كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : علم الوراثة الجزيئي

المحاضرة : ٧+٨+٩/نظري/د . ديفانا

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

المحاضرة السابعة

،

دعائم المعلومات الوراثية (١)

مقدمة

علم الوراثة علم واسع يشمل عدة فروع مثل الوراثة الماندلية والوراثة الجزيئية والوراثة الكمية وغيرها، إذاً علم الوراثة الجزيئية أحد فروع علم الوراثة وهو مجال فرعي في علم الأحياء حيث يعالج الاختلاف في بنية وتعبير جزيئات الحمض النووي على أنها تباين بن الكائنات الحية. غالبًا ما يطبق علم الوراثة الجزيئي نهجًا استقصائيًا لتحديد بنية ووظيفة الجينات في جينوم الكائن الحي باستخدام الفحص الجيني. يعتمد مجال الدراسة على دمج العديد من المجالات الفرعية في علم الأحياء مثل الميراث الكلاسيكي المندلي، والبيولوجيا الخلوية، والبيولوجيا الجزيئية، والكيمياء الحيوية، والتكنولوجيا الحيوية. يبحث علماء الوراثة عن الطفرات في الجين أو يحثون الطفرات في الجين لربط تسلسل الجين بنمط ظاهري معين. علم الوراثة الجزيئي هو منهجية قوية لربط الطفرات بالظروف الجينية التي قد تساعد في البحث عن علاجات.

فيما يخص القسم الأول سنتكلم عن المواضيع التالية:

- دعائم المعلومات الوراثية.
- التعبير عن المعلومات الوراثية.
- تنظيم التعبير الجيني.
- الآلية الجزيئية للعبور والارتباط
- الطفرات الوراثية وآلية اصلاح الحمض النووي.

أولا: دعائم المعلومات الوراثية:

يقدر حالياً عدد الكائنات الحية بحوالي 10 مليون نوع، وكل نوع يختلف عن الآخر، ويرجع هذا الاختلاف إلى محتوى المعلومات الوراثية في كل نوع، ويعتبر علماء الوراثة إن هذه المعلومات الوراثية محمولة على جزيئات محددة سنتعرف عليها لاحقاً. وتنقسم الكائنات الحية إلى مجموعتين: حقيقيات النوى وبدائيات النوى، ونميزها عن بعضها من خلال وجود النواة أو عدم وجودها.

الDNA، أو **deoxyribonucleic acid** أي الحمض النووي الريبي منقوص الأكسجين ، هو المادة الوراثية في البشر وجميع الكائنات الحية الأخرى تقريبًا. تقريبا كل خلية في جسم الشخص لها نفس الحمض النووي. يقع معظم الحمض النووي في نواة الخلية (حيث يطلق عليه DNA النووي)، ولكن يمكن أيضًا العثور على كمية صغيرة من الحمض النووي في الميتوكوندريا حيث يطلق عليه DNA الميتوكوندريا أو mtDNA .

نظراً لأهمية الDNA لابد من إلقاء الضوء على تركيبه والتعرف على أهم الوظائف الحيوية الأساسية التي يقوم بها.

ضمن هذا الإطار سنتحدث عن النقاط التالية:

1. التركيب الكيميائي ل DNA.
2. هيكل الDNA
3. اشكال الDNA
4. الخصائص الفيزيائية والكيميائية ل DNA
5. RNA
6. تضاعف ال DNA أوreplication of DNA

- **التركيب الكيميائي ل .DNA**

يحتوي الحمض النووي DNA على ثلاثة أنواع من المكونات الكيميائية: الفوسفات، وسكر يسمى **deoxyribose**، وأربع قواعد نيتروجينية.

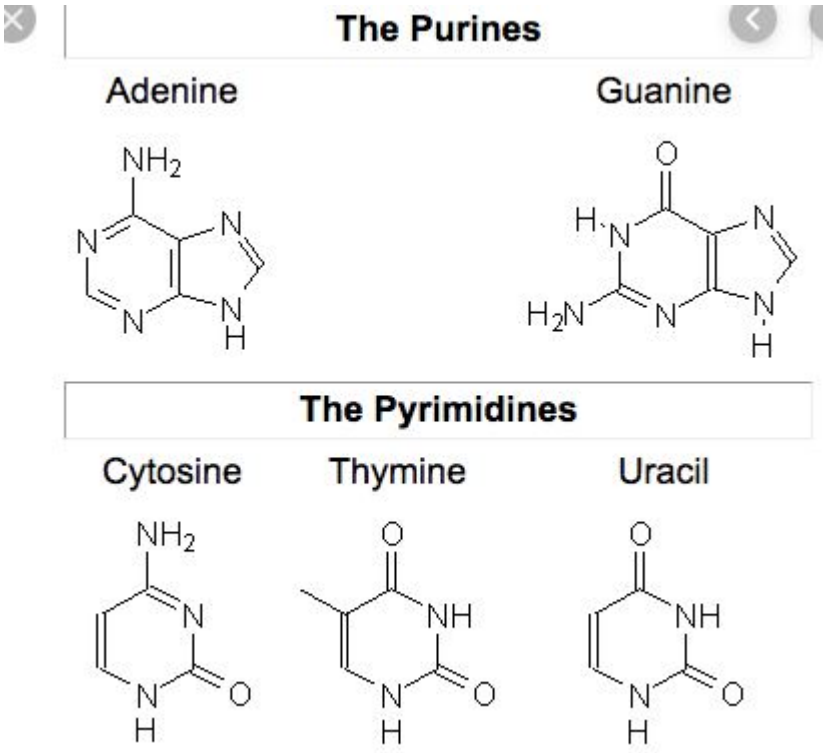
- **القواعد الآزوتية أو النيتروجينية:**

القاعدة النيتروجينية هي جزيء عضوي يحتوي على عنصر النيتروجين ويعمل كقاعدة في التفاعلات الكيميائية. تُشتق الخاصية الأساسية لها من زوج الإلكترون الوحيد على ذرة النيتروجين.

تسمى قواعد النيتروجين أيضًا القواعد النووية لأنها تلعب دورًا رئيسيًا في بناء الأحماض النووية (DNA وRNA)

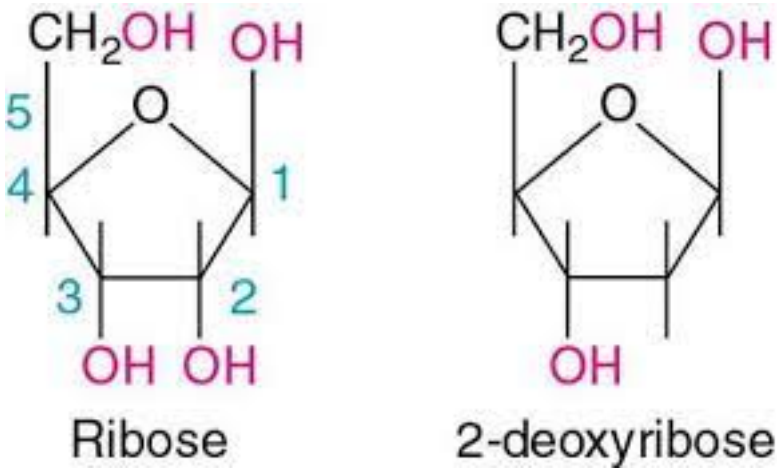
على الرغم من وجود العديد من القواعد النيتروجينية، فإن أهم خمس قواعد يجب معرفتها هي القواعد الموجودة في DNA و RNA ، والتي تُستخدم أيضًا كناقلات للطاقة في التفاعلات الكيميائية الحيوية و هي الأدينين ، الجوانين ، السيتوزين ، الثايمين ، واليوراسيل. كل قاعدة لها ما يعرف بالقاعدة التكميلية التي ترتبط بها حصريًا لتشكيل DNA و RNA.

اثنان من القواعد، الأدينين والجوانين، لهما بنية ذات حلقة مزدوجة مميزة لنوع من المواد الكيميائية تسمى *purine*القاعدتان الأخريتان، السيتوزين والثايمين ، لهما هيكل أحادي الحلقة من نوع يسمى *pyrimidine* . *الشكل رقم (١).*



الشكل رقم (١): اشكال القواعد الآزوتية الخمسة الموجودة في الاحماض النووية.

- المكون الثاني هو جزيء السكر يدعى ريبوز منقوص الأكسجين (Deoxyribos**e**) وهو يتكون من 5 ذرات كربون. الفرق بين ribose الموجود في RNA و deoxyribose الموجود في DNA هو أن الريبوز يحتوي على مجموعة هيدروكسيل عند ذرة الكربون رقم ٢ . الشكل رقم (٢).

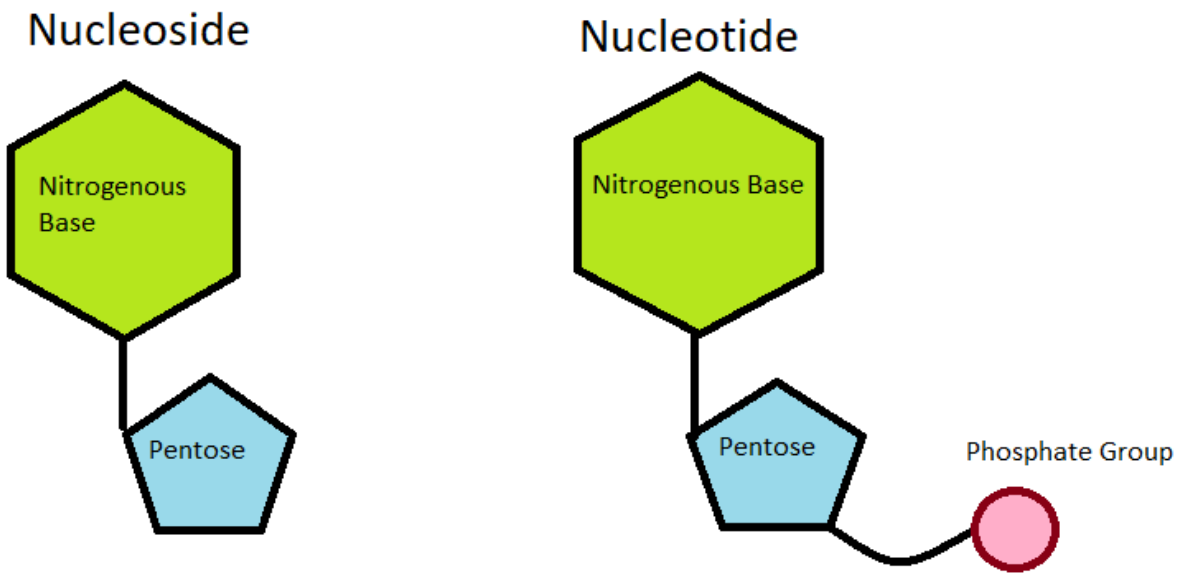


الشكل رقم (٢): الفرق بين الريبوز الموجود في RNA و deoxyribose الموجود في DNA

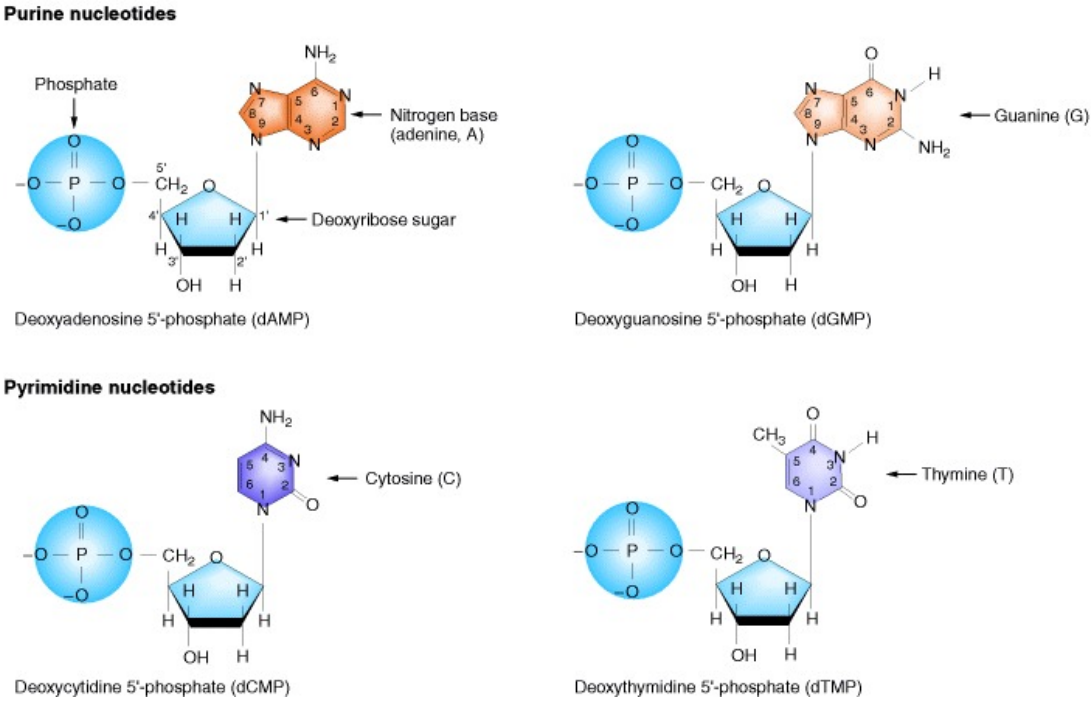
- المكون الثالث هو الفوسفات: مجموعة الفوسفات المثالية لربط مركبين مع بعضهما.

يتم ارتباط السكر مع أحد القواعد الآزوتية لينتج لدينا ما يسمى **nucleoside**، وإذا تم إضافة مجموعة فوسفات إلى nucleoside نحصل على جزيء يسمى nucleotide والتي تشكل اللبنات الأساسية في تركيب DNA. الشكل رقم (٣)

من الملائم الإشارة إلى كل نكليوتيد بالحرف الأول من اسم قاعدته: A وG وC وT. يوضح الشكل رقم (٤) هياكل النكليوتيدات الأربعة في DNA.



الشكل رقم (٣): الفرق بين nucleoside وnucleotide



الشكل رقم (٤): أشكال nucleotides الموجودة في DNA

2هيكل .DNA

يتكون الحمض النووي من سلسلتين متجاورتين ("خيوط") من النكليوتيدات الملتوية على شكل حلزون مزدوج.

يتم تثبيت خيوط النكليوتيدات وفق روابط ضعيفة بين قواعد كل خيط، وتشكل بنية مثل الدرج الحلزوني. العمود لكل شريط هو بوليمر مكرر من فوسفات- deoxyribose وقاعدة آزوتية. تسمى روابط السكر والفوسفات في هذا العمود روابط **phosphodiester** وهي روابط تساندية. تتكون روابط الفوسفوديستر نتيجة تفاعل التكثيف بين مجموعات الفوسفات ومجموعات الهيدروكسيل لمجموعتي سكر الذي يفقد فيه جزيء ماء كما في (الشكل ٥).

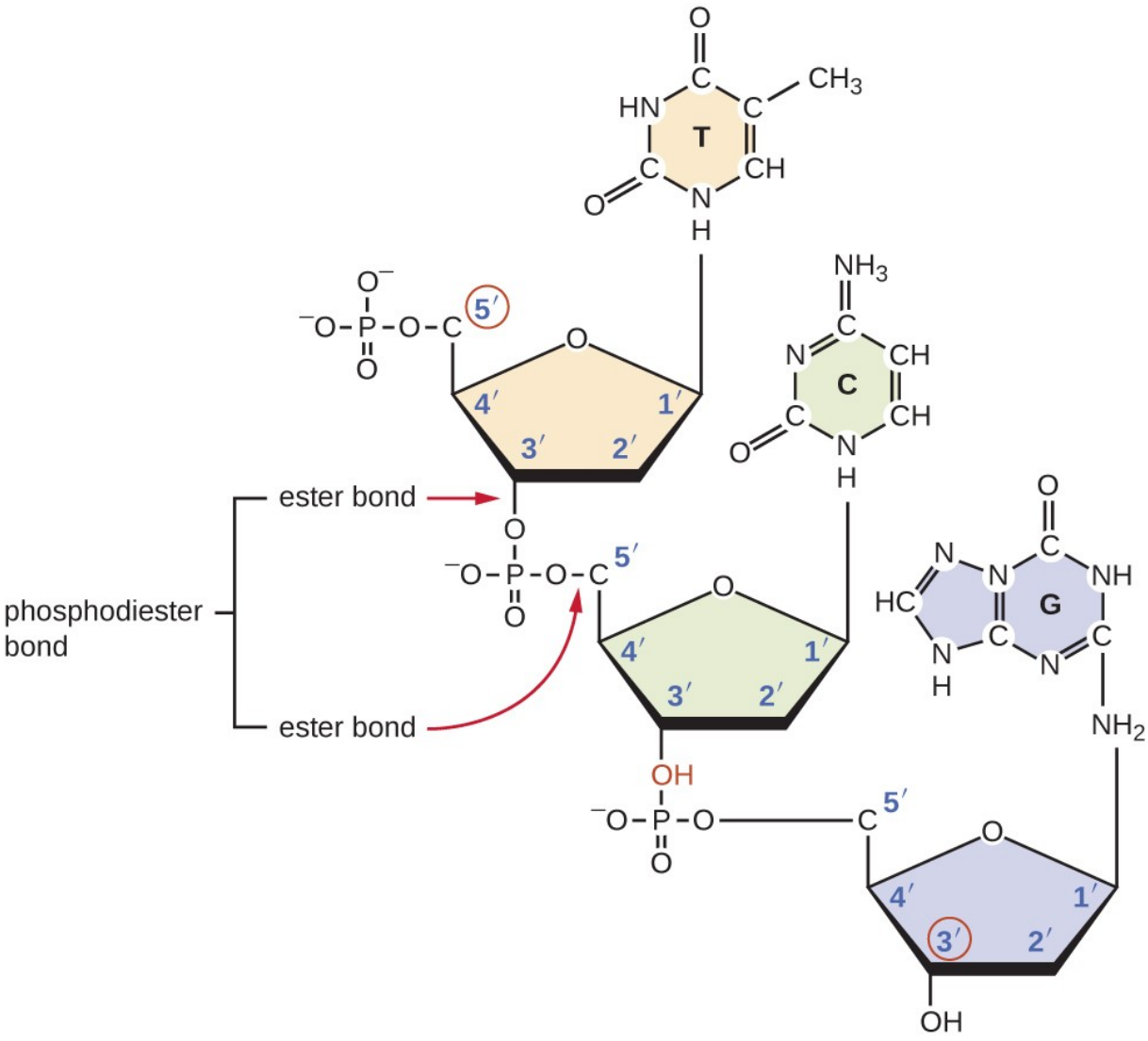
$$(base)_1\text{-}(sugar)\text{-}OH + HO\text{-}P(O)_2\text{-}O\text{-}(sugar)\ (base)_2$$

$$\downarrow$$

$$(base)_1\text{-}(sugar)\text{-}O\text{-}P(O_2)\text{-}O\text{-}(sugar)\ (base)_2$$

الشكل رقم (٥) تشكل روابط Phosphodiester

يعد ارتباط روابط **phosphodiester** بمجموعات السكر أمرًا مهمًا في وصف الطريقة التي يتم بها تنظيم سلسلة النيوكليوتيدات. لاحظ أن كربون مجموعات السكر مرقمة من 1 إلى 5. يقع جزء واحد من رابطة **phosphodiester** بين الفوسفات وذرة الكربون 5′ من **deoxyribose**، والآخر بين الفوسفات و 3′ كربون من **deoxyribose**. وبالتالي، يُقال إن كل عمود من السكر والفوسفات له قطبية 5 ′ → 3′ ، وفهم هذه القطبية ضروري لفهم كيفية قيام الحمض النووي بأدواره الشكل رقم (٦)



الشكل رقم (٦): أنواع الروابط الكيميائية التي تحويها كل nucleotide

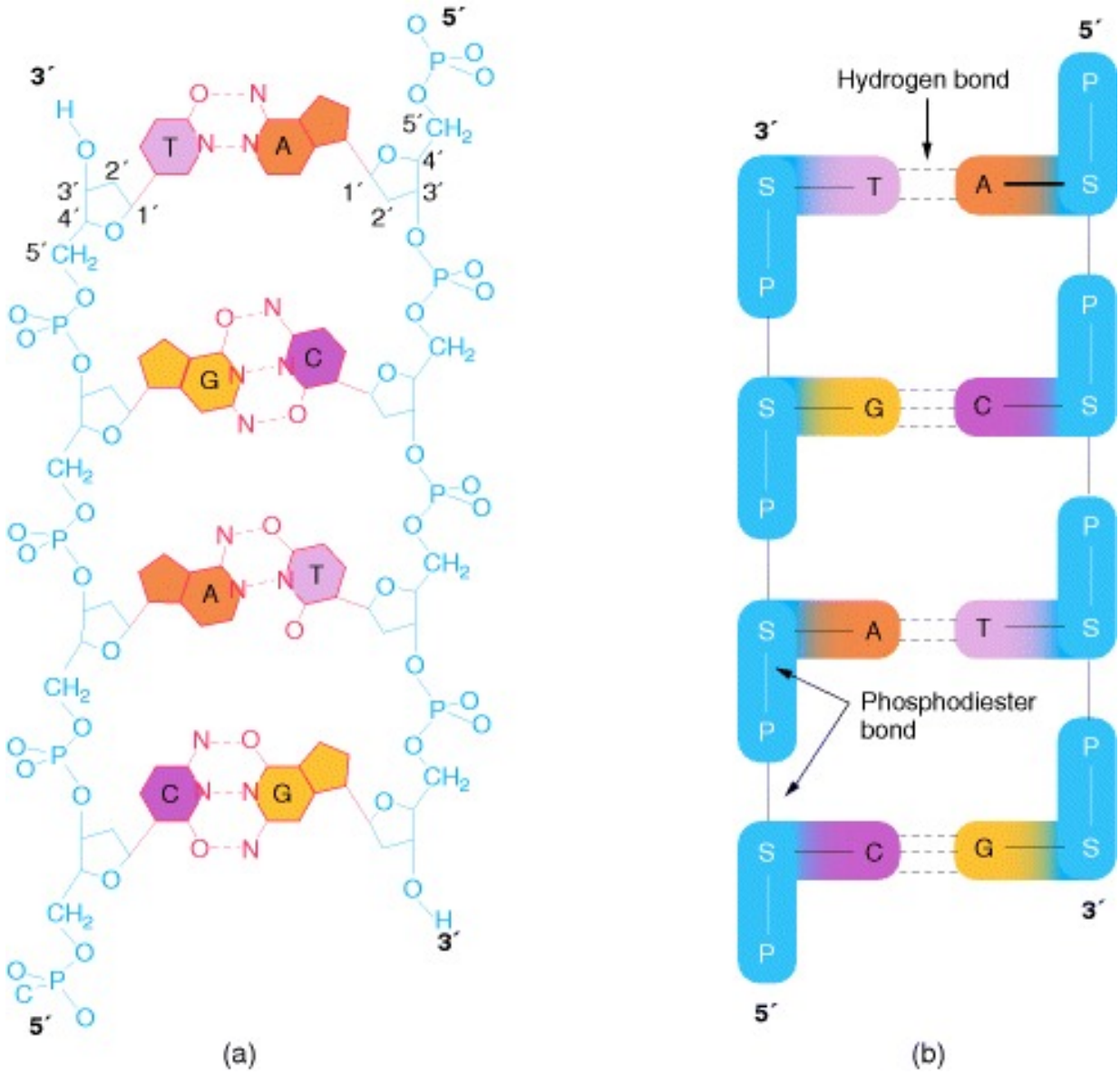
في جزيء DNA مزدوج الشريط، يكون العمودان أو الشريطان في اتجاه معاكس، ، كما هو موضح في (الشكل٧). شريط موجه ′5 ← ′3 ؛ والشريط الاخر بالاتجاه المعاكس ′3← ′5.

ترتبط القواعد بـ ذرة الكربون رقم 1 لكل سكر **deoxyribose** في كل شريط.

ويجب ان نركز على ان النهاية ′3 هي زمرة هيدروكسيل ، والنهاية ′5 هي مجموعة فوسفات .

التفاعلات بين أزواج القواعد، واحدة من كل خيط هي التي تربط خيطي جزيء الحمض النووي معًا.

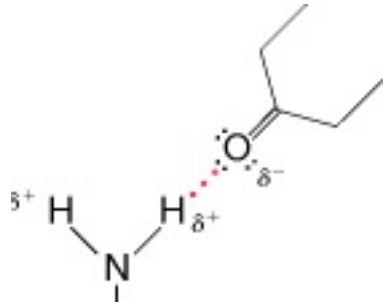
ترتبط القواعد الازوتية مع بعضها وفق الروابط الهيدروجينية: A مع T و G مع C .



الشكل رقم (٧): على اليسار شريطي ال DNA حيث أن كل شريط مكون من عدد من النكليوتيدات ويوضح أيضا اتجاه الأشرطة، وعلى اليسار يوضح نوع الروابط الكيميائية الموجودة على كل شريط او سلسلة وبين السلسلتين ايضاً

الروابط الهيدروجينية بين القواعد التكميلية هي إحدى الخصائص الأساسية للحلزون المزدوج، لأنها تضمن الاستقرار الديناميكي الحراري للحلزون وخصوصية الاقتران. تتكون الرابطة الهيدروجينية بين ذرة أو مجموعة مانحة للهيدروجين موجبة الشحنة ومستقبل آخر سالب الشحنة (الشكل ٨) ، في الحمض النووي ، تعمل الروابط الهيدروجينية على تثبيت أزواج قواعد الحلزون المزدوج.

:

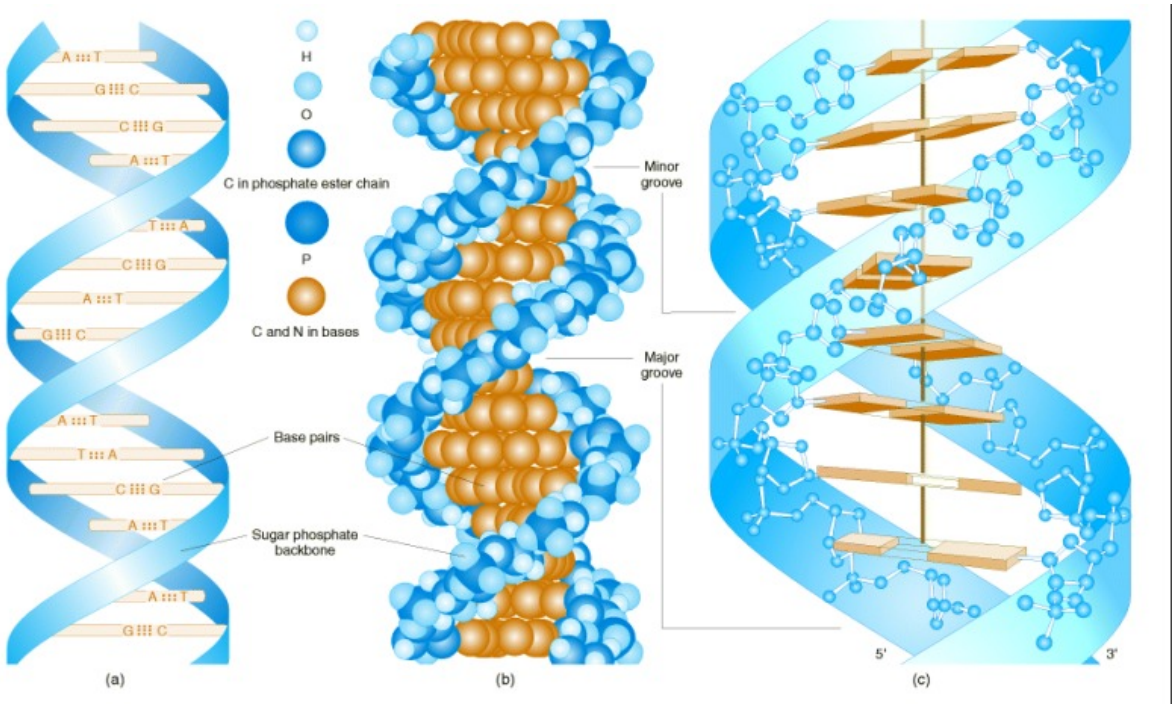


الشكل رقم (٨): تشكل الرابطة الهيدروجينية

نظرًا لأن زوج G · C يحتوي على ثلاثة روابط هيدروجينية، بينما يحتوي زوج A · T على اثنين فقط، فقد نتوقع أن الحمض النووي الذي يحتوي على العديد من أزواج G · C سيكون أكثر استقرارًا من الحمض النووي الذي يحتوي على العديد من أزواج .A · Tفي الواقع، تم تأكيد هذا التوقع. تؤدي الحرارة إلى فصل خيطي الحلزون المزدوج للحمض النووي (عملية تسمى ذوبان الحمض النووي أو تمسخ الحمض النووي) ، وقد تم إثبات أن الحمض النووي الذي يحتوي على محتوى أعلى من G · C يتطلب درجات حرارة أعلى لصهرها.

على الرغم من ضعف الروابط الهيدروجينية بشكل فردي، إلا أن خيوط جزيء الحمض النووي متماسكة معًا بطريقة مستقرة نسبيًا بسبب وجود أعداد هائلة من هذه الروابط. من المهم أن ترتبط الخيوط من خلال مثل هذه التفاعلات الضعيفة، حيث يجب فصلها أثناء نسخ أو مضاعفة الحمض النووي وأثناء النسخ إلى الحمض النووي الريبي.

شريطي النكليوتيدات المقترنة تميل الى تكوين شكل حلزونيًا (لولب مزدوج) بشكل تلقائي. تتراكم أزواج القواعد فوق بعضها البعض في مركز اللولب المزدوج وهذا التراص يضيف ثبات جزيء الحمض النووي عن طريق استبعاد جزيئات الماء من الفراغات بين أزواج القواعد الآزوتية. تتجه القواعد النيتروجينية نحو الجزء الداخلي للجزيء ولكنها تظل في متناول المذيب من خلال الأخاديد الصغيرة والكبيرة (minor and major groove). الشكل رقم (٩)



الشكل رقم (٩): يوضح تراص القواعد فوق بعضها واتجاهها باتجاه الداخل مع تشكيل اخدودين صغير وكبير

نهاية المحاضرة الأولى

المحاضرة الثامنة

دعائم المعلومات الوراثية (٢)

3-اشكال DNA

كما ذكرنا سابقا تقوم سلسلتا الDNA بتشكيل بنية حلزونية أو لولبية يتم لفها حول محور وهمي، قد يكون اتجاه لف الحلزون باتجاه اليسار او باتجاه اليمين. هناك العديد من البنيات الحلزونية المكتشفة حتى الآن. يعتمد الشكل الذي يتبناه الحمض النووي مزدوج الشريطة على درجة ترطيبه، وتسلسله، ومعدل الالتفاف الحلزوني، والتعديلات الكيميائية للقواعد التي يتكون منها، وطبيعة وتركيز أيونات المعادن في المحلول.

حتى الآن تم اكتشاف ٦ اشكال لحلزون ال DNA أهمها ثلاثة اشكال سنتحدث عنها في فقرتنا هذه (A,B,Z)، ;ويجب الإشارة إلى ان فقط الشكلين A,B تمت ملاحظتهما في الخلية الحية أما الاشكال الأخرى فقد تم رؤيتها في ظروف تجريبية محددة.

B-form DNA

هو الشكل الأكثر شيوعًا للحلزون المزدوج في ظل الظروف الفسيولوجية الطبيعية في الخلايا الحية. وهو يتوافق مع الشكل الذي وصفه Watson and Crick في عام 1953. الشكل B هو حلزون مستقيم ذو دوران يميني، مع أزواج قاعدية عمودية على محور اللولب وتمر عبر مركز الاقتران. يبلغ طول دورة واحدة من اللولب حوالي 3.4 نانومتر وتحتوي في المتوسط على 10.4 إلى 10.5 أزواج قاعدية، القطر يبلغ 2.0 نانومتر. يبلغ عرض الأخاديد في هذا التكوين 2.2 نانومتر للكبير و1.2 نانومتر للصغير.

رغم أن الهيئة B هي الأكثر شيوعا في الظروف الموجودة داخل الخلايا إلا أنها ليست هيئة محددة بدقة وإنما عائلة متقاربة من هيئات الدنا التي تظهر في حالات الرطوبة العالية الموجودة داخل الخلايا الحية.

الشكل رقم (١٠)

A-form DNA

يُلاحظ الحمض النووي A في عينات الحمض النووي التي تكون رطبة نسبياً، وبقوة أيونية عالية، وفي وجود الإيثانول. إنه حلزون مزدوج مستقيم ومحوره لا يمر عبر أزواج القاعدة. هذا اللولب المزدوج أعرض من الشكل B، ويبلغ قطره 2.3 نانومتر وطول اللفة الواحدة يبلغ 2.86 نانومتر وتحوي 11 زوجًا قاعدي.

مقارنة بالدنا B فإن الدنا A له قطر أكبر ويميني الاتجاه كذلك، وله ثلم صغير سطحي وعريض وثلم كبير أضيق وأعمق، تظهر هذه الهيئة في الظروف غير الفيسيولوجية في عينات الدنا المجففة جزئيا. **الشكل رقم (١٠)**

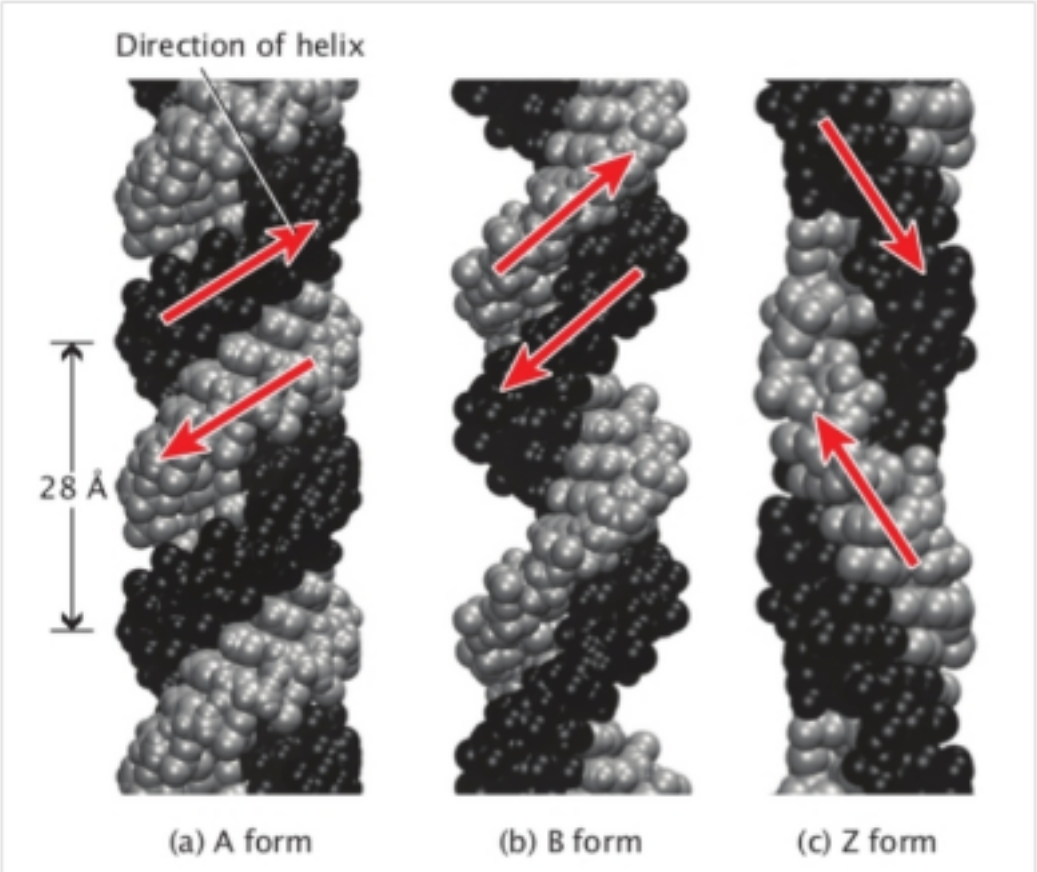
Z-form DNA

يعتبر DNA Z أكثر تقييدًا من الشكلين A وB من الحمض النووي ويتم ملاحظة غناه بأزواج الجوانين والسيتوزين. إنه حلزون مزدوج يساري الالتفاف، ينحرف محوره بشكل كبير عن أزواج القاعدة. هذا اللولب المزدوج أضيق من الشكلين السابقين، ويبلغ قطره حوالي 1.8 وطول الدورة حوالي 4.56nm نانومتر وله 12 زوجًا أساسيًا لكل لفة من اللولب. شكله متعرج ويحوي ثلم واحد. قد يشارك في تنظيم التعبير عن بعض الجينات أو في إعادة التركيب الجيني. يمكن العثور عليه في البكتيريا وحقيقيات النوى والفيروسات. **الشكل رقم (١٠)**

· الخصائص الهيكلية لأشكال الدنا الرئيسية الثلاث للولب المزدوج[71]

خصائص	A -DNA	B –DNA	Z –DNA
اتجاه اللولب المزدوج	يمين	يمين	يسار
عدد الأزواج القاعدية لكل دورة للولب المزدوج	11	10,5	12
السن اللولبي للولب المزدوج لكل دورة	2.82 نانومتر	3.32 نانومتر	4.56 نانومتر
القطر	2.3 نانومتر	2.0 نانومتر	1.8 نانومتر

الجدول رقم (١) الخصائص الهيكلية لأشكال الدنا الرئيسية الثلاث للولب المزدوج



الشكل رقم (١٠): الاشكال الثلاثة لحلزون الDNA

4الصفات الفيزيائية والكيميائية ل DNA

١- DNA denaturation (افساد الDNA):

الروابط الهيدروجينية والتفاعلات الكارهة للماء التي تحافظ على بنية اللولب المزدوج هي قوى ضعيفة ويمكن لكميات صغيرة نسبيًا من الطاقة أن تفصل بين السلسلتين بعملية تسمى الذوبان أو الانصهار أو افساد DNA.

ومن الجدير ذكره هنا إن عملية افساد الDNA لا تعتمد فقط على محتواه من الروابط الهيدروجينية بين القواعد فقط وانما تعتمد أيضا على طول DNA، حيث كان كلما كان الجزيء طويل كان أكثر استقراراً يمكن قياس الاستقرار بطرق عديدة، أشهرها هي درجة حرارة الذوبان (Tm: melting temeprature) وهي درجة حرارة تتحول فيها 50% من الجزيئات مزدوجة السلاسل إلى جزيئات منفردة السلاسل، وتعتمد درجة حرارة الذوبان على قوة الأيونات وتركيز الDNA ، كما إن وجود البروتين يؤثر على هذه الدرجة، ويساهم أنواع أزواج القواعد في تحديد هذه الدرجة حيث أن السلاسل الطويلة الغنية ب CG والتي لديها محتوى كبير من الروابط الهيدروجينية الثلاثية تترابط سلاسلها بشكل قوي وبالتالي درجة انصهارها على عكس السلاسل الغنية ب AT والتي يربطها روابط هيدروجينية ثنائية.

عند الوصول إلى درجة حرارة الذوبان تنفصل السلسلتان وتبقيان في المحلول كجزئيين مستقلين دون ان يكون لهما بنية واضحة أو مألوفة.

تعد Tm وإعادة تشكيل أو التحام السلسلتين مع بعضهما الأساس في العديد من العمليات البيولوجية الهامة مثل النسخ وتضاعف الDNA وغيرها...

يمكن أيضًا استخدام denaturation of DNA للكشف عن اختلافات التسلسل بين تسلسلين مختلفين من الDNA . يتم تسخين الحمض النووي وتحويله الى مفرد السلسلة، ويتم تبريد الخليط للسماح بإعادة تهجين الخيوط. تتشكل الجزيئات الهجينة بين تسلسلات متشابهة، وأي اختلافات بين تلك التسلسلات ستؤدي إلى تعطيل الاقتران الأساسي. على نطاق الجينوم، تم استخدام هذه الطريقة من قبل الباحثين لتقدير المسافة الجينية بين نوعين، وهي عملية تعرف باسم تهجين DNA-DNA ، ولكن تبقى دراسة تسلسل الحمض النووي بشكل عام طريقة أكثر دقة بالنسبة لمعرفة القرابة بين الأنواع. تُستخدم عملية ذوبان الحمض النووي أيضًا في تقنيات البيولوجيا الجزيئية، ولا سيما في تفاعل البلمرة المتسلسل PCRكما سنرى في الجزء العملي..

ويجب الإشارة إلى إن انفصال سلسلتا ال DNA يمكن أن تحدث بواسطة عوامل أخرى غير الحرارة مثل بعض المواد الكيميائية، ومن الضروري معرفة إن افساد ال DNA هي عملية عكسية، أي بمجرد عودة الظروف الطبيعية فإن السلستان تعودان للاتحاد مع بضعهما بعكس عملية افساد البروتين الغير رجعية.

٢- خاصية امتصاص الأشعة فوق البنفسجية

خاصية امتصاص البيورينات والبيريميدين في الأشعة فوق البنفسجية عند 260 نانومتر والبروتينات عند 280 نانومتر تجعل من الممكن قياس الأحماض النووية، وكذلك تقدير تلوث البروتين ل DNA.

بشكل عام، يعتبر نقاء محلول الحمض النووي مقبولاً عندما تكون نسبة260nm /280nm بين 1.8 - 2.0 DNA وبين 2.0 - 2 ، للحمض النووي الريبيRNA.

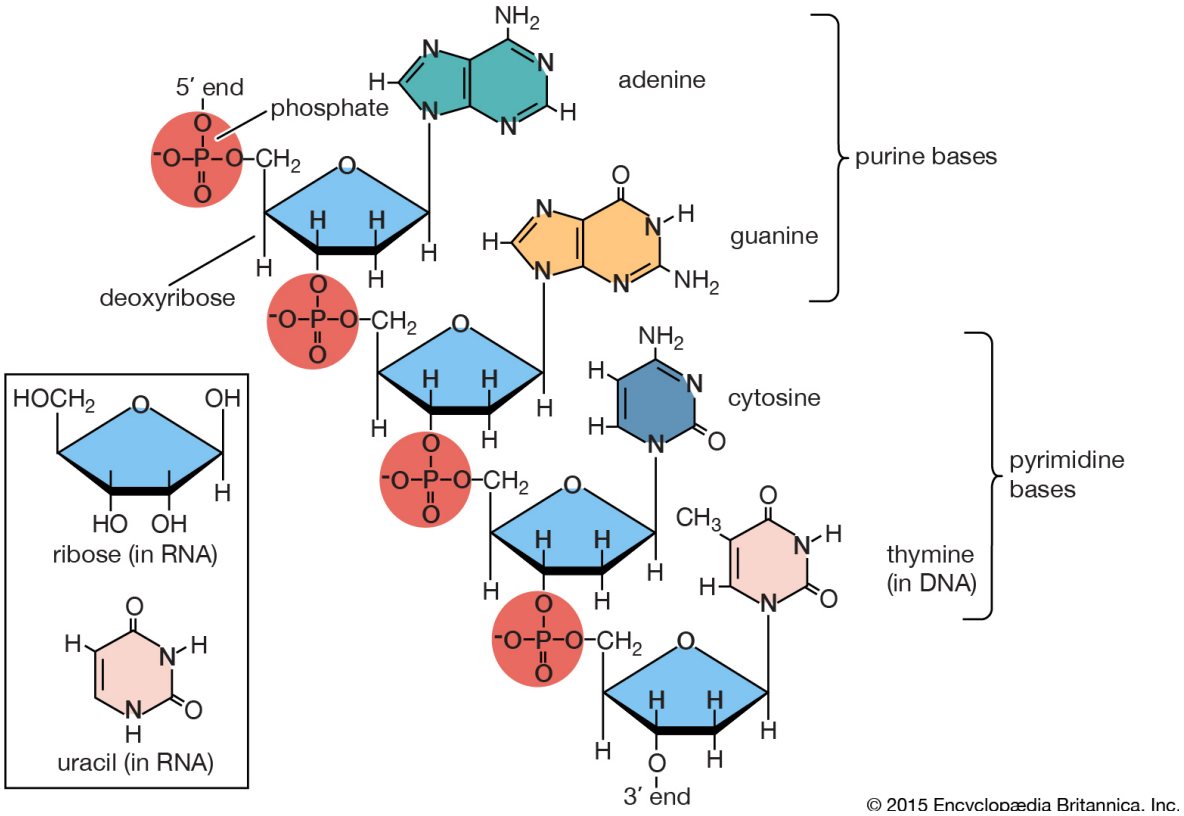
Ribonucleic acide :RNA

الحمض النووي الريبي RNA هو جزيء مشابه لDNA ، وهو مركب معقد ذو وزن جزيئي مرتفع يعمل في تخليق البروتين الخلوي ويحل محل DNA كحامل للرموز الجينية في بعض الفيروسات. يتكون الحمض النووي الريبي من نيوكليوتيدات الريبوز (قواعد نيتروجينية ملحقة بسكر الريبوز) مرتبطة بروابط فسفودايستر ، وتشكل خيوطاً ذات أطوال متفاوتة. القواعد النيتروجينية في الحمض النووي الريبي هي الأدينين والجوانين والسيتوزين واليوراسيل، والتي تحل محل الثايمين في الحمض النووي وعلى عكس الحمض النووي، فإن الحمض النووي الريبي أحادي السلسلة..

تستخدم الخلية RNA في عدد من المهام المختلفة، حيث إن messenger RNA أو mRNA يحمل معلومات الحمض النووي الذي ينقل المعلومات من الجينوم ويترجمها إلى بروتينات أما الحمض النووي الريبي الناقل هو جزيئات الحمض النووي الريبي، غير المشفرة للبروتين والتي تحمل فيزيائيًا الأحماض الأمينية إلى موقع الترجمة الذي يسمح بتجميعها في سلاسل من البروتينات في عملية الترجمة.

إن وجود مجموعة هيدروكسيل تفاعلية كيميائيًا (OH −) مرتبطة بمجموعة الكربون الثانية في جزيء سكر الريبوز يجعل الحمض النووي الريبي عرضة للتحلل المائي. يُعتقد أن قابلية الحمض النووي الريبي الكيميائية هذه، مقارنةً بالحمض النووي، التي لا تحتوي على مجموعة OH− تفاعلية في نفس الموضع على جزء السكر (deoxyribose)، هي أحد أسباب تطور الحمض النووي ليكون الناقل المفضل للمعلومات الجينية في معظم الكائنات الحية. تم وصف بنية جزيء الحمض النووي الريبي عام 1965.

الشكل رقم (١١)



الشكل رقم (١١): تركيب الRNA

أنواع ووظائف الحمض النووي الريبي RNA

من بين الأنواع العديدة من الحمض النووي الريبي، فإن الأنواع الثلاثة الأكثر شهرة والأكثر شيوعًا التي تمت دراستها هي (mRNA)، والحمض النووي الريبي الناقل (t RNA) ، والحمض النووي الريبوزومي ، الموجود في جميع الكائنات الحية. تقوم هذه الأنواع وأنواع أخرى من الحمض النووي الريبي في المقام الأول بتفاعلات كيميائية حيوية تشبه الإنزيمات. ومع ذلك، فإن بعضها له أيضًا وظائف تنظيمية معقدة في الخلايا. نظرًا لمشاركتها في العديد من العمليات التنظيمية، وبسبب وفرتها ووظائفها المتنوعة لها أدوارًا مهمة في كل من العمليات الخلوية الطبيعية والأمراض.

في تخليق البروتين، يحمل mRNA الرموز الجينية من الحمض النووي في النواة إلى الريبوزومات ، وهي مواقع ترجمة البروتين في السيتوبلازم. تتكون الريبوزومات من RNA الريبوزومي والبروتين.

وهناك نوع صغير من RNA غير مشفر يدعى miRNAs أو ميكرو RNA لها أهمية خاصة. يبلغ طولها حوالي 22 نيوكليوتيد وتعمل في تنظيم الجينات في معظم حقيقيات النوى. يمكن أن تسبب ب اسكات التعبير الجيني لبعض الجينات عن طريق الارتباط بالـ mRNA المستهدف وتثبيط الترجمة، وبالتالي منع إنتاج البروتينات الوظيفية. تلعب العديد من الجزيئات المجهرية الجزيئية أدوارًا مهمة في الإصابة بالسرطان وأمراض أخرى.

وهناك RNA الدائري (CircRNA) حيث أن نهايتاه 5 و 3 مرتبطة ببعضهما البعض ، مما يخلق حلقة. يتم إنشاء الجزيئات الحلقية من العديد من جينات الخاصة، ولهذه الأخيرة وظائف تنظيمية.

نهاية المحاضرة الثانية

المحاضرة التاسعة

دعائم المعلومات الوراثية (٣)

تضاعف ال DNA أو Replication of DNA

مقدمة:

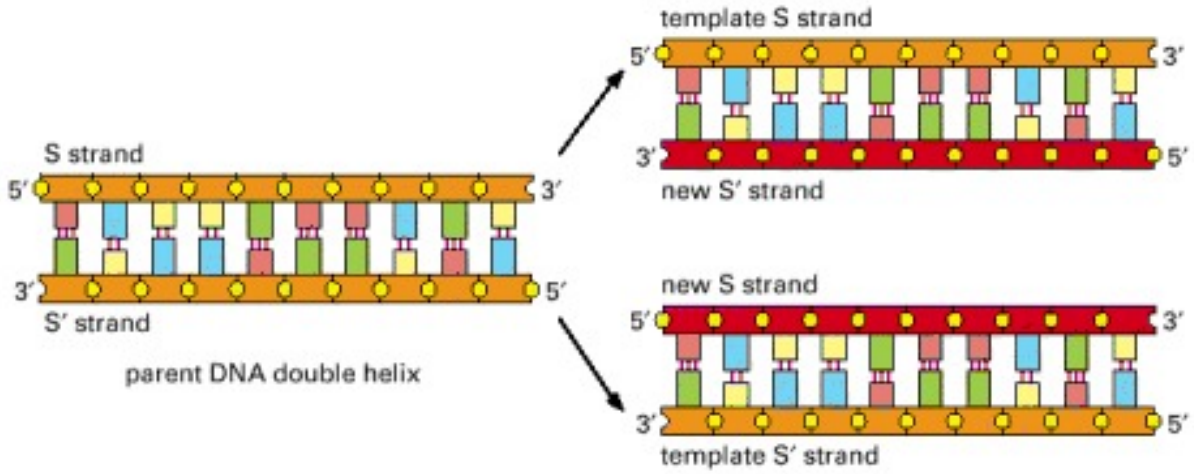
تضاعف الحمض النووي هو العملية التي يتم من خلالها نسخ جزيء DNA مزدوج الشريط لإنتاج جزيئين متطابقين من الحمض النووي. يعد النسخ عملية أساسية لأنه عندما تنقسم الخلية، يجب أن تحتوي الخليتان البنتان الجديدتان على نفس المعلومات الجينية، أو الحمض النووي، مثل الخلية الأم.

تعتمد عملية التضاعف على حقيقة أن كل خيط من الحمض النووي يمكن أن يعمل كقالب للنسخ. يبدأ نسخ الحمض النووي في نقاط محددة، تسمى الأصول، حيث يتم حل اللولب المزدوج للحمض النووي. في البداية يلتصق RNAيسمى البادئ ب احدى سلسلتي الDNA ، ويعمل كنقطة انطلاق لتخليق الحمض النووي الجديد. يبدأ إنزيم يسمى DNA polymerase بعد ذلك في نسخ الحمض النووي عن طريق إضافة قواعد آزوتية حرة. بمجرد اكتمال التوليف، يتم استبدال RNA ب DNA، ويتم سد أي فجوات بين مقاطع الحمض النووي المُصنَّعة حديثًا بمساعدة بعض الأنزيمات.

يعد تضاعف الحمض النووي عملية حاسمة؛ لذلك ولضمان عدم حدوث أخطاء أو طفرات، تقوم الخلية بمراجعة الحمض النووي المركب حديثًا. بمجرد التأكد من صحة الحمض النووي المنسوخ في الخلية، يمكن للخلية أن تنقسم إلى خليتين، كل منهما لها نسخة متطابقة من الحمض النووي الأصلي.

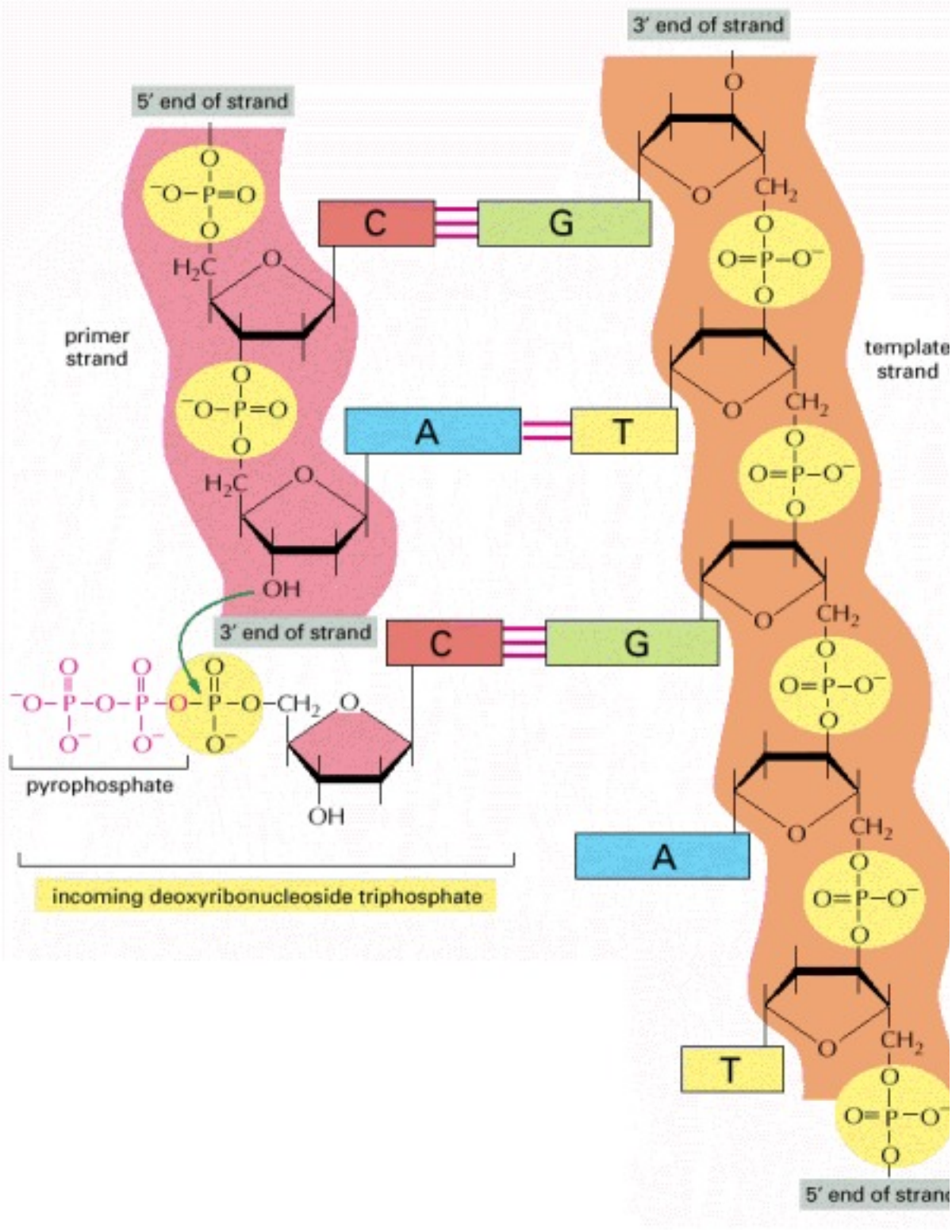
إذاً يجب على جميع الكائنات الحية نسخ الحمض النووي الخاص بها بدقة غير عادية قبل كل انقسام للخلية. في هذا المحاضرة، سنتعرف على كيفية قيام replication machine بتحقيق هذه الدقة، حيث تقوم بتكرار الحمض النووي بمعدلات تصل إلى 1000 نكليوتيد في الثانية.

- إن النقطة الأساسية في تضاعف ال DNA تعتمد على خاصية التكامل الموجودة بين القواعد الآزوتية (A with T, and G with C) حيث بعد تباعد السلسلتان عن بعضهما (فك الحلزنة) بواسطة انزيمات خاصة، نحصل على سلسلتان كل منهما تعمل كقالب Template، وتصبح الروابط الهيدروجينية مكشوفة وجاهزة لاستقبال nucleotides حرة بمساعدة أنزيم DNA polymerase لتشكل سلسلة جديدة كما في الشكل رقم (١)



الشكل رقم (١): شريطي الحلزون المزدوج ل DNA تعمل كل منها كقالب لإنشاء شريط آخر مكمل، بالاعتماد على خاصية تكامل القواعد الآزوتية.

- إن إضافة deoxyribonucleotide إلى النهاية 3′ في الشريط الذي يدعى primer strandهو شيء أساسي للبدء في تخليق ال DNA، حيث يعمل هذا الشريط كمرشد أو دليل للحصول على شريط جديد كما يبين الشكل رقم (٢)

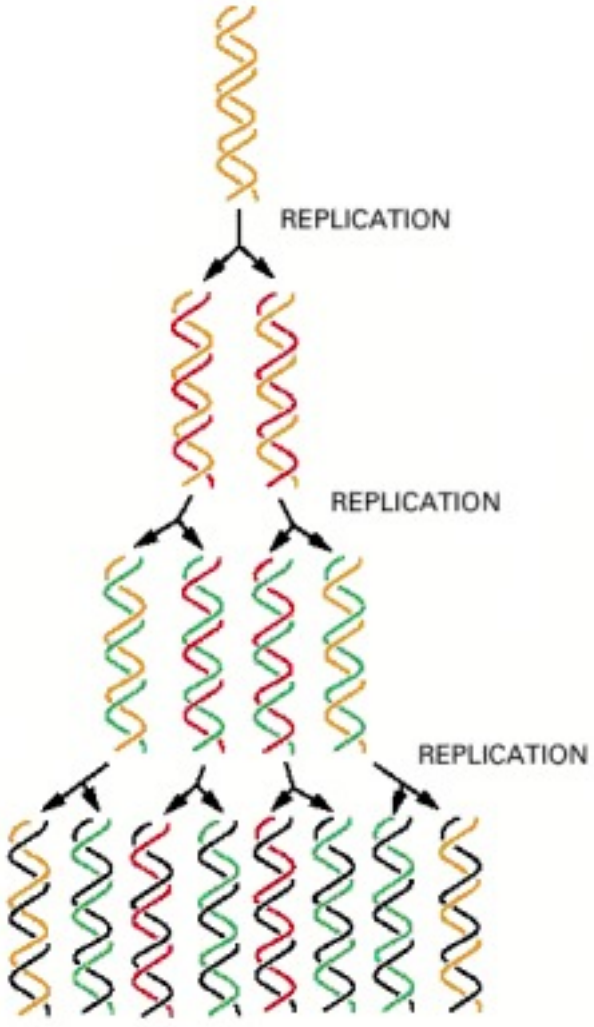


الشكل رقم (٢): إضافة deoxyribonucleotide إلى النهاية ′3 من الشريط البادئ

- **تشكل شوكة التضاعف Replication Fork:**

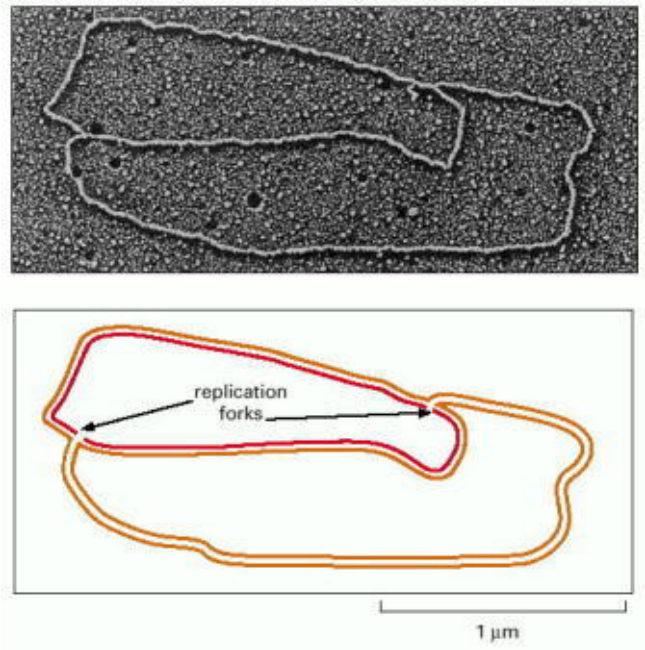
بما إن كلا شريطي DNA تعمل كقالب من أجل تشكيل شريط ثاني كامل جديد، وكون كل خلية بنت ناتجة عن انقسام الخلية التي حدث فيها تضاعف ال DNA تحوي شريط DNA قديم وشريط DNA جديد فإننا ندعو هذا التضاعف بنصف المحافظ (يوجد ايضاً تضاعف محافظ وتضاعف مشتت). الشكل رقم (٣)

كيف يتم انجاز مثل هذا التضاعف؟؟



الشكل رقم (٣) يوضح هذا الشكل الطبيعة شبه المحافظة ل DNA حيث يتم استخدام شريطي DNA لاستكمال الشريط الاخر المكمل، لذلك يبقى الشريطان الاساسيان سليمان عبر العديد من أجيال الخلايا.

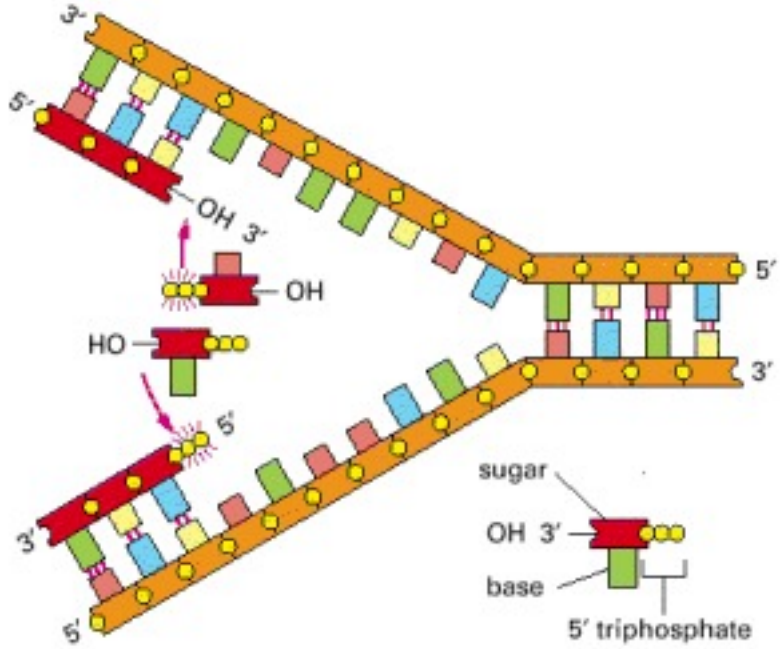
كشفت التحليلات التي أجريت في أوائل الستينيات من القرن الماضي على كامل الكروموسومات المتضاعفة الدائرية عن وجود منطقة موضعية من النسخ تتحرك تدريجياً على طول الحلزون المزدوج للحمض النووي الأبوي، تسمى هذه المنطقة النشطة شوكة النسخ بسبب هيكلها على شكل Y. الشكل رقم (٤).



الشكل رقم (٤): يظهر هذا الشكل تشكل شوكتان تضاعف تتحركان باتجاهين متعاكسان حيث نلاحظ منطقة نشطة تتحرك على طول الجزيء المضاعف، منشأة شكل حرف Yتدعى بشوكة التضاعف، نلاحظ ذراعان لكل شوكة في جزيئة DNA البنت وجذع الشوكة يكون في جزيئةDNA الابوية. الشرائط الابوية باللون البرتقالي، والاشرطة الجديدة حمراء.

في البداية، بدا أن أبسط آلية لفهم تضاعف الحمض النووي هي النمو المستمر لكل من الخيوط الجديدة nucleotide by nucleotide، عند طرفي شوكة النسخ حيث ينتقل من أحد طرفي جزيء الحمض النووي إلى الطرف الآخر. ولكن بسبب الاتجاه المضاد للتوازي بين خيوط الحمض النووي في الحلزون المزدوج للحمض النووي، فإن هذه الآلية تتطلب خيطًا ابن daughter strand واحد للبلمرة في اتجاه 5′-to-3′ وآخر في اتجاه 3′-to-5′. وبهذا الشكل تتطلب شوكة النسخ انزيمي DNA polymerase مختلفين. واحد سوف ينسخ باتجاه 5′-to-3′ direction حيث يكون مسؤول عن إضافة كل deoxyribonucleoside وأنزيم آخر سوف ينسخ باتجاه 3′-to-5′ وهذا الاتجاه يسمى النمو الرأسي، حيث أن نهاية سلسلة الDNA النامية سوف تحتاج لإضافه nucleotide الشكل رقم (٥)

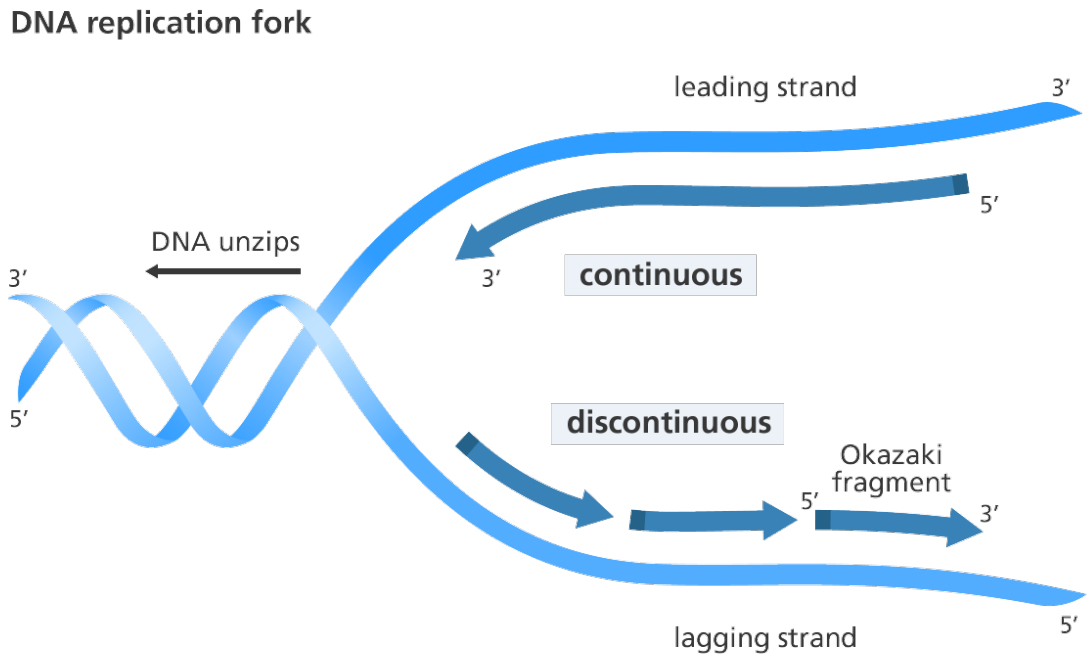
ولكن النسخ بهذا الاتجاه على الرغم من إمكانية حدوثه بشكل صناعي خارج الخلية، الا إنه لا يمكن أن يحدث بشكل طبيعي في الخلية الحية لعدم توفر انزيم بوليميراز ينسخ بهذا الاتجاه.



الشكل رقم (٥) نموذج غير صحيح لتضاعف الحمض النووي. على الرغم من أنه قد يبدو أبسط نموذج ممكن لتضاعف الحمض النووي، إلا أن الآلية الموضحة هنا ليست تلك التي تستخدمها الخلايا. في هذا المخطط، ستنمو خيوط DNA الجديدة باستمرار، باستخدام طاقة التحلل المائي للفوسفاتين النهائيين (دوائر صفراء مظللة بالأشعة الحمراء) لإضافة النيوكليوتيد التالي على كل خيط. سيتطلب هذا نمو السلسلة في كل الاتجاهين ولكن لم يتم العثور على أي إنزيم يحفز بلمرة النوكليوتيدات في اتجاه 5′ إلى 3′

اذً السؤال المطروح كيف يمكن أن يحدث بلمرة في هذا الاتجاه؟؟؟

تم اقتراح الإجابة اول مرة من خلال نتائج التجارب في أواخر الستينيات، حيث أضاف الباحثون عناصر مشعة إلى البكتيريا المنقسمة لبضع ثوانٍ، بحيث أصبح أحدث نسخ الحمض النووي فقط والموجود خلف شوكة النسخ معلم إشعاعيًا. كشفت هذه التجربة عن الوجود العابر لقطع الحمض النووي التي يتراوح طولها بين 1000 و2000 نيوكليوتيد، والمعروفة الآن باسم قطع أوكازاكي Okazaki fragments، عند شوكة النسخ المتزايدة. (تم العثور على وسيطات تكرار مماثلة في وقت لاحق في حقيقيات النوى، حيث يبلغ طولها 100-200 نيوكليوتيد فقط.) وقد تبين أن Okazaki fragments مبلمرة فقط في اتجاه 5′ إلى 3′ يتم ضمها معًا بعد نسخها لتشكل سلاسل DNA طويلة. الشكل رقم (٦)



الشكل رقم (٦): يبين الشكل ان احدى الشريطين يكون فيه النسخ بالاتجاه 3′ والأخر يكون بالاتجاه العكسي ولكن بصورة غير مستمرة.

اذاً يتبين لنا ان شوكة النسخ هي بناء غير متجانس، حيث أن شريط ال DNA الجديد والذي بني بطريقة مستمرة يعرف باسم الشريط الامامي أو **leading strand**، أما الشريط الآخر الذي بني بطريقة غير مستمرة فيدعى الشريط الخلفي أوLagging strand. بالنسبة للخيط Lagging strand ، يكون اتجاه البلمرة النووية عكس الاتجاه العام لنمو سلسلة الحمض النووي. يتأخر تخليق الحمض النووي لهذه لخيوط لأنه يجب أن ينتظر الخيط **leading strand** لتجهيز الشريط القالب الذي يتم عليه تصنيع كل جزء من أجزاء أوكازاكي. إن تخليق هذا الخيط يؤكد ان انزيم بوليمراز يعمل في اتجاه واحد فقط.

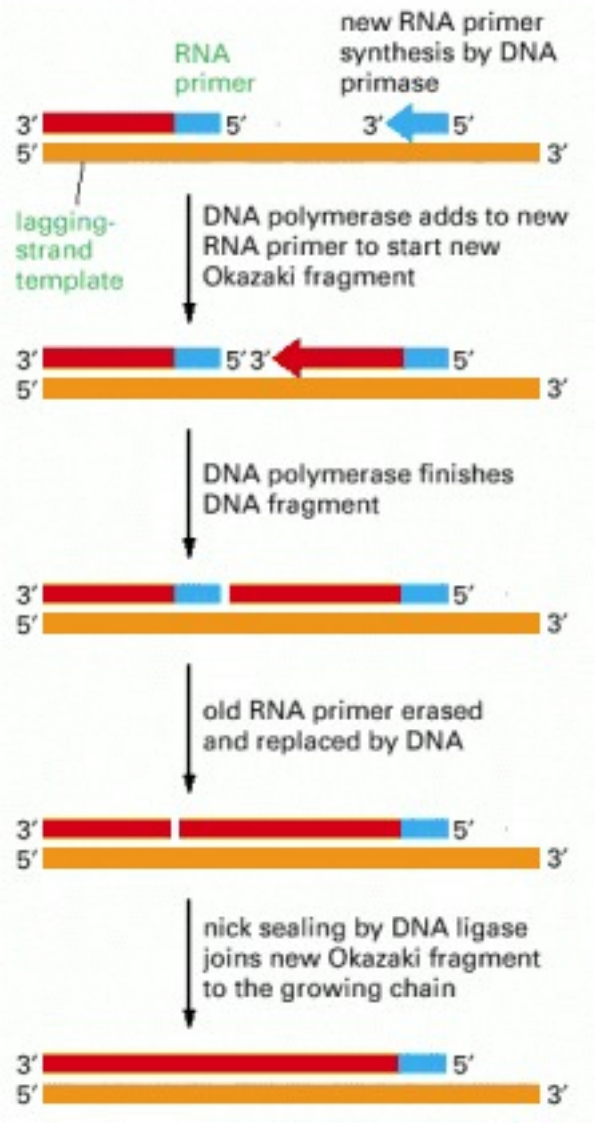
- **يقوم إنزيم البلمرة الخاص بالنيوكليوتيدات بتشكيل جزيئات تمهيديه قصيرة من RNAعلى Lagging Strand**

بالنسبة للخيط leading strand ، هناك حاجة إلى بادئ خاص فقط في بداية النسخ ، بمجرد إنشاء شوكة النسخ ، يتم تقديم بوليميراز الحمض النووي باستمرار بنهاية سلسلة الجديدة لإضافة نيوكليوتيدات جديدة عليها. على **Lagging Strand** من الشوكة، في كل مرة يكمل فيها بوليميراز الحمض النووي جزءًا قصيرًا من DNA Okazaki (يستغرق بضع ثوانٍ) ، يجب أن يبدأ في تصنيع جزء جديد تمامًا في موقع آخر على طول الشريط القالب الشكل رقم (٩). يتم استخدام آلية خاصة لإنتاج الشريط التكميلي. تتضمن الآلية إنزيمًا يسمى DNA primase، والذي يستخدم ribonucleoside triphosphates لتركيب بادئات RNA قصيرة على **Lagging Strand**.

أن الحمض النووي الريبي مشابه جدًا في التركيب للحمض النووي. يمكن لشريط من الحمض النووي الريبي أن يشكل أزواجًا قاعدية مع خيط من الحمض النووي، مما يؤدي إلى توليد حلزون مزدوج هجين

DNA / RNA إذا كان تسلسل النوكليوتيدات متكاملين. وبالتالي، يتم توجيه توليف بادئات الحمض النووي الريبي RNAبنفس مبدأ النمذجة المستخدم في تخليق الحمض النووي.

نظرًا لأن أساس RNA(بادئات) يحتوي على نهاية OH-3′ في أحد طرفيه، يمكن أضافة deoxyribonucleoside إلى هذه النهاية ،وهكذا يتم نمو هذا الشريط باتجاه معاكس للشريط الأمامي . ينتهي تخليق كل جزء من أجزاء Okazaki عندما يتم يصل بوليميراز DNA هذا إلى النهاية 5′ لقطعة اوكزازي السابقة. لإنتاج سلسلة مستمرة من الحمض النووي من العديد من قطع الحمض النووي المصنوعة على الشريط المتأخر، يعمل نظام إصلاح خاص للحمض النووي بسرعة لمحو أساس الحمض النووي الريبي القديم واستبداله بالحمض النووي. ثم يقوم إنزيم يسمى DNA ligase بضم الطرف 3′ من جزء الحمض النووي الجديد إلى النهاية 5′ من السابق لإكمال العملية.



الشكل رقم (٧): شكل يوضح كيفية تشكل قطع ال DNA على الشريط lagging strand في حقيقيات النوى تكون بادئات ال RNA بعيدة عن بعضها بفواصل ٢٠٠ نكليوتيد،

نهاية المحاضرة الثالثة