## گفتار ۲ همانندسازی دِنا

با توجه به اینکه دِنا به عنوان ماده وراثتی، حاوی اطلاعات یاخته است، این پرسش مطرح می‌شود که هنگام تقسیم یاخته، این اطلاعات، چگونه بدون کم وکاست به دو یاخته حاصل از تقسیم می‌رسند؟

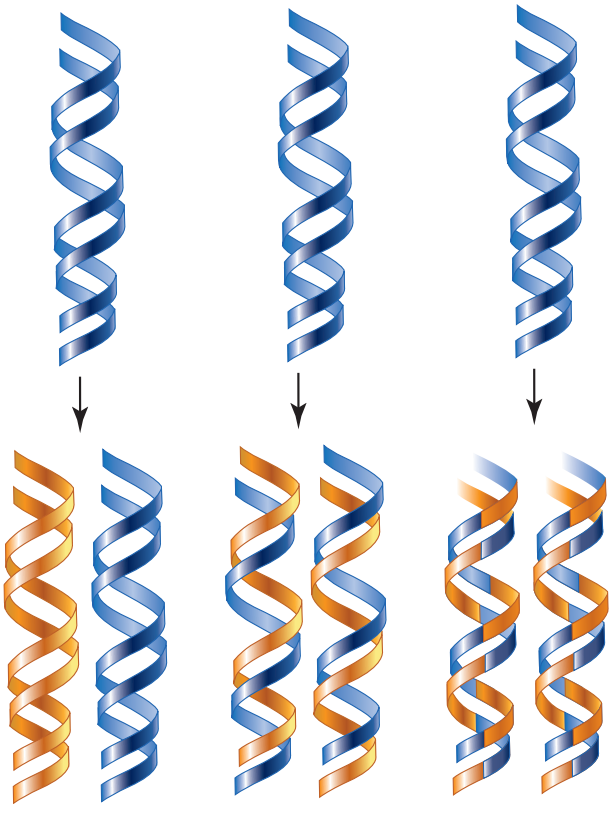
این کار با همانندسازی دِنا انجام می‌شود. به ساخته شدن مولکول دِنای جدید از روی دِنای قدیمی **همانندسازی**[۱] می‌گویند.

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

* همانند سازی یعنی از یک مولکول دنا، دو مولکول عین و همانند ساخته بشه.

**۱ـ همانندسازی حفاظتی:** در این طرح هر دو رشتهٔ دِنای قبلی (اولیه) به‌صورت دست نخورده باقی مانده، وارد یکی از یاخته‌های حاصل از تقسیم می‌شوند، دو رشته دِنای جدید هم وارد یاختهٔ دیگر می‌شوند. چون دِنای اولیه به‌صورت دست نخورده در یکی از یاخته‌ها حفظ شده است به آن همانندسازی حفاظتی می‌گویند.

**۲ـ همانندسازی نیمه حفاظتی:** در این طرح در هر یاخته یکی از دو رشته دِنا مربوط به دِنای اولیه است و رشتهٔ دیگر با نوکلئوتیدهای جدید ساخته شده است. چون در هر یاختهٔ حاصل، فقط یکی از دو رشته دِنای قبلی وجود دارد، به آن نیمه‌حفاظتی می‌گویند.




شکل ۹ـ طرح‌های مختلف برای همانندسازی

**۳ـ همانندسازی غیر حفاظتی (پراکنده):** در این طرح هر کدام از دِناهای حاصل، قطعاتی از رشته‌های قبلی و رشته‌های جدید را به‌صورت پراکنده در خود دارند.

* الگوی استفاده از قطعات جدید و قدیمی در هر دو مولکول حاصل یکسان بوده و دو مولکول شبیه هم هستند.

### کدام طرح مورد تأیید قرار گرفته است؟

* در طرح غیر حفاظتی برخلاف دو طرح دیگر، شکسته شدن پیوندهای فسفودی استر نیز قابل مشاهده است.

مزلسون[۲] و استال[۳] با به‌کارگیری روش علمی پاسخ این پرسش را به‌دست 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 دِنای نوساز را از رشته‌های قدیمی تشخیص دهند. آنها با این هدف دِنا را با استفاده از نوکلئوتیدهایی که ایزوتوپ سنگین نیتروژن ($^{15}N$) دارند، نشانه‌گذاری کردند.

---

۱ـ Replication
۲ـ Meselson
۳ـ Stahl

* همانند سازی ماده وراثتی سلول های یوکاریوتی در مرحله S اینترفاز انجام می شود.
* ایزوتوپ ها، اتم های یک عنصر هستند که عدد اتمی یکسان ولی عدد جرمی متفاوت دارند.

* باکتری ها با روش دو نیم شدن تقسیم می شوند.

دِناهایی که با $^{15}N$ ساخته می‌شوند نسبت به دِنای معمولی که در نوکلئوتیدهای خود $^{14}N$ دارد چگالی بیشتری دارند. بنابراین، به‌وسیلهٔ گریزانهٔ با سرعت بسیار بالا[1] می‌توان آنها را از هم جدا کرد.

* باکتری ها نیتروژن های سنگین را برای ساخت بازهای آلی نیتروژن دار به کار بردند و از این باز ها در ساختار نوکلئوتید های خود استفاده کرده و از همان نوکلئوتید ها در همانند سازی مولکول دنا بهره بردند.

آنها ابتدا باکتری‌ها را در محیط دارای $^{15}N$ کشت دادند. $^{15}N$ در ساختار بازهای آلی نیتروژن‌دار که در ساخت دِنای باکتری شرکت می‌کنند، وارد شدند. پس از چندین مرحله رشد و تکثیر در این محیط، باکتری‌هایی تولید شدند که دِنای سنگین‌تری نسبت به باکتری‌های اولیه داشتند.

* شیبی از محلول سزیم کلرید در حقیقت محلولی است که از بالای لوله به سمت انتهای آن غلظت و چگالیش بیشتر می شود.

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.

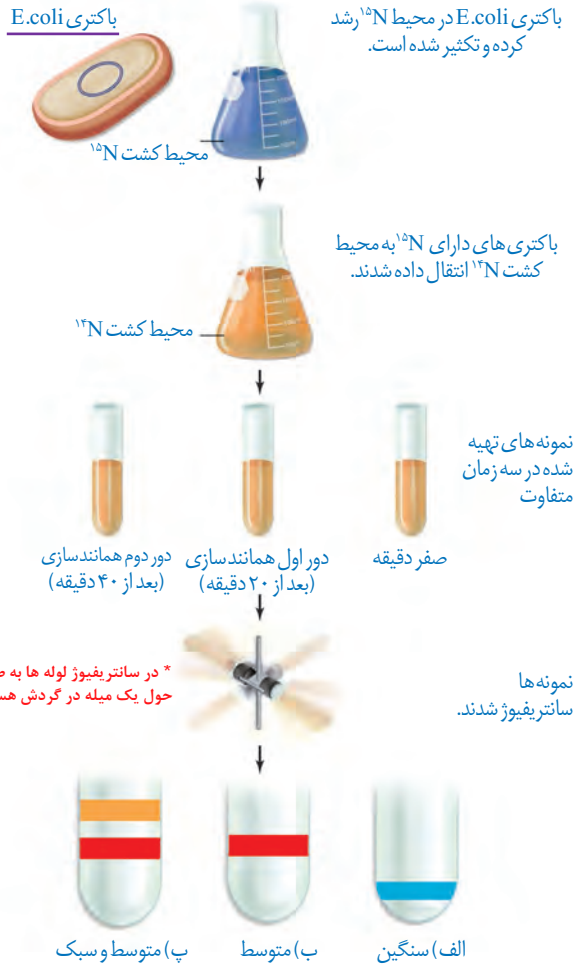
* پروکاریوت ها (باکتری ها) چرخهٔ سلولی ندارند.

* لایهٔ سبک تماما از دنای جدید ساخته شده است.

برای سنجش چگالی دِناها در هر فاصلهٔ زمانی، دِنای باکتری‌را استخراج و در شیبی از محلول سزیم‌کلرید 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.

* طرح پراکنده هرگز نمی تواند لایهٔ سبک ایجاد کند.

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




* همانند سازی اول برای رد طرح پراکنده (غیر محافظتی) کافی نبود.

* دلیل قرار دادن باکتری ها در محیط کشت نیتروژن سنگین این بود که در ابتدا مشخص نبود در ساختار بازها کدام نوع نیتروژن وجود دارد. (نشانه گذاری باکتری ها)

* اگر مزلسون و استال آزمایش خود را بعد از 40 دقیقه ادامه می دادند، با هر بار همانند سازی مشاهده می شد که ضخامت نوار متوسط همواره یکسان و ضخامت نوار سبک در حال افزایش است.

شکل ۱۰ــ آزمایش‌های مزلسون و استال و نتایج به‌دست آمده:
الف) دِنای باکتری‌های اولیه پس از گریز دادن، یک نوار در انتهای لوله تشکیل دادند چون هر دو رشته دِنای آنها $^{15}N$ و چگالی سنگینی داشت.
ب) دِنای 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 دِنای آنها چگالی متوسط داشت.
پ) دِنای 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؟

* در سانتریفیوژ لوله ها به صورت افقی با سرعت زیادی حول یک میله در گردش هستند.

* در مرحله الف، نوار سنگین تشکیل شده نشان دهنده این است که هر دو رشتهٔ دناهای استخراج شده دارای نیتروژن سنگین در ساختار نوکلئوتید های خود هستند.

* در مرحله ب، نوار متوسط تشکیل شده نشان دهنده این است که یکی از رشته های دناهای استخراج شده دارای نیتروژن سبک و دیگری دارای نیتروژن سنگین در ساختار نوکلئوتید های خود است.

* طرح حفاظتی در صورتی پذیرفته بود که در مرحله ب علاوه بر نوار سنگین (حاوی دناهای دو رشته ای سنگین) نوار سبکی هم ایجاد می شد.

* طرح غیر حفاظتی در صورتی پذیرفته بود که در مرحله پ تنها یک نوار (با چگالی اندکی بیش از متوسط) تشکیل می شد.

۱ــ Ultracentrifuge

با مشخص شدن اینکه همانندسازی به صورت نیمه حفاظتی انجام می‌شود، سؤال دیگری مطرح شد: دو رشته دِنا 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.

* در سانتریفیوژ لوله ها به صورت افقی با سرعت زیادی حول یک میله در گردش هستند.

## عوامل و مراحل همانندسازی

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

ـ مولکول دِنا به عنوان الگو

ـ واحدهای سازندهٔ دِنا که بتوانند در کنار هم نسخه مکمل الگو را بسازند. این واحدها نوکلئوتیدهای آزاد داخل یاخته و سه فسفاته هستند که در لحظهٔ اتصال به رشته پلی نوکلئوتید در حال ساخت، دو فسفات خود را از دست می‌دهند.

ـ آنزیم‌های لازم برای همانندسازی که ضمن بازکردن دو رشته نوکلئوتیدها را به‌صورت مکمل روبه‌روی هم قرار می‌دهد و با پیوند فسفودی‌استر به هم وصل می‌کند.

**مراحل همانندسازی:** قبل از همانندسازی دِنا 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**[1] مارپیچ دنا و دو رشته آن را از هم باز می‌کند (شکل ۱۱).

شکل ۱۱ـ همانندسازی دِنا

به نظر شما برای باز شدن دورشته دِنا آنزیم هلیکاز چه پیوندهایی را از هم باز می‌کند؟ پیوند های هیدروژنی

انواع دیگری از آنزیم‌ها با همدیگر فعالیت می‌کنند تا یک رشته دِنا در مقابل رشته الگو ساخته شود.

یکی از مهم‌ترین آنها که نوکلئوتیدهای مکمل را با نوکلئوتیدهای رشته الگو جفت می‌کند **دِنابسپاراز**[2] (DNA پلی‌مِراز) است. با توجه به اینکه در محل آزاد همانندسازی، همانندسازی در دو جهت انجام می‌شود؛ به آن **همانندسازی دو جهتی** نیز می‌گویند.

* پیوند های هیدروژنی که توسط هلیکاز شکسته می شوند، همواره بین یک پورین و یک پیریمیدن قرار دارند.

* دنا بسپاراز هنگام جفت کردن نوکلئوتید های آزاد با نوکلئوتید های درون رشته بر اساس بازهای مکملشان، بین نوکلئوتید های آزاد پیوند فسفودی استر ایجاد کرده و رشته پلی نوکلئوتیدی ایجاد می کند.

* باز شدن پیچ و تاب های کروماتین ها در مرحله S اینترفاز انجام می شود.

* در مرحله S اینترفاز ساختار های هسته تن (نوکلئوزوم) از بین می روند.

* به گفته کتاب سال یازدهم، پادتن ها نیز Y شکل هستند.

۱ـ Helicase

۲ـ DNA Polymerase

### بیشتر بدانید

#### گریزانهٔ هم‌چگال

برای جداکردن ذره هایی با چگالی متفاوت و تعیین چگالی آنها از روشی به نام گریزانهٔ هم‌چگال 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 مولکول های مد نظر در این محلول و حرکت آنها حین سانتریفیوژ، براساس چگالی خود در نقطه ای متوقف می شوند. چون ذره ها با چگالی یکسان در یک منطقه تجمع می‌یابند، نوارهایی را تشکیل می دهند که به آسانی قابل تشخیص اند. با مشخص شدن چگالی محلول درهرنقطه ازلوله، می توان چگالی ذره های مورد آزمایش را معلوم کرد.

* هیچ آنزیمی به صورت مستقیم سبب تشکیل پیوند هیدروژنی نمی شود.

**دوراهی همانندسازی:** در شکل ۱۱ می‌بینید در محلی که دو رشتهٔ دِنا از هم جدا می‌شوند، دو ساختار Y مانند به‌وجود می‌آید که به هریک از آنها دوراهی همانندسازی می‌گویند. در فاصلهٔ بین این دو ساختار، پیوندهای هیدروژنی بین دو رشته از هم گسیخته و دو رشته از یکدیگر باز شده‌اند. همچنین پیوندهای فسفودی‌استر جدیدی در حال تشکیل هستند. دِنابسپاراز نوکلئوتیدها را به انتهای رشته در حال تشکیل اضافه می‌کند. 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 سه‌فسفاته به انتهای رشته پلی‌نوکلئوتید دو تا از فسفات‌های آن از مولکول جدا می‌شوند و نوکلئوتید به‌صورت تک‌فسفاته به رشته متصل می‌شود (شکل ۱۲).

شکل ۱۲ ــ همانندسازی دِنا

* در میان نوکلئوتید های آزاد، نوکلئوتید هایی با بازآلی یوراسیل نیز دیده می شود. (در همانند سازی استفاده نمی شوند)

## فعالیت‌های آنزیم دِنابسپاراز

همانندسازی دِنا با دقت زیادی انجام می‌شود؛ این دقت تاحدود زیادی مربوط به رابطهٔ مکملی بین نوکلئوتیدها است. اگرچه آنزیم دِنابسپاراز، نوکلئوتیدها را براساس رابطهٔ مکملی مقابل هم قرار می‌دهد ولی گاهی در این مورد اشتباهی هم صورت می‌گیرد؛ بنابراین آنزیم دِنابسپاراز پس از برقراری هر پیوند فسفودی‌استر، برمی‌گردد و رابطهٔ مکملی نوکلئوتید را بررسی می‌کند که رابطهٔ آن درست است یا اشتباه؟ اگر اشتباه باشد آن را برداشته و نوکلئوتید درست را به‌جای آن قرار می‌دهد. برای حذف نوکلئوتید نادرست باید بتواند پیوند فسفودی‌استر را بشکند و نوکلئوتید نادرست را از دِنا جدا کند. توانایی بریدن دِنا را فعالیت بسپار سازی **نوکلئازی** نوکلئوتید سازی گویند که در آن پیوند فسفودی استر می‌شکند. بنابراین آنزیم دِنابسپاراز، هم فعالیت **بسپارازی** (پلیمرازی) دارد که در آن پیوند فسفودی استر را تشکیل می‌دهد و هم فعالیت نوکلئازی که در آن پیوند فسفودی استر را برای رفع اشتباه می‌شکند. فعالیت نوکلئازی دنابسپاراز را که باعث رفع اشتباه‌ها در همانندسازی می‌شود، **ویرایش** می‌گویند.

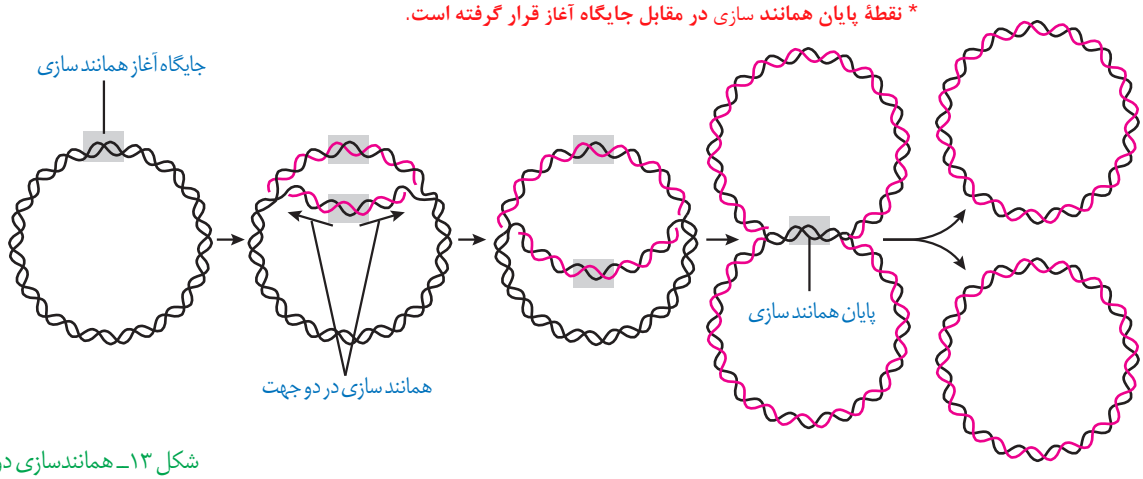
## همانند سازی در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها

در پروکاریوت‌ها که شامل همهٔ باکتری‌ها می‌شوند، مولکول‌های وراثتی در غشا محصور نشده فاقد هسته

و فام‌تن 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 **دیسَک (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 دِنا از هم باز می‌شوند. همانند یوکاریوت‌ها، همانندسازی دوجهتی 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).

* نقطهٔ پایان همانند سازی در مقابل جایگاه آغاز قرار گرفته است.



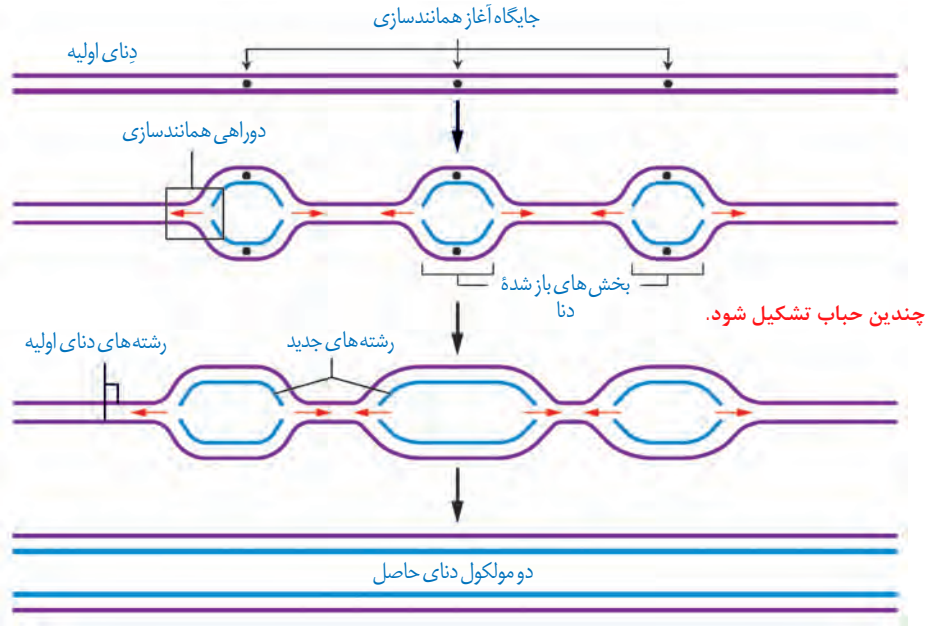

شکل ۱۳ــ همانندسازی دو جهتی دِنا در پروکاریوت‌ها با یک نقطهٔ آغاز

* دنای حلقوی در سیتوپلاسم یوکاریوت ها، کروموزوم به شمار نمی آید.

در یوکاریوت‌ها که بقیه موجودات زنده یعنی آغازیان، قارچ‌ها، گیاهان و جانوران را شامل می‌شوند دِنا در هر فام‌تن به‌صورت خطی است و مجموعه‌ای از پروتئین‌ها که مهم‌ترین آنها هیستون‌ها هستند همراه آن قرار دارند. بیشتر دِنا درون هسته قرار دارد که به آن **دِنایِ هسته‌ای** می‌گویند. در یوکاریوت‌ها علاوه بر هسته در سیتوپلاسم نیز مقداری دِنا وجود دارد که به آن **دِنای سیتوپلاسمی** می‌گویند. این نوع از دِنا 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 دِنا و قرار داشتن در چندین فام‌تن است که هر کدام از آنها چندین برابر دِنای باکتری هستند. بنابراین اگر فقط یک جایگاه آغاز همانندسازی در هر فام‌تن داشته باشند مدت زمان زیادی برای همانندسازی لازم است. به همین علت در یوکاریوت‌ها، آغاز همانندسازی در چندین نقطه در هر فام‌تن 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. * تعداد جایگاه های همانند سازی علاوه بر مراحل رشد و نمو، به نوع سلول و وظیفهٔ آن نیز بستگی دارد.




شکل ۱۴ ــ همانندسازی در یوکاریوت‌ها

* هنگام همانند سازی ممکن است روی یک مولکول دنا چندین حباب تشکیل شود.