وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة الانبار كلية العلوم

القسم: علوم الحياة المادة: بايولوجي جزيئي عملي عنوان المختبر: خصائص الحامض النووي

المختبر الثالث

انحداد مدرس مساغد هاله مهدي حمد كاية العلوم قسم غلوم الحياة

خصائص الحامض النووي

تم التعرف على معلومات هامة عن تركيب الحامض النووي DNA عن طريق حيود اشعة اكس X-ray diffraction أي انحراف اشعة اكس انحرافا ضئيلاً عند مرورها بحواف الحامض النووي كما ذكر العالم روزالين فرانكلين.Rosalin Franklin فحيود اشعة اكس هي بمثابة طريقة فعالة لتقدير المسافات بين الذرات الموجودة في جزيئات متراصة بانتظام (تركيب متعاقب من البلورات). والأشعة اكس طول موجة صغيرة جدا لدرجة انها تتبعثر بواسطة الالكترونات المغلفة للذرة في الجزيء. والذرات التي لها سحابة الكترونية كثيفة مثل الفوسفور phosphorus والأوكسجين Oxygen تسبب انحراف الالكترونات بقوة اكبر مقارنة بالذرات ذات العدد الذري الاقل.

تركيب الحامض

- تسلسل الحمض النووي هو عملية تحديد ترتيب النيوكليوتيدات لشظية DNAمعينة.
- تسلسل الحمض النووي هو تسلسل القواعد C ، C ، A
 لفي سلسلة DNAأو RNA.
 - "التسلسل مكتوب من 5" إلى النهاية الحرة 3 "للجزيء
 - 5'-ATAAGCTC-3' (DNA)
 - 5'-AUAAGCUC-3' (RNA) DNA

Nucleic Acid Stability

- يتم تثبيت هيكل الحمض النووي عن طريق التفاعلات غير التساهمية داخل الجزيئة بين القواعد.
 - تحدد روابط الهيدروجينية خصوصية الاقتران الأساسي.
- ثباتية الحامض النووي هو نتيجة التفاعلات الكارهة للماء وثنائي القطب بين أزواج القواعد النيتروجينية Base Pair.
- الحمض النووي مستقر بشكل عام يقاوم الهجوم في المحاليل الحمضية والقلوية, لكن في المحاليل الحمضية الخفيفة عند درجة الحموضة 4 تتحلل روابط بيتا جليكوسيدك إلى قواعد البيورين.
- DNAعرضة للانقسام بواسطة أيونات الهيدروكسيل, على النقيض من الحمض النووي الرببي RNA غير مستقر للغاية في المحاليل القلوية بسبب التحلل المائي للعمود الفقري الفوسفوديستر حيث ان مجموعة 2' OH في الرببونوكليوتيدات تجعل جزيئات الحمض النووي الرببي عرضة للانقسام في المحاليل القلوية.

- هناك العديد من الإنزيمات التي تحطم الحامض النووي مثل RNA ribonucleases تم استخدام الريبونوكلياز من قبل كريستيان أنفينسين في تجربته الشهيرة في طي البروتين.
- يتم تحلل DNA بواسطة deoxyribonucleases قد تهضم هذه الإنزيمات شريطة DNAمن نهاية الشريط الخارجية--Exonucleases او الداخلية.
- يمكن فصل سلسلتي عديد النوكليوتيدات للحمض النووي الحلزوني المزدوج في ظل ظروف معينة في الغالب عن طريق رفع درجة الحرارة
- يسمى الانتقال من DNA مزدوج الشريطة dsDNA إلى DNAذي لفة عشوائية أحادية السلسلة sDNAباسم انتقال اللولب الحلزوني helix-coil transition.
- الشروط الواجبة للتغيير من dsDNA إلى ssDNAهي: الذوبان ، والتمسخ ، وفصل الخيوط الما الشروط الواجبة للتغيير من ssDNA إلى dsDNAهي التلدين وإعادة التشبع والتهجين في سياقات معينة.

- تمتص الأحماض النووية ضوء الأشعة فوق البنفسجية بسبب الطبيعة الحلقية المترافقة للقواعد.
- لا يساهم العمود الفقري للسكر والفوسفات في الامتصاص, ويبلغ الطول الموجي لأقصى امتصاص للضوء بواسطة كل من DNAو 260 RNA نانومتر, يمكن استخدام خصائص الامتصاص للكشف عن النقاوة وتقديرها
- من خلال الامتصاص عند 260 نانومتر يمكن تحديد تركيز الأحماض النووية

At a concentration of 1 mg ml-1and 1 cm path length, dsDNA has A260= 20

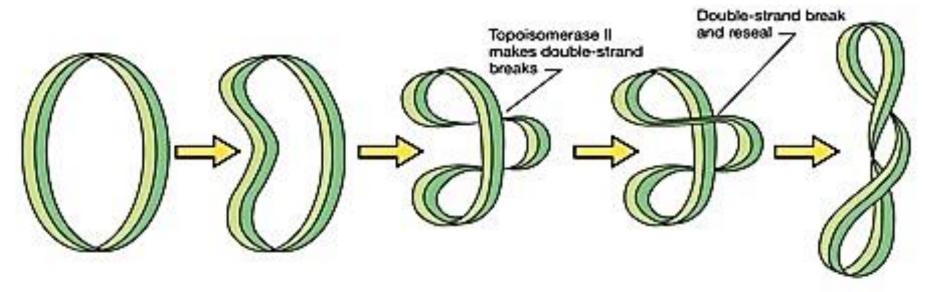
RNA and ssDNA haveA260= 25

تعتمد قيم RNA و ssDNA على التركيب الأساسي والبنية الثانوية اما نقاوة الحمض النووي فتحتسب من نسبة .A260 / A280

تمثل نسبة 1.8 = A260 / A280 عمومًا عينة DNA عالية الجودة. تشير القيم الأعلى من 1.8 إلى تلوث الحمض النووي الريبي اما القيم الأقل من 1.8 فتشير إلى تلوث البروتين

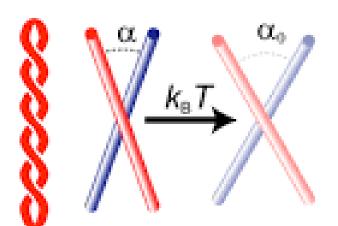
DNA Supercoiling

- التفاف الحمض النووي Supercoiling لل DNA الحلقي او الخطي وهي مهمة حيث توفر للجزيئة تركيب ثلاثي او رباعي الابعاد وبناءا على ذلك يطلق مصطلح Superhelicity اشارة الى التركيب ثلاثي الابعاد لجزيئة DNA اما مصطلح Supercoils فيشير الى شريط DNA حلقي مزدوج ملتف حول بعضه
- وعليه تطلق المصطلحات supertwisting or وعليه تطلق المصطلحات supertwisting or الالتفاف الفائق للاشرطة الملتفة.
- DNA في حقيقيات النواة تقترن مع بروتينات خاصة تسمى الهستونات لتكون معا الكروموسومات.
- (left-handed: تسمى الاشرطة الفائقة الالتفاف والمتكونة عن طريق زيادة الارتباط للاشرطة الحلزونية الملتفة اساسا حيث إنها تنتج عن لف أكثر إحكامًا أو التفافًا في حلزون الحمض النووي (بسبب زيادة الارتباط) مما يؤدي إلى تقلبات حلزونية إضافية
- (negative(right-handed: تسمى الاشرطة الفائقة الالتفاف المتكونة من عجز في ارتباط الملفات الفائقة السلبية وهي ناتجة عن الانحناء أو الفك أو الالتواء للحلزون DNA بسبب عجز في الارتباط).

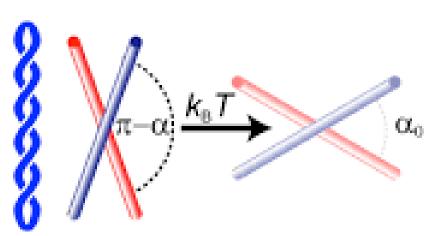


- Relaxed circle
- One part of circle is laid over the other
- Result is contact between the helix in two places. Note that no twisting has as yet been introduced.
- After topoisomerase II
 action, twisting (a
 negative supercoil) has
 been introduced.
- Supercoiled DNA

Positive supercoils



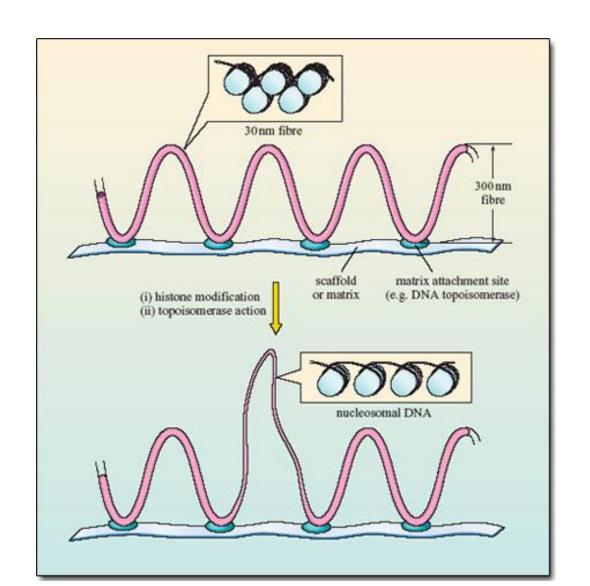
Negative supercoils



Topoisomer

- Topoisomers or topological isomers هي جزيئات لها نفس التركيب الكيميائي ولكن بترتيب فراغي مختلف.
- DNA topoisomers ممكن ان يفك التفافها بفعل انزيمات خاصة تسمى topoisomerases. حيث لهذه الانزيمات القدرة على فك التفاف واعادة التفاف شريط DNA من اجل تضاعفه وصنع البروتينات من خلال قطع الشريط وربطه مرة اخرى.

DNA topoisomerases



المصادر

 Molecular Biology. P.C. Turner, A.G. Mclennan, A.D. Bates & M.R.H. White.School of Biological Sciences, University of Liverpool, Liverpool, UK. Second edition. BIOS Scientific Publishers, 2000.