علم الاحياء الجزيئي

اليات اصلاحDNA المتضرر

المقدمه: من احدى اهم صفات الماده الوراثيه هي انها تخزن المعلومات الوراثيه وتضاعفه وتظهرها بشكل امن الى الاجيال الاحقه ولكن مسألة اظهار المعلومات وخزنها بشكل امن ونقله الى الاجيال الاحقه مسأله نسبيه اذ انه قد تحدث اخطاء في احدى مراحل التضاعف:

١- قبل التضاعف

٢- اثناء التضاعف

٣- بعد التضاعف

هذا وقد يحدث تغير في تركيب الدنا اثناء التعرض للمواد الكيمياويه او العوامل الفيزياويه مما قد يودي الى ضرر يثبط التضاعف او الاستنساخ وربما يؤدي لحصول طفره. ولاجل الحفاظ على تكميلية الماده الوراثيه طورت الاحياء المجهريه اليات اصلاح الدنا المتضرر.

مصادر الضرر

أ- عوامل داخليه نتيجه للفعاليات الحيويه للخليه وتشمل

١- اكسدة القواعد النتروجينيه لجزيئة الدنا، مثال 8- oxoguanine

٢- الالكله alkalation ويتم فيها اضافة مجموعة المثيل ،مثال 7- methyl guanine

٣- تحلل القواعد النتروجينيه ، مثل ازالة مجموعة الامين للقاعده النتروجينيه

٤- فقدان التزاوج بين القواعد النتروجينيه mismatch

ب- عوامل خارجيه وتشمل

١- الاشعه فوق البنفسجيه UV light

٢- UV-A light تؤدي الى تكوين الجذور الحره، وبذلك يحدث ضرر غير مباشر

٣- الاشعه الايونيه ionizing radiation

٤- العرقله الحراريه temperature disruption . دائما تؤدي الى حذف القواعد البورينيه من شريط الدنا وتكوين AP sites

٥- المواد الكيماويه الصناعيه

اليات اصلاح الدنا المتضرر

١-العكس المباشر للتفاعل الكيمياوي Direct reversal for chemical reaction

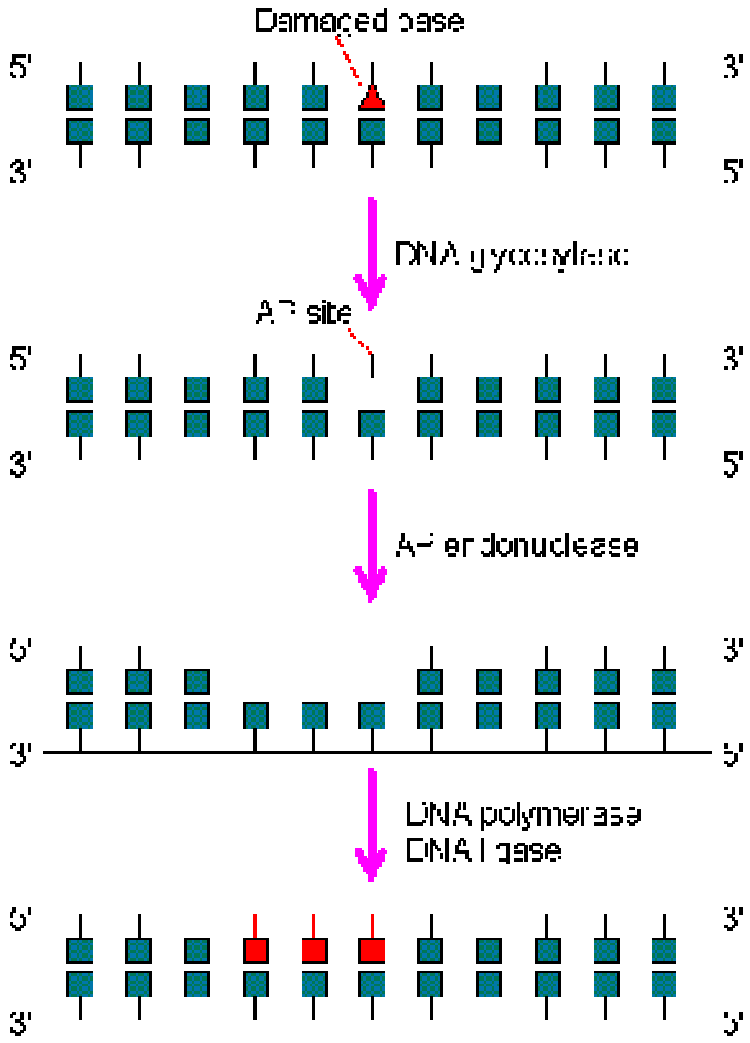
يكون هذا النوع من الاصلاح متخصص بنوع الضرر من دون تاثير على هيكلية بناء شريط الدنا . اذ يمكن اصلاح ثنائيات الثايمين الناتجه بفعل الاشعه فوق البنفسجيه بواسطة ميكانيكيه تدعى التنشيط الضوئي photoreactivation ، تعمل على العكس المباشر للضرر من خلال فعالية انزيم يدعى photolyase الذي يتنشط بفعل الطاقه الممتصه على طول موجي ٣٠٠- ٥٠٠ نانوميتر ، بعدها يقوم بازالة الضرر .

٢-حذف القواعد النتروجينيه المتضرره excision of the damaged bases

وفيها يتم حذف القواعد النتروجينيه التي سبق وان تعرضت للالكله او ازالة مجموعة الامين بواسطة انزيم متخصص بنوع القاعده النتروجينيه يدعى DNA glcosylase ، مما يؤدي الى تكوين apurinic site او apyrmidinic site (APsite) .يتم تمميز AP site بواسطة انزيم يعرف بالAP endonuclease الذي يزيل مجموعة الفوسفات والسكر الخماسي لبقايا النيوكليوتيده المحذوفه من شريط الدنا ، بالاضافه الى حذف بعض النيوكليوتيدات المجاوره ، مما يؤدي الى تكوين فسحه cap التي يتم ملأها بفعل DNA polymerase I مع انزيم ligase

جدول ١-تخصص انواع انزيمات الكلايكوسيليزبنوع القاعده النتروجينيه المتضرره

Base(s) recognized	Glycosylase
Uracil	Uracil-DNA glycosylase
Hypoxanthine	Hypoxanthine-DNA glycosylase
3-Methyladenine	3-Methyladenine-DNA glycosylase
Pyrimidine dimers 6-4 photoproducts	T4 endonuclease V UV endonuclease
8-Oxoguanine	8-Oxoguanine-DNA glycosylase (hOgg1)



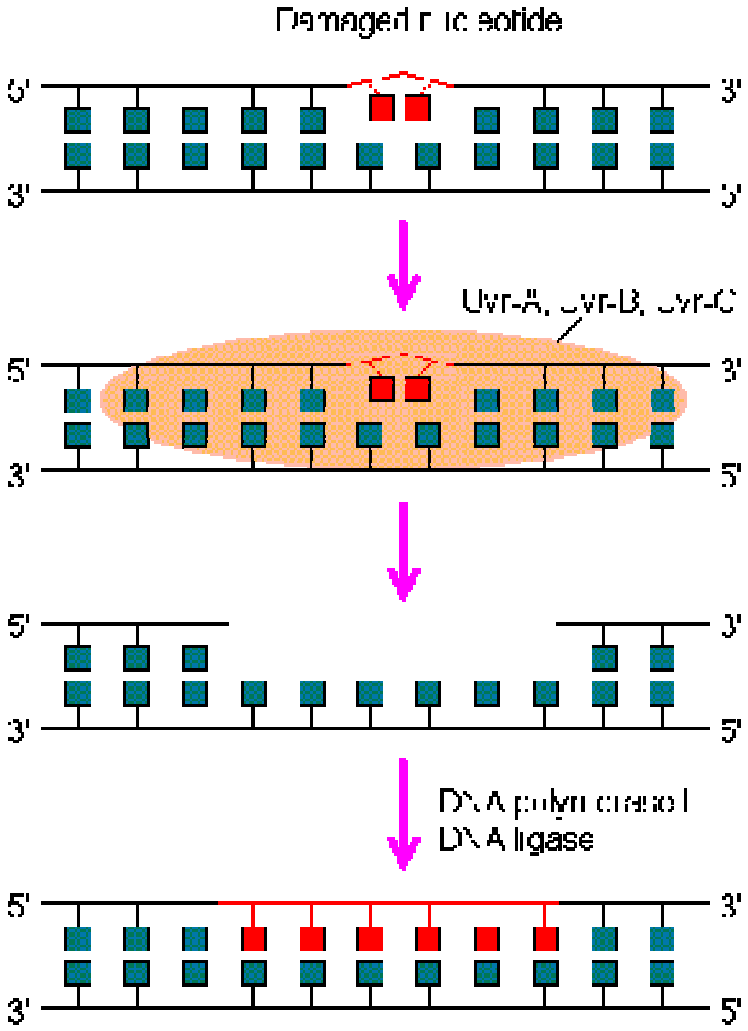
شكل ١- يوضح الية اصلاح الدنا بحذف القاعده النتروجينيه المتضرره

٣- حذف النيوكليوتيدات المتضرره excision of the damaged nucleotides

وفيها يتم ازالة قطعه قصيره من النيوكليوتيدات بضمنها منطقة الضرر lesion على سبيل المثال اصلاح ثنائيات الثايمينthymine dimmer . في بكتريا E.coli توجد هنالك ثلاث جينات Uvr A,B,C تشفر لبروتينات Uvr A,B,C ، هذه البروتينات تعمل ك excinuclease اذ تعمل على حذف النيوكليوتيدات المتضرره ، مما يؤدي الى تكوين فسحه يتم ملأها بفعل انزيم DNA

polymerase مع وجود انزيم اللايكيز الذي يعمل على ربط القطعه المضافه بجزئ الدنا. في الخمائر هنالك بروتينات تدعى RADxx تعمل عمل بروتينات Uvr.

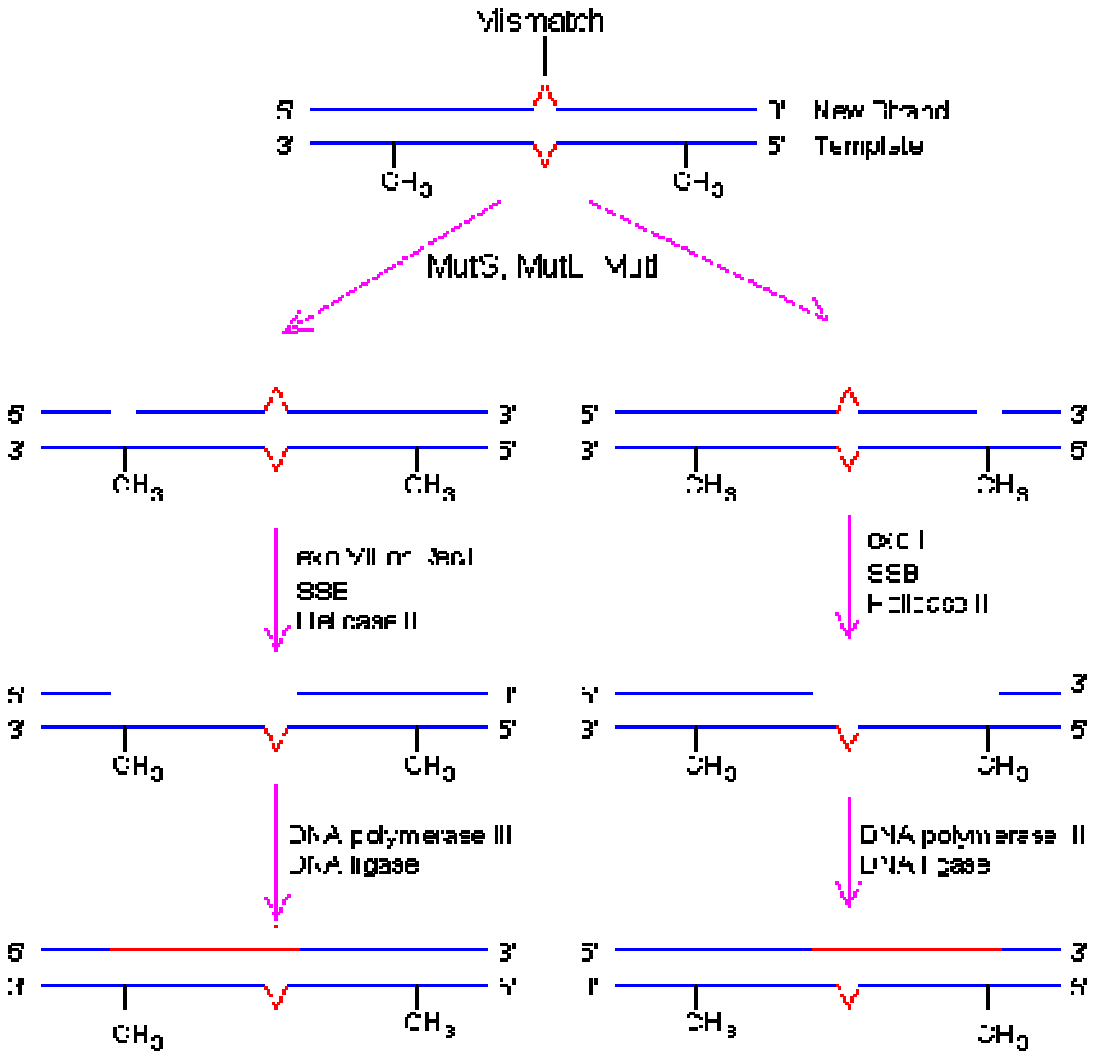
بروتين Uvr B يقوم بحذف ٧ نيوكليوتيدات اعلى (٥) الضرر ، في حين يقوم بروتين Uvr C بحذف ٤ نيوكليوتيدات اسفل الضرر (٣)



شكل ٢- يوضح الية اصلاح الدنا بحذف النيوكليوتيدات المتضرره

٤- اصلاح فقد التزاوج بين القواعد النتروجينيه DNA mismatch repair

يقوم هذا النظام باصلاح الضرر الناجم من خطأ القراءه التصحيحيه proof reading system اثناء تضاعف الدنا . تعتمد هذه الميكانيكيه على اساس التمييز بين شريط الدنا الاصلي عن شريط الدنا البنوي وذلك من خلال وجود methylated adenine في تسلسل GATC في اعلى شريط الدنا (٥) الاصلي ، في حين شريط الدنا المتكون الجديد(البنوي) لا يحتوي على methylated adenine . في بكتريا E.coli اضافة مجموعة المثيل تتم بفعل انزيم يدعى Dam methylase . يحتاج هذا النظام الى عدد من البروتينات : Mut S, Mut L, Mut H ، حيث يقوم mut S بالارتباط بموقع النيوكليوتيده الخطأ ، ثم يرتبط بعد ذلك mut L الذي يحفز mut H على الارتباط بGATC الذي يقوم بشق شريط الدنا الجديد من موقع الارتباط . ان المسافه الواقعه بين النيوكليوتيده الخطأ والشق يزال بفعل انزيم exonuclease ، ثم بعد ذلك تملا الفسحه بواسطة بلمرة الدنا مع وجود انزيم الايكيز. في حقيقيات النواة ، مثل الخمائر لوحظ وجود بروتينا ت مشابهه لتلك الموجوده في البكتريا وتدعى MSH1---MSH5 .

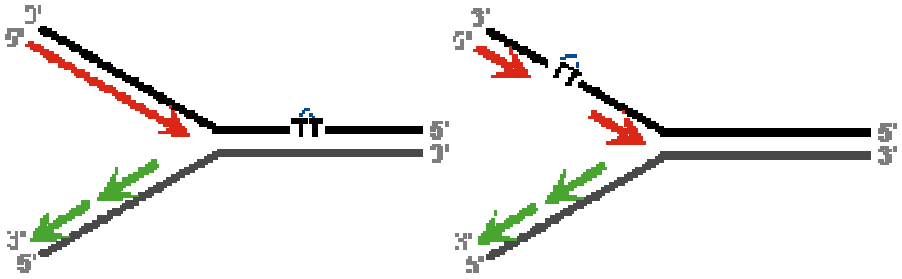


شكل ٣- يوضح الية اصلاح الضرر الناتج من عدم تزاوج القواعد النتروجينيه

٥-اصلاح الضرر مابعد التضاعف postreplication repair

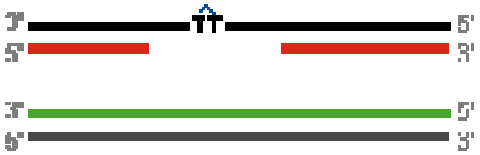
تعتمد هذه الاليه مبدأ اعادة التشكيل الوراثي المتجانس homologous genetic recombination لتحل قطعة الدنا المتكامله او الصحيحه محل قطعة الدنا المتضرره . عند تضاعف جزيئة الدنا الحاويه على ثنائية الثايمين thymine dimmer (lesion) يقوم انزيم بلمرة الدنا بأستئناف عمله اسفل منطقة الضرر فيكون هنالك فسحه في شريط الدنا الجديد مقابل ثنائية الثايمين، وفي الدوره الثانيه من تضاعف الدنا تتكون جزيئتين دنا ، احدهما متكامله والاخرى حاويه على منطقه غير متزاوجه مع القواعد النتروجينيه في منطقة الضرر. ان عملية الاصلاح تتضمن تكوين تلاقيات هولیداي Holliday junctions ،الذي يقوم بعملية اعادة التشكيل بين جزيئ الدنا وفيه تستبدل المنطقه غير المتزاوجه unpairing region في جزيئة الدنا المتضرره بتسلسل مماثل من النيوكليوتيدات لشريط الدنا الاصلي من الجزيئه الثانيه. وهكذا يتم الحصول على جزيئتين دنا احدهما حاويه على ثنائية الثايمين وشريط مصحح وراثيا و الجزيئه الاخرى حاويه على فسحه يتم ملأها بواسطة انزيم بلمرة الدنا وانزيم الايكيز

Now also supose that this molecule is being replicated. **DNA polymerase II** will be unable to correctly copy the thymine dimer. Rather than stall at this point, it may simply skip over the problem:

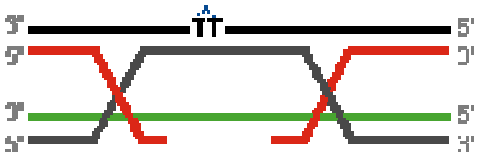


It is now believed that **DNA polymerase II** (**PolII**) reinitiates DNA synthesis downstream of lesions such as thymine dimers.

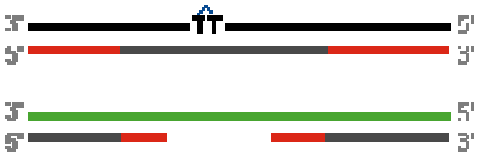
Now, we are left with two daughter molecules, one of which is complete and one of which has an unpaired region containing a thymine dimer:



This cannot be repaired by the usual repair systems. However, the exposed ssDNA can be bound by the **RecA** protein which can then catalyse strand exchange with the correctly synthesised daugthter molecule:



This intermediate contains two **Holliday junctions** which can be cleaved (resolved) by the Ruv proteins to give:



One daughter molecule still contains the thymine dimer but the opposite strand has the correctgenetic sequence. The other daughter now conatins a gap but this gap can be repaired correctly by the usual repair systems

الضرر والطفرات الوراثيه DNA damage and genetic mutation

يختلف هذان المصطلحان جوهريا عن بعضهما بالرغم من ان كلاهما خلل في الماده الوراثيه وتغير عن الحاله الطبيعيه. والفروقات هي كالاتي :

DNA damage	Mutation
١- ضرر الدنا هو تغيرات فيزياويه مثل تغير في القاعده النتروجينيه التي يمكن ازالتها عن طريق اليات الاصلاح	١- تغير في تسلسل القواعد النتروجينيه او تغير في تركيب الجيني او المحتوى الوراثي
٢- يمكن تمميزها من خلال انزيمات نظام الاصلاح باستخدام المعلومات الوراثيه الموجوده على شريط الدنا المتمم	٢- لايمكن تمييزها بواسطة الانزيمات حال وجود التغير في كلا الشريطين
٣- الضرر ممكن ان يؤدي الى موت الخليه اذا ما احتفظت الخليه بتلك التغيرات	٣- تتكرر الطفرات بتضاعف الخليه ويمكن ان تسب تغيرات في وظيفة البروتين وليس بالضروره ان تؤدي الى موت الخليه
٤- عدم اصلاح الضرر في الخلايا بطيئة الانقسام او غير المنقسمه يكون تأثيرها تراكمي ، في حين عدم اصلاح الضرر في الخلايا سريعة	٤- يمكن فقد الخلايا الطافره اثناء تضاعفها او انها تنقسم لتكون نسائل خلويه طافره محدثه بذلك السرطان

الانقسام ربما يؤدي الى احداث الطفره	