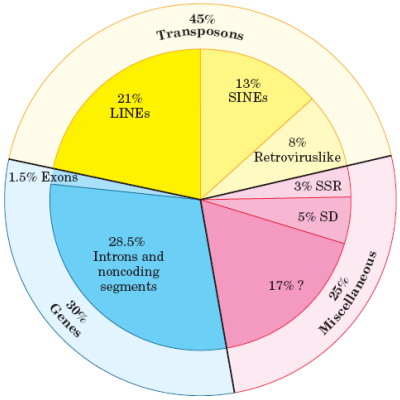
۱ مقدمه

تا این‌جا متابولیسم RNA که شامل رونویسی و پردازش و متابولیسم پروتئین که شامل ترجمه بود را توضیح دادیم. حال به متابولیسم DNA می‌پردازیم که از دو مرحله همانندسازی DNA و ترمیم و نوترکیبی تشکیل شده است. در حالت کلی به متابولیسم، مجموعه شکستن و پیوستن پیوندهای شیمیایی گویند.

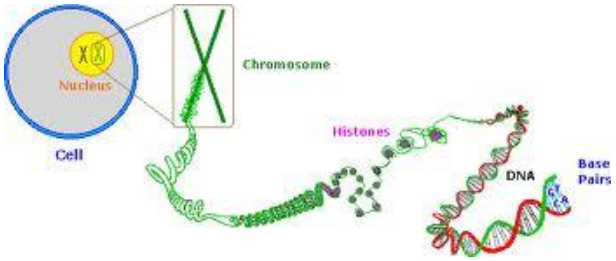
ژن قطعه‌ایی از DNA است که مولکول RNA و در نهایت پروتئینی را کد می‌کند که طبق شکل زیر DNA از اگزون، اینترون و توالی‌های تنظیمی تشکیل شده است.



شکل۱. اجزای تشکیل‌دهنده DNA.

۲ تعریف کروموزوم

در درون هسته هر سلول مولکول DNA بسته‌بندی شده قرار دارد. بسته‌بندی این مولکول در درون هسته سلول ساختارهایی را ایجاد می‌کند که کروموزوم نامیده می‌شوند. از حاصل بارها پیچ خوردگی محکم مولکول رشته مانند DNA به‌دور هسته‌های پروتئینی به نام هیستون، کروماتیدها ایجاد می‌شوند که از مجموعه دو کروماتید نظیر هم که از محل سانترومر بهم متصل‌اند کروموزوم را ایجاد می‌کنند. شکل۲ مراحل تبدیل رشته DNA به کروموزوم را نشان می‌هد.

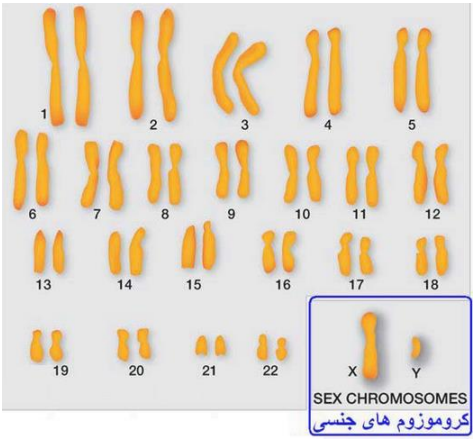


شکل۲. مراحل تبدیل رشته DNA به کروموزوم.

نگارنده: عادله بیطرفان

ایمیل: adele.bitarafan@gmail.com

سلول‌های انسان از دو گروه کروموزوم که یک گروه از مادر و دیگری از پدراست به ارث می‌رسد. هر گروه کروموزوم از ۲۳ کروموزوم تنها تشکیل شده (۲۲ کروموزوم غیر جنسی و یک کروموزوم جنسی که یا به صورت Yو یا به صورت X می‌باشد). گروه کروموزومی که در شکل۳ دیده می‌شود مربوط به مرد است. بخاطر این که شامل کروموزوم (XY) می‌باشد. اگر گروه کروموزوم مربوط به زن باشد گروه کروموزومی شامل کروموزوم X و مجددا کروموزوم X خواهد بود (XX).



شکل۳. کروموزوم‌های انسان.

۳ متابولیسم DNA

متابولیسم DNA از دو مرحله همانندسازی DNA و ترمیم و نوترکیبی تشکیل شده است.

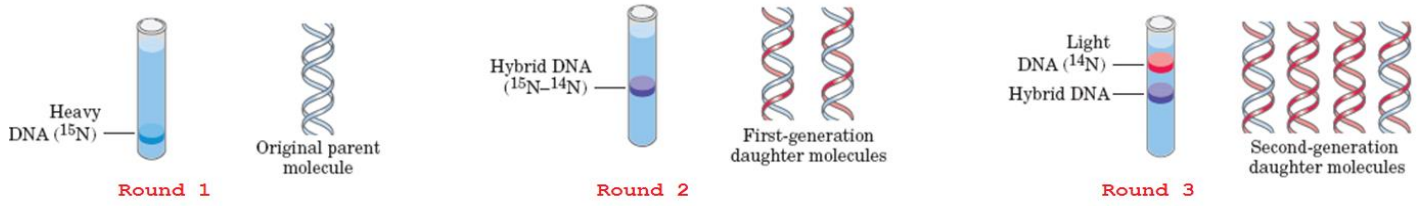
۳.۱ آزمایش مزلسون-استال:

مزلسون و استال برای اثبات نیمه‌حفاظتی بودن فرآیند همانندسازی آزمایشی انجام دادند که به شرح زیر می‌باشد. آنها ابتدا سلول‌های باکتری اشرشیاکلی را در محیط کشت ویژه‌ای که دارای نیتروژن سنگین (N^{15}) و نیتروژن سبک (N^{14}) بود، برای زمان معین کشت دادند (شکل۴، Round1) و مشاهده کردند که تنها DNA حاوی N^{15} در لوله قرار گرفته است. در کشت‌های بعدی از DNA حاصل از کشت قبل مشاهده شد که DNA معمولی که N^{14} دارد به علت داشتن چگالی کمتر در بالای لوله قرار گرفته است در حالی که مولکول DNA با N^{15} در محلی پایین تر از DNA سبک واقع می‌شود. DNA های واجد مقادیر متفاوت N^{15} و N^{14} نیز در بینابین این دو حد جای می‌یرند.

در نهایت با کشت سلول‌های دارای DNA نیتروژن سنگین در محیط کشت حاوی نیتروژن سبک مشاهده می‌شود که مولکول DNA ماهیت سبک- سنگین پیدا می‌کند. یعنی دو رشته DNA کاملا از هم باز شده و رشته‌هایی در تکمیل هر یک از دو رشته قبل ساخته می‌شود. این رشته‌های جدید همگی دارای نیتروژن سبک (محیط کشت جدید) هستند. با ادامه کشت در نسل‌های دوم و سوم ملاحظه می‌شود که از میزان DNA سبک-سنگین کم شده و به DNA سبک افزوده می‌شود.

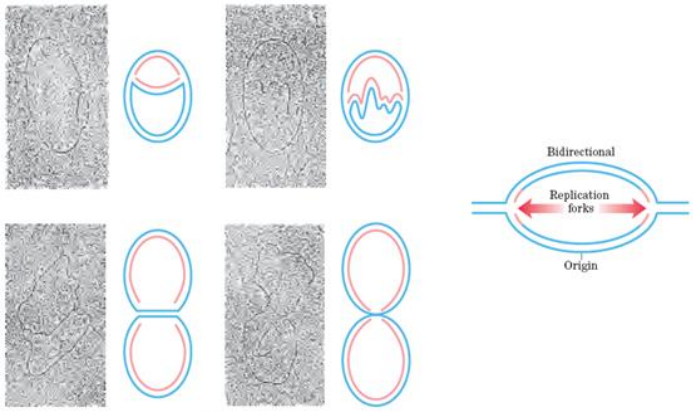
نگارنده: عادله بیطرفان

ایمیل: adele.bitarafan@gmail.com



شکل۴. مراحل همانندسازی باکتری با استفاده از آمایش مزلستون-استان.

درنهایت با انجام آزمایش مزلستون-استان به این نتیجه رسیدند که همانندسازی DNA نیمه‌حفاظتی است. یعنی DNA در همانندسازی همواره یکی از رشته‌های خود را نگه می‌دارد و از رشته دیگر رشته جدید را می‌سازد. همچنین با انجام این آزمایش متوجه شدند که همانندسازی در پروکاریوت‌ها دوطرفه است، چرا که با توجه به شکل۵ متوجه شدند که در هر بار همانندسازی ۲حلقه متصل به‌هم وجود دارد که هر چه به round های بالاتر می‌رویم این دو حلقه از هم جدا می‌شوند.



شکل۵. مراحل همانندسازی پروکاریوت با استفاده از آمایش مزلستون-استان.

۳.۲ آنزیم‌های لازم در همانندسازی

- **آنزیم‌های پلیمراز (Polymerase)**

آنزیم‌هایی هستند که پلیمر شدن زنجیره‌های پلی‌نوکلئوتیدی را کاتالیز می‌کنند. تا کنون سه نوع آنزیم پلیمراز به نام‌های I و II و III جداسازی و مشخصات آنها ارائه شده‌اند. از بین آنها آنزیم پلیمراز III نقش اصلی را در سنتز DNA دارد. از خصوصیات مهم آن، این است که منحصرا نوکلئوتیدها را در جهت '۵ به '۳ بهم متصل می‌کنند و در جهت عکس نمی‌تواند عمل کند. آنزیم پلیمراز II نیز در مرحله‌ای از سنتز DNA وارد شده و سنتز را در جهت '۳ به '۵ پیش می‌برد و آنزیم پلیمراز I عمل ترمیم همانندسازی را انجام می‌دهند.

- **آنزیم هلیکاز (Polymeras)**

این آنزیم به مولکول DNA دو رشته‌ای متصل شده و با عمل خود موجب باز شدن دو رشته از یکدیگر می‌شود.

نگارنده: عادله بیطرفان

ایمیل: adele.bitarafan@gmail.com

- **آنزیم لیگاز (Ligase)**

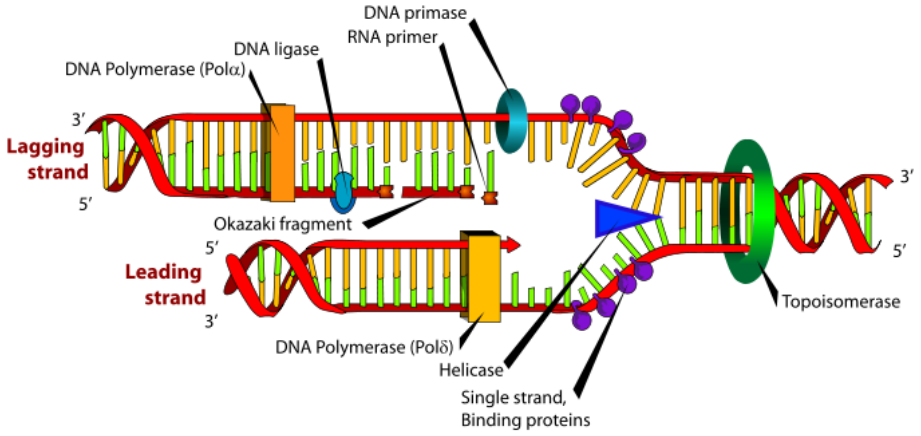
در مرحله‌ای از سنتز DNA وارد عمل شده و دو رشته شکسته شده‌ی DNA را به‌هم پیوند می‌دهد.

- **آنزیم پریماز (Primase)**

آنزیمی است که در ساختن قطعه کوچک RNA پرایمر، هنگام همانندسازی وارد عمل شده و نوکلئوتیدهایی از نوع اسید ریبونوکلئوتید را به یکدیگر متصل می‌کند. تعدادی پروتئین‌های ویژه وجود دارند که پس از باز شدن دو رشته DNA از یکدیگر به محل‌های باز شده متصل شده و مانع اتصال مجدد دو رشته به یکدیگر می‌شوند. درتنیجه برای شروع همانندسازی به آن نیاز داریم.

۳.۳ مراحل همانندسازی

همانندسازی DNA شامل ۳ مرحله است که در این بخش این ۳ مرحله توضیح داده خواهند شد. شکل۶ کلیه این مراحل و آنزیم‌های مورد نیاز برای همانندسازی را نشان می‌دهد.



شکل۶. همانندسازی DNA.

- **مرحله اول:**

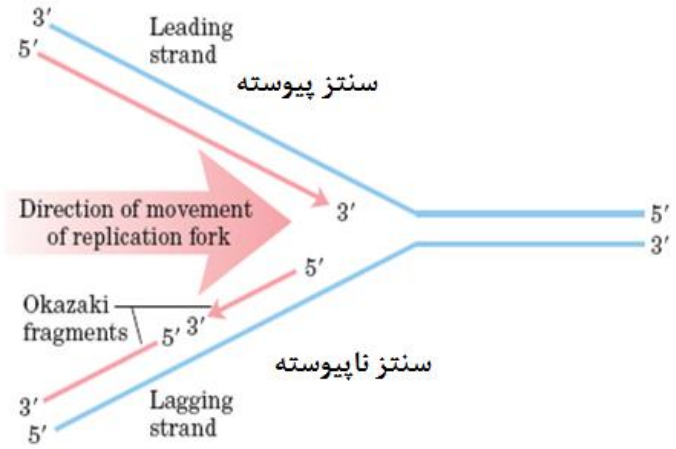
اولین مرحله مهم در همانندسازی DNA شناسایی جایگاه شروع همانندسازی و شکستن پیوندهای هیدروژنی میان بازهای دو رشته موازی ناهمسو است. این رویداد ابتدا در مناطق غنی از نوکلئوتیدهای A و T رخ می‌دهد. دلیل این امر پیوندهای هیدروژنی کمتر میان آدنین و تیمین (۲ پیوند) در مقایسه با گوانین و سیتوزین (۳ پیوند) است. آنزیم هلیکاز مسئول شکستن پیوندها و باز کردن دو رشته از هم می‌باشد. نقطه‌ای که فرآیند همانندسازی از آن شروع می‌شود، نقطه آغاز همانندسازی (origin of replication) نام دارد و ساختاری که در این منطقه ایجاد می‌شود به چنگال همانندسازی (replication fork) معروف است. یکی از مهم‌ترین مراحل شامل اتصال آنزیم RNA primase در نقطه شروع روی زنجیره الگو می باشد. این آنزیم با ایجاد یک RNA کوچک جلوی رشته الگو، در ابتدای فرآیند همانندسازی، یک انتهای آزاد 3′-OH بوجود می آورد تا آنزیم DNA پلیمراز از آن به عنوان نقطه آغاز استفاده نماید.

نگارنده: عادله بیطرفان

ایمیل: adele.bitarafan@gmail.com

- **مرحله دوم:**

پس از شروع همانندسازی مرحله ادامه طویل‌سازی رشته انجام می‌شود که شامل اضافه شدن نوکلئوتیدهای مکمل به ترتیب جلوی الگو می‌باشد. از آنجا که دو رشته DNA موازی ناهمسو هستند، طبق شکل۷، یکی از رشته‌ها در جهت ۵َ ← ۳َ و رشته دیگر در جهت ۳َ ← ۵َ می‌باشد. در صورتی که سنتز DNA تنها در جهت ۳َ ← ۵َ انجام می‌شود. رشته ای که در مقابل رشته الگوی ۵َ ← ۳َ سنتز می شود به صورت ممتد و در جهت ۳َ ← ۵َ پیش می‌رود و به رشته رهبر (leading strand) معروف است در صورتی که رشته دیگر که در مقابل رشته ۳َ ← ۵َ سنتز می‌شود به صورت قطعات ناپیوسته به نام قطعات اکازاکی در جهت ۳َ ← ۵َ از منطقه ای جلوتر سنتز شده و بعداً به هم متصل می‌شوند تا رشته کامل را بوجود آورند. این رشته به رشته پیرو (lagging strand) معروف است. آنزیم های DNA پلیمراز دیگر و آنزیم هلیکاز با کمک یکدیگر عمل برداشت قطعات RNA پرایمری، پر کردن جای خالی و در نهایت اتصال میان قطعات اکازاکی را برعهده دارند.



شکل۷. همانندسازی DNA.

- **مرحله سوم:**

در انتهای مرحله طویل‌سازی، مرحله خاتمه همانندسازی رخ می‌دهد. این مرحله زمانی اتفاق می‌افتد که آنزیم DNA پلیمراز به انتهای رشته‌های الگو می‌رسد. آنزیم و فاکتورهای پروتئینی کمکی از DNA جدا می‌شوند و یک مولکول DNA دو رشته‌ای والدی به دو مولکول DNA دو رشته‌ای کاملاً یکسان تبدیل می‌شوند.

۳.۴ فرآیند نوترکیبی و ترمیم DNA

نوترکیبی تبادل اطلاعات ژنتیکی است و فرآیندی است که طی آن مولکول اسیدنوکلئیک شکسته شده و به شکل‌های مختلف به یکدیگر متصل می‌شوند. تغییرات ایجاد شده در توالی DNA همگی ثابت نیستند و عده کثیری از این تغییرات طی فعالیت سیستم ترمیم اصلاح می‌شوند. در اکثر موارد، جهش‌هایی که به علت عوامل داخل ارگانیسم یا سلول ایجاد می‌شوند با عمل ترمیم برطرف می‌شوند. در این‌جا به ترمیم نوع استخراجی DNA اشاره می‌شود:

نگارنده: عادله بیطرفان

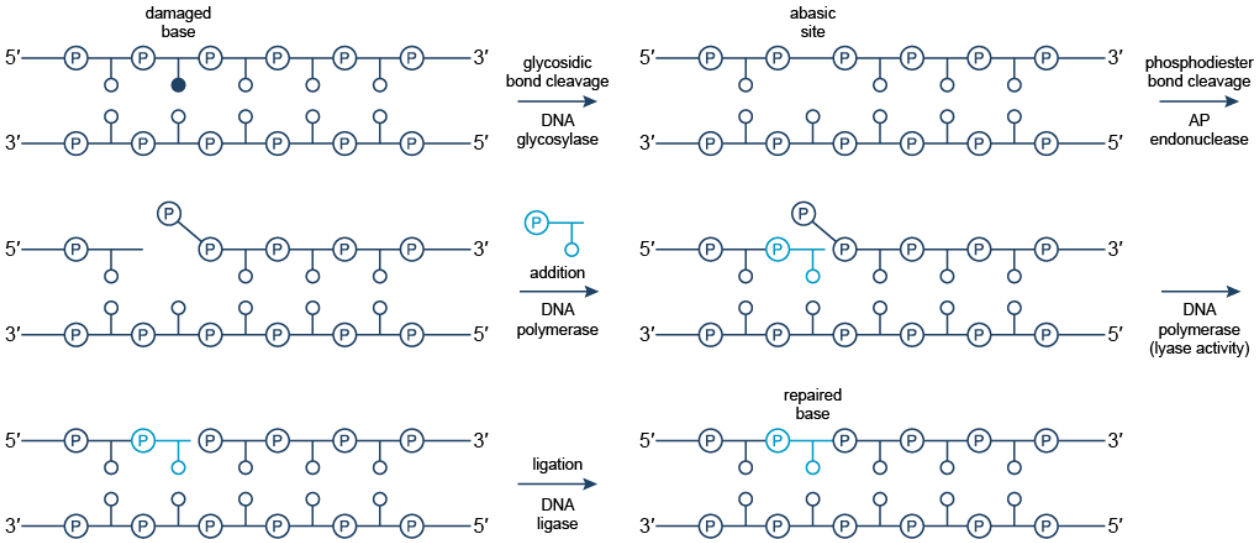
ایمیل: adele.bitarafan@gmail.com

ترمیم استخراجی (Excision Repair)

در این روش با ایجاد برش در ناحیه آسیب‌دیده و خارج کردن آن از توالی DNA قسمت صدمه دیده حذف شده، سپس با درج بازهای جدید و اتصال آن‌ها به توالی DNA ترمیم صورت می‌گیرد. دو دسته از ترمیم‌های استخراجی عبارت‌اند از: استخراج باز و استخراج نوکلئوتیدی.

- **استخراج باز (Base Exicision Repair: BER)**

روش ترمیم با استخراج باز یک روش عمومی برای تعمیر اکثر بازهای آسیب دیده است. ابتدا آنزیم گلیکوزیلاز اختصاصی هر باز، باز آسیب‌دیده را حذف می‌کنند. آنچه از فعالیت این آنزیم باقی می‌ماند قند و فسفات سالم در ستون فقرات DNA است که فاقد باز می‌باشد و به همین دلیل تحت عنوان جایگاه AP یا فاقد باز خوانده می‌شود. سپس آنزیم AP اندونوکلئاز، جایگاه AP را شناسایی کرده و در همان محل، اسکلت قند - فسفات را می‌برد و ناحیه مذکور به همراه چند نوکلئوتید مجاور توسط آنزیم های اندونوکلئاز حذف می‌شوند. ناحیه تک رشته باقی مانده توسط آنزیم DNA پلیمراز I پر شده و اتصال نهایی توسط آنزیم DNA لیگاز برقرار می‌شود، شکل زیر روند کلی این نوع ترمیم را نشان می‌دهد.



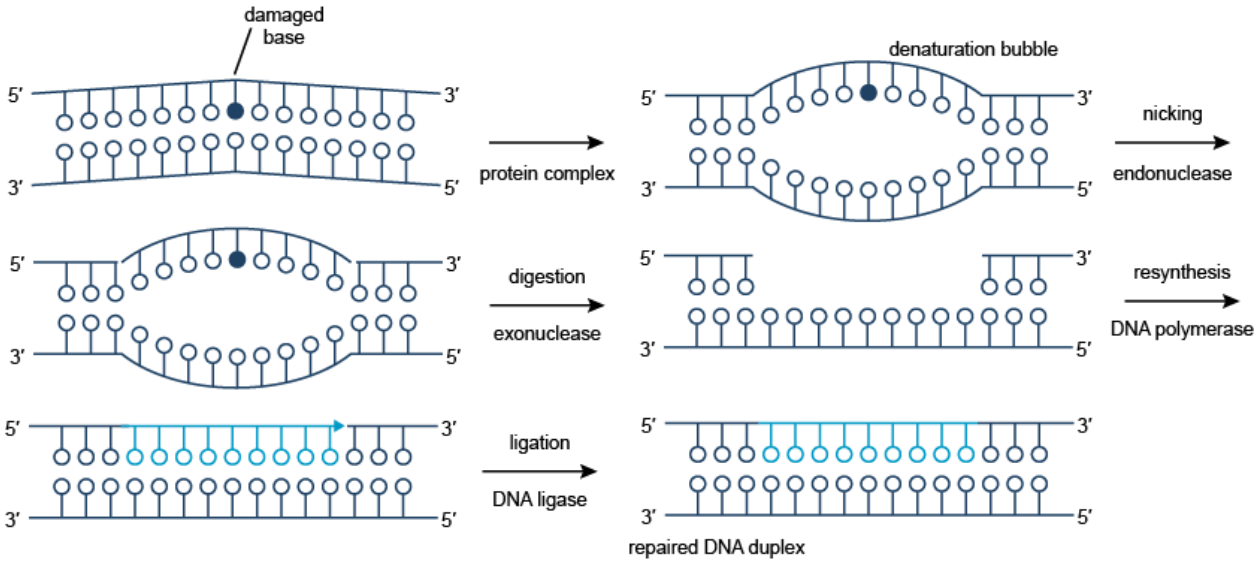
شکل۸. ترمیم DNA با استفاده از روش ترمیم استخراج باز.

- **استخراج نوکلئوتید(Nucleotide Excision Repair: NER)**

این روش یکی از مهم‌ترین سیستم‌های عمومی تعمیر در سلول‌ها بوده و مشابه روش ترمیم استخراج باز می‌باشد. تفاوت بین دو روش ترمیم استخراج باز و استخراج نوکلئوتید در این است که در این روش تنها تغییراتی که روی مارپیچ دو رشته‌ای DNA اثر قابل ملاحظه‌ای گذاشته‌اند، شناسایی و ترمیم می‌شوند. شکل زیر روند کلی این نوع ترمیم را نشان می‌دهد.

نگارنده: عادله بیطرفان

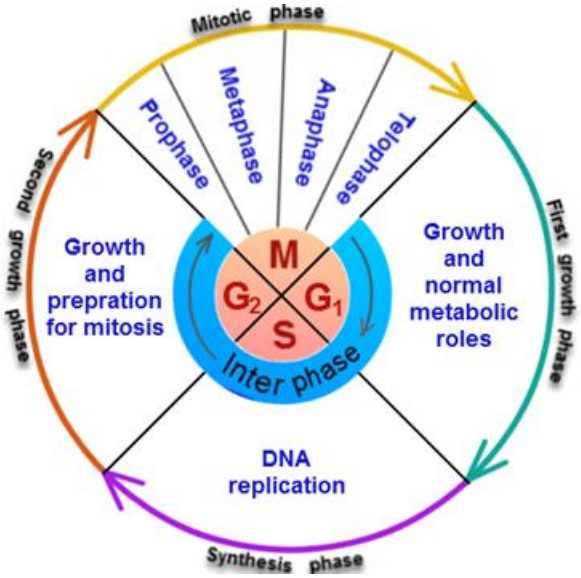
ایمیل: adele.bitarafan@gmail.com



شکل۹. ترمیم DNA با استفاده از روش ترمیم استخراج نوکلئوتیدی.

۴ چرخه حیات سلول

چرخه حیات سلولی یک سلول یوکاریوت شامل دو مرحله انترفاز و تقسیم است. در بیشتر سلول‌های یوکاریوت، روند حقیقی تقسیم سلول کمتر از یک ساعت طول می‌کشد. روند کلی این چرخه را می‌توانید در شکل مشاهده کنید.



شکل۱۰. چرخه حیات سلولی یک سلول یوکاریوت.

نگارنده: عادله بیطرفان

ایمیل: adele.bitarafan@gmail.com

۴.۱ اینترفاز

مرحله‌ای از روند تقسیم را که در آن سلول تقسیم نمی‌شود اینترفاز نامیده‌اند و در این مرحله سلول خود را برای ورود به مرحله دیگر تقسیم آماده می‌کند. مرحله اینترفاز شامل سه مرحله است:

- **مرحله G1**

مرحله رشد سلول است که طی آن سنتز RNA و پروتئین فعالانه انجام می‌گیرد و سلول خود را برای آغاز سنتز DNA آماده می‌کند. این مرحله ۳۰ تا ۵۰ درصد از کل چرخه سلول‌ای را دربرمی‌گیرد.

- **مرحله سنتز**

زمان سنتز DNA است و ۳۰ تا ۴۰ درصد از کل چرخه سلولی را شامل می‌شود. این مرحله در سلول‌های پستانداران ۵ تا ۷ ساعت طول می‌کشد.

- **مرحله G2**

زمان بعد از سنتز DNA است. در این مرحله سلول تدارکات لازم را جهت تفکیک اطلاعات ژنتیکی همانندسازی میتوکندریها و اندامک‌های دیگر، متراکم شدن کروموزوم‌ها و سنتز و تجدید حیات ریزلوله‌ها صورت می‌دهد. این مرحله به انرژی فراوانی نیاز دارد احتمالا این نیاز به خاطر آغاز میتوز است.

۴.۲ مرحله میتوز

در این مرحله، دستگاه ریزلوله‌ای (دوک تقسیم) تشکیل می‌شود که به کروموزوم‌ها متصل می‌گردند و کروموزوم‌های خواهری از هم جدا می‌شوند. این مرحله که میتوز نامیده می‌شود مرحله اساسی در جدا شدن دو ژنوم دختر است. مرحله میتوزی یا M کوتاه‌ترین مرحله است که کمتر از یک ساعت طول می‌کشد. وارد شدن سلول از مرحله انترفاز به میتوز مستلزم هماهنگی کامل بین رویدادهایی هست که در سیتوپلاسم و هسته رخ می‌دهند.

۴.۳ مرحله سیتوکینز

در این مرحله سلول به دو سلول دختر تقسیم می‌شود. هر سلول دختر تقریبا نیمی از محتویات سیتوپلاسمی، از جمله یکی از دو هسته همانندسازی شده را به عنوان میراث دریافت می‌کند. با پایان این مرحله یک چرخه کامل می‌شود.

نگارنده: عادله بیطرفان

ایمیل: adele.bitarafan@gmail.com