فصل پنجم

ماده ژنتیک

جست‌وجوی مادّه‌ی ژنتیک

گریفیت

- تزریق استرپتوکوکوس نومونیای کپسول‌دار ← مرگ موش
- تزریق استرپتوکوکوس نومونیای فاقد کپسول ← موش زنده
- تزریق استرپتوکوکوس نومونیای کپسول‌دار مرده ← موش زنده
- تزریق استرپتوکوکوس نومونیای کپسول‌دار مرده + تزریق استرپتوکوکوس نومونیای فاقد کپسول ← مرگ موش
- تغییر شکل باکتری ← وجود استرپتوکوکوس نومونیای کپسول‌دار در خون ← مرگ موش

ایوری ← استخراج عصاره‌ی باکتری کپسول‌دارمرده ← تقسیم عصاره به ۴ قسمت

- تزریق عصاره به موش ← افزودن یک نوع آنزیم تخریب‌کننده‌ی ماده‌ی آلی به هر قسمت ← مرگ موش در صورت تخریب‌نشدن DNA ← معرفی DNA به‌عنوان عامل ترانسفورماسیون

اجـــزای سـازنـده‌ی نوکلئوتید

قند ۵ کربنی
- ریبوز
- دئوکسی‌ریبوز (یک اکسیژن کمتر از ریبوز)

گروه فسفات (یک تا سه گروه)

باز آلی نیتروژن‌دار
- پورین (۲ حلقه‌ای): G، A
- پیریمیدین (یک حلقه‌ای): T، C، U

اطـلاعـات مـؤثـر در کشف ساختار DNA

مشاهدات چارگف: $\frac{A}{T}=\frac{C}{G}=1 \rightarrow A=T \ , \ C=G$

مطالعه‌ی بلور DNA به روش پراش پرتو X توسط ویلکینز و فرانکلین
- مارپیچی بودن DNA
- تشکیل DNA از ۲ یا ۳ زنجیره

همانندسازی DNA

- روش: نیمه حفظ‌شده
- **آنزیم‌های مورد نیاز**
  - هلیکاز ← بازکردن دو رشته DNA از یکدیگر
  - DNA پلی‌مراز
    - همانندسازی
    - ویرایش
- **محل شروع**
  - از یک نقطه ← تشکیل دوراهی همانندسازی (پروکاریوت‌ها)
  - از چند نقطه ← تشکیل دوراهی‌های متعدد (یوکاریوت‌ها)

مقدمه

- عاملی که باعث انتقال صفات و ویژگی ها از نسلی به نسل دیگر می شود، **ماده ژنتیک** نام دارد.
- در ماده ژنتیک اطلاعات و دستورالعمل هایی نهفته است که بسیاری از ویژگی های جاندار به آن بستگی دارد.
- برای آنکه مولکولی بتواند نقش ماده ژنتیک را داشته باشد می بایست:

۱- بتواند اطلاعات ژنتیک را در خود ذخیره نماید.

۲- آنها را از نسلی به نسل دیگر منتقل کند.

۳- نسبتاً پایدار باشد تا بتواند در سراسر زندگی فرد خود را حفظ کند.

در جستجوی ماده ژنتیک

- در سال ۱۹۲۸، فردریک گریفیت که یک باکتری شناس بود، سعی داشت تا واکسنی علیه باکتری مولد ذات الریه بسازد.
- نام علمی باکتری مولد ذات الریه، **استرپتوکوکوس نومونیا** می باشد.
- گریفیت روی دو سویه از این باکتری کار می کرد که یکی از آنها کپسول پلی ساکاریدی دارد که اطراف باکتری را احاطه کرده ولی دیگری بدون کپسول پلی ساکاریدی می باشد.
- سویه کپسول دار باعث ایجاد بیماری می شود ولی سویه بدون کپسول خاصیت بیماری زایی ندارد.
- **آزمایش های گریفیت به ترتیب زیر است:**

i. باکتری های کپسول دار را به موش ها تزریق و مشاهده کرد موش ها بیمار شدند، ولی باکتری های بدون کپسول موش ها را بیمار نکرد.

ii. گریفیت برای اینکه بفهمد آیا کپسول باعث بیماری می شود، تعدادی باکتری کپسول دار را با گرما از بین برد و به موش های سالم تزریق کرد و مشاهده کرد که این بار موش ها بیمار نشدند. در نتیجه فهمید خود کپسول عامل بیماری نیست.

iii. او باکتری های بدون کپسول زنده و باکتری های کپسول دار کشته شده را با هم مخلوط و به موش ها تزریق و مشاهده کرد که همه موش ها بیمار شده و کشته شدند.

iv. گریفیت با مشاهده خون این موش ها متوجه شد بعضی از باکتری های بدون کپسول کپسول دار شده اند.

- تغییر شکل دادن باکتری های بدون کپسول و کپسول دار شدن آنها امروزه **ترانسفورماسیون** نامیده می شود.
- باکتری های بدون کپسول با دریافت مواد ژنتیک از محیط خارج، در خصوصیات ظاهری خود، تغییراتی بوجود می آورند.

آزمایش ایوری

- آزمایش ایوری به **شناسایی عامل ترانسفورماسیون** انجامید و ماهیت ماده ژنتیک را آشکار کرد.
- ایوری و همکارانش می دانستند که در سلول **چهار نوع ماده شیمیایی اصلی** وجود دارد که عبارتند از:
  1- **کربوهیدرات ها**
  2- **لیپید ها**
  3- **پروتئین ها**
  4- **نوکلئیک اسید ها**
- بنابراین عامل ترانسفورماسیون یکی از چهار ماده بالا می باشد.
- در زمان ایوری آنزیم های تخریب کننده هر چهار نوع ماده در دسترس بود.
- **مراحل آزمایش ایوری به شرح زیر می باشد:**
  i. ابتدا عصاره سلولی باکتری های کپسول دار کشته شده استخراج شد.
  ii. این عصاره سلولی را چند قسمت کرده و به هر قسمت آنزیم تخریب کننده یکی از مواد شیمیایی اصلی اضافه گردید.
  iii. با وارد کردن باکتری های بدون کپسول زنده به هر قسمت بصورت جداگانه سعی بر ترانسفورماسیون گردید.
- ایوری و همکارانش مشاهده کردند که فقط زمانی ترانسفورماسیون رخ می دهد که نوکلئیک اسید (DNA) تخریب نشده باشد. در نتیجه **عامل ترانسفورماسیون DNA می باشد**.
- تا قبل از آزمایشات ایوری، دانشمندان به دو دلیل فکر می کردند عامل ترانسفورماسیون نوعی پروتئین باشد:
  1- **پروتئین ها بسیار متنوع هستند**
  2- **پروتئین ها در سلول کارهای مختلفی انجام می دهند.**
- ایوری دریافت که اگر پروتئین ها را با آنزیم تخریب کننده آن از بین ببریم، باز هم ترانسفورماسیون انجام می شود. پس پروتئین نمی تواند عامل ترانسفورماسیون باشد.
- ایوری برای تحکیم ادعای خود DNA باکتری های کپسول دار را بصورت خالص تهیه کرد و آن را وارد محیط کشت باکتری های بدون کپسول کرد و مشاهده نمود که ترانسفورماسیون رخ می دهد. پس بدون تردید عامل ترانسفورماسیون DNA می باشد.

ساختار شیمیایی نوکلئیک اسیدها

- قبل از ایوری دانشمندان با ساختار شیمیایی نوکلئیک اسید ها آشنایی داشتند، اما از کار این مولکول اطلاعی در دسترس نبود.
- در سال ۱۸۷۰، فردریک میشر از هسته سلول ماده ای استخراج کرد که خاصیت اسیدی داشت و به همین خاطر آن را **نوکلئیک اسید** (اسید هسته ای) نامید.
- نوکلئیک اسید های سلول دو نوع هستند:

۱- ریبونوکلئیک اسید (RNA)

۲- دئوکسی ریبونوکلئیک اسید (DNA)

- ریبو نوکلئیک اسید که به اختصار RNA نامیده می شود در ساختار خود دارای قند ریبوز است. ولی در DNA (دئوکسی ریبو نوکلئیک اسید) قند دئوکسی ریبوز بکار رفته است.
- نوکلئیک اسید ها همانند قندها نوعی پلیمر هستند و واحد های مونومری آنها نوکلئوتید نام دارد.
- هر نوکلئوتید خود از **سه بخش** تشکیل شده است:

۱- یک قند پنج کربنه

۲- یک تا سه گروه فسفات

۳- یک باز آلی نیتروژن دار (دو حلقه ای؛ پورین و تک حلقه ای؛ پریمیدین)

قند پنج کربنه در DNA دئوکسی ریبوز و در RNA ریبوز می باشد.

بازهای آلی نیتروژن دار در DNA چهار نوع (آدنین (A)، تیمین (T)، سیتوزین (C) و گوانین (G)) و در RNA به جای باز آلی تیمین باز آلی دیگری به نام یوراسیل (U) بکار رفته است.

- **تفاوت های RNA و DNA**

۱- نوع قند (ریبوز در RNA و دئوکسی ریبوز در DNA)

۲- تعداد رشته (RNA تک رشته ای و DNA دو رشته ای)

۳- باز آلی نیتروژن دار (تیمین در DNA و یوراسیل در RNA)

۴- محل قرار گرفتن (DNA در هسته و RNA هم در هسته و هم در سیتوپلاسم)

- از اتصال نوکلئوتید ها با یکدیگر پلیمری خطی بوجود می آید که به آن یک **رشته پلی نوکلئوتیدی** گفته می شود. اتصال بین آنها از طریق ایجاد پیوند کووالان بین قند از یک نوکلئوتید با گروه فسفات از نوکلئوتید دیگر صورت می گیرد.
- نوکلئوتید ها به حالت آزاد سه گروه فسفات دارند، ولی هنگام برقراری پیوند دو گروه فسفات خود را از دست می دهند.

- پیوند بین دو نوکلئوتید را **پیوند فسفو دی استر** می نامند.
- اگر به انتهای رشته پلی نوکلئوتیدی نگاه کنیم، خواهیم دید که دو انتهای آنها با هم متفاوت است، بصورتی که در یک انتها **فسفات وجود داشته** و در انتهای دیگر **فسفات وجود ندارد**. این خاصیت باعث می شود رشته پلی نوکلئوتیدی دارای **قطبیت** باشد.

کشف ساختار DNA

- **مشاهدات چارگف:**
  - در آغاز دهه ۱۹۵۰ مقدار بازهای DNA را در جانداران مختلف اندازه گیری کرد.
  - مشاهده شد بین نسبت بازهای DNA رابطه خاصی وجود دارد؛ به این صورت که نسبت A به T و نسبت C به G برابر عدد ۱ است؛ یعنی مقدار A و T و همچنین مقدار C و G با هم برابر است.
- **داده های حاصل از پراش پرتو X:**
  - در این روش پرتو X مستقیماً به بلور جسمی که می خواهند به ساختار آن پی ببرند تابانده می شود، که پس از برخورد به جسم پراکنده شده و روی صفحه حساس فیلم که در پشت بلور قرار دارد ثبت می شود.
  - پژوهشگران با تجزیه و تحلیل الگوهای پیچیده ای که روی فیلم ثبت می شود می توانند ساختار مولکول را تعیین کنند.
  - برای بررسی ساختار DNA از روش پراش پرتو X استفاده شد.
- **مشاهدات ویلکینز و فرانکلین:**
  - این دو با روش پراش پرتو X، تصاویری از بلور DNA تهیه کردند و با بررسی این تصاویر روشن شد مولکول DNA بصورت مارپیچی است که دو یا سه زنجیره دارد.
- **مدل واتسون و کریک:**
  - این دو سرانجام در سال ۱۹۵۳ با کمک یافته های چارگف و داده های حاصل از روش پراش پرتوهای X توسط ویلکینز و فرانکلین و نیز شناختی که خود از پیوند های شیمیایی داشتند، مدلی برای DNA پیشنهاد دادند.
  - مدل امروزی DNA همان مدل واتسون و کریک است.
  - طبق این مدل DNA:

a) از دو رشته پلی نوکلئوتیدی تشکیل شده است که **حول یک محور فرضی** به دور یکدیگر پیچ خورده اند **(مدل مارپیچ دو رشته ای)**

b) مارپیچ دو رشته ای شبیه نردبانی است که حول یک محور فرضی پیچ خورده است.

c) نرده های این نردبان را **گروه های قند فسفات** تشکیل می دهند و پله های آن را **بازهای آلی** که بصورت جفت در مقابل هم هستند.

d) **بین بازهای آلی** که مقابل هم هستند، **پیوند هیدروژنی** وجود دارد، که همین پیوندهای هیدروژنی بین بازها دو رشته را کنار هم نگه می دارد.

e) دو باز که در دو رشته در مقابل هم هستند و با هم پیوند هیدروژنی دارند را **جفت باز** می نامند.

f) جفت شدن بازها از قوانین خاصی پیروی می کند که مربوط به ساختار بازها بوده، و مکمل هم هستند.

g) همواره **آدنین** از یک رشته در مقابل **تیمین** از رشته دیگر، و **سیتوزین** از یک رشته در مقابل **گوانین** از رشته دیگر قرار می گیرد.

- جفت بودن بازها در DNA اصل چارگف را توجیه می کند.
- بر اساس جفت بودن بازها می توان گفت که هر رشته مکمل رشته مقابل است.
- ترتیب بازهای یک رشته، ترتیب بازهای رشته مقابل را تعیین می کند.
- تحقیقات نشان دهنده این است که اطلاعات وراثتی را ترتیب و تعداد بازها تشکیل می دهند.
- هیچ محدودیتی برای تعداد و ترتیب بازها در یک رشته وجود ندارد. اما با مشخص شدن توالی بازهای یک رشته، رشته مقابل باید مکمل آن باشد.

همانند سازی DNA

- واتسون و کریک بیان کردند که **وجود رابطه مکملی بین بازها در DNA می تواند در فرآیند همانند سازی آن نقش اساسی داشته باشد**.
- در همانند سازی DNA دو رشته آن به کمک **آنزیم هلیکاز** مانند زیپ از هم جدا می شود و سپس از روی هر رشته رشته جدیدی ساخته می شود.
- در همانند سازی با استفاده از نوکلئوتیدهای آزاد در سیتوپلاسم در مقابل A باز T و در مقابل C باز G قرار می گیرد.
- چون هر DNA دختر یک رشته قدیمی و یک رشته جدید دارد، گفته می شود همانند سازی DNA به طریق **نیمه حفظ شده** است.
- در همانند سازی دو مولکول DNA تولید می شود که هر یک دارای یک رشته DNA جدید و یک رشته DNA قدیمی هستند.
- ردیف نوکلئوتید ها در هر یک از مولکول های DNA حاصل یکسان است.
- همانند سازی DNA به کمک آنزیم **DNA پلی مراز** صورت می گیرد.

- آنزیم DNA پلی مراز در طول DNA حرکت می کند و نوکلئوتید های آزاد را در مقابل نوکلئوتید های مکمل خود در رشته قرار می دهد. این آنزیم دارای توانایی **ویرایش** هم می باشد، یعنی در صورتی که نوکلئوتیدی اشتباهی به DNA اضافه شود (مکمل نباشد) آنزیم DNA پلی مراز آن را جدا کرده و نوکلئوتید صحیح را به جای آن قرار می دهد. اگر این آنزیم نتواند کار ویرایش را درست انجام دهد، به این اشتباه تصحیح نشده **جهش** می گویند.
- اگر جهش مربوط به سلول های جنسی باشد، می تواند به نسل بعد نیز منتقل شود.
- در همانند سازی، **دو راهی همانند سازی** ایجاد می شود، یعنی در یک نقطه خاص دوراهی باز شده و همانند سازی پیش می رود.
- در **باکتری ها** **دو دوراهی همانند سازی** ایجاد می شود، که همانند سازی در آنها در دو جهت پیش می رود تا سرانجام در نقطه ای مقابل نقطه شروع به یکدیگر برسند.
- در سلول های **یوکاریوتی** بخاطر طویل بودن DNA **چندین دوراهی همانند سازی** ایجاد می شود تا کار همانند سازی سریع تر صورت گیرد.
- اگر همانند سازی انسان مانند باکتری ها با دو دوراهی همانند سازی می شد، همانند سازی هر کروموزوم ۳۳ روز طول می کشید، در حالیکه این کار به خاطر وجود تعداد زیاد دوراهی همانند سازی ۸ ساعت به طول می انجامد.