المحاضرة الخامسة ....

تضاعف الـدنا DNA Replication

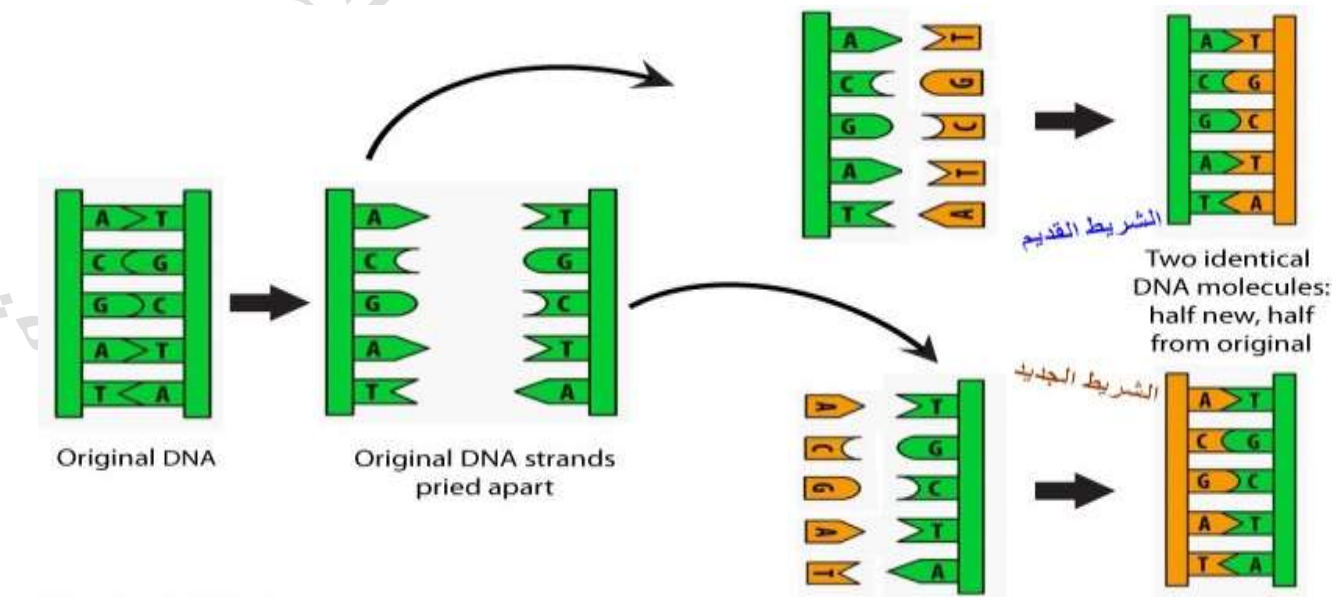
اقتُرح فيما مضى ثلاث فرضيات تفسر كيفية تضاعف الـDNA ، اذ قام العالمان ميسلسون وستال عام 1958م بفحص النماذج الثلاثة المحتملة لتضاعف DNA وهي:

1. **الطريقة تضاعف الدنا شبه محافظ Semiconservative of DNA Replication**
2. **الطريقة تضاعف الدنا المحافظ Conservative of DNA Replication**
3. **الطريقة تضاعف الدنا التشتتية Dispersive Replication mechanism**

1.الطريقة تضاعف الدنا شبه محافظ Semiconservative of DNA Replication

هذه الطريقة تم اقتراحها بواسطة العالمان واسطن وكريك، وهي طريقة بسيطة وتوضح كيفية مضاعفة الحامض النووي .DNA والذي يتكون من شريطي حلزون مزدوج تتزاوج فيه القواعد النيتروجينية بنظام محدد ومعين فالقاعدة النيتروجينية أدنين (A) ترتبط بالثايمين (T) وأيضا القاعدة النيتروجينية جوانين G ترتبط دائماً بالسيتوسين (C) وبالتالى فتزاوج القواعد هذا يمدنا بالآلية البسيطة لتضاعف الحامض النووى .DNA فلو تكسرت الروابط الهيدروجينية بين الخطين وانفصلت السلسلتين عن بعضهما فما الذي يحدث ؟

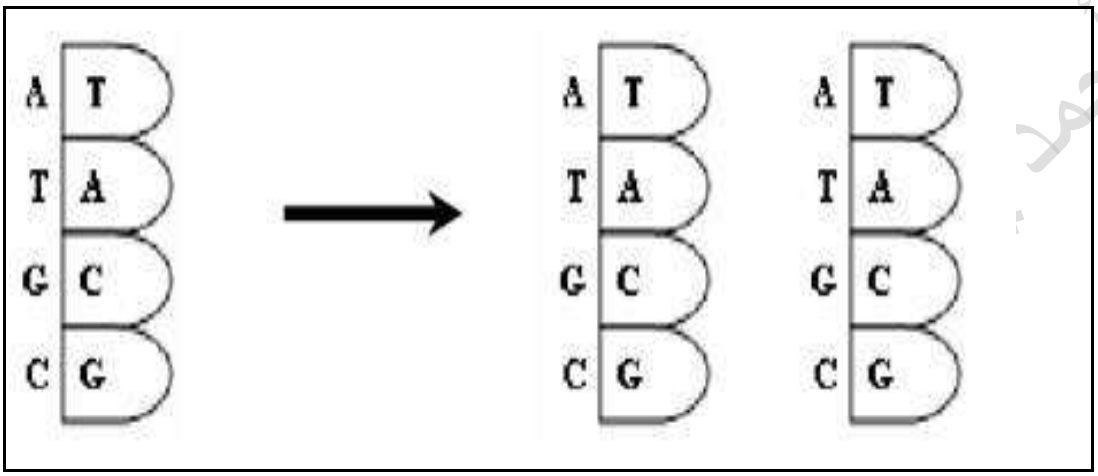
ان فك الارتباط وانفصال الشريطين عن بعضهما يتبعه تراصف نيوكلوتيدات جديدة امام كل شريط جديد وارتباط بعضهما ببعض بمساعدة انزيم البلمرة DNA polymerase ، وبذلك يتم تخليق شريطين جديدين من عديد النيوكليوتيدات. وبمعنى اخر فان كل شريط قديم يعمل كقالب يتكون وفقا له شريط جديد، وبذلك فان كل جزء من حمض DNA يكون قد تضاعف الى جزيئين.



المحاضرة الخامسة ....

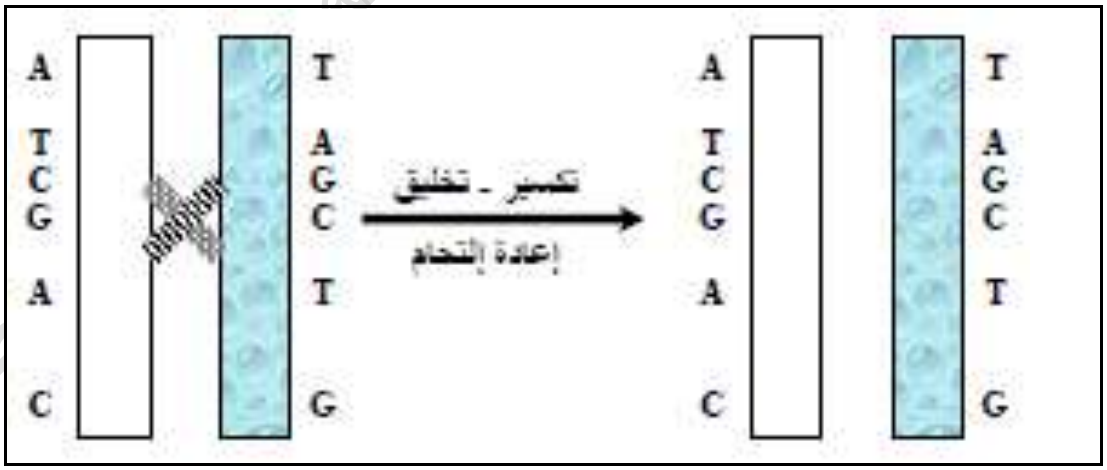
2.الطريقة تضاعف الدنا المحافظ Conservative of DNA Replication

ان هذه الطريقة المحافظة تعني بقاء شريط الحلزون المزدوج كما هو بدون ان ينفصل أي بدون تكسر الروابط الهيدروجينية الموجودة بين القواعد النيتروجينية ومن هنا جاءت التسمية انها محافظ عليها تماما. وفي هذه الطريقة فان الحلزون المزدوج يقوم بتكوين حلزون مزدوج جديد مكون من شريطين مخلقين .



3.الطريقة تضاعف الدنا التشتتية Dispersive Replication mechanism

حيث ينقسم جزئ الدنا الى جزيئات صغيرة ، تبنى من جديد مع جزيئات جديدة وتندمج معاً من خلال عمليات تكسير وتخليق والتحام لهذه الاجزاء ويتكون جزيئان جديدان من الدنا كل منهما مزيج من المادة القديمة والجديدة لجزئ الدنا وان هذا التداخل بين الاجزاء يتم بطريقة عشوائية.



المحاضرة الخامسة ....

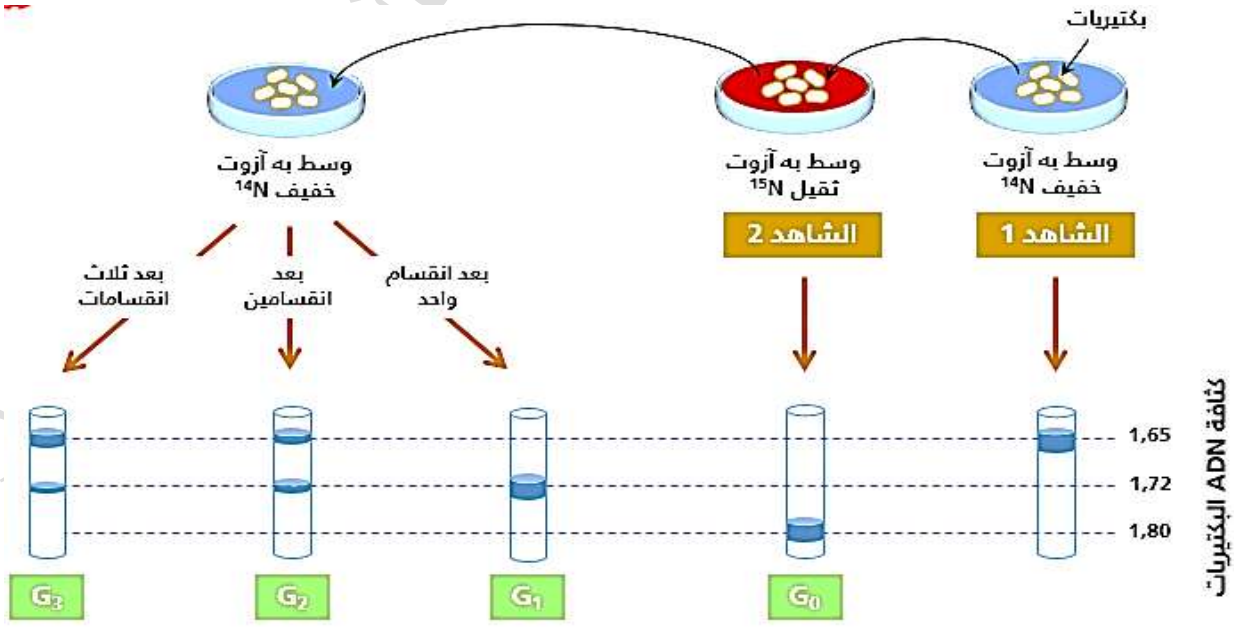
تجربة ميسلسون وستول Messelson and Stahl Experiment

هي تجربة أجراها ماثيو ميسلسون وفرانكلن ستال في سنة 1958 دعمت نتائجها فرضية واتسن وكريك القائلة بالتضاعف نصف المحافظ للـ DNA.

لاحظا الباحثان ميسلسون وستال انه في خلايا بكتريا *E. coli* الحية السليمة ، يتم تكرار الحمض النووي بطريقة شبه محافظ ، اذ قاما باستزراع البكتريا لعدة دورات في وسط غذائي يحوي ملح كلوريد الامونيوم $^{15}NH_4CL$ كمصدر وحيد للنيتروجين والذي يحتوي نظير ثقيل من النتيتروجين ^{15}N سيستخدم في بناء البروتين والاحماض النووية. ثم عزلا الدنا من بعض خلايا البكتيريا ونقلا البعض الاخر الى وسط غذائي فيه مصدر للنيتروجين العادي ^{14}N ، وتركا البكتريا مدة كافية للتكاثر لدورة واحدة فقط، أي ان كل خلية تنقسم لمرة واحدة مكونة خليتين جديدتين، ثم عزلا الدنا من بعض الخلايا التي عاشت مدة طويلة على مصدر للنيتروجين العادي ^{14}N،

واخذا العينات الثلاث للدنا واستخرجا كثافتها بواسطة الطرد المركزي الذي يعتمد على التدرج في كثافة الوسط ، وهو في هذه الحالة كلوريد السيزيوم (CsCl) (يمكن تمييز جزيء الحمض النووي الثقيل عن الحمض النووي الطبيعي عن طريق الطرد المركزي في تدرج كثافة كلوريد السيزيوم).

فوجدا ان الدنا الاصلي الثقيل ^{15}N ^{15}N اكثر كثافة من الدنا المأخوذ من البكتريا نفسها بعد ان تكاثرت لجيل واحد في مصدر النيتروجين العادي ^{14}N ^{15}N ، بينما ظهر الدنا العادي الذي يحوي ^{14}N ^{14}N فقط اقل كثافة ، اي ان الدنا الهجين متوسط الكثافة بين الدنا الثقيل والدنا الخفيف . وقد اثبتت نتائج تجربتهما صحة انموذج واتسون وكريك بان تضاعف الدنا هو شبه محافظ !



المحاضرة الخامسة ....

فلو كان تضاعف الدنا محافظاً، فأننا لا نتوقع ان نجد جزيئات هجينة للدنا ^{15}N ^{14}N ، بل نتوقع وجود نصف الدنا ثقيلاً، ونصفه الاخر خفيفاً ، أي ^{15}N ^{15}N و ^{14}N ^{14}N ، على التوالي .

اما اذا كان تضاعف الدنا مشتتاً، فمن المتوقع تحول الدنا الثقيل الى الخفيف في كل جيل (اي نصف ثقيل بعد جيل، وربع ثقيل بعد جيلين وهكذا)، ومن الواضح ان نتائج ميسلسون وستول لا تتفق مع هذين النموذجين المقترحين لتضاعف الدنا، وقد تم اثبات ان نموذج التضاعف شبه المحافظ هو الانموذج العام لتضاعف الدنا في النباتات والحيوانات الراقية ايضاً .