พันธุศาสตร์โมเลกุล

ตอนที่ 1

ผศ.ดร.สมาน แก้วไวยุทธ

Nucleic acid

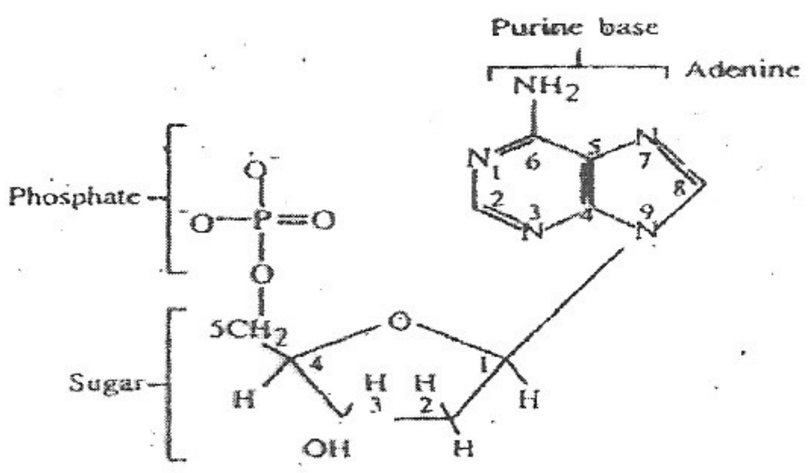
Genetic materials : -

1. DNA
2. RNA

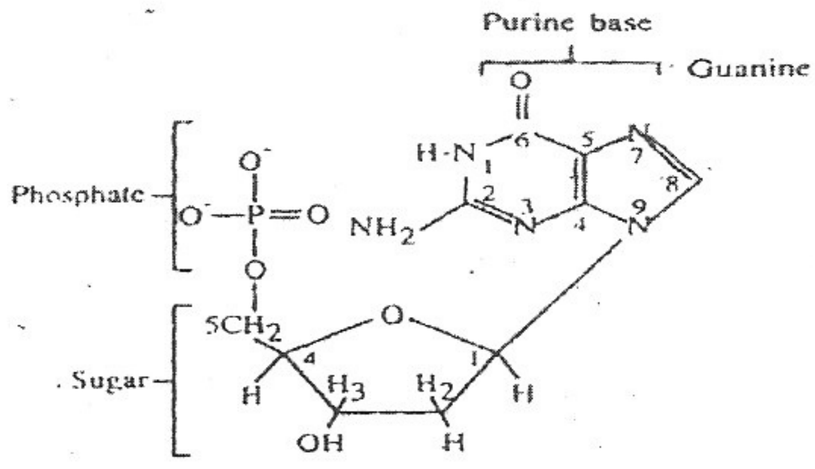
DNA Structure

1. DNA เป็น Polymer ประกอบด้วย monomer เรียก nucleotide โดยมี nucleotide ต่างกันเพียง 4 ชนิด แต่ละชนิดต่างกันที่ชนิดของ N-base

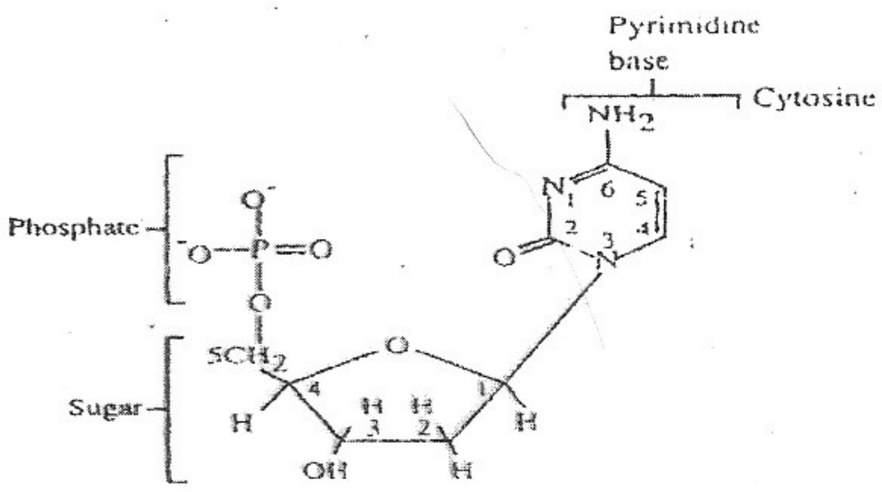
Watson & Cricks



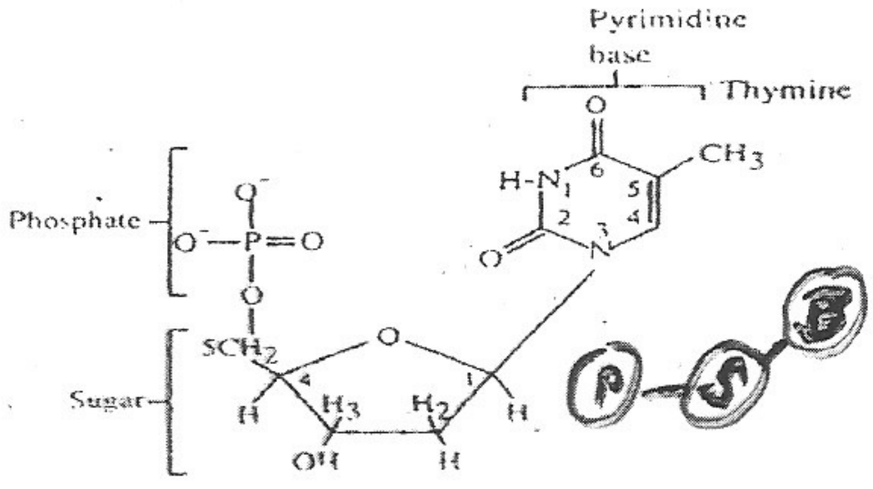
Deoxyadenylic acid



Deoxyguanylic acid



Deoxycytidylic acid

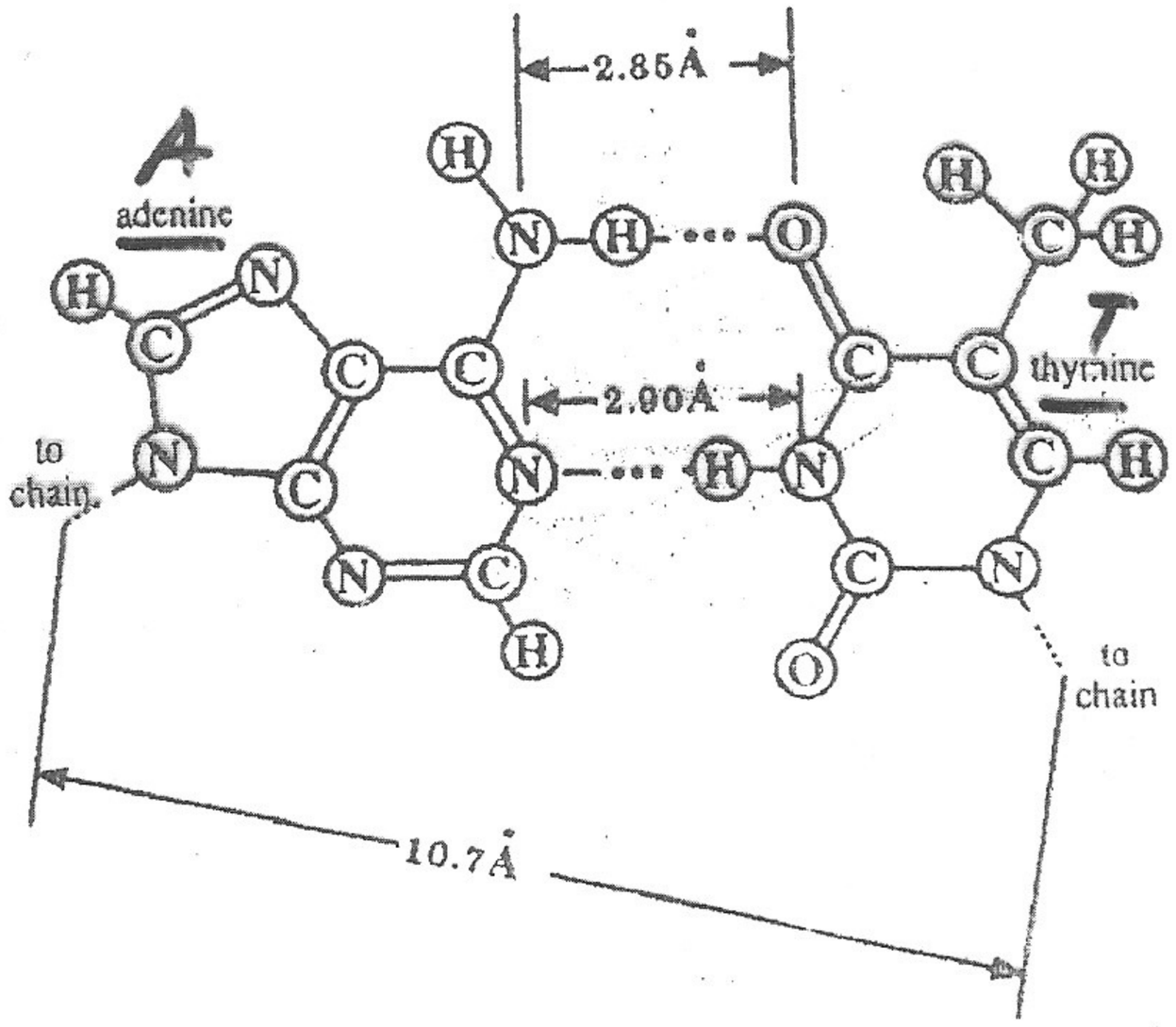


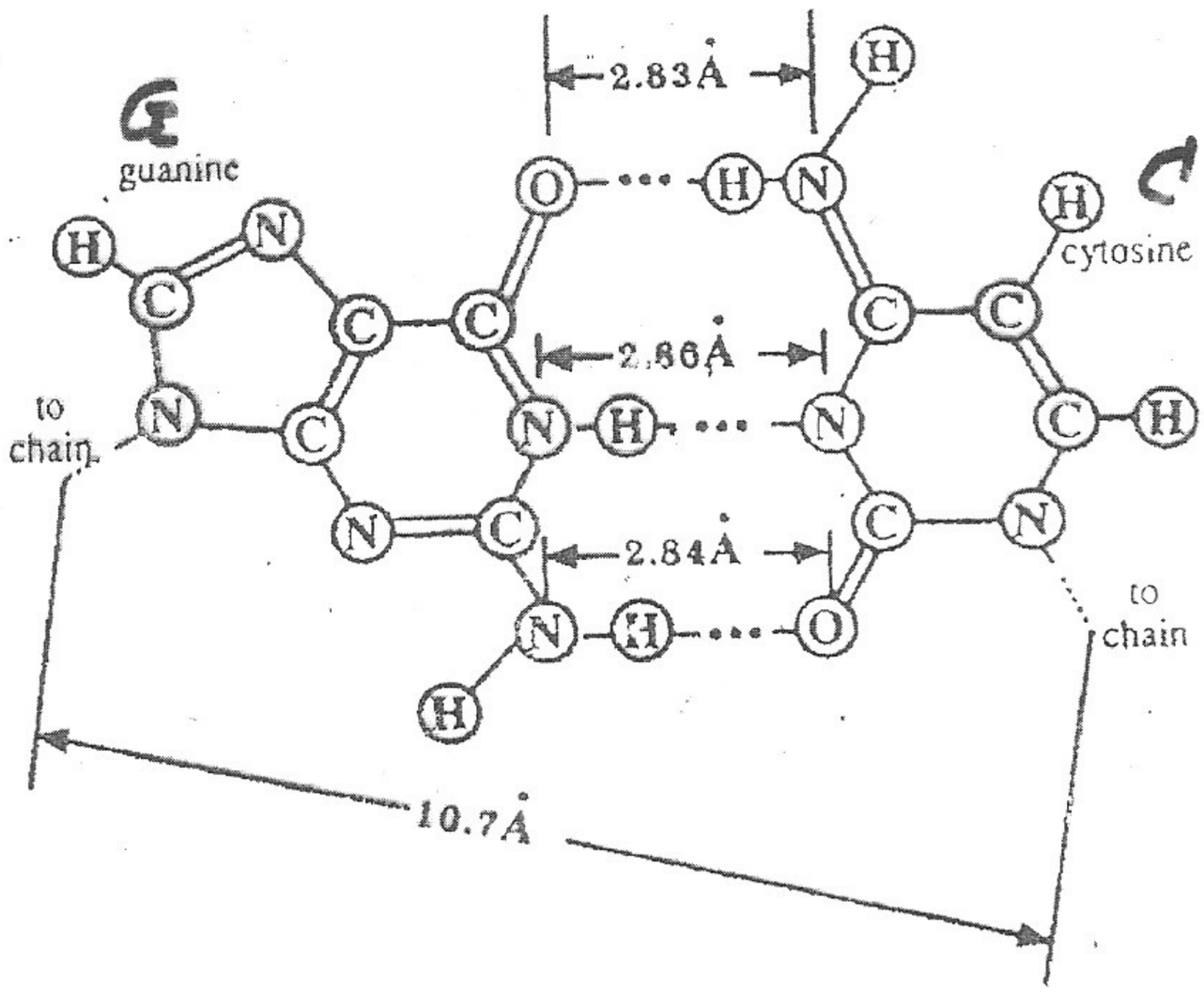
Deoxythymidylic acid

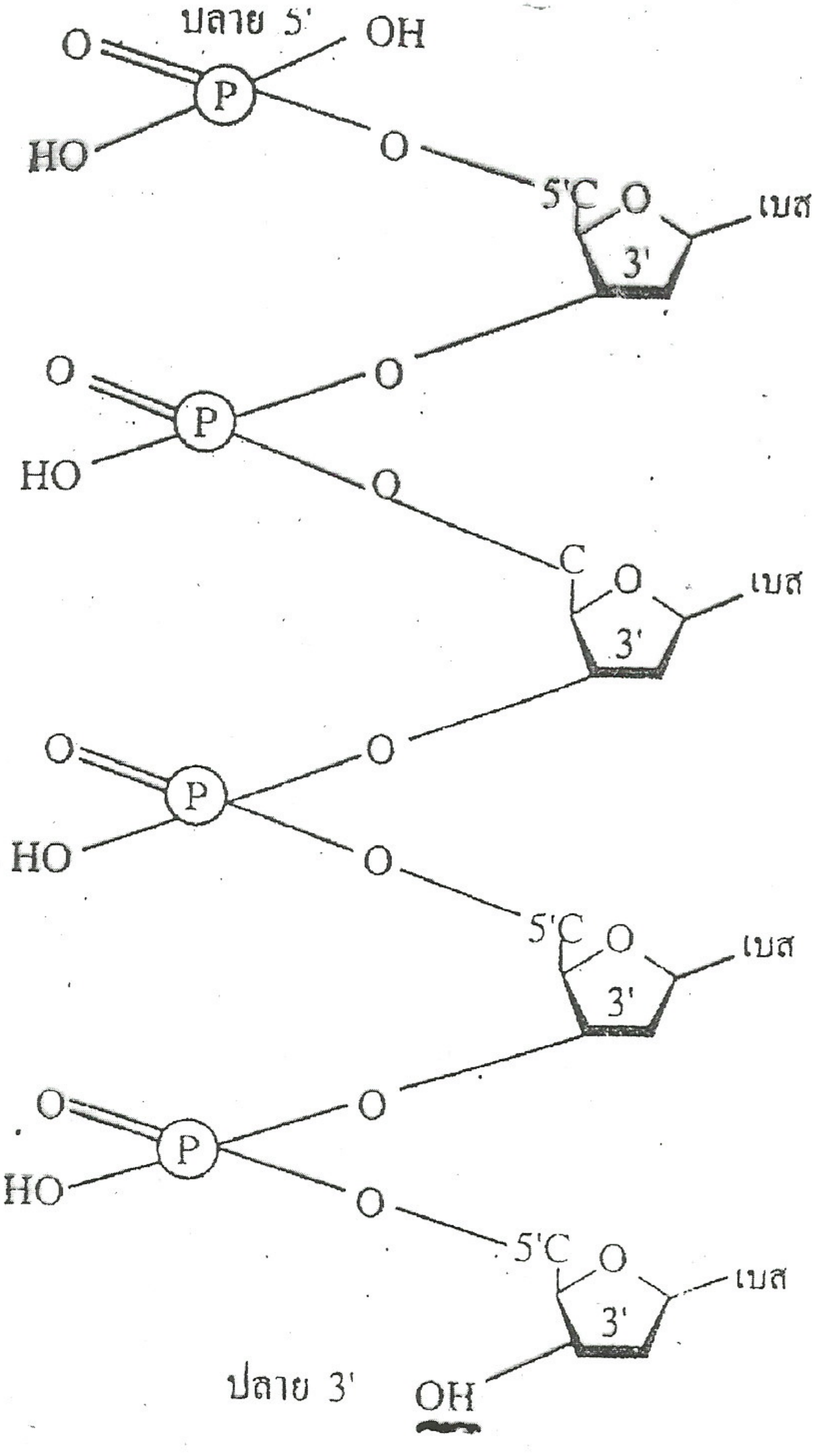
แสดงนิวคลีโอไทด์ใน DNA

2. nucleotide ต่างๆ จำนวนมากเชื่อมต่อกันด้วย Phosphodiester bond โดยมี Ⓟ เป็นตัวเชื่อมกลายเป็น Polynucleotide
3. DNA โมเลกุลหนึ่งประกอบด้วย Polynucleotide 2 สาย โดยทั้งสองยึดกันด้วย H-bond

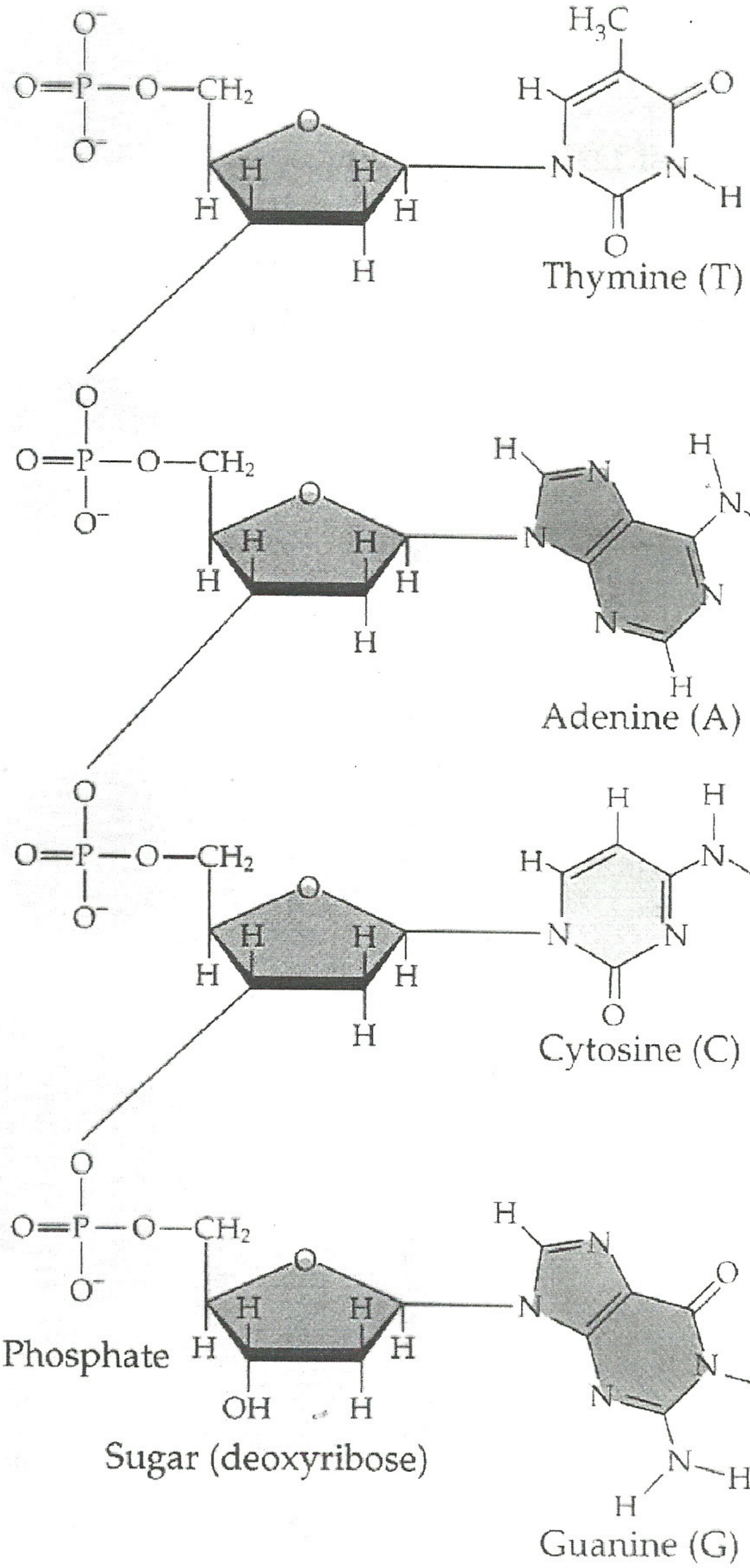
ระหว่างคู่เบส
- A กับ T = 2 H-bond
- C กับ G = 3 H-bond

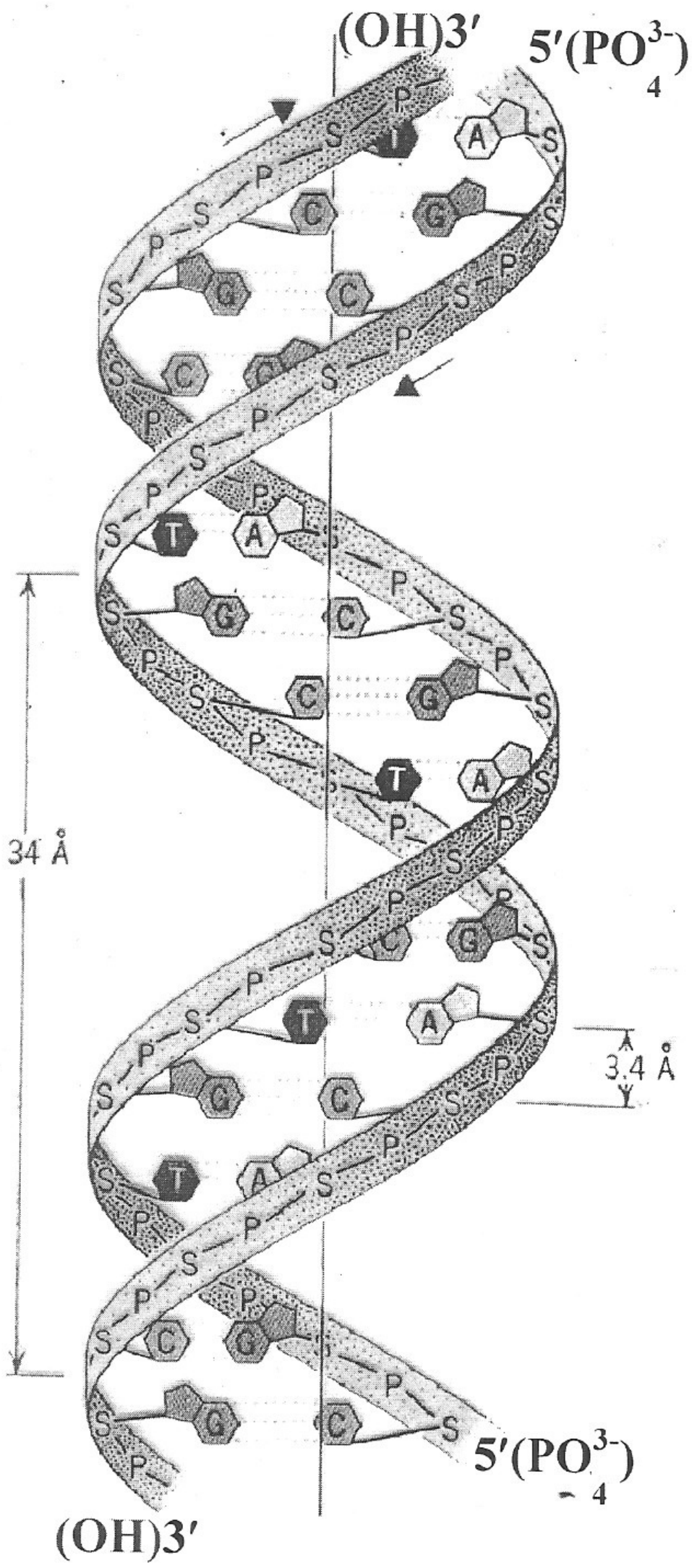






ภาพแสดงโครงสร้างของพอลิเมอร์นิวคลีโอไทด์ แสดงให้เห็นปลายด้านหนึ่งที่เป็น 5′ และปลายอีกด้านหนึ่งเป็น 3′


Thymine (T)
Adenine (A)
Cytosine (C)
Guanine (G)
Phosphate
Sugar (deoxyribose)
DNA nucleotide



P คือหมู่ฟอสเฟต

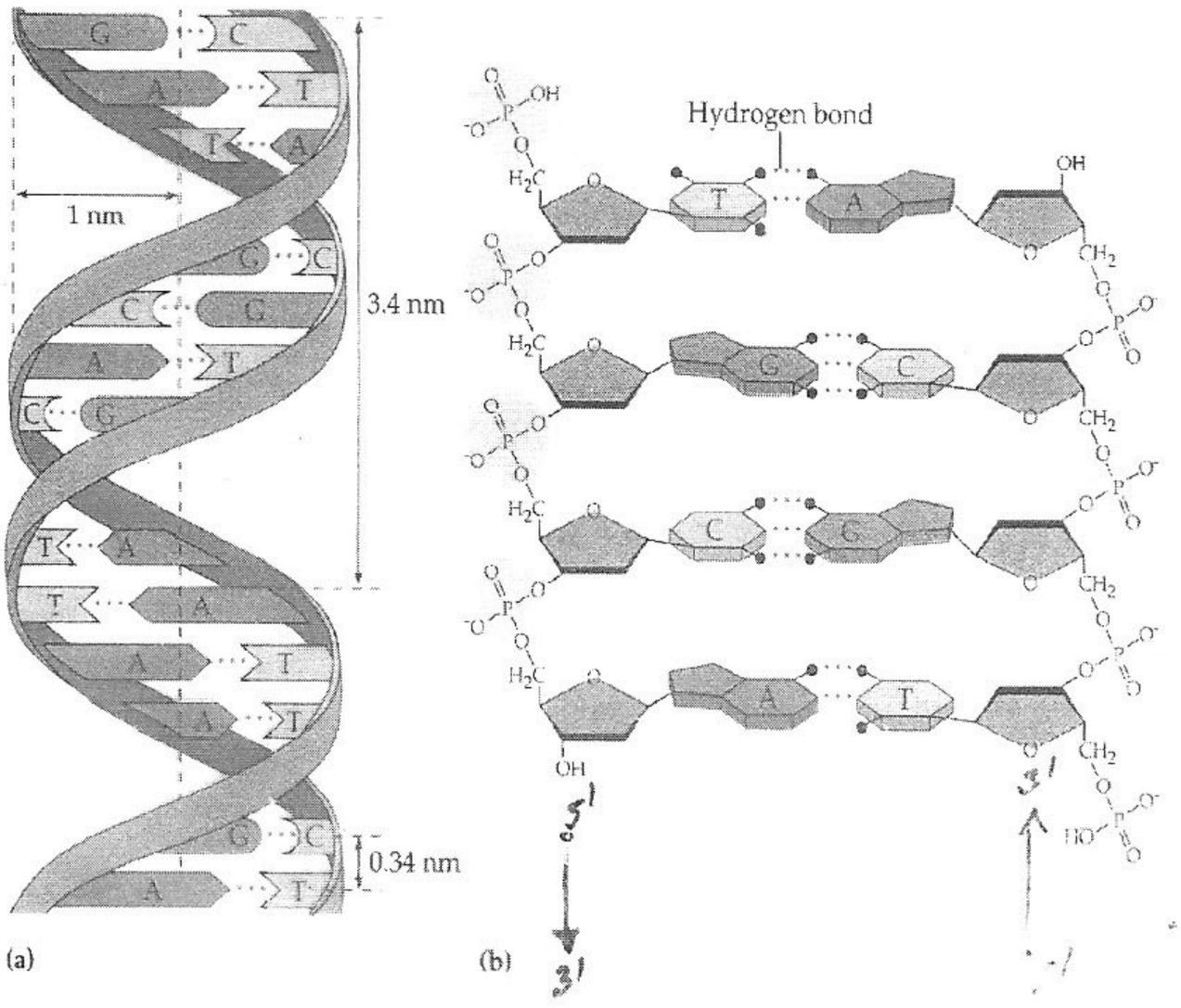
S คือน้ำตาล

A คือเบสอะดินีน

T คือเบสไทมีน

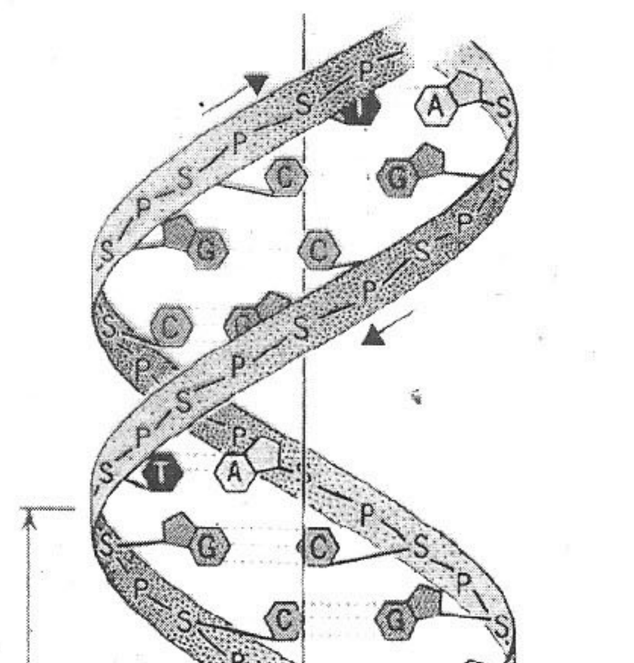
C คือเบสไซโทซีน

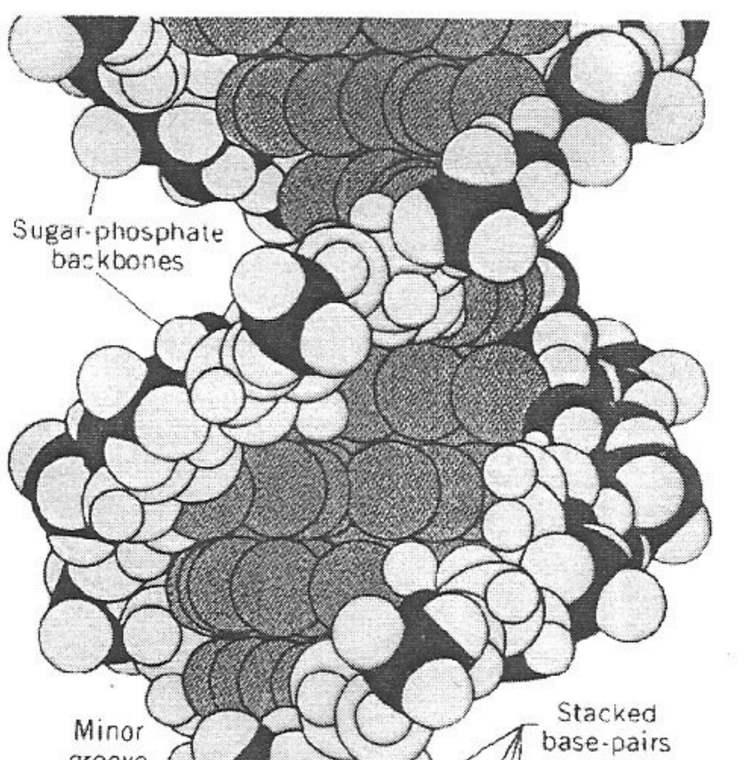
G คือเบสกวานีน

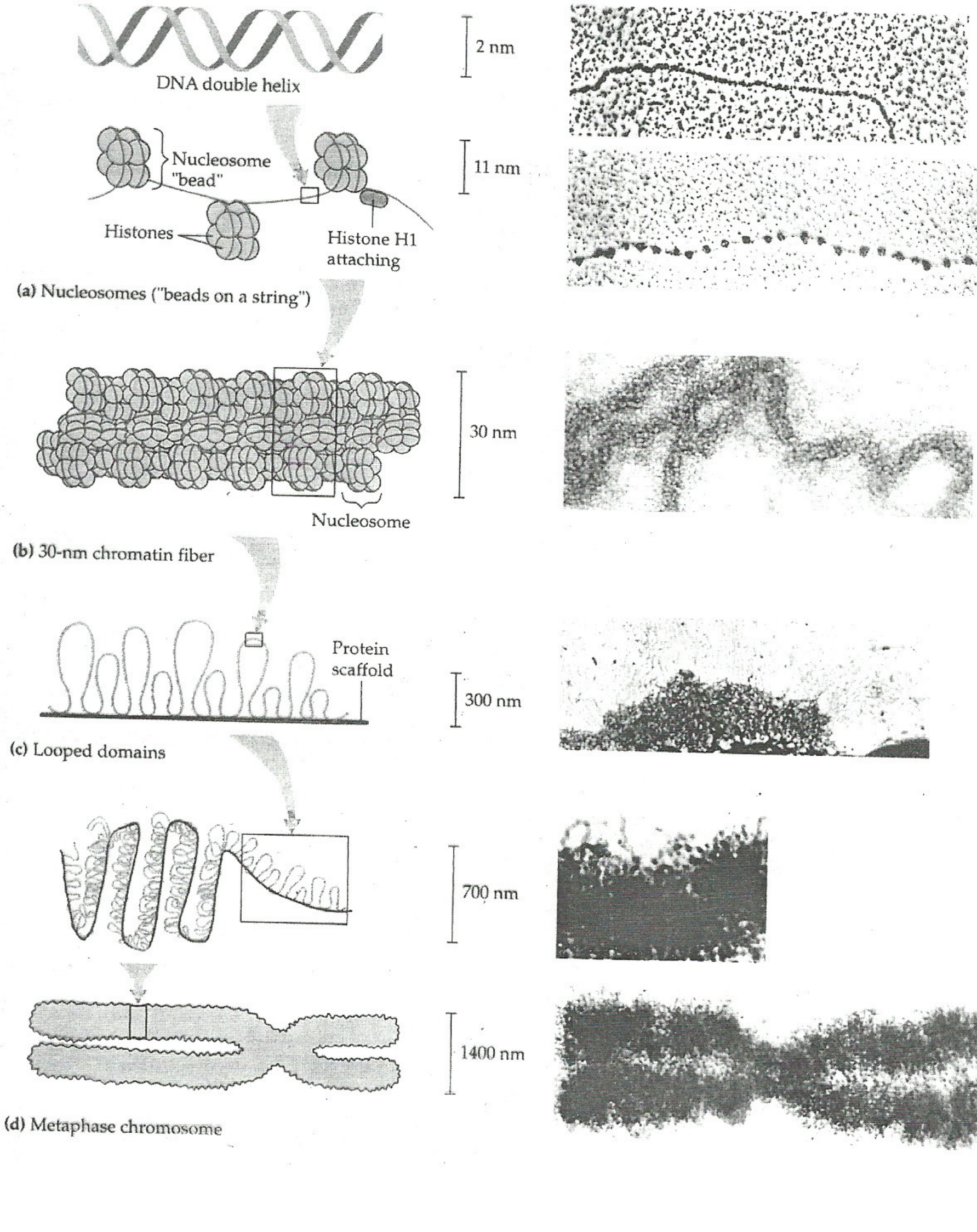


4. Polynucleotide 2 สาย จะพันรอบกันและบิดเป็นเกลียวคล้ายบันไดเวียนขวา เรียก α-double helix โดยในการบิด 1 รอบ เป็นความยาว 3.4 nm (34A0) ซึ่งประกอบด้วยเบส 10 คู่

5. Polynucleotide แต่ละสายมีทิศทางจาก $5' \longrightarrow 3'$ เรียก Antiparallel






DNA double helix
2 nm
Nucleosome
"bead"
Histones
Histone H1
attaching
11 nm
(a) Nucleosomes ("beads on a string")
30 nm
Nucleosome
(b) 30-nm chromatin fiber
Protein
scaffold
300 nm
(c) Looped domains
700 nm
1400 nm
(d) Metaphase chromosome

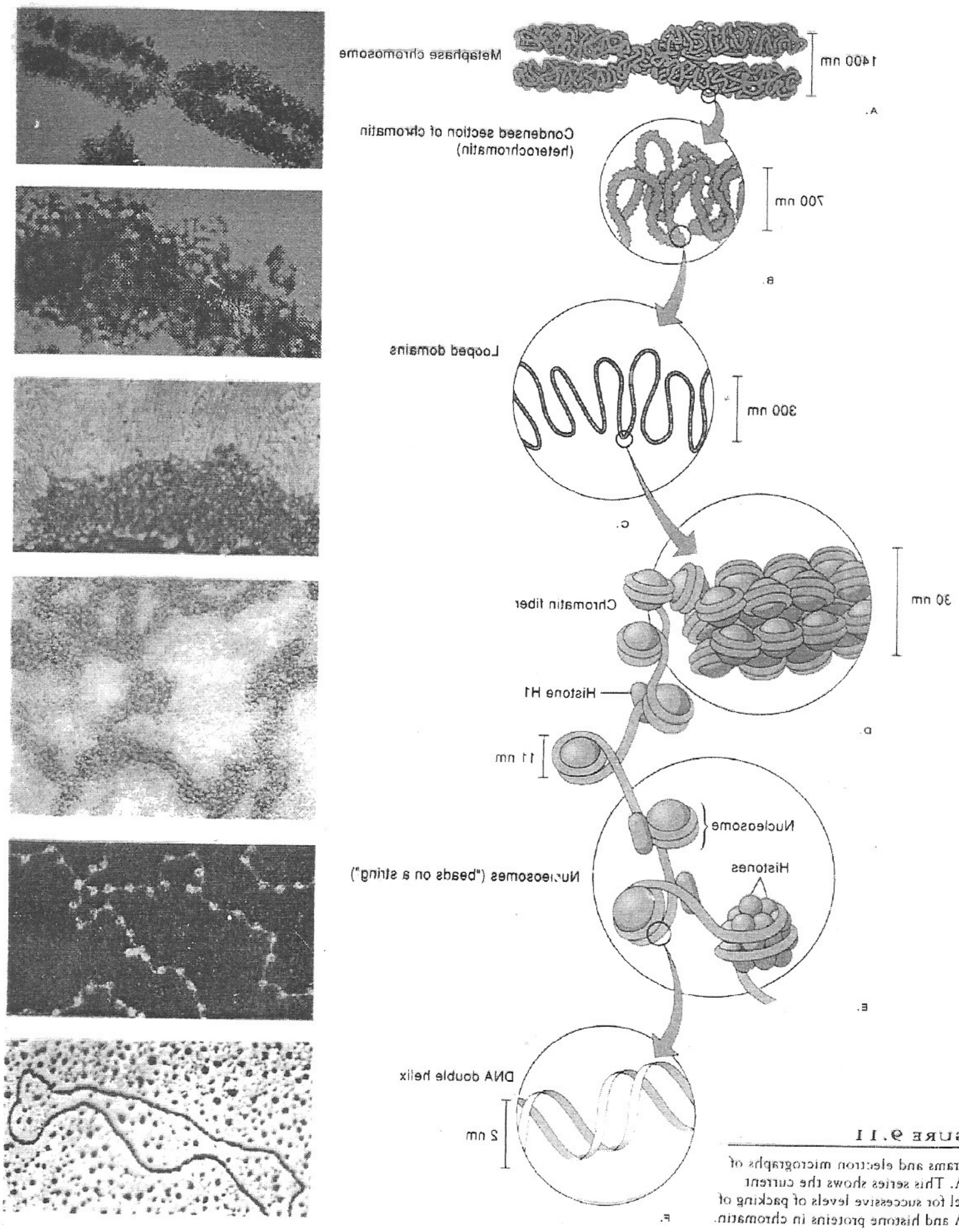
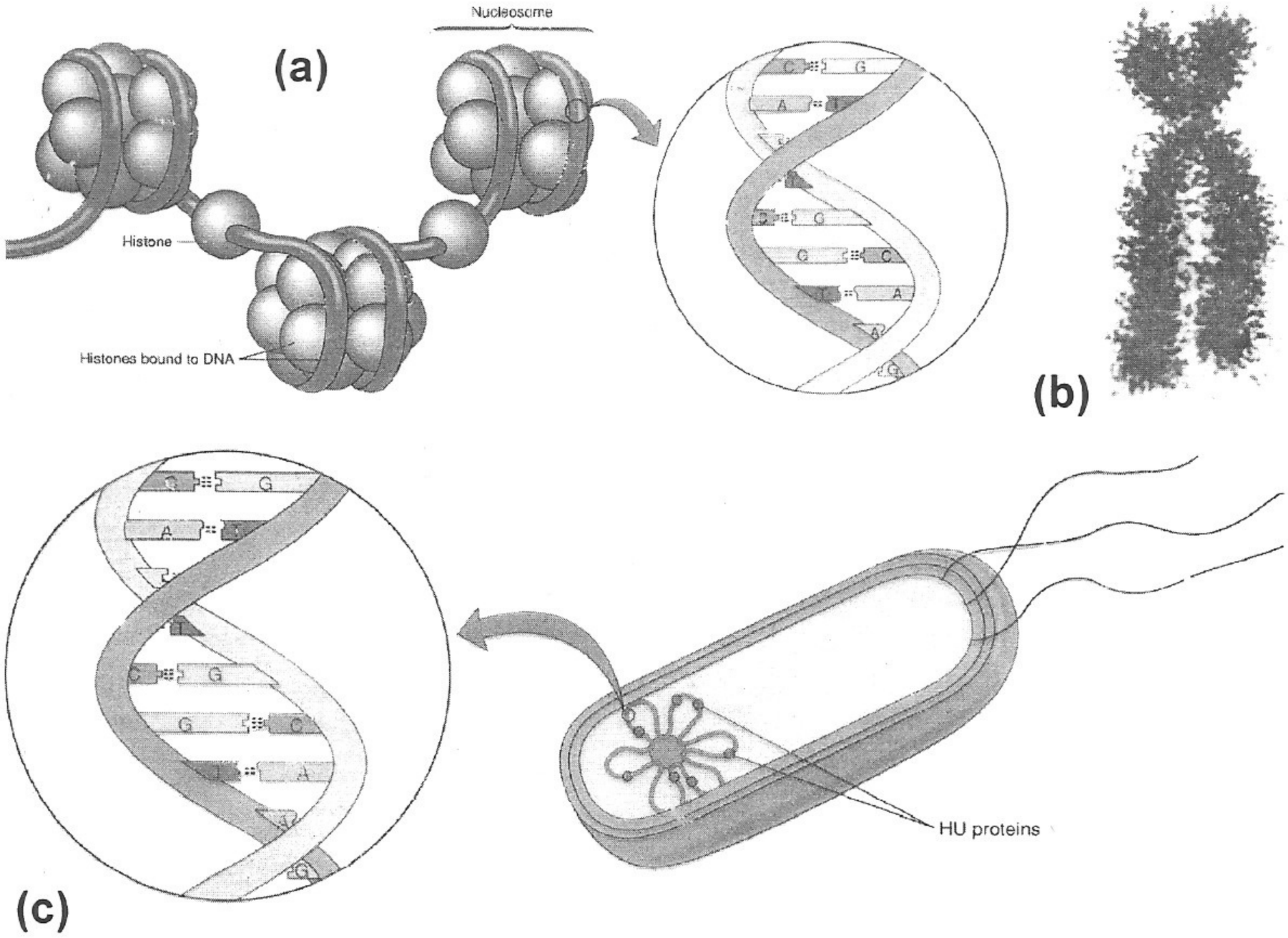


FIGURE 9.11

Diagrams and electron micrographs of DNA. This series shows the current model for successive levels of packing of DNA and histone proteins in chromatin.



การจำลองตัวเองของ DNA (DNA replication)

คุณสมบัติประการหนึ่งของ DNA คือ การจำลองตัวของ (DNA replication) ซึ่งเกิดในระยะ S ของวัฏจักรของ ลิกส์ดยวัตสัตกับคริกค์กล่าวว่า เมื่อ DNA จะมีการจำลองตัวเองสายพอลินิว คลีโอไทด์ (polynucleotide) จะแยกออกจากกันโดยการสลายของพันธะไฮโดรเจนระหว่างคู่เบส แล้วแต่ละสายของพอลินิวคลีโอไทด์จะทำหน้าที่เป็นแม่พิมพ์ (template) โดยการใช้นิวคลีดอไทด์เดียวมาเชื่อมต่อกัน นั่นคือในแต่ละโมเลกุลของ DNA ที่สร้างขึ้นจะมีพอลินิวคลีโอไทด์สายเก่า 1สาย และสายใหม่ 1 สาย จึงเรียกการจำลอง DNA ดังกล่าวว่า การจำลองวิธีกึ่งอนุรักษ์ (semicon servative replicaton)

DNA Replication

⇒ เกิดในระยะ S – phase ของ mitosis หรือ Interphase – I ของ meiosis

⇒ Semi – conservative replication (กึ่งอนุรักษ์)

ขั้นตอน : DNA Replication

H – bond ระหว่างคู่เบส — A = T, C ≡ G } **สลายโดย Helicase**

↓

สังเคราะห์ Polynucleotide สายใหม่เริ่มจาก 5′ → 3′ ต่างกัน 2 แบบ

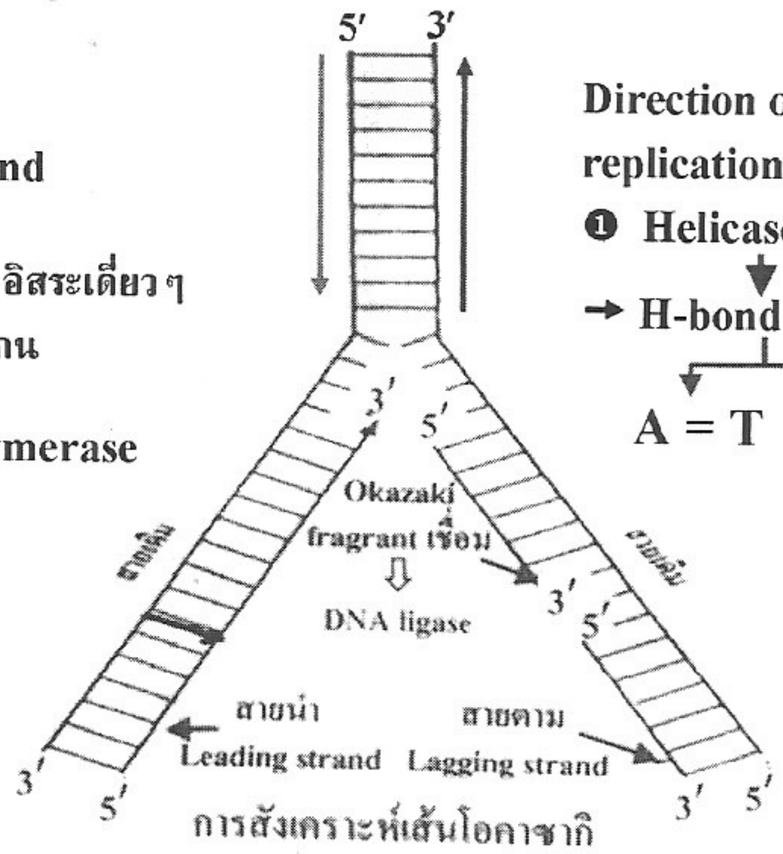
สังเคราะห์จาก 5′ ล่าง → 3′ บน
ใช้ Nucleotide อิสระเดี่ยวๆ
มาเชื่อมต่อกันโดย DNA polymerase

สังเคราะห์จาก 5′ บน → 3′ ล่าง
ใช้ Okazaki fragment
โดย DNA ligase เป็นตัวเชื่อม

↓

Polynucleotide 2 สาย (1 เก่า, 1 ใหม่) พันรอบกันบิดเป็นเกลี่ยว DNA 2 โมเลกุล

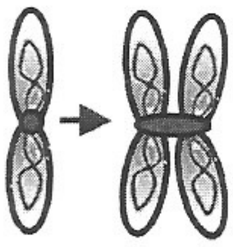
❷ Leading strand
↓
ใช้ nucleotide อิสระเดี่ยว ๆ
เชื่อมต่อกน
↓
ใช้ DNA polymerase



การสังเคราะห์เส้นโอคาซากิ

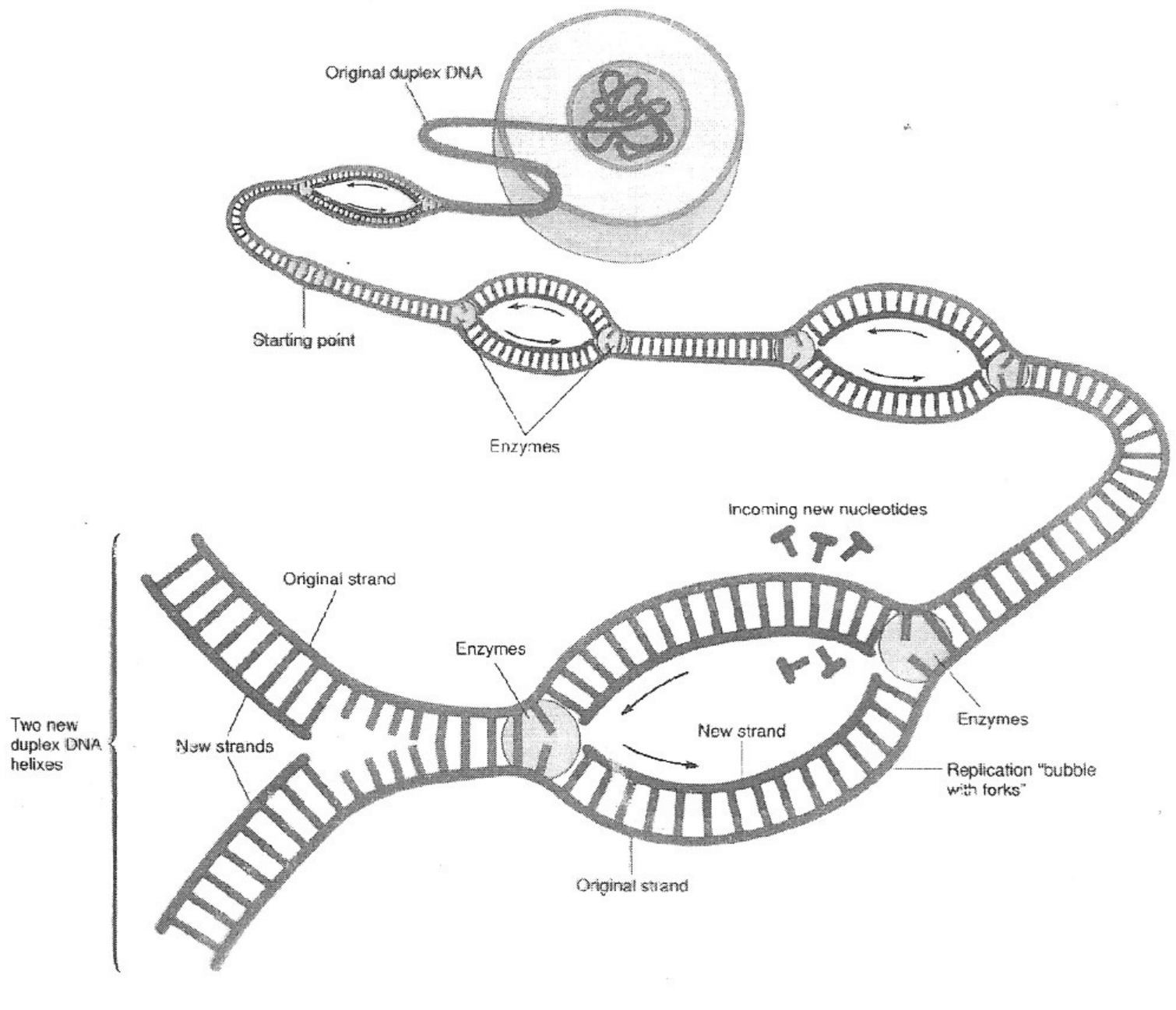
Direction of movement of replication fork ทิศทางแยกเส้น
❶ Helicase
↓
→ H-bond สลาย
↓
A = T C = G

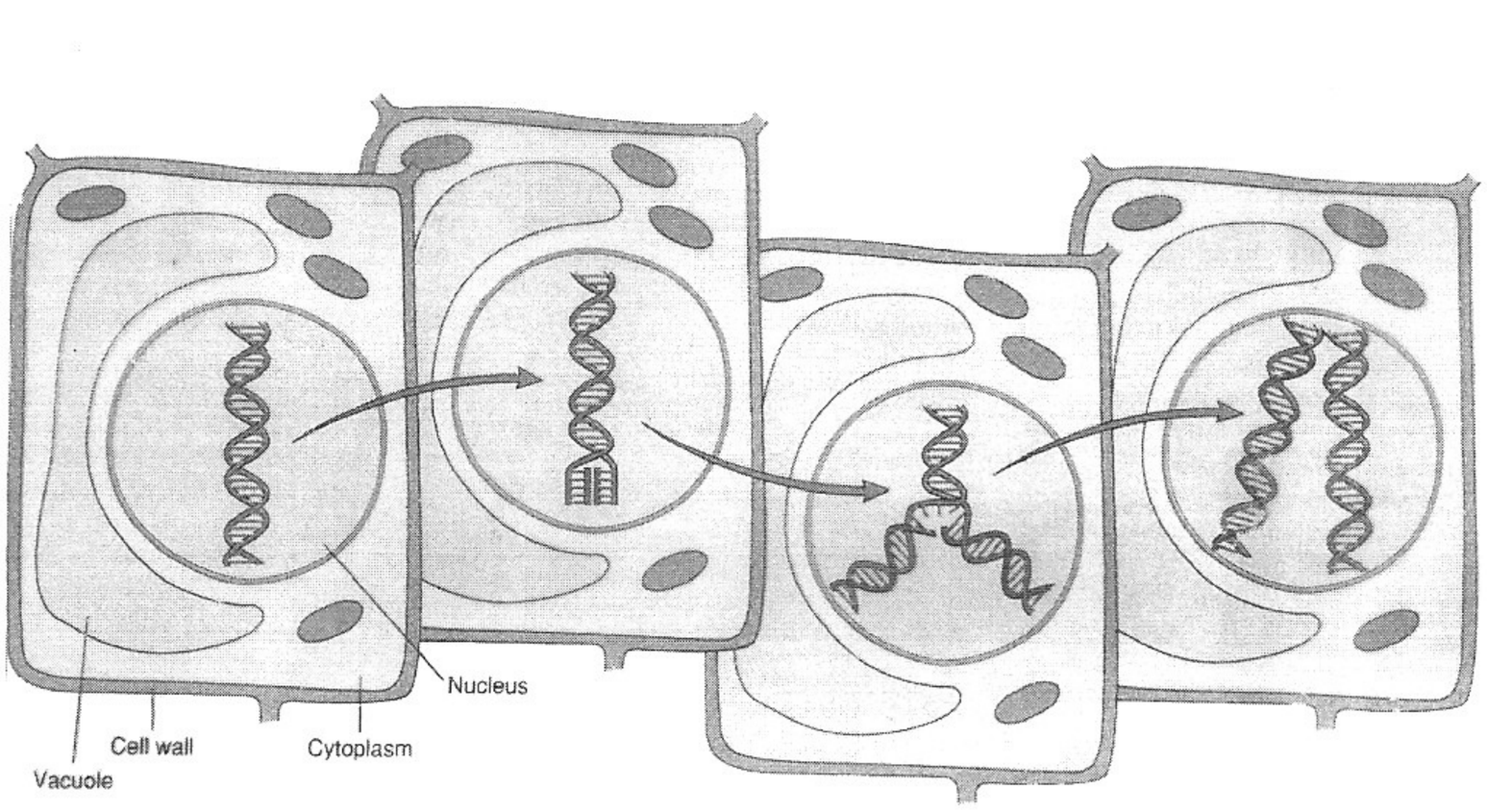
❸ Lagging strand
↓
ใช้ okazagi fragmant
เชื่อมต่อ
โดยใช้ DNA ligase

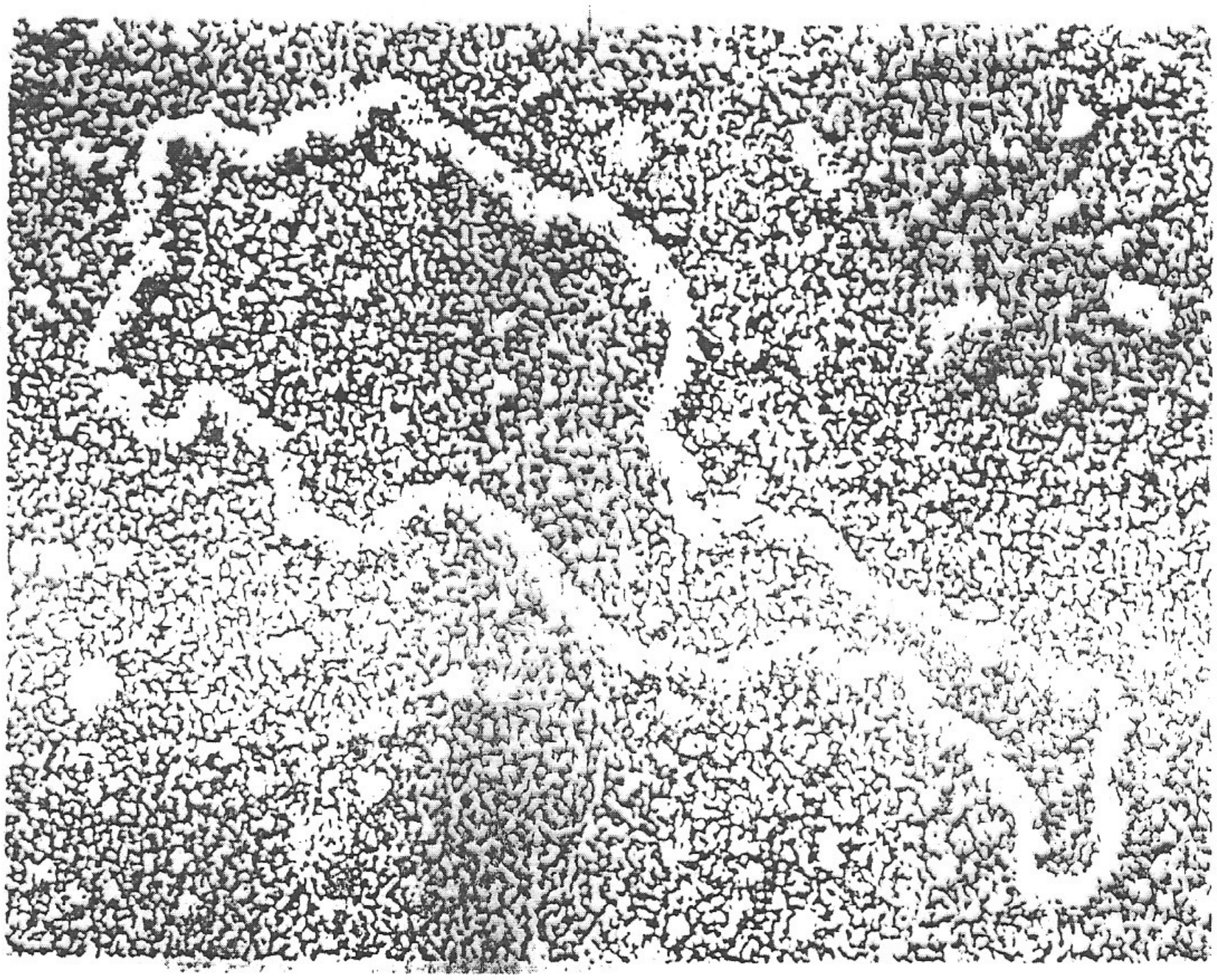


Okazaki fragrant = 1,500 – 2,000 nucleotides
1 chromosome มี 2 DNA (2 chromatids)

โอคาซากิ (Okazaki) นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น พบว่า การสังเคราะห์ DNA เส้นใหม่ขึ้นมาจะต้องมีการสังเคราะห์เป็น 2 แบบ ซึ่งการสร้างสายใหม่มีความยุ่งยากพอสมควร เนื่องจากสังเคราะห์ DNA จะเกิดขึ้นในในทิศทางจาก 5′ ไป 3′ เท่านั้น การสังเคราะห์ DNA สายหนึ่งเกิดขึ้นได้ไม่ยาก เพราะสายที่เป็นต้นแบบ (template) การแยกตัวในทิศทาง 3′ ไป 5′ จึงสร้างสายใหม่เป็นเส้นยาวๆ มาเข้าคู่ในทิศทาง 5′ ไป 3′ ได้ทันที สายที่สร้างใหม่ที่มีทิศทางจาก 5′ ไป 3′ นี้เรียกว่า สายนำ (leading strand) ส่วนการสังเคราะห์อีกสายหนึ่งนั้นสายต้นแบบมีการแยกตัวไปในทิศจาก 5′ ไป 3′ สายใหม่ที่สร้างขึ้นจึงต้องสร้างทีละช่วงได้เป็นชิ้นส่วนสั้นๆ ประมาณ 1,000-2,000 นิวคลีโอไทด์ เรียกว่า Okazaki fragment ก่อน แล้วจึงเชื่อมต่อสายยาวเส้นเดียวภายหลังเมื่อปลาย 3′ มาอยู่ชิดกันปลาย 5′ ของอีกเส้นที่อยู่ข้างๆ โดยอาศัยเอนไซม์ดีเอ็นเอไลเกส (DNA ligase) สายที่สร้างโดยวิธีนี้ เรียกว่า สายตาม (lagging strand)



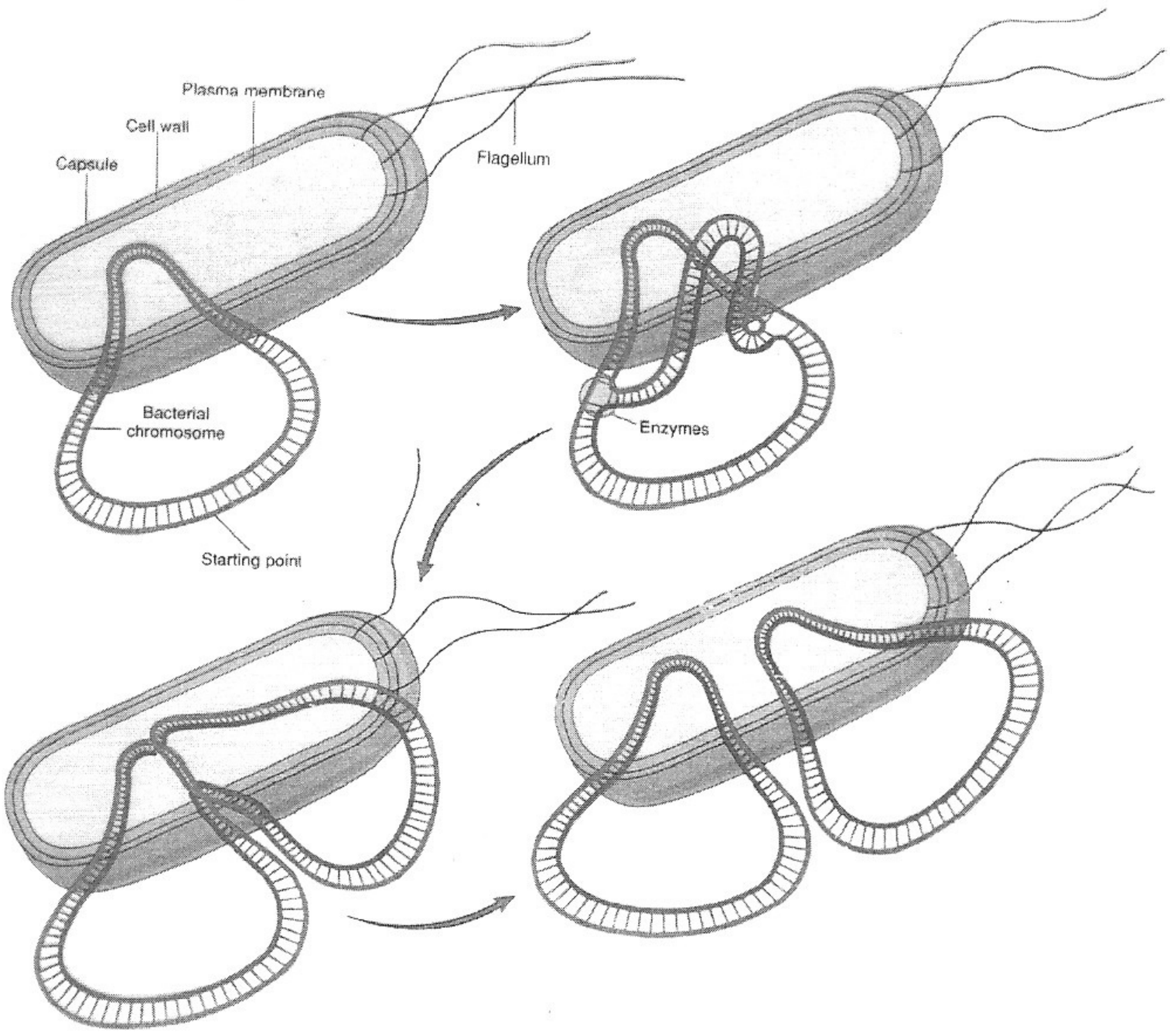


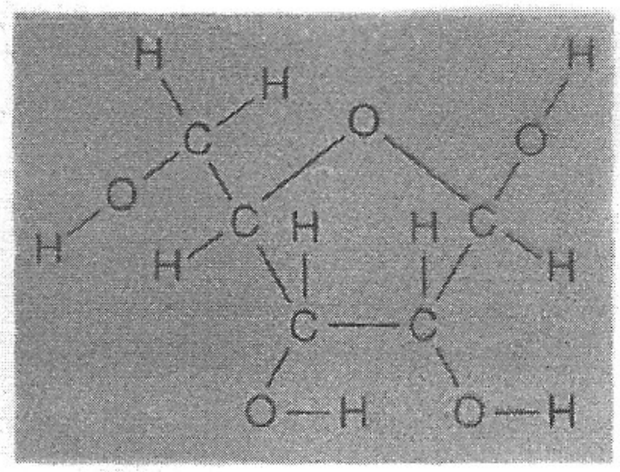


หมายเหตุ *แบคทีเรียจะมีโครโมโซม 1 อัน แต่มีพลาสมิดได้หลายอัน*

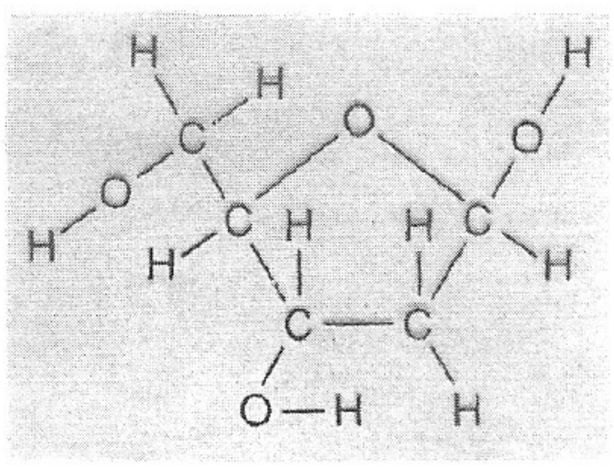
1 กิโลเบส = 1,000 คู่เบส

1 เมกะเบส = 1,000,000 คู่เบส

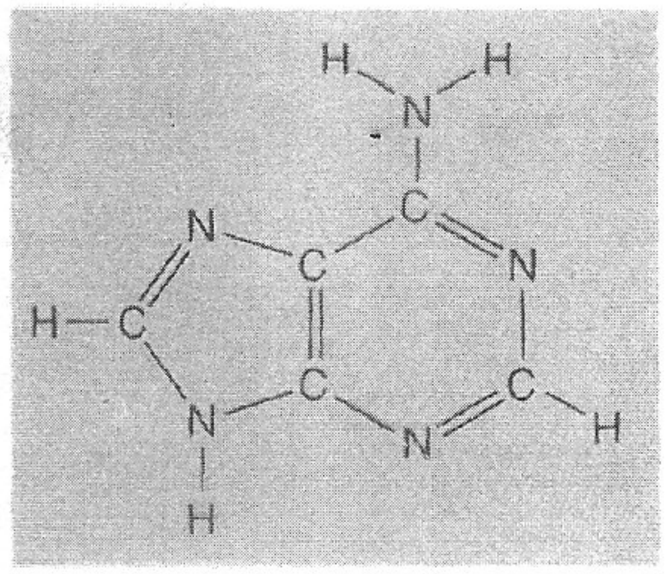




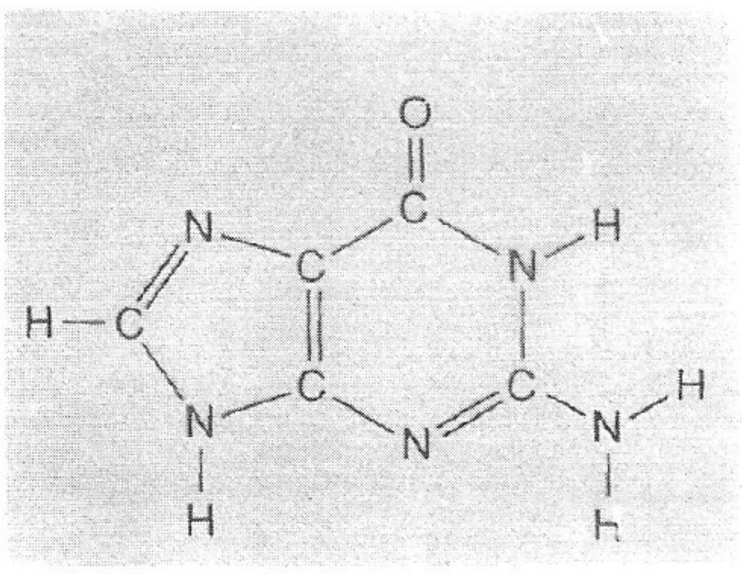
(a) Ribose



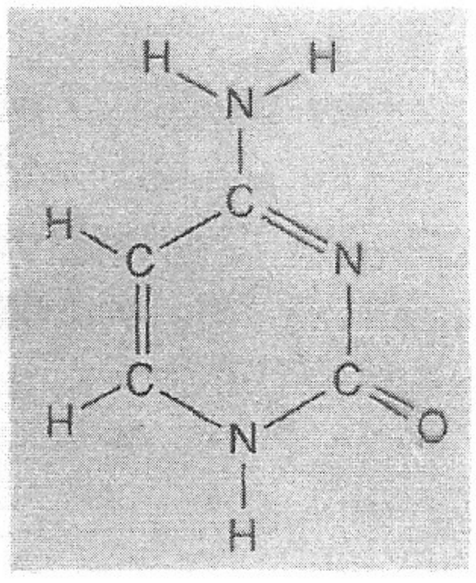
Deoxyribose



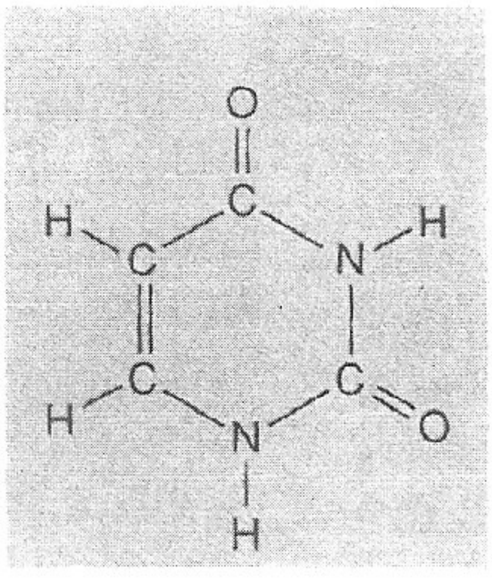
(b) Adenine



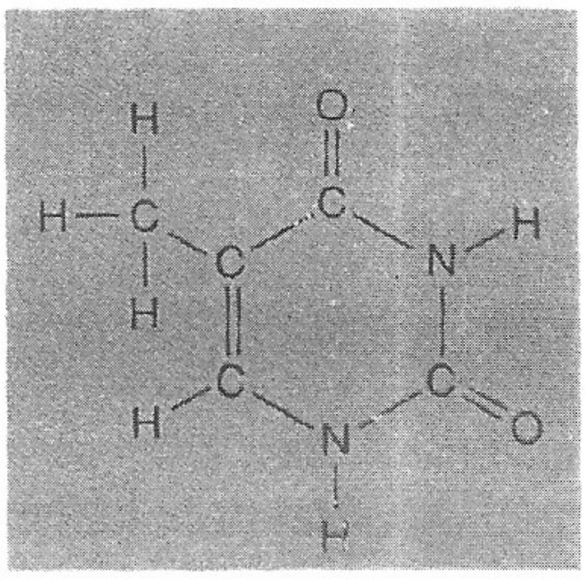
Guanine



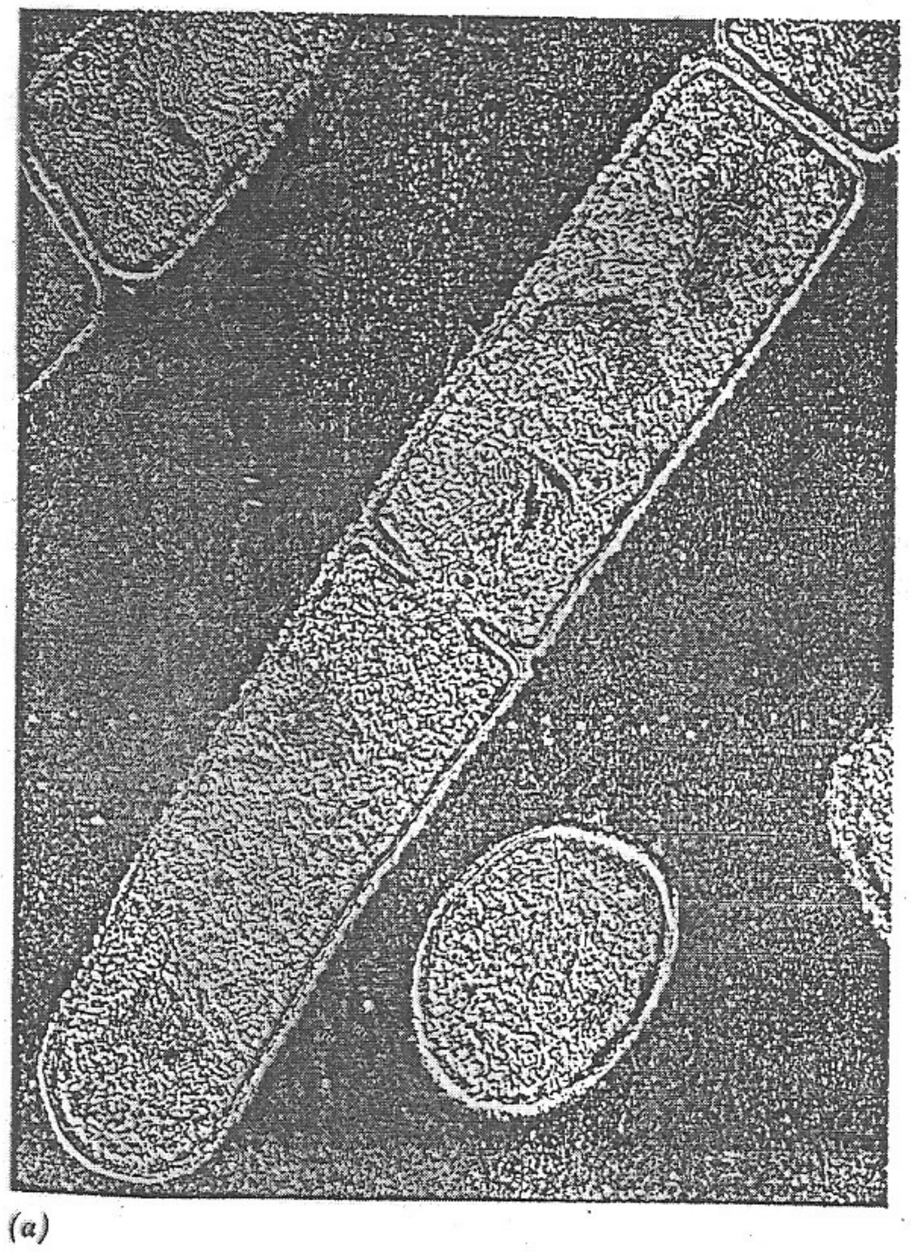
(c) Cytosine



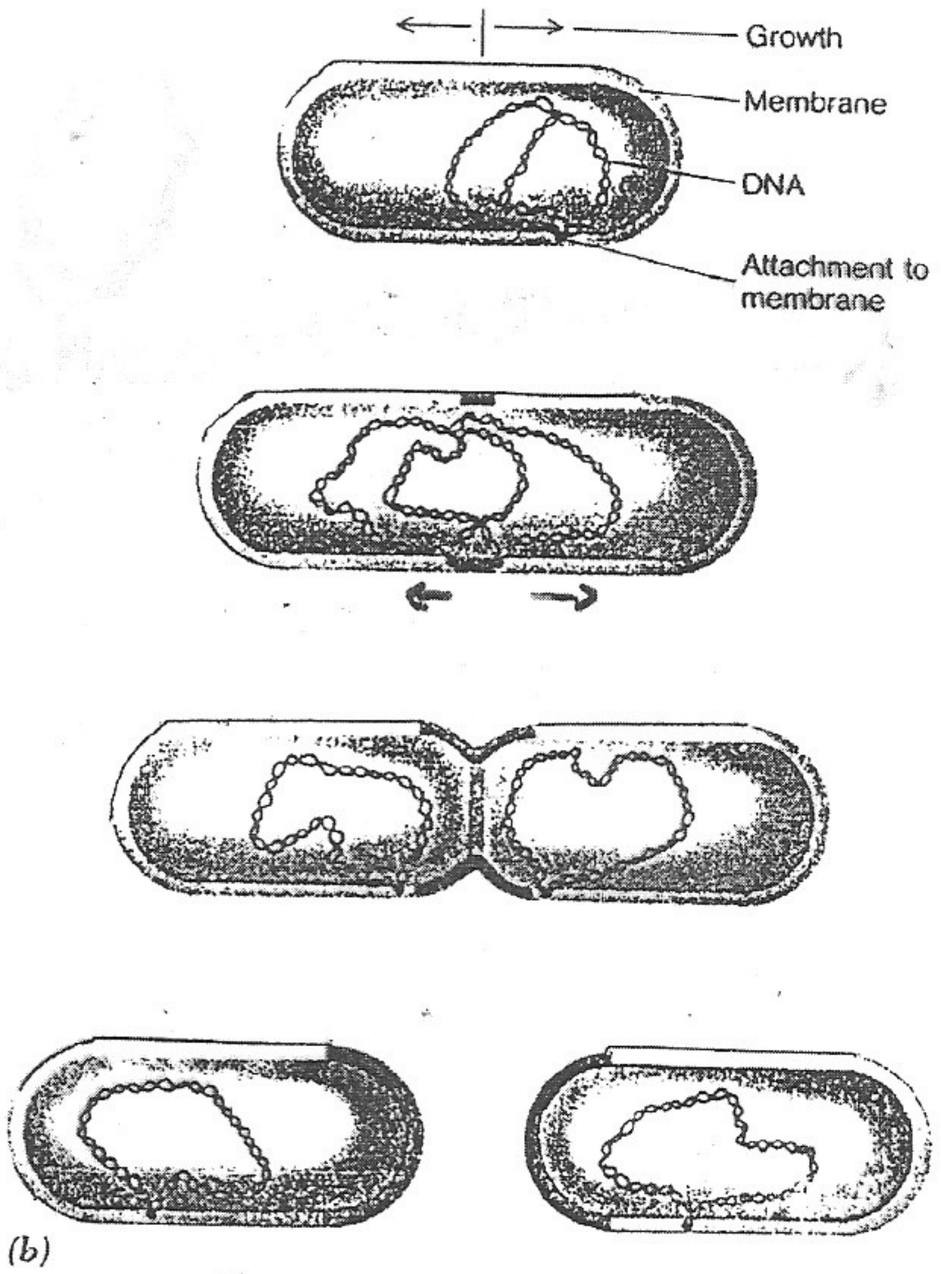
Uracil



Thymine



(a)

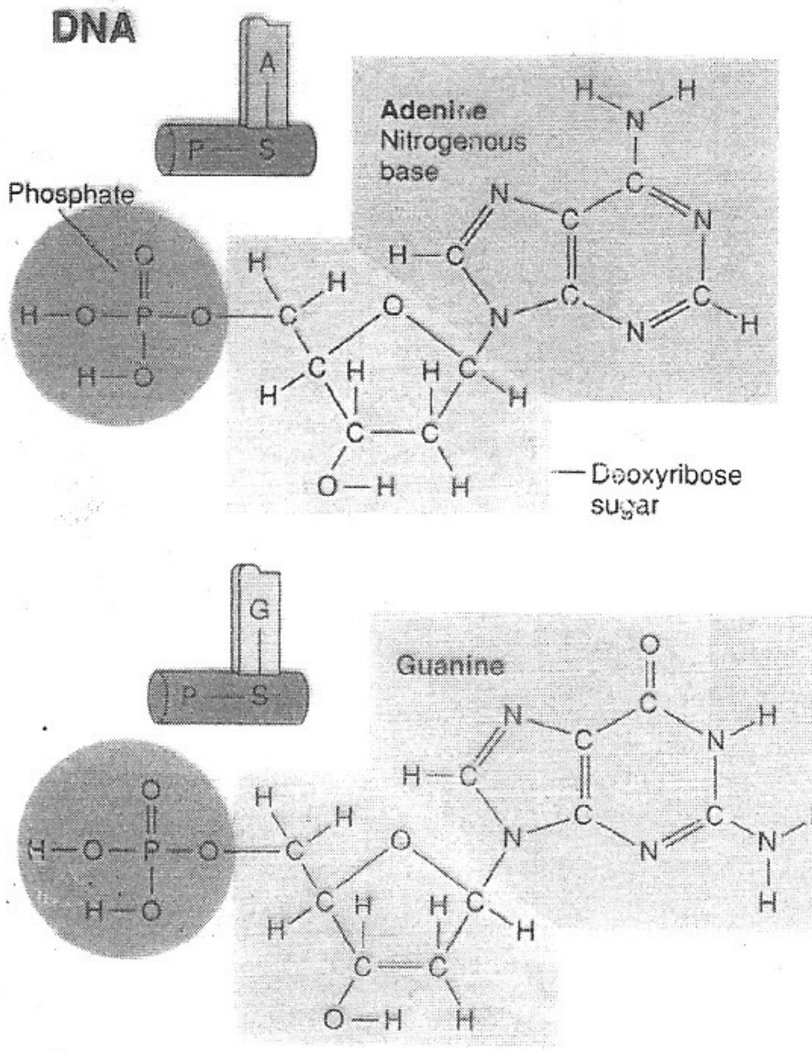


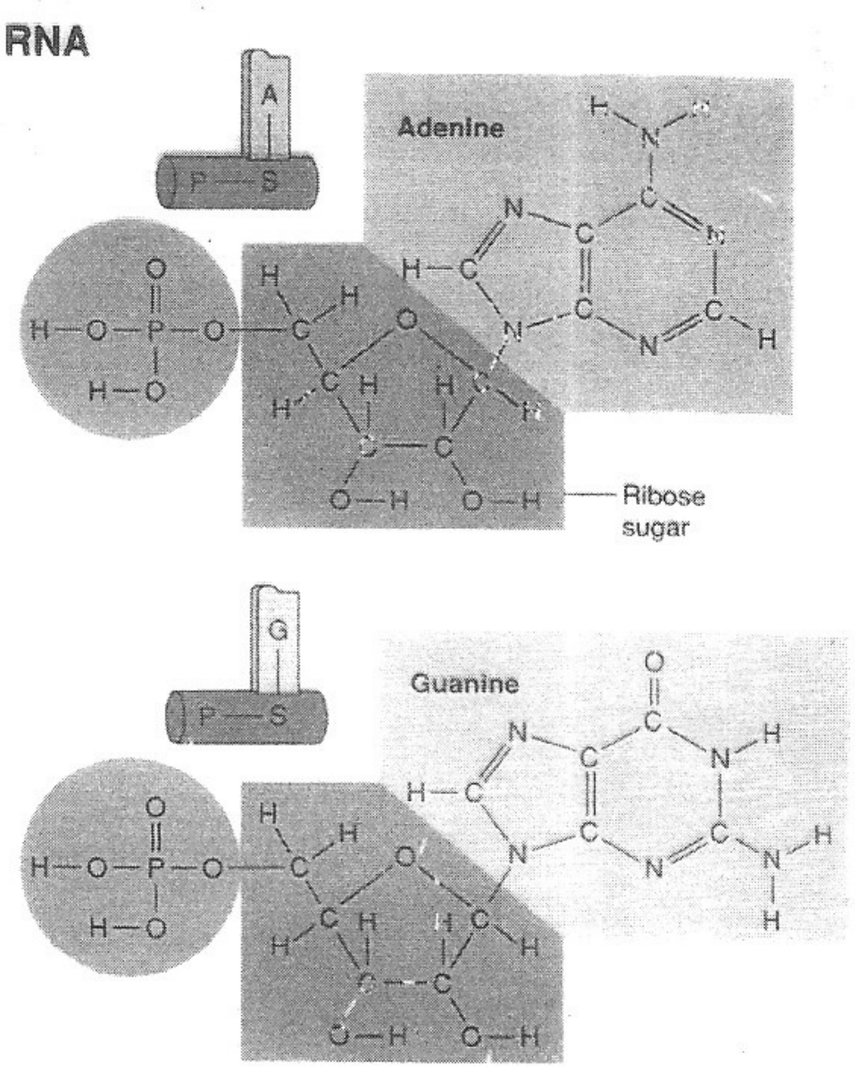
(b)

RNA

Polymer ที่ประกอบด้วย nucleotide

- Ribose ($C_5H_{10}O_5$)
- P
- N–base
  - Purine
    - A และอื่น
    - G
  - Pyrimidine
    - C
    - U (Uracid) ไม่มี T

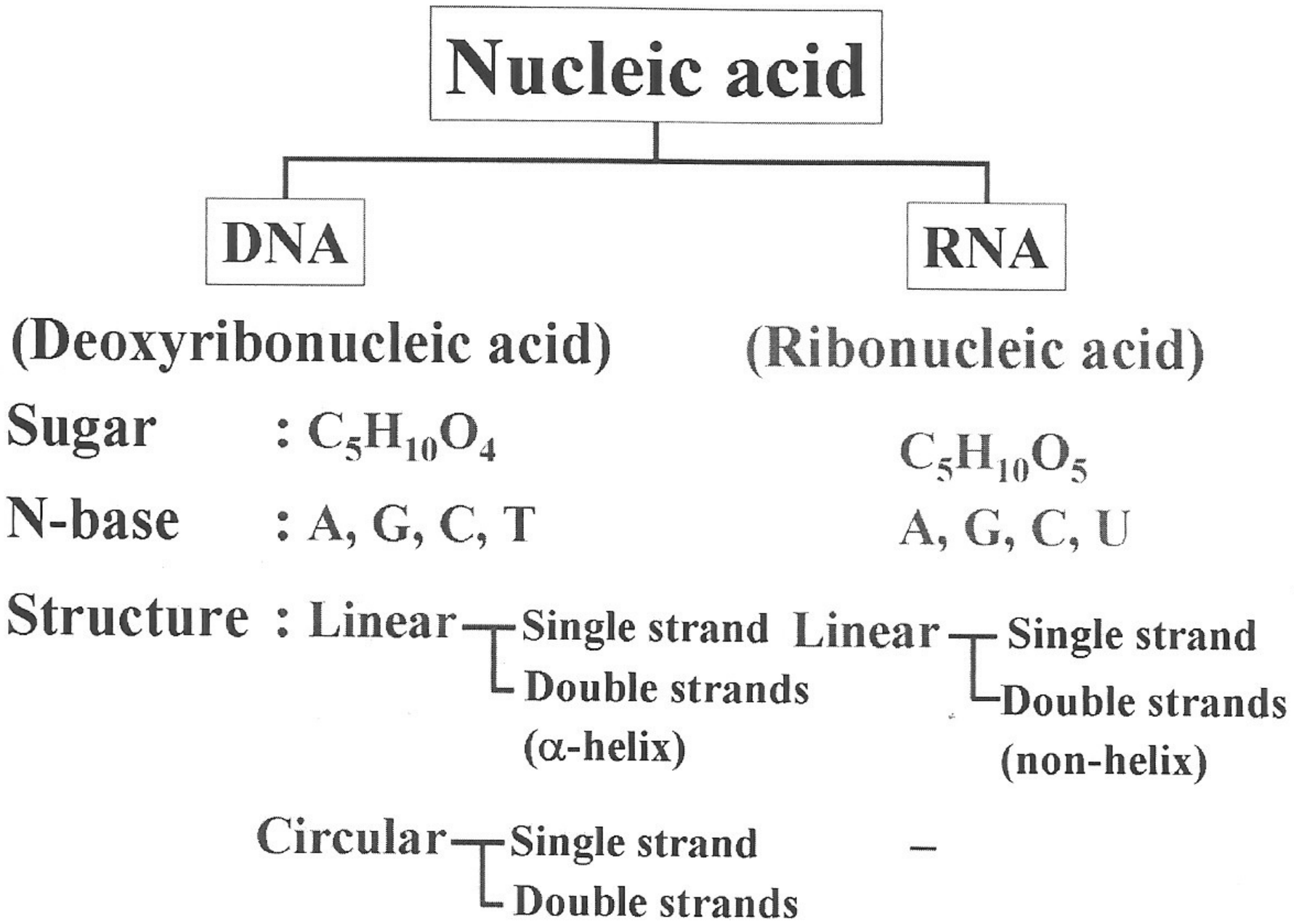

DNA
A
P
S
Phosphate
Adenine
Nitrogenous
base
Deoxyribose
sugar
G
Guanine
C
Cytosine
T
Thymine


RNA
A
P
S
Adenine
Ribose
sugar
G
Guanine
C
Cytosine
U
Uracil

(d)

สิ่งเปรียบเทียบ	DNA	RNA
1. ชนิดน้ำตาล	ดีออกซีไรโบส ($C_5H_{10}O_4$)	ไรโบส ($C_5H_{10}O_5$)
2. หมู่ฟอสเฟต	มี	มี
3. ชนิดเบส	A, G, C, T	A, G, C, U
4. โครงสร้างโมเลกุล	ส่วนใหญ่เป็นเกลียวคู่ (A + G/T + C = 1) โดยอาจเป็นเส้นตรง หรือเป็นวงก็ได้ บางชนิดเป็นสายเดี่ยว (A + G/T + C ≠ 1) โดยอาจเป็นสายตรงหรือเป็นวงก็ได้เช่นกัน	ส่วนใหญ่เป็นสายเดี่ยว (A + G/T + C ≠ 1) มีบางชนิดเป็นสายคู่ (A + G/T + C = 1) ซึ่งทั้ง 2 แบบ เท่าที่พบไม่เป็นวง
5. ขนาดโมเลกุล	ใหญ่กว่า	เล็กกว่า
6. ปริมาณ	น้อยกว่า	มากกว่า DNA 5 – 10 เท่า
7. หน้าที่	- เป็นสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่ - เป็นต้นแบบในการสังเคราะห์โปรตีน	- เป็นสารพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตบางชนิด เช่น ไวรอยด์ และไวรัสที่ทำให้เกิดไข้หวัดใหญ่ (influenza), โปลิโอ (polio virus), เอดส์ (AIDS), ใบด่างของยาสูบ (Tobacco mosaic virus) เป็นต้น - เป็นหน่วยปฏิบัติงานในการสังเคราะห์โปรตีน

ชนิดของ RNA	ประมาณในเซลล์	ขนาดโดยปริมาณ (นิวคลีโอไทด์)	จำนวนชนิดต่างๆ ในเซลล์โดยประมาณ	หน้าที่
1. rRNA	80 - 85% (มากสุด)	120 - 5,000 (ปานกลาง)	3 - 4	1. เป็นองค์ประกอบของไรโบโซม 2. เป็นแหล่งยึดของ mRNA ในกระบวนการถอดรหัสของการสร้างโปรตีน
2. tRNA	10 - 15%	75 - 90 (เล็กสุด)	80 - 100	1. เป็นตัวแปลรหัสพันธุกรรม mRNA 2. ปลายสุดข้างหนึ่งของโมเลกุลเป็น anticodon ที่สัมพันธ์กับ codon บน mRNA 3. เป็นตัวนำกรดอะมิโนไปยังแหล่งสร้างโปรตีน
3. mRNA	5 - 10%	ไม่แน่นอนอาจมีขนาดตั้งแต่ 300 - 12,000 (ใหญ่สุด)	หลายพัน	เป็นตัวถอดรหัสพันธุกรรมจาก DNA ดังนั้นในโมเลกุลจึงประกอบด้วยรหัสพันธุกรรม (codon)
4. scRNA (small cytoplasmic RNA)	-	90 - 330	หลายสิบ	-
5. snRNA (small nuclear RNA)	-	58 – 220	หลายสิบ	-
6. hnRNA (hetergeneous nuclear RNA)	-	ไม่แน่นอน	หลายพัน	-


Nucleic acid
DNA
RNA
(Deoxyribonucleic acid)
(Ribonucleic acid)
Sugar : $C_5H_{10}O_4$
$C_5H_{10}O_5$
N-base : A, G, C, T
A, G, C, U
Structure : Linear
Single strand
Double strands
(α-helix)
Linear
Single strand
Double strands
(non-helix)
Circular
Single strand
Double strands
–

แบบทดสอบพันธุศาสตร์โมเลกุล ตอนที่ 1

1. DNA ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด (species) แตกต่างกันในเรื่องใด

    1. การเรียงตัวของเบสใน DNA
    2. จำนวนและปริมาณของ DNA
    3. โครงสร้างและหน้าที่ของ DNA

    1. ข้อ 1 และ 2
    2. ข้อ 1 และ 3
    3. ข้อ 2 และ 3
    4. ข้อ 1, 2 และ 3

2. ใน polynucleotide สายหนึ่งของ DNA มีปริมาณของเบส A = 20% , T = 40% , C = 10% และ G = 30% แสดงว่าปริมาณของเบส A ของ polynucleotide ของอีกสายหนึ่งจะเท่ากับเท่าใด

    1. 10%
    2. 20%
    3. 20%
    4. 40%

3. ดีเอ็นเอที่พันรอบโปรตีนฮีสโตนในโครโมโซมเรียกว่าอะไร

    1. Nucleotide
    2. Nucleosome
    3. Nucleoside
    4. Nucleoid

4. ข้อใด**ไม่ถูกต้อง**

    1. เกลียวคู่ของสายพอลินิวคลีโอไทด์เวียนขวาตามเข็มนาฬิกา
    2. เบสคู่สมในสายพอลินิวคลีโอไทด์ยึดกันด้วยพันธะไฮโดรเจน
    3. ถ้าเปรียบโครงสร้างของสายดีเอ็นเอเป็นบันไดเวียน ราวบันไดเกิดจากไนโตรจีนัสเบสจับกับหมู่ฟอสเฟต
    4. โครงสร้างของเบสพิวรีน เป็นวงแหวนที่ประกอบด้วยคาร์บอนและไนโตรเจน 2 วง แต่เบสไพริมิดีนมีวงแหวนดังกล่าว 1 วง

5. การทดลองใดที่**ไม่ได้**พิสูจน์ว่าสารพันธุกรรมคือดีเอ็นเอหรืออาร์เอ็นเอ

    1. การทดลองนำแบคทีเรีย IIIS ที่ทำให้ตายแล้วผสมกับ IIR แล้วฉีดเข้าหนู
    2. การทดลองแยกสารสกัดจากเซลล์แบคทีเรีย IIIS แล้วนำมาผสมกับ IIR
    3. การทดลองติดฉลาก bacteriophage T_2 ด้วย ^{32}P และ ^{35}S โดย Hershey and Chase
    4. การทดลองแยกองค์ประกอบของไวรัสในยาสูบ (TMV) แล้ว ฉีดเข้าสู่ใบยาสูบที่มีบาดแผล

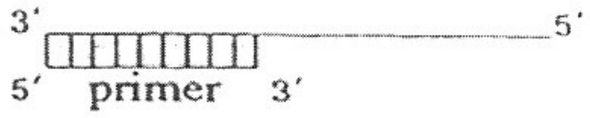
6. ข้อใดเป็นลักษณะพิเศษของสารพันธุกรรมที่แตกต่างจากสารชีวโมเลกุลชนิดอื่น

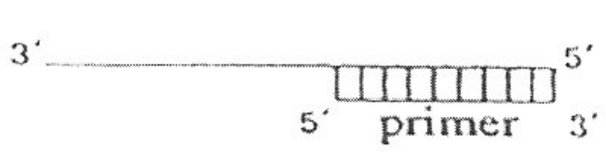
    1. สามารถจำลองตัวเองได้
    2. มีโครงสร้างเป็นสายยาว และไม่มีการแตกแขนง
    3. ประกอบด้วยหน่วยย่อยมาต่อกันเป็นโมเลกุลใหญ่
    4. ประกอบด้วยสายโมเลกุลมากกว่า 1 สายมาจับกัน

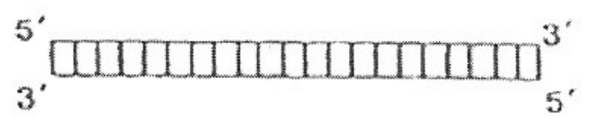
7. เอนไซม์ใด**ไม่**เกี่ยวข้องในกระบวนการ DNA replication

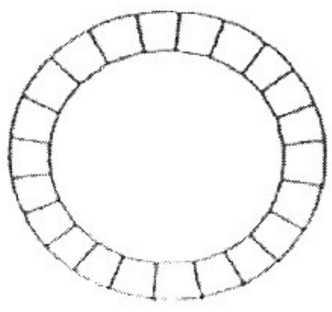
    1. primase
    2. gyrase
    3. DNA ligase
    4. restriction endonuclease

8. ข้อใดเรียงลำดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับ DNA replication ได้ถูกต้อง
   1. Primase, helicase, DNA polymerase III, DNA polymerase I
   2. DNA polymerase III, DNA polymerase I, primase, helicase
   3. DNA polymerase I, DNA polymerase III, helicase, primase
   4. Helicase, primase, DNA polymerase III, DNA polymerase I
9. DNA polymerase สามารถทำงานได้กับ DNA ในข้อใด

1. 

2. 

3. 

4. 

10. ในปฏิกิริยาการจำลอง DNA ถ้าใช้ thymidine monophosphate แทน thymidine triphosphate ในข้อใดถูกต้อง
    1. เกิด thymine dimer
    2. ไม่มีผลต่อการจำลอง DNA
    3. ไม่มีการสังเคราะห์ primase
    4. ไม่มีการสังเคราะห์ Okazaki fragment