جهش‌پذیری و ترمیم DNA

تکامل جانداران مستلزم تغییر (جهش) DNA آنها است و این در حالی است که باید طی همانندسازی و تولیدمثل DNA از ثبات و پایداری بسیار بالایی برخوردار باشد، بدین ترتیب می‌توان گفت که تغییرات تکاملی بندرت رخ می‌دهند. سلول‌های زنده به وجود هزاران نوع پروتئین احتیاج دارند و در صورت بروز جهش در هر یک از نوکلئوتیدهای یک ژن، ممکن است محصول آن فاقد کارآیی لازم گردد، بنابراین بقای زاده‌های یک جاندار به ثبات توالیهای DNA آن بستگی دارد. برای انجام این مهم باید سیستم آنزیمی دقیق وجود داشته باشد تا اولاً بتواند عمل همانندسازی را انجام دهد و ثانیاً در صورت بروز خطا یا آسیبی به DNA قادر به ترمیم آن باشد. DNA مولکول پیچیده و حساسی است گاه امکان دارد بطور خودبخود بازهای آن حذف شوند و یا در اثر تماس با مواد شیمیایی طبیعی و غیرطبیعی یا تشعشعات مختلف اسکلت آن قطع گردد و یا بازهای آن تغییر یابند. به هر حال وجود مکانیسم‌های آنزیمی اختصاصی که جایگاههای آسیب‌دیده را شناسایی و ترمیم نمایند برای ادامه حیات جاندار ضروری می‌باشند. ترمیم DNA آنچنان مهم است که بخش بزرگی از ژنوم باکتری به سنتز و کنترل آنزیم‌های مربوط به آن اختصاص یافته است.

طبیعت جهشها

بطور طبیعی انواع جهشها در DNA رخ می‌دهند آن دسته از جهشهایی که اثر کمی بر محصول ژنی داشته باشند (مانند جهشهای حساس به حرارت) ممکن است در اثر تعویض یک باز بوجود آمده باشند ولی پاره‌ای از جهشها عمل یک ژن را بطور کامل از بین می‌برند. این دسته در اثر حذف و اضافه بازها ایجاد می‌شوند. به جهشهایی که باعث تغییر شدید محصول خود می‌گردند $Null$ گفته می‌شود. این نوع جهشها نه تنها در اثر حذف، اضافه یا تعویض یک باز بوجود می‌آیند بلکه ممکن است به واسطه حذف، اضافه یا حتی بازآرایی قسمتی از ساختمان یک کروموزوم ایجاد شده باشند. این نوع جهشها در اثر قرار گرفتن ترانسپوزون‌ها در یک توالی کدکننده و یا انجام ناقص عمل نوترکیبی بوجود می‌آیند.

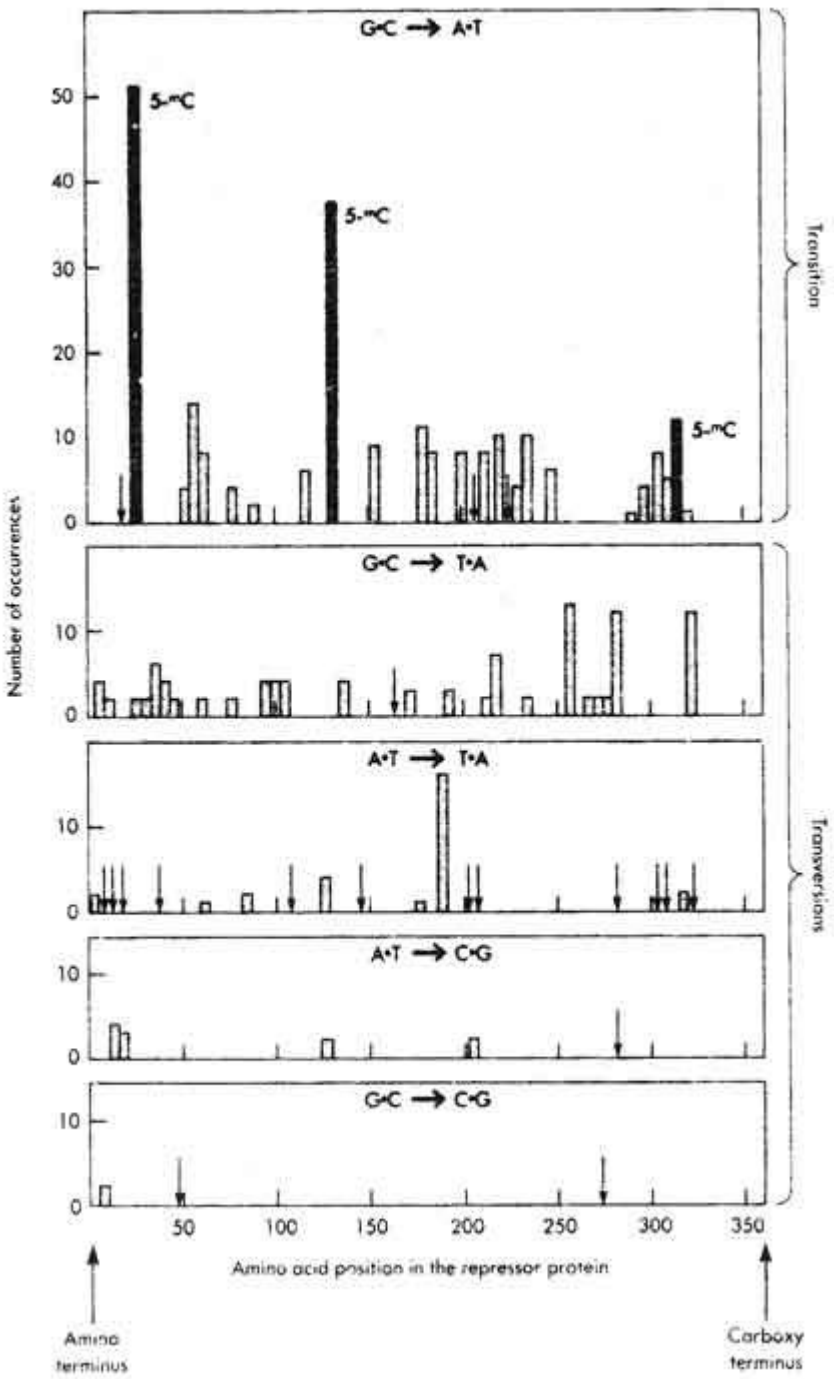
جهشهای تک‌بازی (نقطه‌ای)

بنا به دلایل فراوانی ابتدا ساده‌ترین نوع جهش یعنی تعویض یک باز مورد بررسی قرار می‌گیرد. این نوع جهش از چند نظر مهم است. اولاً بر دقت همانندسازی اثر می‌گذارد، ثانیاً بسیاری از مواد جهش‌زا باعث تعویض یک باز می‌شوند و سرانجام اینکه جهش‌های تک‌بازی به دلیل آنکه باعث تغییرات کمی می‌شوند نقش مهمی در تکامل و ایجاد گونه‌های جدید دارند.

سئوالی که در اینجا مطرح می‌شود این است که چه نوع تغییر تک‌بازی به طور طبیعی می‌تواند ایجاد گردد. برای پاسخ باید راه عملی وجودداشته باشد تا بوسیله آن بتوان جهشهای تک‌بازی را انتخاب و جدا کرد. این مهم، اولین بار با آزمایش تعداد زیادی از جهش‌هایی که سبب ختم ترجمه ژن I

اپرون لاکتوز کلی‌باسیل می‌شدند صورت گرفت. ژن I مسئول سنتز سدکننده اپرون فوق است. بطور کلی در این مورد می‌توان گفت که جهشهای تک‌بازی باعث تبدیل بعضی از کدون‌ها (کدون‌هایی که دو جایگاه آنها شبیه کدون ختم باشند) به کدون ختم می‌شوند. برای اثبات این امر میتوان نشان داد که اگر سلولی حاوی سوپرسور باشد، سدکننده فعال مجدداً ساخته می‌شود. سوپرسور از کدون ختم به عنوان رمز یک اسید آمینه استفاده می‌کند . بررسی فوق نشان داد که در اثر جهش انواع تغییر بازها ایجاد می‌شود. یک پورین به پورین دیگر و یا یک پیریمیدین به پیریمیدین دیگر می‌تواند تبدیل گردد و این نوع جهش ترانزیشن خوانده می‌شود. در نوع دیگر از جهش‌های تعویض نوکلئوتیدی که ترانسورژن خوانده می‌شود، یک پورین جایگزین یک پیریمیدین یا برعکس می‌گردد (شکل). یکی دیگر از نتایج این بررسی این بود که احتمال بروز جهش در جایگاههای مختلف یکسان نیست به عبارت دیگر در بعضی جایگاهها که به نام نقاط داغ خوانده می‌شوند احتمال بروز جهش بسیار بیشتر است. این موضوع اولین‌بار به وسیله بنزر در مورد ژن rII فاژ $T4$ نشان داده شد.

تغییرات تک‌بازی معمولاً برگشت‌پذیر بوده و اغلب سرعت جهش معکوس (تبدیل نوکلئوتید جهش‌یافته به نوکلئوتید طبیعی) به اندازه سرعت جهش اولیه است. به هر حال از این طریق می‌توان تغییرات تک‌بازی را از تغییرات شدیدی که در اثر حذف قطعه‌ای از DNA رخ می‌دهند، تمیز داد. در دسته اخیر بروز جهش معکوس که به نام $reversion$ خوانده می‌شود تقریباً غیرممکن است. حالت حد واسط بین دو حالت فوق دخول و حذف یک باز می‌باشد. احتمال جهش معکوس در این موارد بسیار کمتر از جهش معکوس در تعویض تک‌بازی است. اکثر جهش‌های تعویض تک‌بازی در هنگام همانندسازی و در اثر انتخاب یک نوکلئوتید غلط صورت می‌گیرند.



طبیعت و توزیع جهش‌های خودبخودی که سبب ایجاد کدون ختم در ژن سدکننده لاکتوز می‌شوند. در اینجا چهارنوع ترانسورژن و یکی از دو نوع ترانزیشن ممکن نشان داده شده است. آزمایشهای دیگر انجام شده وجود ترانزیشن ($AT \rightarrow GC$) دیگری را در جهش‌های خودبخودی فوق نشان می‌دهد. پیکانهای عمود جایگاههایی که جهش می‌توانسته وجود داشته باشد ولی رخ نداده است را نشان می‌دهد. سه سیتوزین متیله در جایگاه 5 (C^{5^m}) نقاط داغ ایجاد جهش می‌باشند.

میزان خطای همانندسازی چیزی حدود $10^{-7} - 10^{-11}$ است

از آنجا که انواع جهشهای تک‌بازی را می‌توان در ۸۰ جایگاه متمایز ژن سدکننده اپـرون لاکتـوز تشخیص داد بسادگی می‌توان میزان وقوع جهش در هر جایگاه یا به عبارت دیگر میزان بـروز خطـا در هنگام همانندسازی را تعیین کرد. سرعت متوسط در مورد هر یـک از جایگاههـای فـوق حـدود 10^{-9} می‌باشد و این در حالی است که سرعت جهش در نقاط داغ ۲۵ برابر بیش از حد متوسط است. بـه طـور کلی می‌توان گفت که میزان خطا در هر بار همانندسازی چیزی حدود 10^{-7} تا 10^{-11} می‌باشد.

کنترل بروز جهش با دو خاصیت پلیمرازی و نوکلئازی

ابتدا به نظر می‌رسید که فراوانی خطا بستگی به دقت در تشکیل جفتهـای AT و GC دارد ولـی براساس بحثهای نظری گفته می‌شود که تفاوت ساختمانی بازهای فوق در حدی نیست که احتمـال خطـا در حد 10^{-9}باشد. فراوانی اشکال توتومر غلط (انول به جای کتو، ایمین به جای امین و برعکس) احتمال بروزخطا را تا حد 10^{-4} بالا می‌برد و همان‌گونه که ملاحظه می‌شود این احتمال بسیار بزرگتر از احتمال واقعی بروز خطا $\left(10^{-9}\right)$است. بنابراین باید مکانیسمی وجود داشته باشد تا بسیاری از بازهـایی کـه در هنگام همانندسازی به غلط انتخاب شده‌اند، تصحیح شوند. امروزه می‌دانیم که آنزیم DNA پلیمـراز بـا داشتن خاصیت تصحیح اکثر توتو مرهای غلط انتخاب شده را حذف می نماید. این عمل از طریق خاصیت اگزونوکلئازی $3' \to 5'$ این آنزیم صورت می‌گیرد. زمانی که بـرای اولـین بـار خاصـیت اگزونوکلئـازی $3' \to 5'$در کلیه DNA پلیمرازها کشف شد، وجود آن بیهوده به نظر می‌رسید ولی امروزه می‌دانیم کـه

خاصیت فوق لازمه همانندسازی دقیق DNA است. بررسی آنزیم‌های DNA پلیمراز جهش‌یافته، نشان داد که فراوانی جهش با فعالیت نوکلئازی $3' \to 5'$ رابطه معکوس دارد، به طوری که عدم وجود فعالیت فوق میزان خطا را در حد قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد.

تا کنون فعالیت اگزونوکلئازی $3' \to 5'$ در DNA پلیمرازهای یوکاریوتی یافت نشده است و این در حالی می‌باشد که میزان بروز خطا در یوکاریوتها بسیار کمتر از پروکاریوتهاست. به هر حال احتمال داده می‌شود که زیر واحد جداگانه‌ای که به طور ضعیفی به آنزیم‌های فوق متصل است عمل مزبورر را انجام دهد. زیر واحد فوق احتمالاً در هنگام تخلیص از آنزیم جدا می‌شود و این امر باعث عدم شناخت آن شده است. با کشف وجود خاصیت اگزونوکلئازی $3' \to 5'$ در زیرواحد ۲۵ کیلودالتونی (زیرواحد e) آنزیم DNA پلیمراز III کلی‌باسیل، حدس فوق تقویت شد. آنزیم فوق دارای دو زیرواحد کوچک (e) و بزرگ (α به وزن مولکولی ۱۴۰ کیلودالتون) است. زیرواحد بزرگ خاصیت تصحیح ممکن است وجود نداشته باشد. گفته می‌شود فراوانی جهش در ژنوم میتوکندری احتمالاً به همین دلیل است.