

Central dogma: transcription and translation

โมเลกุลของดีเอ็นเอไม่ได้เป็นเพียงสายนิวคลีโอไทด์ที่ยาวและน่าเบื่อ แต่จะแบ่งออกเป็นหน่วยการทำงานที่เรียกว่ายีน ในหลาย ๆ กรณีผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานได้ในยีนคือโปรตีน เช่นยีนสีดอกไม้มองเมดลให้ข้อมูลเป็นโปรตีนที่ช่วยสร้างเม็ดสีในกลีบดอกไม้

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

ไม่ใช่ยีนทั้งหมดที่ให้โพลีเปปไทด์ แต่ยีนบางตัวช่วยให้เกิดการสังเคราะห์โมเลกุล RNA เช่น transfer RNAs และ ribosomal RNA

เราได้พิจารณายีนเป็น

- หน่วยพันธุกรรม
- บริเวณของลำดับนิวคลีโอไทด์หนึ่งในโครโมโซม
- ลำดับดีเอ็นเอที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นโพลีเปปไทด์

ยีนสามารถเป็นบริเวณหนึ่งของดีเอ็นเอที่ให้ผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานได้ดีที่สุดท้ายเป็นโมเลกุลของโพลีเปปไทด์หรืออาร์เอ็นเอ

DNA -> RNA; RNA -> protein

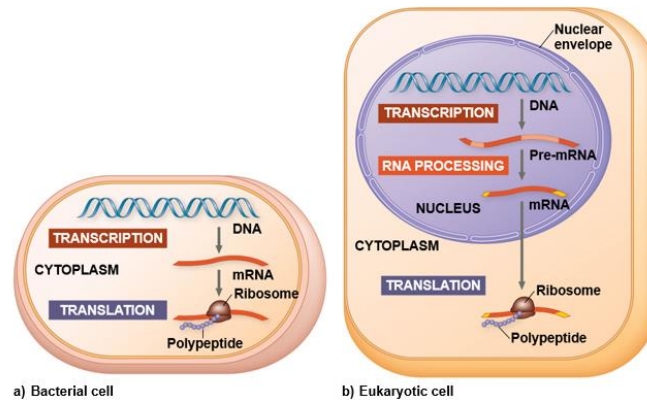
ข้อมูลทางพันธุกรรมในเซลล์จากดีเอ็นเอ, mRNA, โปรตีน

ยีนระบุลำดับของ mRNAs, ซึ่งจะระบุลำดับของโปรตีน

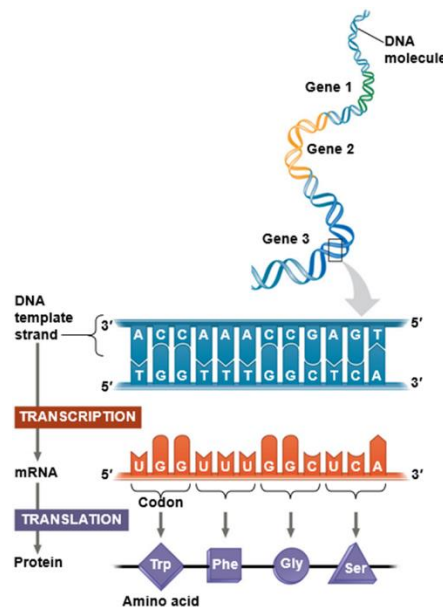
พื้นฐานหลักการของ transcription และ translation

- RNAเป็นสะพานเชื่อมระหว่างยีนและโปรตีน
- transcriptionเป็นสังเคราะห์ RNA โดยใช้ข้อมูลใน DNA
- transcription ผลิต RNA (mRNA)
- translationเป็นสังเคราะห์โพลีเปปไทด์ที่ใช้ข้อมูลใน mRNA
- ไรโบโซมเป็นที่ที่เกิดของtranslation
- Translationของ mRNA ในโปรคาริโอต สามารถเริ่มได้ก่อนที่transcriptionจะเสร็จสิ้น
- Nuclear envelope ในเซลล์ยูคาริโอตจะแยกtranscriptionออกจากtranslation

- RNA ที่ได้จากtranscription ในเซลล์ของeukaryotesมีการแก้ไขที่เรียกว่าRNA processingเพื่อให้ได้mRNA ที่สมบูรณ์



รูปที่ 1 ภาพรวมของ transcription และ translation



รูปที่ 2 Codons

Codons

หนึ่งในสองเส้นดีเอ็นเอจะเป็นตัวแบบ (template) สำหรับtranscription เพื่อให้ได้อาร์เอ็นเอ เส้นแม่แบบเป็นเส้นเดียวกันสำหรับยีนนั้นเสมอ

codons จะอ่านจาก 5' → 3' ในระหว่างtranslation

ดีเอ็นเอสายที่ไม่ใช่ตัวแบบ (non-template strand) ถูกเรียกว่า coding strand เพราะว่าลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอสายนี้จะเหมือนกับสายmRNAที่ถูกสร้างขึ้นมา ยกเว้นมีเบสUมาแทนที่เบสT แต่ละโคดอนจะเป็นรหัสของกรดอะมิโน

61 โคดอนให้รหัสสำหรับกรดอะมิโน อีก 3 โคดอนจะให้“หยุด” เพื่อให้ยุติtranslation รหัสพันธุกรรมซ้ำซ้อน (โคดอนมากกว่าหนึ่งตัวอาจจะบ่งชี้กรดอะมิโนชนิดเดียวกัน)

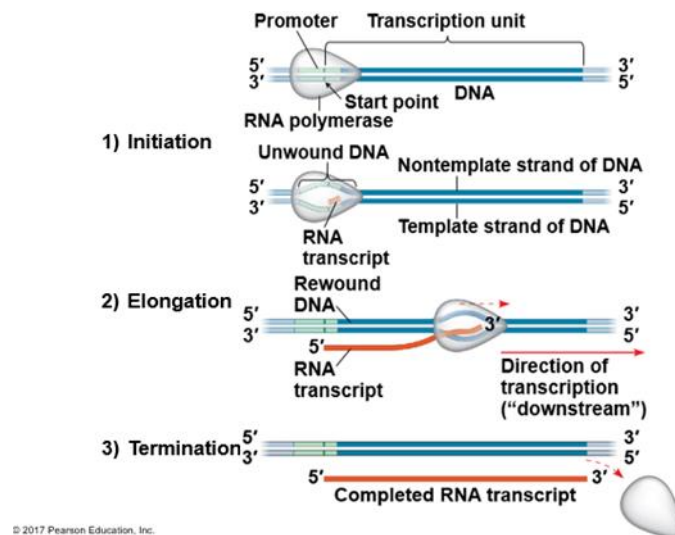
รหัสพันธุกรรมมีความเกือบเป็นสากลร่วมกันจากแบคทีเรียไปจนถึงสัตว์ที่ซับซ้อน ยีนจึงสามารถคัดลอกและแปลหลังจากที่ถูกปลูกถ่ายจากชนิดหนึ่งไปยังอีกชนิดหนึ่งได้

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

บริเวณของดีเอ็นเอที่RNA polymeraseมาจับเรียกว่าpromoter

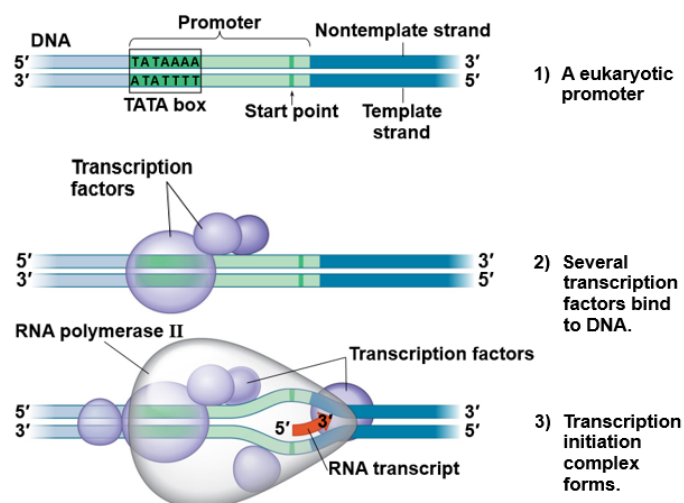
ลำดับเบสที่ส่งสัญญาณให้หยุดการtranscriptในแบคทีเรียเรียกว่าterminator

บริเวณของดีเอ็นเอที่ถูกถอดรหัสเรียกว่าtranscription unit

Transcription มีสามระยะ ได้แก่ initiation เริ่ม, elongation ต่อ, termination หยุด

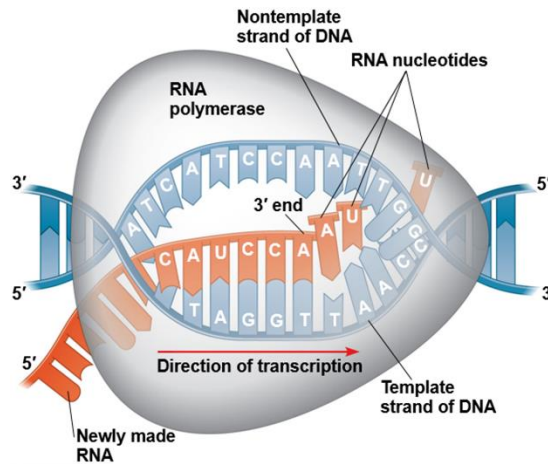
โปรโมเตอร์ที่จุดเริ่มต้นของกระบวนการทั้งหมดนี้จะอยู่ด้านหน้าบริเวณที่จะถูกถอดรหัสไปประมาณหนึ่ง มีtranscription factorsช่วยจับRNA polymerase ทั้งRNA polymerase II และ transcription factorsนี้เมื่อจับกันรวมเรียกว่า transcription initiation complex

โปรโมเตอร์ที่เรียกว่า TATA boxเป็นบริเวณที่สำคัญในการจับกันและทำให้เกิดtranscription initiation complex ใน eukaryotes



รูปที่ 5 Transcription initiation ใน eukaryotes

RNA polymerase จะทำหน้าที่คลายเกลียวของดีเอ็นเอพร้อมกับเคลื่อนที่ไปบนดีเอ็นเอ ยีนหนึ่งๆสามารถถูกถอดรหัสได้พร้อมๆกันด้วย RNA polymerase หลายๆโมเลกุล นิวคลีโอไทด์จะถูกเพิ่มไปทางด้าน 3' ของ RNAที่กำลังถูกสังเคราะห์



รูปที่ 6 Elongation

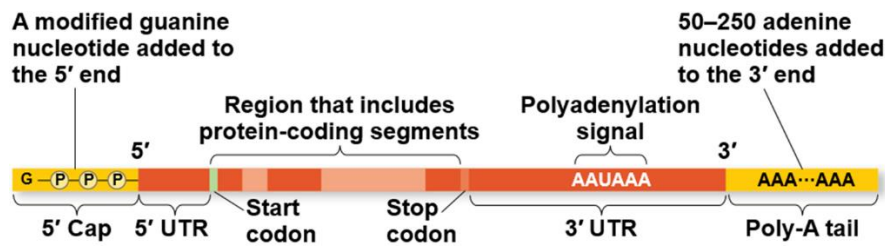
แบคทีเรียและ eukaryotes มีกระบวนการหยุด (termination) การสังเคราะห์ RNA ที่แตกต่างกัน ในแบคทีเรีย RNA polymerase หยุดการถอดรหัสที่บริเวณที่มีสัญญาณให้หยุด (terminator) และ mRNA ที่ได้จะนำไปแปลรหัส (translate) ทันทีโดยไม่ต้องเปลี่ยนแปลงใดๆ

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

RNA processing

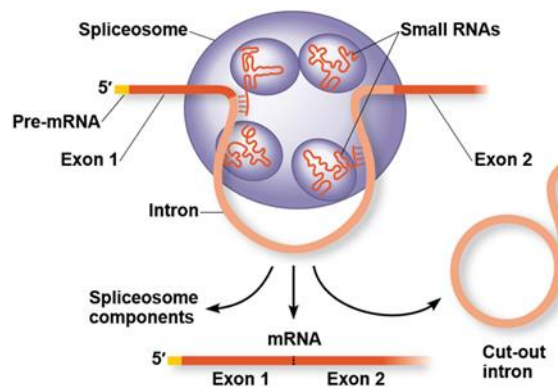
RNA ของ eukaryotes ที่สังเคราะห์ได้จะถูกตัดแต่งจาก pre-mRNA ให้กลายเป็น mRNA ที่พร้อมใช้งานโดยกระบวนการ RNA processing ที่เกิดในนิวเคลียส ในกระบวนการ RNA processing นี้ pre-mRNA จะถูกตัดแต่ง ส่วนมากด้วยการตัดและต่อ

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



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

ในบางกรณีส่วนประกอบที่เรียกว่า **spliceosome** ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนและsmall RNA จะเข้ามาช่วยตัดและต่อสาย pre-mRNA

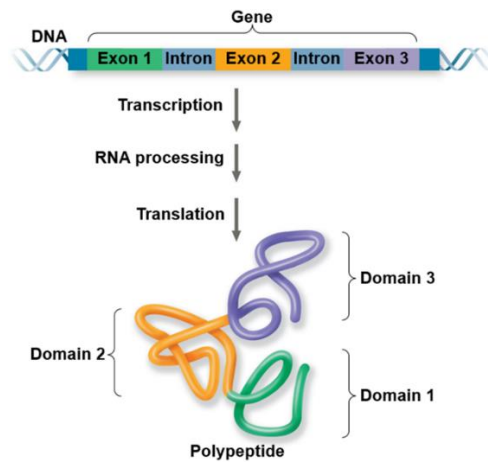


รูปที่ 8 Spliceosome

ribozymes เป็นโมเลกุล RNA ทำหน้าที่เป็นเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาและสามารถตัดอาร์เอ็นเอ

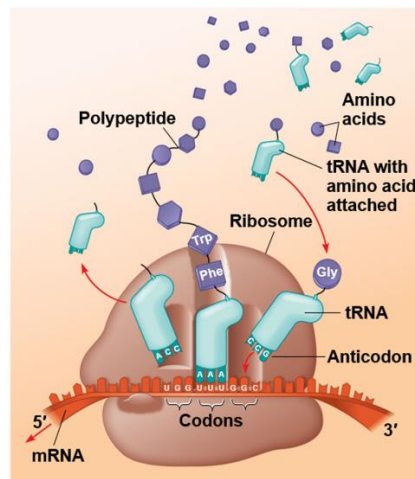
introns บางชนิดมีลำดับเบสที่อาจควบคุมการแสดงออกของยีน ยีนบางชนิดสามารถถอดรหัส **polypeptide** ได้มากกว่าหนึ่งชนิด ขึ้นอยู่กับว่าจะเอาส่วนของ pre-mRNA เป็น **exons** การเลือกนี้เรียกว่า **alternative RNA splicing** ดังนั้นจำนวนโปรตีนที่สิ่งมีชีวิตสามารถผลิตได้จึงมากกว่าจำนวนยีนมาก

โปรตีนมักจะมีส่วนที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันเรียกว่าโดเมน **exon** ต่างกันมักจะให้โดเมนที่ต่างกันด้วย **exon** ที่เปลี่ยนแปลงไปจึงอาจทำให้เกิดโปรตีนใหม่ๆ



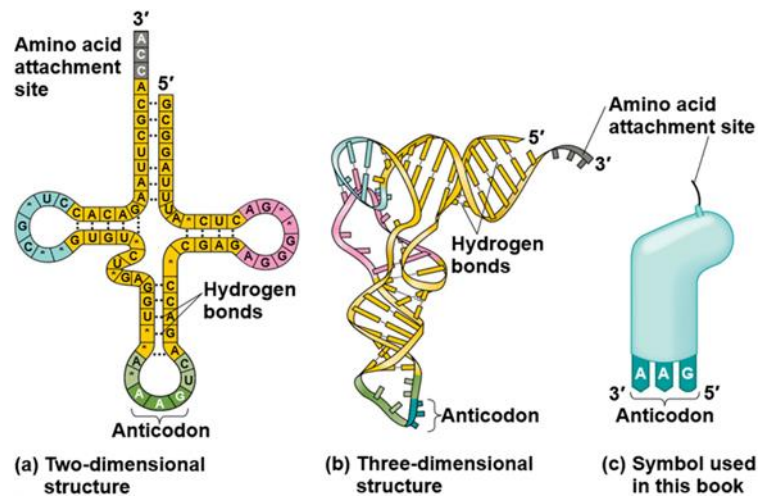
รูปที่ 9 Exons และโดเมนของโปรตีน

Translation: mRNA -> โปรตีน



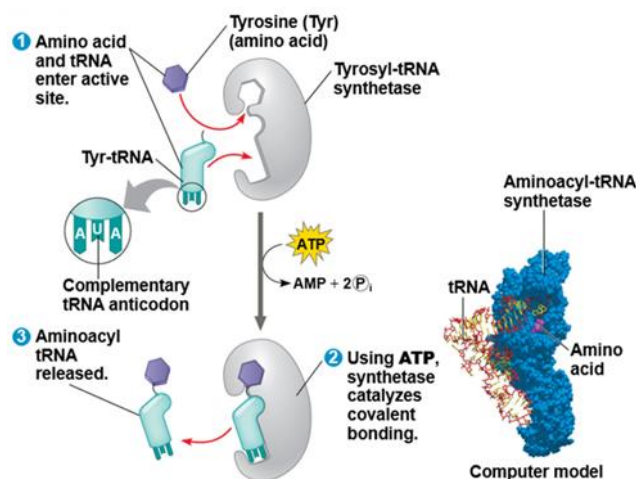
รูปที่ 10 Translation

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



รูปที่ 11 โครงสร้างของ tRNA

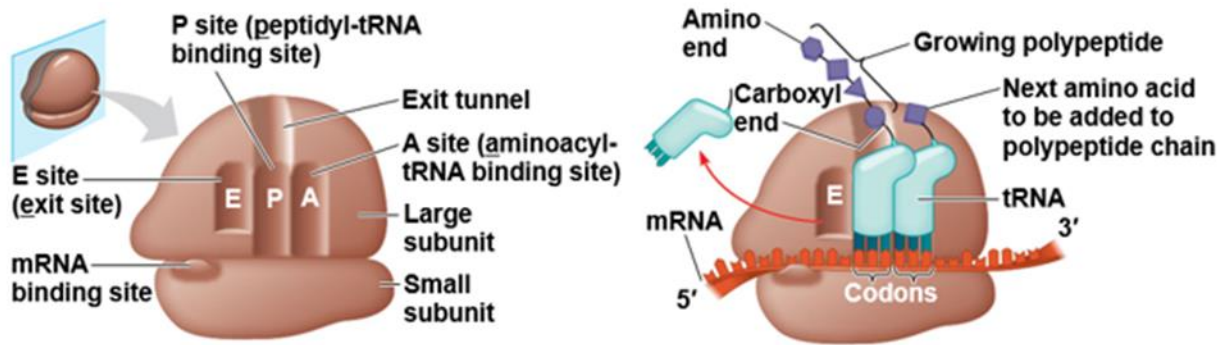
Translation จำเป็นต้องใช้ความจำเพาะของสองอย่างคือ ความจำเพาะระหว่าง tRNA และกรดอะมิโน และระหว่าง anticodon ของ tRNA กับ codon ของ mRNA



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

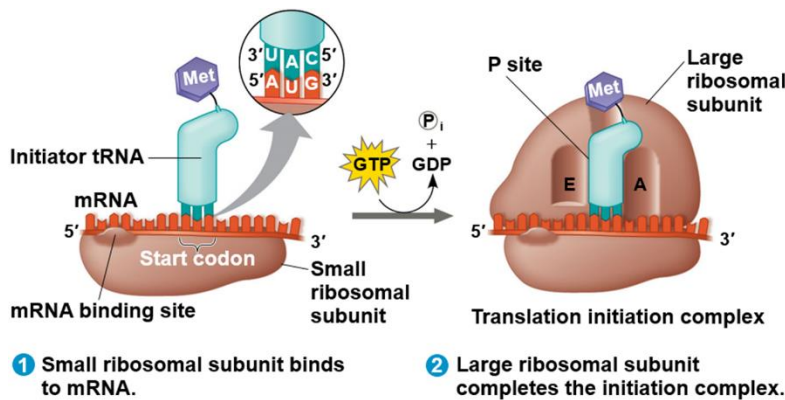
Translation มีสามขั้นตอน คือ initiation เริ่ม, elongation ต่อ, termination หยุด ทั้งสามขั้นตอนจำเป็นต้องใช้โปรตีนเพื่อช่วยในกระบวนการ รวมถึงต้องใช้พลังงานด้วย

AUG เป็นโคดอนที่เริ่มกระบวนการ translation

หน่วยย่อยเล็กของไรโบโซมเข้าจับกับ mRNA และ tRNA

หน่วยย่อยเล็กของไรโบโซมเคลื่อนที่ไปบน mRNA จนถึง start codon

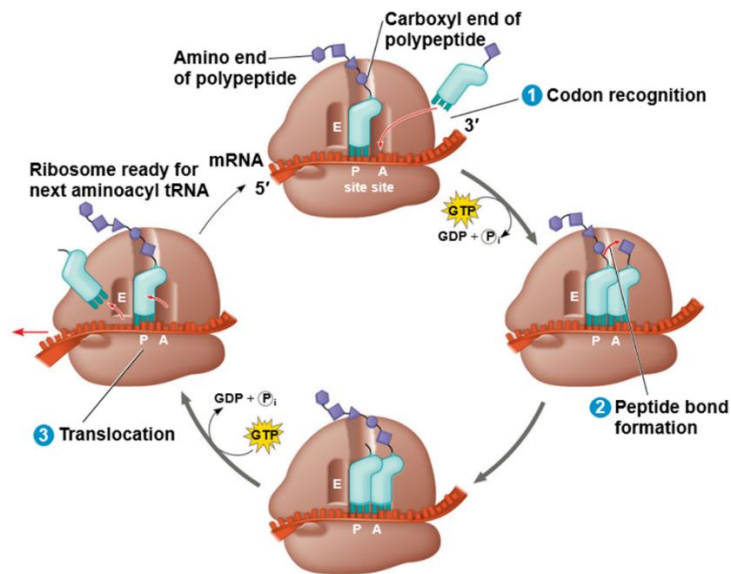
โปรตีนที่เป็น initiation factor นำหน่วยย่อยใหญ่ของไรโบโซมเข้ามา ทำให้ translation initiation complex สมบูรณ์



รูปที่ 14 การเริ่มกระบวนการ translation

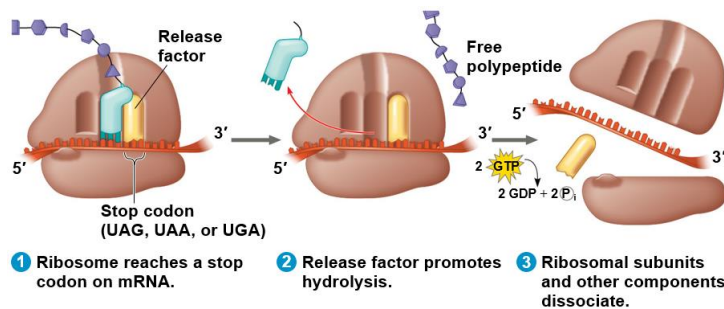
ในระหว่างช่วง elongation กรดอะมิโนจะถูกเพิ่มเข้าไปครั้งละหนึ่งโมเลกุลที่ปลาย C-terminus ของสาย polypeptide โปรตีนที่เรียกว่า elongation factors มีส่วนช่วยในการเพิ่มโมเลกุลกรดอะมิโนเข้าไปในสาย ช่วง elongation นี้แบ่งได้เป็นสามระยะย่อย ได้แก่ การจดจำของโคดอน การเกิดพันธะเปปไทด์ และการเคลื่อนย้ายของกรดอะมิโน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

กระบวนการแปลรหัส translation นี้ดำเนินไปจาก 5' ไป 3' ของสาย mRNA



รูปที่ 15 Elongation

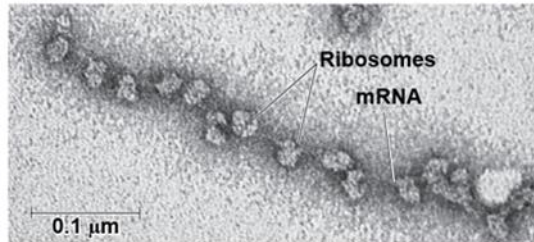
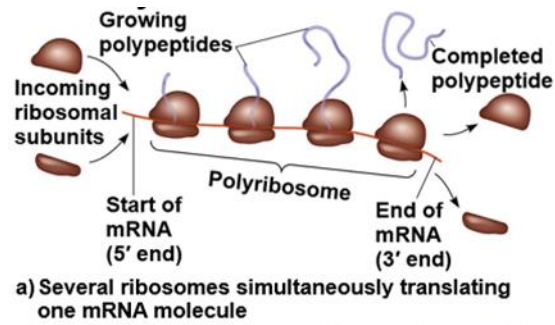
เมื่อถึงStop codonที่บริเวณAของไรโบโซม โปรตีนที่เรียกว่าrelease factorจะเข้ามา โปรตีนนี้นำน้ำเข้ามาต่อกับสาย polypeptideทำให้สายpolypeptideหลุดออก รวมถึงส่วนประกอบทั้งหมด



รูปที่ 16 Termination

โปรตีนที่ได้จากกระบวนการtranslationนี้มักจะยังทำงานไม่ได้ สายpolypeptideนี้จะต้องถูกตกแต่งก่อนหรือถูกส่งไปยังบริเวณจำเพาะต่างๆภายในเซลล์ สายpolypeptideจะเริ่มพับและบิดทำให้เกิดรูปร่างต่างๆเช่นโครงสร้างทุติยภูมิและตติยภูมิ โครงสร้างเหล่านี้ถูกกำหนดโดยยีน กระบวนการที่เรียกว่าpost-translational modificationsมีความสำคัญก่อนที่โปรตีนจะสามารถทำงานได้

สายmRNAสายหนึ่งสามารถมีไรโบโซมหลายอันมาแปลรหัสพร้อมๆกันได้ เรียกว่าpolyribosome หรือ polysome การมีpolyribosomeทำให้เซลล์ได้polypeptideได้จำนวนมากในเวลาสั้น

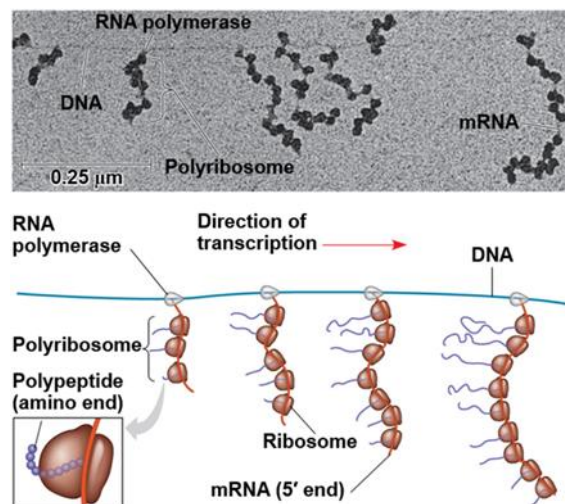


b) A large polyribosome in a bacterial cell (TEM)

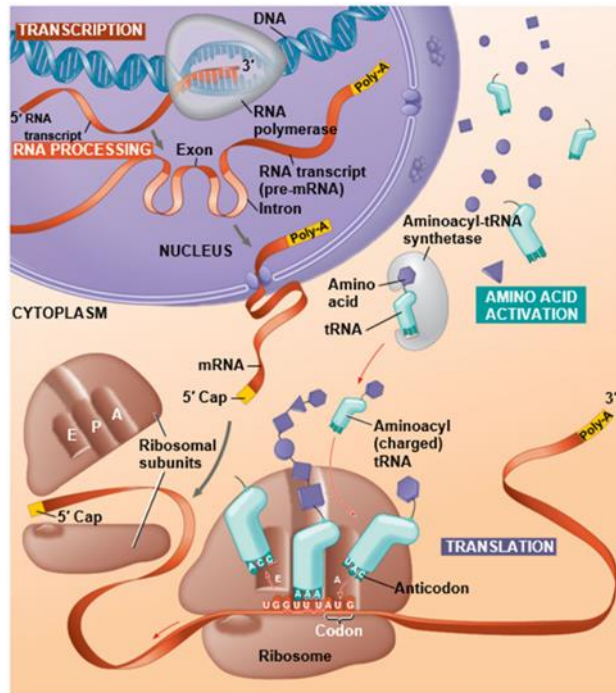
รูปที่ 17 polyribosome

เซลล์แบคทีเรียสามารถเกิดtranscription และ translation ไปพร้อมๆกันได้ โปรตีนที่ได้จึงสามารถไปทำหน้าที่ของมันได้รวดเร็ว

ในeukaryotesมีเยื่อหุ้มนิวเคลียสที่แบ่งกระบวนการทั้งสองออกจากกัน และRNAที่ได้ยังต้องผ่านกระบวนการต่างๆจึงออกจากนิวเคลียส



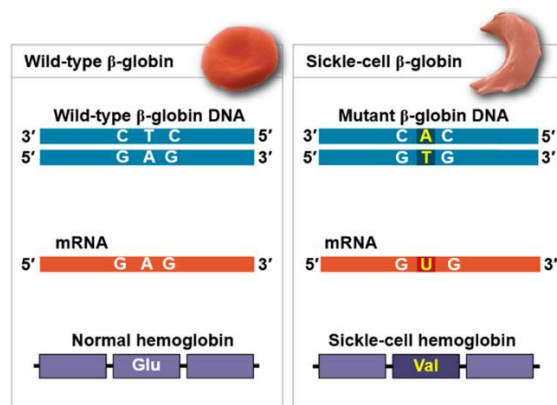
รูปที่ 18 Transcription และ translation ในแบคทีเรีย



รูปที่ 19 สรุปกระบวนการ transcription และ translation ใน eukaryotes

Mutations

การเปลี่ยนแปลงเบสหนึ่งหรือหลายๆเบสสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีนได้ point mutation เป็นการเปลี่ยนแปลงเพียงหนึ่งนิวคลีโอไทด์ การเปลี่ยนแปลงนี้สามารถเปลี่ยนแปลงการสร้างและทำให้ได้โปรตีนที่ผิดปกติไป โรค sickle-cell เกิดจากการเปลี่ยนแปลงแบบนี้



รูปที่ 20 Sickle-cell disease

Point mutations ภายในยีนแบ่งได้เป็น substitution และ insertion/deletion

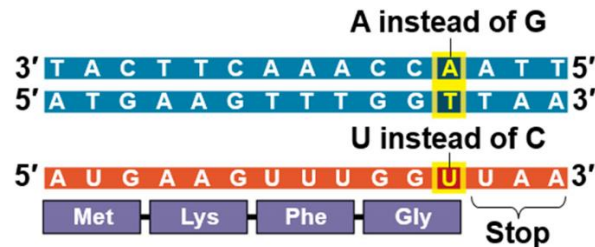
- Substitution:

เบสหนึ่งไปแทนที่เบสหนึ่ง ทำให้เบสที่เข้าคู่กันเปลี่ยนแปลงไปด้วย

Silent mutations กรดอะมิโนที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลงจากของเดิมเนื่องจากหนึ่งกรดอะมิโนมีได้หลายโคดอน

Missense mutations กรดอะมิโนที่ได้เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

Nonsense mutations เปลี่ยนโคดอนเดิมให้เป็นstop codon ส่วนมากโปรตีนที่ได้ไม่สามารถทำงานได้

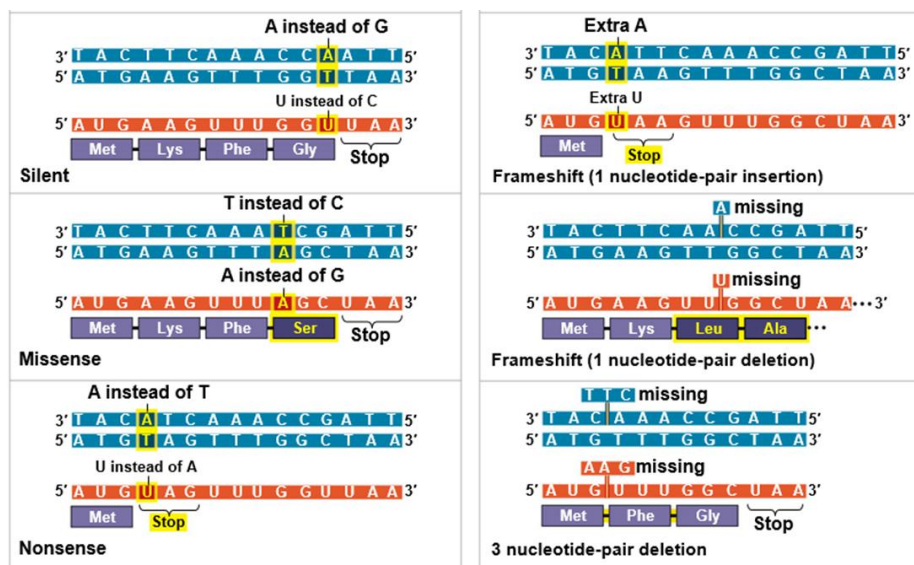


รูปที่ 21 Silent mutation

- 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' จงบอกลำดับเบสบนสายtemplateดีเอ็นเอ

- 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'