

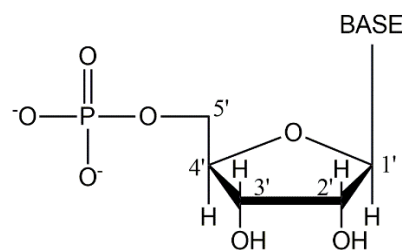
นิวคลีโอไทด์และกรดนิวคลีอิก (Nucleotide and Nucleic Acid)

สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีความหลากหลายและมีรูปร่างที่แตกต่างกันออกไปตั้งแต่สิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่เป็นโพรคาริโอตไปจนถึงยูคาริโอตขนาดใหญ่ที่ประกอบขึ้นจากเซลล์หลายล้านเซลล์ ซึ่งความหลากหลายต่าง ๆ นี้ถูกควบคุมด้วยสารชีวโมเลกุลกลุ่มหนึ่ง คือ กรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ซึ่งมีองค์ประกอบต่าง ๆ โดยพื้นฐานเหมือนกันตั้งแต่โพรคาริโอตจนถึงยูคาริโอต

กรดนิวคลีอิกมีสองชนิด คือ DNA (deoxyribonucleic acid) และ RNA (ribonucleic acid) โดยทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะเป็นพอลิเมอร์ (polymer) ที่เรียกว่า พอลินิวคลีโอไทด์ (polynucleotide) ที่ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อย (monomer) คือ นิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเทอร์ (phosphodiester bond) นอกจากนี้นิวคลีโอไทด์จะเป็นหน่วยย่อยที่สำคัญของกรดนิวคลีอิกแล้ว นิวคลีโอไทด์ยังมีบทบาทเป็นสารตัวกลางต่าง ๆ ในกระบวนการเมแทบอลิซึมและทำหน้าที่เป็นสารพลังงานสูงอีกด้วย ในบทนี้จะกล่าวถึงชีวเคมีของนิวคลีโอไทด์ และลักษณะทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมีของกรดนิวคลีอิก

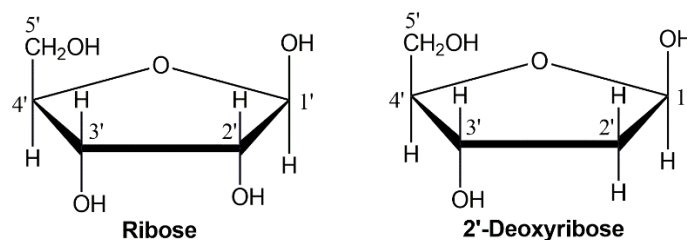
1 นิวคลีโอไทด์และพอลินิวคลีโอไทด์ (Nucleotide and Polynucleotide)

นิวคลีโอไทด์เป็นโมเลกุลที่ประกอบขึ้นจากน้ำตาลที่มีคาร์บอน 5 อะตอม (pentose) เกาะอยู่กับเบสไนโตรเจน (nitrogenous base) ที่เป็น heterocyclic molecule ซึ่งอาจเป็นเบสพิวรีน (purine) หรือเบสไพริมิดีน (pyrimidine) ก็ได้ และเกาะอยู่กับหมู่ฟอสเฟตอย่างน้อย 1 ตำแหน่ง ดังภาพที่ 1



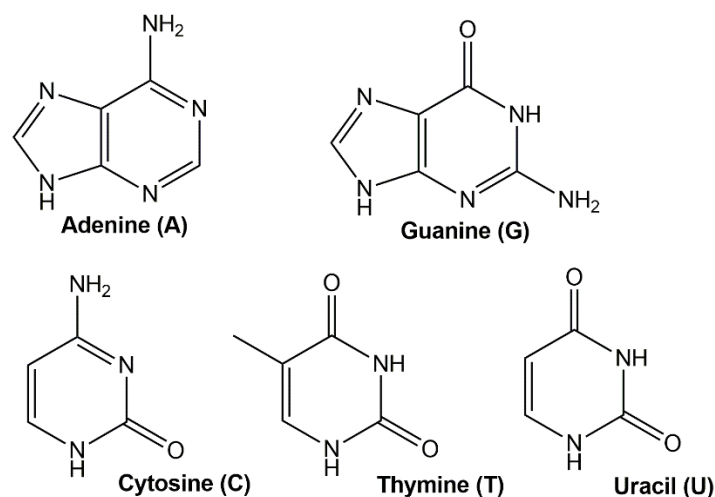
ภาพที่ 1 โครงสร้างทั่วไปของนิวคลีโอไทด์

นิวคลีโอไทด์ของ RNA และ DNA จะแตกต่างกันออกไป โดย RNA ประกอบขึ้นจาก ribonucleotide ที่มี ribose (มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_5H_{10}O_5$) เป็นองค์ประกอบ ขณะที่ DNA จะประกอบขึ้นจาก 2'-deoxyribose (มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_5H_{10}O_4$ โดยคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ไม่มีหมู่ OH) โครงสร้างของ ribose และ 2'-deoxyribose แสดงดัง โดย 2'-deoxyribose มีจำนวนอะตอมของออกซิเจนน้อยกว่า ribose ทำให้มีโอกาสเกิดปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ รวมถึงปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจาก nucleophilic substance ที่อาจเข้ามาทำลายได้น้อยกว่า จึงทำให้ DNA ที่ประกอบขึ้นจาก 2'-deoxyribose มีความเสถียร (stability) สูงกว่า RNA ที่ประกอบขึ้นจาก ribose



ภาพที่ 2 โครงสร้างของ ribose และ 2'-deoxyribose ตามลำดับ

เบสไนโตรเจน (nitrogenous base) หรืออาจเรียกนิวคลีโอเบส (nucleobase) เป็นสารอินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นวงแหวนที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบและมีคุณสมบัติเป็นเบส โดยเบสไนโตรเจนจะจับกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 1' (C1') ของเพนโทส เบสไนโตรเจนแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ พิวรีน (purine) ซึ่งประกอบขึ้นจากวงแหวนสองวง มี 2 ชนิด คือ เบสอะดีนีน (adenine: A) และเบสกวานีน (guanine: G) ส่วนไพริมิดีน (pyrimidine) จะประกอบขึ้นจากวงแหวนวงเดียว มี 3 ชนิด คือ เบสไซโทซีน (cytosine: C) เบสไทมีน (thymine: T พบเฉพาะใน DNA) และเบสยูราซิล (uracil: U พบเฉพาะใน RNA) โครงสร้างของเบสไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 3

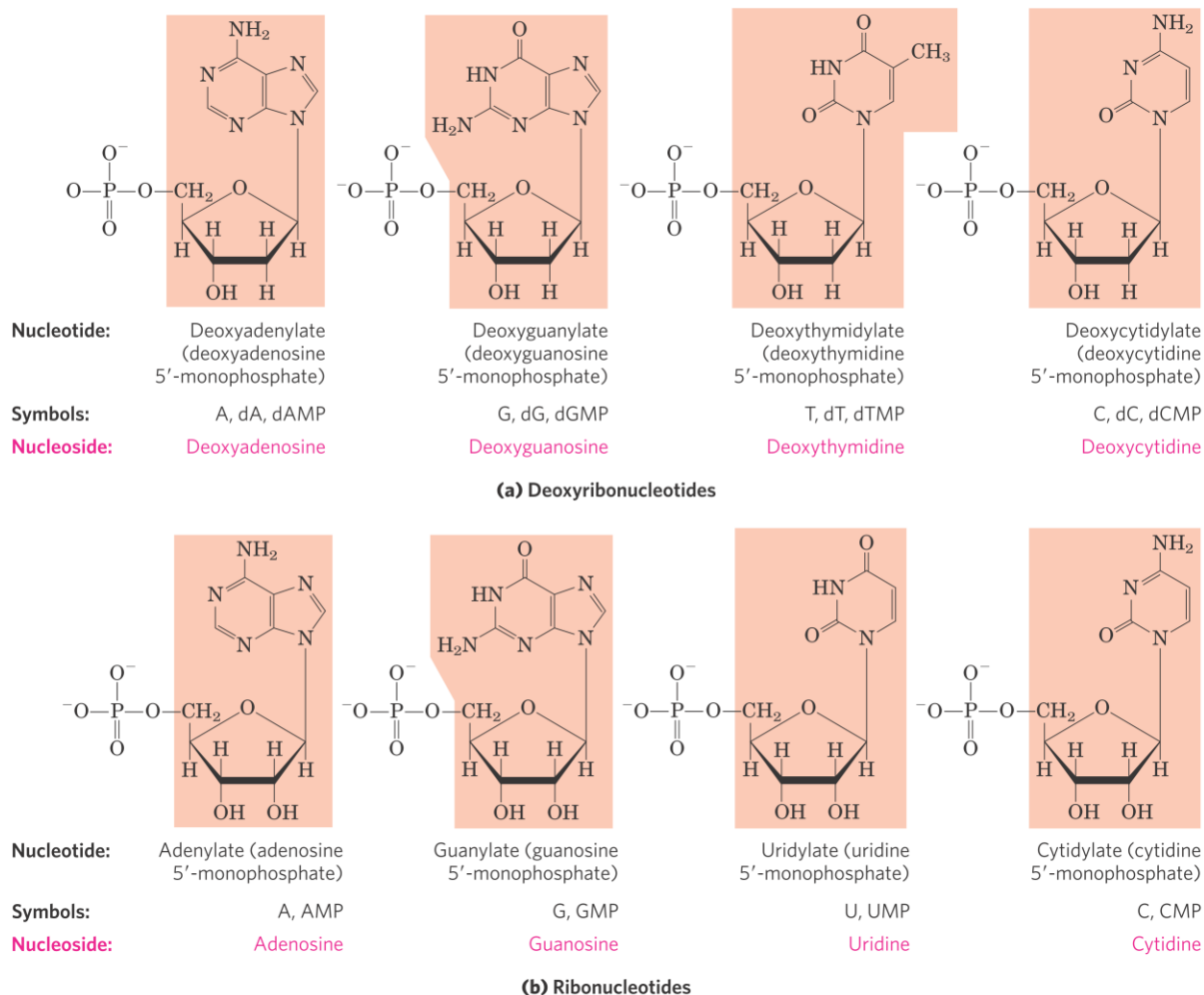


ภาพที่ 3 โครงสร้างของเบสไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ

เพนโทสที่มีเบสไนโตรเจนเกาะอยู่ด้วยกันจะเรียกว่า นิวคลีโอไซด์ (nucleoside) แต่ถ้ามีหมู่ฟอสเฟต (phosphate group) เกาะอย่างน้อย 1 ตำแหน่งจะเรียกว่านิวคลีโอไทด์ (nucleotide) ตามที่ได้อธิบายไปแล้ว ซึ่งการเรียกชื่อนิวคลีโอไซด์และนิวคลีโอไทด์ที่มีเบสไนโตรเจนต่างชนิดกันสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 1 และโครงสร้างของ deoxyribonucleotide และ ribonucleotide ของกรดนิวคลีอิกชนิดต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 4

ตารางที่ 1 การเรียกชื่อนิวคลีโอไซด์ นิวคลีโอไทด์ และกรดนิวคลีอิก

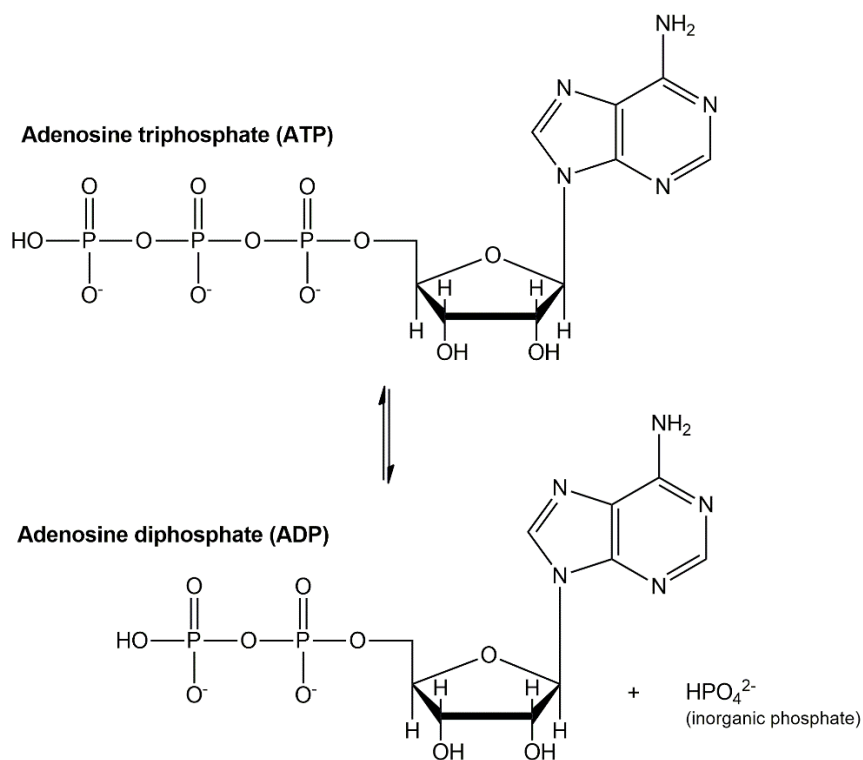
เบสไนโตรเจน	นิวคลีโอไซด์	นิวคลีโอไทด์	กรดนิวคลีอิก
Purines			
อะดีนีน (adenine)	Adenosine	Adenylate	RNA
	Deoxyadenosine	Deoxyadenylate	DNA
กวานีน (guanine)	Guanosine	Guanylate	RNA
	Deoxyguanosine	Deoxyguanylate	DNA
Pyrimidines			
ไซโทซีน (cytosine)	Cytidine	Cytidylate	RNA
	Deoxycytidine	Deoxycytidylate	DNA
ไทมีน (thymine)	Thymidine (Deoxythymidine)	Thymidylate (deoxythymidylate)	DNA
ยูราซิล (uracil)	Uridine	Uridylate	RNA



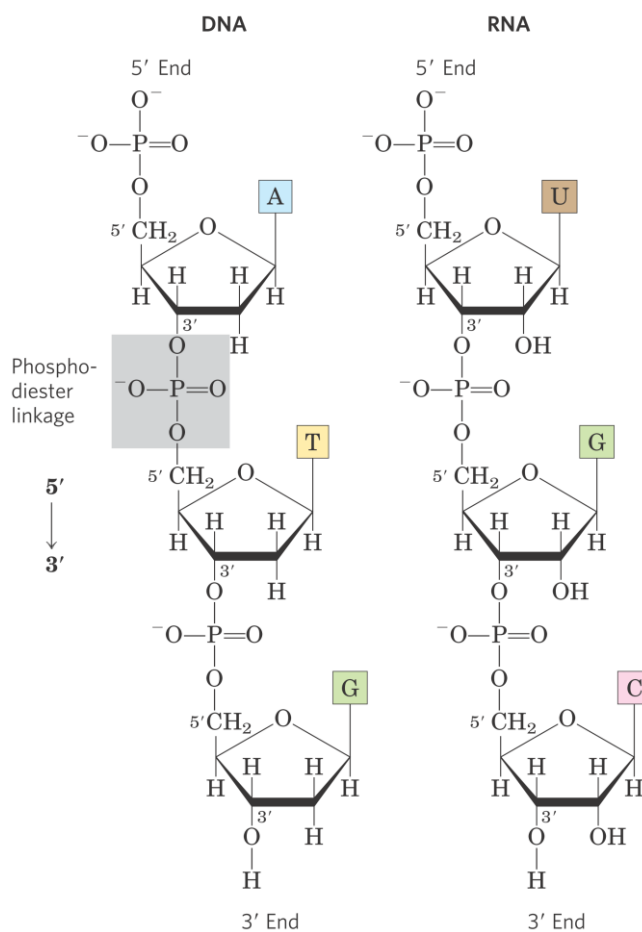
ภาพที่ 4 โครงสร้างของ deoxyribonucleotide และ ribonucleotide ชนิดต่าง ๆ (Nelson and Cox, 2013)

นอกจากนิวคลีโอไทด์ที่ทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิกแล้ว นิวคลีโอไทด์บางชนิดอาจพบอิสระอยู่ภายในเซลล์หรือในบางออร์แกเนลล์ และมีหน้าที่เกี่ยวกับการเมแทบอลิซึมเป็นหลัก เช่น adenosine triphosphate (ATP) ซึ่งเป็น ribonucleotide ที่ประกอบขึ้นจากไรโบส เบสอะดีนีน และหมู่ฟอสเฟต 3 หมู่ โดย ATP ทำหน้าที่เป็นตัวกลางและสารเก็บพลังงานที่สำคัญสำหรับเซลล์ เมื่อ ATP เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis reaction) จะมีการปล่อยหมู่ฟอสเฟตออกมาในรูปของหมู่ฟอสเฟตอินทรีย์ (inorganic phosphate: HPO_4^{2-}) และ adenosine diphosphate (ADP) แสดงดังภาพที่ 5

นิวคลีโอไทด์แต่ละโมเลกุลจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะโคเวเลนต์ที่เรียกว่า phosphodiester bond ซึ่งเกิดจากการเชื่อมกันของ 3'-OH ของนิวคลีโอไทด์โมเลกุลหนึ่งกับ 5'- PO_4^{3-} ของนิวคลีโอไทด์อีกโมเลกุลหนึ่ง และมีการต่อกันเป็นลำดับไปเรื่อย ๆ เกิดเป็นพอลิเมอร์ที่เรียกว่า พอลินิวคลีโอไทด์ (polynucleotide) จากการเชื่อมต่อกันนี้จะทำให้สายพอลินิวคลีโอไทด์ที่เกิดขึ้นมีทิศทาง (polarity) โดยปลายด้านหนึ่งจะเป็นปลายที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 5' (C5') ของน้ำตาลไม่มีการเชื่อมต่อกับนิวคลีโอไทด์ตัวอื่น เรียกปลายด้านนี้ว่าปลายด้าน 5' (5' end) ส่วนอีกด้านหนึ่งของสายพอลินิวคลีโอไทด์จะเป็นปลายด้านที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3' (C3') ของน้ำตาลไม่มีการเชื่อมต่อกับนิวคลีโอไทด์ตัวอื่น เรียกปลายด้านนี้ว่าปลายด้าน 3' (3' end) ดังภาพที่ 6 โดยสายพอลินิวคลีโอไทด์จะมีส่วนที่เป็นแกน (backbone) เป็น residue ของน้ำตาลเรียงสลับกับหมู่ฟอสเฟตด้วยระยะห่างที่สม่ำเสมอ โดยมีการยื่นส่วนของเบสไนโตรเจนจะยื่นออกมา



ภาพที่ 5 การเกิดไฮโดรไลซิสของ ATP



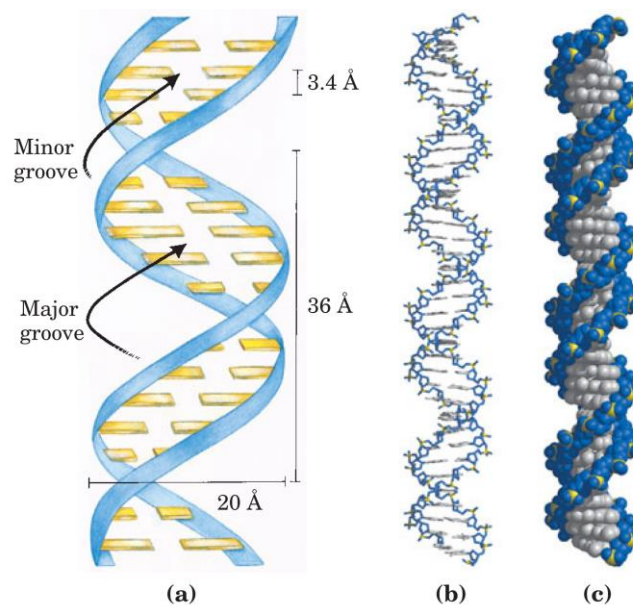
ภาพที่ 6 พอลินิวคลีโอไทด์ของ DNA และ RNA (Nelson and Cox, 2013)

2 กรดนิวคลีอิก (Nucleic Acid)

โครงสร้างของ DNA (DNA Structure)

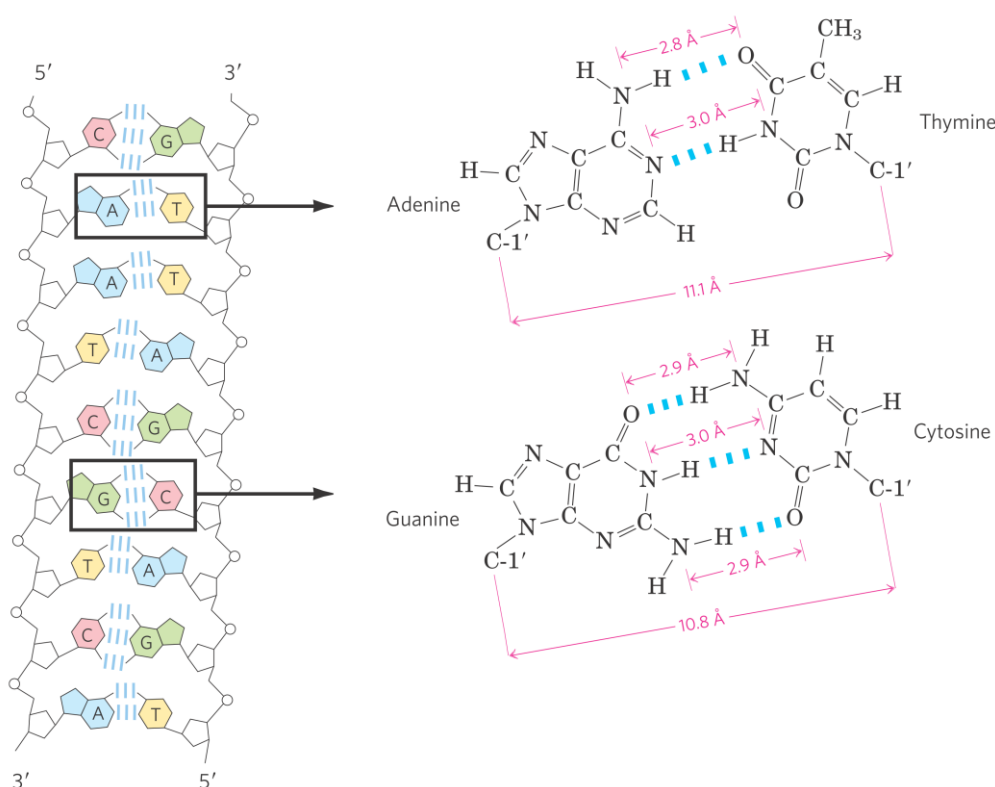
ในปี ค.ศ. 1953 James D. Watson และ Francis Crick ได้เสนอโครงสร้างของ DNA เป็นครั้งแรก โดยอาศัยข้อมูล การศึกษาอัตราส่วนเบสในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ของ Erwin Chargaff ซึ่งพบว่า ปริมาณเบสอะดีนีน (A) ต่อปริมาณเบสไทมีน (T) และปริมาณเบสกวานีน (G) ต่อปริมาณเบสไซโตซีน (C) มีค่าใกล้เคียงหรือเท่ากับ 1 เสมอ ในสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ รวมไปถึง เมื่อพิจารณาสัดส่วนของปริมาณเบสปิวรีน (purine) ต่อปริมาณเบสไพริมิดีน (pyrimidine) มีค่าใกล้เคียงหรือเท่ากับ 1 เช่นกัน จึงทำให้ Chargaff เชื่อว่าใน DNA สายคู่ เบส A น่าจะจับคู่กับเบส T ขณะที่เบส G น่าจะจับคู่กับเบส C และเรียกเบสที่เป็นคู่ กันนี้ว่า เบสคู่สม (complementary base pair) นอกจากนี้ Watson และ Crick ยังได้นำข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางกายภาพ ของผลึก DNA ผ่านการเลี้ยวเบนของรังสีเอ็กซ์ (X-ray diffraction) ของ Rosalind Franklin เมื่อนำข้อมูลทั้งสองส่วนนี้มา ประยุกต์จึงทำให้ Watson และ Crick เสนอโครงสร้างของ DNA ซึ่งมีลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ (ภาพที่ 7)

1. DNA ประกอบขึ้นจากสายพอลินิวคลีโอไทด์ 2 สาย มีการบิดเป็นเกลียวเวียนขวา (right-handed double helix) รอบแกนกลาง โดยสายพอลินิวคลีโอไทด์ทั้ง 2 สายจะมีทิศทางสวนทางกัน (antiparallel) โดยสายหนึ่ง มีทิศทาง 5' → 3' ส่วนอีกสายจะมีทิศทาง 3' → 5'
2. แกนของ DNA (DNA backbone) ประกอบขึ้นจากน้ำตาล-ฟอสเฟต เรียงสลับกันไปเป็นลำดับ ส่วนของเบส ไนโตรเจนจะมีการยื่นเข้าไปจับกันทางด้านในของโมเลกุล (คล้ายกับส่วนที่เป็นชั้นบันไดในโมเลกุล)
3. เส้นผ่านศูนย์กลางของเกลียว DNA อยู่ที่ประมาณ 20 Å มีระยะห่างระหว่างเบสคู่สมอยู่ที่ 3.4 Å หนึ่งเกลียว ของ DNA ประกอบขึ้นจาก 10.4 คู่เบสต่อเกลียวของ DNA
4. แต่ละเกลียวประกอบด้วยร่องที่มีขนาดแตกต่างกัน คือ ร่องขนาดเล็ก (minor groove) และร่องขนาดใหญ่ (major groove) ซึ่งร่องขนาดใหญ่มีความสำคัญในการเป็นบริเวณให้กับโปรตีนและเอนไซม์ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง กับการควบคุมการแสดงออกของยีนเข้ามาจับที่บริเวณนี้ได้



ภาพที่ 7 โครงสร้างของ DNA (Nelson and Cox, 2008)

การจับกันของเบสคู่สม (complementary base pair) จะเกิดขึ้นด้านในของโมเลกุลของ DNA โดยเบสพิวรีนจะเข้ามาจับกับเบสไพริมิดีนด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ที่มีจำนวนต่างกันออกไป สาเหตุที่เป็นการจับกันระหว่างชนิดของเบส (ระหว่างเบสพิวรีนและไพริมิดีน) ทำให้ระยะห่างระหว่างสายพอลินิวคลีโอไทด์ของ DNA คงที่และสม่ำเสมอ โดยเบสอะดีนีน (A) จะจับเบสไทมีน (T) ด้วย 2 พันธะไฮโดรเจน ส่วนเบสกวานีน (G) จะจับกับเบสไซโทซีน (C) ด้วย 3 พันธะไฮโดรเจน ดังนั้นสัดส่วนของเบส GC ที่พบในโมเลกุลของ DNA จึงส่งผลต่อความแข็งแรงและจุดหลอมเหลวของ DNA แต่ละโมเลกุลได้ การจับกันของเบสในโมเลกุลนี้จัดเป็น hydrophobic interaction ที่นำส่วนที่ไม่มีขั้วเข้ามาไว้ด้านในและหันด้านที่มีขั้ว (แกนของ DNA) สัมผัสกับสิ่งแวดล้อมภายนอก นอกจากนี้การที่คู่เบสมีการเรียงซ้อนต่อกันเป็นชั้น ๆ ยังส่งผลต่อความแข็งแรงของ DNA ด้วย เนื่องจากแต่ละคู่เบสจะมีแรงแวนเดอร์วาลส์ (van der Waals interaction) เกิดขึ้น เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า base stacking ถึงแม้ว่าแรงแวนเดอร์วาลส์จะมีปริมาณน้อย แต่เนื่องจาก DNA เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ ดังนั้นเมื่อรวมแรงแวนเดอร์วาลส์ที่เกิดขึ้นทั้งหมดในโมเลกุลจึงมีผลค่อนข้างสูงต่อความเสถียรของโครงสร้าง DNA ได้



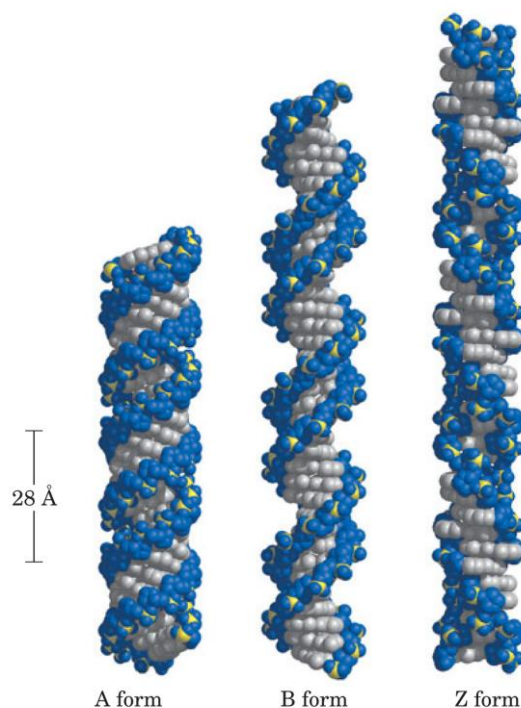
ภาพที่ 8 การจับกันของเบสคู่สมในโมเลกุลของ DNA (Nelson and Cox, 2013)

โครงสร้างของ DNA ที่ Watson และ Crick เสนอมา เรียกว่าเป็น B-DNA แต่ปัจจุบันมีการค้นพบโครงสร้างของ DNA ที่อยู่ในสภาพแวดล้อมทางกายภาพที่แตกต่างกันที่มีรูปร่างแตกต่างออกไปจาก B-DNA เช่น A-DNA จะพบเมื่อมี DNA อยู่ในสภาวะที่มีน้ำน้อยกว่าปกติ (less hydrated) มีลักษณะเป็นเกลียวเวียนขวาเช่นเดียวกับ B-DNA แต่มีความกว้างมากกว่าและมีลักษณะสั้นกว่า B-DNA ระบายของเบสที่จับกันจะมีลักษณะเอียง เทียบกับ B-DNA ที่มีลักษณะตั้งฉากกับแกนของ DNA นอกจากนี้ยังมีการพบโครงสร้างของ Z-DNA ซึ่งมีลักษณะเป็นเกลียวเวียนซ้าย (left-handed double helix) และหมู่ฟอสเฟตบนโมเลกุลของ DNA มีลักษณะ “zigzag” จึงเป็นที่มาของชื่อ Z-DNA ความแตกต่างของ DNA แบบต่าง ๆ สามารถสรุปได้ดังภาพที่ 9 และแสดงดังภาพที่ 10

	Helix type		
	A	B	Z
Shape	Broadest	Intermediate	Narrowest
Rise per base pair	2.3 Å	3.4 Å	3.8 Å
Helix diameter	~26 Å	~20 Å	~18 Å
Screw sense	Right-handed	Right-handed	Left-handed
Glycosidic bond*	<i>anti</i>	<i>anti</i>	Alternating <i>anti</i> and <i>syn</i>
Base pairs per turn of helix	11	10.4	12
Pitch per turn of helix	25.3 Å	35.4 Å	45.6 Å
Tilt of base pairs from perpendicular to helix axis	19 degrees	1 degree	9 degrees

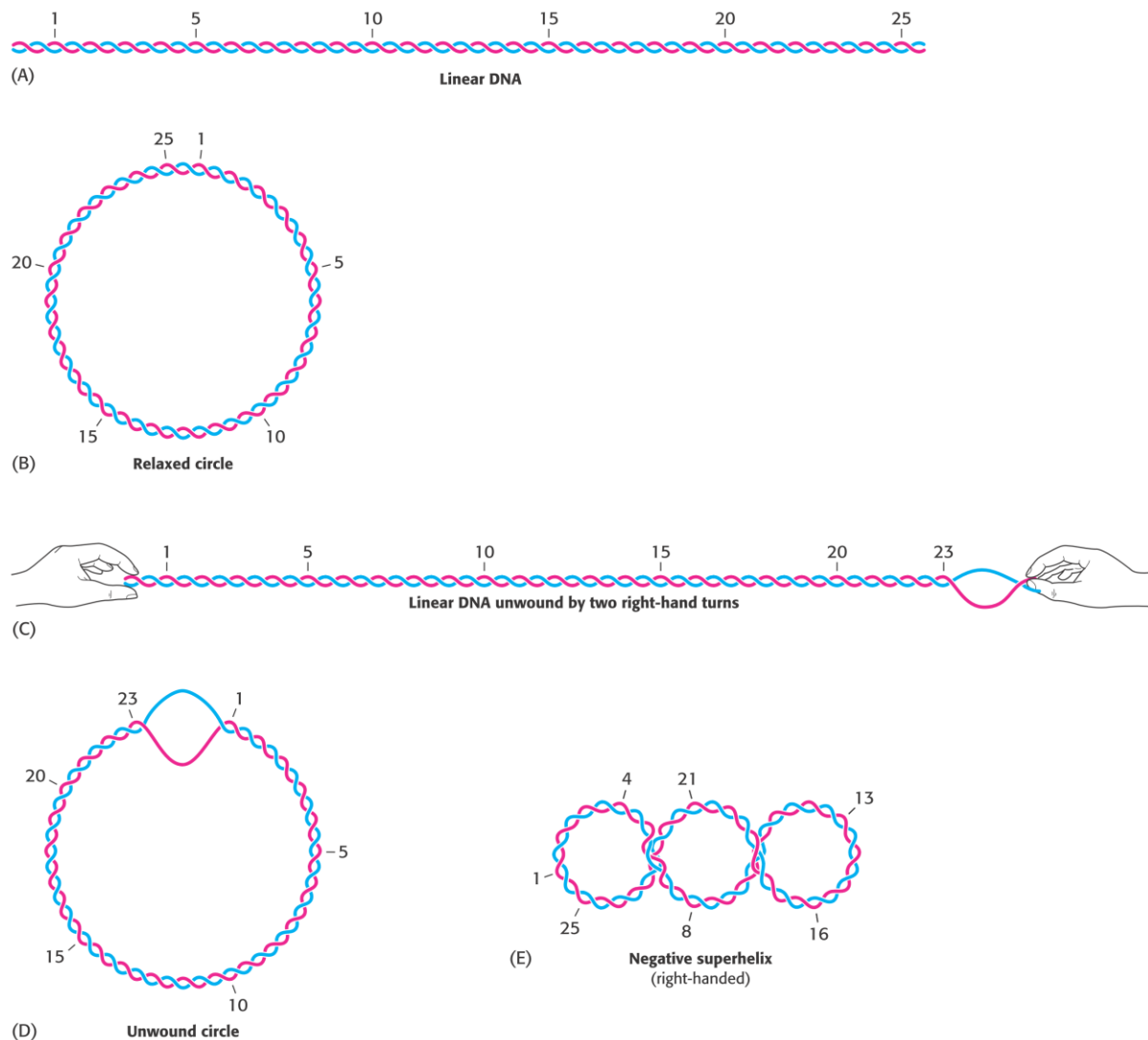
**Syn* and *anti* refer to the orientation of the *N*-glycosidic bond between the base and deoxyribose. In the *syn* orientation, the base is above the deoxyribose. Pyrimidines can be in *anti* orientations only, whereas purines can be *anti* or *syn*.

ภาพที่ 9 ความแตกต่างของ A-DNA, B-DNA และ Z-DNA (Tymoczko et al, 2015)



ภาพที่ 10 โครงสร้างของ A-DNA, B-DNA และ Z-DNA (Nelson and Cox, 2013)

DNA ของโพรคาริโอต เช่น *E. coli* อาจมีขนาดใหญ่กว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดถึง 1000 เท่า ดังนั้นการที่โมเลกุลของ DNA จะสามารถบรรจุเข้าไปในเซลล์ได้จำเป็นต้องมีโครงสร้างที่ซับซ้อน ซึ่งในกรณีของโพรคาริโอตจะมีการเกิดเป็น superhelix ผ่านกระบวนการที่เรียกว่า supercoiling ขึ้นได้ ตัวอย่างเช่น ถ้า DNA มีจำนวน 260-bp (base pair) จะมีจำนวนเกลียวทั้งหมด 25 เกลียว (260/10.4 เกลียว) ซึ่งเมื่อนำปลายสองปลายมาเชื่อมต่อกันจะเกิดเป็น relaxed circular DNA ได้ แต่แบคทีเรียสามารถทำให้เกิด supercoiling โดยการคลายเกลียว 2 เกลียวที่ปลายด้านหนึ่งแล้วนำมาเชื่อมกันเป็น unwound circular DNA และอาจเกิด superhelix เวกวนขวา 2 รอบได้ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า circular DNA ใน unwound state และ supercoiled state มีลักษณะเป็น topological isomer หรือ topoisomer กันได้ ดัง DNA ส่วนใหญ่มักมีการเกิด negative supercoil และอาจพบได้ในยูคาริโอตบางเซลล์

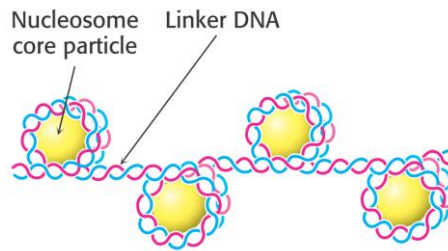


ภาพที่ 11 การเกิด supercoiling ใน DNA (Tymoczko et al, 2015)

DNA และโครโมโซม (DNA and Chromosome)

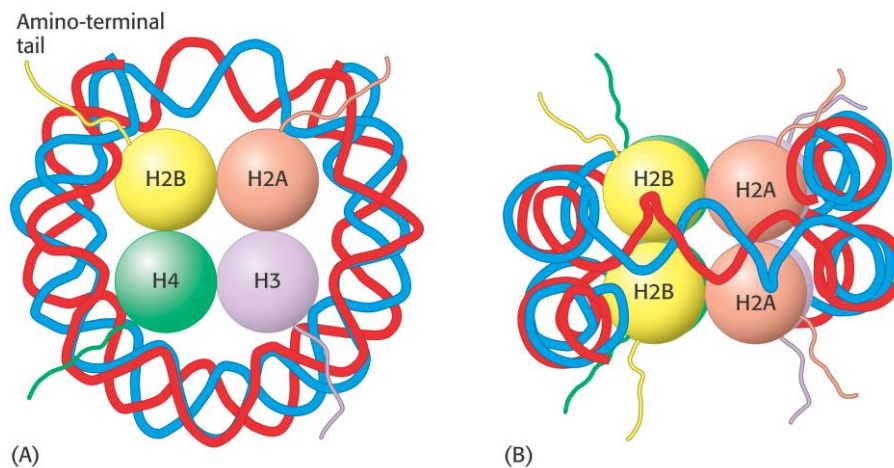
DNA ในยูคาริโอตมีขนาดใหญ่กว่า DNA ของโพรคาริโอตมาก เช่น DNA ของมนุษย์มีความยาวถึง 3.6 เมตรในแต่ละเซลล์มนุษย์ ซึ่งต้องบรรจุ DNA ทั้งหมด 46 ชุดเข้าไปในนิวเคลียสที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 μm ดังนั้นเซลล์จึงต้องมีกลไกอื่นที่นอกเหนือจากการเกิด supercoiling เพื่อให้สามารถบรรจุ DNA เข้าไปในนิวเคลียสได้ อย่างไรก็ตามการขดของ DNA เข้าใกล้กันเกินไปอาจทำให้เกิดการรบกวนของประจุลบบนแกนของ DNA จาก residue ของหมู่ฟอสเฟตได้ ดังนั้นในยูคาริโอตจึงมีวิวัฒนาการของโปรตีนกลุ่มหนึ่งคือ ฮิสโตน (histone) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็นเบสขนาดเล็ก (มีประจุที่ residue ของกรดอะมิโนส่วนใหญ่เป็นบวก พบ residue ของอาร์จินีนและไลซีนเป็นหลัก) เพื่อช่วยในการขดกันของ DNA ได้ โครงสร้าง DNA และฮิสโตนนี้เรียกรวมกันว่า โครมาติน (chromatin)

ฮิสโตนที่พบในโครมาตินมี 5 ชนิด คือ H2A, H2B, H3, H4 และ H1 โดย 4 ชนิดแรก (H2A, H2B, H3 และ H4) จะอยู่ด้วยกันอย่างละ 2 ชุดเกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกว่า histone octamer และมี DNA พันอยู่รอบความยาวประมาณ 200 bp และเรียงต่อกันไปเรื่อย ๆ เรียกแต่ละหน่วยของ histone octamer และ DNA ที่พันรอบนี้ว่า นิวคลีโอโซม (nucleosome) คล้ายกับลูกปัดที่ร้อยอยู่บนด้ายเมื่อสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (beads on a string) ส่วน H1 จะเกาะอยู่กับ DNA ที่เป็น linker DNA ทางด้านนอกของ nucleosome ดังภาพที่ 12



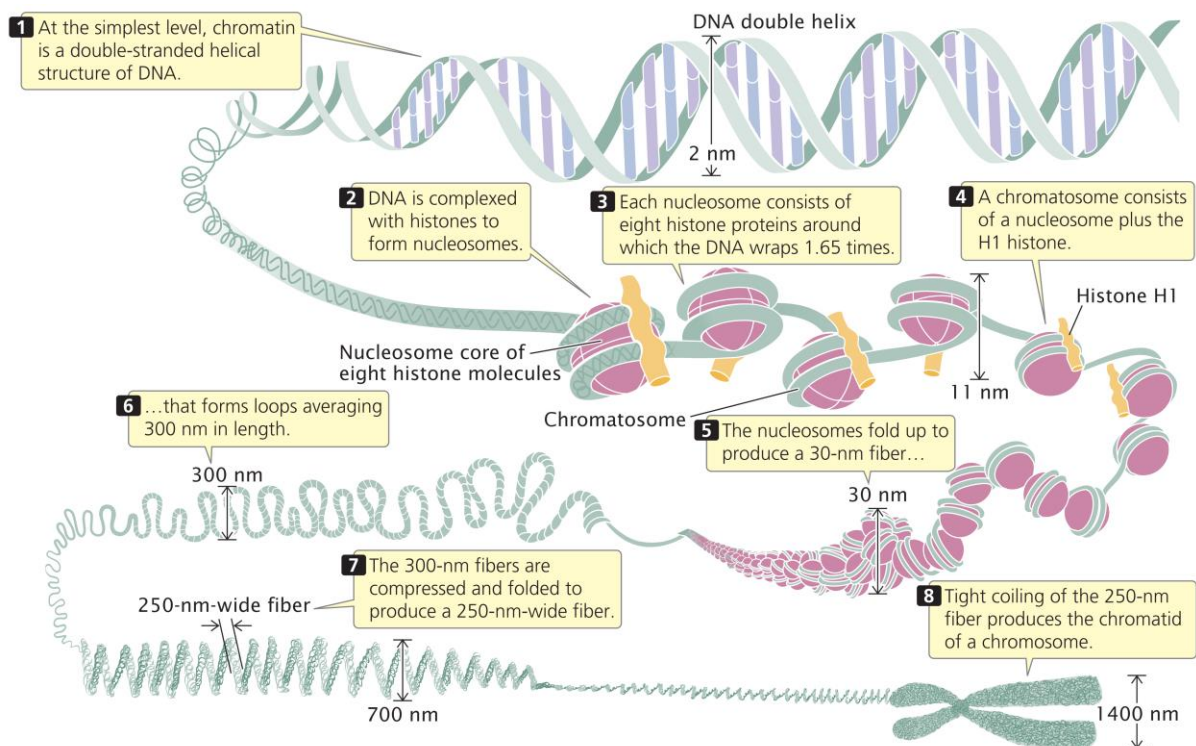
ภาพที่ 12 โครงสร้างของ linked core particle (Tymoczko et al, 2015)

ฮิสโตนที่พบในแต่ละนิวคลีโอโซมจะมีการจัดเรียงโดยเรียงเป็น (H3)2(H4)2 tetramer และคู่ของ H2A-H2B dimer โดยฮิสโตนทั้ง 8 ตัวจะสร้าง complex กับ DNA ที่พันอยู่โดยรอบ และแต่ละฮิสโตนจะมี amino-terminal tail ยื่นออกจากโครงสร้างแกนกลาง ดังภาพที่ 13 โดย amino-terminal tail จะมี lysine และ arginine residue จำนวนมาก การเกิด covalent modification ที่หางของฮิสโตนเหล่านี้มีความสำคัญในการควบคุมการถอดรหัส (transcriptional control) ได้



ภาพที่ 13 โครงสร้างของ nucleosome core particle (Tymoczko et al, 2015)

ในการขดตัวของโครมาตินระดับที่สูงขึ้น พบว่าโครมาตินสามารถเกิด supercoiling ให้เป็น superhelix ที่มีการเวียนซ้าย (left-handed helix) ได้ โดย protein core จะมีการสัมผัสกับพื้นผิวด้านในของ superhelix ได้หลายตำแหน่ง โดยเฉพาะบริเวณแกนที่เป็น phosphodiester bond และ minor groove ของ DNA โดยมีฮิสโตนชนิด H1 ซึ่งมีโครงสร้างแตกต่างจากฮิสโตนชนิดอื่นช่วยในการกั้นนิวคลีโอโซมเอาไว้ให้เป็นระเบียบได้ เกลียวเวียนซ้ายที่เกิดขึ้นนี้จัดเป็นโครงสร้างในระดับที่เรียกว่า เส้นใย 30 นาโนเมตร (30 nm fiber) ทำให้ความยาวของ DNA ลดลงเป็น 100 เท่าได้ สำหรับการขดตัวของโครมาตินในระดับที่สูงขึ้นจะอาศัยโปรตีนที่เป็น scaffolding protein ในนิวเคลียสช่วย ทำให้เกิดเป็นโครมาตินที่มีลักษณะเป็นห่วง (loop) ที่มีความยาวประมาณ 300 nm เรียกว่า เส้นใย 300 นาโนเมตร (300 nm fiber) และกลายเป็นเส้นใย 250 นาโนเมตร (250 nm fiber) เมื่อขดแน่นเข้าในที่สุดจะกลายเป็นโครโมโซมที่พบในการแบ่งเซลล์ระยะเมทาเฟส (metaphase) ซึ่งมีการขดตัวแน่นที่สุดที่มีความกว้างเพียง 700 nm ดังภาพที่ 14



ภาพที่ 14 การขดตัวและการจัดลำดับชั้นของโครมาติน (Pierce, 2012)

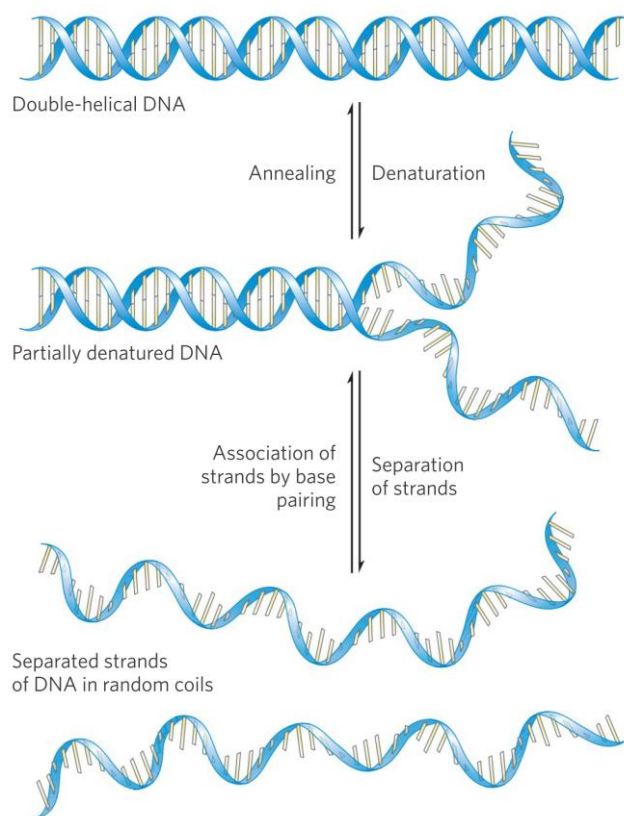
คุณสมบัติทางเคมีของ DNA (DNA Chemistry)

DNA ทำหน้าที่เป็นสารที่เก็บข้อมูลทางพันธุกรรมในนิวเคลียส และมีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ต่ำ ซึ่งมีผลต่อการเก็บข้อมูลต่าง ๆ เพื่อไม่ให้เกิดความผิดปกติของข้อมูลขึ้น อย่างไรก็ตามการเกิดปฏิกิริยาเคมีที่ DNA ก็มีความจำเป็นต่อขั้นตอนการจำลอง DNA (DNA replication) และการถอดรหัส (transcription) ได้

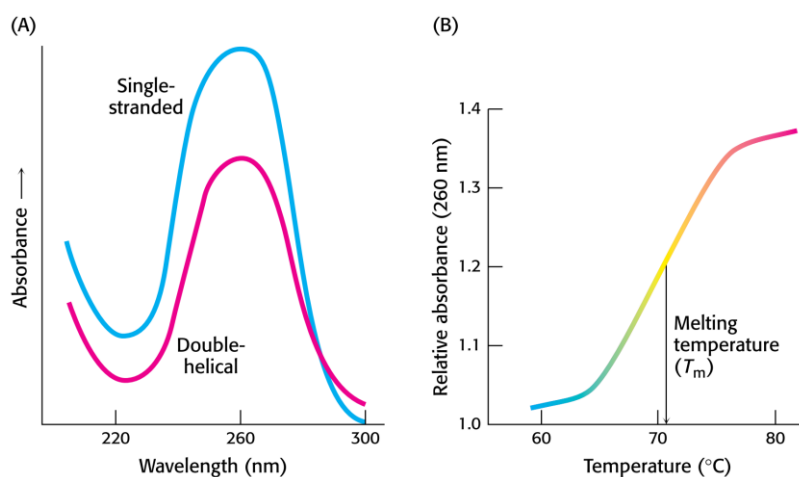
DNA มีความหนืด (viscosity) ค่อนข้างสูงเมื่ออยู่ในสารละลายที่มี pH 7.0 และอุณหภูมิ 25 °C แต่เมื่อ DNA อยู่ในสารละลายที่มีค่า pH รุนแรงหรือมีอุณหภูมิสูงกว่า 80 °C จะทำให้ความหนืดของ DNA ลดลงอย่างมากจากการที่ DNA มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายภาพ โดยค่า pH และอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปนี้ส่งผลให้เกิดการเสียสภาพของ DNA (DNA denaturation) ขึ้นจากการทำลายพันธะไฮโดรเจนระหว่างเบสคู่สมและแรงที่เกิดขึ้นระหว่าง base stacking ส่งผลให้ DNA ที่เป็นสายคู่ (double-stranded DNA) แยกออกกลายเป็น DNA สายเดี่ยว (single-stranded DNA) 2 สาย หรืออาจมีการแยกออกบางส่วน (partial denaturation) ก็ได้ ดังภาพที่ 15 แต่เมื่อค่า pH และอุณหภูมิของ DNA กลับมาสู่ภาวะที่เหมาะสมและส่วนของนิวคลีโอไทด์ยังไม่หลุดแยกจากกันก็จะสามารถเกิดการคืนสภาพธรรมชาติของ DNA (DNA renaturation) ได้ เรียกการกลับมาจับกันใหม่ของ DNA นี้ว่า DNA reannealing แต่ถ้า DNA มีการเสียสภาพจนเป็นสายเดี่ยวทั้งสองสายการคืนสภาพของ DNA จะเกิดขึ้นเป็น 2 ช่วง โดยช่วงแรก DNA แต่ละสายจะเข้ามาจับกันจากการชนกันแบบสุ่ม เมื่อเจอเบสคู่สมก็จะเริ่มมีการจับกันบางส่วนของ DNA แล้วหลังจากนั้นจึงเข้าสู่ช่วงที่สองที่ DNA เข้ามาจับกับต่อเนื่องโดยสมบูรณ์ (zippering)

ในภาวะปกติเมื่อ DNA อยู่ในสภาพที่เป็นสายคู่จะมีการดูดกลืน UV (UV absorption) ได้ลดลงเทียบกับ DNA ที่อยู่แยกกันอย่างอิสระ เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า hypochromic effect ดังนั้นเมื่อ DNA มีการเสียสภาพธรรมชาติไปจะทำให้มีการดูดกลืน UV ได้เพิ่มขึ้น เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า hyperchromic effect ดังนั้นการเสียสภาพของ DNA สามารถวัดได้จากความสามารถในการดูดกลืนแสง UV ของ DNA ที่ความยาวคลื่น 260 nm ดังภาพที่ 16

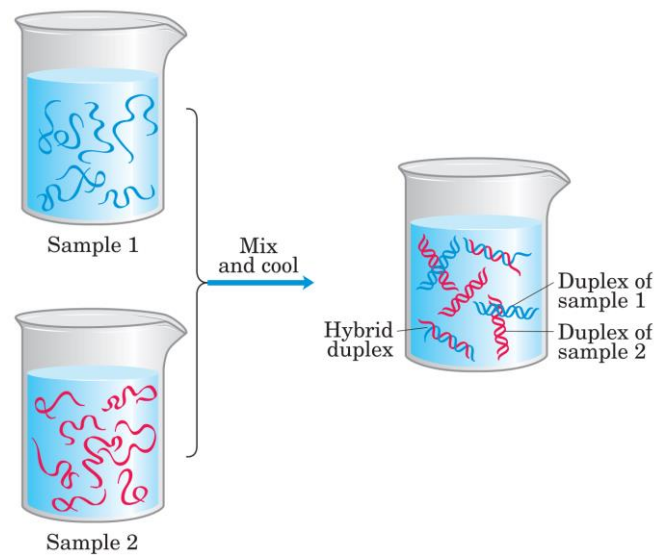
DNA แต่ละโมเลกุลจะสูญเสียสภาพธรรมชาติที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้น DNA แต่ละโมเลกุลที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ต่างกันจะมีค่า denaturing temperature หรือ melting temperature (T_m) ดังภาพที่ 16 ที่แตกต่างกันออกไป โดยถ้า DNA มีคู่เบสของ GC สูงจะทำให้มีค่า T_m สูงด้วย เนื่องจากจำนวนของพันธะไฮโดรเจนสูงเทียบกับ DNA ที่มีคู่เบส AT จำนวนมาก ทำให้ต้องใช้ความร้อนสูงกว่าในการทำให้ DNA มีการเสียสภาพขึ้นได้ ในห้องปฏิบัติการสามารถนำชิ้นส่วนของ DNA ที่แตกต่างกัน หรือชิ้นส่วนของ DNA กับ RNA ที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมเข้ามาจับคู่กันได้ผ่านกระบวนการที่เรียกว่า hybridization () โดยการเกิด hybridization นี้จะขึ้นกับอุณหภูมิ ความยาว และความเข้มข้นของชิ้นส่วน DNA และ/หรือ RNA ที่นำเข้ามาจับกัน สิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดกันจะมี DNA hybrid เกิดขึ้นจากขั้นตอนการ hybridization มากกว่า สิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการน้อยกว่า



ภาพที่ 15 การเสียสภาพธรรมชาติของ DNA (Nelson and Cox, 2013)



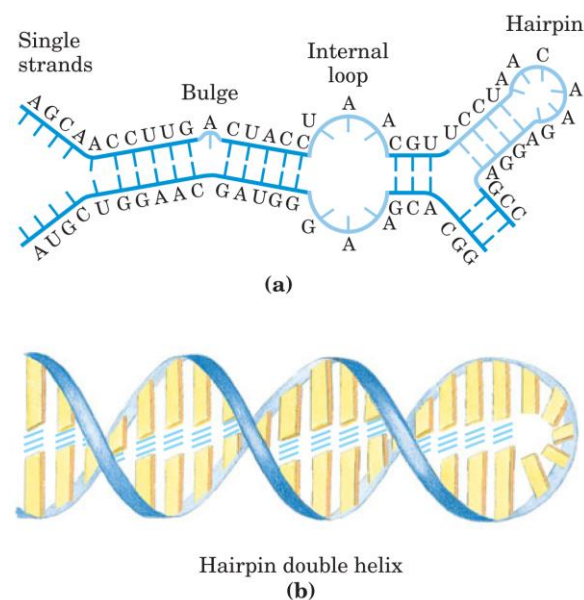
ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงของ UV absorption และค่า melting temperature (T_m) ของ DNA (Berg et al, 2015)



ภาพที่ 17 การเกิด DNA hybridization (Nelson and Cox, 2015)

โครงสร้างของ RNA (RNA Structure)

RNA ส่วนใหญ่ที่พบในธรรมชาติมักมีลักษณะเป็นสายเดี่ยว (single-stranded RNA) แต่โมเลกุลของ RNA ส่วนใหญ่จะเกิด intramolecular interaction ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นสามมิติได้ โดยเบสอะดีนีน (A) จะจับกับเบสยูราซิล (U) และเบสกวานีน (G) กับเบสไซโทซีน (C) ได้ ดังนั้นถ้า RNA มีลำดับที่เป็น mirror repeat (ภาพที่สะท้อนกระจกกัน) อาจทำให้เกิดเป็นโครงรูปสามมิติที่เรียกว่า stem-loop structure ได้ ซึ่งจัดเป็นโครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ของ RNA ได้ (ภาพที่ 18) ซึ่งโครงสร้าง stem-loop structure ของ RNA นี้มีส่วนช่วยให้โมเลกุลของ RNA มีความเสถียรเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกับ DNA



ภาพที่ 18 โครงสร้างทุติยภูมิ (secondary structure) ของ RNA (Nelson and Cox, 2013)