Molecular Biology

الاحياء الجزيئي

مدرس المادة م.م.انمارنزارحسن

Anmar Nazar Hasan

المحاضرة الاولى

DNA و RNA كمواد وراثية للكائنات الحية

مقدمة عامة:

تمكن العلماء وفي وقت مبكر وباستعمال المجهر من ملاحظة عصيات دقيقة تتكون داخل الخلايا أثناء انقسامها وحسب ترتيب معين، وأن هذه العصيات الدقيقة التي تستوطن النواة تتحرك بأسلوب دقيق خلال مراحل الانقسام فافترضوا أن العوامل الوراثية أو الجينات محمولة على هذه العصيات وأطلقت عليها تسمية الكروموسومات . لكن دراسة الطبيعة الكيمياوية لهذه الكروموسومات لم تتحقق إلا بعد تطور التقنيات المختبرية وأجهزة التحليل.

يذكر أن العالم السويسري فريدريك ميجر قام بأول محاولة لفصل النواة عن الخلية عام 1889عندما حاول فصل النواة من خلايا القيح Pus cell المتبقية على الضمادات الجراحية وحيامن السمك Fish sperm حيث تكون هذه الخلايا عادة غنية بالمواد النووية وكان ذلك باستعمال محاليل قاعدية، وقد لاحظ هذا العالم أن النواة تتألف كيمياوياً من مادتين الأولى منها والتي تكون النسبة العظمى تسمى Protamine وهي التسمية الأولى للبروتينات والثانية وهي تكون نسبة ضئيلة وسميت Nuclien .

وأعتقد فريدريك وغيره أن Protamine هي المسؤولة عن الصفات الوراثية لسببين هما أنها موجودة في الخلية بكمية كبيرة ثم أنها تتألف من عدد كبير من الأحماض الأمينية وبالتالي فأنها يحتمل أن تكون مسؤولة عن هذا العدد الكبير من الصفات الوراثية. وفي التجارب اللاحقة التي أمكن فيها تنقية كل من البروتين و DNA بقيت فكرة أن البروتين هو المسؤول عن نقل الصفات الوراثية وأن دور DNA في النواة يقتصر على تحديد تركيب الكروموسومات أي دوره تركيبي have a structural role .

وكان الإعتقاد السائد أن DNA الذي يتكون من أربعة قواعد نيتروجينية ترتبط مع بعضها بالشكل الموضح أدناه:

Anmar Nazar Hasan

بخلاف البروتينات التي كان التصور عن إرتباط الحوامض الأمينية فيها تصورا صحيحا منذ بداية التعرف على مكوناتها وتركيبها إلى حد كبير.

DNA و RNA كمواد وراثية :

كانت معظم الدراسات التي تهتم بانتقال المعلومات والصفات الوراثية حتى عام 1940 تتخذ من الكائنات الراقية أو أجزاء منها مادتها الأساسية . بيد أن اهتمام الباحثين بدأ يتحول شيئا فشيئا إلى دراسة الأحياء المجهرية لمتابعة الصفات الوراثية التي اقتصرت على ملاحظة الظواهر المرئية منها ولردح طويل من الزمن عند دراسة الكائنات الراقية. وتعود أسباب هذا التحول من دراسة الكائنات الراقية إلى الأحياء المجهرية إلى الأسباب التالية:

1- سهولة التعامل مع الأحياء المجهرية لسهولة تنميتها في أوساط زرعية يمكن تحضيرها مختبريا.
2- سرعة تكاثر ونمو الأحياء المجهرية لامتلاكها زمن جيل Generation Time قصير.(يبلغ 20 دقيقة لبكتريا *E.coli* في الظروف المثلى).
3- إن معظم الأحياء المجهرية وحيدة الخلية بدائية النواة كالبكتريا و Cyanobacteria وهي من نوع Haploid في جميع أطوار حياتها ورغم أن الأحياء المجهرية قد درست تفصيلا وفي وقت مبكر إلا أن أهميتها في الدراسات الوراثية لم تتوضح إلا في منتصف هذا القرن تقريباً. وقبل التطرق إلى الدراسات التي وفرت الدلائل وأثبتت أن المواد النووية من DNA و RNA هي المسؤولة عن حمل ونقل الصفات الوراثية عبر الأجيال المتعاقبة لابد من معرفة الخصائص والمواصفات التي حددها العلماء والباحثون والتي يفترض توفرها في المادة المرشحة لأن تكون هي المادة الوراثية. وقد جاء تحديد هذه الخواص من الدراسات الوراثية التقليدية التي ظهرت بدايتها العلمية الدقيقة مع تجارب مندل. وهذه الخواص هي:

1. أن المادة الوراثية يجب أن تحتوي على معلومات حياتية مفيدة وأن تحافظ على هذه المعلومات بصورة دورية وعبر الأجيال.
2. يجب أن تكون المادة الوراثية قابلة للتضاعف مع المحافظة على المعلومات الوراثية بصورة أمينة بحيث تتمكن من نقل المعلومات الوراثية من خلية إلى أخرى أو من جيل إلى آخر بأمانة ودقة متناهيتين ودونما تغير
3. يجب أن تكون المادة الوراثية قادرة للتعبير عن المعلومات التي تحملها أي أن تمتلك القدرة على إظهار هذه المعلومات وترجمتها إلى طرائق للنمو والتطور.
4. ينبغي أن تمتلك لمادة الوراثية القدرة على التغاير والتطور (وهذا الشرط مناقض للشرط الأول) لضمان استمرار المادة الوراثية و ماتحملها من الصفات والمعلومات الوراثية. والواقع أن المادة الوراثية ليست على استعداد مسبق أو دائمي للتغيير وإنما تتغير إما عن طريق الطفرة أو عن طريق اتحادات جديدة أو إعادة

Ammar Nazar Hasan

الخلط. وسوف تكون لنا وقفة مع جميع هذه الخصائص لاحقا. ولكن دعونا الآن نتمعن في المضامين العليمة للتجارب التي حددت ماهية المواد الوراثية.

التجارب التي أثبتت أن DNA و RNA هي المواد الوراثية :

أولاً: تجارب التحول Transformation experiments

لفهم هذه التجارب لابد من العودة أولاً إلى إستنتاجات الباحث فريدريك كريفيت عن مجموعة ملاحظات ثبتها عن البكتريا *Streptococcus peneumona* أستمرت من عام 1923 وحتى عام 1928 فقد تمكن الباحث في باديء الأمر من التعرف على عدة أشكال سيريولوجية أو انماط وصلية Serotype من النوع المؤذي Virulent لهذه البكتريا المسببة لذات الرئة سميت ب Types , I, II,III ...etc والتي تتميز بتكوينها للكبسولة وهي مواد لزجة تتألف من سكريات متعددة ذات طبيعة وقائية Protective polysaccharides ، تختلف في تركيبها وهذا هو السبب في اختلافها عن بعضها البعض مصلياً. كما لاحظ هذا الباحث وجود أشكال أخرى من هذه البكتريا تكون غير ضارة Harmless وغير مؤذية Averulent وغير مكونة للكبسولة ويمكن تمييز الضارة عن غير الضارة منها بتنميتها في أوساط غذائية خاصة حيث تكون الضارة مستعمرات مخاطية لزجة أما غير الضارة فتكون مستعمرات خشنة . ولاحظ الباحث أن اشكال المستعمرات غير الضارة من هذه البكتريا يمكن أن يتحول إلى أشكال ضارة من خلال مجموعة من التجارب نشرت عام 1928 والتي يمكن تلخيصها كالآتي:

1. **عند حقن الفئران ببكتريا ذات الرئة المذكورة أعلاه من السلالات الضارة فان الفئران تظهر عليها أعراض المرض وسرعان ما تموت.**
2. **عند حقن الفئران بسلالات من النوع غير الضار فإنها لا تتأثر ولا تموت .**
3. **عند حقن الفئران بسلالات من نوع الضار المعاملة حراريا فانها لا تموت ولا تظهر عليها أعراض مرضية .**
4. **عند حقن الفئران بسلالات الضارة المعاملة حراريا (مقتولة) مع سلالات من النوع غير الضار الحية (غير المعاملة) فان الفئران تموت بعد فترة من ظهور أعراض المرض عليها. ووجد الباحث أن الحيوانات الميتة لا تحمل غير أعداد حية من السلالات من نوع الضار دون النوع غير الضار.**

ولما كان من غير المتوقع أن تعود خلايا السلالات الضارة المقتولة بالحرارة الى الحياة ثانية داخل جسم الفئران فان الاحتمال الوحيد الذي يمكن في ضوئه تفسير موت الفئران المحقونة بخلايا سلالات الضارة المقتولة و غير الضارة الحية هو أن شيء ما موجود في خلايا السلالات الضارة تحول إلى الخلايا غير الضارة وبالتالي أصبحت خلايا ممرضة وضارة تؤدي إلى موت الفئران بعد أن تنتقل إليها وتجعلها من النوع الضار. وقد تبين فيما بعد أنه عندما تسخن خلايا من النوع الضار وتضاف إلى الخلايا من نوع غير ضار في أنبوبة إختبار تحتوي على وسط غذائي فان خلايا النوع

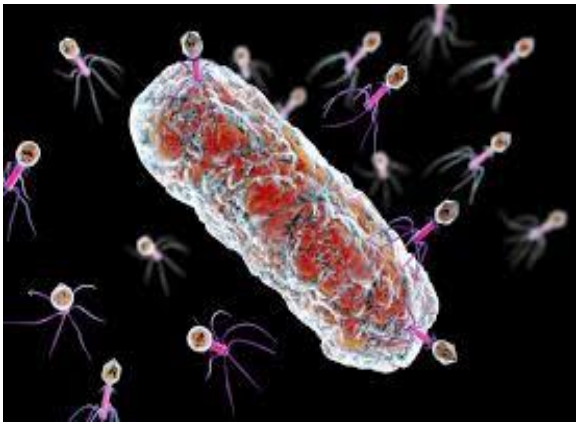
Ammar Nazar Hasan

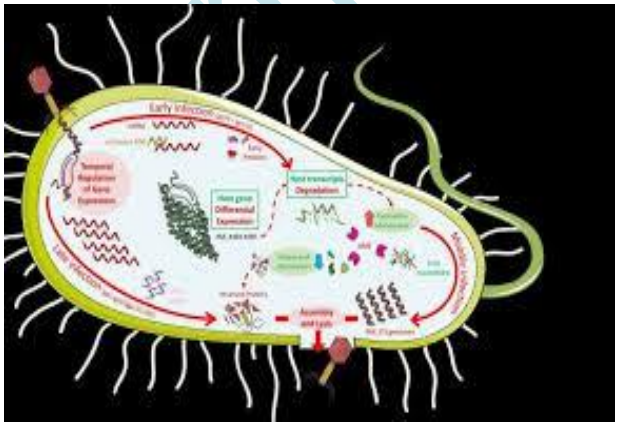
الأخير تتحول إلى النوع الضار أيضاً. ولم يعرف سبب هذا التحول أو المادة أو الشيء الذي يقوم بتحويل الخلايا حتى عام 1943 وعلى يد مجموعة من الباحثين من معهد روكفيلار حيث تبين أن DNA هو المادة الفعالة التي تسبب هذا التحول بين النوعين أعلاه ، وذلك بتحضير راشح من الخلايا الضارة المقتولة بالحرارة ومن ثم هضم المكونات الموجودة في الراشح الواحدة تلو الأخرى بأنزيمات هاضمة أو محللة خاصة لكل مكون من هذه المكونات مثل البروتينيز لهضم البروتينات والرايبونيوكليز لهضم ال RNA و الديوكسيرايبونيوكليز لتحطيم DNA لقد أظهرت هذه الدراسة أن الحالة الوحيدة التي تؤدي إلى عدم تحول الخلايا من غير الضار إلى الضار عند مزج الراشح مع أنزيم الديوكسيرايبونيوكليز

ثانياً: دلائل من الفاجات البكتيرية:

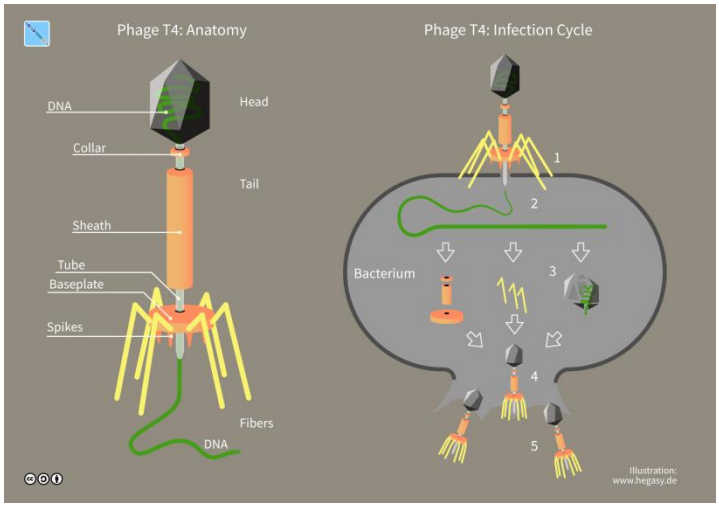
جاء الدليل الثاني من كون مادة ال DNA هي المادة المسؤولة عن حمل الصفات الوراثية وإظهار هذه الصفات من تجارب أجراها الفريد هيرشي ومارثر جايس عام 1952 على الفاج البكتيري (العائي T_2) وهو من الفاجات التي تتخذ من بكتريا *E.coli* عائلاً للتكاثر شأنها شأن الفاج T_4 و T_6 . فقد تأكد في تلك الفترة أن الفاجات مثلها في ذلك مثل الكائنات الحية تمتلك برنامجاً وراثياً ويتكون هذا الفاج من الناهية الظاهرية من رأس سداسي عبارة عن غطاء بروتيني معبأ بمادة DNA إضافة إلى ذيل ينتهي بقرص قاعدي ترتبط به عدد من ألياف الذيل.

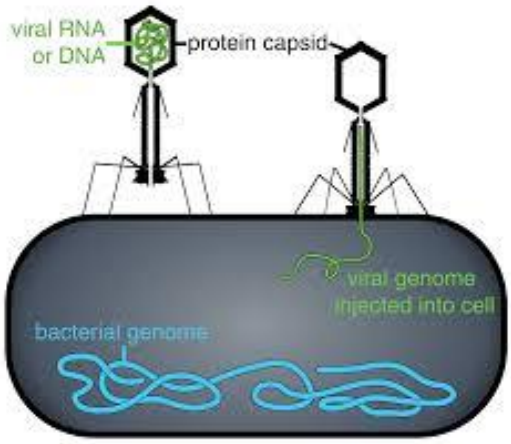
تبدأ دورة حياة الفاج بالتصاقه على مستقبلات معينة على سطح الخلية البكتيرية بواسطة الألياف فيعمل ثقباً في جدار الخلية وغشائها السايتوبلازمي عن طريق القرص القاعدي ثم يحقن مادته النووية DNA الموجودة في الرأس داخل الخلية عبر تجويف الذيل ، تبدأ مادة DNA بالتضاعف داخل الخلية البكتيرية ثم بتخليق أجزاء ومكونات الفاج بالاستفادة من أنظمة التعبير وتخليق البروتينات في الخلية البكتيرية (العائل) ثم تتجمع هذه الأجزاء مع بعضها مكونة فاجات جديدة وبأعداد كبيرة والتي تحلل الجدار الخلوي وتتحرر منها.





Omar Nazar Hasan

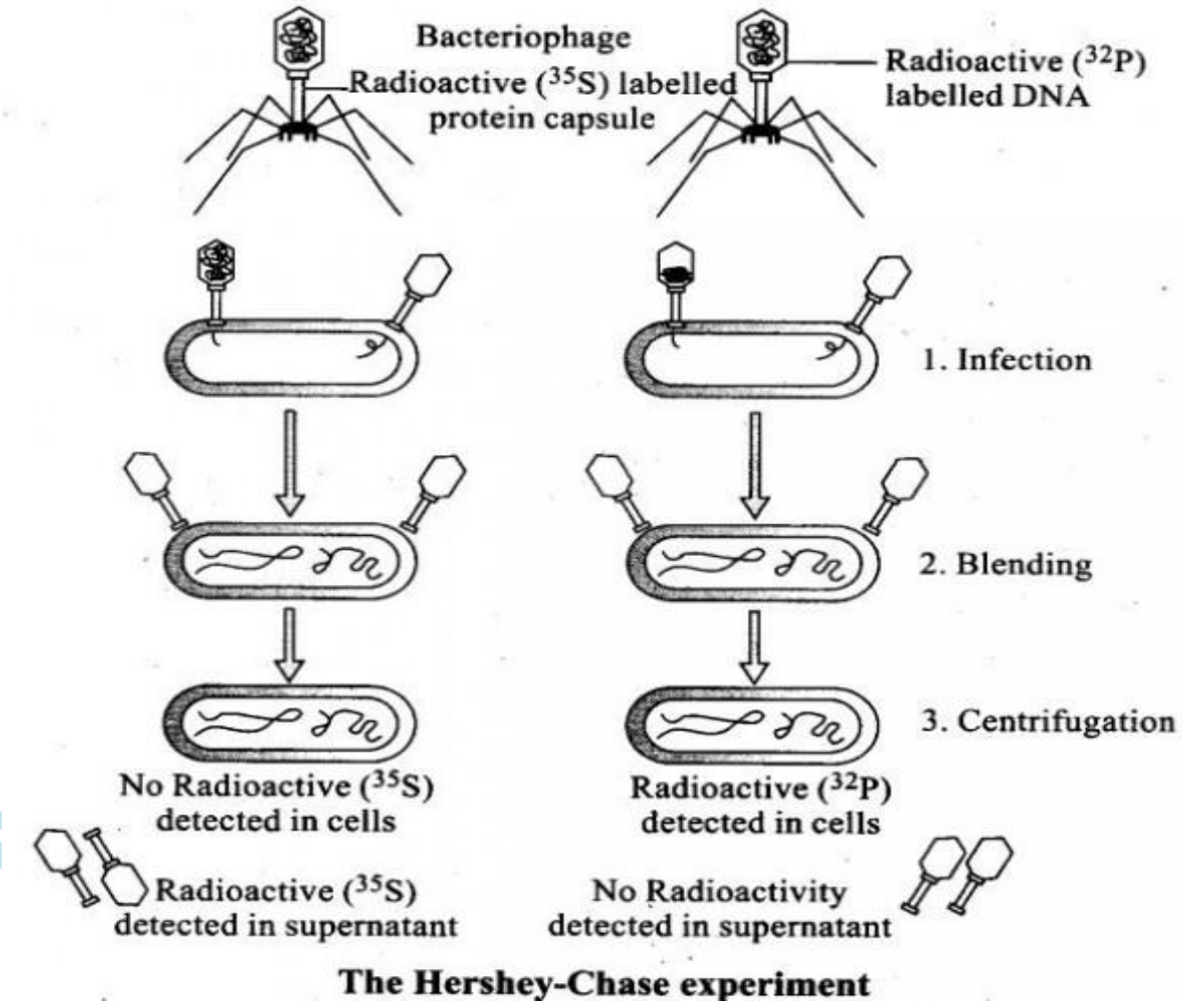




نفهم مما سبق أن الجزء الذي يدخل إلى داخل الخلية البكتيرية من الفاج هو DNA أما الأجزاء الأخرى والتي تعرف بال (Bulk – ghost) فتبقى خارج الخلية وقد تم تثبيت مراحل دورة حياة هذا الفاج وغيرها من الفاجات بواسطة المجهر الألكترونى. تحتوي مادة DNA في تركيبها على عنصر الفسفور وهي خالية من عنصر الكبريت أما البروتينات فتتألف من أحماض أمينية تحتوي البعض منها (الميثايونين و السستين) على عنصر الكبريت وهي تخلو تماما من عنصر الفسفور. وقد استفاد هيرشي وجيس من هذه الظاهرة في تصميم تجربة لتحديد مسؤولية الجزء الخاص بتضاعف وتكرار الفاجات فيما إذا كانت مادة DNA أو البروتينات وذلك بالاستفادة من النظائر المشعة لكل من عنصري الفسفور والكبريت نظراً لإمكانية متابعة مصير العناصر المشعة في الأنظمة الحيوية من خلال الإشعاعات التي تصدر منها.

قام الباحثان بوسم DNA الفاج بالنظير P_{32} وبروتين الفاج بالنظير S_{35} كلاً على إنفراد بتنمية الفاج ببكتريا *E.coli* المنماة في وسط يحتوي على P_{32} و S_{35} على التوالي، فتمكنوا بذلك من الحصول على نوعين من الفاج أحدهما يحمل P_{32} والثاني S_{35} استخدمت الفاجات المنتجة بهذه الطريقة إصابة مزرعة بكتيرية من *E.coli* جديدة وخالية من العناصر المشعة. وبعد التخلص من ghost وترك الفاج للتضاعف داخل البكتريا وقدرت كميات الإشعاعات الصادرة من كل من الفاجات الجديدة و ghost فتبين أن الأنسال الجديدة من الفاجات تحتوي على النظائر المشعة بنسبة 100% عند أستخدام نظائر P_{32} فقط وكما هو موضح

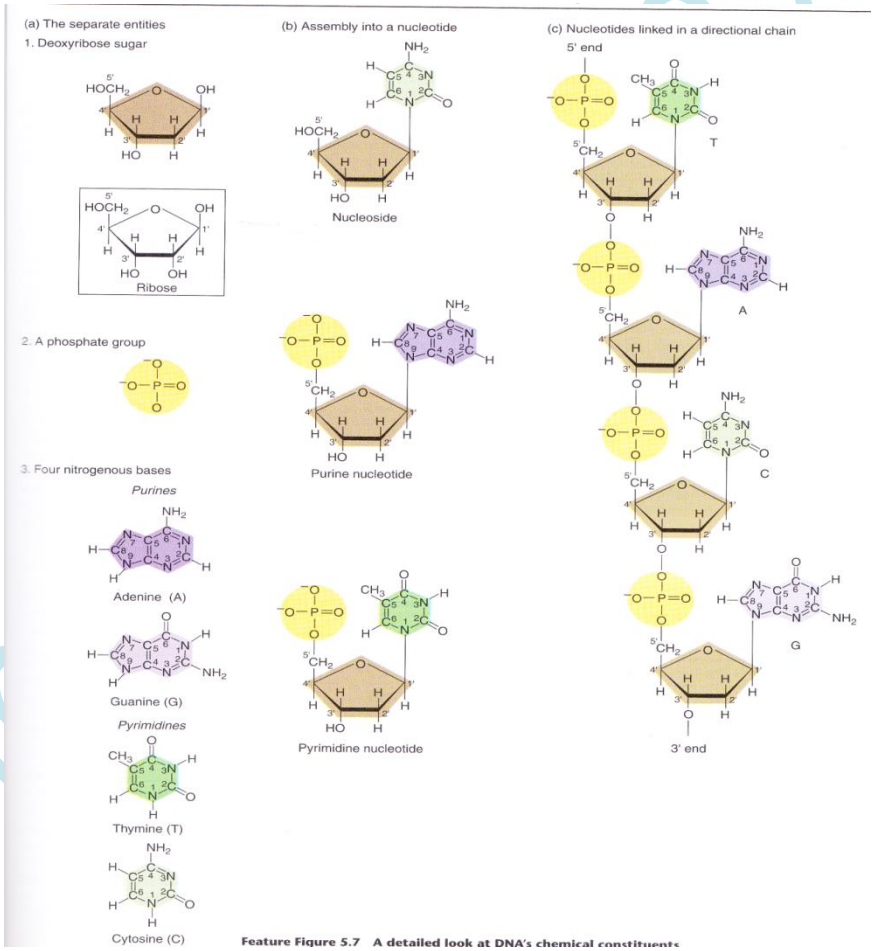
Ammar Nazar Hasan



The Hershey-Chase experiment

ثالثاً: دلائل من تعيين كمية DNA في الخلايا الجسمية والجنسية

تشترط في المادة الوراثية أن تكون كميتها متساوية في جميع خلايا الكائن. وتتناسب هذه الكمية مع عدد الكروموسومات الموجودة في الخلايا الجسمية والخلايا الجنسية حيث تكون محتوى المواد النووية في الأولى ضعف محتواه في الثانية لإحتواء الأولى على عدد من الكروموسومات يساوي ضعف عددها في الثاني. ولكن لابد من التذكير أن عدد الكروموسومات في خلايا الأنواع المختلفة من الكتئنات تكون مختلفة وأن الخلايا الجسمية قبل الإنقسام الإعتيادي **Mitosis** تحتوي على عدد مضاعف من الكروموسومات.



Feature Figure 5.7 A detailed look at DNA's chemical constituents

المصادر :-

1- البكري غالب (1990),مبادئ الهندسة الوراثية.

2- عماش هدى (1994),مبادئ عام الحياة الجزئي.

3- زيدان حيدرواخرون(2013),مبادئ الوراثة الجزيئية.

4- K.Setow.Jane(2004),Genetic Engineering,Principles And Method.

5- D.Watson.James(2004),Moleculer Biology Of The Gene.

Anmar Nazar Hadi

Molecular Biology

الاحياء الجزيئي

مدرس المادة م.م.انمارنزارحسن

Anmar Nazar Hasan

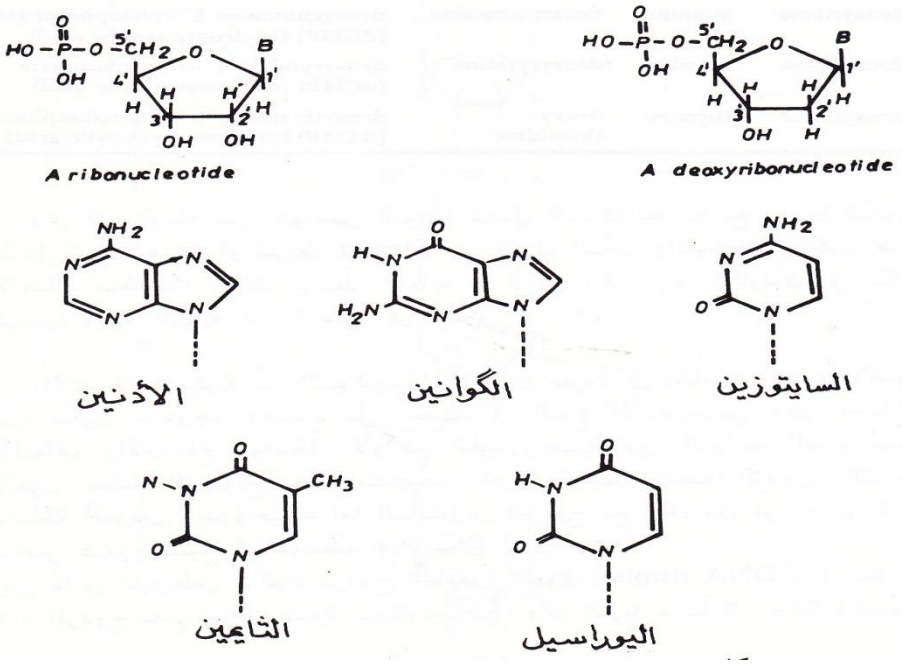
المحاضرة الثانية

المادة الوراثية : تركيبها وخواصها

تتكون المادة الوراثية في الخلايا من الحامض النووي الكروموسومي DNA والحامض النووي الجبلي RNA الملحق بالأول لإتمام وظيفته وتتكون هذه الأحماض من المكونات التالية:

1- **سكر خماسي هو سكر الرايبوز Ribose كما في الحامض النووي الجبلي . وسكر الرايبوز منقوص الأوكسجين كما في الحامض النووي الكروموسومي.**
2- **قواعد نيتروجينية وتشمل البيورينات مثل الأدنين Adenine والكوانين Guanine والبرميدينات وتشمل اليوراسيل Uracil والثايمين Thumine و السايتوسين Cytosine.**
3- **مجاميع الفوسفات jhhg**

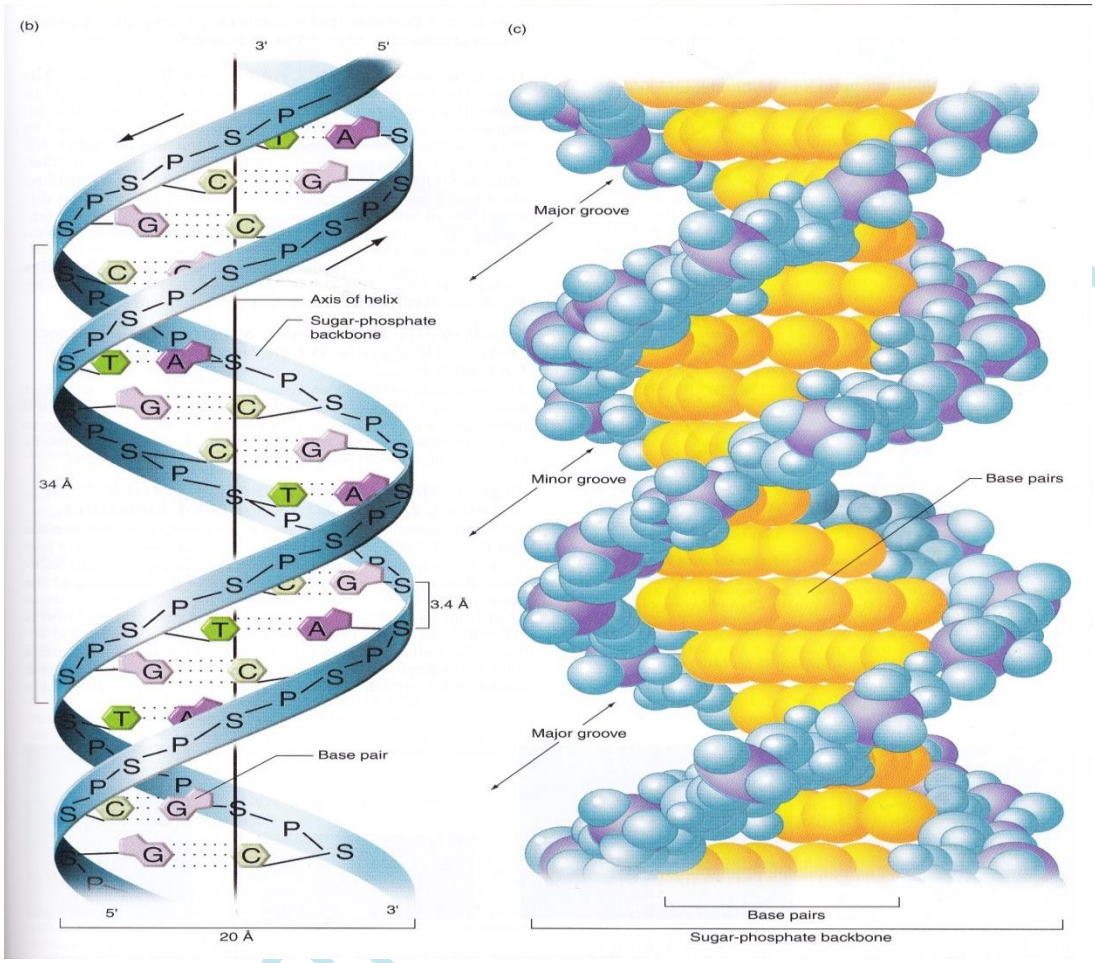
والشكل التالي يمثل التركيب العام للنيوكلوتيدات والقواعد النيتروجينية.



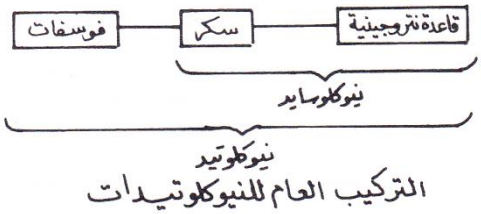
يطلق على النيوكلوتيدات على السكر الرايبوزي

Ribonucleotides وهي وحدات الحامض النووي الجبلي أما الحاوية على السكر الذي ينقصه الأوكسجين فيطلق عليها Deoxyribonucletides وهي وحدات بناء الحامض النووي الكروموسومي .أمما الفرق الثاني بين تركيب الحامض النووي الجبلي والكروموسومي هو أن الأول يحوي على القواعد النيتروجينية الثايمين والسايتوسين والكوانين والأدنين، أما في الثاني فيتم أستبدال القاعدة الثايامين باليوراسيل.

Anmar Nazar Hasan



يطلق على المركب الناتج من اتصال السكر الخماسي بالقاعدة النيتروجينية مصطلح النيوكليوساياد Nucleoside وعند إتمامه باتصال الفوسفات يطلق عليه النيوكليوتايد Nucleotide



وفي كل جزيئة من الحوامض النووية تتصل النيوكلوتيدات مع بعضها لتكون سلاسل غير متفرعة أو شريط Strand من تبادل السكر الفوسفاتي ويكون هذا الإتصال متخصصاً حيث ترتبط النهاية 3 (تمثل ذرة الكاربون في السكر الرايبوزي) مع النهاية 5.

يجدر الإشارة إلى أن الأشرطة المتكونة من النيوكلوتيدات تكون مفردة في الحامض الأميني الجبلي RNA بينما تكون مزدوجة وملتفة على بعضها في النوع الكروموسومي RNA ، حيث تتم عملية الأزدواج والإلتفاف بواسطة الأواصر الهيدروجينية التي تنشأ بين القواعد النيتروجينية وتكون عملية الأزدواج هذه متخصصة بحيث ترتبط قاعدو الأدنين بالثايامين بواسطة آصرتين هيدروجينية أما السايتوسين والكوانين فتزدوج مع بعضهما من خلال ثلاث أواصر هيدروجينية. وكما موضح في الشكا أدناه.

Anmar Nazar Hasan

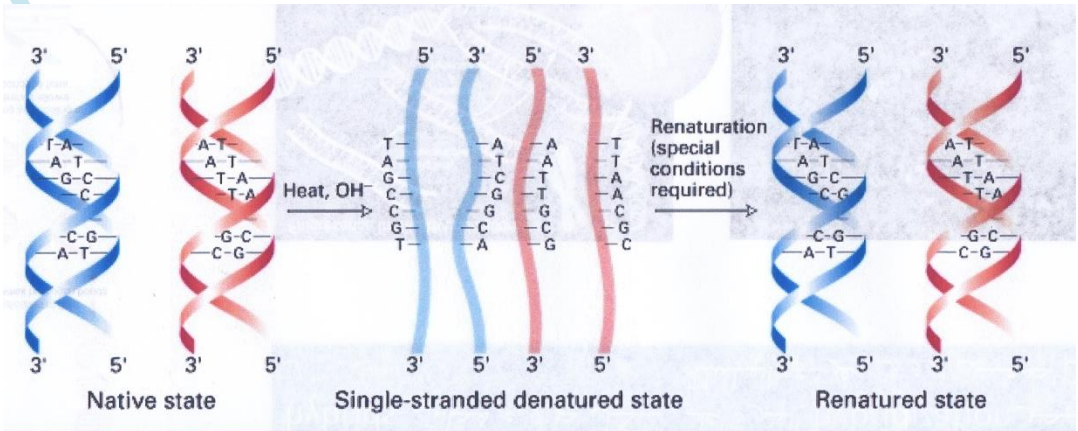
ومن هذين الشريطين يتكون مزدوج الحامض الأميني النووي DNA duplex وإن كل لفة في هذا المزدوج تضم حوالي عشرة نيوكلوتيدات، وإن كلا الشريطين يكون مكمل الواحد للآخر وعليه فان كمية الثايمين تكون مساوية

لكمية الأدنين وأن كمية السايتوسين تكون مشابهة لكمية الكوانين وطبعاً هذه النسب إنما تكون ثابتة في كل نوع من أنواع الكائنات على حده في حين أنها تختلف بين الكائنات المختلفة.

أما الحامض النووي الجبلي RNA فهو كما ذكرنا يتكون من شريط منفرد وإن كانت في بعض الأحيان ملتوية مع بعضها ، وتوجد منه ثلاثة أنواع في الخلية mRNA والذي يقوم بنقل المعلومات الوراثية من الشريط الكروموسومي حامل الصفات الى بيوت تخليق البروتين الموجودة في سايتوبلازم الخلية ثم بعدها يتحلل إلى مكوناته الأولية. أما النوع الثاني فهو tRNA ويقوم بنقل الحوامض الأمينية خلال عمليات الترجمة لغرض ربطها مع بعضها خلال عمليات تخليق البروتين. أما النوع الثالث فهو rRNA وهذا يكون موجود في بيوت تكوين البروتين أو ماتعرف بالرايبوسومات ويكمن دوره في عمليات تخليق البروتين.

الخصائص الكيمياوية والفيزياوية للمادة الوراثية:

1- الثبات والإستقرار: يمكن تشبيه بنية ال DNA بالسلم الحلزوني حيث يشكل السكر الدعائم أما الدرجات فتتكون من القواعد الآزوتية.
2- جزيئة DNA ذو بنية صلبة حيث تعمل الروابط الهيدروجينية بين القواعد على دعم صلابتها.
3- تتميز جزيئة DNA بقابلية التضاعف الذاتي وبقابلية نسخ RNA عنه حيث يؤمن بهذه الطريقة السيطرة الوراثية على تركيب البروتين وبالتالي كافة الفعاليات الحيوية داخل الخلية
4- لجزيئة DNA القدرة على إمتصاص الأشعة في مجال فوق البنفسجية بحيث يقع أعلى إمتصاصية للقواعد النيتروجينية على الطول الموجي 260 نانوميتر
5- تتميز جزيئة الDNA بأنها سريعة التأثر بالحرارة ، حيث يؤدي التسخين على 100م لدقائق إلى فك الروابط الهيدروجينية بين السلسلتين مما يؤدي إلى ما يعرف بمسخ الشريط Denaturation ولدى التبريد البطيء تعاود السلاسل المفردة بالازدواج مع بعضها مرة أخرى



Ammar Nazar Hasan

1- تمتاز محاليل DNA بلزوجتها العالية وتزداد لزوجتها مع زيادة طول الجزيئة، والجزيئة الحلزونية تمتلك لزوجة أكثر من الشريط المنفرد

2- الأوساط العالية الحموضة تحلل جزيئة DNA إلى مكوناتها الأساسية.

3- الأوساط القاعدية تعمل على فك الأواصر الهيدروجينية بين الأسس في السلسلتين مما يؤدي إلى مسخ الجزيئة

4- بعض المواد الكيمياوية مثل Urea و Formamide تزعزع القوى الكارهة للماء في الجزيئة وبالتالي تؤدي إلى فك السلسلتين

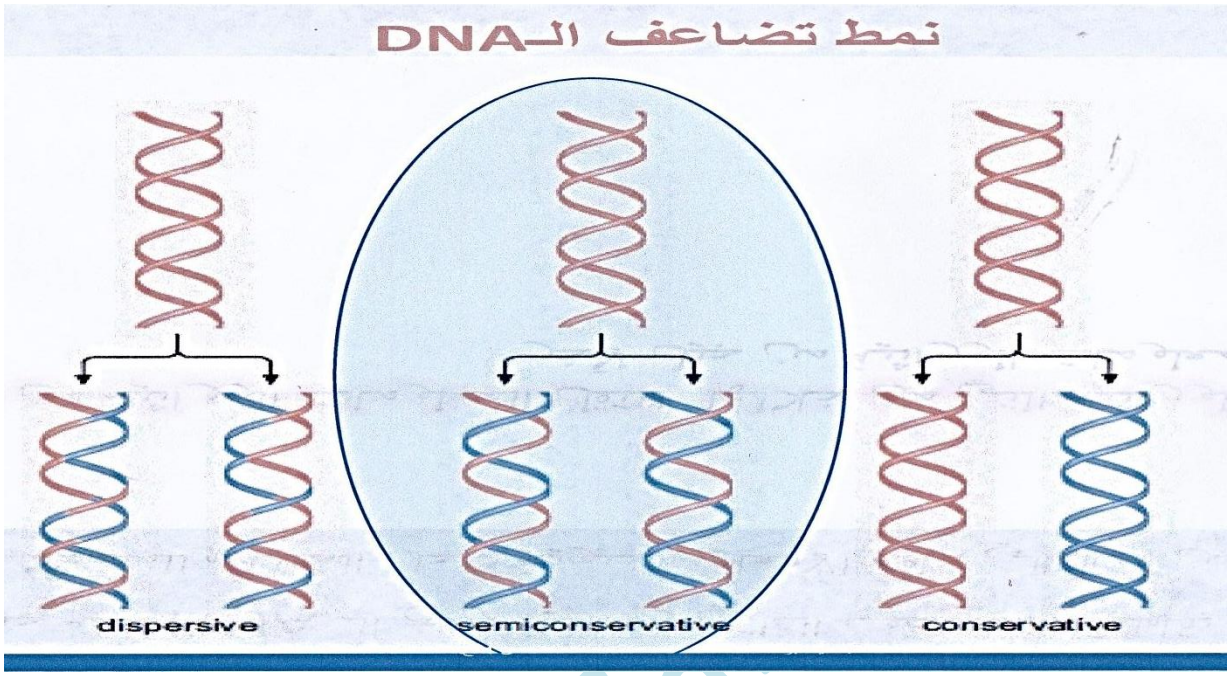
تضاعف ال DNA:

1 kb (kilobase) of DNA or RNA = 1000 bases (single (1 kb) or double-stranded (1 kbp).

1 kb double-stranded DNA = 0.34 µm long

1 kb double-stranded DNA = 660 kd

Anmar Nazar Hasan



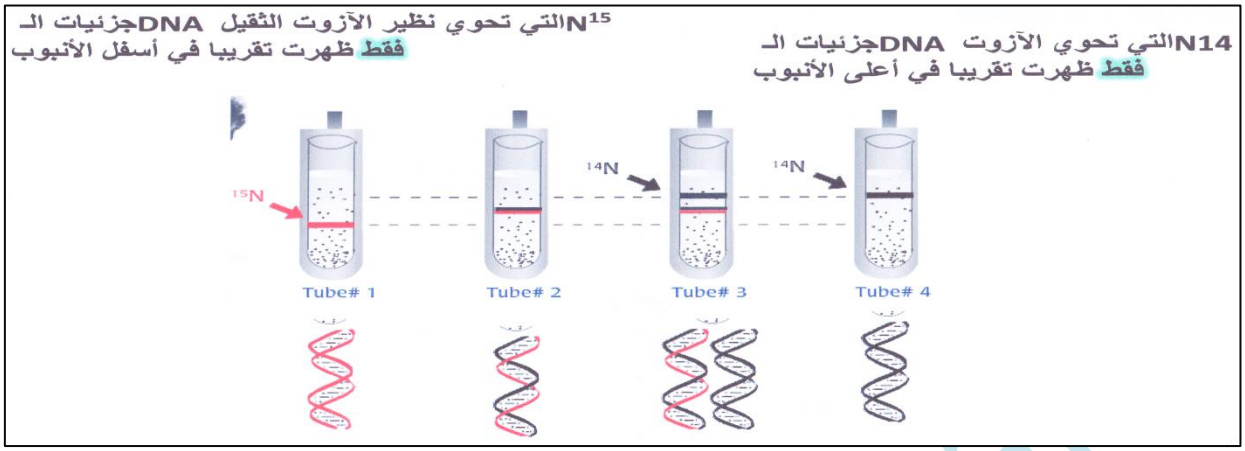
عندما أقترح واطسن وكريك نموذج الحلزون المزدوج التركيب DNA وتزاوج القواعد النيتروجينية المكملة لبعضها البعض فقد أدركا على الفور أن هذا النموذج يمدنا باساس الميكانيكية البسيطة والواضحة لتكرار أو تضاعف

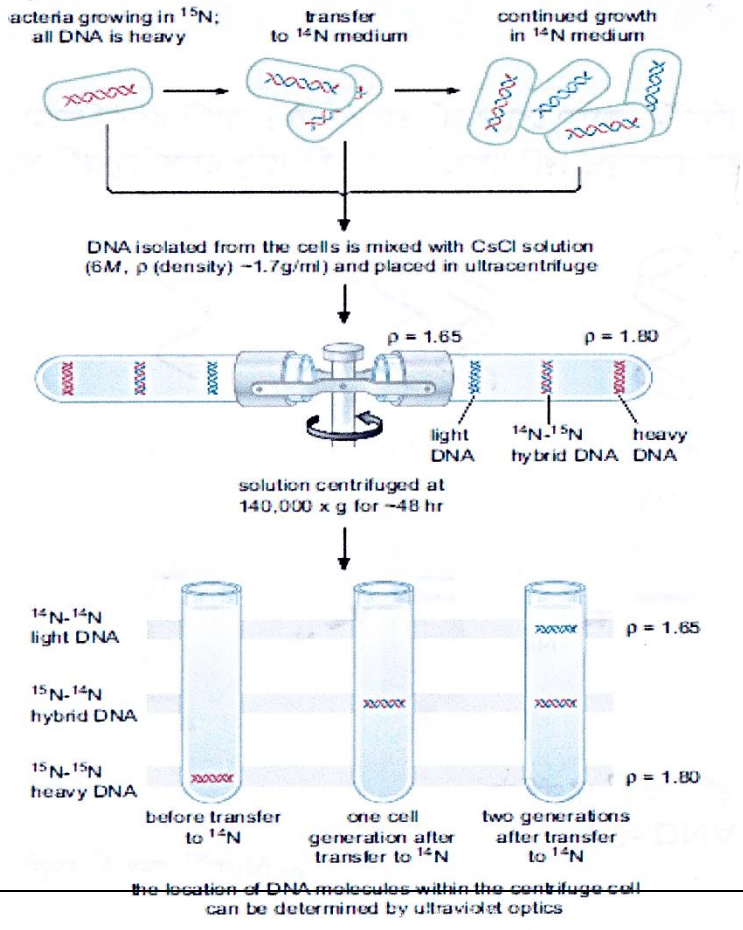
الجزيئة، فاذا ما إنفصل الشريطان المكملان للحلزون المزدوج جراء تكسر الأواصر الهيدروجينية الرابطة بين أزواج القواعد النيتروجينية فان كل من هذين الشريطين يمكن أن يديرا عملية تخليق شريط مكمل جديد على أساس نظام إزدواج القواعد النيتروجينية ، بمعنى أن كل شريط يمكن أن يعمل كقالب Template لشريط مكمل جديد أي لترتيب النيوكلوسيدات الجديد والتي ترتبط بعد ذلك بواسطة أواصر فوسفاتية لتكوين الشريط المكمل الجديد. وتكون النتيجة إنتاج اثنين من الحلزون المزدوج مطابقين تماما للحلزون المزدوج الأصلي. إن هذا النوع من التكرار يسمى التكرار شبه المحافظ Semiconservative

لقد جاء مقترح حدوث تكرار DNA بطريقة شبه محافظة من قبل واطسن وكريك بعد شهر واحد من اكتشافهما لطبية الحلزون المزدوج وكان أكثر اقناعاً من الناحية النظرية من بين مقترحات أخرى في توضيح احدى الخواص المهمة للمادة التي رُشِحَت أن تكون مسؤولة عن خزن ونقل المعلومات الوراثية التي قيل أنها يجب أن تقوم بهذه المهمة بصورة أمينة ودقيقة وغير قابلة للخطأ وبشكل يؤمن حصول الأجيال الجديدة على الكمية والنوعية نفسها من المعلومات الوراثية الموجودة في الآباء. وعلية يمكن القول أن طريقة التكرار شبه المحافظ قد أوضحت الغموض الذي يكنف عملية تكرار ال DNA وأعطت تفسيرا منطقياً للعديد من التساؤلات المطروحة آن ذاك حول الكيفية التي من خلالها يمكن DNA أن تتكرر بدون حدوث خطأ. وكان لابد أولاً من إثبات حدوث

التكرار على نمط شبه المحافظ تجريبيا دعماً للمقترح المقبول نظرياً وجاء هذا الإثبات من خلال تجربة ميسلسون و ستال

Anmar Nazar Hasan





the location of DNA molecules within the centrifuge cell can be determined by ultraviolet optics

تجربة ميسلسون وستال لإثبات تكرار DNA شبه المحافظ:

أجرى Meslson & Stahl عام 1958 تجربة رائدة لإثبات أن تكرار DNA يحدث بطريقة شبه محافظة باستخدام النظير الثقيل (N^{15}) للنتروجين والذي يمكن تلخيصها كالآتي:

1- تم تنمية بكتريا *E coli* في وسط يحتوي النظير الثقيل للنيتروجين N^{15} كمصدراً وحيداً للنيتروجين

ولعدة أجيال، فالخلايا النامية في مثل هذا الوسط سوف تحتوي في تراكيبها على النيتروجين الثقيل بدلا من النيتروجين الإعتيادي N^{14} بما في ذلك DNA إن مثل هذا DNA يكون أثقل كثافة من الإعتيادي وعليه يمكن عزلهما عن بعضهما بطريقة الطرد المركزي الفائق في كلوريد السيزيوم المتدرج الكثافة.

2- تم تنقية البكتريا الحاوية على DNA الثقيل ولجيل واحد فقط (دورة تكرار واحدة) في وسط يحتوي على النيتروجين الإعتيادي بدلا من النيتروجين الثقيل .

Anmar Nazar Hasan

1- تم تنقية البكتريا في الفقرة السابقة في وسط مشابه يحتوي على النيتروجين الإعتيادي وبجيل ثاني فقط.

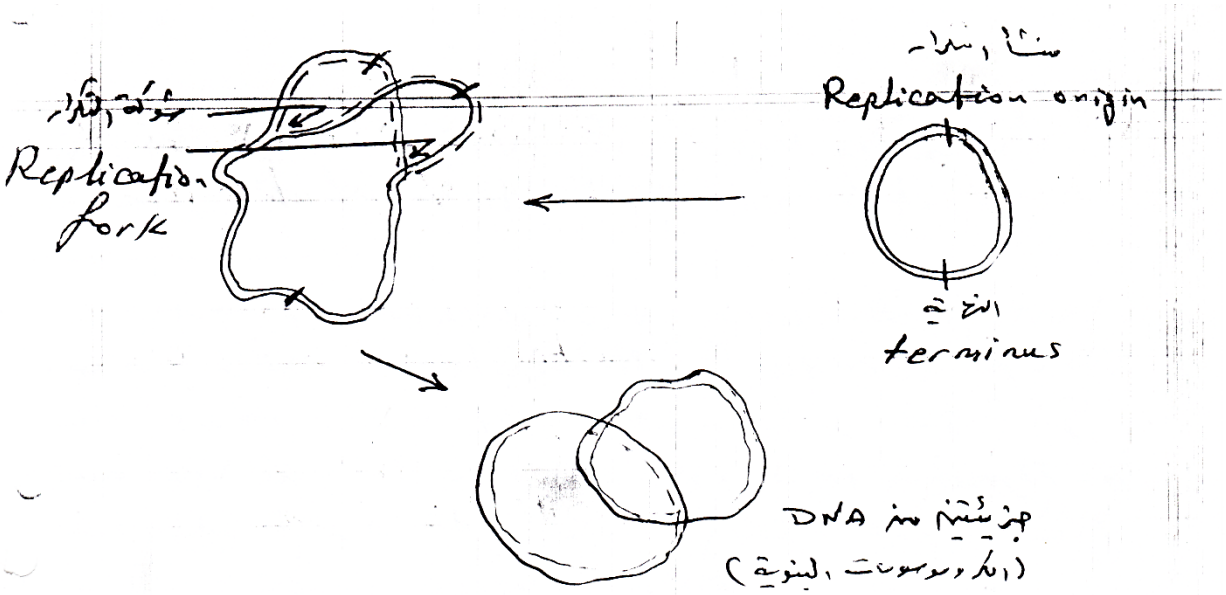
قام الباحثان بعزل DNA وتنقيته من البكتريا المنماة في الخطوات المذكورة أعلاه وفي كل مرحلة من مراحل التنمية على حده ودرسا كثافة الDNA باستعمال طريقة الطرد المركزي الفائق المتدرج الكثافة ولاحظا أن DNA في مرحلة تنمية البكتريا على النيتروجين الثقيل ولعدة أجيال كانت كثافته عالية أما الDNA المعزول من البكتريا بعد جيل من التنمية في النيتروجين الإعتيادي فيمتلك كثافة متوسطة بين N^{15} & N^{14} وتكون حزمة في محلولو كلوريك السيزيوم في موقع أعلى من الحزمة التي تكونها N^{15} في المرحلة الأولى. في حين ثبت أن ال DNA المعزول في مرحلة التنمية الثالثة تكونت حزمتين واحدة مطابقة للحزمة المتوسطة الكثافة والأخرى أقل كثافة مما يشير إلى أن هذه الحزمة تتألف من DNA يحتوي N^{14} الاعتيادي. هذه النتائج تتفق مع التكرار المتوقع بالطريقة شبه المحافظة التي أقترحها واطسن و كريك.

N^{14}

تصور عملية التكرار وثنائية إتجاه التكرار :

أجريت مجموعة من التجارب عام 1963 باستخدام تقنية الإشعاع الذاتي ، حيث تم فيها تنقية خلايا بكتيريا E.coli بوجود الثايامين المشع ولمدة جيلين ثم عُزِلَ DNA بعناية وتم التقاط صور الإشعاع الذاتي للمستحضرات المعزولة منه ، وقد كشفت أغلب التحضيرات من التصوير الإشعاعي الذاتي عن تركيب دائري كامل مع حلقتين منفرجتين ولوحظ أن النشاط الإشعاعي يصل إلى الضعف تقريباً في التركيب الدائري الأصلي ، بينما تكون ضعيفة في الحلقتين المنفرجتين. وكان هذا دليلا آخر من أن عملية التكرار ذو نمط شبه محافظ وأن DNA البكتريا يتضاعف كدائرة كاملة وأن التكرار يبدأ من نقطة نمو واحدة ، يعني ذلك أنه التكرار يبدأ من موضع ثابت سمي بمنشأ التكرار حيث تنفتح الأشرطة الأصلية لتستنسخ عليها أشرطة جديدة . وقد أثبتت التجارب اللاحقة أن إتجاه تكون الأشرطة الجديده تكون ثنائية . فبعد بدىء التكرار من نقطة النمو تسير عملية التكوين الأشرطة الجديدة باتجاهين متعاكسين حول DNA الدائري وكل منهما يستنسخ 50% من الشريط ليلتقي كلاهما بالجهة المقابلة وتدعى منطقة إنفصال الشريطين الأبويين (الأصليين) بشوكة التكرار Replication fork .

Ammar Nazar Hasan



(التكرار ثنائي الاتجاه Bidirectional في E. coli)

Anmar Nazar

المصادر :-

1- البكري غالب (1990),مبادئ الهندسة الوراثية.

2- عماش هدى (1994),مبادئ عام الحياة الجزئي.

3- زيدان حيدرواخرون(2013),مبادئ الوراثة الجزيئية.

4- K.Setow.Jane(2004),Genetic Engineering,Principles And Method.

5- D.Watson.James(2004),Moleculer Biology Of The Gene.

Anmar Nazar

Molecular Biology

الاحياء الجزيئي

مدرس المادة م.م.انمارنزارحسن

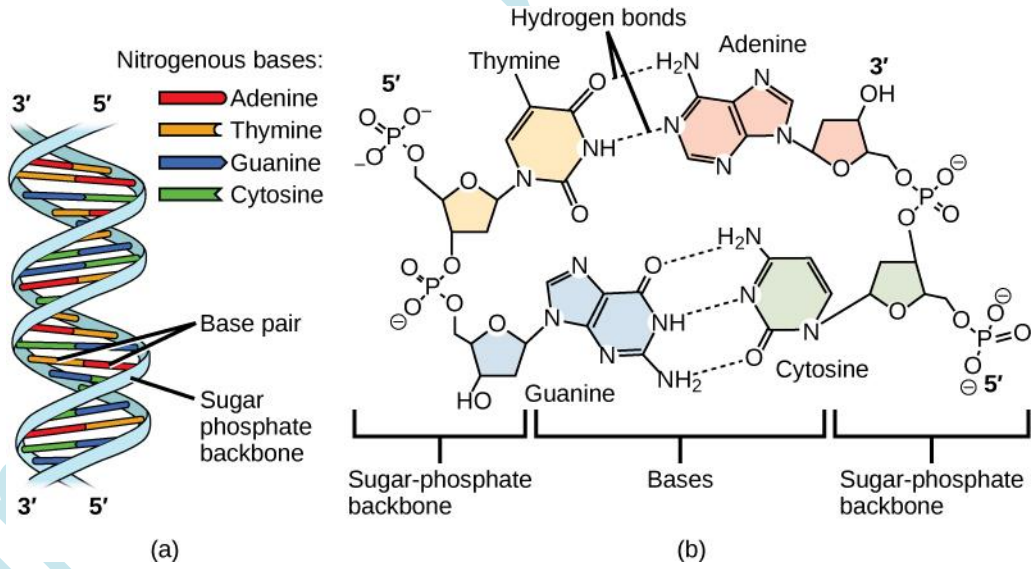
Anmar Nazar Hasan

المحاضرة الثالثة

آلية تضاعف الحامض الأميني الرايبوزي منقوص الأوكسجين DNA

تعد خطوة تخليق الحامض النووي DNA من فعاليات الخلية البنائية المهمة وبالتالي فهو يحتاج إلى صرف طاقة لإكمالة . وكما ذكرنا فان عملية التضاعف ضرورية جداً قبل إنقسام الخلية سواء في الخلايا حقيقية النواة أو بدائية النواة ، ذلك لأن بدون تضاعف أشرطة DNA يعني أن الخلايا الجديدة ستكون بدون معلومات وراثية وبالتالي فهي لن تستطيع أن تعبر عن نفسها وبالتالي لن تتمكن من إدامة فعالياتها الحيوية وسرعان ما تموت.

ذكرنا سابقاً أن كل جزيئة DNA تتكون من حلزون مزدوج لشريطين متقابلين ومكملين لبعضهما ومتعاكسة حيث النهاية 3 من الشريط الأول تقابل النهاية 5 من الشريط الثاني كما ويكون الشريطان متعاكسان من الناحية القطبية Antiparallel وهذا التعاكس يكون مهم في عملية التضاعف .



إن عمليتا تخليق وتضاعف ال DNA هما عمليتان متلازمتان لا يمكن فصل بينهما تؤديان في النهاية إلى تكون أشرطة جديدة، حيث أن عملية التضاعف والفصل تبدأ في مكان أو نقطة محددة تسمى شوكة التكرار Replication fork ، فخلال عملية التضاعف يكون أحد الشريطين بمثابة القالب Template لتكوين الشريط الجديد وبالتالي تتكون أربع أشرطة تمتلك نفس البناء .

إن تضاعف الشريطين لا يكون بشكل متشابه لكليهما فكل شريط يتضاعف باسلوب يختلف عن الشريط الآخر وإن ذلك مرده أن عملية البناء تكون دائما من النهاية 3 إلى النهاية 5 وبما أن الشريطين متعاكسين

فانه خلال التضاعف فان أحدهما سوف يتضاعف بالإتجاه المذكور (3 الى 5) في حين أن الشريط الثاني سيكون بنائه بشكل معاكس أي (5 الى 3) وبالتالي تحدث هنا عملية بناء أكثر تعقيدا من بناء الشريط الأول.

Anmar Nazar Hasan

يلاحظ أن عملية تخليق وتضاعف DNA يشترك فيها العديد من الأنزيمات :

1- DNA-helicase الأنزيم المسؤول عن فك الالتفاف بين شريطي ال DNA و كسر الأواصر الهيدروجينية التي تربط القواعد لبنيوكلوتيدية وذلك عند شوكة التضاعف
2- DNA-dependent RNA- Polymerase : وهو الأنزيم الذي يساعد في الحصول على قطع صغيرة من RNA تكون بمثابة قطع البدء في عمليات التضاعف والتي تعرف أو تسمى بقطع أوكوزاكي Okazaki fragments . والجدير بالذكر أن هذا الأنزيم يختلف عن نظيرة الذي يشترك في عمليات الإستنساخ نظراً لإختلاف حساسيتهم للمضاد الحيوي الريفامبين.
3- DNA-Polymerase : يوجد منه ثلاثة أنواع وهي

أ- Pol-I : ويكون مسؤول عن حل قطعة البدء من DNA المخلق حديثاً و إضافة DNA محلها.

ب- Pol-II : هو بروتين 89.9 كيلو دالتون تم عزله في الأصل من قبل توماس كورنبرج في عام 1970 وهذا الأنزيم لم يتضح دوره بشكل كافي لكن الإجماع يظهر أن Pol II له دور كأنزيم احتياطي في تكرار الحمض النووي في الخلايا بدائية النواة. حيث يقوم باضافة نيوكلوتيدات جديدة وبصورة متعاقبة إلى الشريط النامي (الجديد) وحسب قاعدة إزدواج القواعد النيتروجينية وبالإعتماد على الشريط الأبوي القديم. حيث يحتاج هذا الأنزيم لإكمال عمله إلى

- الأنواع الربعة من النيوكلوتيدات منقوصة الأوكسجين ثلاثي الفوسفات والتي تسمى بمولدات النيوكلوتيدات وهي dGTP, dTTP, dATP, dCTP
- أيونات المغنيسيوم (Mg^{+2}) وهي مهمة لفعالية الأنزيم
- قالب من DNA الذي يمكن أن يكون شريطا مزدوجاً أو منفردا.
- باديء Primer عبارة عن قطعة صغيرة من DNA أو RNA مكملة بتتابع معين وذات نهاية 3-OH حرة.

والملاحظة الواجب ذكرها هنا أن خاصية عمل أنزيم DNA-polymerase تكون فقط بالاتجاه 3 ⟵ 5 في حين أن التضاعف في الشريطين سيكونان بالإتجاهين 3 ⟵ 5 و 5 ⟵ 3. وهذا ما سنراه في الصفحات التالية.

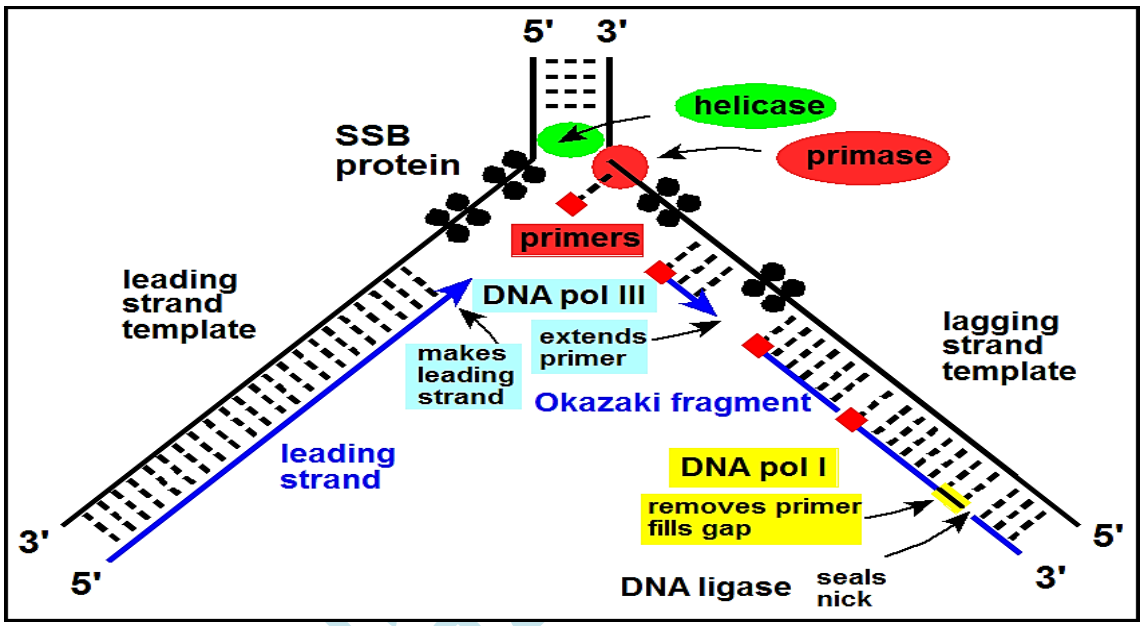
ت- Pol-III دور هذا الأنزيم يكمن في إضافة النيوكلوتيدات إلى قطع البدء.

4- الأنزيم اللاحم DNA Ligase : يقوم بلحم القطع الصغيرة من DNA

تبدأ عملية التكرار من نقطة محددة تعرف بشوكة التضاعف وهي نقطة إنفصال الشريطين الأبويين ، حيث تنفتح الأشرطة الأصلية والتي تكون بمثابة قوالب لتستنسخ عليها أشرطة جديدة ... وقد أثبتت التجارب اللاحقة أن اتجاه تكون الأشرطة الجديدة تكون ثنائية Bidirectional . فبعد بدء التكرار من نقطة النمو الفريدة Single growing point تسير عملية تكوين الأشرطة باتجاهين متعاكسين حول ال DNA الدائري وكل منها يستنسخ 50% من الشريط الأم حيث يلتقي كلاهما في الجهة المقابلة.

Ammar Nazar Hasan

تبدأ عملية التضاعف عندما يقوم أنزيم DNA-Helicase بفك الأواصر الهيدروجينية الرابطة بين شريطي ال DNA عند منطقة شوكة التضاعف . حيث يتكون شريطين منفردين يكون بناء أحدهما مستمراً وهذا يمثل الشريط النامي باتجاه 5 ⟵ 3 ويسمى بالشريط البنيوي الرائد Leading daughter strand ، أما بالنسبة للشريط الثاني فاستطالته تكون غير مستمرة ويسمى عادة بالشريط البنيوي المتباطيء Lagging daughter strand



حيث تخلق قطع RNA صغيرة ذات نهايات 3-OH حرة تستعمل كبادئات لإضافة النيوكلوتيدات من قبل أنزيم DNA-polymerase وهكذا ينشأ هذا الشريط متقطعا غير مربوط باواصر ثنائية الأستر حيث يطلق على قطع DNA الصغيرة المخلقة على طول الشريط المتباطيء قطع أوكازوكي Okazaki fragments نسبة إلى الباحث الياباني الذي أكتشف هذه الميكانيكية، ويبلغ طول القطعة الواحدة 1000 نيوكلوتايد تقريبا ويعتمد عددها على طول شريط DNA قيد التضاعف

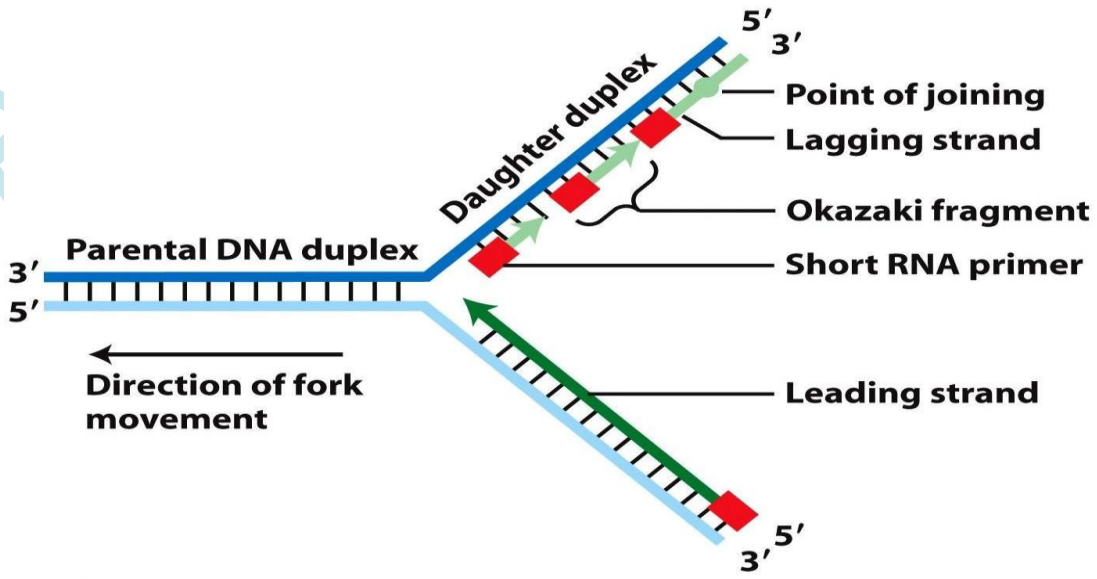
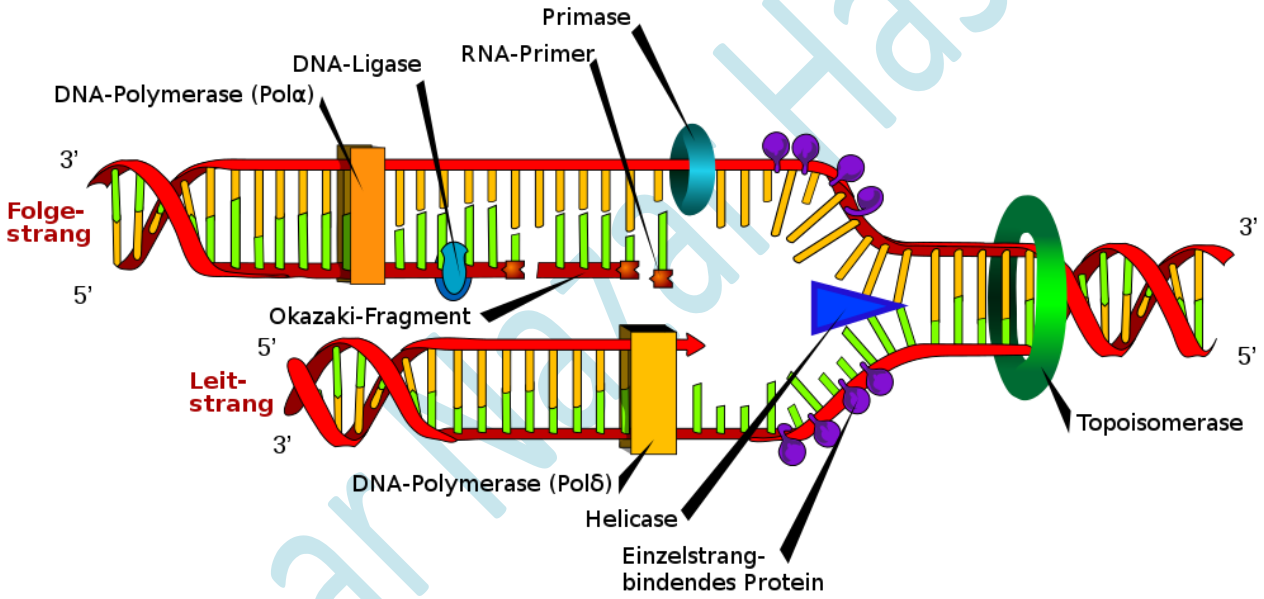


Figure 4-30

بعد إنتهاء تضاعف الشريط المتباطيء بصورته المتقطعة تبدأ مرحلة أستئصال وإزالة البواديء Primers ليقوم أنزيم DNA-polymerase باملاء الفجوات والفراغات الناشئة من إزالة البواديء باتجاه 5 3 . لكن ارتباط القطع المتقاربة لا يتحقق الا بواسطة أنزيم آخر هو DNA-Ligase الذي يقوم ببناء الآصرة Phospho diester bonds بين النيوكلوتيدات المتجاورة مما يؤدي إلى تكوين شريط مستمر وكامل.

بعدها يقوم انزيم DNA-polymerase باعادة قراءة الأشرطة الجديدة المتكونة وفي حال وجد أن هناك خط في تتابع القواعد خلال عمليات التضاعف يقوم هذا الأنزيم بتصحيح هذه الأخطاء



Anmar Nizar Hasan

المصادر :-

1- البكري غالب (1990),مبادئ الهندسة الوراثية.

2- عماش هدى (1994),مبادئ عام الحياة الجزئي.

3- زيدان حيدرواخرون(2013),مبادئ الوراثة الجزيئية.

4- K.Setow.Jane(2004),Genetic Engineering,Principles And Method.

5- D.Watson.James(2004),Moleculer Biology Of The Gene.

Anmar Nazar Hasan

Anmar Nazar Hasan

Molecular Biology

الاحياء الجزيئي

مدرس المادة م.م.انمارنزارحسن

Anmar Nazar Hasan

المحاضرة الرابعة

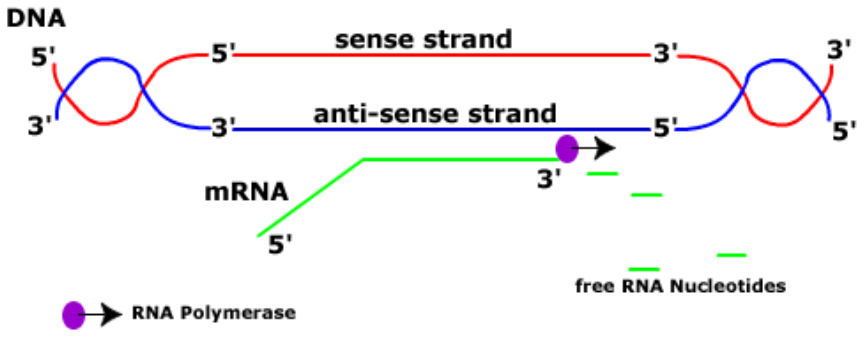
آلية بناء البروتين

تتضمن عملية بناء البروتين خطوتين رئيسيتين تتعاقب الواحدة بعد الثانية مباشرة

أولى الخطوتين هما الإستنساخ : وفيها يتم أستنساخ الجين المحدد بعينه وبناء ال mRNA وذلك بالإعتماد على تتابع الشفرات الوراثية على الDNA:

أما الخطوة الثانية فهي ترجمة هذه الشفرة الوراثية إلى أحماض أمينية وذلك بالإعتماد على تتابع الشفرات الوراثية وبوجود tRNA و rRNA .

الخطوة الأولى (الإستنساخ) : وهي عملية معقدة وتحدث تحت ظروف محكمة ، وبالرغم من وجود ثلاثة أنواع من RNA ولكن الظاهر أن عملية تخليقها وكوثرتها متشابهة وتتم بمساعدة أنزيم DNA-dependent-RNA-polymerase والذي يحتاج إلى مواد الأساس UTP,ATP,GTP,CTP ليكون شريط مفرد لأحد أشرطة DNA توجد فيه قاعدة يوراسيل بدلاً من الثايامين وعند إضافة نيوكلوتيد واحد تنطلق جزيئة فوسفات ثنائية. والحقيقة أن عملية تخليق RNA تتم خلال عملية الإستنساخ وبما أن شريط RNA شريط مفرد فان شريط واحد من أشرطة DNA المزدوجة هو الذي يستنسخ ، وعليه قسمت الأشرطة إلى اشرطة حساسة Sense strands وهي التي يتم استنساخها لتعطي RAN فعال أما الشريط الثاني فهو المعاكس Anti-sense strand وهي الأشرطة التي لاتستنسخ أو في بعض الأحيان تستنسخ ولكن غير فعالة ، والأنزيم الذي يقوم بعملية الإستنساخ يعرف باسم RNA Polymerase

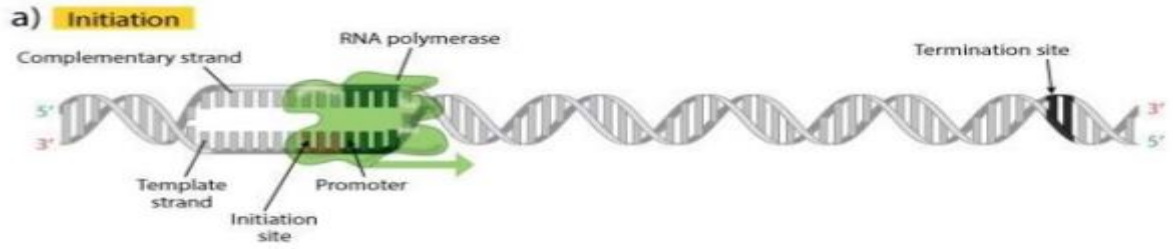


وتسمى المنطقة التي يبدأ فيها الأنزيم عملية الإستنساخ بالمنطقة الممهدة Premotor region المكونة من مجموعة من القواعد البريميدية تصل إلى 20-50 نيوكلوتيد وهي تتكرر تقريباً لكل 410 زوج من النيوكلوتيدات. إذ تعرف عملية تمييز الأنزيم لهذه المنطقة بعملية التعرف Recognition وخلال عملية

التعرف يرتبط ويتداخل الأنزيم مع أشرطة DNA ، وعندما يتصل الأنزيم مع منطقة التعرف تصبح الأشرطة جاهزة للاستنساخ ويتم ذلك بفتح الأشرطة خلال عملية الفتح Promoter Opening حيث تنتفخ الأشرطة في البداية لمسافة 8 أزواج من النيوكلوتيدات ثم يبدأ الأستنساخ اعتماداً على ازدواج القواعد النيتروجينية

Anmar Nazar Hasan

المذكور سابقاً . تسمى هذه الخطوة التي تبدأ من التعرف على المنطقة الممهدة وصولا إلى بدء عمل أنزيم RNA-polymerase بمرحلة البدء Initiation وهي أول مرحلة من مراحل عملية الإستنساخ ويبين الشكل التالي خطوة البدء



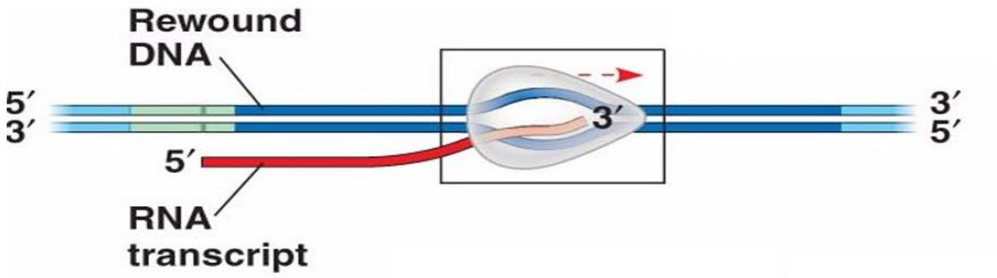
(a) To initiate the transcription process, **RNA polymerase**, shown as a **large green blob**, binds to a **promoter sequence** shown in **dark green** on a **double-stranded DNA molecule**.

(b) Once bound, RNA polymerase and its associated proteins bend the DNA to separate the two strands.

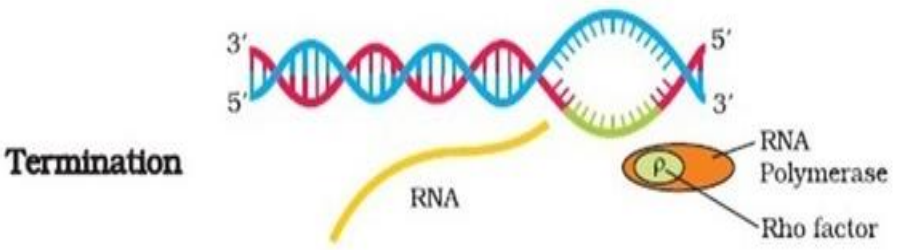
(c) A DNA sequence downstream of the promoter region is labeled the **termination site**, and it indicates where the transcription process will end.

بعد عملية البدء وخلال تجميع RNA يلاحظ أن أول النيوكلوتيدات التي تضاف هي من البيورينات وعندها ينفصل مايعرف بالعامل سيكما من أنزيم DNA-polymerase ليترك الأنزيم يكمل مهمته باضافة النيوكلوتيدات (بحدود 40-50 نيوكليوتيد في الثانية الواحدة عند 37م)لتتكون عندنا مايعرف سلسلة m-RNA وهذه الخطوة تعرف بخطوة الإستطالة Elongation. وهي الخطوة التي يتم خلالها اكتمال شريط m-RNA .

- RNA polymerase moves along template strand of DNA adding complimentary RNA nucleotides
  - 5'→3' direction
  - A – U; G – C



تستمر عملية الإستنساخ إلى أن يصل الأنزيم إلى إشارة الوقف (شفرات معينة يتم عندها وقف عملية الإستنساخ). وعند هذا الحد يحتاج الأنزيم مرة ثانية إلى العامل سيكما (الذي ترك الأنزيم في مرحلة الاستطالة)حيث يعتقد أن يتداخل مع جزيئة RNA المتكونة والأنزيم ويؤدي إلى فصلهم بمساعدة بروتين خاص يساعد على عملية الإطلاق وهو مايعرف بالعامل Kappa. وهذه الخطوة تعرف باسم خطوة الإنهاء Termination



من المهم معرفة أن جزيئة m-RNA الأولية المتكونة تحتوي على إنترونات و أكسونات

الأنترون Intron هي الأجزاء التي تتم إزالتها من الجزيئة ولا تترجم خلال المراحل التالية

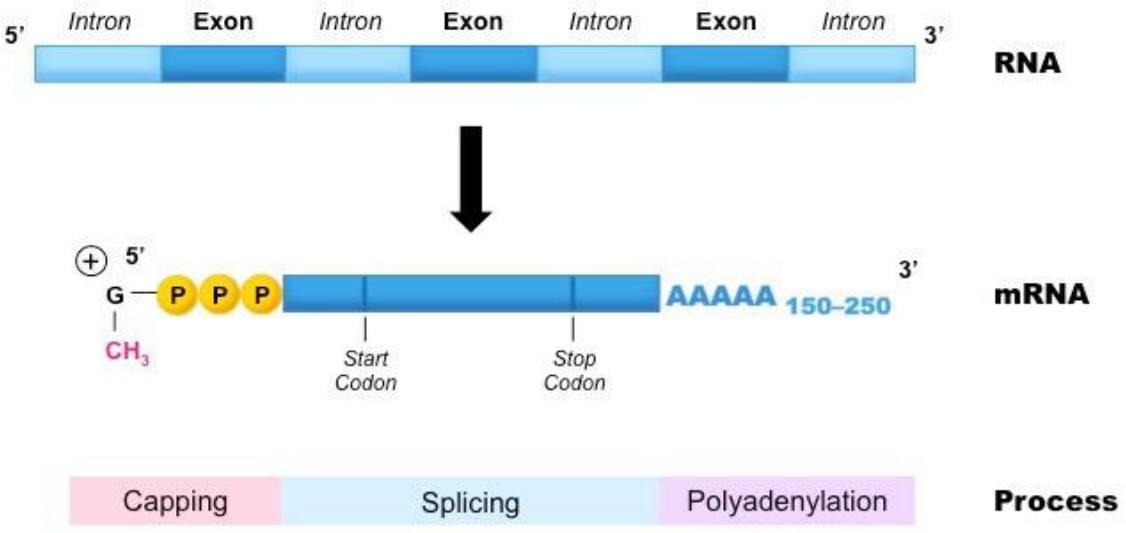
الأكسون Exon هي منطقة في سلسلة m-RNA الأولية التي يتم ترجمتها إلى أحماض أمينية وتعتبر السلسلة الناضجة لل m-RNA مكونة فقط من الإكسونات .

إن وحدات r-RNA المتكونة تحدث لها تحورات بعد الإستنساخ. والسؤال المطروح هو كيف يتم إنضاج جزيئة m-RNA المتكونة حديثاً Post- transcriptional modification ، أي كيف يتم إزالة الأنترونات في الجزيئة والإبقاء على الإكسونات التي سيتم ترجمتها فيما بعد؟

إن ذلك يتم عن طريق :

1- إزالة الإنترونات :
2- إضافة القبعة: وذلك يتم باضافة نيولوتيدات الكوانين بحيث يرتبط مع النيكلوتيد الأول في شريط m-RNA على الطرف الأول من الشريط ، وتكمن أهمية هذه القبعة بما يلي:
   أ- ثبات وحماية m-RNA من التحلل في السيتوبلازم
   ب- لها دور مهم في عمليات الترجمة لتالية
   ت- تشكيل إشارة لإرتباط m-RNA بالرايبوسومات
3- إضافة نهاية أدنين : حيث يتم إضافة وحدات متكررة (50-250) وحدة نيوكيلوتيدية الأدنين وهذه العملية تتلخص أهميتها في
   أ- يساعد m-RNA على الخروج من الغلاف النووي بالنسبة للخلايا حقيقية النواة.
   ب- هذه الإضافة تمنع تحلل m-RNA وتحطمه عند خروجه إلى السايتوبلازم.
   ت- هذه الإضافة تساعد m-RNA بالارتباط مع الرايبوسومات في السايتوبلازم

Ammar Nazar Hasan



يعد r-RNA أحد أنواع الحمض النووي الريبوزي وهو المكون الرئيس للريبوسوم. يتكوّن الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي داخل النوية. ويحتوي على وحدة تحتية كبيرة و وحدة تحتية صغيرة حيث يتكوّن معقدا منهما ، وهو ذو وزن جزيئي كبير. وتربط الوحدة التحتية الصغيرة في الريبوسوم بين الحمض النووي الريبوزي الرسول و الحمض النووي الريبوزي الناقل ، في حين تقوم الوحدة التحتية الكبيرة بالمساعدة في تكوين الرابطة الببتدية بين الأحماض الأمينية في سلسلة بولي ببتيد (بروتين).

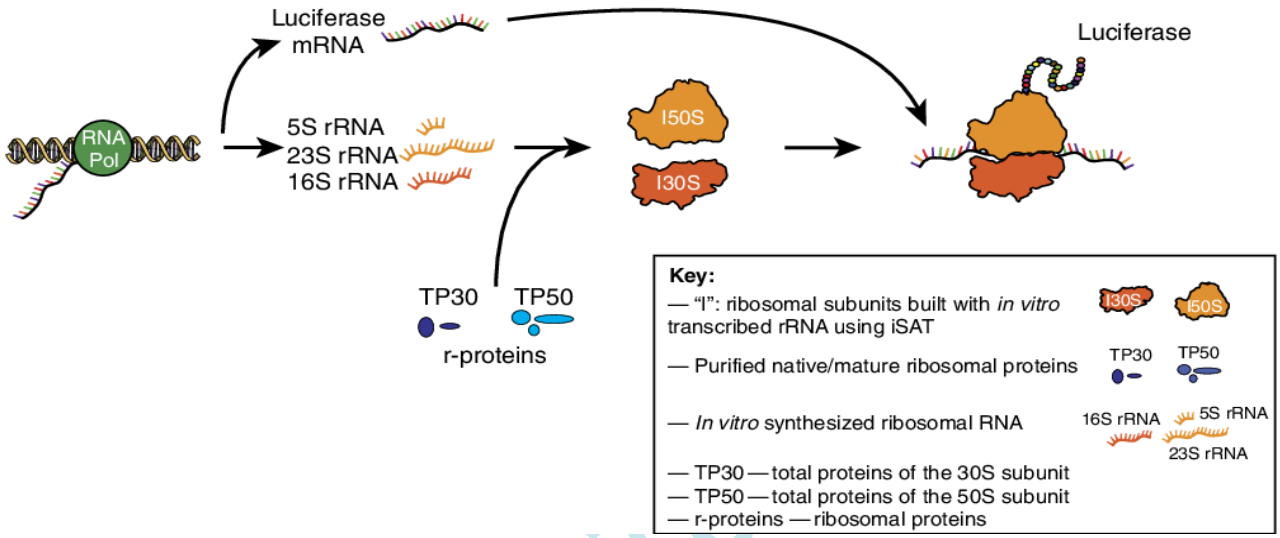
يحتوي الرايبوسوم على أربعة مواقع للأرتباط:

1- **موقع أرتباط m-RNA وهي عبارة عن منطقة الإرتباط بين الوحدتين البنائية في للرايبوسوم**
2- **ثلاثة مواقع لإرتباط t-RNA تشكل ثلاثة مواقع ارتباط على الوحدة البنائية الكبيرة للرايبوسوم هي A , P, E**

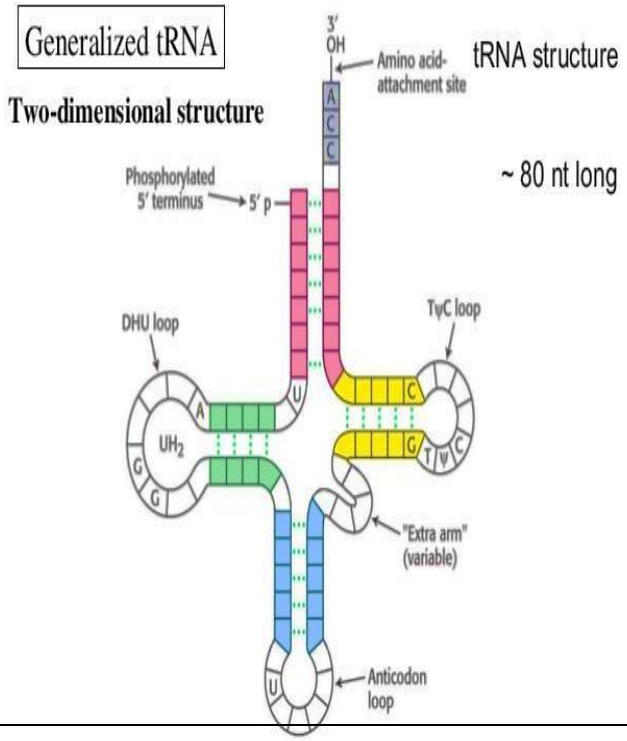
حيث أن موقع A هو موقع أرتباط t-RNA الحامل للحامض الأميني الذي سيتم إضافته للسلسلة.
الموقع P هو موقع أرتباط t-RNA الحامل للسلسلة النامية من عديد الببتيد.
الموقع E هو موقع ترك t-RNA للحوامض الأمينية وربطها بالسلسلة النامية من عديد الببتيد ومغادرة الرايبوسوم
يمكن القول أن r-RNA لا تحتوي على نهاية 5 فهي إذن لا تحتوي على صفات السلاسل التي تكونت في البداية والحقيقة إن أنواع RNA الموجودة في بيوت تخليق البروتين وهي 5S, 23S, 16S هي تسلسل أو نسخ لمعلومات وراثية على DNA تدعى ب Ribosomal RNA genes التي تحوي معلومات وراثية والمناطق فيه مرتبة المنطقة الأولى للنوع 16S ، والثانية لل 23S والثالثة لل 5S وعند استنساخ المنطقة العائدة لل 16S يقوم أنزيم هاضم للأحماض النووية الداخلية بفصل هذه السلسلة عن التي تليها والسلسلة المفصولة تواً والعائدة لل 16S هي مادة سابقة لل

Ammar Nazar

16S RNA التي تعاني إزالة بعض النيوكلوتيدات من طرف واحد أو طرفين بواسطة أنزيمات هاضمة للأحماض النووية خارجية Exonucleases لتكوين الجزيئة الاعتيادية ويحدث نفس الشيء بالنسبة لل 23S و لل 5S . وهذه الآلية التي يتم بها تكوين RNAs تضمن للخلايا أن الأنواع المختلفة تتكون بنسب متكافئة.



الحامض النووي الريبوزي الناقل أو RNA ناقل حمض نووي ريبوزي ناقل :-Transfer RNA or t RNAهو جزيء محوّل، ويتكون الحمض النووي الريبوزي الناقل عادة طوله من 73 حتى 93 نوكليوتيد وهو يساعد في ترابط سلسلات النوكليوتيدات المكونة للحمض النووي (الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين أو الحمض النووي الريبوزي) وتكوين الأحماض الأمينية للبروتينات .ظيفة الحمض النووي الريبوزي النقال t-RNA هي قراءة كودون (ثلاث نيوكليوتيدات) الذي يحمل RNA الرسول حمض نووي ريبوزي رسول، وإذا كان لديه الحمض الأميني المناسب للثلاثة (حسب الشيفرة الجينيّة), فإنه يرتبط إلى الريبوسوم، حيث يتم إرفاق الببتيد (الحمض الأميني) بسلسلة البروتينات البسيطة المبنية لتكوين بروتين أكثر تعقيدا . بالتالي، الحمض النووي الريبوزي النقال tRNA يساعد في عملية ترجمة الجينات وإنتاج بروتينات. وهو عندما يفعل ذلك فهو يساعد الرنا المرسال mRNAالذي يحمل الشفرة لتكوين بروتين.

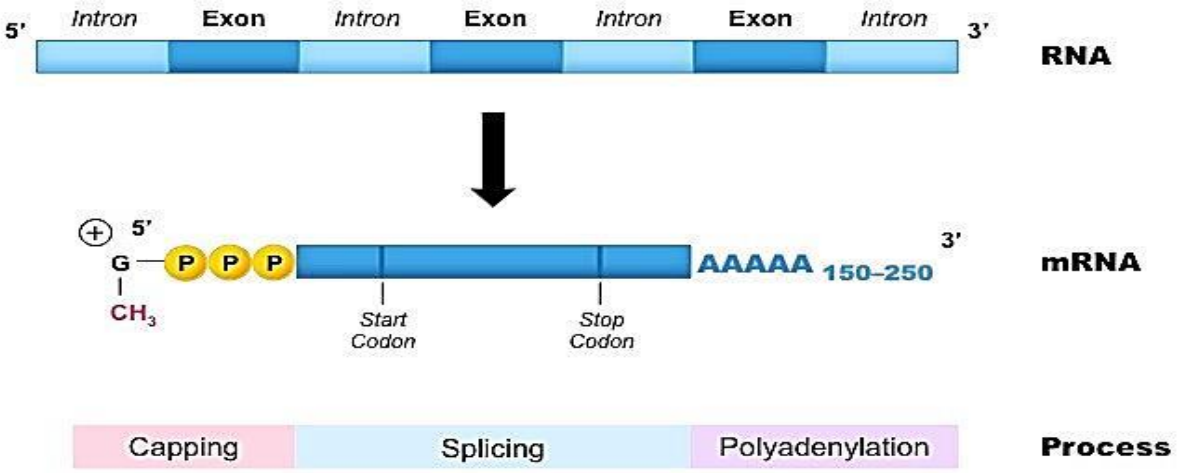


الحمض النووي الريبوزي النقال t-RNA يشكل ما بين 10% حتى 15% من

الحمض النووي الريبوزي RNA بخلايا البكتيريا. خلية بكتيريّة متوسطة تتضمن حوالي 400,000 من جزيئات الحمض النووي الريبوزي الن

Anmar Nazar Hasan

اقل . يتكون t-RNA عن طريق بعض الأنزيمات الخلوية التي تقوم بتحوير السلسلة الأولية حيث تضاف مجموعة مثيل لواحدة من النيوكلوتيدات (Uridine MP) لتحولها إلى Ribothymidine MP وبطريقة مشابهة قد تضاف مجموعة مثيل إلى سكر الرايبوزي عند الموقع 2-hyaroxy position هذا بالإضافة إلى تحورات أخرى مثل إضافة مجاميع Thiol . وكل هذه التحورات تحتاجها الخلايا لجعل جزيئات RNA فعالة. وعند انتقاء الحاجة لهذا الحامض النووي تبدأ الخلايا بتكسيرها باستعمال الأنزيمات الهاضمة للأحماض النووية لتحويلها إلى نيوكلوسيدات ونيوكليوتيدات لتعمل كطلائع أو مواد سابقة لتخليق جزيئات جديدة من RNA.

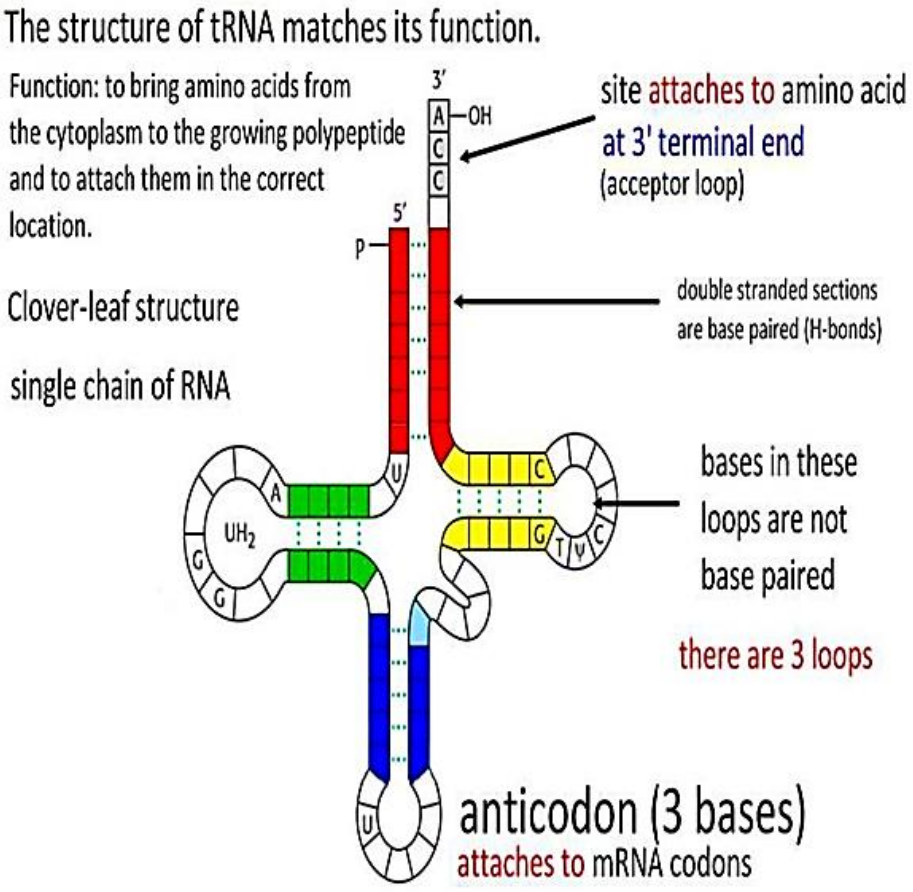


أما الخطوة الثانية في بناء البروتين فهي الترجمة :

إن عملية تخليق البروتين هي في الحقيقة عملية ترجمة للمعلومات الوراثية المنقولة من الكروموسوم على m-RNA حيث تقرأ هذه المعلومات بصورة خاصة ودقيقة لتكوين السلاسل الببتيدية وكل شفرة أو رامزة على

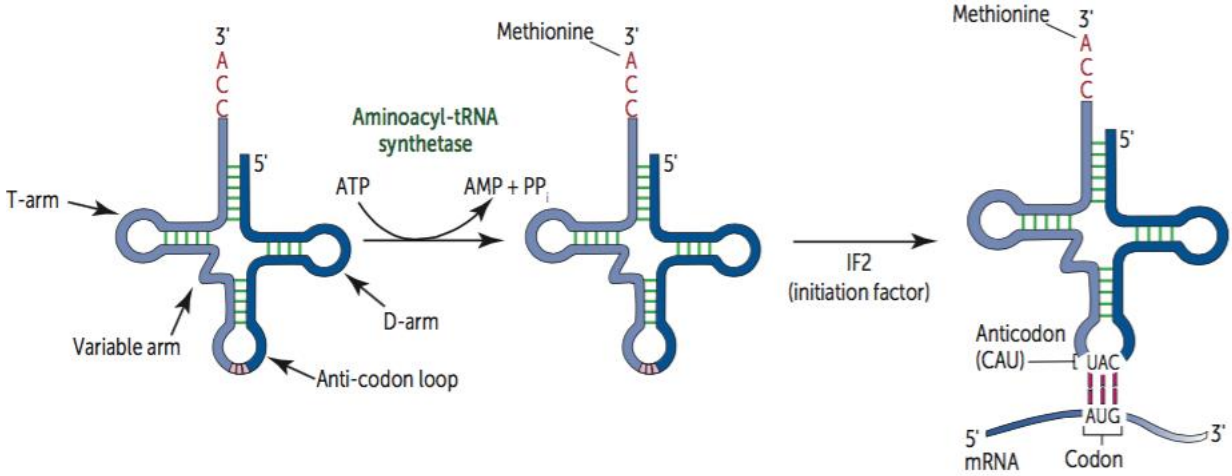
m-RNA ترمز لحامض أميني معين بالإضافة إلى أحتوائها على الشفرات الخاتمة وهي UAA , UAG, UGA ومن المكونات الأخرى التي تشترك في هذه العملية وحدات تخليق البروتين الصغيرة والكبيرة وجزيئات t-RNA التي يوجد منها أنواع عديدة بقدر الحوامض الأمينية وكل جزيئة من هذه الجزيئات لها أنزيم لاحم خاص بها وكل جزيئة من جزيئات t-RNA لها أربعة مواقع خاصة بها :

1- **الموقع الأول رامزة التعرف Codon recognition site والذي بواسطته تستطيع هذه الجزيئة التعرف على رامزتها (Codon) على m-RNA.**
2- **الموقع الثاني هو التعرف على الأنزيم اللاحم**
3- **الموقع الثالث هو موقع تعرفها على مكانها في بيت تخليق البروتين**
4- **الموقع الرابع هو موقع اتصالها بالحامض الأميني الذي تنقله والذي هو في النهاية 3 للقاعدة الأدنين في النيوكلوتيدات الطرفية**

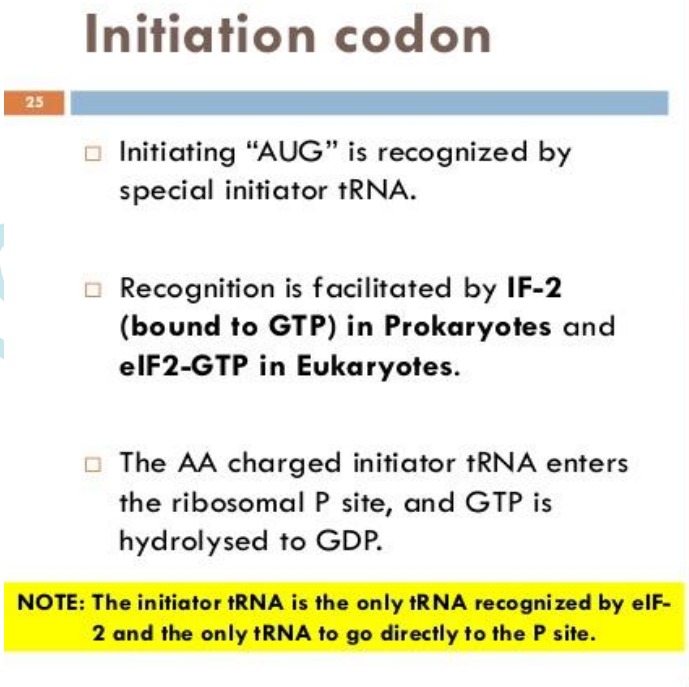


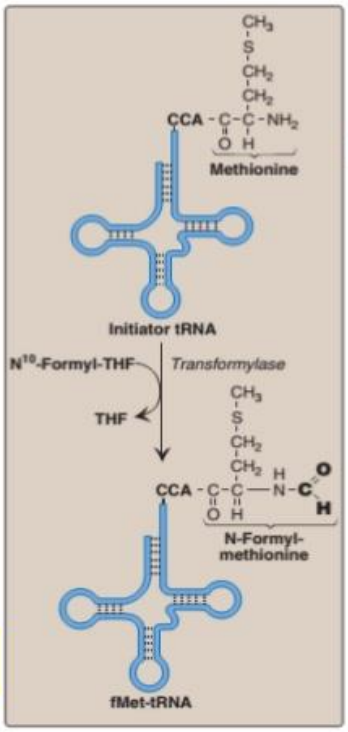
تتلخص عملية الترجمة بالمراحل الأربعة التالية:

1- التحميل Charging of t-RNA : وهي عملية ربط الحامض الأميني إلى t-RNA الخاص به وتتم هذه الخطوة بمرحلتين: الأولى يتم فيها تنشيط الحامض الأميني بواسطة ATP ثم إرتباطة بالأنزيم الذي يقوم بنقل الحامض وربطه على t-RNA الخاص به ليكون aminoacyl-t-RNA .

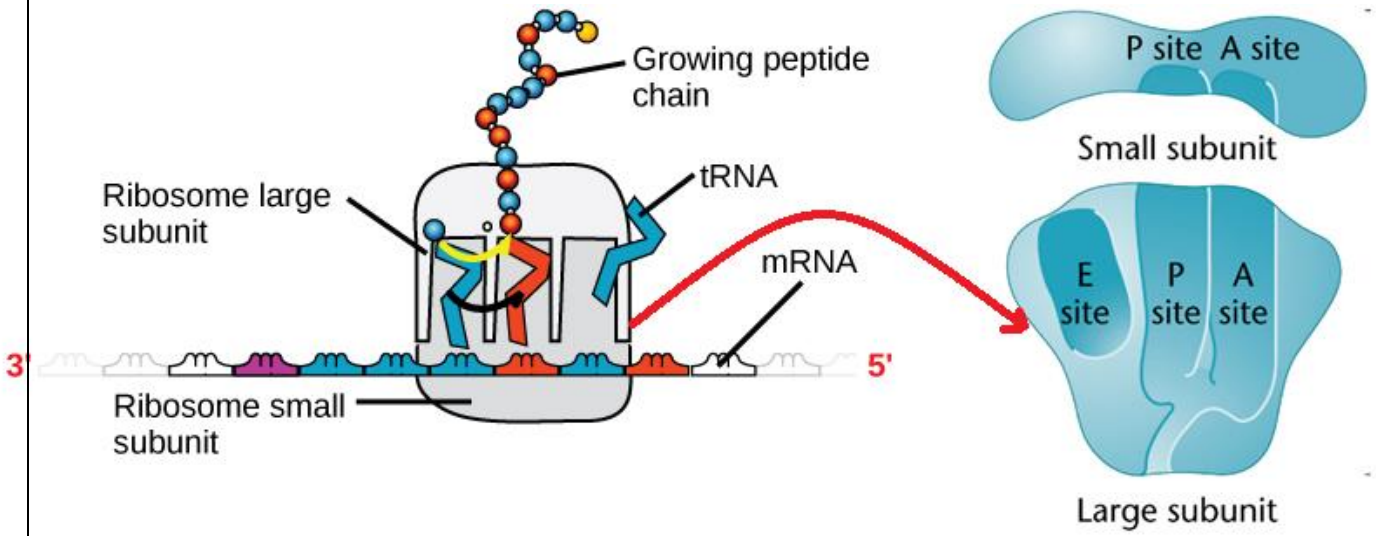


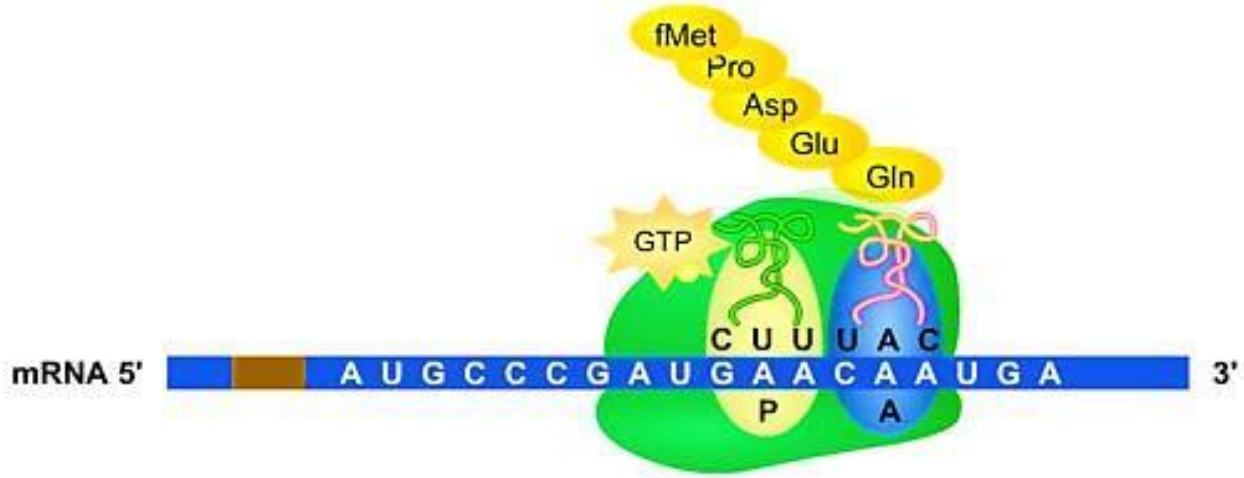
2- البدء Initiation : بعد عملية البدء يقوم عامل البدء بربط (IF-3) m-RNA والوحدة الصغيرة 30Sلتكوين معقد البدء initiation complex وذلك عن طريق رامزة التعرف AUG التي ترمز للحامض الأميني الميثايونين . بعدها يقوم عامل البدء الثاني (IF-2) بربط جزيئة البدء السابقة مع الوحدة الكبيرة في الرايبوسوم، بحيث تكون الوحدة الكبيرة محتوية على موقعين لإستقبال أو الإرتباط إلى t-RNA الأول وذلك لإستقبال aminoacyl – t-RNA





1- الاستطالة Elongation : وفيها يتم إضافة الأحماض الأمينية الواحد تلو الآخر بالاعتماد على الشفرات المحمولة على m-RNA مع تكوين الأواصر الببتيدية بين الأحماض الأمينية ثم يتحرك الرايبوسوم بمقدار كودون واحد ونتيجة هذا التحرك يتغير موقع t-RNA إلى الحامل الثاني ليتم إضافة الحامض الميني الثاني من الموقع Aإلى موقع P ويصبح الموقع A فارغاً ومستعدا لإستقبال جزيئة جديدة من t-RNA.





2- الإنتهاء Termination :عند وصول بيت تخليق البروتين في الموقع A خلال زحفه على m-RNA إلى إحدى رامزات الختم مثل UAG, UGA, UAA فان الرايبوزوم يصبح غير قادر على الإرتباط ، عندها يرتبط عامل بروتيني خاص مع كودون الإيقاف في موقع A بدلاً من t-RNA ، بعدها تنفصل سلسلة الببتيد عن t-RNA في الموقع P. بعدها تنفصل باقي الأجزاءعن بعضها البعض (الوحدتان البنائيتان للرايبوسوم و m-RNA والعامل البؤروتيني) وعندها يتكون البروتين الحر المترجم.

المصادر :-

1- البكري غالب (1990),مبادئ الهندسة الوراثية.

2- عماش هدى (1994),مبادئ عام الحياة الجزئي.

3- زيدان حيدرواخرون(2013),مبادئ الوراثة الجزيئية.

4- K.Setow.Jane(2004),Genetic Engineering,Principles And Method.

5- D.Watson.James(2004),Moleculer Biology Of The Gene

Anmar Nazar Hasan

Anmar Nazar Hasan

Molecular Biology

الاحياء الجزيئي

مدرس المادة م.م.انمارنزارحسن

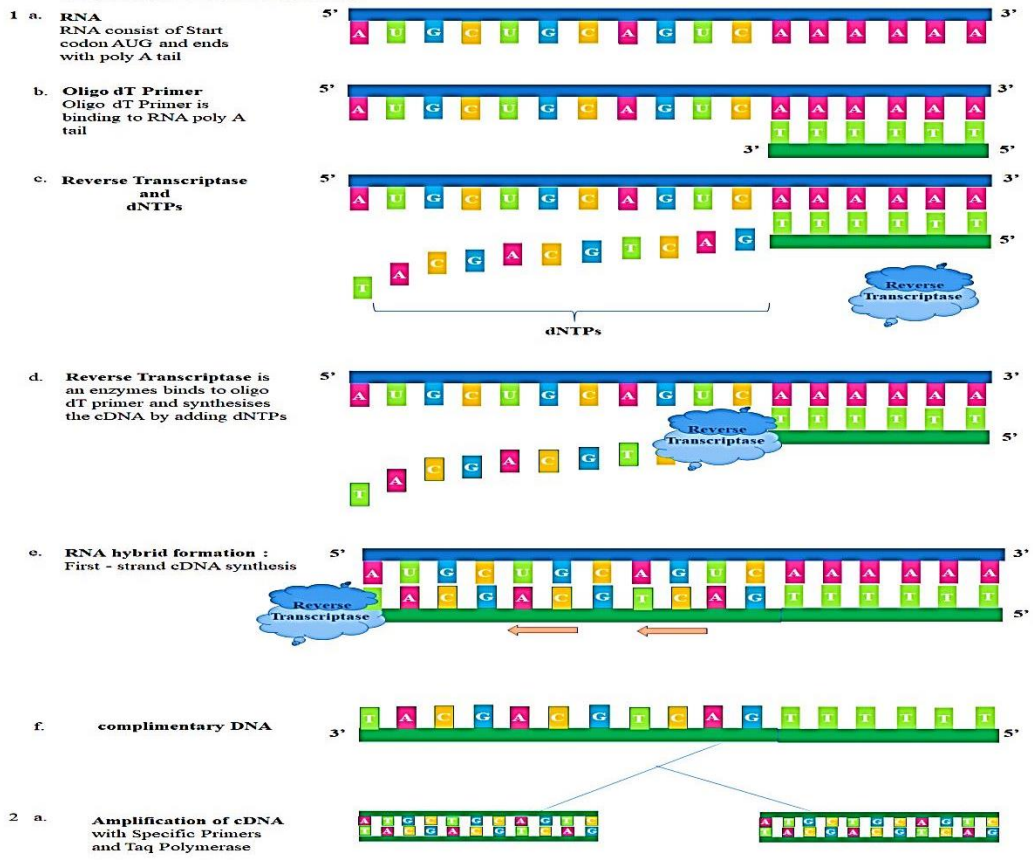
Anmar Nazar Hasan

المحاضرة الخامسة

الاستنساخ العكسي

تعرف عملية النسخ العكسي على أنها محاولة الخلية بناء شريط مزدوج من ال DNA بالاعتماد على شريط منفرد من RNA . وبالتالي فان عملية النسخ العكسي تساعد في بناء جينات فيروسية من RNAأو تطويرها بالشكل المطلوب أو حتى بناء قطع من DNA جديدة غير موجودة مسبقا .

ببساطة فان عملية النسخ العكسي تحويل شريط m-RNA إلى قطع من DNA أو الجينات المناظرة وذلك بمساعدة أنزيم النسخ العكسي (Revers Transcriptase) أو مايعرف ب (RT) حيث يتكون شريط ال DNA الذي يطلق علية First strand cDNA synthesis . هذه التقنية تعتمدها الفيروسات التي تحمل شريط RNA لتخليق قطعة ال DNA في الخلية المصابة ، كما أنها تقنية استخدمها العلماء في بناء جين جديد أو تطوير جينات موجودة مسبقاً.



الطفرات

Mutation

إن بناء وبقاء وديمومة أي كائن حي يعتمد بالدرجة الأولى والرئيسية على درجة الدقة العالية التي يملكها في نقل المعلومات والصفات الوراثية من الآباء إلى الابناء ومن جيل إلى آخر. وهذا ما عرفناه خلال المحاضرات السابقة حيث تبين لنا مدى الدقة التي تمتلكها الخلايا في مضاعفة مادتها الوراثية أو خلال التعبير عنها .ومع ذلك فقد تطرأ أحياناً بعض التغيرات الوراثية أو الحيوية المقصودة أو غير المقصودة على الكائن الحي ، حيث تكون أحياناً هذه التغيرات غير مرغوبة وأحيانا قد تكون مرغوبة وتعد مصدر قوة للكائن نفسه شريطة أن تصبح هذه الصفات الجديدة محكومة من قبل جينات الخلايا ومسيطر عليها. إن مصدر تلك التغيرات الوراثية التي تلاحظ بين الأفراد الذين ينتمون إلى نوع واحد هو الطفرات Mutation . فجميع صفات الخلية تعتمد على البروتينات التي تمتلكها وإن استبدال حامض أميني واحد على الأقل بآخر ضمن السلسلة البروتينية قد يسبب عدم فاعلية البروتين المنتج ، وبالتالي فان أي تغيرات في تتابع البيورينات أو البرميدينات في ولو في جين واحد من جينات ال DNA ينتج عنه إختلاف في تتابع الأحماض الأمينة في البروتين المنتج.

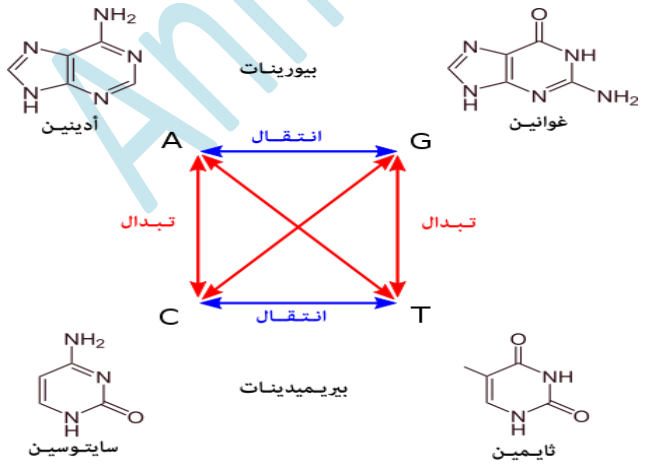
وعليه يمكن تعريف الطفرة بانها أي تغيير في ترتيب القواعد النيتروجينية على جزيئة ال DNA بغض النظر عما إذا كان هناك تغييرا ظاهرياً Phenotypic expression من جراء هذا التغيير .

ملاحظة: يمكن القول أن مجموع المكون أو المحتوى الوراثي للخلية يسمى genome (وهو متكون من DNA الكروموسمي و DNA خارج الكروموسوم مثل البلازميدات أو أي عناصر وراثية أخرى) وأن مجموع المكون الوراثي لكائن معين يمثل مايعرف بالطراز الجيني Genotype في حين أن الخائص المظهرية للكائن المعبر عنها في بيئة معينة تؤلف مايعرف بالخصائص المظهرية Phenotype .

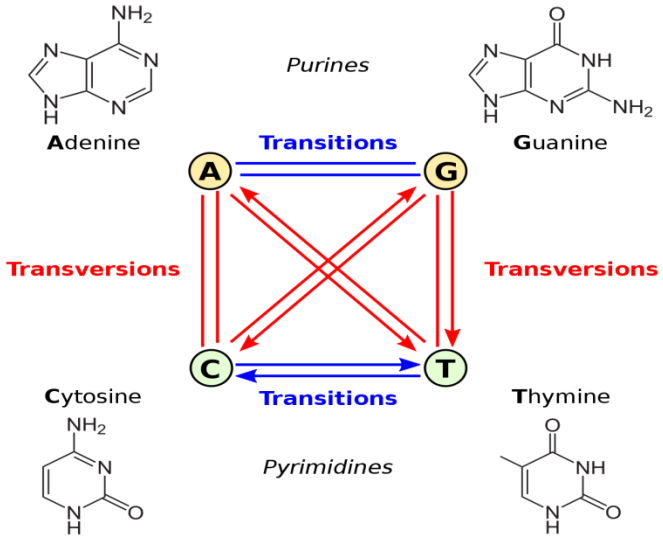
يمكن تقسيم الطفرات على أسس مختلفة :

فبالاعتماد على نوعية التبادل الحاصل بين القواعد النيتروجينية يمكن أن نقسم الطفرات إلى

1- طفرات تبادل البيورينات أو البريمدينات (Transition) أي هي الطفرات الناتجة من تبادل ال A و G أو بالعكس أو تبادل T و C أو بالعكس، وهذه الطفرات تحدث أكثر في الخصائص المكون الوراثي أو الطراز الجيني للخلية Genotype



1- طفرات الانتقال Transversion وفيه تحل أو استبدال بيورين ذو حلقتين ببيريميدين ذو حلقة واحدة أو العكس في الحمض النووي DNA . يمكن القول أن طفرات الانتقال أكثر حدوثا من التبديلات لأن استبدال حلقة واحدة بأخرى أكثر احتمالا للحدوث من استبدال حلقة واحدة ببنية ذات حلقتين، كما أن للانتقالات احتمال صغير في إنتاج استبدالات حمض أميني و لطفرات التبادل عادة تأثير أكثر وضوحا من طفرات الانتقال لأن موضع



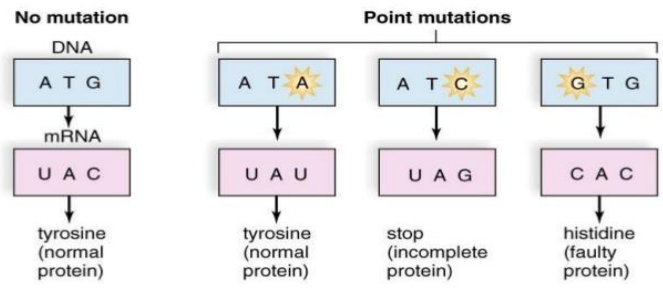
نوكليوتيد الكودون الثالث – والذي له نسبة كبيرة في انحلال الكود– أكثر تحملا للانتقال من التبادل هذا يعني أن التبادل له احتمال كبير أن يُشفِّر نفس الحمض الأميني. يمكن لطفرات التبادل أن تكون تلقائية أو يسببها إشعاع مؤين أو عوامل ألكلة.

ثانياً: تقسيم الطفرات على أساس التغيير الحاصل في القواعد النيتروجينية التي ترتبط بالنواتج الثانوية لهذا التغيير:

1- الطفرة الموضعية Point mutation : هي الطفرة التي تنتج عن تغيير قاعدة واحدة أو منطقة صغيرة على DNA ومثل هذه الطفرات غالباً ما يكون قابلاً للاصلاح. هو نوع من الطفرات تنتج غالباً عن كيميائيات أو أخطاء تحدث أثناء تضاعف DNA. وهي عبارة عن تبديل نوكليوتيد أحادي بواحد آخر .وهو بمثابة تبديل "حرف" كيميائي بآخر في "الجملة"، مثل تبديل A بـG . يمكن القول أن هنالك نوعان من الطفرات النقطية:

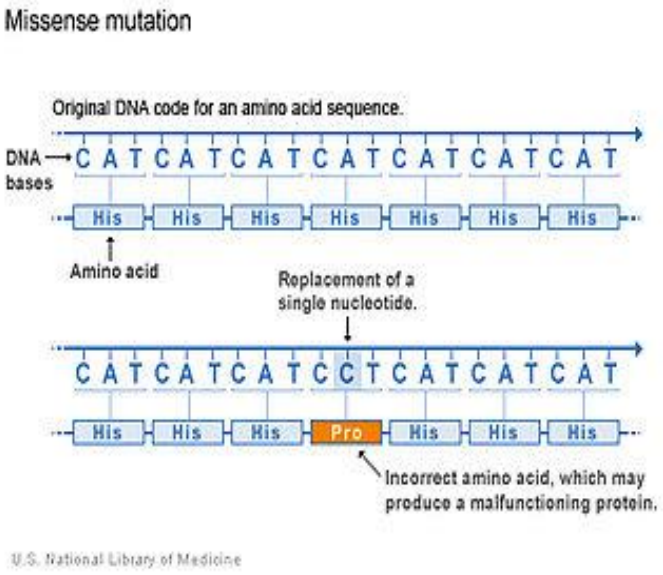
أ- الانتقال :وهو الأكثر شيوعاً، يشير إلى استبدال بورين ببورين آخر، أو استبدال بريميدين ببريميدين آخر، مثل تبديل A ب Aأو G بـG والانتقال يمكن أن يحدث بسبب حمض النيتروز أو تضارب ازدواج القواعد أو نظائر القواعد المطفرة.

ب-التبدال :أما التبدال فهو أقل شيوعاً وفيه يستبدل البورين ببريميدين، أو العكس.



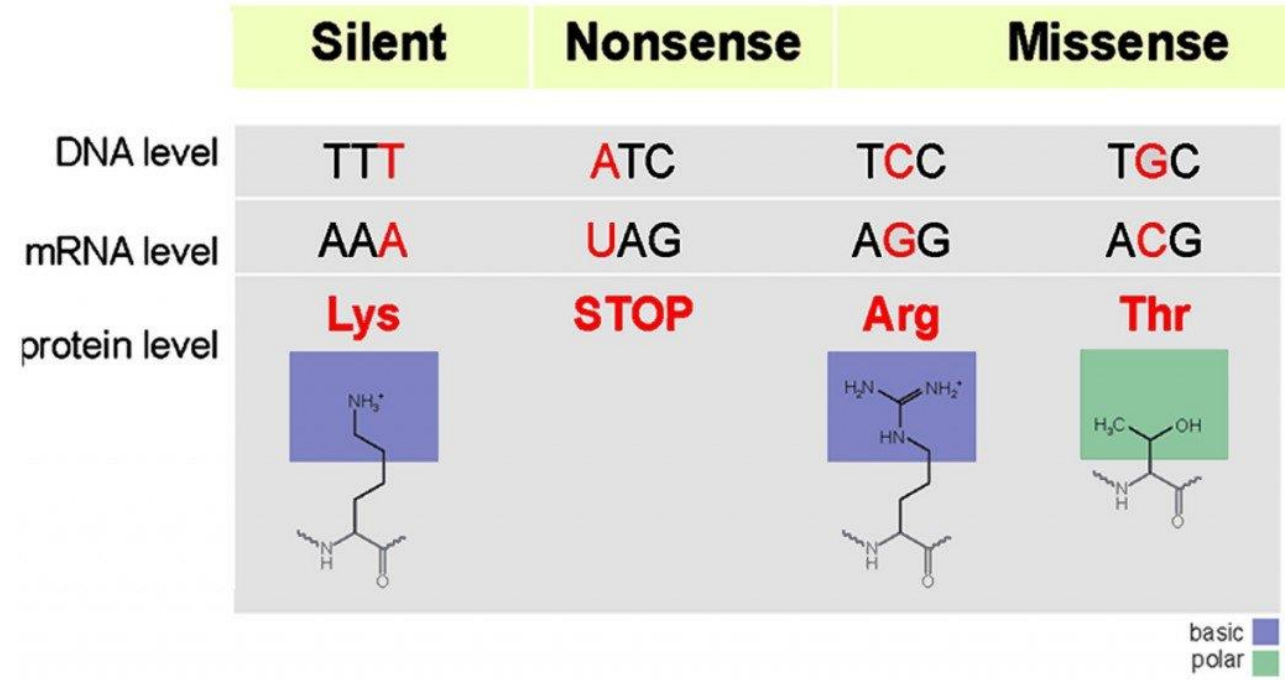
Ammar Nazar Hasan

1- الطفرات الخاطئة Missense mutation : تُعرف الطفرة المُغلطة في علم الوراثة بِأنها طفرة موضعية أو نقطية وذلك لأنها عبارة عن تغيير في نيوكليوتيدة واحدة خاصة بكودون لحمض أميني معين وهذا بدورة ينتج عنه حمض أميني مختلف عن المقصود أي أن هذا نوع من التبادل الغير مترادف حيث تكون الطفرة نقطية أي في نقطة محددة من البروتين، واعتمادا على موقع هذا الحامض الأميني في البروتين الجديد المتكون قد تكون الطفرة مقبولة acceptable أو مقبولة جزئياً أو غير مقبولة unacceptable وذلك اعتماداً على وظيفة البروتين الجديد المتكون. فاذا كان موقع الحامض الأميني المستبدل لا يؤثر على البروتين الناتج من حيث تركيبة الثانوي أو الثلاثي وبالتالي لا يؤثر على وظيفة البروتين أو كان الحامض الأميني آخر مقارب له بالصفات والخواص الكيمياوية فان الطفرة ستكون مقبولة وعنها تسمى طفرة محايدة أو "هادئة" أو "صامتة" أو محافظة أي برغم تغير حامض أميني فان البروتين لم يفقد خواصه ولم يتوقف عن أداء وظيفته ، أما إذا كان الحامض الأميني في الموقع الفعال أو كان له تأثير في البناء الثانوي أو الثالثي للبروتين فان الطفرة ستكون من النوع غير المقبول. إن هذه الطفرات المغلطة تجعل البروتين الناتج غير وظيفي ،كما انها مسؤولة عن بعض الأمراض البشرية مثل مرض انحلال البشرة، ومرض الخلايا المنجلية. ففي الأنواع الأكثر شيوعا لمرض الخلايا المنجلية، يتم استبدال النوكليوتيد العشرين من جين "سلسلة بيتا " الخاص بالهيموجلوبين ويتغير الكودون من GAG إلى GTG. وهكذا، يتم استبدال حمض الجلوتاميك الحمض الأميني السادس بالحمض الأميني الفالين – الذي يُشار إليه كطفرة "E6V" – وبذلك تم تغيير البروتين بالقدر الكافي لجعلة يتسبب في مرض الخلايا المنجلية.



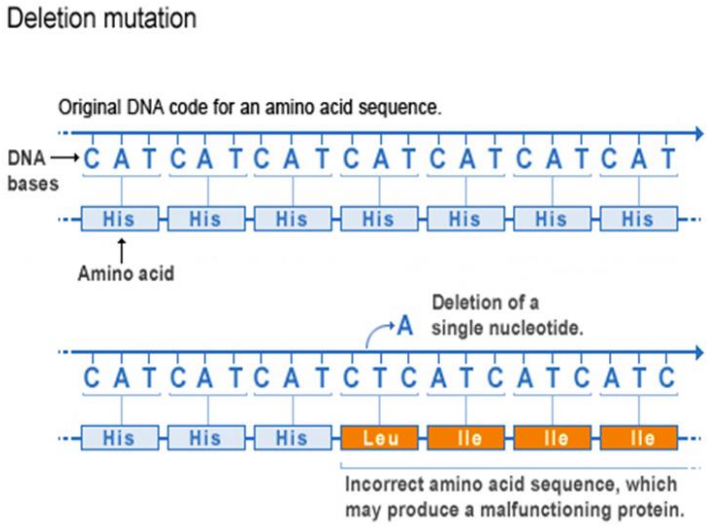
2- الطفرة الهرائية non-sense mutation : هي الطفرة التي يحدث فيها أستبدال أحدى القواعد النيتروجينة على الكودون الموجود في ال DNA بحيث يتحول هذا الكودون من مشفر لحامض أميني إلى كودون احدى شفرات الانتهاء ATC, ATT, ACT وعند استنساخة على ال mRNA تكون الشفرات , UAA , UGA UAG وعندها ستتكون لدينا بروتينات ناقصة غير مكتملة او غير ناضجة pre mature poly peptide . أحيانا تسمى هذه الطفرات ب Amber codon أو Ochre codon أو Opal codon نسبة إلى العلماء الذين اكتشفوها

Ammar Nazar Hasan

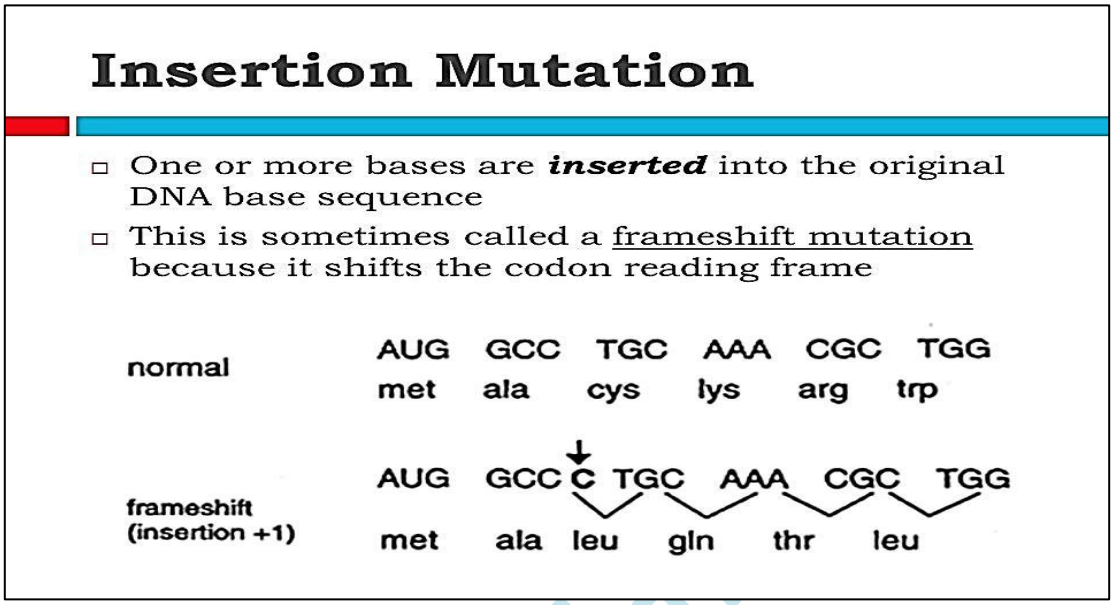


ثالثاً :التقسيم الثالث هو الذي يحصل فيه إزالة أو إضافة القواعد النيتروجينية لشريط ال DNA. ويمكن تقسيم هذا النوع من الطفرات إلى:

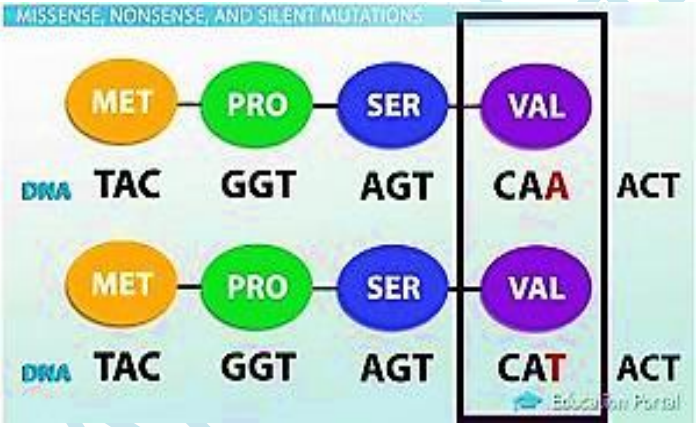
1-طفرات الشطب أو الحذف Deletion mutation : الطفرات التي تحدث فيها شطب أو حذف قاعدة نيتروجينية أو أكثر من على شريط ال DNA وهذا يؤدي إلى خطأ أثناء قراءة أنزيم الاستنساخ لشريط DNA إذ أن القراءة سوف تزحف قاعدة أو أكثر (حسب الشفرات المشطوبة) خلال عمليات الاستنساخ وتكوين mRNA وبالتالي يصبح الشريط mRNA مشفر لأنواع أخرى من الاحماض الامينية لينعكس ذلك على ترجمته وبالتالي ظهور بروتين جديد بتسلسل مغاير من الاحماض الامينية ومن ثم صفات مغايرة لأصل التسلسل.



1- طفرات الاقحام **Insertion mutation** : يقصد بها الطفرات التي تحدث نتيجة إقحام قاعدة نيتروجينية أو أكثر في تسلسل النيوكلوتيدات على شريط **DNA** مما يؤدي إلى إختلاف قراءة الكودونات وظهور ببتيدات بأحماض أمينية مغايرة.



رابعاً: علاوة على ما سبق فان هناك أنواع أخرى من الطفرات التي ممكن أن تحدث ومن هذه الطفرات:



1- الطفرات الصامتة **Silent mutation** : المقصود بها حصول تغيير في ترتيب القواعد النيتروجينيةفي شفرة ما لحامض أميني بحيث يؤدي إلى شفرة وراثية ترمض لنفس الحامض الأميني (باعتبار أن بعض الاحماض الامينة لها أكثر من شفرة وراثية) مما يؤدي إلى عدم حدوث تغيير في البروتين الناتج وهذا يحدث فقط للأحماض الامينية التي لها أكثر من شفرة وراثية مثل الليوسين والسيرين. ومثل هذه الطفرات ليس لها تأثير على الصفات الظاهرية للكائن **phenotypes** .

2- الطفرات المخمدة **suppressor mutation**: مهي الطفرات التي عند حدوثها تؤدي إلى حذف أو الغاء التعبير الظاهري **phenotypes** الناتج عن طفرة وراثية سابقة. أي أنها طفرة تلغي فعل طفره سبقتها وأدت إلى تغيير ظاهري وعودة النوع إلى أطله الطبيعي **wild type** إذا الكائن هنا يبدو على أنه كائن طبيعي يتبع الآباء الأوائل ولكن في حقيقة الأمر هو كائن عانى من طفرتين .

المطفرات وأنواعها

تعرف المطفرات على أنها عوامل كيميائية أو فيزيائية تسبب تغير البنية الجينية للكائن أو الخلية الحية ، وذلك عن طريق إحداث تغيير في المادة الوراثية (DNA) الخاص بالكائن، مما يزيد من تكرار الطفرات بشكل يفوق الحد الطبيعي. وحيث أن العديد من الطفرات بإمكانها أن تسبب السرطان، تعتبر المطفرات أيضاً من المسرطنات.

بداية يجب القول أن الطفرات التي تحدث للخلايا أو الكائنات الحية إما أن تحدث بصورة تلقائية ذاتية أي بدون تعرض الخلية أو الكائن المجهري لأي نوع من أنواع المطفرات الفيزياوية أو الكيمياوية . وأحياناً تحدث الطفرات نتيجة تعرض الخلية أو الكائن لواحدة أو أكثر من المطفرات mutagens سواء كانت فيزياوية أو كيمياوية وفي هذه الحالة فان الطفرات تسمى Induced Mutation والتي غالبا ما تكون نادرة الحدوث وعشوائية ومن أهم العوامل التي تؤدي الى حدوث الطفرات التلقائية :

1- **الأشعة الكونية : إن معظم لكائنات الحية تتعرض يوميا للاشعة الكونية cosmic radiation وقد ظهر تأثير هذا النوع من الطفرات بشكل واضح جدا بعد أكتشاف الاشعة السينية ودرست تأثيرها على تركيب المادة الوراثية للخلايا الحية.**
2- **الأشعة فوق البنفسجية: Ultra violate light : وهي جزء من الضوء المرئي الذي يتراوح طولها الموجي بين 100 - 400-نانوميتر. وقد وجد العلماء أن هذه الأشعة وعند الطول الموجي 260 تكون ذات تأثير تطفيري على الاحياء المجهرية . إلا أن تأثير هذه الأشعة (خصوصا ذات المصدر الطبيعي – أشعة الشمس) يكون محدود جداً بسبب**

أ- **أن معظم هذه الأشعة يتم أمتصاصها خلال عبورها من الغلاف الجوي للكرة الأرضية ولا يصل للأرض منها إلا القليل جداً**

ب- **ليس لهذه الأشعة القابلية على اختراق السطوح كما هو الحال في الأشعة السينية وبالتالي فان تأثيرها يكون سطحي ومحدود على الانسان خصوصا داخل البنايات أو السيارة أو من وراء الملابس.**

3- **كما تعد بعض المضافات الغذائية و الأدوية والعقاقير وأدغال الحشرات والمبيدات الزراعية من المواد المطفرة وذلك من خلال قدرتها على إحداث خطأ في تضاعف ال DNA أو ايقاف تضاعفه نهائياً وكذلك إحداث خلل خلال عمليات الاستنساخ أو الترجمة**
4- **علاوة لما سبق ذكره في النقاط أعلاه فهناك المطفرات الكيمياوية التي يمكن أستخدامها في المختبرات لإحداث طفرة معين.مثل حامض النيتروز الذي يمتلك القدرة على إزاحة القواعد النيتروجينية من شريط DNA**

Amar Nazar Hasan

المصادر :-

1- البكري غالب (1990),مبادئ الهندسة الوراثية.

2- عماش هدى (1994),مبادئ عام الحياة الجزئي.

3- زيدان حيدرواخرون(2013),مبادئ الوراثة الجزيئية.

4- K.Setow.Jane(2004),Genetic Engineering,Principles And Method.

5- D.Watson.James(2004),Moleculer Biology Of The Gene

Anmar Nazar Hasan

Molecular Biology

الاحياء الجزيئي

مدرس المادة م.م.انمار نزار حسن

ANMAR NAZAR HASAN

المحاضرة السادسة

الهندسة الوراثية

ببساطة يمكن تعريف الهندسة الوراثية أو هندسة الجينات كما تسمى أحياناً بأنه العلم الذي ينحصر اهتمامه في صياغة أشكال جديدة من المناهج الوراثية المبتكرة ثم تجسيد ذلك على هيئة كائنات حية مرغوبة في التطبيق والأغراض العلمية.

وعرف البعض الهندسة الوراثية بأنها التلاعب بالمادة الوراثية للكائنات من أجل تغيير صفاتها الوراثية، إذ أن هذا التلاعب قد يكون مباشراً أو بصورة غير مباشرة ، ويتمثل في إضافة أو حذف معلومة وراثية أو أكثر إلى مجمل المعلومات الوراثية المحمولة على شريط DNA ولكن دونما الإخلال بأي جانب من جوانب المعلومات الوراثية الأخرى على أن تستمر الخلية في مزاولة نشاطها الكامل، بمعنى أن تكون عمليات الإضافة أو الحذف التي تجري معمول بها في المستقبل .

يمكن القول أن الانسان امتلك منذ فترة ليست بالقصيرة وسائل عدة للتلاعب بالجهاز الوراثي أو المادة الوراثية وقد حاول الانسان توظيف هذه التغيرات لأهداف كان يريدها وقد نجح الانسان احيانا بالوصول إلى أهدافة المطلوبة في حين اخفق في كثب=ير من الاحيان في الوصول إلى أهدافه.

لقد وجدت هذه التغيرات بعض تطبيقاتها في المحاصيل الزراعية بالدرجة الأساس حيث أمكن عن طريق استخدام الهندسة الوراثية من إنتاج أصناف جديدة من المحاصيل الزراعية ذات قيمة اقتصادية عالية وتتميز بمقاومتها للأمراض والحشرات وبتزهيرها المبكر وانتاجيتها العالية .

تهتم الهندسة الوراثية بمختلف الكائنات الحية من نباتات وأحياء دقيقة وحيوانات وإنسان بالطبع، ويتم فيها العمل على دراسة DNA ، وفصل الكروموسومات كل على حدة وإدخاله على اجسام الكائنات الحية لمعرفة الصفة المسؤول عنها هذا الجين، ومن ثم التحكم بها والسيطرة عليها. تم استخدام تقنية التعديل والهندسة الوراثية قبل سنوات عديدة فقد كانت البكتيريا أول الكائنات التي بدأ العمل عليها عام 1973، ومن بعدها تم العمل على الفئران عام 1974 وأخيراً بدأ الإنسان بجني ثمار تعبه حين تم إنتاج الأنسولين وبيعه عام 1982 ميلادية وتطويره لاحقا في العام 1994 ميلادية.

تسمى الهندسة الوراثية بالتعديل الوراثي، وهو تلاعب غير مباشر يقوم به الإنسان من أجل تغيير الصفات الشكلية التي سيبدو عليها. تمكننا الجينات من زيادة كمية المواد الناتجة في جسم الإنسان، وتزويده بالناقص منها من أجل تجنب إصابته بالأمراض. وصل التطوير الأخير والمهم في عالم الهندسة الوراثية إلى عزل المادة الوراثية ونسخ المادة التي تتعلق بالصفة التي نريد تعديلها، ومن ثم توليد بناء يحتوي على العناصر الجينية من أجل الحصول على تغيير وراثي صحيح البناء، ومن ثم زرعه في جسم العائل (الإنسان).

تدخل هندسة الجينات الوراثية في العديد من المجالات، كالطب والكيمياء والبيولوجيا والكيمياء الحيوية والعلوم الفيزيائية للجسم، كما أنها مثلت تطورا منقطع النظير في علم الأدوية إذ تم تصنيع أدوية مهمة كالأنسولين، والمبيدات الحشرية التي تحمي النباتات والمزروعات من هجوم الحشرات. أصبح هدف الإنسان في تطويره للهندسة الوراثية وعلم الجينات، جعل الحياة أكثر سهولة على بني البشر وتخفيض التكاليف وزيادة جودة وكفاءة المادة المصنعة، كما في البروتين الدوائي الذي تم تصنيعه وبيعه عام 2009 وهو معدل جينيا. خرجت التجارب من النطاق النظري إلى الساحة العملية عام 1986، إذ قامت الولايات المتحدة الأمريكية وفرنسا بهندسة التبغ وجعله مادة مقاومة لمبيدات الأعشاب، وكذلك قامت الصين الشعبية بتسوق نباتات معدلة جينيا بحيث تصبح مقاومة للفيروسات، وأيضا قام الإتحاد الأوروبي بتعديل الطماطم جينيا وبيعه ولاقى نجاحا كبيرا.

كيفية إجراء الهندسة الوراثية

تتم الهندسة الوراثية بعدة طرق تكون بشكل أساسي مؤلفة من 4 خطوات:

1- **عزل الجين المرغوب: يتم العزل من خلال تحديد الجين المرغوب إدخاله إلى الخلايا من خلال معلومات مسبقة عن المورثات ومن ثم تتم مضاعفة هذه الجينات باستخدام تفاعل سلسلة البوليميرز.**
2- **إدخال أو تحميل الجين المرغوب على في حامل مناسب مثل بلازميد .كما يمكن استخدام حوامل أخرى مثل الحوامل الفيروسية أو الليبوزوم**
3- **إدخال الحامل في الخلايا المراد تعديلها، وتتم بعدة طرق منها.**
4- **عزل وفصل الخلايا التي تعدلت وراثياً بنجاح عن الطبيعية. ويتم ذلك بعدة طرق منها: استخدام مسبارDNA للتحري عن الجين المدخل أو باستخدام المعلمات لتمييزية Selectable Marker للتحري عن صفة مقاومة موجودة مع الحامل وتكون مميزة بمقاومتها لصفة معينة كالمعلمات التمييزية التي تكسب مقاومة لمضاد حيوي معين.**

إيجابيات هندسة الجينات

في مجال الزراعة:

1- **زيادة حجم الإنتاج الزراعي.**
2- **تحسين صفات المحصول الزراعي مثل: إمكانية التخزين لفترة أطول، تحسين مقاومته للأمراض، والآفات الحشرية، حيث يتم إنتاج نباتات مقاومة للحشرات، والمبيدات والحشائش.**

AMAR NAZAR HASAN

وفي مجال تربية الحيوانات:

1- **إدخال بعض الجينات إلى الحيوانات، حيث تعمل هذه الجينات على مقاومة الفيروسات، والالتهابات.**

2- **إظهار الخصائص المرغوب بها.**

3- **زيادة سرعة نموها، وذلك عن طريق تزويدها بالجين الخاص بهرمون النمو السريع. إنتاج لقاحات للأمراض التي تصيبها وخاصة الدواجن مثل: مرض الحمى، والنيوكاسل.**

4- **العمل على تحويل مخلفاتها إلى سماد عضوي، وذلك عن طريق بكتيريا مُعدلة وراثياً.**

5- **حماية الكائنات المعرضة للانقراض.**

وفي حل مشكلة التلوث

عن طريق إنتاج بكتيريا تحلل الفضلات، وبكتيريا أخرى تعمل على التخلص من البترول في البحر عن طريق تفتيت جزيئاته، والتهامها، وهذه العملية تسمى المعالجة البيولوجية Volume 0% .

وفي المجال الطبي فقد ساعدت على اكتشاف العديد من الأمراض الوراثية، وأسبابها، وطرق علاجها، مثل: مرض الكريات المنجلية، كما أنّها استطاعت إنتاج العديد من الهرمونات الطبية كهرمون النمو، والإنسولين، بالإضافة إلى صنع، وتعديل التطعيمات من أجل التقليل من آثارها الجانبية على جسم الإنسان.

أما سلبيات الهندسة الوراثية فيمكن ذكر أهمها :

1- **ينتج عنها بعض السلالات الجديدة من الكائنات الحية، والتي قد تعمل على الإخلال بالنظام البيئي على الأرض.**

2- **تُشكل النباتات، والأغذية المعدلة وراثياً خطراً كبيراً على صحة الإنسان.**

3- **تشكل خطراً على وجود الإنسان، وتعمل على السيطرة على إرادته، وذلك من خلال السيطرة على مورّثات الإنسان، عن طريق التحكم بها.**

4- **لا يمكن تصحيح الأخطاء الناجمة عن الهندسة الوراثية، فقد ينتج عنها مثلاً: إنتاج جراثيم، أو فيروسات خطيرة، يمكن أن تنتشر في المحيط البيئي، ولا يمكن القضاء عليها.**

ANWAR NAZAR HASAN

1- تؤدي الهندسة الجينية إلى اختلاط الأنساب، وذلك نتيجة لعملية الإخصاب الصناعي، فقد يتمّ تلقيح البويضات التي تنتجها النساء بحيوانات منوية من أشخاص غير معروفين.

2- اختلاط الأجناس بعضها ببعض، الإنسان بالنبات، والحيوان بالحيوان، والإنسان بالحيوان، ومن الأمثلة على ذلك خلط الشريط الوراثي للإنسان بالنبات من أجل الحصول على الإنسان الأخضر، أو ما يسمى بالإنسان الكلوروفيلي.

تطبيقات الهندسة الوراثية:

1- التطبيقات الطبيّة دخلت تطبيقات الهندسة الوراثيّة على المجالات الطبيّة، إذ استُخدمت تطبيقاتها في عدّة أقسام تشمل فهم أسباب الأمراض وبناءً على ذلك تمّ تطوير الأدوية، والعلاجات الجديدة، وأساليب البحث والتشخيص، بالإضافة إلى تطوير الأجهزة السريريّة، كما يبحث علماء الهندسة الوراثيّة في مواقع الجينات على الكروموسوم، ممّا يخلق فرصاً كبيرة في الفهم المستمر للأمراض المتعلّقة بالجينات، والموروثات الجينيّة بين أفراد العائلة، بالإضافة إلى العلاجات الفردية.

2- التطبيقات الصّناعيّة دخلت تطبيقات الهندسة الوراثيّة المجال الصّناعي أيضاً، فقد تمّ إنتاج العديد من السّلع الكيميائيّة التي كانت تعتمد بالأساس على الكائنات الحيّة ليتم إنتاجها، كالإنزيمات مثلاً، والمواد الكيميائية المتخصصة باستخدام تطبيقات التكنولوجيا الحيوية، وتُعدّ هذه العمليّة مهمّة كونها تعمل على رفع كفاءة العمليّات الصناعيّة، والحدّ من الآثار البيئيّة السلبيّة لها، ويُذكر أنّ التقنيّة الحيويّة عملت على استخدام الذرة كبديل للنفط، وتخمير السكّر لإنتاج الأحماض التي يمكن استخدامها لاحقاً في عمليّات صناعيّة أخرى، بالإضافة إلى استخدامها في صناعة النسيج لإنتاج قطن بطريقة حيويّة بحيث يتمتّع بمواصفات أعلى من القطن الصّناعيّ.

3- التطبيقات الحيوانيّة تم استخدام تطبيقات الهندسة الوراثيّة في مجال التعديل الجينيّ للحيوانات، وكان الهدف من هذا الاستخدام هو إنتاج حيوانات معدّلة وراثيّاً، بحيث تلبي الاحتياجات البشرية بمختلف المنتجات والأشكال، إذ إنّ هذه التطبيقات تسمح للمزارعين بإنتاج السلالات المرغوبة من الماشية بأقل وقت ممكن وأقلّ تكلفة، ممّا يسمح بالحصول على منتجات غذائيّة أكثر تهدف لتحسين الصحة العامة للإنسان، ويقوم مبدأ عمل هذه التطبيقات على إدخال الجينات المرغوب على الجينوم الخاص بالماشية، ممّا ينتج عنه كمية أكبر من المواد الغذائية، بالإضافة إلى زيادة القيمة الغذائية لها، وإمكانية زيادة نسبة مكوّن معيّن من مكونات القيمة الغذائية لهذه المواد لتلبية طلب السوق، مثل زيادة نسبة أحماض الأوميغا3 في الأسماك، وتقليل نسب إصابة الأشخاص الذين يتناولون هذه الأسماك بأمراض القلب والشرايين، ومن هذه التطبيقات أيضاً، إنتاج أبقار ذات

ANWAR WAZAR HASAN

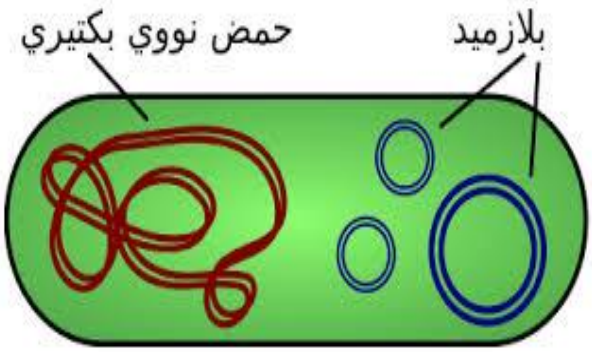
إنتاج مرتفع للحليب مع إضافة أي صفة مرغوبة له، مثل تقليل نسبة الكوليسترول أو غيرها، وكذلك إنتاج أنواع مختلفة من الماشية بصفات مختلفة حسب الحاجة.

نواقل الكلونة : cloning vector

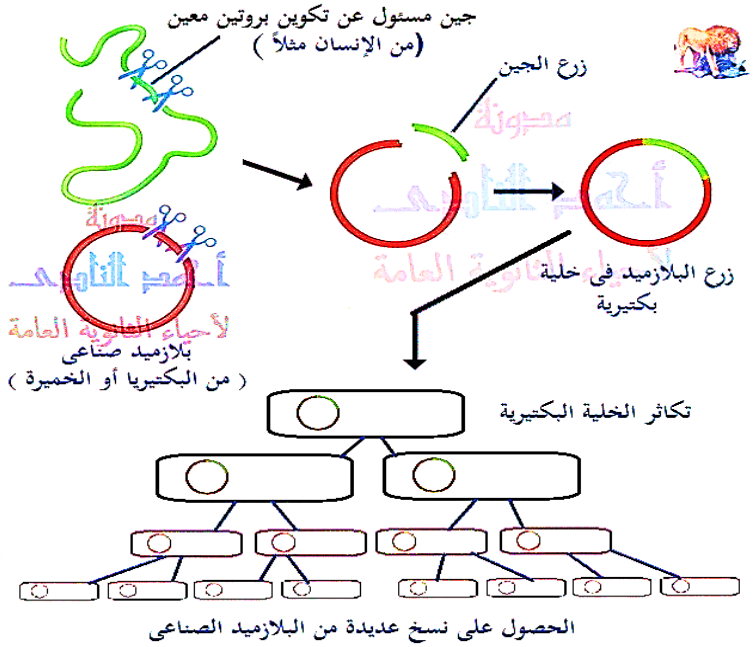
تعرف نواقل الكلونه بأنها DNA صغيرة لها القدرة على البقاء ثابته عند ربطها مع قطعه DNA غريبه ,كما تبقى ثابته عند ادخالها الى خلايا المضيف (أي أن انزيمات الـ endonuclease لا تتعرف عليها وبالتالي لا تحطمها) وهي قد تكون قطع من بلازميد أو فايروس , او جزء من كروموسومات الكائنات متعددة الخلايا (خميره, حيوان وانسان).

أنواع نواقل الكلونة :

اولا:- البلازميداتPlasmid

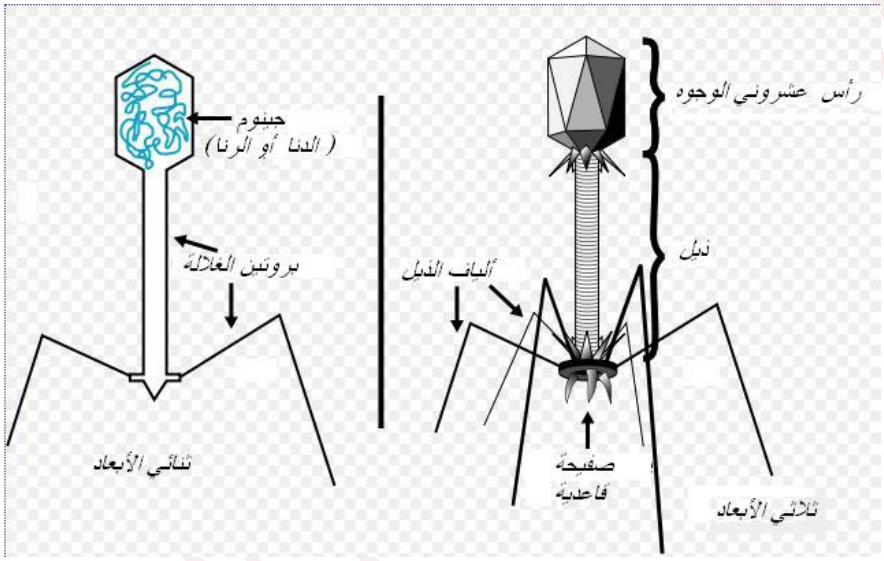


عباره عن قطع الكروموسوم عبارة عن الجينات أو المادة الوراثية غير ال DNA الموجودة في الخلية أو خارج الكروموسومات ذاتيه التضاعف , تعتبر البلازميدات من نواقل الكلونه واسعه الاستخدام إذ يمكن تحميلها أو إضافة حوالي 0- 10 Kb من القواعد النيتروجينية . تتميز البلازميدات بانها توجد باعداد كبيرة في الخلايا وهذا يعني أننا يمكن الحصول على أعداد كبيرة لنفس الجين المراد نقله ويعد البلازميد PBR322 الأكثر شيوعا و يستخدم مع بكتريا *E. coli*.



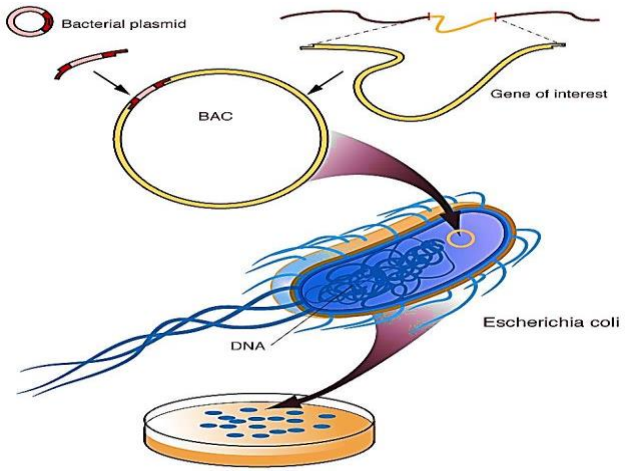
ثانيا :- العاثيات البكتيريهBacteriophage

تعرف على أنها فايروسات متخصص باصابة البكتريا . يعد العاثي لمدا والعاثيM13 أكثر العاثيات البكتيريه استخداما كنواقل للكلونه اذ يجري تحويرها بإزالة الجينات الغير اساسيه.



ثالثا:- الكوزميد Cosmid :

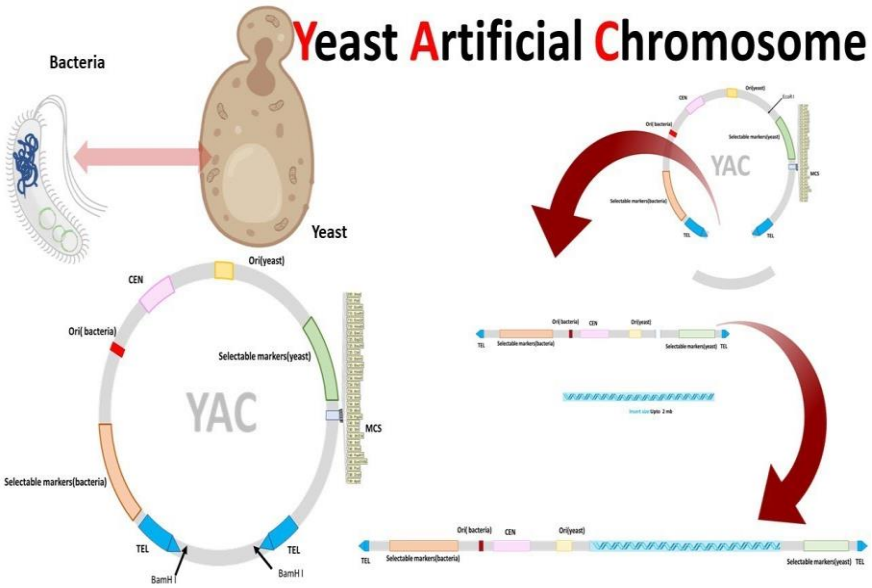
تعرف على أنها عباره عن بلازميد مضاف له قطعه من جين العاثي لمدا ،هذا النوع من النواقل له القدره على حمل قطعه DNAيتراوح حجمها بين (53-50 Kb)، وتكون اكثر كفاءة من عملية transformatiom. يمكن استغلال الكوزميدات لعملية حفظ الجينات لفترات طويله بتعبئتها في الكوزميدات وتحويلها الى virion ومن ثم حفظها لفترات طويلة وهي طريقة اكثر كفاءه من حفظها بشكل بلازميدات كونها اقل استقرارا من العاثيات .



رابعا Bacterial artificial chromosome (BAC)

يحتوي الحمض النووي على قاعدة بلازميد محوره أو أف- بلازميد تتكاثر بعيدا عن الحامض النووي في الكروموسومات، ويوجد البلازميد عادة في بكتيريا *E. coli*. تلعب أف – بلازميد دورا مهما لاحتوائها على جينات الانقسام التي تعمل على توزيع البلازميدات بعد انقسام الخلايا البكتيرية. غالبا مايكون في كروموسوم البكتيريا الصناعي نواقل كلونه تعتمد على F-plasmid لها القدرة على حمل قطع DNA بحجم (Kb 300-75).

خامسا(Yeast artificial chromosome (YAC :- -



عباره عن كروموسوم خميره محور يحتوي على الـ Telomer (القُسَيْمُ الطَرَفِيّ أو القطعة النهائية هو منطقة من تسلسل نووي كثير التكرار يوجد عند نهاية الكروموسومات يعمل تماما كنهاية رباط الحذاء النحاسية أو البلاستيكية. الفائدة الرئيسية للقسيم الطرفي تظهر أثناء عملية تضاعف الحمض النووي، ففي كل مرة يتضاعف فيها يتوقف معقد إنزيم بلمرة الحمض النووي قبل النهاية ببضعة مئات من الأسس النووية، فلو كان هذا القسيم الطرفي غير موجود لحدث فقدان لمعلومات وراثية مهمة ونتج عن ذلك خلل كبير في عمل الخلايا الحية ومنتجاتها البروتينية). كما يحتوي على منطقه بدء التضاعف, هذه النواقل يمكنها حمل قطع DNA بحجم (100-Kb1000).

أنزيمات القطع:

لا شك ان لكل كائن حي وسائل دفاعية مختلفة تحمية من غارات الاعداء وهجوم المعتدين ، مثال ذلك البكتيريا، التي تعد حدى الكائنات والتي لها اعداء كثيرة ومن اهم اعدائها الفيروسات المختلفة . ولقد قامت بعض البكتيريا بإنتاج انزيمات مهمتها تدمير الفيروسات . وتقوم هذا المقصات او ادوات القطع بقص الحمض النووي للفيروس المخترق للخلية وبذلك يشل عمله ويبطل مفعولة.

تعرف الأنزيمات القاطعة restriction enzymes على أنها أنزيمات لها القابلية على قطع شريط DNA في موقع محدد من النيوكليوتيدات يسمى بموقع التميز Recognition site وقد يكون القطع عند نفس الموقع او بعيدا عنه ويعرف موقع القطع . or restriction site Cleave وتوجد 3-5 انواع من أنزيمات القطع تختلف بالتركيب وموقع القطع ونوع القطع الذي تحدثه. يتصف موقع التمييز بأنه ذو تسلسل متناوب Palindromic sequences ويقصد انها تقرا بنفس القراءة في كلا الاتجاهين

اكتشفت الانزيمات القاطعة في1950 بواسطة Salvador Luria and Giuseppe Bertani خلال دراستهم على العاثي البكتيري لامدا إذ لاحظ الباحثان هذا العاثي يصيب سلالة معينة بكتريا *E.coli* ويتكاثر بحرية في حين تقل نسبة اصابته لسلالات اخرى لنفس البكتريا وقد فسرت هذه الظاهرة على أساس ان قلة الاصابه ناتجة من ان *E.coli* قليلة الاصابه تنتج أنزيمات قاطعه تقوم بقطع وتدمير المادة الوراثية للفيروس في حين أن المادة الوراثية للبكتريا نفسها تبقى سليمة ولا تدمر .

لقد لاحظ العلماء أن سبب ذلك يرجع إلى أن DNA البكتريا المنتجة للإنزيم القاطع لا يتأثر بهذا الأنزيم بسبب نظام حماية DNA البكتريا المنتجة وهو عبارة عن انزيم يقوم بإضافة مجموعة مثيل عند قاعدة الأدنين ويسمى هذا الإنزيم بـ DNA methyletransferease وعند دمج هذين النظامين ينتج نظام جديد متناسق سمي بنظام القطع والتحوير-restriction modification system وان الغرض الأساسي من هذا النظام هو لحماية المادة الوراثية للبكتريا التي يوجد فيها من المادة الوراثية الدخيلة والغريبة ومن الجدير بالذكر ان هذا النظام يوجد في كل من Eubacteria and Archea . لقد لاحظ العلماء أنه وبرغم وجود هذا النظام إلا انه هناك بعض العاثيات تكون مقاومة لفعل الكثير من الانزيمات القاطعة ويعود السبب الى انه بعض العاثيات تحتوي على بعض الأنظمة المشابه لـ restriction-modification system ومثالها hydroxymethyltransferases or glucosylases والتي تمكنها من المقاومة للانزيمات التي تنتجها البكتريا قليلة الاصابة.

تقسم الانزيمات القاطعة الى عدة انواع بالاعتماد على:

1- عدد الوحدات الثانوية المكونة للإنزيمsubunits

1- العوامل المساعدةcofactors
2- ميكانيكية عمل الإنزيم
3- موقع التمييزRecognition site
4- موقع القطعcleavage or restriction site
5- موقع اضافة المثيل
6- الوزن الجزيئي

المصادر:-

1- البكري غالب (1990),مبادئ الهندسة الوراثية.
2- عماش هدى (1994),مبادئ عام الحياة الجزئي.
3- زيدان حيدرواخرون(2013),مبادئ الوراثة الجزيئية.
4- K.Setow.Jane(2004),Genetic Engineering,Principles And Method.
5- .D.Watson.James(2004),Moleculer Biology Of The Gene

ANMAR NAZAR HASAN