وسرعة انقسام الخلية على كمية المواد الغذائية التي يتلقاها الجسم. وتتكون دورة الخلية من طورين متبادلين هما الطور البيني وطور الانقسام الخلوي (شكل ٢٩).

١-الطور البيني (Interphase) :- ويستغرق ٩٠% من زمن الدورة، ويتضمن ثلاث فترات هي:

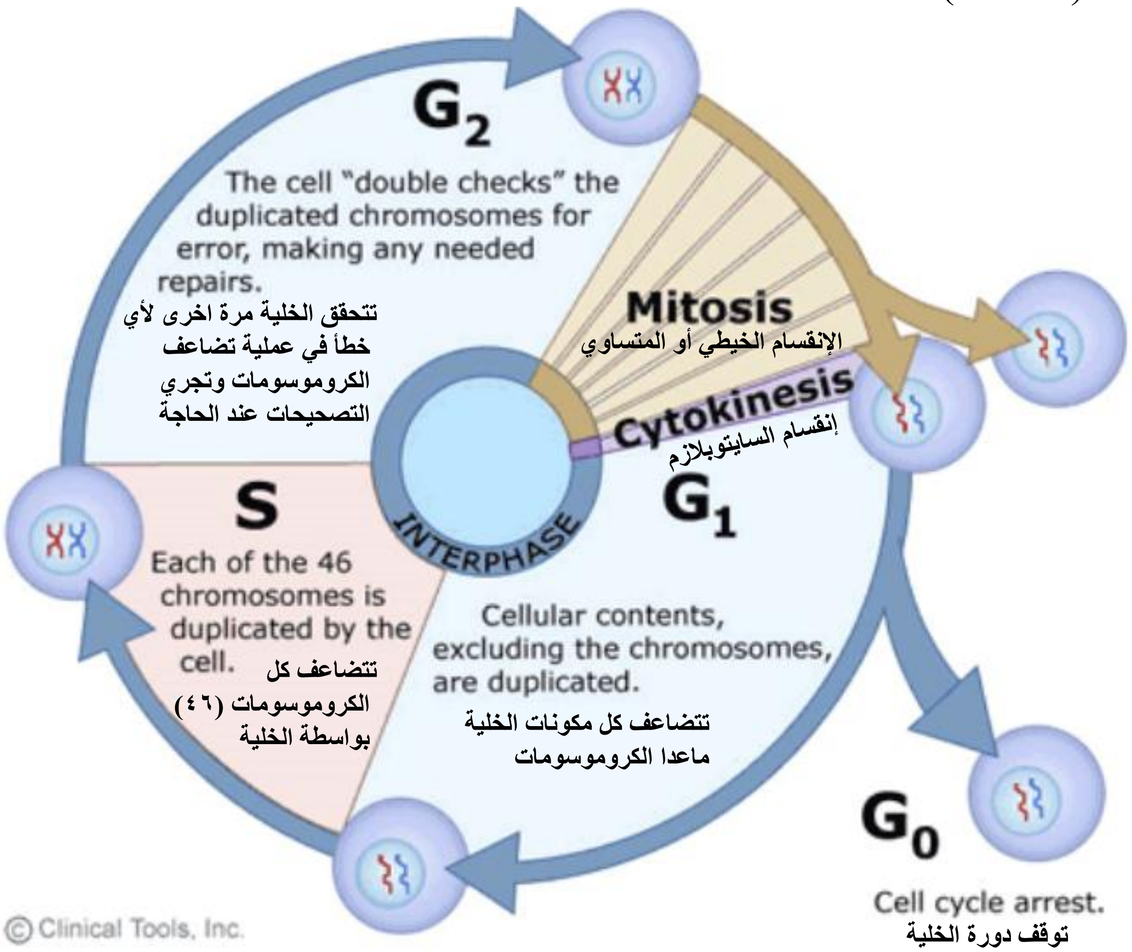
a. طور النمو الأول Growth phase (G_1) :- فيه يتضاعف عدد عضيات الخلية وبالتالي يزداد حجم الخلية.

b. طور البناء Synthesis phase (S) : **فيه يتناسخ الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA).**

c. طور النمو الثاني Growth phase (G_2) :- فيه تنمو الخلية سريعا تأهبًا للانقسام.

٢-الانقسام المتساوي Mitosis phase (M phase):- تنقسم فيها نواة الخلية ومادتها النووية وتُقسم إلى أربعة مراحل فرعية

٣-الانقسام السايتوبلازم (cytokinesis):- هي طريقة ينقسم بوساطتها سيتوبلازم الخلية مكوّنًا خلية جديدة– فتبدأ قبل نهاية الانقسام المتساويوالذي ينتهي بتكوين خليتين، تدخل كل خلية منهما طورا بينيا جديدا (شكل ٢٩).



شكل ٢٩: دورة الخلية.

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic 4th Stage Field Crops Sciences

إن خلايا أجسامنا تنقسم بمعدل ملايين الخلايا في الثانية، ولكن لا تنقسم الخلايا كلها بالمعدل نفسه، وبعضها لا ينقسم إلا أثناء النمو ثم يتوقف، أسرع الخلايا انقسامًا هي التي تبطن الأمعاء الدقيقة، فهي تنقسم كل بضعة أيام. أما خلايا الجلد فتنقسم كل بضعة أسابيع.

يمكن اعتبار ميكانيكية تناسخ جزيء DNA نتيجة مباشرة لطبيعة تركيب الحلزون المزدوج. إذ لابد أن تنفصل السلسلتين المكونتين للحلزون المزدوج حتى يتسنى استخدام كل منها كقالب لبناء جزيء جديد من DNA (شكل ٣٠). **ولكي يحدث هذا الإنفصال يجب ان تنفك أولاً حلزنة اللولب وذلك بدوران اجزاء الحلزون حول محورها** كما ان الروابط الهيدروجينية التي تربط بين أزواج القواعد المتقابلة في الجزيء الأصلي تكون سهلة الكسر عادة بدون الحاجة إلى بذل طاقة أو تفاعل انزيمي.

وجد أن المجاميع الجانبية في أزواج القواعد المتقابلة (بعكس مركبات عضوية أخرى) في مقدورها تكوين عدد من الروابط الهيدروجينية المتخصصة جداً، وبذلك يتوفر لدينا قالب نموذجي لبناء جزيء جديد عليه حيث **يتم التجاذب بين القواعد الموجودة اصلاً في القالب والقواعد المكملة في السلسلة الجاري بناؤها عندما تضاف القواعد واحدة تلو الأخرى طبقاً لقاعدة شاراجاف والتي تنص على ان (A = T و G = C)**، فاذا كانت القاعدة النيتروجينية على الشريط القديم(A) مثلا، جاءت أمامها القاعدة (T) على الشريط الجديد، والعكس بالعكس، كذلك إذا كانت القاعدة (G) على الشريط القديم، جاءت أمامها القاعدة (C) على الشريط الجديد، والعكس صحيح. **ويتم ذلك بصورة دقيقة بحيث تنعدم تقريباً فرصة حدوث خطأ (10^{-8})** مما يؤدي إلى إنتاج جزيئات جديدة عبارة عن صورة طبق الأصل ودقيقة للجزيء الأصلي.

وعليه فان آلية تناسخ جزيء حامض DNA تشمل على **فك إرتباط شريطي عديد النيكلوتيدات المكونان للجزيء بعضها عن بعض** وذلك بفك الروابط الهيدروجينية الضعيفة التي تربط بينهما. ويتبع هذا تراصف نيوكلوتيدات جديده امام كل شريط، **وارتباط بعضها ببعض بمساعدة انزيم البلمرة DNA polymerase**، وبذلك يتم تخليق شريطين جديدين من عديد النيوكلوتيدات **ويتم التناسخ في الاتجاه '5 إلى '3 فقط** (شكل ٣٠). وبمعنى آخر فان كل شريط قديم يعمل كقالب لتكوين شريط جديد وفقاً له، وبذلك فان كل جزيء من حامض DNA يكون قد تناسخ إلى جزيئين. ومن المهم ان نذكر ان تتابع القواعد النيتروجينية في الشريط القديم هو الذي يحدد تتابعها على الشريط الجديد، ومن هنا جاء القول بان الشريط القديم يعمل كقالب للشريط الجديد.

يمكن متابعة عملية تناسخDNA بمشاهدة الفلم في CD المرفق مع محاضرات الوراثة الجزيئية، حيث في عملية تناسخ DNA تشترك العديد من الأنزيمات والبروتينات منها:-

١- **إنزيم الهيليكيز Helicase enzyme** الذي يحفز عملية فصل خيطي DNA (المكملين لبعضهما) والذي ينتقل على طول الحلزون وكلما إنتقل لمكان على الحلزون يقوم بفك الخيطين عن بعضهما.
٢- **بروتينات المرتبطة بالشريط المفرد Single-strand binding proteins** وهي بروتينات تقوم بالإرتباط على خيط DNA المفرد وذلك لتجنب إرتباطه مره أخرى بالخيط المكمل حتى تتم عملية أخذ استنساخة (Copy) من كلا الخيطين.

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic 4th Stage Field Crops Sciences

٣- **أنزيم بلمرة ١ (DNA polymerase I)** يعمل على بناء السلسلة المكملة (المستحدثة) للسلسلة القائدLeading strand.

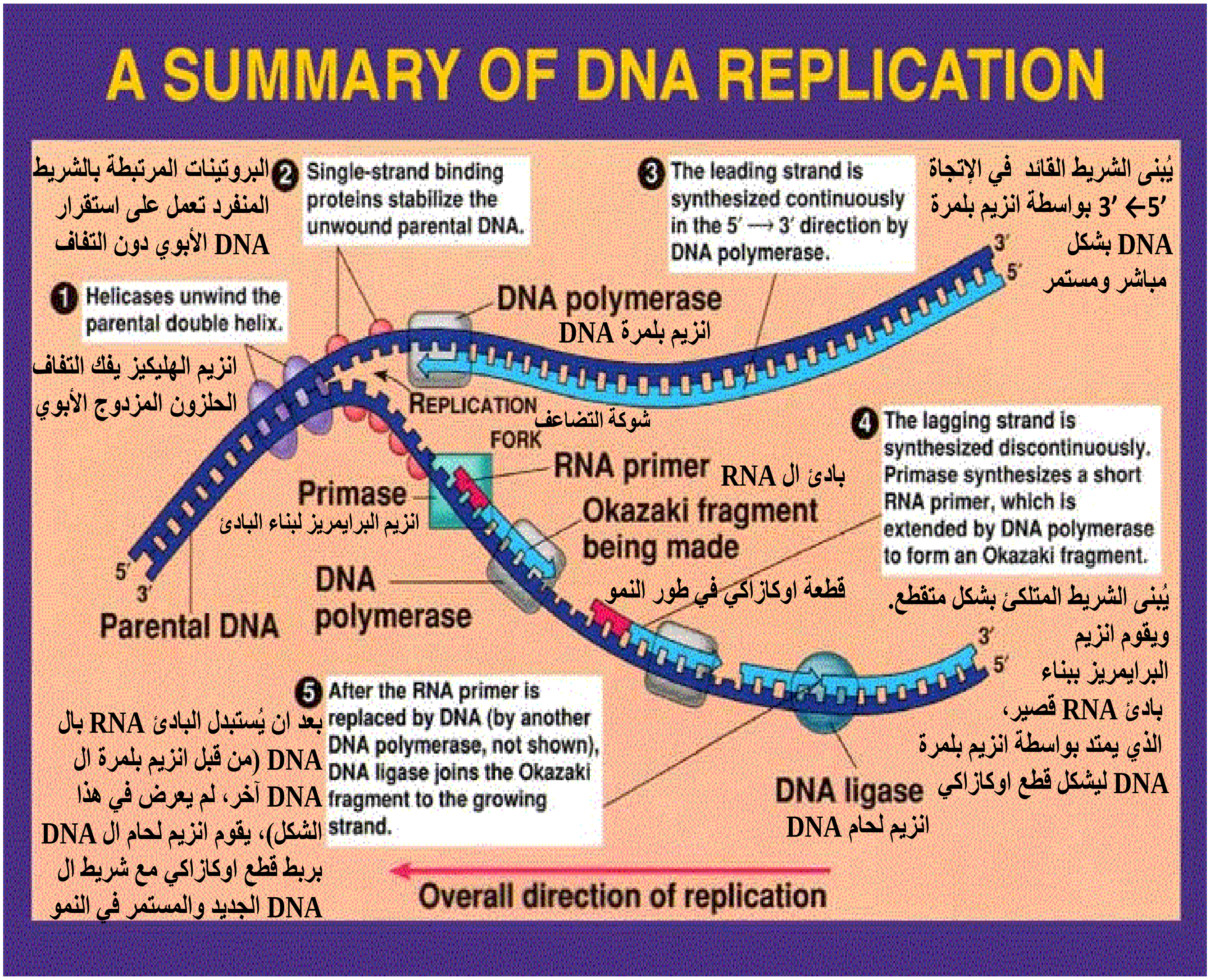
٤- **إنزيمات Topoisomerases** وهي مجموعة من الإنزيمات المتخصصة تقوم بتنظيم درجة التفاف DNA.

٥- **انزيم primase** لوضع RNA primer على السلسلة المتلكئة ليقوم DNA polymerase III ببناء السلسلة المكملة عليها وبشكل متقطع مكوناً قطع اوكازاكي Okazaki fragments.

٦- **أنزيم بلمرة ٢ (DNA polymerase II)**يعمل على بناء السلسلة المكملة (المستحدثة) للسلسلة المتلكئة Lagging strand .

٧- **أنزيم بلمرة ٣ (DNA polymeraseIII)** يعمل على تبديل RNA primer بشريط DNA لربط قطع اوكازاكي.

٨- **إنزيم اللحام (DNA ligase)**لربط قطع اوكازاكي واشرطة DNA مع بعضها في السلسلة المستحدثة على السلسلة المتلكئة.



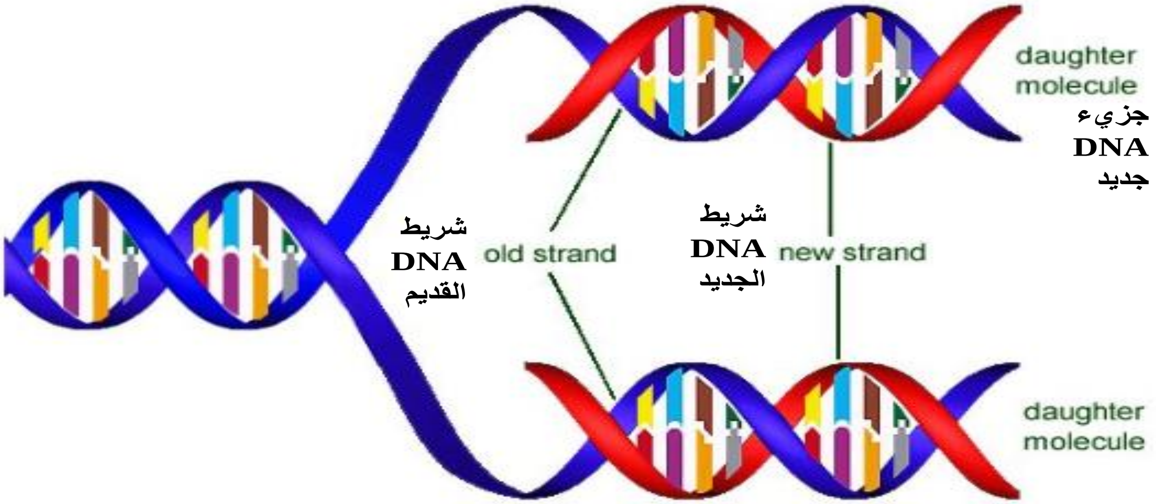
Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic 4th Stage Field Crops Sciences

شكل ٣١: شكل تخطيطي يبين ميكانيكية تناسخ جزيء DNA . يتم التناسخ بفك حلزنة السلسلتين المكونتين للحلزون المزدوج ثم إستعمال كل سلسلة كقالب لبناءسلسلة جديدة حسب قانون تزاوج القواعد (A تقابل T و C تقابل G). يلاحظ أن التناسخ يتم في الاتجاه **'5** إلى **'3** فقط.

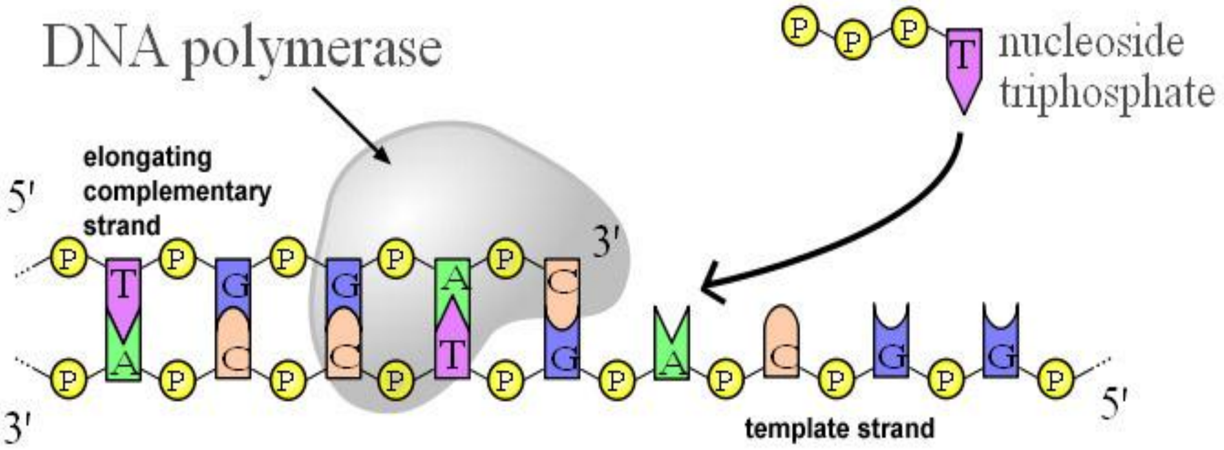
بالرغم من بساطة آلية مضاعفة الحامض النووي DNA إلا أن عملية المضاعفة هذه تحتاج إلى **<u>تركيب متخصص يحتوي على عدد كبير من البروتينات والأنزيمات، والتي تعمل مع بعضها البعض بنظام متكامل.</u>** ولذا يطلق العلماء على هذا التركيب المتخصص **ماكنة المضاعفة Replication machine**. ويجب ملاحظة أن هناك بعض الفروق التي توجد بين الخلايا الحقيقية النواة eukaryotic cell والخلايا الغير حقيقية النواة prokaryotic cell. ففي الخلايا الغير حقيقية النواة يوجد الحامض النووي DNA على شكل خيط دائري مفرد وغير مغلف بغشاء نووي. أما في الخلايا الحقيقية النواة فيوجد **غشاء نووي** يغلف الكروموسومات وكل كروموسوم يحتوي على جزيء من **حلزون مزدوج** مكون من خيطين ملتفين حول بعضهما ويوجد معهم كمية كبيرة من البروتين والحامض النووي RNA.

وتجدر الإشارة إلى أن الخيطين المكونين لجزيء DNA يكونان ملتفين حول بعضهما على شكل حلزون، ففي أثناء عملية مضاعفة DNA يجب أن يبتعد الخيطين عن بعضهما (شكل 31). وكما ذكرنا سابقاً عن نموذج واطسن وكريك للحلزون المزدوج المتكون من التفاف خيطين DNA حول بعضهما مثل **الحبل المجدول**. ولو أردنا تفريق (إبعاد) هذين الخيطين عن بعضهما فلابد أن يلف أحدهما عكسياً حول الخيط الآخر.ويحفز عملية فصل خيطي DNA (المكملين لبعضهما) انزيمات تسمى helicase enzymes والتي تتنقل على طول الحلزون وكلما إنتقلت لمكان على الحلزون تقوم بفك الخيطين عن بعضهما، وفي نفس اللحظة التي ينفصل فيها الخيطان عن بعضهما تقوم بروتينات يطلق عليها اسم Single-strand binding proteins بالإرتباط على خيط DNA المفرد وذلك لتجنب إرتباطه مره أخرى بالخيط المكمل حتى تتم عملية أخذ استنساخة (Copy) من كلا الخيطين. وكما هو معروف أن جزيئات DNA طويلة جداً ورفيعة لذا يجب أن تتم هذه العملية بحيث تبقى الصفات المحمولة على جزيء DNA دون تغيير. ولذلك فهناك إنزيمات متخصصة يطلق عليها **Topoisomerases <u>وهذه المجموعة من الإنزيمات تقوم بتنظيم درجة التفاف DNA</u>**. حيث ان مشكلة التفاف DNA تظهر نتيجة لطبيعة التفاف DNA في تركيبه الحلزوني المزدوج. ولاجل التغلب على هذه المشكلة المتسببة نتيجة الحلزون المزدوج تقوم هذه الإنزيمات (topoisomerases) **بالإرتباط** بكلا شريطي DNA**وبقطع** شريط DNA. وان هذا القطع البيني يسمح لشريط DNA ان يكون **غير مشتبك أو مفتول**، وفي نهاية هذه العمليات، فإن شريط DNA يعاد ربطه مرة أخرى. ويجدر الإشارة انه لأن سلسلة عديد النيوكليوتيد Polynucleotide chain المستحدثة تمتد لتطول بواسطة ربط **مجموعة الفوسفات** المرتبطة بذرة الكربون الخامسة للسكر الخماسي (5' Phosphate group of the sugar) من النيوكليوتيد القادم مع **مجموعة الهيدروكسيل** المرتبطة بذرة الكربون الثالثة للسكر الخماسي (3'Hydroxyl group of the sugar) عند نهاية الخيط. لذا فالخيط الجديد المخلق من DNA عادة ما ينمو في إتجاه '5←'3.

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic 4th Stage Field Crops Sciences



ميكانيكية تضاعف ال DNA
Mechanism of DNA replication



شكل ٣٢: ميكانيكية تناسخ الحامض النووي DNA وإضافة ونمو وإستطالة السلسلة في الإتجاه 5'←3'.

آلية تناسخ المادة الوراثية Mechanism of DNA Replication (DNA):-

يوصف تناسخ جزيء الحامض النوويDNA بانه شبه محافظ Semi-conservative ، وذلك لان كل جزيء من DNAناتج عن التناسخ يكون محتفظاً باحد شريطي الجزيء الأصلي، بينما يكون الشريط الآخر لهذا الجزيء الناتج مستحدث التكوين. ويتحكم الحامض النووي في العمليات البايولوجية في أي كائن حي وذلك لانه يعتبر المركز الوحيد للمعلومات الوراثية Genetic information التي تنتقل بطريقة دقيقة من الآباء إلى النسل ويتم تناسخ الحامض النووي DNA بثلاثة طرق هي:-

١. الطريقة شبه المحافظة Semi-conservative replication :-(شكل 33 A)
٢. الطريقة المحافظة Conservative replication :-(شكل 33 B)
٣. الطريقة التشتتية Dispersive replication :-(شكل 33 C)

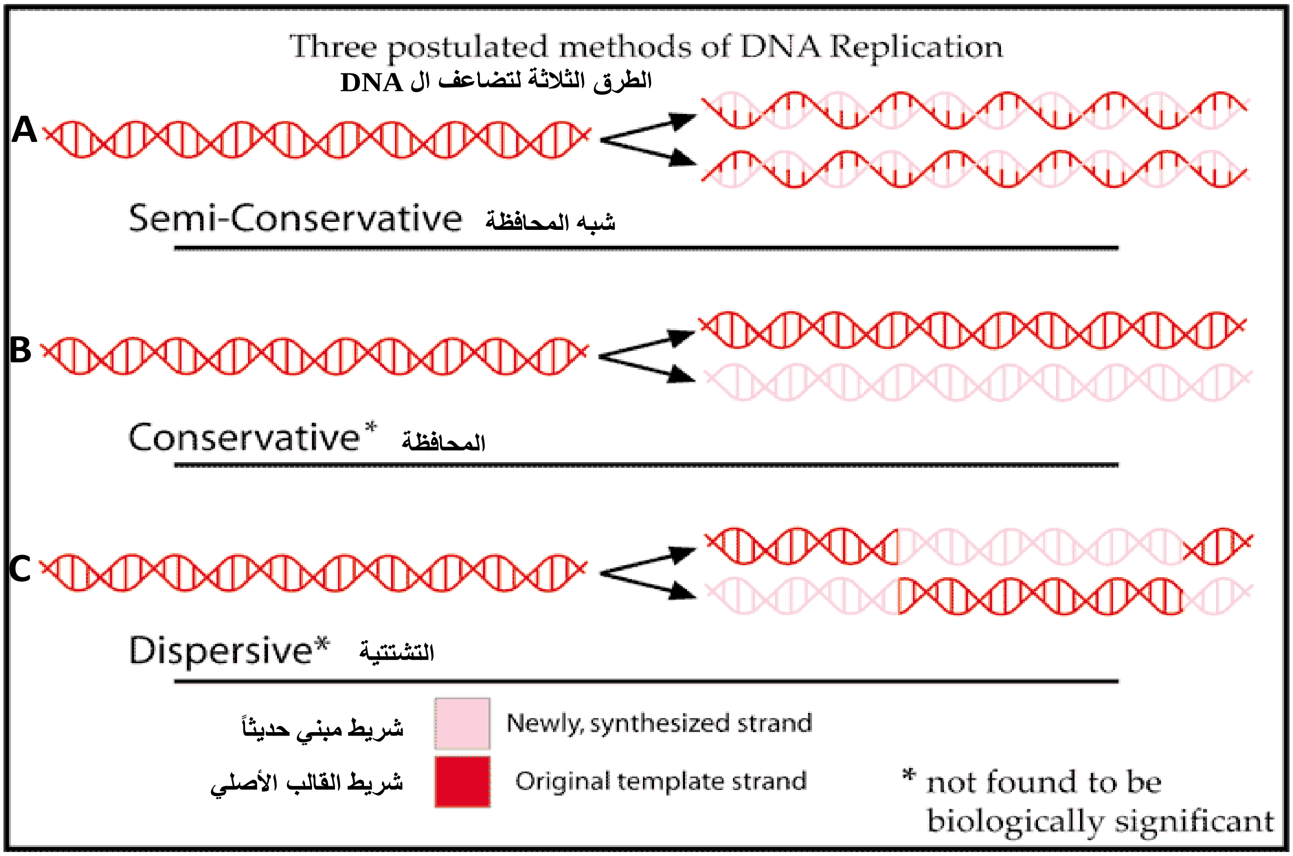
Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic 4th Stage Field Crops Sciences

١. الطريقة شبه المحافظة لتناسخ المادة الوراثية (Semi-conservative replication of DNA):-

يقترح نموذج واتسون وكريك ان التناسخ يتم حسب ميكانيكية تُعرف بالطريقة شبه المحافظة -Semi conservative بمعنى أن نصف جزيء DNA الأصلي (أي احدى السلسلتين لجزيء DNA الأصلي) يحافظ عليه في حين يتم بناء سلسلة جديدة عليها(شكل 33A).

٢. الطريقة المحافظة لتناسخ المادة الوراثية **Conservative replication of DNA:-**في هذه الطريقة يقوم الحلزون المزدوج بتكوين حلزون مزدوج آخر جديد مكون من خيطين مخلقين (شكل33 B). ويتضح في هذا الشكل الآلية المحافظة لمضاعفة DNAالتي تتمثل بأن الحلزون الأبوي يبقى كما هو دون ان تنفصل السلسلتين ويُستَعمل كقالب وتطبع عليه القواعد المقابلة للقواعد النيتروجينية الموجودة في القالب الأبوي. وبالتالي ينتج قالب جديد من الDNA.

٣. الطريقة التشتتية لتناسخ المادة الوراثية **Dispersive replication of DNA:** يتم فيها تداخل أجزاء من الخيوط الأبوية والخيوط الجديدة في أثناء عمليات **تكسر وبناء وإلتحام** لهذه الأجزاء. وتجدر الإشارة أن هذا التداخل بين أجزاء الخيوط **يتم بطريقة عشوائية**. والشكل 33C يوضح هذا التداخل العشوائي (تكسير – وبناء– إعادة إلتحام) أثناء الطريقة التشتتية لمضاعفة الحامض النووي DNA.



شكل ٣٣: طرق تناسخ الحامض النووي DNA.

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic 4th Stage/Field Crops Sciences

<u>وقد أمكن التحقق من صحة ميكانيكية الطريقة شبه المحافظة بالادلة التجريبية:-</u> فقد قام **ميسيلسون وستال Meselson and Stahl** عام **١٩٥٨** بتجربة على **بكتريا القولون** و استعملا **النيتروجين** .

References

1. Kary B. Mullis. 1990. The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction. 262(4): 56-65.
2. Kenshi Hayashi, Kary B. Mullis, François Ferré, Richard A. Gibbs. 1994. The Polymerase Chain Reaction Birkhäuser Basel. P, 464.
3. Zahra M Alkhafaji and Hassan M Abu-Almaali. 2013. PCRing and Primer Design. University of Baghdad, Baghdad. P, 304.
4. Mahmood M. Refaat and Saad B. Aloutabi. 2008. Introduction to Biotechnology. The General Egyptian Association of International Books and Documents, Cairo. P, 312
5. Elsahookie, M.M., and Ayoob O. Alfalahi. 2008. Polyploidy and its relationship with plant breeding and adaptation. The Iraqi J. Agric. Sci. 39(6):49-71.
6. Elsahookie, M.M., and Ayoob O. Alfalahi. 2008. TILLING: Modern technique combines traditional mutagenesis and functional genomics. The Iraqi J. Agric. Sci. 40(1):1-25.

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic 4th Stage Field Crops Sciences