

شکل ۹- طرح‌های مختلف برای
هماندسازی

با توجه به اینکه دنا به عنوان ماده وراثتی، حاوی اطلاعات یاخته است، این پرسش مطرح می‌شود که هنگام تقسیم یاخته، این اطلاعات چگونه بدون کم و کاست به دو یاخته حاصل از تقسیم می‌رسند؟ این کار با هماندسازی دنا انجام می‌شود. به ساخته شدن مولکول دنا جدید از روی دنا قدیمی **هماندسازی^۱** می‌گویند.

با توجه به مدل واتسون و کریک و وجود رابطه مکملی بین بازها تا حد زیادی هماندسازی دنا قابل توضیح است؛ گرچه طرح‌های مختلفی برای هماندسازی دنا پیشنهاد شده بود (شکل ۹).

۱- هماندسازی حفاظتی:

در این طرح هر دو رشته دنا قبلی (اولیه) به صورت دست نخورده باقی مانده، وارد یکی از یاخته‌های حاصل از تقسیم می‌شوند، دو رشته دنا جدید هم وارد یاخته دیگر می‌شوند. چون دنا اولیه به صورت دست نخورده در یکی از یاخته‌ها حفظ شده است به آن هماندسازی حفاظتی می‌گویند.

۲- هماندسازی نیمه حفاظتی:

در این طرح در هر یاخته یکی از دو رشته دنا مربوط به دنا اولیه است و رشته دیگر با نوکلئوتیدهای جدید ساخته شده است. چون در هر یاخته حاصل، فقط یکی از دو رشته دنا قبلی وجود دارد، به آن نیمه حفاظتی می‌گویند.

۳- هماندسازی غیر حفاظتی (پراکنده):

در این طرح هر کدام از دناهای حاصل، قطعاتی از رشته‌های قبلی و رشته‌های جدید را به صورت پراکنده در خود دارند.

کدام طرح مورد تأیید قرار گرفته است؟

مزلسون^۲ و استال^۳ با به‌کارگیری روش علمی پاسخ این پرسش را به دست آوردند. آنها فرضیه‌های متعدد ارائه شده را در نظر گرفتند و با توجه به امکانات، آزمایشی را طراحی کردند تا بتوانند به پاسخ قانع‌کننده‌ای برسند. برای شروع کار، آنها باید بتوانند رشته‌های دنا نوساز را از رشته‌های قدیمی تشخیص دهند. آنها با این هدف دنا را با استفاده از نوکلئوتیدهایی که ایزوتوپ سنگین نیتروژن (¹⁵N) دارند، نشانده‌گذاری کردند.

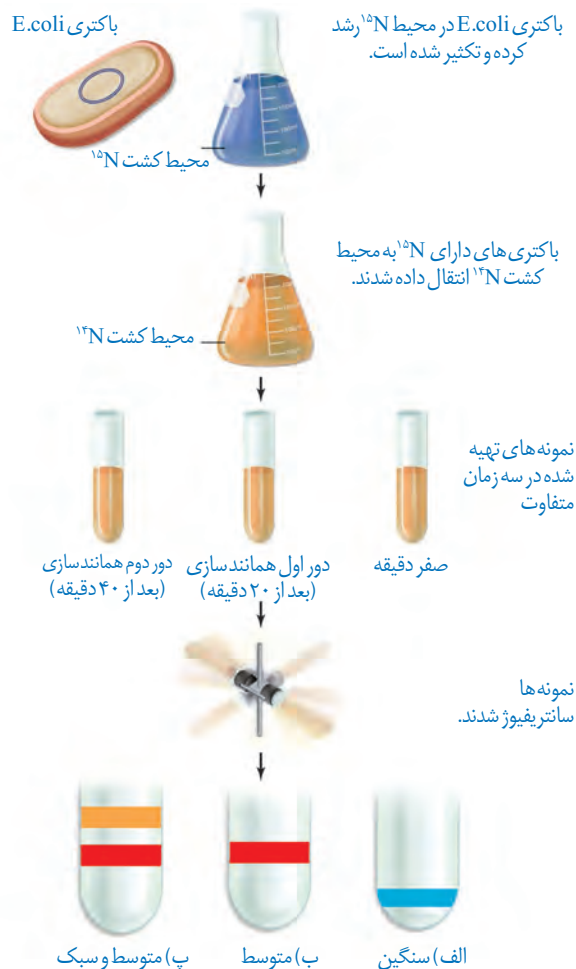
۱- Replication

۲- Meselson

۳- Stahl

دناهایی که با ^{15}N ساخته می‌شوند نسبت به دناهای معمولی که در نوکلئوتیدهای خود ^{14}N دارد چگالی بیشتری دارند. بنابراین، به وسیله گریزانۀ با سرعت بسیار بالا^۱ می‌توان آنها را از هم جدا کرد. آنها ابتدا باکتری‌ها را در محیط دارای ^{15}N کشت دادند. در ساختار بازهای آلی نیتروژن دار که در ساخت دناهای باکتری شرکت می‌کنند، وارد شدند. پس از چندین مرحله رشد و تکثیر در این محیط، باکتری‌هایی تولید شدند که دناهای سنگین تری نسبت به باکتری‌های اولیه داشتند. سپس این باکتری‌ها را به محیط کشت دارای ^{14}N منتقل کردند. با توجه به اینکه تقسیم باکتری‌ها حدود ۲۰ دقیقه طول می‌کشد در فواصل ۲۰ دقیقه‌ای باکتری‌ها را از محیط کشت جدا و بررسی کردند. برای سنجش چگالی دناها در هر فاصله زمانی، دناهای باکتری را استخراج و در شیبی از محلول سزیم کلرید با غلظت‌های متفاوت و در سرعتی بسیار بالا گریز دادند؛ در نتیجه مواد بر اساس چگالی در بخش‌های متفاوتی از محلول در لوله قرار گرفتند. مراحل آزمایش مزلسون و استال و نتایج آن را در شکل ۱۰ می‌بینید.

همان‌طور که مشاهده می‌کنید نتایج این آزمایش نشان داد که همانندسازی دنا، نیمه حفاظتی است.



شکل ۱۰-۱ آزمایش‌های مزلسون و استال و نتایج به دست آمده:
 الف) دناهای باکتری‌های اولیه پس از گریز دادن، یک نوار در انتهای لوله تشکیل دادند چون هر دو رشته دناهای آنها ^{15}N و چگالی سنگینی داشت.
 ب) دناهای باکتری‌های حاصل از دور اول همانندسازی در محیط کشت حاوی ^{14}N (بعد از ۲۰ دقیقه) پس از گریز دادن، نواری در میانه لوله تشکیل دادند. پس دناهای آنها چگالی متوسط داشت.
 پ) دناهای باکتری‌های حاصل از دور دوم همانندسازی (بعد از ۴۰ دقیقه) پس از گریز دادن دو نوار، یکی در میانه و دیگری در بالای لوله تشکیل دادند. پس نیمی از آنها چگالی متوسط و نیمی چگالی سبک داشتند.
 چرا؟

بیشتر بدانید

گریزانۀ هم چگال

برای جدا کردن ذره‌هایی با چگالی متفاوت و تعیین چگالی آنها از روشی به نام گریزانۀ هم چگال استفاده می‌شود. در این روش محلولی از نمک یک فلز سنگین مثل سزیم کلرید را در لوله آزمایش قرار می‌دهند. غلظت این ماده و چگالی آن به طور یکنواخت از پایین به بالای لوله کم می‌شود و به اصطلاح شیب پیوسته‌ای از غلظت‌های مختلف نمک در آن وجود دارد.

با ورود مولکول‌های مد نظر در این محلول و حرکت آنها حین سانتریفیوژ، براساس چگالی خود در نقطه‌ای متوقف می‌شوند. چون ذره‌ها با چگالی یکسان در یک منطقه تجمع می‌یابند، نوارهایی را تشکیل می‌دهند که به آسانی قابل تشخیص‌اند. با مشخص شدن چگالی محلول در هر نقطه از لوله، می‌توان چگالی ذره‌های مورد آزمایش را معلوم کرد.

با مشخص شدن اینکه همانندسازی به صورت نیمه حفاظتی انجام می‌شود، سؤال دیگری مطرح شد: دو رشته دنا چگونه از یکدیگر باز می‌شوند؟ آیا هر دو رشته کاملاً از یکدیگر جدا می‌شوند و سپس همانندسازی انجام می‌شود یا جدا شدن دو رشته تدریجی و همراه با آن همانندسازی انجام می‌شود؟ تحقیقات نشان داده است در محلی که قرار است همانندسازی انجام شود دو رشته از هم باز می‌شوند. بقیه قسمت‌ها بسته هستند و به تدریج باز می‌شوند.

عوامل و مراحل همانندسازی

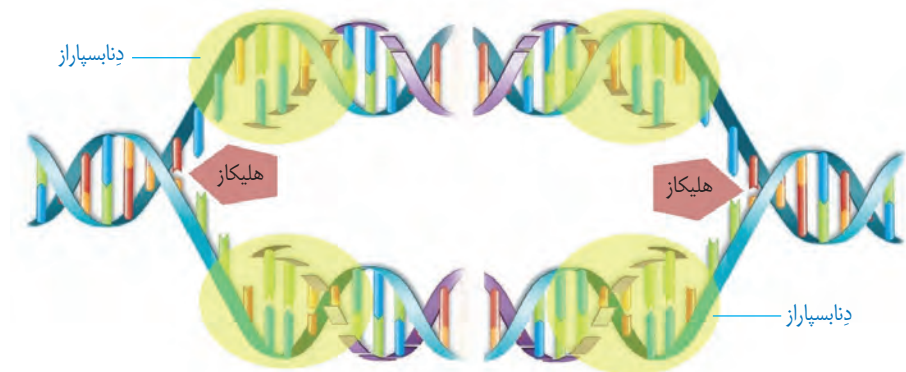
در همانندسازی عوامل متعددی مؤثرند که مهم‌ترین آنها به شرح زیر است:

– مولکول دنا به عنوان الگو

– واحدهای سازنده دنا که بتوانند در کنار هم نسخه مکمل الگو را بسازند. این واحدها نوکلئوتیدهای آزاد داخل یاخته و سه فسفات هستند که در لحظه اتصال به رشته پلی نوکلئوتید در حال ساخت، دو فسفات خود را از دست می‌دهند.

– آنزیم‌های لازم برای همانندسازی که ضمن بازکردن دو رشته نوکلئوتیدها را به صورت مکمل روبه‌روی هم قرار می‌دهد و با پیوند فسفودی استر به هم وصل می‌کند.

مراحل همانندسازی: قبل از همانندسازی دنا باید پیچ‌وتاب فامینه، باز و پروتئین‌های همراه آن یعنی هیستون‌ها از آن جدا شوند تا همانندسازی بتواند انجام شود. این کارها با کمک آنزیم‌هایی انجام می‌شود. سپس آنزیم **هلیکاز**^۱ ماریپیچ دنا و دو رشته آن را از هم باز می‌کند (شکل ۱۱).



شکل ۱۱- همانندسازی دنا

به نظر شما برای باز شدن دو رشته دنا آنزیم هلیکاز چه پیوندهایی را از هم باز می‌کند؟ انواع دیگری از آنزیم‌ها با همدیگر فعالیت می‌کنند تا یک رشته دنا در مقابل رشته الگو ساخته شود. یکی از مهم‌ترین آنها که نوکلئوتیدهای مکمل را با نوکلئوتیدهای رشته الگو جفت می‌کند **دنا بسپاراز**^۲ (DNA پلی‌مراز) است. با توجه به اینکه در محل همانندسازی، همانندسازی در دو جهت انجام می‌شود؛ به آن **همانندسازی دو جهتی** نیز می‌گویند.

۱- Helicase

۲- DNA Polymerase

دوراهی همانندسازی: در شکل ۱۱ می بینید در محلی که دو رشته دنا از هم جدا می شوند، دو ساختار Y مانند به وجود می آید که به هریک از آنها دوراهی همانندسازی می گویند. در فاصله بین این دو ساختار، پیوندهای هیدروژنی بین دو رشته از هم گسیخته و دو رشته از یکدیگر باز شده اند. همچنین پیوندهای فسفودی استر جدیدی در حال تشکیل هستند. دنا بسپاراز نوکلئوتیدها را به انتهای رشته در حال تشکیل اضافه می کند. اضافه شدن یک نوکلئوتید به نوع بازی بستگی دارد که در نوکلئوتید رشته الگو قرار دارد. هر نوکلئوتید باید با نوکلئوتید روی رشته الگو مکمل باشد. هنگام اضافه شدن هر نوکلئوتید سه فسفات به انتهای رشته پلی نوکلئوتید دو تا از فسفات های آن از مولکول جدا می شوند و نوکلئوتید به صورت تک فسفات به رشته متصل می شود (شکل ۱۲).



شکل ۱۲ - همانندسازی دنا

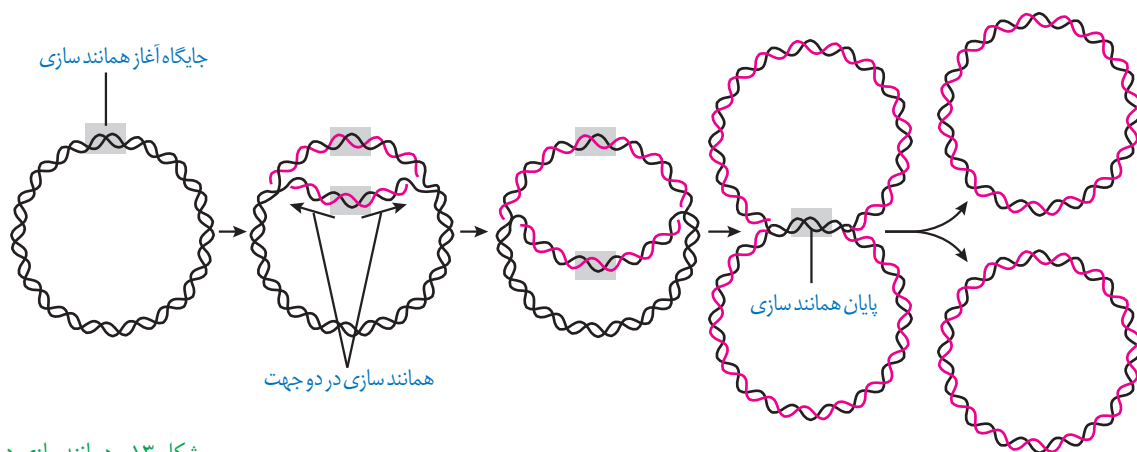
فعالیت های آنزیم دنا بسپاراز

همانندسازی دنا با دقت زیادی انجام می شود؛ این دقت تا حدود زیادی مربوط به رابطه مکملی بین نوکلئوتیدها است. اگرچه آنزیم دنا بسپاراز، نوکلئوتیدها را براساس رابطه مکملی مقابل هم قرار می دهد ولی گاهی در این مورد اشتباهی هم صورت می گیرد؛ بنابراین آنزیم دنا بسپاراز پس از برقراری هر پیوند فسفودی استر، برمی گردد و رابطه مکملی نوکلئوتید را بررسی می کند که رابطه آن درست است یا اشتباه؟ اگر اشتباه باشد آن را برداشته و نوکلئوتید درست را به جای آن قرار می دهد. برای حذف نوکلئوتید نادرست باید بتواند پیوند فسفودی استر را بشکند و نوکلئوتید نادرست را از دنا جدا کند. توانایی بریدن دنا را فعالیت **نوکلئازی** گویند که در آن پیوند فسفودی استر می شکند. بنابراین آنزیم دنا بسپاراز، هم فعالیت **بسپارازی** (پلیمرازی) دارد که در آن پیوند فسفودی استر را تشکیل می دهد و هم فعالیت نوکلئازی که در آن پیوند فسفودی استر را برای رفع اشتباه می شکند. فعالیت نوکلئازی دنا بسپاراز را که باعث رفع اشتباه ها در همانندسازی می شود، **ویرایش** می گویند.

همانند سازی در پروکاریوت ها و یوکاریوت ها

در پروکاریوت ها که شامل همه باکتری ها می شوند، مولکول های وراثتی در غشا محصور نشده

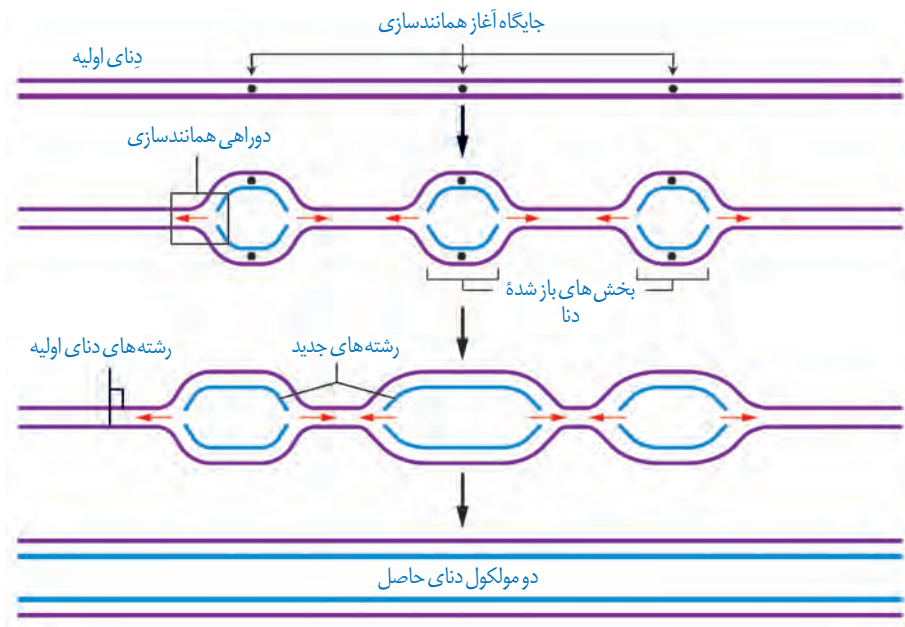
و فام تن اصلی دارای یک مولکول دِنای حلقوی است که در سیتوپلاسم قرار دارد و به غشای یاخته متصل است. پروکاریوت‌ها علاوه بر دِنای اصلی ممکن است مولکول‌هایی از دِنایی دیگر به نام **دیسک** (**پلازمید**) داشته باشند. اطلاعات این مولکول‌ها می‌تواند ویژگی‌های دیگری را به باکتری بدهد مانند افزایش مقاومت باکتری در برابر **پادزیست (آنتی بیوتیک) ها**.
اغلب پروکاریوت‌ها فقط یک جایگاه آغاز همانندسازی در دِنای خود دارند. در این جایگاه دو رشته دِنای هم باز می‌شوند. همانند یوکاریوت‌ها، همانندسازی دو جهتی در باکتری‌ها نیز وجود دارد؛ یعنی از یک نقطه همانندسازی شروع و در دو جهت ادامه می‌یابد تا به همدیگر رسیده و همانندسازی پایان یابد (شکل ۱۳).



شکل ۱۳- همانندسازی دو جهتی دِنای پروکاریوت‌ها با یک نقطه آغاز

در یوکاریوت‌ها که بقیه موجودات زنده یعنی آغازیان، قارچ‌ها، گیاهان و جانوران را شامل می‌شوند دِنای هر فام تن به صورت خطی است و مجموعه‌ای از پروتئین‌ها که مهم‌ترین آنها هیستون‌ها هستند همراه آن قرار دارند. بیشتر دِنای درون هسته قرار دارد که به آن **دِنای هسته‌ای** می‌گویند. در یوکاریوت‌ها علاوه بر هسته در سیتوپلاسم نیز مقداری دِنای وجود دارد که به آن **دِنای سیتوپلاسمی** می‌گویند. این نوع از دِنای که حالت حلقوی دارد در راکیزه (میتوکندری) و دیسه (پلاست) دیده می‌شود.

همانندسازی در یوکاریوت‌ها بسیار پیچیده‌تر از پروکاریوت‌ها است. علت این مسئله وجود مقدار زیاد دِنای و قرار داشتن در چندین فام تن است که هر کدام از آنها چندین برابر دِنای باکتری هستند. بنابراین اگر فقط یک جایگاه آغاز همانندسازی در هر فام تن داشته باشند مدت زمان زیادی برای همانندسازی لازم است. به همین علت در یوکاریوت‌ها، آغاز همانندسازی در چندین نقطه در هر فام تن انجام می‌شود (شکل ۱۴).
تعداد جایگاه‌های آغاز همانندسازی در یوکاریوت‌ها حتی می‌تواند بسته به مراحل رشد و نمو تنظیم شود؛ مثلاً در دوران جنینی در مراحل مورولا و بلاستولا (مرحله تشکیل بلاستوسیست) سرعت تقسیم زیاد و تعداد جایگاه‌های آغاز همانندسازی هم زیاد است ولی پس از تشکیل اندام‌ها، سرعت تقسیم و تعداد جایگاه‌های آغاز کم می‌شوند.



شکل ۱۴- همانندسازی در یوکاریوت‌ها