تركيب ووظيفة الحامض النووى

obeikandl.com

obeikandl.com

مقدمة فى نشأة وتطور البيولوجيا:

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

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 بيفون 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 (البقصمى ، ١٩٩٣).

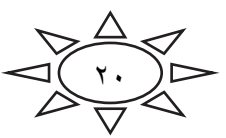
وفى القرن التاسع عشر حدثت تطورات فى البيولوجيا إعتمدت على ما توصل إليه كل من لامارك ، داروين ، مندل وآخرون... فهؤلاء الذين شاركوا فى بدايات علم البيولوجيا فى ذلك الوقت من خلال نظرياتهم عن التطور والوراثة وغيرها (جروس ، ١٩٨٩).

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 فأثارت ردود أفعال عنيفة بين رجال الدين وبعض الفلاسفة وبعض العلماء فهزت الوجود الإنسانى نفسه (البقصمى ، ١٩٩٣). هذا ومن خلال تجارب مندل (مؤسس علم الوراثة)

تم التعرف على العناصر المسئولة عن الصفات الوراثية ، وهى ما أطلق عليها فيما بعد "**يوهانسن**" 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 بدا 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 تجعلنا نقول إننا فى العصر الحقيقى **لتطور البيولوجيا** : "فإذا 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 والإلكترونات 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 نعايشها اليوم فى ضوء اكتشافاتنا العظيمة لأسرار الخلية الحية.



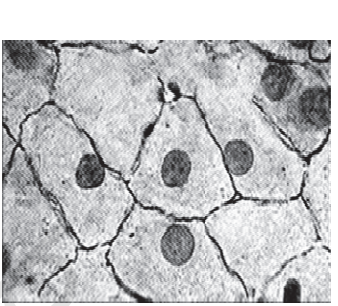
وللبيولوجيا دور مهم فى الحياة الاجتماعية نظرا لاسهاماتها فى مجالات الحياة المتعددة كالطب والرعاية الصحية ، الزراعة ، والصناعة ، والإنتاج وغيرها كما تتشابك اهتماماتها مع الكثير من قضايا المجتمع ومشكلاتها كمشاكل الغذاء والطاقة والتلوث والمشكلة السكانية... وغيرها من القضايا الاجتماعية العديدة المثيرة للجدل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

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

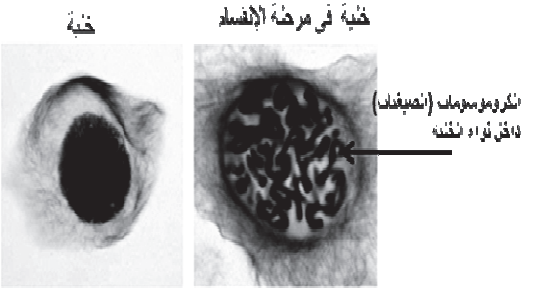
فالكائن الحى يمتلك المعلومات والصفات اللازمة لبنائه والمحافظة على بقاءه ، وتنتقل هذه الصفات من جيل إلى أخر عبر جزيئات توجد فى نواة الخلية وتكون مسئولة عن التحكم فى إدارة الأنشطة المختلفة للكائن الحى ونموه وتمايزه ، وتكون فى نفس الوقت قادرة على التضاعف بصفة مستمرة مادام هناك انقسام أو نمو. وقد استطاع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

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

والعوامل الوراثية المسئولة 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. أى 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 هى المسئولة عن انتقال الصفات الوراثية من جيل إلى آخر. وفي أواخر القرن التاسع عشر توصل العلماء إلى أن الكروموسومات الموجودة في أنوية الخلايا والمسؤلة 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.



شكل (1) خلية حيوانية تتضح بها النواة التي تحمل الأحماض النووية



نسيج لخلايا حيوانية يتضح به الأنوية داخل كل خلية

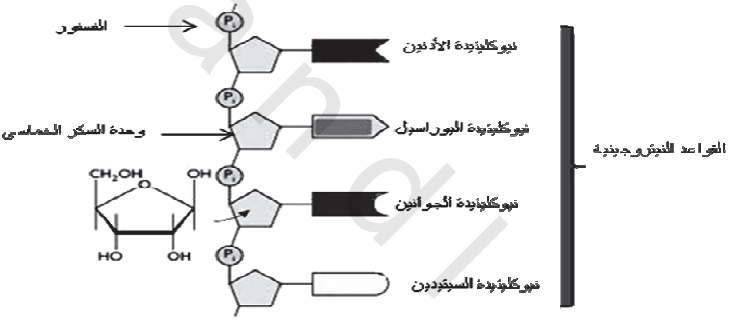
تاريخ الكشف عن المادة الوراثية:

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

لاشك أن عملية تشابه الأبناء مع الأباء 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 الأباء 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 عـام 1926 **قـام العـالم الكـيمـيـائى "ميشـر** Miescher" بعـزل الحـمـض النـووى Deoxyribo Nucleic Acid (DNA) ، فـقـد فـصـل النـواة أولا مـن الخـلايـا وأسماهـا بالمـادة النوويـة (nuclein) ، ثـم فصـل المـادة الحـامضـيـة بهـا. ولاحـظ "**ميشـر**" أن النواة تحتوى على كمية كبيرة من الفوسفور ولا يوجـد بهـا كبريـت وهـذا فـارق بينهـا وبـين تركيـب البـروتين. **وقـد اقترحـا لـيفين وسـيمس** (Levene & Simms 1926) أن المادة النووية تتكون مـن أربـع أنـواع مـن النيوكليتيـدات tetra-nucleotide (**شكل ٢**) وهذه النيوكليتيدات تتكرر عدة مرات لتكوين حـامض نووى طويل .



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

ولقلة التغير الكيميائى في الـ DNA **حيث أن** التغير يتم فقط فى ترتيب الأربع نيوكليتيدات فإن هنـاك 20 حـامض أمينى يمكنهـا الترتيب بطرق مختلفة لإيجاد بروتين مختلف ، ولذا كان الظن أن البروتين هو حامل الصفات الوراثية.

obeikandi.com

وفي عـام 1928 **اسـتخدم جرفـث** Frederick Griffith أنـواع عديـدة مـن البكتيريـا المسببه للإلتهـاب الرئـوى للفئـران *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 المرضة وغير المرضة 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 ، وبتحليل دم الفئران الميتة تم عزل أعداد كبيرة من البكتريا الملساء (Smooth).

وأكد جرفث أن البكتريا المعاملة حراريا هى المسئولة عن تحويل البكتريا الخشنة Avirulent إلى بكتريا ملساء Virulent وأسمى هذه الظاهرة بالتحول الانتقإلى (Transformation). والسؤال هنا ما المسؤل عن تحول البكتريا غير الميتة إلى بكتريا ميتة؟ وقد أقترح أن عملية التحول الانتقإلى 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 يؤدى الى قتلها ، وحقن الفئران بواسطة نفس البكتريا التى 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 النووى المستخلص من السلالة الملساء الحية تحولت الى النوع الاملس وأصبحت ممرضة للفئران .

obeikandi.com

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

obeikandl.com

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 مزرعة البكتريا الملساء استطاع الحصول على 10- 25 mg (مللى جرام) من العامل النشط الحامض النووى ولإزالة أى مواد أخرى من الحامض النووى DNA الذى تم فصله من البكتريا الملساء تم معاملة المستخلص بواسطة إنزيمات تحلل البروتين مثل التربسين Trypsin والكيموتربسين Chemotrypsin وبعد ذلك تم هضم الحامض النووى RNA بواسطة مجموعة من الإنزيمات تسمى ريبونيوكليز (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 T_2 bacteriophage التى تصيب بكتريا القولون *Escherichia coli* وهذه الفيروسات تسمى اللاقمات البكتيرية

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

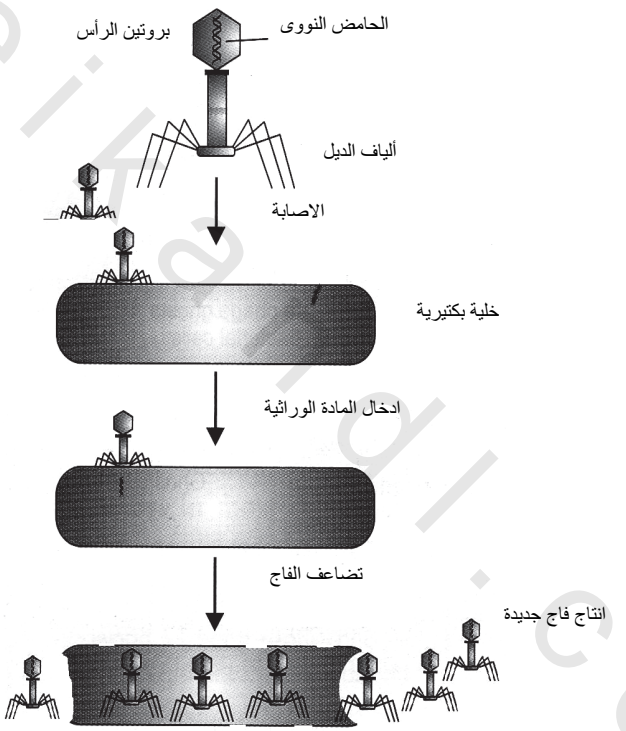
وأعتقد في ذلك الوقت أن الفاج (phage) تدخل بالكامل إلى داخل الخلية البكتيرية ثم تتضاعف فى العدد ولكن ثبت أن الفاج تلتصق بالجدار الخارجى ثم ترسل المادة الوراثية إلى داخل الخلية والمادة الوراثية هى المسئولة عن مضاعفة أعداد الفاج phage داخل الخلية المصابة (**شكل ٤**).

ولمحاولة إثبات وتحديد نوع المادة الوراثية قام كلا من ألفردهيرشى 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

obeikandl.com

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

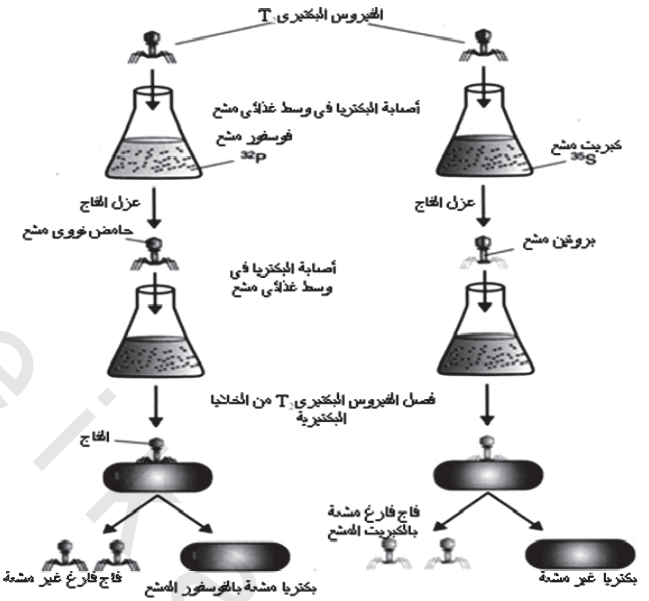
الفاج الحامل للكبريت المشع أو الفوسفور المشع يستخدم فى إصابة *E. coli* غير المحتوية على الكبريت المشع أو الفوسفور المشع (unlabelled bacteria) ثم يعاد فصل البكتريا والفاج باستخدام عملية الطرد المركزى.



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

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

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



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

تركيب الأحماض النووية: Structure of nucleic acids

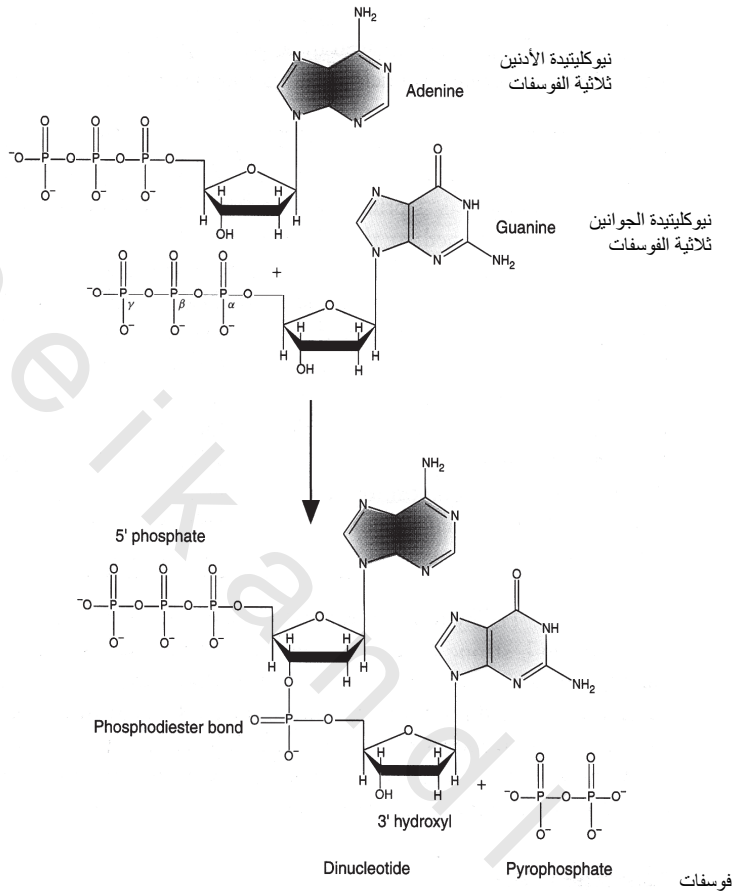
كل الكائنات تحتوى على المادة الوراثية التى تحمل الصفات الوراثية وهى فى الغالب الحمض النووي منزوع الأكسيجين DNA وبعض الكائنات تحتوى على مادة نووية أخرى تسمى RNA الحمض النووى الريبوزى. ففى بعض الفيروسات يكون الحامض النووى RNA هو الذى يحمل الشفرات الوراثية. تتكون الأحماض النووية DNA و RNA من جزيئات كبيرة 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 ، وجزئ الـ DNA يحتوى على سكر خماسى يسمى ديؤكسى ريبوز deoxyribose بينما جزئ الـ RNA يحتوى على سكر خماسى يسمى ريبوز ribose (شكل ٦). القواعد النيتروجينية فى جزئ الحامض النووى نوعان الأول: يحتوى على حلقة واحدة سداسية ويسمى بيرميدين Pyrimidine والثانى: يحتوى على حلقتين احداهما خماسية والأخرى سداسية وتسمى بيورين Purine. والبيورين فى جزء الـ DNA و RNA نوعين هما الأدينين

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

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

obeikandi.com



شكل (٦) كيفية ارتباط النيوكليتيدات ببعضها فى شريط الحماض النووي DNA. ترتبط ذرة الكربون رقم 5 لجزيء السكر بثلاث مجموعات من الفوسفات α و β و γ فى جزيء الأدينوسين والجوانوسين . يتم فقد مجموعتين من الفوسفان β و γ وتتحد المجموعة α مع الذرة رقم 3 فى السكر الموجود فى النيوكليتيدة الأخرى (الأدينوسين) ثم يتم فقد المجموعتين β و γ من الأدينوسين لتتحد مع نيوكليتيدة أخرى ، وهكذا حتى يتم تكوين سلسلة طويلة من الحامض النووى (Reece, 2004).

obeikandi.com

في عام 1950 قام شرجاف (Erwin Chargaff) **بفصل الـ** DNA وبتقدير كمية النيوكليتيدات الأربعة المكونة لشريط الـ DNA ، استنتج أن شريط الـ DNA يحتوى على كميات غير متساوية من الأنواع المختلفة للنيوكليتيدات ، 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 الأدنين (A) تساوى كمية الثايمين (T) وكذلك كمية الجوانين (G) تساوى كمية السيتوزين (C).

$$A = T \quad \text{و} \quad G = C$$

$$\text{مجموع البيرميدين} = \text{مجموع البيورين}$$

$$A + T \neq G + C$$

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

في 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

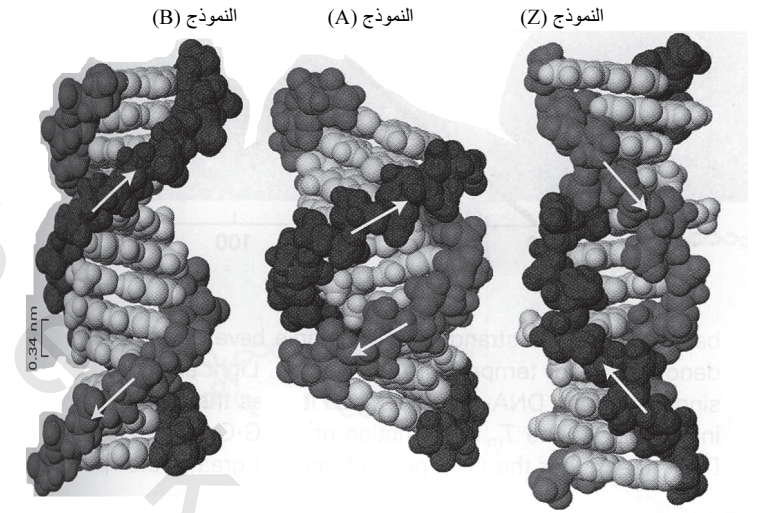
(William Astbury) قياس طول النيوكليتيده وقدرها بحوإلى 0.34 nm نانومتر وقد أكدت ذلك الباحثة فرانكلان (Rosalind Franklin) عام 1950-1953.

وقد أقترحت 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 وA 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).

obeikandl.com



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

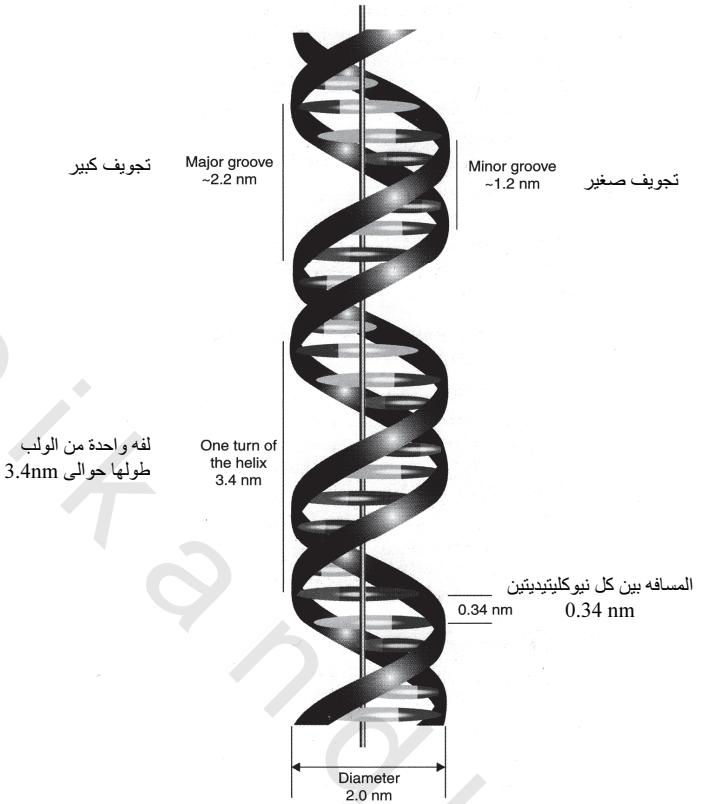
في عام 1953 **قام كلا من واطسن وكريك** (James & Francis Crick) Watsonبوضع نموذج بنائى لتركيب الـ DNA وأكدا عدم صحة اقتراح تركيب

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 والميزات الآتية** (Watson & Crick, 1953):

١- **سلسلتين طويلتين من النيوكليتيدات** (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.

obeikandl.com



شكل (8): نموذج واطسون وكريك لتركيب الحامض النووى 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 النيوكليتيدات.

obeikandl.com

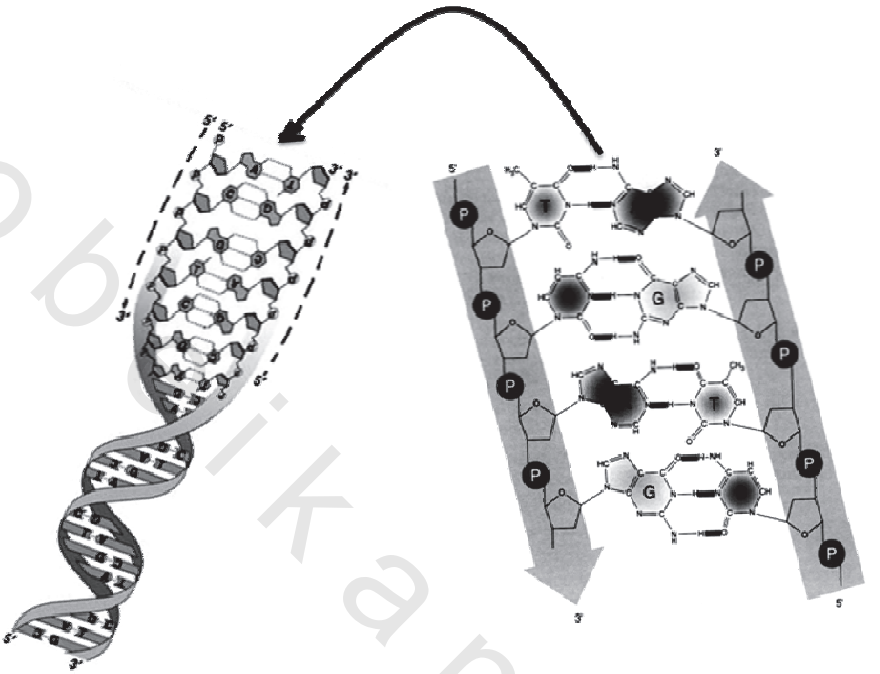
٤- **ترتبط القواعد النيتروجينية ببعضها** لتربط السلسلتين بروابط هيدروجينية أى أن القواعد النيتروجينية تزدوج مرتبطة ببعضها بروابط هيدروجينية وترتبط قاعدة نيتروجينية من البيورين بقاعدة أخرى من البريميدين (**شكل** 9).

٥- **كل لفة كاملة للشريط اللولبى** DNA تحتوى على 10.4 نيوكليتيدات 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 حوإلى 2.2 نانومتر وأخر صغير طوله حوإلى 1.2 نانومتر.

٧- **قطر شريط الـ** DNA اللولبى المزدوج حوإلى 2 نانومتر.

obeikandl.com



شكل (9): تركيب شريطى الحامض النووى DNA موضحا ازدواج القواعد النيتروجينية. الأدنين يرتبط مع الثايمين برابطة هيدروجينية ثنائية والجوانين مع السيتوين برابطة هيدروجينية ثلاثية.

عدم توازى سلسلتى النيوكليتيدات العديدة هو السبب فى إعطاء شريط الـ DNA الشكل الحلزونى 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 الديؤكسى ريبوز. وعندما يكتب الـ DNA فى الإتجاه 5' إلى 3' هذا يعنى أن سلسلة الـ DNA تبدأ

obeikandl.com

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

وتقع القواعد النيتروجينية بين سلسلتى السكر الخماسى وتكون القواعد عمودية على محور الحلزون وترتبط القواعد النيتروجينية ببعضها بين كلا من السلسلتين بروابط هيدروجينية. ولكن أثبت إنحراف أو حيود الضوئى لأشعة X (شكل 10) أن القواعد النيتروجينية ليست كلها عمودية على المحور ولكن هناك جزء منها يلف بزاوية على المحور تشبه اتصال نصل الورقة بالساق:
(Dicherson, 1983)

وإزدواج القواعد النيتروجينية G و A مع كلا من C و T فى DNA الحلزونى هام جدا 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 جدا واتصال البيورين بالبيورين (purine-purine) يكون حجم كبيرا جدا ويحدث إنبعاج فى سمك الـ DNA لذا فإن الاتصال يكون بين البيورين والبيريميدين (purine-pyrimidine) وهو محدد بين G≡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 كالآتى: 3'-TACTAGGCTA-5' **ليصبح الشريط المزدوج كالتالى**:

5'-ATGATCCGAT-3'
3'-TACTAGGCTA-5'

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

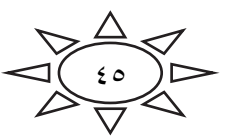
في حالة شريط الـ DNA المزدوج فإن الادنين يكون رابطة هيدروجينية مزدوجة مع الثايمين (A=T) والسيتوزين يكون رابطة ثلاثية مع الجوانين (C≡G) (شكل 9). ولذلك تكون الرابطة بين الأدنين والثايمين أقل ثباتا عن الرابطة بين

الجوانين والسيتوزين.ويوجد حوإلى 2500 رابطة هيدروجينية فى كل كيلو قواعد نيتروجينية مزدوجة (1 kilo baspair).

والحامض النووى DNA ذو تركيب ثابت وفى الخلايا منزوعة الماء (**الجافة**) يستطيع أن يظل بحيويته لالآف السنيين ، ولذلك تم عزل عينات من DNA من المومياات المصرية التى يصل عمرها إلى 3000 عام ، ونجد أن شريط الـ DNA يظل مزدوجا ولكن يمكنه التجزئ إلى قطع صغيرة من النيوكليتيدات المزدوجة 500 إلى1000 والتكسر هذا يرجع إلى كسر الرابطة التساهمية المسماه بـ Phosphodiester bond التى تربط مجموعة الفوسفات بالسكريات الخماسية (**الديؤكسى ريبوز**).

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

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



والمناطق الغنية بالقواعد النيتروجينية الأدنين . 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 ≡ 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

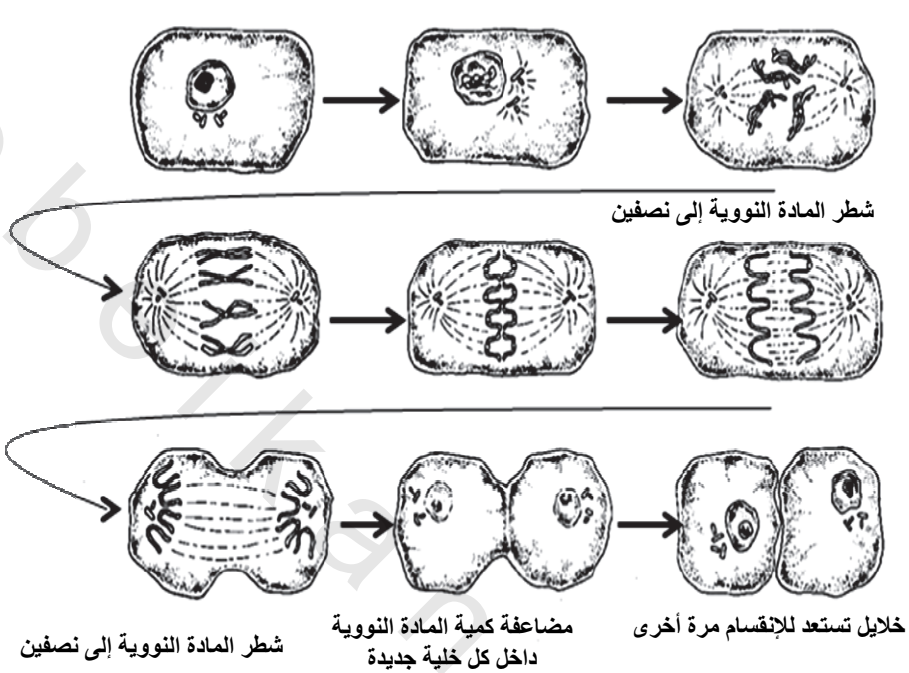
يتكون المحتوى الجينى فى الكائن الحى من أنوع مختلفة من الأحامض النووية تميز المجموعات الحية عن بعضها ، فمثلا الفيروسات تحتوى على حامض نووى مزدوج Double DNA أو حامض نووى مفرد Single DNA أوحامض نووى ريبوزى RNA على حسب نوع الفيروس. والكروموسوم فى الكائنات الراقية يتكون من شريط مزدوج طويل من DNA ، أما الكائنات الأولية مثل البكتريا تحتوى على شريط حلقى من الـ DNA وهذا الشريط مزدوج أيضا (Circular Double DNA) والنهايات 5', 3' لا توجد حرة بل تتصل ببعضها لتعطى الحامض النووى الحلقى ، وبالخلية البكتيرية أجزاء إضافية من DNA تسمى البلازميدات extra-chromosomal DNA molecules (Plasmids) وهذه البلازميدات أيضا حلقية وتتكون إما من شريط فردى أو مزدوج من الـ DNA. وأكد الفحص بالميكروسكوب الإلكترونى 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** ، b**١٩٩٥**).

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

النيوكليسوم فى الكائنات الراقية: Nucleosome in Eukaryotes

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

في مرحلة استعداد الخلية للإنقسام (الطور البينى في الانقسام الميتوزى) interphase تكون جزيئات الحامض النووى غير ملتفة حول البروتين وتكون ما يعرف بالشبكة الكروماتينية (**شكل ١٠**) عندما يبدأ الانقسام الميتوزى يحدث تميز للكروموسومات حيث تلتف جزئيات الـ DNA حول البروتين لتكون النيوكليسومات ومن ثم الكروموسومات. وهذا التكثيف والانضغاط للحامض النووى يكون عإلى جدا وقد يصل إلى 10000 ضعف.



شكل (١٠): الإنقسام وتضاعف الخلايا.

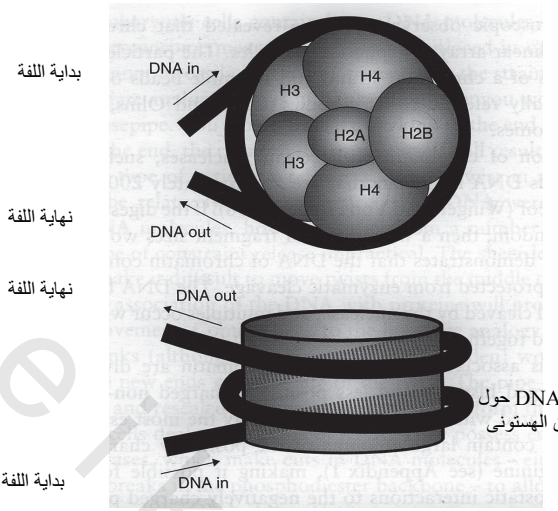
عند عزل الحامض النووى DNA من خلايا البكتريا والفيروسات لا نجد معه بروتين والعكس عند عزل الحامض النووى من الكائنات الراقية ، نحصل معه على البروتين. وهضم المادة الكروماتينية بواسطة إنزيمات النيوكليز (nucleases) مثل إنزيم ميكروكوكال نيوكليز (Micrococcal nuclease) ينتج قطعا من الحامض النووى طولها حوإلى 200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

obeikandi.com

الكروماتينية عشوائيا فإننا نحصل على أطوال مختلفة ومتباينة من الحامض النووى 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.

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

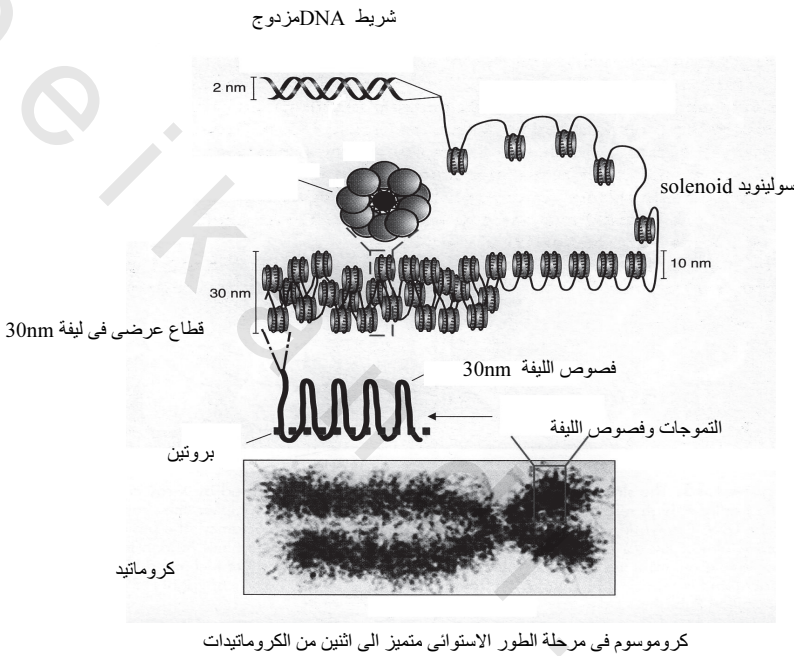
وترجع الشحنة الموجبة العالية في البروتين الهستونى إلى الأحماض الأمينية الليسين والأرجنين اللذان يوجدان بوفرة فى هذا البروتين. وهذه الشحنة الموجبة تجعل البروتين الهستونى يرتبط ألكتروستاتيكيا بمجموعة الفوسفات السالبة الشحنة الموجودة فى السلسلة الأساسية للحامض النووى DNA. ويوجد خمسة أنواع مختلفة من البروتين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



شكل (١١): تركيب النيوكليسومة. يلف الحامض النووى DNA بطول 150نيوكليتيدة 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 فهى تصل النيوكليسومة بجارتها (nucleosome-nucleosome). يلف حوإلى 150 bp (**نيوكليتيدة مزدوجة**) حول القلب البروتينى و 50 bp (**نيوكليتيدة مزدوجة**) تتجه لتصل النيوكليسومة المجاورة ، لذلك يمكن

القول بأن كل نيوكليوسومة يخصها حوإلى bp 200. أما الهستون H1 فلا يوجد فى داخل النيوكليسومة ولكن يتصل بالحامض النووى الذى يصل النيوكليسومات ببعضها ، وقد يكون له دورا فى لصق الحامض النووى DNA حول النيوكليسومة (شكل ١٢).



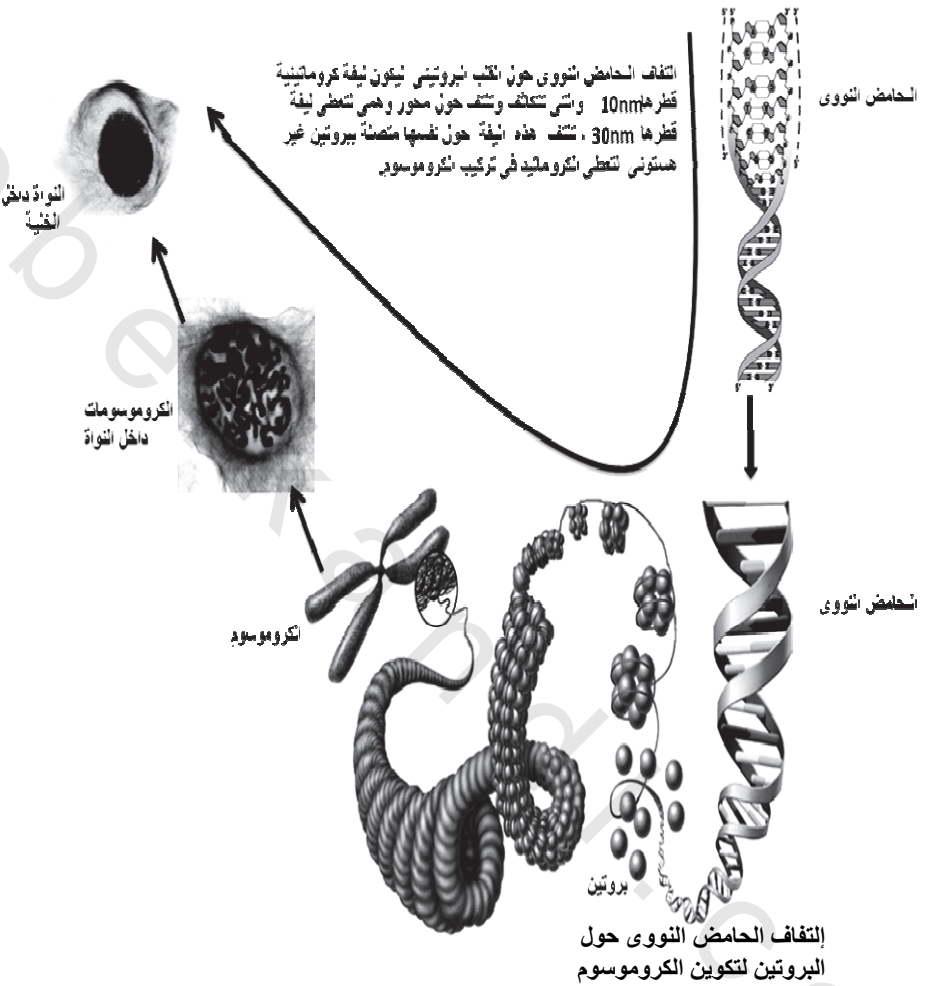
كروموسوم فى مرحلة الطور الاستوائى متميز الى اثنين من الكروماتيدات

شكل (١٢): عملية التفاف الـ DNA حول القلب البروتينى ليكون ليفة كروماتينية قطرها 10nm والتى تتكاثف وتلتف حول محور وهمى لتعطى ليفة قطرها 30nm ، تلتف هذه اليفة حول نفسها متصلة ببروتين غير هستونى لتعطى الكروماتيد فى تركيب الكروموسوم (Reece, 2004).

أول عملية لتقليص طول الحامض النووى هى تكوين النيوكليسومات حيث أنها تقلص حوالى الثلث من الطول الأساسى للحامض النووى. وقطر النيوكليسومة الواحدة حوإلى 10نانومتر ويلتف عدد من النيوكليسومات حول محور ثابت ليعطى ما يسمى بالسولينويد (solenoid) أو تسمى الليفة النيوكليسومية قطرها 30nm (شكل١٢).

وترتيب النيوكليسومات فى السولينويد لا يكون عشوائيا بل تأخذ شكل زجزاج (zig-zig pattern) فى كل 10 nm من طول هذا الزجزاج 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 والتى 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).

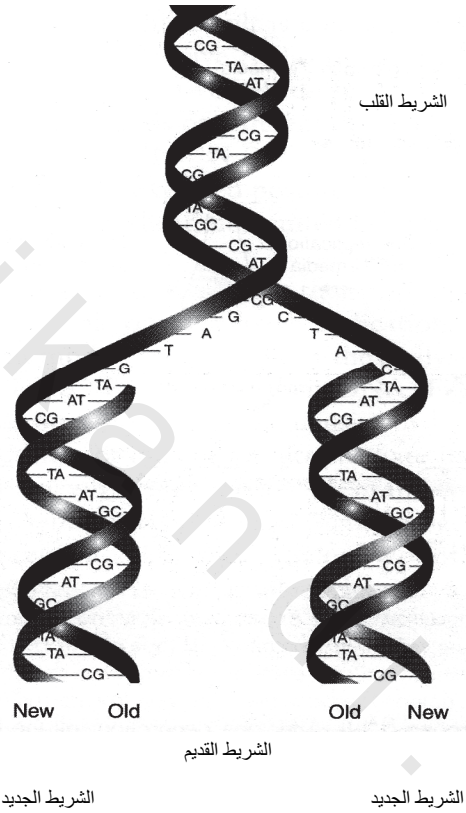


شكل (١٣): يوضح تعبئة البروتين مع الحامض النووى لتكوين الكروموسومات داخل النواة.

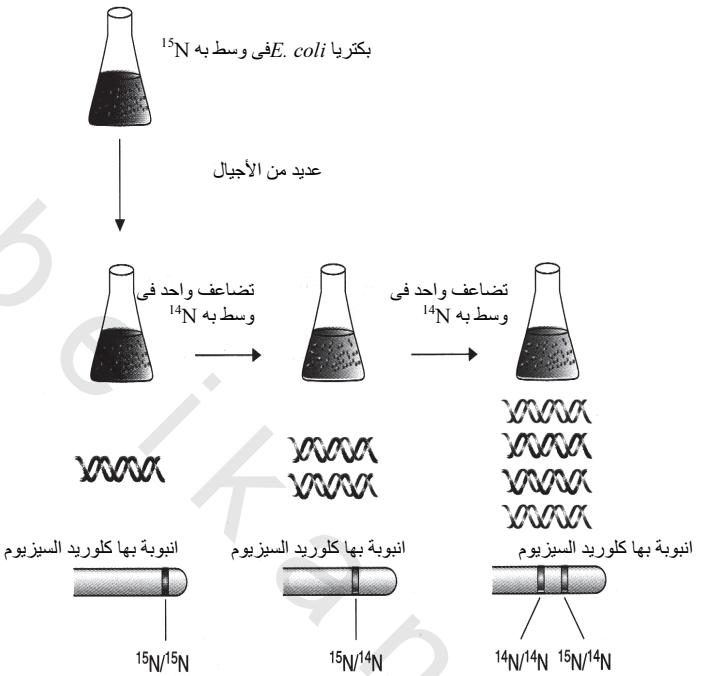
تضاعف الحامض النووى: Replication of DNA

بعد أن وضعا كلا من واطسون وكريك النموذج المعروف للحامض النووى ، أقترحا طريقة لتضاعف الحامض النووى ، فعند تضاعف الحامض النووى ينشق الشريطين المكونان له ويعمل كل شريط كقالب ويقوم بنسخ نيوكليتيدات مكملة له من القواعد النيتروجينية والسكريات والفوسفات الموجودة فى السيتوبلازم داخل الخلية (Watson & Crick, 1953b). وهذه العملية من التضاعف تنتج شريطين مزدوجين من الـ DNA متشابهين تماما (**شكل ١٤**) وكل شريط مزدوج يتكون من شريط أبوى قديم Parental وشريط جديد New ولذلك تسمى عملية التضاعف هنا بالعملية شبه المحافظة Semi-Conservative replication وفى عام 1958 قام كلا من Meselson & Stahl بالتأكد من أن التضاعف للحامض النووى يكون بعملية شبه محافظة وذلك عندما نما بكتريا القولون *E. coli* فى وسط غذائى محتوى على نيتروجين مشع ^{15}N وذلك عند وضع كلوريد الأمونيوم المحتوى على النيتروجين الثقيل $^{15}NH_4Cl$ ولذلك سوف تستغل البكتريا النيتروجين المشع ^{15}N فى إنتاج الحامض النووى DNA ليعطى الحامض النووى المشع (شكل ١٥) ثم بالسماح للبكتريا النمو فى وسط غير مشع يحتوى على $^{14}NH_4Cl$ لمدة تسمح بالتضاعف لمرة واحدة فقط فيعطى أشرطة للحامض النووى خليط أى بها شريط مشع والأخر غير مشع ولكن عند ترك البكتريا تنمو لفترة أخرى من التضاعف فى الوسط غير المشع ، وعند فصل الـ DNA بالطرد المركزى نحصل على منطقتين للفصل مختلفتين نتيجة لاختلاف الوزن الذرى

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 واطسون 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).

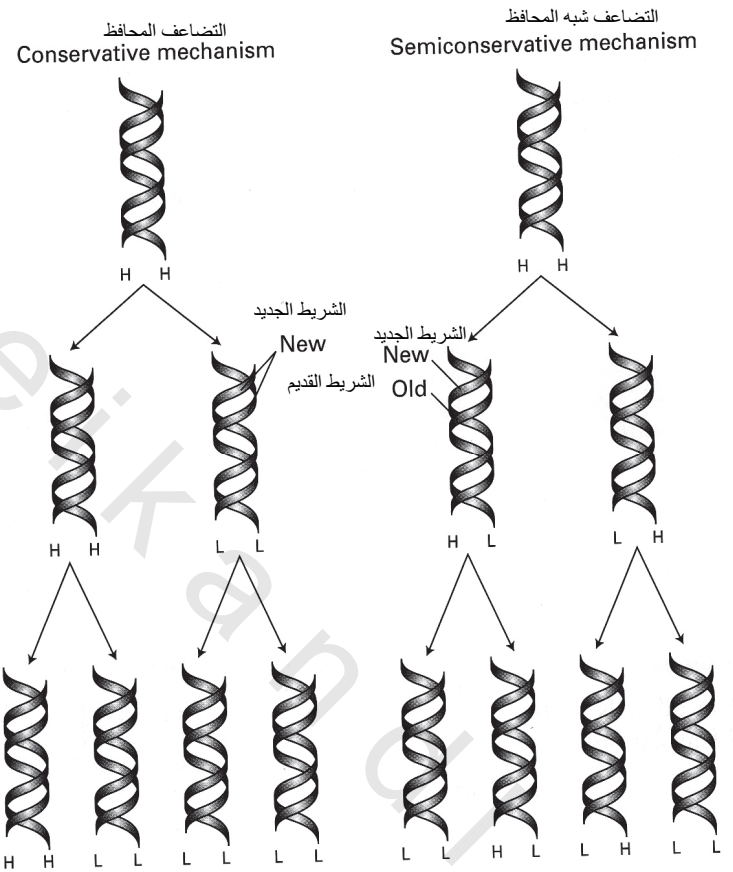


شكل (١٥): تجربة ميسيلسون وستال. نميت بكتريا *E. coli* لأجيال عديدة فى وسط محتوى على النيتروجين المشع ^{15}N ، وتم فصل الـ DNA البكتيرى باستخدام الطرد المركزى فى أنابيب كلوريد السيزيوم ذات التدرج فى الكثافة. حيث يأخذ الحامض النووى الـ DNA المحتوى على النيتروجين المشع ^{15}N مكان عميق فى الأنبوبة مقارنة بالمحتوى على النيتروجين ^{14}N ، ويأخذ الحامض النووى الـ DNA المحتوى على الأثنين (^{15}N،^{14}N) مكان متوسط بينهم (Reece, 2004).

obeikandl.com

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

obeikandl.com



شكل (١٦): مقارنة بين طريقتى التضاعف المحافظة وغير المحافظة للحامض النووى DNA (Reece, 2004).

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 فى عملية إصلاح الحامض النووى (DNA repair) أكثر من اشتراكه فى عملية تضاعف الـ DNA ، **وكذلك الإنزيم الثانى** II polymerase يساهم فى إصلاح الحامض النووى DNA (DNA repair) ومن ناحية أخرى **يلعب الإنزيم الثالث** III polymerase دورا هام وأساسيا فى تضاعف الحامض النووى DNA (Kornberg & Baker, 1992).

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

١- بناء الشريط النووى DNA فى الإتجاه من 5' إلى 3'.

٢- العديد من هذه الإنزيمات لها نشاط مثل إنزيمات النيوكيليز الخارجية (الاكزونيوكيليز exonuclease) ويكون فى الاتجاه 3' إلى 5' وهى إنزيمات قادرة على إزالة بعض النيوكليتيدات من النهاية 3' من السلسلة الجديدة للحامض النووى DNA ، وهى محاولة لتصحيح بعض النيوكليتيدات وإحلالها بأخرى صحيحة.

٣- بعض هذه الإنزيمات (polymerase) لها نشاط مثل إنزيمات الاكزونيوكيليز التى تعمل فى الاتجاه 5' إلى 3' وكذلك هذه الإنزيمات تستطيع إزالة جزء من النيوكليتيدات.

obeikandl.com

لا تستطيع إنزيمات البوليميريز polymerase بدء عملية تضاعف الـ DNA إلا تحت ظروف ومتطلبات معينة لابد 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 والنيوكليتيدات 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 بالتفصيل توضيح كيفية تضاعف الحامض النووى داخل خلايا الكائن الحى ، حيث تتم عملية تضاعف الـ DNA في ثلاث مراحل هى:

أ- مرحلة البدء Initiation phase.

ب- مرحلة الاستطالة Elongation phase.

جـ- 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

obeikandl.com

replication forks وتمتد فى الاتجاهين العكسيين حتى يكتمل تضاعف شريطى الـ DNA وبالتالى نحصل على شريطين مزدوجين من DNA (شكل ١٧).

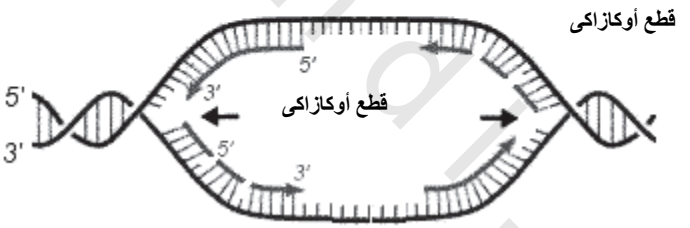
فى بكتريا *E. coli* يوجد منطقة واحدة يبدأ حدوث التضاعف منها وتسمى *Oric*. أما فى الخلايا الراقية للكائنات الحية يوجد العديد من مناطق بداية التضاعف وتختلف عن المنطقة الموجودة فى البكتيريا *Oric* ، ففى الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* نجد أن هناك حوإلى 300 موضع لبداية التضاعف أما فى خلايا الإنسان يوجد 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 تحث على عملية انصهار الحامض النووى (**فتح شريطى الـ** DNA **وإنفصالهما**).

وبمجرد أن ينفتح DNA **سواء في** الكائنات الراقية أو الدقيقة تبدأ إنزيمات البوليميريز Polymerases فى قراءة الشفرة الوراثية وبناء نيوكليتيدات 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 براميز (Primase) وبذلك تستمر عملية نسخ الـ DNA على الجانبين فى الشريط المزدوج (شكل ١٧). وهناك مجموعة من الإنزيمات تسمى DNA helicases تساعد فى عملية إنشقاق الحامض النووى الأب parental DNA. وأيضا هناك بعض البروتينات تساعد شريطى الـ DNA أن يظلا منفصلين حتى تنتهى عملية التضاعف تسمى هذه البروتينات بالبروتينات الرابطة.

التضاعف شبه المحافظ للـ DNA



شكل (١٧): تضاعف الحامض النووى DNA.

obeikandi.com

ب- **مرحلة الاستطالة**: Elongation phase

فى هذه المرحلة يستطيع إنزيم البلمرة DNA plymerase نسخ شريطا من الـ DNA مكمل للشريط الأب Parental DNA بصورة مستمرة فى الاتجاه 3' إلى 5' بالنسبه للشريط الأب ، ولكن بالنسبه 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 حوإلى 1000 إلى 2000 نيوكليتيده تستطيع إنزيمات البوليميريز استكمال قطعة أوكازاكى ثم يتكون فص أخر (Loop) وتتكرر العملية السابقة حتى يتكون قطع من قطع أوكازاكى. وبإستخدام إنزيمات الإلتحام DNA Ligases يتم التحام قطع أوكازاكى ببعضهم البعض حتى تعطى شريط مكمل من DNA ويسمى أيضا بشريط الـ DNA الجديد المتأخر (newly lagging strand).

جـ- **مرحلة الانتهاء**: Termination

بالنسبه 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

openkandil.com

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

الجينات والمحتوى الجينى: Genes and Genome

المعلومات الوراثية الموجودة فى شريط الـ DNA تعتمد أساسا على ترتيب القواعد النيتروجينية والتى بالتالى تترجم إلى بروتينات وإنزيمات لبناء الخلية وإظهار الصفات الوراثية. 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 .

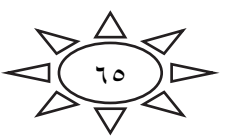
نسخ الحامض النووى RNA Transcription

حتى تتم عملية التعبير عن الصفة الوراثية أى تكوين بوتينات الصفة لابد من نقل الشفرات الوراثية من نواة الخلية لإلى 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

obeikandl.com

منزوع الأكسيجين DNA ولكن ترتبط مجموعة اليوارسيل بالأدنين 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 النيوكليتيدى 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 فردى يحمل الشفرة الوراثية التى تتكون من سلسلة طويلة من النيوكليتيدات ويطلق على كل ثلاث نيوكليتيدات متجاورة على شريط mRNA اسم الكود (Codon) وكل كود خاص بالتعبير عن حامض أمينى عند الترجمة إلى البروتين.

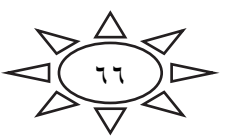


ب- tRNA (**الناقل** Transfer): هو مفتاح عملية ترجمة الشفرة الوراثية الموجودة على شريط mRNA إلى أحماض أمينية ، فكل ناقل يستطيع أن يتصل بحامض أمينى وينقله إلى mRNA حيث تتم عملية الترجمة بمساعدة الريبوسومات التى تحتوى على النوع الثالث من الحامض النووى RNA.

جـ- 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 والتى 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 العشرون ، ولذا فإن العملية الرياضية لترتيب هذه القواعد



openkandil.com

النيتروجينية بالتباديل والتوافيق لكل ثلاث قواعد هى الكافية للتعبير عن العشرون حامض أمينى. 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 الأمينى أكثر من شفرةعلى سبيل المثال الشفرتين UCU, UCC خاصين بالحامض الأمينى فينيل أنالين (Phe) phenylanalinne ، 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 الأمينى الواحد بالمتشابهات (synonymous) والكود نفسه ضمن الشفرات المعبرة عن حامض أمينى واحد (degenerate). وعملية بناء البروتين فى كلا من الأوليات والخلايا الراقية تبدأ بالحامض الأمينى الميثيونين (Met) والشفرة المسئولة عنه هى AUG ، وفى قليل من البكتريا الكود الأول فى سلسلة mRNA يكون GUG وأحيانا تكون الشفرة CUG هى الكود الأول فى mRNA فى الخلايا الراقية ويكون هو المعبر عن الحامض الأمينى الميثيونين (Met). والشفرات الثلاثة UGA, UAA, UAG ليست خاصة بأى حامض أمينى ولذا تسمى بالشفرات المنهية التى تنهى عملية الترجمة إلى الأحماض الأمينية ، والشفرات التى يتم

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

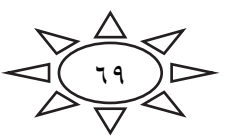
وأثناء عملية ترجمة الحامض النووى mRNA **إلى** سلاسل ببتيدية لا يوجد فصلات أو توقف فى داخل الجزء المحصور بين الكود المنهى أو الموقف (stop codon) والكود البدء (start codon) بمعنى أن عملية الترجمة تعطى دائما نفس السلسلة الببتيدية عن كل مرة من ترجمتها ، وكذلك لا يحدث إزاحة فى الشفرات الثلاثية عند الترجمة. فنظريا عند حدوث إزاحة لإحدى القواعد النيتروجينية فى المنطقة المقروءة Reading Frame ينشأ بروتين مختلف تماما وذلك لحدوث تغير فى ترتيب الشفرات الثلاثية. وهناك طريقة أخرى لتغيير ترجمة نفس المنطقة المقروءة (Reading Frame) عن طريق حدوث إزاحة للشفرات الثلاثية أيضا عن طريقة ترجمة إحدى الشفرات الرباعية لكى تعطى حامض أمينى واحد ثم يعود الريبوسوم بعد ذلك لترجمة الشفرات ثلاثيا وهذا يحدث تغيرا فى عملية الترجمة ونادرا ما يحدث ذلك. ومسئولية كل كود عن ترجمة حامض أمينى محدد عملية ثابتة تقريبا ولا تختلف من الكائنات الراقية إلى الكائنات الأولية ولكن هناك قلة لبعض الشفرات (الكود) تعطى ترجمة مختلفة باختلاف وجودها فى الكائن فمثلا الكود الثلاثى CUG يترجم عامة فى معظم الكائنات إلى الحامض الأمينى الليوسين (Leu) ولكن يترجم إلى الثيرونين (Thr) بداخل الميتوكوندريا فى 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 المرسال الاصطناعى الطريق لتحديد القاموس الكامل للشفرة الوراثية. وهذا المرسال عبارة جزء صناعى من الـ RNA كل قواعده من صنف واحد فقط من القواعد النيتروجينية.

ويوضع هذا الجزء فى محلول مجهز بلريبوسومات 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 معا القناع "الجينات" الوراثى البشرى. وإذا تخيلنا جزئ الـ DNA مثل سلم ملتو فإن درجات السلم تتآلف من جزيئين مترابطين يسميان "قاعدتين". وتوجد أربع قواعد نرمز 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 كيمياء 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

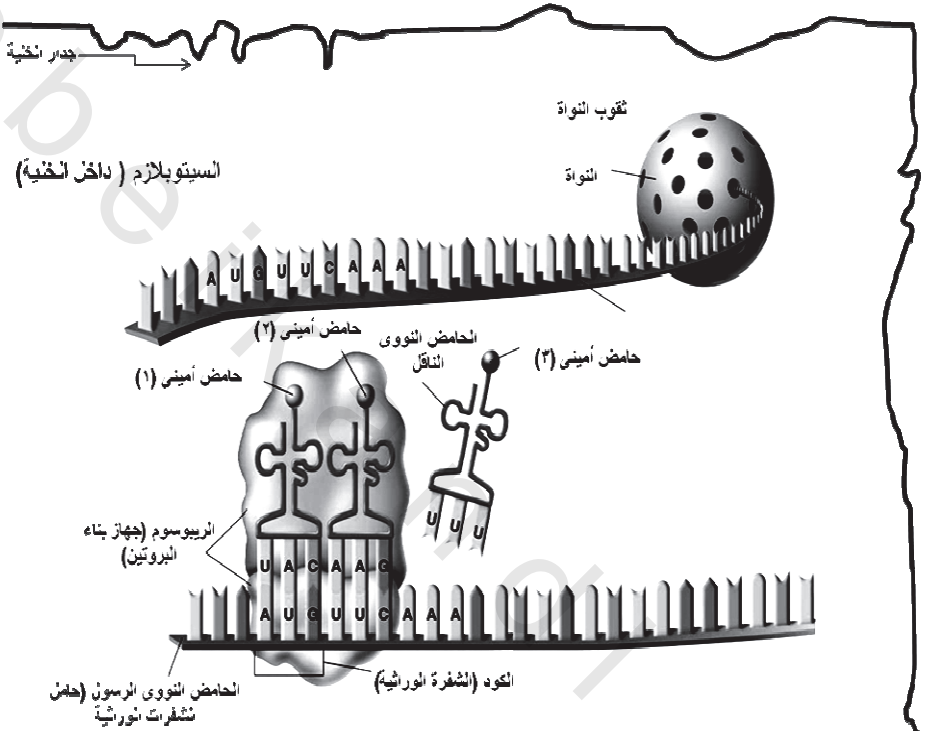
نسخ البروتين عملية نعنى بها ترجمة الشفر الوراثية إلى سلاسل من الأحماض الأمينية ، وتقرأ ترتيب القواعد النيتروجينية على شريط mRNA بواسطة الريبوسوم وتترجم إلى الأحماض الأمينية. حيث تترجم كل ثلاث قواعد إلى حامض أمينى واحد ، وتبدأ عملية الترجمة بالكود AUG وتنتهى بإحدى هذه الشفرات UAG أو UGA أو UAA ، **وتتم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

- 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.

opelkanal.com

- يتم استهلاك جزيئات الطاقة ATP بواسطة أحد العوامل المنشطة (eIF4A) حتى يظل الحامض النووى mRNA على هيئة شريط ولا يتموج.
- يتحرك الحامض النووى الناقل tRNAiMet على الحامض النووى الرسول mRNA حتى يتعرف على الكود الخاص بالماثيونين 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 mRNAiMet ويسمى هذا التتابع ---ACCAUGG---5' 3' من النيوكليوتيدات بتتابع كوزاك نسبة إلى مكتشفة Marilyn Kozak
- والتفاعل الخاص بإضافة الوحدة 40S إلى الوحدة 60S يكون تفاعلا عكسيا ولا تنفصل الوحدتان إلا بعد ترجمة الشريط كله (mRNA).
- الناقل tRNAiMet 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.

هذا ويعبر تكوين بروتين ما عن صفة وراثية نلحظها في الشكل المظهرى للكائن الحى. لذا فالصفات المظهرية تكون إنعكاسات لما نحمله من جينات تم التعبير عنها من خلال عملية الترجمة وتكوين البروتين.



شكل (١٨): عملية ترجمة الشفرة الوراثية الى بروتين داخل الخلية. بعد ثبات اتصال الحامض النووى الناقل بالرسول فى جهاز بناء البروتين تتصل الأحماض الأمينية ببعضها لتكوين سلسلة ببتيدية طويلة.