جامعة القاهرة
كلية الزراعة
قسم الوراثة

faculty of Agriculture

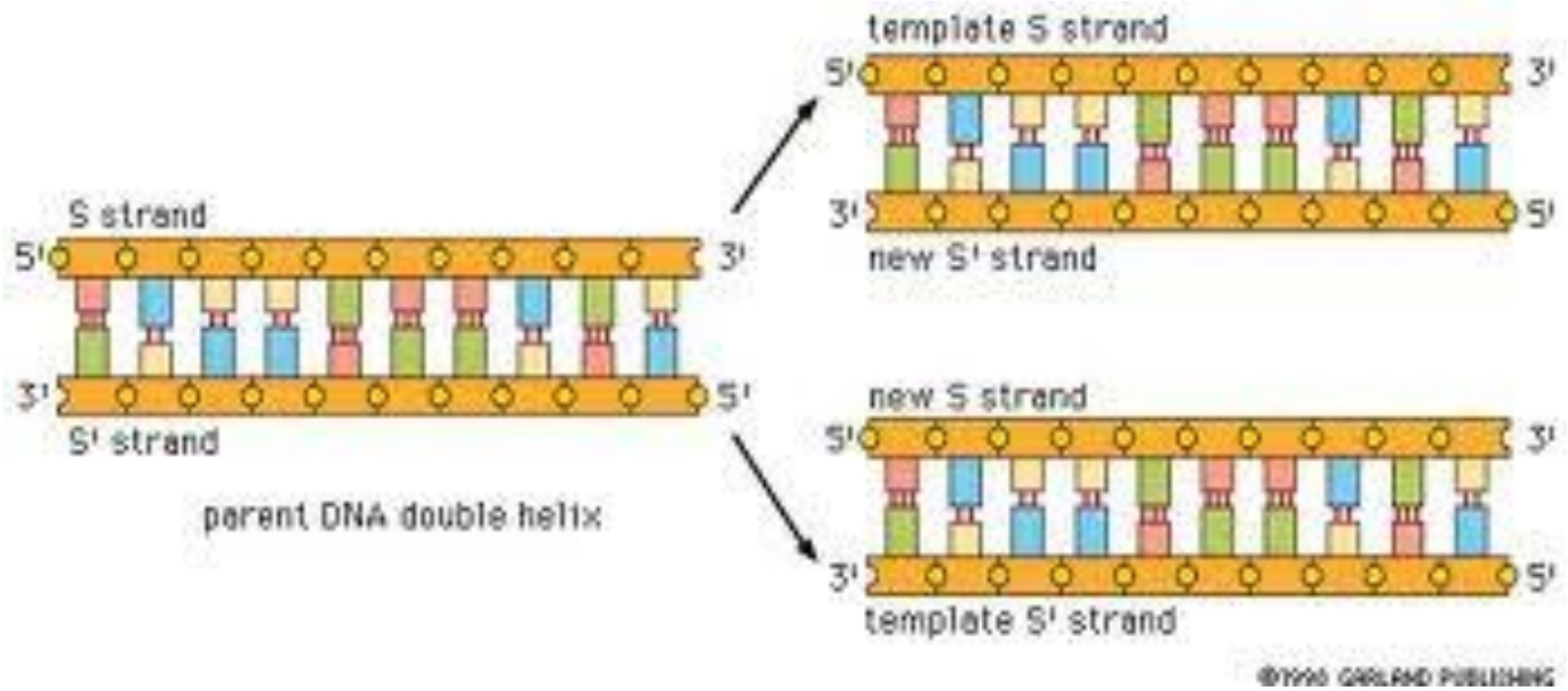
Cairo University

مقرر الوراثة العامة - 101

تناسخ المادة الوراثية
(جهاز التناسخ المعقد)
Replication Apparatus

مفهوم تناسخ المادة الوراثية

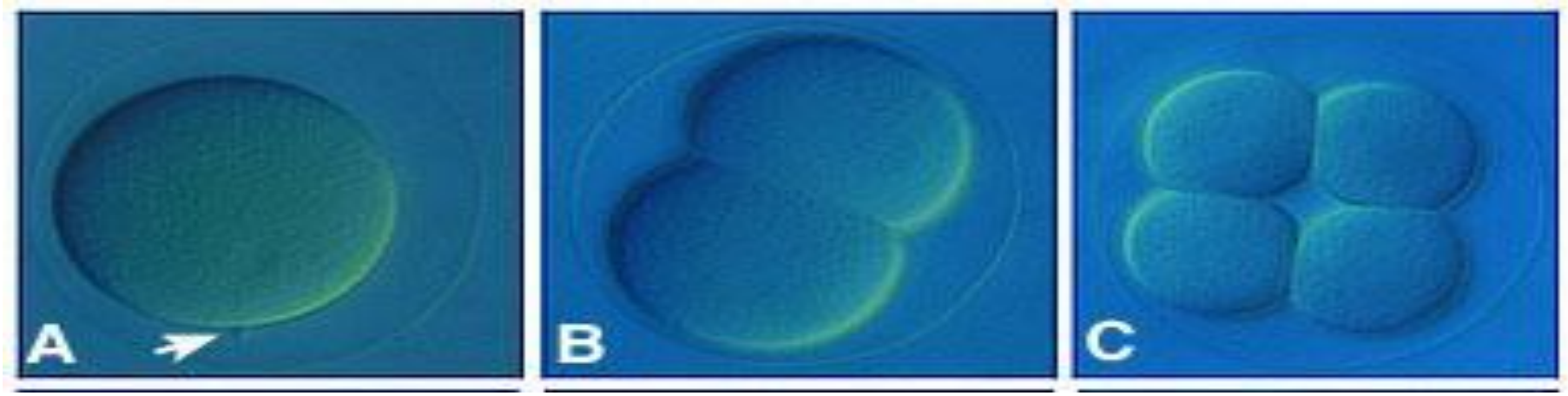
هى عملية معقدة يتناغم (يتداخل) فيها نشاط مجموعة من الإنزيمات، تؤدى فى نهاية الأمر إلى تضاعف كمية المادة الوراثية داخل الخلية.



لماذا تحتاج الخلية لتناسخ المادة الوراثية ؟

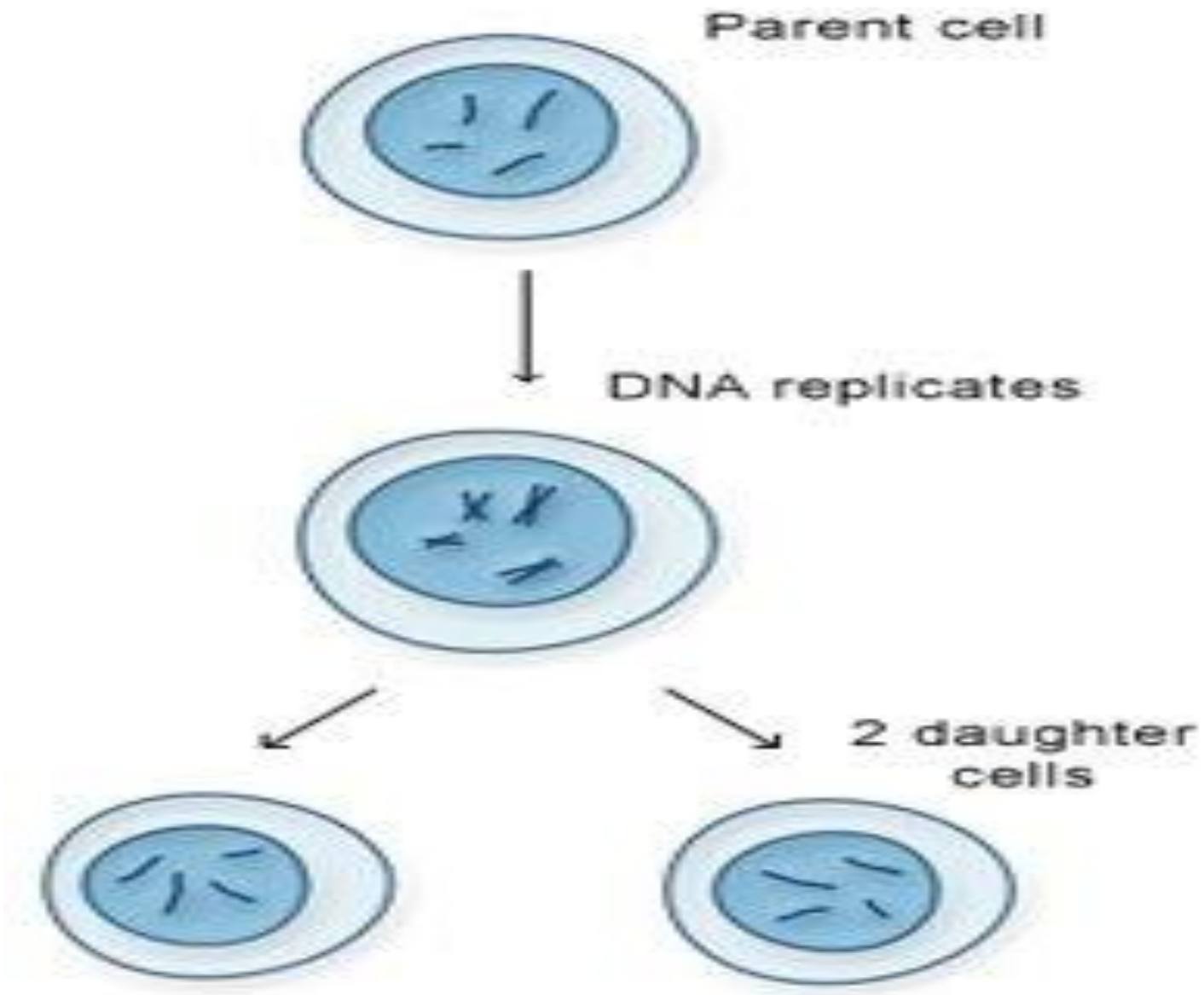
* ضروري لإنقسام الخلية ، حيث الإنقسام الخلوى يفيد الخلية فى :

- ✓ النمو
- ✓ تعويض التالف من الخلايا

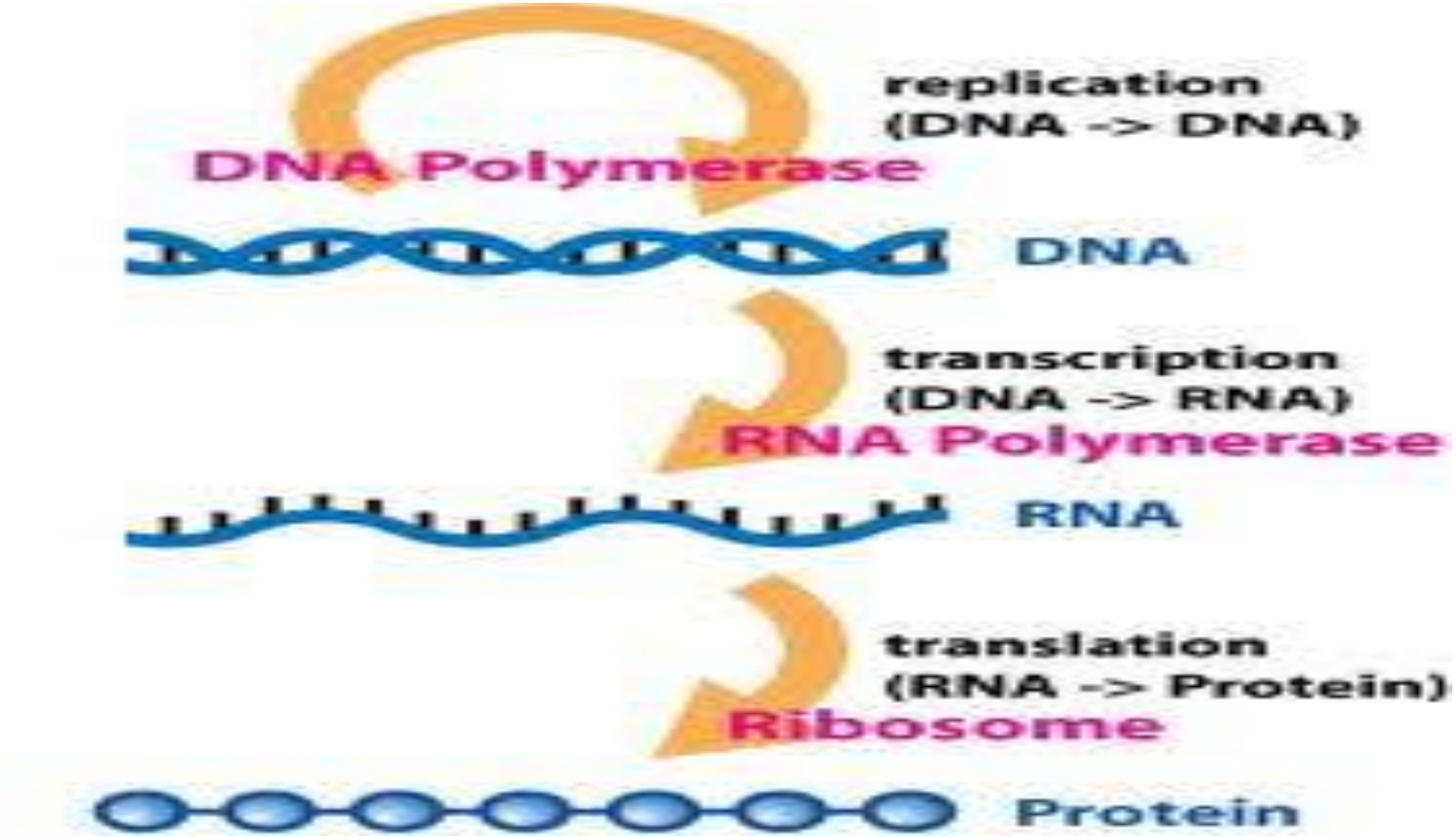


* قبل بداية الإنقسام الخلوى (مرحلة S من دورة الخلية) لابد وأن تضاعف الخلية من العضيات الخلوية وأيضآ تضاعف مادتها الوراثية .

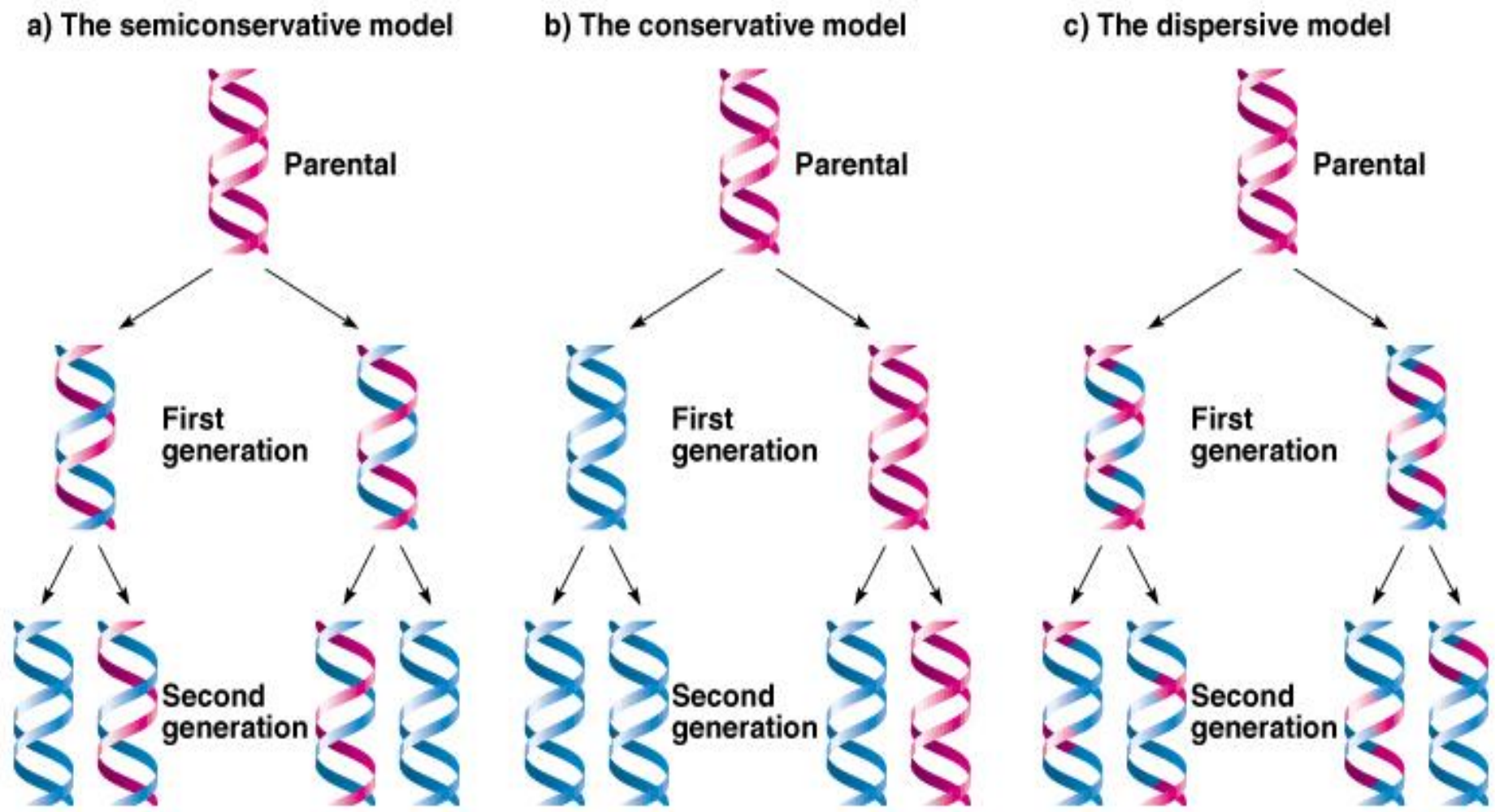
* تضاعف كمية المادة الوراثية ضرورى لإنقسام الخلية



Central Dogma



النماذج (الطرق) المختلفة لتناسخ المادة الوراثية



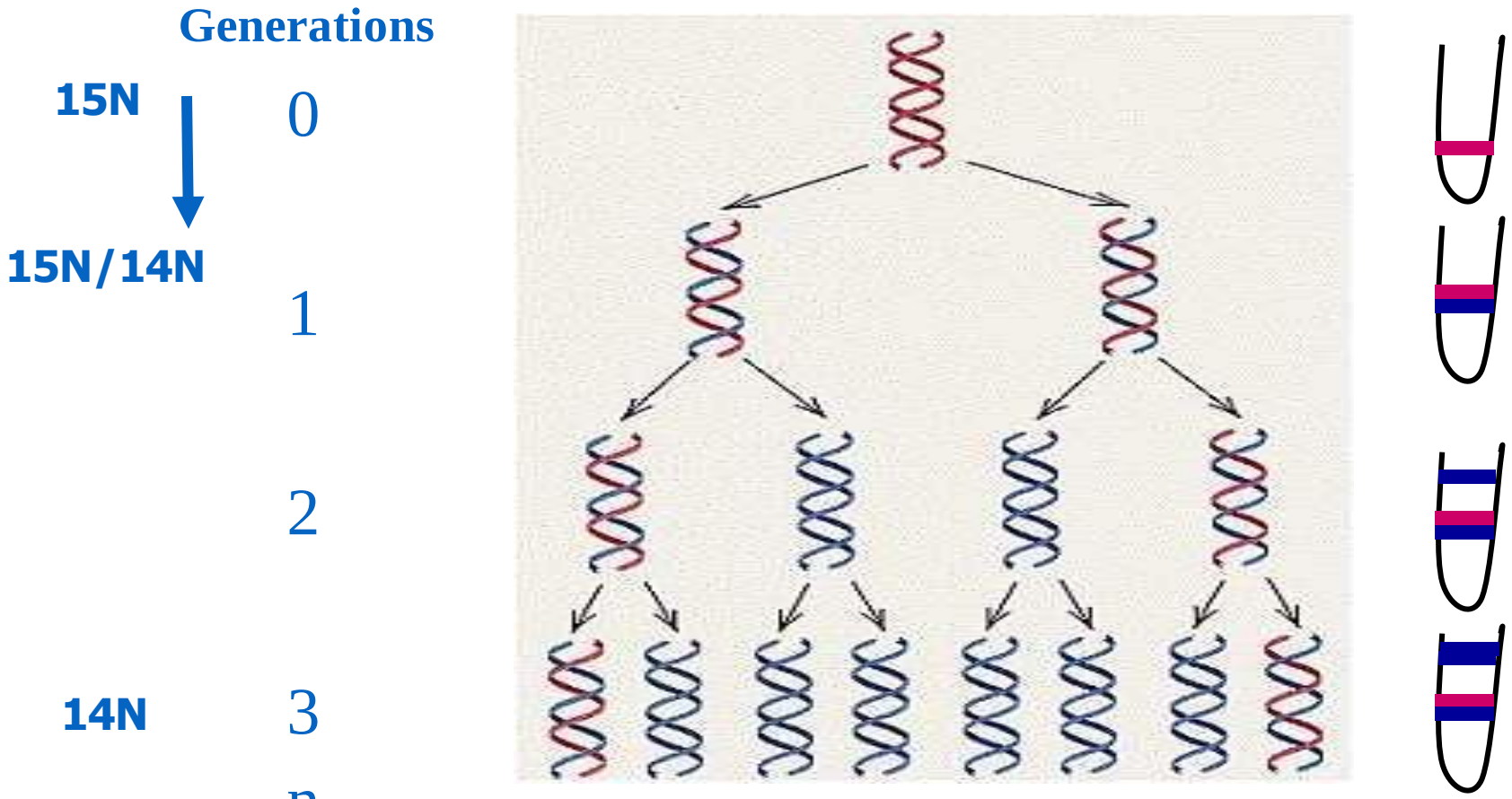
الطريقة شبه المحافظة

الطريقة المحافظة

الطريقة التشتتية

فى عام 1958م أثبت Stahl &Meselson أن طريقة التناسخ

الشبه محافظة هى الأكثر دقة



الفكرة العامة فى تقنية تناسخ المادة الوراثية:

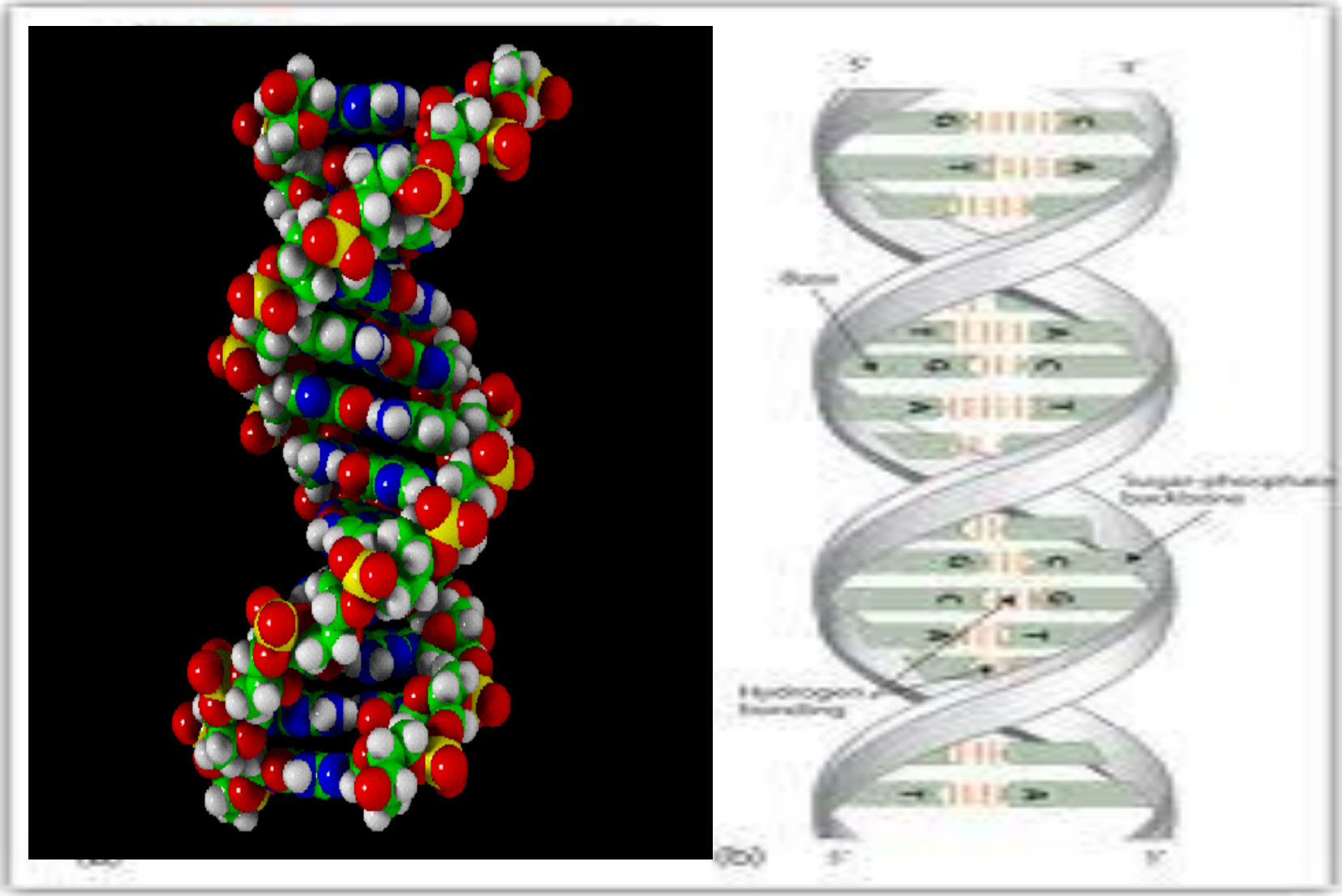
* خيطي الـ DNA لهما قطبية متعاكسة أي أن احداهما في الاتجاه '3 إلى '5 والخيط الآخر في الاتجاه '5 إلى '3.

* وجد أن كل انزيمات البلمرة تعمل في إتجاه واحد فقط وهو '5 إلى '3 .
كما أن كل انزيمات بلمرة ال DNA تتطلب لعملها وجود مجموعة هيدروكسيل حرة (3`-OH) .

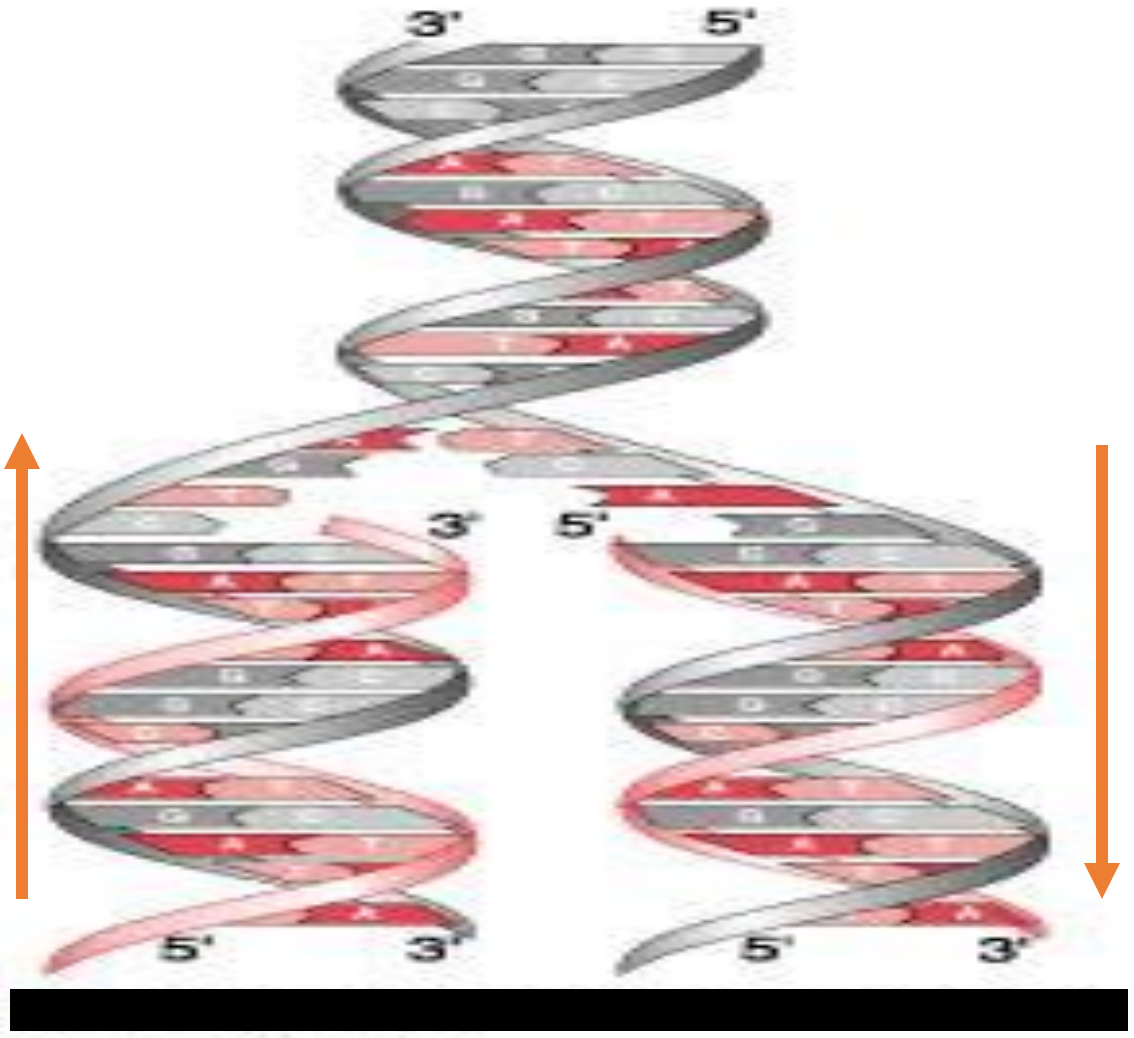
* خيط ال DNA الجديد ذو الاتجاه '5 إلى '3 يحدث له بناء أو تخليق مستمر ويسمي بالخيط القائد.

* أما خيط ال DNA الجديد ذو الاتجاه '3 إلى '5 يحدث له بناء أو تخليق بطريقة متقطعة ويسمي بالخيط المتلكئ والذي يتناسخ في صورة قطع قصيرة تسمي هذه القطع بـ شظايا أوكازاكي .

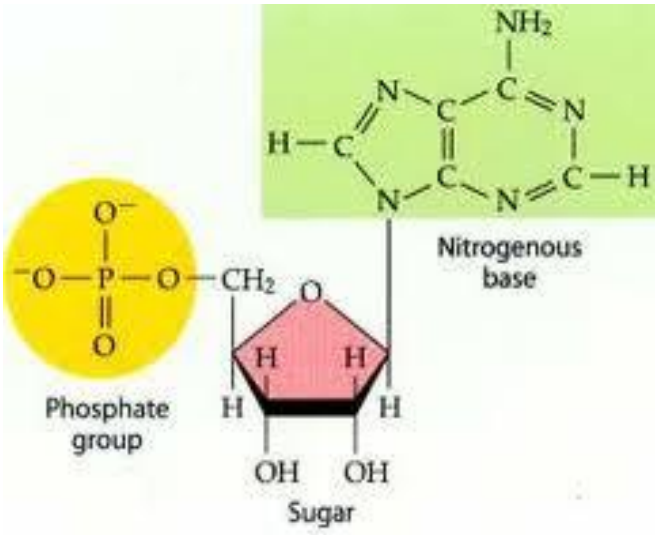
جزئ د ن أ الأبوى (القديم)
Parental DNA (Old DNA)

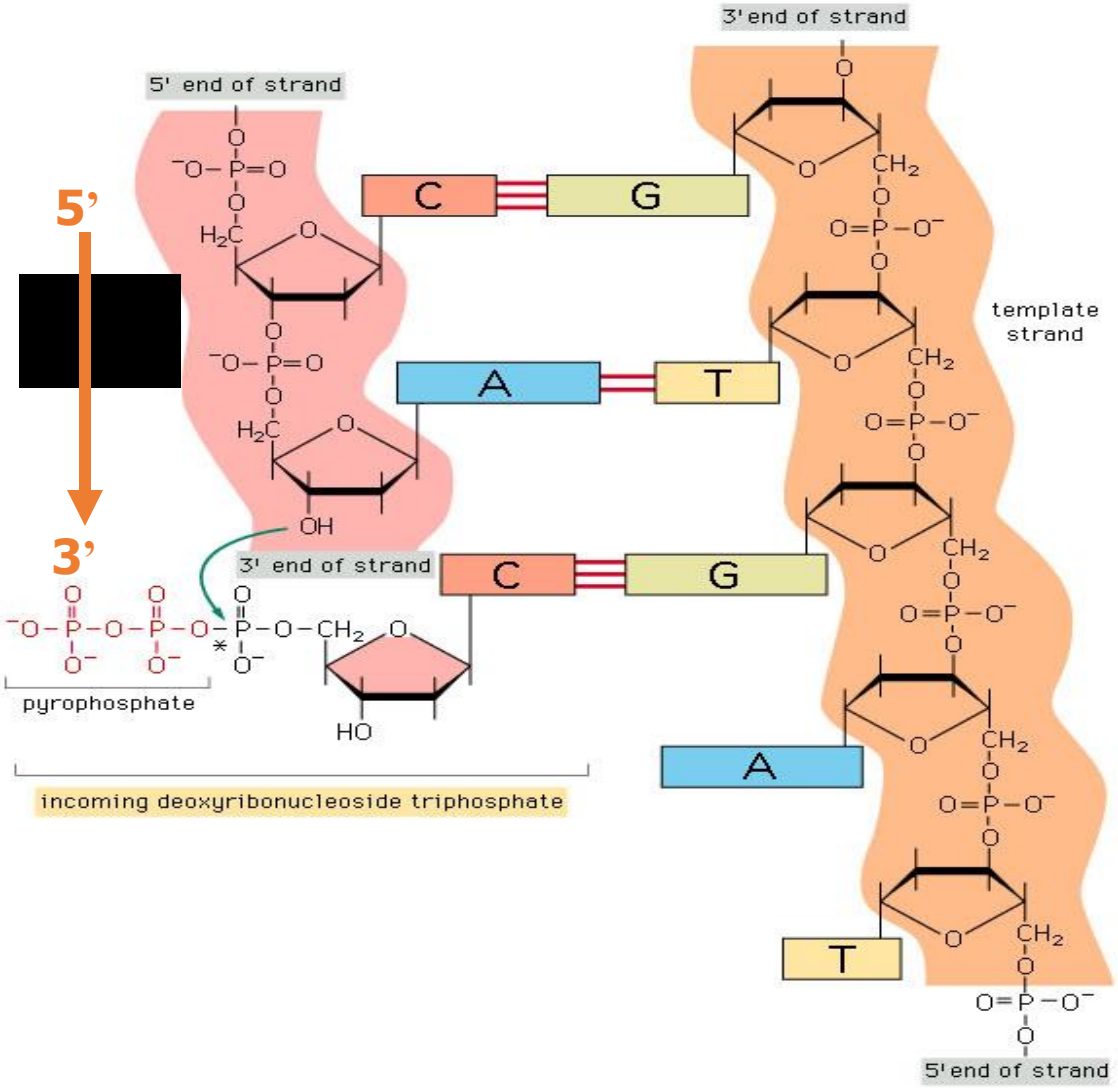


إتجاه تناسخ جزئ الـ د ن أ DNA



إستطالة جزئ الـ د ن أ DNA





جهاز التناسخ

Replication apparatus or Replisome

***يجب أن يتوافر لبداية عملية التناسخ عدة مكونات:**

1- قالب د ن أ الذي يتم علية التناسخ DNA template (د ن أ الأبوى)

2- إنزيم الهليكيز Helicase

3- إنزيمات توبوأيزوميريز Topoisomerases

4- Single-strand binding protein (SSB)

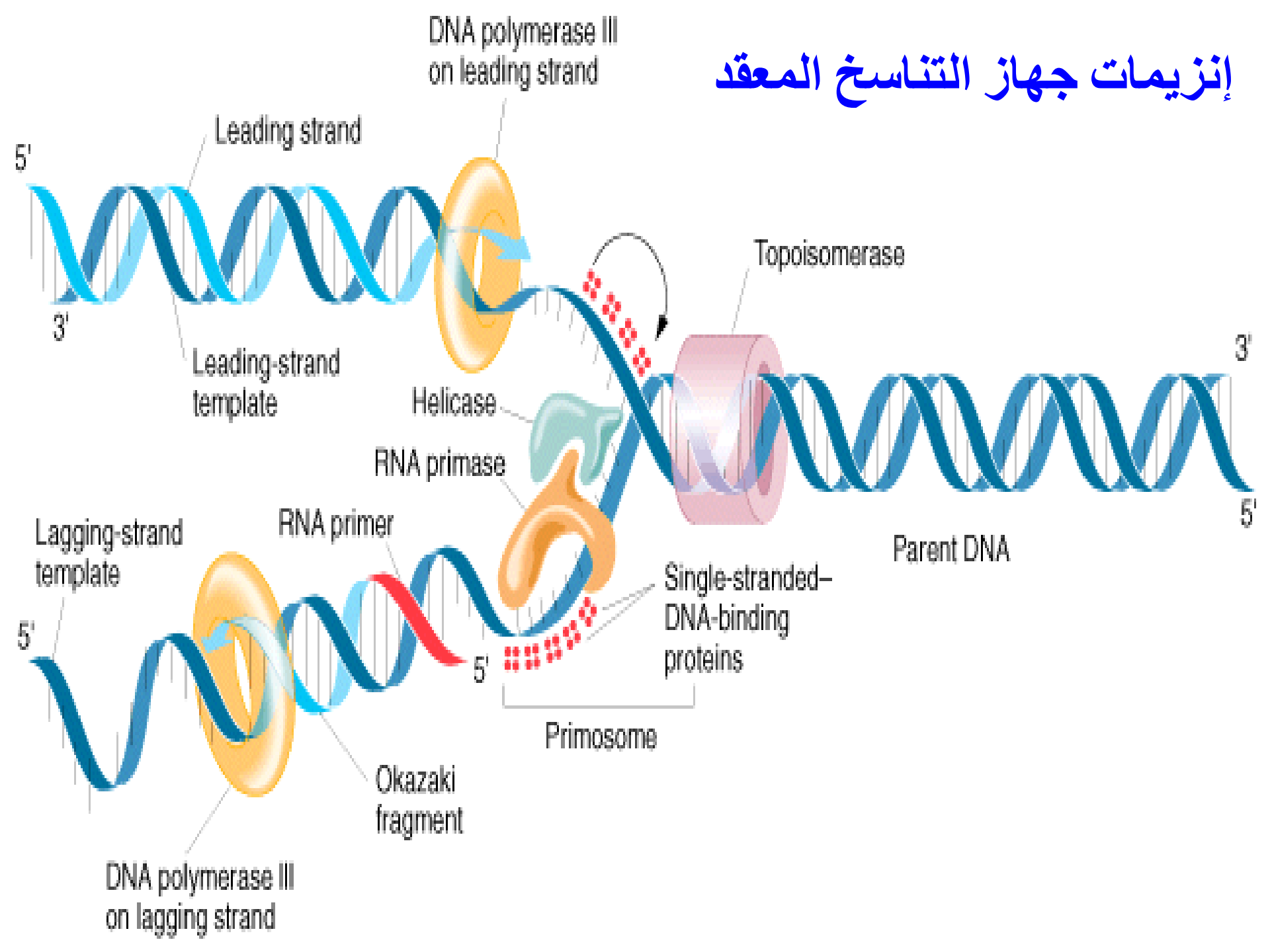
5- إنزيم بلمرة ر ن أ RNA polymerase (RNA Primase)

6- إنزيمات بلمرة د ن أ DNA polymerases

أ- إنزيم بلمرة د ن أ (1) DNA Polymerase I
ب- إنزيم بلمرة د ن أ (2) DNA Polymerase II
ج- إنزيم بلمرة د ن أ (3) DNA Polymerase III

7- د ن أ ليجيز DNA ligase

إنزيمات جهاز التناسخ المعقد



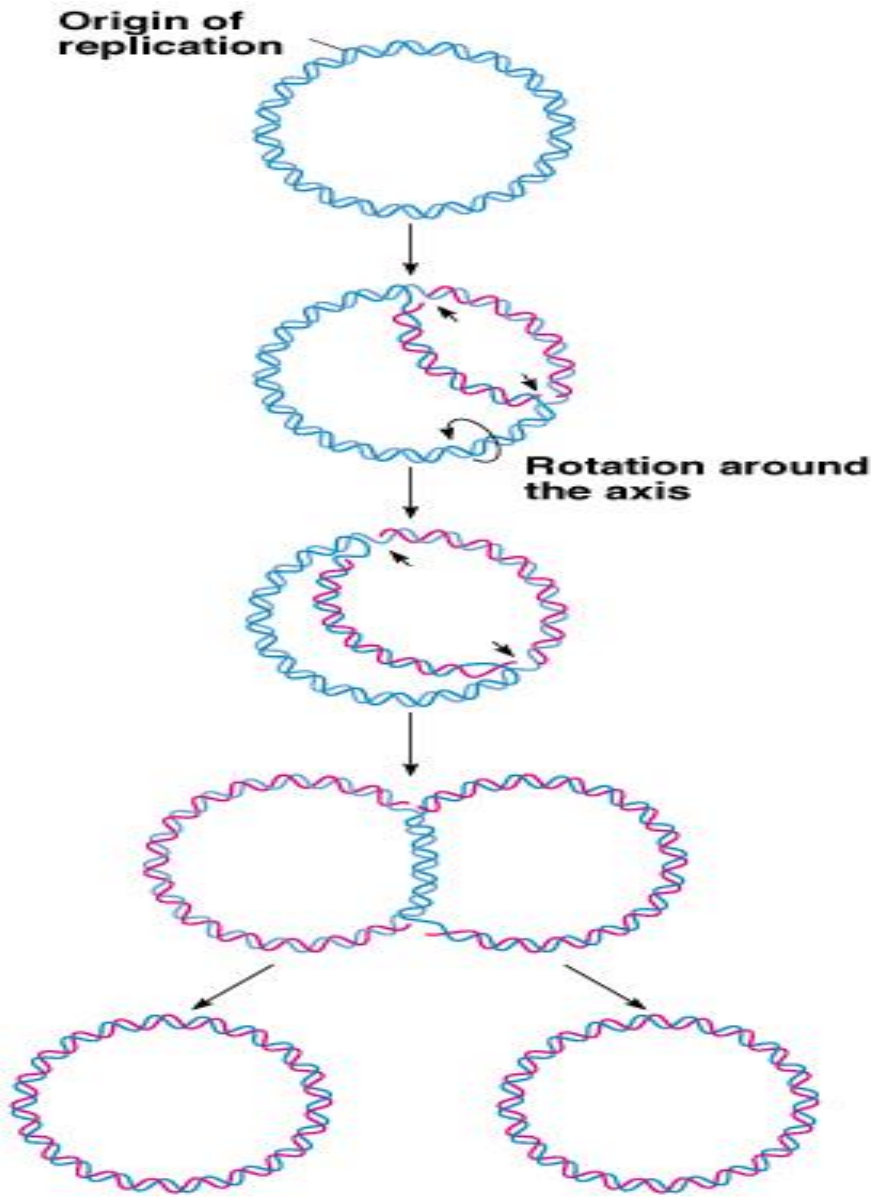
ميكانيكة تناسخ DNA في الكائنات الغير مميزة النواة :

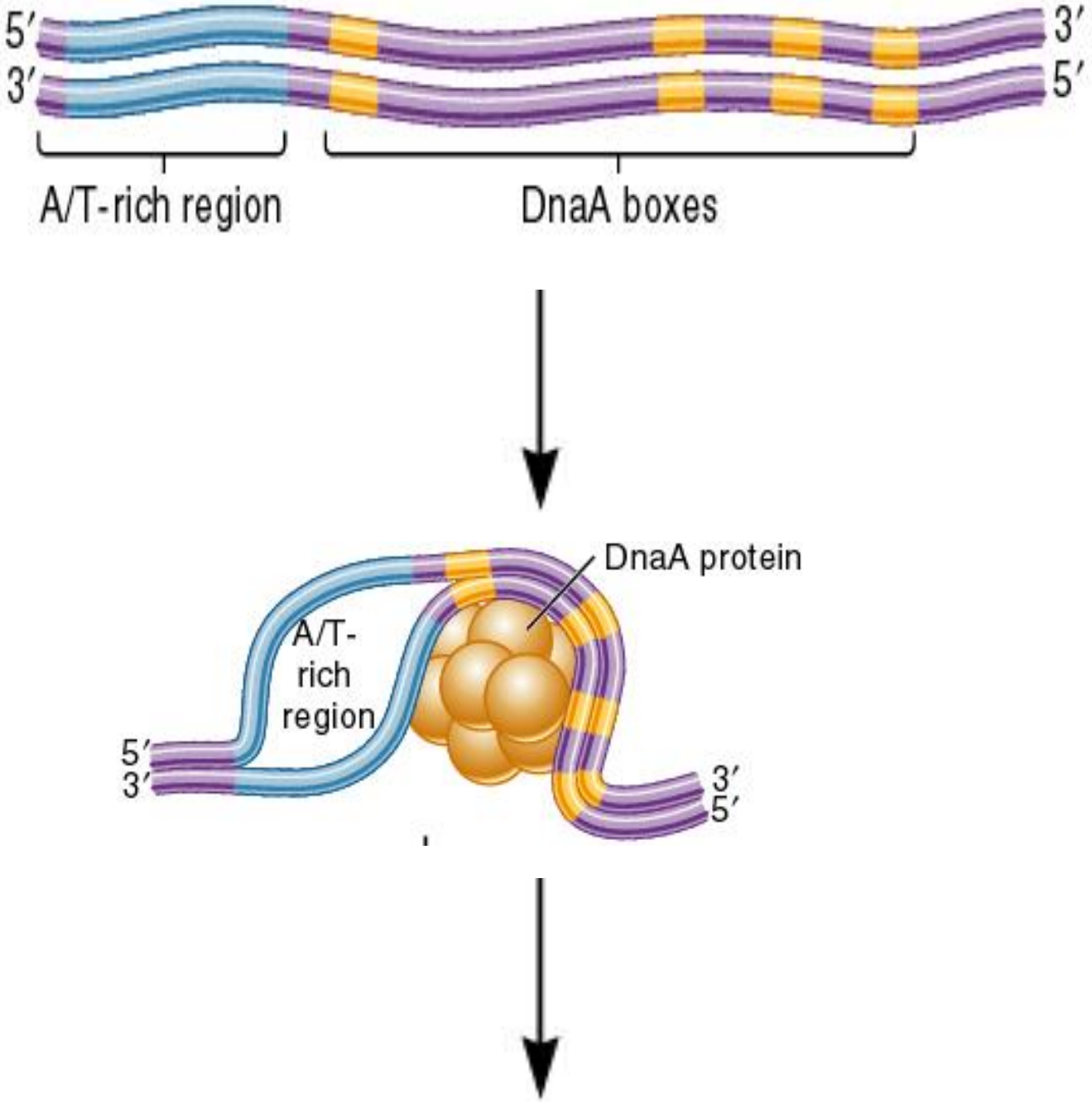
أ- تكسير أو فك الحلزون المزدوج :

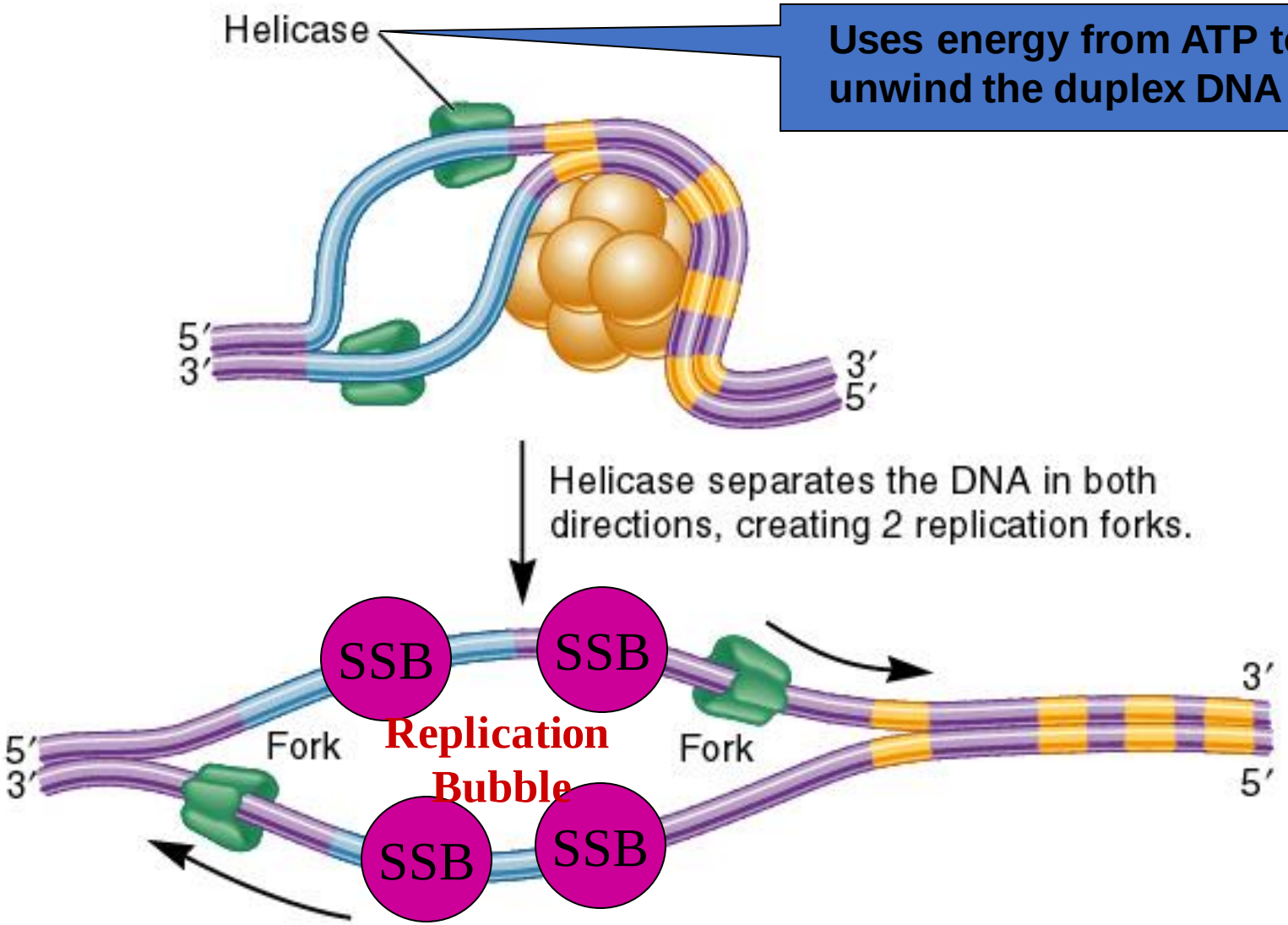
* لبداية عملية التناسخ يحدث إرتباط إنزيم الهليكيز Helicase مع مجموعة من البروتينات تسمى Initiator proteins ، وذلك للتعرف على بداية منشأ التناسخ Origin of replication فى جزئ الـ د ن أ ، حيث يقوم إنزيم الهليكيز بتكسير للروابط الهيدروجينية بين خيطي ال DNA عند منشأ التناسخ .

* يعمل هذا الانزيم بالتعاون مع بروتينات تسمي Single strand binding protein (SSB) وهذه البروتينات الأخيرة ترتبط بسلاسل ال DNA الفردية لمنع السلستين من التزاوج مرة أخري وبالتالى المحافظة على وجود ما يطلق عليه فقاعة التناسخ (شوكتى تناسخ)

تناسخ الكروموسوم الدائرى فى بكتريا القولون *E.coli*



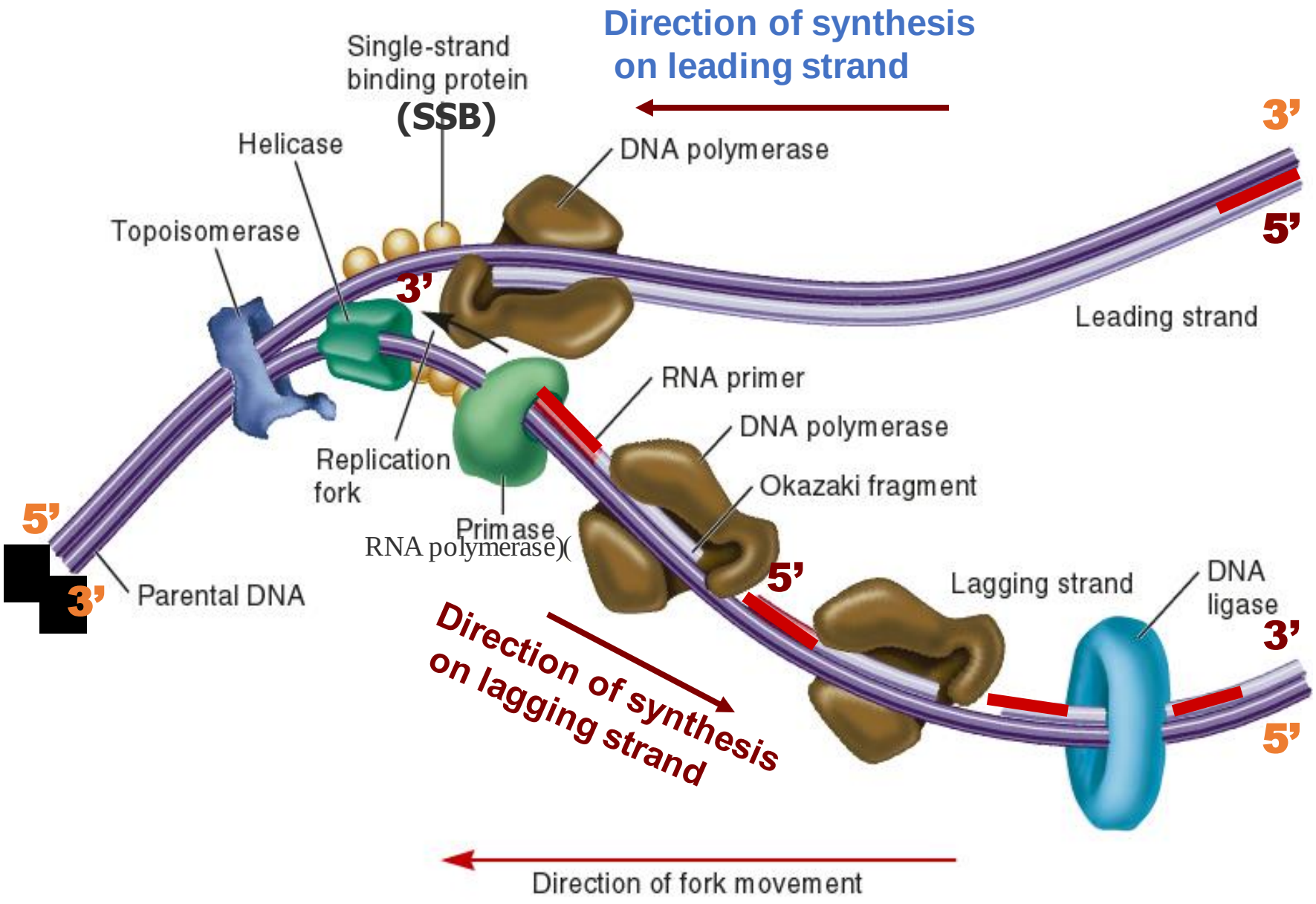

5′
3′
3′
5′
A/T-rich region
DnaA boxes
DnaA protein
A/T-
rich
region
5′
3′
3′
5′


Helicase
Uses energy from ATP to unwind the duplex DNA
5′
3′
3′
5′
Helicase separates the DNA in both directions, creating 2 replication forks.
SSB
SSB
5′
3′
Fork
Replication Bubble
Fork
3′
5′
SSB
SSB

ب- فك الإلتفاف الفائق فى الحلزون المزدوج:

*تم إكتشاف مجموعة إنزيمات DNA topoisomerases التى تعمل على فك إلتفاف خيطى الحلزون المزدوج بدون دوران الحلزون وتتم هذه العملية عن طريق إحداث كسور فردية أو مزدوجة مؤقتة فى جزئ ال DNA ، حيث يتم التخلص من الحلزنة الفائقة فى جزئ ال DNA ثم يعاد الإلتحام مرة أخرى فى الجزئ .

* هذه العملية ضرورية للمساعدة على تقدم شوكة التناسخ الناتجة عن نشاط إنزيم الهليكيز


Direction of synthesis
on leading strand
Single-strand
binding protein
(SSB)
Helicase
DNA polymerase
3’
5’
Topoisomerase
3’
Leading strand
RNA primer
DNA polymerase
Okazaki fragment
Replication
fork
5’
Primase
RNA polymerase)(
5’
3’
Parental DNA
5’
Lagging strand
DNA
ligase
3’
Direction of synthesis
on lagging strand
5’
Direction of fork movement

ج - تكوين بوادئ ر ن أ ضرورية لبداية عمل إنزيم بلمرة د ن أ :

* أنزيم بلمرة ال DNA (Pol. III) لا يستطيع أن يبدأ تصنيع ال DNA فى كلا الخيطين من الحلزون المزدوج دون وجود نهاية OH حرة على ذرة الكربون رقم '3 .

* أنزيم يسمي Primase يقوم بتخليق البادئ وهو عبارة عن خيط مفرد من RNA في بداية عملية تناسخ فى كلا الخيطين من الحلزون المزدوج ، وبالتالى يوفر نهاية OH حرة على ذرة الكربون رقم '3 .

* بمجرد من تكون البادئ ، يبتعد أنزيم Primase ، ثم يبدأ أنزيم بلمرة DNA (Pol.III) عملية التخليق فى الإتجاه '5 إلى '3 فى كلا الخيطين .

د- تناسخ لسلسة القائد وسلسلة الخيط المتلكئ :

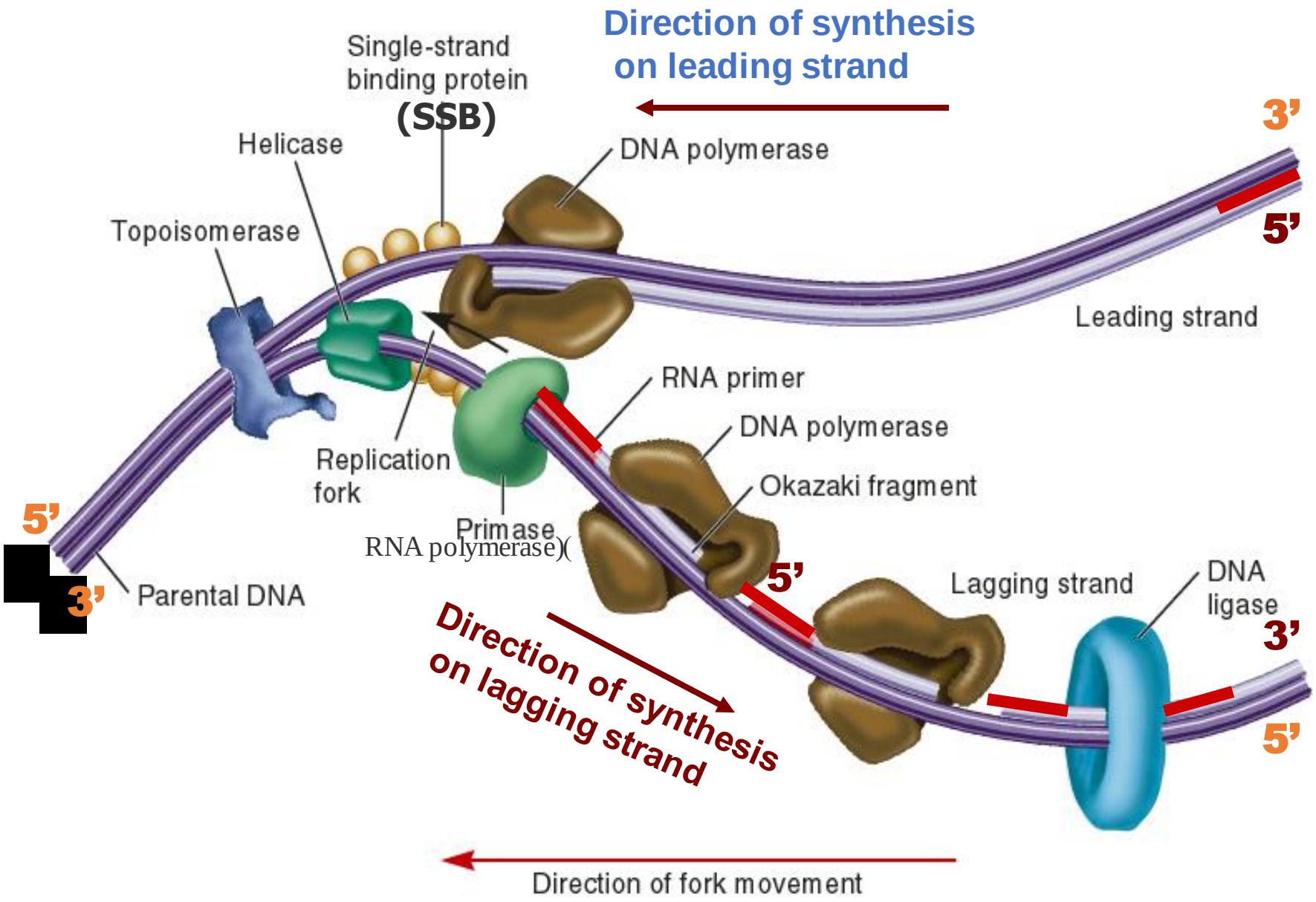
* عملية التناسخ في خيطي ال DNA تكون مختلفة حيث نجد أن هناك خيط وهو بإتجاه 5' إلى 3' ويسمي بالخيط القائد يتناسخ بصورة مستمرة لان الانزيم يعمل بإتجاه 5' إلى 3' .

* أما الخيط الثاني وهو بإتجاه 3' إلى 5' يتناسخ بصورة متقطعة وهو الخيط المتلكئ حيث يتناسخ في صورة مقاطع وهذه المقاطع تسمي مقاطع (شظايا) أوكازاكي Okazaki fragments وقد تأكدت هذه النظرية عام 1969 .

هـ- إزالة بادئات ر ن أ ثم وصل شظايا أوكازاكى :

* بمجرد إنتهاء أنزيم بلمرة ال DNA (Pol. III) من عملية التخليق ، يتوقف هذا الإنزيم ويبدأ أنزيم بلمرة ال DNA (Pol. I) في العمل لتكملة الخيط وذلك بإزالة بادئات ر ن أ ، وإضافة بدلآ منها نيوتيدات د ن أ

* فى نهاية التناسخ يقوم أنزيم ال DNA Ligase بعملية لصق شظايا أوكازاكى الناتجة.


Direction of synthesis
on leading strand
Single-strand
binding protein
(SSB)
Helicase
DNA polymerase
3’
5’
Topoisomerase
Leading strand
RNA primer
DNA polymerase
Okazaki fragment
Replication
fork
5’
Primase
RNA polymerase)(
5’
3’
Parental DNA
Lagging strand
DNA
ligase
3’
5’
Direction of synthesis
on lagging strand
Direction of fork movement

معقد إنزيمات التناسخ فى الكائنات الراقية :

Polymerase α (alpha) : تناسخ الــد ن أ النووى

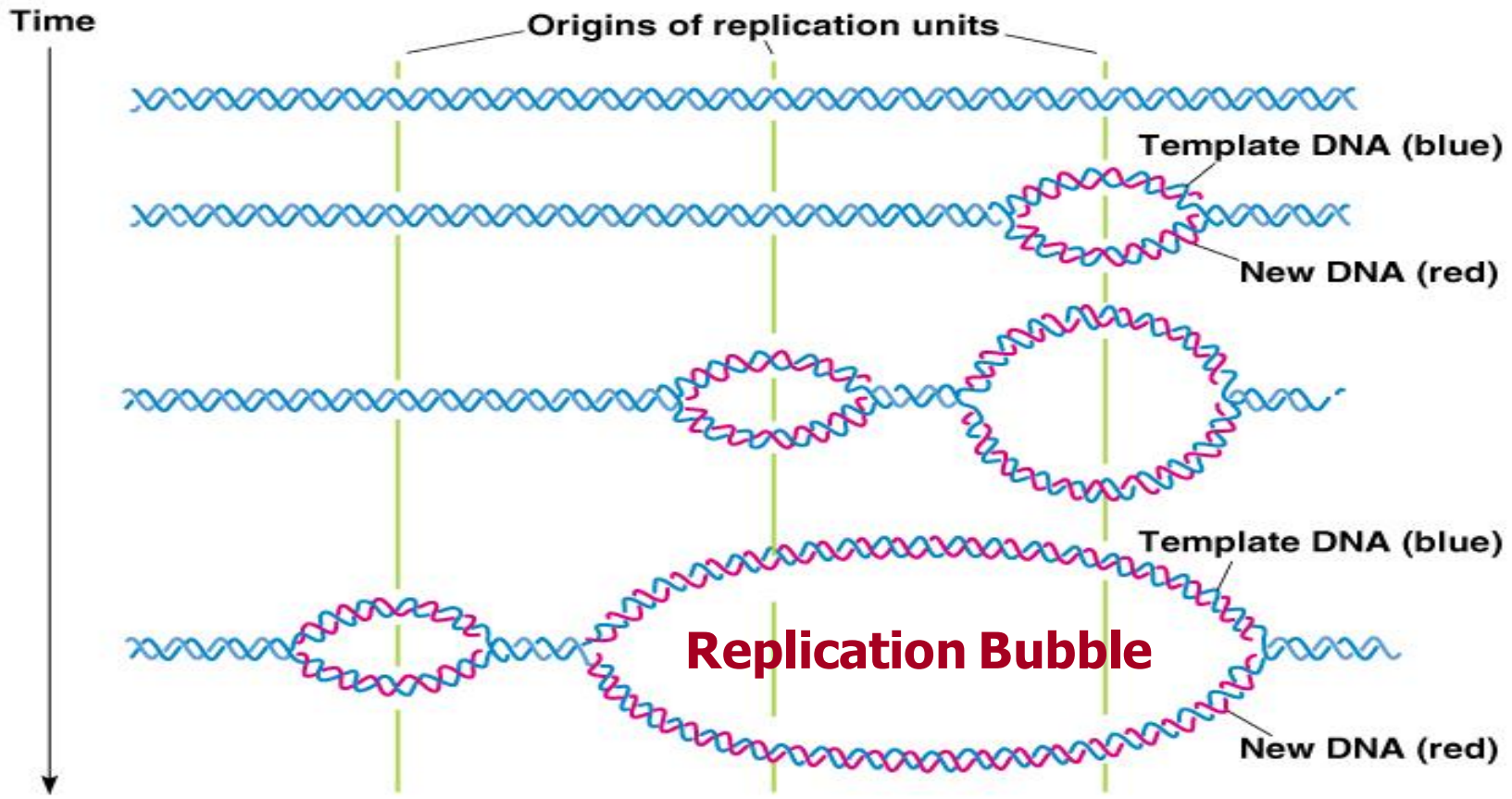
Polymerase β (beta) : إصلاح الــد ن أ

Polymerase γ (gamma) : تناسخ الــد ن أ الميتوكوندريا

Polymerase δ (delta) : تناسخ الــد ن أ **النووى**

Polymerase ε (epsilon) : إصلاح الــد ن أ

وجود أكثر من منشأ للتناسخ فى كروموسومات الكائنات الراقية :



تم إكتشاف أن طول جزئ الـد ن أ فى الكروموسوم الكبير فى حشرة الدروسوفيلا 7.5 مليون زوج من النوتيدات، ويتم تناسخ هذا الجزئ فى 3-4 دقائق فى أجنة الحشرة ويستلزم ذلك وجود على الأقل 7000 شوكة تناسخ فى الكروموسوم

مقارنة بين تناسخ المادة الوراثية فى الكائنات غير مميزة النواة والكائنات الراقية :

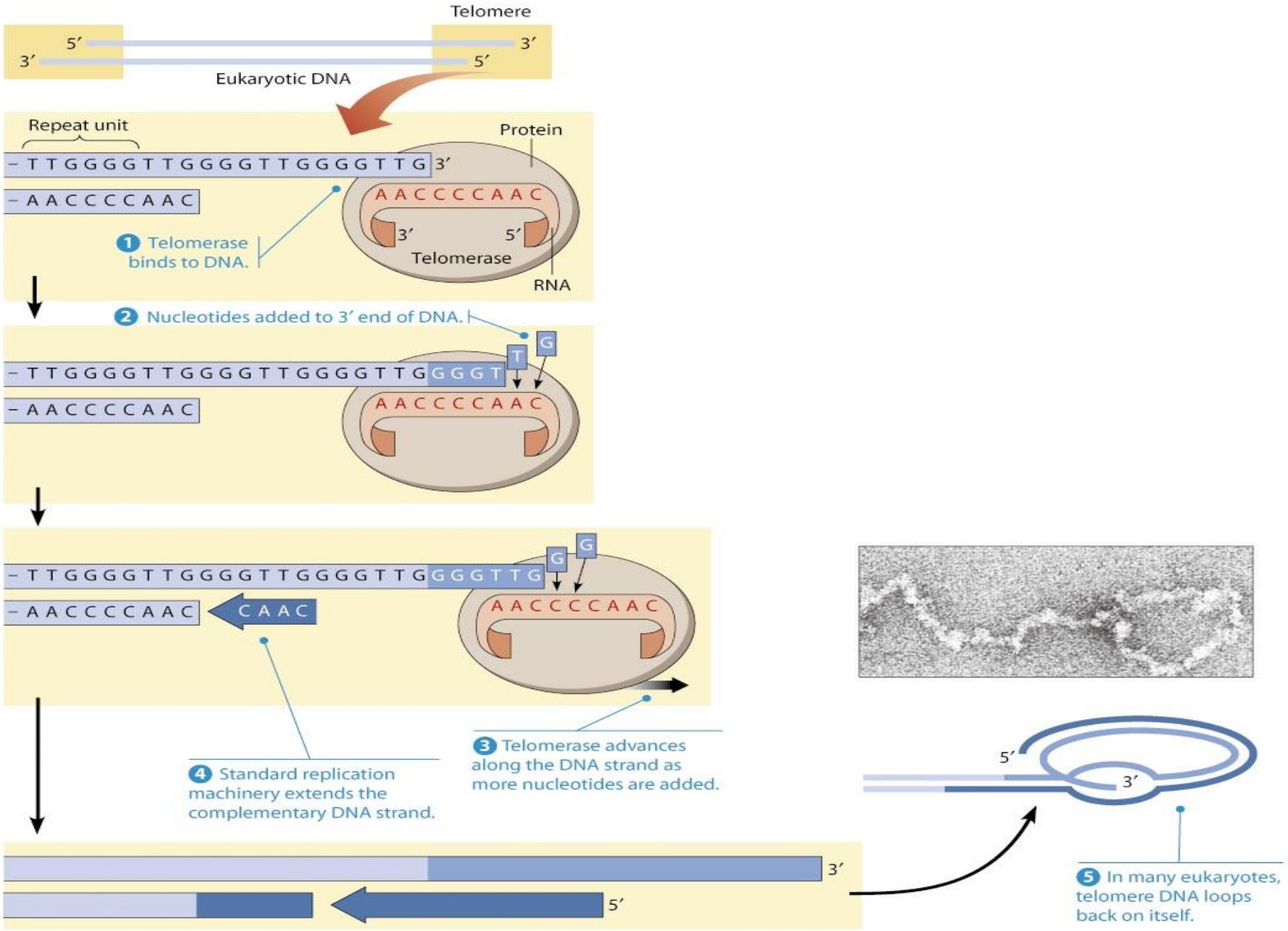
وجه المقارنة	غير مميزة النوى	مميزة النوى
1- طول بادئ ر ن أ	~ 6-30 نيوكليوتيدة	~ 9-10 نيوكليوتيدة
2- طول شظايا أوكازاكى	~ 1000-2000 نيوكليوتيدة	~ 200 نيوكليوتيدة
3- سرعة تحرك شوكة التناسخ	500 نوتيدة فى الثانية	50 نوتيدة فى الثانية
4- عدد مناشئ التناسخ	واحد فقط	عدة آلاف

كيف تتغلب الخلية على مشكلة النهايات الكروموسومية؟ (التيلوميرات) :

بعد قيام إنزيم DNA poly I بازالة بادئ الـ ر ن أ من النهاية 5’ من حلزون الـ د ن أ من نهاية الخيط القائد لايستطيع إنزيم DNA poly III ملئ الفراغ فى النهاية الطرفية لجزئ الـ د ن أ ، مما يؤدى إلى تناقص فى طول الكروموسوم على مدى الأجيال .

للتغلب على تلك المشكلة:

يوجد داخل الخلايا إنزيم التيلوميريز Telomerase ، الذى يحتوى على تتابعات متكررة من ر ن أ ، حيث تتكامل مع التتابعات الطرفية من جزئ الـ د ن أ فى طرف الكروموسوم، مما يسمح بتوفير مجموعة OH حرة ، وبالتالى يقوم إنزيم DNA poly III بملئ الفراغ الناتج عن إزالة بادئ الـ RNA



Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.

تمت بحمد الله.....شكراً على حسن إستماعكم