

Central dogma: transcription and translation

โมเลกุลของดีเอ็นเอไม่ได้เป็นเพียงสายนิวคลีโอไทด์ที่ยาวและน่าเบื่อ แต่จะแบ่งออกเป็นหน่วยการทำงานที่เรียกว่ายีน ในหลาย ๆ กรณีผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานได้ของยีนคือโปรตีน เช่น ยีนสีดอกไม้มองเมดลให้ข้อมูลเป็นโปรตีนที่ช่วยสร้างเม็ดสีในกลีบดอกไม้

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานได้ของยีนที่รู้จักกันมากที่สุดคือโปรตีนหรือโพลีเปปไทด์ (polypeptides) โพลีเปปไทด์ประกอบด้วยกรดอะมิโน แม้ว่าโปรตีนหลายชนิดประกอบด้วยโพลีเปปไทด์เดียว แต่บางชนิดก็ประกอบด้วยโพลีเปปไทด์หลายตัว ยีนที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นโพลีเปปไทด์เรียกว่ายีนที่สังเคราะห์โปรตีน (protein-coding genes)

ไม่ใช่ยีนทั้งหมดที่ให้โพลีเปปไทด์ แต่ยีนบางตัวช่วยให้เกิดการสังเคราะห์โมเลกุล RNA เช่น transfer RNAs และ ribosomal RNA

เราได้พิจารณาเป็น

- หน่วยพันธุกรรม
- บริเวณของลำดับนิวคลีโอไทด์หนึ่งในโครโมโซม
- ลำดับดีเอ็นเอที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นโพลีเปปไทด์

ยีนสามารถเป็นบริเวณหนึ่ง ๆ ของดีเอ็นเอที่ให้ผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานได้ขั้นสุดท้ายเป็นโมเลกุลของโพลีเปปไทด์หรืออาร์เอ็นเอ

DNA -> RNA; RNA -> protein

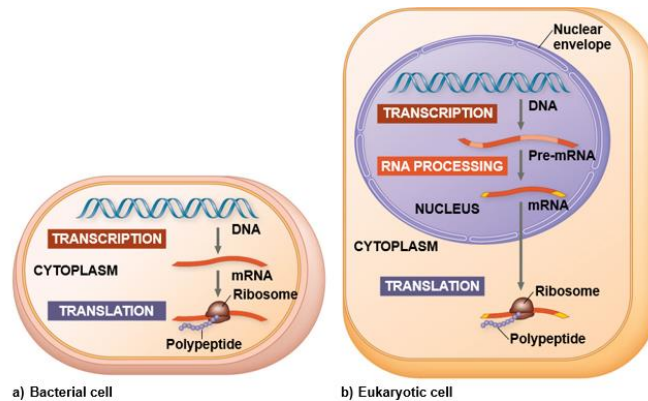
ข้อมูลทางพันธุกรรมในเซลล์จากดีเอ็นเอ -> mRNA -> โปรตีน

ยีนระบุลำดับของ mRNAs ซึ่งจะระบุลำดับของโปรตีน

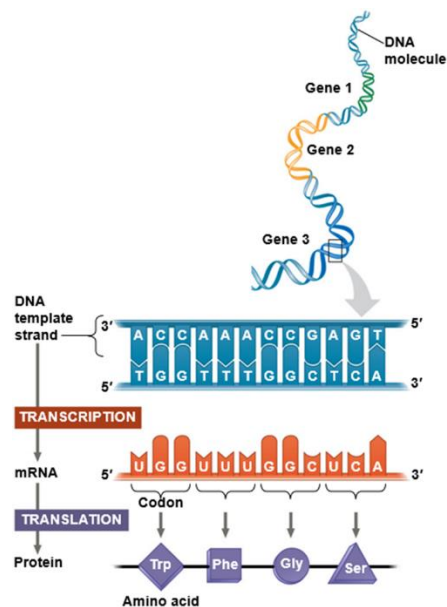
หลักการของ transcription และ translation

- RNA เป็นสะพานเชื่อมระหว่างยีนและโปรตีน
- transcription เป็นสังเคราะห์ RNA โดยใช้ข้อมูลใน DNA
- transcription ผลิต RNA (mRNA)
- translation เป็นสังเคราะห์เพปไทด์ที่ใช้ข้อมูลใน mRNA
- ไรโบโซมเป็นที่ที่เกิดของ translation
- Translation ของ mRNA ในโปรคาริโอต สามารถเริ่มได้ก่อนที่ transcription จะเสร็จสิ้น
- Nuclear envelope ในเซลล์ยูคาริโอตจะแยก transcription ออกจาก translation

- RNA ที่ได้จาก transcription ในเซลล์ของ eukaryotes มีการแก้ไขที่เรียกว่า RNA processing เพื่อให้ได้ mRNA ที่สมบูรณ์



รูปที่ 1 ภาพรวมของ transcription และ translation



รูปที่ 2 Codons

Codons

หนึ่งในสองเส้นดีเอ็นเอจะเป็นตัวแบบ (template) สำหรับ transcription เพื่อให้ได้อาร์เอ็นเอ เส้นแม่แบบเป็นเส้นเดียวกันสำหรับยีนนั้นเสมอ

codons จะอ่านจาก 5' → 3' ในระหว่าง translation

ดีเอ็นเอสายที่ไม่ใช่ตัวแบบ (non-template strand) ถูกเรียกว่า coding strand เพราะว่าลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอสายนี้จะเหมือนกับสาย mRNA ที่ถูกสร้างขึ้นมา ยกเว้นมีเบส U มาแทนที่เบส T แต่ละโคดอนจะเป็นรหัสของกรดอะมิโน

61 โคดอนให้รหัสสำหรับกรดอะมิโน อีก 3 โคดอนจะให้ “หยุด” เพื่อให้ยุติ translation รหัสพันธุกรรมซ้ำซ้อน (โคดอนมากกว่าหนึ่งตัวอาจระบุกรดอะมิโนชนิดเดียวกัน)

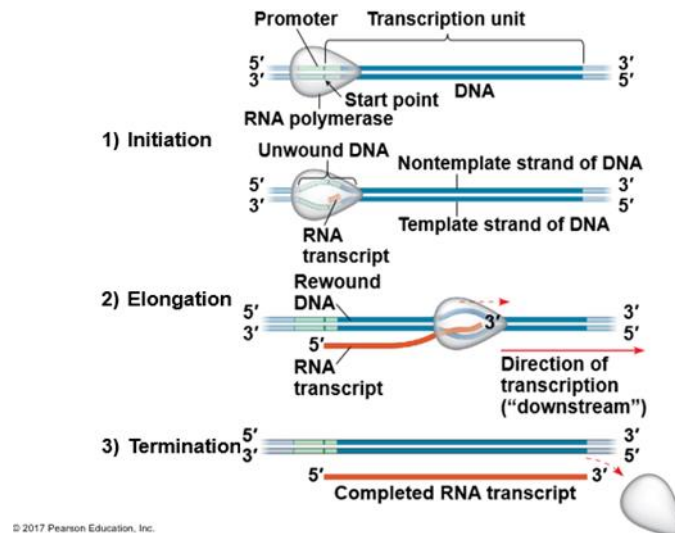
รหัสพันธุกรรมมีความเกือบเป็นสากลร่วมกันจากแบคทีเรียไปจนถึงสัตว์ที่ซับซ้อน ยีนจึงสามารถคัดลอกและแปลหลังจากที่ถูกปลูกถ่ายจากชนิดหนึ่งไปยังอีกชนิดหนึ่งได้

		Second mRNA base				
		U	C	A	G	
First mRNA base (5' end of codon)	U	UUU } Phe (F) UUC } UUA } Leu (L) UUG }	UCU } UCC } Ser (S) UCA } UCG }	UAU } Tyr (Y) UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys (C) UGC } UGA Stop UGG Trp (W)	U C A G
	C	CUU } CUC } Leu (L) CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro (P) CCA } CCG }	CAU } His (H) CAC } CAA } Gln (Q) CAG }	CGU } CGC } Arg (R) CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } AUC } Ile (I) AUA } AUG Met (M) or start	ACU } ACC } Thr (T) ACA } ACG }	AAU } Asn (N) AAC } AAA } Lys (K) AAG }	AGU } Ser (S) AGC } AGA } Arg (R) AGG }	U C A G
	G	GUU } GUC } Val (V) GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala (A) GCA } GCG }	GAU } Asp (D) GAC } GAA } Glu (E) GAG }	GGU } GGC } Gly (G) GGA } GGG }	U C A G

รูปที่ 3 ตาราง Codon

Transcription เป็นขั้นตอนแรกของการแสดงออกของยีน

การสังเคราะห์ RNA ใช้เอนไซม์ RNA polymerase ซึ่งจะแยกสายดีเอ็นเอออกจากกันและใช้ต่อโมเลกุลของ RNA nucleotides โมเลกุลของ RNA ที่สังเคราะห์นี้จะเข้ากันได้กับสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบ (ยกเว้นไม่มี Thymine แต่มี Uracil แทน) เอนไซม์ RNA polymerase นี้ไม่ต้องใช้ primers



รูปที่ 4 ภาพรวมของ transcription

บริเวณของดีเอ็นเอที่ RNA polymerase มาจับเรียกว่า **promoter**

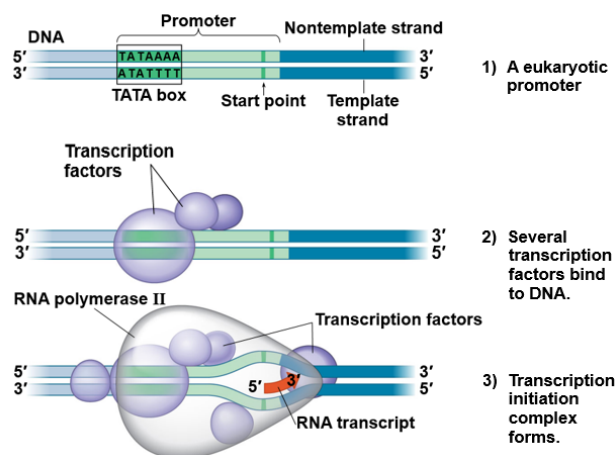
ลำดับเบสที่ส่งสัญญาณให้หยุดการ transcript ในแบบที่เรียกว่า terminator

บริเวณของดีเอ็นเอที่ถูกถอดรหัสเรียกว่า transcription unit

Transcription มีสามระยะ ได้แก่ initiation เริ่ม, elongation ต่อ และ termination หยุด

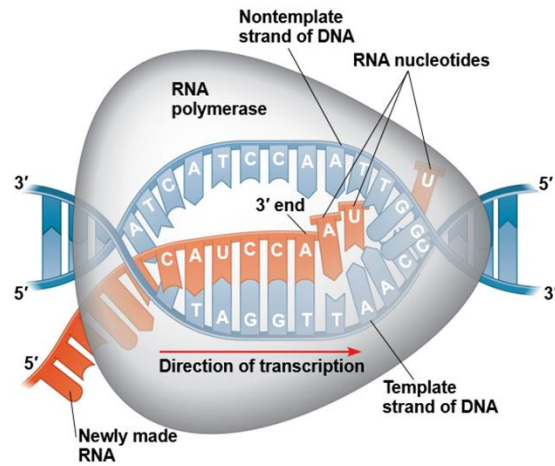
โปรโมเตอร์ที่จุดเริ่มต้นของกระบวนการทั้งหมดนี้จะอยู่ด้านหน้าบริเวณที่จะถูกถอดรหัสไปประมาณหนึ่ง มี transcription factors ช่วยจับ RNA polymerase ทั้ง RNA polymerase II และ transcription factors นี้เมื่อจับกันรวมเรียกว่า transcription initiation complex

โปรโมเตอร์ที่เรียกว่า TATA box เป็นบริเวณที่สำคัญในการจับกันและทำให้เกิด transcription initiation complex ใน eukaryotes



รูปที่ 5 Transcription initiation ใน eukaryotes

RNA polymerase จะทำหน้าที่คลายเกลียวของดีเอ็นเอพร้อมกับเคลื่อนที่ไปบนดีเอ็นเอ ยีนหนึ่ง ๆ สามารถถูกถอดรหัสได้พร้อม ๆ กันด้วย RNA polymerase หลาย ๆ โมเลกุล นิวคลีโอไทด์จะถูกเพิ่มไปทางด้าน 3' ของ RNA ที่กำลังถูกสังเคราะห์



รูปที่ 6 Elongation

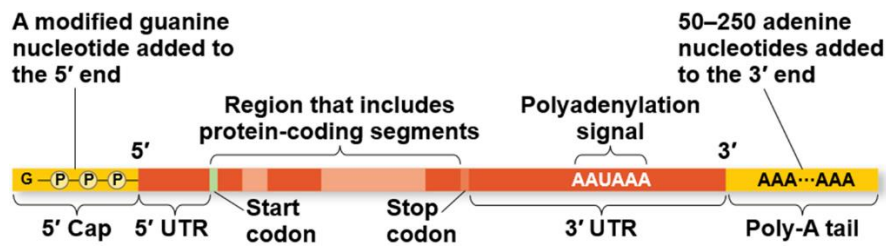
แบคทีเรียและ eukaryotes มีกระบวนการหยุด (termination) การสังเคราะห์ RNA ที่แตกต่างกัน ในแบคทีเรีย RNA polymerase หยุดการถอดรหัสที่บริเวณที่มีสัญญาณให้หยุด (terminator) และ mRNA ที่ได้จะนำไปแปลรหัส(translate) ทันทีโดยไม่ต้องเปลี่ยนแปลงใดๆ

แต่ใน eukaryotes, การหยุดการสังเคราะห์ mRNA เกิดเมื่อ RNA polymerase II ถอดรหัสเบสที่มีแต่ A (polyadenylation signal)

RNA processing

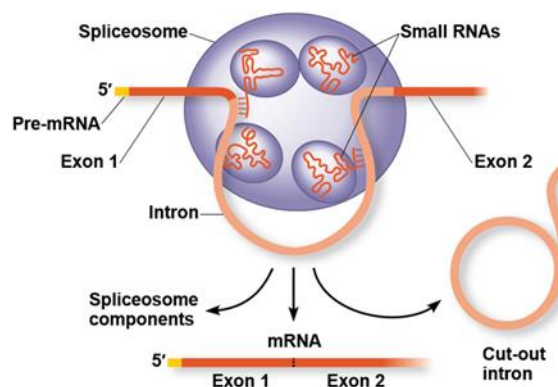
RNA ของ eukaryotes ที่สังเคราะห์ได้จะถูกตกแต่งจาก pre-mRNA ให้กลายเป็น mRNA ที่พร้อมใช้งานโดยกระบวนการ RNA processing ที่เกิดในนิวเคลียส ในกระบวนการ RNA processing นี้ pre-mRNA จะถูกตกแต่ง ส่วนมากด้วยการตัดและต่อ

ส่วนปลายของ pre-mRNA มีการตกแต่งโดยที่ปลาย 5' จะมีการเติมนิวคลีโอไทด์ที่เรียกว่า cap ขณะที่ปลาย 3' มีการเติม poly-A tail การเติมนี้นำทางให้ mRNA ออกสู่ cytoplasm ช่วยให้ mRNA ไม่ถูกทำลาย และช่วยให้ไรโบโซมเกาะที่ปลาย 5'



รูปที่ 7 RNA processing, 5' cap และ 3' poly-A tail

ในบางกรณีส่วนประกอบที่เรียกว่า spliceosome ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนและ small RNA จะเข้ามาช่วยตัดและต่อสาย pre-mRNA

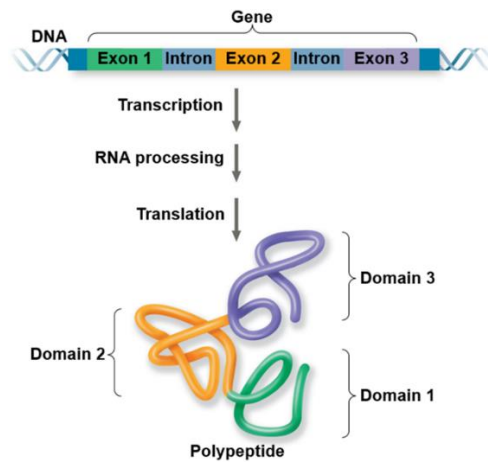


รูปที่ 8 Spliceosome

ribozymes เป็นโมเลกุล RNA ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาและสามารถตัดอาร์เอ็นเอ

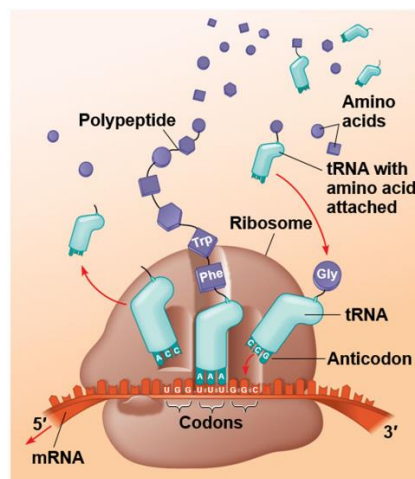
introns บางชนิดมีลำดับเบสที่อาจควบคุมการแสดงออกของยีน ยีนบางชนิดสามารถถอดรหัส polypeptide ได้มากกว่าหนึ่งชนิด ขึ้นอยู่กับว่าจะเอาส่วนใดของ pre-mRNA เป็น exons การเลือกนี้เรียกว่า alternative RNA splicing ดังนั้นจำนวนโปรตีนที่สิ่งมีชีวิตสามารถผลิตได้จึงมากกว่าจำนวนยีนมาก

โปรตีนมักจะมีส่วนที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันเรียกว่าโดเมน exon ต่างกันมักจะทำให้โดเมนที่ต่างกันด้วย exon ที่เปลี่ยนแปลงไปจึงอาจทำให้เกิดโปรตีนใหม่ ๆ



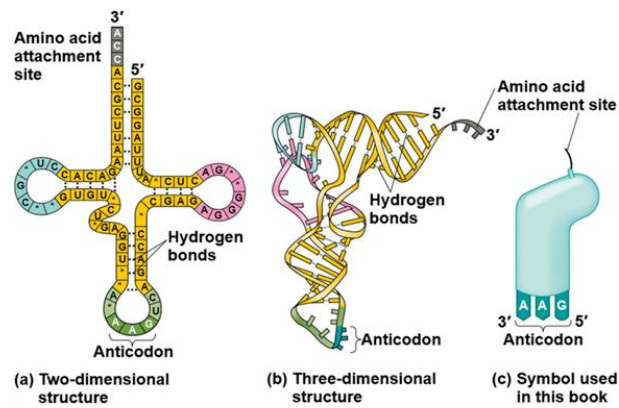
รูปที่ 9 Exons และโดเมนของโปรตีน

Translation: mRNA -> โปรตีน



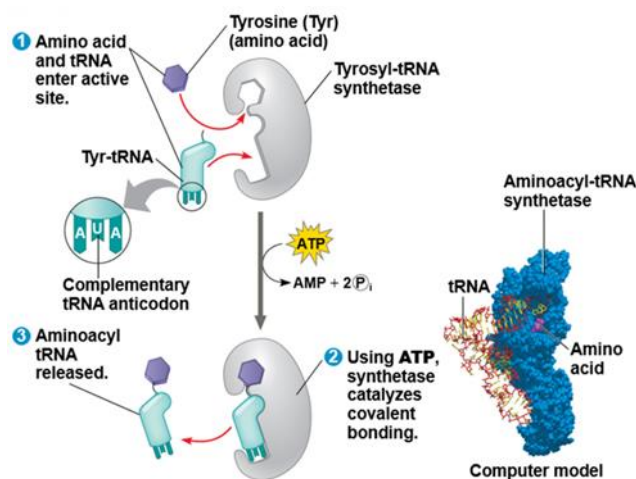
รูปที่ 10 Translation

Transfer RNA (tRNA) นำกรดอะมิโนมาสู่สาย polypeptide ที่อยู่บนไรโบโซม tRNA แต่ละโมเลกุลมีหน้าที่นำกรดอะมิโนเฉพาะตัวของมันเพราะส่วนของ anticodon จะต้องสัมพันธ์กับส่วนของ codon ที่อยู่บนสาย mRNA



รูปที่ 11 โครงสร้างของ tRNA

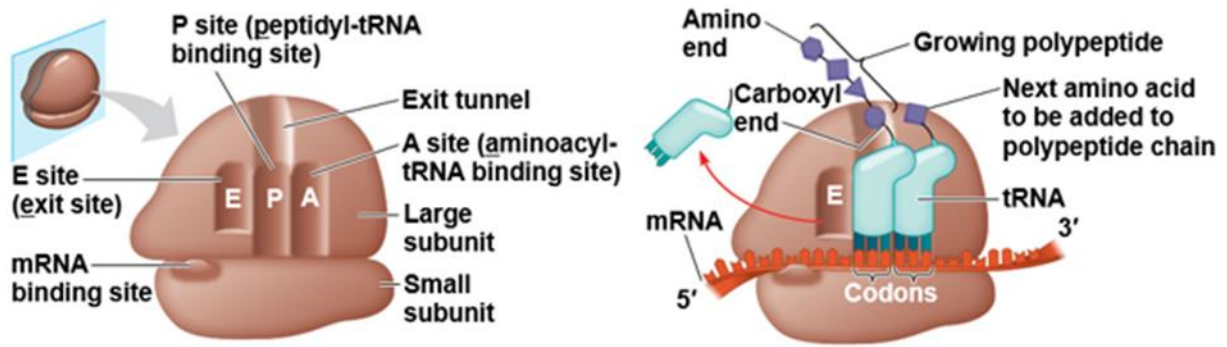
Translation จำเป็นต้องใช้ความจำเพาะของสองอย่างคือ ความจำเพาะระหว่าง tRNA และกรดอะมิโน และระหว่าง anticodon ของ tRNA กับ codon ของ mRNA



รูปที่ 12 เอนไซม์ aminoacyl-tRNA synthetases ทำหน้าที่เชื่อมกรดอะมิโนกับ tRNA

หน่วยย่อยของไรโบโซม (เล็กและใหญ่) ประกอบด้วยโปรตีนและ ribosomal RNA (rRNA) ไรโบโซมมีสามบริเวณที่ใช้จับกับ tRNA

- P จับ tRNA ที่มีสาย polypeptide ที่กำลังต่อ
- A จับ tRNA ที่มีกรดอะมิโน (amino acid) ที่จะเข้ามาต่อเป็นลำดับถัดไป
- E ทางออก (exit) ของ tRNA ที่ใช้แล้ว



รูปที่ 13 บริเวณที่ทำหน้าที่ของไรโบโซม

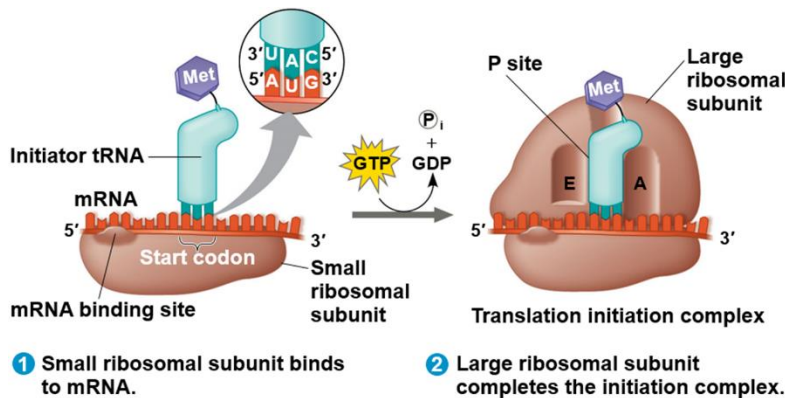
Translation มีสามขั้นตอน คือ initiation เริ่ม, elongation ต่อ และ termination หยุด ทั้งสามขั้นตอนจำเป็นต้องใช้โปรตีนเพื่อช่วยในกระบวนการ รวมถึงต้องใช้พลังงานด้วย

AUG เป็นโคดอนที่เริ่มกระบวนการ translation

หน่วยย่อยเล็กของไรโบโซมเข้าจับกับ mRNA และ tRNA

หน่วยย่อยเล็กของไรโบโซมเคลื่อนที่ไปบน mRNA จนถึง start codon

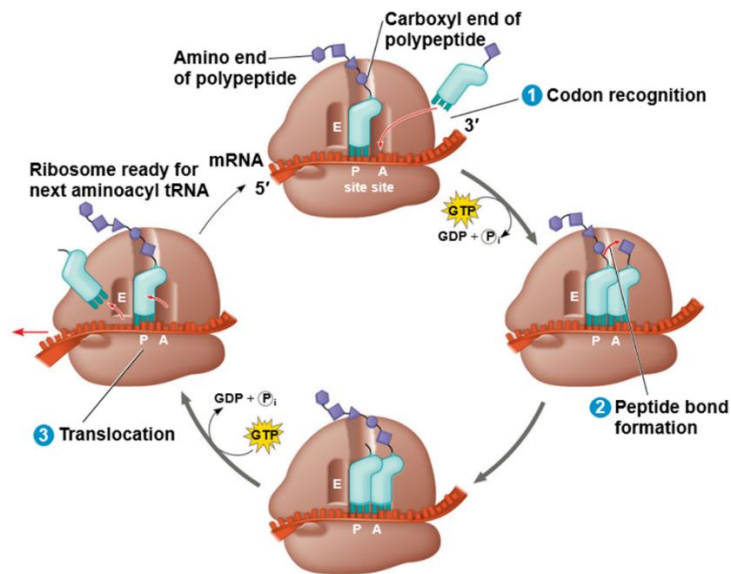
โปรตีนที่เป็น initiation factor นำหน่วยย่อยใหญ่ของไรโบโซมเข้ามา ทำให้ translation initiation complex สมบูรณ์



รูปที่ 14 การเริ่มกระบวนการ translation

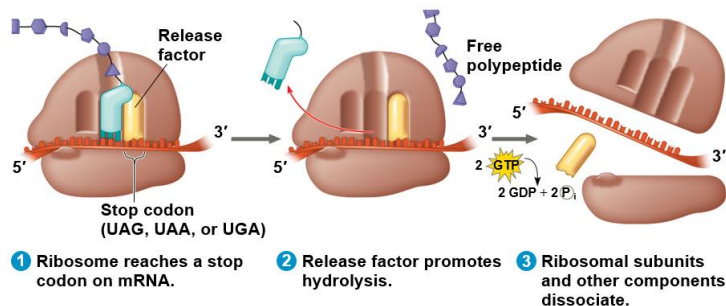
ในระหว่างช่วง elongation กรดอะมิโนจะถูกเพิ่มเข้าไปครั้งละหนึ่งโมเลกุลที่ปลาย C-terminus ของสาย polypeptide โปรตีนที่เรียกว่า elongation factors มีส่วนช่วยในการเพิ่มโมเลกุลกรดอะมิโนเข้าไปในสาย ช่วง elongation นี้แบ่งได้เป็นสามระยะย่อย ได้แก่การจดจำของโคดอน การเกิดพันธะเปปไทด์ และการเคลื่อนย้ายของกรดอะมิโน มีการใช้พลังงานในระยะย่อยที่หนึ่งและสาม

กระบวนการแปลรหัส translation นี้ดำเนินไปจาก 5' ไป 3' ของสาย mRNA



รูปที่ 15 Elongation

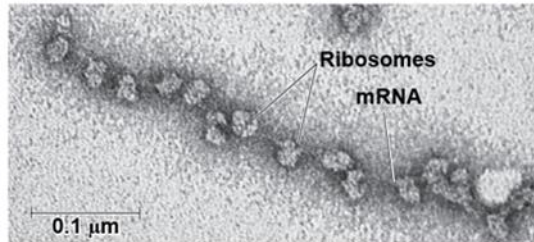
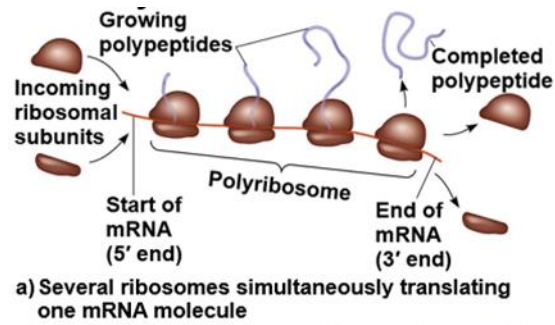
เมื่อถึง Stop codon ที่บริเวณ A ของไรโบโซม โปรตีนที่เรียกว่า release factor จะเข้ามา โปรตีนนี้นำน้ำเข้ามาต่อกับสาย polypeptide ทำให้สาย polypeptide หลุดออก รวมถึงส่วนประกอบทั้งหมด



รูปที่ 16 Termination

โปรตีนที่ได้จากกระบวนการ translation นี้มักจะยังทำงานไม่ได้ สาย polypeptide นี้จะต้องถูกตกแต่งก่อนหรือถูกส่งไปยังบริเวณจำเพาะต่างๆภายในเซลล์ สาย polypeptide จะเริ่มพับและบิดทำให้เกิดรูปร่างต่างๆเช่นโครงสร้างทุติยภูมิและตติยภูมิ โครงสร้างเหล่านี้ถูกกำหนดโดยยีน กระบวนการที่เรียกว่า post-translational modifications มีความสำคัญก่อนที่โปรตีนจะสามารถทำงานได้

สาย mRNA สายหนึ่งสามารถมีไรโบโซมหลายอันมาแปลรหัสพร้อมๆกันได้ เรียกว่า polyribosome หรือ polysome การมี polyribosome ทำให้เซลล์ได้ polypeptide ได้จำนวนมากในเวลาสั้น

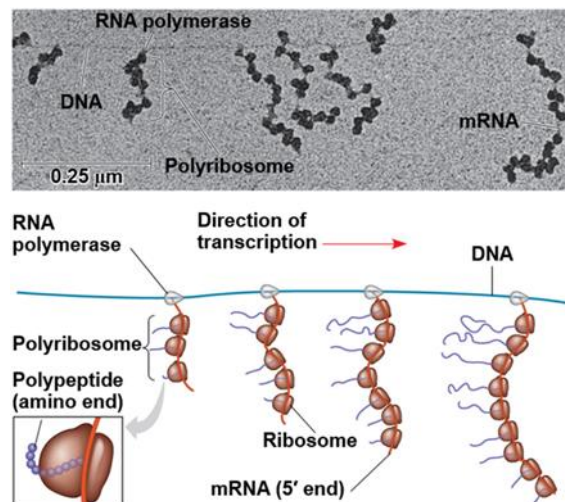


b) A large polyribosome in a bacterial cell (TEM)

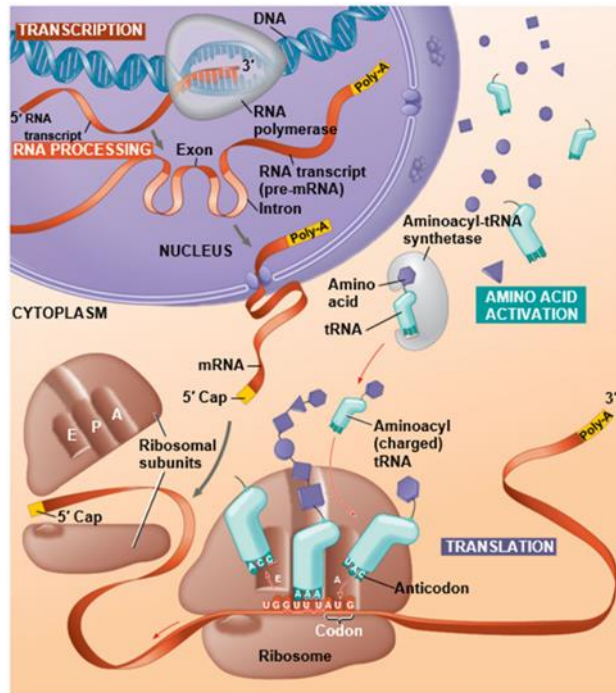
รูปที่ 17 polyribosome

เซลล์แบคทีเรียสามารถเกิด transcription และ translation ไปพร้อม ๆ กันได้ โปรตีนที่ได้จึงสามารถไปทำหน้าที่ของมันได้รวดเร็ว

ใน eukaryotes มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสที่แบ่งกระบวนการทั้งสองออกจากกัน และ RNA ที่ได้ยังต้องผ่านกระบวนการต่าง ๆ จึงออกจากนิวเคลียส



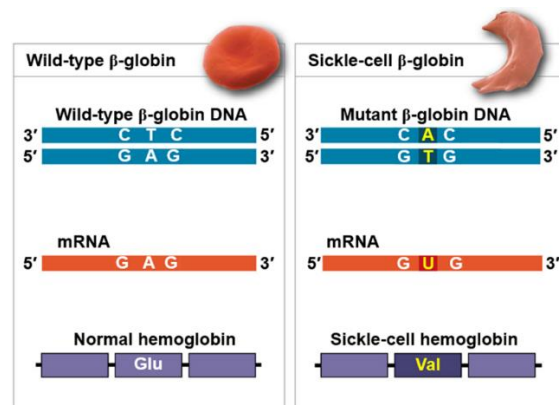
รูปที่ 18 Transcription และ translation ในแบคทีเรีย



รูปที่ 19 สรุปกระบวนการ transcription และ translation ใน eukaryotes

Mutations

การเปลี่ยนแปลงเบสหนึ่งหรือหลายเบสสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีนได้ point mutation เป็นการเปลี่ยนแปลงเพียงหนึ่งนิวคลีโอไทด์ การเปลี่ยนแปลงนี้สามารถเปลี่ยนแปลงการสร้างและทำให้ได้โปรตีนที่ผิดแปลกไป โรค sickle-cell เกิดจากการเปลี่ยนแปลงแบบนี้



รูปที่ 20 Sickle-cell disease

Point mutationsภายในยีนแบ่งได้เป็น substitution และ insertion/deletion

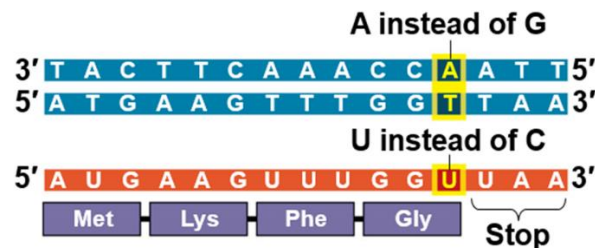
- Substitution:

เบสหนึ่งไปแทนที่เบสหนึ่ง ทำให้เบสที่เข้าคู่กันเปลี่ยนแปลงไปด้วย

Silent mutations กรดอะมิโนที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลงจากของเดิมเนื่องจากหนึ่งกรดอะมิโนมีได้หลายโคดอน

Missense mutations กรดอะมิโนที่ได้เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

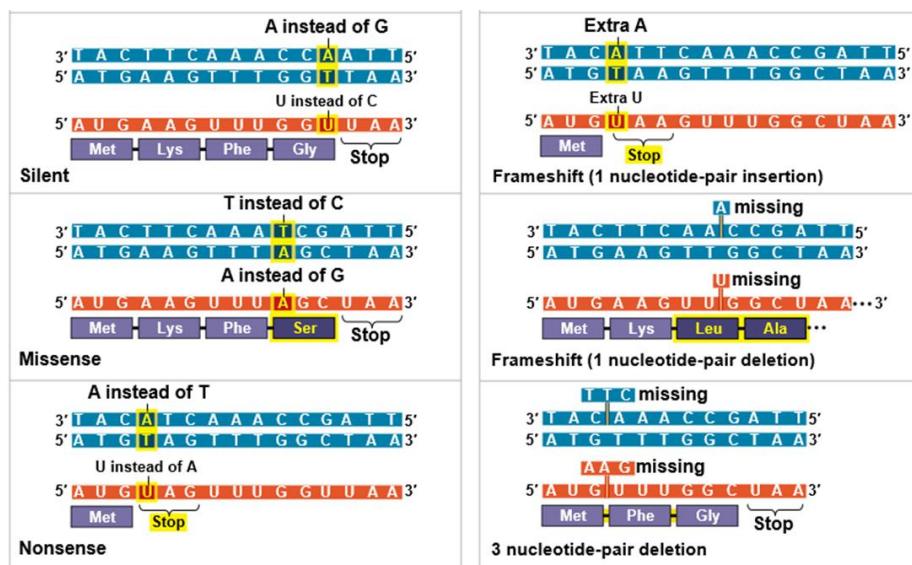
Nonsense mutations เปลี่ยนโคดอนเดิมให้เป็นstop codon ส่วนมากโปรตีนที่ได้ไม่สามารถทำงานได้



รูปที่ 21 Silent mutation

- Insertion/deletion

นิวคลีโอไทด์เพิ่มขึ้นมาหรือหายไป การเปลี่ยนแปลงแบบนี้ทำให้มีผลกระทบต่อโปรตีนมากกว่า substitutions เพราะการเปลี่ยนแปลงแบบนี้ส่งผลต่อลำดับการอ่าน reading frame ซึ่งทำให้เกิด frameshift mutation



รูปที่ 22 Mutations

สารเคมีหรือการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพก็มีส่วนให้เกิด mutations carcinogens ส่วนมากเป็น mutagens และ mutagens ส่วนมากเป็น carcinogens

แบบฝึกหัด

Type of RNA	Functions
Messenger RNA (mRNA)	
Transfer RNA (tRNA)	
	Plays catalytic (ribozyme) roles and structural roles in ribosomes
Primary Transcript	
Small RNAs in the spliceosome	

ลำดับเบสของ RNA เป็น 5' ACG AAA GAU 3' จงหาลำดับกรดอะมิโน

- A. Thr - Lys - Asp
- B. Cys - Phe - Leu
- C. Thr - Asn - Glu
- D. Cys - Lys - Glu

ลำดับเบสของ RNA เป็น 5' AAA AUG AGU AAG 3' จงบอกลำดับเบสบนสาย template ดีเอ็นเอ

- A. 3' AAA ATG AGT AAG 5'
- B. 3' TTT TAC TCA TTC 5'
- C. 3' TTT ATG TGC TTC 5'
- D. 3' UUU TAC UCA UUC 5'