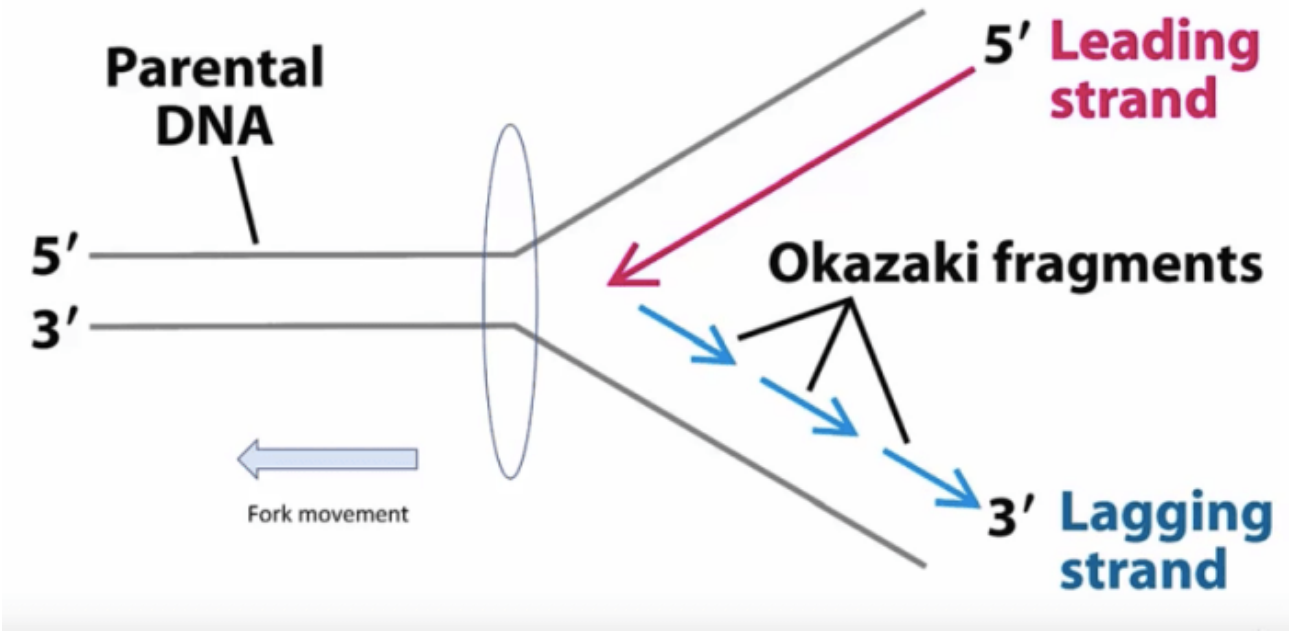
المحاضرة السابعة : آلية تضاعف الـ DNA

تبدأ عملية تضاعف جزيئة الدنا من منشأ التكرار ، اذ تبدأ أشرطة الدنا بالابتعاد عن بعضهما البعض بوساطة البروتينات التي سبقت الاشارة اليها ، وبفعل انزيمي gyrase و helicase وحسب المهام المناطة لكل منهما ، ثم يتغلغل أنزيم DNA polymerase III ما بين هذه الاشرطة ليباشر بإضافة النيوكليوتيدات الى النهاية 3^- - OH للبوادئ التي تتكون عند بداية الاشرطة المفتوحة من منشأ التكرار. ولما كان عمل انزيم Primase المكون للبوادئ هو باتجاه 5^- الى 3^- وعمل انزيمات البلمرة باتجاه 5^- الى 3^- ايضا وعلى أساس الشريط النامي الجديد ، عليه فان عملية التضاعف تكون مستمرة باتجاه وغير مستمرة في الاتجاه الثاني من منشأ التكرار، وهذه خاصية اخرى من الخواص التي تميز عملية التضاعف الى جانب الخاصيتين اللتين سبق الاشارة اليهما وهي خاصية شبه المحافظ Semiconservative وخاصية ثنائية الاتجاه Bidirectional .

ان استمرار التضاعف بشكل متقطع في أحد الاتجاهين من منشأ التكرار يؤدي بالنتيجة الى بناء الاشرطة يؤدي بالنتيجة الى بناء الاشرطة في هذا الاتجاه على نحو قطع صغيرة تحتاج الى الربط وهذه القطع تسمى بقطع اوكازاكي fragments Okazaki نسبة الى مكتشفها ، والتي تتراوح اطوالها بين 1000 نيوكليوتيد و2000 نيوكليوتيد ويتم ربط هذه القطع بوساطة انزيم اللايكيز ligase .

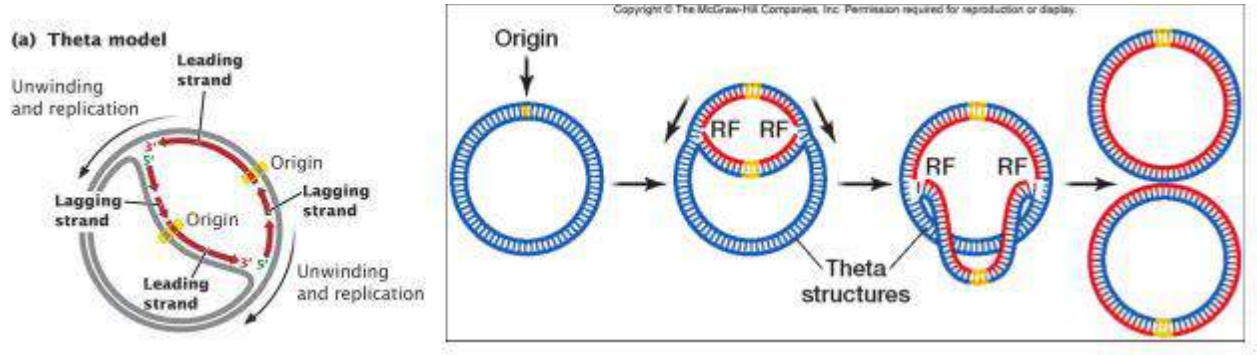


وتسمى الأشرطة الجديدة التي تتكون بشكل مستمر وعلى نحو قطعة واحدة بالأشرطة المتقدمة Leading strand اما الاشرطة التي تتكون على شكل قطع اوكازاكي ويتم ربطها لاحقا ، فتسمى بالأشرطة المتأخرة او المتباطئة Lagging strand ، وينمو النوع الاول باتجاه شوكة التكرار في حين يكون اتجاه نمو النوع الثاني معاكسا لاتجاه شوكة التكرار .

تتم ازالة البوادئ بوساطة انزيمات البلمرة نفسها لاسيما تلك التي تمتلك فعالية الازالة باتجاه 3^- الى 5^- واملاء الفراغات الناشئة عنها بفعالية البلمرة باتجاه 5^- الى 3^- .

تكتمل عملية التضاعف عند نقطة تقع مقابل منشأ التكرار تقريبا تسمى بالمنهي Terminus اذ يتم ربط نهايتي الأشرطة النامية عن طريق انزيم DNA ligase ايضا.

وكما سبق ذكره ان عملية التكرار ثنائية الاتجاه من منشأ التكرار ، ولان دنا البكتريا دائرية مغلقة النهايتين وتحتوي على منشأ تكرار واحد فان منشأ التكرار هذا سينشئ عنه شوكتي تكرار وباتجاهين متعاكسين ، وتزداد سعة شوكتي التكرار مع استمرار نمو الاشرطة الجديدة فتبدو الدنا في مرحلة معينة من التكرار شبيها بالحرف الاغريقي ثيتا θ . من هنا فان التكرار من هذا النوع يسمى بتكرار ثيتا Theta replication ، اما في الدنا الخطي او مفتوح النهايتين كما في كروموسومات حقيقية النواة فان التضاعف يكون خطيا Linear replication .



التضاعف على نمط ثيتا في الكائنات البدائية النواة

التيلوميرات والتيلوميريزات:

يطلق على اطراف الكروموسومات اوالدنا في حقيقية النواة بالتيلوميرات Telomeres وتتميز بانها مؤلفة من وحدات مكررة من النيوكليوتيدات ، تتمثل هذه الوحدات بـ TTAGGG والتي يصل طولها احيانا الى حوالي 15000 زوج قاعدة نيتروجينية، وتفيد في الحيلولة دون حصول قصر في طول الدنا في اثناء التضاعف ومنع التصاق الدنا او الكروموسومات مع بعضها ومن اطرافها على وجه التحديد ومن هنا جاءت تسميتها بالأغطية الواقية او قلنسوة الكروموسومات احيانا.

ونظرا لان انزيمات بلمرة الدنا لا تقوم ببناء الاشرطة باتجاه 3^{-} الى 5^{-} ، عليه فان البوادئ المزالة من اطراف الاشرطة النامية ومن النهاية 5^{-} بعد الانتهاء من التضاعف سوف تترك فراغا لا يمكن ردمها بهذه الانزيمات ، مما يتسبب في قصر طول الشريط النامي عن الشرط القالب بقدر عدد نيوكليوتيدات تلك البوادئ والتي تتراوح بين 25 و 200 نيوكليوتيد ، وذلك في كل دورة من دورات التضاعف حتى يبلغ حدا حرجا يغدو معه التضاعف امرا مستعصيا ، وتدخل الخلية التي تتوقف مادتها الوراثية عن التضاعف طور الشيخوخة والتي يكون مصيرها مع الزمن الهلاك ، بمعنى ان تناقص طول التيلوميرات هو السبب الفعلي في حدوث شيخوخة الخلايا والانسجة .

بيد ان الكائنات الحية تمتلك آلية لمعالجة تآكل اطراف الكروموسومات او الدنا في خلاياها وترميمها وتعويضها وتجاوز هذه الحالة الخطرة من أجل اطالة عمرها وتأخير ظهور الشيخوخة عليها وذلك بوساطة انزيم

التيلوميريز Telomerase ، وهو من الانزيمات النادرة يتألف من بروتين وحامض نووي رايبوزي Ribonucleoprotein يقوم باضافة تتابعات مكررة معينة مماثلة للتتابعات الموجودة في التيلوميرات الى النهاية 3^- من جزيئة الدنا متخذا من الرنا الموجود في تركيبة البوادئ قالبا لهذا الغرض مؤديا الى اطالة هذه الاشرطة لتجاوز حالات التقصر في اثناء التضاعف.

والتيلوميريزات تتسم بنشاط عال في انسجة الجنين والخلايا الجنسية والخلايا السرطانية بخلاف الخلايا الجسمية التي تكون فيها فعالية هذا الانزيم واطئة او معدومة لذلك فان هذه الخلايا هي الوحيدة التي تتعرض الى الشيخوخة المبرمجة.

الأخطاء التي تحدث في اثناء التكرار :

أظهرت التليلات الوراثية ان معدلات الأخطاء التي تحدث في اثناء تضاعف جزيئة الدنا لاتتجاوز غير خطأ واحد لكل 10^9 الى 10^{10} زوجا من القواعد النيتروجينية التي تتم بلمرتها لتخليق او بناء شريط جديد من الدنا ، الا ان الاخطاء تزداد بفعل عوامل فيزيائية او كيميائية ، لكن الخلية تسارع الى اصلاحها بما تمتلك من الآليات المتخصصة التي تسخر لهذا الغرض تحديدا.

ومن هذه الاخطاء :

1- اضافة قاعدة نيتروجينية مكان قاعدة نيتروجينية اخرى.
2- حصول كسر او قطع في الاواصر الأسترية ثنائية الفوسفات في العمود الفقري لجزيئة الدنا .
3- حصول ما يعرف بالارتباط المتقاطع Cross linkage ما بين القواعد النيتروجينية المتجاورة على الشريط نفسه والذي يحدث بفعل الاشعاعات المتأينة كالأشعة فوق البنفسجية ...

ان عدم اصلاح هذه الاخطاء في الخلية يؤدي الى ما يعرف بالطفرة الوراثية Mutation والتي تختلف في درجة تأثيرها على الكائن بين طفرة قاتلة وطفرة صامتة تمر دون ان تنعكس على اي فعالية من فعاليات الكائن.

ان اي خطأ او تغيير معلومة حتى وان كان على مستوى قاعدة نيتروجينية واحدة في احد الشريطين تتم معالجته بالاعتماد على المعلومة الموجودة في الشريط الثاني المقابل وبعملية ازالة الخطأ واملاء الفراغات (تصحيح القراءة) بوساطة انزيمات التضاعف .