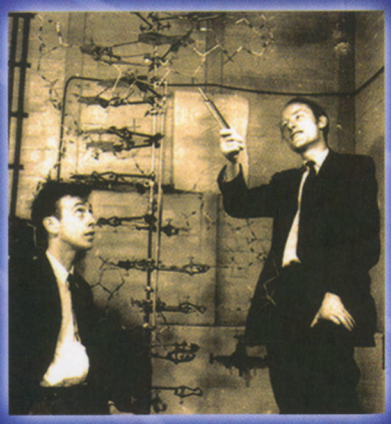
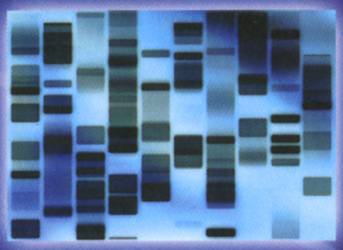
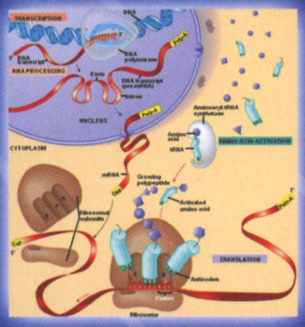
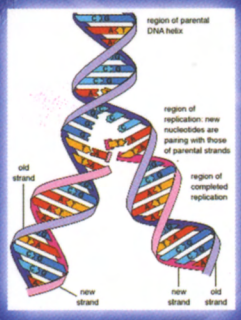
อณูพันธุศาสตร์

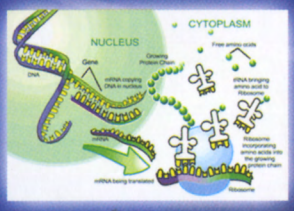
MOLECULAR GENETICS

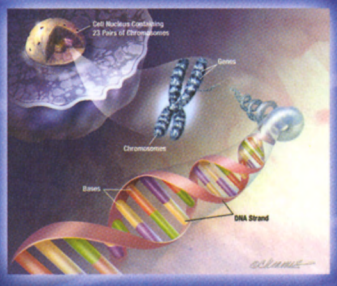


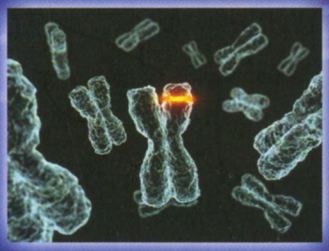


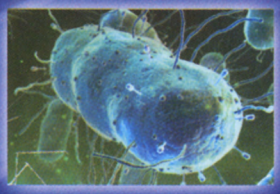








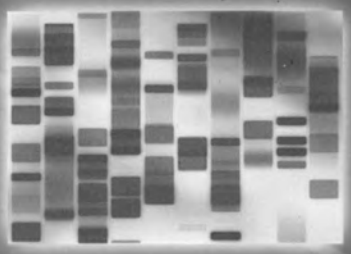


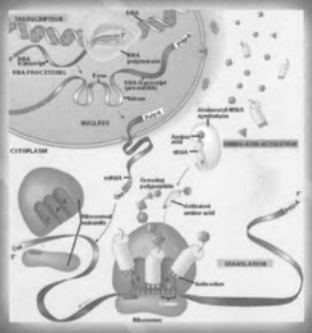


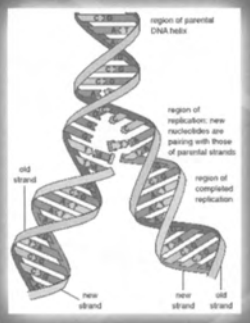
หัทยา กาวีวงศ์

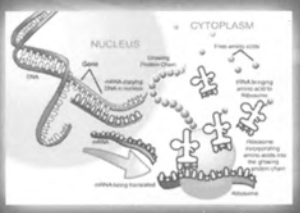
อณูพันธุศาสตร์

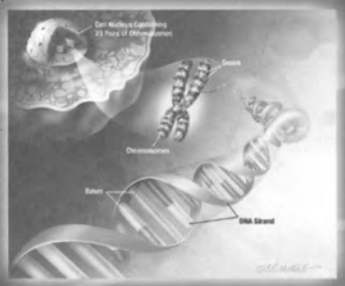
MOLECULAR GENETICS

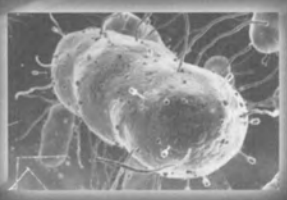












หัทยา กาวีวงศ์

อณูพันธุศาสตร์

ผู้แต่งและเรียบเรียง
รศ. หัทยา กาวีวงศ์ วท.ม. (พันธุศาสตร์)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ISBN 974-658-011-6
พิมพ์ครั้งแรก ธันวาคม 2548
พิมพ์ครั้งที่ 2 ธันวาคม 2549
พิมพ์ครั้งที่ 3 สิงหาคม 2555
จัดพิมพ์โดย ห้างหุ้นส่วนจำกัด บุญไชยการพิมพ์
ออกแบบปก ห้างหุ้นส่วนจำกัด บุญไชยการพิมพ์
ราคา 400 บาท
สงวนลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2546

คำนำ

สามสิบกว่าปีก่อน ครั้งแรกที่ผู้เขียนมีโอกาสเรียนวิชาพันธุศาสตร์ ความรู้สึกปนๆ กันระหว่างความชอบเพราะอยากรู้ กับการไม่ชอบเพราะเรียนไม่ค่อยเข้าใจ ตำราภาษาไทยสำหรับอ่านขณะนั้นก็หายาก ศัพท์ต่างๆ ไม่เคยรู้จักมาก่อน แต่ทั้งๆ ที่ไม่ค่อยจะรู้เรื่องก็ได้รับความประทับใจอย่างหนึ่ง คือ การรู้ว่าเราสามารถชักนำให้พืชเกิดการกลายพันธุ์ได้ลักษณะแปลกๆ ใหม่ๆ เกิดขึ้น ขณะนั้นรู้สึกว่าวิชาพันธุศาสตร์เป็นเรื่องน่าสนุก และน่าตื่นเต้นมาก ความประทับใจนั้น เป็นมูลเหตุชักนำให้เรียนพันธุศาสตร์ต่อ คิดไม่ถึงว่าล่วงเลยมาจนถึงปัจจุบัน ไม่เพียงแต่มนุษย์เราสามารถชักนำให้สิ่งมีชีวิตเกิดการกลายพันธุ์ได้เท่านั้น แต่ยังสามารถตัดต่อ ดัดแปลง ให้กลายเป็นพันธุ์ที่มีลักษณะอย่างที่ต้องการได้ด้วยเทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรมที่ก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็ว ทั้งทางเกษตรกรรม อุตสาหกรรมรวมทั้งด้านการแพทย์

แต่ทุกสิ่งที่มีประโยชน์ก็อาจมีโทษแฝงอยู่ ขณะที่เราได้รับประโยชน์จากการพัฒนาสายพันธุ์พืชและสัตว์ที่มีการตัดต่อยีนตามที่เราต้องการ อีกด้านหนึ่งเราก็ต้องเผชิญกับคำถามที่ว่าพืชและสัตว์ทรานส์เจนนิค (transgenic) หรือที่เรียกพืชและสัตว์ GMO เหล่านั้นให้โทษต่อเราหรือไม่ การโคลนสัตว์ต่างๆ ที่จริงแล้วสมควรกระทำหรือไม่ แม้แต่ความสำเร็จในโครงการจีโนมมนุษย์ ซึ่งทำให้ความหวังเกี่ยวกับการรักษาโรคทางพันธุกรรมด้วยยีนบำบัด (gene therapy) ใกล้ความสำเร็จมากขึ้น ก็ยังมีผู้ตั้งคำถามเกี่ยวกับจริยธรรมและสิทธิส่วนบุคคล

ถึงแม้จะยังมีคำถามอีกมากมาย ที่ยังไม่ชัดเจนเกี่ยวกับการนำเทคโนโลยีเหล่านี้มาใช้ แต่อย่างหนึ่งที่เห็นพ้องต้องกันคือ ความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอ เป็นความก้าวหน้าที่ยิ่งใหญ่และน่าตื่นเต้นในด้านวิชาความรู้ ปัจจุบันเทคโนโลยีรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอเข้ามาใกล้ตัวเรามากขึ้น จนเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของเราทุกคน ผู้เขียนหวังว่าหนังสือเล่มนี้คงจะให้ความรู้พื้นฐานที่มีประโยชน์แก่นักศึกษา และผู้สนใจทางด้านอณูพันธุศาสตร์ หรือ อณูชีววิทยา เพื่อที่จะสามารถติดตามความรู้และเทคโนโลยีใหม่ๆ ที่กำลังก้าวหน้าอย่างรวดเร็วในปัจจุบันได้ด้วยความเข้าใจ

คำนำ พิมพ์ครั้งที่ 3

ผู้เขียนรู้สึกดีใจมากที่ตำราที่เขียนขึ้นเป็นประโยชน์ต่อนักศึกษาและผู้ที่สนใจ โดยเฉพาะเมื่อได้มีโอกาสพูดคุยกับนักศึกษาและได้รับทราบว่าหนังสือนี้ช่วยให้นักศึกษาเข้าใจเนื้อหาวิชาที่เรียนมากขึ้น ก่อนการพิมพ์ครั้งที่ 3 ตอนแรกตั้งใจว่าจะปรับปรุงเนื้อหาเพิ่มเติมเพราะปัจจุบันเทคโนโลยีทางด้านนี้ก้าวหน้าไปมาก มีผลงานใหม่ๆออกมาตลอดเวลาอย่างมากมาย แต่เมื่อลองรวบรวมและพิจราณาพบว่าจะทำให้หนังสือมีความหนาเพิ่มขึ้นและก็ไม่สามารถครอบคลุมได้สมบูรณ์ อีกประการหนึ่งตั้งใจจะให้หนังสือนี้มีเนื้อหาสำหรับให้ผู้อ่านมีความเข้าใจในหลักการและพื้นฐานที่ถูกต้อง สำหรับความก้าวหน้าใหม่ๆ ที่เกิดขึ้นน่าจะติดตามได้จากทาง online ซึ่งมีมากมายและก้าวหน้าตลอดเวลาได้ดีกว่า จึงตัดสินใจปรับปรุงเฉพาะการอธิบายรายละเอียดเพิ่มเติมเพียงเล็กน้อยในบางหัวข้อ

ผู้เขียนขอขอบคุณผู้อ่านทุกๆ ท่านและถ้ามีข้อเสนอแนะใดก็ยินดีที่จะรับฟังโดยติดต่อได้ที่

E-mail hattaya.k@cmu.ac.th

คำขอบคุณ

หนังสือเล่มนี้สำเร็จขึ้นมาได้ ผู้เขียนต้องกราบขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ และพี่ๆ ที่ให้การสนับสนุนในการศึกษาตลอดมา

กราบขอบพระคุณ ครูอาจารย์ทุกท่านที่กรุณาให้วิชาความรู้

ขอบคุณภาควิชาชีววิทยาและคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้เวลาและโอกาสในการเขียนหนังสือเล่มนี้

และท้ายสุด ต้องขอขอบคุณสามีและลูกทั้งสองคน ที่เป็นกำลังใจในการทำงานตลอดมา และยังพยายามแบ่งเบาภาระด้านอื่น เพื่อให้ผู้เขียนได้มีเวลาเขียนหนังสืออย่างเต็มที่

สารบัญ

		หน้า
บทนำ		
บทที่ 1	ดีเอ็นเอและโครงสร้างโมเลกุลของโครโมโซม DNA and the Molecular Structure of Chromosome	1-30
บทที่ 2	กระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและโครโมโซม Replication of DNA and Chromosomes	31-64
บทที่ 3	กระบวนการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ RNA Synthesis	65-92
บทที่ 4	การตัดแต่งอาร์เอ็นเอและรหัสพันธุกรรม RNA Processing and The Genetic Code	93-116
บทที่ 5	การแสดงออกของยีน Gene Expression	117-142
บทที่ 6	มิวเทชันและรีคอมบิเนชัน Mutation and Recombination	143-166
บทที่ 7	พันธุศาสตร์ของแบคทีเรียและแบคเทริโอเฟจ The Genetics of Bacteria and Bacteriophages	167-196
บทที่ 8	การควบคุมการแสดงออกของยีนในโพรแคริโอต Regulation of Gene Expression in Prokaryotes	197-218
บทที่ 9	การควบคุมการแสดงออกของยีนในยูแคริโอต Regulation of Gene Expression in Eukaryotes	219-240
บทที่ 10	เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์ The Techniques of Molecular Genetics	241-282
บทที่ 11	การวิเคราะห์ยีนและผลลัพธ์ของยีนในระดับโมเลกุล Molecular Analysis of Gene and Gene Product	283-314
บรรณานุกรม		
ดัชนี		

บทนำ

เมื่อเทียบกับวิทยาศาสตร์สาขาอื่นๆ พันธุศาสตร์ยังเยาว์วัยมาก อายุเพียง 100 ปีเศษ แต่เป็นสาขาวิชาที่มีความเจริญก้าวหน้าอย่างรวดเร็วมาก ความจริงตั้งแต่มนุษย์เกิดขึ้นมาก็น่าจะมีคำถามอยู่ในใจว่าทำไมสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจึงมีลักษณะที่แตกต่างกัน และแต่ละชนิดก็สามารถถ่ายทอดลักษณะของตนเองให้แก่ลูกหลานในรุ่นต่อไปได้ คำอธิบายเชิงวิทยาศาสตร์สำหรับคำถามนี้เพิ่งเริ่มในปี ค.ศ.1865 เมื่อพระชาวออสเตรีย ชื่อเกรเกอร์ โจอัน เมนเดล (Gregor Johann Mendel) ได้รายงานการค้นพบกฎการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรม แต่รายงานเหล่านั้นก็ถูกละเลยจนถึงปี 1900 จึงเป็นปีเริ่มต้นของพันธุศาสตร์อย่างแท้จริง

ในปี 1866 ขณะที่เมนเดลพบว่ามียีนเป็นหน่วยควบคุมลักษณะพันธุกรรม เขายังไม่มีความรู้ว่ายีนเป็นอณูของสารที่สามารถเก็บและถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมได้จนกระทั่ง Johann Friedrich Miescher นักฟิสิกส์ชาวสวิสที่รายงานการค้นพบสารดีเอ็นเอ (DNA) ในปี ค.ศ.1869 และหลังจากนั้นไม่กี่ปีนักชีววิทยา คือ Walther Flemming ก็ได้รายงานการพบโครโมโซมขณะที่ศึกษากระบวนการแบ่งเซลล์

ปี ค.ศ.1912 Feulgen ได้ทดลองเติมสารละลายชิฟฟ์ (Schiff's reagent) ลงในสารละลายดีเอ็นเอที่ถูกแยกสลายด้วยกรดอ่อน พบว่าเกิดปฏิกิริยาให้สีม่วงแดงจึงให้ชื่อว่า ปฏิกิริยา Feulgen ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดเฉพาะกับดีเอ็นเอเท่านั้น เมื่อทำปฏิกิริยา Feulgen ในเซลล์พบว่าเฉพาะส่วนโครโมโซมเท่านั้นที่เกิดปฏิกิริยา แสดงว่าดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบของโครโมโซม

ปี ค.ศ. 1941 Hollander และ Emmon พบว่า เชื้อราที่ถูกฉายรังสีอัลตราไวโอเลตที่ช่วงคลื่น 260 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่ดีเอ็นสามารถดูดกลืน (absorb) ได้ พบว่าเชื้อราเกิดการกลายพันธุ์เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดความคิดว่าดีเอ็นเออาจเป็นสารพันธุกรรม แต่ไม่สามารถพิสูจน์ได้ในขณะนั้น

ผลงานของ A. Hershey และ M. Chase ที่ทำการทดลองในไวรัสที่ทำลายแบคทีเรีย (bacteriophage) ในปี ค.ศ.1952 สามารถพิสูจน์ได้ชัดเจนว่าดีเอ็นเอคือสารพันธุกรรม ก่อนปี ค.ศ.1930 จะสนใจว่ายีนถ่ายทอดจากพ่อแม่ไปสู่ลูกหลานในรุ่นต่อไปได้อย่างไร และยีนต่างๆ เหล่านั้นสามารถควบคุมลักษณะต่างๆ กันได้อย่างไร ความเปลี่ยนแปลงที่สำคัญอย่างหนึ่งเกิดขึ้นในช่วงปี ค.ศ.1930 เมื่อค้นพบว่ายีนเป็นสารเคมี มีรูปร่าง ดังนั้นจึงอาจจะศึกษายีนโดยตรงได้ในแง่ของชีวฟิสิกส์หรือชีวเคมี ซึ่งนำไปสู่การศึกษาแขนงใหม่คือ อณูชีววิทยา (Molecular Biology) ซึ่งมีจุดประสงค์แรกในการศึกษาธรรมชาติทางเคมีของยีน เพื่อจะได้เข้าใจเกี่ยวกับโครงสร้าง

หน้าที่และการทำงานของยีน ในช่วงปี 1930-1980 นักพันธุศาสตร์และนักอณูชีววิทยา ได้มีความเข้าใจเกี่ยวกับกระบวนการเก็บ และถ่ายทอดข้อมูลพันธุกรรมในเซลล์

ผลงานของ Hamilton Smith, Daniel Nathans และ Walter Arber ที่รายงานการค้นพบเอนไซม์จากแบคทีเรียที่สามารถตัดดีเอ็นเอของไวรัสที่ตำแหน่งจำเพาะ ที่รู้จักกันในชื่อเรสทริคชันเอนไซม์ (Restriction enzyme) ในปี ค.ศ. 1971 นับเป็นก้าวแรกของยุครีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอ นับจากจุดนั้นเป็นต้นมา เทคโนโลยีรีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอก็ได้ปฏิวัติงานวิจัยทุกแขนงที่เกี่ยวข้องกับสิ่งมีชีวิต กลายเป็นส่วนหนึ่งของชีวิตประจำวันมนุษย์ เราใช้เทคนิครีคอมบิแนนท์ดีเอ็นเอในการผลิตอาหาร ผลิตยารักษาโรค ผลิตสารเคมี ผลิตสายพันธุ์พืชและสัตว์ตามความต้องการของเรา ใช้ตรวจวิเคราะห์หาความผิดปกติทางพันธุกรรมในมนุษย์ ใช้จำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิตและอื่นๆ อีกมากมาย

การประกาศความสำเร็จในการ ซีเควนซ์จีโนมมนุษย์ ในต้นปี ค.ศ. 2002 เป็นความตื่นเต้นของมนุษย์ทั่วโลก ทำให้มีความหวังว่าจะสามารถเอาชนะโรคทางพันธุกรรมทั้งหมด ตลอดจนความผิดปกติต่างๆ ในมนุษย์ได้ในอนาคต ขณะเดียวกันการนำความรู้เหล่านี้ไปใช้จะต้องคำนึงถึงผลกระทบทั้งทางด้าน ศีลธรรม มนุษยธรรม จิตใจ สังคม สิ่งแวดล้อม และอื่นๆ อีกมากมายที่อาจจะเกิดขึ้นได้

การที่สามารถหาลำดับนิวคลีโอไทด์ในจีโนมของสิ่งมีชีวิตที่สนใจได้ ทำให้สามารถศึกษาการทำงานของยีนในสิ่งมีชีวิตได้อย่างละเอียดและถูกต้องมากขึ้น นอกจากนี้ในปัจจุบัน นักวิทยาศาสตร์ยังสามารถรวมเทคนิคทางพันธุศาสตร์กับคอมพิวเตอร์ ทำให้เกิดเทคโนโลยี gene-chip ที่เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพมากในการค้นคว้าวิจัยทางพันธุศาสตร์

พัฒนาการของความรู้และงานวิจัยทางด้านพันธุศาสตร์เป็นไปอย่างต่อเนื่อง เริ่มจากลักษณะพันธุกรรมถูกควบคุมโดยแฟคเตอร์ต่อมาเรียกยีน (gene) ซึ่งจะแยกตัวถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไปผ่านทางเซลล์สืบพันธุ์ ต่อมามีการพบว่ายีนเป็นสารเคมีพวกดีเอ็นเอ (DNA : deoxy-ribonucleic acid) ซึ่งเป็นการเริ่มยุคใหม่ของพันธุศาสตร์ที่เปลี่ยนแปลงงานศึกษาค้นคว้าจาก classical genetics มาเป็น molecular genetics จนถึงปัจจุบัน เรามีความรู้เกี่ยวกับกระบวนการควบคุมและถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมในระดับอณูค่อนข้างละเอียด จนมนุษย์สามารถเข้าไปจัดการตัดต่อ ดัดแปลงหน่วยพันธุกรรมตามต้องการ ความรู้ทางด้านอณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรม ในระยะหลังก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็วมาก และเป็นที่สนใจมากของนักวิทยาศาสตร์เกือบทุกสาขา เพราะโดยความเป็นจริงแล้วความรู้ทางด้านอณูพันธุศาสตร์เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์ทุกสาขา และยังคงมีคำถามที่ค้างคาอีกมากมายท้าทายให้นักวิทยาศาสตร์ทุกท่านเข้ามาค้นคว้าเพื่อหาคำตอบ

บทที่ 1

ดีเอ็นเอและโครงสร้างโมเลกุลของโครโมโซม
DNA and the Molecular Structure of Chromosome

ปี ค.ศ.1868 Johann Friedrich Miescher นักศึกษาแพทย์ชาวสวิสสามารถแยกสารเคมีตัวหนึ่งได้จากเซลล์เขาเรียกชื่อ **"นิวคลีอิน" (nuclein)** มีคุณสมบัติเป็นกรด (ต่อมาเรียกกรดนิวคลิอิค) มีไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง ซึ่งเป็นเรื่องไม่ปกติ เพราะความรู้ในสมัยนั้น พบว่าสารทั้งสองชนิดจะพบในไขมันบางพวกเท่านั้น Miescher ได้เสนอรายงานเพื่อตีพิมพ์การค้นพบของตัวเอง ในปี ค.ศ.1869 แต่บรรณาธิการวารสารต้องการทำการทดลองซ้ำด้วยตัวเองจึงทำให้ผลงานของ Miescher ได้รับการตีพิมพ์ช้าไปอีกสองปีคือ ในปี ค.ศ.1871 ในขณะนั้นยังไม่พบความสำคัญของสารนิวคลีอิน จนถึงปี ค.ศ.1940 จึงมีการพบสายโพลีนิวคลีโอไทด์ (polynucleotide chain) ในนิวคลีอิน ต่อมาอีกสี่ปีคือ ปี ค.ศ.1944 จึงได้เริ่มสนใจถึงบทบาทของกรดนิวคลิอิคในการเป็นสารเก็บข้อมูลและถ่ายทอดข้อมูลพันธุกรรม แม้จนถึงปี ค.ศ.1953 ซึ่งได้พบโครงสร้างเกลียวคู่ของดีเอ็นเอ ก็ยังมีนักพันธุศาสตร์จำนวนมากที่ยังลังเลอยู่ระหว่างความคิดว่ากรดนิวคลิอิคหรือโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นสารพันธุกรรม ทั้งนี้เพราะโครงสร้างของกรดนิวคลิอิคมีความหลากหลาย (variability) น้อยกว่าโปรตีน

หน้าที่ของสารพันธุกรรม

การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมในช่วงต้นศตวรรษที่ 20 แม้จะมีความเข้าใจน้อยมากเกี่ยวกับธรรมชาติของยีนในระดับโมเลกุลแต่อย่างน้อยก็พบว่าสารพันธุกรรมไม่ว่าจะเป็นสารเคมีประเภทไหนจะต้องมีหน้าที่ 3 ประการคือ

1. ทำหน้าที่เก็บและถ่ายทอดข้อมูลทางพันธุกรรมอย่างถูกต้องจากรุ่นพ่อแม่ไปยังรุ่นลูกหลานและต่อๆ ไป

2. ควบคุมพัฒนาการของลักษณะต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตคือ เป็นตัวกำหนดกระบวนการเจริญและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตจากไซโกท (zygote) จนเป็นสิ่งมีชีวิตเต็มวัย

3. ต้องสามารถเปลี่ยนแปลงหรือที่เรียกว่าเกิดการกลายพันธุ์ได้ (mutation) เพื่อที่สิ่งมีชีวิตจะสามารถปรับตัวให้อยู่รอดได้เมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนไป เพราะถ้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงก็จะไม่มีวิวัฒนาการเกิดขึ้น

นอกจากนี้การศึกษาพันธุศาสตร์ในระยะแรกๆ พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างชัดเจนระหว่างแบบแผนการถ่ายทอดยีนและพฤติกรรมของโครโมโซมในกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ทำให้เชื่อว่ายีนมีตำแหน่งอยู่ในโครโมโซม ดังนั้นการค้นหาสารพันธุกรรมจึงมุ่งที่สารที่เป็นองค์ประกอบของโครโมโซม

โครโมโซมประกอบด้วยสารอินทรีย์อณูขนาดใหญ่สองชนิด คือ **กรดดีออกซีไรโบนิวคลิอิค หรือ ดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid หรือ DNA) และกรดไรโบนิวคลิอิค หรือ อาร์เอ็นเอ (ribonucleic acid หรือ RNA)** ในปี ค.ศ.1912 Feulgen ได้ทดลองเติมสารละลายชิฟฟ์ (Schiff's reagent) ลงในสารละลายดีเอ็นเอที่ถูกแยกสลายด้วยกรดอุ่น พบว่าเกิดปฏิกิริยาให้สีม่วงแดงจึงให้ชื่อว่าปฏิกิริยา Feulgen ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เกิดเฉพาะกับดีเอ็นเอเท่านั้น เมื่อทดลองทำปฏิกิริยานี้ในเซลล์ พบว่าเฉพาะส่วนโครโมโซมเท่านั้นที่เกิดปฏิกิริยา แสดงว่าโครโมโซมมีดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบ

ในปี ค.ศ.1941 Hollander และ Emmon พบว่าถ้าฉายแสงอัลตราไวโอเลตที่ช่วงคลื่น 260 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงคลื่นที่ดีเอ็นเอสามารถดูดกลืนได้ให้แก่เชื้อรา พบว่าเชื้อราเกิดการกลายพันธุ์เพิ่มขึ้น ทำให้เกิดความคิดว่าดีเอ็นเออาจจะเป็นสารพันธุกรรมแต่ไม่สามารถพิสูจน์ได้ในขณะนั้น

ข้อพิสูจน์ว่าข้อมูลทางพันธุกรรมถูกเก็บอยู่ในดีเอ็นเอ

มีเหตุผลหลายประการที่บ่งชี้ว่าดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรม

1. ดีเอ็นเอส่วนใหญ่อยู่ในโครโมโซม ขณะที่อาร์เอ็นเอและโปรตีนกระจายอยู่ในไซโทพลาสซึม
2. มีความสัมพันธ์อย่างชัดเจนระหว่างปริมาณดีเอ็นเอ และจำนวนชุดของโครโมโซมในเซลล์ เช่น ในสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน เซลล์ร่างกายที่มีจำนวนโครโมโซมสองชุดจะมีปริมาณดีเอ็นเอต่อเซลล์เป็นสองเท่าของเซลล์สืบพันธุ์ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมชุดเดียว ขณะที่ปริมาณของอาร์เอ็นเอและโปรตีนจะผันแปรไม่แน่นอน
3. องค์ประกอบระดับโมเลกุลของดีเอ็นเอในเซลล์ชนิดต่างๆ ของสิ่งมีชีวิตเดียวกันจะเหมือนกัน ขณะที่องค์ประกอบของอาร์เอ็นเอและโปรตีนจะผันแปรแตกต่างกันในเซลล์แต่ละแบบ
4. ดีเอ็นเอมีความเสถียรมากกว่าอาร์เอ็นเอและโปรตีนซึ่งจะถูกสังเคราะห์หรือสลายได้เร็วกว่าในสิ่งมีชีวิต เนื่องจากสารพันธุกรรมจะต้องมีการถ่ายทอดจากรุ่นหนึ่งไปสู่อีกรุ่นหนึ่งเรื่อยๆ จึงจำเป็นจะต้องมีความเสถียร

ทรานส์ฟอร์เมชันในแบคทีเรีย

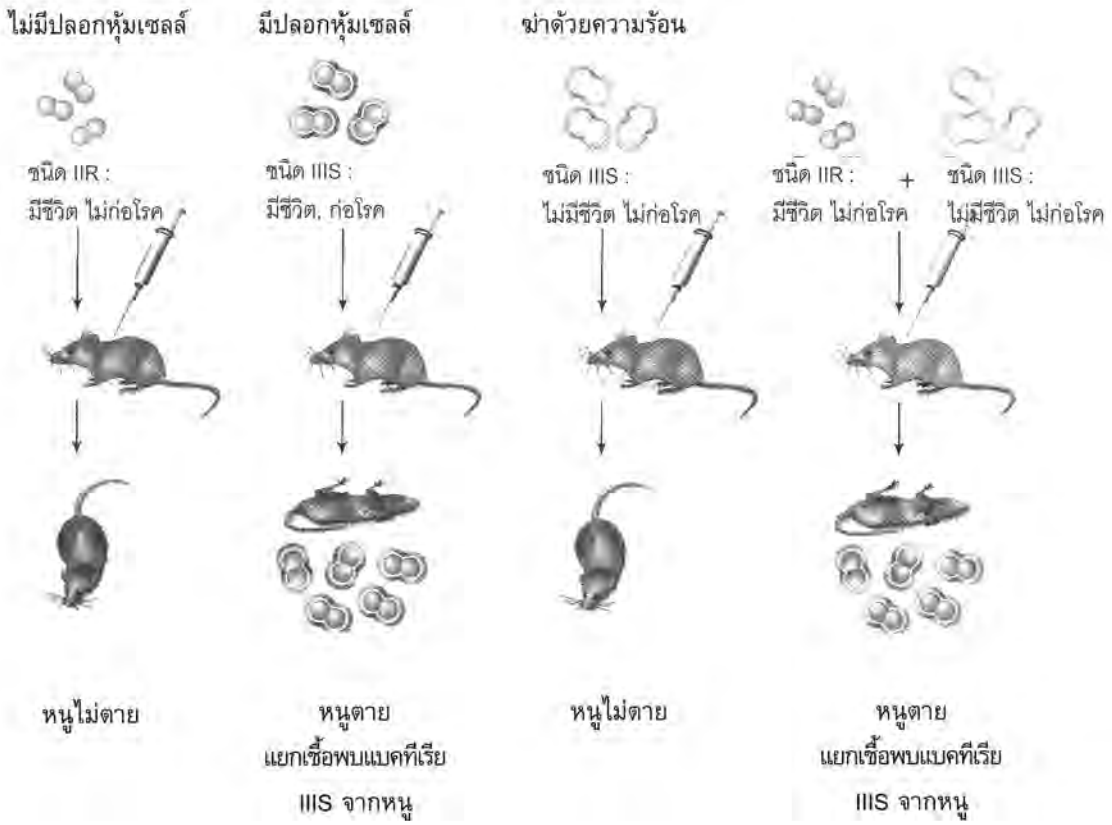
การทดลองชิ้นแรกที่แสดงให้เห็นว่าสารพันธุกรรมน่าจะเป็นดีเอ็นเอคือ ในปี ค.ศ.1928 Frederick Griffith ได้ทำการทดลองในแบคทีเรียนิวโมคอคคัส *(Pneumococcus หรือ Diplococcus pneumoniae)* ซึ่งมีอยู่สองสายพันธุ์คือ

1. สายพันธุ์ เอส (S-strain หรือ Smooth strain) ลักษณะโคโลนีขนาดใหญ่เรียบเป็นมัน (จึงเรียกชื่อ smooth) เนื่องจากเซลล์มีการสร้างสารคาร์โบไฮเดรตเป็นปลอกหุ้มอยู่รอบเซลล์ (capsulate) พวกนี้สามารถทำให้เกิดโรคปอดบวมในหนูและคนได้ (virulent) แยกเป็นชนิดต่างๆ ตามชนิดของคาร์โบไฮเดรตที่เป็นปลอกหุ้มคือ ชนิด IS, IIS, IIIS แต่ละชนิดสามารถแบ่งเซลล์ให้เซลล์ใหม่ที่มีคุณสมบัติเหมือนเดิมคือ IS แบ่งเซลล์ให้ IS IIS แบ่งเซลล์ให้ IIS

2. สายพันธุ์ อาร์ (R-strain หรือ Rough strain) ลักษณะโคโลนีขนาดเล็กผิวไม่เรียบ (จึงเรียกชื่อ rough) เนื่องจากไม่มีปลอกหุ้มเซลล์ (non capsulate) และเป็นพวกที่ไม่ทำให้เกิดโรค (non virulent) สายพันธุ์ อาร์ นี้กลายพันธุ์มาจากสายพันธุ์ เอส ด้วยความถี่ $1/10^7$ เซลล์ โดยพวก IR กลายพันธุ์มาจาก IS และ IIR กลายพันธุ์มาจาก IIS สายพันธุ์ อาร์ ก็สามารถแบ่งเซลล์ให้เซลล์ใหม่ที่มีลักษณะเหมือนเดิมได้เช่นกัน ขณะเดียวกันก็อาจจะกลายพันธุ์กลับ (back mutation) เป็นสายพันธุ์เอสตามเดิมได้คือ

$$IS \rightleftharpoons IR \longrightarrow IR$$
$$IIS \rightleftharpoons IIR \longrightarrow IIR$$

Griffith ได้ทดลองฉีดเซลล์แบคทีเรียชนิดต่างๆ เข้าไปในตัวหนู และพบว่าเมื่อนำแบคทีเรีย IIIS ที่ถูกทำให้ตายด้วยความร้อน (heat-killed IIIS) รวมกับแบคทีเรีย IIR ฉีดเข้าไปในตัวหนู ปรากฏว่าหนูเป็นโรคตาย เมื่อแยกเชื้อจากตัวหนูก็พบแบคทีเรีย IIIS ที่มีชีวิต (รูป 1.1) แต่ถ้าฉีด



รูป 1.1 แผนภาพแสดงผลการทดลองของ **Griffith** ที่ค้นพบกระบวนการทรานส์ฟอร์เมชันในแบคทีเรีย ***Diplococcus pneumoniae*** (ที่มา : Snustad *et al.*, 1997)

เฉพาะ IIIS ที่ถูกทำให้ตายด้วยความร้อนเข้าในตัวหนู ปรากฏว่าหนูไม่ตายและไม่พบแบคทีเรีย IIIS ในตัวหนู แสดงว่าความร้อนสามารถฆ่าแบคทีเรีย IIIS ได้หมดและ IIIS ที่ถูกฆ่าด้วยความร้อนก็ไม่สามารถแบ่งเซลล์ต่อได้ สิ่งที่สำคัญในผลการทดลองคือ แบคทีเรียที่แยกได้จากตัวหนูเป็นชนิด IIIS ซึ่งมีปลอกเป็นคาร์โบไฮเดรตแบบ IIIS ถ้า IIR เกิดกลายพันธุ์กลับก็จะได้แบคทีเรีย IIS เกิดขึ้นไม่ใช่ IIIS ดังนั้นผลที่เกิดขึ้นในกรณีเปลี่ยน IIR ไปเป็น IIIS ต้องไม่ใช่เกิดจากการกลายพันธุ์กลับของ IIR แต่ต้องเนื่องจากแบคทีเรีย IIR ถูกทรานส์ฟอร์มโดยองค์ประกอบบางอย่างของ IIIS ที่ถูกฆ่าด้วยความร้อน กระบวนการที่เกิดขึ้นเรียก **ทรานส์ฟอร์เมชัน (transformation)**

ข้อมูลแรกที่แสดงว่าสารพันธุกรรม คือดีเอ็นเอมากกว่าโปรตีนหรืออาร์เอ็นเอ เป็นผลการทดลองของ Oswald Avery, Colin MacLeod และ Maclyn McCarty ที่เสนอในปี ค.ศ.1944 โดยแสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรียที่ทำให้เกิดทรานส์ฟอร์เมชันคือ ดีเอ็นเอ การทดลองทำโดยแยกดีเอ็นเอจากเซลล์ IIIS ที่ตายแล้ว นำไปรวมกับเซลล์ IIR ในหลอดแก้ว เติมซีรั่มซึ่งมีแอนติบอดี้ที่ทำให้ IIR ตกตะกอน ผลการทดลองพบว่ามี IIR บางส่วนเกิดทรานส์ฟอร์เมชันไม่ตกตะกอน เมื่อนำไปเลี้ยงต่อพบโคโลนีของแบคทีเรีย IIIS นอกจากนี้ยังได้ทำการทดลองเพื่อพิสูจน์ว่าองค์ประกอบที่ทำให้เกิดทรานส์ฟอร์เมชันเป็นดีเอ็นเอบริสุทธิ์ไม่มีอาร์เอ็นเอหรือโปรตีนปะปน โดยนำองค์ประกอบมาเติมเอ็นไซม์ที่ย่อยดีเอ็นเอ (deoxyribonuclease หรือ DNase) เอ็นไซม์ที่ย่อยอาร์เอ็นเอ (ribonuclease หรือ RNase) และเอ็นไซม์ที่ย่อยโปรตีน (proteases) จากนั้นจึงนำไปทดสอบคุณสมบัติในการทรานส์ฟอร์ม IIR (รูป 1.2) ผลการทดลองพบว่าชุดที่เติมเอ็นไซม์ที่ย่อยดีเอ็นเอเท่านั้นที่ไม่เกิดทรานส์ฟอร์เมชัน

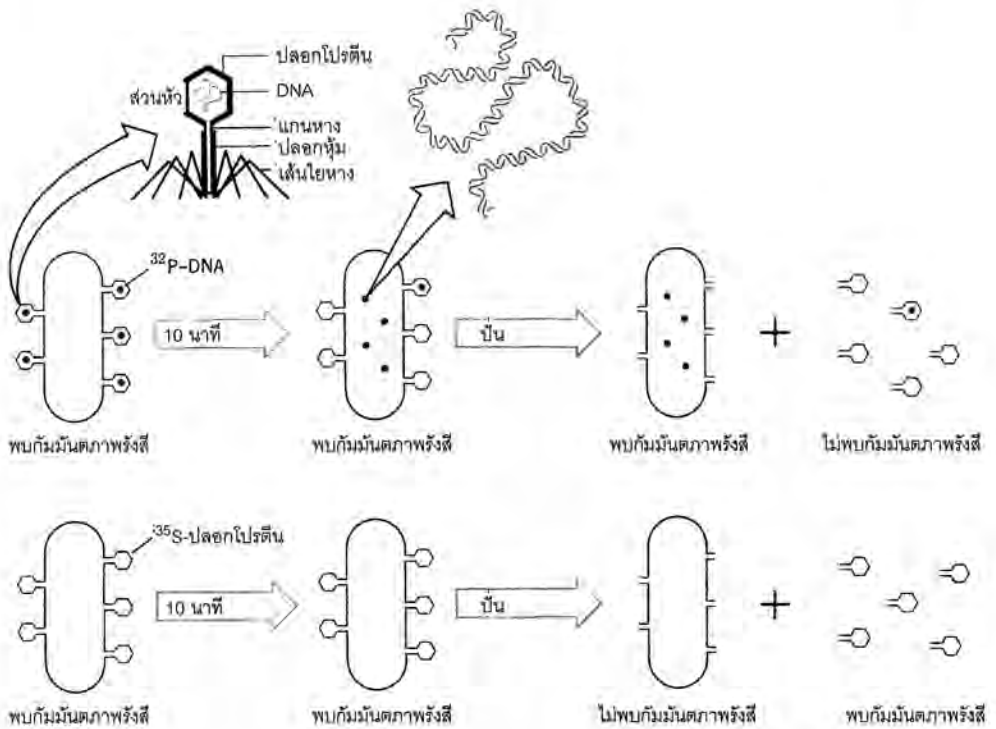
รูปที่ 1.2 แผนภาพแสดงการทดลองของ Avery, MacLeod และ McCarty เพื่อพิสูจน์ว่าเฉพาะดีเอ็นเอที่ทำให้เกิดทรานส์ฟอร์เมชัน

แม้ว่ากลไกระดับโมเลกุลของการเกิดทรานส์ฟอร์เมชันจะยังไม่ทราบในขณะนั้น แต่ผลการทดลองของ Avery และเพื่อนร่วมงาน ก็ยืนยันได้ชัดเจนว่าข้อมูลทางพันธุกรรมของแบคทีเรียนิวโมคอคคัสถูกเก็บอยู่ในดีเอ็นเอ ปัจจุบันนักพันธุศาสตร์ทราบแล้วว่ากระบวนการทรานส์ฟอร์เมชันเกิดจากชิ้นส่วนดีเอ็นเอส่วนที่มีข้อมูลพันธุกรรมที่ควบคุมการสร้างปลอกหุ้มเซลล์ของ IIIS หลุดแทรกเข้าไปในโครโมโซมของเซลล์ IIR ทำให้แบ่งเซลล์ได้เซลล์ใหม่ที่สามารถสร้างปลอกหุ้มเซลล์เหมือน IIIS

การทดลองในไวรัส

ผลงานที่สามารถพิสูจน์ได้ชัดเจนมากขึ้นว่าดีเอ็นเอคือสารพันธุกรรมเป็นงานของ Alfred Hershey และ Martha Chase ในปี ค.ศ.1952 (ผลงานได้รับรางวัลโนเบลในปี ค.ศ.1969) เป็นการทดลองในไวรัสทำลายแบคทีเรียที่เรียกแบคเทริโอเฟจหรือเฟจ (bacteriophage หรือ phage) ชนิด T2 ซึ่งมีลักษณะประกอบด้วยโปรตีนเป็นเปลือกห่อหุ้มอณูของดีเอ็นเอไว้ภายใน เฟจ T2 หลังจากเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย *E. coli* จะสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ทำลายเซลล์แบคทีเรียและหลุดออกมาเป็นเฟจจำนวนมากที่มีลักษณะเหมือนเดิม

Hershey และ Chase ทำการเลี้ยงแบคทีเรีย *E. coli* สองกลุ่ม กลุ่มแรกเลี้ยงด้วยอาหารที่ประกอบด้วยสารกัมตรังสีฟอสฟอรัส (P^{32}) กลุ่มที่สองเลี้ยงด้วยอาหารที่ประกอบด้วยสารกัมตรังสีซัลเฟอร์ (S^{35}) จากนั้นใส่เฟจ T2 ลงในแบคทีเรียทั้งสองกลุ่ม เนื่องจากดีเอ็นเอจะมีองค์ประกอบเป็นฟอสฟอรัสแต่ไม่มีซัลเฟอร์ ส่วนโปรตีนจะมีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบแต่ไม่มีฟอสฟอรัส ดังนั้นเฟจที่เจริญในแบคทีเรียกลุ่มแรกจะมีส่วนดีเอ็นเอประกอบด้วยสารกัมมันตรังสี ส่วนเฟจที่เจริญในแบคทีเรียกลุ่มที่สองจะมีส่วนปลอกโปรตีนประกอบด้วยสารกัมมันตรังสี นำเฟจทั้งสองกลุ่มไปแยกเลี้ยงใน *E.coli* กลุ่มใหม่ที่เจริญบนอาหารธรรมดาที่ไม่มีสารกัมมันตรังสีอยู่เลยทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที เพื่อให้ T2 เข้าสู่เซลล์แบคทีเรียและเจริญเพิ่มจำนวน จากนั้นนำไปปั่นแยกให้เซลล์แบคทีเรียตกตะกอน ตรวจหาสาร



รูป 1.3 แผนภาพการทดลองของ **Hershey-Chase** แสดงให้เห็นว่าข้อมูลทางพันธุกรรมของเฟจ T2 เก็บอยู่ในดีเอ็นเอ
(ที่มา : Gardner and Snustad, 1981)

กัมมันตรังสีในส่วนต่างๆ ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่ถูกรุกรานด้วยเฟจที่มีดีเอ็นเอประกอบด้วยสารกัมมันตรังสี จะตรวจพบกัมมันตภาพรังสีในเซลล์แบคทีเรีย ส่วนแบคทีเรียที่ถูกรุกรานด้วยเฟจที่มีปลอกโปรตีนประกอบด้วยสารกัมมันตรังสี จะตรวจไม่พบกัมมันตภาพรังสีในเซลล์แบคทีเรีย แต่พบกัมมันตภาพรังสีในสารละลายนอกเซลล์แบคทีเรีย (รูป 1.3) แสดงว่าเมื่อเฟจเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียจะส่งเฉพาะส่วนดีเอ็นเอเข้าไป ทิ้งปลอกโปรตีนไว้ข้างนอกเซลล์แบคทีเรีย ดีเอ็นเอที่เข้าไปสามารถเพิ่มจำนวนเป็นเฟจจำนวนมากและทำลายเซลล์แบคทีเรีย หลุดออกมาเป็นเฟจที่มีรูปร่างลักษณะเหมือนเดิม จากผลการทดลองสรุปได้ชัดเจนว่าลักษณะต่างๆ ของเฟจ T2 สามารถถ่ายทอดต่อไปยังรุ่นลูกหลานได้โดยมีดีเอ็นเอเป็นตัวควบคุมไม่ใช่โปรตีน

จากการทดลองในไวรัสอีกหลายชนิดต่อมา พบว่าไวรัสหลายชนิดประกอบด้วยอาร์เอ็นเอและโปรตีน แต่ไม่มีดีเอ็นเอเป็นองค์ประกอบ แสดงว่าอาร์เอ็นเอไวรัสเหล่านี้เก็บข้อมูลทางพันธุกรรมไว้ในอาร์เอ็นเอ การทดลองที่แสดงให้เห็นว่าอาร์เอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมของพวกอาร์เอ็นเอไวรัสเป็นผลงานของ Heinz Fraenkel-Conrat และเพื่อนร่วมงานในปี ค.ศ.1957 ที่ทำการทดลองในไวรัสที่ทำให้เกิดโรคใบด่างในยาสูบ (tobacco mosaic virus หรือ TMV) ทีเอ็มวีเป็นไวรัสขนาดเล็กประกอบด้วยปลอกโปรตีนห่อหุ้มอณูอาร์เอ็นเอไว้ภายใน แต่ละสายพันธุ์ของทีเอ็มวีจะแตกต่างกันที่องค์ประกอบทางเคมีของโปรตีนที่เป็นปลอกหุ้ม

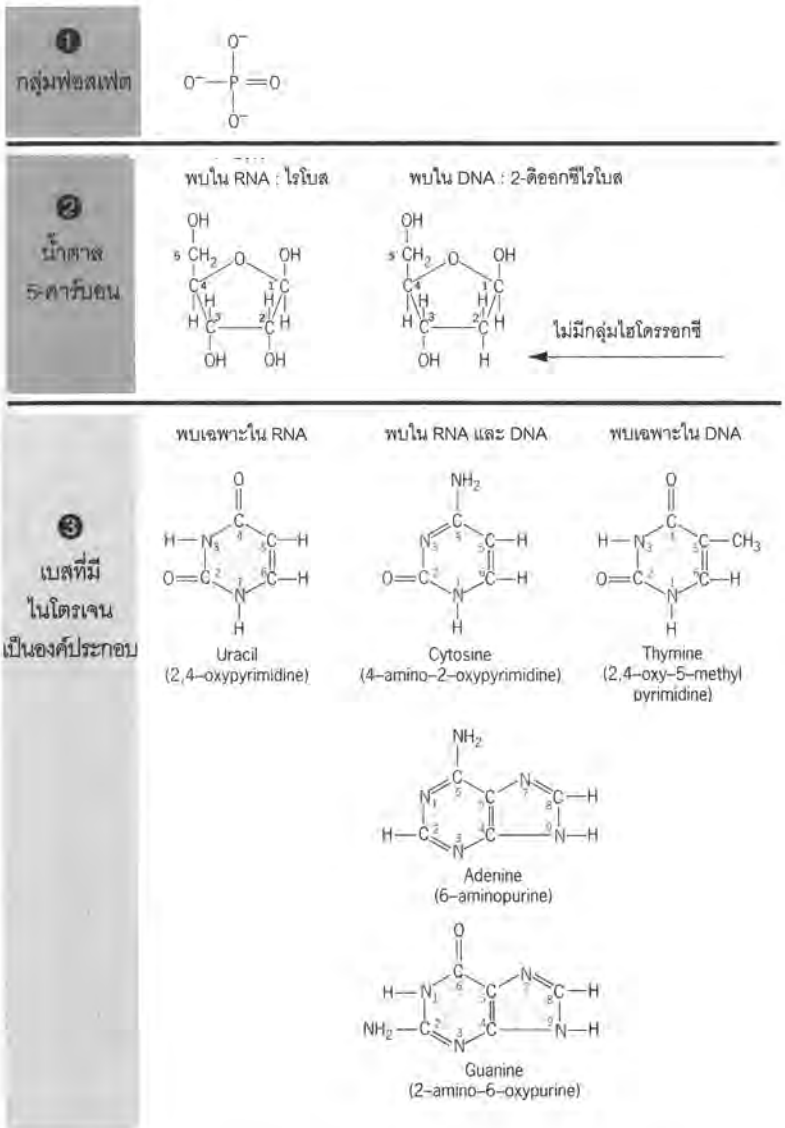
Fraenkel-Conrat และเพื่อนร่วมงานนำทีเอ็มวีมาสองสายพันธุ์ ใช้สารเคมีแยกปลอกโปรตีนออกจากอาร์เอ็นเอ จากนั้นนำปลอกโปรตีนของสายพันธุ์หนึ่งไปรวมกับอาร์เอ็นเอของอีกสายพันธุ์หนึ่งภายใต้สภาวะที่ทำให้เกิดไวรัสพันธุ์ผสมที่ประกอบด้วยปลอกโปรตีนของทีเอ็มวีสายพันธุ์หนึ่งห่อหุ้มอณูอาร์เอ็นเอของทีเอ็มวีอีกสายพันธุ์หนึ่ง เมื่อนำใบยาสูบที่ติดเชื้อจากไวรัสพันธุ์ผสมนี้มาแยกเชื้อไวรัส พบว่าลูกหลานไวรัสที่เกิดขึ้นในใบยาสูบมีลักษณะฟีโนไทป์และจีโนไทป์เหมือนทีเอ็มวีสายพันธุ์ที่เป็นเจ้าของอาร์เอ็นเอ แสดงว่าข้อมูลทางพันธุกรรมของไวรัสเก็บไว้ในอาร์เอ็นเอไม่ใช่โปรตีน

โครงสร้างและองค์ประกอบทางเคมีของกรดนิวคลิอิค

เนื่องจากข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดยกเว้นอาร์เอ็นเอไวรัสถูกเก็บอยู่ในดีเอ็นเอ จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจมากว่า ดีเอ็นเอมีโครงสร้างอย่างไร จึงสามารถเก็บข้อมูลพันธุกรรมเหล่านี้ไว้ได้และยังสามารถถ่ายทอดข้อมูลเหล่านี้ไปยังรุ่นต่อไปได้อย่างถูกต้อง

นักชีวเคมีจำนวนมากโดยเฉพาะ Levine ได้อธิบายถึงโครงสร้างและคุณสมบัติของกรดนิวคลิอิคว่า กรดนิวคลิอิคเป็นสารอณูใหญ่ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยเล็กๆ เรียกนิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ต่อกันเป็นโพลีนิวคลีโอไทด์สายยาว หนึ่งนิวคลีโอไทด์ประกอบด้วยองค์ประกอบสามส่วน คือ อณูน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 โมเลกุล (pentose sugar) กลุ่มฟอสเฟต (phosphate group) และเบสที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (nitrogenous base) กรดนิวคลิอิคมีสองชนิดคือ กรดไรโบนิวคลิอิคหรืออาร์เอ็นเอ ส่วนมากพบในไซโทพลาสซึมและกรดดิออกซีไรโบนิวคลิอิคหรือดีเอ็นเอ ซึ่งพบอยู่ในนิวเคลียสเป็นส่วนใหญ่ ความแตกต่างระหว่างกรดนิวคลิอิคทั้งสองชนิดคือ ส่วนของน้ำตาลและเบส น้ำตาลที่พบในอาร์เอ็นเอเป็นน้ำตาลไรโบส มีกลุ่มไฮดรอกซี (OH) จับกับคาร์บอนตำแหน่งที่สอง ส่วนน้ำตาลในดีเอ็นเอเป็นชนิดดิออกซีไรโบส ซึ่งออกซิเจนที่จับกับคาร์บอนตำแหน่งที่สองจะหายไปเหลือแต่อะตอมของไฮโดรเจน กลุ่มฟอสเฟตซึ่งจะสามารถแตกตัวให้ไฮโดรเจนอิออนได้ง่าย และทำให้กรด

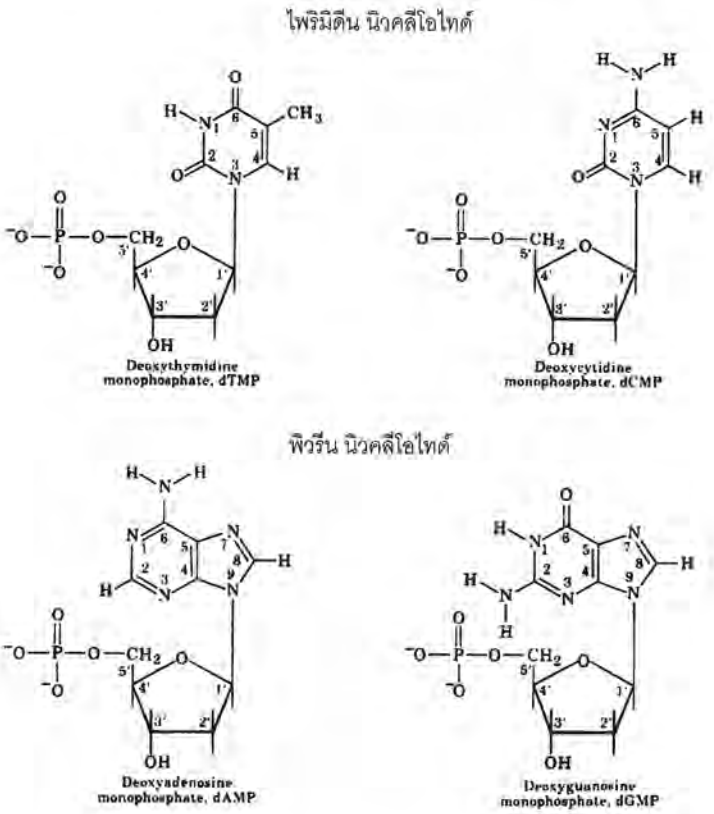
นิวคลิอิคมีคุณสมบัติเป็นกรด จับกับน้ำตาลตรงคาร์บอนตำแหน่งที่ห้า กลุ่มฟอสเฟตนี้จะเหมือนกันทั้งในอาร์เอ็นเอและดีเอ็นเอ สำหรับคาร์บอนตำแหน่งที่หนึ่งของน้ำตาลจะจับกับเบส เบสที่พบในดีเอ็นเอมี 4 ชนิดคือ **อะดินีน (adenine หรือ A) กัวนีน (guanine หรือ G) ไซโทซีน (cytosine หรือ C)** และ**ไทมีน (thymine หรือ T)** สำหรับในอาร์เอ็นเอก็พบเบส อะดีนีน กัวนีนและไซโทซีนเหมือนกับที่พบในดีเอ็นเอ แต่จะพบเบสที่ต่างออกไปคือ **ยูเรซิล (uracil หรือ U)** แทนเบสไทมีน อะดินีนและกัวนีนเป็นเบสที่ประกอบด้วยวงแหวนคาร์บอนไนโตรเจนสองวงต่อกันเรียกเบสพิวรีน (purine base) ส่วนไซโทซีน ไทมีน และยูเรซิลเป็นเบสที่ประกอบด้วยวงแหวนคาร์บอนไนโตรเจนวงเดียว เรียกเบสไพริมิดีน (pyrimidine base) (รูป 1.4)



รูป 1.4 องค์ประกอบของกรดนิวคลิอิค (ที่มา : Snustad *et al.*,1997)

เนื่องจากความแตกต่างของนิวคลีโอไทด์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับเบสที่เป็นองค์ประกอบ ดังนั้น ในดีเอ็นเอจะมีดิออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิดคือ กรดดิออกซีอะดีนิลิคหรือดิออกซีอะดีโนซีน โมโนฟอสเฟต (deoxyadenylic acid หรือ deoxyadenosine monophosphate) เรียกย่อๆ ว่า ดีเอเอ็มพี (dAMP) ประกอบด้วย กลุ่มฟอสเฟต-น้ำตาลดิออกซีไรโบส-เบสอะดินีน ดิออกซีกัวโนซีน โมโนฟอสเฟต หรือดีจีเอ็มพี (deoxyguanosine monophosphate หรือ dGMP) ดิออกซีไซทิดีน โมโนฟอสเฟตหรือดีซีเอ็มพี (deoxycytidine monophosphate หรือ dCMP) และดิออกซีไทมิดีน โมโนฟอสเฟต หรือดีทีเอ็มพี (deoxythymidine monophosphate หรือ dTMP) ซึ่งประกอบด้วยเบส กัวนีน ไซโทซีนและไทมีนตามลำดับ (รูป 1.5) ทำนองเดียวกันอาร์เอ็นเอก็มีไรโบนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด คือ อะดีโนซีนโมโนฟอสเฟตหรือเอเอ็มพี (adenosine monophosphate หรือ AMP) ซึ่งประกอบด้วย กลุ่มฟอสเฟต-น้ำตาลไรโบส เบสอะดินีน กับกัวโนซีนโมโนฟอสเฟต (GMP) ไซทิดีนโมโนฟอสเฟต (CMP) และยูริดีนโมโนฟอสเฟต (UMP) ซึ่งประกอบด้วยเบสกัวนีน ไซโทซีนและยูเรซิลตามลำดับ

จากการศึกษาดีเอ็นเอที่สกัดจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด นักชีวเคมีได้ข้อสรุปในปี ค.ศ.1940 ว่าอณูของดีเอ็นเอมีลักษณะเป็นสายยาว ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์จำนวนมากต่อกันเป็น

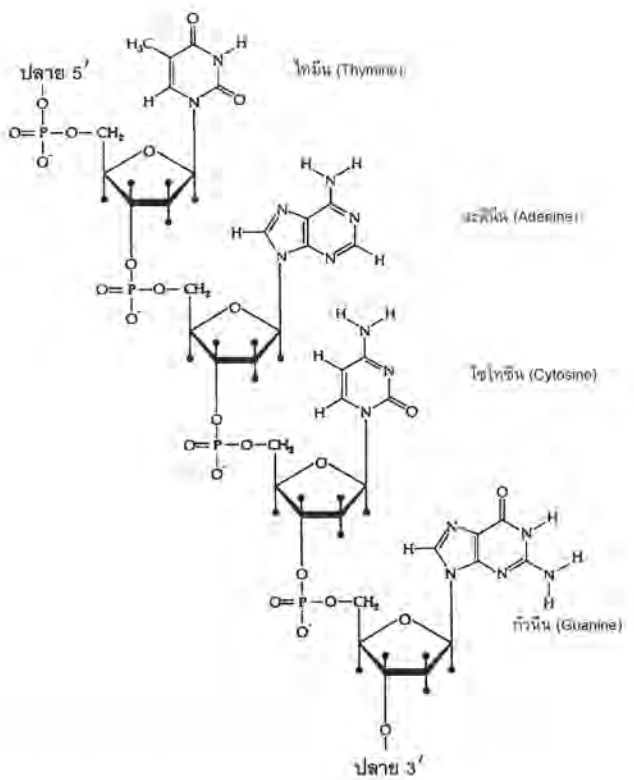


รูป 1.5 ดิออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิดที่พบในดีเอ็นเอ ในอาร์เอ็นเอก็จะพบไรโบนิวคลีโอไทด์ 4 ชนิด คล้ายกัน โดยเป็นน้ำตาลไรโบสแทนดิออกซีไรโบสและเบสไพริมิดีนชนิดยูเรซิลแทนไทมีน
(ที่มา : Gardner and Snustad, 1981)

สายโพลีนิวคลีโอไทด์ โดยแต่ละนิวคลีโอไทด์เชื่อมต่อกันด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเตอร์ (phospho diester bond) ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 3′ และ 5′ ของน้ำตาลดิออกซีไรโบส ได้สายโพลี-นิวคลีโอไทด์ที่ปลายด้านหนึ่งเริ่มต้นด้วย 3′-OH (เรียก ปลาย 3′) และปลายอีกด้านหนึ่งสิ้นสุดด้วย 5′-PO_4 (เรียก ปลาย 5′) (รูป 1.6) อณูดีเอ็นเอมีขนาดผันแปรจากไม่กี่พันนิวคลีโอไทด์จนถึงหลายล้านนิวคลีโอไทด์ต่ออณูขึ้นอยู่กับชนิดของสิ่งมีชีวิต ส่วนจำนวนนิวคลีโอไทด์ต่ออณูอาร์เอ็นเอในเซลล์มีประมาณ 100 ถึง 100,000 นิวคลีโอไทด์หรือมากกว่าเล็กน้อยเท่านั้น

โครงสร้างดีเอ็นเอเป็นเกลียวคู่

ในปี ค.ศ.1947 Erwin Chargaff และคณะได้วิเคราะห์ดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ และพบว่าปริมาณของเบสอะดีนีนจะเท่ากับปริมาณเบสไทมีนและปริมาณของเบสไซโทซีนเท่ากับปริมาณเบสกัวนีน แสดงว่าน่าจะมีความสัมพันธ์บางแบบที่คงที่ระหว่างเบสอะดีนีนกับไทมีน เช่นเดียวกับระหว่างเบสกัวนีนกับไซโทซีน นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณรวมของเบสพิวรีนเท่ากับปริมาณรวมของเบสไพริมิดีน (A+G=T+C) เสมอในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด แต่อัตราส่วนระหว่างปริมาณรวมของเบสอะดีนีนและไทมีนกับปริมาณรวมของเบสกัวนีนและไซโทซีน (A+T:G+C) จะผันแปรไปตามชนิดของสิ่งมีชีวิต (ตาราง 1.1)



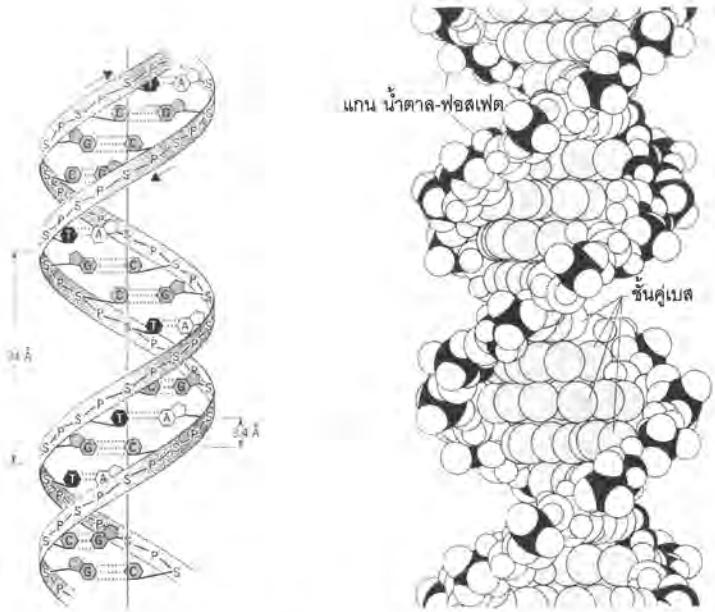
รูป 1.6 การเชื่อมต่อกันของนิวคลีโอไทด์เป็นสายยาวด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเตอร์ (ที่มา : Ayala and Kiger,1984)

ตาราง 1.1 เบสที่เป็นองค์ประกอบของดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ

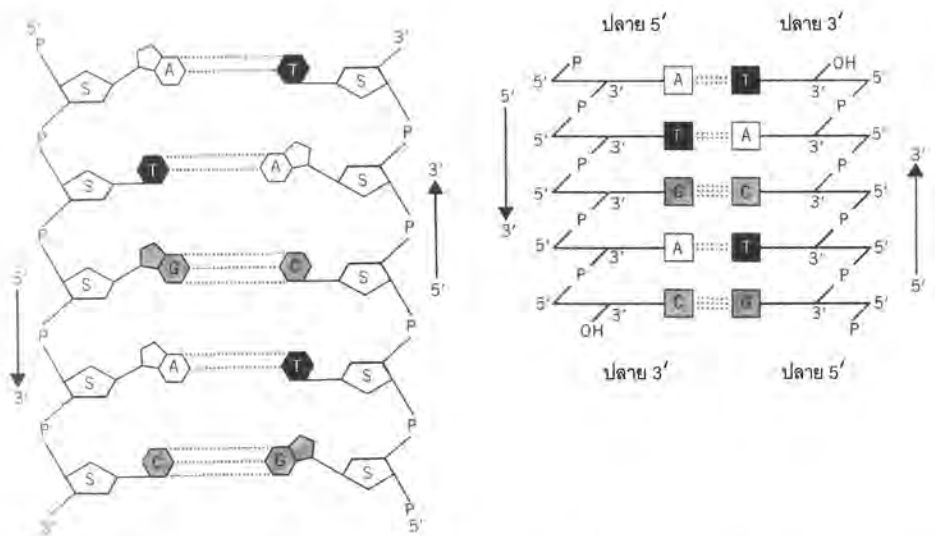
สิ่งมีชีวิต	เปอร์เซ็นต์เบส (โมล่าร์)				อัตราส่วน(โมล่าร์)	
	A	G	C	T	$\frac{A+G}{T+C}$	$\frac{A+T}{G+C}$
ไวรัส						
Phage λ	26.0	23.8	24.3	25.8	0.99	1.08
Phage T2	32.6	18.1	16.6	32.6	1.03	1.88
Herpes simplex	13.8	37.7	35.6	12.8	1.06	0.36
Vaccinia	31.5	18.0	19.0	31.5	0.98	1.70
แบคทีเรีย						
Escherichia coli	*26.0*	*24.9*	*25.2*	*23.9*	*1.04*	*1.00*
Micrococcus lysodeikticus	14.4	37.3	34.6	13.7	1.07	0.39
Ramibacterium ramosum	35.1	14.9	15.2	34.8	1.00	2.32
ฟังไจ						
Neurospora crassa	*23.0*	*27.1*	*26.6*	*23.3*	*1.00*	*0.86*
Aspergillus niger	25.0	25.1	25.0	24.9	1.00	1.00
Saccharomyces cerevisiae	31.7	18.3	17.4	32.6	1.00	1.80
พืช						
ข้าวโพด	25.6	24.5	24.6	25.3	1.00	1.04
ยาสูบ	29.3	23.5	16.5	30.7	1.12	1.50
ข้าวสาลี	27.3	22.7	22.8	27.1	1.00	1.19
สัตว์						
แมลงหวี่	30.7	19.6	20.2	29.4	1.01	1.51
แกะ	29.3	21.4	21.0	28.3	1.03	1.36
ไก่	28.8	20.5	21.5	29.2	0.97	1.38
เต่า	29.7	22.0	21.3	27.9	1.00	1.31
มนุษย์	30.2	19.9	19.6	30.3	1.01	1.53

ในปี ค.ศ.1953 Maurice Wilkins และ Rosalind Franklin ศึกษาดีเอ็นเอโดยดูการหักเหของรังสีเอ็กซ์ พบว่าโครงสร้างของดีเอ็นเออยู่ในสภาพที่ขดเป็นเกลียว (helix) มีความกว้างประมาณ 20 A และระยะระหว่างเกลียว 34 A

จากความรู้ที่มีอยู่ในระยะนั้น James D. Watson และ Francis H.C. Crick ได้เสนอในปี ค.ศ.1953 ว่าดีเอ็นเอมีโครงสร้างเป็น**เกลียวคู่ (double helix)** โดยมีโพลีนิวคลีโอไทด์สองสายที่เป็นคู่สม (complementary strand) จับกันโดยมีพันธะไฮโดรเจนยึดระหว่างเบสและขดพันเป็นเกลียวที่มีความกว้างและระยะระหว่างเกลียวสม่ำเสมอกันตลอด (รูป 1.7) ลักษณะโครงสร้างของอณูคล้ายบันไดเวียนมีขอบสองข้างของบันไดเป็นกลุ่มฟอสเฟตและน้ำตาลเชื่อมต่อกันไปตลอดทั้งสายแต่มีทิศทางสวนทางกัน (รูป 1.8) ส่วนขั้นบันไดประกอบด้วยเบสสองเบสที่เป็นเบสคู่สม (complementary base pair)



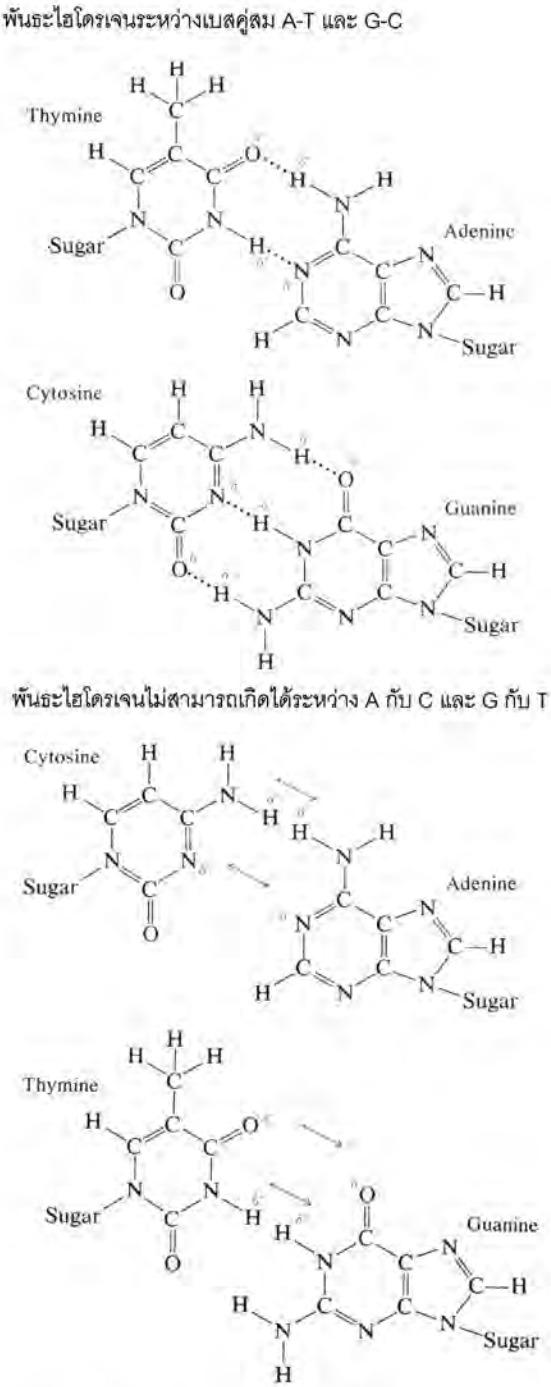
รูป 1.7 แผนภาพและโมเดลโครงสร้างดีเอ็นเอเกลียวคู่ (ที่มา : Gardner and Snustad, 1981)



รูป 1.8 โครงสร้างโมเลกุลของดีเอ็นเอแสดงแกนของสายโพลีนิวคลีโอไทด์ที่เป็นน้ำตาลจับกับฟอสเฟตและทิศทางที่สวนทางกัน (ที่มา : Gardner and Snustad, 1981)

จับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนแต่ละขั้นห่างกัน 3.4 A และบิดเป็นมุม 36 องศาจากขั้นก่อนหน้าไปเรื่อยๆ ดังนั้นในหนึ่งรอบ (360 องศา) จะประกอบด้วยเบสคู่สม 10 คู่ มีความยาว 34 A เนื่องจากเส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียวคู่มีขนาด 20 A ตลอดสาย Watson และ Crick จึงเสนอว่า

เบสคู่สมที่จับกันน่าจะเป็นระหว่างเบสพิวรีนและไพริมิดีน โดยอะดีนีนจับกับไทมีนและกัวนีนจับกับไซโทซีนเสมอ (รูป 1.9)

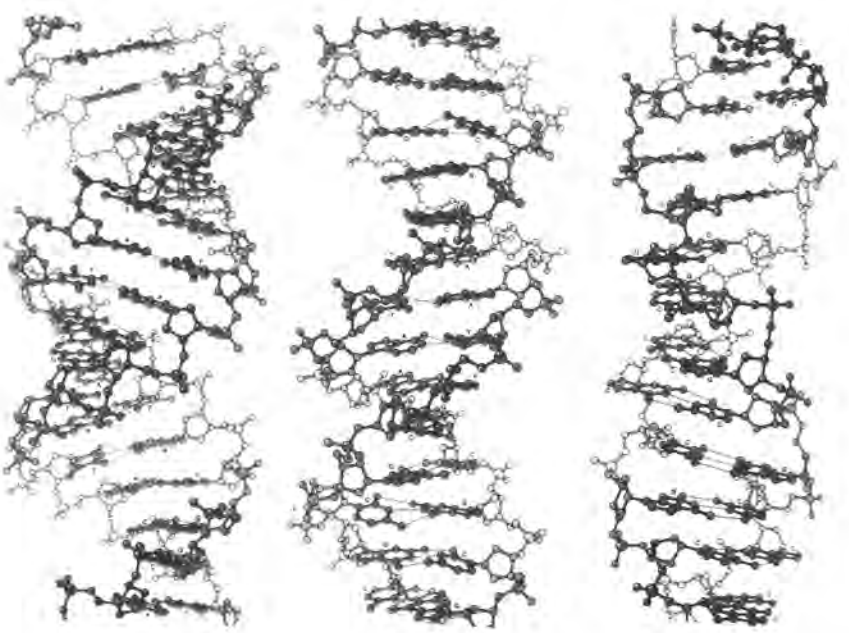


รูป 1.9 พันธะไฮโดรเจนที่ยึดระหว่างเบสคู่สม (A=T และ G≡C) พันธะนี้จะไม่สามารถเกิดระหว่าง A กับ C และ G กับ T ได้ (ที่มา : Gardner and Snustad, 1981)

โครงสร้างดีเอ็นเอรูปแบบอื่น

โครงสร้างเกลียวคู่ของดีเอ็นเอที่เสนอโดย Watson-Crick เรียก **บี-ดีเอ็นเอ (B-DNA)** เป็นลักษณะของอณูดีเอ็นเอในสภาพที่อยู่ในของเหลวที่มีความเข้มข้นของเกลือต่ำ ดีเอ็นเอส่วนใหญ่ในสิ่งมีชีวิตอยู่ในโพรโทพลาสซึม ซึ่งเป็นของเหลวจึงอยู่ในลักษณะบี-ดีเอ็นเอ แต่โครงสร้างของดีเอ็นเอสามารถเปลี่ยนแปลงได้เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนไป ในสภาพที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงหรือสภาพที่ขาดน้ำ ดีเอ็นเอจะอยู่ในรูปของ **เอ-ดีเอ็นเอ (A-DNA)** ซึ่งเกลียวมีการวนขวาเช่นเดียวกับบี-ดีเอ็นเอ แต่จะมีนิวคลีโอไทด์เพิ่มเป็น 11 คู่ในแต่ละเกลียว ลักษณะของเกลียวคู่จะสั้นกว่าหนากว่า โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียว 2.3 นาโนเมตร ในขณะที่บี-ดีเอ็นเอมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียวคู่เป็น 1.9 นาโนเมตร โดยปกติในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต ดีเอ็นเอจะไม่เคยอยู่ในรูปของเอ-ดีเอ็นเอ อย่างไรก็ตามโครงสร้างแบบเอ-ดีเอ็นเอก็มีความสำคัญ เพราะอณูเกลียวคู่ที่ดีเอ็นเอจับกับอาร์เอ็นเอ (DNA-RNA heteroduplex)หรืออาร์เอ็นเอจับกับอาร์เอ็นเอ (RNA-RNA duplex) จะจัดเรียงตัวอยู่ในลักษณะเอ-ดีเอ็นเอ

โครงสร้างดีเอ็นเออีกแบบหนึ่งที่พบคือ **แซด-ดีเอ็นเอ (Z-DNA)** ลักษณะจะเป็นเกลียวคู่ที่เวียนซ้ายและมีแกนน้ำตาล-ฟอสเฟตเรียงตัวซิกแซก (รูป 1.10) ลักษณะเกลียวคู่จะยาวกว่าและขนาดเล็กกว่าบี-ดีเอ็นเอ คือแต่ละเกลียวจะประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ 12 คู่ และมีเส้นผ่าศูนย์กลางของเกลียว 1.8 นาโนเมตร ลักษณะแบบแซด-ดีเอ็นเอจะพบในดีเอ็นเอชิ้นส่วนสั้นๆที่แยกได้และเป็นช่วงดีเอ็นเอที่มีปริมาณคู่เบสกัวนีนกับไซโทซีนสูง และมีการสลับระหว่างเบสพิวรีนและไพริมิดีน ปริมาณของแซด-ดีเอ็นเอและหน้าที่ชัดเจนในเซลล์ยังไม่ทราบแน่ชัด

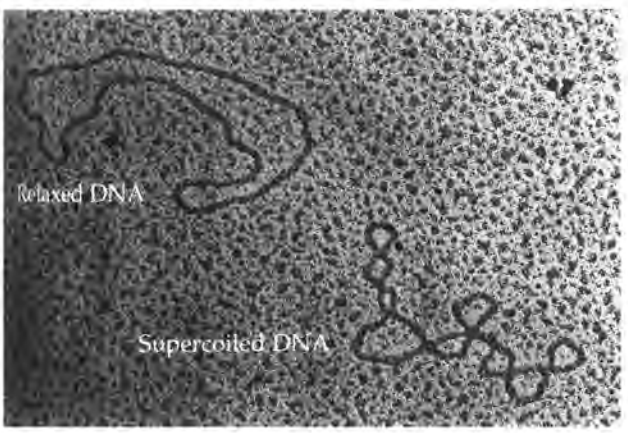


รูป 1.10 เปรียบเทียบโครงสร้างดีเอ็นเอแบบ เอ บี และแซด (ที่มา : Watson, 1981)

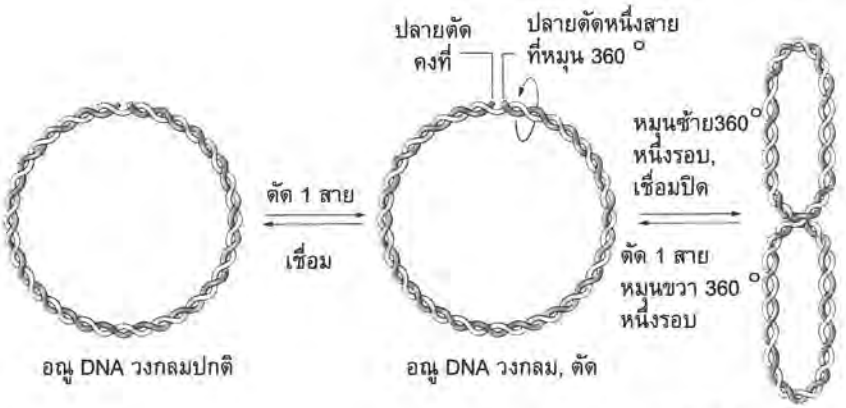
โครงสร้างซูเปอร์คอยด์ของดีเอ็นเอ

ในหลายๆ สถานการณ์อณูเกลียวคู่ของดีเอ็นเอสามารถขดพันตัวเองเกิดเป็นซูเปอร์คอยด์ดีเอ็นเอ (supercoiled DNA) พบครั้งแรกในไวรัสที่อณูดีเอ็นเออยู่ในสภาพเป็นวงและบางครั้งมีการขดพันตัวทำให้เห็นเป็นห่วงขนาดเล็กหลายห่วง (รูป 1.11 ก)

อณูดีเอ็นเอสามารถเปลี่ยนกลับไปมาระหว่างสภาพขดพันตัวและคลายตัว การขดพันตัวของดีเอ็นเอเกิดขึ้นเมื่อสายของดีเอ็นเอหนึ่งสายหรือทั้งสองสายถูกตัดขาดและปลายข้างหนึ่งของสายดีเอ็นเอมีการหมุนหรือบิดเป็นเกลียว โดยปลายอีกด้านหนึ่งไม่หมุนตาม เมื่อมีการเชื่อมจุดที่ขาดให้ต่อกัน เกลียวที่แน่นขึ้นจะทำให้อณูดีเอ็นเอเกิดการขดพันตัวเห็นเป็นห่วงขนาดเล็กหลายห่วง (รูป 1.11ข) กลไกการเกิดซูเปอร์คอยด์ดีเอ็นเอจะเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ ซึ่งจะกล่าวถึงในหัวข้อการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ (บทที่ 2) ซูเปอร์คอยด์ในดีเอ็นเอจะเกิดขึ้นได้เฉพาะเมื่อปลายของอณูดีเอ็นเอถูกตรึง ทำให้ไม่สามารถหมุนได้อิสระ จึงเห็นได้ชัดเจนในอณูดีเอ็นเอวงกลม (circular DNA) ที่พบในโครโมโซมของโพรแคริโอตส่วนมากหรือในไมโทคอนเดรียและคลอโรพลาสต์ของยูแคริโอต เพราะอณูดีเอ็นเอวงกลม



ก.



ข.

รูป 1.11 ก) ภาพถ่ายอิเลกตรอนของอณูดีเอ็นเอวงกลมของเฟจ PM2 ในสภาพคลายตัวและขดพันตัว ข) แผนภาพแสดงการเกิดซูเปอร์คอยด์ (ที่มา : Snustad *et al.*, 1997)