บทที่ 1

กรดนิวคลีอิก (Nucleic acid)

คำนำ

กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) คือสารพันธุกรรม (genetic material) ซึ่งมีคุณสมบัติที่สำคัญ คือ (1) เป็นสารพันธุกรรมที่สามารถถ่ายทอดจากพ่อแม่ไปสู่ลูกหลานในรุ่นต่อไปได้ (2) ทำหน้าที่ เกี่ยวข้องกับกระบวนการจำลองดีเอ็นเอ (DNA replication) ในกระบวนการแบ่งเซลล์ (cell division) และ (3) ทำหน้าที่ถ่ายทอดข้อมูลพันธุกรรมโดยผ่านอาร์เอ็นเอ (RNA) เพื่อกำหนดการเรียงตัวของกรดอะมิโน (amino acid) ในกระบวนการลอกรหัส (transcription) และกระบวนการแปรรหัส (translation)

มีหลายการทดลองที่ยืนยันว่ากรดนิวคลิอิค มี 2 ชนิด คือ deoxyribonucleic acid (DNA) และ ribonucleic acid (RNA) อาทิ การทดลองเกี่ยวกับกระบวนการทรานสฟอร์มเมชัน (transformation experiment) ของ Griffith (1928) และ Avery, MaLeod และ McCarty (1944) ได้พิสูจน์ว่าดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมของแบคทีเรีย (*Streptococcus pneumonia*) นอกจากนี้งานทดลองของ Hershey และ Chase (1952) พบว่าดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมของฟาจ ชนิด T2 phage ในปี ค.ศ. 1955 Frankel Conrat ได้แสดงให้เห็นว่าอาร์เอ็นเอเป็นสารพันธุกรรมของ Tobacco mosaic virus (TMV) ซึ่งเป็นไวรัส (virus) ที่ทำให้เกิดโรคใบด่างสีเหลืองบนใบยาสูบ

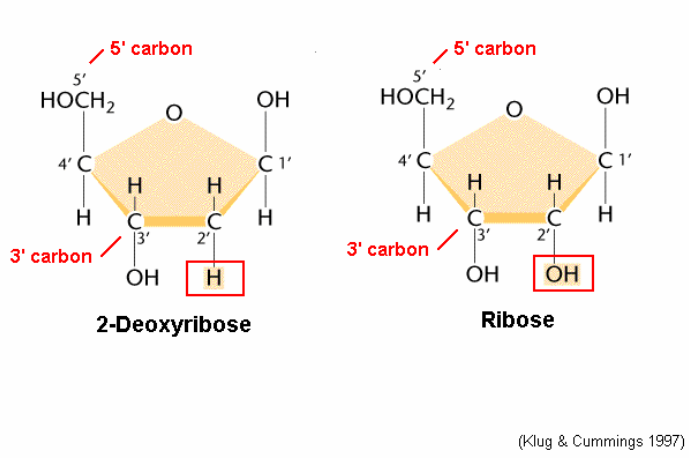
โครงสร้างทางกายภาพและทางเคมีของดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ (Physical and chemical structure of DNA and RNA)

กรดนิวคลีอิกประกอบด้วยหน่วยย่อยๆ ที่เรียกว่านิวคลีโอไทด์ (nucleotide) มาเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวที่เรียกว่าโพลีนิวคลีโอไทด์ (polynucleotide) โดยโมเลกุลของดีเอ็นเอประกอบด้วยสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สาย ส่วนอาร์เอ็นเอประกอบด้วยโพลีนิวคลีโอไทด์เพียงสายเดียว ซึ่งนิวคลีโอไทด์แต่ละโมเลกุล ประกอบด้วย

1. น้ำตาลเพนโตส (pentose sugar) คือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม เป็นองค์ประกอบมีโครงสร้างเป็นวงแหวน น้ำตาลเพนโตสแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

1.1 น้ำตาลไรโบส (ribose sugar) เป็นน้ำตาลเพนโตสที่ได้มาจากเซลล์พืชเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของนิวคลีโอไทด์ในอาร์เอ็นเอ **(ภาพที่ 1.1)**

1.2 น้ำตาลดีออกซีไรโบส (deoxyribose sugar) เป็นน้ำตาลเพนโตสที่มีหมู่ไฮดรอกซี (hydroxy; OH) ของคาร์บอนอะตอมในตำแหน่งที่ 2 หายไป ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลที่พบในเซลล์สัตว์ และเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของนิวคลีโอไทด์ในดีเอ็นเอ (**ภาพที่ 1.1**)

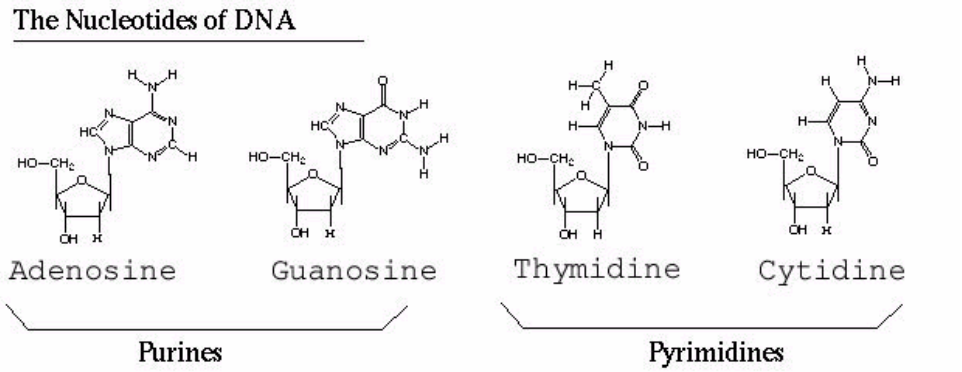


ภาพที่ 1.1 โครงสร้างของน้ำตาลไรโบส และดีออกซีไรโบส (ที่มา Tamarin, 1998)

2. ไนโตรจีนัสเบส (nitrogenous base) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ

2.1 พิวรีน (purine)

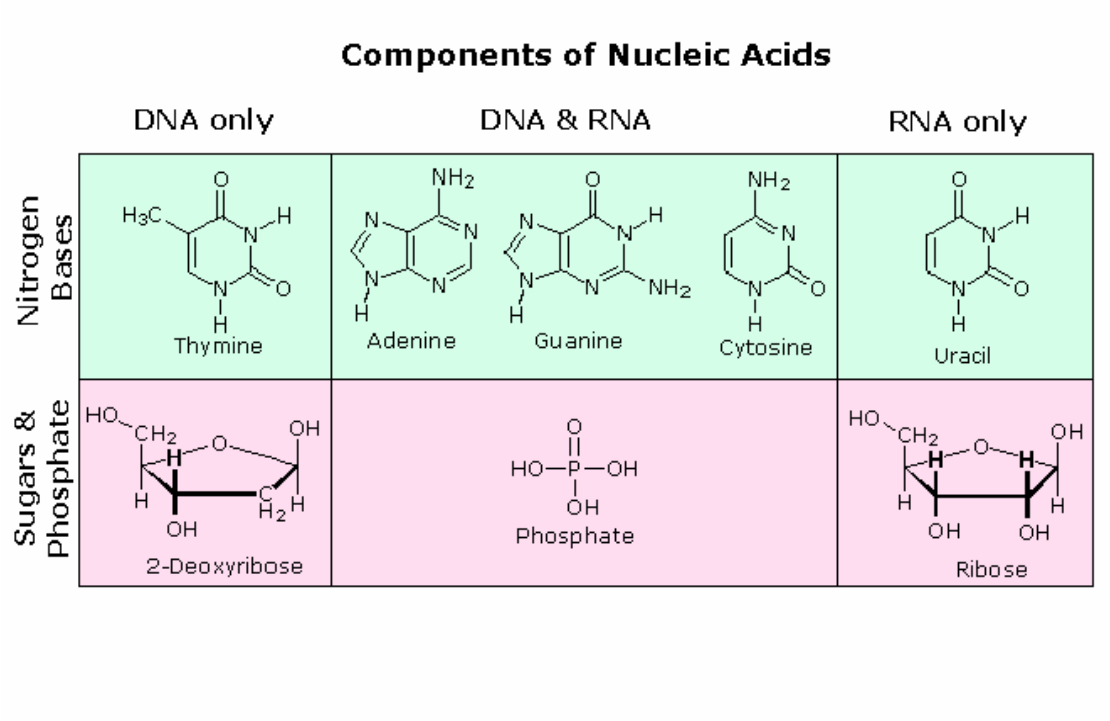
เป็นเบสที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 2 วง พบทั้งในดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ มี 2 ชนิด ได้แก่ อะดีนิน (adenine; A) และกัวนิน (guanine; G) (**ภาพที่ 1.2**)



ภาพที่ 1.2 โครงสร้างของเบสพิวรีน 2 ชนิด ได้แก่ อะดีนิน และกัวนิน (ที่มา Tamarin, 1998)

2.2 ไพริมิดีน (pyrimidine)

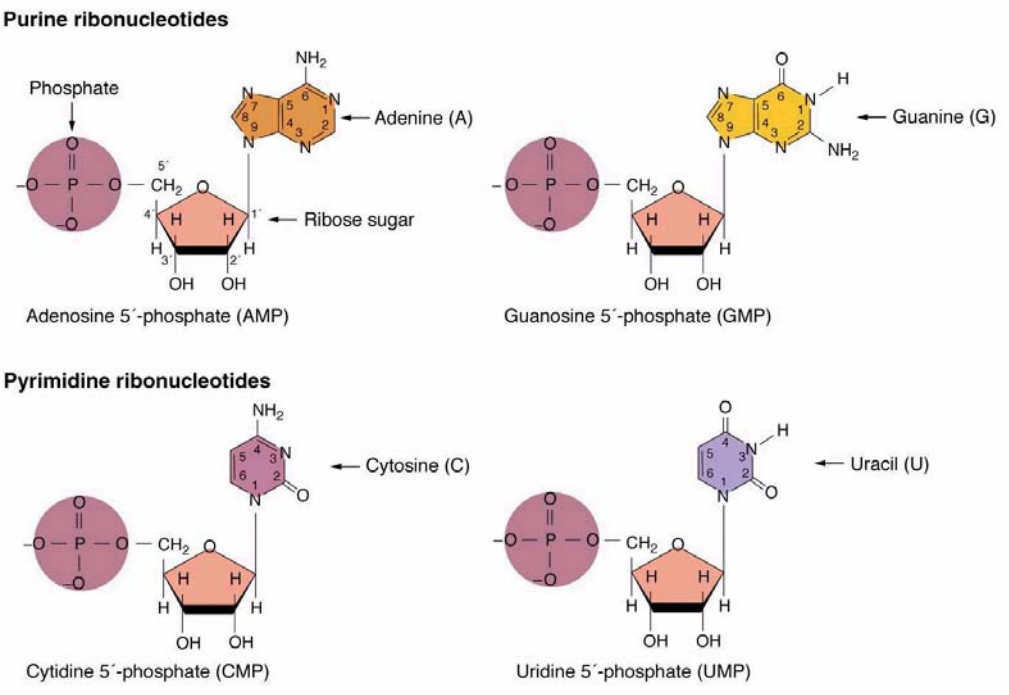
เป็นเบสที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 1 วง ซึ่งเบสในกลุ่มนี้มี 3 ชนิดคือ ไทมีน (thymine; T) พบเฉพาะในดีเอ็นเอ ไซโตซีน (cytosine; C) พบทั้งในดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ ส่วนยูราซิล (urasil; U) พบเฉพาะในอาร์เอ็นเอเท่านั้น (**ภาพที่ 1.3**)



ภาพที่ 1.3 โครงสร้างของเบสไพริมิดีน 3 ชนิด คือ ไซโตซีน ไทมีน และยูราซิล

(ที่มา Tamarin, 1998)

น้ำตาลเพนโตสกับไนโตรจีนัสเบสจะมาเชื่อมต่อกันได้เป็นสารประกอบที่เรียกว่า นิวคลีโอไซด์ (nucleoside) โดยคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 (C_1) ของน้ำตาลเพนโตสเชื่อมต่อกับไนโตรเจนตำแหน่งที่ 1 (N_1) ของเบสกลุ่มไพริมิดีน หรือเชื่อมต่อกับไนโตรเจนตำแหน่งที่ 9 (N_9) ของเบสกลุ่มพิวรีน ด้วยพันธะไกลโคซิลหรือพันธะไกลโคซิดิก (glycosyl หรือ glycosidic bond) **(ภาพที่ 1.4)**



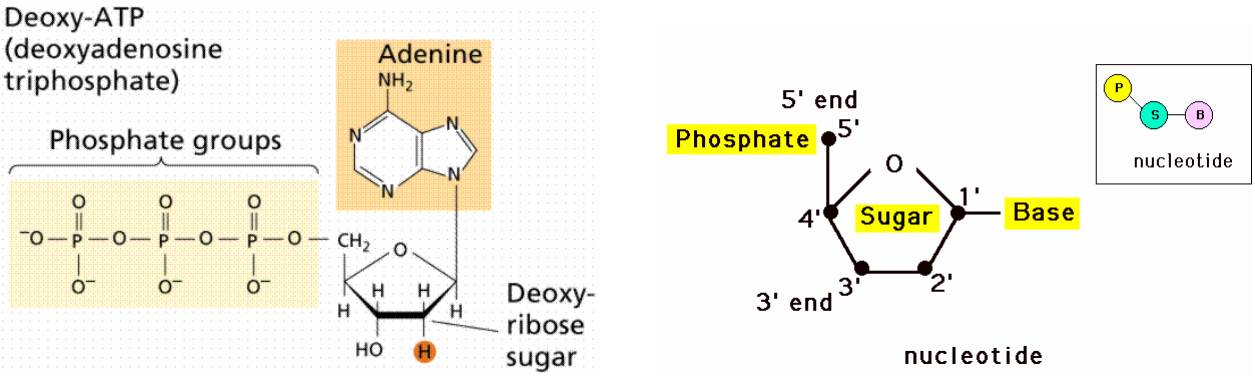
ภาพที่ 1.4 การเชื่อมต่อระหว่างน้ำตาลกับเบสด้วย 1-9 glycosidic bond ของอะดีโนไซด์ (อาร์เอ็นเอ)

และ 1- glycosidic bond ของดีออกซีไทมิโนไซด์ (ดีเอ็นเอ)

(ที่มา : http://www.mun.ca/biology/scarr/MGA2-03-05.jpg, 2547)

3. หมู่ฟอสเฟต (phosphate group)

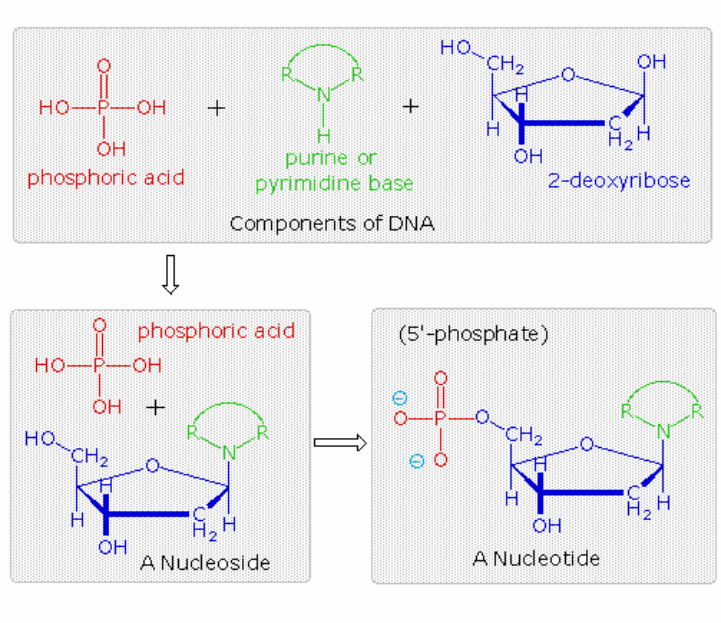
หมู่ฟอสเฟต (□-P) 1 หมู่ เข้าจับกับอะตอมของออกซิเจน (O) ของหมู่ไฮดรอกซี (OH) ที่อะตอมของคาร์บอนตำแหน่งที่ 5 หรือ 3 หรือ 2 ของน้ำตาลเพนโตส (C_5หรือ C_3 หรือ C_2) ด้วยพันธะเอสเทอร์ กลายเป็นสารประกอบที่เรียกว่า นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) **(ภาพที่ 1.5)** ซึ่งเป็นโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ



ภาพที่ 1.5 โครงสร้างของนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอ ที่ประกอบด้วย ดีออกซีไรโบส เบส และหมู่ฟอสเฟต (ที่มา Tamarin, 1998)

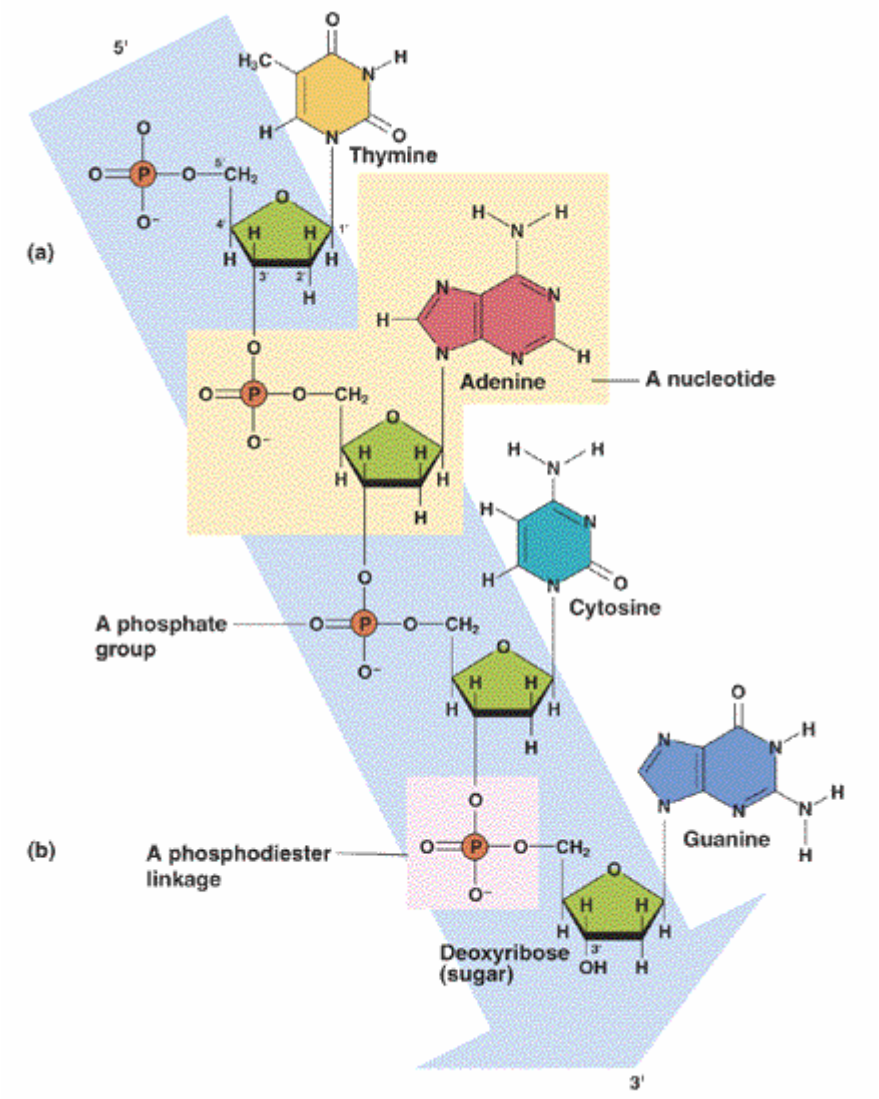
การเรียกชื่อนิวคลีโอไซด์และนิวคลีโอไทด์ (Nucleoside and nucleotide)

นิวคลีโอไซด์ 1 โมเลกุล ประกอบด้วยน้ำตาลเพนโตส และเบส อย่างละ 1 โมเลกุล ส่วนนิวคลีโอไทด์ 1 โมเลกุล ประกอบด้วยน้ำตาลเพนโตส เบส และฟอสเฟต อย่างละ 1 โมเลกุล (**ภาพที่ 1.6**) ซึ่งแต่ละโมเลกุลของนิวคลีโอไทด์เชื่อมต่อกันด้วยพันธะฟอสฟอไดเอสเทอร์ (phosphodiester bond) ระหว่างคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 5 (ที่มีหมู่ฟอสเฟต) ของน้ำตาลเพนโตสในนิวคลีโอไทด์หนึ่ง กับคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2 (ที่มีหมู่ไฮดรอกซี) ของน้ำตาลเพนโตสในอีกนิวคลีโอไทด์หนึ่งที่อยู่ติดกันทำให้ได้เป็นสายโพลีนิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของกรดนิวคลีอิก (**ภาพที่ 1.7**)



ภาพที่ 1.6 โครงสร้างของนิวคลีโอไซด์ และนิวคลีโอไทด์

(ที่มา Klug และ Cummings, 1994)



COPYRIGHT © 2002 Thomson Learning, Inc. Thomson Learning™ is a trademark used herein under license.

ภาพที่ 1.7 การเชื่อมต่อของนิวคลีโอไทด์ด้วยพันธะฟอสฟอไอเอสเทอร์ระหว่างปลาย 5′ PO_4 ของนิวคลีโอไทด์หนึ่ง กับปลาย 3′ OH ของอีกนิวคลีโอไทด์หนึ่ง (ที่มา Hartl และ Jones, 1998)

การเรียกชื่อนิวคลีโอไซด์และนิวคลีโอไทด์ในดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอที่ประกอบด้วยเบสชนิดต่างๆ **(ตารางที่ 1.1)**

ตารางที่ 1.1 การเรียงชื่อเบส นิวคลีโอไซด์ และนิวคลีโอไทด์ ของดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ (ที่มา Klug และ Cummings, 1994)

Base	RNA		DNA	
	Ribonucleoside	**Ribonucleotide**	**Deoxyribonucleoside**	**Deoxyribonucleotide**
Adenine	Adenosine	Adenylate	Deoxyadenosine	Deoxyadenylate
Guanine	Guanosine	Guanylate	Deoxyguanosine	Deoxyguanylate
Cytosine	Cytidine	Cytidylate	Deoxycytidine	Deoxycytidylate
Uracil	Uridine	Uridylate	Not usually found	Not usually found
Thymine	Not usually found	Not usually found	Deoxythymidine	Deoxythymidylate

โครงสร้างของดีเอ็นเอ (DNA structure)

ในปี ค.ศ. 1953 James D. Watson และ Franeis H. C. Crick ได้เสนอโครงสร้าง 3 มิติ ของดีเอ็นเอ โดยใช้ข้อมูลจากการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมี และการวิเคราะห์ X-ray diffraction ของ Rosalind Frankin และ Mauriec Wilkin ทำให้สามารถสร้างแบบจำลองโครงสร้างโมเลกุลของดีเอ็นเอได้สำเร็จ ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปในปัจจุบัน โดยดีเอ็นเอมีโครงสร้าง (**ภาพที่ 1.8**) ดังนี้

1. ดีเอ็นเอมีโครงสร้างเป็นเกลียวคู่ (double helix) ที่เกิดจากสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สาย มาพันเป็นเกลียวรอบแกน (axis) ร่วมกัน โดยพันเป็นเกลียวหมุนเวียนขาว (right hand helix; □-helix) หรือหมุนตามเข็มนาฬิการอบแกน และสายโพลีนิวคลีโอไทด์แต่ละสายมีการจัดเรียงตัวในทิศทางตรงข้ามกัน (antiparallel) คือ โพลีนิวคลีโอไทด์สายหนึ่งมีทิศทางจากปลาย $5' \rightarrow 3'$ แต่โพลีนิวคลีโอไทด์อีกสายหนึ่งมีทิศทางจากปลาย $3' \rightarrow 5'$ (**ภาพที่ 1.8**)

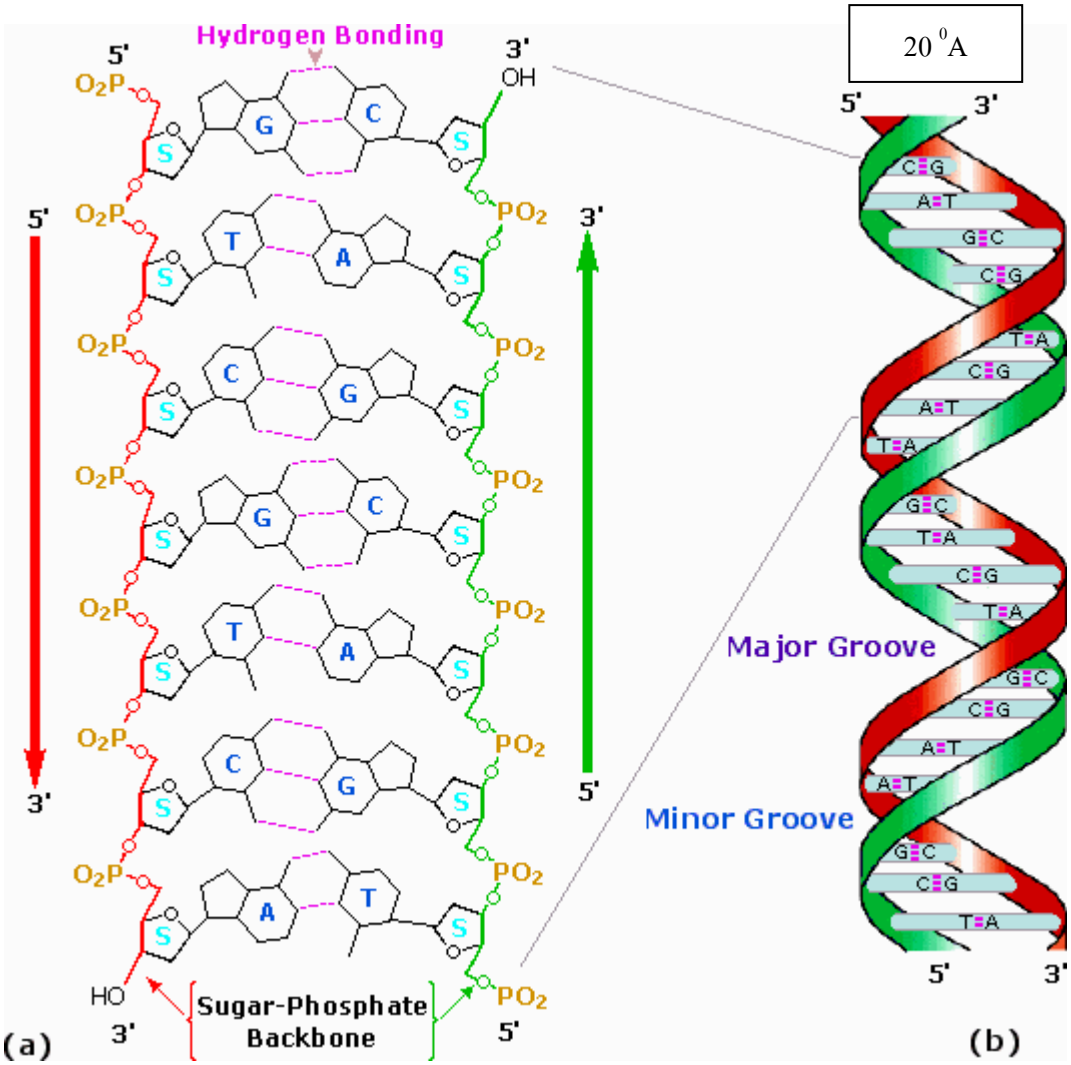
2. เบสที่อยู่ภายในสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายของดีเอ็นเอเกลียวคู่จะจับยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) โดยพิวรีนจับอยู่กับไพริมิดีนที่เป็นเบสคู่สม (complementary base) ด้วยพันธะไฮโดรเจนเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างหมู่อะมิโน (amino group) หรือไฮดรอกซี-ออกซิเจน (hydroxy-oxygen) จับกับหมู่คีโต-ออกซิเจน (keto-oxygen) หรืออิมิโน-ไนโตรเจน (imino-nitrogen) ของพิวรีนและไพริมิดีน (เบสที่เรียงตัวในเกลียวคู่เปรียบเสมือนเป็นขั้นบันได หรือ helical array) ส่วนหมู่ฟอสเฟต และดีออกซีไรโบสเรียงตัวอยู่รอบนอก (เปรียบเสมือนเป็นราวบันได หรือ helical path) โดยระดับของเบสเรียงตัวตั้งฉากกับแนวแกนตั้งของเกลียวคู่ และระนาบของน้ำตาลทำมุมฉากกับเบส

เบสที่เรียงตัวอยู่ภายในเกลียวคู่หรือเบสบนสายโพลีนิวคลีโอไทด์หนึ่ง มีการสร้างพันธะไฮโดรเจนกับเบสบนอีกสายโพลีนิวคลีโอไทด์หนึ่ง เกิดเป็น purine-pyrimidine base pair โดยพิวรีนจะจับกับไพริมิดีนเสมอ คือเบสอะดินีนจับกับเบสไทมีนด้วย 2 พันธะไฮโดรเจน (A=T) และเบสกัวนีนจับกับเบสไซโตซีนด้วย 3 พันธะไฮโดรเจน (G≡C) **(ภาพที่ 1.9)**

ขณะเดียวกันเบสของแต่ละนิวคลีโอไทด์ในสายโพลีนิวคลีโอไทด์จะจับกับดีออกซีไรโบสด้วยพันธะไกลโคซิดิก ส่วนน้ำตาลดีออกซีไรโบสของแต่ละนิวคลีโอไทด์ก็เชื่อมต่อกันด้วยพันธะฟอสฟอไดเอสเทอร์ (**ภาพที่ 1.7**) เพื่อทำให้โครงสร้างของเกลียวคู่ของดีเอ็นเอคงตัวอยู่ได้

ลำดับเบสบนสายโพลีนิวคลีโอไทด์ในแต่ละสิ่งมีชีวิตจะมีลำดับที่แน่นอน ซึ่งเป็นตัวนำข้อมูลพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต

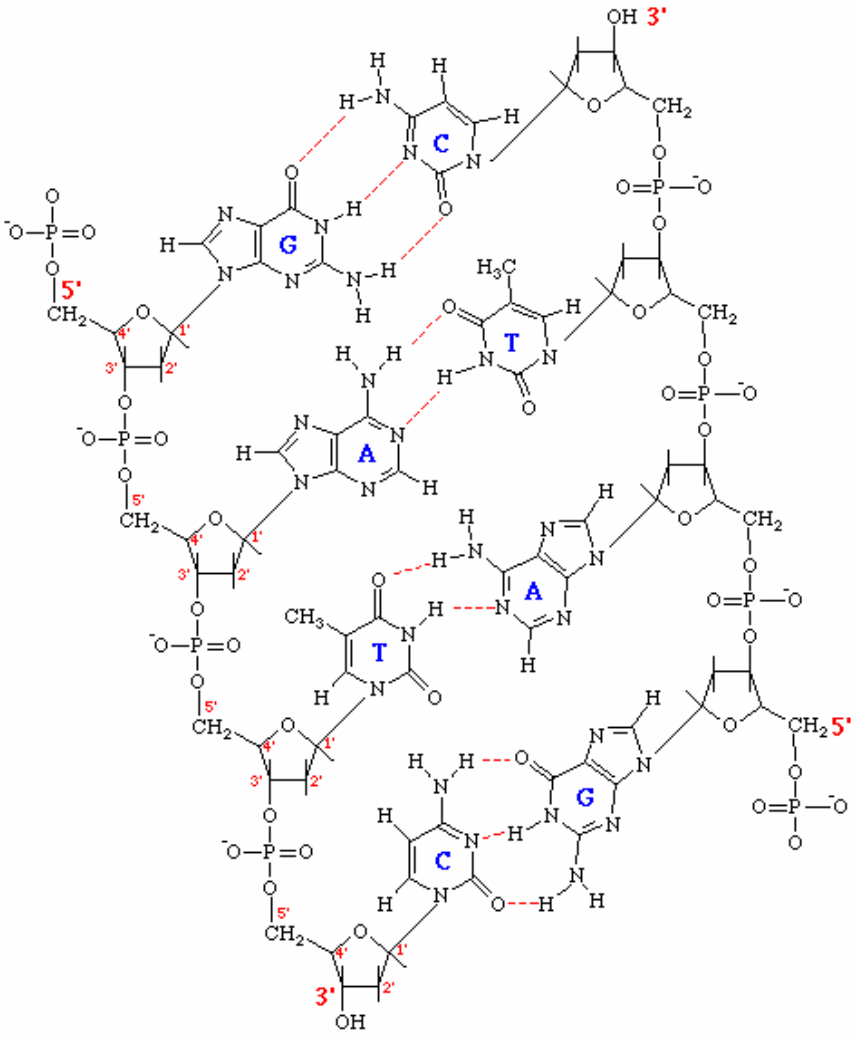
3. เส้นผ่านศูนย์กลางของเกลียวคู่ของดีเอ็นเอ (B-form DNA) มีค่าเท่ากับ 20 อังสตรอม (^{0}A) เบสที่อยู่ติดกัน (แต่ละขั้นบันได) ห่างกันเท่ากับ 3.4 อังสตรอม และเอียงทำมุม 36 องศา ตามความยาวของสายเกลียวคู่ ดังนั้นการหมุนของเกลียวคู่ 1 รอบ (turn) หรือมุมรวมเท่ากับ 360 องศา มีเบสจับคู่กันจำนวน 10 คู่เบส และมีความยาวเท่ากับ 34 อังสตรอม (**ภาพที่ 1.8)**



ภาพที่ 1.8 a) โครงสร้างของดีเอ็นเอ (ที่มา Klug และ Cummings, 1994)

b) การเรียงตัวในทิศทางตรงข้ามกัน (antiparallel) ของ 2 สายโพลีนิวคลีโอไทด์

(ที่มา : http://www.forshang.org/009humanlifescience/dnastructurecs.jpg, 2547)



ภาพที่ 1.9 การเข้าคู่หรือการเชื่อมต่อของเบสระหว่าง 2 สายโพลีนิวคลีโอไทด์ด้วยพันธะไฮโดรเจน (ที่มา : Hartl และ Jones, 1998)

4. จากการบิดหรือพันเกลียวของดีเอ็นเอทำเกิดร่องภายนอก (external grove) ของแอลฟาเฮลิก (□- helix) จำนวน 2 ร่อง คือ

4.1 ร่องลึก (major grove) มีขนาดประมาณ 12 อังสตรอม โดยมีไนโตรเจนที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจน กับหมู่อะมิโน (NH_2) ของโปรตีนได้ **(ภาพที่ 1.8)**

4.2 ร่องแคบ (minor grove) มีขนาดประมาณ 6 อังสตรอม โดยมีน้ำ (H_2O) เข้าทำปฏิกิริยากับอะตอมของธาตุที่อยู่บริเวณร่องแคบ ซึ่งเชื่อกันว่ามีส่วนช่วยให้ B-form DNA มีความมั่นคง

หรือป้องกันไม่ให้ดีเอ็นเอเกลียวคู่เกิดการคลายเกลียว นอกจากนี้ยังเป็นตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยากับโปรตีนได้เช่นเดียวกับร่องลึกอีกด้วย (**ภาพที่ 1.8**)

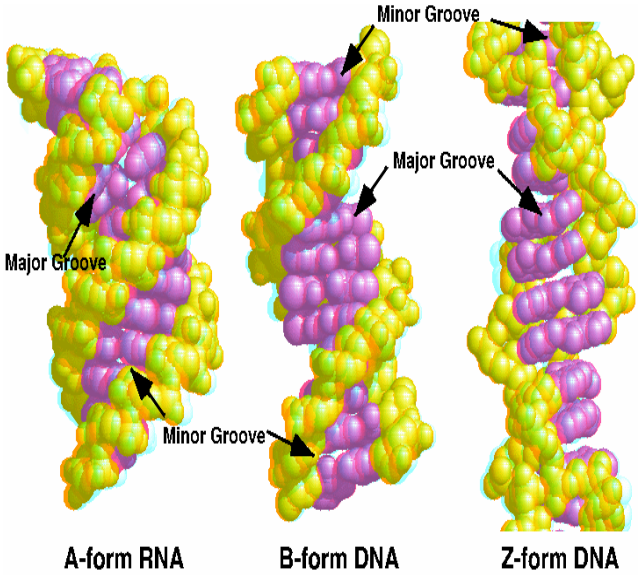
รูปแบบของดีเอ็นเอ (Type of DNA)

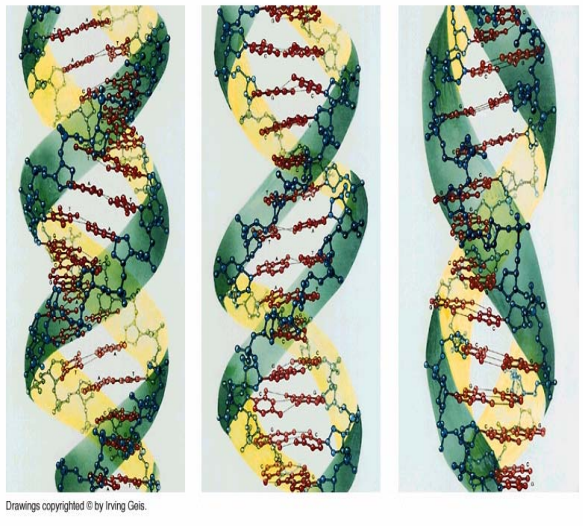
ดีเอ็นเออยู่ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่เป็นของเหลวมีโครงสร้างอยู่ในรูป B-form DNA แต่โมเลกุลของดีเอ็นอาจมีการเคลื่อนที่ในของเหลวบ้าง ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างหรือโครงสร้างต่างไปจากเดิมได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณแคทไอออน (cation) และปริมาณความชื้น (humidity) ที่อยู่ในของเหลวภายในเซลล์ โดยโครงสร้างภายในของดีเอ็นเอที่พบในเซลล์มีหลายรูปแบบ ได้แก่ A-form B-form และ C-form DNA ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายคู่เวียนขวา ส่วน Z-form DNA ซึ่งเป็นดีเอ็นเอสายคู่เวียนซ้าย (**ตารางที่ 1.2 และ ภาพที่ 1.10**)

ตาราง 1.2 ความแตกต่างของโครงสร้างของ DNA ทั้ง 4 รูปแบบ (ที่มา Bradbury และคณะ, 1981)

Helix type	Base pair per turn	Rotation per base pair	Vertical rise per base pair	Helix diameter	Condition of occurrence	
					In Fibers (% humidity)	In Solution
A	11	+ 34.7	2.56^{0}A	23^{0}A	75	R^+,Na^+,Cs^+
B	10	+ 34.0	3.38^{0}A	19^{0}A	62	lowsalt
C	9.33	+ 38.6	3.32^{0}A	19^{0}A	66	Li^+
Z	12	- 30.0	5.71^{0}A	18^{0}A	-	high salt

The rotation per base pair is indicated as (+) for a right-handed duplex and (-) for a left-handed duplex





ภาพที่ 1.10 ดีเอ็นเอสายคู่เวียนขวา และเวียนซ้าย (ที่มา Klug และ Cummings, 1994)
(ที่มา : http://www.mun.ca/biochem/courses/3107/images/VVP/Ch23/23-2a.jpg, 2547)

ประเภทของดีเอ็นเอ (DNA class)

จากการศึกษาปฏิกิริยาการกลับคืนสภาพธรรมชาติของดีเอ็นเอ (reassociation หรือ renature of DNA) ของดีเอ็นเอยูคารีโอต (eukaryotic DNA) ภายใต้สภาวะต่างๆ เช่น เมื่ออุณหภูมิสูงดีเอ็นเอสายคู่ (double strand DNA) จะถูกทำให้เสียสภาพ (denature) กลายเป็นดีเอ็นสายเดี่ยว (single strand DNA) แต่เมื่ออุณหภูมิลดลงที่ระดับหนึ่งพบว่าดีเอ็นสายเดี่ยว (single strand DNA) จะกลับคืนสภาพธรรมชาติ (renature) เป็นดีเอ็นเอสายคู่ (double strand DNA) ซึ่งตัวแปรที่ควบคุมปฏิกิริยาการกลับคืนสภาพธรรมชาติของดีเอ็นเอ (C_0t) คือ ผลคูณของความเข้มของดีเอ็นเอเริ่มต้น (C_0) และเวลาที่ใช้ในปฏิกิริยาการกลับคืนสภาพธรรมชาติ ดังนั้นเมื่อนำดีเอ็นเอของยูคารีโอตมาศึกษาและทดสอบหาค่า C_0t สามารถแบ่งดีเอ็นเอ ได้เป็น 4 ชนิด คือ

1. Inverted repeat sequence (zero time reassociating) (ภาพที่ 1.11)

เป็นดีเอ็นเอที่มีอัตราเร็วในการกลับคืนสภาพเป็นสายคู่ได้เร็วมาก (ใช้เวลาเท่ากับศูนย์) โดยมีค่า C_0t ประมาณ 10^{-6} โมล วินาที ต่อลิตร (mole.sec.l^{-1}) ดีเอ็นเอในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติดังนี้

1) พบประมาณ 6-9 เปอร์เซ็นต์ในดีเอ็นเอของมนุษย์

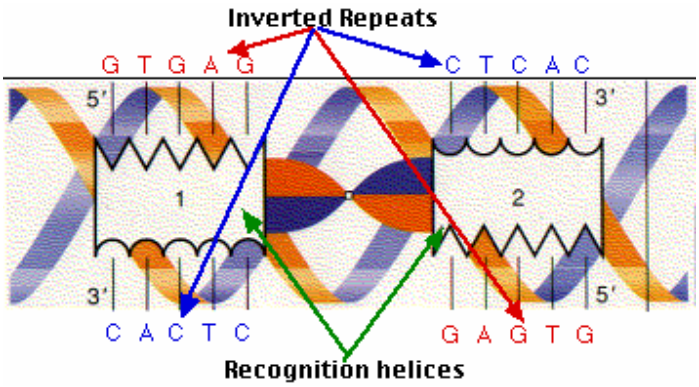
2) เป็นดีเอ็นเอที่เรียกว่า palindrome sequence คือ เมื่อทำให้ดีเอ็นเอเสียสภาพ แล้วทำให้ดีเอ็นเอกลับคืนสภาพ พบว่าจะมีการจับคู่เพื่อสร้างพันธะไฮโดรเจนระหว่างเบสคู่สมที่อยู่ภายในสายเดียวกันของดีเอ็นเอสายเดี่ยว ทำให้เกิดโครงสร้างที่เรียกว่า hairpin structure

3) สามารถถูกย่อยได้โดยใช้ S_1 nuclease (เป็นเอนไซม์ทำหน้าที่ย่อยดีเอ็นเอสายเดี่ยว)

4) Palindrome sequence มีลำดับเบสที่เป็นตำแหน่งจดจำและเป็นจุดตัดของเอนไซม์จำเพาะ (restriction enzyme)

5) ลำดับของเบสที่ซ้ำกันมีประมาณ 50 เบส

6) ในแมลงหวี่ (*Drosophilla sp)* อาร์ดีเอ็นเอ (ribosomal DNA; rDNA) พบว่ามีส่วนของ inverted repeat sequence อยู่ในส่วนของ spacer (หรือ intron หรือ non-coding sequence) ของโครโมโซมเอ๊กซ์ (X chromosome) แต่ไม่พบในโครโมโซมวาย (Y chromosome) นอกจากนี้ยังพบว่ามี inverted repeat sequence อยู่บริเวณส่วนปลายของดีเอ็นเอที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทรานสโลเคชั่น (translocation)



5' AGAACAnnnTGTTCT 3'

3' TCTTGTnnnACAAGA 5'

ภาพที่ 1.11 ดีเอ็นเอชนิด Inverted repeat sequence (zero time reassociating)

(ที่มา : http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/P/Palindromes.html, 2547)

2. Highly sequence DNA (DNA satellite or rapidly reassociating) (ภาพที่ 1.12)

เป็นดีเอ็นเอที่มีอัตราเร็วในการกลับคืนสภาพเป็นสายคู่ได้ค่อนข้างเร็ว คือมีค่า C_0t ประมาณ 10^{-3}–10^{-1} โมล วินาที ต่อลิตร (mole.sec.l^{-1}) ดีเอ็นเอในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติดังนี้

1) มีประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของดีเอ็นเอทั้งหมดในสิ่งมีชีวิต

2) บนสายดีเอ็นเอประกอบด้วยลำดับเบสสั้นๆ ประมาณ 10 นิวคลีโอไทด์ที่เรียงตัวซ้ำๆ กันประมาณ 10^3–10^6 ซ้ำ (copy)

3) พบใกล้กับบริเวณเซนโตรเมียร์ของโครโมโซม ซึ่งอาจเรียกว่าเซนโตรเมียร์ดีเอ็นเอ (centromere DNA)

4) บางครั้งเป็น satellite DNA ที่พบในยีนอาร์อาร์เอ็นเอ (rRNA gene) เช่น 5 rRNA gene ของ *Xenopus*

5) มีหลายรูปแบบ (form) ในดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิต

6) หน้าที่ไม่ทราบแน่นอน แต่อาจเกี่ยวข้องกับ

6.1) การเกิดเป็นโครงสร้างของโครโมโซม

6.2) เกี่ยวข้องกับการเข้าคู่ (synapsis) กันของโครโมโซมคู่เหมือน (homologous chromosome) ในการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีส (meiosis)

6.3) เกี่ยวข้องกับการครอสซิงโอเวอร์ (crossing over) ของโครโมโซมที่เป็นคู่กัน

6.4) ทำหน้าที่ป้องกันยีนโครงสร้าง (structure gene) ที่สำคัญ เช่น histone rRNA หรือ ribosomal protein gene

6.5) เป็นที่เก็บของลำดับเบสที่ไม่ใช่ยีน ซึ่งมีประโยชน์สำหรับการวิวัฒนาการในอนาคตของสิ่งมีชีวิต

7) อาจจะไม่มีหน้าที่ใดๆ เลย

5′… C C T A C C T A C C T A C C T A C C T A… 3′

3′ … G G A T G G A T G G A T G G A T G G A T … 5′

(ลำดับเบสที่ซ้ำ คือ **5′** C C T A **3′** / **3′** G G A T **5′**)

ภาพที่ 1.12 Highly sequence DNA (rapidly reassociating) ของ hermit crab satellite (ที่มา : Bradbury และคณะ, 1981)

3. Middle repetitive DNA (intermediate repetitive sequence or intermediate reassociating (ภาพที่ 1.13)

เป็นดีเอ็นเอที่มีอัตราเร็วในการกลับคืนสภาพเป็นสายคู่ได้เร็วปานกลาง โดยมีค่า C_0t ประมาณ 1 – 100 โมล วินาที ต่อลิตร (mole.sec.l^{-1}) ดีเอ็นเอในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติดังนี้

1) ประกอบด้วยลำดับเบสที่ซ้ำๆ กันประมาณ 10–100 ครั้งต่อจีโนม (times/genome) โดยมีความยาวประมาณ 1 – 30 กิโลเบส (kb)

2) พบใน large riboosomal gene (rRNA) เช่น 5S rRNA, tRNA และ histone gene

3) ความแตกต่างของลำดับเบสที่ต่างกัน อาจทำให้มีหน้าที่แตกต่างกันด้วย

4) หน้าที่หลักของ middle repetitive DNA คาดว่ามี 2 ประการ คือ

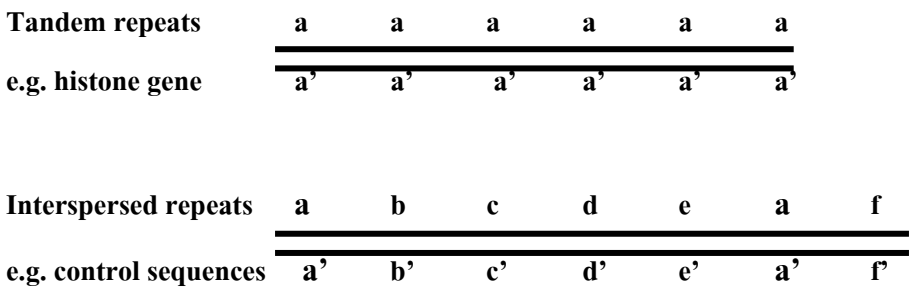
4.1) เกี่ยวข้องกับการควบคุมการทำงานของยีนในระดับการลอกรหัส และการแปรรหัส โดยมีการทำงานร่วมกันของกลุ่มยีนในโอเปอรอน (operon) ได้แก่ Regulator gene (*i*) operator gene (*o*) และ promoter gene (*p*)

4.2) ทำหน้าที่อื่นที่ไม่เกี่ยวข้องการกับควบคุมการทำงานของยีน เนื่องจากเมื่อเกิดกระบวนลอกรหัส (transcription) พบว่าในนิวเคลียสมี middle repetitive DNA จำนวนมากกว่าเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA) ในไซโตพลาสซึม ดังนั้น middle repetitive DNA อาจมีหน้าที่อื่นๆ ดังนี้

4.2.1) มีไว้เพื่อเตรียมสำหรับการเกิดกลายยีน (gene mutation) ในกระบวนการวิวัฒนาการ

4.2.2) เป็นตำแหน่งที่กำหนดจุดตัดและเชื่อมต่อ (splicing) ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการลอกรหัสเพื่อสังเคราะห์เอ็มอาร์เอ็นเอของยีน (mRNA gene)

4.2.3)เป็นตัวกำหนดความคงตัวหรือเสถียรภาพของโมเลกุลเอ็มอาร์เอ็นเอ (mRNA)



ภาพที่ 1.13 Middle repetitive DNA (อักษร a แทนลำดับเบสบนดีเอ็นเอ)
(ที่มา : Bradbury และคณะ, 1981)

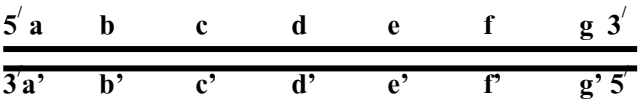
4. Single copy DNA (slowly reassociation) (ภาพที่ 1.14)

เป็นดีเอ็นเอที่มีอัตราเร็วในการกลับคืนสภาพเป็นสายคู่ได้ช้าที่สุด โดยมีค่า C_0t ประมาณ $2 \times 10^2 - 10^4$ โมล วินาที ต่อลิตร (mole.sec.l^{-1}) ดีเอ็นเอในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติดังนี้

1) พบประมาณ 50-60 เปอร์เซ็นต์ในดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิต

2) เป็นกลุ่มที่ไม่มีลำดับเบสซ้ำกันเลยในจีโนม ซึ่งลำดับเบสบางส่วนเป็นยีน (exon หรือ coding sequence หรือ expressed region) ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์โปรตีน แต่ลำดับเบสบางส่วนไม่ได้ทำหน้าที่สังเคราะห์โปรตีน หรือไม่ได้ทำหน้าที่แปลเป็นรหัสกรดอะมิโน (intron หรือ noncoding sequence หรือ interventing region)

3) ดีเอ็นเอของยูคารีโอต พบว่าการเรียงตัวของ single copy DNA จะถูกขั้นด้วยส่วนของ middle repetitive DNA กล่าวคือ ในยีนของยูคารีโอตจะประกอบด้วย ส่วนของ exon และ intron ซึ่งจะถูกลอกรหัสออกเป็น mRNA ได้หมด หลังจากนั้น mRNA จึงเข้าสู่กระบวนการ post transcription โดยเกิด splicing เพื่อตัดส่วนของ intron ออกจากโมเลกุลของ mRNA



ภาพที่ 1.14 Single copy DNA หรือ slowly reassociation (ที่มา Bradbury และคณะ, 1981) (เมื่ออักษร a, b,…, g แทนลำดับเบสที่จำเพาะบนดีเอ็นเอ)

จีโนมมนุษย์ (Human genome)

ในจีโนมหรือดีเอ็นเอทั้งหมดของมนุษย์ ประกอบด้วยจำนวนเบส (base sequence) ประมาณ 3 พันล้านเบส ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วน **(ภาพที่ 1.15)** ดังนี้

1. ดีเอ็นเอส่วนที่เป็นยีน (gene)

มีประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ของดีเอ็นเอทั้งหมดในมนุษย์ สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน คือ

1.1 ส่วนที่เป็นรหัสพันธุกรรม (codon sequence) ซึ่งเป็นดีเอ็นเอที่มีรหัสพันธุกรรม (exon) ที่สามารถลอกรหัสและแปรรหัสเป็นสายโพลีเปปไทด์ได้ โดยส่วนที่เป็นรหัสพันธุกรรมจะน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ของส่วนที่เป็นยีน

1.2 ส่วนที่ไม่เป็นรหัส (non-codon sequence) ซึ่งเป็นส่วนของ intron มีจำนวนมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ ของส่วนที่เป็นยีน

2. ดีเอ็นเอส่วนที่ไม่ใช่ยีน (non gene)

พบว่ามีประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของ DNA ทั้งหมดในมนุษย์ แบ่งออกได้

2.1 ดีเอ็นเอที่มีเบสซ้ำ (repetitive DNA) มีประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ ของ DNA ส่วนที่ไม่ใช่ยีน ซึ่ง repetitive DNA แบ่งเป็น 2 กลุ่ม **(ภาพที่ 1.16)** คือ

1) เบสซ้ำต่อเนื่อง (tandem repeat) คือ เบสซ้ำที่มีลำดับการเรียงตัวของเบสซ้ำต่อกันเป็นช่วงยาว ได้แก่ satellite, minisatellite และ microsatellite ซึ่งแบ่งตามจำนวนซ้ำและความยาวของหน่วยซ้ำ ดังนี้ **(ภาพที่ 1.17)**

1.1) Satellite (highly repetitive DNA) คือเบสซ้ำขนาด 1-6 เบส หรือเบสซ้ำยาวขนาดหลายร้อยเบส โดยมีจำนวนซ้ำแต่ละตำแหน่งตั้งแต่ 10^3-10^7 ครั้ง

1.2) Minisatellite (moderately repetitive DNA หรือ variable number of tandem repeat; VNTR) คือเบสขนาด 9-100 เบส ที่มีจำนวนซ้ำแต่ละตำแหน่งตั้งแต่ 10 - 1,000 ครั้ง **(ภาพที่ 1.18)**

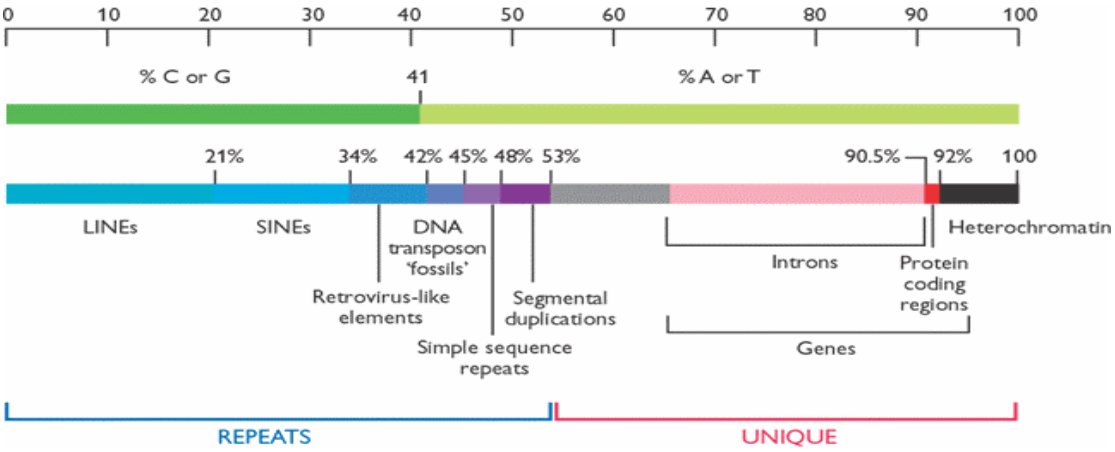
1.3) Microsatellite (simple sequence repeats; SSR หรือ short tandem repeats; SSTR) คือ เบสซ้ำขนาด 1-6 โดยที่มีจำนวนซ้ำในแต่ละตำแหน่งไม่เกิน 100 ครั้ง

2) เบสซ้ำกระจาย (interspersed repeats) คือกลุ่มของเบสซ้ำที่พบกระจายอยู่ที่บริเวณต่างๆ ในจีโนม ในลักษณะที่ต่างจากกลุ่มเบสซ้ำแบบต่อเนื่อง คือจะไม่พบซ้ำกันเป็นช่วงต่อเนื่องแต่จะอยู่ในลักษณะเดี่ยว (individual unit) กระจายทั่วไปหลายๆ แห่งในจีโนม ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มย่อยตามความยาวของเบสซ้ำ

2.1) Short interspersed elements (SINES) คือ เบสกระจายแบบสั้น มีขนาดประมาณ 130-300 เบส **(ภาพที่ 1.19)**

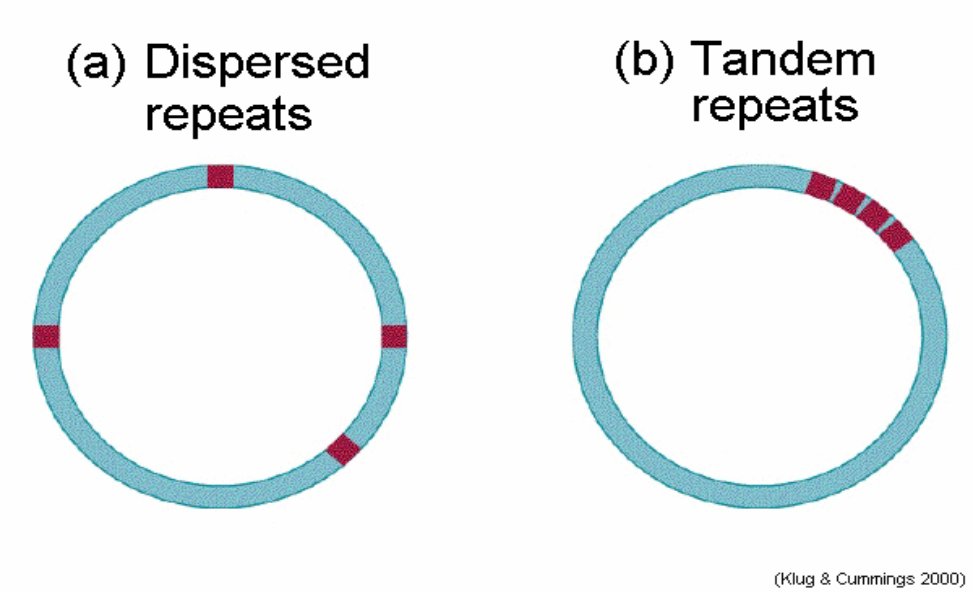
2.2) Long interspersed elements (LINES) คือ เบสกระจายแบบสั้น มีขนาดตั้งแต่ 500 เบสขึ้นไป พบประมาณ 1-2 เปอร์เซ็นต์ ของจีโนม

2.2 ลำดับเบสจำเพาะ มีประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์ ของ DNA ส่วนที่ไม่ใช่ยีน

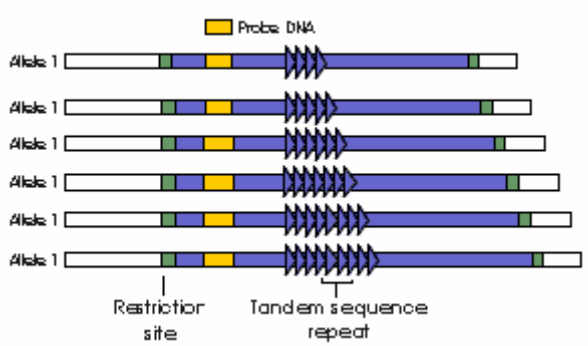


ภาพที่ 1.15 โครงสร้างของเบสซ้ำกระจาย และยีน

(ที่มา : http://www.biology.iupui.edu/biocourses/Biol540/images/Genome_by_numbers.gif, 2547)

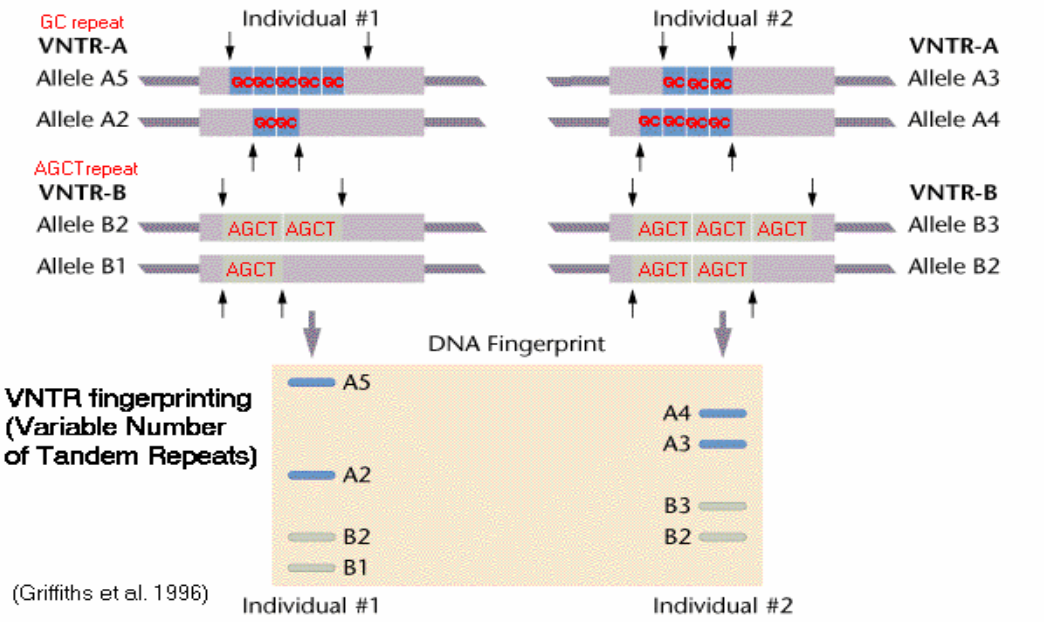


ภาพที่ 1.16 ลักษณะของดีเอ็นเอที่มีเบสซ้ำ (repetitive DNA) และเบสซ้ำกระจาย (interspersed repeats)

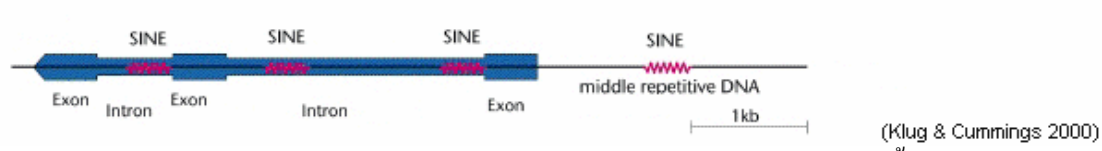


ภาพที่ 1.17 ความแปรปรวนของจำนวนซ้ำของเบสซ้ำต่อเนื่อง

(ที่มา : http://genetics.biol.ttu.edu/genetics/pictures/vntr2.gif, 2547)



ภาพที่ 1.18 ลักษณะเบสซ้ำต่อเนื่องแบบ Minisatellite DNA หรือ variable number of tandem repeat



ภาพที่ 1.19 Short interspersed elements (SINES) คือ เบสกระจายแบบสั้น