซลล์ โดยไม่มีตัวนำชิ้นส่วนของ DNA แบบทรานสดักชั่นและไม่มีการสัมผัสระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสอง การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA เกิดขึ้นระหว่างสายพันธุ์ต่าง ๆ ของแบคทีเรียซึ่งอยู่ในจีนัสและสปีชี่เดียวกันหรือเกิดขึ้นกับแบคทีเรียจีนัสเดียวกันแต่ต่างสปีชี่ที่ไม่มีความใกล้ชิดกัน โดยปกติชิ้นส่วนของ DNA อิสระซึ่งถ่ายทอดตามวิธีนี้มีขนาดเล็กมาก ดังนั้นจึงถ่ายทอดได้ครั้งละ 1 ลักษณะ แต่ในบางครั้งพบว่าการถ่ายทอดเกิดขึ้นได้มากกว่า 1 ลักษณะทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของ DNA ที่ถูกถ่ายทอด

**การค้นพบทรานสฟอร์เมชั่น** ในปี ค.ศ.1928 Griffith ได้ค้นพบการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA แบบทรานสฟอร์เมชั่นจากการศึกษาโดยใช้ *Streptococcus pneumoniae* (pneumococci) แบคทีเรียชนิดนี้แบ่งออกได้เป็น 100 ชนิดตามความแตกต่างของโพลิแซคคาไรด์ที่เป็นส่วนประกอบของแคปซูล นิวโมคอคไคที่มีแคปซูลไคโลนีจะมีผิวเรียบและเป็นตัวการทำให้หนูตาย ส่วนนิวโมคอคไคที่ไม่มีแคปซูลไคโลนีจะมีผิวหยาบและไม่เป็นตัวการทำให้หนูตาย

ในการศึกษา Griffith ได้ฉีดนิวโมคอคไคชนิด II-อาร์ (II-R)ซึ่งยังมีชีวิตอยู่กับนิวโมคอคไคชนิด III-เอส (III-S) ซึ่งถูกฆ่าให้ตายด้วยความร้อนแล้วเข้าไปใต้ผิวหนังหนู พบว่า หนูตายและเมื่อแยกเชื้อจากเลือดของหนูที่ตายพบนิวโมคอคไคชนิด III-เอสที่มีชีวิตอยู่เป็นจำนวนมาก แสดงว่าหนูตายเนื่องจากนิวโมคอคไคชนิด III-เอสซึ่งเกิดจากนิวโมคอคไคชนิด II-อาร์เกิดทรานสฟอร์เมชั่นแล้วกลายเป็นนิวโมคอคไคชนิด III-เอส แต่ในขณะนั้น Griffithยังไม่ทราบว่าการเปลี่ยนแปลงของนิวโมคอคไคดังกล่าวนี้เกิดได้อย่างไร นิวโมคอคไคชนิด II-อาร์เป็นนิวโมคอคไคที่ไม่มีแคปซูลและโคโลนีมีผิวหยาบ ส่วนนิวโมคอคไคชนิด III-เอสเป็นนิวโมคอคไคที่มีแคปซูลและโคโลนีมีผิวเรียบ

ต่อมาใน ปี ค.ศ.1944 Avery, MacLeod และ McCarty ได้ศึกษาทรานสฟอร์เมชั่นของนิวโมคอคไคแล้วพบว่า DNA จากนิวโมคอคไคชนิด III-เอสที่ตายแล้วนั้นเป็นสารพันธุกรรมซึ่งทำให้นิวโมคอคไคชนิด II-อาร์กลายไปเป็นนิวโมคอคไคชนิด III-เอส และเมื่อใช้เอ็นไซม์ดีออกซีไรโบนิวคลีเอส (deoxyribonuclease)ย่อย DNA ก่อนความสามารถในการทรานสฟอร์เมชั่นจะหมดไป ผลจากการศึกษานี้นอกจากจะพบว่า DNA เป็นสารพันธุกรรมที่ทำให้ชนิดของนิวโมคอคไคเปลี่ยนแปลงแล้วยังพบว่าแคปซูลของนิวโมคอคไคมีบทบาทสำคัญทำให้หนูตาย

หลังจาก ปี ค.ศ.1944 ได้มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านศึกษาในแบคทีเรียชนิดต่าง ๆ แล้วพบว่าการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA แบบทรานสฟอร์เมชั่นเกิดขึ้นกับแบคทีเรียได้หลาย ๆ ชนิด และลักษณะที่เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากทรานสฟอร์เมชั่นก็มีหลายลักษณะ เช่น ความต้านทานต่อสารปฏิชีวนะต่าง ๆ และความสามารถในการสังเคราะห์สารที่จำเป็นต่อการเจริญ สำหรับแบคทีเรียที่พบว่ามีการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA แบบทรานสฟอร์เมชั่น ได้แก่ *Haemophilus* sp., *Neisseria* sp., *Xanthomonas* sp., *Rhizobium* sp., *Bacillus* sp., และ*Staphylococcus* sp.

การศึกษาโดยเตรียม DNA ด้วยการใช้ฟีนอลขจัดโปรตีนออกแล้วตกตะกอนด้วยเอ็ธทานอลจะได้ชิ้นส่วนของ DNA ขนาดเล็ก แม้ว่าจะระมัดระวังในการเตรียมอย่างไรก็ตาม ชิ้นส่วนของ DNA ที่ได้จากการเตรียมนี้จะถ่ายทอดได้เพียง ๑ ลักษณะ ส่วนในการศึกษาโดยเตรียม DNA ด้วยการทำให้เซลล์แตกและใช้เอ็นไซม์ พบว่า ชิ้นส่วนของ DNA ที่ไม่บริสุทธิ์ซึ่งได้จากการเตรียมนี้ถ่ายทอดได้หลายลักษณะพร้อมกัน

**กระบวนการทรานสฟอร์เมชั่น** ทรานสฟอร์เมชั่นเกิดขึ้นได้ทั้งในธรรมชาติและในห้องปฏิบัติการ ผลจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า ทรานสฟอร์เมชั่นเกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารที่เหมาะสมและในสภาวะแวดล้อมที่แบคทีเรียอยู่มีชิ้นส่วน DNA ของแบคทีเรียอื่นซึ่งเกิดจากการตายของเซลล์หรือทำให้เซลล์แตกโดยวิธีทางเคมีและฟิสิกส์ นอกจากนี้เซลล์ของแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมจะต้องมีการเตรียมพร้อมที่จะรับชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียอื่นด้วย

เซลล์แบคทีเรียซึ่งเตรียมพร้อมที่จะรับชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียอื่นเป็นเซลล์ที่เจริญอยู่ในตอนปลายของล็อกเฟซ เซลล์แบคทีเรียซึ่งเตรียมพร้อมนี้เกิดขึ้น โดยแบคทีเรียสังเคราะห์เอ็นไซม์ที่เร่งให้เกิดการย่อยบางส่วนของผนังเซลล์แล้วทำให้ผนังเซลล์มีรูที่จะรับชิ้นส่วนของ DNA หลาย ๆ รู สังเคราะห์โปรตีนซึ่งเป็นตัวเหนี่ยวนำให้ชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียอื่นจับกับเซลล์และสังเคราะห์เอ็นไซม์ซึ่งอยู่ตรงเยื่อเซลล์เพื่อเร่งให้เกิดการส่งชิ้นส่วนของ DNA เข้าไปภายในเซลล์ เมื่อแบคทีเรียเจริญในสภาวะแวดล้อมที่มีคลอแรมฟินิคอล (chloramphenicol) ซึ่งยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ไม่พบเซลล์แบคทีเรียซึ่งเตรียมพร้อมที่จะรับชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียอื่น เซลล์แบคทีเรียซึ่งเตรียมพร้อมที่จะรับชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียอื่นไม่มีความจำเพาะต่อชิ้นส่วนของ DNA ที่จะรับ แต่พบว่าถ้าเป็นชิ้นส่วนของ DNA ที่มียีนประเภทเดียวกัน (homologous gene) จะเกิดทรานสฟอร์เมชั่นได้ดีกว่าชิ้นส่วนของ DNA ที่มียีนคนละ

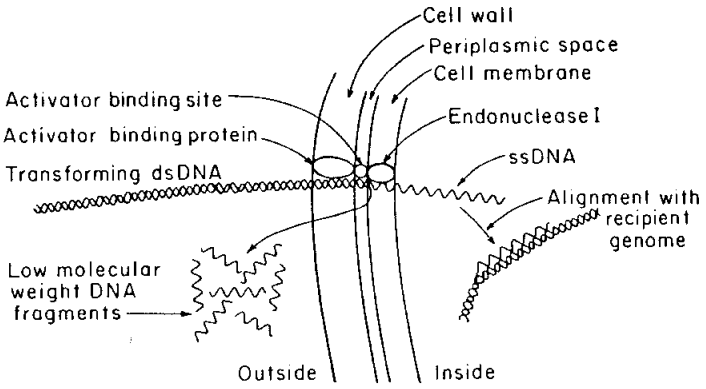
ประเภท (heterologous gene)

เมื่อชิ้นส่วน DNA 1 เส้นจากแบคทีเรียอื่นเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมแล้ว แบคทีเรียจะสังเคราะห์ DNA อีก 1 เส้นขึ้นมาจับคู่กับชิ้นส่วนของ DNA ที่ได้รับโดยอาศัยกฎการจับคู่ของเบส ต่อมาเกิดการรวมตัวใหม่ของยีนระหว่าง DNA ของแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมกับ DNA ของแบคทีเรียอื่นที่ได้รับ ทำให้ได้โครโมโซมที่เกิดจากการรวมตัวใหม่ของยีน

จากการศึกษาโดยใช้ *Streptococcus pneumoniae* พบว่า ทรานสฟอร์เมชั่นของแบคทีเรียเกิดขึ้นดังรูปที่ 13-6 เริ่มด้วยแอ็คติเวเตอร์ไบน์ดิ้งโปรตีน (activator binding protein) เป็นตัวเหนี่ยวนำให้ชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียอื่น จับกับแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมตรงแอ็คติเวเตอร์ไบน์ดิ้งไซต์ (activator binding site)ซึ่งอยู่ตรงช่องว่างระหว่างผนังเซลล์กับเยื่อเซลล์ ต่อมาเอ็นไซม์เอ็นโดนิวคลีเอส I (endonuclease I)ตรงเยื่อเซลล์ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งให้ชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียอื่นเข้าไปภายในเซลล์ โดยทำให้ DNA 1 เส้นของชิ้นส่วน DNA แตกหักแล้วถูกส่งออกมาภายนอกเซลล์แบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรม ในขณะเดียวกัน DNA อีก 1 เส้นของชิ้นส่วน DNA ที่เหลือและไม่แตกหักถูกส่งเข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรม

## คอนจูเกชั่น

คอนจูเกชั่นเป็นการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียตัวให้สารพันธุกรรมไปยังแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรม โดยเกิดการเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสอง แล้วชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียตัวให้สารพันธุกรรมถูกส่งผ่านส่วนเชื่อมต่อนี้ไปยังแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมเพียงทางเดียวเท่านั้น ชิ้นส่วนของ DNA ที่ถูกส่งหรือถูกถ่ายทอดตามวิธีนี้อาจจะมีขนาดใหญ่และถูกส่งหรือถูกถ่ายทอดระหว่างแบคทีเรียต่างจีนัสได้




**รูปที่ 13-6** การเกิดทรานสฟอร์เมชั่นของ *Streptococcus pneumoniae*

**การค้นพบคอนจูเกชั่น** ใน ปี ค.ศ.1947 Tatum และ Lederberg ได้แสดงให้เห็นว่า มีการรวมตัวใหม่ของยีนแบบมีเพศเกิดขึ้นระหว่างมิวแต้นต์ของ *Escherichia coli* 2 สายพันธุ์ *Escherichia coli* เซลล์ดั้งเดิมมีคุณสมบัติเป็นพวกโปรโตโทรฟซึ่งสังเคราะห์สารที่ต้องการสำหรับการเจริญได้เองหมด มิวแต้นต์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์แรกไม่สามารถสังเคราะห์ไบโอตินและเมไธโอนีน แต่สามารถสังเคราะห์ธรีโอนีนและลูซีนซึ่งเขียนจีโนไทพ์เป็น $B^-M^-T^+L^+$ เครื่องหมายบวก (+) หมายความว่าสามารถสังเคราะห์สารนั้นส่วนเครื่องหมายลบ (-) หมายความว่าไม่สามารถสังเคราะห์สารนั้น มิวแต้นต์ของ *Escherichia coli* สายพันธุ์ที่สองสามารถสังเคราะห์ไบโอตินและเมไธโอนีน แต่ไม่สามารถสังเคราะห์ธรีโอนีนและลูซีนซึ่งเราเขียนจีโนไทพ์เป็น $B^+M^+T^-L^-$

ในการทดลอง Tatum และ Lederberg ได้นำมิวแต้นต์ของ *Escherichia coli* 2 สายพันธุ์ตามที่ได้กล่าวมาแล้วอย่างละประมาณ $10^8$ เซลล์มาผสมกัน บ่มไว้แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งไม่มีสารที่จำเป็นต่อการเจริญทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวอยู่ พบว่า

มีโคโลนีเจริญบนอาหารเพาะเชื้อและแบคทีเรียในโคโลนีมีจีโนไทพ์เป็น $B^+M^+T^+L^+$ ซึ่งเป็นจีโนไทพ์ของ *Escherichia coli* เซลล์ดั้งเดิม ต่อมาได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมแล้วพบว่า มีการเชื่อมต่อระหว่างมิวแต้นต์ทั้งสองแล้วเกิดการรวมตัวใหม่ของยีนขึ้น

หลังจากการค้นพบของ Tatum และ Lederberg มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่านศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้ *Escherichia coli* เป็นส่วนใหญ่ แล้วทำให้เข้าใจเกี่ยวกับการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ตามวิธีคอนจูเกชั่นได้ดีขึ้น คือ พบว่า *Escherichia coli* มีความแตกต่างทางเพศ เซลล์เพศผู้มีชิ้นส่วนของ DNA เป็นวงกลมเล็ก ๆ อยู่เป็นอิสระตรงส่วนไซโตพลาสซึมซึ่งเรียกว่า ปัจจัยเพศ (sex factor) หรือปัจจัย F(F factor = fertility factor) เซลล์ชนิดนี้ทำหน้าที่เป็นตัวให้สารพันธุกรรมและเรียกว่า $F^+$ เซลล์ เซลล์เพศเมียไม่มีปัจจัยดังกล่าวอยู่ทำหน้าที่เป็นตัวรับสารพันธุกรรมและเรียกว่า $F^-$ เซลล์การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA จะเกิดขึ้นระหว่าง $F^+$ เซลล์กับ $F^-$ เซลล์เท่านั้น ต่อมาได้มีนักวิทยาศาสตร์พบว่า เมื่อปัจจัย F ตรงส่วนไซโตพลาสซึมของ $F^+$ เซลล์เข้าไปอยู่ตรงส่วนโครโมโซมของแบคทีเรีย ด้วยการไปเชื่อมต่อกับ chromosome ของแบคทีเรียซึ่งขาดออก $F^+$ เซลล์จะกลายเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่เรียกว่าสายพันธุ์ Hfr (high-frequency of recombination)หรือ Hfr เซลล์ซึ่งทำหน้าที่เป็นเซลล์เพศผู้คือทำหน้าที่เป็นตัวให้สารพันธุกรรมแก่ $F^-$ เซลล์

จากการพบสายพันธุ์ Hfr ทำให้ทราบลำดับของยีนบนโครโมโซมแบคทีเรียและทราบว่ายีนบนโครโมโซมแบคทีเรียจะเรียงกันเป็นระเบียบเหมือนอย่างในสิ่งมีชีวิตชั้นสูง สำหรับชนิดของแบคทีเรียที่พบเพิ่มเติมว่ามีการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยวิธีคอนจูเกชั่น ได้แก่ *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Pseudomonas* sp., *Serratia* sp., *Vibrio* sp., *Neisseria* sp., *Bacillus* sp., *Streptococcus* sp., และ *Staphylococcus* sp.

**อิพิโซมและพลาสมิด (plasmid)** ในปี ค.ศ.1969 Novick ได้พบชิ้นส่วนของ DNA ซึ่งไม่ได้เป็นส่วนใดส่วนหนึ่งของโครโมโซมแบคทีเรีย ชิ้นส่วนของ DNA นี้มีขนาดเล็ก มีลักษณะเป็นวงกลมซึ่งประกอบด้วย DNA 2 เส้นพันกันเป็นเกลียวคู่และมีหลายชนิดแต่ละชนิดมีส่วนประกอบทางเคมีที่แน่นอน แบ่งชิ้นส่วนของ DNA ดังกล่าวออกเป็น 2 ชนิดคือ อิพิโซมกับพลาสมิด อิพิโซมเป็นชิ้นส่วนของ DNA ซึ่งอยู่ตรงส่วนไซโตพลาสซึมหรือเข้าไปอยู่ตรงส่วนโครโมโซมของแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์ด้วยการไปเชื่อมต่อกับโครโมโซมแบคทีเรีย ส่วนพลาสมิดเป็นชิ้นส่วนของ DNA ซึ่งอยู่ตรงส่วนไซโตพลาสซึมเท่านั้น กล่าวคือ ไม่สามารถเข้าไปอยู่ตรงส่วนโครโมโซมของแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์ได้ แต่ในปัจจุบันนิยมเรียกชิ้นส่วนของ DNA ทุกชนิดซึ่งไม่ได้เป็นส่วนใดส่วนหนึ่งของโครโมโซมแบคทีเรียว่าพลาสมิด ด้วยเหตุนี้ปัจจัย เพศหรือปัจจัย F ที่เป็นอิพิโซมจึงเป็นพลาสมิดชนิดหนึ่ง

ปกติเมื่อแบคทีเรียมีการแบ่งเซลล์ พลาสมิดจะเพิ่มจำนวนโดยวิธีการเดียวกันกับการเพิ่มจำนวนของโครโมโซมแบคทีเรีย แล้วทำให้เซลล์ที่ได้จากการแบ่งเซลล์หรือเซลล์ลูกหลานมีพลาสมิดนั้นด้วย แต่ในบางครั้งพบว่าเซลล์ที่ได้จากการแบ่งเซลล์ซึ่งเป็นเซลล์ลูกหลานไม่มีพลาสมิดนั้น เนื่องจากพลาสมิดนั้นไม่สามารถเพิ่มจำนวนในระหว่างการแบ่งเซลล์ ปรากฏการณ์นี้เป็นมิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญหรือมีสารเคมีไปยับยั้งการเพิ่มจำนวนของพลาสมิด

สำหรับการถ่ายทอดพลาสมิดจากแบคทีเรียเซลล์หนึ่งไปยังแบคทีเรียอีกเซลล์หนึ่งเกิดขึ้นโดยวิธีคอนจูเกชั่น ทรานสฟอร์เมชั่นและทรานสดักชั่น การถ่ายทอดโดยวิธีคอนจูเกชั่นเกิดขึ้นระหว่างแบคทีเรียคนละจีนัสหรือจีนัสเดียวกัน แต่การถ่ายทอดโดยวิธีทรานสฟอร์เมชั่นและทรานสดักชั่นเกิดขึ้นระหว่างแบคทีเรียจีนัสเดียวกันเท่านั้น เช่น *Staphylococcus aureus* ถ่ายทอดพลาสมิดให้แก่ *Bacillus subtilis* ด้วยวิธีคอนจูเกชั่น ต่อมาพลาสมิดภายในเซลล์ของ *Bacillus subtilis* นี้ถูกถ่ายทอดหรือส่งไปยัง *Bacillus subtilis* อีกสายพันธุ์

หนึ่งโดยวิธีทรานสฟอร์เมชั่นและทรานสดักชั่น

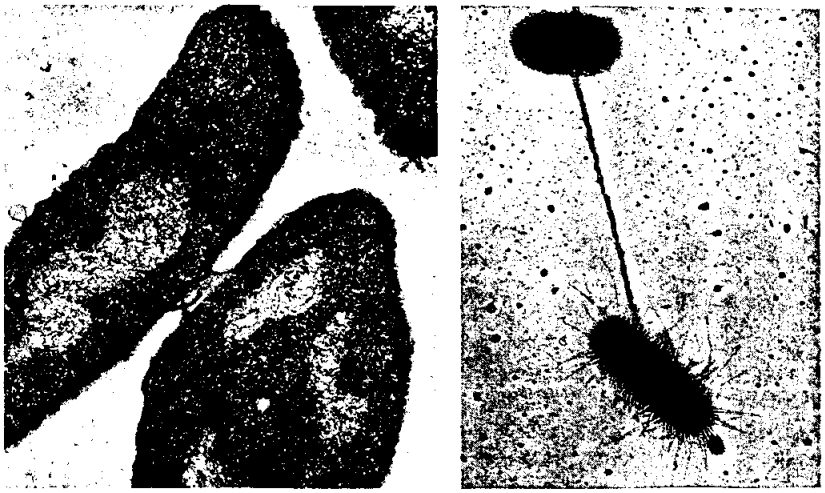
โดยทั่วไปพลาสมิดจะทำให้แบคทีเรียที่เป็นโฮสต์มีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลง แต่มีพลาสมิดบางชนิดไม่มีผลใด ๆ ต่อแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์ สำหรับพลาสมิดซึ่งทำให้แบคทีเรียที่เป็นโฮสต์มีคุณสมบัติเปลี่ยนแปลงได้แก่ ปัจจัย R(R factor = resistance transfer factor) ซึ่งทำให้แบคทีเรียที่เป็นโฮสต์มีความต้านทานต่อสารเคมีมากกว่า 7 ชนิดในขณะเดียวกัน ปัจจัยโคลิ-ซิน (colicin factor) ซึ่งทำให้แบคทีเรียที่เป็นโฮสต์สังเคราะห์โคลิซินที่เป็นโปรตีนฆ่าแบคที-เรียชนิดอื่นได้ นอกจากนี้ยังมีพลาสมิดอีกหลายชนิดซึ่งไม่มีชื่อเรียกโดยเฉพาะ แต่พบว่าทำให้แบคทีเรียที่เป็นโฮสต์สังเคราะห์เอ็นไซม์ย่อยอาหารบางอย่างเพื่อใช้สำหรับการเจริญ ทำให้แบคทีเรียที่เป็นโฮสต์เป็นตัวการก่อให้เกิดโรคได้ เช่น พลาสมิดที่ทำให้ *Agrobacterium tumefaciens* มีคุณสมบัติเป็นตัวการก่อให้เกิดโรคปมตรงส่วนลำต้นและรากของพืช โดยแบคทีเรียนี้ทำให้พืชที่เป็นโฮสต์มีระดับฮอร์โมน (hormone) ไม่สมดุลย์

ปัจจัย R ที่ทำให้แบคทีเรียซึ่งเป็นตัวการก่อให้เกิดโรคมีความต้านทานต่อสารเคมีต่าง ๆ ส่วนใหญ่จะมีแบคทีเรียซึ่งมีอยู่โดยทั่วไปตามร่างกายคนและสัตว์เป็นพาหะนำไปยังแบคที-เรียซึ่งเป็นตัวการก่อให้เกิดโรค ปัจจัย R ประกอบด้วยยีนหลาย ๆ ยีนซึ่งแบ่งออกได้เป็น 2 หน่วย คือ หน่วยที่เรียกว่าปัจจัยถ่ายทอด (transfer factor) และหน่วยที่มียีนซึ่งทำให้มีความต้านทานต่อสารเคมี

**กระบวนการคอนจูเกชั่น** ปัจจัย F มีความยาวประมาณ 2% ของโครโมโซมแบคทีเรีย มีเบสประมาณ $10^5$ คู่และมียีนประมาณ 40 ยีนซึ่งเป็นจำนวนยีนที่เพียงพอจะควบคุมการเพิ่มจำนวนตนเองอย่างอิสระ ดังจะเห็นว่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยง $F^+$ เซลล์ในสภาวะแวดล้อมที่มีอะคริดีน-ออเร็นจ์ (acridine orange) โครโมโซมแบคทีเรียเพิ่มจำนวนตามปกติแต่ปัจจัย F ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ ทำให้เซลล์ลูกหลานซึ่งได้จากการแบ่งเซลล์ไม่มีปัจจัย F ภายในเซลล์หรือเป็น $F^-$ เซลล์ เมื่อเพาะเลี้ยง $F^+$ เซลล์ ณ อุณหภูมิซึ่งยับยั้งการสังเคราะห์หรือการเพิ่มจำนวนของ

โครโมโซมแบคทีเรีย $F^+$ เซลล์นั้นยังคงสังเคราะห์ปัจจัย F ทำให้ปัจจัย F เพิ่มจำนวนได้

ตามที่ได้กล่าวมาแล้วว่าการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยวิธีคอนจูเกชั่น เกิดขึ้นระหว่าง $F^+$ เซลล์กับ $F^-$ เซลล์และระหว่าง Hfr เซลล์กับ $F^-$ เซลล์ โดยมีการเชื่อมต่อของเซลล์นั้น จากการศึกษาพบว่า การเชื่อมต่อของเซลล์เกิดขึ้นได้ 2 วิธีคือ วิธีที่ 1 ผนังเซลล์มาเชื่อมต่อกัน วิธีที่ 2 เซลล์มาเชื่อมต่อกันด้วย F พิลัส ดังรูปที่ 13-7 จากการศึกษาโดยใช้ *Escherichia coli* พบว่า $F^+$ เซลล์สร้าง F พิลัสตรงเยื่อเซลล์ ส่วน $F^-$ เซลล์ไม่สามารถสร้าง F พิลัสได้ สำหรับการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยวิธีคอนจูเกชั่นมีดังนี้



(ก) (ข)

รูปที่ 13-7 (ก) การเชื่อมต่อของเซลล์โดยผนังเซลล์มาเชื่อมต่อกัน

(ข) การเชื่อมต่อของเซลล์โดย F พิลัส

1. การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ระหว่าง $F^+$ เซลล์กับ $F^-$ เซลล์ เมื่อ $F^+$ เซลล์และ $F^-$ เซลล์มาพบกันแบบสุ่มจะเกิดการเชื่อมต่อของเซลล์ทั้งสอง ทันทีที่มีการเชื่อมต่อของเซลล์เกิดขึ้น เส้นสาย DNA 1 เส้นของปัจจัย F ขาดออกอยู่ในรูปเป็นเส้นซึ่งเป็นรูปที่สามารถผ่านส่วนเชื่อมต่อของเซลล์ได้ดี แล้วเกิดการสังเคราะห์เส้นสาย DNA ที่ขาดออกนี้ใหม่โดยอาศัยกฎการจับคู่ของเบสเหมือนกับการสังเคราะห์โครโมโซมของแบคทีเรีย ขณะเดียวกันเส้นสาย DNA ที่ขาดออกเก่าจะถูกส่งผ่านส่วนเชื่อมต่อของเซลล์ไปยัง $F^-$ เซลล์ การสังเคราะห์เส้นสาย DNA ที่ขาดออกขึ้นมาใหม่ทดแทนและการส่งเส้นสาย DNA ที่ขาดออกเก่าไปยัง $F^-$ เซลล์จะดำเนินไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งส่วนเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ทั้งสองขาดออก

โดยปกติแล้วการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ระหว่าง $F^+$ เซลล์กับ $F^-$ เซลล์นี้ จะถ่ายทอดได้เฉพาะปัจจัย F เท่านั้น การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโครโมโซม $F^+$ เซลล์เกิดขึ้นได้น้อยมาก คือ มี $F^+$ เซลล์เพียง 1 เซลล์จากจำนวน $10^4$ เซลล์ที่สามารถถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโครโมโซมได้ และในการถ่ายทอดจะถ่ายทอดไปได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากว่าตามธรรมชาติส่วนเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ทั้งสองขาดออกก่อนที่จะถ่ายทอดชิ้นส่วน DNA ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโครโมโซมหรือขาดออกก่อนที่จะมีการถ่ายทอดเส้นสาย DNA ซึ่งเป็นส่วนประกอบของโครโมโซมสมบูรณ์ $F^-$ เซลล์ที่รับชิ้นส่วนของ DNA จะสังเคราะห์ DNA อีก 1 เส้นขึ้นมาจับคู่กับชิ้นส่วนของ DNA ที่ได้รับ โดยอาศัยกฎการจับคู่ของเบส ดังนั้นหลังจากเกิดการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ระหว่าง $F^+$ เซลล์กับ $F^-$ เซลล์แล้ว $F^-$ เซลล์จะกลายเป็น $F^+$ เซลล์ซึ่งมีปัจจัย F ที่สมบูรณ์อยู่ตรงส่วนไซโตพลาสซึม

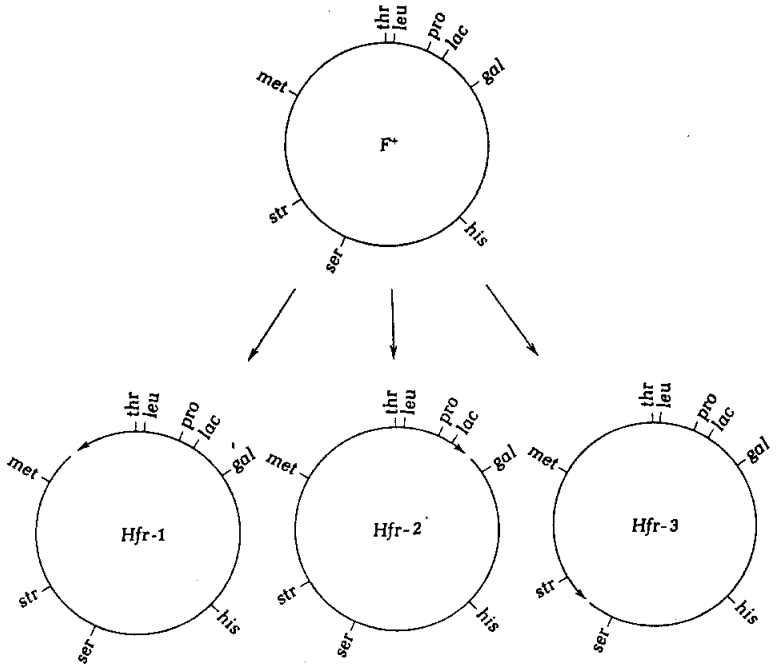
ตามที่ได้กล่าวมาจะเห็นว่าปัจจัย F เพิ่มจำนวนตนเองและถ่ายทอดได้อย่างอิสระ นอกจากนี้มี $F^+$ เซลล์เพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่สามารถถ่ายทอดชิ้นส่วนของโครโมโซมตนเองไปยัง $F^-$ เซลล์ได้ ดังนั้นจึงทำให้การรวมตัวใหม่ของยีนเกิดขึ้นในอัตราต่ำ (low frequency of recombination) แล้วได้ลูกผสมในอัตราต่ำด้วย

2. การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ระหว่าง Hfr เซลล์กับ $F^-$ เซลล์ เมื่อ Hfr เซลล์และ $F^-$ เซลล์มาพบกันแบบสุ่มจะเกิดการเชื่อมต่อของเซลล์ทั้งสอง ทันทีที่มีการเชื่อมต่อของเซลเกิดขึ้น DNA 2 เส้นของโครโมโซม Hfr เซลล์จะคลายเกลียวออก แล้วเส้นสาย DNA เพียง 1 เส้นขาดตรงตำแหน่งที่ปัจจัย F เชื่อมอยู่กลายเป็นเส้นสาย DNA ที่สามารถส่งผ่านส่วนเชื่อมต่อของเซลล์ได้ โดยมีปัจจัย F อยู่ส่วนท้ายสุดของเส้นสายและมี DNA ของโครโมโซมแบคทีเรียตรงจุดที่ปัจจัย F มาเชื่อมอยู่ส่วนแรกสุดของเส้นสาย ต่อมาเกิดการสังเคราะห์เส้นสาย DNA ที่ขาดออกนี้ใหม่โดยอาศัยกฎการจับคู่ของเบสและเริ่มสังเคราะห์จากส่วนแรกสุดของเส้นสาย ขณะเดียวกันเส้นสาย DNA ที่ขาดออกเก่าถูกส่งผ่านส่วนเชื่อมต่อไปยัง $F^-$ เซลล์ ด้วยการส่งปลายด้าน 5'- $PO_3$ เข้าไปเป็นส่วนแรก $F^-$ เซลล์ที่รับ DNA จะสังเคราะห์ DNA อีกหนึ่งเส้นขึ้นมาจับคู่กับชิ้นส่วนของ DNA ที่ได้รับ โดยอาศัยกฎการจับคู่ของเบส การสังเคราะห์เส้นสาย DNA ที่ขาดออกขึ้นมาใหม่ทดแทนและการส่งเส้นสาย DNA ที่ขาดออกเก่าไปยัง $F^-$ เซลล์จะดำเนินไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งส่วนเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ทั้งสองขาดออก

โดยส่วนใหญ่การถ่ายทอด DNA ระหว่าง Hfr เซลล์กับ $F^-$ เซลล์นั้น ถ่ายทอดได้เฉพาะชิ้นส่วน DNA ของโครโมโซม Hfr เซลล์เท่านั้น ส่วนปัจจัย F ไม่ถูกถ่ายทอด ทั้งนี้เนื่องจากตามธรรมชาติส่วนเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ทั้งสองขาดออกก่อนที่จะมีการถ่ายทอดสมบูรณ์ ดังนั้นจึงทำให้การถ่ายทอด DNA ระหว่าง 2 เซลล์นี้มีการรวมตัวใหม่ของยีนเกิดขึ้นในอัตราสูงมาก (high-ferquency of recombination) แล้วได้ลูกผสมในอัตราสูงด้วย นอกจากนี้หลังจากการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA แล้ว $F^-$ เซลล์ยังคงเป็น $F^-$ เซลล์อยู่ ยกเว้นในบางครั้งซึ่งน้อยมากที่เกิดการถ่ายทอดสมบูรณ์แล้วทำให้ $F^-$ เซลล์กลายเป็น Hfr เซลล์ได้

ปัจจัย F ที่มาเชื่อมต่อกับโครโมโซมของแบคทีเรียจะมาเชื่อมตรงตำแหน่งเฉพาะซึ่งแตกต่างกันในแบคทีเรียคนละสายพันธุ์ ด้วยเหตุนี้เมื่อเกิดการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยวิธีคอนจูเกชั่น เส้นสาย DNA ของโครโมโซมแบคทีเรียคนละสายพันธุ์ก็จะขาดออกตรงตำแหน่ง

ต่าง ๆ กัน แล้วทำให้ยีนอันดับแรกที่เข้าไปภายใน $F^-$ เซลล์ต่างกัน ดังรูปที่ 13-8 จากปรากฏการณ์ดังกล่าวทำให้ทราบลำดับของยีนบนโครโมโซมแบคทีเรียซึ่งเรียงกันเป็นระเบียบ




รูปที่ 13-8 แผนผังแสดงการเกิด Hfr เซลล์ 3 สายพันธุ์ ปลายลูกศรเป็นจุดแรกและทิศทางของโครโมโซมที่เข้าไปภายใน $F^-$ เซลล์

เมื่อปัจจัย F หลุดออกจากโครโมโซม Hfr เซลล์ไปอยู่ตรงส่วนไซโตพลาสซึม Hfr เซลล์กลายเป็น $F^+$ เซลล์ ในบางครั้งปัจจัย F ที่หลุดออกจากโครโมโซมนั้นมียีนบางส่วนของโครโมโซม Hfr เซลล์ติดมาด้วย ปัจจัย F ดังกล่าวเรียกว่า ปัจจัย F' ส่วนเซลล์ที่มีปัจจัย F' อยู่ภายในเซลล์เรียกว่า ไพรมะรี่ F' เซลล์ (primary F' cell) เมื่อไพรมะรี่ F' เซลล์เชื่อมต่อกับ $F^-$ เซลล์ ปัจจัย F'จะถูกส่งไปยัง $F^-$ เซลล์ได้เป็นอย่างดี แล้วทำให้ $F^-$ เซลล์กลายเป็นเซกันดะรี่ F' เซลล์ (secondary F' cell) ซึ่งมียีนบางส่วนเป็นดิพพลอยด์ ปรากฏการณ์ที่ยีนของแบคทีเรียตัวให้สารพันธุกรรมถ่ายทอดไปยังแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมโดยเป็นส่วนหนึ่งของปัจจัย F แบบนี้เรียกว่า เซ็คซ์ดักชั่น (sexduction)

การถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดย $F^+$ เซลล์และ Hfr เซลล์ตามที่ได้กล่าวมาแล้วขึ้นอยู่กับอายุของแบคทีเรียและสภาวะแวดล้อมที่แบคทีเรียอยู่ คือ เมื่อ $F^+$ เซลล์และ Hfr เซลล์เจริญในตอนปลายสเตชั่นนารี่เฟช แบคทีเรียจะสูญเสียคุณสมบัติการเป็นตัวให้สารพันธุกรรมชั่วคราวและทำหน้าที่เป็นตัวรับสารพันธุกรรมแทน โดยสามารถเชื่อมต่อกับ $F^+$ เซลล์และ Hfr เซลล์ แล้วรับชิ้นส่วนของ DNA และสังเคราะห์ DNA อีก 1 เส้นขึ้นมาจับคู่กับชิ้นส่วนของ DNA ที่ได้รับเหมือน $F^-$ เซลล์ สำหรับสภาวะแวดล้อมที่มีผลต่อการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ได้แก่ ปริมาณออกซิเจนและสารเคมีบางชนิด เช่น *Escherichia coli* ที่เจริญในสภาวะแอนแอโรบจะถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ได้ดีกว่า *Escherichia coli* ที่เจริญในสภาวะแอโรบ คลอแรมฟินิคอลและไรแฟมพิน (rifampin) ยับยั้งการสังเคราะห์เส้นสาย DNA ที่ขาดออกเป็นต้น

# สรุปเนื้อหาสำคัญ

1. DNA เป็นสารพันธุกรรมซึ่งมียีนควบคุมลักษณะต่าง ๆ ที่ถ่ายทอด ยีนเป็นลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ช่วงใดช่วงหนึ่งในเส้น DNA ซึ่งมีลำดับการเรียงตัวของเบสเฉพาะ
2. การเปลี่ยนพันธุ์ของแบคทีเรียเป็นการเปลี่ยนแปลงซึ่งไม่ได้เกี่ยวข้องกับยีน แต่เกิดขึ้นเนื่องจากอายุและสภาวะแวดล้อม ดังนั้นเมื่ออายุและสภาวะแวดล้อมกลับมาเหมือนเดิม การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ที่เรียกว่าการเปลี่ยนพันธุ์ของแบคทีเรียจะกลับคืนสู่สภาพเดิม
3. มิวเตชั่นของแบคทีเรียเป็นการเปลี่ยนไปของยีนอย่างถาวรแล้วถ่ายทอดไปยังลูกหลานได้ เกิดขึ้นเนื่องจากลำดับของนิวคลีโอไทด์หรือลำดับของเบสในเส้นสาย DNA เปลี่ยนไป นิวคลีโอไทด์ในเส้นสาย DNA หายไปหรือเพิ่มขึ้นมา แบคทีเรียที่มียีนเปลี่ยนไปดังกล่าวเรียกว่า มิวแต้นต์
4. มิวเตชั่นของแบคทีเรียมี 2 แบบคือ มิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญและมิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากมีตัวเหนี่ยวนำ มิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติและเกิดขึ้นกับเซลล์เพียงส่วนน้อยมาก เมื่อเทียบกับประชากรทั้งหมด ส่วนมิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากมีตัวเหนี่ยวนำเกิดขึ้นจากการใช้มิวตาเจนและเกิดขึ้นในอัตราที่สูงมากกว่ามิวเตชั่นซึ่งเกิดขึ้นเองโดยบังเอิญมาก
5. วิธีแยกมิวแต้นต์ออกจากประชากรส่วนใหญ่ทำได้หลายวิธีดังนี้
   - 5.1 วิธีแยกมิวแต้นต์ที่มีความต้านทานโดยตรง
   - 5.2 เกรเดียนต์เพลตเทคนิค
   - 5.3 เร็พพลิกาเพลตติ้งเทคนิค
   - 5.4 เพ็นนิซิลลินซิเล็คชั่นเทคนิค
6. ทรานสดักชั่นเป็นการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยฝาจหรือแบคเทอริโอฝาจเป็นตัวนำชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียตัวหนึ่งไปยังแบคทีเรียอีกตัวหนึ่ง ชิ้นส่วนของ DNA ที่ถ่ายทอดตามวิธีนี้เป็นชิ้นส่วนเล็ก ๆ ทั้งนี้เพราะว่าเปลือกหุ้มของฝาจมีความจุจำกัด

7. โคทรานสดักชั่นเป็นทรานสดักชั่นที่ถ่ายทอดไปได้ครั้งละ 2 ลักษณะ

8. ทรานสดักชั่นมี 4 ชนิดคือ

   8.1 เจ็นเนอราลไลส์ทรานสดักชั่น

   8.2 เรสทริคเต็ดทรานสดักชั่น

   8.3 อะบอร์ตีบทรานสดักชั่น

   8.4 คอมพลีตทรานสดักชั่น

9. ทรานสฟอร์เมชั่นเป็นการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA อิสระจากแบคทีเรียเซลล์หนึ่งไปยังแบคทีเรียอีกเซลล์หนึ่ง โดยไม่มีตัวนำชิ้นส่วนของ DNA แบบทรานสดักชั่นและไม่มีการสัมผัสของเซลล์แบคทีเรียแบบคอนจูเกชั่น ชิ้นส่วนของ DNA ที่ถ่ายทอดตามวิธีนี้เป็นชิ้นส่วนเล็ก ๆ

10. คอนจูเกชั่นเป็นการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA จากแบคทีเรียตัวให้สารพันธุกรรมไปยังแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรม โดยเกิดการเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ของแบคทีเรียทั้งสองแล้วชิ้นส่วนของ DNA ถูกส่งผ่านส่วนเชื่อมต่อนี้ ชิ้นส่วนของ DNA ที่ถ่ายทอดตามวิธีนี้มีขนาดเล็กหรือใหญ่ก็ได้

11. ในการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยวิธีคอนจูเกชั่น เซลล์เพศผู้ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวให้สารพันธุกรรมเป็นเซลล์ที่มีปัจจัย F แบ่งเซลล์เพศผู้ออกได้เป็น 2 ชนิดคือ $F^+$ เซลล์มีปัจจัย F อยู่ตรงส่วนไซโตพลาสซึมและ Hfr เซลล์มีปัจจัย F เชื่อมต่อกับโครโมโซมของตนเอง ส่วนเซลล์เพศเมียซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรับสารพันธุกรรมเป็นเซลล์ที่ไม่มีปัจจัย F และเรียกว่า $F^-$ เซลล์

12. เมื่อ $F^+$ เซลล์ถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ให้กับ $F^-$ เซลล์แล้ว $F^-$ เซลล์จะกลายเป็น $F^+$ เซลล์ ในการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ระหว่างเซลล์ 2 ชนิดนี้มีการรวมตัวใหม่ของยีนเกิดขึ้นในอัตราต่ำ

13. เมื่อ Hfr เซลล์ถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA ให้กับ $F^-$ เซลล์แล้ว $F^-$ เซลล์ยังคงเป็น $F^-$ เซลล์อยู่ ยกเว้นบางครั้งซึ่งน้อยมากที่ $F^-$ เซลล์กลายเป็น Hfr เซลล์ได้ ในการถ่ายทอด

ชิ้นส่วนของ DNA ระหว่างเซลล์ 2 ชนิดนี้มีการรวมตัวใหม่ของยีนเกิดขึ้นในอัตราสูงมาก

14. ในการถ่ายทอดชิ้นส่วนของ DNA โดยวิธีทรานสดักชั่น ทรานสฟอร์เมชั่นและคอนจูเกชั่น ชิ้นส่วนของ DNA ที่เข้าไปภายในเซลล์แบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมมีเพียง 1 เส้น และเมื่อแบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมได้รับ DNA จากแบคทีเรียอื่น แบคทีเรียตัวรับสารพันธุกรรมจะสังเคราะห์ DNA อีก 1 เส้นขึ้นมาจับคู่กับชิ้นส่วนของ DNA ที่ได้รับ ในกรณีที่ชิ้นส่วนของ DNA ซึ่งเข้าไปภายในเซลล์เป็นชิ้นส่วน DNA ของโครโมโซมจากแบคทีเรียอื่นจะเกิดการรวมตัวใหม่ของยีน แล้วได้โครโมโซมที่เกิดจากการรวมตัวใหม่ของยีน ส่วนในกรณีที่ชิ้นส่วนของ DNA ซึ่งเข้าไปภายในเซลล์เป็นชิ้นส่วน DNA ของพลาสมิดไม่มีการรวมตัวใหม่ของยีนเกิดขึ้น