

บทที่ ๒

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย

ความรู้เกี่ยวกับการสังเคราะห์โปรตีน (๑๔ - ๑๖)

๒.๑ โปรตีน (Protein)

ในบรรดาสารอินทรีย์ของสิ่งมีชีวิต โปรตีนเป็นสารที่มีมากที่สุดทั้งชนิดและปริมาณ กล่าวคือมีมากกว่าครึ่งหนึ่งของน้ำหนักสารทั้งหมด โดยที่ไม่ได้รวมน้ำ ตัวอย่างเช่น *Escherichia coli* (เป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่ง) มีโปรตีนอยู่ประมาณ ๓๐๐๐ ชนิด ส่วนในสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนมก็มีโปรตีนต่างๆ ชนิดนับเป็นล้านชนิด โปรตีนแต่ละชนิดก็มีหน้าที่แตกต่างกันไป เราจึงอาจจำแนกประเภทโปรตีนออกตามหน้าที่ต่างๆ ที่สำคัญได้ คือ

๒.๑.๑ เอนไซม์ (enzyme) มีหน้าที่เป็นตัวเร่ง (catalyse) ปฏิกริยาต่างๆ ในสิ่งมีชีวิต

๒.๑.๒ โปรตีนโครงสร้าง (structural protein) มีหน้าที่สร้างความแข็งแรงและป้องกัน รองรับ หรือยึดเหนี่ยวส่วนต่างๆ ไว้ เช่น คอลลาเจน (collagen) ในเอ็นและกระดูกอ่อน อัลฟา - เคราติน (α -keratin) ในเส้นผม ผิวหนัง เขาและขน ไฟโบรอิน (fibroin) ในเส้นไหม ไลโปโปรตีน (lipoprotein) ในเยื่อเซลล์ (cell membrane) และไกลโคโปรตีน (glycoprotein)

๒.๑.๓ โปรตีนขนส่ง (transport protein) สิ่งมีชีวิตที่มีหลายเซลล์มักมีโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งสิ่งจำเป็นบางอย่างไปยังอวัยวะต่างๆ เช่น ฮีโมโกลบิน (hemoglobin) ซึ่งเป็นตัวนำออกซิเจน (oxygen) จากปอดไปตามหลอดเลือดไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ไมโอโกลบิน (myoglobin) ซึ่งเป็นตัวนำออกซิเจนไปส่งตามเซลล์ของกล้ามเนื้อ ไลโปโปรตีนซึ่งเป็นตัวขนส่งไขมัน เป็นต้น

๒.๑.๔ โปรตีนที่หดตัวได้ (contractile protein) ใช้ในการออกกำลัง และเคลื่อนไหว เช่น ไมโอซิน (myosin) และแอคติน (actin) ในเซลล์กล้ามเนื้อ ไคเนออิน (dinein) ในซีเลีย (cilia) และแฟลคเจลลา (flagella) ของแบคทีเรีย

๒.๑.๕ ฮอร์โมนและตัวควบคุม (hormone and regulator) ฮอร์โมนบางชนิดเป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็ก ตัวอย่างเช่น อินซูลิน (insulin) และ adrenocorticotrophic hormone (acth), ฮอร์โมนซึ่งผลิตโดยต่อมไร้ท่อ (endocrine gland) สามารถเร่งหรือกระตุ้น (stimulate) หรือหยุดยั้งขบวนการทางเมตาบอลิซึม (metabolism) ได้ โปรตีนที่พบเกาะอยู่กับยีน (gene) ภายในนิวเคลียส (nucleus) มักจะเป็นตัวควบคุมการทำงาน (activity) ของยีน เป็นต้น

๒.๑.๖ โปรตีนสะสม (storage protein) โปรตีนหลายชนิดมีหน้าที่เป็นคลังอาหาร เช่น โอวัลบูมิน (ovalbumin) ในไข่ขาวและเคซีน (casein) ในน้ำนม เป็นต้น

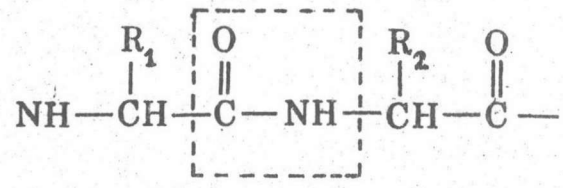
๒.๑.๗ โปรตีนที่มีหน้าที่ป้องกัน (protective protein) เช่น อิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulins) ในเลือดมีหน้าที่เป็นแอนติบอดี (antibody) ซึ่งจะจับกับสิ่งแปลกปลอมจากภายนอกที่เข้าแอนติเจน (antigen) เกิดเป็นคอมเพล็กซ์ (complex) ซึ่งจะถูกลบออกจากร่างกาย โปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือด (blood clotting) เช่น ไฟบริน (fibrin) และทรอมบิน (thrombin) เป็นต้น

๒.๑.๘ ด้วพิษ (toxin) เช่นพิษงู พิษคอตีบ (diphtheria toxin) และพิษอหิวาต์ (cholera toxin) เป็นต้น

๒.๒ โครงสร้างของโปรตีน (protein structure)

โปรตีนทุกชนิดประกอบด้วย กรดอะมิโน (amino acid) ซึ่งเชื่อมโยงกันเป็นสายยาว โดยเปปไทด์บอนด์ (peptide bond) ซึ่งเป็นเอไมด์บอนด์ (amide bond) ซึ่งเกิดขึ้นจากการรวมตัวระหว่างหมู่ คาร์บอกซิลิก (carboxylic group) ของกรดอะมิโน

ตัวหนึ่งและหมู่อะมิโน (amino group) ของกรดอะมิโนของอีกตัวหนึ่ง (รูปที่ ๒.๑)



รูปที่ ๒.๑ แสดงถึงการจับกันของกรดอะมิโน โดยเปปไทด์บอนด์

กิ่งนั้นสารโปรตีนอาจเรียกได้อีกอย่างหนึ่งว่า โปไลเปปไทด์ (polypeptide) ตามปกติโปรตีนแต่ละโมเลกุลจะประกอบด้วยจำนวนกรดอะมิโนประมาณ ๑๐๐ - ๓๐๐ โดยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ ๑๐,๐๐๐ ถึง ๕๐,๐๐๐ คาลตัน (daltons) แต่มีโปไลเปปไทด์บางพวกประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวนน้อย คือต่ำกว่า ๕๐ หน่วย ซึ่งมักจะเรียกว่า โอลิโกเปปไทด์ (oligopeptide) ส่วนโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า ๕๐,๐๐๐ คาลตันมักประกอบด้วยเส้นเปปไทด์มากกว่าหนึ่งเส้น เราเรียกโปไลเปปไทด์แต่ละเส้นว่า หน่วยย่อย (subunit) หรือโมโนเมอร์ (monomer) และเรียกทั้งโมเลกุลว่า โอลิโกเมอร์ (oligomer)

โครงสร้างของโปรตีนแบ่งออกได้เป็น

๒.๒.๑ โครงสร้างปฐมภูมิ (primary structure) คือโปรตีนแต่ละตัวมีลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโน (amino acid sequence) ที่แน่นอน

๒.๒.๒ โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) หมายถึงการวางรูปของเส้นโปไลเปปไทด์ในแต่ละส่วนของโปรตีนว่ามีลักษณะเป็นเกลียว (helix) แผ่นพับ (pleated sheet) หรือชกกันอย่างไร้ระเบียบ (random coil)

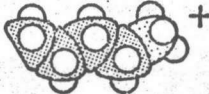
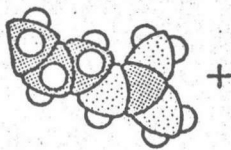
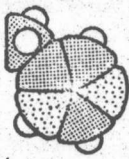
๒.๒.๓ โครงสร้างตติยภูมิ (tertiary structure) คือลักษณะการชกตัวของ

โพลีเปปไทด์ ตลอดทั้งเส้น เช่นชกเป็นก้อนกลมๆ (globular) แทะยาว (rod) หรือ เป็นเส้นๆ (fibrous)

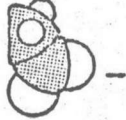
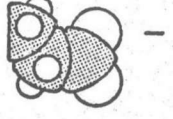



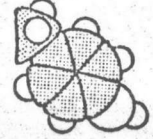

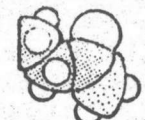
๒.๒.๔ โครงสร้างจตุรภูมิ (quaternary structure) หมายถึงแบบของการจับกลุ่มกันของหน่วยย่อยของโปรตีนที่เป็นโพลิโเมอร์

๒.๓ กรดอะมิโนในโปรตีน

ความปกติโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโน ๒๐ ชนิด กรดอะมิโนทั้งหมดเป็นประเภทอัลฟา กล่าวคือมีหมู่อะมิโนอยู่ที่อัลฟาคาร์บอน (α -C) ซึ่งอยู่ติดกับหมู่คาร์บอกซิลิกกรดอะมิโนที่พบในโปรตีนจะต่างกันตรง side chain ซึ่งเป็นส่วนของโมเลกุลที่ติดอยู่กับอัลฟาคาร์บอน และเป็นส่วนสำคัญที่จะกำหนดคุณสมบัติของกรดอะมิโนนั้นๆ เราอาจแบ่งกรดอะมิโนตาม side chain ของมัน (รูปที่ ๒.๒) ออกไปไ้เป็นสามกลุ่มด้วยกันคือ



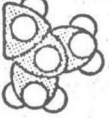


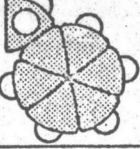
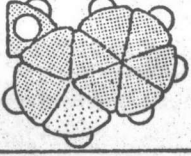
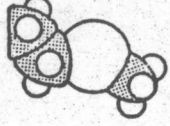
กรดอะมิโนที่มีฤทธิ์เป็นเบส	side chain	R groups
Lysine (Lys) ไลซีน	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+ \\ \\ \text{H} \end{array}$	
Arginine (Arg) อาร์จินีน	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \\ \text{H} \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{NH}_2^+ \end{array}$	
Histidine (His) ฮิสติดีน	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C} \begin{array}{l} \text{//} \text{CH} \\ \backslash \text{NH} \\ \quad \text{N} \\ \quad \quad \text{CH} \end{array} \\ \\ \text{H} \end{array}$	

รูปที่ ๒.๒ โครงสร้างของกรดอะมิโน

กรดอะมิโนซึ่ง side chains มีประจุเมื่อ pH เป็นกลาง	side chain	R groups
Aspartic acid (Asp) กรดแอสปาร์ติก	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C} \\ \quad \quad \quad // \quad \quad \quad \backslash \\ \text{H} \quad \quad \quad \text{O} \quad \quad \quad \text{O}^- \end{array} $	
Glutamic acid (Glu) กรดกลูตามิก	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C} \\ \quad \quad \quad // \quad \quad \quad \backslash \\ \text{H} \quad \quad \quad \text{O} \quad \quad \quad \text{O}^- \end{array} $	
กรดอะมิโนซึ่งมี uncharged polar side chains	side chain	R groups
Glycine (Gly) ไกลซีน	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} $	D
Serine (Ser) เซรีน	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array} $	
Threonine (Thr) ธรีโอนีน	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array} $	
Cysteine (Cys) ซิสเตอีน	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{SH} \\ \\ \text{H} \end{array} $	
Tyrosine (Tyr) ไทโรซีน	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array} $	
Asparagine (Asn) แอสปาราจีน	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C} \\ \quad \quad \quad // \quad \quad \quad \backslash \\ \text{H} \quad \quad \quad \text{O} \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array} $	
Glutamine (Gln) กลูตามีน	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C} \\ \quad \quad \quad // \quad \quad \quad \backslash \\ \text{H} \quad \quad \quad \text{O} \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array} $	

กรดอะมิโนที่มี non-polar side chains
side chain

R groups

<p>Alanine (Ala) อะลาanine</p> $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$	
<p>Valine (Val) เวลิเน</p> $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH} \\ \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	
<p>Leucine (Leu) ลูซีน</p> $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH} \\ \quad \quad \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \quad \quad \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	
<p>Isoleucine (Ileu) ไอโซลูซีน</p> $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH} \\ \quad \quad \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \quad \quad \text{CH}_2-\text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	
<p>Proline (Pro) โพรลิเน</p> $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}-\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{N}-\text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{C}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2 \end{array}$	
<p>Phenylalanine (Phe) เฟนิลอะลาanine</p> $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{H} \end{array}$	
<p>Tryptophan (Trp) ทริปโตเฟน</p> $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{C} \\ \quad \quad \quad \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \quad \quad \text{CH} \quad \text{C}_6\text{H}_4 \end{array}$	
<p>Methionine (Met) เมไธโอนิน</p> $\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{H} \end{array}$	

๒.๓.๑ non-polar amino acid ซึ่งมีลักษณะ hydrophobic

๒.๓.๒ polar amino acids ซึ่งไม่มีประจุ และมีลักษณะ hydrophilic

ปานกลาง

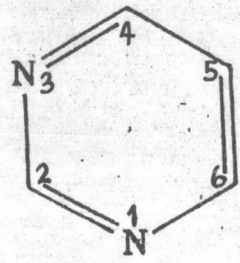
๒.๓.๓ พวกที่มีประจุที่ pH ซึ่งเป็นกลาง และมีลักษณะ hydrophilic มากที่สุด และสามารถจะแยกออกได้เป็น ๒ พวก คือ basic และ acid side chain ประจุของ กรดอะมิโนขึ้นอยู่กับ pKa และ pH

จะเห็นได้ว่าถึงแม้โปรตีนจะประกอบด้วยกรดอะมิโนเรียงตัวกันโดยมีเปปไทด์บอนด์ ซ้ำกันอยู่ตลอดโมเลกุล กรดอะมิโนแต่ละตัวซึ่งอาจเรียกว่า เรซิดิว (residue) ก็มีลักษณะ แตกต่างกันไปแล้วแต่ลักษณะของ side chain ซึ่งเป็นตัวกำหนดคุณสมบัติต่างๆ ของ โปรตีน

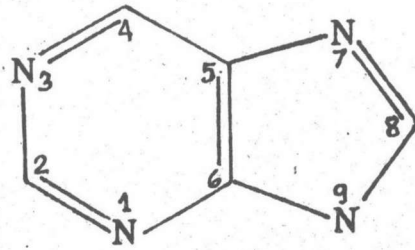
๒.๔ นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) และกรดนิวคลีอิก (nucleic acid)

๒.๔.๑ นิวคลีโอไทด์

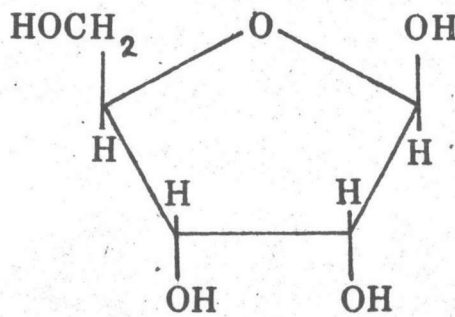
นิวคลีโอไทด์เป็นสารประกอบที่มีอยู่เป็นอิสระภายในเซลล์ และเป็นส่วนประกอบ ของ DNA และ RNA นิวคลีโอไทด์ประกอบด้วยเพียวรีน (purine) หรือพิริมิดีน (pyrimidine) รวมถึงไรโบส (ribose) หรือดีออกซีไรโบส (deoxyribose) และฟอสเฟต เพียวรีน และพิริมิดีนรวมเรียกสั้นๆ ว่าเบส (base) ซึ่งเป็นสารประกอบในโครเจนชนิด อะโรมาติก (aromatic) (รูปที่ ๒.๓ , ๒.๔ , ๒.๕ , ๒.๖ , ๒.๗)



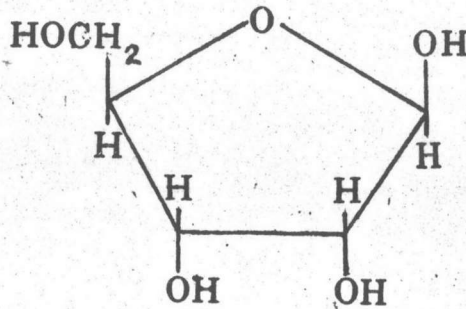
รูปที่ ๒.๓ โครงสร้างพิริมิดีนเบส



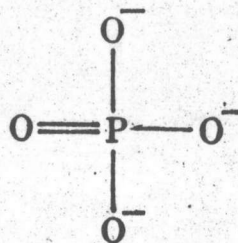
รูปที่ ๒.๔ สูตรโครงสร้างเพียวรีนเบส



รูปที่ ๒.๕ สูตรโครงสร้างไรโบส

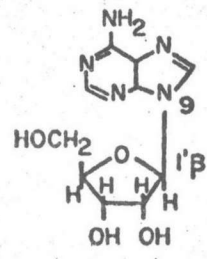


รูปที่ ๒.๖ สูตรโครงสร้างดีออกซีไรโบส

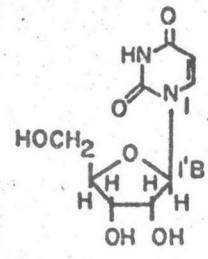


รูปที่ ๒.๗ สูตรโครงสร้างฟอสเฟต

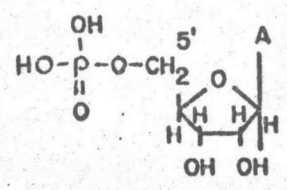
ไรโบสและดีออกซีไรโบสก็คือเพนโตส (pentose) เบสจะจับกับเพนโตสทั้งสอง
 ใที่ตำแหน่งคาร์บอนที่หนึ่ง (1') และจะอยู่ข้างหัวเหลี่ยมของเพนโตสฉะนั้นจึงเป็นไอโซมเมอร์
 ชนิด β บอนกัที่จับระหว่างเบสกับเพนโตสเรียกว่า ไกลโคซิดิกบอนกั (glycosidic bond)
 บอนกันี้ จะจับกับเพียวรีนที่ไนโตรเจนตำแหน่งที่เก้า หรือพิริมิดีนตำแหน่งที่หนึ่ง ส่วนฟอสเฟต
 จะจับกับ OH ที่ตำแหน่งใดก็ได้ ไคเอสเทอร์บอนกั (ester bond) สารประกอบระหว่าง
 เบสกับเพนโตสเรียกว่า นิวคลีโอไซด์ (nucleoside) เมื่อเพิ่มฟอสเฟตเข้าไปก็เรียกว่า
 นิวคลีโอไทด์ (รูปที่ ๒.๔)



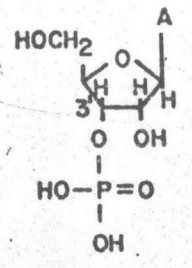
Adenosine
(9- β -D-Ribofuranosyladenine)



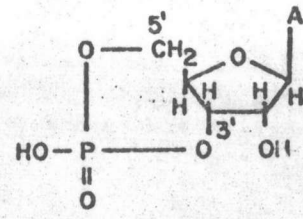
Cytidine
(1- β -D-Ribofuranosylcytosine)



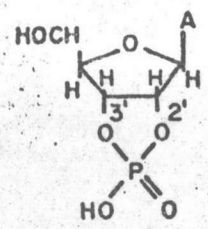
Adenosine 5'-monophosphate
(5'-AMP)



Adenosine 3'-monophosphate
(3'-AMP)



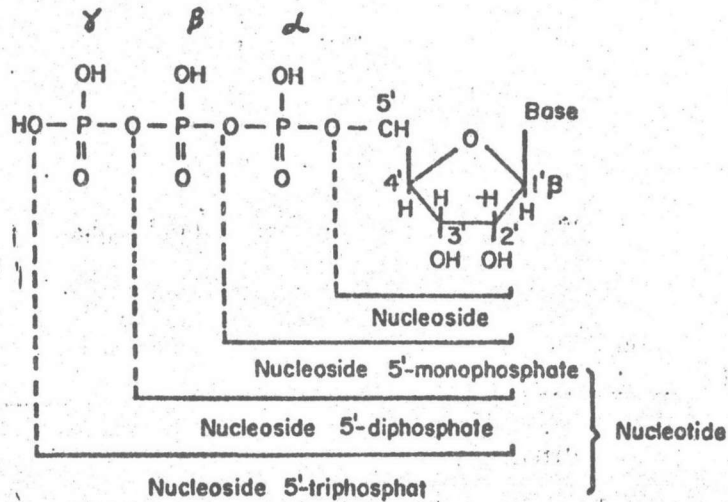
Adenosine 3',5'-cyclic monophosphate
(3',5'cAMP)



Adenosine 2',3'-cyclic monophosphate
(2',3'cAMP)

รูปที่ ๒.๔ สรุทโครงสร้างนิวคลีโอไซด์และตัวนิวคลีโอไทด์บางตัว แสดงลักษณะและชนิด
 ของบอนกัในระหว่างเบส น้ำตาลและฟอสเฟต

ถ้าฟอสเฟตเพียงตัวเดียวจับอยู่ที่ตำแหน่งที่ห้า (5) ของเพนโทส ก็อาจเรียกว่า nucleoside 5'-monophosphate, (รูปที่ ๒.๘)

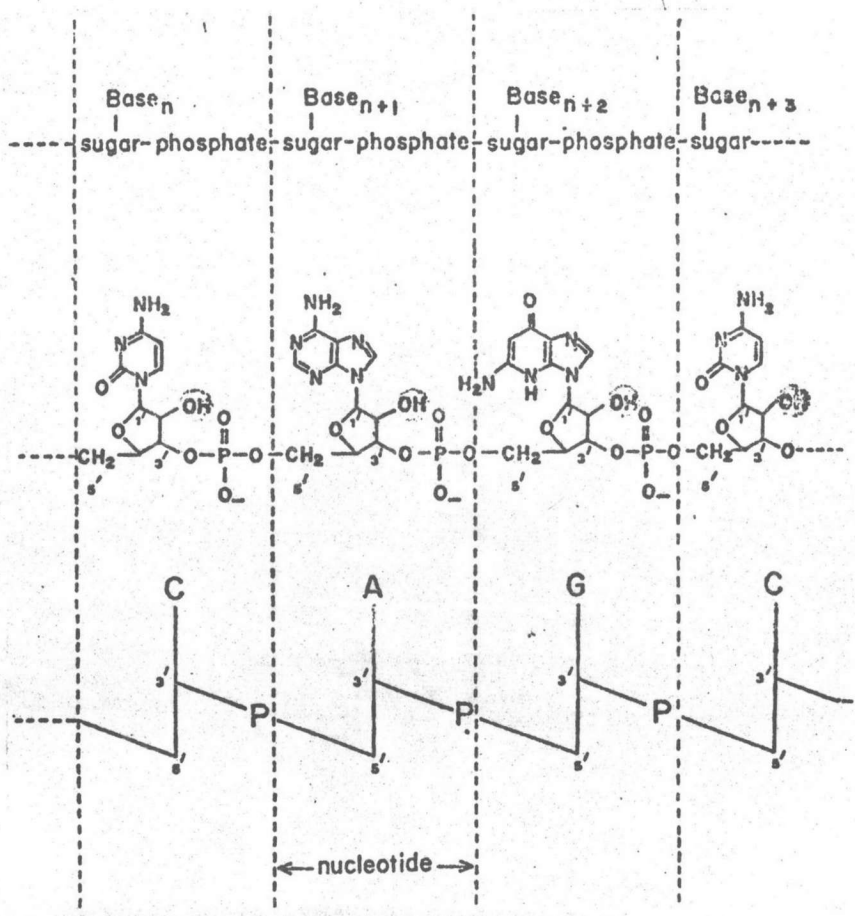


รูปที่ ๒.๘ โครงสร้างแสดงความสัมพันธ์ระหว่างนิวคลีโอไซด์ และนิวคลีโอไทด์ซึ่งมีฟอสเฟตหนึ่ง สอง และสามหมู่

๒.๘.๒ กรกนิวคลีอิก

กรกนิวคลีอิก เป็นสารอินทรีย์ทำหน้าที่เป็นสารพันธุกรรม (genetic material) ของเซลล์ และเป็นตัวช่วยในการสร้างโปรตีนชนิดต่างๆ ค้นพบครั้งแรกจากหนอง (pus cell) โดย Miescher ในปี ค.ศ. ๑๘๖๘ โดยตั้งชื่อว่า นิวคลีอีน (nuclein) กรกนิวคลีอิกเป็นโพลิเมอร์ (polymer) ของนิวคลีโอไทด์ที่มี 5'-PO₄ จับกับ 3'-OH ของน้ำตาล (ไรโบสหรือดีออกซีไรโบส ของนิวคลีโอไทด์ตัวถัดไป (รูปที่ ๒.๑๐) บอนกที่เชื่อมโยงนิวคลีโอไทด์สองตัวให้ต่อกัน จึงเรียกว่า ฟอสโฟไดเอสเทอร์บอนก (3', 5'-phosphodiester bond) ซึ่งทำหน้าที่เป็นกระดูกสันหลัง (backbone) ของกรกนิวคลีอิก นิวคลีโอไทด์ สองตัวเชื่อมโยงกันแบบนี้เรียกว่า ไดนิวคลีโอไทด์ (dinucleotide) ถ้าเป็นนิวคลีโอไทด์น้อยกว่า ๑๒ ตัว ตัวเชื่อมโยงกัน เรียกว่า โอลิโกนิวคลีโอไทด์ (oligonucleotide) ถ้ามาก

กว่านี้เรียกว่า โพลีนิวคลีโอไทด์ (polynucleotide) หรือกรดนิวคลีอิก กรดนิวคลีอิกแบ่ง
 ออกเป็นสองชนิดใหญ่ๆ คือ กรดไรโบนิวคลีอิก (ribonucleic acid, RNA) ซึ่งมีน้ำตาล
 เป็นไรโบส และกรดดีออกซีไรโบนิวคลีอิก (deoxyribonucleic acid, DNA) ซึ่งมีน้ำตาล
 เป็นดีออกซีไรโบส



รูปที่ ๒.๑๐ การเรียงตัวของโพลีนิวคลีโอไทด์ ซึ่งอาจเขียนได้เป็นสามแบบ

๒.๔.๓ DNA เป็นสารพันธุกรรมที่เก็บรักษาข้อความทางพันธุกรรม
 (genetic information) ของเซลล์ DNA มีอยู่ในนิวเคลียส และในไมโทคอนเดรีย

(mitochondria) และมีขนาดใหญ่มากของบั๊ก เติร์มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณหนึ่งล้านคาลตัน และยาวประมาณ ๑.๒ ม.ม. ของคน สัตว์ หรือพืชมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ ๑,๐๐๐ ล้านคาลตัน

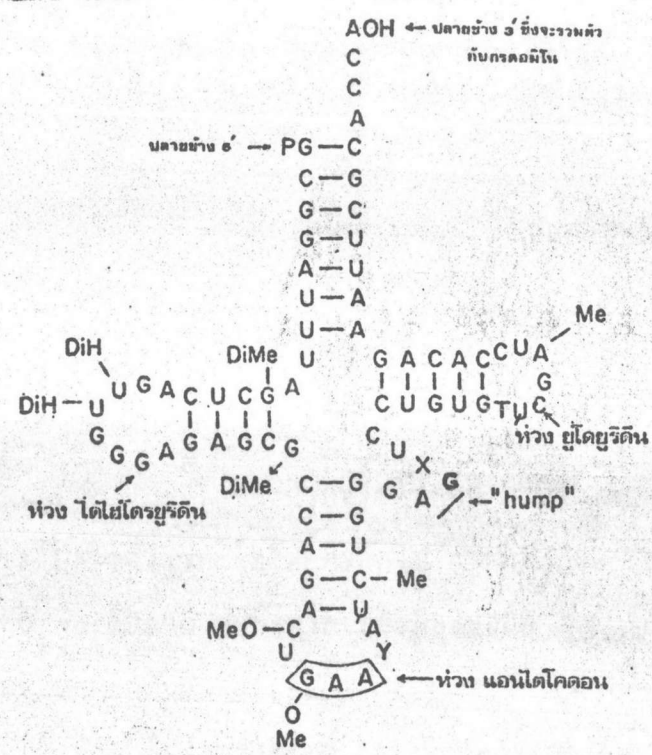
๒.๔.๔ RNA เป็นสารอินทรีย์ซึ่งเป็นตัวกลางในการถ่ายทอดข้อความทางพันธุกรรมจาก DNA ไปใช้ในการสร้างโปรตีนต่างๆ ของเซลล์ ส่วนประกอบของ RNA คล้ายกับ DNA คือ เกิดจากการเชื่อมโยงของนิวคลีโอไทด์ โดยฟอสโฟไดเอสเทอร์บอนด์ แต่ส่วนประกอบที่ต่างกันระหว่าง RNA กับ DNA ก็คือ น้ำตาลของ RNA เป็นไรโบส แต่ของ DNA เป็นดีออกซีไรโบสและเบสของ RNA เป็นยูราซิลแต่ของ DNA เป็นไซมีนและตามปกติ RNA จะมีโครงสร้างเป็นเส้นเดี่ยว (single stranded) แต่ของ DNA เป็นเกลียวคู่ (double helix)

RNA แบ่งได้เป็น ๓ ประเภท คือ

ก. Messenger RNA (mRNA) เป็นตัวกลางนำข้อความทางพันธุกรรมจาก DNA ในนิวเคลียสผ่านผนังนิวเคลียสไปยังไรโบโซม (ribosome) ภายในไซโตพลาสซึม (cytoplasm) เพื่อใช้ในการสร้างโปรตีน mRNA มีขนาดประมาณ ๓๐,๐๐๐ ถึง ๓๐๐,๐๐๐ คาลตันซึ่งสามารถนำข้อความทางพันธุกรรมจาก DNA เพื่อใช้ในการสร้างโปรตีน ซึ่งมีน้ำหนักประมาณ ๑๐,๐๐๐ ถึง ๑๐๐,๐๐๐ คาลตัน การนำข้อความทางพันธุกรรมนี้ กระทำโดยขบวนการสังเคราะห์ RNA โดยอาศัย complementary base pair ดังนั้นข้อมูลสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนจาก DNA ก็จะถูกถ่ายทอดมาทาง mRNA เพื่อจะได้นำมาถอดรหัสออกมาเป็นโปรตีนต่อไป การแยก mRNA สำหรับโปรตีนแต่ละชนิดนั้นทำได้ยากมาก เนื่องจาก mRNA ในเซลล์มีจำนวนมากหลายพันชนิด และมีขนาดใกล้เคียงกัน mRNA มักมีช่วงชีวิตการทำงานไม่ยืนนาน เมื่อใช้งานเสร็จแล้วก็มักจะถูกทำลายไป

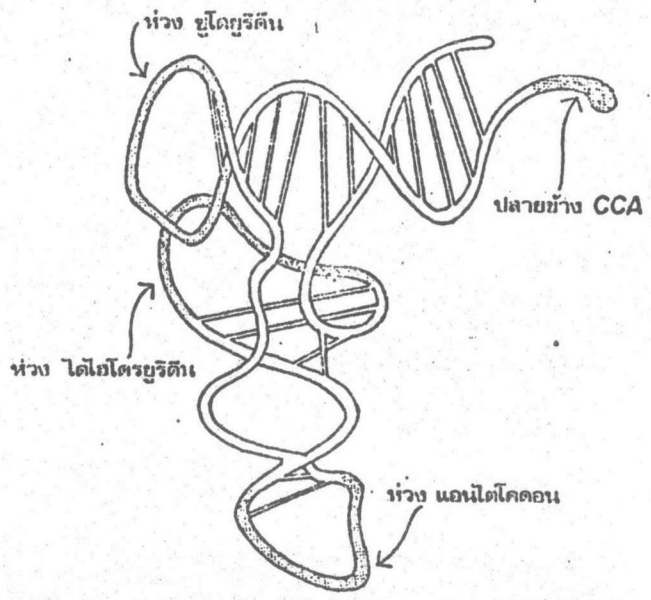
ข. Transfer RNA (tRNA) เป็นตัวนำกรดอะมิโนไปยังไรโบโซม เพื่อใช้ในการสร้างโปรตีน tRNA มีขนาดเล็กมีน้ำหนักโมเลกุล ประมาณ ๒๓,๐๐๐ ถึง ๓๐,๐๐๐

กาลตัน ซึ่งประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ประมาณ ๗๕ ถึง ๘๐ ตัว กรกอะมิโนแต่ละตัวจะมี tRNA ที่จะโอนำกรกอะมิโนนั้นโดยเฉพาะอย่างหนึ่งตัว tRNA ในเซลล์อาจจะอยู่ในรูปอิสระหรือจับกับกรกอะมิโนอยู่โดยที่ COOH ของกรกอะมิโนจะเชื่อมโยงกับ 3'-OH ที่ปลายของ tRNA เบสใน tRNA อาจจะประกอบด้วยเบสลักษณะพิเศษ (odd base มากถึง ๑๐% ของเบสทั้งหมด เบสพิเศษนี้ไคแก์ ซูโคยูราซิล (pseudouracil) ไดไฮโดรยูราซิล (dihydrouracil) และไทมีน (thymine) นอกจากนี้ยังรวมถึงเบสปกติที่มี -CH₃ เติมเข้าไปด้วย tRNA มีโครงสร้างพิเศษที่สำคัญคือ ปลายข้าง 5'-OH จะมีเบสกวานีน และปลายข้าง 3'-OH จะมีการเรียงตัวของเบสที่คงที่คือจะเป็นไซโทซีน, ไซโทซีนและอะดีนีน (pCpCp A - 3'-OH) การขกตัวของ tRNA ยังไม่เป็นที่ทราบแน่นอน แต่สันนิฐานกันว่าในโครงสร้างของ tRNA จะมีการจับคู่ของเบสบางและมีลักษณะทั่วไปดังที่แสดงไว้ใน (รูปที่ ๒.๑๑ ก) ส่วนโครงสร้างสามมิติซึ่งได้จากการศึกษาการหักเหรังสีเอ็กซ์ของผลึก tRNA มีลักษณะเป็นแบบตัว L (รูป ๒.๑๑ ข) โดยที่ปลายสุดเป็นห่วงแอนโตโคคอน และ 3'-OH ซึ่งจะจับกับกรกอะมิโนในขบวนการสร้างโปรตีน



รูปที่ ๒.๑๑ ก. ตัวอย่างโครงสร้างแบบ clover leaf ของ tRNA

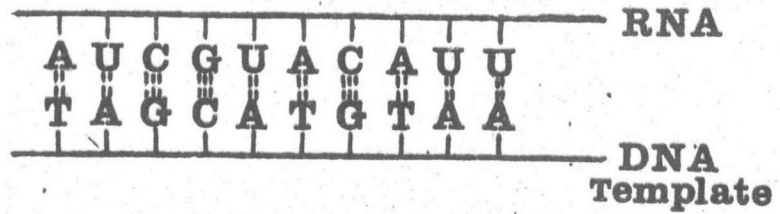
tRNA แต่ละตัวจะมีลักษณะที่คล้ายคลึงกัน ยกเว้นการเรียงตัวของเบสที่หางแอนติ-โคดอน ซึ่งจะแตกต่างกันไปในแต่ละตัว tRNA ที่จะจับกับกรดอะมิโนแต่ละชนิดโดยเฉพาะ



รูปที่ ๒.๑๑ ข. โครงสร้างสามมิติของ tRNA

ก. Ribosome RNA (rRNA) มีมากที่สุดภายในเซลล์ หน้าที่ยังไม่ทราบแน่นอน แต่เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของไรโบโซม ซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการสร้างโปรตีน rRNA ของแบคทีเรียอาจแบ่งได้เป็น ๓ ขนาด ตามค่าสัมประสิทธิ์ของการตกตะกอน (Sedimentation Coefficient) คือ 23S, 16S, และ 5S ส่วนของสัตว์และพืชมี ๓ ขนาดเช่นเดียวกัน ได้แก่ 28S, 18S, และ 5S

RNA ทุกชนิดถูกสังเคราะห์ขึ้นโดยใช้ DNA เป็นแม่พิมพ์ (template) ดังนั้นลำดับของเบสใน RNA ก็จะถูกบ่งการโดยลำดับของเบสใน DNA เส้นที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ในการสร้าง RNA นั้นคือเบสของ RNA จะตรงเรียงกันความสำคัญที่จะให้เบสทุกตัวในเส้น RNA สามารถจับคู่ (complement) กับเบสของ DNA ที่อยู่ใต้อาแหน่งเดียวกัน การจับคู่เป็นไปตามกฎการจับคู่ของเบส กล่าวคือ อะดีนีนคู่กับ ยูราซิล (หรือไทมีนและกวานีนคู่กับไซโทซีน (รูปที่ ๒.๑๒)



รูปที่ ๒.๑๒ การจับคู่ของเบสระหว่าง DNA กับ RNA

๒.๕ การสร้างโปรตีน (Transalation)

โปรตีนประกอบด้วยส่วนย่อย คือ กรดอะมิโนชนิดต่างๆ การเรียงตัวที่ต่างกันของกรดอะมิโนเหล่านี้ ทำให้โปรตีนที่เกิดขึ้นมีโครงสร้างและหน้าที่ต่างกัน การสร้างโปรตีนคือการเชื่อมโยงระหว่างกลุ่ม -COOH ของกรดอะมิโนตัวหนึ่งกับกลุ่ม -NH₂ ของกรดอะมิโนตัวต่อไป โดยแปลโคดอนการสร้างโปรตีนภายในเซลล์นั้นต้องอาศัยการทำงานร่วมกันอย่างมีระเบียบของ tRNA, mRNA ไรโบโซม และเอ็นไซม์ กล่าวคือ DNA จะถ่ายทอดข้อความทางพันธุกรรมมายัง mRNA ซึ่งจะเป็นตัวบ่งการการเรียงตัวของกรดอะมิโนในโปรตีน tRNA จะทำหน้าที่นำกรดอะมิโนต่างๆ ไปยังไรโบโซม ซึ่งเป็นที่ที่สร้างโปรตีน ส่วนเอ็นไซม์ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีน และการสังเคราะห์โปรตีนนี้เกิดขึ้นในไซโตพลาสซึม

ในการถอดรหัสพวกนี้ออกมาเป็นกรดอะมิโนที่ถูกต้อง จำเป็นต้องอาศัยขบวนการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งเป็นขบวนการที่สลับซับซ้อน และบางส่วนของขบวนการนี้ก็ยังไม่ทราบแน่นอนนัก เพียงแต่มีการอนุมานจากผลการทดลองเท่านั้น ตัวสำคัญในขบวนการสังเคราะห์โปรตีน ที่จะทำหน้าที่เป็นผู้ถอดรหัสคือ tRNA

tRNA ในเซลล์ปกติ จะมีจำนวนชนิดเท่ากับกรดอะมิโน คือมีประมาณ ๒๐ ชนิด แต่ละชนิดก็จะมีเฉพาะ (specificity) กับกรดอะมิโนแต่ละตัวเช่นกัน

ส่วนที่สำคัญที่ทำให้ tRNA ทำหน้าที่ได้ถูกต้องมี ๒ ส่วน คือ

ก. 3' - OH ซึ่งจะจับกับกรโคอะมิโนที่ต้องการโดยไม่มีการฉีกพลาต

ข. แอนติโคดอน (Anticodon) เป็นส่วนของ triplet nucleotides ที่ anticodon loop ซึ่งจะจับคู่กับ triplet codon ที่ถูกต้องตามรหัสใน mRNA

ทั้งจะได้เห็นว่า tRNA จะเป็นตัวที่จับกับกรโคอะมิโนตัวที่ถูกต้องและนำไปไว้บนตำแหน่งที่ถูกต้องในการเรียงตัวของกรโคอะมิโนในโปรตีนโดยอาศัย รหัสบน mRNA ซึ่งใช้ชื่อว่า รหัสพันธุกรรม

รหัสพันธุกรรม (Genetic Code)

ข้อความทางพันธุกรรมที่เก็บรักษาไว้ในลำดับของเบสใน DNA จะถูกถอด (transcribe) ออกมาเป็นลำดับของเบสใน RNA mRNA ก็จะนำเอาข้อความทางพันธุกรรมนั้นออกจากนิวเคลียสมายังไซโทพลาสม การแปลลำดับของเบสใน mRNA ให้ออกมาเป็นลำดับของกรโคอะมิโนในโปรตีนจะต้องอาศัยรหัสพันธุกรรม (รูปที่ ๒.๑๓) ซึ่งเป็นเสมือนพจนานุกรมที่แปลคำของภาษาหนึ่งมาเป็นคำในอีกภาษาหนึ่ง รหัสพันธุกรรม เป็นผลงานค้นคว้าของนักชีวเคมีหลายท่านโดยเฉพาะอย่างยิ่ง Nirenberg และ Khorana

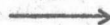
การแปลระดับของเบสใน mRNA จะต้องเริ่มจากปลาย 5' ไปยังปลาย 3' ลำดับของเบสสามตัวติดต่อกันจะเท่ากับกรโคอะมิโนหนึ่งตัว เช่น UCU เท่ากับ Ser เป็นต้น ดังนั้น รหัสพันธุกรรมจึงเรียกว่า triplet code หรือโคดอน (codon) จะเห็นได้จากรูปที่ ๒.๑๓ ว่ากรโคอะมิโนตัวหนึ่ง อาจมีรหัสมากกว่าหนึ่งรหัส เช่นทั้ง UCU และ UCC ก็เท่ากับ Ser เป็นต้น ปรากฏการณ์เช่นนี้เรียกว่า Degeneracy รหัสที่จะบอกให้เริ่มแปลข้อความทางพันธุกรรม คือ AUG ซึ่งเท่ากับ Met ซึ่งจะเป็นกรโคอะมิโนทางปลาย $-NH_2$ ของเปปไทด์ เมื่ออ่านรหัสที่ละสามเบสต่อไปเรื่อยๆ ก็จะได้ลำดับของกรโคอะมิโนต่างๆ โดยอาศัย ตารางรูปที่ ๒.๑๓ จนถึงรหัส UAA UAG หรือ UGA ซึ่งเป็นรหัส "หยุด" การสร้างเปปไทด์ก็จะหยุดตรงนั้น กรโคอะมิโนตัวสุดท้ายก่อนที่จะหยุดก็จะเป็นตัวที่อยู่ปลาย $-COOH$ การศึกษาเกี่ยวกับกลไกในธรรมชาติ

ที่ไขแปล รหัสพันธุกรรมเป็นก้าวสำคัญในวิทยาศาสตร์ชีวภาพยุคใหม่

จากความรู้ที่มีในปัจจุบันทำให้สามารถแบ่งขบวนการสังเคราะห์โปรตีนออกเป็น
ขั้นตอนดังนี้

	U	C	A	G
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys
	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop
	UUG Leu	UCG Ser	UAG Stop	UGG Try
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg
G	AUG Met (start)	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg
	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly
	GUA Val	GCA Ala	GAA Asp	GGA Gly
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly

Direction of Reading



5'---AUG UUU CUC AUC ACC AAA GAU GGG UAA---3' mRNA

NH₂---Met-Phe-Leu-Ile-Thr-Lys-Asp-Gly---COOH Peptide

รูปที่ ๒.๑๓ รหัสพันธุกรรมและตัวอย่างวิธีไรหัดนี้เปลี่ยนลำดับของเบสใน mRNA ให้เป็นลำดับของกรดอะมิโนในโปรตีน

๒.๕.๑ การนำกรดอะมิโนมาสร้างโปรตีน

กรดอะมิโนอิสระในเซลล์จะถูกนำมาใช้สังเคราะห์โปรตีนได้ก็ต่อเมื่อถูกนำมาจับกับ tRNA ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวพา (carrier) กรดอะมิโน tRNA โดยทั่วไป (รูปที่ ๒.๑๔) ปลายด้าน 3' เป็นที่ที่จะจับกรดอะมิโน การเชื่อมกรดอะมิโนเข้ากับ 3'-OH จะเป็นไปตามปฏิกิริยาที่แสดงไว้ใน (รูป ๒.๑๕) ปฏิกิริยานี้ต้องใช้ ATP, แมกนีเซียมและเอ็นไซม์ aminoacyl-tRNA synthetase เป็นตัวเร่ง ผลที่ได้คือ aminoacyl-tRNA

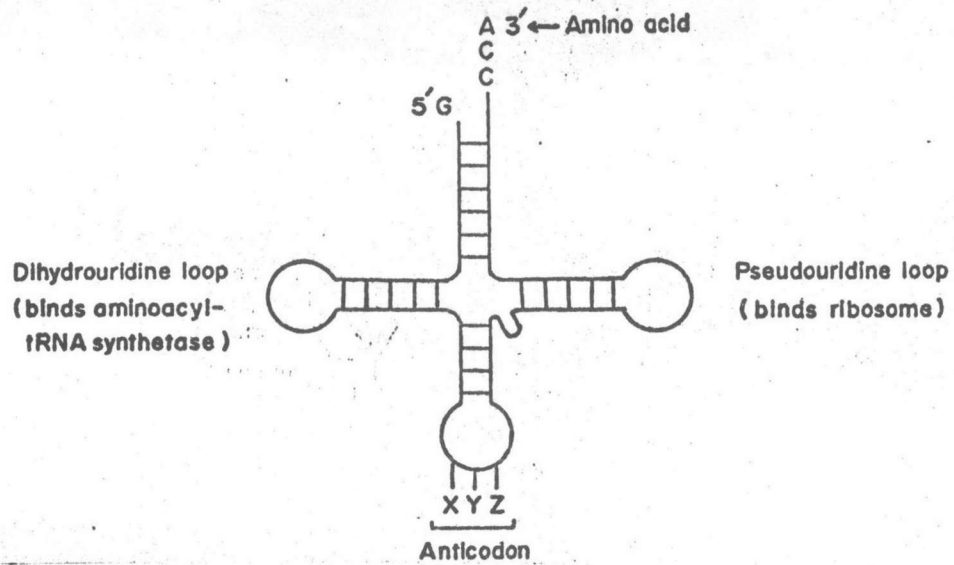
ซึ่งมีเอสเทอร์บอนด์เกิดจาก 3'-OH ของ tRNA กับ -COOH ของกรดอะมิโน tRNA จะมีบริเวณหนึ่งเรียกว่า แอนไทโคดอนซึ่งประกอบด้วยเบสสามตัว (x y z) อ่านจากทางด้าน 5' ของรูปที่ ๒.๑๔ แอนไทโคดอนเป็นส่วนที่ทำหน้าที่จับกับโคดอน (codon) ใน mRNA ตามกฎการจับคู่เบส ดังนั้นโคดอนสำหรับกรดอะมิโนตัวหนึ่งก็จะต้องมี tRNA ที่มีแอนไทโคดอนที่ถูกต้องเป็นตัวนำกรดอะมิโนตัวนั้น นั่นหมายความว่า tRNA ในเซลล์มีอยู่หลายชนิด แต่ละชนิดสามารถเป็นตัวนำกรดอะมิโนชนิดเดียวเท่านั้น เอ็นไซม์ที่จะทำการเชื่อม tRNA กับกรดอะมิโนจึงต้องมีความจำเพาะตัวอย่างมาก

๒.๕.๒ การเริ่มแปลรหัสพันธุกรรม (Initiation of Translation)

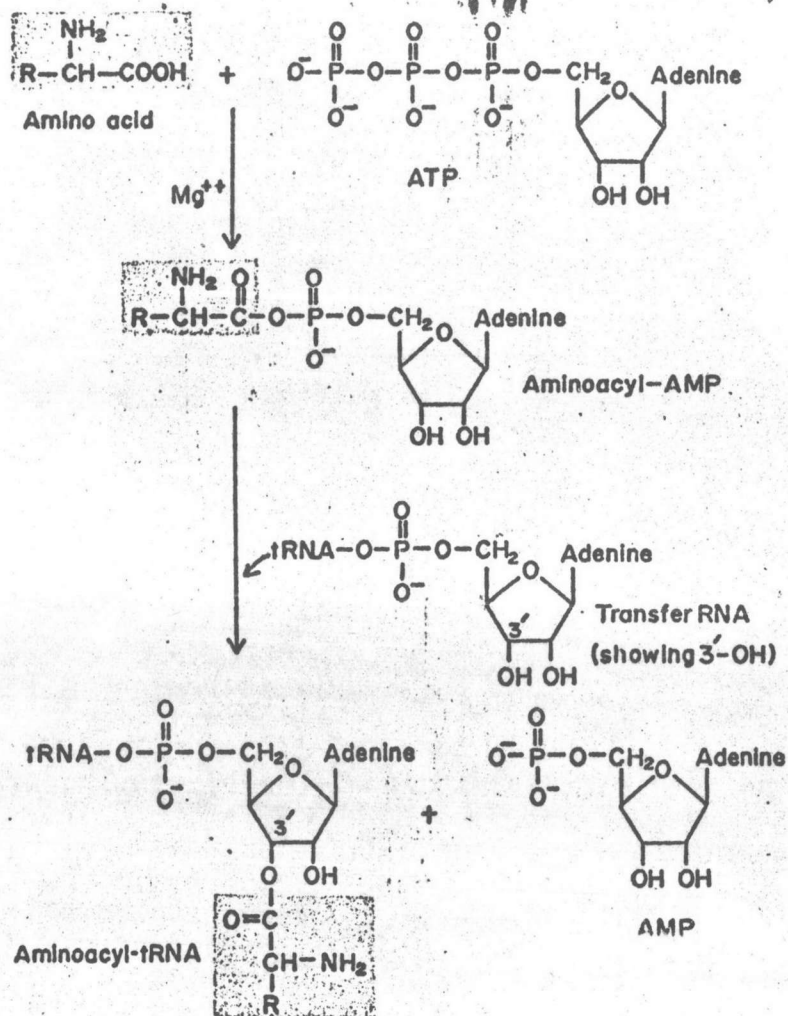
ไรโบโซมประกอบด้วยสองหน่วยย่อย คือ 30S กับ 50S เมื่อเริ่มแปลรหัส หน่วยย่อย 30S จะเริ่มจับกับ mRNA โดยการช่วยเหลือของปัจจัยริเริ่ม (initiation factor) ซึ่งเป็นโปรตีนของแบคทีเรียอยู่ด้วยกันสามส่วนคือ F_1 , F_2 และ F_3 ส่วนหน่วยย่อย 50S จะจับกับ aminoacyl-tRNA ตัวแรกซึ่งจะเป็น N-formylmethionine-tRNA (fMet-tRNA) เพราะเป็นตัวที่มีแอนไทโคดอนที่จะจับคู่กับ AUG โคดอนที่เป็นรหัส "เริ่ม" การแปล (รูปที่ ๒.๑๖) แบ่งหน่วยย่อย 50S นั้นมีบริเวณที่จะให้ aminoacyl-tRNA จับได้สองแห่งคือ บริเวณเปปไทด์ (peptide site, P-site) และบริเวณกรดอะมิโน (aminoacyl site, A-site) มีหลักฐานที่ทำให้เชื่อได้ว่า fMet-tRNA จะจับที่ P-site ตรงกับโคดอน AUG ของ mRNA ขณะเดียวกัน A-site จะอยู่ตรงกับโคดอนต่อไป พร้อมทั้งจะรับ tRNA ที่มีกรดอะมิโนตัวต่อไป ในขั้นนี้ใช้พลังงานจากสาร GTP หนึ่งตัวต่อโมเลกุลของ aminoacyl-tRNA ที่มาจับรวมทั้งปัจจัยริเริ่มในเซลล์ของสัตว์ชั้นสูง จะมีจำนวนมากในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ

๒.๕.๓ การสร้างเปปไทด์บอนด์และโปรตีน (elongation process)

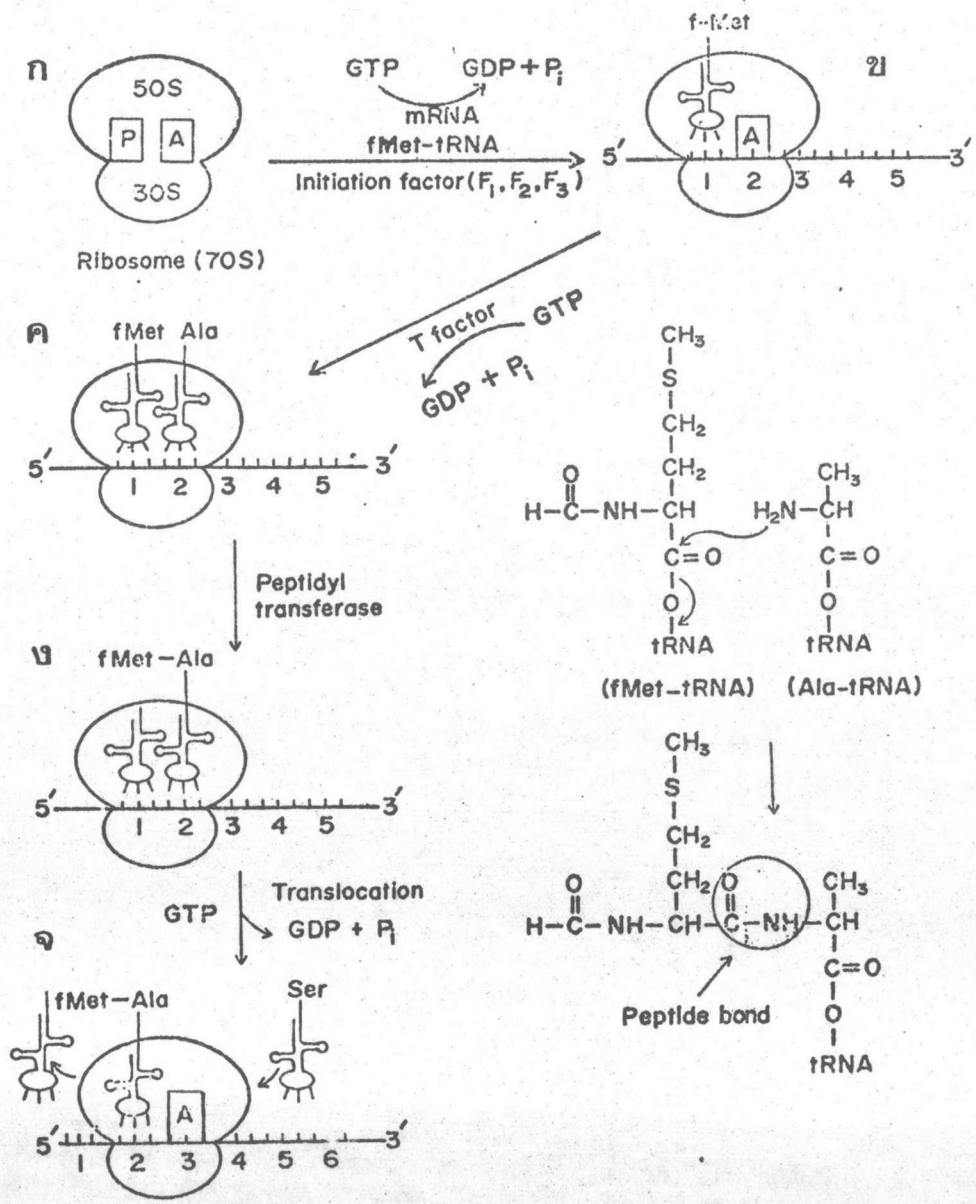
ต่อไป tRNA ที่มีกรดอะมิโนจับอยู่จะจับที่ A-site และมีแอนไทโคดอนที่ถูกต้อง สำหรับโคดอนชุดที่ ๒ ถัดไป ในตอนนี้ต้องใช้ GTP และโปรตีนที่เรียกว่า T factor ต่อจากนั้นปฏิกิริยาสร้างเปปไทด์บอนด์ก็จะเกิดขึ้นโดยที่ $-NH_2$ ของกรดอะมิโน



รูปที่ ๒.๑๘ โครงสร้างของ tRNA แบบ clover leaf



รูปที่ ๒.๑๙ ปฏิกิริยาการนำกรดอะมิโนมาจับกับ tRNA



รูปที่ ๒.๑๖ กลไกการสร้างพันธะเปปไทด์ในระบบการสังเคราะห์โปรตีน เริ่มต้นด้วยการจับตัวระหว่างไรโบโซม mRNA และ tRNA ที่มีตัวกรโคเดมิโน ติดตามด้วยการสร้างพันธะเปปไทด์และการเคลื่อนย้ายเปปไทด์ที่สร้างขึ้น

ตัวที่สองจะทำปฏิกิริยากับ C=O ของกรดอะมิโนตัวที่หนึ่ง (รูป ๒.๑๖) ทำให้กรดอะมิโนตัวแรกหลุดจาก tRNA ที่นำมันมา นั่นก็คือกรดอะมิโนทั้งสองมาติดอยู่กับ tRNA ของตัวที่สอง และการสร้างเปปไทด์บอนด์ต้องใช้เอ็นไซม์เป็นตัวเร่ง

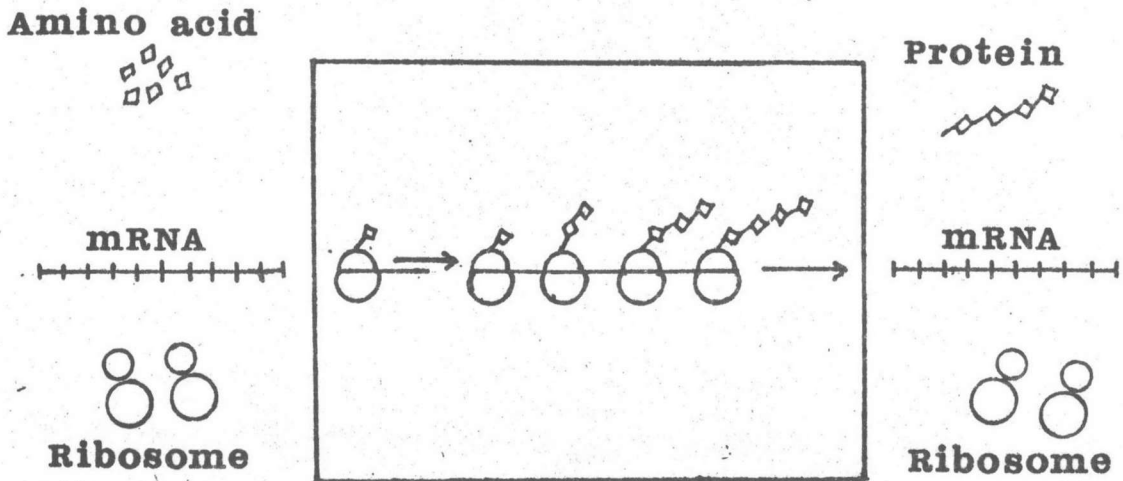
หลังจากนั้น tRNA ที่มีกรดอะมิโนทั้งสองก็จะถูกเคลื่อนย้าย (translocate) จาก A-site ไปอยู่ P-site ไล่ที่ tRNA ที่ไม่มีกรดอะมิโนแล้วตอนนี้ต้องใช้โปรตีนอีกตัวหนึ่งเรียกว่า G factor และ GTP ซึ่งจะถูกสลายให้กลายเป็น GDP+P₂ แล้ว aminoacyl-tRNA ที่จับกับโคดอนชุดที่ ๓ ก็จะมาจับที่ A-site ตามควยการสร้างเปปไทด์บอนด์ และการเคลื่อนย้ายจาก A-site ไปอยู่ P-site อย่างที่ได้อธิบายมาแล้ว กระบวนการดังกล่าวนี้จะเกิดขึ้นซ้ำๆ กันเรื่อยๆ จนได้เปปไทด์ติดกันเป็นเส้นยาวตามต้องการ

๒.๕.๔ การหยุดการสร้างโปรตีน (Termination Step)

เมื่อการแปลรหัสพันธุกรรมดำเนินมาจนพบโคดอนชุดหนึ่งที่เป็นสัญญาณให้หยุด (ได้แก่ UAA, UAG และ UGA) การสังเคราะห์โปรตีนก็จะหยุด เพราะไม่มี tRNA ที่มีแอนติโคดอนที่จะมาจับกับโคดอนเหล่านี้ ไรโบโซมจะหลุดออกมาจาก mRNA ส่วน tRNA ที่มีเส้นเปปไทด์ห้อยอยู่ ก็จะถูกสลายโดยโปรตีนที่เรียกว่า R factor เพื่อปลดปล่อยเส้นเปปไทด์ออกจาก tRNA กรดอะมิโนตัวสุดท้ายของเส้นเปปไทด์ก็จะมี --COOH เป็นอิสระ ต่อจากนั้นเส้นเปปไทด์จะถูกตัดที่ปลาย f-Met ให้ได้ปลายที่มี -NH₂ เป็นอิสระ แล้วจะขดตัวให้โครงโปรตีนทุติยภูมิและตติยภูมิที่เหมาะสมกับหน้าที่ของมัน

สรุปการสร้างโปรตีนนั้น ไรโบโซมจะเคลื่อนที่ไปตาม mRNA เริ่มจากโคดอน AUG ไปตามทิศ 3' และไปหยุดที่ UAA, UAG หรือ UGA ในขณะที่เดียวกันเส้นเปปไทด์จะยาวขึ้นจากปลาย NH₂ ไปยังปลาย COOH ดังนั้น mRNA เส้นยาวอาจจะมีไรโบโซมเรียงกันเป็นชุด หากการสร้างโปรตีนหลายเส้นพร้อมกัน mRNA ที่มีไรโบโซมจับอยู่เป็นชุดนี้เรียกว่า โปลีไรโบโซม (polyribosome) mRNA ที่มีโคดอนเป็นสัญญาณเริ่มต้นเพียงโคดอนเดียว ก็จะสร้างเส้นเปปไทด์ชนิดเดียว จึงเรียกว่ามียีนเดี่ยวหรือเป็นโมโนซิส-

ทรอนิก (monocistronic) ถ้ามีหลายยีนหรือหลายโคดอนเริ่มต้นก็จะสร้างเปปไทด์ได้หลายชนิด mRNA นั้นก็จะเรียกว่า โพลีซิสทรอนิก (polycistronic) แผนภูมิสรุปขบวนการสังเคราะห์โปรตีนแสดงในรูปที่ ๒.๑๓



รูปที่ ๒.๑๓ แผนภูมิสรุปขบวนการสังเคราะห์โปรตีน