تناسخ الكروموسومات فى الخلايا مميزة النواة

لاشك أن كروموسومات الإنسان يكون جزئ د ن أ فى كل منها أطول بكثير من كروموسوم بكتريا القولون ففى حين يكون طول جزئ د ن أ فى هذه البكتريا حوالى ١,١ مم (مكون من حوالى ٣,٢ × ١٠^{٦} زوج من القواعد) نجد أن أطول كروموسوم فى الجينوم البشرى يكون طوله ٧ سم (حوالى ١٥٠ × ١٠^{٦} نيوكلتيده) . يحتم ذلك أن تتعدد مناشئ التناسخ فى كروموسومات مميزة النواة حتى يمكن أن تتم عملية التناسخ فى الوقت المناسب وبدون أبطاء .

وقد تحقق ذلك بدراسة الطريقة العامة لتناسخ كروموسوم الإنسان حيث تنمى خلايا الإنسان فى مزرعة خلايا وتعلم لفترة قصيرة بالثيميدين المشع ^{3}H thymidine بحيث يكون د ن أ المتكون خلال هذه الفترة الوجيزة ذو إشعاع عال . ثم تكسر الخلايا بلطف ويؤخذ د ن أ ويفرد بعناية على سطح شريحة زجاجية مبطنة بمحلول تصوير حتى يمكن تحديد طراز د ن أ المشع بطريقة التصوير بالإشعاع الذاتى Autoradiography . اختير الوقت المسموح به للتعليم بالإشعاع بحيث تعطى كل شوكة تناسخ فرصة للحركة بمقدار عدة ميكروميترات على طول سلسلة د ن أ القالب . يؤدى ذلك إلى إمكان التعرف على د ن أ الذى تم تناسخه حيث يظهر على هيئة خطوط من حبيبات الفضة فى صورة الإشعاع الذاتى تحت المجهر الضوئى . بهذه الطريقة يمكن تقدير كل من سرعة واتجاه حركة شوكة التناسخ (الشكل ٣ – ١) والذى يتبين منه أن التناسخ يتم فى اتجاهين متضادين . يدل المعدل الذى يتم به زيادة طول د ن أ المتناسخ مع زيادة فترة الإشعاع على أن شوكة التناسخ تتحرك بسرعة ٥٠ نيوكلتيده فى الثانية . ويمثل ذلك حوالى $\frac{١}{١٠}$ السرعة التى تتحرك بها شوكة

التناسخ فى البكتريا . وقد يرجع بطء الحركة فى مميزة النواة إلى الصعوبة التى تواجهها عملية تناسخ د ن أ فى هذه الكائنات التى يكون فيها د ن أ الكروموسومى منضغط فى صورة كروماتين (نيوكليوسوم) ، وكما سبق الإشارة فإن متوسط طول كروموسوم الإنسان حوالى ١٥٠ مليون زوج نيوكلتيدى ولكى يتم تناسخ مثل هذا الجزئ الكبير من البداية إلى النهاية بشوكة تناسخ واحدة وبسرعة ٥٠ نيوكلتيده فى الثانيـة فإن ذلـك سيستغـرق ١٠^٦ × ١٥٠ × ٠,٢ = ٣ × ١٠^٦ ثانية أى حوالى ٨٠٠ ساعة وهو أمر مستبعد بطبيعة الحال .

وقد أظهرت صور الإشعاع الذاتى (الشكل ٣ - ١) أن هناك عدد كبير من شوكات التناسخ تتحرك فى وقت واحد على كل كروموسوم من مميزة النواة . بالإضافة إلى ذلك فإن عدة شوكات تناسخ توجد بالقرب من بعضها البعض فى نفس منطقة د ن أ فى حين تخلو بعض مناطق أخرى من أى شوكات تناسخ .

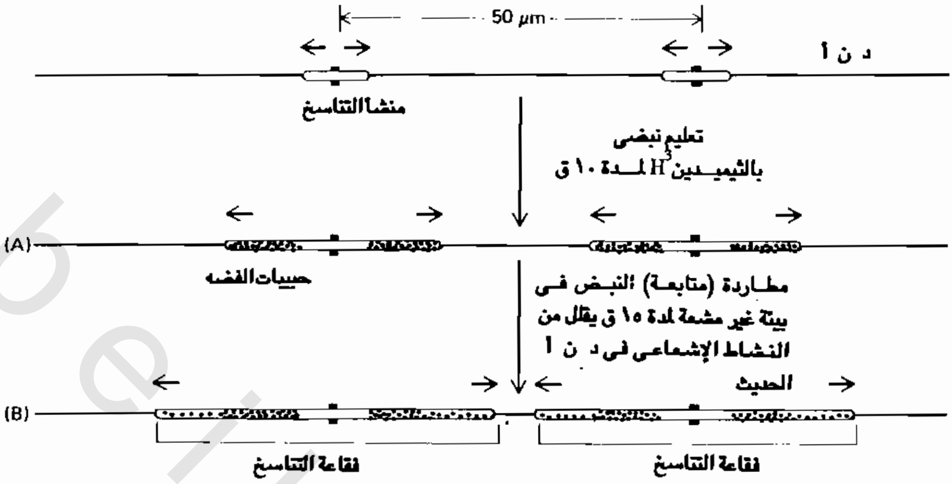
وقد أثبتت عدة تجارب لاحقة ما يأتى :

١ - أن كل كروموسوم ممكن أن يحتوى على عدة الاف من مناشئ التناسخ .

٢ - أن مناشئ التناسخ تميل إلى العمل فى مجاميع تسمى وحدات التناسخ Replication Units وتتكون كل وحدة من حوالى ٢٠ إلى ٨٠ منشأ تناسخ .

٣ - يبدأ نشاط وحدات التناسخ خلال مرحلة S فى الميوزى ويستمر حتى يتم تناسخ جـزئ د ن أ الكروموسومى بأكمله .

٤ - داخل وحدة التناسخ الواحدة تكون المناشئ الفردية على مسافات تبلغ حوالى ٣٠,٠٠٠ إلى ٣٠٠,٠٠٠ زوج نيوكلتيدى من بعضها البعض ، وقد يوجد منشأ تناسخ واحد لكل عروه أو نطاق كروماتينى .



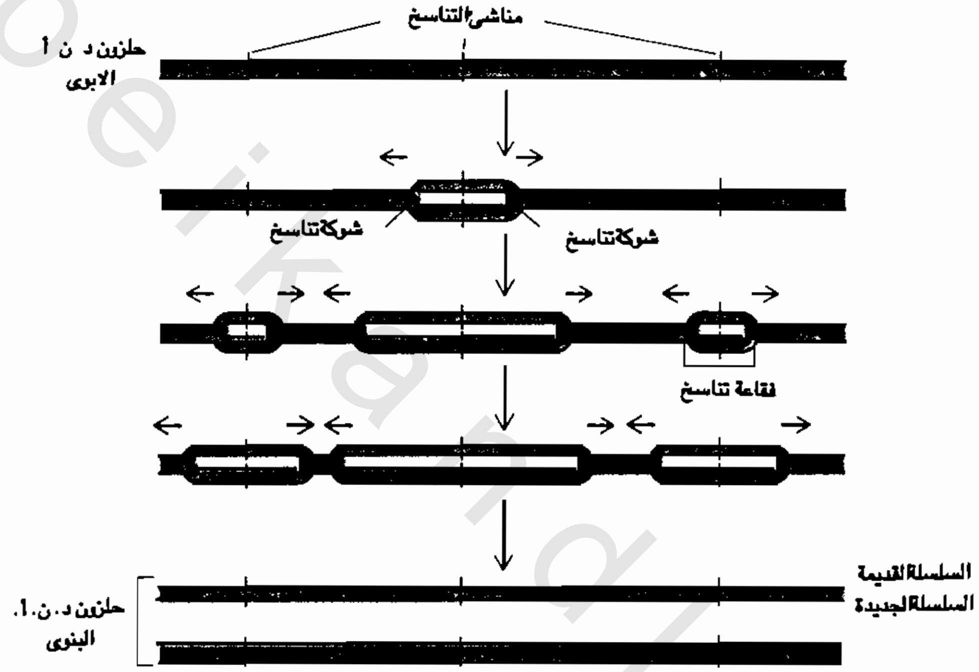
الشكل (٣-١):

التجارب التى تثبت أن حركة شوكات التناسخ تحدث أثناء مرحلة البناء S فى مميزة النواة . ثم تعليم قصير لـ د ن أ الحديث البناء فى الخلايا البشرية بوميض من الثيميدين العالى الإشعاع (H^3 - thymidine) .

(أ) تم تحليل الخلايا وأجرى فرد لـ د ن أ على شريحة زجاجية وتمت عملية التصوير بالإشعاع الذاتى Autoradiography فظهر خط من حبيبات الفضة على د ن أ المشع . (ب) نفس التجربة فى أ فيما عدا أنه اتيحت فترة زمنية أكبر للتحضير فى بيئة غير مشعة مما أدى إلى دورات تناسخ متتالية من د ن أ وقد تبين أن أزواج الخطوط الداكنة تحتوى على حبيبات فضة تتدرج بالتناقص فى الاتجاهين المتضادين . ويبين ذلك الحركة ثنائية الاتجاه للشوكه من منشأ تناسخ مركزى .

٥ - كما هو الحال فى البكتريا تكون شوكة التناسخ فى أزواج وتتكون فقاعة تناسخ وتتحرك شوكة التناسخ فى اتجاهين متضادين بعيداً عن نقطة المنشأ المشتركة وتظل فى الحركة إلى أن تلتقى (رأساً برأس) مع شوكة تناسخ أخرى آتيه من الاتجاه المضاد (أو إلى أن تصل إلى نهاية الكروموسوم) . بهذه الطريقة يمكن لعدد كبير من شوكات التناسخ أن

تقوم بدورها مستقلة على كل كروموسوم بحيث يكتمل بناء جزيئين كاملين من الحلزون المزدوج البنوى على السلسلتين الأبويتين التى يستخدم كل منهما كقالب. (الشكل ٣ - ٢) .



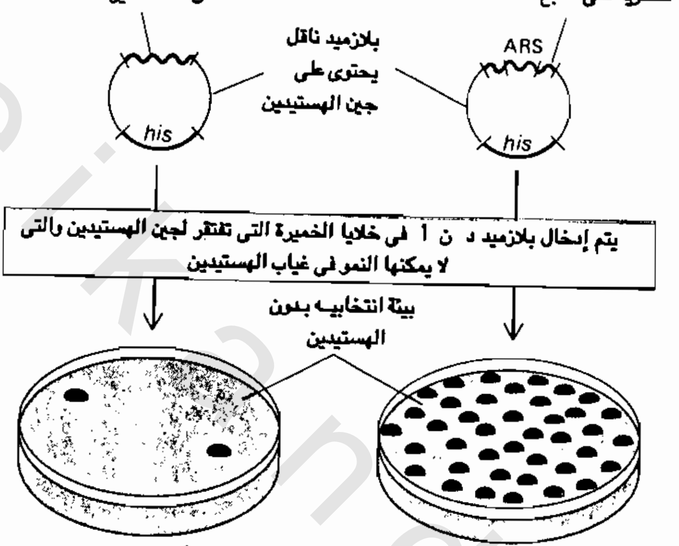
الشكل (٣ - ٢):

طراز تناسخ د ن أ كروموسوم مميزة النواة حيث تكون مناشئ التناسخ موزعة على مسافات من ٣٠,٠٠٠ إلى ٣٠٠,٠٠٠ زوج نيوكلتيدى فى معظم الخلايا . ويعتقد أن شوكة التناسخ تتوقف فقط عندما تتقابل مع شوكة تناسخ تتحرك فى الاتجاه المضاد أو عندما تصل إلى نهاية الكروموسوم . وبهذه الطريقة فإن كل الكروموسوم يتم تناسخه .

obeikandl.com

وجود تتابعات محددة من د ن أ تميز مناشىء التناسخ

سبق الإشارة إلى وجود تتابعات محددة فى مناشئ التناسخ فى البكتريا والفيرس إلا أنه فى مميزة النواة لم تتحدد بصفة قاطعة بعد تتابعات خاصة بمناشئ التناسخ ولو أنه توجد أدلة على أن تناسخ د ن أ يبدأ فى مواقع محددة وثابتة على الكروموسومات فى خلايا الثدييات.



الشكل (٣-٣):

تجربة للتعرف على تتابعات التناسخ التلقائى (عناصر ARS) فى الخميرة . تعمل هذه التتابعات كمناشئ للتناسخ وتمكن البلازميدات التى تحتويها من التناسخ حرة فى الخلية المضيفة بدون الحاجة إلى إدخالها إلى كروموسوماتها.

وقد يفيد فى معرفة تتابعات مناشئ التناسخ النظام الذى تمت دراسته بالتفصيل فى خميرة الخباز حيث أمكن إجبار خلايا الخميرة علا أخذ د ن أ غريب (عملية تحول Trans-formation) وقد أمكن استخدام عدد من البلازميدات الكشافة لهذا الغرض . لا تستطيع

البلازميدات البكتيرية عادة أن تتضاعف فى الخميرة ولكن عند إضافة تتابعات معينة من د ن أ الخميرة إلى هذه البلازميدات فإنها أصبحت قادرة على التضاعف . يطلق على هذه التتابعات اسم تتابعات التناسخ الذاتى Autonomous Replication Sequences (ARSes) (لشكل ٣ - ٣) .

يمكن لهذه التتابعات ARSes أن تزيد معدل التناسخ فى المعمل *In vitro* باستخدام مستخلص الخميرة فى حين توجد فى الخلية *In vivo* عناصر ARSes أخرى فى الجينوم تتناسخ فى أوقات معينة أثناء دور S فى الخميرة . تبين أن ARSes المدخلة Inserted فى البلازميد تتناسخ فى نفس الوقت الذى يتم فيه تناسخ مثيلاتها الموجودة فى الكروموسوم .

على الرغم من أن هذه الأدلة غير مباشرة إلا أنها تقترح أن ARSes قد تكون هى المناشئ الحقيقية للتناسخ فى الكروموسومات . ويبين الشكل رقم ٣ - ٤ تتابع جزء قصير طوله ٥٧ ، ٤٩ زوج من القواعد من د ن أ الخميرة التى وجد أنها كافية لأعطاء البلازميد خاصية التناسخ الذاتى . يوجد تتابع قصير مشترك محفوظ وهام فى حين أن بقية التتابعات لا تبدى تناظر كبير على الرغم من أهميتها الوظيفية ويكون التناظر قصيرا لدرجة لا يمكن توقع حدوث تهجين خلطى بين تتابعات ARSes فى الجينوم .

وجد أن عدد هذه التتابعات ARSes فى جينوم الخميرة يوجد بتكرار مساو للتكرار المتوقع لمناشئ تناسخ الخميرة (أى حوالى مرة كل ٤٠,٠٠٠ زوج نيوكلتيدى) .

```
consensus: ATTTATATTTA
           T    G   T

aaaagtaaaaTTTaATATTTTggatgaaaaaaaccattttagactttttcttaact
 *    *   *** **  *****  ** *****   **   *   *   *
gatcattgtatgTTTTATGTTTTgtctggaaaaacatatagtacggata
```

الشكل (٣ - ٤):

التتابعات المتناظرة بين عناصر ARS فى نوعين من الخميرة . تدل النجوم (*) على مواقع التناظر وتمثل الحروف الكبيرة أفضل تناظر للتتابع المحفوظ فى ARS الخميرة .

ضوابط لمنع تكراربدء التناسخ فى الخلايا مميزة النواة

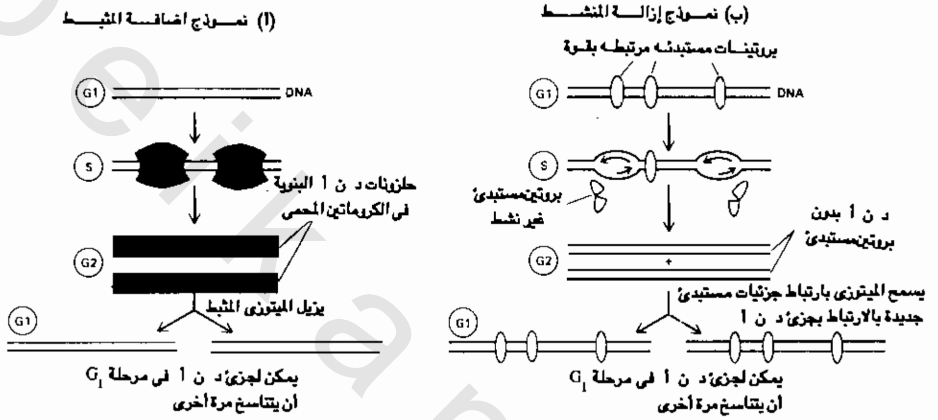
يوجد فى كل مجموعة كروموسومية حوالى ٣٠,٠٠٠ منشأ تناسخ يتم تنشيطها بالتتابع على مدى عدة ساعات فى دور S فى دورة الخلية إلا أنه لكى يتم تناسخ د ن أ بدقة فلابد للخلية أن تضمن أن كل منشأ تناسخ لا يستخدم إلا مرة واحدة فقط فى كل دورة خلية . إن منع تكرار بدء التناسخ فى الدورة الواحدة عملية هامة جداً وأساسية فى تناسخ مميزة النواة وتمثل فرق جوهرى بينها وبين غير مميزه النواه ، حيث أنه عند منتصف دور S تكون بعض أجزاء من الكروموسوم لم تبدأ بعد فى التناسخ فى حين تكون أجزاء أخرى قد أتمت تناسخها تماماً . يتطلب ذلك متابعة دقيقة عند منتصف وفى آخر دور S .

إن مناشئ التناسخ التى استخدمت بالفعل قد تم أيضاً تناسخها وهى على درجة كبيرة من التشابه فى تتابعها على الأقل مع مناشئ التناسخ الأخرى التى لم يأت عليها الدور لبدء التناسخ بعد .

ولكن الخلية لا تحتاج إلا إلى استخدام كل منشأ تناسخ مرة واحدة فى كل دوره خلية فى الدور S فكيف يمكن التميز بين هذه المناشئ لمنع تكرار استخدامها ؟

أمكن باستخدام تقنية الدمج الخلوى Cell fusion التوصل إلى بعض التفسير . فعندما تم دمج خلية فى دور S مع خلية فى دور G_1 فإن عملية بناء د ن أ تستحث فى نواة الخلية G_1 مما يشير إلى أن التحول من الدور G_1 إلى S تم بواسطة عامل منشط لعملية بناء د ن أ وقابل للأنتشار Diffusable من الخلية S إلي الخلية G_1 . من جهة أخرى ، عندما تم دمج خلية فى دور S مع خلية فى دور G_2 (أى خلية اتمت للتو دور S) فقد وجد أن النواة فى الخلية G2 لم تستحث لبناء د ن أ نظراً لأن عملية بناء د ن أ مستمرة بدون عوائق فى النواة فى دور S فإن النواة فى دور G2 التى أتمت بناء كل د ن أ الخاص بها مرة واحدة تبدو كما لو كانت ممنوعة من الدخول فى دورات جديدة من التناسخ فى نفس دورة الخلية وذلك بواسطة عوامل مثبطة غير قابلة للأنتشار non diffusable والتى تكون مرتبطة بشدة بجزئ د ن أ الخاص بها . إذا تمت إضافة هذا المثبط داخلياً أثناء دور S فى أعقاب كل

شوكة التناسخ فإنه سيحل مشكلة عدم تكرار تناسخ المنشأ أكثر من مرة فى دوره الخلية الواحدة ، وذلك عن طريق إحداث تعديل فى الكروماتين الخاص بـ د ن أ الذى تم تناسخه حديثاً وبذلك نضمن أن الجزء من د ن أ الذى تم تناسخه مرة لن يتكرر تناسخه مرة أخرى فى نفس دور S كما فى الشكل (٣ – ٥ أ) .



***الشكل* (٣ - ٥):**

ميكانيكيتين بديلتين لتفسير « مانعات إعادة التناسخ » التى تحمى د ن أ المنسوخ حديثاً من تكرار تناسخه فى نفس دوره الخلية . وهذه المواقع ضرورية للمحافظة على دقة التناسخ إلا أن الطبيعة الجزيئية لها غير معروفة . عادة تزال الموانع أثناء الانقسام الميتوزى إلا أنه فى بعض الأنواع القليلة من الخلايا المتخصصة (مثل خلايا الغدد اللعابية ليرقات حشرة الدروسفلا) فإنه يتم إزالتها بدون الميتوزى مما يؤدى إلى تكوين الكروموسومات البوليتية العملاقة .

أ – نموذج يعتمد على إضافة مثبط إلى كل الكروماتين المتناسخ حديثاً .

ب – نموذج يعتمد على الارتباط القوى لبروتين مستبدئ (منشط) الذى يعمل مرة واحدة فقط والذى يمكن إضافته إلى د ن أ أثناء الميتوزى فقط .

obeikandi.com

يوجد تفسير آخر يعتمد على افتراض وجود بروتين بادئ مرتبط بشدة يحدث له إيقاف لنشاطه inactivation عند مرور شوكة التناسخ (الشكل ٣ – ٥ ب) .

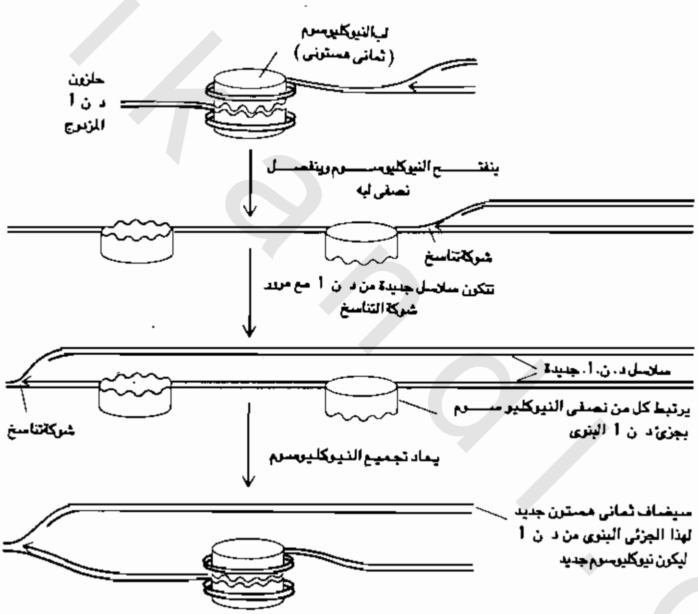
وبغض النظر عن طبيعة هذا العامل المثبط لتناسخ د ن أ فإنه لابد من إزالته عند أو قبيل بدء فترة الميتوزى حيث أنه بعد أنقسام الخلية لا توجد حماية لـ د ن أ البنوى فى النواة فى دور G_1 .

بناء هستونات جديدة فى الكروماتين أثناء تناسخ د ن أ :

يحتاج تضاعف (تناسخ) الكروماتين أثناء دوره الخلية مميزة النواة إلى كمية من الهستونات الجديدة تساوى تقريباً كمية د ن أ المتناسخ حديثاً . لهذا السبب نجد أن معظم مميزات النواة يحتوى جينومها على نسخ عديدة لكل من جينات الهستونات . ففى الفقاريات على سبيل المثال يوجد حوالى ٢٠ مجموعة متكررة وتحتوى كل مجموعة على الجينات الخمسة المنتجة للهستونات . على العكس من معظم البروتينات التى يتم بناؤها بصورة مستمرة أثناء الدور البينى نجد أن الهستونات يتم بناؤها أساساً في دور S فقط حيث يرتفع خلالها مستوى mRNA للهستونات إلى حوالى ٥٠ ضعف كنتيجة لزيادة معدل النسخ من جهة وانخفاض معدل هدم mRNA من جهة أخرى . ونتيجة للتركيب غير العادى للنهاية 3' (كما سيأتى بعد)، نجد أن معظم أنواع mRNA الخاصة بالهستونات تكون غير مستقرة بصورة غير عادية وتتهدم خلال دقائق عندما يتوقف بناء د ن أ عند نهاية الدور S (أو عند إضافة مثبطات لإيقاف بناء د ن أ قبل الأوان) . على العكس من ذلك ، نجد أن جزيئات الهستونات نفسها تكون مستقرة وثابتة ويمكن أن تستمر بدون هدم طول عمر الخلية . قد يكون الارتباط الوثيق بين بناء د ن أ وبناء الهستونات راجعاً ولو جزئياً إلى ميكانيكية التغذية الرجعية Feedback التى تتحكم فى مستوى الهستون الحر لضمان أن كمية الهستون الناتجة مناسبة لكمية د ن أ المنتجة .

بمجرد أن تدخل الهستونات فى تركيب النيوكليوسوم نجد أن جزيئات الهستونات لا تنفصل عن شريط د ن أ المرتبطة به . وعلى ذلك فعندما تتقدم شوكة التناسخ فإنه لابد أن تمر بطريقة ما من خلال النيوكليوسوم الأبوى الذى يبدو أنه قد صمم بحيث يسمح لكل من عمليتى التناسخ Replication والنسخ Transcription بالاستمرار خلاله . يفترض البعض

أن كل نيوكليوسوم ينقسم بصورة مؤقتة إلـى « نصـفى نيوكليوسـوم » أثناء تناسـخ جـزئ د ن أ حتى يمكن السماح لانزيم البلمرة DNA polymerase بنسخ شريط د ن أ غير المحلزن الموجود بهذا النيكليوسوم . يأخذ (يورث) شريط د ن أ المبنى حديثاً خلف شوكة التناسخ الهستونات القديمة غير أن هذا الجزئ الحديث من د ن أ، يحتاج أيضاً إلى كمية مماثلة من الهستونات الجديدة لكى يرتبط بها أيضاً وذلك لكى يكتمل بناء الكروماتين . يتم بناء هذه الهستونات الجديدة عادة فى خلال الدقائق القليلة التى تلى مرور شوكة التناسخ . إلا أن الكروماتين الحديث البناء يحتاج إلى حوالى ساعة لكى يتم نضجه . يبين الشكل رقم (٣ – ٦) نموذجاً مقترحاً لهذه الميكانيكية .



الشكل (٣ - ٦) :

نموذج مقترح يبين كيف يمكن فتح النيوكليوسوم للسماح بتناسخ د ن أ ثم يعاد تجميعه بعد مرور شوكة التناسخ مما يسمح لهستونات لب النيوكليوسوم بالبقاء بصفة دائمة مرتبطة بجزئ د ن أ على الرغم من أنه فى هذا النموذج يبقى النيوكليوسوم القديم ويورث كما هو لجزئ د ن أ المنتج على الخيط القائد ، إلا أن الطراز الفعلى لتوارثه لم يتحدد بعد .

كيفية تناسخ منطقة التلومير فى الكروموسوم

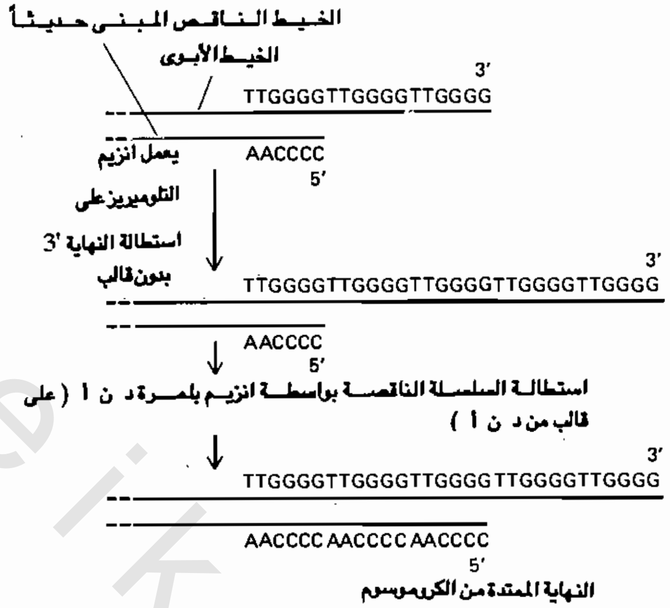
توجد صعوبة فى تناسخ أطراف الكروموسومات ذات النهايات المفتوحة (غير الحلقية) وهى الكروموسومات المميزة للكائنات الراقية مما أدى إلى نشأة تتابعات خاصة من د ن أ تسمى التلومير Telomers عند أطراف الكروموسومات . تكون هذه التتابعات متماثلة فى كائنات كثيرة مهما كانت درجة ابتعادها فى سلم التطور فهى متشابهة فى البروتوزوا والفطريات والنباتات والإنسان . تتكون هذه التتابعات من تكرارات مترادفة Tandem لتتابعات قصيرة محتوية على عدد قليل من نيوكلتيدات الجوانين المتجاورة كما فى الشكل رقم (٣ - ٧ أ) . تبين أن سلسلة د ن أ القصيرة هذه الغنية فى G فى منطقة التلومير تكون دائماً فى النهاية '3 للجزئ . ويبدو أنها تنطبق على نفسها لتكون تركيباً خاصاً لحماية طرف الكروموسوم (ولعل هذا يفسر عدم قابلية منطقة التلومر غير المكسورة للالتحام بمناطق كروموسومية أخرى أو بمنطقة تلومير أخرى) .

يبين الشكل رقم (٣ - ٧) ميكانيكية تناسخ د ن أ عند منطقة التلومير فى البروتوزوا كنموذج لما يتم فى مميزة النواة .

تتابع تناسخ مناطق د ن أ المختلفة خلال فترة البناء (S) :

إن اتمام تناسخ جزئ د ن أ فى المنطقة بين منشأ التناسخ والمنشأ الذى يليه يحتاج إلى حوالى ساعة فقط إلا أنه وجد أن دور S يستغرق عادة حوالى 8 ساعات فى خلية الثدييات . يشير ذلك إلى أن مناشئ التناسخ لا تنشط فى نفس الوقت وأن د ن أ فى كل وحدة تناسخ (المحتوية على مجموعة من ٢٠ - ٨٠ منشأ كما سبق القول) يجرى تناسخها فى فترة قصيرة فقط من دور البناء (S) . والسؤال الآن هو : هل يتم تنشيط وحدات التناسخ المختلفة بطريقة عشوائية أم يوجد نظام معين يتم على أساسه تنشيط التناسخ فى المناطق المختلفة من الجينوم طبقاً لترتيب أو تتابع زمنى معين ؟

أمكن الرد علي هذا السؤال باستخدام مشابه الثيميدين Thymidine analoge وهو 5 - Bromodeoxyuridine (Brdu) لتعليم مجموعة من الخلايا على فترات قصيرة محددة أثناء دور البناء (S) . وفى دور (M) يمكن تمييز تلك المناطق من الكروموسومات الميتوزية التى أخذت Brdu فى بناء د ن أ حيث أنها تكون أقل قابلية للصبغ بواسطة صبغات خاصة.

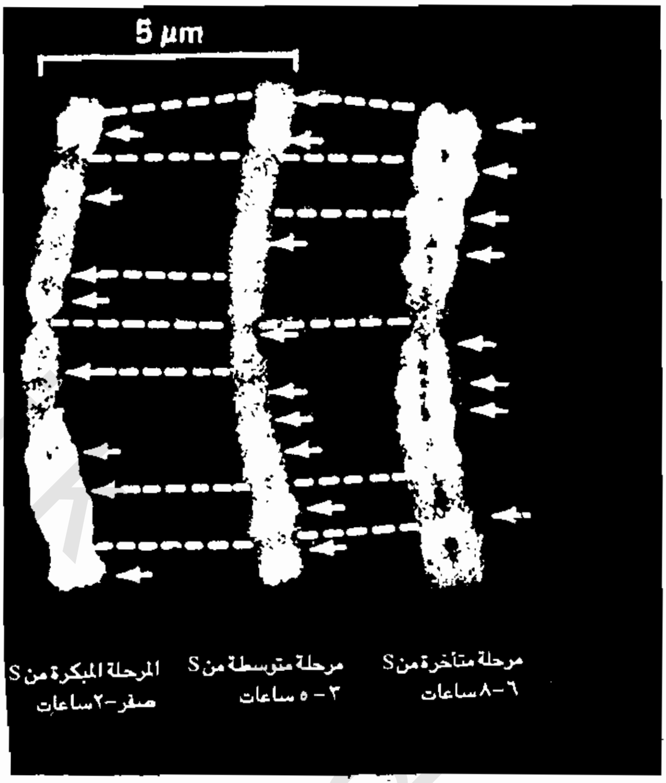


الشكل (٣-٧):

رسم تخطيطي للتفاعلات التي تحدث لتكوين التلومير كما ظهر من التجارب على *Tetrahymena* . يمثل الخيط الناقص حديث البناء السلسلة المتناسخة على الجانب المتلكئ من شوكة التناسخ . يتعرف إنزيم التلوميريز Telomerase الخاص بـ *Tetrahymena* على بعض التراكيب المميزة لتتابعات غنية بالقاعدة G لكى يرتبط بالتلومير . وحيث أنه يفتقر إلى قالب ويستخدم نيوكلتيدات ثلاثية الفوسفات كمادة تفاعل فإن النيوكلتيده الموجودة على النهاية '3 لابد أن تدل انزيم التلوميريز ما إذا كان عليه أن يضيف القاعدة G أو T فى كل خطوة . يحتوى كل كروموسوم على عدد متغير من تكرارات القواعد الذى قد يصل إلى المئات من أزواج القواعد .

أظهرت هذه التجارب أن المناطق الكروموسومية يتم تناسخها فى وحدات كبيرة (كما يستدل على ذلك من عدد مجموعات شوكات التناسخ التى يمكن رؤيتها فى صور الإشعاع الذاتى لجزئ د ن أ) وأن المناطق المختلفة فى كل كروموسوم يتم تناسخها بالتتابع حسب ترتيب دقيق أثناء فترة البناء (S) كما فى الشكل رقم ٣ – ٨ .

obeikandi.com



الشكل (٣ - ٨):

صورة بالمجهر الضوئى للكروموسومات الميتوزية المصبوغة التى تم فيها تعليم مغاير differentially أ د ن أ المتناسخ أثناء فترات محددة فى دوره S السابقة . فى هذه التجارب تنمو الخلايا فى مزرعة وفى وجود البروموديوكسى يوريدين (Brdu) ويتم تعليمها لفترة وجيزة بالثيميدين أثناء الفترة المبكرة والمتوسطة والمتأخرة من دورةS . وحيث أن د ن أ المتكون أثناء فترة التعليم بالثيميدين يكون حلزون مزدوج بحيث يكون الثيميدين فى سلسلة و Brdu على السلسلة الأخرى ؛ فإنه يصبغ بشدة ويكون داكناً عن بقية د ن أ (الذى يحتوى على Brdu على كلا السلسلتين) . فيظهر كحزمة لامعة (الأسهم) فى هذه الصور السالبة . توصل الخطوط المتقطعة المواقع المقارنة على النسخ الثلاثة للكروموسوم المبين .

يتم تناسخ مناطق الهيتروكروماتين متأخراً فى فترة البناء (S) :

من المعروف أنه توجد على طول جزئ د ن أ فى مميزة النواه مناطق أكثر تكثفاً عن المناطق الأخرى كما هو الحال فى مناطق الهيتروكروماتين الذى يظل فى حالة تكثف شديد highly condensed أثناء الدور البينى فى حين نجد أن الكروماتين النشط يأخذ شكلاً غير متكثف الذى يبدو أنه مناسباً لنسخ ر ن أ عليه . يمكن تفسير الميكانيكية التى تحدد توقيت تناسخ د ن أ من خلال ملاحظة أن مناطق الهيتروكروماتين ، بما فيها المنطقة المحيطة بالسنترومير والتى تظل متكثفة خلال الدور البينى ، يتم تناسخها متأخراً جداً فى دور البناءS يمكن أن يعزى هذا التناسخ المتأخر إلى تكثيف د ن أ بشده فى الكروماتين . يدعم هذا الاستنتاج الاختلاف فى توقيت تناسخ كروموسومى X فى إناث الثدييات . إذ على الرغم من أن هذين الكروموسومين يحتويان على نفس تتابع د ن أ نجد أن واحداً منها فقط يكون نشطاً فى حين يظل الآخر خاملاً . وجد أن معظم مناطق X كروموسوم الخامل يكون متكثفاً بشدة فى شكل هيتروكروماتين ويتم تناسخ د ن أ الخاص به فى مرحلة متأخرة ويتم تناسخه أثناء المراحل الأولى وعلى طول فترة S . ويبدو من ذلك أن تلك المناطق من الجينوم التى يكون الكروماتين بها أقل تكثفاً أثناء الدور البينى تكون الأكثر تعرضاً لميكانيكيات التناسخ فى مراحل مبكرة من فترة البناء S .

تظهر صور الإشعاع الذاتى أن شوكات التناسخ تتحرك بسرعات متناسبة خلال فترة البناء S بحيث أن مدى تكثف د ن أ لا يؤثر على شوكات التناسخ بعد تكوينها . يبدو أن الترتيب الذى يتم به تنشيط مناشئ التناسخ يعتمد (على الأقل جزئياً) على تركيب الكروماتين فى المنطقة التى يوجد بها هذا المنشأ .

تناسخ الجينات الأكثر نشاطاً يتم فى مرحلة مبكرة جداً من فترة S :

توجد مجموعة من الجينات التى تنشط بصفة عامة فى جميع الخلايا بدون تخصص خلوى ويطلق عليها الجينات اللانوعية non - specific أو house keeping genes «الشغالة» وهى تختلف عن الجينات الأخرى التى لا تنشط إلا فى خلايا نوعية (Spatial development) أو فى مرحلة معينة من عمر الكائن (Temporal development) .

تبين أن المجموعة الأولى من الجينات يتم تناسخها فى مرحلة مبكرة من فترة S . فقد

أجريت تجارب تبين فيها أن هذه الجينات تتناسخ فى جميع أنواع الخلايا التى أختبرت فى أولى مراحل فترة S فى حين أن مجموعات الجينات التى تنشط فى بعض أنواع من الخلايا المتخصصة فقط يتم تناسخها مبكراً فى هذه الخلايا المتخصصة فقط فى حين يجرى استنساخها متأخراً فى أنواع الخلايا الأخرى . فعند دراسة نشاط جين أحد جلوبيونات المناعة Immunoglobulins ويبلغ طوله حوالى ٣٠٠,٠٠٠ زوج نيوكلتيدى . وجد أن جميع مناطق الكروماتين لهذا الجين قد أكملت تناسخها قرب بداية فترة البناء S فى الخلايا المتخصصة فى إنتاج الأجسام المناعية ((Plasma cells (AFC)) وهى تلك الخلايا التى يكون فيها الجين نشطاً جداً مما يؤيد وجود عدة مناشئ للتناسخ داخل الجين يتم تنشيطها فى نفس الوقت تقريباً . بينما فى الخلايا غير المتخصصة فى إنتاج هذه الجلوبيونات المناعية لم تظهر سوى شوكة تناسخ وحيدة حيث بدأت من أحدى نهايتى هذا الموقع الوراثى بعد حوالى ساعة من بداية فترة البناء S ثم تحركت على شريط د ن أ بالسرعة العادية وهى ٣٠٠٠ نيوكلتيده فى الدقيقة الواحدة .

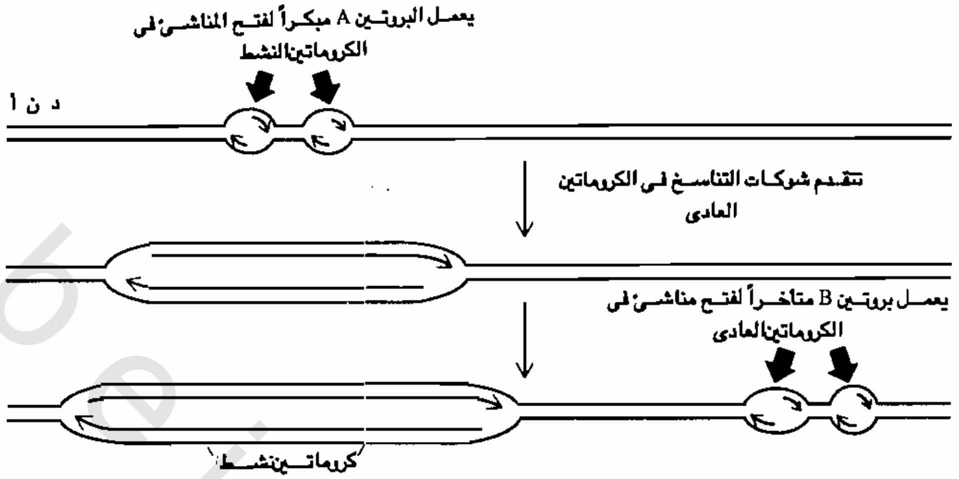
يبين الشكل ٣ - ٩ نموذجاً لتفسير ذلك ، حيث يتم استخدام جميع مناشئ التناسخ الموجودة فى الكروماتين النشط فى مرحلة مبكرة جداً من فترة البناء S . وعند وصول شوكات التناسخ المتكونة عند هذه المناشئ سيتم وصولها فى النهاية إلى المناطق الكروموسومية المجاورة المحتوية على كروماتين أكثر تكثفاً (هيتروكروماتين) . وعلى ذلك فإن أى جين يقع على بعد أقل من مليون زوج نيوكلتيدى من منشأ تناسخ فى منطقة الكروماتين النشط سيتم تناسخه فى منتصف فترة S .

∴ لماذا ؟ الزمن $= \frac{\text{المسافة}}{\text{السرعة}} = \frac{10^6 \times 1}{10^3 \times 3 \times 60} = 5{,}5$ ساعة

أو، المسافة = السرعة × الزمن $= 10^3 \times 3 \times 4 \times 60 = 10^5 \times 7{,}2$ زوج نيوكلتيدى

حيث أن متوسط طول فترة البناء S فى خلية الثدييات يساوى حوالى 8 ساعات

لتفسير كيف يتم تناسخ المناطق الكروموسومية غير النشطة والتى تقع بعيداً عن المناطق النشطة (كما هو الحال فى الكروموسوم X غير النشط فى الأنثى) فإنه يفترض وجود مجموعة أخرى من مناشئ التناسخ التى تنشط فى منتصف أو فى أواخر دور S بحيث يمكنها بدء شوكات تناسخ فى أى صورة من صور الكروماتين .



الشكل (٣-٩):

نموذج لتفسير لماذا يتم التناسخ للكروماتين النشط مبكراً فى دور S بينما الكروماتين العادى (غير النشط) يتم تناسخه متأخراً فى دور S . يعتقد أن أنواع مختلفة من البروتينات المبتدئة ترتبط بمناشئ التناسخ فى الكروماتين العادى . وكتفسير بديل قد يتم استخدام مجموعتى المناشئ بواسطة نفس الميكانيكية الجزيئية ولكن فى أوقات مختلفة نظراً لأن التركيب المتكثف (المتحلزن) للكروماتين العادى يؤخر الارتباط الصحيح للبروتينات المشاركة فى التناسخ .

تبين أن الجينات غير التخصصية (الشغالة) housekeeping genes تقع فى مناطق الكروماتين الغنية فى حزم G - C فى حين تقع الجينات العادية (التخصصية) والتى تنشط فقط فى خلايا متخصصة فى مناطق الكروماتين الغنية فى حزم A - T .

تنظيم نشاط مناشىء التناسخ حسب المراحل التكوينية للكائن :

وجد أن دورة الخلية تكون سريعة بصورة غير عادية أثناء طور الانفلاج الأول فى معظم الخلايا البيضية التى ينقسم فيها البلاستومير بدون أى نمو للخلية . وتكون فترة البناء S

قصيرة بشكل ملحوظ أثناء هذا الطور التفلجي . من جهة أخرى توجد حالات تكون فترة S فيها طويلة جداً حيث نجد أنه فى المرحلة السابقة مباشرة للميتوزى تكون فترة S طويلة جداً فى جميع الكائنات التى درست حتى الآن . وعلى سبيل المثال فى سمندل الماء Newt تستغرق فترة S ساعة واحدة فى مرحلة البلاستولا فى حين تستغرق حوالى ٢٠ ساعة فى الخلايا الجسدية الناضجة وتصل إلى حوالى ٢٠٠ ساعة فى المرحلة التى تسبق الميتوزى فى الخلايا المولدة للحيوانات المنوية Spermatogonia . ترجع الفروق فى طول فترة S إلى تغيرات فى أعداد مناشئ التناسخ النشطة . تحتوى الخلايا الجنينية على أعداد كبيرة من مناشئ التناسخ النشطة فى حين تقل أعداد هذه المناشئ كثيراً فى كروموسومات مرحلة ما قبل الميوزى .

توجد حالة مماثلة فى الدروسفلا حيث وجد أن فترة S فى النواة الجنينية تستغرق من ٣ إلى ٤ دقائق بينما تستغرق حوالى 600 دقيقة فى الخلايا الجسدية للحشرة البالغة . وجد أن الخلية المنفلجة فى هذه الحشرة تحتوى على مناشئ للتناسخ كل ٢ – ٣ ميلليميكرون على طول جزئ د ن أ فى حين تزيد المسافة بين المناشئ بشكل ملحوظ فى الخلايا الناضجة حيث يصل إلى حوالى ١٢ميلليميكرون . من الواضح أن نشاط عدد مناشئ التناسخ تخضع للمرحلة التكوينية Developmental stage التى يمر بها الكائن . وأن كثير منها يكون نشطاً فى مرحلة تكوين الجنين فى حين تظل أعداد قليلة منها فقط هى النشطة فى مرحلة نضج الكائن . يدل ذلك على وجود تنظيم معقد يتحكم فى بدء تكوين شوكات التناسخ بطريقة تسمح بتناسخ مناطق د ن أ المختلفة فى الجينوم وفقاً لجدول زمنى دقيق .

أنواع إنزيمات بلمرة د ن أ فى الخلايا المميزة النواة

تبين وجود ثلاث صور من إنزيم بلمرة د. ن. أ. DNA polymerases وهى : (∝, B,
(وذلك فى جميع نظم الخلايا مميزة النواة كما فى الجدول ٣ ـ ١.

obeikandl.com

الجدول ٣ ـ ١صور إنزيم بلمرة د ن أ فى مميزة النواة

	الصورة :		
	∝	β	Ɣ
الموقع :	النواه	النواه	الميتوكوندريا
الوظيفة :	تناسخ د ن أ النواه	إصلاح الأخطاء	تناسخ mt DNA
الكتلة (Kdal)	١٢٠ – ٢٢٠	٣٠ – ٥٠	١٥٠ – ٣٠٠

تقوم الصورة ∝ والمسئولة عن تناسخ معظم د ن أ النووى بنفس الدور الذى يقوم به DNA Pol III فى البكتريا . ويتكون الإنزيم ∝ من عدد من وحدات من عديدات الببتيدات بحيث تقوم أطول وحدة فيها (حوالى ١٥٠ كيلودالتون) بنشاط البلمرة . لم يكتشف حتى الآن صورة إنزيمية فى مميزة النواة موازية وظيفياً لإنزيم DNA PolI فى البكتريا على الرغم من أكتشاف صورة جديدة δ فى الخلايا الثيموسية قد تعطى نفس الوظيفة تقريباً .

لم تتحدد حتى الآن وظيفة الصورة β على الرغم من أنها قد تشترك فى عملية إصلاح الأخطاء proofreading أما الصورة فقد تم تحديد وظيفتها حيث أنها متخصصة فى تناسخ mt DNA ويكون وجودها قاصراً على الميتوكوندريا (وربما فى الكلوروبلاست فى النبات) .

يبين الجدول رقم ٣ ـ ٢ بعض الفروق فى تناسخ د ن أ من غير مميزة النواة ومميزة النواة

جدول ٣ ـ٢ مقارنه بين تناسخ د ن أ فى غير مميزه النواه ومميزه النواه

المقارنة	غير مميزة النواة	مميزة النواة
طول بادئ ر ن أ	حوالى ٥ – ٨ نيوكلتيده	حوالى ٩ – ١٠ نيوكلتيده
طول شظايا أوكازاكى فى الخيط التابع	حوالى ١٠٠٠ – ٢٠٠٠ نيوكلتيده	حوالى ٢٠٠ نيوكلتيده
معدل سرعة تحرك شوك التناسخ	٥٠٠ نيوكلتيده فى الثانية	٥٠ نيوكلتيده فى الثانية
عدد مناشئ التناسخ	واحد فقط	عدة آلاف وتحت تنظيم تكوينى
ميكانيكية منع إعادة بدء التناسخ فى نفس دوره الخلية	لا توجد	توجد

obeikandl.com