เอกสารประกอบการเรียน

104101 หลักชีววิทยา 1

เรื่อง

การสืบพันธุ์ระดับเซลล์

พื้นฐานของพันธุกรรม

องค์ประกอบทางเคมีของยีน

รหัสพันธุกรรม

หน้าที่ของยีน

โดย

อาจารย์ ดร.พงษ์ฤทธิ์ ครบปรัชญา

สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2552

การสืบพันธ์ระดับเซลล์ (Cellular Reproduction)

- เซลล์ คือ หน่วยเล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต
- การสืบพันธุ์ของเซลล์ไม่ว่าจะเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ก็สามารถแบ่งเซลล์เพื่อสร้างเซลล์ลูกที่เหมือนเซลล์ตั้งต้นได้
- การแบ่งเซลล์ทำให้เกิดสิ่งมีชีวิต จากเซลล์ตั้งต้นเพียงเซลล์เดียว เช่น เซลล์ไข่ที่ได้รับการผสมหรือเซลล์ zygote
- การแบ่งเซลล์ยังทำหน้าที่ในการสร้างเซลล์ใหม่เพื่อทดแทนเซลล์เดิมที่ตาย หรือเพื่อซ่อมแซมส่วนที่ถูกทำลาย เช่น เซลล์ไขกระดูก (bone marrow) จะมีการสร้างเซลล์เม็ดเลือดอยู่ตลอดเวลาเพื่อทดแทนเซลล์ที่ตาย

การสืบพันธุ์ของสิ่งมีชีวิต มี 2 แบบคือ

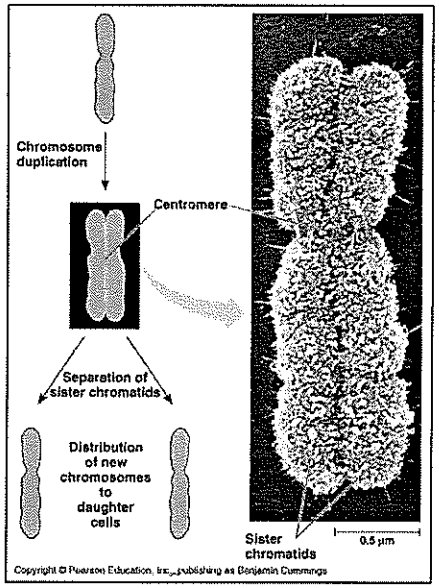
1. การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบนี้อาศัยการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ซึ่งได้เซลล์ลูกที่เหมือนเซลล์ตั้งต้นทุกประการ ได้แก่ fission, fragmentation, budding, regeneration, sporulation, vegetative propagation
2. การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ การสืบพันธุ์แบบนี้อาศัยการแบ่งเซลล์แบบ meiosis เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์โดยมีการลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่ง เมื่อเกิดการปฏิสนธิของเซลล์สืบพันธุ์จากเพศผู้และเพศเมียจะทำให้เซลล์ลูกที่เกิดขึ้นมีจำนวนโครโมโซมเท่าเดิม

- การแบ่งเซลล์ประกอบด้วยการกระจายของสารพันธุกรรม (DNA) ให้เซลล์ลูกที่เกิดใหม่ทั้ง 2 เซลล์ที่เท่ากัน
- สารพันธุกรรมซึ่งบรรจุข้อมูลทางพันธุกรรมทั้งหมดของเซลล์เราเรียกว่า genome
- ใน prokaryotes โดยมากมีโครโมโซมเพียง 1 โครโมโซมเป็นรูปวงแหวน ประกอบไปด้วย DNA
- ใน eukaryotes มีโครโมโซมมากกว่า 1 โครโมโซมประกอบไปด้วย DNA และโปรตีนฮีสโตน
- ก่อนการแบ่งเซลล์ จะต้องมีการจำลอง DNA ทั้งหมดของเซลล์ออกเป็น 2 ชุดเพื่อแบ่งให้เซลล์ใหม่ทั้ง 2 เซลล์
- ในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันจะมีจำนวนโครโมโซมที่จำเพาะและเท่ากันเช่น ในเซลล์ร่างกายหนึ่งเซลล์ของคนทุกคนมีโครโมโซมทั้งหมด 46 แท่งหรือ 23 คู่
- ในโครโมโซมหนึ่งๆ จะประกอบด้วย DNA สายยาวซึ่งมียีนอยู่เป็น 100 เป็น 1000 ยีน ควบคุมลักษณะต่างๆ ที่ถูกถ่ายทอดจากพ่อแม่
- สารประกอบระหว่าง DNA และโปรตีนรวมเรียกว่าโครมาติน (chromatin) ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นยาวบางๆ
- ก่อนการแบ่งเซลล์ โครมาตินจะหดสั้นเข้าทำให้เห็นเป็นโครโมโซมที่มีขนาดสั้น สามารถเห็นได้ชัดเจนภายใต้กล้องจุลทรรศน์
- แต่ละโครโมโซมที่มีการจำลองตัวเองขึ้น จะเห็นเป็น sister chromatids 2 แท่งติดกัน
- ทั้ง 2 แท่งของ sister chromatids มี DNA ที่เท่ากันและเหมือนกัน
- sister chromatid ทั้ง 2 ติดกันตรงบริเวณที่เรียกว่า centromere

การแบ่งเซลล์ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ

1. การแบ่งนิวเคลียส จากเริ่มต้น 1 นิวเคลียสจนกลายเป็น 2 นิวเคลียสนี้เรียกว่า karyokinesis
2. การแบ่งไซโตพลาสซึม เกิดหลังจากการแบ่งนิวเคลียสแล้วจะต่อด้วยการแบ่งไซ

โดพลาสซึมเรียกว่า cytokinesis



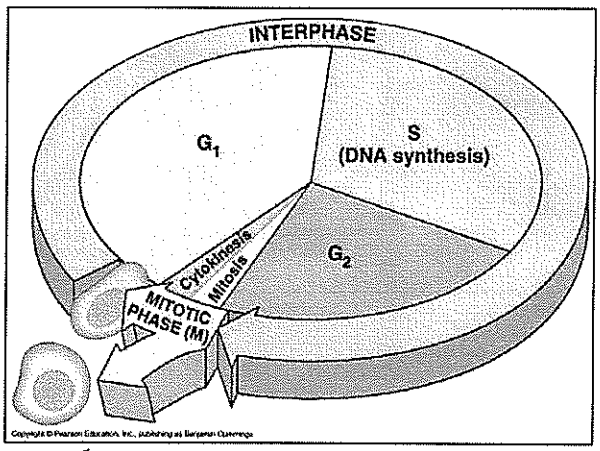
Chromosome

- เซลล์ร่างกายของคนเราประกอบด้วยโครโมโซมทั้งหมด 46 แท่ง โดย 23 แท่งมาจากเซลล์ sperm ส่วนอีก 23 แท่งมาจากเซลล์ ovum รวมเป็นเซลล์ zygote (46 แท่ง)
- การแบ่งเซลล์ด้วยวิธี mitosis จากเซลล์ zygote เพียงหนึ่งเซลล์หลายๆครั้งเกิดเป็นเซลล์จำนวนมากก่อเกิดเป็นร่างกายมนุษย์
- การแบ่งเซลล์แบบ mitosis เช่นกันที่ช่วยซ่อมแซมเซลล์ที่ตายหรือบาดเจ็บ

การแบ่งเซลล์แบบ Mitosis

- ก่อนการแบ่งเซลล์แบบ mitosis เซลล์จะมีการสร้างสารประกอบต่างๆ ที่จำเป็นต่อการแบ่งเซลล์ รวมทั้งการจำลอง DNA เรียกระยะนี้ว่า interphase ซึ่งประกอบด้วย 3 ระยะย่อยคือ G1, S และ G2 เมื่อเซลล์ผ่านระยะ interphase แล้วจึงจะเข้าสู่ขั้นตอนการแบ่งเซลล์จนได้เป็นเซลล์ใหม่ 2 เซลล์ เซลล์ใหม่อาจเข้าสู่กระบวนการนี้อีกเพื่อแบ่งเซลล์เพิ่มเติม เราเรียกวงจรนี้ว่าวัฏจักรของเซลล์ (Cell cycle)
- Mitosis เป็นเพียงส่วนหนึ่งของ cell cycle เท่านั้น
- อันที่จริง mitotic (M) phase รวมเอาการแบ่งนิวเคลียส (karyokinesis) และการแบ่งไซโตพลาสซึม (cytokinesis) เข้าไว้ด้วยกันและเป็นส่วนที่ใช้เวลาน้อยที่สุดใน cell cycles
- ส่วนที่กินเวลามากที่สุดคือ Interphase ซึ่งใช้เวลาถึง 90%

The Cell Cycles

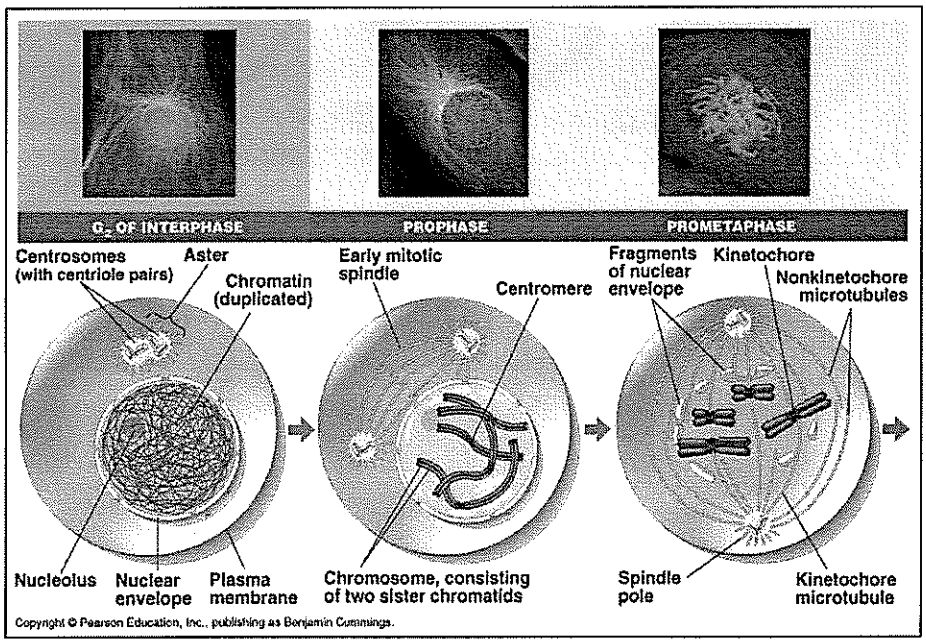


The Mitotic Cell Cycles

- Interphase สามารถแบ่งออกได้เป็น phase ย่อยๆ ได้ดังนี้
    1. G1 phase (first gap) เซลล์มีการเจริญ เพิ่มจำนวนของ organelles เป็นเท่าตัวและเตรียมพร้อมสำหรับการจำลองตัวของ DNA
    2. S phase (synthesis) ในระยะนี้มีการจำลอง DNA ขึ้นในแต่ละโครโมโซมซึ่งทำให้ 1 โครโมโซมมี 2 โครมาติด
    3. G2 phase (second gap) ในระยะนี้เป็นการเตรียมตัวเข้าสู่ Mitotic cell division หรือ M phase

G2 phase

- G2 phase เป็นช่วงท้ายของ interphase จะเห็นเยื่อหุ้มนิวเคลียสและพบ nucleolus อาจมีมากกว่า 1 พบ centrosome ข้างนอกนิวเคลียส
- ในเซลล์สัตว์พบว่าภายใน centrosome มี centrioles อยู่คู่หนึ่ง มี microtubules ยื่นออกมารอบ centrosome เรียกว่า asters
- ช่วงนี้โครโมโซมมีการจำลองตัวเรียบร้อยแล้วแต่ยังสังเกตุเห็นไม่ชัดเพราะโครโมโซมมีลักษณะเป็นเส้นใยโครมาติน
- เมื่อทุกอย่างพร้อมแล้วจึงมีการแบ่งเซลล์ในช่วง M phase จนได้เซลล์ลูก 2 เซลล์ ซึ่งเซลล์ใหม่อาจเข้าสู่ cell cycle อีกเพื่อการแบ่งเซลล์หรืออาจจะไม่เข้าก็ได้
- Mitosis แบ่งออกได้เป็น 5 subphase คือ
    - Prophase
    - Prometaphase
    - Metaphase
    - Anaphase
    - Telophase

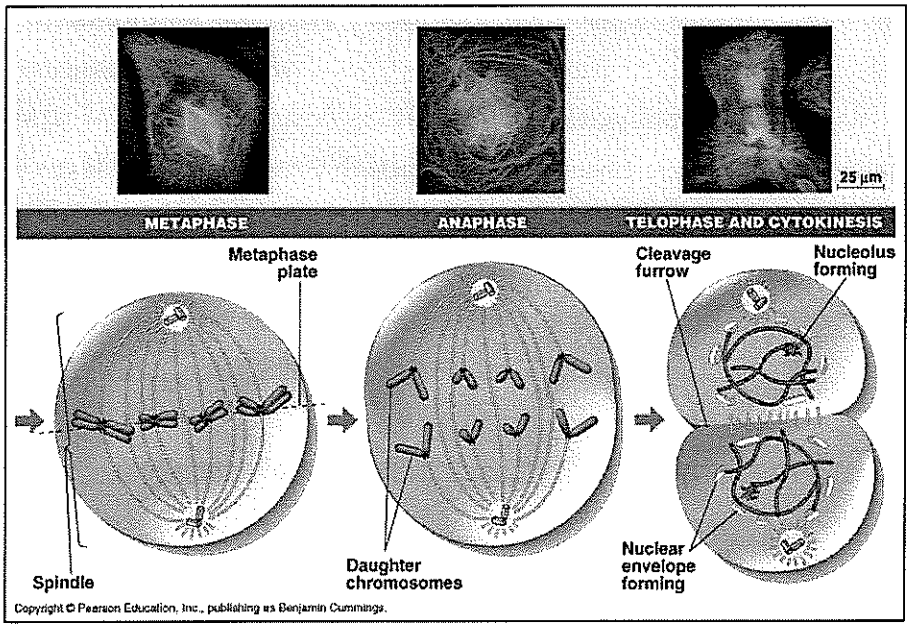


Prophase

- มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นทั้งในนิวเคลียสและในไซโตพลาสซึม
- ในนิวเคลียส โครมาตินหดสั้นเข้ามองเห็นเป็นโครโมโซม, nucleolus หายไป
- เห็น 1 โครโมโซมประกอบด้วย 2 sister chromatids
- ในไซโตพลาสซึมเห็นสายใย spindle ซึ่งเกิดจากการยืดออกของ microtubules จาก centrosome และ centrosome เคลื่อนตัวแยกกันไปอยู่ที่ขั้วเซลล์

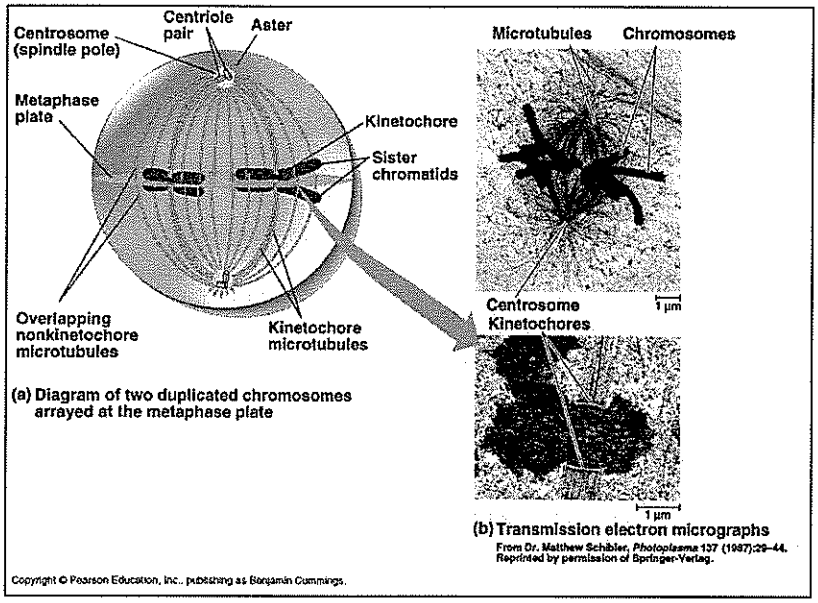
Prometaphase

- เยื่อหุ้มนิวเคลียสสลายออกเป็นส่วนๆ
- สายใย spindle มีการเคลื่อนที่เข้าไปในนิวเคลียสและจับกับโครโมโซมที่หดสั้นเข้า
- สายใย spindle จาก microtubule ยืดออกจากขั้วเซลล์ทั้ง 2 ข้างผ่านกึ่งกลางเซลล์
- ที่โครมาติดมีโครงสร้างพิเศษเกิดขึ้นเรียกว่า kinetochore อยู่บริเวณ centromere
- บางสายของ microtubule ยึดติดกับ kinetochore เรียก kinetochore microtubule
- บางสายของ microtubule ไม่ได้ยึดติดกับ kinetochore แต่จะปฏิสัมพันธ์กับ microtubule ที่ยืดมาจากขั้วเซลล์ฝั่งตรงข้ามเรียก microtubule เหล่านี้ว่า nonkinetochore microtubule



Metaphase

- ตอนนี้ centrosome ทั้ง 2 จะแยกไปอยู่ที่ขั้วเซลล์ฝั่งละ 1
- โครโมโซมมีการเรียงตัวอยู่ที่กึ่งกลางเซลล์ที่เรียกว่า metaphase plate
- Centromere ของทุกโครโมโซมจะอยู่บน metaphase plate
- Kinetochores ของทุกโครโมโซมจะมี microtubule ที่มาจากขั้วเซลล์ยึดอยู่เราเรียก microtubule ทั้งหมดว่า spindle



Anaphase

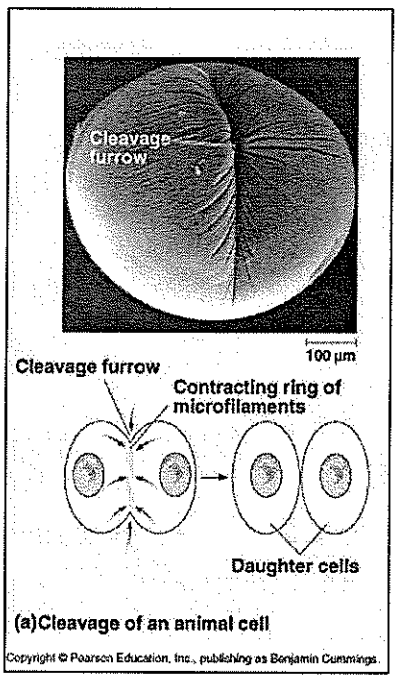
- เริ่มขึ้นทันทีเมื่อคู่ centromere ของแต่ละโครโมโซมแยกออกจากกัน สุดท้ายก็จะได้ sister chromatid เป็นอิสระต่อกัน
- โครมาติดถูกดึงแยกออกไปหาขั้วเซลล์ในขณะที่ kinetochore microtubule หดสั้นลง
- ขั้วเซลล์ก็ถูกทำให้แยกออกจากกันโดยการยืดออกของ nonkinetochore microtubules
- ในที่สุดขั้วเซลล์ทั้งสองก็จะมีอะไรที่เท่ากัน ไม่ว่าจะเป็นจำนวนโครโมโซมและปริมาตร

Telophase

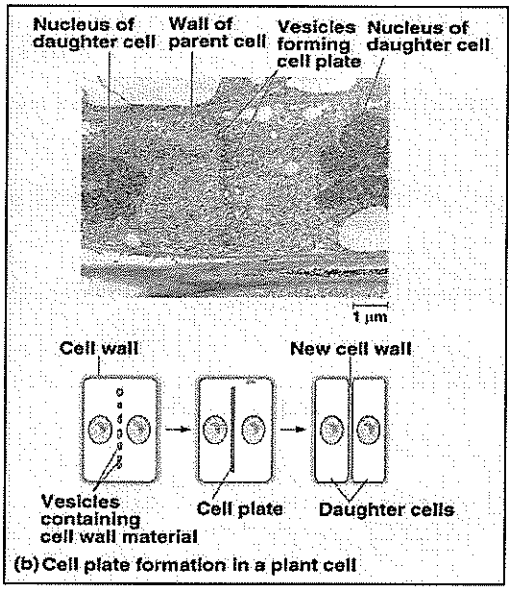
- Nonkinetochore microtubules จะยังคงยืดออก เริ่มเห็นผนังหุ้มนิวเคลียส
- ในที่สุดจะเห็น 2 nuclei ที่มีสารพันธุกรรมที่เหมือนกัน

Cytokinesis

- Cytokinesis เกิดขึ้นต่อเนื่องจากการแบ่งนิวเคลียส
- ในเซลล์สัตว์จะเห็นเป็นร่องของการแบ่งเซลล์เรียกว่า cleavage furrow ทำให้ได้เป็น 2 เซลล์
- ในเซลล์พืชจะเห็นเป็น cell plate
- ในเซลล์สัตว์การแบ่งไซโตพลาสซึมเกิดขึ้นจากกระบวนการที่เรียกว่า cleavage
- ลักษณะแรกที่เห็นคือ cleavage furrow เกิดขึ้นที่บริเวณที่เป็น metaphase plate เก่า



- ใน cytoplasm จะพบ contractile ring ของ actin microfilament ร่วมกับโปรตีน myosin
- Actin และ myosin เป็นโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ของกล้ามเนื้อและการเคลื่อนที่ของเซลล์
- ในเซลล์พืชไม่พบ cleavage furrow แต่จะพบ vesicles ซึ่งมาจาก golgi apparatus เคลื่อนตัวมาตาม microtubules มาที่กึ่งกลางเซลล์ สร้างเป็น cell plate
- องค์ประกอบของผนังเซลล์ถูกบรรจุอยู่ใน vesicles เพื่อใช้ในการสร้าง cell plate



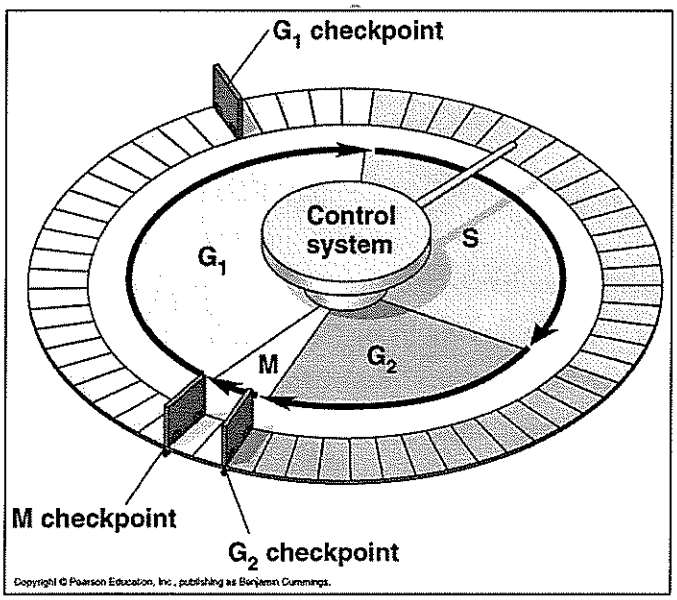
Microtubule

- การยืดออกของ spindle microtubule เกิดจากการเชื่อมต่อกันของโปรตีนหน่วยย่อยที่มีชื่อว่า tubulin
- การประกอบกันของ spindle microtubules เกิดขึ้นที่ centrosome หรือเรียกตามหน้าที่ว่า microtubule-organize center
- ในเซลล์สัตว์พบ centriole ภายใน centrosome แต่พบว่ามันไม่มีความจำเป็นต่อการแบ่งเซลล์ เนื่องจากพบว่าในเซลล์พืชส่วนใหญ่ไม่มี centriole
- ในระยะ interphase พบว่า centrosome มีการจำลองตัวขึ้นมาเป็น 2 ชุดแล้วเคลื่อนไปอยู่ฝั่งตรงข้าม
- ในระยะ anaphase ซึ่ง sister chromatid ถูกดึงแยกจากกัน หลักฐานจากการทดลองเชื่อว่า kinetochore ร่วมกับ motor protein ที่ทำให้โครโมโซมมีการเคลื่อนที่ไปสู่ขั้วเซลล์
- ในขณะที่ microtubule ถูกทำให้สั้นลงโดยการ depolymerizing ที่ปลายด้านที่ติดกับ kinetochore

การควบคุมวัฏจักรของเซลล์

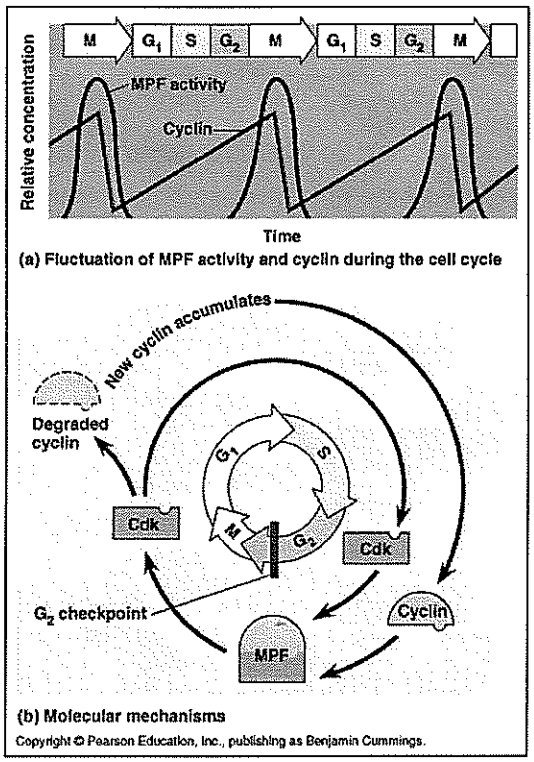
- เซลล์แต่ละชนิดมีความถี่ในการแบ่งเซลล์ไม่เท่ากัน เกิดจากการควบคุมระดับโมเลกุล
- การเข้าสู่ cell cycle เกิดจากสารเคมีที่จำเพาะในไซโตพลาสซึมเป็นตัวส่งสัญญาณ
- มีการทดลองโดยเอาเซลล์ต่างระยะกันใน cell cycle มาหลอมรวมกัน (fusion) ด้วยกระแสไฟฟ้า พบว่าสามารถกระตุ้นให้นิวเคลียสของเซลล์ที่ยังไม่เข้าสู่ cell cycle ให้เข้าสู่กระบวนการแบ่งเซลล์ตามเซลล์ที่มาหลอมรวมซึ่งกำลังอยู่ในระยะการแบ่งเซลล์

- การที่เซลล์จะเข้าสู่การแบ่งเซลล์นั้นเกิดจากระบบควบคุม (cell cycle control system) ซึ่งมีการควบคุมที่ตำแหน่งต่างๆ ใน cell cycle เรียกตำแหน่งควบคุมนี้ว่า checkpoint โดยตัวที่ควบคุมอาจจะมาจากปัจจัยภายในหรือภายนอกเซลล์ก็ได้
- Checkpoint แต่ละจุดจะเป็นตัวบอกว่าพร้อมที่จะผ่านไปยังขั้นต่อไปหรือไม่
- มี 3 checkpoints ที่พบใน cell cycle คือใน G1, G2 และใน M phase
- ในเซลล์สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมพบว่า G1 checkpoint มีความสำคัญมากโดยมากถ้าเซลล์ผ่านจุดนี้ไปมักจะเกิดการแบ่งเซลล์ได้สำเร็จ
- แต่ถ้าถึงจุด G1 checkpoint แล้วยังไม่ได้รับสัญญาณให้ผ่านจุดนี้ไป เซลล์ๆ นั้นมักจะออกจาก cell cycle กลับไปอยู่ในระยะที่ไม่มีการแบ่งเซลล์หรือ G0 phase
- เซลล์สมอง เซลล์ประสาท มีการเปลี่ยนรูปร่างไปทำหน้าที่เฉพาะ พบว่าเซลล์เหล่านี้ไม่มีการแบ่งเซลล์อีก
- ส่วนเซลล์ตับพบว่าสามารถกลับเข้าสู่ cell cycle ได้แต่จะต้องมี growth factor ปล่อยออกมาระหว่างที่เซลล์บาดเจ็บ



Cyclins and Cyclin-Dependent kinase

- สัญญาณที่เป็นตัวบอกว่าให้ผ่านจุด checkpoint ไปได้คือ โปรตีน 2 ชนิด
- ตัวแรกเป็นโปรตีน kinase ซึ่งทำให้โปรตีนอื่นทำงานหรือไม่ทำงานโดยการเติมหมู่ phosphate เข้าไป ซึ่งโปรตีน kinase นี้จะเป็นตัวส่งสัญญาณจุด checkpoint ใน G1 และ G2
- โปรตีน kinase มีปริมาณคงที่ในเซลล์ที่กำลังเจริญแต่โดยมากจะอยู่ในรูปไม่ทำงาน (inactive) จำเป็นต้องอาศัยโปรตีนอีกตัวคือ cyclin มารวมกันเรียกว่า cyclin-dependent kinase (Cdks) ซึ่งตัวแรกที่ถูกค้นพบคือ MPF (Maturation-promoting factor หรือ M-phase-promoting factor)
- นอกจากนี้ MPF ยังทำหน้าที่ในการทำลายหรือสลาย cyclin ซึ่งเป็นองค์ประกอบของตัวมันเองหลังจากเซลล์ผ่านช่วง M phase แล้ว



<u>ปัจจัยการควบคุมแบ่งออกได้เป็น 2 ปัจจัยด้วยกันคือ</u>

1. **ปัจจัยภายในเซลล์ (Internal signal)**

   พบว่าโปรตีนชื่อ anaphase-promoting complex (APC) ซึ่งอยู่ในสภาพที่ไม่ทำงาน (inactive) ถ้า kinetochore ยังไม่มี spindle microtubule มาจับ แต่เมื่อมี spindle microtubule มาจับที่ kinetochore จนครบแล้ว APC จึงจะอยู่ในรูปพร้อมทำงาน (active) ทำหน้าที่ปลดปล่อย cyclin ออกจาก Cdk และทำให้โปรตีนที่ทำหน้าจับให้โครมาติดอยู่ด้วยกัน เปลี่ยนไปอยู่ในรูป inactive

2. **ปัจจัยจากภายนอก (External signal)**

- Growth factor สามารถกระตุ้นให้เซลล์เกิดการแบ่งตัวได้ ตัวอย่างคือ เมื่อเกิดบาดแผล เซลล์เกร็ดเลือด (platelets) จะสร้าง Platelet-derived growth factor (PDGF) เพื่อช่วยให้เซลล์ fibroblast เกิดการแบ่งเซลล์ ทำให้บริเวณบาดแผลหาย
- Density-dependent inhibition เป็นปัจจัยภายนอกอีกอย่างหนึ่งซึ่งพบว่าเมื่อเซลล์เจริญและแบ่งเซลล์จนมีการเรียงตัวอัดแน่นเป็นระนาบเดียวเต็มพื้นที่แล้วนั้น เซลล์จะหยุดการแบ่งเซลล์
- Anchorage dependence ก่อนที่เซลล์จะมีการแบ่งเซลล์มันจะต้องหาที่ยึดจับเช่น extracellular matrix หรือแม้กระทั่งผิวด้านในของภาชนะเลี้ยงเซลล์

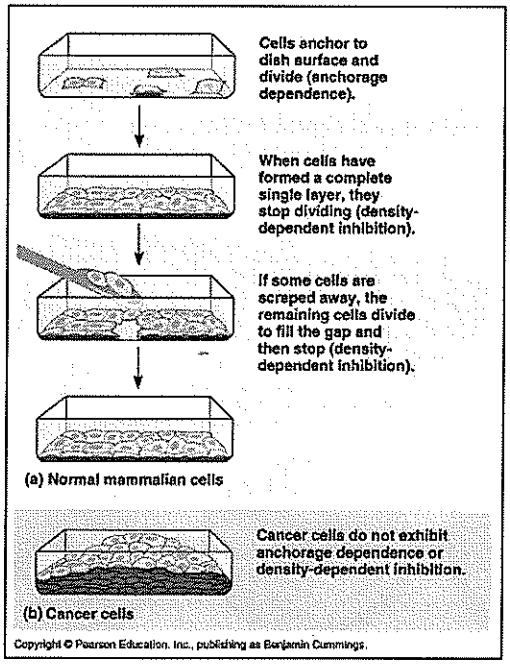
<u>Cancer Cells</u>

- พบว่าเซลล์มะเร็งไม่สามารถควบคุมด้วย density-dependent inhibition หรือ anchorage dependence
- เซลล์มะเร็งสามารถแบ่งเซลล์ได้ไม่จำกัดและไม่ต้องการ growth factor มากระตุ้นการแบ่งเซลล์อีกด้วย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเซลล์มะเร็งสร้างขึ้นมาเองหรือเกิดจากระบบควบคุม cell cycle ใน เซลล์มะเร็งผิดปกติ

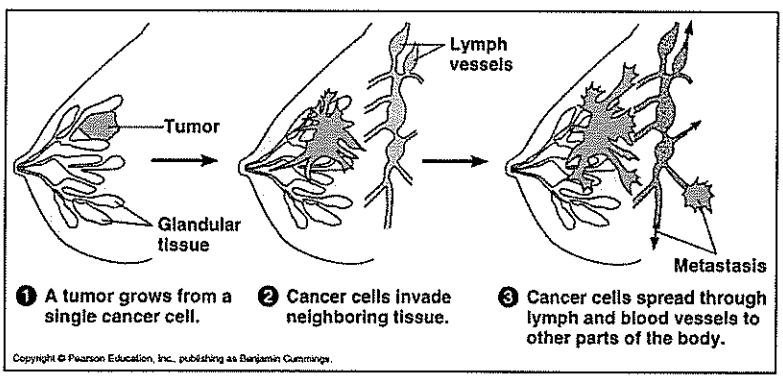
- เซลล์มะเร็งสามารถแบ่งเซลล์ได้ไม่มีที่สิ้นสุดตราบใดที่ยังมีอาหารเรียกว่า immortal cell หรือเซลล์ที่ไม่มีวันตาย ตัวอย่างเซลล์มะเร็ง HeLa cell เป็นเซลล์มะเร็งที่มีการเพาะเลี้ยงตั้งแต่ปี ค.ศ. 1951 จนถึงปัจจุบันยังคงมีการเพาะเลี้ยงอยู่
- เซลล์โดยปกติสามารถแบ่งเซลล์ได้โดยประมาณ 20-50 ครั้ง
- เซลล์ปกติที่เกิดการเปลี่ยนรูป (Transformation) ไปเป็นเซลล์มะเร็ง โดยปกติระบบภูมิคุ้มกันจะรับรู้ได้และทำลายเซลล์เหล่านั้น

Normal Cells

Cancer Cells



- แต่ถ้าเซลล์มะเร็งนั้นหลุดรอดจากการตรวจตราของระบบภูมิคุ้มกัน ถ้ามันเจริญแบ่งเซลล์โดยอยู่กับที่ไม่มีการกระจายเกิดเป็นก้อนเนื้อเรียกว่า benign tumor ซึ่งไม่อันตรายสามารถผ่าตัดทิ้งไปได้
- แต่ถ้า tumor นั้นมีการทำลายหรือทำให้อวัยวะนั้นสูญเสียการทำงานเราเรียกว่า malignant tumor และเรียกว่าเป็นมะเร็ง (cancer)
- malignant tumor มักมีอัตราการแบ่งเซลล์สูงและอาจมีจำนวนโครโมโซมที่ผิดปกติ มีลักษณะผิวนอกของเซลล์เปลี่ยนไปทำให้สูญเสียคุณสมบัติในการยึดจับกับเซลล์ข้างเคียงและ extracellular matrix ทำให้เซลล์เหล่านี้แพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อข้างเคียง ซึ่งถ้าอยู่ใกล้กับระบบลำเลียงเลือด จะทำให้เซลล์มะเร็งแพร่กระจายไปทุกส่วนของร่างกาย
- การแพร่กระจายจากจุดเริ่มต้นไปยังส่วนอื่นๆของเซลล์มะเร็งเราเรียกว่า metastasis
- การรักษามักใช้สารกัมมันตรังสีพลังงานสูงร่วมกับสารเคมีที่มีผลโดยตรงต่อเซลล์ที่กำลังมีการแบ่งเซลล์

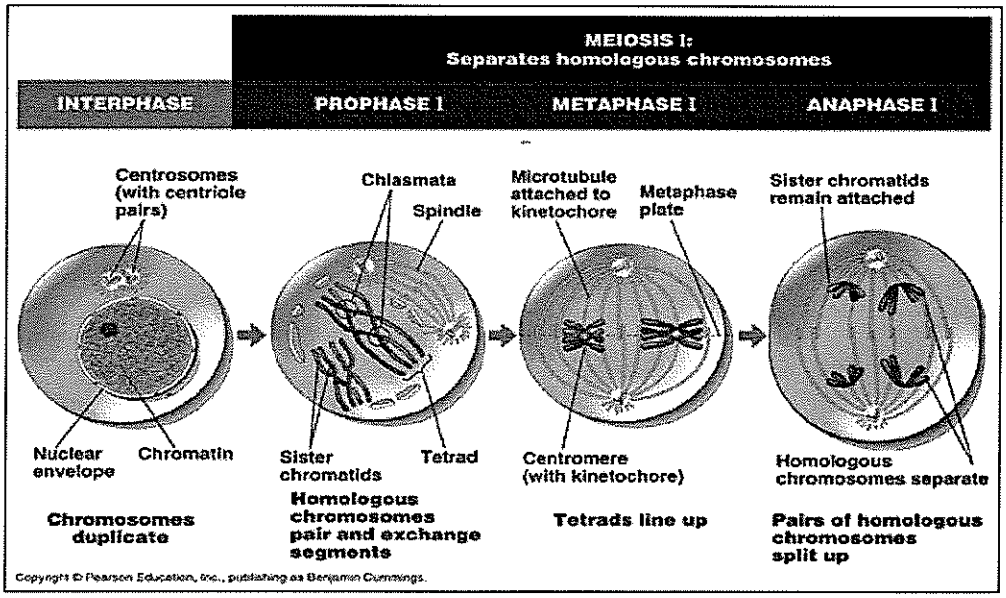


การแบ่งเซลล์แบบ Meiosis

- การแบ่งเซลล์ของเซลล์สืบพันธุ์ (sex cells) เพื่อสร้าง gametes ในอวัยวะสืบพันธุ์
- เป็นการแบ่ง chromosomes ให้เหลือเพียง 1/2 ของจำนวนตั้งต้นเรียกว่า chromosome reduction (2n -- > n)
- ก่อนการแบ่งเซลล์ต้องมีการจำลองโครโมโซม (replication) เหมือนการแบ่งเซลล์แบบ mitosis
- การแบ่งแบบ meiosis มี 2 ขั้นตอนต่อเนื่องกัน เรียก

  Meiosis I : เป็นการแบ่ง homologous chromosome เพื่อลดจำนวน chromosomes ลงครึ่งหนึ่ง

  Meiosis II : เป็นการแบ่ง sister chromatids (เหมือนการแบ่ง mitosis ไม่มีการลดจำนวน chromosomes)



Interphase I

- เหตุการณ์เหมือนใน mitosis
- สังเคราะห์โปรตีนและ RNAs
- Chromosome duplication ได้เป็น 2 sister chromatids ที่ยังคงยึดติดกันที่ centromere เป็น chromosome เดียว
- Centrosome replication ได้ 2 centrosomes

Prophase I

- เป็นระยะแบ่ง Chromosomes หรือ chromosome reduction จาก Diploid cell (2n) ให้ได้เป็น Haploid cell (n)
- ปกติในเซลล์ร่างกาย (2n) มี chromosomes ที่เหมือนกันซึ่งเรียกว่า Homologous chromosomes อย่างละ 1 คู่ แต่ในเซลล์ gamete มีเหลือเพียงแท่งเดียว (n) แล้วเมื่อรวมกับ gamete อีกเซลล์ระยะ fertilization ทำให้ได้เซลล์ตัวอ่อน (embryo) มี homologous chromosome เป็นคู่ (2n) เช่นเดิม
- แบ่งเหตุการณ์ออกเป็น 5 ระยะย่อย

1. Leptonema : Leptos = thin
2. Zygonema : Zygon = adjoining

3. Pachynema : Pachus = thick
4. Diplonema : Di = two
5. Diakinesis : Dia = across

1. Leptonema : chromosomes บางยาวเส้นใย (filament) หรือเส้นด้าย

2. Zygonema : chromosomes ที่เหมือนกัน (homologous chromosomes) หดสั้น, เห็นชัดขึ้น และเข้าคู่กัน เรียกว่า synapsis

3. Pachynema : homologous chromosome หนาขึ้นและหดสั้น แต่ละแท่งเห็นมี 2 chromatids ยึดกับบริเวณ contromere (ซึ่งยังเป็น chromosome แท่งเดียว) Homologous chromosomes 1 คู่ จึงมี 4 chromatids (tetrad) 1 chromatid ของแต่ละ bivalent ไขว้กัน (crossing over) จุดไขว้เรียกว่า Chiasmata ซึ่งเคลื่อนที่ไปมาได้

4. Diplonema : chromosomes ใหญ่เห็นชัดขึ้น และ เห็นไคแอสมาชัดเจน โครโมโซมเริ่มแยกออกจากกันแต่ยังไม่สมบูรณ์ ในมนุษย์เพศหญิงไข่จะแบ่งตัวจนถึงระยะนี้และดำเนินต่อเมื่อเข้าสู่วัยรุ่น

5. Diakenesis : chromosomes หดแน่นขึ้น จุดไขว้คงที่, nuclear membrane ขาดเป็นท่อนๆ

Metaphase I

- Homologous chromosomes วางเรียงบน metaphase plate และคงมี crossing over ระหว่าง 2 chromatids
- Spindle fibers จากขั้วเซลล์ยึด homologous chromosomes ที่ Kinetochore พร้อมที่จะดึง chromosomes ออกจากกัน

Anaphase I

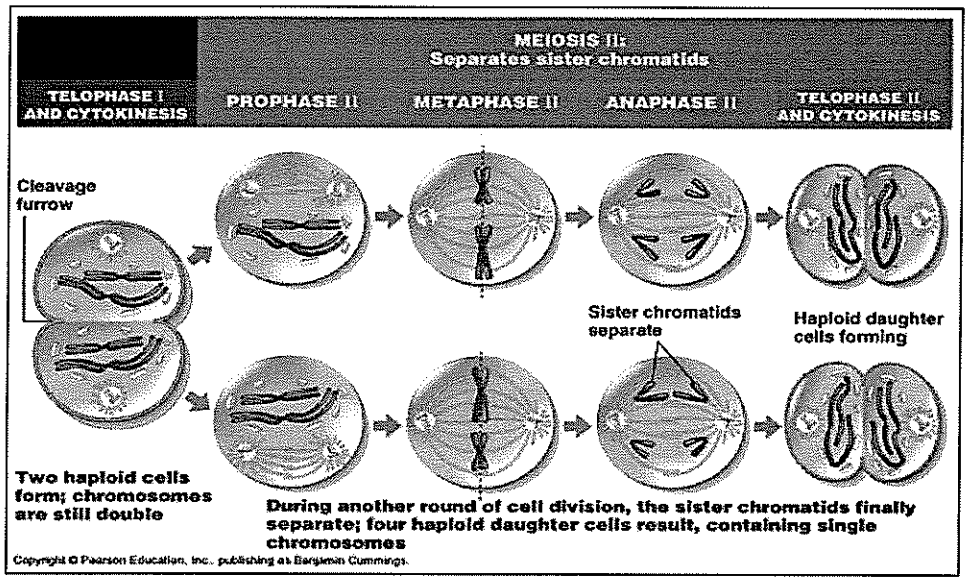
- 2 Chromatids ที่ไขว้กันอยู่แลกเปลี่ยนชิ้นส่วนกันที่จุด crossing over จึงเป็นการแลกเปลี่ยนสารพันธุกรรม ซึ่ง เรียกว่า Genetic recombination
- Spindle fibers เคลื่อนที่ดึง homologous chromosome แยกออกจากกัน ไปยังขั้วตรงข้าม
- Sister chromatids ของ homologous chromosome แต่ละแท่งยังคงติดกัน (เป็น chromosome เดียว)ระยะนี้เป็นระยะที่มีการลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่ง

Telophase I & Cytokinesis

- Spindle fibers ดึง homologous chromosomes ออกจากกันจนถึงขั้วของเซลล์
- Cytoplasm ถูกแบ่งเป็น 2 ส่วนแยกได้เป็น 2 เซลล์ที่แต่ละเซลล์มีจำนวน chromosomes เป็น haploid (n)
- ในสิ่งมีชีวิตบางชนิด chromosomes คลายเกลียวออก nuclear membrane และ nucleolus เกิดขึ้นอีกครั้ง
- ในสิ่งมีชีวิตบางชนิด เซลล์ใน telophase I จะเข้าสู่ meiosis II

Meiosis II

- การแบ่งครั้งที่ 2 นี้ โดยวิธีการคล้าย mitosis มาก และไม่มี DNA duplication ไม่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวน chromosomes (n --> n)
- แบ่งเป็น 4 ระยะย่อย
  - » Prophase II
  - » Metaphase II
  - » Anaphase II
  - » Telophase II



- Prophase II: Nuclear membrane สลายอีกครั้ง chromosomes หดสั้น
- Metaphase II: Chromosomes เรียงกันกลางเซลล์, centromere ของแต่ละ chromosome แบ่งออกเป็น 2 ทำให้ chromatid แต่ละเส้นกลายเป็น daughter chromosome และมี spindle fiber ยึดที่ kinetochore ของ chromosomes
- Anaphase II: Daughter chromosome ถูกดึงออกจากกันไปยังขั้วตรงข้ามของเซลล์
- Telophase II: Chromosomes ถูกดึงไปที่ขั้วเซลล์มี nuclear membrane สร้างขึ้นใหม่ และ cytoplasm ถูกแบ่งให้ได้ 2 เซลล์ที่คงเป็น haploid (n)

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (Gametogenesis)

- Meiosis แบ่ง 1 diploid cell (2n)ได้เป็น 4 haploid cells (n) ซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ ทั้งรูปร่างและส่วนประกอบ ให้กลายเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (gametes) โดยกระบวนการ Gametogenesis
- Gametogenesis ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ meiosis และ gamete differentiation
- การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เรียกว่า Spermatogenesis : การสร้าง sperm
- การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียเรียกว่า Oogenesis : การสร้าง egg
- Spermatogonia / Oogonia เป็นเซลล์เริ่มต้นของ sperm /egg แบ่งแบบ mitosis หลายรุ่น เซลล์เจริญขยายขนาดใหญ่ขึ้นเป็น primary spermatocytes หรือ primary oocytes จึงจะเริ่ม Gametogenesis
- Primary Spermatocyte (2n) แบ่ง Meiosis I ได้ secondary spermatocytes (n) 2 เซลล์

- Secondary spermatocytes แบ่ง Meiosis II ได้ Spermatids (n) ทั้งหมด 4 เซลล์
- Spermatids differentiate เป็น Sperms ทั้ง 4 เซลล์
- Primary oocytes (2n) แบ่ง Meiosis I ได้ secondary oocytes (n) 1 เซลล์ และ Polar body 1 เซลล์
- Secondary oocyte หลัง fertilization แล้ว และ polar body แบ่ง Meiosis II ได้ Ovum (egg) 1 เซลล์และ 3 polar bodies

Spermatogenesis : The Formation of Sperm

- Primary Spermatocyte (2n) แบ่ง Meiosis I ได้ secondary spermatocytes (n) 2 เซลล์
- Secondary spermatocytes แบ่ง Meiosis II ได้ Spermatids (n) ทั้งหมด 4 เซลล์
- Spermatids differentiate เป็น Sperms ทั้ง 4 เซลล์

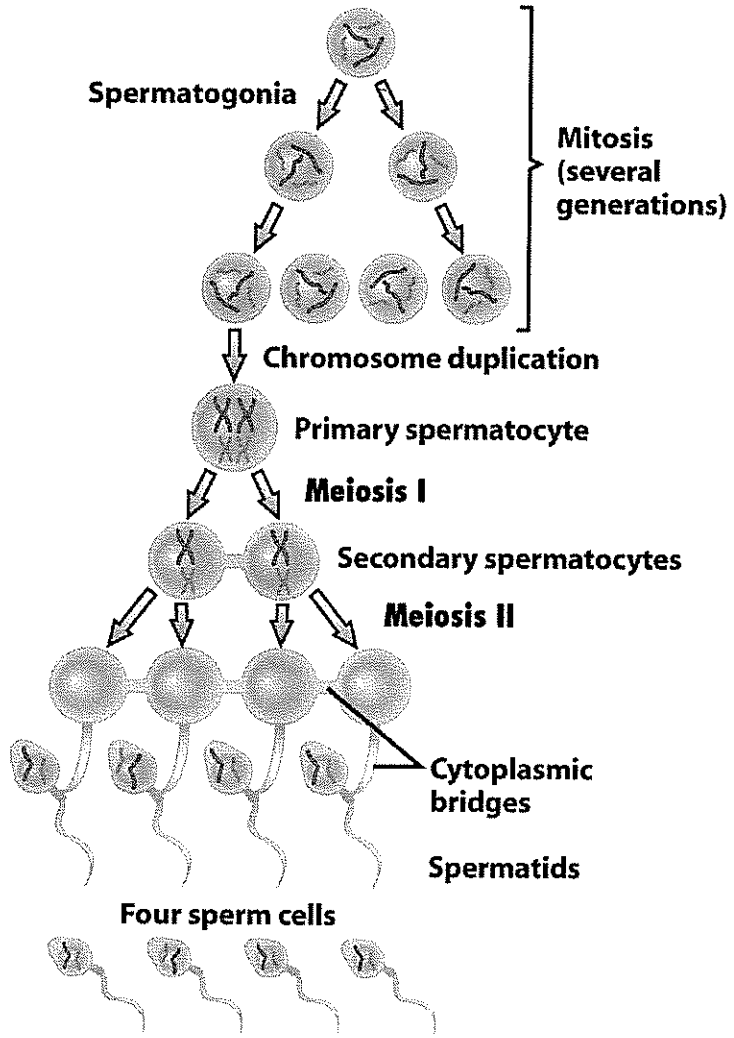


Figure 2-17b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

Oogenesis: The Formation of Egg

- Oogonia แบ่งแบบ mitosis หลายครั้งจนได้เป็น primary oocytes

- Primary oocytes (2n) แบ่ง Meiosis I ได้ secondary oocytes (n) 1 เซลล์ และ Polar body 1 เซลล์ (n)
- Secondary oocyte ทั้ง 2 เซลล์แบ่ง Meiosis II ได้ Ovum (egg) 1 เซลล์ (n) และ 3 polar bodies (n)
- ในคน secondary oocyte จะถูกส่งมาตาม Fallopian tube จาก Graafian follicle เรียกขั้นตอนนี้ว่า Ovulation ซึ่งเกิด meiosis II ระหว่างที่เคลื่อนตัวมา
- egg ที่รับการผสมจาก sperm จะเกิดเป็น zygote เคลื่อนตัวมาตาม oviduct แล้วมาฝังตัวที่ uterus

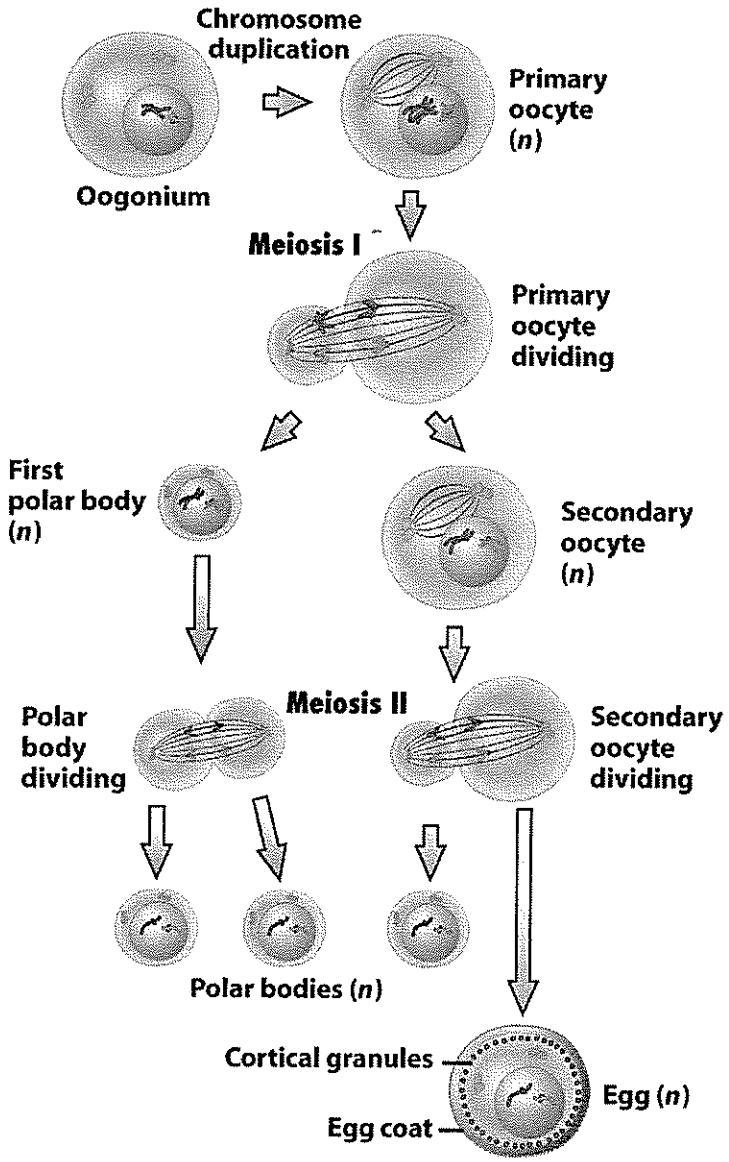
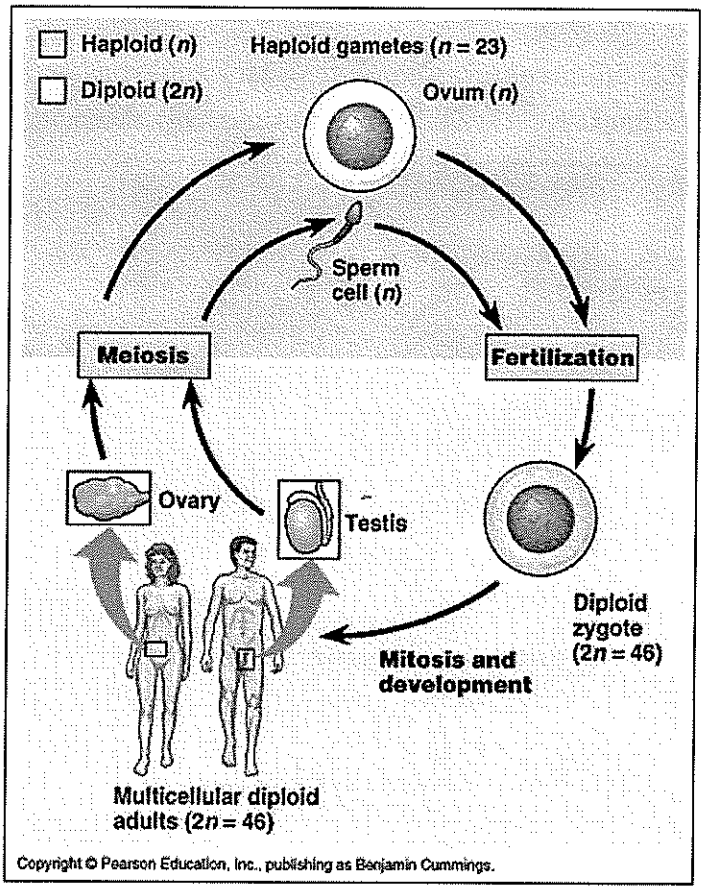


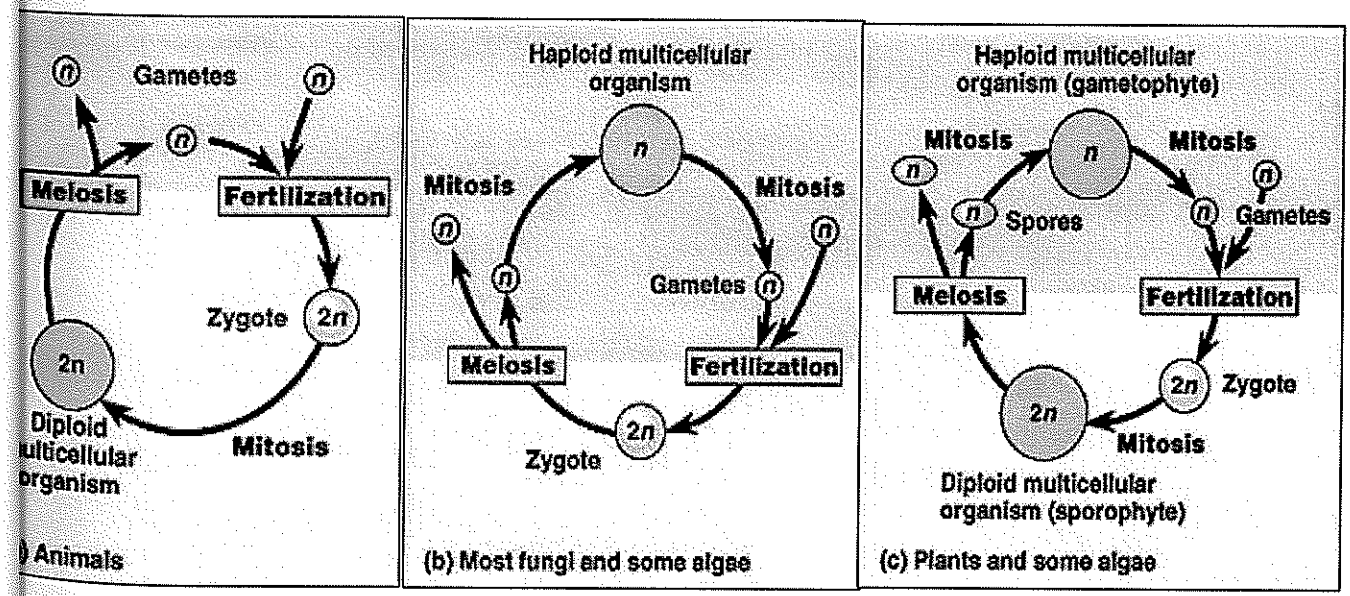
Figure 2-17a Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

พื้นฐานทางพันธุกรรม (Fundamental of Genetics)

- รูปร่างลักษณะต่าง ๆ ที่ปรากฏในคนเรานั้นเกิดจากการถ่ายทอดลักษณะ(character) เหล่านั้นผ่านทางเซลล์สืบพันธุ์จากพ่อ (sperm) และแม่ (ovum) โดยสารพันธุกรรม หรือ DNA



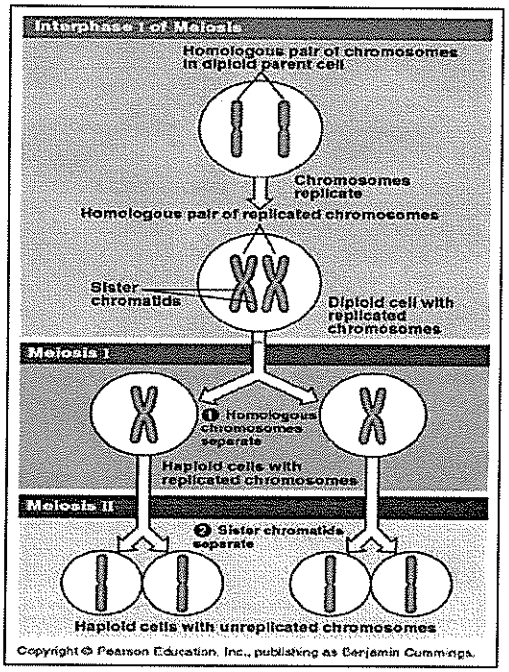
- สิ่งมีชีวิตที่สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์โดยอาศัยการแบ่งเซลล์แบบ Meiosis เกิดการลดจำนวนโครโมโซมลงครึ่งหนึ่งของโครโมโซมทั้งหมดได้เป็น haploid cell (n)
- เมื่อเกิดการปฏิสนธิ (fertilization) มีการรวมกันของนิวเคลียสจากเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมียจากจำนวนโครโมโซมที่มีอยู่ครึ่งหนึ่ง (n) จะรวมกันเป็นโครโมโซมทั้งหมดของ zygote ได้เป็น diploid cell (2n)



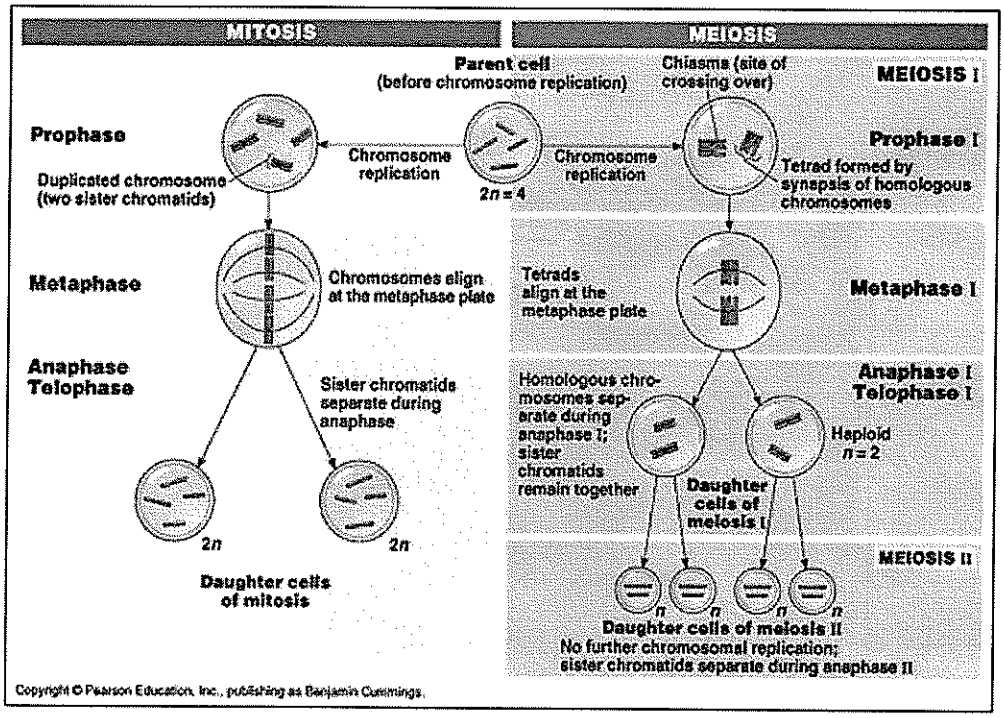
การสร้างเซลล์สืบพันธุ์

- การแบ่งเซลล์แบบ meiosis เพื่อสร้างเซลล์สืบพันธุ์นั้นจะมีการลดจำนวนโครโมโซมลงจาก diploid (2n) เป็น haploid (n)

- เนื่องจากก่อนการแบ่งเซลล์มีการจำลองโครโมโซมหนึ่งครั้งแต่การแบ่งเซลล์เกิดขึ้น 2 ครั้งต่างจากการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ที่มีการแบ่งเซลล์เพียงครั้งเดียวดังนั้นเซลล์ลูกที่ได้จึงมีจำนวนโคโมโซมเท่าเดิม

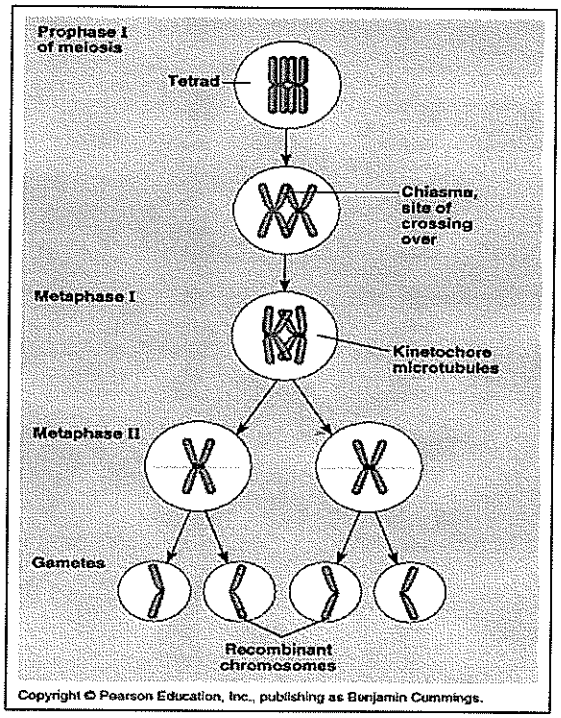


เปรียบเทียบระหว่างการแบ่งเซลล์แบบ mitosis กับ meiosis



Crossing Over

การเกิด crossing over ระหว่าง non-sister chromatids ของ homologous chromosomes ทำให้เกิดความผันแปรของสารพันธุกรรม (genetic variation) ซึ่งได้รวมเอาลักษณะทางพันธุกรรมระหว่างพ่อและแม่เข้าไว้ด้วยกันบน recombinant chromosomes



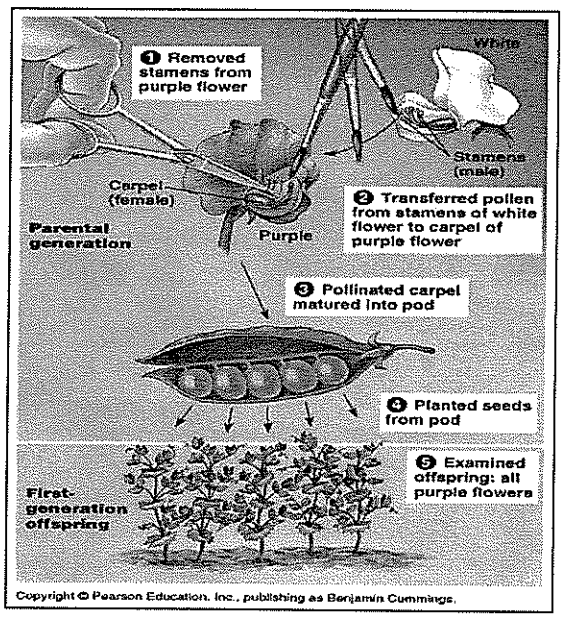
A Genetic Cross

การศึกษาการผสมเกสรในถั่วลันเตาของเมนเดล (Mendel)

- เจริญเติบโตเร็ว มีความหลากหลายทางพันธุกรรม
- ดอกเป็นแบบสมบูรณ์เพศโดยมีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่ในดอกเดียวกัน มีการปฏิสนธิตัวเอง (self-fertilization)

การปฏิสนธิข้ามดอก (cross-fertilization)

- โดยตัดเกสรตัวผู้ออกก่อนมีการสร้างละอองเกสรเรียก emasculation แล้วจึงนำละอองเกสรจากต้นที่ต้องการมาผสมแทน



Genetic Traits

คุณลักษณะต่างๆ (character) ที่ถูกถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้เช่น สีดอก สีเมล็ด ความสูงของต้น ซึ่งแต่ละคุณลักษณะในต้นหนึ่งๆ อาจมีความผันแปรเราเรียกว่า ลักษณะเฉพาะ (trait) เช่น สีของดอกซึ่งมีทั้งต้นที่มีดอกสีม่วงหรือต้นที่มีดอกสีขาว

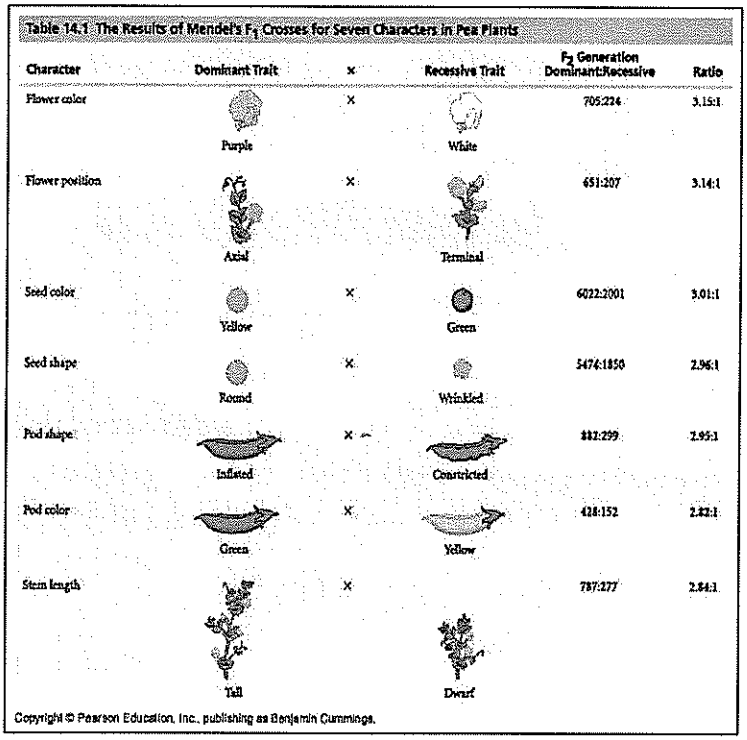


Table 14.1 The Results of Mendel's F_1 Crosses for Seven Characters in Pea Plants

Character	Dominant Trait	×	Recessive Trait	F_2 Generation Dominant:Recessive	Ratio
Flower color	Purple	×	White	705:224	3.15:1
Flower position	Axial	×	Terminal	651:207	3.14:1
Seed color	Yellow	×	Green	6022:2001	3.01:1
Seed shape	Round	×	Wrinkled	5474:1850	2.96:1
Pod shape	Inflated	×	Constricted	882:299	2.95:1
Pod color	Green	×	Yellow	428:152	2.82:1
Stem length	Tall	×	Dwarf	787:277	2.84:1

Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

True-breeding

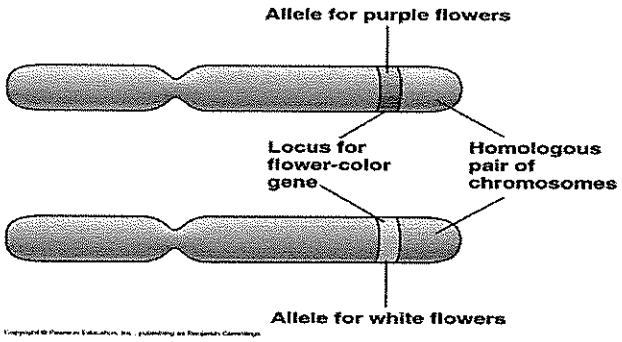
ลักษณะต่างๆ ทั้ง 7 ที่เมนเดลนำมาศึกษานั้นเป็น true-breeding คือต้นที่มีการปฏิสนธิตัวเองแล้วมีลักษณะเหมือนพ่อแม่ทั้งสิ้น (มี alleleที่ควบคุมลักษณะหนึ่งๆเหมือนกันทั้ง 2 allelesเรียกว่าเป็น Homologous กัน) เช่น ต้นถั่วเมล็ดกลมมาผสมตัวเอง ได้ต้นถั่วใหม่ที่มีเมล็ดกลมเช่นเดียวกันหมด

สมมุติฐานของเมนเดล

1. ลักษณะที่ไม่เหมือนกันของยีน (alleles ต่างกัน) เป็นผลให้เกิดความแปรผันของลักษณะที่ถ่ายทอดไปยังรุ่นลูก เช่น ดอกถั่วลันเตาที่มีทั้งสีม่วงและสีขาว
2. แต่ละลักษณะที่ปรากฏในสิ่งมีชีวิตได้รับการสืบทอดจากทั้ง 2 alleles โดย allele หนึ่งมาจากพ่ออีก allele มาจากแม่
3. ถ้า alleles ทั้ง 2 ไม่เหมือนกันจะมีเพียง allele เดียวที่แสดงออก โดย allele หนึ่งจะถูกข่มไว้ดังนั้น allele ที่แสดงออกจะเป็น dominant allele ส่วนอีก allele หนึ่งที่ถูกข่มจะเป็น recessive allele หรือ allele ด้อย เช่น รุ่นลูก F1 ของถั่วลันเตาที่มีแต่ดอกสีม่วงแสดงว่า allele ที่ได้รับจากต้นดอกสีขาวเป็น recessive allele

Allele

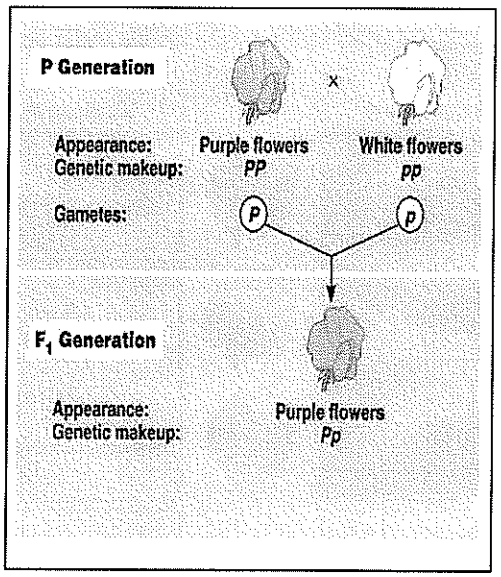
เป็นตำแหน่งที่อยู่บนโครโมโซม ซึ่งมียีนตัวควบคุมลักษณะปรากฏโดย allele หนึ่งมาจากพ่ออีก allele หนึ่งมาจากแม่



4. alleles ทั้งสองที่ควบคุมลักษณะจะถูกแยกออกจากกันในระหว่างที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gamete production) นั้นคือในเซลล์สืบพันธุ์ไม่ว่าจะเป็น sperm หรือ ovum จะได้รับเพียงแค่ allele เดียวเท่านั้นจากสอง alleles ที่อยู่ใน somatic cells (ขั้นการแยก homologous chromosome ใน meiosis I) จากสมมุติฐานข้อนี้ทำให้เมนเดลตั้งกฎข้อที่ 1 Law of Segregation ขึ้น

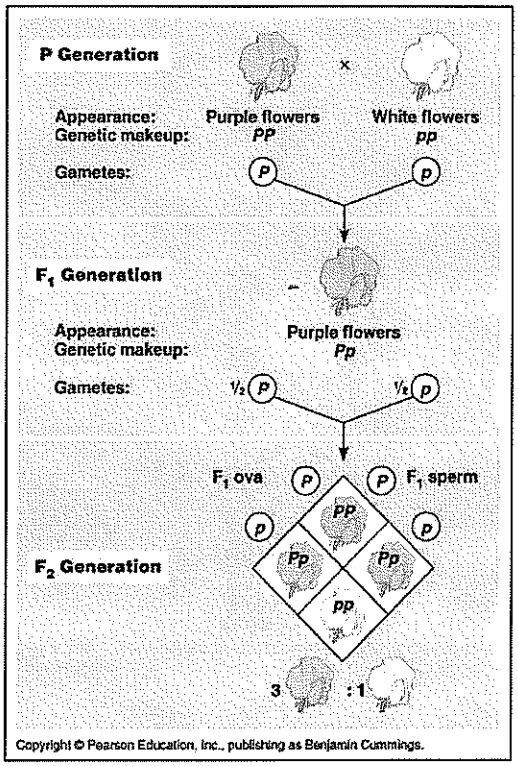
Law of Segregation

- Allele ทั้งสองที่อยู่บนโครโมโซมจะแยกออกจากกันไปอยู่ในเซลล์สืบพันธุ์ (gametes) แต่ละเซลล์นั่นคือ PP หรือ pp ก็จะแยกจากกันไปอยู่ในเซลล์สืบพันธุ์แต่ละเซลล์ได้เป็น P กับ P หรือ p กับ p

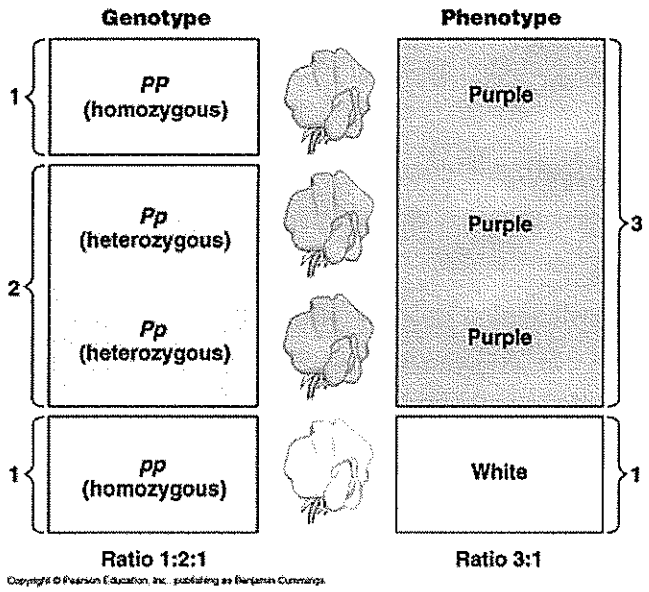


Monohybrid Cross

- การผสมกันระหว่าง 2 alleles ที่มีคุณลักษณะต่างกัน (สีม่วงกับสีขาว) ลูกรุ่น F1 ที่ได้ มีลักษณะใดลักษณะหนึ่งของพ่อหรือแม่เท่านั้น (สีม่วง) แต่เมื่อผสมรุ่น F1 ด้วยกันแล้วพบว่าลักษณะที่หายไปนั้น (สีขาว) กลับพบในรุ่น F2 เราเรียก allele ที่สามารถแสดงออกโดยข่มอีก allele หนึ่งไม่ให้แสดงออกว่า dominance allele ส่วนอีก allele หนึ่งเราเรียกว่า recessive allele
- คำว่าลักษณะเด่น ไม่ได้หมายความเป็นลักษณะปกติหรือเป็นลักษณะโดยทั่วไปมากกว่าลักษณะด้อย แต่หมายถึงอัลลีลที่สามารถแสดงออกในสภาพที่เป็น heterozygous allele



- การศึกษาของเมนเดลโดยดูการถ่ายทอด allele คุณลักษณะเดียว (Monohybrid Cross) พบว่าอัตราส่วนการแสดงออกของ dominance allele ต่อ recessive allele ในรุ่น F2 เป็น 3 : 1



การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมโดยดูลักษณะเดียว

- สมมุติฐานของเมนเดลยังสามารถอธิบายอัตราส่วนในรุ่น F2 คือดอกสีม่วงต่อดอกสีขาว เท่ากับ 3:1 เนื่องจากลูกรุ่น F1 มีอัลลีลเป็น Pp จะสร้างเซลล์สืบพันธุ์เป็นชนิด P และ p ในปริมาณเท่ากัน

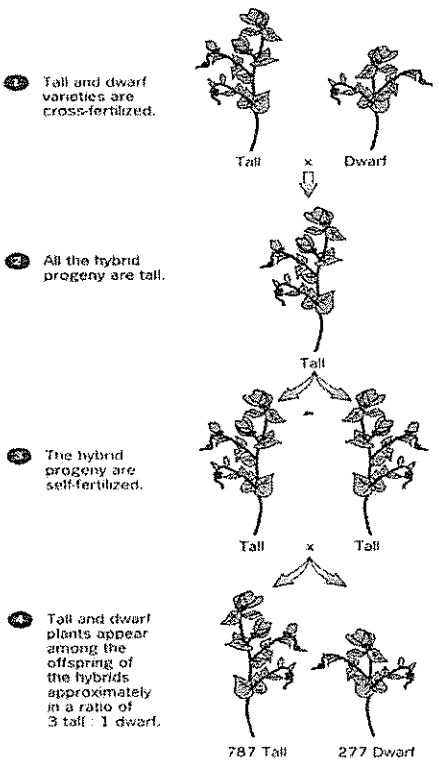


Figure 3.1 Mendel's crosses involving tall and dwarf varieties of peas.

Phenotypes and Genotypes

Phenotype หมายถึงลักษณะพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่ปรากฏออกมาสามารถมองเห็นได้ โดย Phenotype เหล่านี้เกิดจากการควบคุมด้วย Genotype หรือยีนที่อยู่บนโครโมโซมในสภาพคู่ของ alleles เช่น ลักษณะสีของดอกเป็นสีม่วงหรือขาวคือ phenotype ซึ่งมี genotype เป็น PP หรือ Pp ก็ได้ ส่วน phenotype ของดอกสีขาว จะมี genotype เป็น pp เท่านั้น

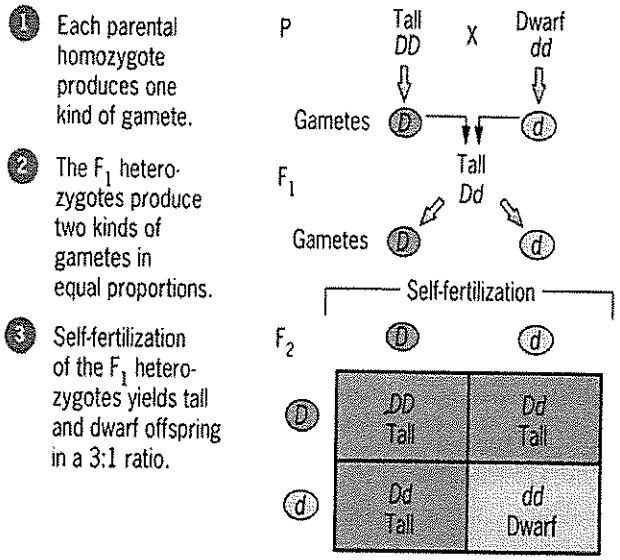
Monohybrid Crosses

The Principle of Dominance: คือ ในสภาวะที่ allele ที่อยู่เป็นคู่ไม่เหมือนกัน (heterozygous allele) จะมีบดบังการมีอยู่ของอีก allele หนึ่ง (In a heterozygote, one allele may conceal the presence of another)

The Principle of Segregation: คือ allele ที่อยู่เป็นคู่จะแยกออกจากกันระหว่างการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และจะมารวมกันอีกครั้งหนึ่งเมื่อมีการปฏิสนธิ (In a heterozygote, two different alleles segregate from each other during the formation of gametes)

The Punnett Square Method

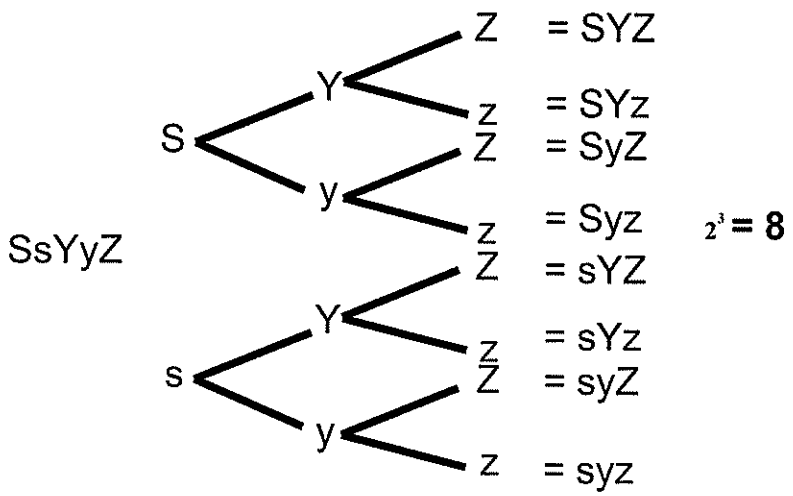
- เป็นวิธีหาอัตราส่วนของ Genotype และ Phenotype โดยวิธีนี้จะต้องหาชนิดของเซลล์สืบพันธุ์ของทั้งสองฝ่ายให้ได้ก่อนแล้วจึงนำมาเข้าตาราง ก็จะได้อัตราส่วนของ Genotype และ Phenotype ของลูกที่เกิดขึ้นจากการผสมเซลล์สืบพันธุ์



F_2	Phenotypes	Genotypes	Genotypic ratio	Phenotypic ratio
	Tall	*DD*	1	3
		Dd	2	
	Dwarf	*dd*	1	1

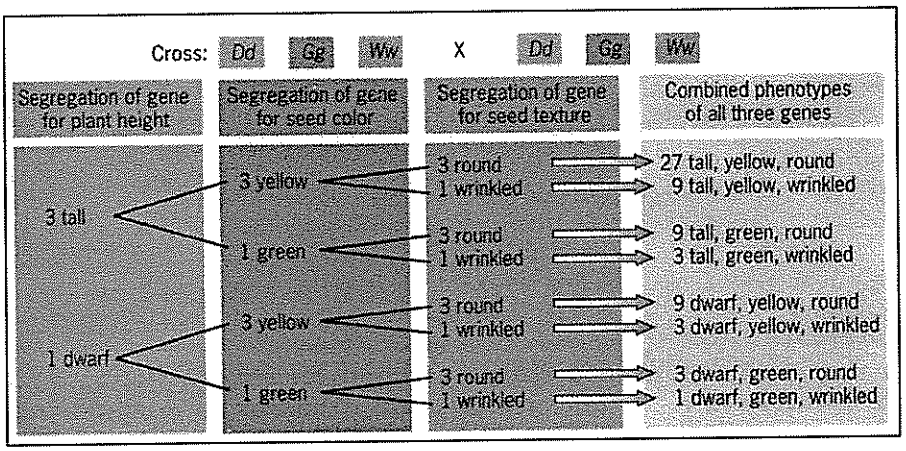
การหาเซลล์สืบพันธุ์แบบต่อกิ่ง

จำนวน gamete = 2n , n คือจำนวนคู่ของยีนที่เป็น heterozygous



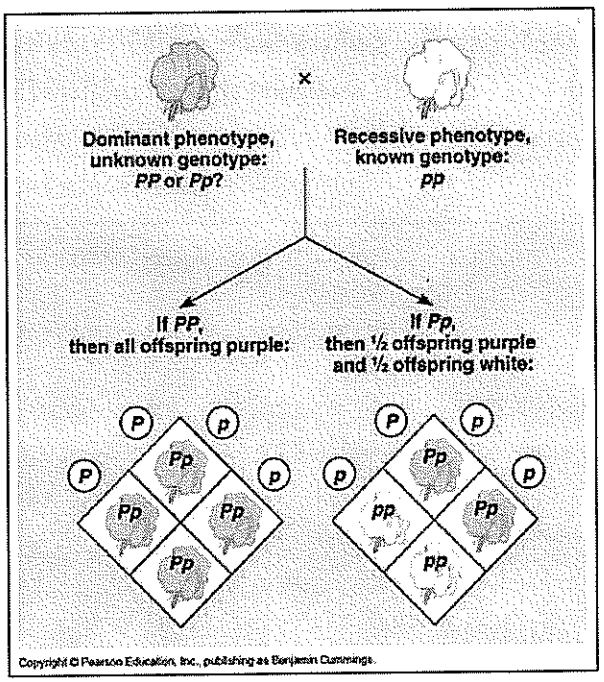
The Forked-Line Method

Trihybrid cross = Three monohybrid crosses



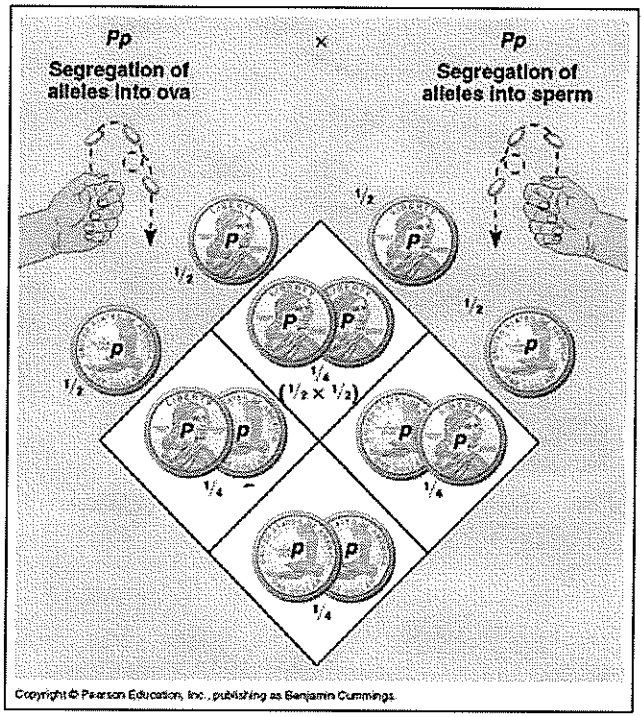
Test Cross

- เป็นการผสมทดสอบเพื่อดูว่าลักษณะปรากฏ (phenotype) ที่เห็นว่าเป็นดอกสีม่วงนั้น จริงๆ แล้วมี genotype เป็นแบบ homozygous (PP) หรือ heterozygous (Pp)
- ในกรณีที่ลักษณะทางพันธุกรรมที่แสดงออกเป็นลักษณะเด่น อาจมี genotype ที่แตกต่างกัน
- เป็นการนำต้นที่ไม่ทราบ genotype มาผสมกับต้นที่มีลักษณะด้อยซึ่งทราบ genotype แล้วเช่น ต้นดอกสีขาว (pp)



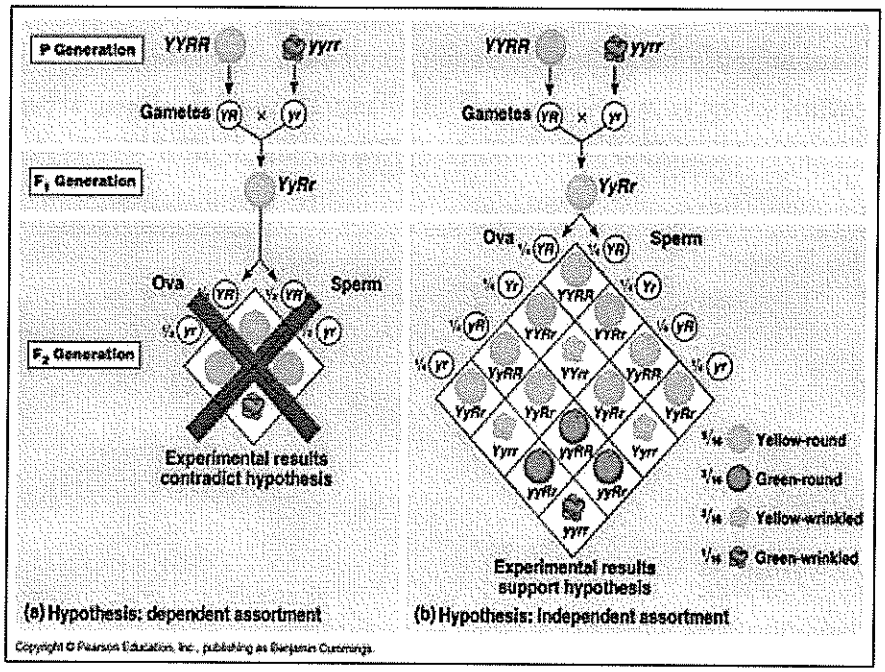
Rule of Probability

- ความน่าจะเป็นในการโยนเหรียญมีโอกาสเท่า ๆกันที่จะเกิดหัวหรือก้อยเปรียบเสมือนกับการที่ allele หนึ่ง ๆ มีอิสระเท่ากันในการที่จะไปอยู่ในเซลล์สืบพันธุ์

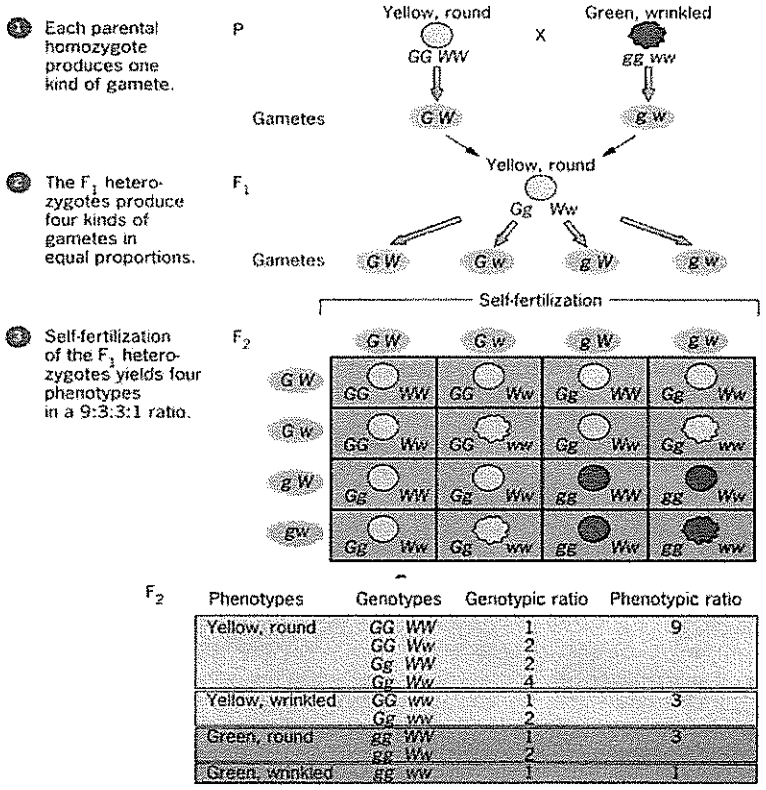


Dihybrid Crosses

- เป็นการศึกษาการผสมพันธุ์แท้ที่มีลักษณะที่แตกต่างกัน 2 ลักษณะ เรียกการผสมต่างลักษณะว่า hybrid โดยรุ่นลูก F2 ที่ได้จะมีอัตราส่วนของ Phenotype เป็น 9 : 3 : 3 : 1 ซึ่งเป็นที่มาของกฎ The Principle of Independent Assortment หมายความว่า อัลลีลแต่ละคู่สามารถแยกออกจากกันไม่ขึ้นแก่กันระหว่างที่เกิดการสร้างเซลล์สืบพันธุ์



Dihybrid Crosses: The Principle of Independent Assortment



F2

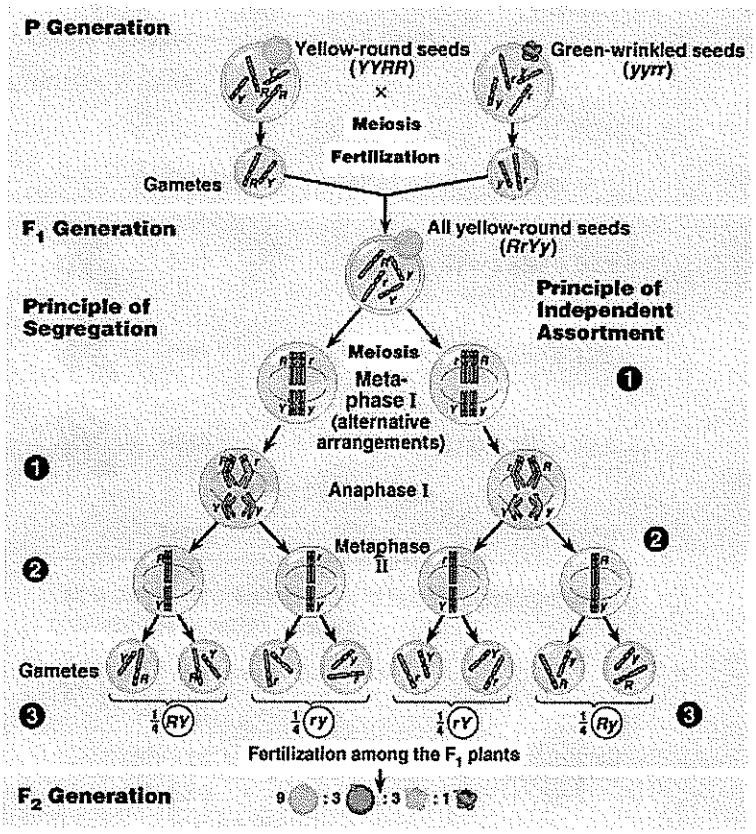
Phenotypes	Genotypes	Genotypic ratio	Phenotypic ratio
Yellow, round	GG WW	1	9
	GG Ww	2	
	Gg WW	2	
	Gg Ww	4	
Yellow, wrinkled	GG ww	1	3
	Gg ww	2	
Green, round	gg WW	1	3
	gg Ww	2	
Green, wrinkled	gg ww	1	1

The Principle of Independent Assortment:

The alleles of different genes segregate, or as we sometimes say, assort, independently of each other.

หมายถึงความเป็นอิสระต่อกันของ allele ที่ควบคุมลักษณะหนึ่งๆที่จะแยกกันไปอยู่ในเซลล์สืบพันธุ์ เช่น YyRr เมื่อมีการสร้าง gamete ทั้ง 4 รูปแบบ เซลล์สืบพันธุ์ที่สร้างควรเป็น YR, Yr, yR, ry ในปริมาณที่เท่าๆกัน (นั่นคือ Yไม่จำเป็นต้องไปกับ R เสมอและ y ก็ไม่จำเป็นต้องไปกับ r เสมอ

Independent Assortment of Chromosomes



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

The Probability Method (Dihybrid crosses)

Cross: *Aa Bb* X *Aa Bb*

Segregation of *A* gene

Segregation of *B* gene		*A–* (3/4)	*aa* (1/4)
	B– (3/4)	*A– B–* (3/4) x (3/4) = 9/16	*aa B–* (1/4) x (3/4) = 3/16
	bb (1/4)	*A– bb* (3/4) x (1/4) = 3/16	*aa bb* (1/4) x (1/4) = 1/16

Progeny:

Genotype	Frequency	Phenotype	Frequency
A– B–	9/16	Dominant for both genes	9/16
aa B–	3/16	Recessive for at least one gene	7/16
A– bb	3/16		
aa bb	1/16		

The Chi-square Test

- ใช้ทดสอบสมมุติฐานเพื่อดูว่าค่าที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกับสมมุติฐานที่ตั้งไว้หรือไม่(Testing the fit between the predictions of hypothesis and actual data)

สมมุติฐาน คือ หนึ่งยีนแยกเป็น 2 อัลลีล

	F_2 Phenotype	Observed number	Expected number
	Red	62	(1/4) x 250 = 62.5
	Pink	131	(1/2) x 250 = 125
	White	57	(1/4) x 250 = 62.5
	Total	**250**	**250**

Calculation of chi-square statistic to test for agreement between observed and expected numbers:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{Observed} - \text{Expected})^2}{\text{Expected}}$$

$$= \frac{(62 - 62.5)^2}{62.5} + \frac{(131 - 125)^2}{125} + \frac{(57 - 62.5)^2}{62.5}$$

$$= 0.776$$

Degrees of Freedom = Phenotypes - 1

Table of Chi-Square (χ^2) 5% Critical Values[a]

Degrees of Freedom	*5% Critical Value*
1	3.841
2	5.991
3	7.815
4	9.488
5	11.070
6	12.592
7	14.067
8	15.507
9	16.919
10	18.307
15	24.996
20	31.410
25	37.652
30	43.773

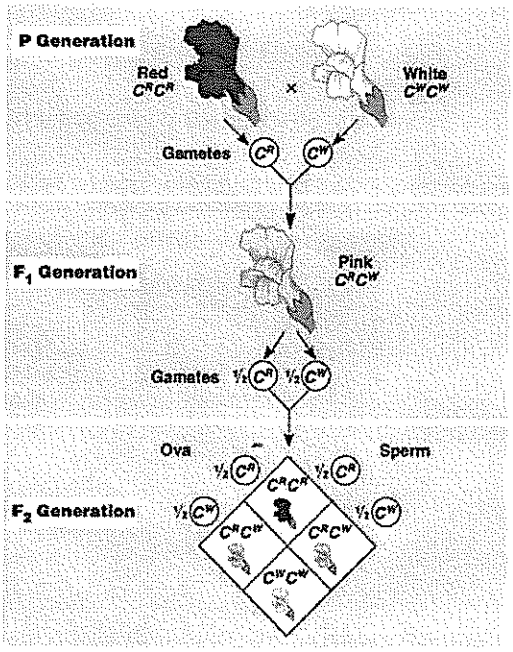
[a]Selected entries from R. A. Fisher and Yates, 1943, *Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research*. Oliver and Boyd, London.

จากการทดลองจะเห็นว่า ค่า Chi-Square มีค่าน้อยกว่า Critical Value (5.991) ที่ degree of freedom เท่ากับ 2 นั่นแสดงว่าการทดลองนี้เรายอมรับสมมุติฐานที่ว่าหนึ่งยีนแยกออกเป็น 2 อัลลีล

Non-Medelian Inheritance

Incomplete Dominance

- เกิดจากการข่มกันแบบไม่สมบูรณ์โดยจะพบในต้นที่มี genotype แบบ heterozygous ลูกรุ่น F2 ได้อัตราส่วน 1 : 2 : 1



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Codominance

- การแสดงออกของยีนที่ควบคุมลักษณะไม่แสดงการข่มซึ่งกันและกันแต่จะแสดงลักษณะเด่นเท่าๆกัน เช่น หมู่เลือด MN ในคนซึ่งควบคุมด้วยยีน 1 คู่คือ

L^ML^M = หมู่เลือด M

L^NL^N = หมู่เลือด N

L^ML^N = หมู่เลือด MN

Multiple Alleles

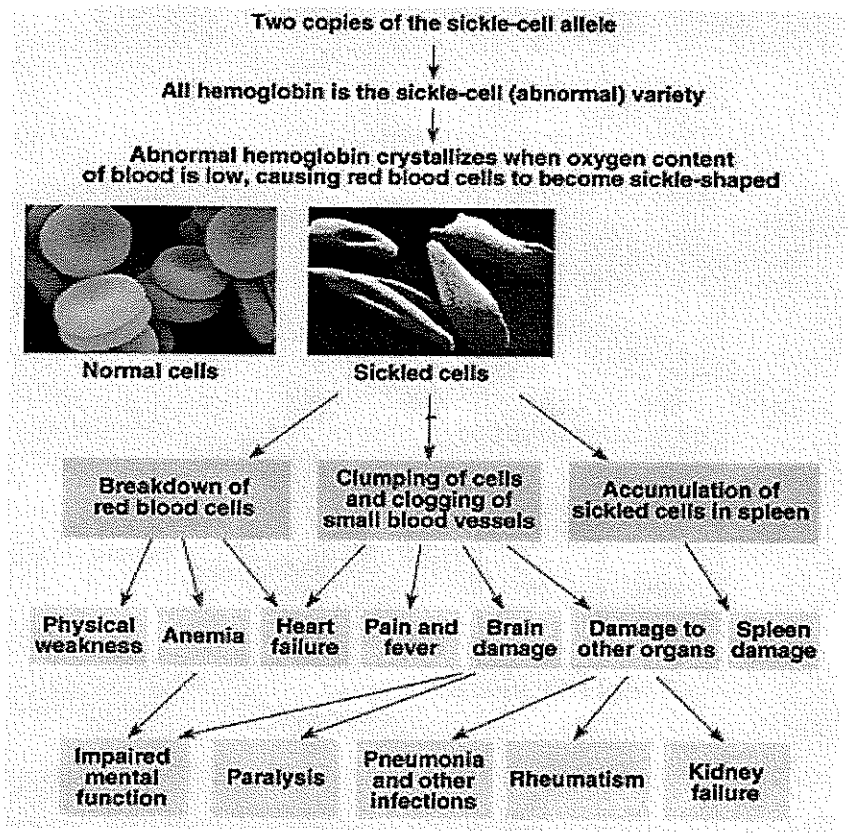
One gene with mutiple alleles; I^A, I^B, i

(a) Phenotype (blood group)	(b) Genotypes (see p.258)	(c) Antibodies present in blood serum	(d) Results from adding red blood cells from groups below to serum from groups at left			
			A	B	AB	O
A	I^AI^A or I^Ai	Anti-B				
B	I^BI^B or I^Bi	Anti-A				
AB	I^AI^B	—				
O	ii	Anti-A Anti-B				

Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Pleiotropy

- ยีนเดียวมีผลต่อการแสดงออกหลายลักษณะ เช่นความผิดปรกติของทั้ง 2 allele ที่ควบคุมการสร้าง Hemoglobin ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่สามารถจับออกซิเจนได้ เม็ดเลือดแดงจึงมีลักษณะผิดรูป ก่อให้เกิดโรค sickle-cell anemia เป็นผลให้เกิดอาการต่างๆ ตามมา



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Epistasis

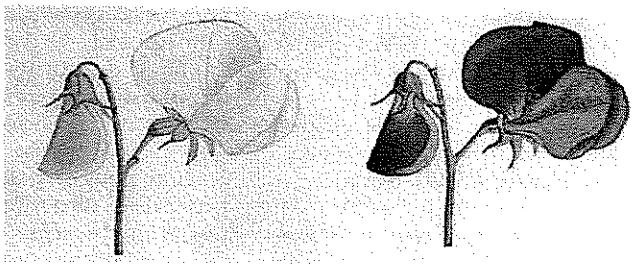
- ยีนบนตำแหน่งหนึ่งไปมีผลต่อการแสดงออกของยีนที่อีกตำแหน่งหนึ่ง หรือการที่ยีนหลายคู่ทำงานร่วมกันให้เกิดลักษณะหนึ่ง (Two or more genes influence a trait)

Gene C P

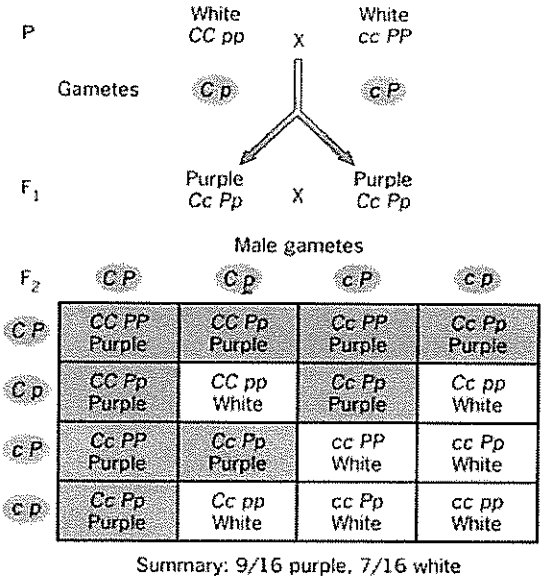
Precursor → Intermediate → Anthocyanin

Genotype			
C-; P-	+	+	+
cc; P-	+	–	–
C-; pp	+	+	–

- สีของดอก (trait) ขึ้นอยู่กับการแสดงออกของยีน C และ P



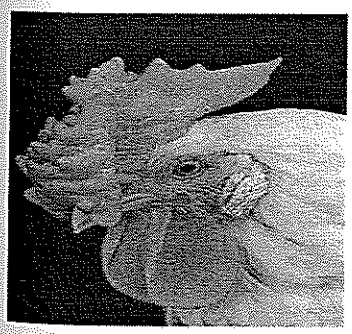
(a)



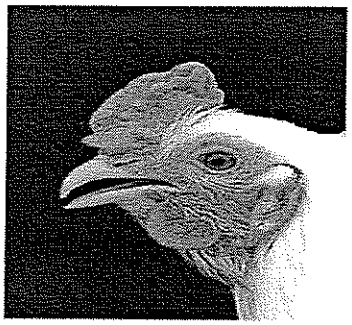
Summary: 9/16 purple, 7/16 white

(b)

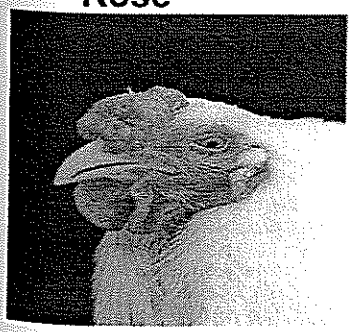
Epistasis



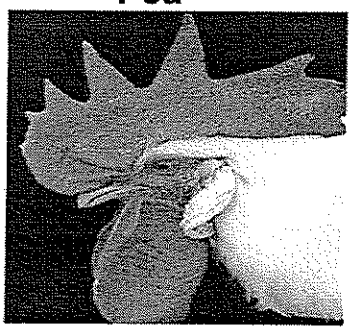
(a) **Rose**



(b) **Pea**

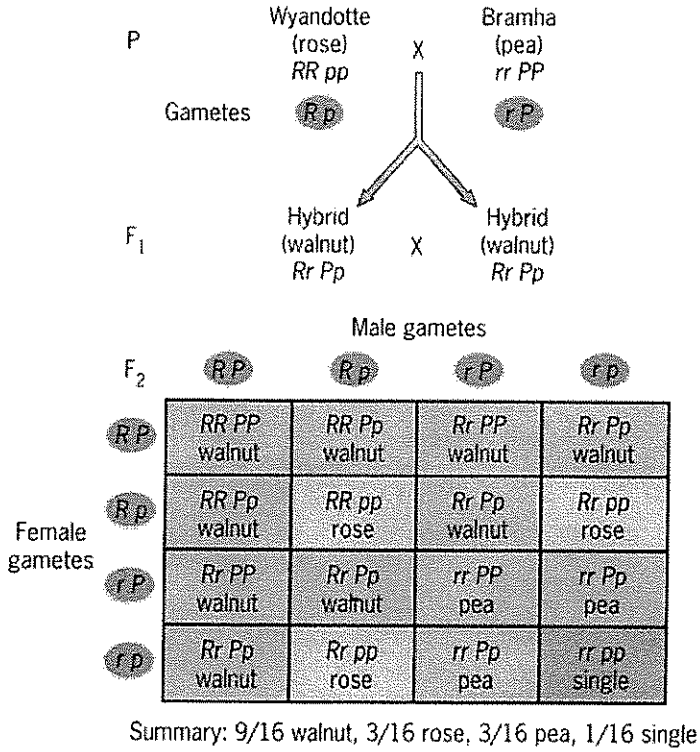


(c) **Walnut**



(d) **Single**

Phenotype		Genotype
Rose	=	ppR_
Pea	=	P_rr
Walnut	=	P_R_
Single	=	pprr



Summary: 9/16 walnut, 3/16 rose, 3/16 pea, 1/16 single

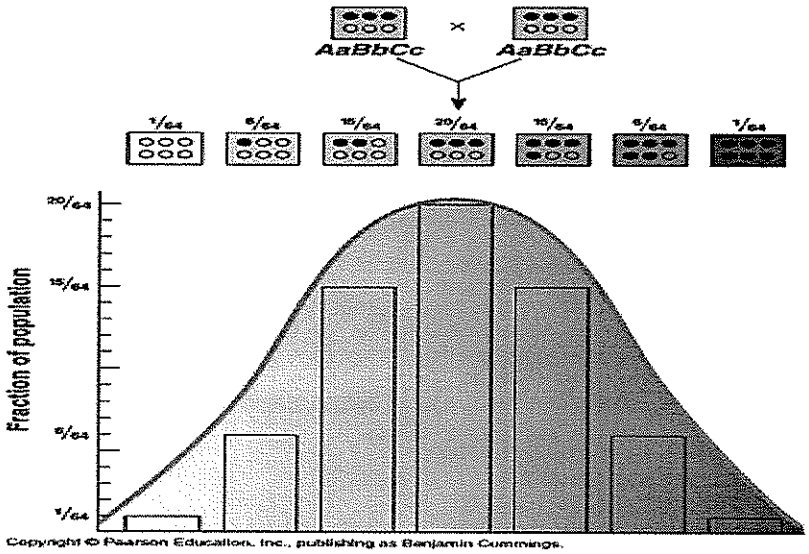
Polygenic Inheritance

- หนึ่งลักษณะถูกควบคุมด้วยยีนมากกว่าหนึ่งคู่ เป็นลักษณะที่ไม่สามารถสังเกตเห็นความแตกต่างกันได้อย่างชัดเจน (More than one genes affects one phenotype)

  เช่น สีผิวของคนถูกควบคุมด้วยยีนอย่างน้อยถึง 3 ชุด (A, B, C)

  AABBCC = very dark

  aabbcc = very light



ลักษณะพันธุกรรมที่เกี่ยวกับเพศ

X-linked Gene: eye color

ลักษณะสีของตาที่ถูกควบคุมด้วยยีนที่อยู่บนโครโมโซม X

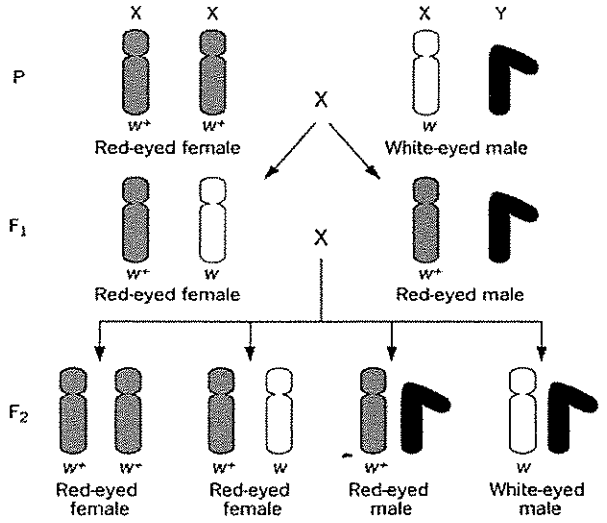
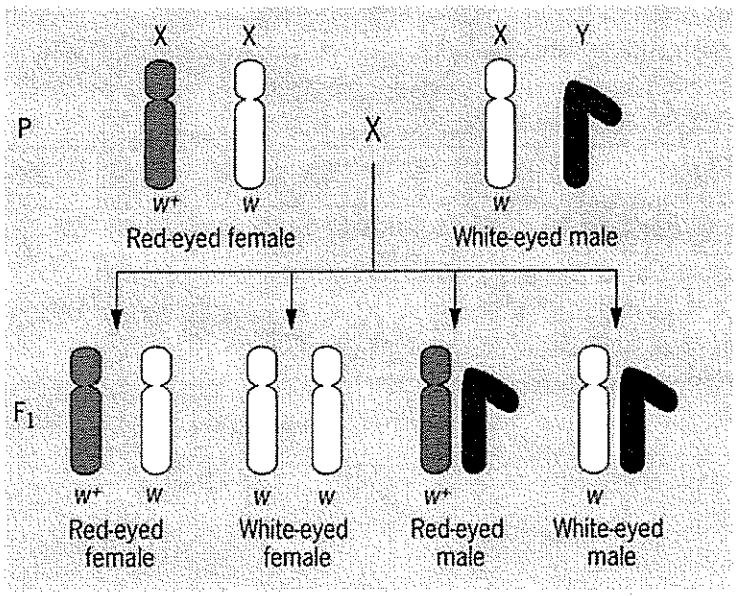


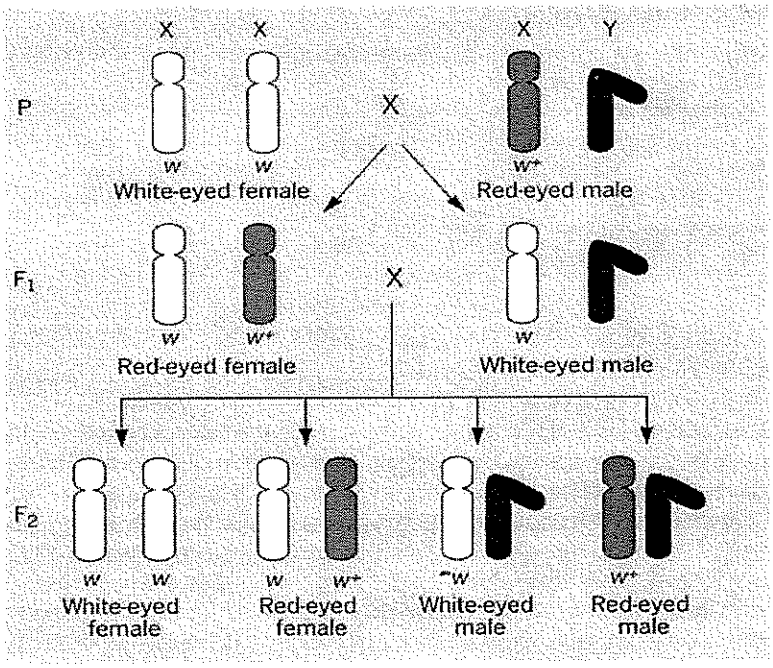
Figure 5.3 Morgan's experiment studying the inheritance of white eyes in *Drosophila*. The transmission of the mutant condition in association with sex suggested that the gene for eye color was present on the X chromosome but not on the Y chromosome.

Heterozygous (female) X Hemizygous (male)



(a) Cross between a heterozygous female and a hemizygous mutant male.

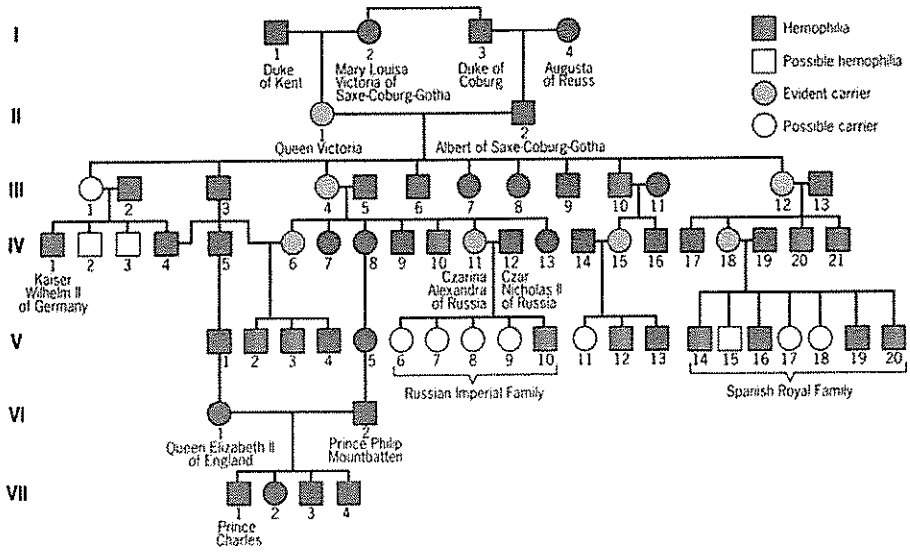
Homozygous mutant (f) X Hemizygous wild type (m)



(b) Cross between a homozygous mutant female and a hemizygous wild-type male.

Sex-linked Gene in Human

Hemophilia: X-linked mutation (XhXh or XhY)



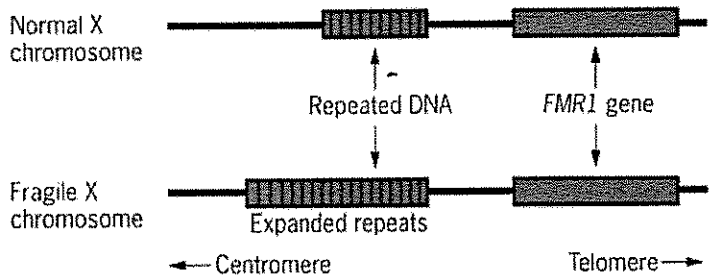
Sex-Influenced Traits

- การแสดงออกบางลักษณะทางพันธุกรรมขึ้นอยู่กับเพศโดยยีนจะเป็นยีนเด่นหรือยีนด้อยต่างกันในเพศผู้และเพศเมีย ซึ่งถูกควบคุมด้วยยีนที่อยู่บนโครโมโซมร่างกายเช่น ลักษณะหัวล้านในคน

genotype	ผู้ชาย	ผู้หญิง
BB	หัวล้าน	หัวล้าน
Bb	หัวล้าน	ปกติ
bb	ปกติ	ปกติ

The Fragile X Syndrome

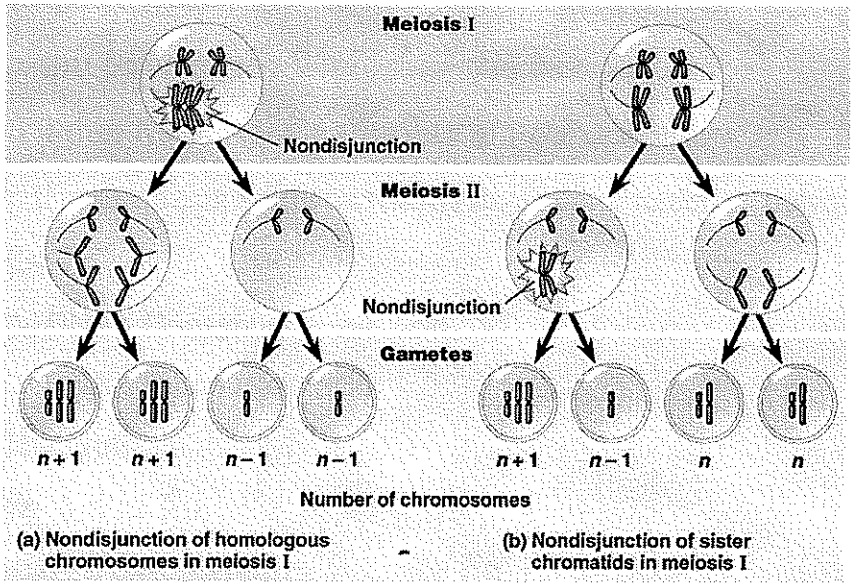
Expansion of repeats sequence on X chromosome



(c)

Figure 5.12 The fragile X chromosome. (*a*) A female (left) showing the fragile X and a normal X chromosome, and a male (right) showing the fragile X and a normal Y chromosome. (*b*) A pedigree showing the inheritance of the fragile X syndrome. The asymptomatic male II-1 is a carrier, indicating that the condition has incomplete penetrance. (*c*) Molecular basis of the fragile X syndrome. The mutation in the fragile X chromosome is due to an expansion of a region of repeats in the DNA flanking the *FMR1* gene. Chemical modification of the DNA around these repeats adversely affects the expression of the *FMR1* gene.

Trisomy in Human Being



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

TABLE 6.1
Aneuploidy Resulting from Nondisjunction in Human Beings

Karyotype	*Chromosome Formula*	*Clinical Syndrome*	*Estimated Frequency At Birth*	*Phenotype*
47,+21	2*n*+1	Down	1/700	Short, broad hands with palmar crease, short stature, hyperflexibility of joints, mental retardation, broad head with round face, open mouth with large tongue, epicanthal fold.
47,+13	2*n*+1	Patau	1/20,000	Mental deficiency and deafness, minor muscle seizures, cleft lip and/or palate, cardiac anomalies, posterior heel prominence.
47,+18	2*n*+1	Edward	1/8000	Congenital malformation of many organs, low-set, malformed ears, receding mandible, small mouth and nose with general elfin appearance, mental deficiency, horseshoe or double kidney, short sternum, 90 percent die within first six months after birth.
45,X	2*n*−1	Turner	1/2500 female births	Female with retarded sexual development, usually sterile, short stature, webbing of skin in neck region, cardiovascular abnormalities, hearing impairment.
47,XXY	2*n*+1	Klinefelter	1/500 male births	Male, subfertile with small testes, developed breasts, feminine-pitched voice, long limbs, knock knees.
48,XXXY	2*n*+2			
48,XXYY	2*n*+2			
49,XXXXY	2*n*+3			
50,XXXXXY	2*n*+4			
47,XXX	2*n*+1	Triplo-X	1/700	Female with usually normal genitalia and limited fertility, slight mental retardation.

องค์ประกอบทางเคมีของยีน (Chemical composition of Genes)

กรดนิวคลีอิค (Nucleic Acids)

- สารประกอบ polymer ของ นิวคลีโอไทด์ (Nucleotide)
- หรือหน่วยย่อย Nucleotides ต่อกันเป็นสาย Polynucleotide
- เก็บและถ่ายทอดข้อมูล / ลักษณะพันธุกรรม เป็นinformational polymer
- มี 2 ชนิด คือ
    - DNA : Deoxyribonucleic acid
    - RNA : Ribonucleic acid

นิวคลีโอไทด์ (Nucleotide)

ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

1. Pentose : 5 carbon atoms มี 2 ชนิด คือ

1.1 Ribose ซึ่งมีหมู่ OH ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 พบได้ใน RNA

1.2 Deoxyribose ซึ่งมี H แต่ไม่มี O อยู่ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 พบได้ใน DNA

2. Nitrogen bases : 2 ชนิด

2.1 Purine มี 2 rings

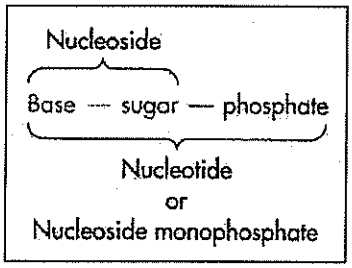
2.2 Pyrimidine มี 1 ring

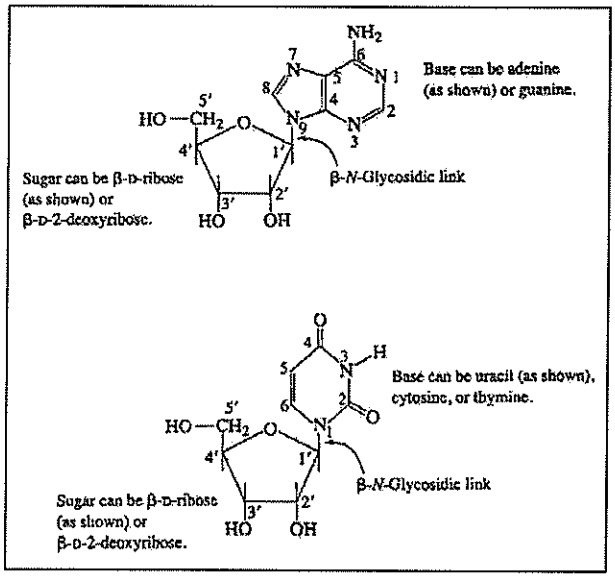
3. Phosphate group

น้ำตาล (pentose sugar) จับกับ nitrogen base เรียกว่า Nucleoside ด้วยพันธะ glycosidic

Nucleoside

Sugar + Nitrogen Base



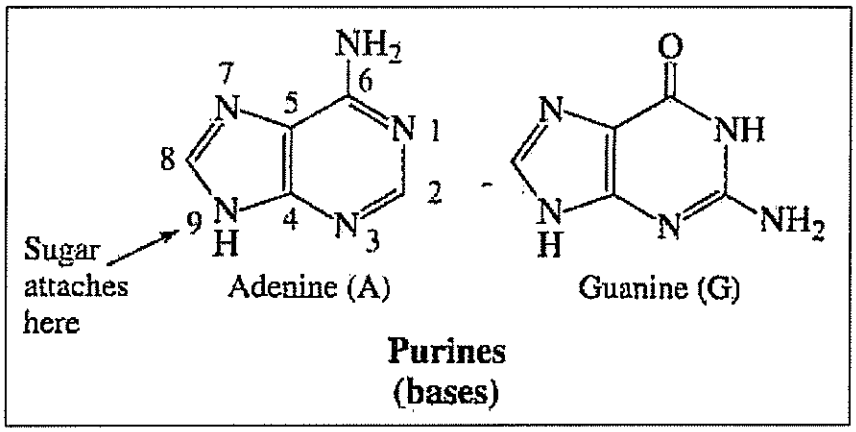


Nitrogen bases

เป็นสารประกอบแบบวง **(heterocyclic compound)** มี 2 ชนิด คือ

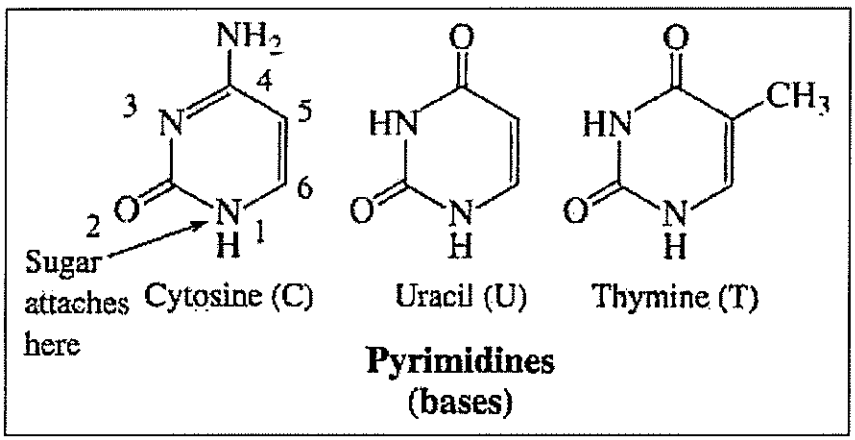
1) Purine : nitrogen base ชนิด 2 วง ประกอบไปด้วยวงแหวน 6 เหลี่ยมเชื่อมติดกับวงแหวน 5 เหลี่ยม

- ได้แก่ Adenine
- และ Guanine
- พบได้ทั้งใน DNA และ RNA



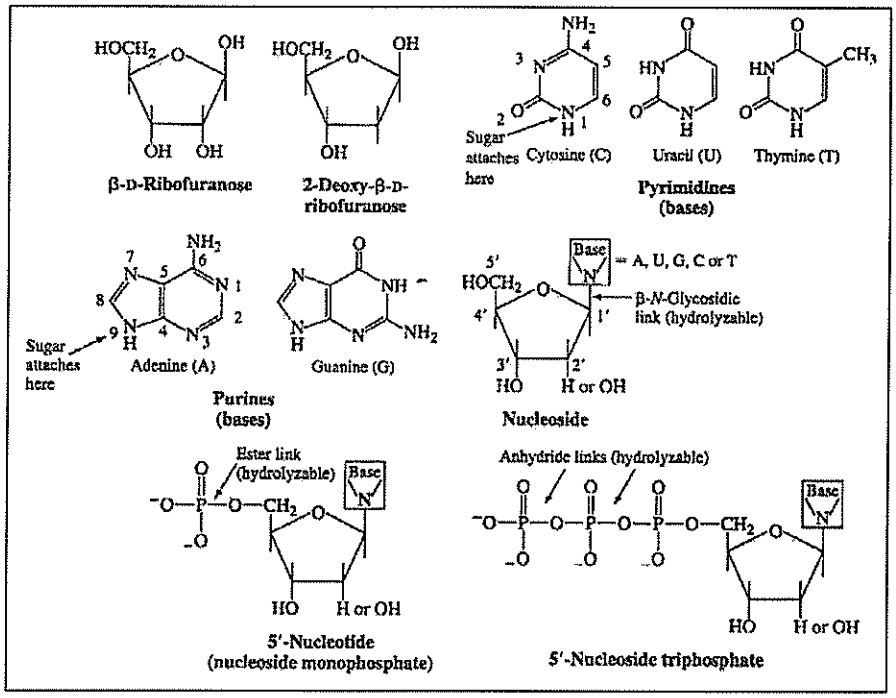
2) Pyrimidine : nitrogen base ชนิด 1 วง, 6 เหลี่ยม

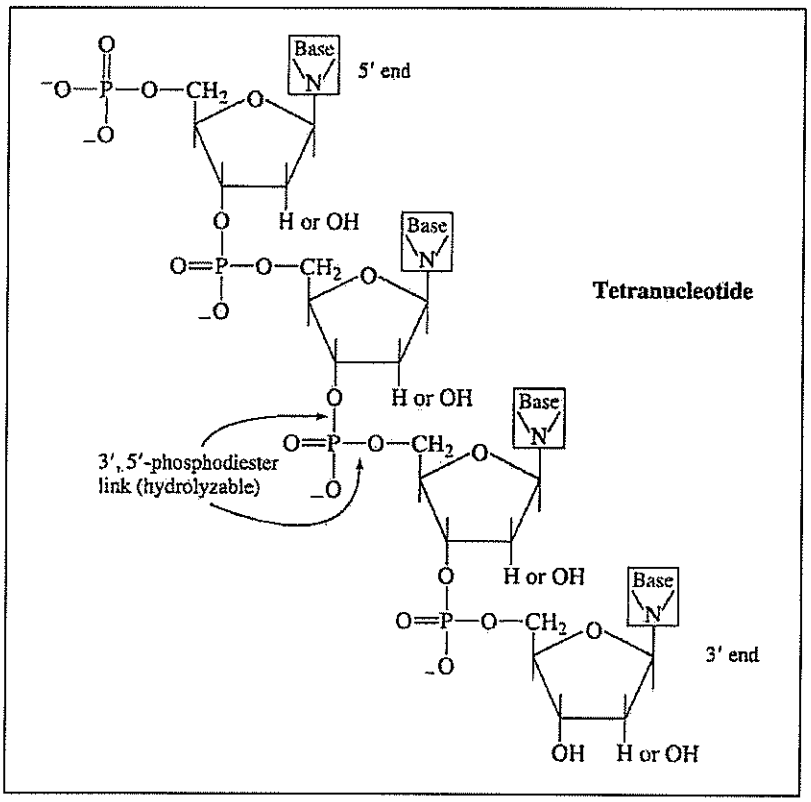
- ได้แก่ Cytosine,
- Thymine ซึ่งพบเฉพาะใน DNA แต่ใน RNA จะพบ Uracil แทน



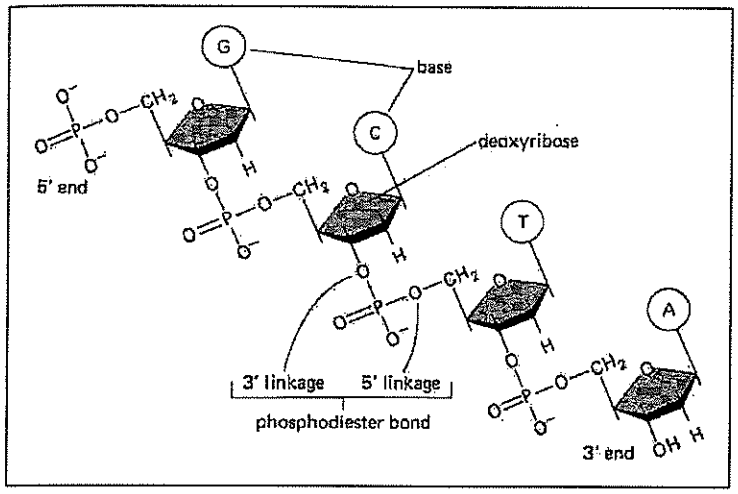
Phosphate group : เสมือนเป็นสะพานเชื่อมระหว่างคาร์บอนตัวที่ 3 กับตัวที่ 5 (C3 และ C5) ของน้ำตาล pentose 2 หน่วย ให้ต่อกันเป็นแกนกระดูก (backbone) ของสาย nucleic acids หรือ polynucleotide ดังนั้นจึงเกิดปลาย 3´ ที่มีหมู่ OH และปลาย 5´ ที่มีหมู่ PO_4 ว่าง

<u>ส่วนประกอบของ Nucleotide</u>

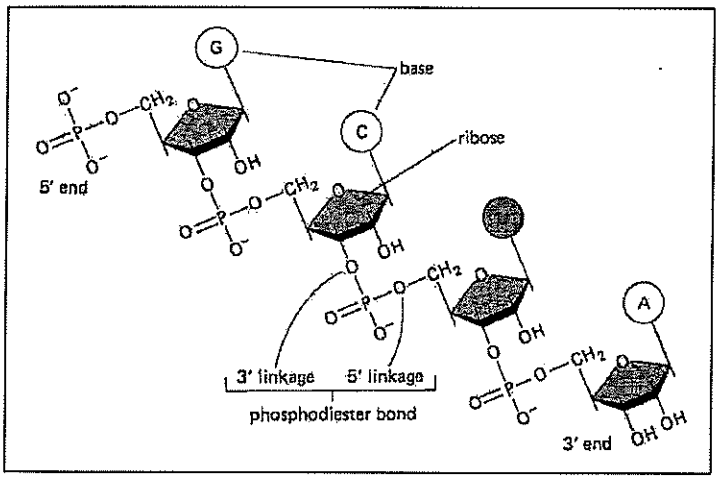




DNA : Deoxyribonucleic acid



RNA : Ribonucleic acid



DNA (Deoxyribonucleic Acid)

- DNA ทั้งหมดในเซลล์ หรือ ในสิ่งมีชีวิต ถือเป็น พันธุกรรม หรือ Genome
- DNA ในเซลล์ชั้นสูง (Eukaryotic cell) ส่วนมากอยู่ใน Nucleus ในลักษณะสารเชิงซ้อนม้วนเป็นเม็ดลูกปัดและเป็นช่วงๆ คล้ายลูกปัดร้อยด้วยเชือกเรียก ลักษณะเช่นนี้ว่า bead-on-string
- DNA รวมอยู่กับโปรตีนหลายชนิดมีลักษณะเป็นสายเรียกว่า Chromatin
- Chromatin ที่ขดม้วนพับจีบได้ขนาดที่ใหญ่ เรียกว่า Chromosome

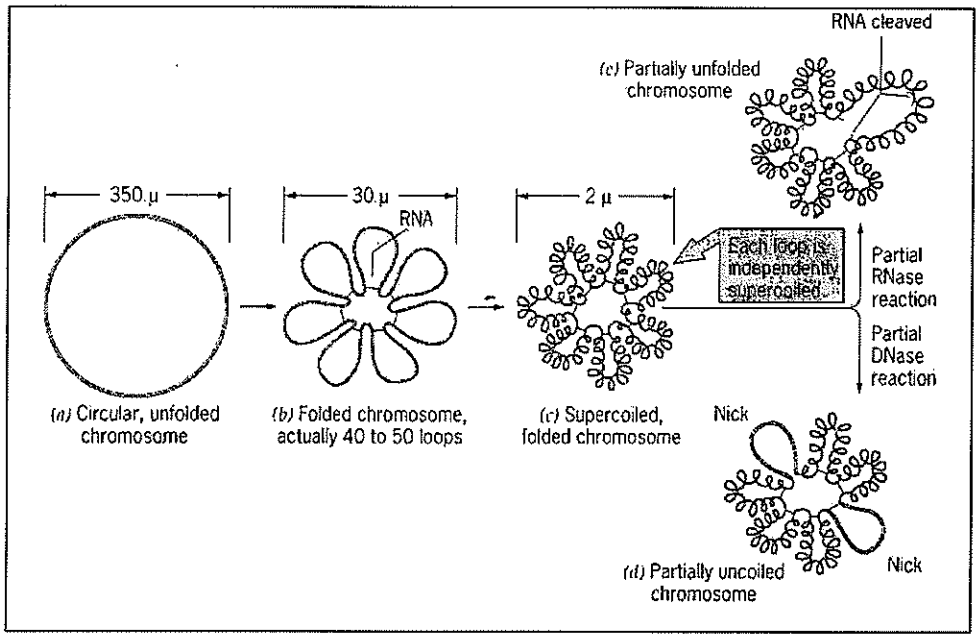
การจัดเรียงตัวของ Chromosome มี 3 ระดับ

1) Nucleosome: เกิดจาก supercoiled DNA พันรอบ แกนโปรตีน Histone 4 หน่วย ได้แก่ H2a, H2b, H3 และ H4 ลักษณะเป็นเม็ดเรียก nucleosome เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 nm ได้เป็น interphase chromatin fiber

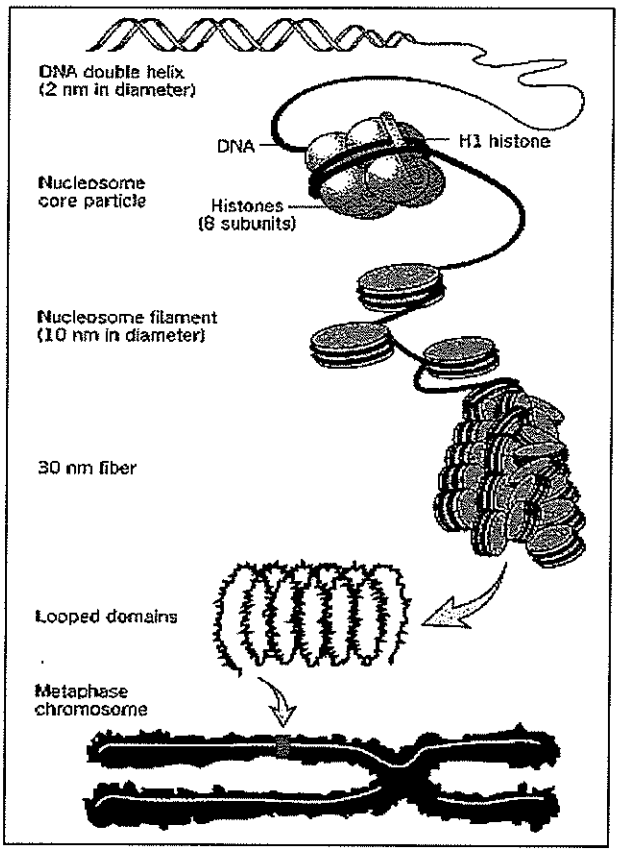
2) 10-nm nucleosome fiber: เกิดจากการบิดพับหรือการพันกันของ 10-nm nucleosome fiber ได้เป็นเส้นขนาด 30-nm ของ chromatin fiber โดยมี Histone H1 ยึดที่สาย DNA

3) 30-nm chromatin fiber: เกิดจากการขดและม้วนไปมาโดยมี Non-histone เป็นโครงร่าง (scaffold) ได้เป็น metaphase chromosome

Prokaryote Chromosome : แบบ Circular



Eukaryote Chromosome : แบบ Linear



DNA (Deoxyribonucleic Acid)

- Polynucleotide สายคู่
- Pentose เป็นชนิด 2´-Deoxyribose ที่ carbon atom ที่ 2 ไม่มี Oxygen group (O)
- Phosphate (PO_4) ยึดเชื่อมระหว่าง deoxyribose 2 หน่วย
- Nitrogen bases ยึดติดกับ deoxyribose มี 4 ชนิด คือ

Pyrimidine Bases	Purine Bases	Base Pairing
Thymine (T)	Adenine (A)	T = A
Cytosine (C)	Guanine (G)	C ≡ G

เบสคู่สม (Complementary Bases)

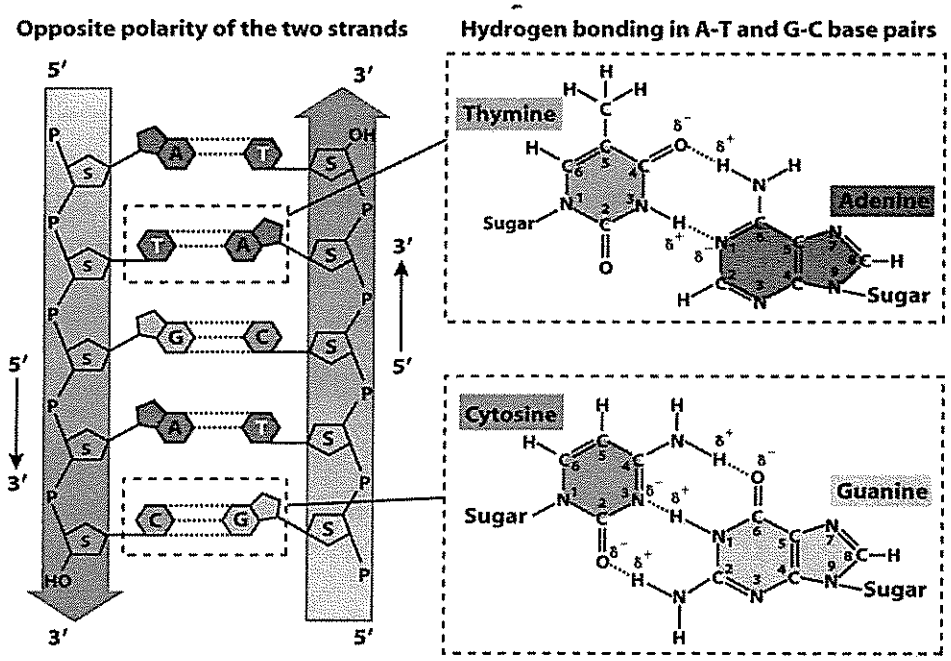
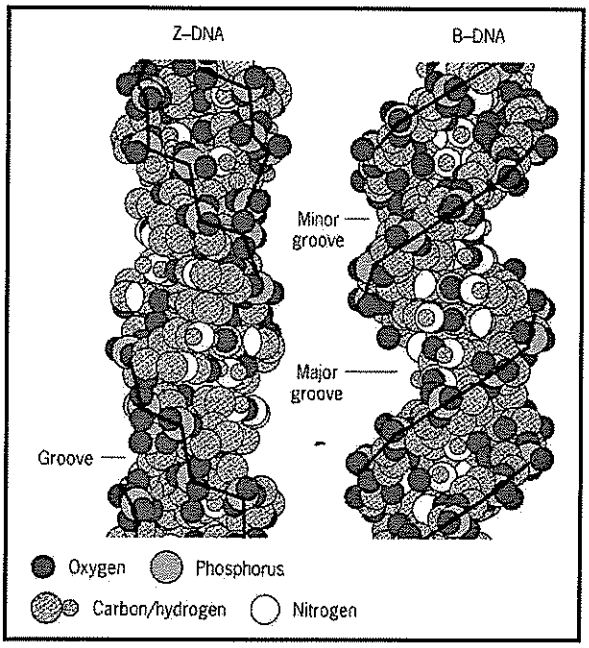


Figure 9-11 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

- 2 polynucleotides นี้ ขนานกัน และยึดติดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน โดยปลาย 5' หันสลับกับปลาย 3' หรือจับกันแบบ antiparallel
- ขนาดโมเลกุลของ bases ในกลุ่ม purine และ pyrimidine ไม่เท่ากัน เมื่อจับกันทำให้สาย nucleotides บิดเป็นเกลียวหมุนเวียนขวา เรียกว่า B-form ซึ่งพบทั่วไปในเซลล์
- ใน 1 เกลียว DNA เกิดร่องขนาดใหญ่ (major groove) และ ร่องขนาดเล็ก (minor groove)

- DNA บางช่วงโดยเฉพาะบริเวณควบคุมการทำงานของ genes (promoter) พบว่ามีคู่เบส C-G มากเป็นพิเศษ ทำให้เกลียวหมุนเวียนซ้าย
- DNA ที่เกลียวหมุนเวียนซ้าย เรียกว่า Z-form



โครงสร้าง 3 มิติ ของ DNA : Watson-Crick Model

- DNA เป็น บันไดเกลียวเอียง 35° หมุนเวียนขวา (right handed) มีความกว้าง 2 nm
- N-base ตั้งซ้อนห่างกัน 0.34 nm ตั้งฉากกับแกนของ DNA, 1 เกลี่ยว ยาว 3.4 nm
- ขอบนอกของเกลียว คือ Sugar-phosphate backbone
- ขั้นบันได คือ Nitrogen bases ซึ่งจับเป็นคู่เฉพาะ
- Purine จับกับ Pyrimidine
    - Adenine (A) จับกับ Thymine (T) ด้วย 2 Hydrogen bonds
    - Guanine (G) จับกับ Cytosine (C) ด้วย 3 Hydrogen bonds

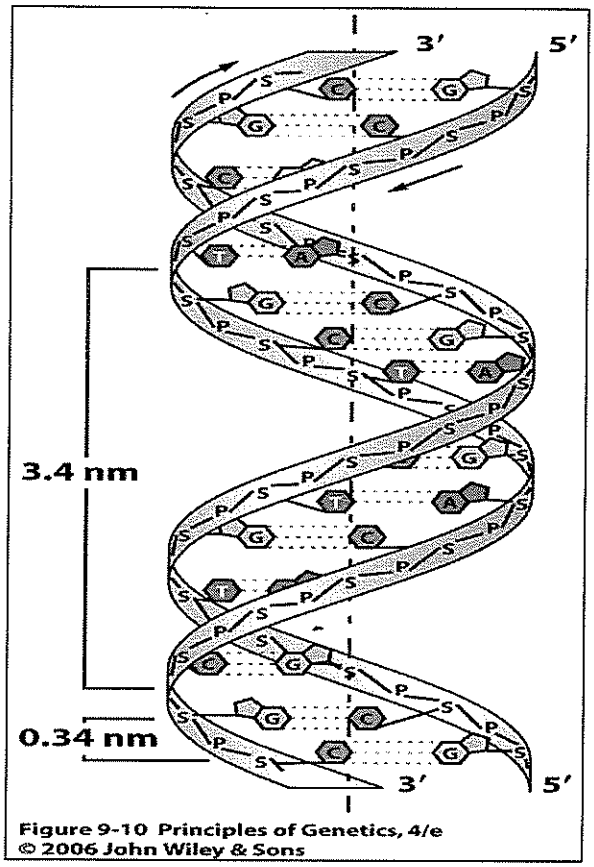
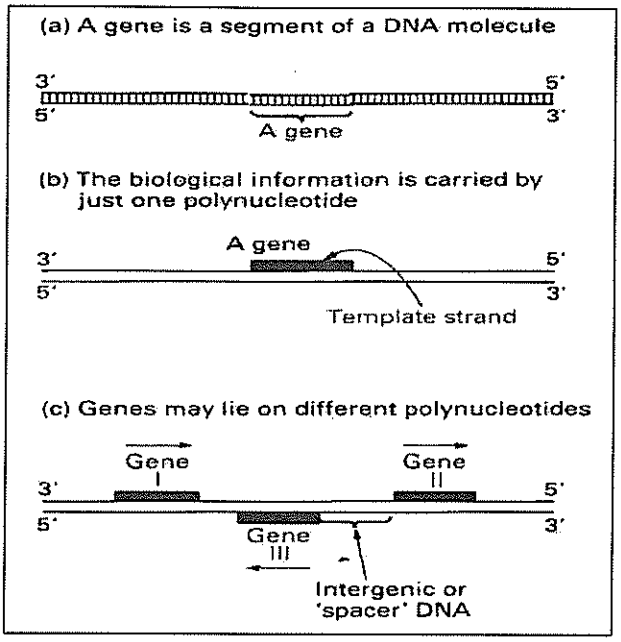


Figure 9-10 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

DNA เป็นสารพันธุกรรม

- Gene หรือหน่วยพันธุกรรม คือ ส่วน (segment) หนึ่งของ DNA ทั้งหมด
- ที่นำข้อมูลสำหรับการสังเคราะห์ RNA หรือ polypeptides (protein) เฉพาะ รวมทั้งส่วนควบคุมการทำงานของ gene ด้วย
- DNA ส่วนควบคุมการทำงานของ gene จะไม่นำไปเป็นข้อมูลบน RNA หรือ polypeptides แต่เป็นส่วนของ gene และ genome บน DNA
- DNA ใน chromosome ประกอบด้วยลำดับของ genes และอีกส่วนมากที่ไม่รู้หน้าที่
- Genes ของคน มี ~ 35,000 genes
- รวมเป็น ~ 5 % ของ genome ทั้งหมด

Gene (Function Segment / Unit of DNA)



หน้าที่ของ DNA / Gene

- DNA เป็นแม่แบบในการเพิ่มจำนวนของ DNA ในการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเซลล์ เรียกกระบวนการว่า DNA Replication
- DNA เป็นแม่แบบสำหรับการสังเคราะห์ RNA ซึ่งเป็นการถอดถ่ายข้อมูลพันธุกรรมมาให้อยู่ในรูปของ RNA กระบวนการนี้เรียกว่า Transcription
- DNA เป็นผู้กำหนดชนิดของ amino acid ในการสังเคราะห์โปรตีน โดยผ่านทางรหัสพันธุกรรมซึ่งอยู่บน RNA (mRNA) กระบวนการสังเคราะห์โปรตีนเรียกว่า Translation

การพิสูจน์ว่า DNA เป็นสารพันธุกรรม

1928 F. Griffith : เรียกว่า Griffith Experiment

- ใช้เชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคปอดบวม *Streptococcus pneumoniae*
- สายพันธุ์ผิวเรียบ S (smooth) ทำให้ หนู เป็นปอดบวมตาย
- หลังฆ่าเซลล์เชื้อสายพันธุ์ S ด้วยความร้อน (เชื้อตาย) เชื้อยังสามารถเปลี่ยนเซลล์สายพันธุ์ผิวขรุขระ R (rough ซึ่งไม่ทำให้ปอดบวม) ให้เป็นสายพันธุ์ S ทำให้หนูตายได้

- เพราะ DNA จากเซลล์ S เข้าไปเปลี่ยน genotype และ phenotype ของเซลล์ R ให้กลายเป็น S
- เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า Transformation

1944 Avery :

- ใช้ DNA บริสุทธิ์
- สกัด DNA บริสุทธิ์จากเซลล์สายพันธุ์ S ใส่ให้เซลล์สายพันธุ์ R
- ปรากฏว่า ลักษณะของ เซลล์สายพันธุ์ R แสดงออกเหมือน เซลล์สายพันธุ์ S
- แสดงว่าสารที่ถ่ายให้ (Transforming agent) คือ DNA

1952 Hershey & Chase : Hershey-Chase Experiment

- ใช้เชื้อไวรัส Bacteriophage T2 ซึ่งอาศัยอยู่ใน *E. coli* ในลำไส้
- เลี้ยง Bacteriophage T2 ในอาหารที่มีสารรังสี ^{32}P และ ^{35}S
- ^{32}P สำหรับติดฉลาก DNA และ ^{35}S สำหรับติดฉลากโปรตีน
- พบว่า DNA ซึ่งเป็นแกนกลางภายใน Bacteriophage T2 ถูกติดฉลากด้วย ^{32}P
- ส่วนเปลือกนอกโปรตีนของไวรัสซึ่งเป็น protein ไม่ถูกติดฉลากด้วย ^{35}S
- สรุป : พิสูจน์ได้ว่า DNA เป็นสารพันธุกรรมที่สามารถถ่ายย้ายระหว่างเซลล์ได้

RNA

RNA เป็น Genetic Material ของ virus บางชนิด

1957 Fraenkel-Conrat และ คณะ ศึกษา Tobacco Mosaic Virus (TMV)

- TMV มี RNA 1 โมเลกุล และเปลือก protein ซึ่งแตกต่างกันแล้วแต่สายพันธุ์ของ TMV

1) แยก RNA และ protein ของ TMV type A และ type B

2) ผสมใหม่และสลับระหว่าง RNA และ protein เช่น

- RNA type A + protein B --> ?
- RNA type B + protein A --> ?
  - RNA type A + protein B --> ได้ TMV type A
  - RNA type B + protein A --> ได้ TMV type B

ส่วนประกอบของ RNA

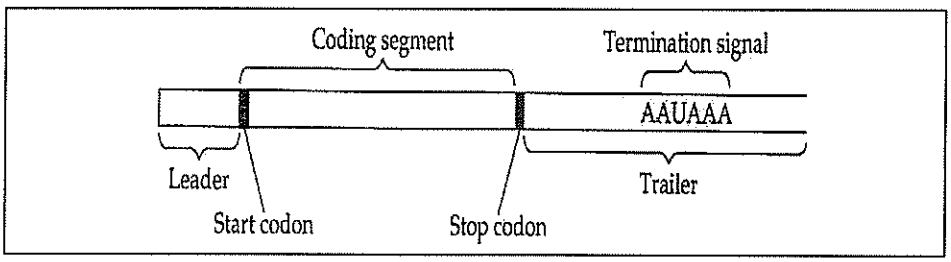
- RNA คล้าย DNA คือเป็น polynucleotide สายเดียว
- ส่วนประกอบคล้ายของ DNA คือ ประกอบด้วย Phosphate group, Ribose และ Nitrogen bases.
- RNA ต่างจาก DNA คือ
    - น้ำตาลเป็น Ribose
    - Base Uracil (U) แทน Thymine (T)
- RNA ถอดลอกจากแม่แบบ DNA
- RNA จึงคงไว้ซึ่ง ข้อมูลพันธุกรรมของ DNA ต้นแบบ

ชนิดของ RNA

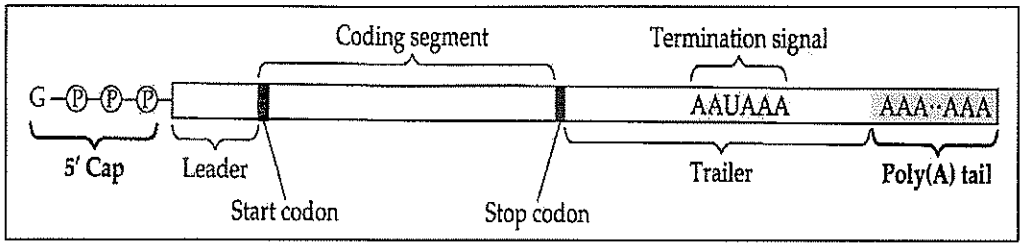
Messenger RNA (mRNA)

- เป็นตัวกลาง (intermediary) นำข้อมูลจาก DNA ไปยังRibosomes ซึ่งเป็นที่สังเคราะห์ protein
- mRNA ของ prokaryotic cells และ eukaryotic cells
- เหมือนกัน :
    - มีลำดับของ nucleotides ที่เป็นข้อมูลคำสั่ง ในรูปแบบ ของรหัสพันธุกรรม
    - หนึ่งรหัสประกอบด้วย 3 bases เรียกว่า Triplet code หรือ Codon ซึ่งมีความหมายเป็น 1 amino acid
- ต่างกัน :
    - ที่ปลาย 2 ข้าง และ
    - prokaryote อาจมี > 1 genes ส่วน eukaryote มี 1 gene

Prokaryotic mRNA



Eukaryotic mRNA



Eukaryotic mRNA

- Capping : ปลาย 5' ของ leader มี 7– methylguanosine เรียกว่า Cap เป็นตำแหน่งให้ ribosome จับเพื่อเริ่มการสังเคราะห์โปรตีน (Translation)
- Tailing : ปลาย 3' เติม base A ~ 100 – 200 nucleotides เรียกว่า Poly-A สำหรับป้องกันการถูกย่อยใน cytoplasm
- mRNA ที่ไม่เต็มวัยมีทั้งส่วนเป็นรหัส (Exon) และ ไม่เป็นรหัส (Intron)
- Intron ถูกตัดออก และ Exon ต่อเป็น mRNA เต็มวัย

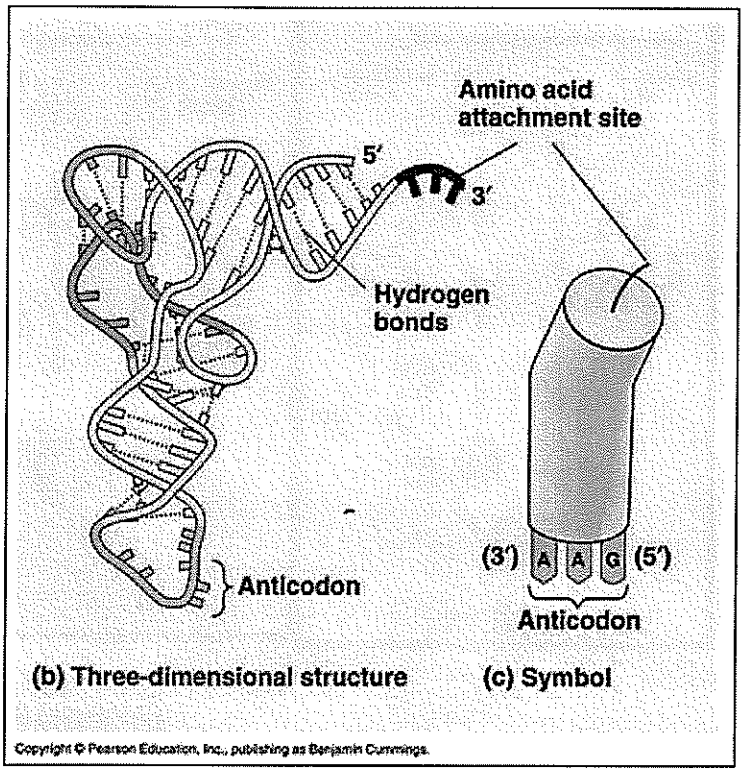
Prokaryotic mRNA

- เป็นสายยาวของลำดับ Codons ต่อเนื่องโดยไม่มี bases อื่นๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องขัดจังหวะ
- ใน mRNA สายเดียว
  - อาจมีเพียง 1 gene --> 1 single gene = one gene one protein เรียกว่า Monocistronic
  - อาจมีมากกว่า 1 genes --> เป็นกลุ่มของหลาย genes ที่มี codons ให้หลาย proteins เรียกว่า Polycistronic
- โดยมี bases ที่ไม่เป็น codon คั้น อยู่ระหว่าง genes เหล่านั้น เป็น mRNA ที่
  - 5' Leader ไม่มี capping
  - 3' trailer ไม่มี poly (A) tail = เป็น poly (A)-

Transfer RNA (tRNA)

- สายเดียว ยาว ประมาณ 74-95 bases พับจีบเป็นวง (loop) ทำให้ได้โครงสร้างเป็นรูปรองเท้าบูธ (boot-like structure) หรือใบโคลเวอร์ (clover leaf)
- tRNA มี
  - แขนสำหรับจับ amino acid เฉพาะชนิด ที่ปลาย 3'

○ แขนแอนติโคดอน (Anticodon arm) ที่มี 3 bases เรียกว่า Anticodon จับได้พอดีกับ codon บน mRNA



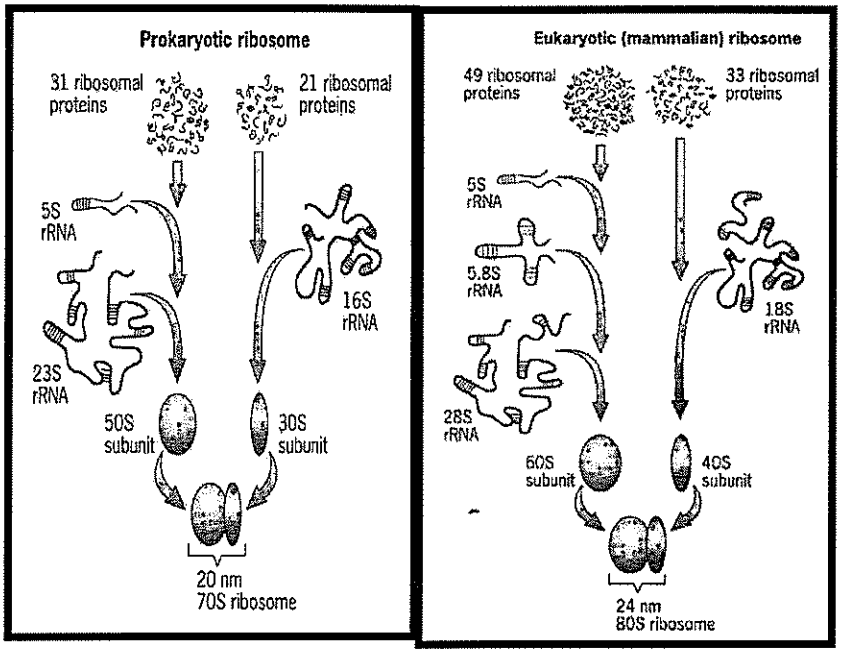
- tRNA ทำหน้าที่เป็น ตัวกลาง (adapter) หรือ ผู้แปล (interpreter) แปล รหัส codon บน mRNA ให้ความหมายเป็น amino acid ในการสังเคราะห์โปรตีน (Translation)

Ribosomal RNA (rRNA)

- เป็น RNA สายเดียว แต่มีรูปร่างพับจีบเป็นวง (loop) มากมายและหลายขนาด
- rRNA หลายขนาดรวมกับโปรตีน (Ribosomal proteins) กลายเป็น Ribosome
- Ribosome ของ prokaryotic cells และ eukaryotic cells ประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย แต่ละหน่วยขนาดไม่เท่ากัน

Ribosome

ประกอบด้วย 2 หน่วย และแต่ละหน่วยประกอบด้วย rRNA และ ribosomal proteins

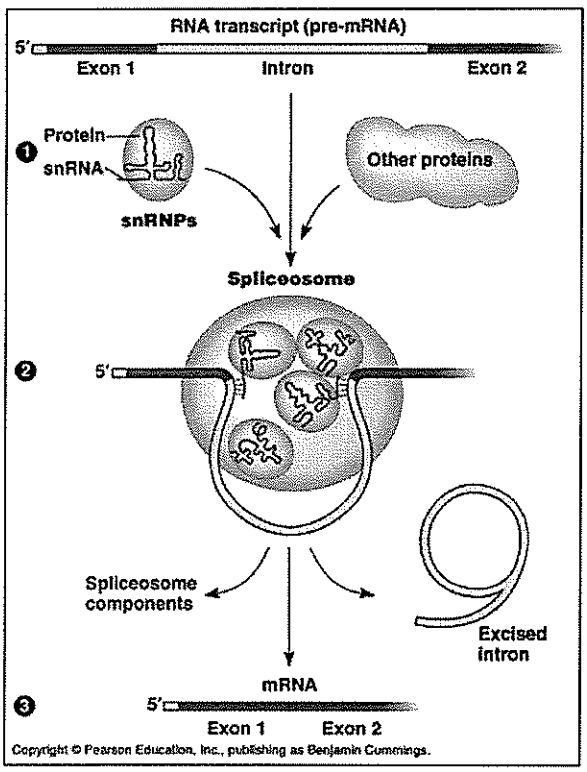


Small Nuclear RNA (snRNA)

- snRNA ทำหน้าที่ร่วมกับ protein เป็นเอนไซม์ เรียกว่า ไรโบไซม์ (ribozyme) สำหรับตัดชิ้นส่วน bases ของ RNA ที่ไม่ใช่รหัสพันธุกรรม หรือไม่ใช้งานซึ่งเรียกว่า Intron ออก และ ต่อ ชิ้นส่วน bases ที่เป็นรหัสพันธุกรรมหรือใช้งาน ซึ่งเรียกว่า Exon เข้าด้วยกัน ทำให้ RNA ที่สังเคราะห์ได้ใหม่กลายเป็น RNA เต็มวัยใช้งานสังเคราะห์โปรตีนได้

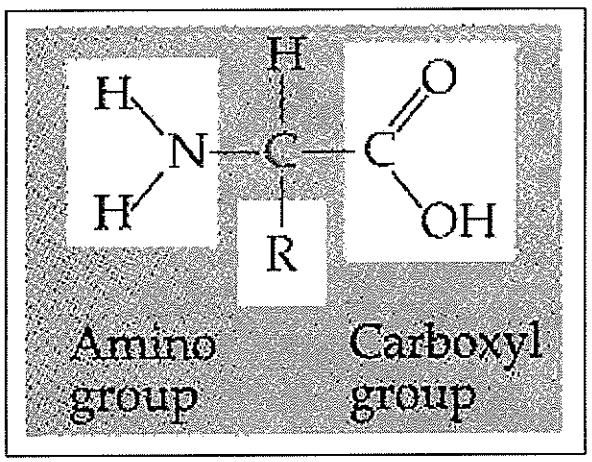
RNA Splicing

การตัด Introns ออก และ ต่อ Exons เข้าด้วยกันด้วย snRNA



Amino Acids

- เป็นหน่วยโครงสร้างของโปรตีน - Building blocks of Protein
- นั่นคือเมื่อย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์หน่วยเล็กที่สุด (monomer) ในกระบวนการย่อยที่ได้คือ amino acids
- Amino acids ประกอบขึ้นด้วย Carbon, Hydrogen, Oxygen, และ Nitrogen.
- กรดอะมิโน คือสารประกอบที่มี กลุ่มอะมิโน (amino group -NH2) และกลุ่มคาร์บ็อกซิล (carboxyl -COOH)
- อะตอม คาร์บอนที่เป็นศูนย์กลางของกรดอะมิโน เป็นอะตอมที่ไม่สมดุล มี 4 อย่างที่ไม่เหมือนกันยึดติดอยู่ คือ
    - 1) Amino group
    - 2) Carboxy group
    - 3) Hydrogen atom
    - 4) กลุ่มที่เปลี่ยนได้ หรือ R group



- Amino acid เป็นสารประกอบชนิดเดียวที่มีรหัสพันธุกรรม ซึ่งมี common amino acids ทั้งหมด 20 ชนิด จาก amino acids ในธรรมชาติ 80 ชนิด
- 20 common amino acids ที่จำเป็นต่อการเจริญและหน้าที่ของคน เช่น
    - เป็นสารสื่อประสาท
    - เป็นส่วนประกอบของฮอร์โมน และเอนไซม์
    - ซ่อมแซมและรักษาอวัยวะ

การจำแนก (classification) Amino Acids

1. จำแนก โดย คุณสมบัติทางเคมีของ R groups
    1.1 Nonplolar amino acids
    1.2 Polar amino acids
    1.3 Electrical charged amino acids
2. จำแนก โดย การผลิตในร่างกายของสัตว์ ได้หรือไม่
    2.1 Essential amino acids
    2.2 Nonessential amino acids

1. จำแนก โดย คุณสมบัติทางเคมีของ R groups

ทำให้ amino acids แต่ละชนิดมีลักษณะเฉพาะตัว 20 ชนิด

แบ่งเป็น 3 กลุ่มใหญ่

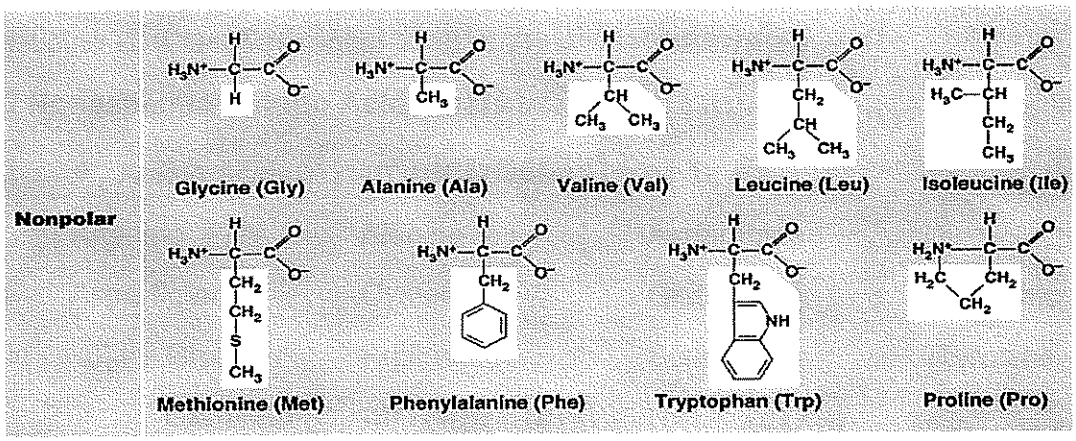
1.1 Nonpolar amino acids : R group เป็น nonpolar side chains ไม่รวมกับน้ำ (เช่น methionine)

1.2 Polar amino acids : R group เป็น polar side chains รวมกับน้ำได้ (เช่น tyrosine)

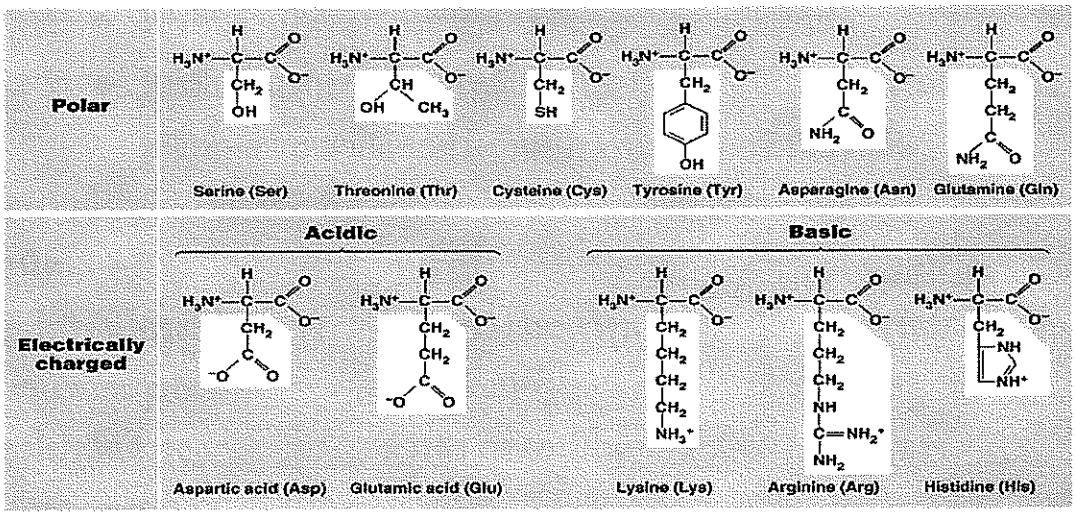
1.3 Electrical charged : R group แตกตัวเป็น อิออนที่มี ประจุ

1) Acidic amino acids : R group เป็นประจุลบ (-) และ

2) Basic amino acids : R group เป็นประจุ (+)



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

2.1 Essentail Aamino Aacids : กรดอะมิโนที่จำเป็น

- Amino acids ที่ร่างกายไม่สามารถผลิตได้เอง เพื่อนำไปผลิตโปรตีน จำเป็นต้องนำเข้าโดยอาหารโปรตีนที่กินเข้าไป แล้วย่อยให้เล็กลงเป็นกรดอะมิโน ซึ่งเกิดในทางเดินอาหาร แล้วส่งเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิต
- มีทั้งหมด 10 essential amino acids คือ

Phenylalanine	Valine	Tryptophan
Threonine	Isoleucine	Methionine
Histidine	Leucine	Lysine

(Histidine เป็น semi-essential ร่างกายอาจไม่ต้องการเสมอไป)

2.2 Nonessential Amino Acids : กรดอะมิโนที่ไม่จำเป็น

- Amino acids ที่ร่างกายสามารถผลิตได้เอง 12 ตัว

Arginine Alanine Asparagine
Aspartic acid Cysteine Glutamine Glutamic acid Glycine Proline Serine Tyrosine
Carnitine (ใช้ในการรักษา ไม่ใช้ในการผลิต โปรตีน)

<u>โปรตีน</u> (Protein): เครื่องมือระดับโมเลกุลของเซลล์

- เป็นภาษากรีก แปลว่า ความสำคัญสิ่งแรก
- มีมากกว่า 50 % ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ และเป็นเครื่องมือเกือบทั้งหมดของสิ่งมีชีวิต

- โปรตีนจำเป็นต่อการเจริญและพัฒนาการของร่างกาย
- โปรตีนเป็นสารประกอบโพลีเมอร์ (polymer) ที่มีโครงสร้างโมเลกุล และหน้าที่หลากหลายแตกต่างกันมาก ทั้งในคนและสิ่งมีชีวิตอื่น

จำแนกโปรตีน โดย หน้าที่

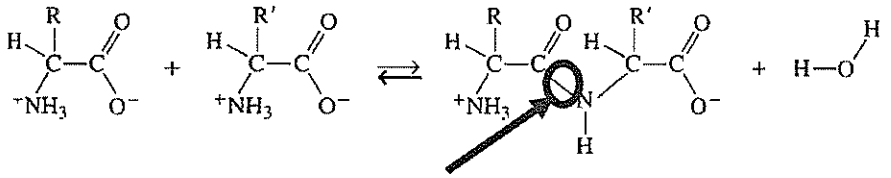
ชนิด	**หน้าที่**	**ตัวอย่าง**
1. โปรตีนโครงสร้าง (structural protein)	โครงสร้างและค้ำจุน (support)	รังไหม เขา เอ็น
2. โปรตีนสำรอง (ovalbumin) (storage protein)	สำรอง กรดอะมิโน (storage of amino acids)	ไข่ขาว นม (casein)
3. โปรตีนขนส่ง (transport protein)	ขนส่งสารอื่นๆ - (transport other substances)	ฮีโมโกลบิน
4. โปรตีนฮอร์โมน (hormonal protein)	ประสานกิจกรรม (coordination)	อินซูลิน
5. โปรตีนตัวรับ (receptor protein)	ตอบสนองต่อสารเคมี (response ต่อ chemicals)	ตัวรับบนเยื่อเซลล์
6. โปรตีนยืดหดได้ (contractile protein)	เคลื่อนที่ (movement)	กล้ามเนื้อ
7. โปรตีนป้องกัน (defense protein)	ป้องกันต่อสู้โรค (protection)	แอนติบอดี พิษงู (antibody)
8. โปรตีนเอนไซม์ (enzymatic protein)	เร่งปฏิกิริยาเคมี (acceleration)	เอนไซม์ย่อยอาหาร

คุณลักษณะทั่วไปของโปรตีน

1. ประกอบขึ้นจากกรดอะมิโน > 50 หน่วย จาก common amino acids เพียง 20 ตัว
    - Amino acids > 11 หน่วยต่อกันเป็นสายโพลีเมอร์ยาว เรียกว่า โพลีเป็ปไทด์ (polypeptide)
    - โปรตีนอาจมี 1-2 polypeptides พับจีบหรือขดม้วน เป็นโครงสร้าง 3 มิติที่เฉพาะแต่ชนิด
    - Amino acids 20 ตัวนี้ สามารถสร้างเป็นโปรตีนได้หลายพันชนิด

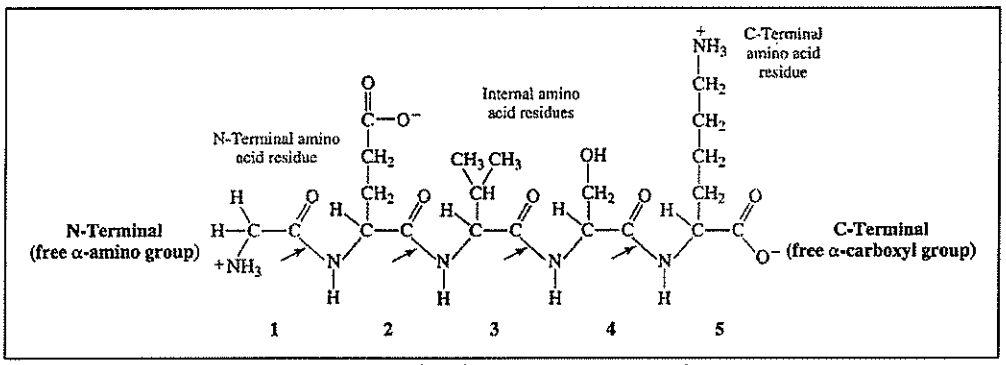
2. ระหว่าง 2 amino acids ต่อกันด้วยพันธะเป็ปไทด์ (peptide bond) ซึ่งเป็นพันธะโควาเลนซ์ (covalence)

- peptide bond ต่อระหว่าง กลุ่มคาร์บ็อกซิล (carboxyl group) ของกรดตัวหนึ่งกับ กลุ่มอะมิโน (amino group) ของกรดอีกตัวหนึ่ง



Peptide bond

ปลายด้านหนึ่งของสายโปรตีนจึงเป็น ปลายอะมิโน (N-terminal) และอีกปลายเป็น ปลายคาร์บ็อกซิล(C-terminal)



3. โปรตีนบางชนิดอาจมีส่วนประกอบอื่นที่ไม่ใช่ เป็ปไทด์ ซึ่งเรียกว่า กลุ่มโปรสเตติก (prosthetic group)

โปรตีนประเภทนี้จัดเป็น โปรตีนอย่างง่าย (simple protein)

- บางชนิดมีสารอื่นที่ไม่ใช่เป็ปไทด์อยู่ด้วย จัดเป็น โปรตีนซับซ้อน (complex หรือ conjugated protein) เช่น - Nucleoprotein
  - Glycoprotein
  - Lipoprotein

4. หน้าที่การทำงานของโปรตีน ขึ้นกับความจำเพาะของโครงสร้าง 3 มิติ (specific conformation) ซึ่งเกิดจาก 1 หรือมากกว่า 1 polypeptide ที่

- บิด (twist)
- พับจีบ (fold) หรือ
- ขดม้วน (coil)

- ให้เป็นโมเลกุลที่มีรูปเฉพาะ

- รูปร่าง 3 มิติจะถูกกำหนดโดยลำดับ (sequence) ของ amino acid จึงจำแนกโปรตีนได้หลายแบบ

<u>การจำแนกโปรตีน</u> : Protein Classification

จำแนกโปรตีน ตามรูปทรง : 2 ชนิด

1) Fibrous proteins : polypeptide chains เรียงกันเป็นเส้นหรือเป็นแผ่นยาว เช่น collagen ในเอ็น, เส้นผม

2) Globular proteins : polypeptide chains พับ ม้วนแน่นเข้าหากันเป็นทรงกลม (sphere หรือ globular) เช่น เอนไซม์

- **จำแนกโปรตีน ตาม กลุ่มสารเคมีส่วนประกอบอื่น (prosthetic group)**

Protein	Prosthetic Group
Nucleoprotein	Nucleic acid
Lipoprotein	Lipid
Glycoprotein	Carbohydrate
Metalloprotein	Metal ion
Hemoprotein	Heme
Phosphoprotein	Phosphate

- **จำแนก โปรตีน ตามระดับของโครงสร้าง แบ่งได้เป็น 4 ระดับ**
  - Primary structure โครงสร้างระดับที่ 1
  - Secondary structure โครงสร้างระดับที่ 2
  - Tertiary structure โครงสร้างระดับที่ 3
  - Quaternary structure โครงสร้างระดับที่ 4
  -

1) Primary Structure : โครงสร้างระดับที่หนึ่ง

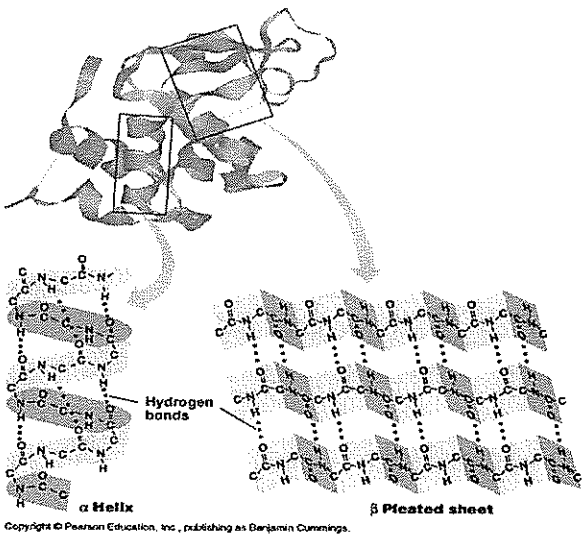
- ลำดับ (sequence) ของ amino acid ในสาย polypeptide ของโปรตีน
- ลำดับของ amino acids เหล่านี้ เช่น Insulin
- มีความสัมพันธ์โดยตรงกับลำดับของ nucleotides ใน DNA

- Insulin เป็นโปรตีนชนิดแรกที่หาลำดับของ amino acids ได้

- พบว่าประกอบด้วย polypeptide 2 สาย คือ
    - สาย A (a) มี 21 amino acids และ
    - สาย B (b) มี 30 amino acids
    - แต่ละสายคือ primary structure
- โปรตีนที่ทำหน้าที่เหมือนกันในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ
- เรียกว่า Homologous proteins เช่น hemoglobin
    - ปกติความยาวของสาย polypeptide เท่าหรือเกือบเท่ากัน
    - ลำดับ amino acids ในหลายตำแหน่งเหมือนกัน หรือไม่เหมือนกัน
- ความเหมือนของลำดับ amino acid sequence เรียกว่า Sequence homology ซึ่งสามารถบอกถึงต้นกำเนิดทางวิวัฒนาการร่วมกัน (common evolutionary origin)
- ของสิ่งมีชีวิตที่มีโปรตีนนั้นๆ

2) Secondary Structure : โครงสร้างระดับที่สอง

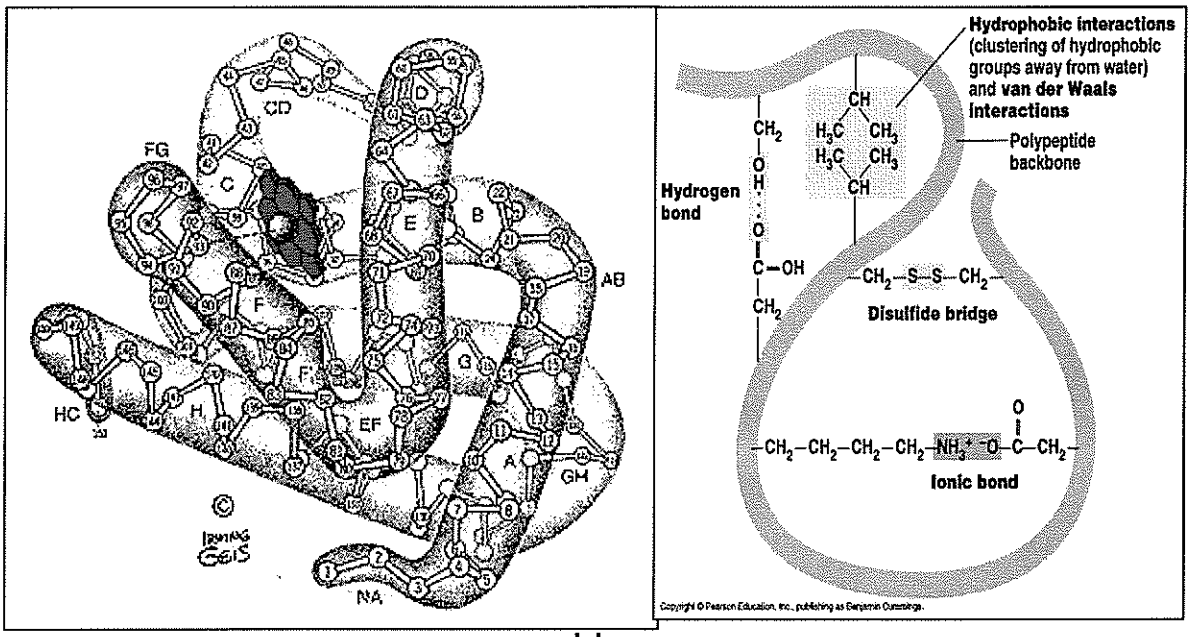
- โครงสร้าง 3 มิติ เกิดจาก สาย polypeptides ข้างเคียงที่อยู่ติดกัน ทำพันธะเคมีต่อกัน
- ได้รูปร่าง เป็นเกลียว (helix) หรือแผ่นพับเป็นจีบ (beta sheet) เช่น
    - Keratin ในผิวหนัง เส้นผม ใยแมงมุม 3 polypeptides แบบ b sheets
    - Collagen ในเอ็นยึดกล้ามเนื้อประกอบขึ้นด้วย 3 polypeptide แบบ helix
    - Elastin ในเอ็นยึดกระดูก 4 polypeptides, แบบ helix



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

3) Tertiary Structure : โครงสร้างระดับที่สาม

- Polypeptide สายเดียว มีทั้ง a helix และ b sheet ก็ได้ พับม้วนให้เป็นทรงกลม (globular structure) ด้วย covalent bond (disulfide bridges -S-S-) เช่น
    - Myoglobin ในเซลล์กล้ามเนื้อ
    - Cytochrome c ในระบบหายใจระดับเซลล์
    - Lysosyme ในไข่ขาวและน้ำตาของคน
- ทำให้เสียสภาพธรรมชาติได้ ด้วยความร้อน หรือ pH ไม่เหมาะสม เช่น ไข่ขาวที่ต้มสุกแล้ว
- บางชนิดสามารถคืนสภาพธรรมชาติเดิมได้ ด้วยความเย็น และ pH ที่เหมาะสม



4) Quaternary structure : โครงสร้างระดับที่สี่

- โปรตีนที่มี 2 polypeptide chains ขึ้นไป อาจเหมือนหรือไม่เหมือนกัน อยู่ด้วยกันเป็นโครงสร้าง 3 มิติ ขนาดใหญ่และทำหน้าที่ซับซ้อน โครงสร้างนี้เกิดจาก

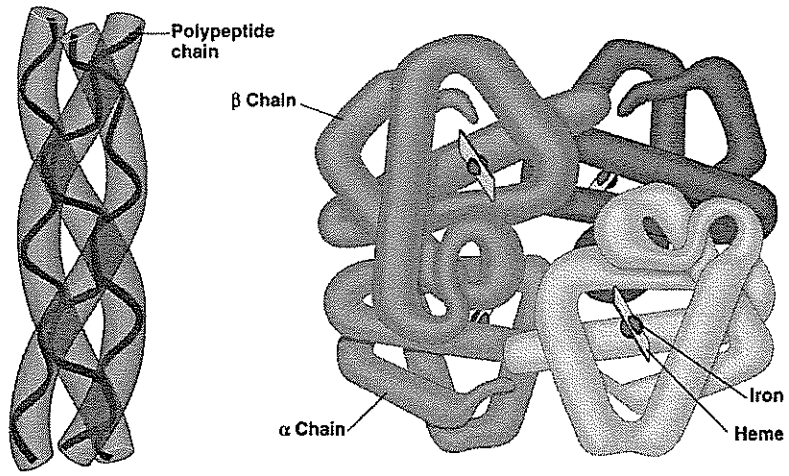
  (1) noncovalent bonding (hydrophobic force)

  (2) electrostatic bonding

  (3) hydrogen bonding และ

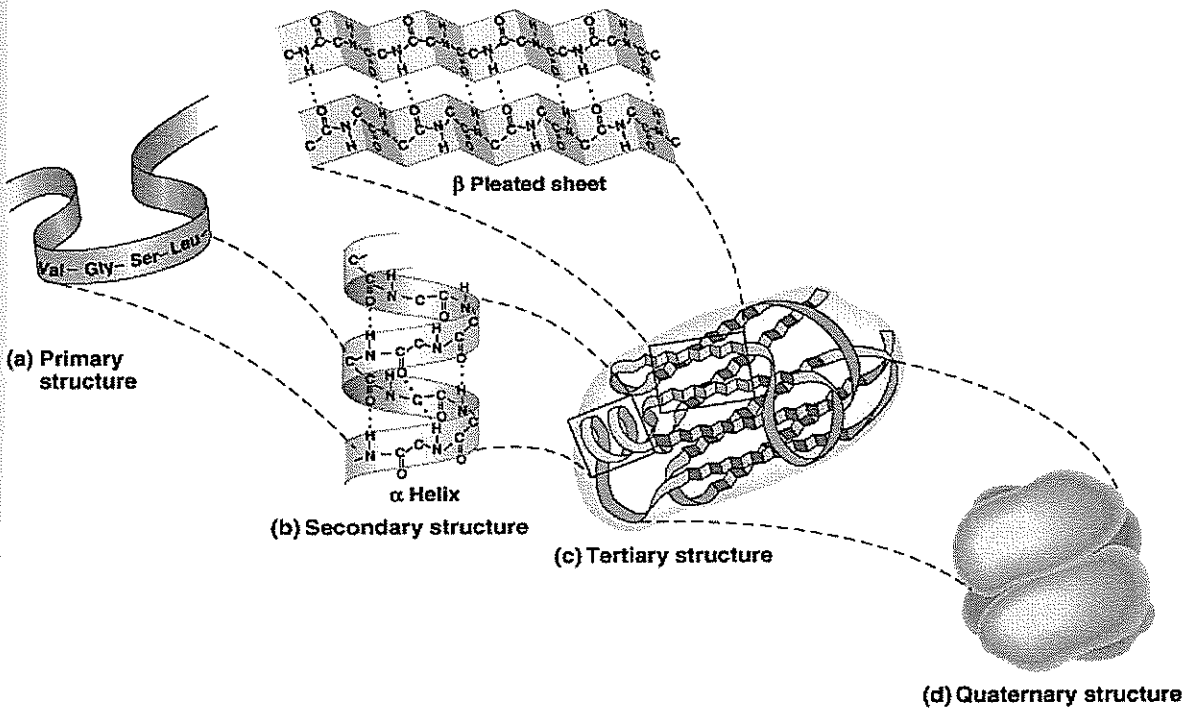
  (4) โปรตีนชื่อ แชบเพอรอน (chaperone protein)

- เช่น enzymes หลายชนิดใน กระบวนการ metabolism ของเซลล์ และ Hemoglobin ในเซลล์เม็ดเลือด



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Protein Structure ทั้ง 4 ระดับ



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

<u>รหัสพันธุกรรมและหน้าที่ของยีน</u> (Genetic Code and Gene Function)

Central Dogma of Molecular Biology

- การทำงานของพันธุกรรมเป็นการถ่าย หรือ เสมือนการไหลของข้อมูลพันธุกรรม (Transfer of Genetic Information)
  จาก Nucleic acid (DNA) ไปยัง Nucleic acid (RNA) และ
  จาก Nucleic acid (RNA) ไปยัง Protein (product of gene)
- ซึ่งเป็นความจริงในระดับโมเลกุล เรียกว่า Central Dogma of Molecular Biology

หน้าที่ของพันธุกรรม

การทำงานของพันธุกรรม หรือ การไหลของข้อมูลพันธุกรรม (genetic information) มีกระบวนการหลัก 3 กระบวนการ คือ

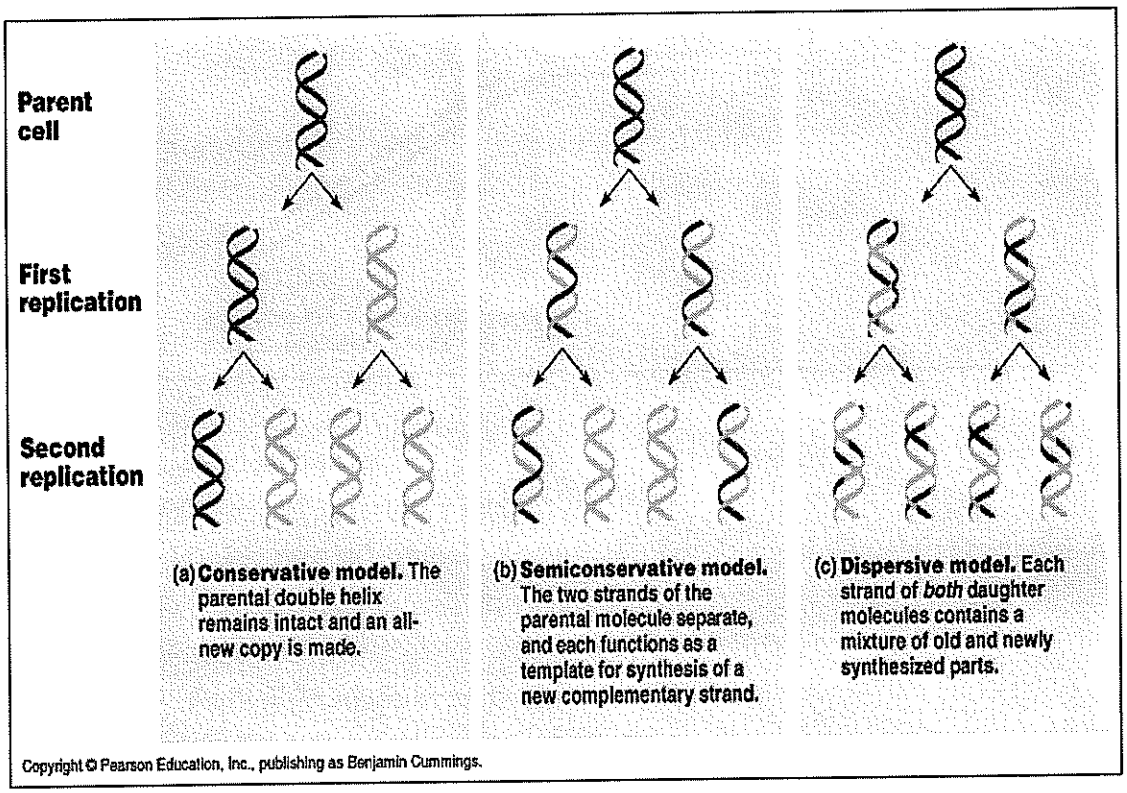
1. Replication : สังเคราะห์ DNA
2. Transcription : สังเคราะห์ RNA
3. Translation : สังเคราะห์ Protein

การสังเคราะห์ DNA (DNA Replication)

- แม่แบบ (template) คือ DNA แต่ละสาย (strand) ของคู่
- DNA สายลูกที่ได้เหมือนสายแม่ทุกประการ

การสังเคราะห์ DNA มี 3 models

1. แบบอนุรักษ์ Conservative replication
2. แบบกึ่งอนุรักษ์ Semiconservative replication
3. แบบกระจัดกระจาย Dispersive replication



การสังเคราะห์ DNA แบบกึ่งอนุรักษ์ Semiconservative Replication

- สังเคราะห์แบบกึ่งอนุรักษ์ (Semiconservative replication) ซึ่งสอดคล้องกับสมมุติฐานของ Watson-Crick คือ duplex DNA สายลูกคู่ใหม่เป็นสายผสมระหว่างpolynucleotide สายสังเคราะห์ขึ้นใหม่ (daughter) 1 สาย กับ polynucleotide สายแม่ (template) ซึ่งเป็นสายเก่า 1 สาย

- DNA 2 สายลูก เป็นสายคู่ (duplex) ซึ่งในแต่ละ daughter duplex มี DNA สายใหม่ 1 สาย และ DNA สายเก่า 1 สายซึ่งเป็นสายแม่แบบ (template)

Discontinuous Replication

แม่แบบ 2 สาย ดำเนินการ replication ต่างกัน

1) Template ที่มีทิศ 3' --> 5' จะเกิดการสังเคราะห์แบบต่อเนื่อง (Continuous replication)
เรียกสายแม่แบบว่า Leading template

2) Template ที่มีทิศ 5' --> 3' จะเกิดการสังเคราะห์แบบไม่ต่อเนื่อง (Discontinuous replication)
เรียกสายแม่แบบว่า Lagging template

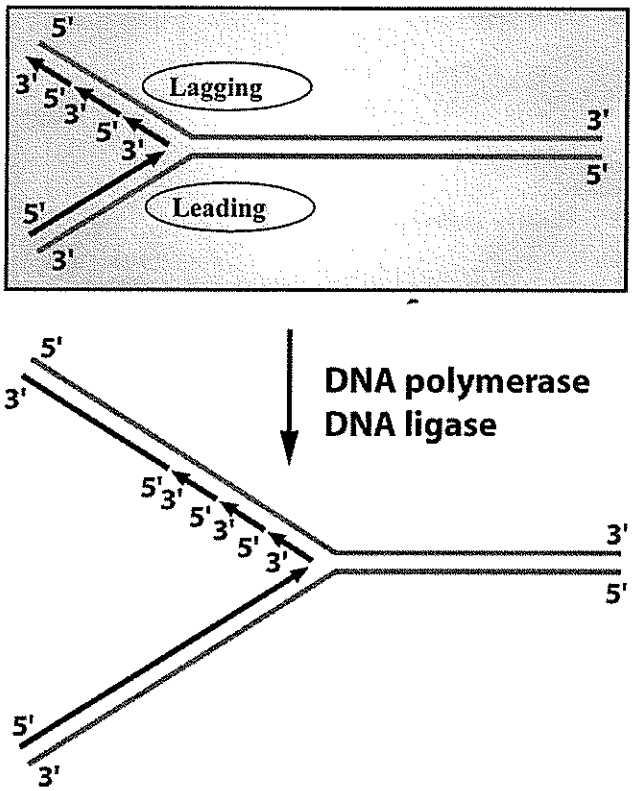
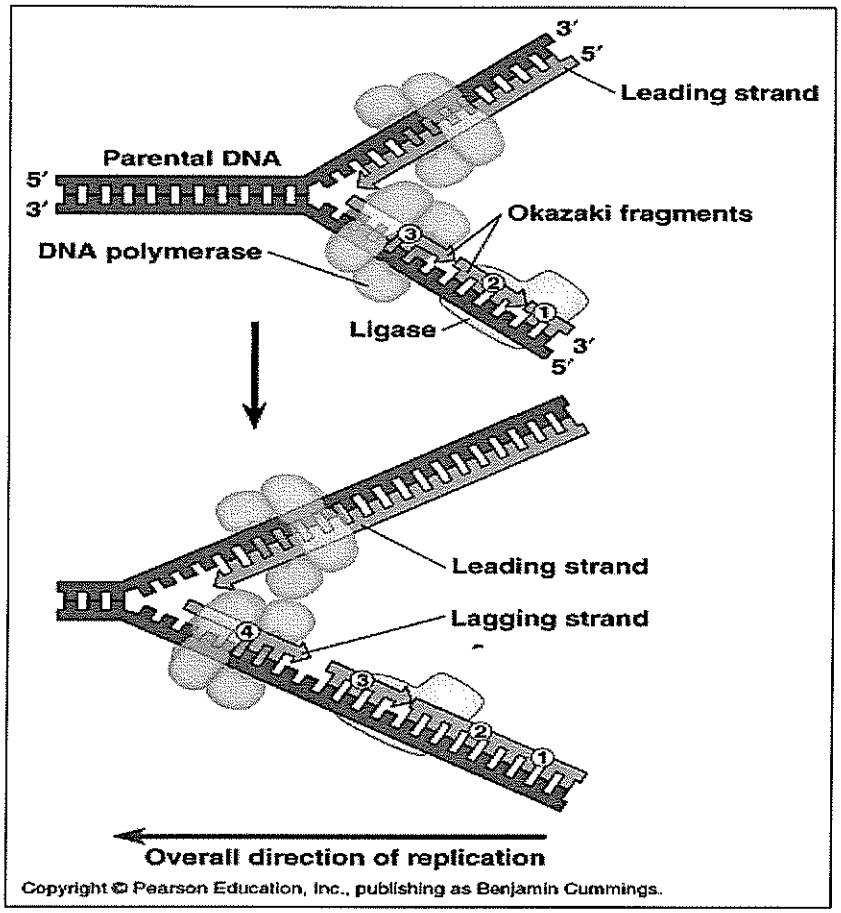


Figure 10-17b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

หลักการสังเคราะห์ (Replication) DNA

1. DNA แม่แบบเกลียวคู่ต้องคลายเกลียวออกเป็น 2 สายเดี่ยว
2. การคลายเกลียวจะทำให้เกลียว DNA รูดไปด้านหน้าหรือด้านข้างที่ไม่มีการสังเคราะห์ เป็นผลให้เกลียวส่วนนี้พันกันมากกว่าปกติ หรือเกิดความกดดัน จึงต้องมีการลดเกลียวของ DNA ส่วนนี้ลง
3. บนแม่แบบสายเดี่ยวต้องป้องกันไม่ให้ DNA ถูกย่อย โดยDNA สายเดี่ยวต้องมีโปรตีนมาห่อหุ้ม
4. สร้าง RNA ท่อนสั้นๆ เพื่อเป็นที่ให้เริ่มต้นสังเคราะห์ DNA
5. สังเคราะห์ DNA สายลูก ในทิศทาง 5' -----> 3' เสมอ
6. สังเคราะห์ DNA บนสายลูกเพื่อทดแทน RNA ท่อนสั้น
7. เชื่อมต่อท่อน DNA เข้าด้วยกัน



สิ่งที่ช่วย (apparatus) สำหรับ DNA replication

- ปัจจัยที่สำคัญใน DNA replication มี
    1. DNA helicase
    2. DNA topoisomerase
    3. Single-strand binding protein
    4. Primase (Primosome)
    5. Deoxyribonucleoside triphosphate 4 ชนิด
    6. DNA polymerase (Replicase)
    7. DNA ligase
    8. Telomerase

1. DNA helicase :

คลายเกลียว double helix DNA ออกให้เป็นสายเดี่ยว (Single-Stranded DNA - ssDNA) 2 สาย

2 DNA topoisomerase :

ปรับ หรือคลายเกลียวคู่ DNA ที่บิดมากเกินไป (supercoiled DNA) ซึ่งเป็นผลจากการแยกเกลียวโดย DNA helicase

3. Single-strand DNA-binding (SSB) protein :

เป็น protein ที่จับกับ DNA สายเดี่ยวที่ได้จากการแยกเกลียวของ DNA helicase เพื่อป้องกันไม่ให้ ssDNA พันเกลียวคู่คืนและป้องกันการถูกย่อย

4. Primase :

เป็น enzyme พิเศษ (special RNA polymerase) สำหรับสังเคราะห์ RNA ที่เป็น Primer บนปลาย 3' ของแม่แบบ ประมาณ 6 - 60 nucleotides

enzyme นี้อยู่รวมกับโปรตีนอีกหลายชนิด ทั้งหมดรวมเรียกว่า Primosome

5. Deoxyribonucleoside triphosphate (dNTP) 4 ชนิด

deoxyadenine triphosphate (dATP)

deoxyguanosine triphosphate (dGTP)

deoxythymidine triphosphate (dTTP)

deoxycytidine triphosphate (dCTP)

6. DNA polymerase :

เป็น enzyme หลักในการเชื่อมต่อ deoxynucleotides แต่ละตัวเข้าด้วยกันให้ได้เป็นสายยาว บน template ตามหลักคู่สม โดย ตัด PO_4 ออก 2 หน่วย และต่อระหว่าง 5'-PO_4 ของ deoxynucleotide โมเลกุลใหม่ เข้ากับปลาย 3'-OH ของ RNA primer หรือ สาย DNA ที่สร้างได้ก่อนแล้ว

7. DNA ligase :

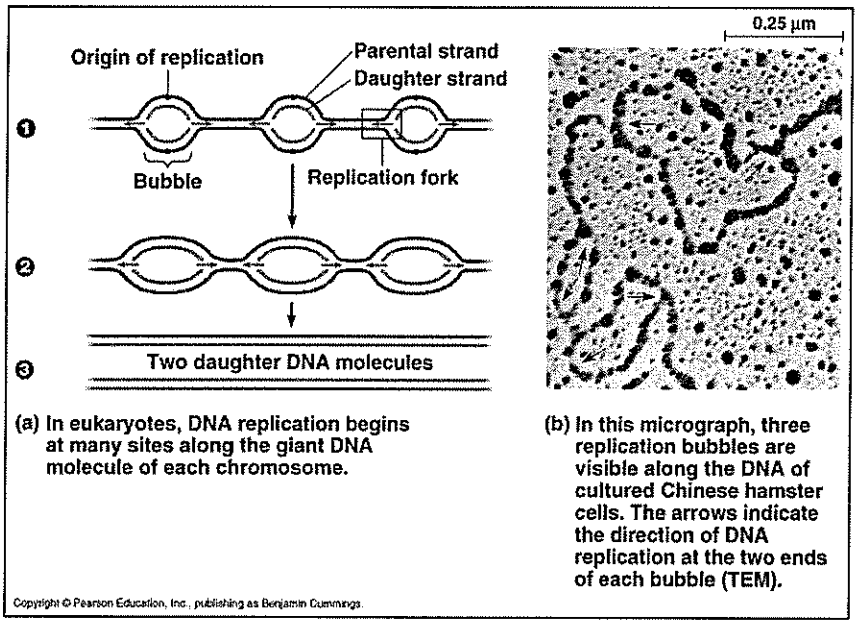
enzyme เชื่อมต่อระหว่าง 2 nucleotides เท่านั้น

8. Telomerase:

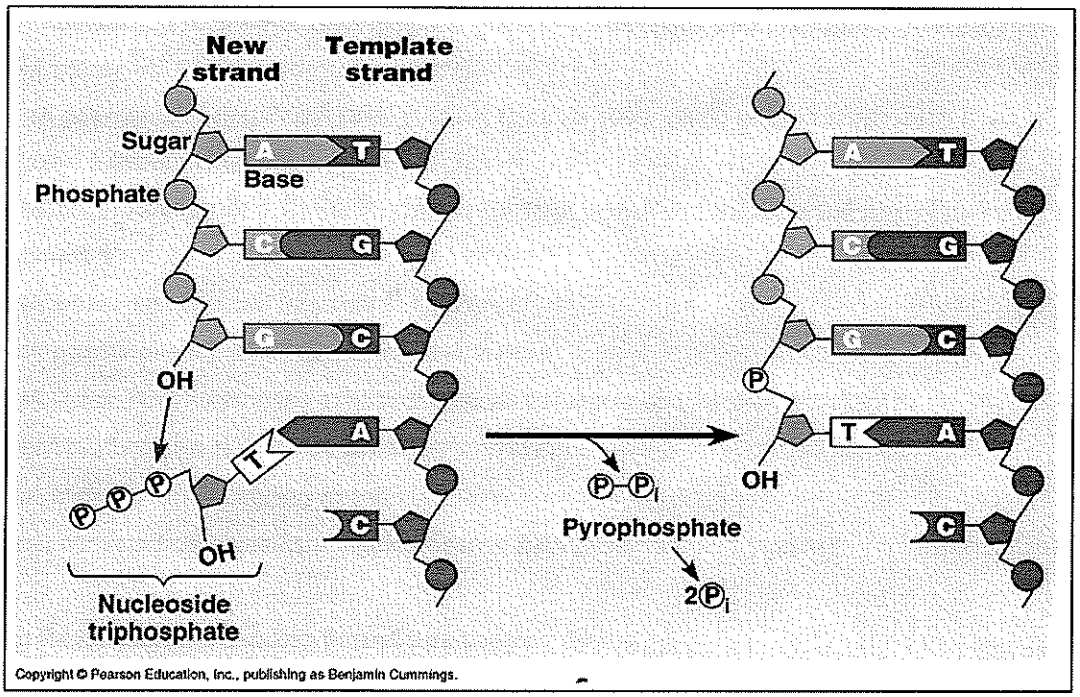
enzyme สำหรับต่อปลาย 3' DNA สายแม่เพื่อเป็น template สร้างส่วน DNA ที่หายไปหลังการสลายของ RNA primer ในสายลูก

Mechanism ของ DNA replication

- เริ่มต้นที่ตำแหน่งเฉพาะซึ่งเรียกว่า Origin of Replication (ori)
- เมื่อ DNA เกลียวคู่แยกออกจากกันโดย Helicase ได้สองสายเดี่ยวแยกออกจากกันรูปส้อม เรียกว่า Replication fork



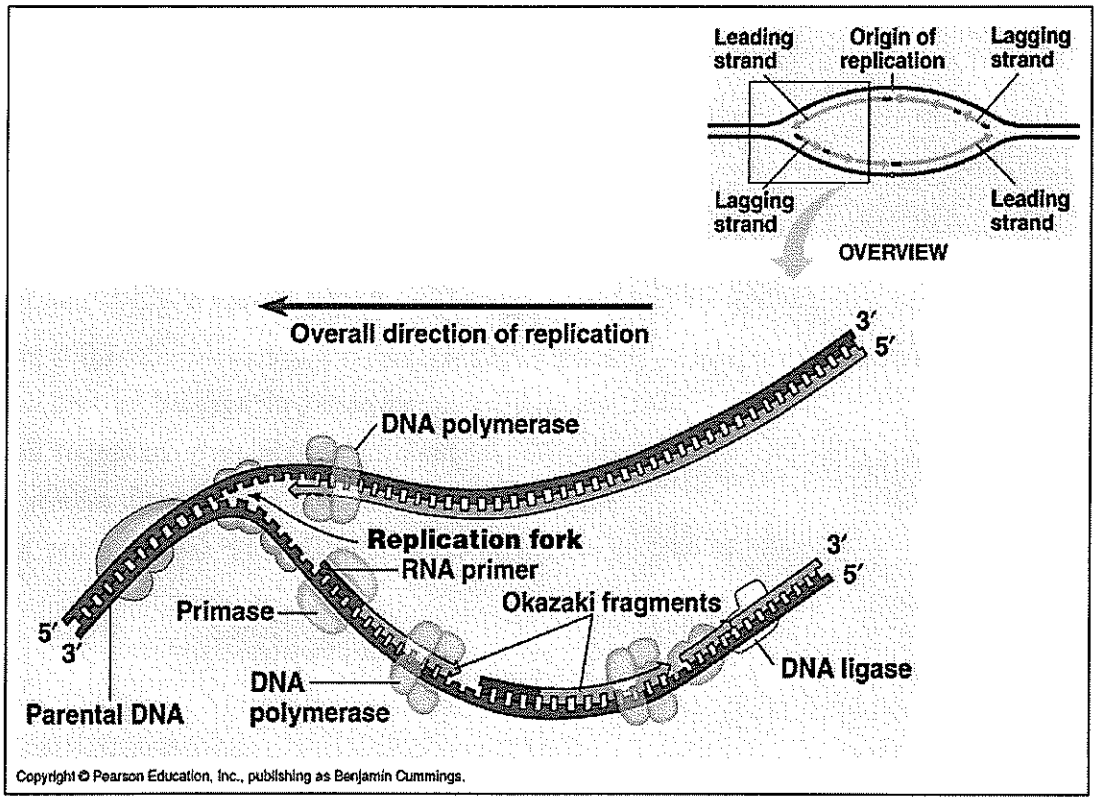
- SSB protein เข้าจับ DNA สายเดี่ยวซึ่งเป็นแม่แบบ 2 สาย ป้องกันไม่ให้ถูกย่อย
  - สาย 3' --> 5' เป็น Leading template strand
  - สาย 5' --> 3' เป็น Lagging template strand
- การสังเคราะห์ DNA บน 2 สายเหมือนกันในหลักการ
  แต่ต่างกันในรายละเอียด ดังนี้



DNA Replication บน Leading Template Strand

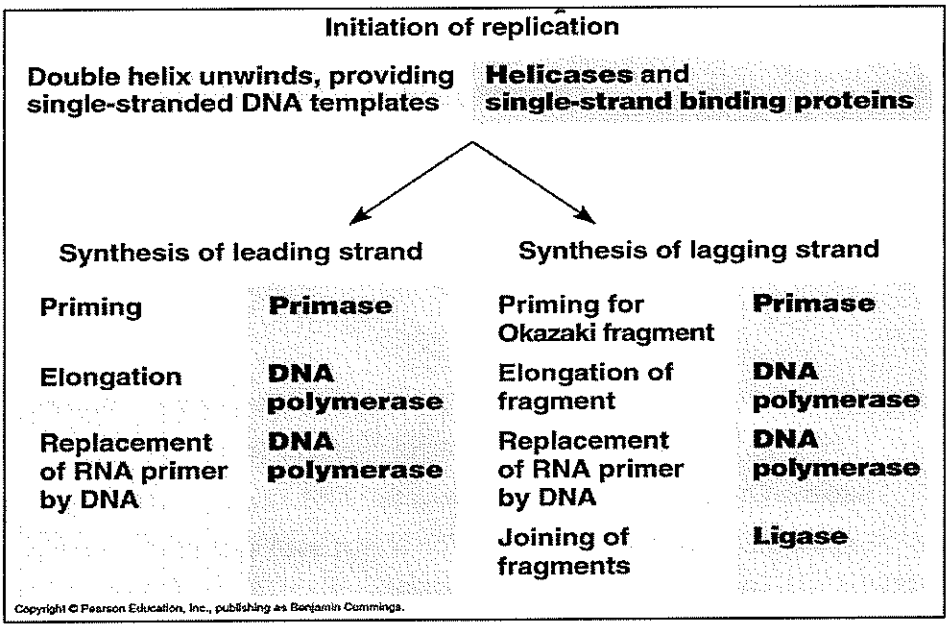
- Primosome (Primase) สังเคราะห์ RNA primer บนแม่แบบสาย 3' --> 5' DNA (แม่แบบสายนี้ต้องการ RNA primer ครั้งเดียว ตอนเริ่มต้นเท่านั้น)
- DNA polymerase นำปลาย 5'-PO_4 ของ deoxynucleotide ต่อที่ 3'-OH ของ primer บน template ไปเรื่อย ๆ ที่ละโมเลกุลจนหมดแม่แบบ
- DNA สายใหม่ จะยาวจาก 5' --> 3'
- DNA สายใหม่นี้ เรียกว่า Leading strand

DNA Replication บน Lagging Template Strand



- ภายหลังแม่แบบสาย 5' --> 3' DNA template ถูกแยกออกได้ช่วงหนึ่ง แล้ว Primosome (Primase) จึงสังเคราะห์ RNA primer ใกล้ๆ กับฐานของรูปส้อม (รูป Y)
- DNA polymerase จึงสังเคราะห์ DNA ช่วงสั้นๆ ประมาณ 1000 - 2000 bases ในทิศทางจาก 5' --> 3' เรียกว่า Okazaki fragment เป็น DNA ช่วงแรก
- เมื่อแม่แบบถูกคลายเกลียวเพิ่มขึ้น มีการสังเคราะห์ RNA primer ช่วงใหม่ แล้วตามด้วยการสังเคราะห์ Okazaki fragment ช่วงที่ 2
- RNA primer ของ Okazaki fragment ที่ 1 สลายไป
- DNA polymerase นำ dNTP เข้าใส่แทน RNA ทั้งหมด
- DNA ligase ต่อ 2 nucleotides ระหว่าง 2 Okazaki fragments เข้าเป็น DNA สายเดียวกัน
- เหตุการณ์เกิดซ้ำเดิม ทำให้ DNA ใหม่สังเคราะห์ยาวจาก 5' ----> 3'
- DNA สายใหม่เรียกว่า Lagging strand
- ดังนั้น การสังเคราะห์ บนแม่แบบ lagging ต้องการ RNA primer มากกว่า 1 primer

เปรียบเทียบ Replication บน Leading Strand และ Lagging Strand

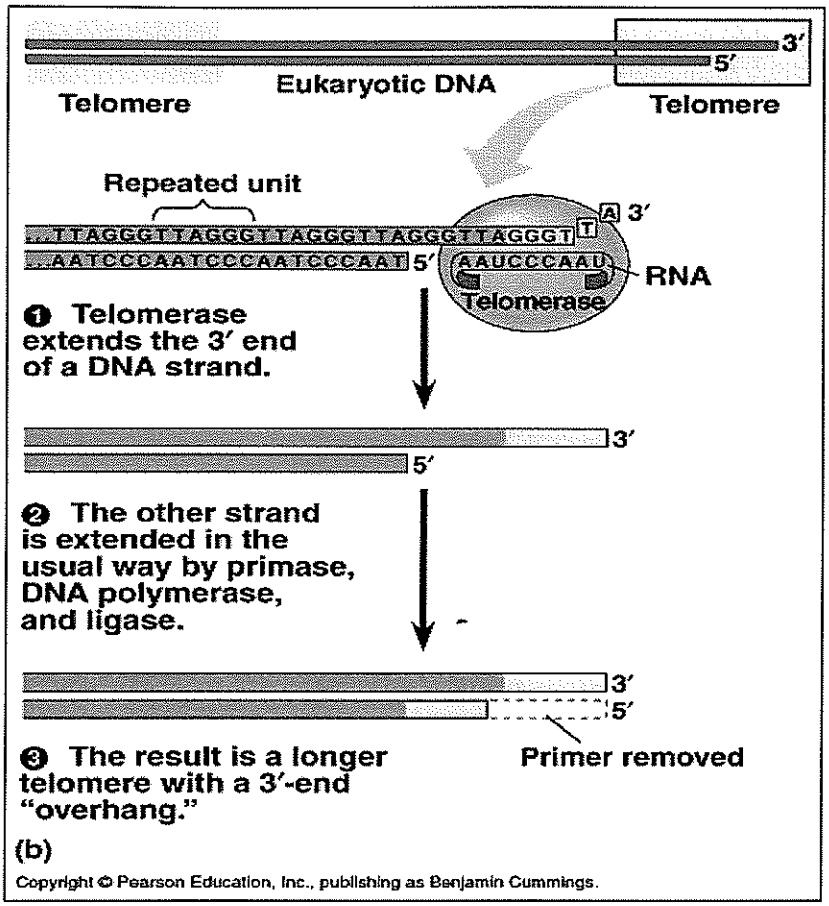


กลไกการสังเคราะห์ DNA (Replication)

การสังเคราะห์ DNA ที่ปลาย 5' DNA สายลูก เพื่อทดแทน RNA Primer

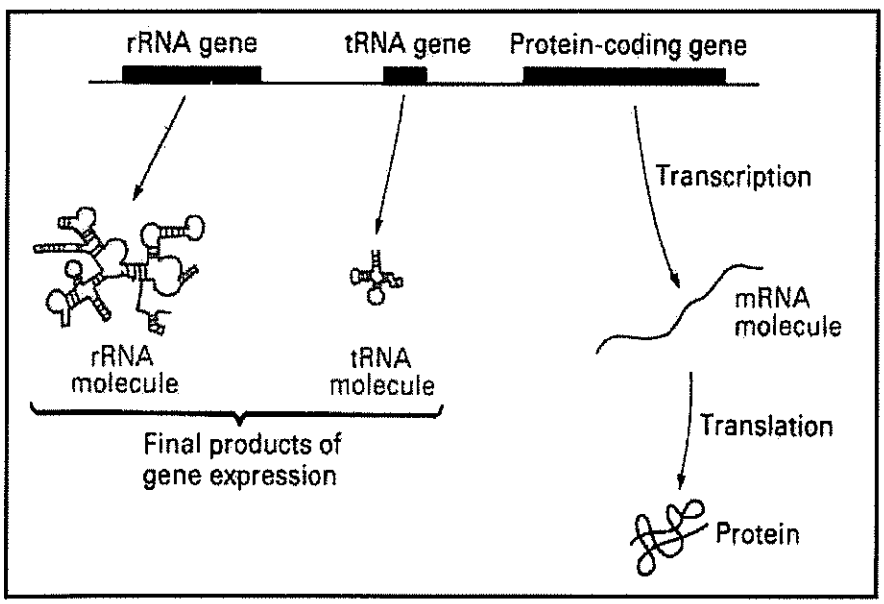
- ปลาย 5' ที่เคยเป็น primer ของ สาย daughter DNA ขาดหายไป --> เป็นปัญหาโดยเฉพาะใน eukaryote เพราะเป็น linear DNA แต่ ไม่มีปัญหาใน prokaryote เพราะเป็น circular DNA
- ต้องมี Telomerase ทำหน้าที่ต่อปลายนี้ให้สมบูรณ์
- Telomerase เป็น Ribozyme พิเศษ ที่มีทั้ง RNA และ protein
- RNA ของ telomerase ทำหน้าที่เป็น primer ให้ telomerase ต่อ DNA ได้

การสังเคราะห์ DNA ที่ปลาย -3' ของ DNA สายลูกเพื่อต่อ Telomere



Transcription

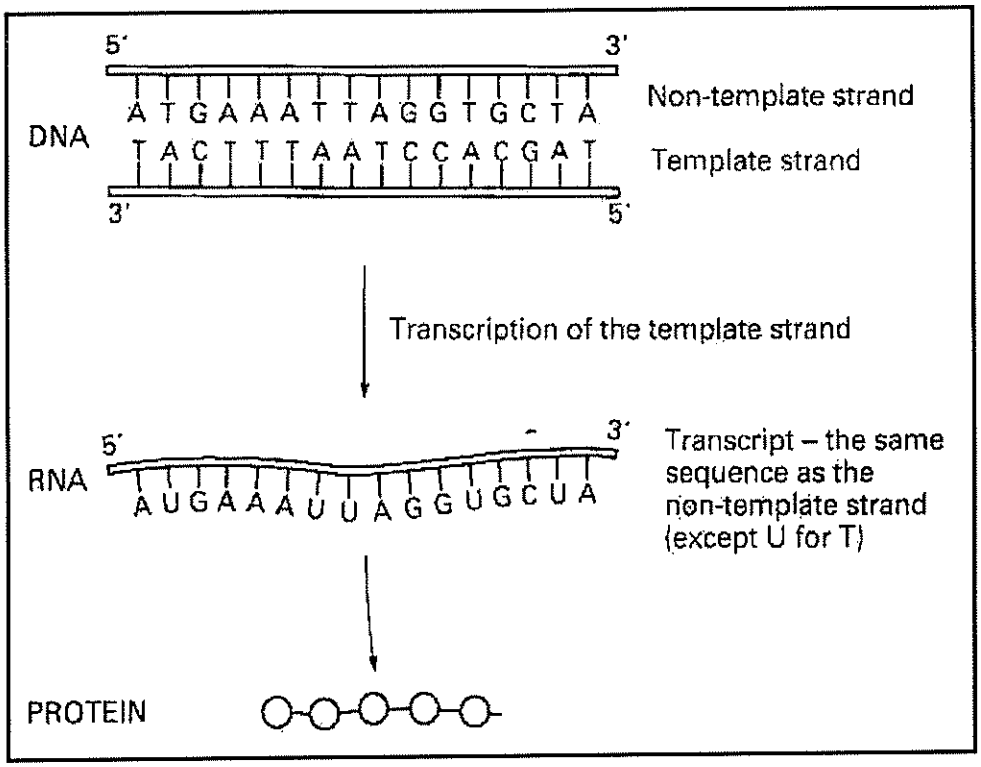
- การถ่ายข้อมูลพันธุกรรม (genetic information)
  จาก DNA (double-stranded) ให้ไปอยู่ในรูปของ RNA (single- stranded) หรือเป็น
- กระบวนการสร้างสำเนา (copy) RNA ของ genes ทุกชนิดหรือเรียกว่า RNA Synthesis
- เป็นการถอดเฉพาะลำดับของ base pairs ส่วนที่เป็นโครงสร้างของ Gene (structural gene / gene proper) บน DNA ให้ไปอยู่ในรูปของ RNA



DNA Template สำหรับการสังเคราะห์ RNA

- Transcription ต้องการแม่แบบเพียง 1 สาย ซึ่งจะเรียกว่า Template strand หรือ Non-sense strand
- สายคู่ตรงข้ามกับแม่แบบ ซึ่งมีลำดับ base เหมือน RNA (ยกเว้น U แทน T) จะเรียกสายนี้ว่า Non-template strand หรือ Sense strand

DNA Template - Nontemplate -Sense Strand

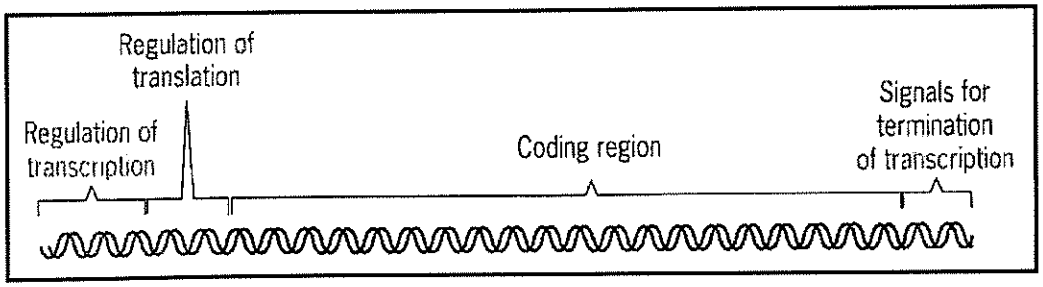


ปัจจัยสำคัญใน Transcription

1. DNA template
   - Promoter
   - Structural gene (ส่วนที่เป็นรหัส)
   - Terminator
2. RNA polymerase
3. Ribonucleotides ทั้ง 4 ชนิด
   - Adenine triphosphate (ATP)
   - Guanine triphosphate (GTP)
   - Uridine triphosphate (UTP)
   - Cytosine triphosphate (CTP)

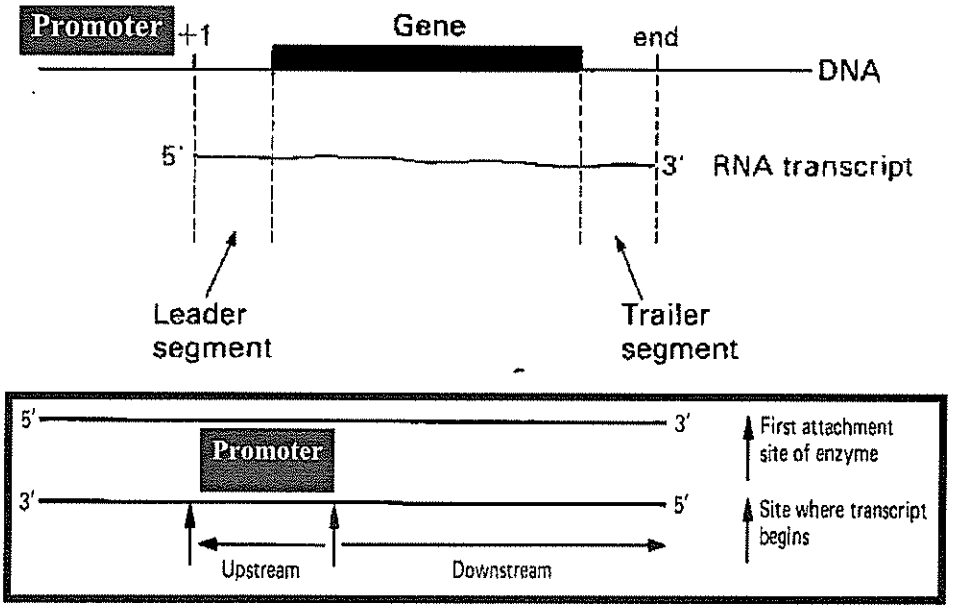
- DNA Template ของ Gene ใดๆบน DNA ที่จะถูกคัดลอกถอดแบบ (transcribed) ต้องมี 3 ส่วนสำคัญตามลำดับคือ

  promoter.....gene proper(Coding region).....terminator



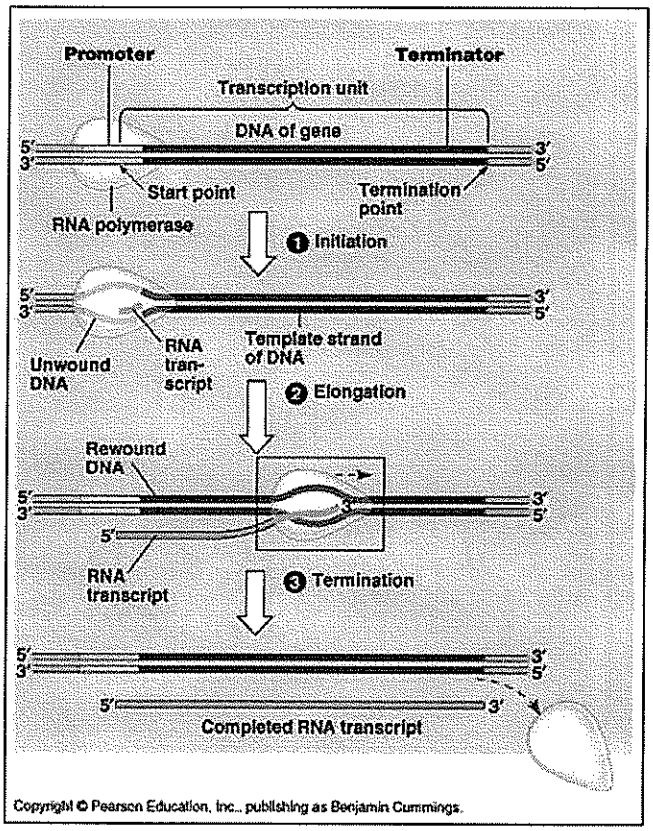
Promoter

- อยู่บริเวณลำดับ nucleotides ด้านปลาย 3' บริเวณก่อน Structural gene / gene proper
- เป็นบริเวณสำหรับให้เอนไซม์ RNA polymerase จับ เพื่อตรวจหาตำแหน่งที่จะใส่ nucleotide ตัวแรก ของ RNA ที่ต้องการสังเคราะห์
- นั่นคือ เมื่อเอนไซม์จับได้ถูกต้อง Promoter DNA จะถูกเปิดแยกออกเป็น 2 สาย ให้เริ่มใส่ nucleotides ได้



RNA Polymerase

- เริ่มต้นสังเคราะห์ RNA ได้เอง โดยจับที่ promoter และเปิดแยกDNA ออกเป็น 2 สาย
- นำ ribonucleotide หน่วยแรกใส่บนแม่แบบโดยไม่ต้องมี primer
- ทิศทางการทำงาน 5' --> 3'



กลไก ของการ Transcription

การถอดรหัส หรือ การถ่ายข้อมูลพันธุกรรมเป็นกลไกต่อเนื่อง 3 ระยะ คือ

1. **Initiation** การเริ่มต้นสังเคราะห์ RNA
2. **Elongation** การเจริญยาวออกของสาย RNA
3. **Termination** การหยุดหรือจบการสังเคราะห์และปล่อย RNA ที่สังเคราะห์ได้ใหม่ออกจากแม่แบบ

กลไก Transcription 3 steps ต่อเนื่อง คือ Initiation, Elongation, Termination

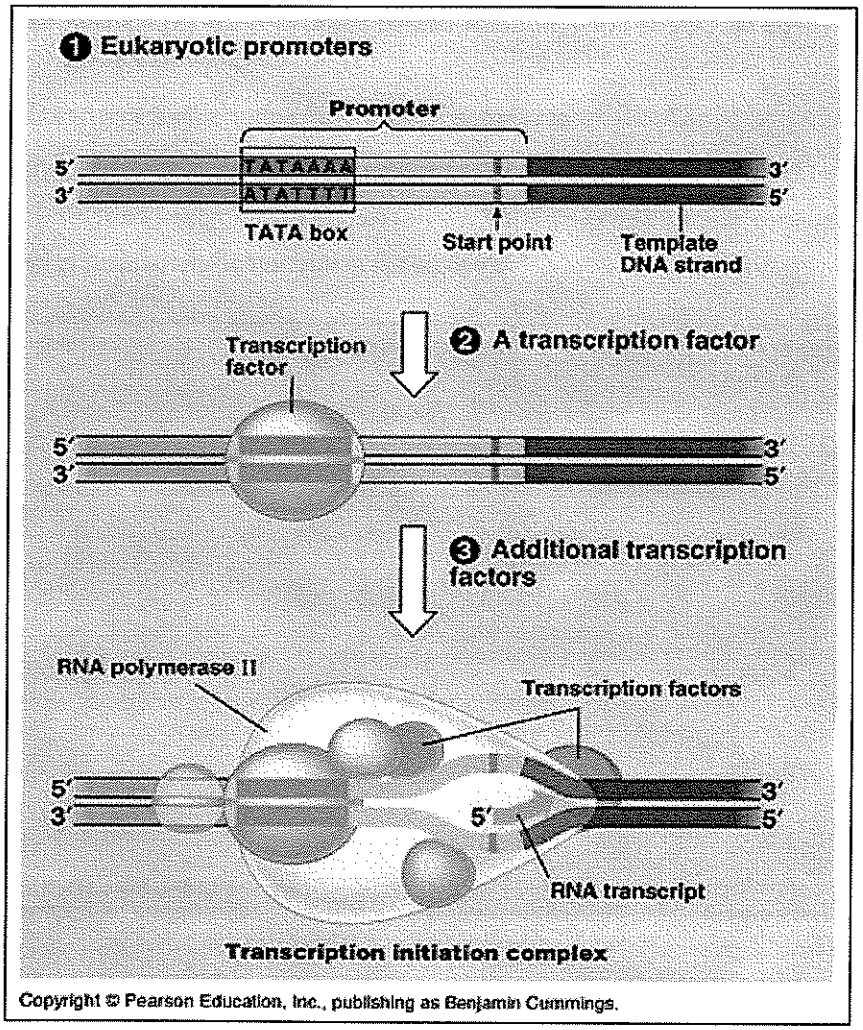
1. การเริ่มต้น - Initiation ของ Transcription :

- RNA polymerase จับที่ promoter
- บน promoter :
  - RNA polymerase แยกเกลียว DNA ออกเป็น 2 สายเดี่ยว
  - บนสายแม่แบบ 3' --> 5' หรือ Coding strand

RNA polymerase นำ ribonucleotide ตัวแรกใส่บนแม่แบบที่จุดเริ่มต้นตำแหน่ง +1 หรือ Startpoint

Promoter

- โดยทั่วไปจะอยู่เหนือขึ้นไป (upstream) ของจุดเริ่มต้น (start point)
- เป็นตำแหน่งที่ RNA polymerase มาจับเพื่อหาจุดเริ่มการ transcription และเลือกเส้นใดเส้นหนึ่งเป็นต้นแบบ
- ใน prokaryote RNA polymerase สามารถจดจำตำแหน่งของ promoter ได้ด้วยตัวเอง
- ใน eukaryote จะมีกลุ่มโปรตีนชื่อ transcription factors เป็นตัวช่วยให้ RNA polymerase มาจับกับ promoter แล้วจึงเริ่มการ transcription เรียกตำแหน่งนี้บน DNA ว่า TATA box



2. การสังเคราะห์ต่อ - Elongation :

- RNA polymerase นำ ribonucleotides ต่อเข้ากับหน่วยที่ได้ตั้งต้นไว้แล้ว
- ได้สาย RNA ยาวออกเรื่อยๆ ในทิศทาง 5' --> 3'
  - การใส่ ribonucelotides จะต้องเป็นไปตามกฎเบสคู่สมกับแม่แบบ
- สาย RNA ใหม่คงจับกับ DNA แม่แบบชั่วคราวระยะหนึ่ง
  - พอสาย RNA ยาวมากขึ้น เฉพาะปลายที่สร้างก่อน จะหลุดออกจากแม่แบบ

3. การหยุด - Termination :

- บนแม่แบบ DNA ตอนปลายของ gene มีบริเวณหยุด เรียกว่า Terminator
- การหยุดถอดรหัส ณ terminator เกิดได้ 2 วิธี

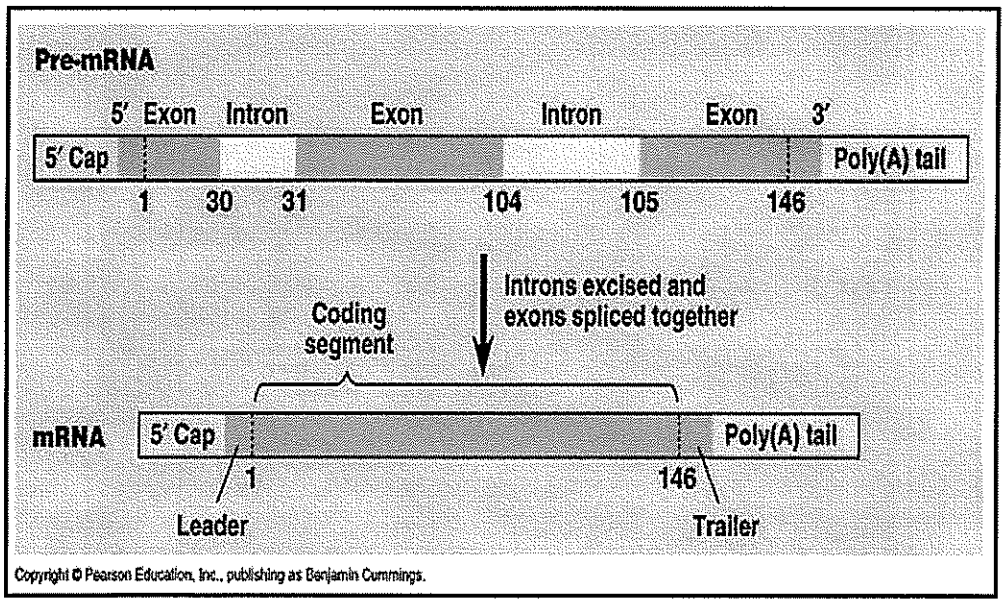
1. **Rho-independent termination** เกิดจาก terminator และ RNA บิดเป็นเกลียวรูปกิ๊บติดผม (hairpin) ทำให้ขัดขวางการทำงานของ RNA polymerase --> หลุดออกจาก terminator
2. **Rho-dependent termination** เกิดจากโปรตีนชื่อ โร (Rho factor) ขัดขวางการทำงานของ RNA polymerase --> หลุดออกจาก terminator

การเปลี่ยนแปลง RNA หลังจากการ transcription ในเซลล์พวก Eukaryote

- เราเรียก mRNA ที่สร้างใหม่ที่ยังไม่ผ่านการเปลี่ยนแปลงใดๆนี้ว่า pre-mRNA
- มีการ modify ที่ปลาย 5' โดยเติม Guanine (G) เป็น 5' cap ซึ่งทำหน้าที่ 2 อย่างคือ
  1. ป้องกันการถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์
  2. เป็นตำแหน่งให้ไรโบโซมเข้ามาจับเมื่อเคลื่อนที่ไปในไซโตพลาสซึม
- ที่ปลาย 3' มีการเติม Adenine (A) หลายๆตัวตั้งแต่ 50-250 ตัวเรียกส่วนนี้ว่า poly(A) tail ซึ่งทำหน้าที่เหมือนกับ 5' cap

การเปลี่ยนแปลง RNA หลังจากการ transcription ในเซลล์พวก Eukaryote

- Pre-mRNA ก่อนถูกส่งออกไปนอกนิวเคลียสจะถูก modify โดยตัดส่วนที่ไม่ใช่ยีนออกซึ่งเรียกว่า intron เหลือแต่ส่วนที่แปลรหัสเป็นโปรตีนที่เรียกว่า exon มาเรียงต่อกันด้วยการทำหน้าที่ของ small nuclear ribonucleoproteins (snRNPs) หลายๆตัวร่วมกับโปรตีนอื่นรวมเรียกว่า spliceosome



Translation (การสังเคราะห์โปรตีน)

- RNA ทั้ง 3 ชนิด ที่สังเคราะห์ได้ใน nucleus จะถูกส่งออกมาทำงานที่ cytoplasm
- mRNA นำข้อมูลพันธุกรรมในรูปของรหัสสำหรับแปลให้เป็น amino acids เรียกว่า Genetic code แต่ละรหัสเรียกว่า Codon
- tRNA เป็น adapter นำ amino acids เข้ามาต่อกันให้ตรงกับลำดับของรหัสพันธุกรรมที่กำหนดไว้ใน mRNA
- rRNA รวมกับ ribosomal protein กลายเป็น Ribosome ทำหน้าที่เป็นสถานที่สังเคราะห์โปรตีน

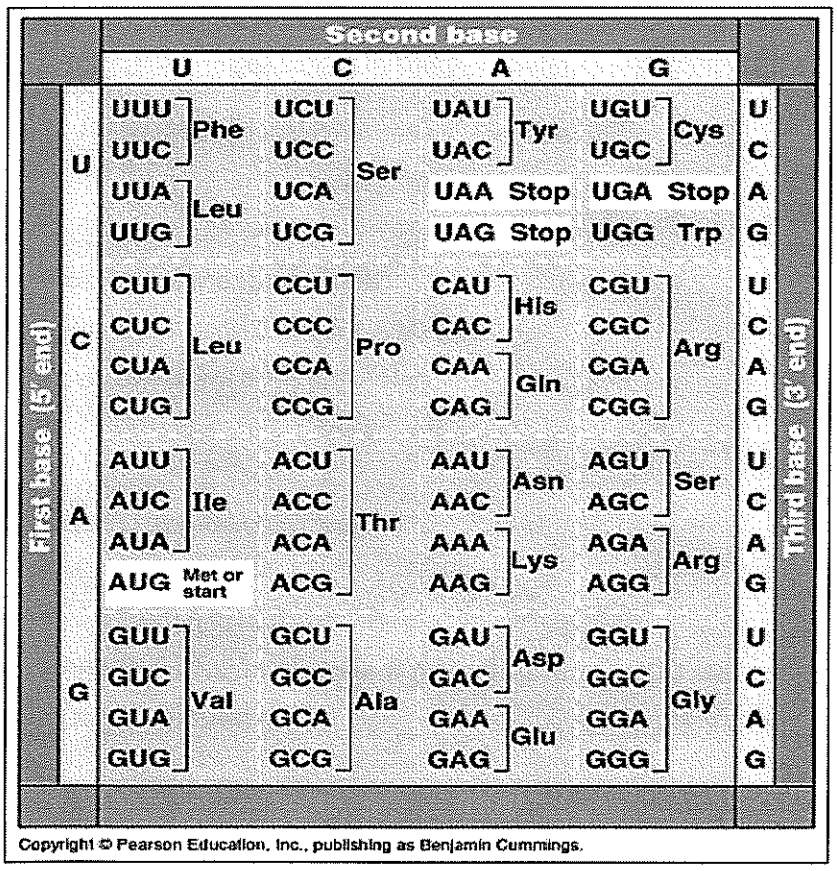
รหัสพันธุกรรม : Genetic Code

- รหัสพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดบน mRNA
- ประกอบด้วย 3 nucleotides / รหัส เรียกว่า Triplet code หรือนิยมเรียกว่า Codon
- โปรตีนในสิ่งมีชีวิตทั่วไปประกอบขึ้นด้วย amino acid 20 ชนิด
- Codon ทั้งหมดจึงมี = $(4)^3$ = 64 codons
- 20 amino acids ใช้ทั้งหมด 61 codons

Codons พิเศษ

- 1 start codon คือ AUG และ
- 3 stop codons คือ
  - UAA เรียกว่า โอเคอร์ (Ochre)
  - UAG เรียกว่า แอมเบอร์ (Amber) และ
  - UGA เรียกว่า โอปอล (Opal)

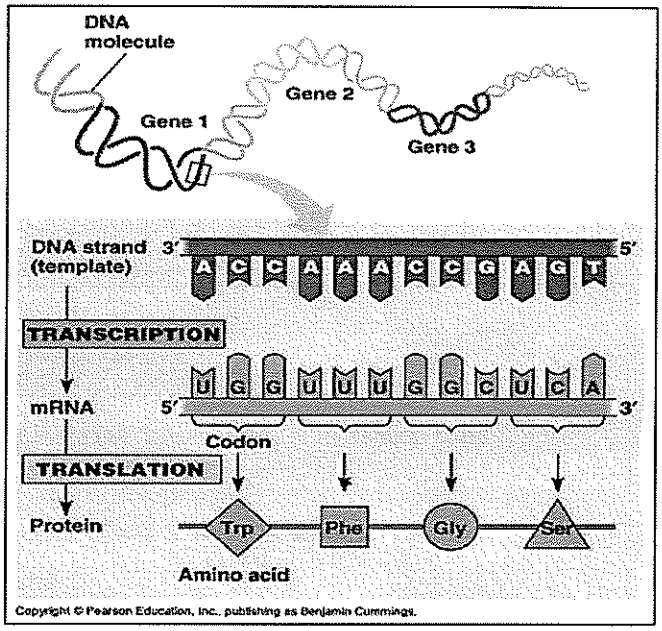
Triplet Code 3 Nucleotides คือ 1 codon แปลเป็น 1 amino acid



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Transfer RNA (tRNA)

- โครงสร้างคล้ายใบผักแว่น 3 กลีบ
- Anticodon มี 3 bases สำหรับจับ Codon
- ตำแหน่งสำหรับจับ amino acid ซึ่งถูกเติมพลังงานก่อนด้วย ATP



Ribosome

- Ribosome บรรจุได้ 3 รหัส (sites) คือ

1) Aminoacyl site (A site) สำหรับ tRNA ที่จับ amino acid,

2) Peptidyl site (P site) สำหรับ tRNA ที่จับ peptide

3) Exit site (E site) สำหรับ tRNA ที่ว่างเปล่าที่จะออกจาก ribosome

กลไก Translation

1) Initiation :

ต้องการ amino acid Methionine เป็นตัวเริ่มต้น

- Prokaryote : f-methionyl tRNA (tRNAfMet)
- Eukaryote : Methionyl tRNA (tRNAiMet)

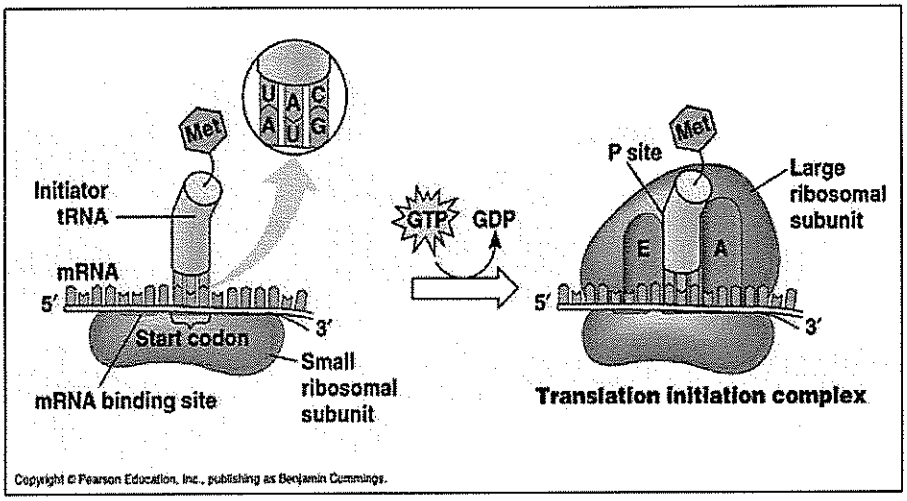
2) Elongation

3) Termination

- Stop codon(s) และ Releasing factor

Initiation ของ Translation

- Ribosome หน่วยเล็ก จับกับ mRNA ด้าน 5'
- tRNAfMet หรือ tRNAiMet เข้ามาใน ribosome ที่ P site ซึ่งต้องตรงกับ AUG start codon
- Ribosome หน่วยใหญ่เข้าจับกับหน่วยเล็ก

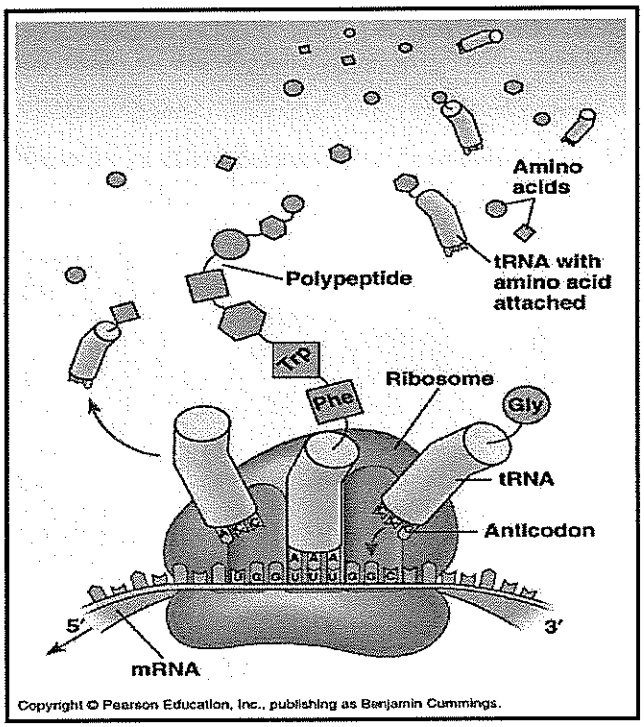


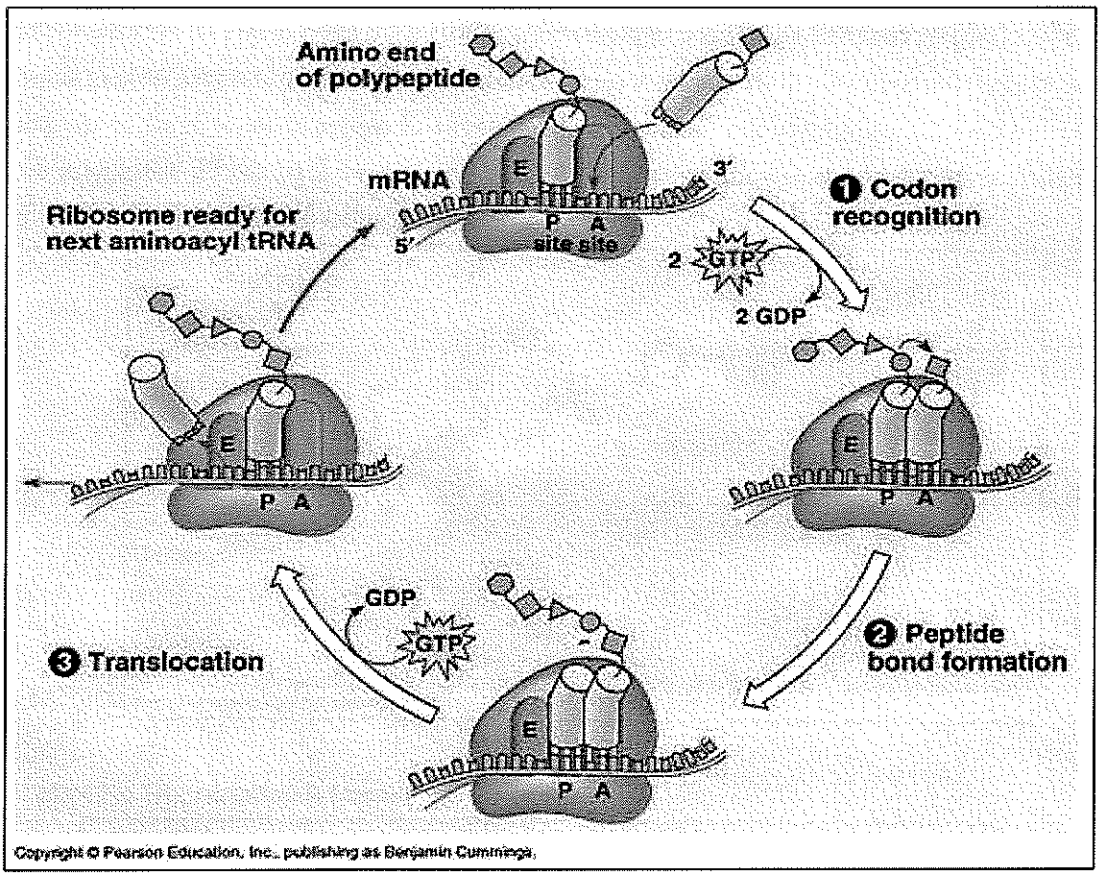
Elongation ของ Translation

- tRNA นำ Amino acid ตัวที่ 2 (AA2) เข้าที่ A site
- enzyme ตัด AA1 ออกจาก tRNA1 ไปต่อกับ AA2 ด้วย peptide bond
- tRNA1 ว่าง
- Ribosome เคลื่อนที่ 1 codon ไปทาง 3' --> ได้ A site ใหม่ 1 site
- A site เดิมกลายเป็น P site
- P site เดิมกลายเป็น E site ซึ่งมี tRNA ว่าง --> ออกจาก ribosome
- เหตุการณ์เกิดเป็นวัฏจักร --> สาย polypeptide ยาวออก

Elongation of Translation

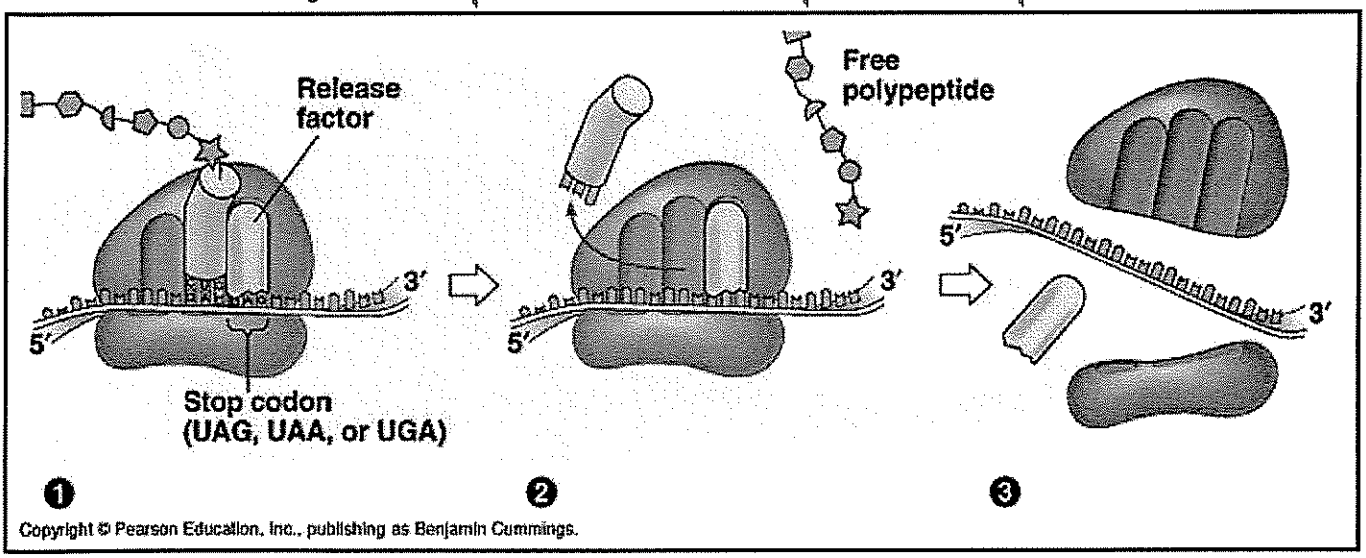
mRNA เคลื่อนที่ไปทาง 5' หรือ Ribosome เคลื่อนที่ไปทาง 3'





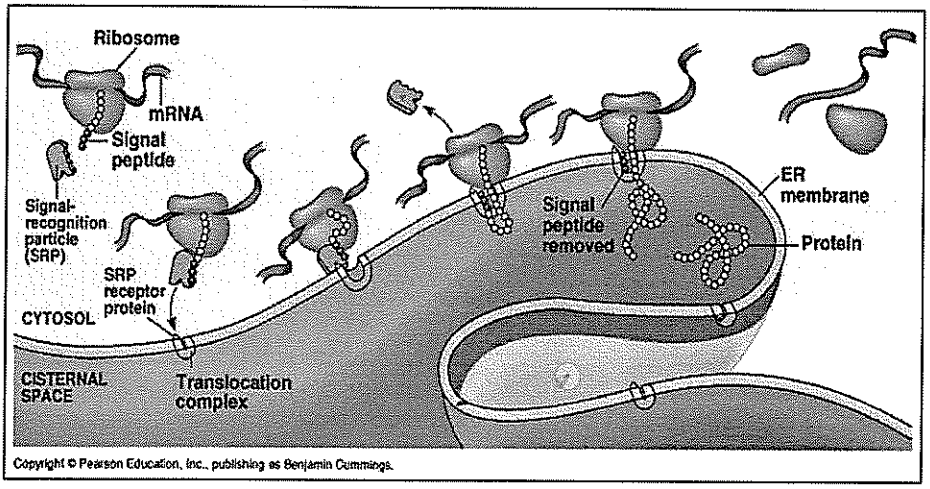
Termination ของ Translation

- การสังเคราะห์ไปจนหมดความยาวของ gene ถึง codon สุดท้ายซึ่งเป็น stop codon (1 ใน 3)
- ไม่มี tRNA ตัวใดจำ stop codon ได้ แต่
- มี ปัจจัยพิเศษ เรียกว่า Releasing factor (RF) เป็น protein จับที่ stop codon ได้
- การจับของ releasing factor ทำให้ อุปกรณ์ใน translation ทั้งหมดหลุดออกจากกัน --> หยุด translation



Signal peptide

- มีขนาดประมาณ 20 amino acids มักจะอยู่บริเวณปลายของสาย polypeptide ที่กำลังสร้างอยู่บนไรโบโซม
- Signal peptide จะถูกจดจำโดยโปรตีนที่ชื่อ signal-recognition particle (SRP) โดยมันจะนำไรโบโซมที่มีสาย polypeptide นี้มาที่ receptor protein ที่ฝังตัวอยู่บน ER membrane
- เมื่อ polypeptide สร้างสมบูรณ์ ก็จะถูกส่งเข้าไปใน ER โดยตัดส่วนที่เป็น signal peptide ออก ยกเว้นโปรตีนที่สร้างเพื่อฝังตัวอยู่ใน membrane ก็จะฝังตัวอยู่ที่ผนังของ ER



การเชื่อมต่อระหว่าง Transcription & translation