Molecular Biology

นักศึกษาต้องตอบให้ได้ว่า ดีเอ็นเอ โครโมโซม และยีน คืออะไรและแตกต่างกันอย่างไร

ยีน (gene) และยีนหลายยีน (genes) เขียนว่า<u>ยีน</u> หรือจีน ~~ยีนส์~~

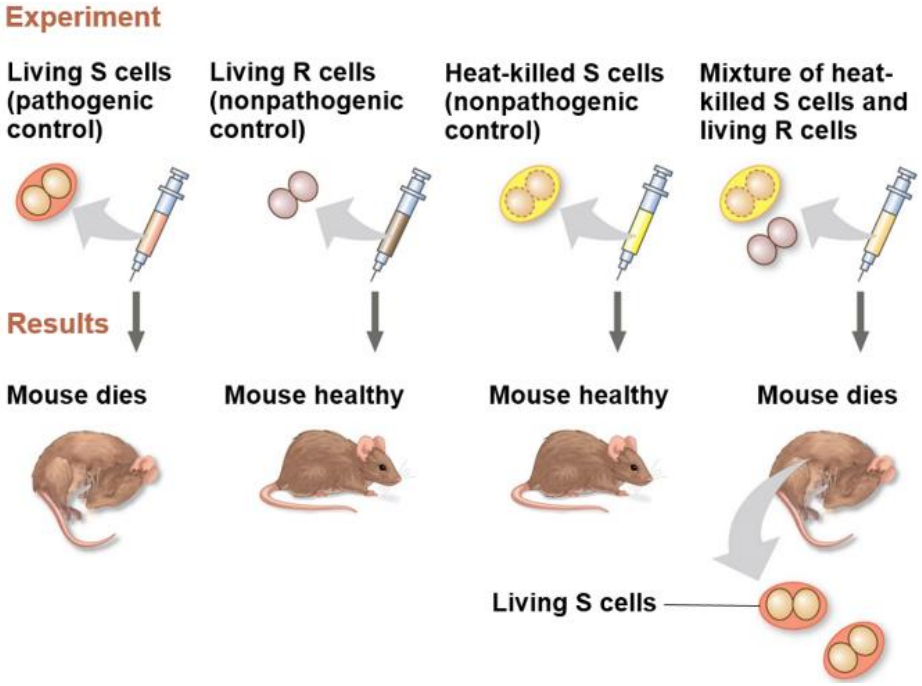
การค้นพบ DNA

T.H. Morgan ค้นพบว่า**ยีน**อยู่บน**โครโมโซม** ส่วนประกอบสำคัญหลักที่อยู่บนโครโมโซมคือ โปรตีนและดีเอ็นเอ ทำให้เกิดความสนใจขึ้นว่าอะไรคือสารพันธุกรรม โปรตีนหรือดีเอ็นเอ?

การค้นพบสารพันธุกรรมได้รับประโยชน์อย่างมากจากการใช้ไวรัส

Frederik Griffith ทดลองในปี 1928 โดยใช้แบคทีเรียสองสายพันธุ์ แบบที่ก่อให้เกิดอันตรายและไม่ก่อให้เกิดอันตราย เขาฉีดแบคทีเรียทั้งสองสายพันธุ์ในหนูอย่างละกลุ่ม การทดลองพบว่าหนูที่ถูกฉีดด้วยแบคที่เรียที่ก่อให้เกิดอันตรายตาย ส่วนอีกกลุ่มไม่ตาย จากนั้นเขานำแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายไปทำให้ตายโดยใช้ความร้อนแล้วฉีดเข้าไปในหนู ปรากฏว่าหนูไม่ตาย หนูกลุ่มสุดท้ายถูกฉีดด้วยแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคที่ทำให้ตายแล้วผสมกับแบคทีเรียที่ไม่ก่อให้เกิดโรคที่ยังไม่ตาย ปรากฏว่าหนูตาย (รูปที่ 1)

การทดลองนี้ทำให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า Transformation ซึ่งหมายความว่าเปลี่ยนแปลงของ genotype และ phenotype ที่เกิดจากดีเอ็นเอแปลกปลอม

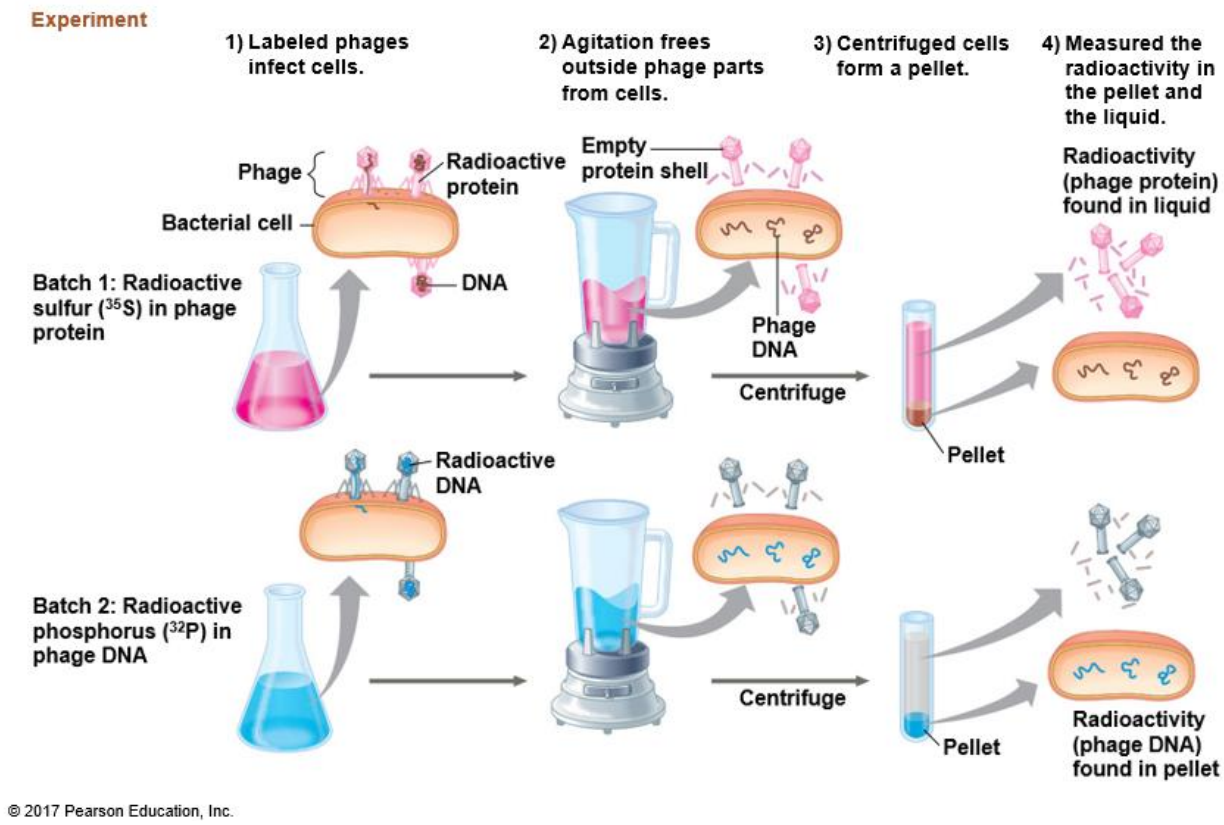


รูปที่ 1 การทดลองของ Griffith

จากนั้น Oswald, Maclyn, และ McCarty ค้นพบว่าสารที่ก่อให้เกิดการ transformation นั้นเกิดจากดีเอ็นเอ แต่นักวิทยาศาสตร์หลายคนยังไม่ได้เชื่อทั้งหมดเพราะข้อมูลเกี่ยวกับดีเอ็นเอในขณะนั้นมีน้อย ข้อมูลที่ได้ตามมาภายหลังได้มากจากการทดลองโดยใช้ไวรัสกลุ่มที่เรียกว่า bacteriophage (ไวรัสที่ใช้แบคทีเรียเป็นโฮสต์)

ต่อมาในปี 1952 Alfred Hershey และ Martha Chase ยืนยันว่าสารพันธุกรรมคือดีเอ็นเอ พวกเขาทดลองโดยใช้ bacteriophage (หรือย่อว่า phage, อ่านว่า เฟจ) เขาใช้ส่วนประกอบของเฟจคือโปรตีนและดีเอ็นเอฉีดเข้าไปในเซลล์แบคทีเรีย *E. coli* แล้วนำไปหมุนเหวี่ยง (centrifugation) ทำให้ส่วนที่หนักกว่า เช่นแบคทีเรียตกลงด้านล่าง เกาะรวมกันเรียกว่า pellet ขณะที่ส่วนที่เบากว่าลอยอยู่ด้านบนซึ่งรวมถึงอาหารเลี้ยงเชื้อและส่วนประกอบของเฟจ

Hershey เมื่อวัดกัมมันตภาพรังสีพบว่าส่วนด้านบนมีส่วนประกอบของ ^{35}S ในขณะที่ส่นด้านล่าง (pellet) มีส่วนประกอบของ ^{32}P (รูปที่ 2) Hershey และ Chase จึงสรุปว่าดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรม ไม่ใช่โปรตีน



รูปที่ 2 การทดลองของ Hershey และ Chase

ดีเอ็นเอ (DNA, Deoxyribonucleic acid)

ดีเอ็นเอเป็น**พอลิเมอร์**ประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ (nucleotides) ที่เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวที่เกิดจากการสร้าง**พันธะ phosphodiester ระหว่างนิวคลีโอไทด์***บนสายเดียวกัน*

นิวคลีโอไทด์แต่ละโมเลกุลบนสายดีเอ็นเอประกอบด้วยสามส่วนคือ (1) น้ำตาล deoxyribose; (2) ไนโตรจีนัสเบส (nitrogenous base) ที่มีสี่ชนิด คือ adenine (A), thymine (T), guanine (G) และ cytosine (C); และ (3) หมู่ฟอสเฟต (phosphate group)

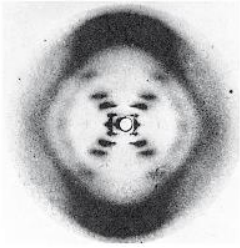
เมื่อปี 1950 Erwin Chargaff เสนอว่าส่วนประกอบของดีเอ็นเอจะแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิตแต่ละสปีชีส์ เขาเสนอกฎสองข้อคือ

1. ส่วนประกอบของเบสแตกต่างกันในสิ่งมีชีวิตแต่ละสปีชีส์
2. สัดส่วนของ A จะเท่ากับ T และ G จะเท่ากับ C

โครงสร้างของดีเอ็นเอ

Maurice Wilkins และ Rosalind Franklin ใช้เทคนิค X-ray diffraction หาโครงสร้างของดีเอ็นเอ โดย Franklin ได้ถ่ายรูปดีเอ็นเอด้วยวิธีนี้

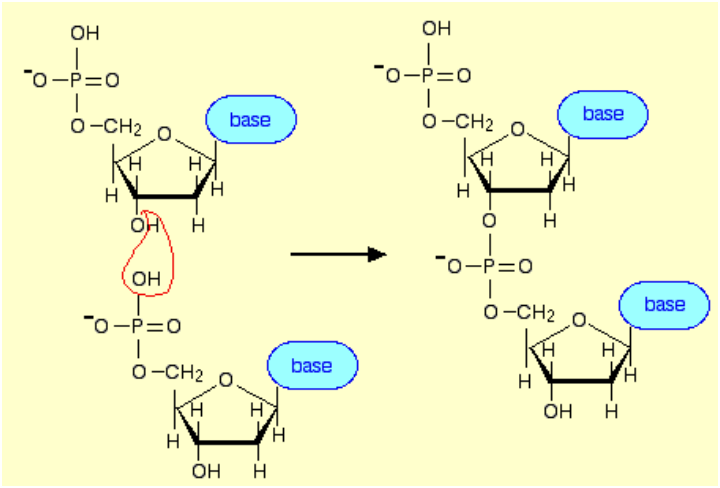
หลังจากที่แฟรงคลินเอกซ์เรย์ภาพ crystallographic ของดีเอ็นเอ ทำให้ต่อมา Watson ทำนายว่าดีเอ็นเอมีโครงสร้างเป็นขด ภาพเอกซเรย์ยังช่วยให้วัตสันสามารถสรุปความกว้างของเกลียวและระยะห่างของเบสได้ และแสดงให้เห็นว่าโมเลกุลดีเอ็นเอถูกสร้างขึ้นจากสองเส้นพันกันเป็น**เกลียวคู่ (double helix)**

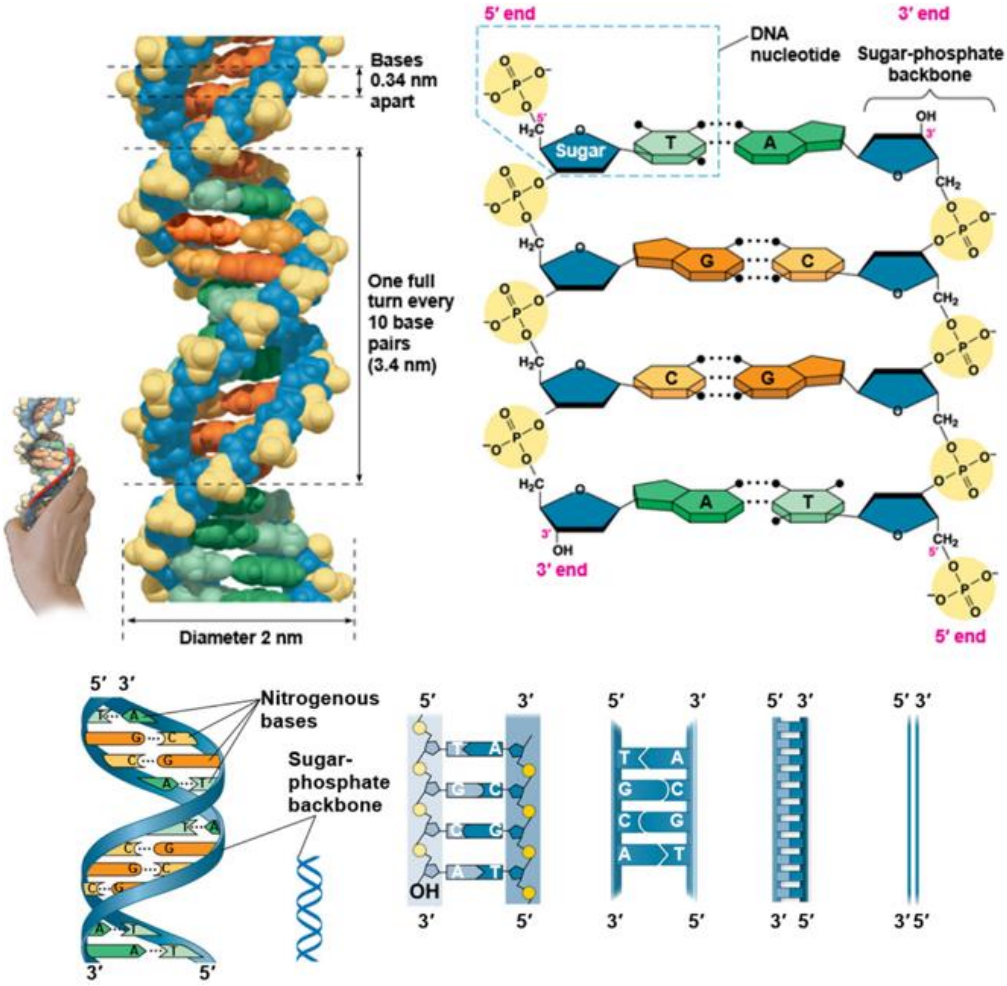


รูปที่ 3 Franklin และภาพ x-ray diffraction ของดีเอ็นเอ

นิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอสายเดียวกันเชื่อมต่อกันด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ (Phosphodiester) ระหว่างคาร์บอนตัวที่สามบนน้ำตาลกับหมู่ฟอสเฟสที่เกาะที่น้ำตาลตัวที่ห้าของนิวคลีโอไทด์โมเลกุลถัดมา

เพื่อให้เข้าใจโครงสร้าง double helix ของดีเอ็นเอ ให้นึกภาพเอามือขวาพันรอบโมเลกุลดีเอ็นเอที่แสดงในรูปโดยให้นิ้วหัวแม่มือชี้ขึ้น นึกภาพนิ้วเลื่อนไปตามด้านนอกของเกลียว มือของคุณควรเคลื่อนไปพร้อมกับเกลียวขึ้นไปในทิศทางที่นิ้วหัวแม่มือชี้



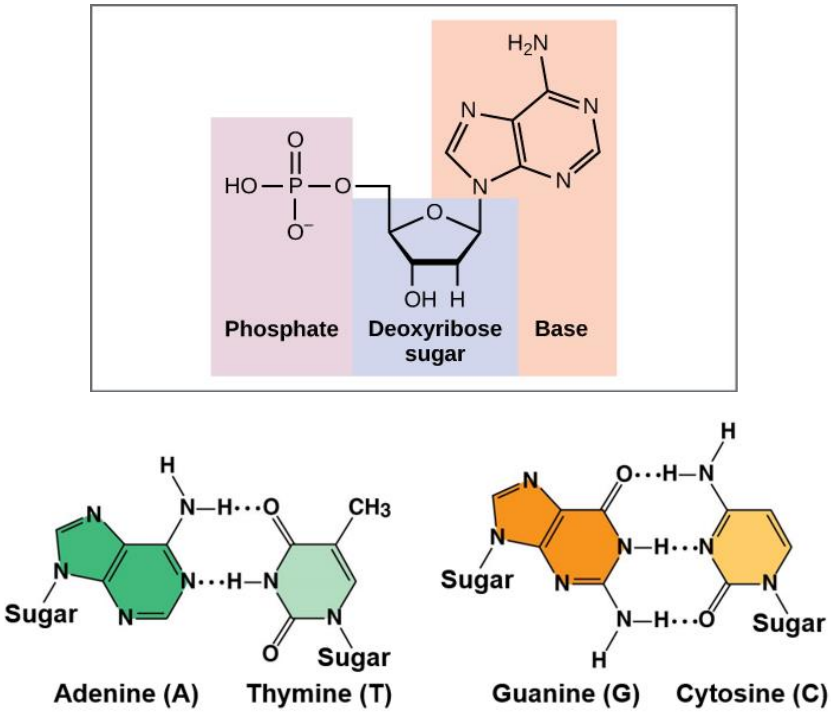


รูปที่ 4 3'-5'phosphodiester bond และโครงสร้างของดีเอ็นเอ

Watson และ Crick เสนอโครงสร้างรูปแบบเกลียวคู่เพื่อให้สอดคล้องกับภาพ X-ray และคุณสมบัติทางเคมีของดีเอ็นเอ โดยก่อนหน้านี้แฟรงคลินศึกษาภาพถ่ายดีเอ็นเอของเธอ

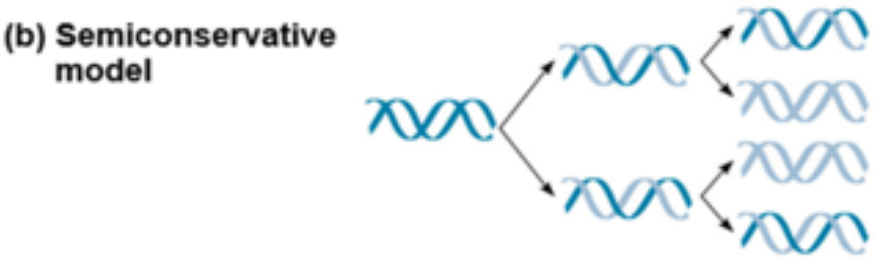
แล้วได้ข้อสรุปว่ามี **backbones** สองสายอยู่ด้านนอก ซึ่งก็คือส่วนที่เป็นน้ำตาล deoxyribose และหมู่ฟอสเฟต

วัตสันสร้างแบบจำลองที่ backbones เป็นแบบ **antiparallel** (ทิศทางตรงกันข้าม) เขาระบุว่า adenine (A) จับคู่กับ thymine (T) เท่านั้น และ guanine (G) จับคู่กับ cytosine (C) เท่านั้น แบบจำลองวัตสันและคริกนี้สามารถอธิบายกฎของ Chargaff ที่ระบุว่าในสิ่งมีชีวิตใด ๆ จำนวน A = T และจำนวน G = C



รูปที่ 5 โครงสร้างของดีเอ็นเอนิวคลีโอไทด์และการจับกันที่เกิดจากพันธะไฮโดรเจนระหว่างเบส A-T และ G-C บนสายดีเอ็นเอเส้นที่อยู่ตรงข้ามกัน

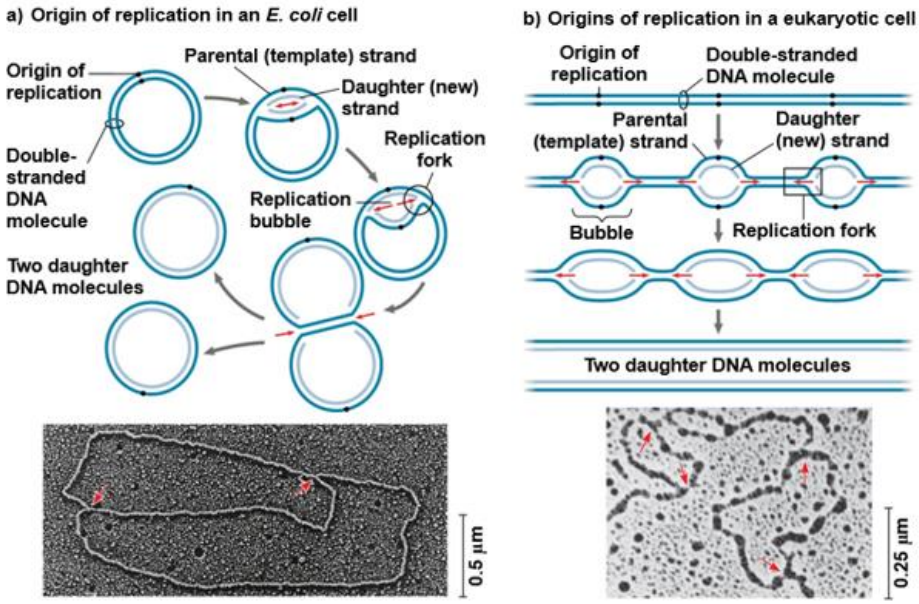
เนื่องจากทั้งสองเส้นของดีเอ็นเอประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ที่ทำหน้าที่เป็นแม่แบบสำหรับการสร้างดีเอ็นเอสายใหม่ในการเพิ่มจำนวน ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอนั้นโมเลกุลดีเอ็นเอสองสายเดิมจะคลายออกจากกันและดีเอ็นเอสายใหม่สองเส้นจะถูกสร้างขึ้น รูปแบบการเพิ่มโมเลกุลของดีเอ็นเอแบบ **semiconservative** จะทำให้โมเลกุลดีเอ็นเอโมเลกุลใหม่จะมีสายเก่าหนึ่งเส้นและอีกหนึ่งเส้นที่สร้างขึ้นใหม่



รูปที่ 6 โมเดลของการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอแบบ semiconservative

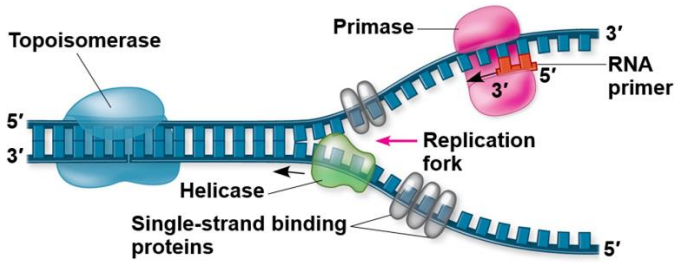
DNA replication การจำลองแบบดีเอ็นเอ

การเพิ่มจำนวนโมเลกุลดีเอ็นเรียกว่า **DNA replication** (replication แปลว่าการทำซ้ำ การคัดลอก ทำสำเนา) กระบวนการนี้เริ่มขึ้นที่จุดเฉพาะที่เรียกว่า **origin of replication** ที่บริเวณนี้สายดีเอ็นเอทั้งสองสายที่ยึดกันอยู่ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบสจะถูกทำลายทำให้สายดีเอ็นเอสองสายแยกออกจากกันทำให้เกิดลักษณะโป่งพองขึ้นเรียกว่า “bubble” (โครโมโซมของโปรคาริโอตมีโครงสร้างเป็นวง ส่วนโครโมโซมของยูคาริโอตเป็นแท่ง บริเวณ origin of replication ในโครโมโซมแต่ละแท่งของพวกยูคาริโอตอาจมีจำนวนหลายร้อยหรือหลายพันบริเวณ) การสร้างดีเอ็นเอสายใหม่นี้เกิดขึ้นในทั้งสองทิศทางจากแต่ละ origin of replication จนกว่าจะคัดลอกโมเลกุลทั้งหมดเสร็จสิ้น



รูปที่ 7 การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอใน prokaryotes และ eukaryotes

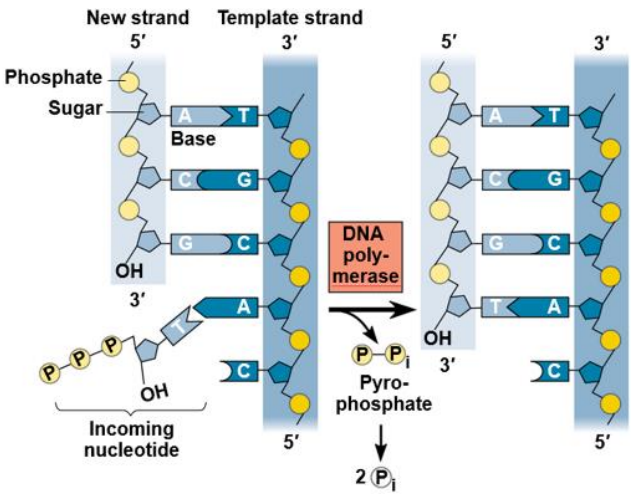
ส่วนขอบของแต่ละ replication bubble จะเรียกว่า replication fork มีลักษณะคล้ายรูปตัววาย เอนไซม์ helicase มีหน้าที่คลายเกลียวดีเอ็นเอที่บริเวณ replication fork นี้ โปรตีน Single strand binding proteins จะเข้ามาจับและช่วยรักษาให้สายดีเอ็นเอที่ถูกคลายออกคงตัวอยู่ได้ เอนไซม์ Topoisomerase คลายเกลียวบริเวณที่เป็นเกลียวซ้อนเกลียวของดีเอ็นเอ



รูปที่ 8 บริเวณ replication fork

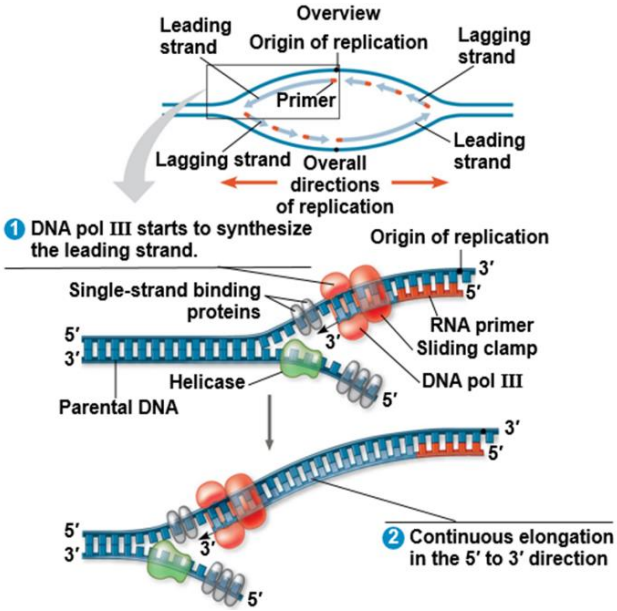
เอนไซม์ DNA polymerases จำเป็นต้องใช้ primer เพื่อจะได้เติมเบสให้กับดีเอ็นเอสายใหม่ primers นี้ถูกสร้างด้วยเอนไซม์ primase เอนไซม์นี้จะสร้าง RNA primers ประมาณ 5-10 เบสก่อน ที่ปลายด้าน 3' ของสายดีเอ็นเอสายต้นแบบและจะเป็นบริเวณที่ให้เริ่มต้นการสร้างสายใหม่

เอนไซม์ DNA polymerase นี้มีหน้าที่สังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ที่เริ่มบริเวณ replication fork เอนไซม์นี้ส่วนใหญ่จำเป็นต้องใช้ primer และสายดีเอ็นเอที่เป็น template การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่มีอัตราโดยประมาณที่ 500 นิวคลีโอไทด์ต่อวินาทีในแบคทีเรีย และ 50 นิวคลีโอไทด์ต่อวินาทีในคน นิวคลีโอไทด์แต่ละโมเลกุลที่จะถูกต่อเข้าไปในสายดีเอ็นเอสายใหม่นี้คือ nucleoside triphosphate เมื่อ nucleoside triphosphate มาต่อกันจะเสียหมู่ฟอสเฟตออกไปสองหมู่



รูปที่ 9 Dephosphorylation

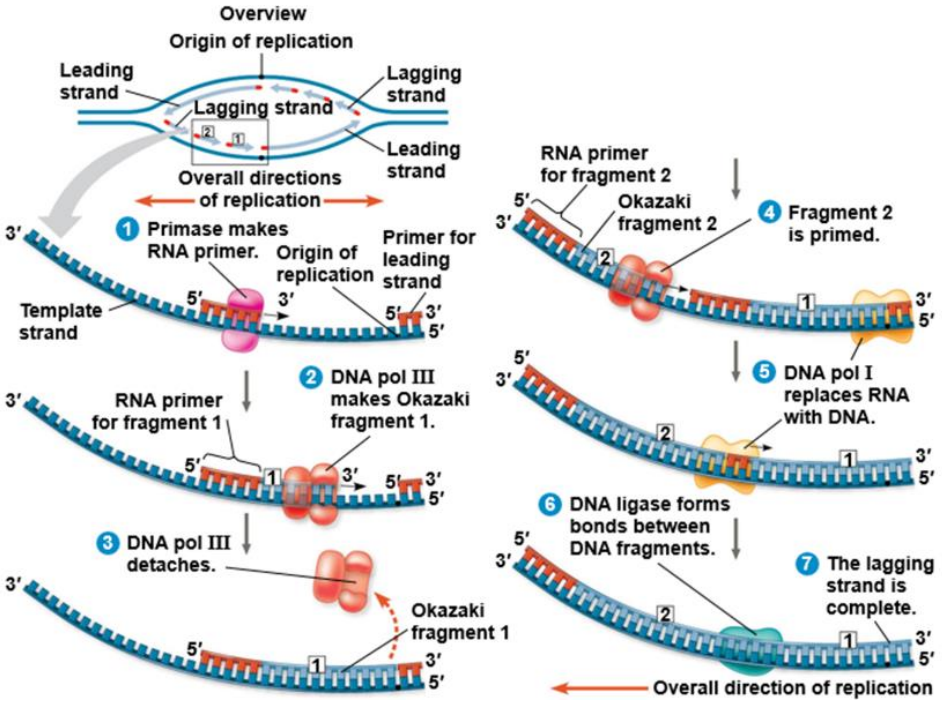
DNA polymerase จะต่อนิวคลีโอไทด์ที่ปลาย 3' เท่านั้น นั่นคือสายดีเอ็นเอสายใหม่จะถูกสร้างจากปลาย 5' ไป 3'



รูปที่ 10 DNA replication ของ leading strand

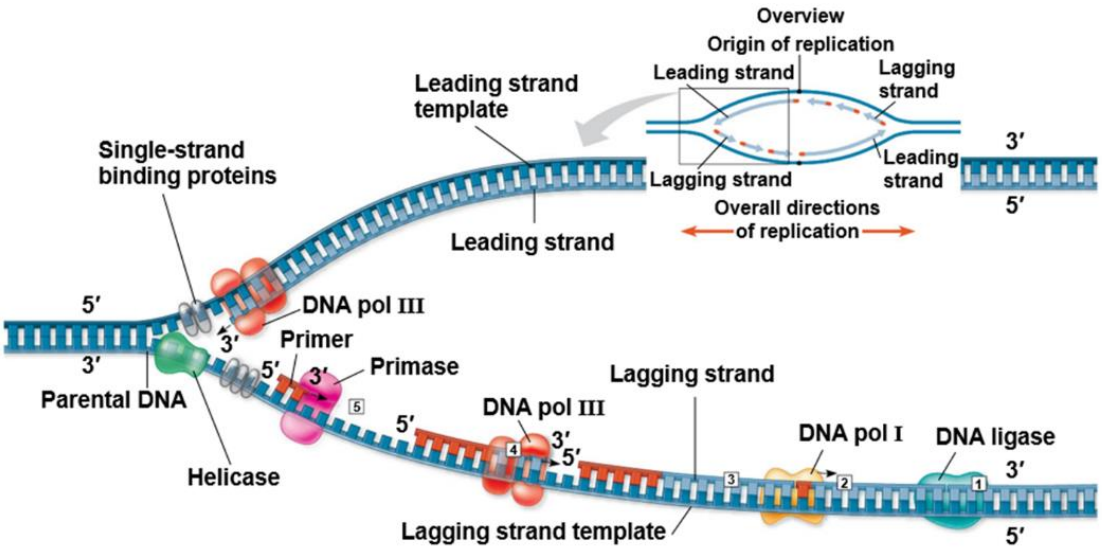
ลักษณะที่เป็น antiparallel ของดีเอ็นเอนี้ทำให้การสังเคราะห์ดีเอ็นเอสายใหม่ทั้งสองสายมีกระบวนการต่างกันเล็กน้อย โดยสายดีเอ็นเอที่สร้างใหม่สายหนึ่งจะถูกสร้างได้ต่อเนื่องจาก 5' ไป 3' ซึ่งเรียกว่า **leading strand** แต่อีกสายจะถูกสร้างทีละน้อยจากปลาย 5' ไป 3'

เช่นกัน เรียกว่า **lagging strand** ดีเอ็นเอสายใหม่ที่ถูกสร้างบนสาย lagging strand นี้จะถูกสร้างเป็นช่วงสั้น ๆ ที่เรียกว่า **Okazaki fragments** ซึ่งจะถูกเชื่อมเข้าด้วยในภายหลังด้วยเอนไซม์ DNA ligase

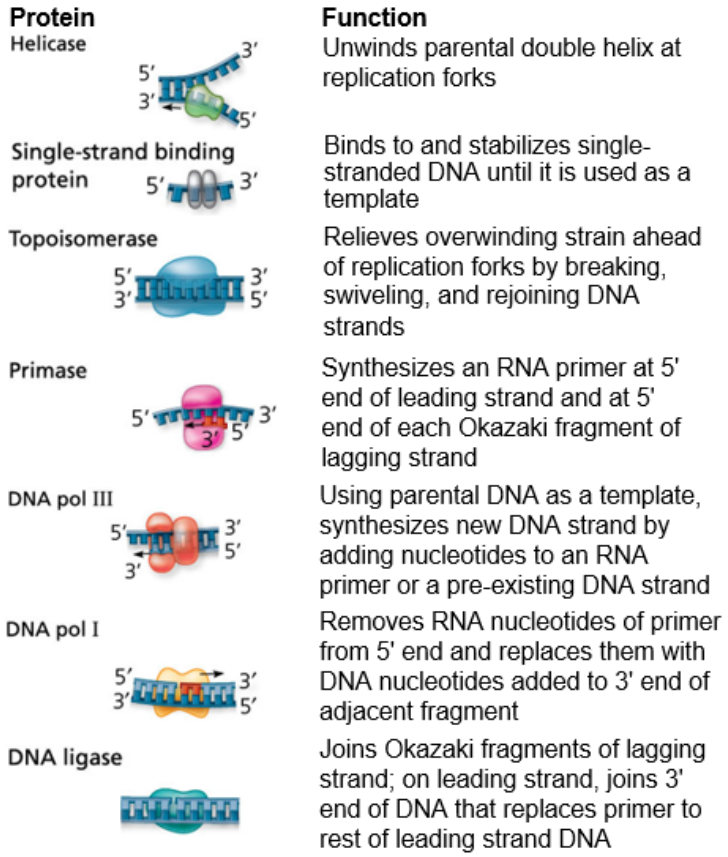


รูปที่ 11 การสร้างดีเอ็นเอสายใหม่บน lagging strand

สรุปกระบวนการจำลองดีเอ็นเอ DNA replication

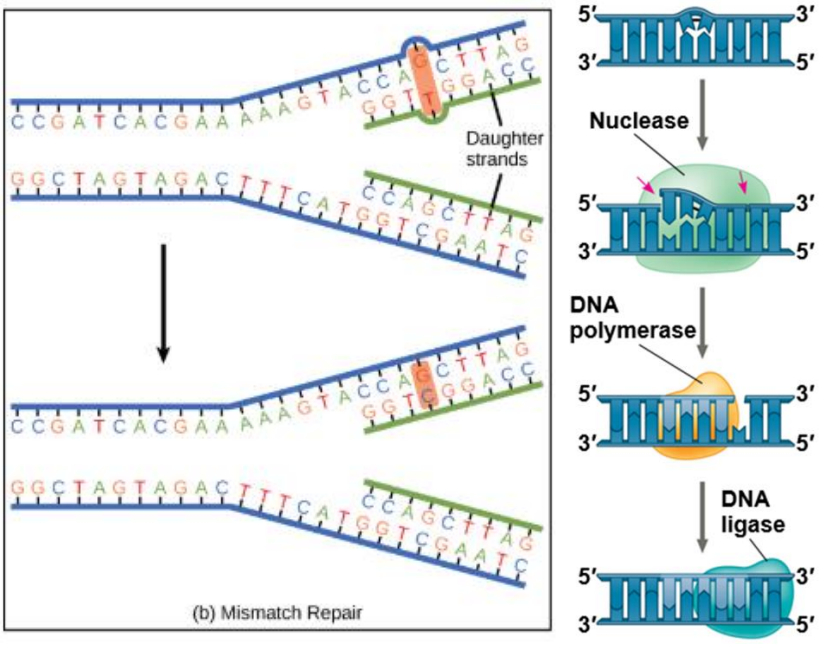


รูปที่ 12 การจำลองดีเอ็นเอ



รูปที่ 13 เอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการจำลองดีเอ็นเอ

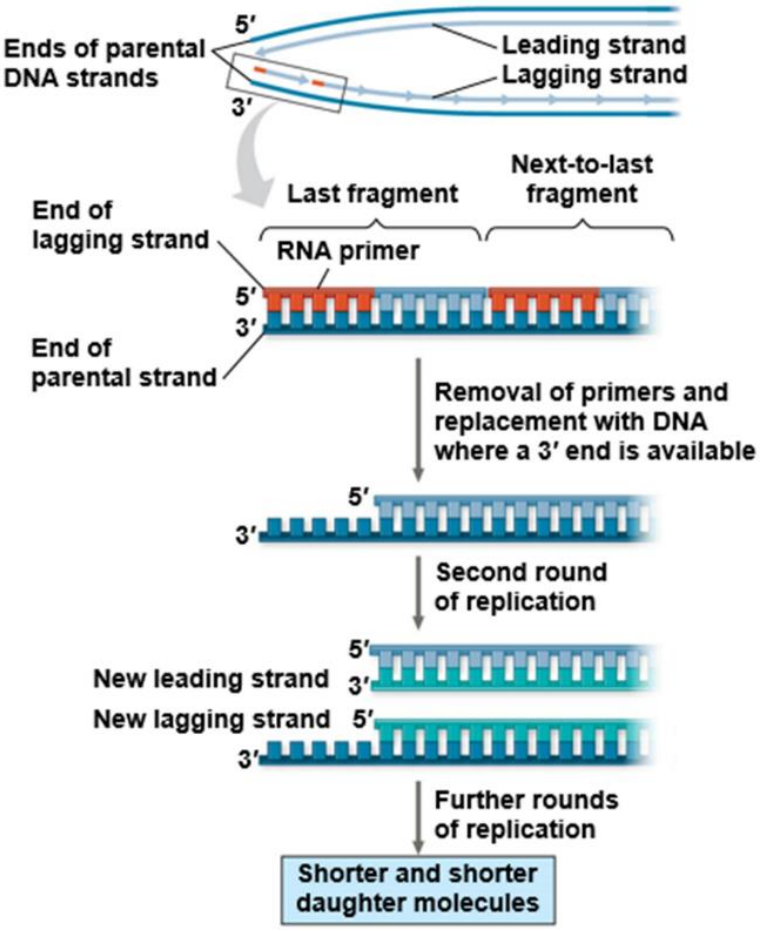
ดีเอ็นเอที่ถูกสร้างใหม่จะถูกตรวจสอบความถูกต้องของลำดับเบส (**proofreading**) ด้วยเอนไซม์ DNA polymerase นิวคลีโอไทด์ที่ผิดพลาดจะถูกตัดออกเพื่อเปลี่ยนนิวคลีโอไทด์ใหม่เข้าไปแทนที่ด้วยเอนไซม์ nuclease ดีเอ็นเอสามารถถูกทำลายด้วยสารเคมีหรือทางกายภาพเช่นรังสีเอ็กซ์หรือควันบุหรี่ การเปลี่ยนแปลงบนสายดีเอ็นเอเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว



รูปที่ 14 การตัดนิวคลีโอไทด์ออกแล้วแทนที่ด้วยนิวคลีโอไทด์ใหม่

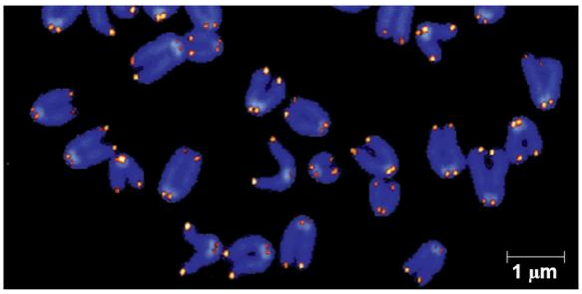
อัตราความผิดพลาดหลังจากการถูกตรวจสอบ (proofreading) ด้วยเอนไซม์ DNA polymerase นั้นมีค่าต่ำมาก แต่ไม่ได้แปลว่าจะไม่ความผิดพลาดเลย ลำดับเบส (**sequence**) ที่เกิดการเปลี่ยนแปลงอาจอยู่ถาวร และถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไปได้หากเกิดในเซลล์สืบพันธุ์ การเปลี่ยนแปลง (**mutations**) นี้เป็นสาเหตุของความหลากหลายทางพันธุกรรมซึ่งอาจทำให้เกิดสิ่งมีชีวิตสปีชีส์ใหม่ขึ้นได้

การจำลองดีเอ็นเอจาก 5' ไป 3' นั้นทำให้ไม่มีทางที่จะมีการจำลองปลาย 5' ได้ครบถ้วน ทำให้ปลาย 5' นี้สั้นลงทุกครั้งที่มีการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ ปัญหานี้เกิดขึ้นใน eukaryotes เท่านั้นแต่ไม่ใช่ใน prokaryotes เพราะในสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้มีโครโมโซมเป็นวงกลม



รูปที่ 15 การสั้นลงของปลาย5’

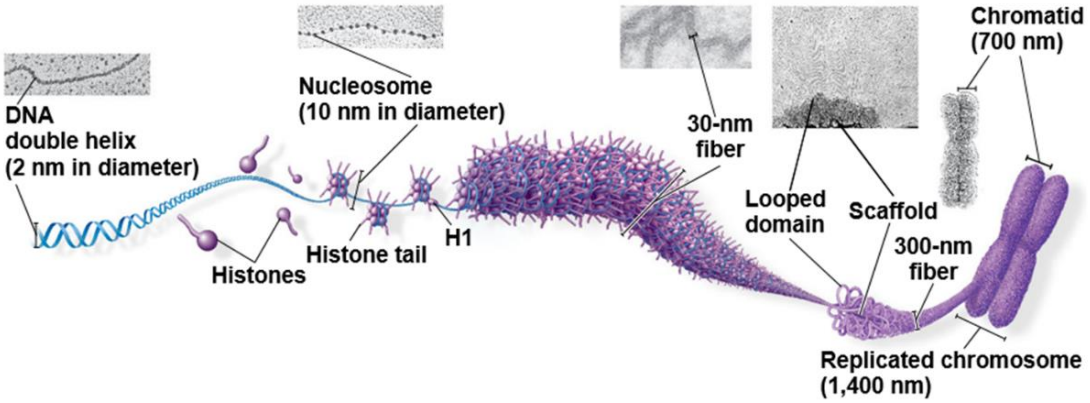
ในโครโมโซมที่เป็นแท่งของ eukaryotes นั้นจะมีส่วนปลายที่เรียกว่า telomeres ซึ่งส่วนปลายที่เรียกว่า telomeres นี้ไม่ได้ช่วยป้องกันการสั้นลงของดีเอ็นเอ แต่ช่วยให้ยีนที่อยู่บนดีเอ็นเอโดยเฉพาะยีนที่อยู่ใกล้ ๆ ปลายไม่สั้นลงเร็วกว่าที่ควร การสั้นลงของปลาย terlomeres นี้มีความสัมพันธ์กับอายุ โดยเอนไซม์ telomerase ช่วยในการสร้างปลาย telomeres ในเซลล์สืบพันธุ์

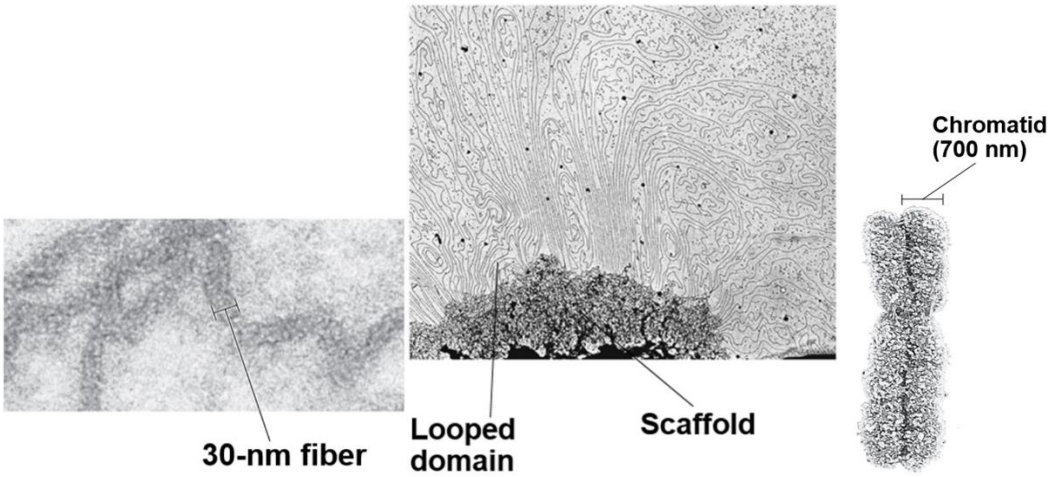


รูปที่ 16 โครโมโซมและtelomeres (สีแดง)

โครโมโซมแบคทีเรียและอาร์เคียมีรูปร่างเป็นวงมีโปรตีนเกาะอยู่บ้าง โครโมโซมของสิ่งมีชีวิตพวกนี้มักขดกันเป็นแบบ supercoiled และพบได้ในบริเวณของเซลล์ที่เรียกว่านิวคลีออยด์ เนื่องจากโปรคาริโอตไม่มีนิวเคลียส

โครโมโซมยูคาริโอตมีโมเลกุลของดีเอ็นเอเป็นแบบเส้น มีโปรตีนเกาะจำนวนมาก ดีเอ็นเอในเซลล์ยูคาริโอตจะจับกับโปรตีนทำให้เกิดเป็น**เส้นใยโครมาติน** โปรตีนที่เรียกว่าฮิสโตนมีหน้าที่จับกับดีเอ็นเอทำให้ดีเอ็นเอพันขดกันได้ เส้นใยโครมาตินที่ขดพันกันนี้เมื่อคลี่กางออกคล้ายจะดูคล้ายสายลูกปัด (beads on a string) แต่ละ“ลูกปัด” เป็นโครงสร้างที่เรียกว่านิวคลีโอโซม (nucleosome) ซึ่ง nucleosome แต่ละหน่วยประกอบด้วยโปรตีนฮิสโตนสี่ชนิด ชนิดละสองโมเลกุล ทำให้ในหนึ่ง nucleosome มีฮิสโตนทั้งสิ้นแปดโมเลกุล และปลายหางของโปรตีนฮิสโตนจะยื่นออกมาจาก nucleosome โดยที่ปลายหางของโปรตีนฮิสโตนนี้มีส่วนเกี่ยวข้องในการควบคุมการแสดงออกของยีน (gene expression)





รูปที่ 17 การบรรจุโครมาตินใน eukaryotes

โครโมโซมประกอบด้วยโมเลกุลของดีเอ็นเอที่อัดไปด้วยโปรตีน

โครมาตินมีการเปลี่ยนแปลงไปตามวัฏจักรของเซลล์ ในการแบ่งเซลล์ระยะ interphase เส้นใยโครมาตินจะมีขนาดราว ๆ 10 นาโนเมตร และบางส่วนมีขนาดราว ๆ 30 นาโนเมตรโดยการม้วนขดกันของเส้นใยโครมาติน ส่วนของโครมาตินที่มีการขดอัดกันหลวม ๆ เรียกว่า euchromatin ส่วนโครมาตินในช่วง interphase บางส่วนจะอัดกันแน่นเรียกว่า heterochromatin ซึ่งมักพบนบริเวณ centromeres และ telomeres ของโครโมโซม ส่วนที่เป็น heterochromatin ที่อัดกันอย่างหนาแน่นนี้ทำให้ยีนที่อยู่ในบริเวณนี้เกิดการแสดงออกได้ยากกว่ายีนที่อยู่ในบริเวณ euchromatin

แบบฝึกหัด

Source of DNA	Base Percentage Adenine	Base Percentage Guanine	Base Percentage Cytosine	Base Percentage Thymine
Sea urchin	**32.8**	**17.7**	**17.3**	**32.1**
Salmon	**29.7**	**20.8**	**20.4**	**29.1**
Wheat	**28.1**	**21.8**	**22.7**	
E. Coil	**24.7**	**26.0**		
Human	**30.4**			**30.1**
Ox	**29.0**			
Average %				

Hershey and Chase ยืนยันว่า DNA เป็นสารพันธุกรรมด้วยการทดลองใด

A. DNA linkage mapping

B. Transformation of DNA in Streptococcus pneumoniae

C. X-ray crystallography of DNA molecules

D. Radio-labelling DNA and protein

Template strand ของสายดีเอ็นเอมีลำดับเบสเป็น 3' TAGGCATTGCA 5' สายดีเอ็นเอที่สร้างขึ้นจากสายดีเอ็นเอต้นแบบนี้คืออะไร?

A. 5' ATCCGTAACGT 3'

B. 5' AUCCGUAACGU 3'

C. 5' TAGGCATTGCA 3'

D. 5' TGCAATGCCTA 3'

ข้อใดต่อไปนี้จับคู่เอนไซม์จำลองดีเอ็นเอกับหน้าที่ได้อย่างถูกต้อง

A. Topoisomerases ทำงานนำหน้า replication fork เพื่อป้องกัน supercoiling

B. DNA polymerase ฉันแยกสาย DNA ที่ replication fork

C. Helicase เชื่อมระหว่างชิ้นส่วนดีเอ็นเอ

D. DNA primase เพิ่มไพรเมอร์โดยการเพิ่มนิวคลีโอไทด์ให้กับ 3'

อ่านเพิ่มเติม

- Concepts of Biology on OpenStax. https://openstax.org/books/concepts-biology/pages/9-introduction
- Discovery of DNA on Khan academy. https://www.khanacademy.org/science/biology/dna-as-the-genetic-material/dna-discovery-and-structure/a/classic-experiments-dna-as-the-genetic-material
- Watson, J. D., and F. H. C. Crick. "Molecular Structure of Nucleic Acids." *Nature* 1953 Apr 25; 171 (4356): 737–8.
- Molecular Visualizations of DNA. https://www.wehi.edu.au/wehi-tv/molecular-visualisations-dna
- DNA replication. https://www.youtube.com/watch?v=4jtmOZaIvS0
- The Central Dogma of Biology. https://www.youtube.com/watch?v=9kOGOY7vthk

Central dogma: transcription and translation

นักศึกษาต้องนึกภาพและอธิบายกระบวนการ transcription และ translation ให้ได้

โมเลกุลของดีเอ็นเอไม่ได้เป็นเพียงสายนิวคลีโอไทด์ที่ยาวและน่าเบื่อ แต่จะแบ่งออกเป็นหน่วยการทำงานที่เรียกว่ายีน ส่วนมากผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานได้ของยีนคือโปรตีน เช่น ยีนสีดอกไม้ของเมนเดลให้ข้อมูลเป็นโปรตีนที่ช่วยสร้างเม็ดสีในกลีบดอกไม้ ดังนั้นโดยปกติแล้วเราจึงสรุปว่ายีนเป็นส่วนของดีเอ็นเอที่เอาไว้สร้างโปรตีน และบริเวณของดีเอ็นเอที่ไม่ใช่ยีนนั้นเรียกว่า noncoding region

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานได้ของยีนที่รู้จักกันมากที่สุดคือโปรตีนหรือโพลิเปปไทด์ (polypeptides) โพลีเปปไทด์คือพอลิเมอร์ของเปปไทด์ซึ่งก็คือพอลิเมอร์ของกรดอะมิโน แม้ว่าโปรตีนหลายชนิดประกอบด้วยโพลีเปปไทด์เดียว แต่โปรตีนบางชนิดก็ประกอบด้วยโพลีเปปไทด์หลายตัว ยีนที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นโพลีเปปไทด์เรียกว่ายีนที่สังเคราะห์โปรตีน (protein-coding genes)

ไม่ใช่ยีนทั้งหมดที่ให้โพลีเปปไทด์ แต่ยีนบางตัวช่วยให้เกิดการสังเคราะห์โมเลกุล RNA เช่น transfer RNAs และ ribosomal RNA

เราสามารถพิจารณายีนได้เป็น

- หน่วยพันธุกรรม
- บริเวณของลำดับนิวคลีโอไทด์หนึ่งๆในโครโมโซม
- ลำดับดีเอ็นเอที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นโพลีเปปไทด์

ยีนสามารถเป็นบริเวณหนึ่ง ๆ ของดีเอ็นเอที่ให้ผลิตภัณฑ์ที่ใช้งานได้ขั้นสุดท้ายเป็นโมเลกุลของโพลีเปปไทด์หรืออาร์เอ็นเอ

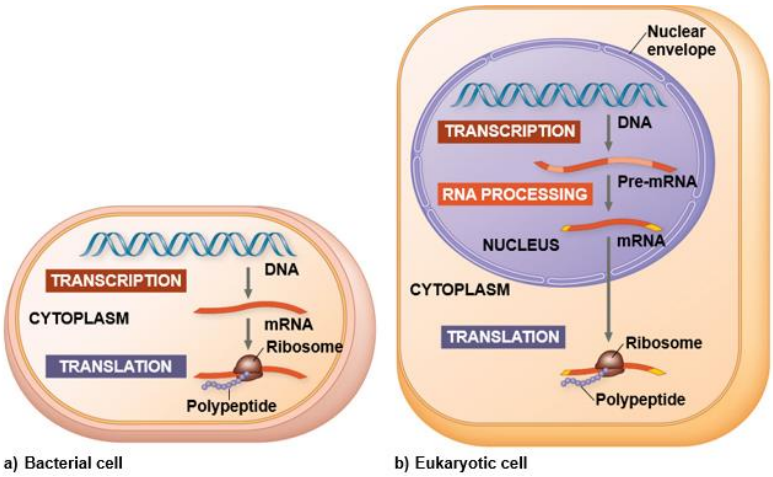
DNA ➔ RNA ➔ protein

ข้อมูลทางพันธุกรรมในเซลล์จากดีเอ็นเอ ➔ เกิด transcription ได้เป็น mRNA ➔ เกิด translation ได้เป็นโปรตีน

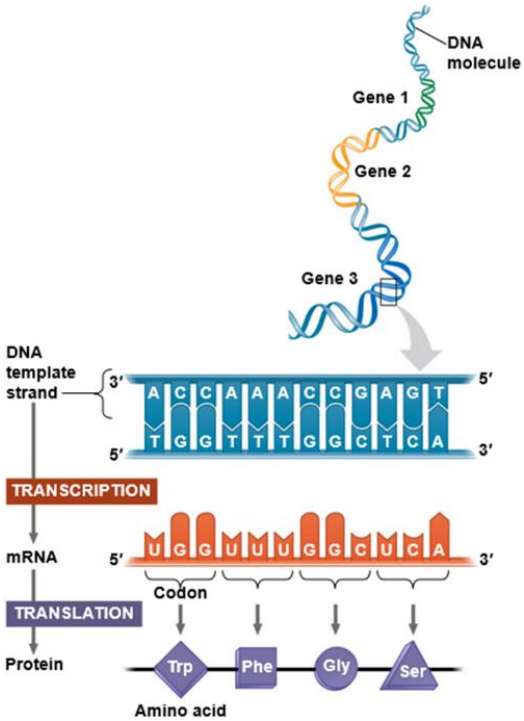
ยีนระบุรหัส (sequence) ของ mRNAs ซึ่งจะระบุรหัสของโปรตีน (protein sequence)

หลักการของ transcription และ translation

- RNA เป็นตัวกลางเชื่อมระหว่างยีนและโปรตีน
- Transcription เป็นการสังเคราะห์ mRNA โดยใช้ลำดับเบสใน DNA สายใดสายหนึ่ง
- Transcription สร้าง RNA (mRNA)
- Translation เป็นการสังเคราะห์พอลิเปปไทด์ที่ใช้ข้อมูลใน mRNA
- ไรโบโซมเป็นที่ที่เกิดของ translation
- Translation ของ mRNA ในโปรคาริโอต สามารถเริ่มได้ก่อนที่ transcription จะเสร็จสิ้น
- Nuclear envelope ในเซลล์ยูคาริโอตแยก transcription ออกจาก translation ต้องรอให้เกิด transcription ในนิวเคลียสให้เสร็จก่อนแล้วจึงเกิด translation ในไซโทพลาซึม
- mRNA ที่ได้จาก transcription ในเซลล์ของ eukaryotes มีการแก้ไขต่อเติมที่เรียกว่า RNA processing เพื่อให้ได้ mRNA ที่สมบูรณ์



รูปที่ 1 ภาพรวมของ transcription และ translation



รูปที่ 2 Transcription โดยใช้ดีเอ็นเอสายต้นแบบเพียงสายเดียวและ Translation ที่ต้องใช้ลำดับเบสบนสาย mRNA ที่เรียกว่า Codons

Codons

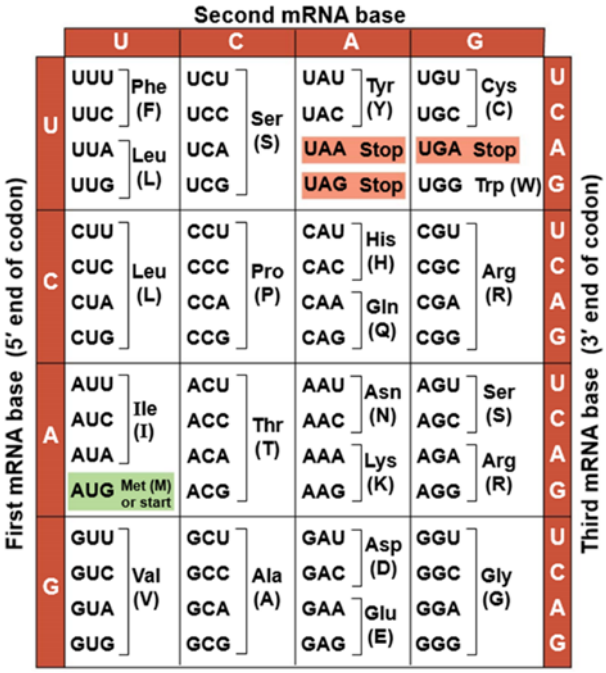
หนึ่งในสองสายของดีเอ็นเอจะเป็นต้นแบบ (template) ในกระบวนการ transcription เพื่อสร้าง mRNA ยีนยีนหนึ่งใช้ดีเอ็นเอสายต้นแบบเพียงสายเดียวเท่านั้น สมมติให้ยีน A ใช้ดีเอ็นเอสายหนึ่งเป็นต้นแบบก็จะใช้สายนั้นเพื่อสร้าง mRNA ไปตลอด ไม่มีการสลับใช้สายดีเอ็นเอคนละสาย

ในระหว่างกระบวนการ translation ที่ไรโบโซม codons ซึ่งเป็นเบสสามตัวเรียงกันที่อยู่บน mRNA จะถูกอ่านจากปลาย 5'⟶ 3' เสมอ

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

โคดอน 61 โคดอนให้รหัสสำหรับกรดอะมิโน ส่วนอีก 3 โคดอนจะให้รหัส “หยุด” เพื่อให้ยุติกระบวนการ translation โคดอนมากกว่าหนึ่งตัวอาจระบุกรดอะมิโนชนิดเดียวกันได้ (redundancy)

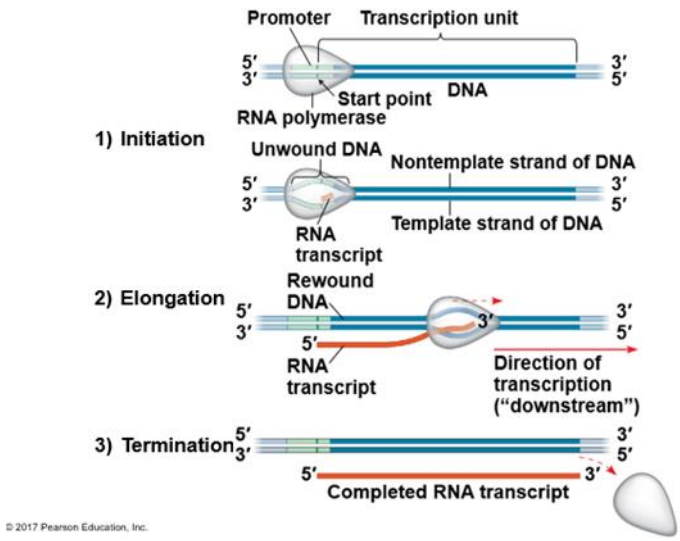
รหัสพันธุกรรมมีความเกือบเป็นสากล (universal) ร่วมกันจากแบคทีเรียไปจนถึงสัตว์ที่ซับซ้อน เราจึงสามารถถ่ายทอดยีนจากสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งไปยังสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่งได้โดยยีนนั้นยังสามารถให้โปรตีนที่มีลำดับกรดอะมิโนเหมือนเดิม



รูปที่ 3 ตาราง Codon

Transcription เป็นขั้นตอนแรกของการแสดงออกของยีน

การสังเคราะห์ RNA ต้องใช้เอนไซม์ **RNA polymerase** ซึ่งจะแยกสายดีเอ็นเอสองสายออกจากกันและต่อโมเลกุลของ RNA nucleotides (A, U, G, C) ให้เป็นสายยาว สาย RNA ที่สังเคราะห์นี้จะเข้ากันได้ (complement) กับสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบ (ยกเว้นไม่มี Thymine แต่มี Uracil แทน) เอนไซม์ RNA polymerase นี้ไม่ต้องใช้ primers (ต่างจาก DNA polymerase ที่ต้องใช้ RNA primers)

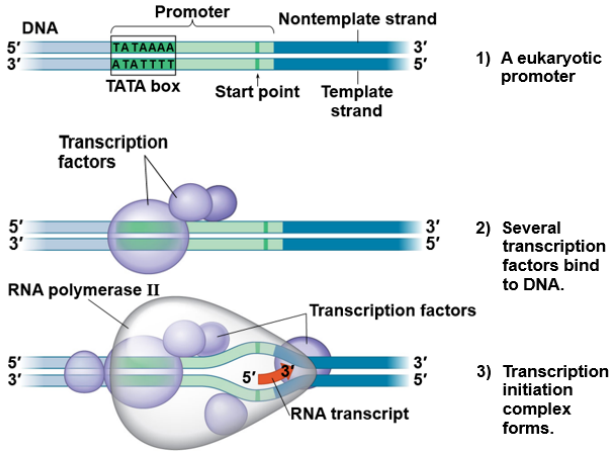


รูปที่ 4 ภาพรวมของ transcription

- บริเวณของดีเอ็นเอสายต้นแบบที่ RNA polymerase เข้ามาจับเรียกบริเวณนั้นว่า **promoter**
- บริเวณของดีเอ็นเอที่เกิด transcription เรียกว่า transcription unit
- ลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอต้นแบบที่ส่งสัญญาณให้หยุด transcription ในแบคทีเรีย เรียกว่า terminator
- กระบวนการ Transcription ทั้งหมดมีสามระยะ ได้แก่ initiation เริ่ม, elongation ต่อ และ termination หยุด

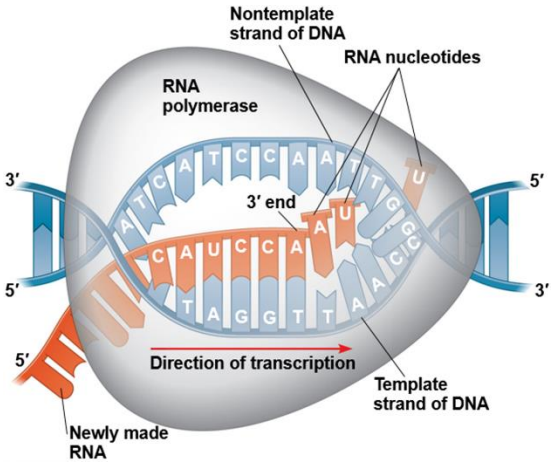
โปรโมเตอร์ที่เป็นจุดเริ่มต้นของกระบวนการ transcription นี้จะอยู่ด้านหน้าบริเวณที่จะถูกถอดรหัสไปประมาณหนึ่ง และจะมีโปรตีนที่เรียกว่า transcription factors ช่วยจับดีเอ็นเอสายต้นแบบและเอนไซม์ RNA polymerase โดยทั้ง RNA polymerase และ transcription factors นี้เมื่อจับกันแล้วจะรวมเรียกว่า transcription initiation complex

ในสิ่งมีชีวิตพวก eukaryotes บริเวณของโปรโมเตอร์มีส่วนที่เรียกว่า TATA box ซึ่งเป็นบริเวณที่สำคัญในการทำให้เกิด transcription initiation complex



รูปที่ 5 Transcription initiation ใน eukaryotes

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



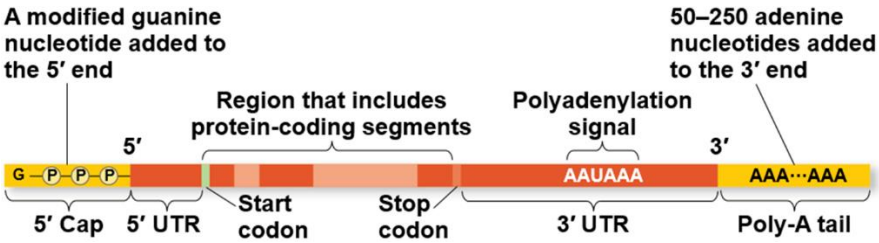
รูปที่ 6 Elongation

แบคทีเรียและ eukaryotes มีกระบวนการหยุด (termination) การสังเคราะห์ RNA ที่แตกต่างกัน ในแบคทีเรีย RNA polymerase จะหยุด transcription ที่บริเวณที่มีสัญญาณให้หยุด (terminator) และ mRNA ที่ได้จะนำไปแปลรหัส(translate) ทันทีโดยไม่ต้องเปลี่ยนแปลงใด ๆ แต่ใน eukaryotes นั้นการหยุดการสังเคราะห์ mRNA เกิดเมื่อ RNA polymerase II ถอดรหัสให้เบสที่มีแต่เบส A ซ้ำ ๆ กัน (polyadenylation signal)

RNA processing

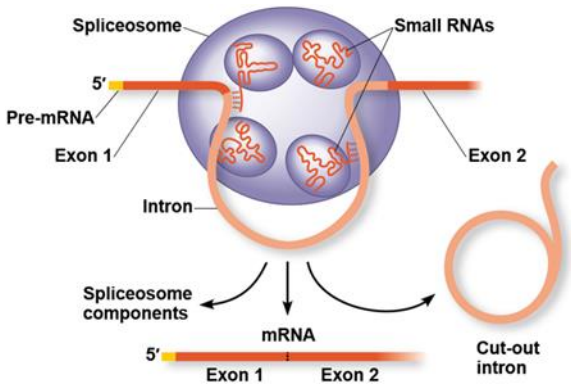
RNA ของ eukaryotes ที่สังเคราะห์ได้จะถูกตกแต่งจาก pre-mRNA ให้กลายเป็น mRNA ที่พร้อมใช้งานโดยกระบวนการที่เรียกว่า RNA processing ที่เกิดในนิวเคลียส ในกระบวนการ RNA processing นี้ pre-mRNA จะถูกตกแต่งส่วนมากด้วยการตัดและต่อ

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

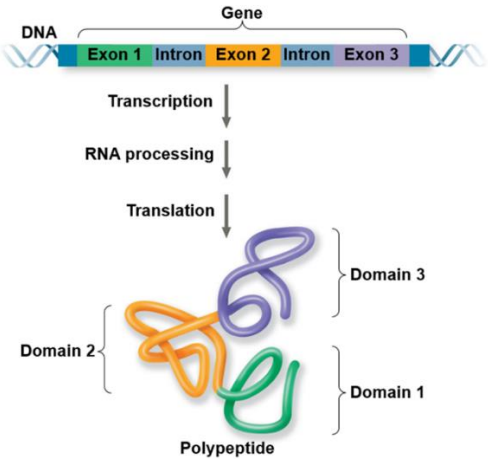
ในบางกรณีส่วนประกอบที่เรียกว่า spliceosome ซึ่งประกอบด้วยโปรตีนและ RNA ชนิดที่เรียกว่า small RNA จะเข้ามาช่วยตัดและต่อสาย pre-mRNA



รูปที่ 8 Spliceosome

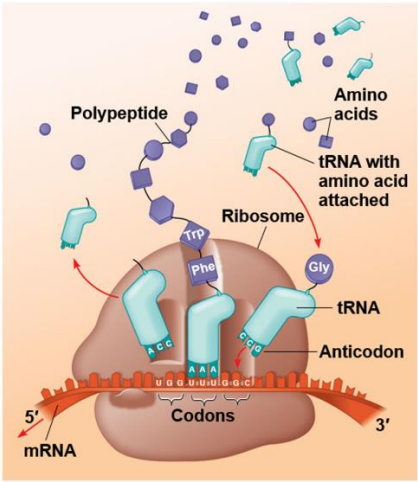
Introns บางชนิดมีลำดับเบสที่อาจควบคุมการแสดงออกของยีน ยีนบางชนิดสามารถถอดรหัสให้สาย polypeptide ได้มากกว่าหนึ่งชนิด ขึ้นอยู่กับว่าจะเอาส่วนใดของ pre-mRNA เป็น exons และเอาส่วนใดเป็น introns การเลือก intron-exon นี้เรียกว่า alternative RNA splicing ดังนั้นจำนวนโปรตีนที่สิ่งมีชีวิตสามารถผลิตได้จึงมากกว่าจำนวนยีนมาก

โปรตีนมักจะมีส่วนที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันเรียกว่าโดเมน exon ต่างกันมักจะให้โดเมนที่ต่างกันด้วย exon ที่เปลี่ยนแปลงไปจึงอาจทำให้เกิดโปรตีนใหม่ ๆ



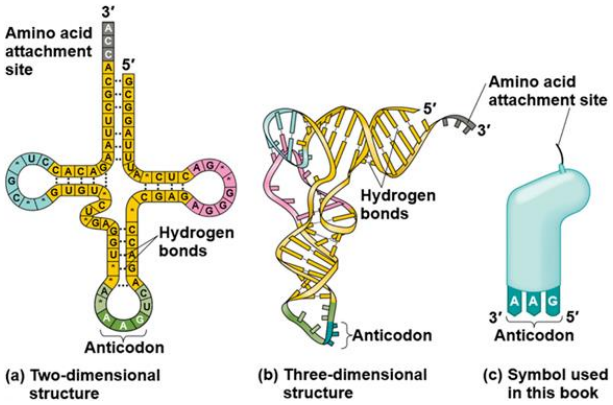
รูปที่ 9 Exons และโดเมนของโปรตีน

Translation: mRNA ➔ โปรตีน



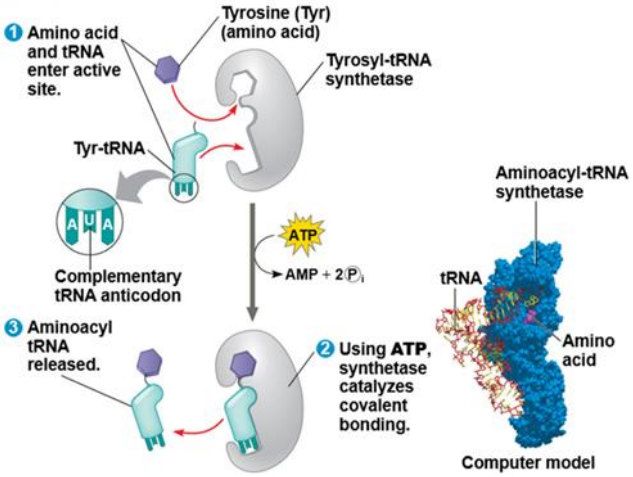
รูปที่ 10 Translation โดยใช้ไรโบโซม

Transfer RNA (tRNA) นำกรดอะมิโนมาเพื่อสร้างสาย polypeptide ที่เกิดขึ้นบนไรโบโซม โดย tRNA แต่ละโมเลกุลมีหน้าที่นำกรดอะมิโนเฉพาะตัวของมันเพราะส่วนของ anticodon ที่อยู่บน tRNA จะต้อง complement กับส่วนของ codon ที่อยู่บนสาย mRNA



รูปที่ 11 โครงสร้างของ tRNA

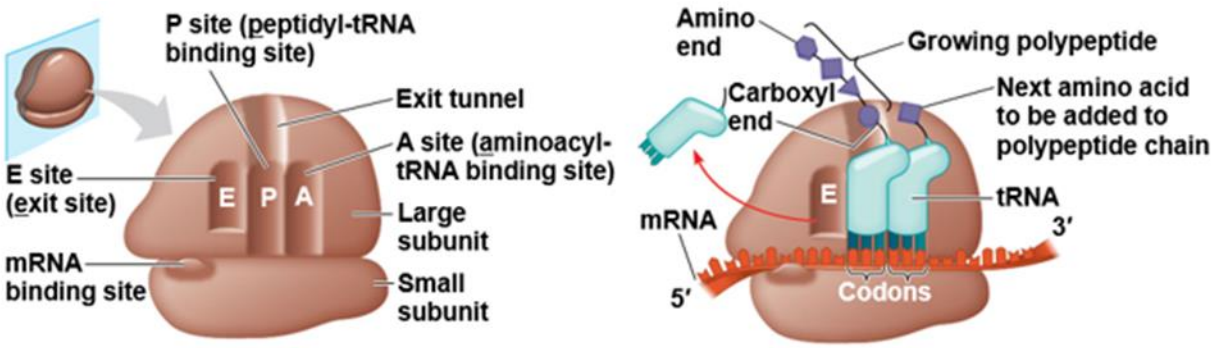
Translation จำเป็นต้องใช้ความจำเพาะของสองอย่างคือ ความจำเพาะระหว่าง tRNA และกรดอะมิโน และระหว่าง anticodon ของ tRNA กับ codon ของ mRNA



รูปที่ 12 เอนไซม์ aminoacyl-tRNA synthetases ทำหน้าที่เชื่อมกรดอะมิโนกับ tRNA

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

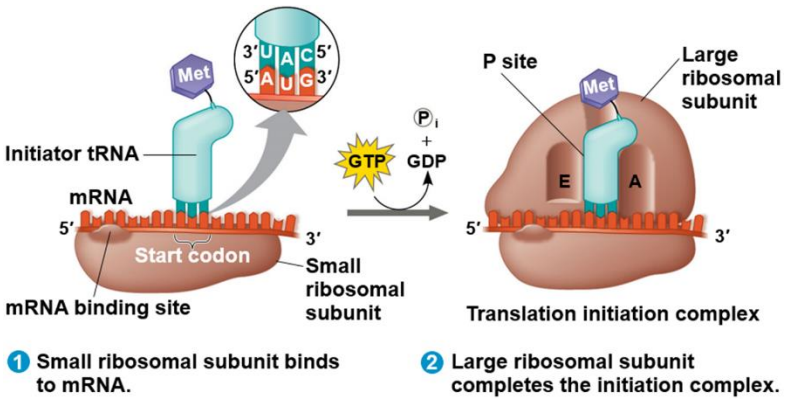
- P จับ tRNA ที่มีสาย ***p***olypeptide ที่กำลังต่อ
- A จับ tRNA ที่มีกรดอะมิโน (***a***mino acid) ที่จะเข้ามาต่อเป็นลำดับถัดไป
- E ทางออก (***e***xit) ของ tRNA ที่ใช้แล้ว



รูปที่ 13 บริเวณที่ทำหน้าที่ของไรโบโซม

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

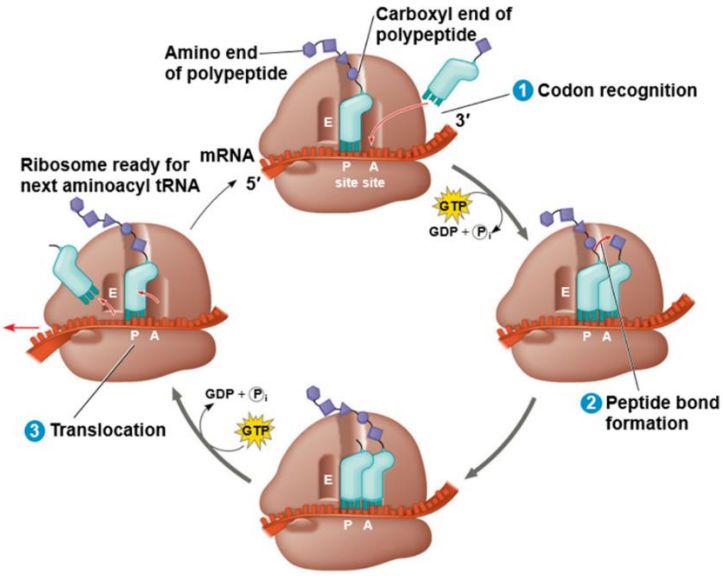
- AUG เป็นโคดอนที่เริ่มกระบวนการ translation
- หน่วยย่อยเล็ก (small subunit) ของไรโบโซมเข้าจับกับ mRNA และ tRNA
- หน่วยย่อยเล็กของไรโบโซมเคลื่อนที่ไปบน mRNA จนถึง start codon
- โปรตีนที่เป็น initiation factor นำหน่วยย่อยใหญ่ (large subunit) ของไรโบโซมเข้ามา ทำให้ translation initiation complex สมบูรณ์



รูปที่ 14 การเริ่มกระบวนการ translation

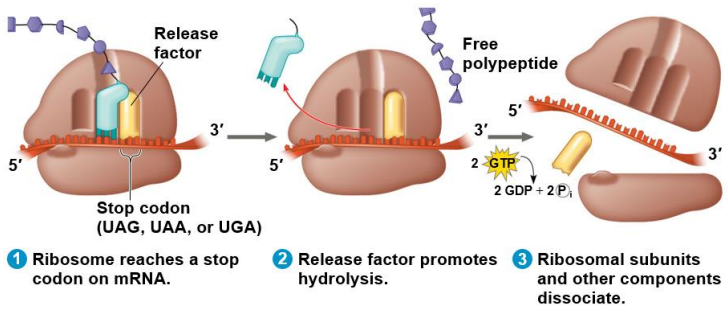
ในระหว่างช่วง elongation กรดอะมิโนจะถูกเพิ่มเข้าไปครั้งละหนึ่งโมเลกุลที่ปลาย C-terminus ของสาย polypeptide โปรตีนที่เรียกว่า elongation factors มีส่วนช่วยในการเพิ่มโมเลกุลกรดอะมิโนเข้าไปในสาย ช่วง elongation นี้แบ่งได้เป็นสามระยะย่อย ได้แก่การจดจำของโคดอน การเกิดพันธะเปปไทด์ และการเคลื่อนย้ายของกรดอะมิโน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

กระบวนการแปลรหัส translation นี้ดำเนินไปจาก 5' ไป 3' ของสาย mRNA



รูปที่ 15 Elongation

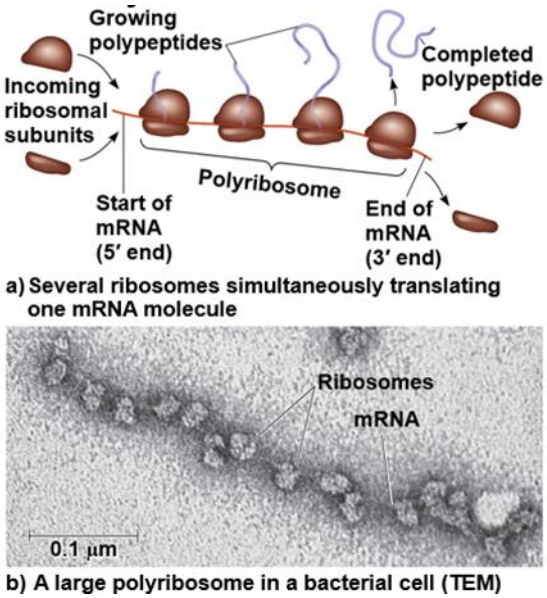
เมื่อถึง Stop codon ที่บริเวณ A ของไรโบโซม โปรตีนที่เรียกว่า release factor จะเข้ามา โปรตีนนี้นำน้ำเข้ามาต่อกับสาย polypeptide ทำให้สาย polypeptide หลุดออกรวมถึงส่วนประกอบทั้งหมด



รูปที่ 16 Termination

โปรตีนที่ได้จากกระบวนการ translation นี้มักจะยังทำงานไม่ได้ โดยสาย polypeptide นี้จะต้องถูกตกแต่งก่อนหรือถูกส่งไปยังบริเวณจำเพาะต่าง ๆ ภายในเซลล์ สาย polypeptide จะเริ่มพับและบิดทำให้เกิดรูปร่างต่าง ๆ เช่นโครงร่างทุติยภูมิและตติยภูมิ โครงสร้างเหล่านี้ถูกกำหนดโดยยีน กระบวนการที่เรียกว่า post-translational modifications มีความสำคัญก่อนที่โปรตีนจะสามารถทำงานได้

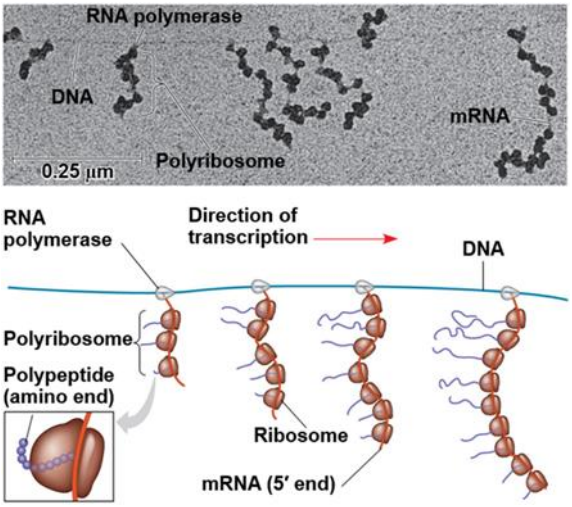
สาย mRNA สายหนึ่งสามารถมีไรโบโซมหลายอันมาแปลรหัสพร้อม ๆ กันได้ เรียกว่า polyribosome หรือ polysome การมี polyribosome ทำให้เซลล์ได้ polypeptide ได้จำนวนมากในเวลาสั้น



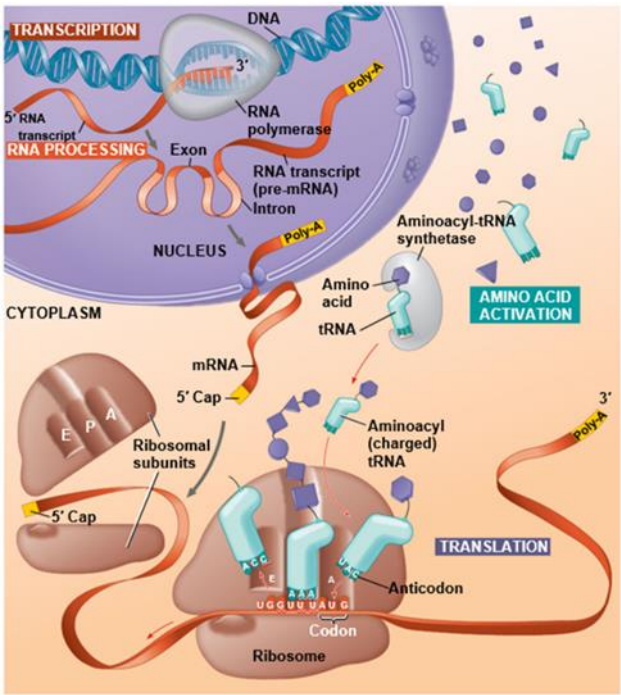
รูปที่ 17 polyribosome หรือที่เรียกว่า polysome

เซลล์แบคทีเรียสามารถเกิด transcription และ translation ไปพร้อม ๆ กันได้ โปรตีนที่ได้จึงสามารถไปทำหน้าที่ของมันได้รวดเร็ว

ใน eukaryotes มีเยื่อหุ้มนิวเคลียสที่แบ่งกระบวนการทั้งสองออกจากกัน และ RNA ที่ได้ยังต้องผ่านกระบวนการต่าง ๆ จึงออกจากนิวเคลียสไปสู่ไซโทพลาซึมเพื่อเกิด translation



รูปที่ 18 Transcription และ translation ในแบคทีเรีย

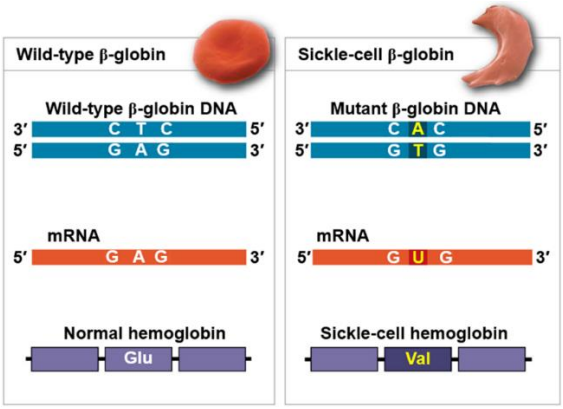


รูปที่ 19 สรุปกระบวนการ transcription และ translation ใน eukaryotes

Mutations

การเปลี่ยนแปลงเบสหนึ่งหรือหลายเบสสามารถเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีนได้ มิวเทชันที่เรียกว่า point mutation เป็นการเปลี่ยนแปลงเพียงหนึ่งนิวคลีโอ

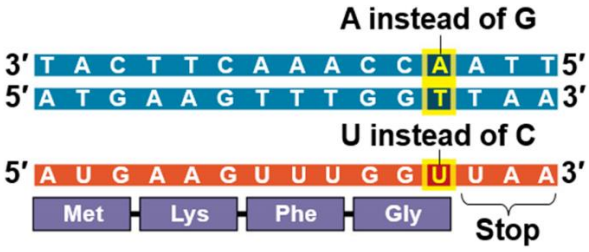
ไทด์ การเปลี่ยนแปลงนี้สามารถเปลี่ยนแปลงการสร้างและทำให้ได้โปรตีนที่ผิดแปลกไป โรค sickle-cell เกิดจากการเปลี่ยนแปลงแบบนี้



รูปที่ 20 Sickle-cell disease

Point mutations ที่เกิดที่ยีนแบ่งได้เป็น substitution (แทนที่) และ insertion/deletion (เพิ่ม/ลด)

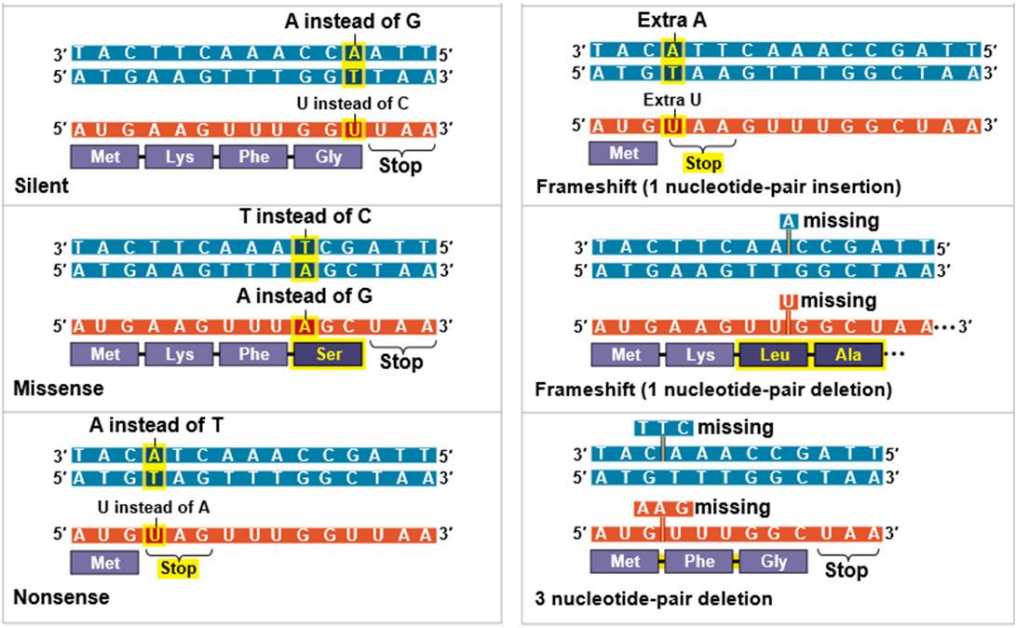
- Substitution:
  เบสหนึ่งไปแทนที่เบสหนึ่ง ทำให้เบสที่เข้าคู่กันเปลี่ยนแปลงไปด้วย
  - Silent mutations กรดอะมิโนที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลงจากของเดิม เนื่องจากหนึ่งกรดอะมิโนมีได้หลายโคดอน
  - Missense mutations กรดอะมิโนที่ได้เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม
  - Nonsense mutations เปลี่ยนโคดอนเดิมให้เป็น stop codon ส่วนมากโปรตีนที่ได้ไม่สามารถทำงานได้



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'

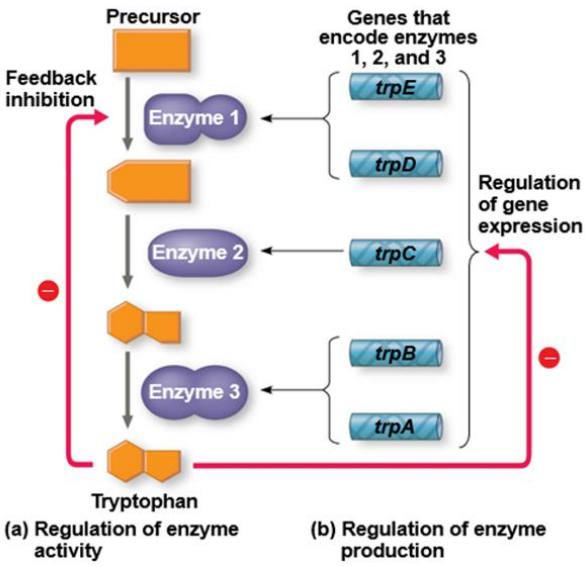
การควบคุมการแสดงออกของยีน

นักศึกษาสามารถยกตัวอย่างการควบคุมการแสดงออกของยีนในระยะก่อนและหลังการเกิด translation ได้

เราเรียกว่ายีนมีการแสดงออกเมื่อมีการเกิด transcription แล้วได้เป็น m**RNA** แล้วนำ mRNA ไปสร้างเป็นโปรตีน

Prokaryotes และ eukaryotes ควบคุมการแสดงออกของยีนในการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมได้อย่างแม่นยำ ใน eukaryotes การแสดงออกของยีนเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีหน้าที่ควบคุมการเจริญและทำให้เกิดความแตกต่างของเซลล์ (eukaryotes ที่มีหลายเซลล์นั้นมีเซลล์เจริญไปทำหน้าที่แตกต่างกันเช่นเซลล์ประสาท เซลล์เม็ดเลือดขาว ซึ่งเซลล์เหล่านี้มีดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสเหมือนกัน) ดังนั้น RNA ที่ได้จึงมีบทบาทมากในการควบคุม**การแสดงออกของยีน**ในยูคาริโอต

แบคทีเรียและพวกโปรคาริโอตผลิตเฉพาะโปรตีนและสารที่จำเป็นสำหรับเซลล์เท่านั้น เซลล์สามารถควบคุมการผลิตของโปรตีน เช่นเอนไซม์ โดยการยับยั้งแบบลบ (negative feedback) หรือโดยการควบคุมยีน กลไกหนึ่งในการควบคุมการแสดงออกของยีนในแบคทีเรียคือ **operon**



รูปที่ 1 การควบคุม metabolic pathway

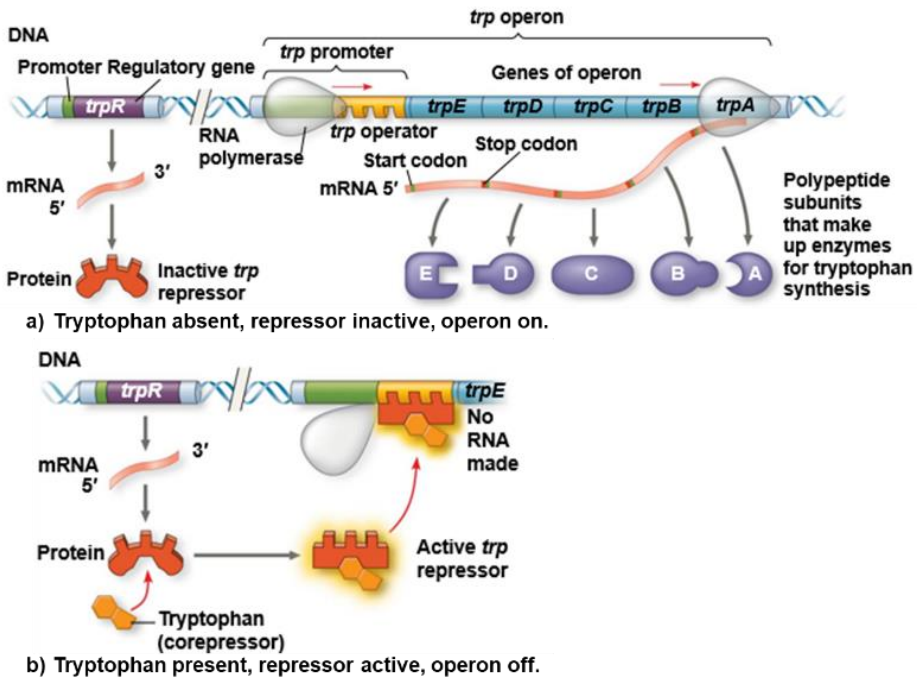
Operons

คือกลุ่มของยีนที่มีหน้าที่คล้ายกันและมีการทำงานร่วมกันโดยมีการควบคุมโดย “on-off switch” สวิตช์นี้คือบริเวณของดีเอ็นเอที่เรียกว่า **Operator** ซึ่งปรกติจะอยู่ในส่วนที่เรียกว่า Promotor โดย Operon นี้ใช้เรียกส่วนของบริเวณทั้งหมดของดีเอ็นเอที่ประกอบด้วย (1) Operator, (2) Promotor, และ (3) ยีนที่มันควบคุม

Operon สามารถปิดได้ด้วยโปรตีนที่เรียกว่า repressor ซึ่งโปรตีน repressor นี้ป้องกันไม่ให้เกิด transcription ของยีนโดยจับเข้ากับส่วนที่เป็น operator และบล้อกเอนไซม์ RNA polymerase จากการจับกับดีเอ็นเอทำให้เอนไซม์ RNA polymerase จับกับดีเอ็นเอไม่ได้จึงไม่เกิดกระบวนการ transcription ซึ่งโปรตีน repressor นี้เป็นผลิตภัณฑ์ของยีนที่ทำหน้าที่ควบคุม (regulatory gene) ซึ่งอยู่ห่างออกไปจาก operon โปรตีน repressor เป็นได้ทั้ง active form และ inactive form ขึ้นอยู่กับการมีอยู่ของโมเลกุลอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง

ยกตัวอย่างเช่น *E. coli* สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโน tryptophan เมื่อกรดอะมิโนตัวนี้มีไม่เพียงพอ โดยปรกติแล้ว *trp* operon จะเปิดเพื่อให้ยีนที่สังเคราะห์กรดอะมิโนตัวนี้ได้ทำงาน แต่เมื่อเซลล์มีกรดอะมิโน tryptophan เพียงพอแล้ว โมเลกุลของกรดอะมิโนตัวนี้จะเข้าไปจับกับ *trp* repressor protein แล้วเข้าไปจับที่ operator ซึ่งจะทำให้ operon นี้ถูกปิด

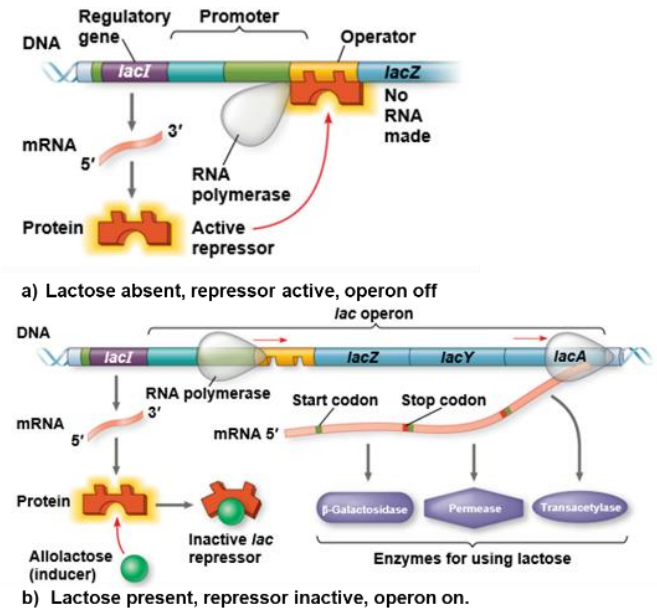
โปรตีน repressor ตัวนี้จึงทำงาน (active form) เมื่อมี co-repressor คือ tryptophan ดังนั้น operon นี้จะปิด (repressed) เมื่อระดับของกรดอะมิโนตัวนี้มีสูง



รูปที่ 2 *trp* operon ในแบคทีเรีย *E. coli*

Operon มีสองแบบคือ repressible และ inducible operons

- Repressible operon คือ operon ที่ปรกติจะเปิดไว้ มี transcription ปกติเพราะไม่มีโปรตีน repressor มาเกาะ ดังนั้นการจับของ repressor ที่ operator จะปิดการทำงานของการ transcription ซึ่ง *trp* operon เป็น operon ชนิดนี้
- Inducible operon คือ operon ที่ปรกติจะปิด โปรตีน inducer จับกับโปรตีน repressor ทำให้เกิด transcription เช่น *lac* operon ซึ่งปรกติ *lac* repressor จะทำงาน (repressor จับอยู่ที่ operator) และปิดการทำงานของ operon แต่เมื่อมีโมเลกุลของ inducer โมเลกุลของ inducer นั้นจะเข้าจับกับ repressor ทำให้โปรตีน repressor นั้นไม่ทำงานแล้วหลุดออกจาก operator จึงทำให้การถอดรหัสเกิดได้



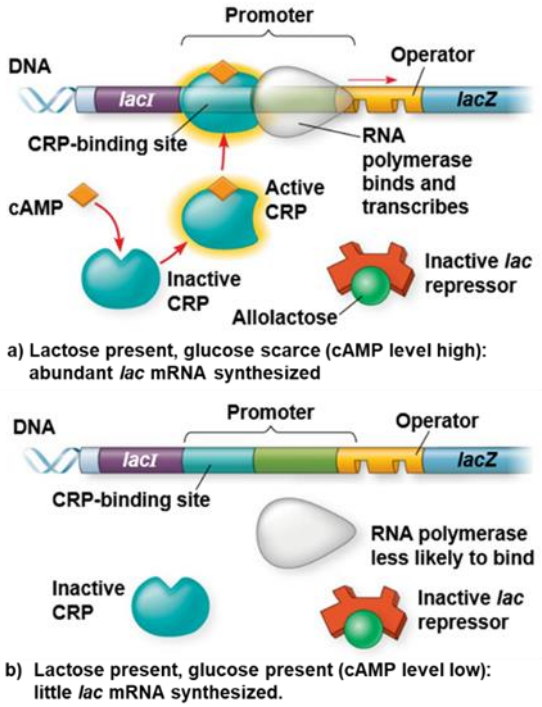
รูปที่ 3 *lac* operon ใน *E. coli*

การควบคุมการแสดงออกของยีนเช่น *trp* และ *lac* operons เป็นการควบคุมแบบ negative control เนื่องจาก operons ถูกปิดด้วย repressor ที่เป็น active form

Positive gene regulation

บาง operons ใช้วิธีการ positive control ผ่านโปรตีนอื่น ๆ เช่น cyclic AMP receptor protein (CRP) ซึ่งกระตุ้นให้เกิด transcription

เมื่อน้ำตาลกลูโกสหายากขึ้น โปรตีน CRP จะถูกกระตุ้นโดยไปจับกับ cyclic AMP (cAMP) แล้ว CRP ที่ทำงานได้นี้จะไปจับที่ promotor ของ *lac* operon และจะไปกระตุ้นให้เกิด transcription มากขึ้น จนเมื่อน้ำตาลกลูโคสในเซลล์มีเพียงพอ CRP จะหลุดออกจาก *lac* operon และ transcription กลับเข้าสู่ภาวะปกติ



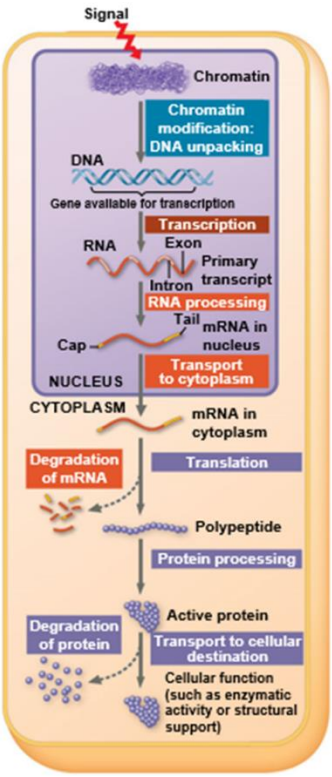
รูปที่ 4 Positive control ของ *lac* operon โดยใช้ cAMP receptor protein (CRP)

เซลล์ eukaryotic มีการควบคุมการแสดงออกของยีนในหลายขั้นตอน

ยีนถูกเปิดและปิดเพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าทั้งภายในและภายนอก การควบคุมการแสดงออกของยีนเป็นสิ่งจำเป็นต่อความหลากหลายของเซลล์ในพวก eukaryotes

เซลล์เกือบทั้งหมดในสิ่งมีชีวิตมีจีโนมเหมือนกัน

ความแตกต่างระหว่างเซลล์แต่ละชนิดในสิ่งมีชีวิตเดียวกัน เช่น เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์กล้ามเนื้อลายเป็นผลมาจาก<u>การแสดงออกของยีนที่แตกต่างกัน</u> ความผิดปกติในการแสดงออกของยีนที่สามารถนำไปสู่โรครวมทั้งโรคมะเร็ง การแสดงออกของยีนที่ถูกควบคุมหลายขั้นตอน แต่มักจะขึ้นอยู่กับการควบคุม translation

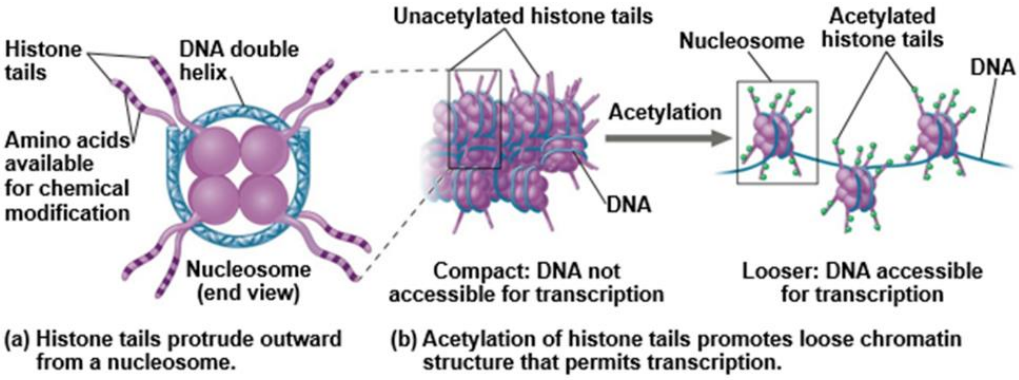


รูปที่ 5 การควบคุมการแสดงออกของยีนสามารถควบคุมได้ในหลายระดับตั้งแต่ในนิวเคลียวจนถึงในไซโทพลาซึม

การควบคุมโครงสร้างของโครมาทิน

โครงสร้างของเส้นใยโครมาทิน (เส้นใยโครมาทินคือดีเอ็นเอที่จับกับโปรตีนฮิสโตนแล้วขดพันกัน) ช่วยในการควบคุมการแสดงออกของยีน ยีนที่อยู่ในบริเวณ **heterochromatin** จะไม่ได้แสดงออกมากซึ่งตรงข้ามกับยีนที่อยู่ที่บริเวณ **euchromatin** การเปลี่ยนแปลงที่เกิดที่โปรตีนฮิสโตนและดีเอ็นเอมีผลต่อทั้งโครงสร้างของโปรตีนฮิสโตนและการแสดงออกของยีน

- การเติมหมู่ acetyl ที่กรดอะมิโนที่ปลายหางของโปรตีนฮิสโตนจะทำให้เส้นใยโครมาทินคลายออก ทำให้เกิด transcription
- การเติมหมู่ methyl ลงบนนิวคลีโอไทด์บนสายดีเอ็นเอในสายโครมาทินทำให้โครมาทินขดอัดกันแน่นขึ้นและทำให้ลด transcription



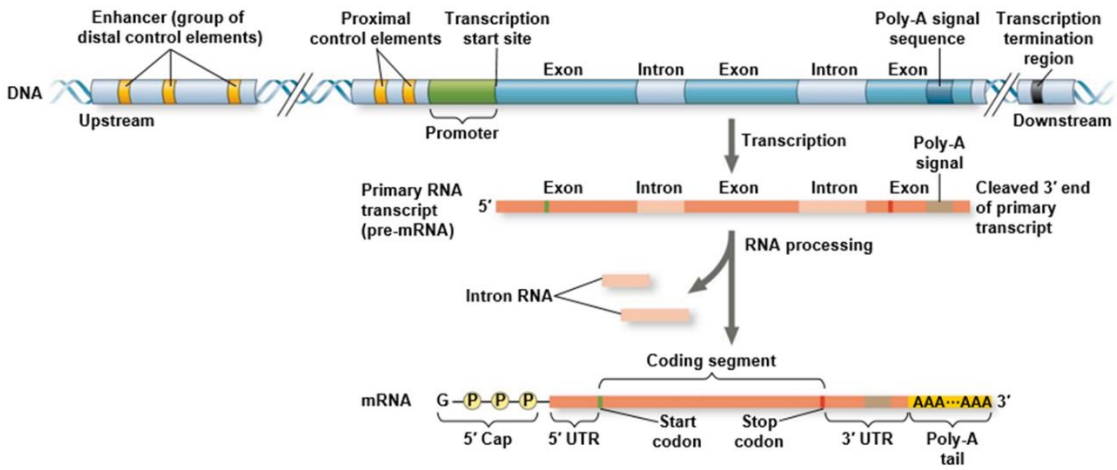
รูปที่ 6 โปรตีนอิสโตนและการเติมหมู่acetyl

เมื่อเติมหมู่เมทิลในเบสบนสาย DNA พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการลด transcription ในบางสปีชีส์ การเติมหมู่เมทิลในดีเอ็นเอสามารถให้ผลกระทบในระยะยาวต่อยีนได้

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดบนโปรตีนฮิสโตนไม่ได้ส่งผลต่อลำดับเบสบนดีเอ็นเอ แต่มันสามารถถ่ายทอดไปยังเซลล์รุ่นต่อไปได้ *การถ่ายทอดลักษณะจากรุ่นหนึ่งไปอีกรุ่นโดยที่ไม่ได้ถูกควบคุมโดยลำดับเบสบนดีเอ็นเอเรียกว่า epigenetics*

ยีนและ transcript ของ eukaryotes

ส่วนของดีเอ็นเอที่เรียกว่า control elements (ส่วนของ non-coding DNA) เป็นบริเวณสำคัญบริเวณหนึ่งที่ใช้จับกับ transcription factors ที่ช่วยควบคุมการแสดงออกของยีน ดังนั้นบริเวณ control elements และ transcription factors จึงเป็นอีกสองส่วนที่สำคัญที่ทำให้การควบคุมการแสดงออกของยีนให้เกิดความแม่นยำ

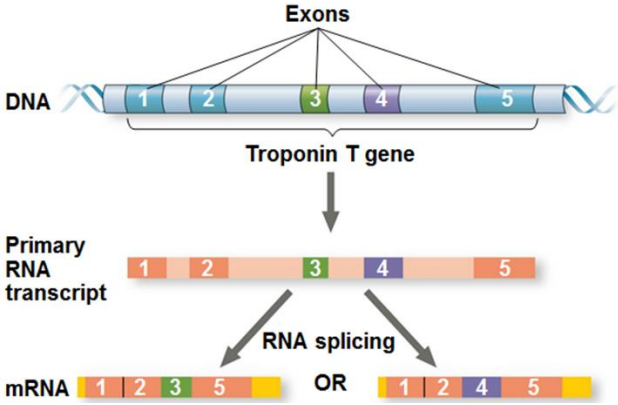


รูปที่ 7 ยีนของ eukaryotes และ transcripts

การควบคุมการแสดงออกของยีนหลังจาก transcription (post-transcriptional regulation)

RNA processing

Pre-mRNA ที่ได้จาก transcription จะเข้าสู่กระบวนการตกแต่งในกระบวนการที่เรียกว่า alternative RNA splicing แล้วทำให้ได้โมเลกุล mRNA ที่พร้อมใช้งานได้หลายแบบที่แตกต่างกัน การตัดแต่ง mRNA ต้นแบบที่แตกต่างกันนั้นขึ้นอยู่กับว่าจะเอาส่วนใดเป็น intron ส่วนใดเป็น exon โดยกระบวนการ alternative RNA splicing นี้มีความสำคัญมากในจีโนมของ eukaryotes เนื่องจากไม่จำเป็นต้องมียีนมากแต่ก็ทำให้ได้ mRNA หลายแบบซึ่งทำให้ได้โปรตีนหลายแบบตามไปด้วย ในคนพบว่ามากกว่า 90% ของยีนที่สังเคราะห์โปรตีนอาศัยกระบวนการ alternative RNA splicing



รูปที่ 8 alternative RNA splicing ของยีนหนึ่งยีนแต่ทำให้ได้ mRNA ที่พร้อมใช้งานได้สองแบบ

alternative RNA splicing: a post-transcriptional gene regulation mechanism in eukaryotes in which multiple protein products are produced by a single gene through alternative splicing combinations of the RNA transcript.

codon: three consecutive nucleotides in mRNA that specify the addition of a specific amino acid or the release of a polypeptide chain during translation.

deoxyribose: a five-carbon sugar molecule with a hydrogen atom rather than a hydroxyl group in the 2' position; the sugar component of DNA nucleotides.

DNA ligase: the enzyme that catalyzes the joining of DNA fragments together.

DNA polymerase: an enzyme that synthesizes a new strand of DNA complementary to a template strand.

double helix: the molecular shape of DNA in which two strands of nucleotides wind around each other in a spiral shape.

epigenetic: describing non-genetic regulatory factors, such as changes in modifications to histone proteins and DNA that control accessibility to genes in chromosomes.

exon: a sequence present in protein-coding mRNA after completion of pre-mRNA splicing.

gene expression: processes that control whether a gene is expressed.

genetic code: the amino acids that correspond to three-nucleotide codons of mRNA.

helicase: an enzyme that helps to open up the DNA helix during DNA replication by breaking the hydrogen bonds.

intron: non–protein-coding intervening sequences that are spliced from mRNA during processing.

lagging strand: during replication of the 3' to 5' strand, the strand that is replicated in short fragments and away from the replication fork.

leading strand: the strand that is synthesized continuously in the 5' to 3' direction that is synthesized in the direction of the replication fork.

mismatch repair: a form of DNA repair in which non-complementary nucleotides are recognized, excised, and replaced with correct nucleotides.

mRNA: messenger RNA; a form of RNA that carries the nucleotide sequence code for a protein sequence that is translated into a polypeptide sequence.

mutation: a permanent variation in the nucleotide sequence of a genome.

nitrogenous base: a nitrogen-containing molecule that acts as a base; often referring to one of the purine or pyrimidine components of nucleic acids.

nontemplate strand: the strand of DNA that is not used to transcribe mRNA; this strand is identical to the mRNA except that T nucleotides in the DNA are replaced by U nucleotides in the mRNA.

nucleotide excision repair: a form of DNA repair in which the DNA molecule is unwound and separated in the region of the nucleotide damage, the damaged nucleotides are removed and replaced with new nucleotides using the complementary strand, and the DNA strand is resealed and allowed to rejoin its complement.

Okazaki fragments: the DNA fragments that are synthesized in short stretches on the lagging strand.

phosphate group: a molecular group consisting of a central phosphorus atom bound to four oxygen atoms.

post-transcriptional: control of gene expression after the RNA molecule has been created but before it is translated into protein.

post-translational: control of gene expression after a protein has been created.

primer: a short stretch of RNA nucleotides that is required to initiate replication and allow DNA polymerase to bind and begin replication.

promoter: a sequence on DNA to which RNA polymerase and associated factors bind and initiate transcription.

replication fork: the Y-shaped structure formed during the initiation of replication.

RNA polymerase: an enzyme that synthesizes an RNA strand from a DNA template strand.

rRNA: ribosomal RNA; molecules of RNA that combine to form part of the ribosome.

semiconservative replication: the method used to replicate DNA in which the double-stranded molecule is separated and each strand acts as a template for a new strand

to be synthesized, so the resulting DNA molecules are composed of one new strand of nucleotides and one old strand of nucleotides.

splicing: the process of removing introns and reconnecting exons in a pre-mRNA.

start codon: the AUG (or, rarely GUG) on an mRNA from which translation begins; always specifies methionine.

stop codon: one of the three mRNA codons that specifies termination of translation.

telomerase: an enzyme that contains a catalytic part and an inbuilt RNA template; it functions to maintain telomeres at chromosome ends.

telomere: the DNA at the end of linear chromosomes.

template strand: the strand of DNA that specifies the complementary mRNA molecule.

transcription bubble: the region of locally unwound DNA that allows for transcription of mRNA.

tRNA: transfer RNA; an RNA molecule that contains a specific three-nucleotide anticodon sequence to pair with the mRNA codon and also binds to a specific amino acid.

แบบฝึกหัด

การควบคุมการแสดงออกของยีนสามารถควบคุมได้ที่ระยะใด

A. ระหว่าง translation

B. ระหว่าง transcription

C. หลังจากเกิด translation

D. หลังจากเกิด transcription

โปรตีนจับกับดีเอ็นเอราว ๆ 100 เบสหน้าบริเวณ promotor ผลที่ได้ทำให้เกิด transcription ของยีนหนึ่งเป็นจำนวนมาก โปรตีนนี้น่าจะไปจับกับบริเวณใดบนสายดีเอ็นเอ

A. Operon

B. Silencer

C. Enhancer

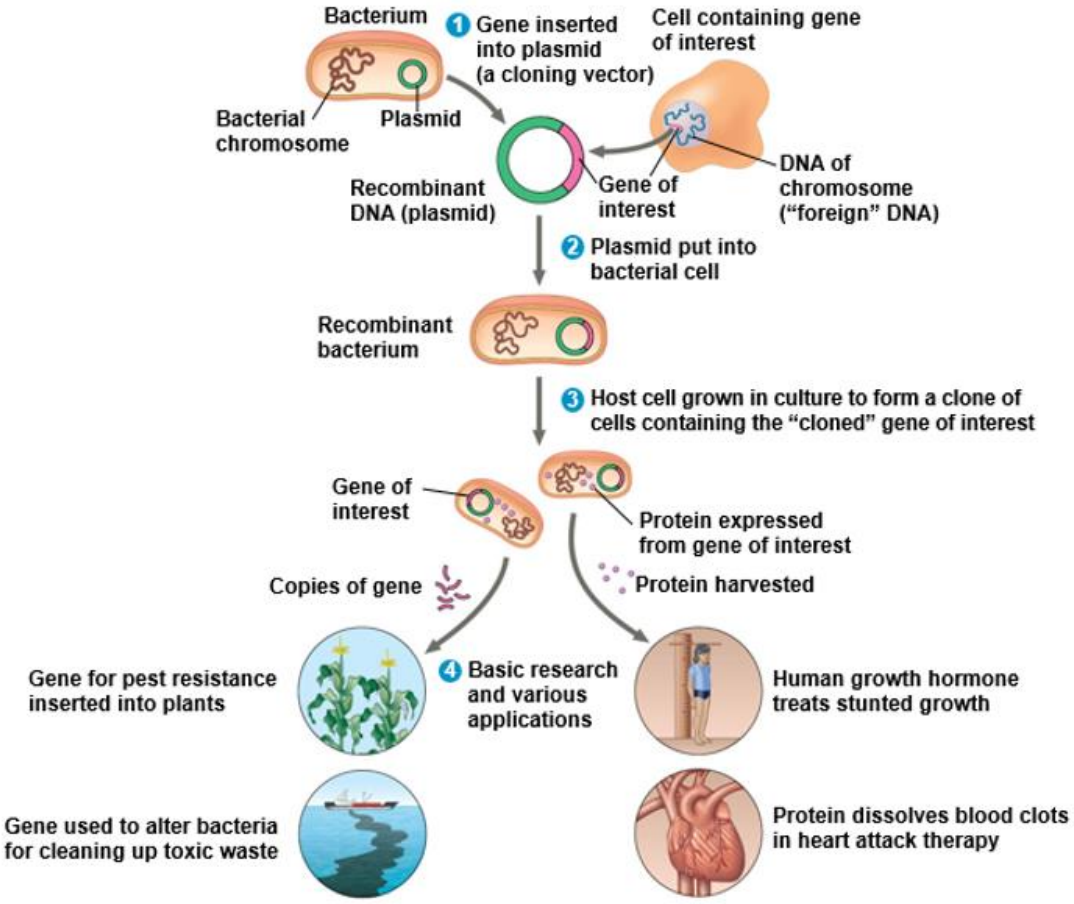
D. Repressor

Biotechnology

การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอเทคนิค DNA cloning

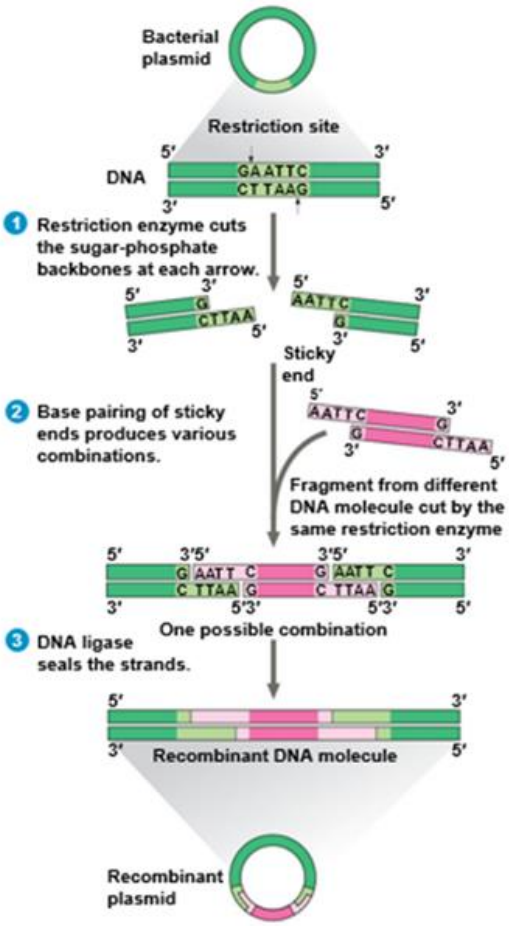
เป็นการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอโดยนำชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สนใจจะเพิ่มจำนวนเข้าไปแทรกในพลาสมิด (plasmid) พลาสมิดคือดีเอ็นเอที่เป็นวงที่เพิ่มจำนวนได้ เมื่อตัดพลาสมิดให้ขาดออกแล้วนำชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่สนใจแทรกเข้าไป แล้วเชื่อมต่อชิ้นส่วนทั้งสองเข้าด้วยกันให้กลายเป็นวงเหมือนเดิมด้วยเอนไซม์ DNA ligase แล้วพลาสมิดนั้นจะถูกเรียกว่า recombinant plasmid ซึ่ง recombinant plasmid นี้ยังเพิ่มจำนวนไม่ได้ ต้องเอา recombinant plasmid นี้เข้าไปในเซลล์แบคทีเรียก่อน จากนั้นเมื่อแบคทีเรียแบ่งตัวจากหนึ่งเป็นสองก็จะมีพลาสมิดเพิ่มติดไปในเซลล์ใหม่ด้วย เมื่อแบคทีเรียแบ่งตัวหลาย ๆ ครั้งก็จะได้ recombinant plasmid ที่มีจำนวนมาก ๆ ด้วย วิธีการนี้ทำให้ได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการได้คราวละมาก ๆ วิธีโคลนนิงนี้นิยมใช้เพื่อเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอเพื่อผลิตโปรตีนที่สนใจ

พลาสมิดที่ใช้สำหรับโคลนนิงเรียกว่า cloning vector พลาสมิดของแบคทีเรียเป็นที่นิยมในการใช้เป็นเวกเตอร์เพราะสามารถนำเข้าเซลล์แบคทีเรียได้ง่าย

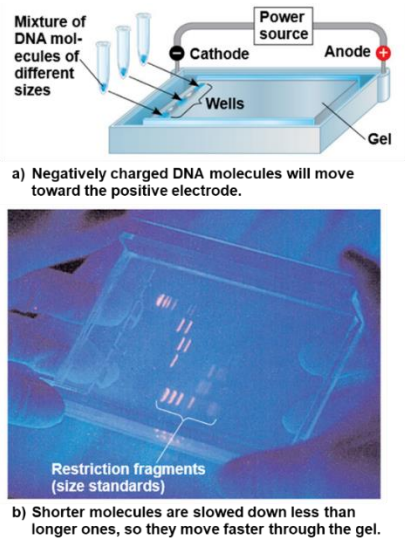


© 2017 Pearson Education, Inc.

รูปที่ 1 DNA cloning โดยการนำยีนจากสิ่งมีชีวิตอื่นเข้าไปใส่ในพลาสมิดแล้วนำเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียเพื่อให้เซลล์แบคทีเรียสร้างโปรตีนจากยีนที่ใส่เข้าไป



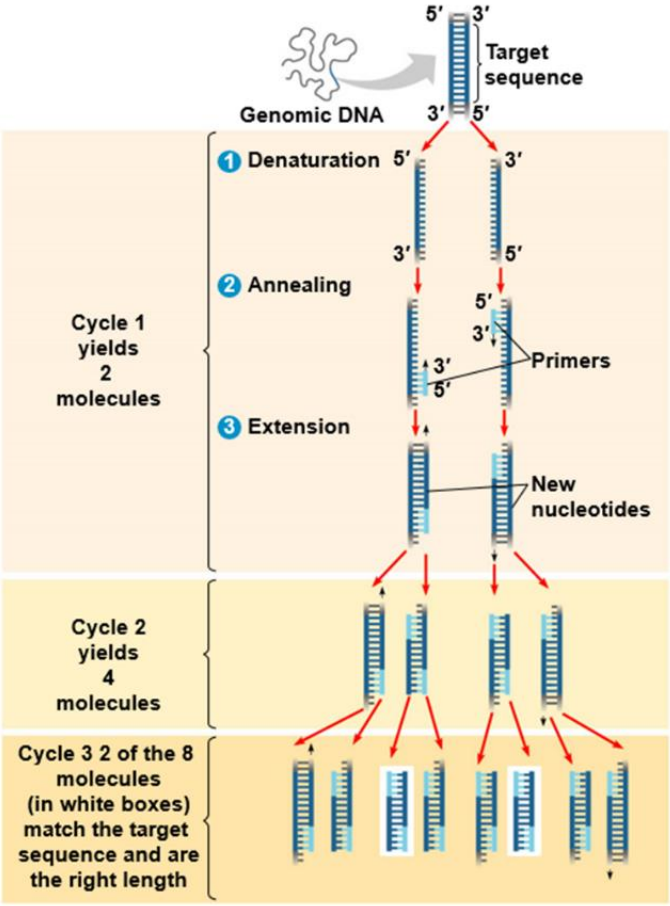
รูปที่ 2 การสร้าง recombinant plasmid โดยตัดพลาสมิดใช้กลายเป็นเส้นด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะแล้วนำยีนหรือชิ้นดีเอ็นเอที่สนใจเข้าไปแทรกแล้วเชื่อมต่อดีเอ็นเอเข้าด้วยกันด้วยเอนไซม์ DNA ligase



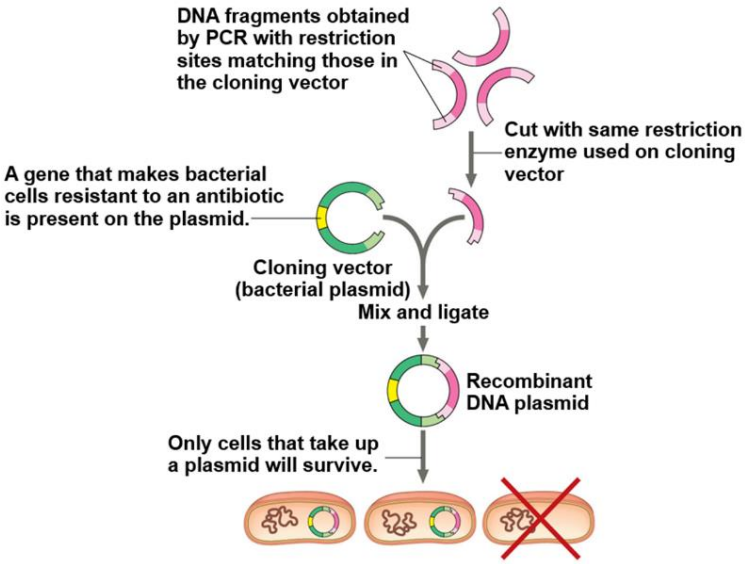
รูปที่ 3 การแยกขนาดของดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Gel electrophoresis

การเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR

Polymerase chain reaction (PCR) เป็นการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอบริเวณที่สนใจ เทคนิคนี้ประกอบด้วยสามขั้นตอน คือ (1) denaturation ใช้ความร้อน (ประมาณ 95 °C) ทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างสายดีเอ็นเอทำให้สายดีเอ็นเอออกจากกัน, (2) annealing ลดความร้อนลง (ประมาณ 50–60 °C) เพื่อให้ DNA primers สามารถเข้าจับกับดีเอ็นเอบริเวณที่เราสนใจจะเพิ่มจำนวน และขั้นตอนสุดท้ายคือ (3) extension เป็นการเพิ่มอุณหภูมิ ให้สูงขึ้น (ประมาณ 72 °C) เพื่อให้นิวคลีโอไทด์ (A, T, G, C) เข้ามาต่อกับไพร์เมอร์ สามขั้นตอนนี้จะถูกทำซ้ำหลาย ๆ รอบจนในที่สุดได้จำนวนดีเอ็นเอที่สนใจในปริมาณมาก เทคนิค PCR นี้ใช้เอนไซม์ DNA polymerase ที่ทนต่อความร้อนได้ดีคือ *Taq* polymerase

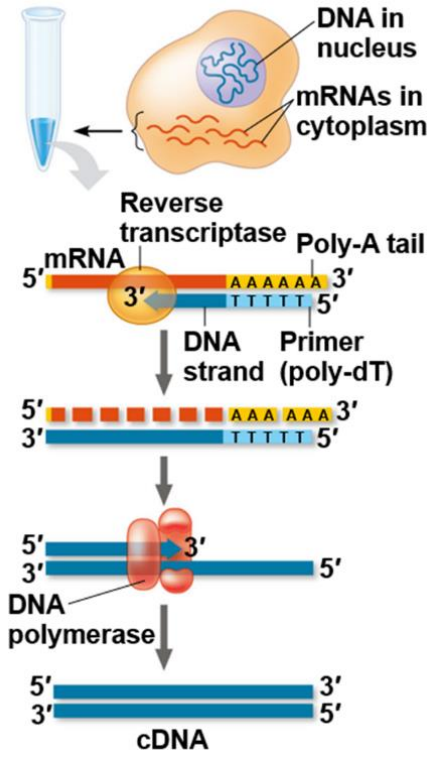


รูปที่ 4 Polymerase Chain Reaction

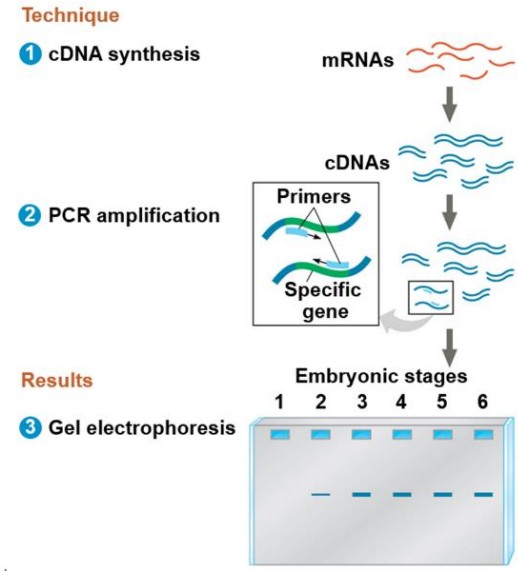


รูปที่ 5 ดีเอ็นเอที่ได้จาก PCR สามารถนำไปใช้สำหรับ gene cloning

การศึกษาว่ายีนที่สนใจมีการแสดงออกเมื่อไหร่และที่ไหนสามารถทำได้โดยศึกษาผ่าน mRNAs ที่สร้างขึ้น mRNA สามารถตรวจจับได้เช่นวิธี fluorescence *in situ* hybridization (FISH) หรือการสกัด mRNA จากเนื้อเยื่อที่สนใจ mRNA ที่สกัดได้จะถูกเปลี่ยนเป็นดีเอ็นเอคู่สมกัน (complementary DNA ย่อว่า cDNA) โดยใช้เอนไซม์ reverse transcriptase แล้วนำไปเพิ่มจำนวนโดยใช้ PCR ซึ่งมีชื่อเรียกเฉพาะว่า reverse transcriptase-PCR หรือ RT-PCR



รูปที่ 6 การสร้าง complementary DNA



รูปที่ 7 Reverse transcriptase-PCR

DNA sequencing

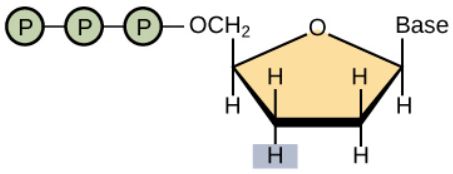
Sanger sequencing: The chain termination method

Sanger sequencing ถูกพัฒนาโดย Fred Sanger และคณะในปี 1977 วิธีนี้ยังเป็นที่นิยมในการศึกษาลำดับเบสของยีนหรือลำดับเบสหนึ่งๆ

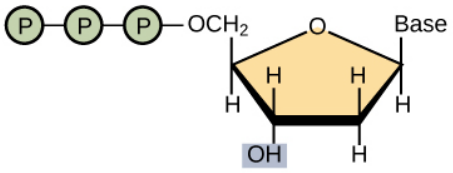
Sanger sequencing ใช้วิธีคล้ายกับการทำ PCR นั่นคือมีส่วนประกอบคือ

- DNA polymerase
- Primer ที่จับกับส่วนดีเอ็นเอที่สนใจ
- DNA nucleotides (dATP, dTTP, dCTP, dGTP ที่รวมกันเรียกว่า dNTPs)
- template DNA

แต่ Sanger sequencing จะใช้ส่วนประกอบอีกอย่างเพิ่มเข้ามาจากการทำ PCR ปกติคือ ddATP, ddTTP, ddCTP, ddGTP ที่ติดฉลากสีฟลูออเรสเซนส์ไว้เบสละสีรวมเป็นสี่สี โดย ddNTPs นี้เป็น dideoxy ที่ต่างจาก dNTPs ปกติที่เป็น deoxy และเนื่องจาก dideoxy ที่ไม่มีออกซิเจนที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 นี้ทำให้ DNA polymerase ไม่สามารถสร้างพันธะ phosphodiester เอานิวคลีโอไทด์ตัวต่อไปเข้ามาต่อได้

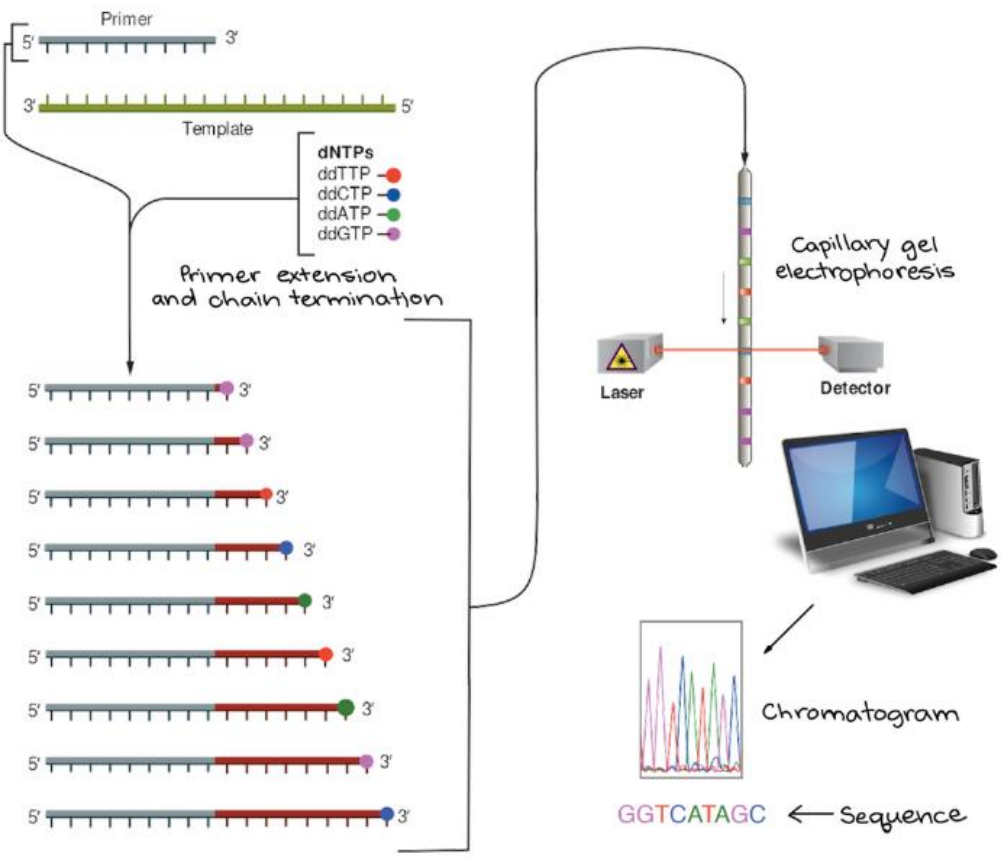


Dideoxynucleotide (ddNTP)

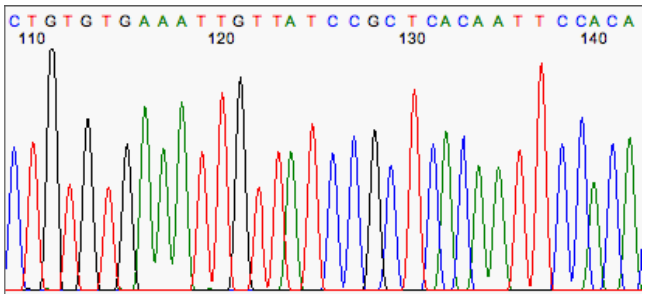


Deoxynucleotide (dNTP)

รูปที่ 8 ddNTP และ dNTP



รูปที่ 9 Sanger sequencing และกราฟที่ได้จากกระบวนการนี้ที่เรียกว่า chromatogram



รูปที่ 10 ลำดับเบสบน Chromatogram

Dideoxy nucleotides มีโครงสร้างคล้ายกับ deoxy nucleotides แต่มันไม่มีหมู่ hydroxyl ที่คาร์บอนที่ 3' ในน้ำตาล เมื่อ dideoxy nucleotide ถูกเพิ่มเข้าไปในสายดีเอ็นเอ เพราะว่ามันไม่มีไฮดรอซิลทำให้นิวคลีโอไทด์มาเชื่อมต่ออีกไม่ได้ สายจึงหยุดอยู่เท่านั้นและเนื่องจากมันได้ติดฉลากสีเอาไว้ เมื่อนำมาอ่านจึงเห็นเป็นลำดับเบส

Next Generation Sequencing

"Next Generation Sequencing" (NGS หรือ "massively parallel sequencing") เป็นชื่อรวม ๆ ของเทคนิคที่ใช้หาลำดับเบสได้คราวละมากๆ เช่นการศึกษาจีโนม NGS ที่เป็นที่รู้จักได้แก่

- 454 (หรือ pyrosequencing หรือ Roche GS FLX) "sequencing by synthesis"
- Illumina (หรือ Solexa) "sequencing by synthesis"
- SOLiD "sequencing by ligation"

ปัจจุบันมีเทคนิคที่ทันสมัยขึ้นทำให้การอ่านลำดับเบสได้ยาวมากขึ้น ได้แก่

- Ion Torrent
- Pacific Biosciences (PacBio)
- Oxford Nanopore

แบบฝึกหัด

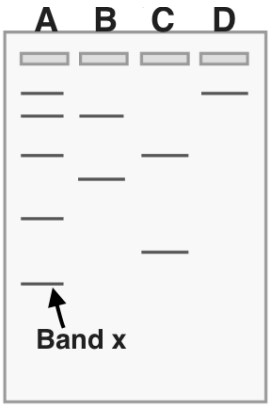
ข้อใดถูกเกี่ยวกับ polymerase chain reaction (PCR)

A. Denaturation - แยกดีเอ็นเอด้วยอุณหภูมิสูง
B. Extension – ลดอุณหภูมิลงเพื่อให้ DNA primers เข้าจับกับ DNA template
C. Annealing – นิวคลีโอไทด์เข้ามาต่อจาก primers โดยใช้เอนไซม์ *Taq* polymerase

Polymerase chain reaction (PCR) มีวิธีการคล้ายกับกระบวนการใดที่ทำให้ได้ดีเอ็นเอจำนวนมาก

A. Translation
B. Replication
C. Transcription
D. Mitosis

ผลจาก gel electrophoresis ของสิ่งมีชีวิตสี่ชนิด ด้านล่างมีแถบ X แถบนี้มีความหมายว่าอย่างไร



A. DNA ชิ้นใหญ่ที่สุด เคลื่อนที่ได้ช้าสุด
B. DNA ชิ้นเล็กสุด เคลื่อนที่ช้าสุด
C. DNA ชิ้นเล็กสุด เคลื่อนที่เร็วสุด
D. DNA ชิ้นใหญ่ที่สุด เคลื่อนที่ได้เร็วสุด

Genomics

- Genome (gene + -ome) คือยีนทั้งหมดในสิ่งมีชีวิต
- Genomics (gene + -omics) เป็นการศึกษาของยีนทั้งหมดและบางครั้งก็อาจรวมไปถึงความสัมพันธ์ระหว่างกัน
- Proteome (protein + -ome) คือโปรตีนที่แสดงออกทั้งหมดภายในเซลล์หรือในกลุ่มของเซลล์
- Proteomics (protein + -omics) การศึกษาโปรตีนและคุณสมบัติของโปรตีน
- Bioinformatics การประยุกต์ใช้วิธีการทางคอมพิวเตอร์มาใช้วิเคราะห์และจัดเก็บข้อมูลทางชีวภาพ

การศึกษาจีโนมมนุษย์

Human genome project เริ่มต้นในปี 1990 โปรเจคนี้มีความสำคัญต่อการพัฒนาเทคโนโลยีและกระบวนการศึกษาจีโนม ลำดับเบสบนจีโนมมนุษย์มีการศึกษาเสร็จสิ้นเป็นครั้งแรกเมื่อปี 2003 ด้วยการหาลำดับเบสแบบวิธี Sanger sequencing แต่ในปัจจุบันการศึกษาจีโนมใช้เทคนิคหาลำดับเบสแบบ next generation sequencing (NGS) เพราะใช้เวลาเร็วกว่ามากรวมถึงราคาที่ถูก

เนื่องจากปัจจุบันเราสามารถหาลำดับเบสทั้งหมดของสิ่งมีชีวิตใด ๆ ก็ได้ในระยะเวลาอันสั้นเพราะเทคนิค NGS ดังนั้นเราจึงมีข้อมูลจีโนมมากมายมหาศาล เราจึงอยู่ในยุคที่เรียกกันว่า post-genomic era โดยข้อมูลทางชีวภาพเช่นลำดับเบสบนดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ โปรตีนและจีโนมมักจัดเก็บอยู่บนอินเตอร์เน็ต เราสามารถใช้ฐานข้อมูลเหล่านี้เพื่อค้นหาและดาวโหลดข้อมูลเพื่อวิเคราะห์ได้ เช่น

- NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)
- European Molecular Biology Laboratory, EMBL (https://www.ebi.ac.uk/services)

เมื่อมีข้อมูลดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอและโปรตีนจำนวนมากขึ้นจากสิ่งมีชีวิตหลายชนิด ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงสามารถใช้ข้อมูลที่มีอยู่มาทำนายและค้นหายีนใหม่ ๆ ได้ กระบวนการค้นหาและระบุยีนใหม่ ๆ เรียกว่า gene annotation

ขนาดของจีโนม

จีโนมในแบคทีเรียและอาร์เคียมีขนาดราว ๆ 1–6 ล้านเบส (Mb, mega bases) แต่จีโนมของยูคาริโอตมักมีขนาดใหญ่กว่านี้ พืชส่วนใหญ่และสัตว์มีขนาดจีโนมมากกว่า 100 Mb จีโนมมนุษย์มีขนาดราว 3000 Mb (3 Gb) และมียีนราว ๆ 20,000 ยีน ความซับซ้อนของสิ่งมีชีวิตไม่ได้บอกว่าจีโนมจะมีขนาดใหญ่ตามเสมอไป ในมนุษย์นั้นพบว่ามีดีเอ็นเอถึง 98.5% ที่ไม่ได้ให้รหัสที่สร้างโปรตีน

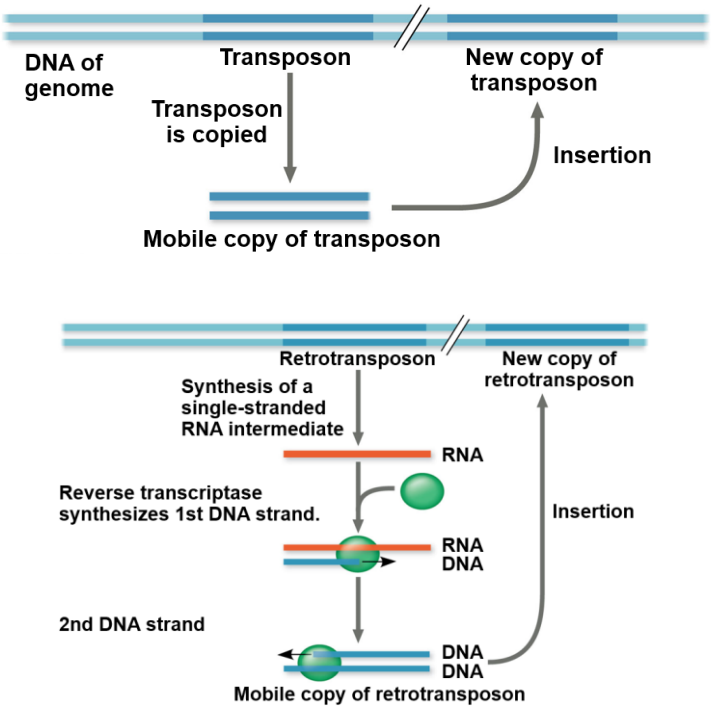
ดีเอ็นเอส่วนที่ไม่ได้ให้รหัสใด ๆ เรียกว่า noncoding DNA

Noncoding DNA เป็นดีเอ็นเอที่ไม่ได้มีรหัสที่สร้างโปรตีน สามารถแบ่งได้คร่าว ๆ เป็นสองกลุ่ม คือ (1) pseudogenes คือยีนที่ทำงานไม่ได้แล้วเนื่องจากเกิด mutations และ (2) repetitive DNA คือส่วนของดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำ ๆ กัน

ราว ๆ 75% ของ repetitive DNA ในมนุษย์เป็นดีเอ็นเอที่เรียกว่า transposable elements ซึ่ง transposable elements นี้สามารถย้ายจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่งได้ภายในจีโนม โดยในพวก Eukaryotes มี transposable elements ที่แบ่งได้สองแบบตามการเคลื่อนย้าย คือ

(1) **transposon** แบบนี้ตัวมันเองจะถูกคัดลอกเป็นดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ transposase แล้วชิ้นที่ถูกคัดลอกมาจะเข้าไปแทรกในบริเวณอื่นในจีโนม

(2) **retrotransposon** ตัวมันจะถูกคัดลอกเป็น RNA ก่อนแล้วใช้เอนไซม์ reverse transcriptase เปลี่ยนอาร์เอ็นเอให้เป็นดีเอ็นเอ แล้วดีเอ้นเอที่ได้นั้นจะเข้าไปแทรกในจีโนมต่อไป



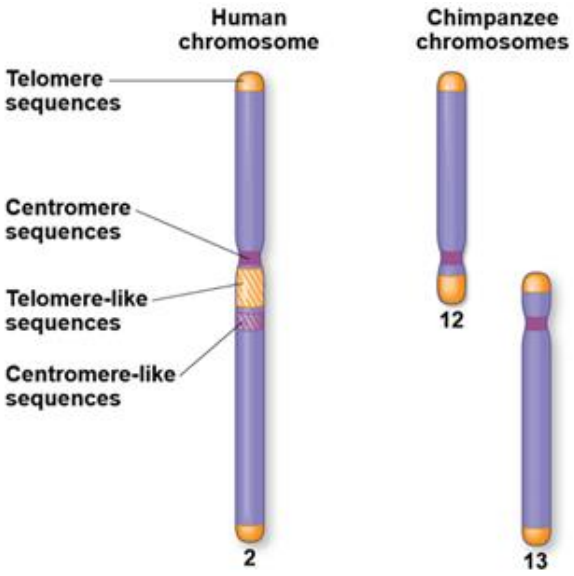
รูปที่ 1 Transposon (ภาพบน) และ retrotransposon (ภาพล่าง)

Duplication rearrangement และ mutation

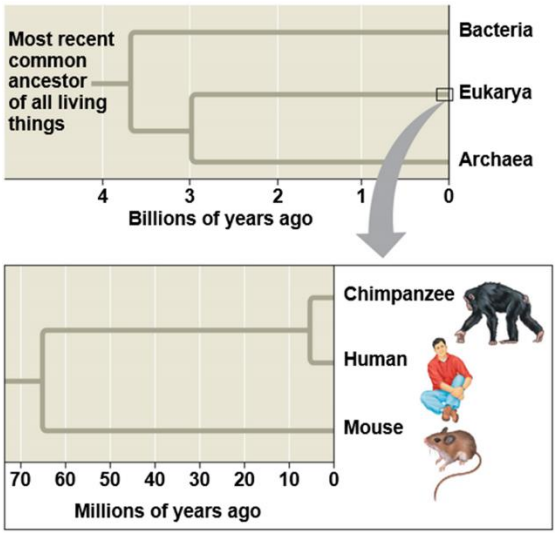
โครโมโซมอาจเพิ่มขึ้นมาในช่วงการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส การเพิ่มขึ้นของโครโมโซม และการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมเช่นการหักแล้วต่อกลับไปแบบ inversion หรือความผิดพลาดอื่น ๆ ในช่วงไมโอซิสอาจส่งต่อให้กับรุ่นต่อไปและอาจทำให้ยีนที่อยู่บนโครโมโซมที่เพิ่มขึ้นมาอาจมีการสะสมของ mutation อาจทำให้เกิดยีนที่มีหน้าที่ใหม่ ๆ ส่งผลต่อวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตในที่สุด

การมีอยู่ของ transposable elements ก็ส่งผลต่อการวิวัฒนาการเช่นเดียวกัน โดย transposable elements อาจเข้าไปแทรกในบริเวณที่เป็นยีนจนทำให้ไม่เกิดการสร้างโปรตีน หรืออาจทำให้ได้โปรตีนชนิดใหม่ หรือทำให้มีการเพิ่มหรือลดการสร้างโปรตีนนั้น นอกจากนี้ transposable elements อาจพายีนเข้าไปแทรกในบริเวณใหม่หรือส่งผลต่อการตัดแต่งโมเลกุลของ mRNA (ส่งผลต่อกระบวนการ RNA processing)

การเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนบางยีนหรือทั้งจีโนมทำให้สามารถรู้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างสิ่งมีชีวิตแต่ละได้ ยีนบางยีนได้รับการอนุรักษ์ (conserved, เช่น สิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกันสองชนิดมีลำดับเบสของยีนยีนหนึ่งที่คล้ายกันมาก เราเรียกยีนที่สนใจอยู่นั้นว่ายีนของสิ่งมีชีวิตทั้งสองนั้นถูกอนุรักษ์ไว้) ไว้ตลอดช่วงวิวัฒนาการเนื่องจากมีความจำเป็นต่อการมีชีวิต จีโนมของสิ่งมีชีวิตที่ใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการมักมีการจัดเรียงยีนภายในจีโนมคล้าย ๆ กัน เช่นจีโนมของคนกับชิมแปนซีมีความแตกต่างกันเพียงราว 1%



รูปที่ 2 โครโมโซมของคนและชิมแปนซี



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างคน ชิมแปนซีและหนู