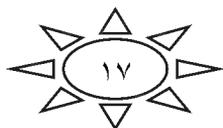
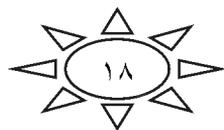




تركيب ووظيفة الحامض النووى





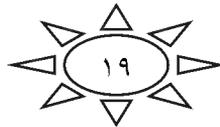
مقدمة فى نشأة وتطور البيولوجيا:

كان أول من استخدم كلمة بيولوجى (Biology) العالم الألمانى "تريڤير أنوس Trveir Anus" فى عام ١٨٠٢ ثم العالم الفرنسى "لامارك Lamarck".

وعلم البيولوجيا شأنه شأن أى علم آخر يصعب تحديد بدايته بدقة. لكن يبدو أن الارهاصات الأولى لقيام هذا العلم على بعض الأسس العلمية قد حدثت فى القرنين السابع عشر والثامن عشر على يد بعض العلماء الطبيعيين من أمثال "جورج بينون Georges Buffon" و"لينيه Linneaus" (جروس ، ١٩٨٩). وبقيت البيولوجية فى حالة تعثر حتى بدايات القرن التاسع عشر فى الوقت الذى كان هناك تفاعل بين العلوم الأخرى والتكنولوجيا (البقضى ، ١٩٩٣).

وفى القرن التاسع عشر حدثت تطورات فى البيولوجيا إعتمدت على ما توصل إليه كل من لامارك ، داروين ، مندل وآخرين... فهؤلاء الذين شاركوا فى بدايات علم البيولوجيا فى ذلك الوقت من خلال نظرياتهم عن التطور والوراثة وغيرها (جروس ، ١٩٨٩).

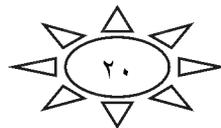
وكان لنظرية التطور أثر كبير فى نظرة الإنسان لنفسه ولأخلاقه وفكره وعقيدته" فلأول مرة واجهت البيولوجيا فكر الإنسان وعقائده مما أدى إلى حدوث صدام بينها وبين الأخلاق وبينها وبين الفلسفة والدين فأتارت ردود أفعال عنيفة بين رجال الدين وبعض الفلاسفة وبعض العلماء فهزت الوجود الإنسانى نفسه (البقضى ، ١٩٩٣). هذا ومن تجارب مندل (مؤسس علم الوراثة)



تم التعرف على العناصر المسؤولة عن الصفات الوراثية ، وهي ما أطلق عليها فيما بعد "يوهانس" اسم الجينات وتم تحديد موضع تلك الجينات على الكروموسومات "الصبغيات" ومنذ ذلك الحين ولد علم الوراثة... ونستطيع القول أن البيولوجيا اكتسبت صبغتها الكاملة فى نهاية القرن التاسع عشر إذ بدأ تفسير الوراثة والتطور والتكاثر وتنوع الأجيال (جروس ، ١٩٨٩).

هذا وقد أحدثت البيولوجيا انقلابا كبيرا فى القرن العشرين حتى أنها أثرت على حياة الإنسان العادى ، فمر علم الحياة فى القرن العشرين بتطورات سريعة متلاحقه بالدرجة التى جعلنا نقول إننا فى العصر الحقيقى لتطور البيولوجيا : "فيذا كان العالم قد شهد تغيرات حاسمه فى الحياة بفضل علوم الكيمياء والفيزياء فقد ظهرت فى القرن العشرين بوادر تدل على أن العلم الذى سيحدث تغيرات جذرية فى العالم ، هو علم البيولوجيا من خلال أبحاث الهندسة الوراثية (زكريا ، ١٩٩٦b).

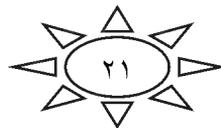
قد عاشت الإنسانية منذ عهد قريب ولا تزال فى ميادين العلم المختلفة ثورات متتالية فى العلوم كالثورة التى حققها الإنسان فى ميادين الذرة والإلكترونيات وغزو الفضاء ولكن: البيولوجيا هى طابع الثورة العلمية فى يومنا هذا... وكان لهذه الثورة عديد من الإنجازات التى فرضت علينا الاهتمام بقضايا أخلاقية وطرحت أسئلة أخلاقية أثارت معضلات حادة فى ميدان القيم لم تكن موجودة كالتى نعيشها اليوم فى ضوء اكتشافاتنا العظيمة لأسرار الخلية الحية.



والبيولوجيا دور مهم فى الحياة الاجتماعية نظرا لاسهاماتها فى مجالات الحياة المتعددة كالتب والرعاية الصحية ، الزراعة ، والصناعة ، والإنتاج وغيرها كما تتشابه اهتماماتها مع الكثير من قضايا المجتمع ومشكلاتها كمشاكل الغذاء والطاقة والتلوث والمشكلة السكانية... وغيرها من القضايا الاجتماعية العديدة المثيرة للجدل العلمى فى معظم أنحاء العالم الآن (شباره ، ١٩٩٢) "والبيولوجيا عندما تقوم بدورها هذا فإنها لا تكتفى بإظهار الحقائق والمفاهيم العلمية الصحيحة بما تحقّقه من تثقيف وتوعية بهذه القضايا فقط وإنما أيضا تهىء العقول والأذهان لمزيد من التقبيل للمعلومات والمشاعر عن تلك المشكلات الاجتماعية" (شباره ، ١٩٩١).

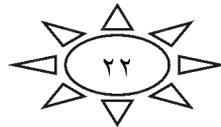
هذا وسوف نحاول الإقتراب أكثر من علم البيولوجيا ، وخاصة البيولوجيا الجزيئية وبعض تقنيات الهندسة الوراثية لتعرف عن قرب وبشكل مبسط عما يحدث بداخل الخلية الحية ، وبشكل أكثر تحديد ماذا يحدث فى الجينات حتى نكون هكذا كما نحن الآن بمذ الصفات.

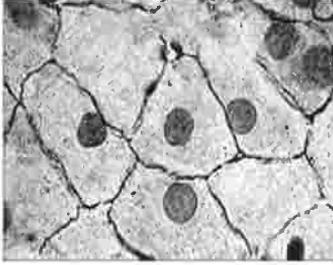
فالكائن الحى يملك المعلومات والصفات اللازمة لبنائه والمحافظة على بقاءه ، وتنقل هذه الصفات من جيل إلى آخر عبر جزيئات توجد فى نواة الخلية وتكون مسئولة عن التحكم فى إدارة الأنشطة المختلفة للكائن الحى ونموه، وتمايزه ، وتكون فى نفس الوقت قادرة على التضاعف بصفة مستمرة مادام هناك انقسام أو نمو. وقد استطاع عالم الوراثة مندل Mendel عام 1865 تفسير انتقال



الصفات من الأباء إلى الأجيال دون أدنى معرفة عن التركيب الدقيق للجين ومن تجارب التهجين التي قام بها على نبات البسلة استنتج أن كل نبات من البسلة يملك طريزين (Two alleles).

والعوامل الوراثية المسؤولة عن انتقال الصفات توجد بحالة مزدوجة في الكائن الحي ، أي أن لكل صفة وراثية عاملين وراثيين ، إما أن يكونا متشابهين فيقال عن الصفة الوراثية أنها نقية ، وأما أن يكونا مختلفين فيقال عن الصفة الوراثية إنها خليط ويسمى الكائن الحي عندها هجيناً ، وفي هذه الحالة تسود إحدى الصفتين على الأخرى. أي أن كل جينين معا يعطيان صفة واحدة أو طرز مظهرى واحد (phenotype). ودرس أيرنست هيشيل Ernst Haechel انتقال الصفات بين خلايا الحيوانات المنوية والبويضة وأكد أن الحيوانات المنوية تحتوى على كمية أكبر من المادة النووية وأن النواة الموجودة داخل الخلية هي المسؤولة عن انتقال الصفات الوراثية من جيل إلى آخر. وفي أواخر القرن التاسع عشر توصل العلماء إلى أن الكروموسومات الموجودة في أنوية الخلايا والمسؤولة عن حمل الصفات الوراثية (شكل ١) تتكون كيميائياً من بروتينات وأحماض عضوية سميت الأحماض النووية ، إلا أن تركيب هذه الأحماض وخصائصها لم تعرف تماماً حتى مطلع النصف الثاني من القرن العشرين.



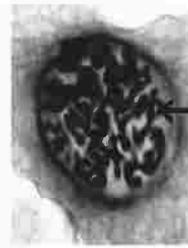


نسيج لخلايا هيوانية يتضح به الأنوية داخل كل خلية

خلية



خلية في مرحلة الإنقسام



الكروموسومات (الصبغيات)
داخل نواة الخلية

نمط (1) خلية حيوانية تنضج بها نواة لتفر الحمض الأمضى النووية

تاريخ الكشف عن المادة الوراثية:

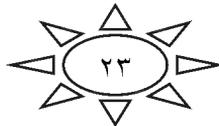
Nucleic acid is the material of الحمض النووى هو المادة الوراثية:

heredity

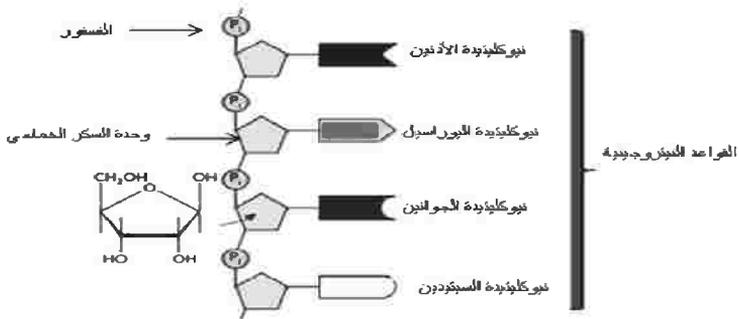
لاشك أن عملية تشابه الأبناء مع الآباء تؤكد انتقال الصفات الوراثية عبر الأجيال . وكان من المعتقد أن المادة التى تحمل الصفات الوراثية أما أن تكون الأحماض النووية أو البروتين الموجودة داخل الخلية ، وحتى عام 1940 كان الاعتقاد السائد أن البروتين هو المسئول عن انتقال الصفات الوراثية من الآباء إلى الأبناء ، وذلك لسببين الأول: هو أن البروتين موجود بوفرة فى الخلية ورغم اختلاف كمية البروتين من خلية إلى أخرى فى نفس الكائن فإن كمية البروتين تمثل أكثر من 50% من الوزن الجاف .

والثانى: هو أن الأحماض النووية صغيرة جدا فى كميتها فى الخلية

ولا يوثق فى حملها للصفات الوراثية.



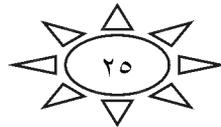
وفي عام 1926 قام العالم الكيميائي "ميشر Miescher" بعزل الحمض النووي Deoxyribo Nucleic Acid (DNA)، فقد فصل النواة أولاً من الخلايا وأسماها بالمادة النووية (nuclein)، ثم فصل المادة الحامضية بها. ولاحظ "ميشر" أن النواة تحتوي على كمية كبيرة من الفوسفور ولا يوجد بها كبريت وهذا فارق بينها وبين تركيب البروتين. وقد اقترح **ليفين وسيمس** (Levene & Simms 1926) أن المادة النووية تتكون من أربع أنواع من النيوكليوتيدات tetra-nucleotide (شكل ٢) وهذه النيوكليوتيدات تتكرر عدة مرات لتكوين حامض نووي طويل .



شكل (2) نموذج للأربع نيوكليوتيدات في تركيب الأحماض النووية المقترح عام 1926 بواسطة Levene & Simms.

ولقلة التغير الكيميائي في الـ DNA حيث أن التغير يتم فقط في ترتيب الأرباع نيوكليوتيدات فإن هناك 20 حامض أميني يمكنها الترتيب بطرق مختلفة لإيجاد بروتين مختلف، ولذا كان الظن أن البروتين هو حامل الصفات الوراثية.

وفي عام 1928 استخدم جرفث Frederick Griffith أنواع عديدة من البكتيريا المسببة للإلتهاب الرئوى للفئران *Streptococcus pneumoniae* فى حقن الفئران وملاحظة الأعراض الخاصة بالمرض. واستخدم جرفث أولا بكتريا سليمة وحية وحقنها فى الفئران لإحداث المرض. بعض سلالات هذه البكتريا قادرة على إحداث مرض الإلتهاب الرئوى لكلا من الفئران والإنسان وتسمى Virulent ، والأخرى لا تحدث المرض وتسمى Avirulent والسلالتين الممرضة وغير الممرضة متميزتين ظاهريا. فالبكتريا القادرة على إحداث المرض محاطة بعلبة (كبسولة) من السكريات العديدة ومستعمراتها فى الأوساط الغذائية تكون ملساء (smooth) لامعة السطح. لكن البكتريا غير القادرة على إحداث المرض ينقصها الكبسولة ومستعمراتها تكون خشنة (Rough). ولاحظ جرفث أن البكتريا ذات الكبسولة لها القدرة على إحداث المرض (virulent) وظهور أعراض الإلتهاب الرئوى فى الفئران ، وعند تعريض هذه البكتريا للحرارة العالية ، يتوقف إحداثها للمرض. وهذا يؤكد أن الخلايا الحية فقط هى التى تحدث المرض. ومن ناحية أخرى تفشل البكتريا غير المحاطة بالكبسولة فى إحداث المرض (شكل ٣).

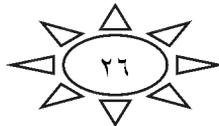


وعند حقن الفئران بالسلالات الخشنة Avirulent مع السلالات الناعمة المعاملة بالحرارة العالية لاحظ جرفث حدوث المرض وموت الفئران ، وتحليل دم الفئران الميتة تم عزل أعداد كبيرة من البكتريا الملساء (Smooth).

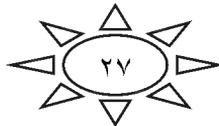
وأكد جرفث أن البكتريا المعاملة حراريا هي المسئولة عن تحويل البكتريا الخشنة Avirulent إلى بكتريا ملساء Virulent وأسمى هذه الظاهرة بالتحويل الانتقالي (Transformation). والسؤال هنا ما المسؤل عن تحول البكتريا غير الميتة إلى بكتريا مميتة؟ وقد أقترح أن عملية التحويل الانتقالي تتم بواسطة انتقال جزء من السكريات العديدة أو الكبسولة أو بعض المركبات اللازمة لبناء الكبسولة إلى البكتريا الخشنة وتحويلها إلى بكتريا ملساء .

فعند حقن الفئران بواسطة البكتريا الملساء الحية يؤدي الى قتلها ، وحقن الفئران بواسطة نفس البكتريا التي سبق قتلها بالحرارة لا يسبب قتل الفئران وكذلك السلالة الخشنة من هذه البكتريا لا تسبب موت للفئران ، ولكن عند حقن الفئران بالكبسولة بمفردها لم يحدث أى أعراض للمرض الكبسولة بمفردها لا تحدث أعراض المرض فى الفئران.

وعندما نمت السلالة الخشنة فى وسط به الحامض النورى المستخلص من السلالة الملساء الحية تحولت الى النوع الاملس وأصبحت ممرضة للفئران .



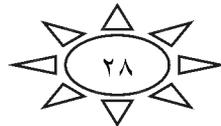
شكل (٣) تجربة Griffith على بكتريا *S. pneumoniae* والتي تؤكد أن الحامض النووي هو المسئول عن نقل الصفات من جيل إلى جيل آخر (Reece, 2004).



وفي تجربة أخرى عام 1944 أخذ العالم أفرى (Avery) كمية كبيرة من البكتريا الملساء *S. penumonia* وقتلها باستخدام الحرارة ثم فصل مكونات الخلية البكتيرية باستخدام محاليل كيميائية مختلفة (Detergent) مثل الكلوروفورم Chloroform إلى محتوياتها من البروتين والسكريات العديدة . وبخلط المحتويات كلا على حده مع بكتريا الإلتهاب الرئوى الخشنة (rough) لاحظ أنه: عند حقن الفئران بواسطة مخلوط من البكتريا الخشنة (Avirulent) مع الحامض النووى DNA للبكتريا الملساء تظهر أعراض المرض وتموت الفئران ثم تمكن من عزل البكتريا الملساء من دم الفئران الميتة.

وباستخدام 75 لتر من مزعة البكتريا الملساء استطاع الحصول على 10-25 mg (ملى جرام) من العامل النشط الحامض النووى وإزالة أى مواد أخرى من الحامض النووى DNA الذى تم فصله من البكتريا الملساء تم معاملة المستخلص بواسطة إنزيمات تحلل البروتين مثل التريسين Trypsin والكيموتريسين Chemotrypsin وبعد ذلك تم هضم الحامض النووى RNA بواسطة مجموعة من الإنزيمات تسمى ريبونوكليز (ribonuclease). وأكدت هذه التجربة أن الحامض النووى DNA هو المادة الوراثية الذى يختص بنقل الصفات الوراثية من جيل إلى آخر.

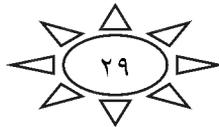
وفي عام 1950 أجريت محاولة أخرى لتحديد المادة الوراثية وذلك باستخدام إحدى الفيروسات البكتيرية T₂ bacteriophage التى تصيب بكتريا القولون *Escherichia coli* وهذه الفيروسات تسمى اللاقمات البكتيرية



أو الفاج (phage) ، والتي تتكون من رأس مكونة من بروتين يحيط بجزئاً من المادة النووية (DNA) والرأس محمولة على ذيل متصل ببعض الألياف التي تساعد على تثبيت الفيروس على سطح العائل (البكتريا).

وأعتمد في ذلك الوقت أن الفاج (phage) تدخل بالكامل إلى داخل الخلية البكتيرية ثم تتضاعف في العدد ولكن ثبت أن الفاج تلتصق بالجدار الخارجى ثم ترسل المادة الوراثية إلى داخل الخلية والمادة الوراثية هي المسئولة عن مضاعفة أعداد الفاج phage داخل الخلية المصابة (شكل ٤).

ومحاولة إثبات وتحديد نوع المادة الوراثية قام كلا من ألفرد هيرشى ومارتا شاس Alfred Hershey & Martha Chase بفهم طبيعة الاختراق للفاج للخلية البكتيرية وذلك عن طريق استخدام الفوسفور المشع ^{32}P والكبريت المشع ^{35}S كلا على حده فى تنمية خلايا البكتيريا *E. coli* ثم إصابتها بالفاج وملاحظة انتقال المادة المشعة سواء ^{32}P أو ^{35}S إلى أى جزء من الفاج (شكل 4). عندما تنمو *E. coli* فى وسط غذائى بالمادة المشعة ^{32}P أو ^{35}S فإنها تنمو مستخدمة هذه المادة المشعة فى بناء الخلية. فعندما تنمو فى وسط مشع به ^{32}P ، فإن الفوسفور المشع يدخل فى تركيب الـ DNA ولا يدخل فى تركيب البروتين وكذلك عند نموها فى وسط مشع به ^{35}S فإن الكبريت المشع يدخل فى تركيب البروتين المكون للرأس Ghost ولا يدخل فى تركيب الـ DNA. وعند إصابة النوعين من البكتريا بالفاج T_2 فإن الفاج الناتجة سوف تستخدم نفس المادة المشعة من الخلية البكتيرية. ثم يتم

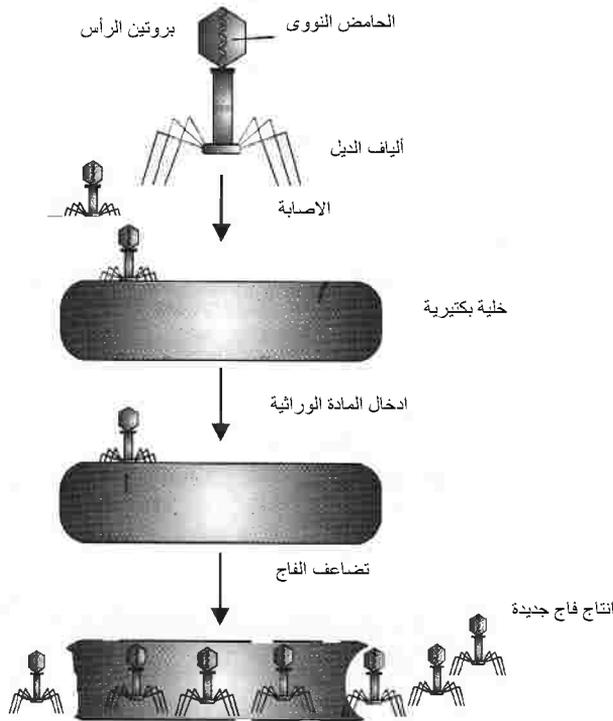


عزل الفاج من الخلايا البكتيرية والكشف عن المادة المشعة فى كلاً من الـ DNA وبروتين الرأس.

الفاج الحامل للكبريت المشع أو الفوسفور المشع يستخدم فى إصابة *E.*

coli غير المحتوية على الكبريت المشع أو الفوسفور المشع (unlabelled bacteria)

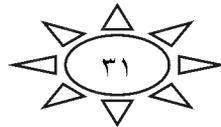
ثم يعاد فصل البكتريا والفاج باستخدام عملية الطرد المركزى.

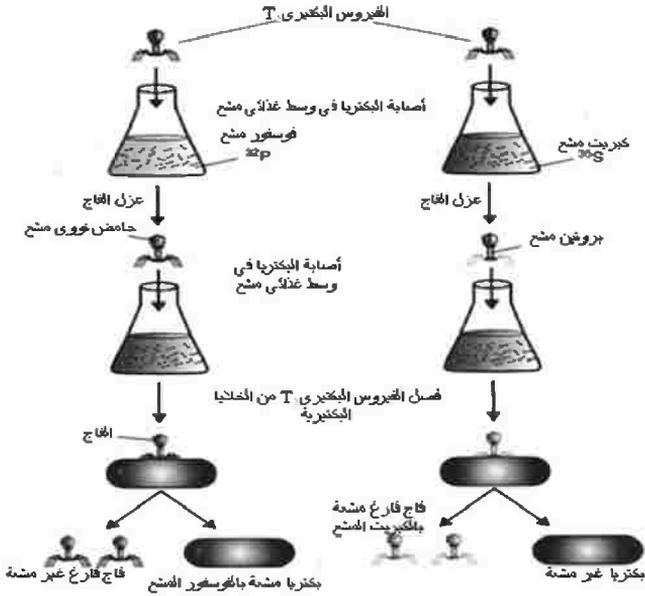


شكل (٤) دورة حياة الفاج T_2 ، حيث تبدأ الفيروسات البكتيرية فى الالتصاق بالخلية البكتيرية *E. coli* ثم تقرض بمادتها الوراثية بداخل الخلية البكتيرية التى تتضاعف لتنتج

عملية فصل الرأس الفارغة (Ghost) من الحامض النووي DNA تتم أيضا باستخدام عملية الطرد المركزي ، وقد وجد هيرشى وشاس أن حوالي 80% من الـ Ghosts المحتوية على الكبريت المشع يتم فصلها ، أى أن هناك فقد حوالي 20% من الـ Ghosts قد تكون داخل الخلية البكتيرية ولكن عند استخدام الفاج المحتوى على الـ DNA المشع بالفوسفور فإننا نحصل على حوالي 20% فقط من الفاج المشع خارج الخلايا البكتيرية ، أما الباقي فقد تم دخوله داخل الخلية البكتيرية وأصبحت الخلايا البكتيرية المحتوية على المادة النووية الفيروسية المشعة بالفوسفور جميعها مشعة وهذا دليل على إندماج الحامض النووي المشعة بـ ^{32}P أصبح مندمجا فى الحامض النووي البكتيرى (شكل ٥) وبهذه الطريقة أكد هيرشى وشاس أن برزتين الفاج لا يدخل الخلية البكتيرية وأن الحامض النووي هو الذى يدخل الخلية البكتيرية لإحداث الإصابة وسيطر على عملية نمو وتكاثر الخلية البكتيرية.

مما سبق ومن خلال التطور التاريخي لمحاولة الكشف عن الجزء المسئول عن إنتقال الصفات الوراثية ؛ تبين أن الحمض النووي DNA المكون لكرموسومات الخلية هو المسئول عن إنتقال الصفات الوراثية من جيل إلى آخر. وسوف نتطرق فى الجزء اللاحق إلى تركيب هذا الحمض النووي ، لتتعرف أكثر على دقة الخالق عز وجل ونحاول سبر غور سر أسرار الحياة على الجينات التى تتكون أساسا من تتابعات الحمض النووي.



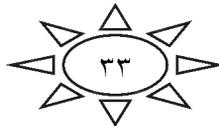


شكل (5) تجربة Hershey و Chase التي أكدت فيها أن الاحماض النووية هي المادة الوراثية فقد سمح للفاج أن يصيب مجموعتين من البكتريا التي تحتوى على الكبريت المشع (يدخل فى تركيب البروتين) أو الفوسفور المشع (يدخل فى تركيب الحامض النووى) وبعد فترة كافية للاصابة. تم فصل الفاج (التي أصبحت مشعة) ، وتم استخدامها فى اصابة مجموعة بكتريا أخرى غير مشعة. الفاج المشعة بالفوسفور تضاعفت وأنتجت فاج خالية تماما من المادة المشعة ولكن البكتريا التي لم تتحلل أصبحت مشعة بالفوسفور (الذى يدخل فى تركيب الـ DNA) وهذا دليل على انتقال الفوسفور المشع من الحامض النووى الفيروسي الى الحامض النووى البكتيرى. أما الفاج المشعة بالكبريت عندما أصابت مجموعة بكتريا أخرى غير مشعة تركت فاج مشعة بالكبريت خارج الخلية البكتيرية والبكتريا التي لم تتحلل كانت غير مشعة أى أن المادة الوراثية التي نقلت الى البكتريا من الفاج لم تكن مشعة بالكبريت (Reece, 2004).

تركيب الأحماض النووية: Structure of nucleic acids

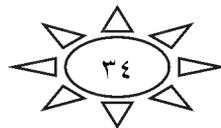
كل الكائنات تحتوى على المادة الوراثية التى تحمل الصفات الوراثية وهى فى الغالب الحمض النووى منزوع الأكسجين DNA وبعض الكائنات تحتوى على مادة نووية أخرى تسمى RNA الحمض النووى الريبوزى. ففى بعض الفيروسات يكون الحامض النووى RNA هو الذى يحمل الشفرات الوراثية. تتكون الأحماض النووية DNA و RNA من جزيئات كبيرة تسمى بالنيوكليتيده (nucleotide) ترتبط فى سلسلة طويلة . كل نيوكليتيده تتكون من ثلاث أجزاء: قاعدة نيتروجينية Nitrogenous base ، سكر خماسى Pentose sugar ومجموعة فوسفات Phosphate group (شكل ٦).

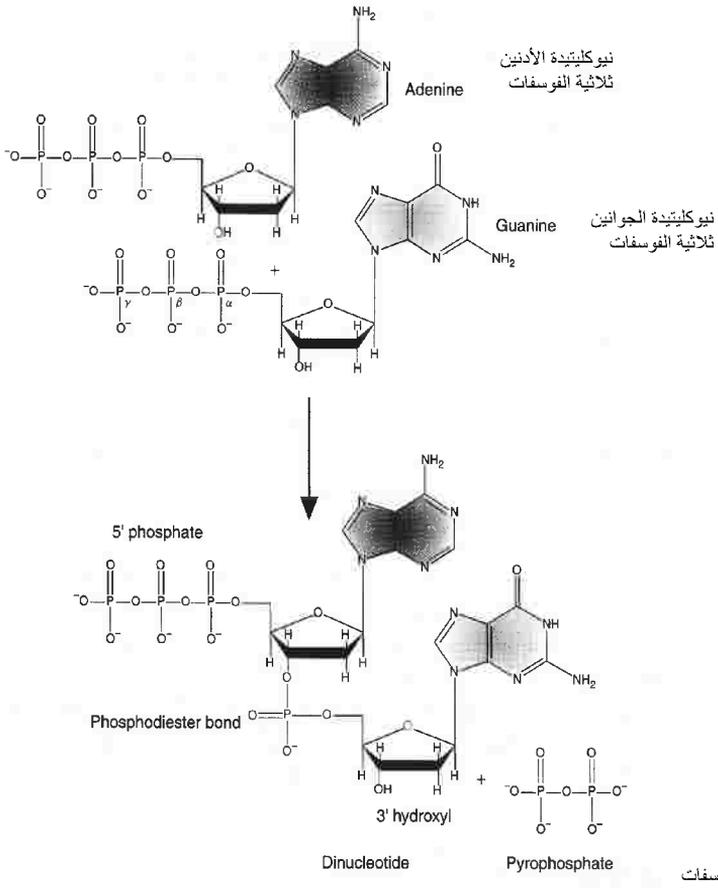
والاتحاد بين القاعدة النيتروجينية والسكر يسمى نيوكليوسيد nucleoside والثلاث وحدات معا يعطوا ما يسمى بالنيوكليتيده ، وجزء الـ DNA يحتوى على سكر خماسى يسمى ديوكسى ريبوز deoxyribose بينما جزء الـ RNA يحتوى على سكر خماسى يسمى ريبوز ribose (شكل ٦). القواعد النيتروجينية فى جزء الحامض النووى نوعان الأول: يحتوى على حلقة واحدة سداسية ويسمى بيريميدين Pyrimidine والثانى: يحتوى على حلقتين احدهما خماسية والأخرى سداسية وتسمى بيورين Purine. والبيورين فى جزء الـ DNA و RNA نوعين هما الأدينين



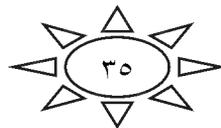
Adenine والجوانين Guanine أما البيريميدين فيختلف فى جزء RNA عن جزىء DNA. ففى الـ DNA تكون البيريميدين مكونة من السيتوزين Cytosine والثايمين Thymine وفى جزىء الـ RNA يتكون من يوراسيل Uracile والسيتوزين Cytosine (شكل ٦).

فى جزىء الـ DNA ذرة الكربون رقم 2 فى السكر الخماسى فى النيوكليتيده ينقصها مجموعة الهيدروكسيل. وتتصل النيوكليتيديات ببعضها فى جزء الـ DNA و RNA بواسطة روابط فى جزىء سكر الريبوز وبالذرة رقم 5 فى الجزىء الأخر. وعندما يتصل عدد 2 نيوكليتيده معا ينتج ما يسمى النيوكليتيده الثنائىة dinucleotide والأربع نيوكليتيديات تكون Tetranucleotide وهكذا حتى تعطى العديد من النيوكليتيديات فى سلسلة تسمى النيوكليتيديات العديدة Polynucleotide (شكل ٦).





شكل (٦) كيفية ارتباط النيوكليتيديات ببعضها في شريط الحماض النووي DNA. ترتبط ذرة الكربون رقم 5 لجزء السكر بثلاث مجموعات من الفوسفات α و β و γ في جزء الأدينوسين والجوانوسين. يتم فقد مجموعتين من الفوسفات β و γ وتتحد المجموعة α مع الذرة رقم 3 في السكر الموجود في النيوكليتيده الأخرى (الأدينوسين) ثم يتم فقد المجموعتين β و γ من الأدينوسين لتتحد مع نيوكليتيده أخرى، وهكذا حتى يتم تكوين سلسلة طويلة من الحماض النووي (Reece, 2004).



في عام 1950 قام شر جاف (Erwin Chargaff) بفصل الـ DNA وبتقدير كمية النيوكليوتيدات الأربعة المكونة لشريط الـ DNA ، استنتج أن شريط الـ DNA يحتوى على كميات غير متساوية من الأنواع المختلفة للنيوكليوتيدات ، وفى تجربة أخرى قام بفصل الـ DNA من الكائنات الأولية Prokaryotes والكائنات الراقية Eukaryotes بواسطة حمض قوى باستخدام الكروموتوجرافى الورقى ، وأكد أن نسبة القواعد النيتروجينية الأربعة فى شريط الـ DNA غير متساوية ولكنها ليست عشوائية فقد وجد أن نسبة كمية الأدينين (A) تساوى كمية الثايمين (T) وكذلك كمية الجوانين (G) تساوى كمية السيتوزين (C).

$$A = T$$

$$G = C$$

و

مجموع البيورين

= مجموع البيريميدين

$$G + C$$

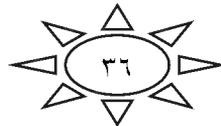
≠

$$A + T$$

وهذا يؤكد أن الأدينين (A) يتصل دائما بالثايمين وكذلك الجوانين (G) يتصل بالسيتوزين (C) ، واختلاف ترتيب النيوكليوتيدات فى شريط الـ DNA يؤدى إلى تباين الصفات.

فى الفترة من عام 1940 إلى 1953 اهتم الكثير من العلماء بمحاولة تحديد تركيب الـ DNA باستخدام حيود أشعة أكس (X-ray diffraction).

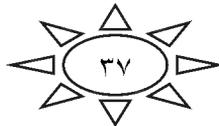
فعند تسليط أشعة X على الجزيئات والبلورات يحدث حيود للأشعة ويتم تحديد هذا الحيود على فيلم تصوير لأشعة X ويعطى إنطباع عن شكل وتركيب الجزيئات. ففى عام 1947 وباستخدام الحيود لأشعة X استطاع أسبرى

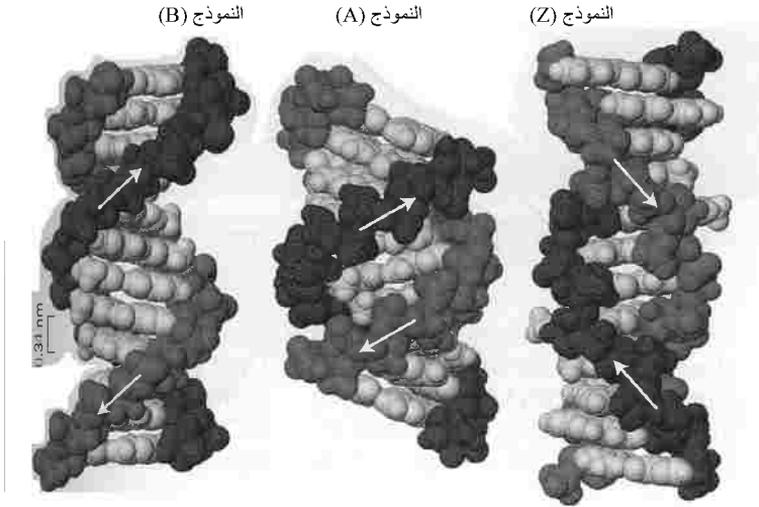


(William Astbury) قياس طول النيوكليتيده وقدورها بحوالي 0.34 نانومتر وقد أكدت ذلك الباحثة فرانكلان (Rosalind Franklin) عام 1950-1953. وقد اقترحت فرانكلان أن شريط الـ DNA يأخذ شكل اللولب helix ولكنها لم تقترح أى شكل تخطيطى له. وفى عام 1953 أكد كلا من كورى وبولنج (Corey & Pauling) أن شريط الـ DNA سلسلة لولبية ثلاثية وتوجد مجموعة الفوسفات قرب المركز والقواعد النيتروجينية فى خارج الأشرطة.

الحامض النووى DNA اللولبى المزدوج: The Double helix DNA

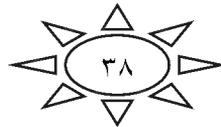
لاحظت فرانكلان أن شريط الـ DNA يعطى نوعين واضحين من حيود أشعة X تعتمد على كيفية تجهيز العينة وطريقة التخزين. الأول: يتكون من شريط خالى من الماء نسبيا وأطلقت عليه النموذج (A) والثانى: النوع (B) وهو يخضع للعديد من الظروف المتغيرة. ولاحظت أن التغير من النموذج A إلى النموذج B يكون عكسيا حيث أنه يمكن أن يتحول كلا النوعين للآخر وذلك على حسب كمية الماء (Frankin & Gosling , 1953). وأشارت إلى أن النموذج B هو الأهم بيولوجيا، والنماذج الأخرى المقترحة Z و A توجد تحت ظروف معينة (شكل 7) وتلعب دورا هاما فى بعض العمليات الحيوية فى الخلية. وقد تأكد وجود هذه النماذج عام 2001 حيث قام شوارتز بفصل وتعريف عائلة من البروتينات التى ترتبط خاصة بالنموذج (Z) (Schwartz *et al.*, 2001).





شكل (7): النماذج المختلفة لتركيب الحامض النووي DNA. وحدات السكر والفوسفات هي التركيب الأساسي الخارجى فى شريطى ال ، والقواعد النيتروجينية توجد فى الداخل. النموذج B هو الأكثر وجونا ، ويحتوى على 10.5 قاعدة نيتروجينية فى كل لفة كاملة ، والمسافة بين كل قاعدة نيتروجينية وأخرى على نفس الشريط حوالى 0.36 nm. النموذج A أكثر انضغاطا وبه 11 قاعدة نيتروجينية فى كل لفة كاملة. النموذج Z يختلف عن النموذج B فى أنه يأخذ إتجاه عكسى فى دورانه حول نفسه (يأخذ اتجاه اليسار).

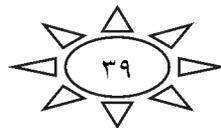
فى عام 1953 قام كلا من واطسن وكريك (James & Francis Crick) و Watson بوضع نموذج بنائى لتركيب ال DNA وأكدوا عدم صحة اقتراح تركيب

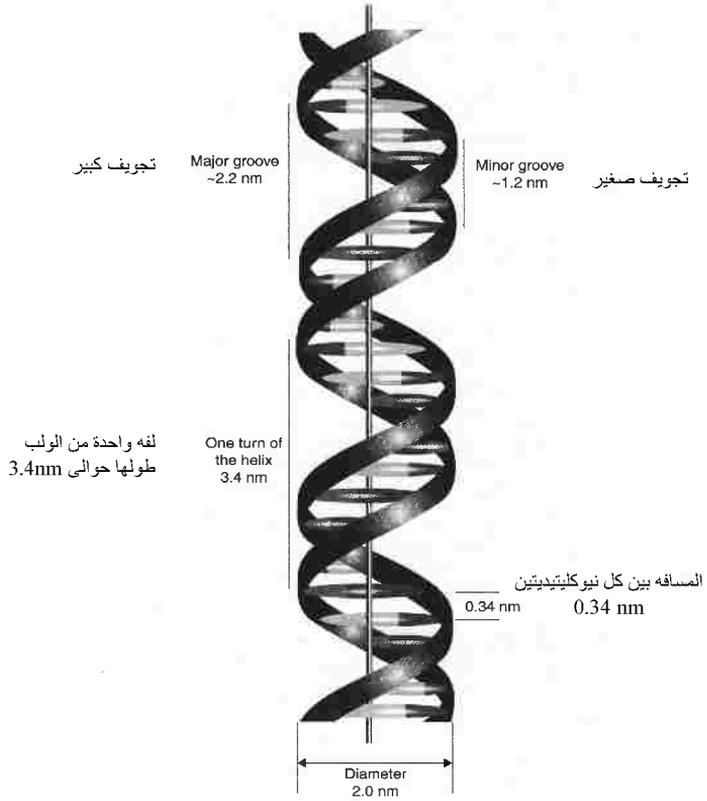


كورى وبولنج للحامض النووى DNA واستنادا على حيود أشعة X التى قامت بها فرانكلان اقترحا واطسن وكريك النموذج اللولبى الثنائى لشريط الـ DNA المزدوج (double helix) (شكل 8) بالمواصفات والمميزات الآتية (Watson & Crick, 1953):

١- سلسلتين طويلتين من النيوكليوتيدات (Polynucleotides) تلتفا حول محور مركزى لتعطيا لولبا مزدوجا ويكون دوران اللولب فى اليمين فى إتجاه عقارب الساعة.

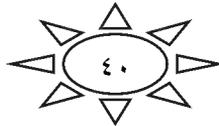
٢- السلسلتين غير متوازيتين وتسير كل واحدة فى إتجاه عكس الأخرى.





شكل (8): نموذج واتسون وكريك لتركييب الحامض النووي DNA (Reece,)

٣- القواعد النيتروجينية مسطحة التركيب والوضع ، وتلف حول المحور والمسافة بين كل قاعدة والأخرى على نفس الشريط تكون 0.34 نانومتر والقواعد النيتروجينية تتجه إلى الداخل لكل سلسلة من النيوكليوتيدات.

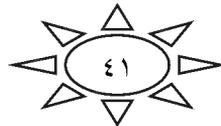


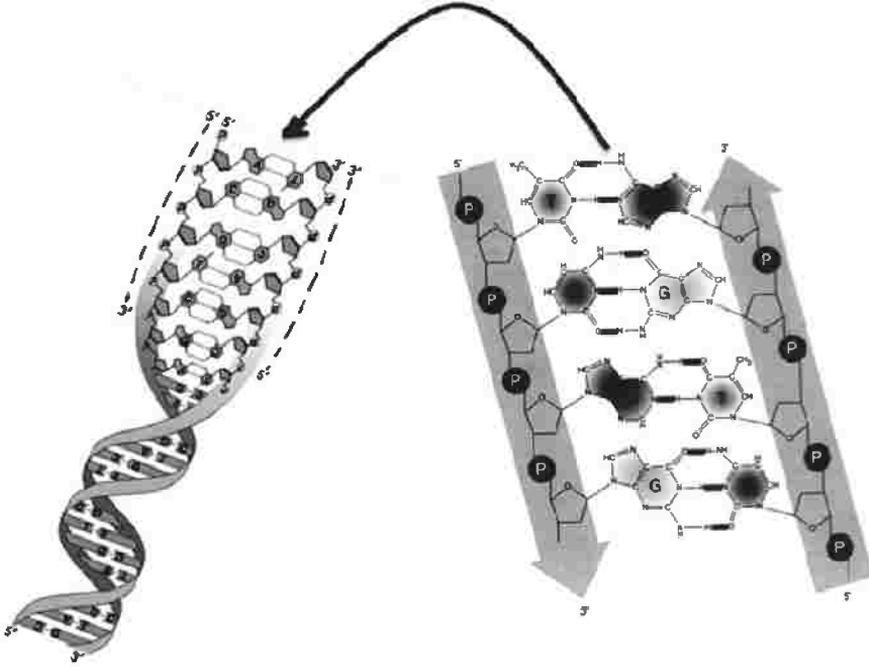
٤- ترتبط القواعد النيتروجينية ببعضها لتربط السلسلتين برؤابط هيدروجينية أى أن القواعد النيتروجينية تزوج مرتبطة ببعضها برؤابط هيدروجينية وترتبط قاعدة نيتروجينية من البيورين بقاعدة أخرى من البيريميدين (شكل 9).

٥- كل لفة كاملة للشريط اللولبي DNA تحتوى على 10.4 نيوكليوتيدات وطولها 0.34 نانومتر، ونستطيع أن نقول أن كل لفة بها 10.4 قاعدة نيتروجينية مزدوجة (bp).

٦- بطول الشريط DNA نجد تجويف كبير طوله حوالى 2.2 نانومتر وآخر صغير طوله حوالى 1.2 نانومتر.

٧- قطر شريط الـ DNA اللولبي المزدوج حوالى 2 نانومتر.





شكل (9): تركيب شريطى الحامض النووى DNA موضعا ازواج القواعد النيتروجينية. الأدين يرتبط مع الثايمين برابطة هيدروجينية ثنائية والجوانين مع السيتوين برابطة هيدروجينية ثلاثية.

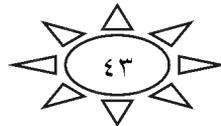
عدم توازى سلسلتى النيوكليوتيدات العديدة هو السبب فى إعطاء شريط الـ DNA الشكل الحلزنى المزدوج. وتأخذ السلسلتين اتجاهين مختلفين فى شريط الـ DNA إحداهما تأخذ الاتجاه $5'$ to $3'$ والأخرى الاتجاه العكسى $3'$ to $5'$ (شكل 9) وهذا ما يعرف بالخاصية القطبية المتعاكسة وتحديد الإتجاه $5'$ أو $3'$ يكون على أساس الذرتين رقم 3, 5 فى جزء السكر الخماسى الديوكسى ريبون وعندما يكتب الـ DNA فى الإتجاه $5'$ إلى $3'$ هذا يعنى أن سلسلة الـ DNA تبدأ

بالذرة رقم 5' التى بها مجموعة الفوسفات وتنتهى السلسلة بالسكر الخماسى فى ذرته رقم 3 مجموعة هيدروكسيل حرة (شكل 9).

وتتم القواعد النيتروجينية بين سلسلتى السكر الخماسى وتكون القواعد عمودية على محور الحلزون وترتبط القواعد النيتروجينية ببعضها بين كلاً من السلسلتين برابطة هيدروجينية. ولكن أثبت إنحراف أو حيوة الضوئى لأشعة X (شكل 10) أن القواعد النيتروجينية ليست كلها عمودية على المحور ولكن هناك جزء منها يلف بزوية على المحور تشبه اتصال نصل الورقة بالساق:

(Dicherson, 1983)

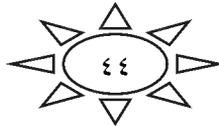
وإزدواج القواعد النيتروجينية G و A مع C و T فى DNA الحلزونى هام جداً لرسوخ وثبات التركيب النووى. والحجم الثابت عند إزدواج البيورين والبيريميدين (Purine-Pyrimidine) هو الذى يعطى السمك الثابت لشريط الـ DNA وعلى العكس فإن اتصال البيريميدين بالبيريميدين (pyrimidine-pyrimidine) صغير جداً واتصال البيورين بالبيورين (purine-purine) يكون حجم كبيراً جداً ويحدث إنبعاج فى سمك الـ DNA لذا فإن الاتصال يكون بين البيورين والبيريميدين (purine-pyrimidine) وهو محدد بين $G \equiv C$ ، $A = T$ حيث تكمل كل قاعدة نيتروجينية الأخرى فى شريط الحامض النووى (DNA). فعلى سبيل المثال عند حدوث الترتيب التالى على أحد شريطى الـ DNA $5'-ATGATCCGAT-3'$ فإننا نجد أن الجزء المكمل على الشريط الثانى يكون كالتالى: $3'-TACTAGGCTA-5'$ ليصبح الشريط المزدوج كالتالى:





ونموذج الـ DNA المفترض (B) يحتوى على نوعين من التجويفات تجويف صغير minor groove تجويف كبير Major groove وقد يرجع هذا إلى أن الرابطة السكرية بالقواعد النيتروجينية glycosidic bonds لا تقع فى مستوى واحد خلال الحلزون المزدوج. كل وحدتين متقابلتين (المكونة من وحدة السكر وفوسفات على كل سلسلة نيوكليوتيدية) لا تأخذ مستوى فراغى واحد لذلك ينشأ التجويفين خلال شريط الـ DNA غير متساويين فى الحجم. التجويف الكبير يكون واسعاً وضلح (0.22 nm) والتجويف الصغير يكون ضيق وعميق (0.12 nm). يتكون سطح التجويف الكبير أساساً من النيتروجين والأكسجين الموجودين عند منطقة اتصال القواعد النيتروجينية ببعضها. ويمتلىء التجويف الصغير بالأكسجين والنيتروجين الموجودين أساساً فى تركيب كلا القواعد النيتروجينية (فى تركيب الحلقات). لذلك الجهد الكيميائى للتجويف الكبير يكون أكثر نشاطاً لدخول التفاعلات من التجويف الصغير. وهذا يؤكد سهولة اتصال البروتين المصاحب لجزء الـ DNA بالتجويف الكبير مقارنة بالتجويف الصغير.

فى حالة شريط الـ DNA المزدوج فإن الـ adenine يكون رابطة هيدروجينية مزدوجة مع الثايمين (A=T) والسيتوزين يكون رابطة ثلاثية مع الجوانين (C≡G) (شكل 9). ولذلك تكون الرابطة بين الـ adenine والثايمين أقل ثباتاً عن الرابطة بين

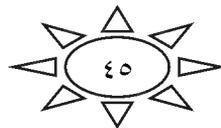


الجوانين والسيتوزين. ويوجد حوالي 2500 رابطة هيدروجينية فى كل كيلوقواعد نيتروجينية مزدوجة (1 kilo baspair).

والحامض النووى DNA ذو تركيب ثابت وفى الخلايا منزوعة الماء (الجافة) يستطيع أن يظل بحيويته لآلاف السنين ، ولذلك تم عزل عينات من DNA من الموميات المصرية التى يصل عمرها إلى 3000 عام ، ونجد أن شريط الـ DNA يظل مزدوجا ولكن يمكنه التجزئ إلى قطع صغيرة من النيوكليوتيدات المزدوجة 500 إلى 1000 والتكسر هذا يرجع إلى كسر الرابطة التساهمية المسماة بـ Phosphodiester bond التى تربط مجموعة الفوسفات بالسكريات الخماسية (الديوكسى ريبوز).

ومن ناحية أخرى يمكن أن يحدث الانشقاق بين شريطى الـ DNA عن طريق الحرارة ، فارتفاع درجة الحرارة يكسر الرابطة الهيدروجينية بين القواعد النيتروجينية ليحدث انفصال لشريطى الـ DNA عن بعضهما. وارتفاع درجة الحرارة لا يؤثر على الرابطة التساهمية فى كل سلسلة من النيوكليوتيدات (Lin & Chargaff, 1966). عملية فصل شريطى الـ DNA تكون مصحوبة بتغير فى الصفات الفيزيكية للـ DNA إحدى هذه الصفات هى مقدرة الـ DNA على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية (UV).

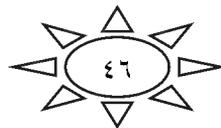
وعندما يتم تسخين الحامض النووى DNA يبدأ الحلزون فى الانشقاق إلى الشريطين المكونين له وتسمى هذه العملية بإنصهار DNA (melting) ،



والمناطق الغنية بالقواعد النيتروجينية الأدينين . الثايمين ($A = T$) التى ترتبط برابطتين هيدروجينيتين هى التى تنفصل مبكرا حيث أن الرابطة الهيدروجينية المزدوجة أقل ترابطا وثباتا من الرابطة الثلاثية التى بين الجوانين والسيتوزين ($G \equiv C$). وبزيادة درجة الحرارة يكتمل انفصال الحامض النووى المزدوج DNA إلى شريطين. درجة الحرارة التى عندها ينفصل فيها نصف الشريط المزدوج.

تركيب الحامض النووى فى الخلايا الحية: Structure of DNA in the living Cells

يتكون المحتوى الجينى فى الكائن الحى من أنواع مختلفة من الأحامض النووية تميز المجموعات الحية عن بعضها ، فمثلا الفيروسات تحتوى على حامض نووى مزدوج Double DNA أو حامض نووى مفرد Single DNA أو حامض نووى ريبوزى RNA على حسب نوع الفيروس. والكرىموسوم فى الكائنات الراقية يتكون من شريط مزدوج طويل من DNA ، أما الكائنات الأولية مثل البكتريا تحتوى على شريط حلقى من الـ DNA وهذا الشريط مزدوج أيضا (Circular Double DNA) والنهيات 3'، 5' لا توجد حرة بل تتصل ببعضها لتعطى الحامض النووى الحلقى ، وبالخلية البكتيرية أجزاء إضافية من DNA تسمى البلازميدات -extra Plasmids) chromosomal DNA molecules وهذه البلازميدات أيضا حلقية وتتكون إما من شريط فردى أو مزدوج من الـ DNA. وأكد الفحص بالميكروسكوب الإلكتروني أن شريط الـ DNA فى الأوليات يلف حول نفسه عدة مرات ليعطى تركيب غير منتظم. هذا ويعتبر التوصل إلى معرفة تركيب الحامض النووى أهم اكتشافات القرن العشرين والتى سترسم الكثير من ملامح حضارة القرن الحادى والعشرين (شوقى ، ١٩٩٥b).

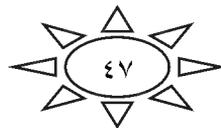


وفي الخلايا الراقية (خلايا الحيوان والنبات) نجد أن الحامض النووي يوجد مرتبطاً مع أنواع خاصة من البروتينات مثل البروتين الخاص بعملية تضاعف الـ DNA والبروتين الخاص بنسخ الـ RNA.

النيوكليسوم في الكائنات الراقية: Nucleosome in Eukaryotes

تحتوي خلايا الكائنات الراقية على كمية كبيرة من الحامض النووي DNA. فالكروموسومات المختلفة في المحتوى الجيني لخلايا الإنسان الجنسية تحتوي على كمية هائلة من النيوكليتيديات تقدر بـ 3.2×10^9 قاعدة نيتروجينية وكل كروموسوم في الخلية الجسدية ممثل مرتين لذا تحتوي الخلية الجسدية على 6.4×10^9 bp وكل نيوكليتيده كاملة يبلغ طولها 0.34 نانومتر. أما طول الحامض النووي بالكامل داخل خلايا الجسم البشري يبلغ حوالي 2.1 متر. والسؤال هنا كيف يوجد كل هذا الطول للحامض النووي داخل خلية يبلغ طولها حوالي 10-5 نانومتر؟ والإجابة تتركز في أن شريط الحامض النووي منضغط بصورة كبيرة. ويرتبط مع جزيئات من البروتين، حيث أن جزيء الـ DNA يلف حول البروتين ويكون ما يعرف بالنيوكليسوم (nucleosome).

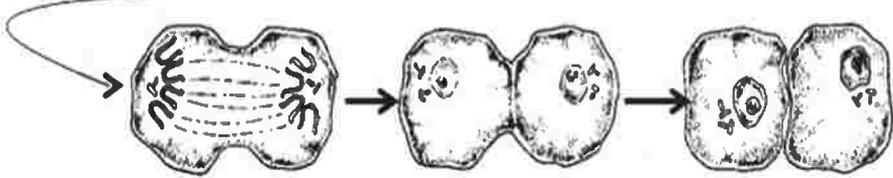
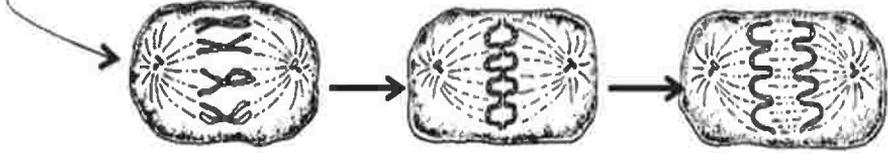
في مرحلة استعداد الخلية للانقسام (الطور البيئي في الانقسام الميتوزي) interphase تكون جزيئات الحامض النووي غير ملتفة حول البروتين وتكون ما يعرف بالشبكة الكروماتينية (شكل ١٠) عندما يبدأ الانقسام الميتوزي يحدث تميز للكروموسومات حيث تلتف جزيئات الـ DNA حول البروتين لتكون النيوكليسومات ومن ثم الكروموسومات. وهذا التكتيف والانضغاط للحامض النووي يكون عالى جداً وقد يصل إلى 10000 ضعف.



خلية في طور الإستعداد للإنقسام



شطر المادة النووية إلى نصفين



شطر المادة النووية إلى نصفين

مضاعفة كمية المادة النووية داخل كل خلية جديدة

خلايل تستعد للإنقسام مرة أخرى

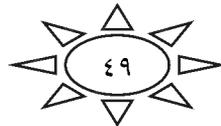
شكل (١٠): الإنقسام وتضاعف الخاليا.

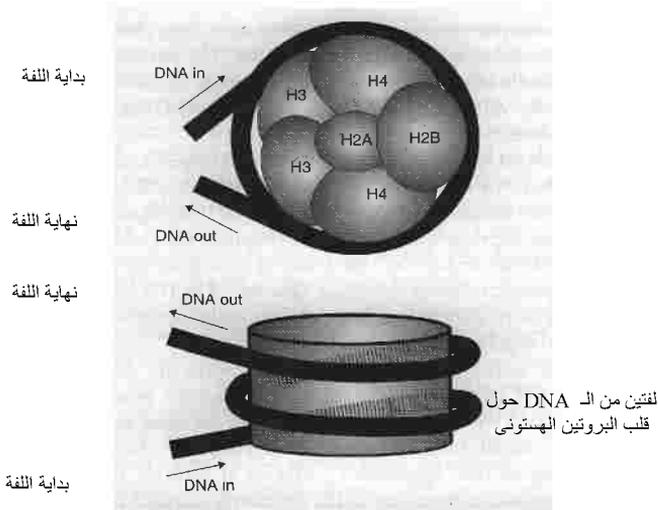
عند عزل الحامض النووي DNA من خلايا البكتريا والفيروسات لا نجد معه بروتين والعكس عند عزل الحامض النووي من الكائنات الراقية ، نحصل معه على البروتين. وهضم المادة الكروماتينية بواسطة إنزيمات النيوكليز (nucleases) مثل إنزيم ميكروكوكال نيوكليز (Micrococcal nuclease) ينتج قطعاً من الحامض النووي طولها حوالي 200 من النيوكليتيديات المزوجة أو قطع مختلفة الأطوال (Wingert & Von Hippel, 1968) عندما تكون عملية هضم المادة

الكروماتينية عشوائياً فإننا نحصل على أطوال مختلفة ومتباينة من الحامض النووي DNA ، وهذا يعنى أن شريط الـ DNA يحتوى على تكرارات كثيرة من القواعد النيتروجينية وهذه المناطق لا تتأثر بالإنزيمات الهاضمة ويهاجم شريط الـ DNA بواسطة إنزيمات الهضم بعيدا عن هذه المناطق.

ويتمسم البروتين الذى يرتبط بالحامض النووي DNA إلى نوعين الأول: ذو شحنة موجبة عالية قاعدى ويسمى بالهستون (histone) والثانى: ذو شحنة موجبة صغيرة ويسمى بالبروتين اللاهستونى (nonhistone protein).

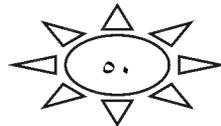
وترجع الشحنة الموجبة العالية في البروتين الهستونى إلى الأحماض الأمينية الليسين والأرجين اللذان يوجدان بوفرة فى هذا البروتين. وهذه الشحنة الموجبة تجعل البروتين الهستونى يرتبط ألكترىستاتيكيًا بمجموعة الفوسفات السالبة الشحنة الموجودة فى السلسلة الأساسية للحامض النووي DNA. ويوجد خمسة أنواع مختلفة من البروتين الهستونى DNA ، وهم: H1, H2A, H2B, H3, H4 وتتكون النيوكليوسومة الواحدة من زوج من كلا من البروتينات الهستونية الآتية H2A, H2B, H3, H4 ويسمى أيضا بالهستون الثمانى الذى يحاط بحوالى 150 bp (نيوكليتيده مزدوجة) حيث يلف شريط الـ DNA حوالى 1.7 لفة حول هذا البروتين الثمانى (شكل ١١).



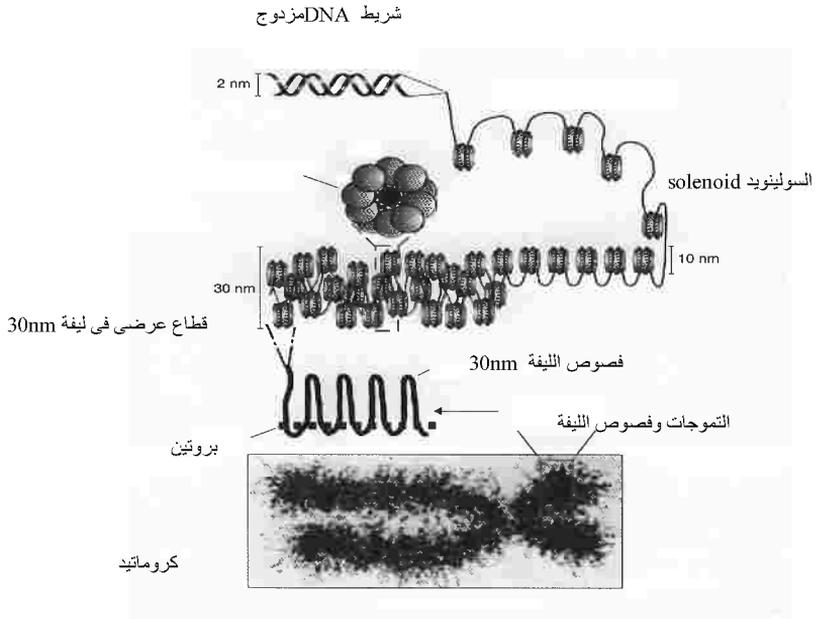


شكل (١١): تركيب النيوكليسومة. يلف الحامض النووي DNA بطول 150 نيوكليتيده حول قلب من البروتين يتكون من زوج من كلا من البروتينات الهستونية الآتية H2A, H2B, H3, H4. (Reece, 2004).

وقد استطاع ريشمون Richmond ورفاقه عام 1997 من تصوير النيوكليسومات باستخدام أشعة X وجد أن بعض الهستونات داخل النيوكليسومات لها سلاسل بروتينية تخرج من النيوكليسومات وتسمى بالذيل Tail وهذه السلاسل من الأحماض الأمينية لها دور كبير فى دمج عدد من النيوكليسومات مع بعضها فهي تصل النيوكليسومة بجارتها (nucleosome- nucleosome). يلف حوالي 150 bp (نيو كليتيده مزدوجة) حول القلب البروتيني و 50 bp (نيو كليتيده مزدوجة) تتجه لتصل النيوكليسومة المجاورة ، لذلك يمكن



القول بأن كل نيوكليوسومة يخصها حوالي 200 bp. أما الهستون H1 فلا يوجد في داخل النيوكليوسومة ولكن يتصل بالحامض النووي الذي يصل النيوكليوسومات ببعضها ، وقد يكون له دورا في لصق الحامض النووي DNA حول النيوكليوسومة (شكل ١٢).



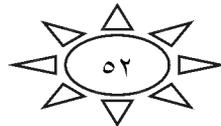
كروموسوم في مرحلة الطور الاستوائي متميز الى اثنين من الكروماتيدات

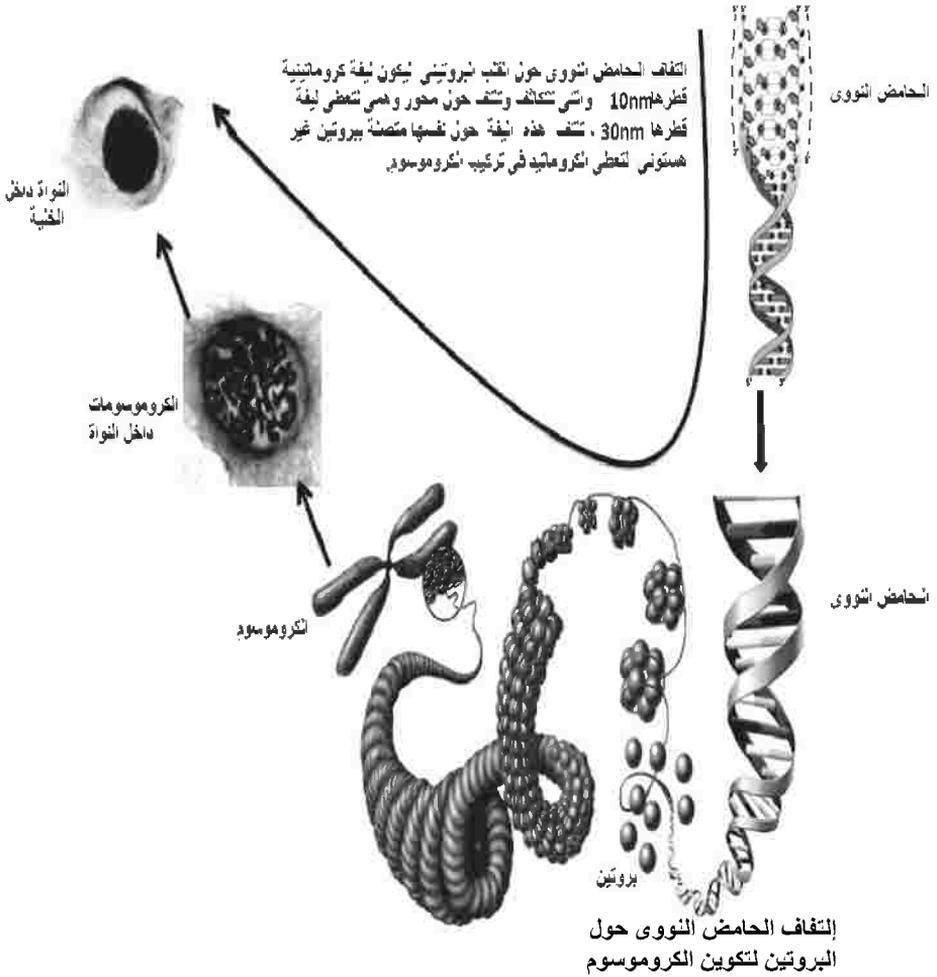
شكل (١٢): عملية التفاف الـ DNA حول القلب البروتيني ليكون ليفة كروماتينية قطرها 10nm والتي تتكاثف وتلتف حول محور وهمي لتعطي ليفة قطرها 30nm ، تلتف هذه الليفة حول نفسها متصلة ببروتين غير هستوني لتعطي الكروماتيد في تركيب الكروموسوم (Reece, 2004).

أول عملية لتتليص طول الحامض النووي هي تكوين النيوكليسومات حيث أنها تقلص حوالى الثلث من الطول الأساسى للحامض النووى. وقطر النيوكليسومة الواحدة حوالى 10 نانومتر ويلتف عدد من النيوكليسومات حول محور ثابت ليعطى ما يسمى بالسولينويد (solenoid) أو تسمى الليفة النيوكليسومية قطرها 30nm (شكل ١٢).

وترتيب النيوكليسومات فى السولينويد لا يكون عشوائيا بل تأخذ شكل زجـزج (zig-zig pattern) فى كل 10 nm من طول هذا الزجـزج نجد أربع نيوكليوسومات (Beard Schlick, 2001) وبهذه الطريقة يتقلص طول الحامض النووى مرة أخرى .

والألياف التى سمكها 30 nm تكون سلاسل وتتكاثف أكثر لتعطى الليفة الكروماتينية التى بدورها تتكاثف وتعطى سلاسل أسمك وفصوص لتكون الكروماتيد ومن ثم يظهر الكروموسوم كاملا مكونا من 2 كروماتيد فى مرحلة الطور الاستوائى من الانقسام الميتوزى. ونسبة الانضغاط التى تحدث للحامض النووى DNA حتى يتكون الكروموسوم قد تصل من 1 إلى 500 (الشكل ١٣).

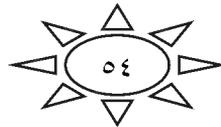




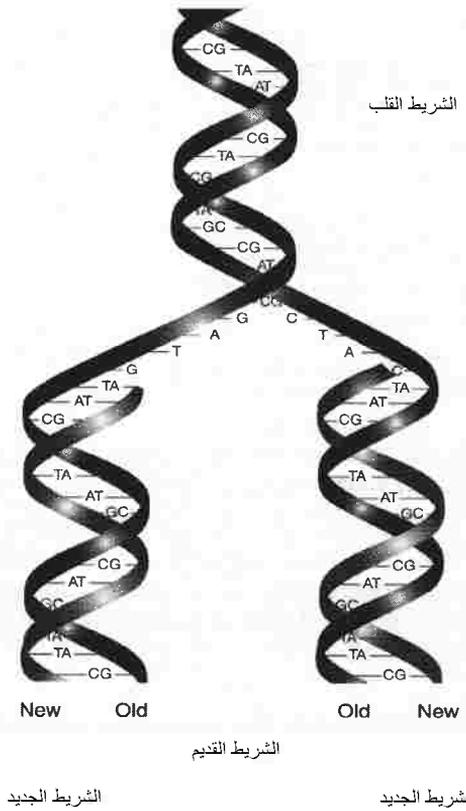
شكل (١٣): يوضح تعبئة البروتين مع الحامض النووي لتكوين الكروموسومات داخل النواة.

تضاعف الحامض النووي: Replication of DNA

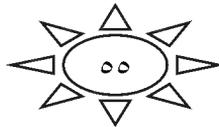
بعد أن وضعنا كلاً من واatson وكريك النموذج المعروف للحامض النووي، أقترحنا طريقة لتضاعف الحامض النووي، فعند تضاعف الحامض النووي ينشق الشريطين المكونان له ويعمل كل شريط كقالب ويقوم بنسخ نيوكليوتيدات مكملة له من القواعد النيتروجينية والسكريات والفوسفات الموجودة في السيتوبلازم داخل الخلية (Watson & Crick, 1953b). وهذه العملية من التضاعف تنتج شريطين مزدوجين من الـ DNA متشابهين تماماً (شكل ١٤) وكل شريط مزدوج يتكون من شريط أبوي قديم Parental وشريط جديد New. ولذلك تسمى عملية التضاعف هنا بالعملية شبه المحافظة Semi-Conservative replication وفي عام 1958 قام كلا من Meselson & Stahl بالتأكد من أن التضاعف للحامض النووي يكون بعملية شبه محافظة وذلك عندما نما بكتريا القولون *E. coli* في وسط غذائي محتوي على نيتروجين مشع ^{15}N وذلك عند وضع كلوريد الأمونيوم المحتوي على النيتروجين الثقيل $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ ولذلك سوف تستغل البكتريا النيتروجين المشع ^{15}N في إنتاج الحامض النووي DNA ليعطى الحامض النووي المشع (شكل ١٥) ثم بالسماح للبكتريا النمو في وسط غير مشع يحتوى على $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$ لمدة تسمح بالتضاعف مرة واحدة فقط فيعطى أشرطة للحامض النووي خليط أى بها شريط مشع والأخر غير مشع ولكن عند ترك البكتريا تنمو لفترة أخرى من التضاعف في الوسط غير المشع، وعند فصل الـ DNA بالطرد المركزي نحصل على منطقتين للفصل مختلفتين نتيجة لاختلاف الوزن الذري

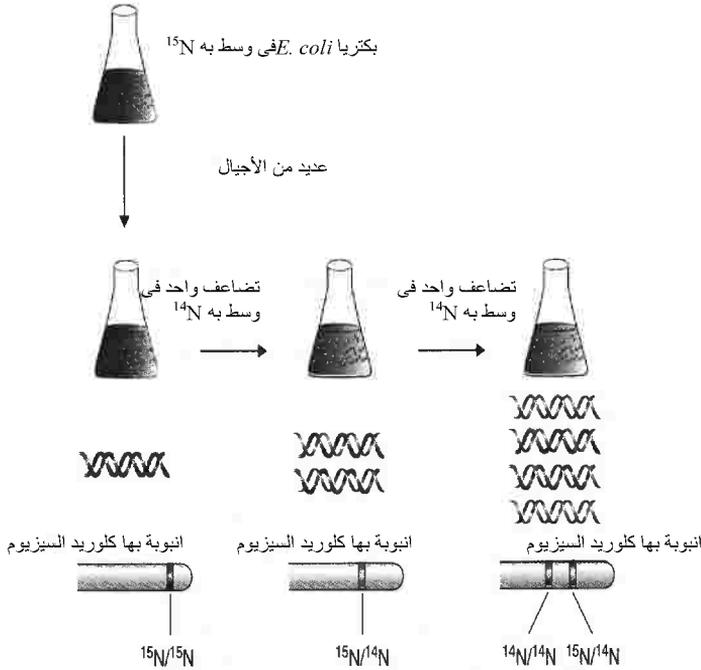


لعنصر النيتروجين المشع وغير المشع وذلك فى أنبوبة الطرد المركزى المحتوية على كلوريد السيزيوم (Caesium Chloride).



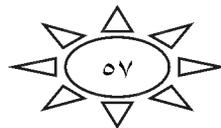
شكل (١٤): تضاعف شريط الـ DNA المزدوج كما اقترحه واتسون وكريك 1951، بالطريقة شبة المحافظة، حيث يعمل كل شريط من الـ DNA كقالب لإنشاء شريط مزدوج آخر الذى يتكون من شريط قديم، وآخر جديد (Reece, 2004).

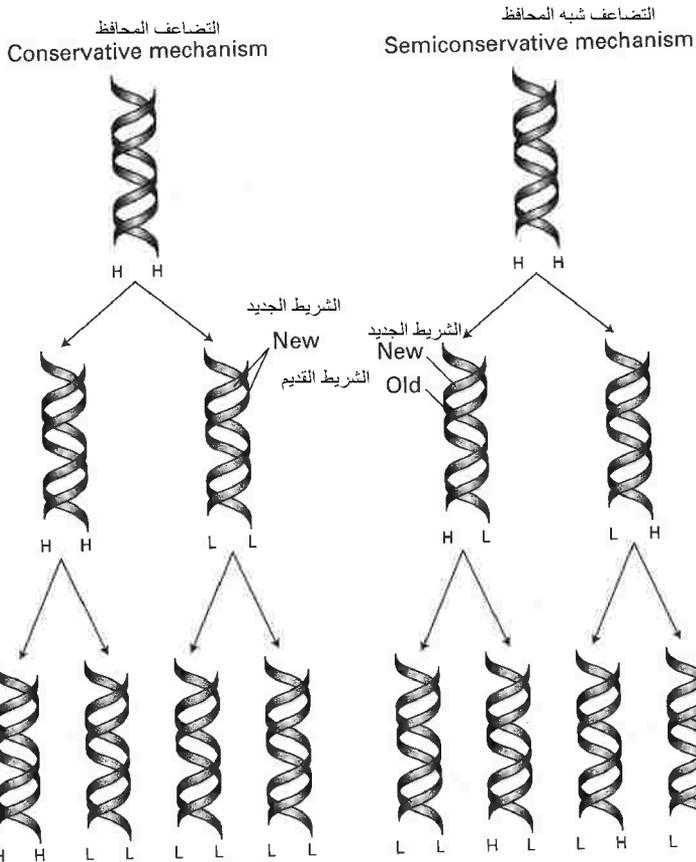




شكل (١٥): تجربة ميسيلسون وستال. نمت بكتريا *E. coli* لأجيال عديدة في وسط محتوي على النيتروجين المشع ^{15}N ، وتم فصل الـ DNA البكتيري باستخدام الطرد المركزي في أنابيب كلوريد السيزيوم ذات التدرج في الكثافة. حيث يأخذ الحامض النووي الـ DNA المحتوي على النيتروجين المشع ^{15}N مكان عميق في الأنبوبة مقارنة بالمحتوي على النيتروجين ^{14}N ، ويأخذ الحامض النووي الـ DNA المحتوي على الأثنان $(^{15}\text{N}, ^{14}\text{N})$ مكان متوسط بينهم (Reece, 2004).

الحامض النووي DNA المحتوى على النيتروجين المشع ^{15}N يسير مسافة أطول داخل أنبوبة الطرد المركزي (شكل ١٥). وبعد مرور فترة واحدة من التضاعف نجد أن منطقة الترسيب تقع بين المرحلة الأولى للحامض النووي المحتوى على ^{15}N فقط والمنطقة التي تحتوي على النيتروجين غير المشع وذلك يتضح أن انقسام الـ DNA يكون شبه محافظ (semiconservitives) وهذا يؤكد رأى واتسون وكريك في عملية تضاعف الحامض النووي وتم استبعاد الطريقة المحافظة للتضاعف (conservitives). وقد أكد تيلور Taylor وفريقه (1957) أن عملية تضاعف الـ DNA شبه المحافظة semiconservitives تحدث أيضا في الكائنات الراقية سواء الخلايا الحيوانية أو الخلايا النباتية (شكل ١٦).





شكل (١٦): مقارنة بين طريقتي التضاعف المحافظة وغير المحافظة للحامض النووي

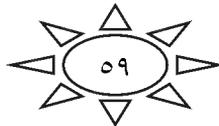
(Reece, 2004)DNA.

إنزيمات البلمرة: DNA Polymerases

تحتوى كلا من البكتريا وخلايا الكائنات الراقية على العديد من إنزيمات البوليميريز Polymerase enzymes ، حيث تم عزل ثلاثة أنواع من هذه الإنزيمات من بكتريا *E. coli* وهذه الإنزيمات تسمى بوليميريز I, II, III. الإنزيم الأول I Polymerase يلعب دورا مهما في عملية إصلاح الحامض النووى (DNA repair) أكثر من اشتراكه فى عملية تضاعف الـ DNA ، وكذلك الإنزيم الثانى polymerase II يساهم فى إصلاح الحامض النووى (DNA repair) ومن ناحية أخرى يلعب الإنزيم الثالث polymerase III دورا هام وأساسيا فى تضاعف الحامض النووى (Kornberg & Baker, 1992).

وعامة نستطيع أن نقول أن إنزيمات البوليميريز لها ثلاث أنشطة إنزيمية وهى:

- 1- بناء الشريط النووى DNA فى الاتجاه من 5' إلى 3'.
- 2- العديد من هذه الإنزيمات لها نشاط مثل إنزيمات النيوكليز الخارجية (الأكزونيوكليز exonuclease) ويكون فى الاتجاه 3' إلى 5' وهى إنزيمات قادرة على إزالة بعض النيوكليتيديات من النهاية 3' من السلسلة الجديدة للحامض النووى DNA ، وهى محاولة لتصحيح بعض النيوكليتيديات وإحلالها بأخرى صحيحة.
- 3- بعض هذه الإنزيمات (polymerase) لها نشاط مثل إنزيمات الأكزونيوكليز التى تعمل فى الاتجاه 5' إلى 3' وكذلك هذه الإنزيمات تستطيع إزالة جزء من النيوكليتيديات.



لا تستطيع إنزيمات البوليميريز polymerase بدء عملية تضاعف الـ DNA إلا تحت ظروف ومتطلبات معينة لا بد من توافرها حتى تستطيع هذه الإنزيمات البدء فى عملية تضاعف الـ DNA ، ومن هذه المتطلبات:

وجود الأشرطة الفردية للـ DNA حرة عند النهايات 3' علما بأن عملية تضاعف الـ DNA تتم فى الاتجاه 5' إلى 3' ، فى حين تضاف القواعد النيتروجينية والنيوكليوتيدات الجديدة إلى الشريط الفردى الأب من الاتجاه 3' إلى 5'. وهذا يعنى أن الشريط الجديد يأخذ الاتجاه 5' إلى 3' كما ذكرنا سابقا.

مراحل تضاعف الحامض النووى: Stages of DNA Replication

سوف نحاول بالتمصيل توضيح كيميائية تضاعف الحامض النووى داخل

خاويا الكائن الحى ، حيث تتم عملية تضاعف الـ DNA فى ثلاث مراحل هى:

أ- مرحلة البدء Initiation phase.

ب- مرحلة الاستطالة Elongation phase.

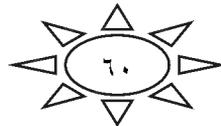
ج- مرحلة الانتهاء Termination phase.

أ- مرحلة البدء: Initiation phase

منطقة بدء عملية التضاعف لا تكون عشوائية بل أن هناك مناطق خاصة

يبدأ منها التضاعف ، وتسمى هذه النقاط بمنشأ التضاعف (origins of

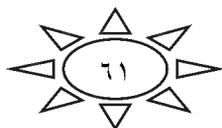
replication)، بمجرد بداية مرحلة البدء initiation يتكون منطقتان للتضاعف



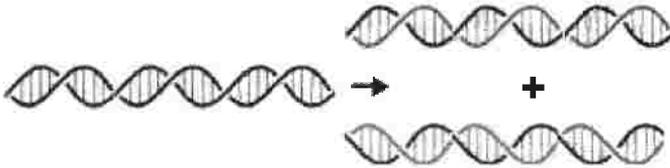
replication forks وتمتد فى الاتجاهين العكسين حتى يكتمل تضاعف شريطى ال DNA وبالتالي نحصل على شريطين مزدوجين من DNA (شكل ١٧). فى بكتريا *E. coli* يوجد منطقة واحدة يبدأ حدوث التضاعف منها وتسمى *Oric*. أما فى الخلايا الراقية للكائنات الحية يوجد العديد من مناطق بداية التضاعف وتختلف عن المنطقة الموجودة فى البكتيريا *Oric* ، ففى الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* نجد أن هناك حوالى 300 موضع لبداية التضاعف أما فى خلايا الإنسان يوجد أكثر من 20000 مكان مختلف لبداية التضاعف بطول المادة الوراثية.

فى بكتريا *E. coli* الموضع *Oric* يتكون من 245 قاعدة نيتروجينية وتكون موضع مهم لاتصال بعض البروتينات تسمى (Dna A, B, C) وهذه البروتينات تحت على عملية انصهار الحامض النووى (فتح شريطى ال DNA وانفصالهما).

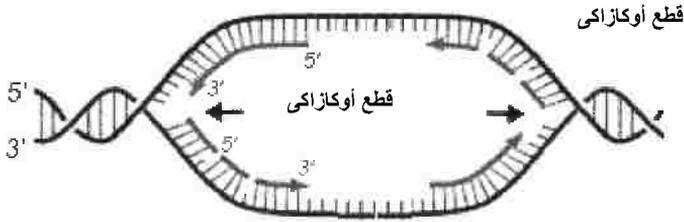
وبمجرد أن ينفتح DNA سواء فى الكائنات الراقية أو الدقيقة تبدأ إنزيمات البوليميريز Polymerases فى قراءة الشفرة الوراثية وبناء نيوكليوتيدات مكملة للشريط الأب. ولكن كما سبق الذكر بأن إنزيمات البوليميريز تبدأ عملها من الطرف الحر 3' وعند الطرف 5' يتم التنشيط والحصول على مجموعة الهيدروكسيل hydroxyl (OH) بواسطة بادىء الحامض النووى الريبوزى RNA primer وهو جزء مكون من 5 إلى 15 قاعدة نيتروجينية مكملة للـ DNA ، وتنشأ هذه القطعة من RNA من الإتجاه 5' فهى ليست مرتبطة بالاتجاه 3' ويتم ذلك



باستخدام إنزيمات البوليميريز RNA polymerases وتسمى برايميز (Primase) وبذلك تستمر عملية نسخ الـ DNA على الجانبين في الشريط المزدوج (شكل 1٧). وهناك مجموعة من الإنزيمات تسمى DNA helicases تساعد في عملية إتشقاق الحامض النووي الأب parental DNA. وأيضاً هناك بعض البروتينات تساعد شريطي الـ DNA أن يظلا منفصلين حتى تنتهي عملية التضاعف تسمى هذه البروتينات بالبروتينات الرابطة.



التضاعف شبه المحافظ للـ DNA



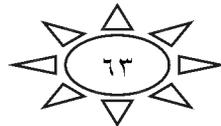
شكل (١٧): تضاعف الحامض النووي DNA.

ب- مرحلة الاستطالة: Elongation phase

فى هذه المرحلة يستطيع إنزيم البلمرة DNA polymerase نسخ شريطا من الـ DNA مكمل للشريط الأب Parental DNA بصورة مستمرة فى الاتجاه 3' إلى 5' بالنسبة للشريط الأب ، ولكن بالنسبة للشريط الذى يبدأ بـ 5' الذى يسمى بالشريط المتأخر أو (strand ، يتكون فص (قطعة) من DNA (Loop) حتى تعكس وضع الـ DNA ويتم النسخ فى الاتجاه المعهود من الطرف 3' إلى الطرف 5' فعندما يتكون جزء جديد من DNA حوالى 1000 إلى 2000 نيوكليتيده تستطيع إنزيمات البوليميريز استكمال قطعة أوكازكى ثم يتكون فص آخر (Loop) وتتكرر العملية السابقة حتى يتكون قطع من قطع أوكازكى. ويستخدم إنزيمات الإلتحام DNA Ligases يتم التحام قطع أوكازكى ببعضهم البعض حتى تعطى شريط مكمل من DNA ويسمى أيضا بشريط الـ DNA الجديد المتأخر (newly lagging strand).

ج- مرحلة الانتهاء: Termination

بالنسبة لبكتريا *E. coli* على سبيل المثال يبدأ التضاعف فى الاتجاهين 3' - 5' و 5' - 3' وفى نهاية عملية التضاعف نحصل على شريط حلقى جديد. وعملية انتهاء التضاعف للـ DNA فى الخلايا الراقية ليست عشوائية فيوجد منطقة يتوقف عندها التضاعف تحمل التتابع المنهى (terminator sequence) التى ترتبط ببروتين يسمى (Tus) هو المساعد فى عملية وقف تضاعف الحامض



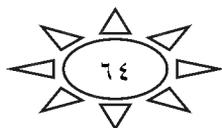
النوى DNA (Kamada *et al.*, 1996) وتفتقر عملية وقف التضاعف للـ DNA فى الخلايا الراقية للعديد من المعلومات المؤكدة والموثقة.

الجينات والمحتوى الجينى : Genes and Genome

المعلومات الوراثة الموجودة فى شريط الـ DNA تعتمد أساسا على ترتيب القواعد النيتروجينية والتي بالتالى تترجم إلى بروتينات وإنزيمات لبناء الخلية وإظهار الصفات الوراثة. ترتيب الأحماض النووية فى شريط الـ DNA يعطى ما يسمى بالجينات. والتجمع الكبير من الجينات يعطى ما يسمى بالمحتوى الجينى (Genome) ويعرف الجين بأنه وحدة بناء الصفة والمكون من الأحماض النووية على شريط الـ DNA ويمكن استخدام المصطلح (ORF) للتعبير عن الجين وهذا المصطلح اختصار لـ Open Reading Frame وهى منطقة الجين التى يتم نسخها وترجمتها إلى بروتين ، وذلك تحت سيطرة وتحكم بعض العناصر الناسخة تسمى المحث والموقف (Promotor & Terminator) ، ولذلك لا يعتبر الجين هو الجزء المترجم إلى بروتين فقط ولكن معه العناصر المتحكمة فى هذه العملية .

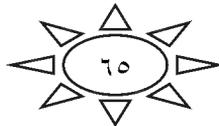
نسخ الحامض النووى RNA Transcription

حتى تتم عملية التعبير عن الصفة الوراثة أى تكوين بروتينات الصفة لابد من نقل الشفرات الوراثة من نواة الخلية إلى السيتوبلازم ، وتنتج محمولة على شريط من الحامض النووى الريبوزى RNA. المقصود بعملية النسخ هى الحصول على شريط الـ RNA من الشريط المزدوج DNA. حيث يتم إنتاج الحامض النووى الريبوزى RNA بنفس طريقة إنتاج الحامض النووى الريبوزى



منزوع الأكسجين DNA ولكن ترتبط مجموعة اليوارسيل بالأدينين بدلا من الثايمين وهناك اختلاف بين طريقة إنتاج الـ RNA فى الأوليات عن الكائنات الراقية. وعموما تبدأ عملية النسخ للـ RNA من ترتيب خاص من الحامض النووى DNA يسمى المحث (Promotor) ، مثل عملية تضاعف الـ DNA تمر عملية النسخ بثلاث خطوات هى البدء initiation ، والاستطالة elongation ، والانتهاء termination (شكل ١٨). وتبدأ عملية نسخ الـ RNA من الطرف 3' ، ومناطق البداية والنهاية محددة لكل جين. ولكن مناطق التحكم فى نسخ الـ RNA تختلف فى الكائنات الراقية عن الكائنات الأولية. يبدأ انزيم البلمرة (RNA polymerase) فى التعرف على المحث ثم يرتبط به وتبدأ عملية النسخ ، وهناك عوامل كثيرة تتحكم فى نشاط انزيم البلمرة (Pol II) فى الخلايا الراقية ، فهذا الانزيم يستطيع التعرف على الترتيب النيوكليتيدي المسمى بالمحث (promotor) ، وفى كلا من الكائنات الراقية والأوليات تكون عملية نسخ الحامض النووى الريبوزى منظمة وتقع تحت تأثير عوامل كثيرة. حيث يتم نسخ 3 أنواع من RNA وهذه الأنواع تشارك جميعها فى عملية نسخ الجينات وتكوين البروتين وهذه الأنواع هى:

أ- mRNA (الرسول messenger): وهو شريط فردي يحمل الشفرة الوراثية التى تتكون من سلسلة طويلة من النيوكليتيديات ويطلق على كل ثلاث نيوكليتيديات متجاورة على شريط mRNA اسم الكود (Codon) وكل كود خاص بالتعبير عن حامض أميني عند الترجمة إلى البروتين.

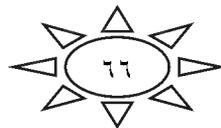


ب- tRNA (الناقل Transfer): هو مفتاح عملية ترجمة الشفرة الوراثية الموجودة على شريط mRNA إلى أحماض أمينية ، فكل ناقل يستطيع أن يتصل بحامض أميني وينقله إلى mRNA حيث تتم عملية الترجمة بمساعدة الريبوسومات التي تحتوى على النوع الثالث من الحامض النووى .RNA

ج- rRNA (الريبوسومى Ribosomal RNA): الذى يرتبط مع مجموعة من البروتينات ويكون الريبوسوم ، وهذا المركب المعقد يتحرك على mRNA وتتم عملية تكوين البروتين.

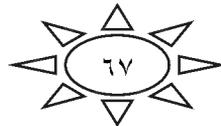
الحامض النووى الرسول : Messenger RNA (mRNA)

يعرف الكود الجينى (Codon) بأنه تتابع ثلاثى من القواعد النيتروجينية الموجودة على شريط mRNA والتي يمكن قراءتها بواسطة الريبوسومات لترجمتها إلى حامض أمينى. حيث أن لكل حامض أمينى كود أو أكثر ، عند قراءة هذا الكود على mRNA بواسطة الريبوسوم يتم استدعاء الناقل (tRNA) الخاص بهذا الكود الذى يحمل الحامض الأمينى المعبر عنه بهذا الكود. وترتيب القواعد النيتروجينية A,U,G,C على شريط mRNA يعطى تباينا داخل الشفرة الثلاثية ويعطى بالتالى ترجمة مختلفة للحامض الأمينى. ويوجد داخل الخلية 20 حامض أمينى ، لكل حامض أمينى شفرة معينة حتى يتم اتصاله فى سلاسل البروتين ولكن لا يوجد أكثر من الأربع قواعد النيتروجينية كما سبق ، وهى المسئولة عن ترجمة البروتينات وعن الأحماض الأمينية العشرين ، ولذا فإن العملية الرياضية لترتيب هذه القواعد



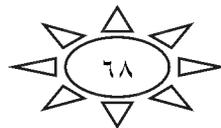
النيتروجينية بالتبادل والتوافق لكل ثلاث قواعد هي الكافية للتعبير عن العشرين حامض أميني. حيث تعطى هذه العملية إمكانية تكون 64 كود مختلف ، وقد وجد أن من هذه الكودات 61 كود خاص بالأحماض الأمينية فى سلسلة الببتيدات وثلاث كودات يطلق عليهم كود التوقف (stop codes) حيث أن وجود الكود المنهى الذى ينهى استطالة السلسلة الببتيدية.

ويمكن أن يكون للحامض الأميني أكثر من شفرة على سبيل المثال الشفرتين UCU, UCC خاصين بالحامض الأميني فينيل أنالين (Phe) phenylalanine ، كلا من التربتوفان (Try) والميثيونين (Met) لكل منهما كود واحد فقط يعبر عنهما. ومن جهة أخرى فإن لكلا من الأحماض الأمينية الليوسين السيرين والأرجنين عدد 6 كود للتعبير عنهم. وتسمى الشفرات العديدة للحامض الأميني الواحد بالمتشابهات (synonymous) والكود نفسه ضمن الشفرات المعبرة عن حامض أميني واحد (degenerate). وعملية بناء البروتين فى كلا من الأوليات والخلايا الراقية تبدأ بالحامض الأميني الميثيونين (Met) والشفرة المسئولة عنه هي AUG ، وفى قليل من البكتريا الكود الأول فى سلسلة mRNA يكون GUG وأحيانا تكون الشفرة CUG هي الكود الأول فى mRNA فى الخلايا الراقية ويكون هو المعبر عن الحامض الأميني الميثيونين (Met). والشفرات الثلاثة UGA, UAA, UAG ليست خاصة بأى حامض أميني ولذا تسمى بالشفرات المنهية التى تنهى عملية الترجمة إلى الأحماض الأمينية ، والشفرات التى يتم



ترجمتها والمحصورة بين الكود البادئ (start codon)، والكود الناهي الموقوف (stop codon) تسمى المنطقة المقروءة (reading frame) (شكل ١٨).

وأثناء عملية ترجمة الحامض النووي mRNA إلى سلاسل ببتيدية لا يوجد فصالات أو توقف في داخل الجزء المحصور بين الكود المنهى أو الموقوف (stop codon) والكود البدء (start codon) بمعنى أن عملية الترجمة تعطى دائما نفس السلسلة الببتيدية عن كل مرة من ترجمتها، وكذلك لا يحدث إنزاحة في الشفرات الثلاثية عند الترجمة. فنظريا عند حدوث إنزاحة لإحدى القواعد النيروجينية في المنطقة المقروءة Reading Frame ينشأ بروتين مختلف تماما وذلك لحدوث تغير في ترتيب الشفرات الثلاثية. وهناك طريقة أخرى لتغيير ترجمة نفس المنطقة المقروءة (Reading Frame) عن طريق حدوث إنزاحة للشفرات الثلاثية أيضا عن طريقة ترجمة إحدى الشفرات الرباعية لكي تعطى حامض أميني واحد ثم يعود الريبوسوم بعد ذلك لترجمة الشفرات ثلاثيا وهذا يحدث تغيرا في عملية الترجمة ونادرا ما يحدث ذلك. ومسئولية كل كود عن ترجمة حامض أميني محدد عملية ثابتة تقريبا ولا تختلف من الكائنات الراقية إلى الكائنات الأولية ولكن هناك قلة لبعض الشفرات (الكود) تعطى ترجمة مختلفة باختلاف وجودها في الكائن فمثلا الكود الثلاثي CUG يترجم عامة في معظم الكائنات إلى الحامض الأميني الليوسين (Leu) ولكن يترجم إلى الثيرينين (Thr) بداخل الميتوكوندريا في الخميرة.

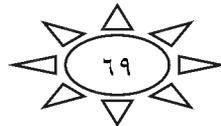


الشفرة الوراثية:

الشفرة الوراثية أو الكود تعنى التتابع الخاص من القواعد النيتروجينية الأربعة التى تحدد بالفعل كل حامض أمينى يتكون فى بروتين الصفة الوراثية. وقد بينت تتابعات الرسائل الاصطناعى الطريق لتحديد القاموس الكامل للشفرة الوراثية. وهذا الرسائل عبارة جزء صناعى من الـ RNA كل قواعد من صنف واحد فقط من القواعد النيتروجينية.

ويوضع هذا الجزء فى محلول مجهز بلرئوسومات والأحماض الأمينية والمواد الكيماوية وغيرها من المكونات الخلوية اللازمة لتكوين البروتين ، فتم الحصول على سلسلة بروتينية كانت كل أحماضها الأمينية من صنف واحد (كيفلس ، 1997).

فالتركيبة الأولى للجينوم البشرى عبارة عن كتالوج متتابع يضم حوالى ٣ مليارات (حرف) تؤلف عند تجميعها مع القناع "الجينات" الوراثى البشرى. وإذا تخيلنا جزء الـ DNA مثل سلم ملتوفان درجات السلم تتألف من جزئين متربطين يسميان "قاعدتين". وتوجد أربع قواعد نرمر إليها بالأحرف A.C.G.T التى تمثل نوعا من الأبجدية رباعية الأحرف هى لغة كتابة الحياة فى كل صورها. إن القائمة الكاملة لهذه القواعد ، أو الجينوم ، هى جماع كل المعلومات التى تنتقل من جيل إلى جيل ، لأى من الكائنات الحية ، إلى ذريتها. وتحتوى على كل المعلومات اللازمة لأداء كيميائ الكائن العضوى الحى. وتسمى عملية إنجاز هذه الشفرة باسم تحديد تسلسل الجينوم (تريفيل ، ٢٠١٠).



كما أشرنا في الجزء السابق حيث دقة التركيب الـ DNA والذى ينبىء بخطورة التلاعب فى أى مكون من مكونات الجين فى الحمض النووى. ولكى تظهر الصفة يتم ترجمة شفرات الـ DNA إلى بروتينات الصفة المميزة لكل فرد. لكن الخطورة هنا تكمن فى التلاعب فى جينات الفرد بشكل خاص ، وما يترتب عليه من مشكلات خطيرة وقضايا أخلاقية سيتم مناقشتها فى فصل لاحق.

تكوين البروتين (الترجمة) : Translation

نسخ البروتين عملية تعنى بها ترجمة الشفر الوراثية إلى سلاسل من الأحماض الأمينية ، وتقرأ ترتيب القواعد النيترجينية على شريط mRNA بواسطة الريبوسوم وتترجم إلى الأحماض الأمينية. حيث تترجم كل ثلاث قواعد إلى حامض أمينى واحد ، وتبدأ عملية الترجمة بالكود AUG وتنتهى بإحدى هذه الشفرات UAG أو UGA أو UAA ، وتتم عملية الترجمة باتباع الخطوات الآتية:

- تبدأ عملية ترابط وحدتى الريبوسوم لتكوين الريبوسوم الكامل ويتم ذلك

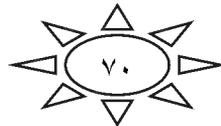
بجوار الحامض النووى mRNA بجوار القاعدة AUG.

- قبل أن تتصل الوحدتان الكبيرة والصغيرة للريبوسوم تبدأ عملية تنشيط كل

وحدة بمفردها بواسطة عوامل البدء (initiation factors).

- فى نفس الوقت يبدأ اتحاد mRNA بواسطة بعض العوامل المنشطة

ليكون قبعة (cap) فى بداية شريط mRNA.



- يتم استهلاك جزيئات الطاقة ATP بواسطة أحد العوامل المنشطة (eIF4A) حتى يظل الحامض النووي mRNA على هيئة شريط ولا يتموج.
- يتحرك الحامض النووي الناقل tRNA^{iMet} على الحامض النووي الرسول mRNA حتى يتعرف على الكود الخاص بالمائثونين AUG .
- تبدأ الوحدة الكبيرة فى الاتحاد وتثبيت نفسها على الوحدة الصغيرة بمساعدة بعض العوامل المنشطة ، ويتم استهلاك الـ ATP والحصول على طاقة كافية لاتحاد الوحدة الصغرى 40S بالوحدة الكبرى (60S).
- يوجد الكود AUG فى ترتيب خاص يسهل عملية التعرف على الكود AUG بواسطة mRNA^{iMet} ويسمى هذا التتابع ---ACCAUGG---5' 3' من النيوكليوتيدات بتتابع كوزك نسبة إلى مكتشفة Marilyn Kozak
- والتفاعل الخاص بإضافة الوحدة 40S إلى الوحدة 60S يكون تفاعلا عكسيا ولا تنفصل الودعتان إلا بعد ترجمة الشريط كله (mRNA).
- الناقل tRNA^{iMet} يستقر فى المكان P فى داخل الريبوسوم ، ثم تتابع عملية استطالة السلسلة الببتيدية بدخول ناقل أخر فى المكان A لكن على حساب الكود التالى للكود AUG.

