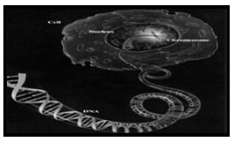
การจัดจำแนกจุลินทรีย์



อาจารย์ ดร. หัสลินดา บินมะแอ
หลักสูตรจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

ลักษณะที่สำคัญของจุลินทรีย์

ลักษณะที่สำคัญของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษาเพื่อจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ ได้แก่ ลักษณะดังต่อไปนี้

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morfological characteristics)

- โดยดูจากขนาด รูปร่าง โครงสร้างของเชื้อจุลินทรีย์ ทำการศึกษาจากเชื้อบริสุทธ์
- เนื่องจากแต่ละเซลล์มีขนาดเล็กมากมีหน่วยเป็นไมโครเมตร การศึกษาต้องใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยายประมาณ 1,000 เท่า
- นอกจากนี้ยังใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่ให้รายละเอียดมากขึ้น และยังใช้เทคนิคอื่นๆเพื่อตรวจสอบจุลินทรีย์
- รูปร่างลักษณะของเซลล์ไม่ได้บอกถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการมากนัก แต่อาจใช้ในการตรวจสอบชนิด (identify) แบคทีเรียได้ เช่น โครงสร้างของเอนโดสปอร์ หรือแฟลกเจลลา

2. องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ (Chemical composition)

- เซลล์ของจุลินทรีย์จะประกอบด้วยสารอินทรีย์แตกต่างกันมากมาย
- เช่น มีลิโพพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผนังเซลล์เป็นลักษณะแบคทีเรียแกรมลบ แต่แบคทีเรียแกรมบวกไม่มี
- หรือแบคทีเรียแกรมบวกมีสารกรดไทโคอิก (teichoic acid) ที่ผนังเซลล์ ซึ่งแบคทีเรียแกรมลบไม่มี
- ผนังเซลล์ของราและสาหร่ายก็มีองค์ประกอบที่แตกต่างจากของแบคทีเรีย
- หรือความแตกต่างของไวรัสแต่ละชนิดอยู่ที่ชนิดของกรดนิวคลีอิกว่าเป็น RNA หรือ DNA

3. ลักษณะของการเลี้ยงเชื้อ (Cultural characteristics)

- จุลินทรีย์แต่ละชนิดต้องการสารอาหารแตกต่างกัน
- บางชนิดเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการได้
- บางชนิดเลี้ยงในอาหารที่มีแต่สารอินทรีย์
- บางชนิดต้องการสารอินทรีย์หลายชนิด (เช่น กรดอะมิโน น้ำตาล พิริมิดีน วิตามิน โคเอนไซม์)
- บางชนิดต้องการซีรัมเซลล์เม็ดเลือด เพปโทน สารสกัดจากยีสต์
- บางชนิดไม่สามารถเลี้ยงในอาหารในห้องปฏิบัติการ ต้องเลี้ยงในโฮสต์ที่มีชีวิต หรือเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น เช่น ริกเกตเซียต้องเลี้ยงในไข่ไก่ฟัก เป็นต้น
- นอกจากสารอาหารแล้ว ยังต้องการสภาพแวดล้อมในการเจริญ
- บางชนิดชอบเจริญที่อุณหภูมิสูง และไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส

3. ลักษณะของการเลี้ยงเชื้อ (Cultural characteristics)

- บางชนิดชอบความเย็น ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 องศาเซลเซียส
- บางชนิดทำให้เกิดโรคกับคน ต้องการอุณหภูมิใกล้เคียงกับคนคือประมาณ 37 องศาเซลเซียส
- ก๊าซก็มีความจำเป็น
  - บางชนิดต้องการออกซิเจน
  - บางชนิดจะตายถ้ามีออกซิเจน
- แสงสว่างจำเป็นต่อไซแอโนแบคทีเรีย เพราะเป็นแหล่งพลังงาน เป็นต้น
- จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีลักษณะการเจริญที่แตกต่างกัน เช่น เลี้ยงในอาหารเหลวจะมีการกระจายมาก หรือตกตะกอนที่ก้นหลอด หรือฟิล์มบางๆที่ผิวหน้าอาหาร ในอาหารแข็งจะเจริญเป็นโคโลนีที่มองด้วยตาเปล่าได้ โคโลนีมีขนาด รูปร่าง ลักษณะ เนื้อ ความหนืด สี และลักษณะอื่นๆแตกต่างกัน

4. ลักษณะทางเมแทบอลิซึม (Metebolic characteristics)

- กระบวนการดำรงชีวิตของเซลล์เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีที่ เรียกว่า เมแทบอลิซึม ปฏิกิริยานี้จะแตกต่างตามชนิดของจุลินทรีย์
- เช่น
  - จุลินทรีย์บางชนิดได้พลังงานจากแสง
  - บางชนิดได้พลังงานจากการออกซิเดชันสารอินทรีย์
  - หรืออนินทรียสาร
- จุลินทรีย์ยังแตกต่างกันที่วิถี (parthway) ของการสังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ ซึ่งปฏิกิริยาเคมีเกิดจากการทำงานของเอนไซม์

5. ลักษณะทางแอนติเจน (Antigenic characteristics)

- องค์ประกอบของเซลล์เป็นแอนติเจน
- ซึ่งเมื่อเข้าเซลล์สัตว์อื่นจะกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีที่เป็นชีรัมโปรตีนไปจับกับแอนติเจนนั้น
- แอนติบอดีมีความจำเพาะกับแอนติเจนที่กระตุ้นมัน และแอนติเจนมีความแตกต่างกันมากมาย
- ดังนั้นแอนติบอดีที่สร้างขึ้น จึงใช้ช่วยในการจำแนกชนิดของจุลินทรีย์ได้

6. ความสามารถในการทำให้เกิดโรค (Pathogenicity)

- ถึงแม้จะมีจุลินทรีย์จำนวนไม่มากนักที่ทำให้เกิดโรค
- จุลินทรีย์บางชนิดทำให้เกิดโรคกับสัตว์ พืช หรือจุลินทรีย์อื่นๆ
- เช่น
  - Bdellovibrio เป็นตัวห้ำ (predator)
  - แบคทีเรียอื่นๆ
  - หรือแบคทีริโอเฟจ เป็นไวรัสที่เข้าทำลายแบคทีเรีย

7. ลักษณะทางนิเวศวิทยา (Ecological characteristics)

- ถิ่นที่อยู่ (habbitat) ของจุลินทรีย์ มีความสำคัญ
- ในการบอกลักษณะของจุลินทรีย์นั้นๆ
- เช่น จุลินทรีย์ที่อยู่ในทะเล จะแตกต่างจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำจืด
- หรือจุลินทรีย์ที่อยู่ในช่องปาก จะแตกต่างจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้
- จุลินทรีย์บางชนิดสามารถอยู่อย่างกระจายทั่วไปในธรรมชาติ
- แต่บางชนิดจะจำกัดที่อยู่ในบางบริเวณเท่านั้น

8. ลักษณะทางพันธุกรรม (Genetic characteristics)

สารพันธุกรรมเป็น DNA 2 สาย มีลักษณะคงที่ และช่วยในการจัดหมวดหมู่ชนิด
ของจุลินทรีย์โดยศึกษาจาก

8.1 องค์ประกอบของเบสของ DNA

DNA ประกอบด้วยคู่ของเบส คือ กวานีน (G) คู่กับไซโทซีน (C) และอะดีนีน (A) คู่กับไทมีน (T) จำนวนของนิวคลีโอไทด์เบสใน DNA คิดเป็นเปอร์เซ็นของกวานีนกับไซโทซีนรวมกันเรียกว่า โมล % G+C (mole % G+C) ค่านี้จะแตกต่างไปตามชนิดของจุลินทรีย์ตั้งแต่ 23 ถึง 75

8. ลักษณะทางพันธุกรรม (Genetic characteristics)

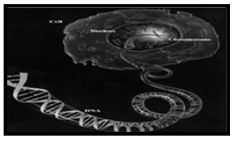
8.2 ลำดับของนิวคลีโอไทด์เบสใน DNA

ลำดับของนิวคลีโอไทด์เบสใน DNA นี้จะจำเพาะกับชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นหลักที่สำคัญที่สุดในการจัดหมวดหมวดจุลินทรีย์

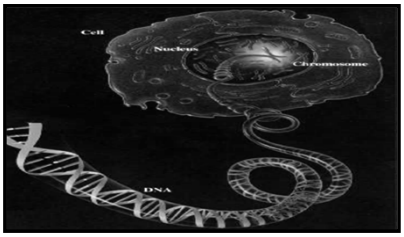
นอกจาก DNA ในโครโมโซมแล้ว ในเซลล์จุลินทรีย์อาจมี DNA ในพลาสมิดด้วย ซึ่งเป็น DNA วงกลม สามารถจำลองตัวเองได้อิสระภายในเซลล์ และทำให้มันแสดงลักษณะพิเศษบางอย่าง เช่น สร้างทอกซิน ทำให้ด้านทานต่อสารปฏิชีวนะ หรือสามารถใช้สารเคมีบางอย่างเป็นอาหารได้

การจัดจำแนกระดับโมเลกุล

- **อาศัยลักษณะทางพันธุกรรม (Gentic characteristics)**
- **โดยศึกษาจากองค์ประกอบของ**
  - **DNA (DNA base composition)**
  - **ลำดับเบสของนิวคลีโอไทด์ในสาย DNA**



สารพันธุกรรม



กรดนิวคลีอิค (Nucleic acids)

กรดนิวคลีอิค ประกอบด้วย ดีออกซีไรโบนิวคลีอิคแอซิด (deoxyribonucleic acid, DNA) และ ไรโบนิวคลีอิคแอซิด (ribonucleic acid, RNA)ดีเอ็นเอเป็นสารพันธุกรรม (genetic material) ที่เก็บรวบรวมข้อมูลต่าง ๆในสิ่งมีชีวิต ในเซลล์ของมนุษย์สามารถพบดีเอ็นเอได้ใน นิวเคลียส และไมโทคอนเดรีย สำหรับในพืชสามารถพบในคลอโรพลาสต์ นิวเคลียส และไมโทคอนเดรีย อาร์เอ็นเอมีความสำคัญในการสังเคราะห์โปรตีนเพราะอาร์เอ็นเอได้มาจากการถอดรหัสพันธุกรรมบนสายดีเอ็นเอเพื่อนำเป็นต้นแบบในการแปลรหัสเพื่อการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis)ในเซลล์ของยูแคริโอต(eukaryote) พบอาร์เอ็นเอได้ใน นิวเคลียส ไซโตพลาซึม ไมโทคอนเดรีย และไรโบโซม

องค์ประกอบของดีเอ็นเอ (DNA compositions)

ดีเอ็นเอประกอบด้วยหน่วยย่อย (monomer) คือ ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ (deoxyribonucleotide) หลาย ๆนิวคลีโอไทด์มาต่อกันเป็นโพลีเมอร์ด้วยพันธะฟอสโฟไดเอสเตอร์ (phosphodiester bond) ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ (deoxyribonucleotide) แต่ละโมเลกุลประกอบด้วย

1. น้ำตาลเพนโทส (pentose) ประกอบด้วย คาร์บอน 5 อะตอม และคาร์บอนอะตอมที่ 2 (2') มีหมู่ไฮดรอกซิล (–OH) ซึ่งถูกกำจัดออกซิเจนออกไปเหลือเพียงไฮโดรเจน (–H) จึงมีชื่อเรียกว่า น้ำตาลดีออกซีไรโบส (deoxyribose sugars)

2. กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid, H_3PO_4)

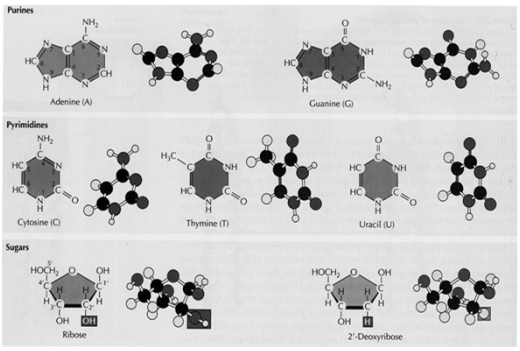
องค์ประกอบของดีเอ็นเอ (DNA compositions)

3. ไนโตรจีนัสเบส (nitrogenous base) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

3.1 เบสพิวรีน (purine base) มี 2 ชนิด คือ อะดีนีน (adenine = A) และกวานีน (guanine = G)

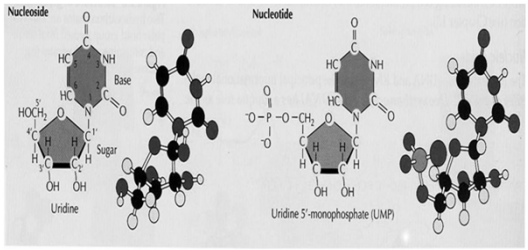
3.2 เบสไพริมิดีน (pyrimidine base) มี 2 ชนิด คือ ไซโทซีน (cytosine = C) และไทมีน(thymine = T)

เมื่อหน่วยย่อยทั้ง 3 หน่วยต่อกันเป็นนิวคลีโอไทด์แต่ละชนิด ถ้าเป็นเบสพิวรีน (purine base) จะใช้ตำแหน่งที่ 9 มาต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 1' ของน้ำตาลดีออกซีไรโบส ถ้าเป็นเบสไพริมิดีนจะใช้ตำแหน่งที่ 1 มาต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 1' ของน้ำตาลดีออกซีไรโบส สำหรับหมู่ฟอสเฟตจะต่อกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 5' ของน้ำตาลดีออกซีไรโบส ดูรูป>>>



แสดงส่วนประกอบของดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอ

ถ้าไนโตรจีนัสเบสต่อกับน้ำตาลดีออกซีไรโบสโดยไม่มีหมู่ฟอสเฟตเข้ามาต่อกับน้ำตาลดีออกซีไรโบสด้วย โครงสร้างดังกล่าวเรียกว่า นิวคลีโอไซด์ (nucleoside) ดูรูป>>>



แสดงโครงสร้างนิวคลีโอไซด์และนิวคลีโอไทด์

โครงสร้างของดีเอ็นเอ (DNA structure)

ในปี ค.ศ. 1947 E. Chargaff ได้ศึกษาโดยวิเคราะห์ปริมาณของเบสทั้ง 4 ชนิดในดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตที่ต่างกัน พบว่าเบสแต่ละชนิดจะมีปริมาณคงที่ จึงสรุปว่าองค์ประกอบดีเอ็นเอมีคุณสมบัติดังนี้

1. ปริมาณของเบสอะดีนีน (adenine) เท่ากับ ปริมาณของเบสไทมีน (thymine) และปริมาณของเบสไซโทซีน (cytosine) เท่ากับปริมาณของเบสกวานีน (guanine)

2. ปริมาณของเบสพิวรีน (A+G) จะเท่ากับปริมาณของเบสไพริมิดีน (C+T)

3. สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีปริมาณเบสคงที่เป็นค่าเฉพาะของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ

นอกจากนี้ ข้อมูลของ Chargaff แสดงให้เห็นว่าเบสอะดีนีน(A)จะเข้าคู่กับเบสไทมีน (T) และเบสกวานีน(G) จะเข้าคู่กับเบสไซโทซีน (C) เสมอ

โมเลกุลของดีเอ็นเอจากข้อมูลของ Rosalind Flanklin เสนอว่า

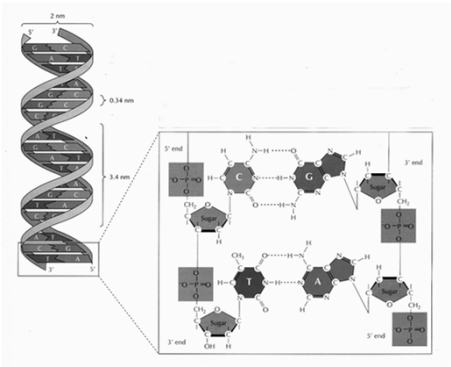
1. โครงสร้างของดีเอ็นเอประกอบด้วยสายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สายพันเป็นเกลียวโดยเป็นเกลียวคู่วนขวา (right-hand double helix)ในลักษณะรอบแกนร่วมเดียวกัน

2. สายโพลีนิวคลีโอไทด์ 2 สาย เรียงตัวกันแบบสวนทางกัน (antiparallel) โดยถ้าสายหนึ่งวางตัวจากปลาย 5’ ไป 3’ อีกสายหนึ่ง จะวางตัวจากปลาย 3’ ไป 5’ ซึ่งมีความสำคัญในการเกิดการจำลองดีเอ็นเอ (DNA replication), การถอดรหัส (DNA transcription) และการเกิดดีเอ็นเอลูกผสม (DNA recombination)

3. เบสของดีเอ็นเอทั้งสองสายวางตัวอยู่ในระนาบเดียวกันและเข้าคู่กัน (complementary) ซึ่งระยะห่างของเบสแต่ละคู่ห่างกัน 0.34 นาโนเมตร

4. หนึ่งรอบของเกลียวดีเอ็นเอประกอบไปด้วยเบส 10 คู่ และมีความยาวของเกลียว = 3.4 nm

5. เบสของโพลีนิวคลีโอไทด์ทั้ง 2 สาย ที่อยู่ตรงข้ามกันจะมาเข้าคู่กันโดยอะดีนีน (adenine) จับคู่กับไทมีน (thymine) มีการสร้าง พันธะไฮโดรเจน 2 พันธะระหว่างกัน ส่วนไซโทซีน (cytosine) จะคู่กับกวานีน (guanine) มีการสร้างพันธะไฮโดรเจน 3 พันธะระหว่างกันและในอาร์เอ็นเอยูราซิล (uracil) จะคู่กับอะดีนีน (adenine) มีการสร้างพันธะไฮโดรเจน 2 พันธะระหว่างกัน ดูรูป>>>



แสดงโครงสร้าง DNA ตามแบบจำลองของวัตสันและคริก

6. การพันเป็นเกลียวคู่ของดีเอ็นเอทำให้เกิดร่อง (groove) ของสายดีเอ็นเอ ซึ่งมี 2 ขนาดคือ ร่องขนาดเล็ก (minor groove) และร่องขนาดใหญ่ (major groove) ซึ่งร่องขนาดใหญ่จะใหญ่กว่าร่องขนาดเล็กประมาณ 2 เท่า

7. โมเลกุลของดีเอ็นเอจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 นาโนเมตร

แรงยึดเหนี่ยวสำคัญที่ทำให้เกิดโครงสร้างแบบเกลียวคู่ (double helix) ของดีเอ็นเอ คือ

1. พันธะโคเวเลนต์ (covalent bond)

เป็นพันธะเคมีที่แข็งแรงเชื่อมระหว่างไนโตรจีนัสเบส และน้ำตาลดีออกซีไรโบสเรียกว่า พันธะฟอสโฟไดเอสเตอร์ (phosphodiester bond)

2. พันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond)

เป็นพันธะระหว่างอะตอมที่มีค่าอิเล็กโตรเน็กกาติวิตี (electronegativity) เป็นลบกับอะตอมไฮโดรเจนระหว่างคู่เบส (base pairs)

3. แรงไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction)

เป็นแรงที่เกิดขึ้นระหว่างชั้นของเบสที่เรียงซ้อนกันอยู่

Ribonucleic acid (RNA)

RNA เป็นกรดนิวคลีอิกที่มีโครงสร้างเป็นสายเดี่ยว (Single strand) ยกเว้นในไวรัสบางชนิด อาจพบเป็นสายคู่ และ RNA มีพบทั้งในนิวเคลียส (ในนิวคลีโอลัส) ไซโตพลาสซึม ไมโตคอนเดรีย และคลอโรพลาสต์ ซึ่งRNA เหล่านี้สังเคราะห์ขึ้นโดยใช้ DNA เป็นแม่แบบ ดังนั้นลำดับเบสของDNAจะควบคุมลำดับเบสในRNA คือเบสของRNA ทุกตัวจะต้องเรียงลำดับที่จะทำให้เบสทุกตัวในสาย จับกับเบสของDNA ที่เป็นแม่แบบ ได้RNAจึงเป็นสารตัวกลางที่เกี่ยวข้องกับการถ่ายทอดข้อความพันธุกรรมจาก DNA ไปใช้ในขบวนการสังเคราะห์โปรตีน

การสร้าง RNA ก็คล้ายคลึงกับการจำลองโมเลกุล DNA คือ มีการคลายเกลียวของสายพอลีนิวคลีโอไทด์ของ DNA ออก เพื่อเป็นแม่แบบให้นิวคลีโอไทด์โมเลกุลเดี่ยวเข้ามาจับคู่กับเบสบนสายสายพอลีนิวคลีโอไทด์เดิมตามลำดับ แต่ในกระบวนการนี้ A จะจับคู่กับU และC จับคู่กับ G และจะไม่ใช้สายพอลีนิวคลีโอไทด์ทั้งสองข้างของ DNA เพื่อสร้าง RNA ทั้งสองข้างพร้อมๆ กัน แต่จะใช้สาย DNA ต้นแบบเพียงสายเดี่ยว มันจึงเป็นพอลีนิวคลีโอไทด์สายเดี่ยว

องค์ประกอบของอาร์เอ็นเอ
(RNA composition)

โมเลกุลของอาร์เอ็นเอประกอบด้วยหน่วยย่อยคือไรโบนิวคลีโอไทด์ (ribonucleotide) หลายโมเลกุลมาต่อกัน โดยแต่ละโมเลกุลจะประกอบด้วย 3 ส่วนคือ

1. น้ำตาลเพนโทส (pentose sugar) คือ น้ำตาลไรโบส (ribose)โดยที่คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2' เป็นหมู่ไฮดรอกซิล (-OH)

2. กรดฟอสฟอริกหรือหมู่ฟอสเฟต (phosphoric acid /phosphate group)

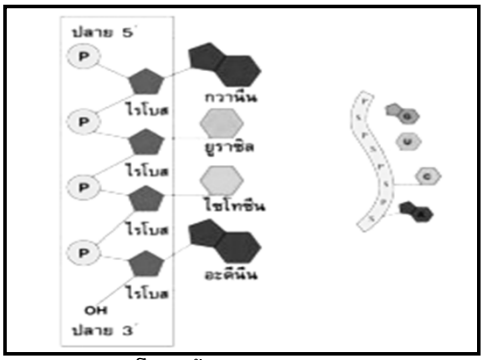
องค์ประกอบของอาร์เอ็นเอ
(RNA composition)

3. ไนโตรจีนัสเบส (nitrogenous base) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

3.1 เบสพิวรีน (purine base) มี 2 ชนิด คือ อะดีนีน (adenine = A) และกวานีน (guanine = G)

3.2 เบสไพริมิดีน (pyrimidine base) มี 2 ชนิด คือ ไซโทซีน (cytosine = C) และยูราซิล (uracil = U)

เนื่องจากอาร์เอ็นเอมีอะตอมออกซิเจนที่ตำแหน่ง 2' ทำให้เกิดการบิดเป็นเกลียวแบบ double helix แบบในดีเอ็นเอไม่ได้



โครงสร้างของ RNA

RNA เกือบทั้งหมดถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในนิวเคลียส โดยใช้ DNA เป็นแม่แบบและถูกลำเลียงจากนิวเคลียสไปยัง ไซโตพลาสซึม RNA ภายในเซลล์แบ่งได้เป็น 3 จำพวก คือ

1. Messenger RNA (mRNA)

คือเป็นRNA ที่มีปริมาณไม่เกินร้อยละ 5 ของ RNA ทั้งหมด โครงสร้างเป็นพอลีนิวคลีโอไทด์สายเดี่ยว ถูกสังเคราะห์ขึ้ภายในนิวเคลียส โดยมีDNA เป็นแม่แบบ จึงมีลำดับการเรียงตัวเบสสัมพันธ์กับลำดับการเรียงตัวของเบสภายใน DNA ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวรับคำสั่งจาก DNA โดยถอดรหัสในรูปของลำดับเบสที่เรียงตัวกันอยู่ใน DNA กระบวนการถอดรหัสนี้เรียกว่า "ทรานสคริปชั่น" (Transcription) รหัสหรือโคดอนบนmRNA นี้เองจะถูกแปลรหัสพันธุกรรม (Translation) ที่ไรโบโซม เพื่อสังเคราะห์โปรตีน

2. Transfer RNA (tRNA)

คือพบได้ประมาณร้อยละ 10-15 ของRNA ทั้งหมดเป็นRNA ที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ละลายได้ดีในกรด และประกอบด้วยนิวคลีโอไทด์ประมาณ 80 โมเลกุล มีโครงสร้างเป็นพอลีนิวคลีโอไทด์สายเดี่ยวที่ม้วนพันเป็นรูปร่างที่คล้ายคลึงกันในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด หน้าที่ของtRNA เป็นตัวนำพากรดอะมิโนชนิดต่างๆไปยังไรโบโซม เพื่อประกอบเข้าเป็นสายพอลีนิวคลีโอไทด์ในการสังเคราะห์โปรตีนขึ้นมา

3. Ribosomal RNA (rRNA)

เป็น RNA ที่เป็นส่วนประกอบของไรโบโซม พบได้ประมาณร้อยละ 85 ของ RNA ทั้งหมด และเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของไรโบโซม rRNA มีขนาดโมเลกุลใหญ่ อาจจะมีโครงสร้างเป็นสายเดี่ยวหรือคู่ โดยจะมีลำดับการเรียงเบสเหมือนกันหมดในสิ่งมีชีวิตทุกชนิด

ความแตกต่างระหว่าง DNA กับ RNA

DNA	RNA
-เป็นพอลีนิวคลีโอไทด์สายคู่	-เป็นพอลีนิวคลีโอไทด์สายเดี่ยว
-มีน้ำหนักโมเลกุลมาก ประมาณ 100,000-150,000,000	-มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย ประมาณ 20,000-2,000,000
-มีน้ำตาลดีออกซีไรโบสเป็นองค์ประกอบ	-มีน้ำตาลไรโบสเป็นองค์ประกอบ
-พบเบสได้ 4 ชนิด คือ A T C G	-พบเบสได้ 4 ชนิด คือ A U C G
-อัตราส่วนระหว่าง A+C/T+G จะมีค่าเท่ากับ 1 เสมอ	-อัตราส่วนระหว่าง A+C/U+G มีค่าไม่แน่นอน
- พบอยู่ภายในนิวเคลียสเกือบทั้งหมด	- ถูกสังเคราะห์ในนิวเคลียส แต่พบได้ทั่วเซลล์

ความแตกต่างระหว่าง DNA กับ RNA (ต่อ)

DNA	RNA
-มีประมาณเท่ากันในทุกๆ เซลล์ของสิ่งมีชีวิตในสปีชีส์เดียวกัน (ยกเว้นเซลล์สืบพันธุ์จะมีปริมาณเพียงครึ่งหนึ่ง)	-มีปริมาณไม่เท่ากันในแต่ละเซลล์ของสิ่งมีชีวิตในสปีชีส์เดียวกัน (แปรผันตามอัตราเมแทบอลิซึมของแต่ละเซลล์)
-มีเสถียรภาพทางเคมีมากกว่า RNA	-มีเสถียรภาพทางเคมีน้อยกว่า DNA
-DNA คงอยู่ตลอดไป	-RNA อาจพบเพียงชั่วคราว
-DNA มีเพียงชนิดเดียว แต่มีปริมาณ และลำดับเบสไม่จำกัด	-RNA มี 3 ชนิด คือ mRNA tRNA และ rRNA

RNA เกี่ยวข้องกับ DNA และโปรตีนอย่างไร

จากการศึกษาพบว่า DNA จะทำหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีน นักวิทยาศาสตร์ได้พบหลักฐานมากมายที่ยืนยันว่า การสร้างโปรตีนทุกชนิดเกิดขึ้นในไซโทพลาซึม แต่ DNA มีอยู่ในนิวเคลียสเท่านั้น จึงเกิดปัญหาว่า DNA ควบคุมการสร้างโปรตีนได้อย่างไร จึงได้ศึกษาพบว่า สิ่งที่ได้รับมอบหมายจาก DNA ซึ่งอยู่ในนิวเคลียสให้มาควบคุมการสร้างโปรตีนในไซโทพลาซึมคือกรดไรโบนิวคลีอิกหรือ RNA ซึ่งเป็นสารที่คล้าย RNA กรดไรโบนิวคลีอิกพบทั้งในไซโทพลาซึมและในนิวเคลียส โมเลกุลของ RNA เป็นสายเดี่ยวเนื่องจากไม่มีอีกสายหนึ่งที่จะมีเบสตรงข้ามกันมาเข้าคู่กันได้พอดี

การสร้างโปรตีนนั้นเริ่มจาก **DNA** ในนิวเคลียสเริ่มคลายตัว (คล้ายกับตอน **DNA** จำลองตัวเองนั่นเอง) โดยพันธะไฮโดรเจนที่เกาะกันระหว่างเบสหลุดออกจากนั้นสารประกอบที่เป็น **RNA** จะเข้าไปแทนที่จนได้เป็นสายโปลีนิวคลีโอไทด์ของ **RNA** เรียกว่าเมสเซนเจอร์ **RNA (messenger RNA หรือ mRNA)**โดยใช้เอนไซม์ **RNA** โปลีเมอเรส **(RNA Polymerase)** พร้อมกับ**ATP,UTP** (หรือ **Uridine triphosphate**) **GTP** (หรือ **Guanidine triphosphate**)และ **CTP** (หรือ **Cytidine triphosphate**)ทำให้เกิด **mRNA** ขึ้นมาจาก **DNA** จากนั้น **mRNA** เคลื่อนออกมาในไซโตปลาสซึมแต่ะอยู่ที่ไรโบโซมในขณะที่มี **RNA** อีกชนิดหนึ่งเรียกว่า ทรานสเฟอร์ **(RNA Transfer RNAหรือ tRNA)**ซึ่งมีขนาดเล็กกว่า **mRNA** จะมาจับกับ **mRNA** นี้ บริเวณอีกปลายหนึ่งของ **tRNA** จะมีกรดอะมิโนเฉพาะตามรหัส **(Code)**ของ **tRNA** ติดมาด้วย เมื่อมี **tRNA** หลายๆชุดมาเกาะกับ **mRNA** ก็จะมีกรดอะมิโนหลายตัวมาเรียงกันต่อมากรดอะมิโนเหล่านี้จับกันกลายเป็นโปลีเปปไทด์หรือโปรตีนนั่นเอง

การเรียงตัวของรหัส **tRNA** ที่แตกต่างกัน ทำให้กรดอะมิโนที่ติดมาต่างกันด้วย

โดยปกติกรดอะมิโนมีอยู่ในธรรมชาติเพียง 20 ชนิด แต่เบสที่ประกอบเป็นรหัสของ **DNA** หรือ **RNA** นั้นมีเพียง 4 ชนิด คือ A,T,C,G หรือ A,U,C,G ทำให้เกิดกรดอะมิโนถึง 20 ชนิดได้อย่างไรโดยเฉพาะรหัส **tRNA** ของที่นำกรดอะมิโนนั้นมีระบบรหัส 3 ชนิด(Triplet codeหรือ anticodon) หมายถึงเบส 3 ตัวใน **tRNA** ที่มีการเรียงกันแต่ละแบบจะนำกรดอะมิโนแต่ละชนิด

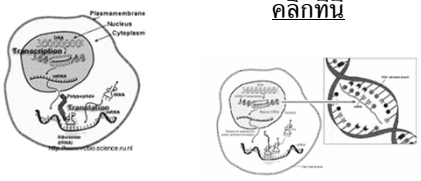
ดังนั้นการสร้างโปรตีนของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะเรียงกรดอะมิโนเป็นลำดับเพราะการบังคับของ **DNA** ในนิวเคลียสนั่นเอง

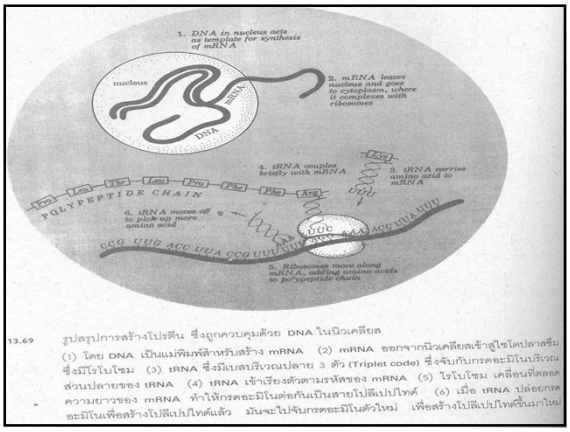
การสังเคราะห์โปรตีน

การสังเคราะห์โปรตีน (Form Gene to Protein) โปรตีนเป็นสายของกรดอะมิโนมาต่อเรียงกันโดยมีลำดับของกรดอะมิโนที่คงที่สำหรับโปรตีนแต่ละชนิด การสร้างโปรตีนจึงจำเป็นต้องมีตัว ควบคุมลำดับของกรดอะมิโนสำหรับโปรตีนชนิดนั้นๆ เพราะถ้าลำดับของกรดอะมิโนเปลี่ยนไป ก็จะได้โปรตีนที่ผิดไปจากเดิม ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตจะมีโปรตีนอยู่นับพันชนิด โปรตีนทุกชนิดจะถูกสร้างขึ้นโดยคำสั่งจาก ยีน หรือ จากรหัสพันธุกรรมของ DNA โดยที่ DNA จะอยู่ในนิวเคลียสตลอดเวลา แต่จะออกคำสั่งผ่านทาง mRNA โดยการสร้าง mRNA ขึ้นมานั่นเอง ในการสร้าง mRNA หรือ กระบวน การคัดลอกรหัสพันธุกรรม (transcription) โ พลีนิวคลีโอไทด์สายคู่ของ DNA จะคลายเกลียวออกจากกันเป็นบางส่วน แล้วสร้าง โ พลีนิ วคลีโอไทด์สายเดี่ยว mRNA ที่โปรตีนทุกชนิดที่ เป็นสายคู่สมกับสายหนึ่งของ DNA ขึ้นมา กระบวนการคัดลอกรหัสพันธุกรรม จะมีเอนไซม์ RNA polymerase คอยช่วยเหลือ หลังจากนั้น mRNA จ ะออกจากนิวเคลียสไปยังไซโตพลาสม เชื่อมกับไร โบโซมและเริ่มต้นกระบวนการแปล รหัสพันธุกรรม (translation)

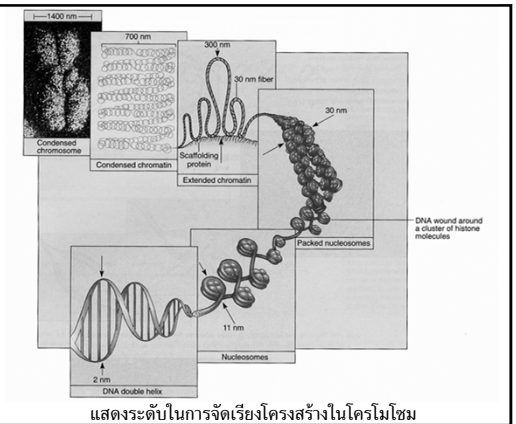
การสังเคราะห์โปรตีน

<u>คลิกที่นี่</u>





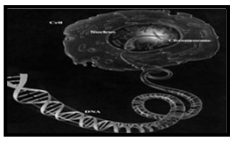
13.69 รูปสรุปการสร้างโปรตีน ซึ่งถูกควบคุมด้วย DNA ในนิวเคลียส (1) โดย DNA เป็นแม่พิมพ์สำหรับสร้าง mRNA (2) mRNA ออกจากนิวเคลียสเข้าสู่ไซโตปลาสซึม ซึ่งมีไรโบโซม (3) tRNA ซึ่งมีเบสปริวณปลาย 3 ตัว (Triplet code) ซึ่งจับกับกรดอะมิโนบริเวณส่วนปลายของ tRNA (4) tRNA เข้าเรียงตัวตามรหัสของ mRNA (5) ไรโบโซม เคลื่อนที่ตลอดความยาวของ mRNA ทำให้กรดอะมิโนต่อกันเป็นสายโปลีเปปไทด์ (6) เมื่อ tRNA ปล่อยกรดอะมิโนเพื่อสร้างโปลีเปปไทด์แล้ว มันจะไปจับกรดอะมิโนตัวใหม่ เพื่อสร้างโปลีเปปไทด์ชิ้นมาใหม่



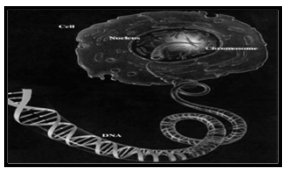
แสดงระดับในการจัดเรียงโครงสร้างในโครโมโซม

การจัดจำแนกระดับโมเลกุล

- **อาศัยลักษณะทางพันธุกรรม (Gentic characteristics)**
- **โดยศึกษาจากองค์ประกอบของ**
  - **DNA (DNA base composition)**
  - **ลำดับเบสของนิวคลีโอไทด์ในสาย DNA**

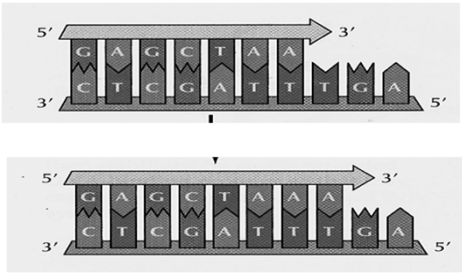


การใช้ความรู้ด้านโมเลกุลในการจัดจำแนกมีวิธีการดังนี้



1. ปริมาณของเบสกวอนีนและไซโตซีน
(guanine + cytosine content)

- แบคทีเรียมีเบส G และ C อยู่ประมาณ 25-75 % ของดีเอ็นเอทั้งหมด
- ในดีเอ็นเอสายคู่เบส G จะจับคู่กับเบส C และ เบส A จับคู่กับ T เสมอ
- หากสายดีเอ็นเอมีปริมาณ G+C อยู่ 40 %
- ดั้งนั้นอีก 60 % ก็เป็น A+T เนื่องจากการสกัดดีเอ็นเอออกจากเซลล์แบคทีเรียทำได้ไม่ยาก การแยกคู่ของดีเอ็นเอก็ทำได้เช่นกัน โดยการใช้ความร้อน เมื่อเบส G กับ C จับกันด้วยพันธะไฮโดรเจนที่มี 3 พันธะในขณะที่ A จับกับ T ด้วย 2 พันธะ



- ดั้งนั้นดีเอ็นเอที่มีปริมาณของ G+C ยิ่งสูงยิ่งจับกันได้แน่นและแยกออกจากกันได้ยากกว่านั่นคือต้องใช้อุณหภูมิสูงกว่าในการแยกสายคู่ของดีเอ็นเอออกจากกัน
- นอกจากนี้ความหนาแน่นของดีเอ็นเอยังเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ G+C ด้วย
- เปอร์เซ็นต์ G+C ยังแสดงถึงความสัมพันธ์ในสิ่งมีชีวิต
- หากมีเปอร์เซ็นต์ต่างกันมาก ๆ จะบอกได้ว่าสิ่งมีชีวิตนั้นไม่ได้อยู่ในสปีชีส์เดียวกันอย่างแน่นอน
- โดยหลักการแล้ว สิ่งมีชีวิตสปีชีส์เดียวกันควรมีปริมาณ G+C ใกล้เคียงกัน
- อย่างไรก็ตามการมีเปอร์เซ็นต์เท่ากันก็ไม่ได้พิสูจน์ว่าต้องเป็นสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกันเสมอไป อาจเป็นสิ่งมีชีวิตต่างโดเมนกันเลยก็ได้

- ตัวอย่างเช่น % G+C ของมนุษย์มีค่าเท่ากันพอดีกับแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ดั้งนั้นจึงต้องพิจารณาจากลักษณะอื่นประกอบด้วย

ในดีเอ็นของแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่งแสดงออกเป็น

$$\text{Mole \% G+C} = \left\{(G+C)/\ (A+T+G+C)\right\} \times 100$$

ตารางตัวอย่างส่วนประกอบของดีเอ็นเอในเบสของสิ่งมีชีวิตต่างๆ

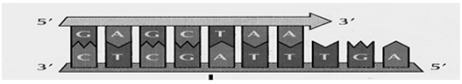
สิ่งมีชีวิต	Mole % G+C
โพรคาริโอต	
- โดเมนแบคทีเรีย	25-78
- โดเมนอาร์เคีย	27-62
ยูคาริโอต (โดเมนยูคาร์ยา)	
- สาหร่าย	37-68
-โพรโตซัว	21-65
- เห็ดรา	22-62
-พืช	33-48
- สัตว์	32-50

ตารางตัวอย่างส่วนประกอบของดีเอ็นเอในเบสของแบคทีเรีย

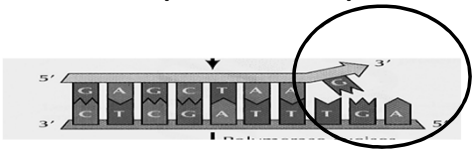
species	Mole % G+C
Campylobacter fetus	32-35
Campylobacter jejuni	31
Klebsiella pneumoniae	56-58
Klebsiella terrigens	57
Pseudomonas aeruginosa	67
Pseudomonas cichorii	59

2. ดีเอ็นเอไฮบริเซชั่น (DNA hybridization)

- เป็นการหาความเข้ากันได้ของดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตสองชนิดที่ถูกแยกให้เป็นสายเดียว
- โดยเบื้องต้นต้องทำการเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียก่อน
- แล้วนำเซลล์มาทำให้แตกเพื่อให้ดีเอ็นเอหลุดออก
- แล้วใช้ความร้อนทำให้พันธะไฮโดรเจนที่ยึดระหว่างคู่เบสของสายดีเอ็นเอแยกออกจากกัน กลายเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว
- เอาดีเอ็นเอสายเดี่ยวของตัวอย่างแบคทีเรียชนิดแรกมาผสมกับดีเอ็นเอสายเดี่ยวของแบคทีเรียชนิดที่สอง
- เมื่อลดอุณหภูมิลงดังเดิมสายดีเอ็นเอจะเข้ามาจับคู่กัน (อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเข้าคู่กันของดีเอ็นเอคือ 25–30°C)
- หากจับคู่กันได้มากแสดงว่ามีความสัมพันธ์ทางจีนใกล้ชิดกันมาก



การเข้าคู่กันได้ของสายดีเอ็นเอระหว่างคู่เบส



การเข้าคู่กัน **ไม่ได้** ของสายดีเอ็นเอระหว่างคู่เบส

3. การวิเคราะห์ลำดับเบสของไรโบโซมมอลอาร์เอ็นเอ (Ribosomal RNA analysis)

- โดยการหาลำดับเบสของ Ribosomal RNA (rRNA)
- แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างสิ่งมีชีวิตจนกลายเป็นรากฐานขอนุกรมวิธานระบบโดเมนในปัจจุบัน
- ใช้หลักการว่า ถ้าโครงสร้างของ rRNA ผิดปกติไปเพียงเล็กน้อยจะทำให้การทำงานของไรโบโซม ดังนั้นลำบับเบสของ rRNA มีการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการน้อยมาก
- จึงใช้เป็นส่วนสำคัญในการระบุประวัติศาสตร์วิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างดี

4. ขนาดของ genome

- โดยทั่วไปแล้ว DNA ของแบคทีเรียจะมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1×10^9 - 8×10^9 ดัลตันส์
- ดังนั้นในการใช้ขนาดของ genome ในการแยกจะต้องมีขนาดของ genome แตกต่างกันเด่นชัด
- เช่น ใช้ในการแยก *Legionella pneumophila* ออกจาก *Rochlimaea quintana* เพราะตัวแรกมีขนาด genome 3×10^9 ดัลตันส์ ตัวหลังมีขนาด genome 1×10^9 ดัลตันส์

5. ความสัมพันธ์ของ DNA ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม

- โดยการใช้เส้น DNA ของสายพันธ์หนึ่งเข้าคู่กับสาย DNA ของอีกสายพันธ์หนึ่งในอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่ใช้คลายเกลียว DNA ออกจากกัน ประมาณ 25-30 °C
- จากการศึกษาพบว่า ถ้าเป็นแบคทีเรียเชื้อสายเดียวกันแต่ต่างสายพันธ์กันจะมีความสัมพันธ์ของการจับคู่กันได้ 70-100%
- ถ้าสกุลเดียวกันแต่ต่างเชื้อสายกันจะเข้าคู่กันได้ 0-60 %
- ซึ่งความสัมพันธ์ของสาย DNAที่สามารถจับคู่กันได้นั้นไม่ได้หมายความว่าสาย DNAดังกล่าวนี้เหมือนกัน (homologous)

6. <u>ความสามารถในการทนต่อความร้อน</u>

- ขึ้นอยู่กับลำดับ base ของสายเกลียวคู่ DNA
- จากการศึกษาสายเกลียวคู่ DNA จากแบคทีเรียตัวเดียวกันและแบคทีเรียต่างสายพันธ์กัน พบว่า ความสามารถในการทนต่อความร้อนในการที่จะทำให้เส้นเกลียวเกิดการแยกจากกันนั้นมีผลต่างกัน
- พบว่าถ้าภายในสายเกลียวเกิดการไม่เข้ากันของ base 1% ความร้อนที่ใช้ในการคลายเกลียวของสายคู่ DNA จะลดลงไป 1%
- ดังนั้นการรู้ขนาดความทนทานต่อความร้อนที่ทำให้เกิดการคลายเกลียวของ DNA มากน้อยแค่ไหนก็จะบอกถึงคู่ของ base ว่าไม่เข้ากันมากน้อยเท่าใดด้วย เพราะมันเป็นสัดส่วนกัน
- การศึกษาความสามารถในการทนทานต่อความร้อนที่มีผลต่อการคลายเกลียวของ DNA ต่างสายพันธ์ พบว่า base มีการไม้เข้าคู่กัน 0-6% ส่วนของ DNA ต่างเชื้อสาย พบว่า มีการไม่เข้ากันประมาณ 8-20%

7. <u>ความสัมพันธ์ของ DNA ภายใต้สภาวะที่เพิ่มอุณหภูมิในการจับคู่หรือจับเกลียวกันใหม่</u>

- โดยปกติการเข้าคู่หรือจับเกลียวกันใหม่ของสาย DNA จะเกิดที่อุณหภูมิ 25-30 ^{o}C ต่ำกว่าอุณหภูมิที่ใช้คลายเกลียว DNA ออกจากกัน
- แต่ถ้าให้สาย DNA มาเข้าคู่กันใหม่ โดยให้อยู่ในอุณหภูมิ 10-14 ^{o}C ต่ำกว่า renaturation temperature พบว่าสาย DNA ที่จะเข้าคู่กันนั้นต้องมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันมาก
- จากการลองเอาสาย DNA ที่มาจากเชื้อสายเดียวกันแต่ต่างสายพันธ์กัน การเข้าคู่กันเกิดขึ้นได้ในช่วง 60-100% แต่ถ้าเอาสาย DNA ต่างเชื้อสายกัน จะเข้าคู่กันได้เพียง 50% หรือต่ำกว่านี้