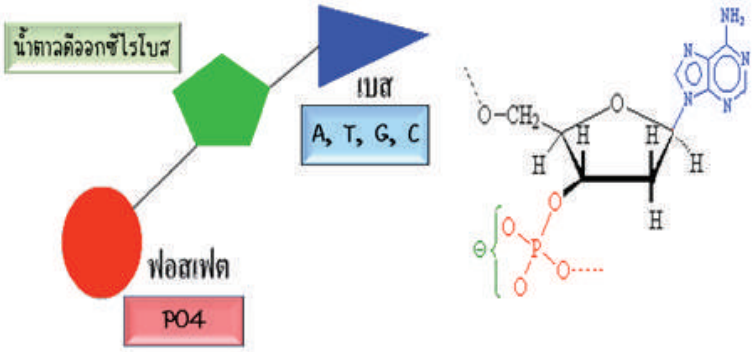
ความรู้พื้นฐานด้านชีวโมเลกุล: ดีเอ็นเอ (DNA)

สพ.ญ. ดร.สายใจ ชื่นสุข
ผู้เชี่ยวชาญด้านยีนและโรคทางพันธุกรรมสัตว์
สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

ดีเอ็นเอ (DNA)

ดีเอ็นเอ (DNA) เป็นชื่อย่อของสารพันธุกรรมจำพวกกรดนิวคลีอิก (Nucleic acid) ที่มีชื่อเต็มว่า กรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (Deoxyribonucleic Acid) สามารถพบได้ในส่วนของใจกลางของเซลล์ และถือว่าเป็นหน่วยพันธุกรรมที่เล็กที่สุดของสิ่งมีชีวิต มักพบอยู่ในส่วนของนิวเคลียสของเซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด ได้แก่ คน (Human) สัตว์ (Animal) พืช (Plant) เห็ดและรา (Fungi) แบคทีเรีย (Bacteria) และ ไวรัส (Virus) บางชนิด เป็นส่วนเก็บข้อมูลทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งๆเอาไว้ ซึ่งมีลักษณะที่มีการผสมผสานมาจากสิ่งมีชีวิตรุ่นก่อน ซึ่งก็คือ รุ่นพ่อและแม่ (Parent) ทั้งยังสามารถถ่ายทอดลักษณะไปยังสิ่งมีชีวิตรุ่นถัดไป ซึ่งก็คือรุ่นลูกหรือรุ่นหลาน (Offspring)

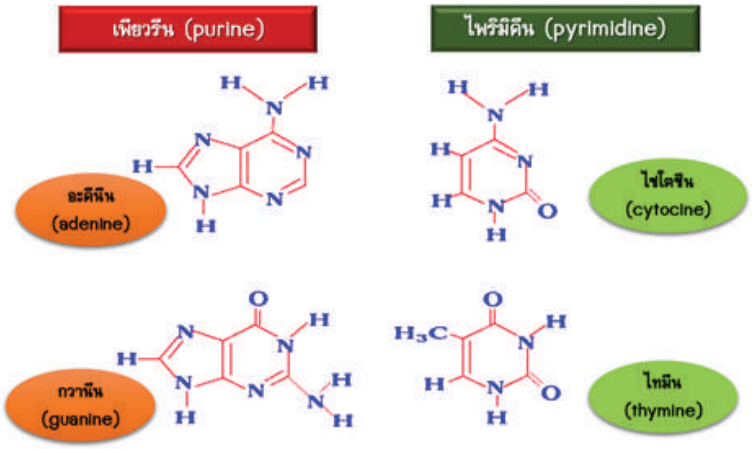
ดีเอ็นเอเป็นโมเลกุลที่ประกอบด้วย น้ำตาลเพนโทสซึ่งมีคาร์บอน 5 อะตอมเรียกว่าดีออกซีไรโบส (Deoxyribose Sugar) หมู่ฟอสเฟต (Phosphate Group) และเบส จับกันด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) รวมเรียกว่านิวคลีโอไทด์ (nucleotide) โดยที่ Polynucleotide ทั้ง 2 สายนี้เอาส่วนที่เป็นน้ำตาลดีออกซีไรโบส (Deoxyribose Sugar) ไว้ด้านนอกและหันส่วนที่เป็นเบสเข้าหากัน



แสดง: โครงสร้างของนิวคลีโอไทด์ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลดีออซีไรโบส หมู่ฟอสเฟต และเบส

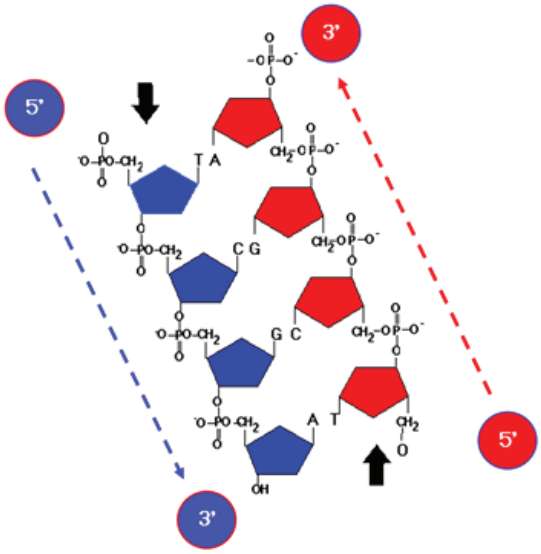
เบสในนิวคลีโอไทด์แบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ เพียวรีน (purine) และไพริมิดีน (pyrimidine) ในกลุ่มของ purine base จะแบ่งออกเป็น อะดีนีน (Adenine, A) และกวานีน (Guanine, G) ส่วนกลุ่มของ pyrimidine base จะแบ่งออกเป็น ไซโตซีน (Cytosine, C) และไทมีน (Thymine, T) การจับกันของคู่เบสระหว่างสายดีเอ็นเอจะอาศัยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) โดยที่ A จะเชื่อมกับ T ด้วยพันธะไฮโดรเจนแบบพันธะคู่

หรือ Double Bonds และ C จะเชื่อมกับ G ด้วยพันธะไฮโดรเจนแบบพันธะสามหรือ Triple Bonds โดยเบสที่เข้าคู่กันได้เรียกว่า Complementary base และเป็นชนิดไนโตรจีนัสเบส (Nitrogenous Base) ข้อมูลทางพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตต่างๆเกิดขึ้นจากการเรียงลำดับเบส (A, T, C และ G) ในดีเอ็นเอนั่นเอง



แสดง: ประเภทของนิวคลีไทด์เบสในดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอมีรูปร่างเป็นเกลียวคู่ (Double Helix) โดยมี Polynucleotide 2 สาย เรียงตัวในแนวที่ตรงกันข้ามกัน โดยสายหนึ่งเรียงตัวในทิศทางจาก 3’ ไป 5’ ส่วนอีกสายหนึ่งเรียกว่า complementary strand จะเรียงตัวในทิศทาง 5’ ไป 3’



แสดง: โครงสร้างของดีเอ็นเอเกลียวคู่

ดีเอ็นเอมีสภาวะความเป็นกรดและมีสภาวะประจุเป็นประจุลบ หากดีเอ็นเอได้รับรังสีเอ็กซ์ (X-rays) หรือความร้อนหรือสารเคมีบางตัว จะทำให้พันธะไฮโดรเจนของเบสที่ยึดกันระหว่างในสายดีเอ็นเอถูกทำลาย สายคู่ของดีเอ็นเอที่ยึดเกาะกันจะแยกออกจากกันเรียกว่า การทำให้เสียสภาพ (Denaturation) อย่างไรก็ตามดีเอ็นเอสามารถกลับมาเป็นเกลียวคู่ได้ใหม่เมื่อกลับสู่สภาวะเดิม เรียกว่า การคืนสภาพหรือ Renaturation ดีเอ็นเอในบริเวณที่มีเบส A และ T มากจะใช้อุณหภูมิในการแยกสายคู่ของดีเอ็นเอน้อยกว่าบริเวณที่มีเบส G และ C มาก เพราะ A กับ T เชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจนแบบพันธะคู่ หรือ Double Bonds จึงใช้พลังงานในการแยกน้อยกว่า C กับ G ซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจนแบบพันธะสาม หรือ Tripler Bonds

หน้าที่ของดีเอ็นเอ

ดีเอ็นเอทำหน้าที่เป็นแหล่งข้อมูลทางพันธุกรรม (Heredity) ของสิ่งมีชีวิตได้โดยอาศัยการเก็บในรูปของรหัสพันธุกรรม (genetic code) ซึ่งขณะที่เซลล์แบ่งตัวนั้นส่วนของดีเอ็นเอจะมีการจำลองตัวเอง (replication) โดยดีเอ็นเอเกลียวคู่จะแยกออกจากกันเป็นสายเดี่ยวเพื่อใช้เป็นต้นแบบ (template) ให้กับการสังเคราะห์โพลีนิวคลีโอไทด์สายใหม่ โดยการเติมนิวคลีโอไทด์ทีละหนึ่งโมเลกุลในทิศทาง 5’ ไปยัง 3’ ซึ่งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase มีผลให้ดีเอ็นเอเกลียวคู่ที่จำลองขึ้นใหม่จะประกอบด้วยโพลีนิวคลีโอไทด์จากสายต้นแบบเดิมกับสายที่เกิดจากการสังเคราะห์ใหม่เสมอ จึงเรียกการจำลองตัวเองในลักษณะนี้ว่าการจำลองตัวเองแบบกึ่งอนุรักษ์ (semiconservative replication)

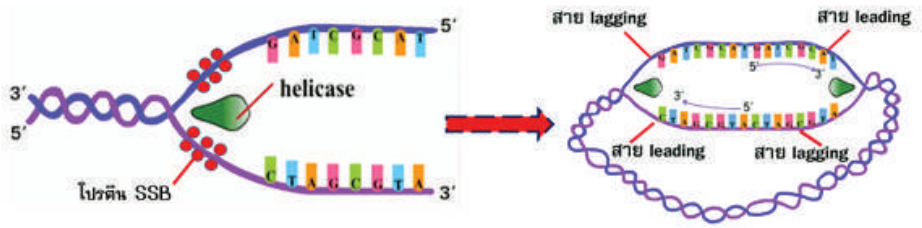
นอกจากนี้ดีเอ็นเอยังมีหน้าที่ในการควบคุมการแสดงออกของสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยการทำงานของยีน (gene) ซึ่งเป็นหน่วยอยู่บนดีเอ็นเอ โดยที่แต่ละยีนจะควบคุมลักษณะที่สิ่งมีชีวิตแสดงออก (phenotype) แตกต่างกันออกไป ซึ่งการควบคุมอย่างหนึ่งคือการที่สิ่งมีชีวิตนั้นมีการสร้างโปรตีนหรือเอนไซม์ที่แตกต่างกัน โดยเริ่มต้นขบวนการจากในนิวเคลียสโดยยีนมีการถอดรหัส (transcription) เป็นกรดนิวคลีอิคชนิดอาร์เอ็นเอ (RNA, ribonucleic acid) เรียกว่า mRNA (messenger RNA) ซึ่งเป็นโพลีนิวคลีโอไทด์สายเดี่ยว โดยอาศัยเอนไซม์ RNA polymerase จากนั้น mRNA จะออกจากนิวเคลียสมายังไซโตพลาสซึมเพื่อทำการแปลรหัส (translation) เป็นโปรตีนหรือเอนไซม์เพื่อทำหน้าที่ในเซลล์อีกต่อหนึ่ง โดยอาศัย tRNA (transfer RNA), กรดอะมิโน, rRNA (ribosomal RNA), ไรโบโซม และ translation factors ต่างๆ

ขั้นตอนการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (DNA replication) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

1. การเริ่มต้นการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (**initiation of** DNA replication)

ในดีเอ็นเอนั้นจะมีจุดสำหรับเริ่มการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (origin of DNA replication หรือ ori) จะมีโปรตีนเข้ามากระตุ้นให้ดีเอ็นเอที่จุดเริ่มต้นดังกล่าวเกิดการคลายตัว โดยมีเอนไซม์เฮลิเคส (helicase) เข้ามาตัดหรือทำลายพันธะไฮโดรเจนในสายของดีเอ็นเอเพื่อให้ดีเอ็นเอสายเกลียวคู่เป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว โดยจะเกิดการแยกตัวของสายดีเอ็นเอที่เรียกว่า “เรพลิเคชันฟอร์ค (replication fork)” ซึ่งโปรตีน SSB (Single Strand Binding protein) จะเข้ามาจับเพื่อป้องกันไม่ให้สายของดีเอ็นเอสร้างพันธะไฮโดรเจนขึ้นมาอีกในระหว่างขั้นตอน เมื่อดีเอ็นเอสายเกลียวคู่ได้

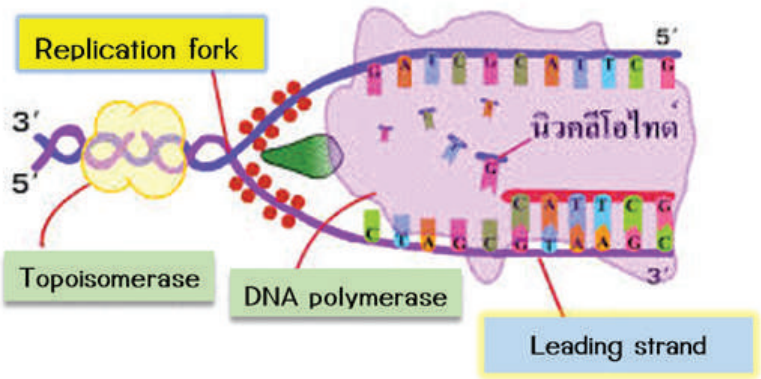
ถูกแยกออกจากกันแล้ว ส่วนที่อยู่ตรงเหนือจุดแยกของดีเอ็นเอสายเกลียวคู่นั้นจะเกิดการขดม้วนตัวเป็นกลายเป็นเกลียวซ้อนเกลียวเกิดขึ้น (super coiling) มีผลทำให้เอนไซม์ helicase ไม่สามารถที่จะทำการแยกสายดีเอ็นเอเกลียวคู่ให้เป็นดีเอ็นเอแม่แบบต่อไปได้ ซึ่งจะมีเอนไซม์โทโปไอโซเมอเรส (topoisomerase) จะเข้ามาทำหน้าที่ในการคลายเกลียวในบริเวณที่เกิดเป็นเกลียวซ้อนเกลียว (super coiling) ของดีเอ็นเอโดยทำการตัดในส่วนของ phosphate backbone ของดีเอ็นเอ เพื่อลดการพันกันที่ยุ่งเหยิงและการขมวดปมของสายดีเอ็นเอในระหว่างการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอขึ้นมาอีก



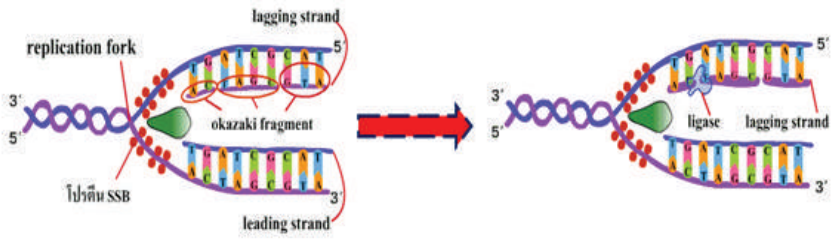
2. การขยายยาวของสายโพลีนิวคลีโอไทด์สายใหม่ (polymerization of DNA replication)

เมื่อดีเอ็นเอทั้งสองสายได้แยกออกจากกันแล้ว เอนไซม์ DNA polymerase III หรือเรียกสั้นๆว่า DNA pol III จะเข้ามาตรงที่จุดที่แยกออกเพื่อสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ขึ้น โดยอาศัยคุณสมบัติในการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่จากทิศ 5' ไป 3' แต่ดีเอ็นเอแม่แบบจะมี 2 สาย ทั้งที่เป็นทิศ 3' ไป 5' และทิศ 5' ไป 3' ดังนั้น การสร้างสายดีเอ็นเอจึงสามารถแบ่งได้เป็น 2 แบบ ดังนี้

2.1 สายต่อเนื่อง (Leading strand) คือสายดีเอ็นเอแม่แบบที่มีทิศจาก 3' ไป 5' ในสายนี้ DNA pol III จะสามารถสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ได้อย่างต่อเนื่อง เริ่มต้นโดยเอนไซม์ Primase (ไพรเมส) ทำการสร้างไพรเมอร์ (Primer) ที่เป็นอาร์เอ็นเอ (RNA) สายสั้นๆหรืออาร์เอ็นเอไพรเมอร์ (RNA Primer) ซึ่งมีขนาดประมาณ 10-26 นิวคลีโอไทด์ เข้ามาจับกับดีเอ็นเอตรงจุดที่แยกออก จากนั้น DNA polymerase III จะเข้าไปเติม dNTPs เข้ามาบนสายดีเอ็นเอแม่แบบในทิศทาง 5' ไป 3' ไปเรื่อยๆ

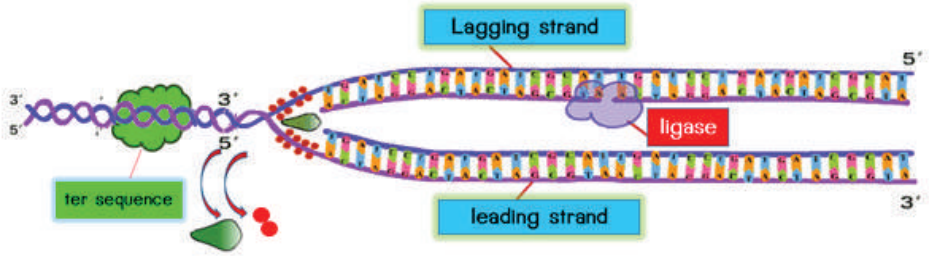


2.2 สายไม่ต่อเนื่อง (Lagging strand) คือสายดีเอ็นเอแม่แบบที่มีทิศจาก 5’ ไป 3’ ทำให้ DNA polymerase III ไม่สามารถสร้างสายดีเอ็นเอแบบต่อเนื่องได้ แต่จะทำให้ดีเอ็นเอแม่แบบสายนี้จะม้วนงอผ่าน DNA polymerase III เพื่อจะทำให้ DNA polymerase III สามารถสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ในทิศทาง 5’ ไป 3’ โดยจะสร้างดีเอ็นเอเป็นสายสั้นๆ เรียกว่าโอคาซากิ แฟรกเม้นต์ (Okazaki fragment) โดย Primase จะทำการสร้าง RNA Primer สำหรับในการสร้างชิ้นส่วนโอคาซากิแต่ละชิ้น จากนั้น DNA polymerase I จะทำหน้าที่ตรวจสอบความถูกต้องของลำดับของสายดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นมาใหม่ ทำลายส่วนของ RNA Primer และซ่อมแซมส่วนที่ถูกตัดออกไปโดย DNA polymerase I จุดที่ถูกตัดจะถูกเชื่อมด้วยเอนไซม์ดีเอ็นเอไลเกส (DNA ligase) โดยที่ในสายต่อเนื่อง (Leading strand) จะตัดครั้งเดียว ส่วนสายไม่ต่อเนื่อง (Lagging strand) จะตัดไพรเมอร์ (Primer)ของชิ้นส่วนโอคาซากิทุกชิ้น



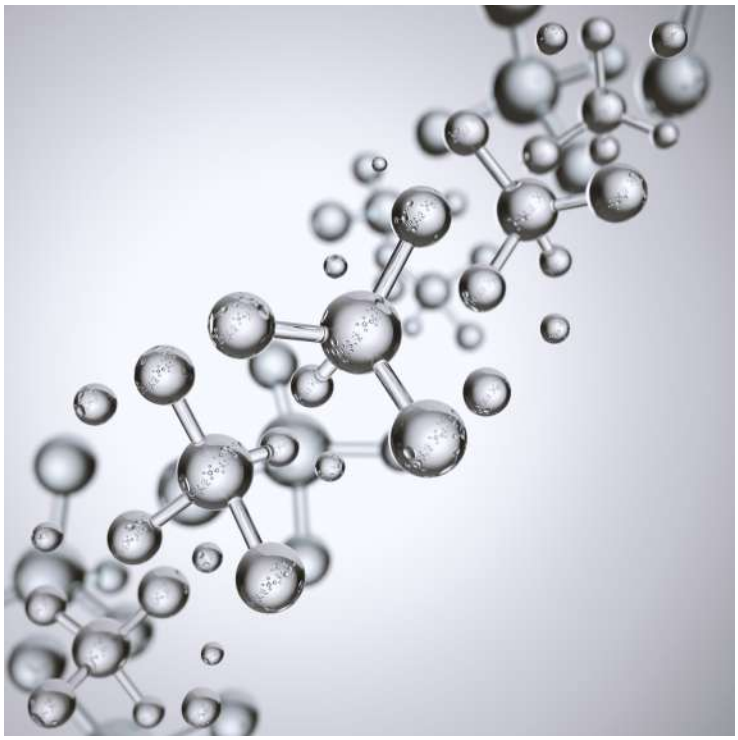
3. การสิ้นสุดการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอ (termination of DNA replication)

การจำลองตัวเองของดีเอ็นเอจะมีตำแหน่งที่เป็นจุดสิ้นสุดของการจำลองตัวเองของดีเอ็นเออยู่ (Termination site) ที่ตำแหน่งนี้มีขนาดประมาณ 20 คู่เบส ที่เรียกว่า ter sequence โดยจะมีโปรตีนที่ทำการจดจำตำแหน่งนี้เข้ามาจับที่ ter sequence เพื่อทำให้ DNA polymerase III ได้หยุดการจำลองตัวเองของดีเอ็นเอลง



เอกสารอ้างอิง

Genetics Home Reference. 2019. What is a cell? Available source: https://ghr.nlm.nih.gov/ primer/basics/cell, September 1, 2020).

kazilek. 2009, Cell Parts | Ask A Biologist. Available source: https://askabiologist.asu.edu/cell-parts, September 2, 2020).

U.S. National Library of Medicine National Institutes of Health Department of Health & Human Services. 2020. Cells and DNA. Available source: https://ghr.nlm.nih.gov/, September 8, 2020.