محاضرات التقنيات الاحيائية

د. محمـــد عبد الغفـــور محمـــــد
كليـــــة الزراعـــــة/ جامعـــــة الانبـــــار

طبيعة المادة الوراثية في الكائنات الحية

الوحدة البنائية للكائن الحي:

يتكون جسم الكائن الحي في النبات والحيوان والإنسان من عدة أعضاء (Organs) وكل عضو يتكون من عدة أنسجة (Tissues)، وكل نسيج يتكون من عدة خلايا (Cells): وعليه فإن الخلية (Cell) هي وحدة التركيب والوظيفة في الكائن الحي. تحتوي الخلية بشكل عام على عدد من العضيات (Cell Organelles)، وهي عبارة عن تراكيب محددة توجد داخل خلية الكائن الحي تقوم بجميع الوظائف الحيوية التي تخصه. ومن أهم العضيات التي توجد فيها المادة الوراثية في الخلية الحيوانية والنباتية هي: النواة (Nucleus). يبلغ عدد الخلايا المكونة لجسم الكائن الحي ملايين أو بلايين الخلايا بجسمها بحسب نوع الكائن ويوجد منها نوعان، هما

١- الخلايا الجسدية (Somatic Cells)، ويطلق عليها كذلك الخلايا الجسمية حيث تمثل كافة أنواع الخلايا الجسم فيما عدا الحيامن (الخصيتين) في الرجل، والمبيض في رحم المرأة، وكذلك الأسدية (Statens)، و المبيض في النبات، تحتوي نواة الخلية الجسدية على العدد الكامل من الصبغيات (Chromosomes) في صورة زوجية (Diploid)، حيث يوجد في نواة الخلية الجسدية للإنسان على سبيل المثال ٤٦ صبغي (٢٣ زوج).

٢ - الخلايا الجنسية أو التناسلية (Germ Cells): وهي عبارة عن وحدات التكاثر الجنسي في الكائن الحي، مثل: البويضة في المرأة والحيوان المنوي في الرجل. وتحتوي نواة الخلية التناسلية على نصف عدد الصبغيات في صورة فردية (Haploid)، حيث يوجد في نواة الخلية التناسلية للإنسان ٢٣ صيفي فقط ، وبذلك يتجلى إبداع الخالق سبحانه وتعالى حين ينتج العدد الكامل من الصبغيات مرة أخرى بتزاوج الأمشاج المذكرة مع المؤنثة. وهي وسيلة للمحافظة على النوع عبر الأجيال المتعاقبة.

النواة : تعد النواة البنك المركزي للمعلومات الوراثية في الخلية، وتتوزع المعلومات الوراثية على عدد من التراكيب داخل النواة تسمى الكروموسومات والتي تمثل الوحدات الحاملة للصفات الوراثية في الكائن الحي. ومن الناحية الشكلية يتكون الكروموسوم من كروماتيدتين (Chromatids) يرتبطان عن طريق السنترومير (Centromere)، أما من الناحية الكيميائية فإن الكروموسوم يتكون من الحمض النووي منقوص الأكسجين DNA (Deoxyribonucleic Acid) وبروتين.

المادة الوراثية Genetic Material

اثبتت الدراسات العلمية أن الأحماض النووية هي المادة الوراثية في الخلية والمسئولة عن نقل الصفات الوراثية عبر الأجيال المتابعة لجميع الكائنات الحية . وهناك ادلة كثيرة على ذلك و من الدلائل النظرية أن الأحماض النووية في المركبات البيو-كيميائية الوحيدة التي لا تتحول الى مركبات اخرى اثناء عمليات الأيض، كما أن كمية الأحماض النووية الموجودة في خلايا الكائن الواحد ثابتة ، و أن الخلايا الجسدية تحتوي على اضف محتوى الخلايا التناسلية منها واثبت العلماء ان DNA هو المادة الوراثية المعظم الكائنات الحية ويمثل RNA المادة الوراثية في بعض الفيروسات. ومن الدلائل العملية لإثبات آن DNA هو المادة الوراثية الأساسية للكائنات الحية ما قام به العالم كريفث عام ١٩٢٨ من حقن مجموعة من الفئران بخلايا بكتيريا غير مميتة حية ممزوجة

مع خلايا بكتيريا مميتة غير حية ادى الى وفاة بعض الفئران مما دل على انتقال المادة الوراثية للبكتيريا المميتة الى المادة الوراثية للبكتيريا غير المميتة مما غير من خصائصها الوراثية. كما قام العالم أفري عام ١٩٤٤ بالتعرف على المادة الوراثية ضمن مكونات البكتيريا الميتة وهى دهون وكربوهيدرات وبروتينات وDNA و RNA والتي قام بتجزئتها الى مكوناتها ثم خلطها مع بكتيريا غير مميتة ثم قام بحقن الفئران بها فلاحظ موت الفئران التي حقنت بالحمض النووي DNA مما اثبت ان DNA هو المادة الوراثية التي نقلت الصفة المميتة الفئران وتتميز المادة الوراثية بقدرتها على تخزين المعلومات الوراثية ونقل هذه المعلومات بدقة الى الآباء الى الأبناء جيلا بعد جيل كما انها تتميز بدقة التعبير عن نفسها في الوقت والمكان المناسب مما يسمح بتطور تكوين الشكل الظاهري الكائن الحي من الزيكوت وحيد الخلية الى الكائن الكامل البالغ ويمكن تلخيص صفات المادة الوراثية في الاتي:

١. الثبات كي تحافظ المادة الوراثية على صفات النوع.

٢ . المقدرة على التضاعف الذاتي لكي تنتقل من خلية الى خلية ثم من جيل إلى جيل عبر الأجيال المختلفة.

٣ . المقدرة على تخزين المعلومات الوراثية في صورة مادة كيميائية هي DNA المقدرة على ترجمة هذه المعلومات المخزنة لتوين البروتينات هو القابلية للتغير الوراثي المسئول عن التنوع والاختلاف في الكائنات الحية .

تقسم الكائنات الحية على حسب وجود الكروموسومات داخل النواة من عدمه إلى:

١ـ كائنات حقيقيات النواة (Eukaryotes): وهي مجموعة الكائنات الحية التي توجد كروموسوماتها داخل النواة ويحيطها غلاف نووي ، وتشمل النباتات الراقية والحيوان والإنسان .

٢ـ كائنات أوليات النواة (Prokaryotes): وهي مجموعة الكائنات الحية التي توجد كروموسوماتها حرة في سيتوبلازم الخلية، أي لا يفصلها عنه غلاف نووي، ومنها البكتريا (Bacteria)، والطحالب الخضراء المزرقة (Blue Green Algae).

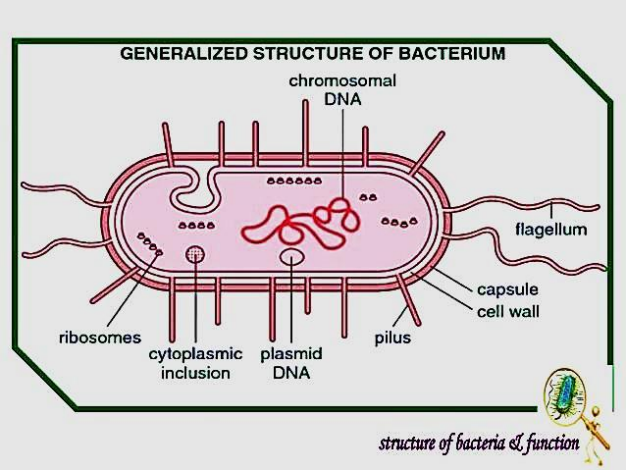
تركيب المادة الوراثية في الكائنات بدائية النواة Prokaryotes

تشمل البكتريا Bacteria والطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae حيث تفتقر هذه الكائنات الى الغلاف النووي كما تكون مادتها الوراثية من كروموسوم منفرد Haploid يتكون من جزيئة DNA دائرية التي يكون موقعها في المجال النووي Nucleoid (نيوكليود). يعتقد من الناحية التطورية أن الكائنات بدائية النواة تُعد اسلاف الكائنات حقيية النواة.

أن المادة الوراثية للخلايا بدائية النواة Prokaryotic cells والمتمثلة بالحامض النووي DNA المسؤول عن خزن المعلومات الوراثية ونقلها تكون موزعة في بروتوبلازم الخلية المسمى Nucleoplasm وهي غير مفصولة بنظام غشائي عن السايتوبلازم ، وتترتب بدرجة عالية من الالتفاف Supercoiled الذي يعتمد على نوع البروتين والحامض النووي أو كلاهما، ويعتقد اشتراك التلافيف الفائقة في عمليات الاتحادات الجديدة Recombination والتعبير الجيني Gene expression وتنظيمه. فمن خلال توسط ملتهمات البكتريا Bacteriophage في الاتحادات الجديدة يمكن الاستعاضة عن حلقات معينة من المادة الوراثية في البكتريا وبذلك يمكن الحصول على التحول البكتيري Transformation والذي يتم خلاله إدخال DNA عاري مثل

البلازميد Plasmid ضمن خلية محولة والمحافظة على ذلك التحول. وتستعمل غشاء البلازما plasma lemma والتراكيب النامية منه لإنجاز معظم الوظائف الحيوية دون تجزئة هذه الوظائف الى عمليات صغرى . فمثلاً العمليات الحيوية المتعلقة بالتنفس والتركيب الضوئي تحدث في الأغشية المتصلة بالغشاء الخلوي (غشاء البلازما) إن حجم خلية البكتريا يقارب (٢-٤) مايكرون أي بقدر حجم المايتوكوندريا في الخلايا النباتية والحيوانية، يتميز فيها مناطق نووية خفيفة Nucleoid والمتمثلة بالكروموسوم وهو جزينة من الـ DNA الدائرية المفردة وتحتوي على جميع المعلومات الوراثية للبكتيريا. أن المعلومات الوراثية الموجودة في الـ DNA للبكتريا كافية لتشفير وبناء ٢٠٠٠ - ٣٠٠٠ نوع من البروتينات. فضلاً عن وجود الكروموسوم فان قسماً من البكتريا التي تولد مقاومة للمضادات تحتوي على DNA حلقي (او دائري صغير تسمى البلازميدات Plasmids وهي مادة وراثية بشكل جزيئات من الـ DNA تكون خارج الكروموسوم الرئيسي ، وباستطاعتها التكرار الذاتي Replicon بصورة مستقلة ، وتعد أغلب البلازميدات غير ضرورية لبقاء الخلية التي تتواجد فيها لكن وجودها ضروري في العديد من الحالات وجود المضادات الحيوية (بمعنى آخر تعد كروموسومات إضافية صغيرة يمكن عزلها وإعادة دمجها مرة ثانية) . وهناك ثلاثة أشكال من البلازميدات البكتيرية هي :

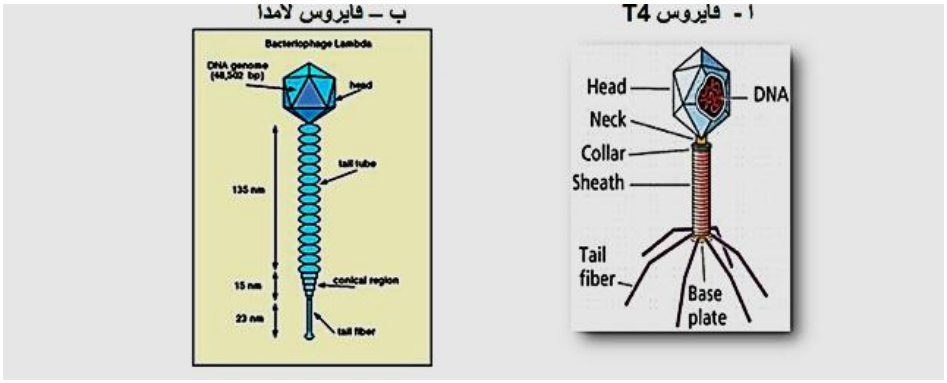
١ - بلازميدات عوامل الخصوبة .٢ - بلازميدات مقاومة المضادات الحيوية .٣ - بلازميدات الكوليسين والبكتريوسين . وفضلا عن ما ذكرناه من عوامل وراثية في البكتريا هناك عناصر وراثية تستطيع التكرار بأحد الطريقتين التاليتين - أولاً - بشكلها المتكامل مع الكروموسوم البكتيري الرئيسي .ثانيا .بشكل عناصر وراثية مستقلة عن الكروموسوم الرئيسي يطلق على هذه العناصر الوراثية Episomes ومنها عناصر تواليات الاقحام Insertion Sequences Elements (IS elements) وهي تواليت قصيرة من الحامض النووي DNA تتوسط الكروموسوم الرئيسي للاتحادات الجديدة التي تحصل بين العناصر الوراثية غير المتماثلة وعناصر Transposon elements منها العناصر المسؤولة عن إحداث الورم (Tumor - inducing Ti element elements) للبكتريا *Agrobactrium tumefaciens* وقد أمكن استخدامها في إدخال جينات جديدة ومن ثم نقلها داخل الخلية النباتية .لذلك فهي عناصر وراثية تشارك في ترتيب جينوم الكائن الحي وتساهم في حذف ودمج المتضاعفات وتستعمل بكثرة في الهندسة الوراثية.



(الرواشح) Viruses

تُعد العاثيات (الرواشح) مجموعة مختلفة فهي لا تأتي ضمن الكائنات بدائية النواة ولا حقيقية النواة، وعلى الرغم من التباين الكبير بين الفايروسات المختلفة إلا أن جميعها تشترك في مميزات أساسية فجميعها طفيليات

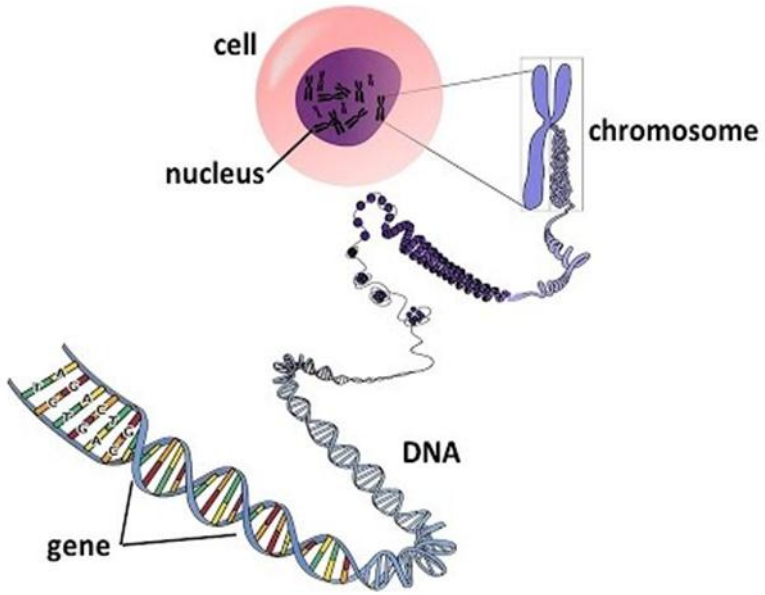
مجبرة Obligate parasite لا تستطيع التكاثر ما لم تكن موجودة في خلية مضيف خاصة بها ، كأن تكون بكتريا أو خلية حيوانية أو نباتية .فضلاً عن ذلك فأن الفايروسات قد توجد في حالة مختلفة عن ذلك تماماً وهي وجودها خارج حدود الخلية وفي هذه الحالة تكون الفايروسات بصورة جسيمات تسمى Virions. والفايروسات لا تمللك نواة أو سايتوبلازم او غشاء خلوي، وبدلاً عن ذلك تحتوي على جزئية مفردة من واحد من الحامضين النوويين الـ DNA و RNA وليس كليهما الذي يحتل لب الـ Virion ، وان امتلاك الفايروسات نوعاً واحداً فقط من الحوامض النووية ميزها عن جميع الخلايا الحية التي تحتويعلى كلا النوعين من الحوامض النووية يختلف المظهر الخارجي للفايروسات باختلاف أنواعها المختلفة ، فمنها تكون عصويا فايروسات التي تصيب الخلايا النباتية ومنها دائرية او قد تكون متعددة السطوح .يبلغ طول أو قطر الفايروس بين (٣٠) إلى (٣٠٠) نانوميتر، وهكذا فان اصغر الخلايا الحية (البكتريا والمايكوبلازم . . . الخ) تتعرض للإصابة بالفايروسات .وتدعى تلك التي تهاجم البكتريا ملتهمات البكتريا (Bacteriophages وللاختصار تسمى phages).والشكل التالي يوضح بعض انواع الفايروسات.



تركيب المادة الوراثية في الكائنات حقيقية النواة Eukaryotes

تحتوي الكائنات حقيقية النواة على كتلة صغيرة من المادة الأولية Protoplasm محاطة بغشاء البلازما Plasma membrane وتتكون من السايتوبلازم والنواة والعضيات. تضم هذه الكائنات الحية مجموعة كبيرة من الأحياء مثل الابتدائيات Protozoa والفطريات Fungi والطحالب Algae والحيوانات ومنها الأنسان والنباتات الراقية إن المادة الوراثية للكائنات حقيقية النواة تكون ثنائية المجموعة الكروموسومية Diploid بمعنى أن لها مجموعتين كاملتين من الجينات (كل مجموعة تأتي من أحد الأبوين) وهنالك العديد من النباتات الراقية يتضاعف فيها المجاميع الكروموسومية Polyploid وهذا يعني أنها تحمل عدة نسخ من الجينوم Genome (مصطلح يطلق على المجموعة الكاملة من المادة الوراثية للكائن الحي). **والكروموسوم** تركيب أسطواني الشكل يوجد في نواة الخلية. يطلق على كل زوج من الكروموسوم عادة تسمية كروماتيد واعتمد استعمال **مصطلح الكروموسوم** لوصف الكروماتيدين المتحدين. كل كروماتيد يترتب بشكل حلزوني ويحمل في طياته على عشرات الآلاف من المورثات Genes حيث يحمل كل كروموسوم في طياته ما يقارب ٦٠ . ٠٠٠ الى ١٠٠ . ٠٠٠ مورثة وكل مورثة لها موقع خاص بها على التركيب الحلزوني للكروماتيد مشابه بالضبط لموقع نفس المورثة على الكروماتيد المقابل. كل مورثة بدورها تتألف من سلسلة من النيوكليوتيدات Nucleotides. وأظهر التحليل الكيميائي للكروماتين Chromatin المعزول من نواة خلية في الطور البني Interphase بانه يحتوي على حامض نووي رايبوزي منقوص الأوكسجين DNA وبروتينات هيكلية وكمية أقل من الحامض النووي الرايبوزي RNA . ترتبط أنواع معينة من البروتينات مع الـ DNA لتكوين الوحدات

الثانوية من الكروماتين والتي تسمى Nucleosomes. والبروتينات فنتين هما : ١ - بروتينات القاعدة Basic proteins وهي ذات شحنة موجبة عند درجة الحموضة المتعادلة تدعى Histones . توجد في كروماتين جميع الكائنات الراقية حقيقية النواة وبكمية تكافئ الحامض النووي DNA وزن وزن ويلعب هذا النوع من البروتينات دوراً رئيسياً في تكوين الوحدات الثانوية للكروماتين ٢ - بروتينات غير متجانسة Heterogeneous proteins وهي ذات شحنة سالبة و غالباً تكون حامضية في درجة الحموضة المتعادلة يطلق عليها Non - histones . وأكد فحص المجهر الإلكتروني للكروماتين احتواءه على سلسلة من حبات أهليجية ترتبط بخيط دقيق ، وعند هضم الكروماتين باستعمال انزيمات Nuclease أعطى قطع من الـ DNA يبلغ طولها ١٤٦ نيوكليوتايد ، وهذه القطع تكون محمية بطريقة ما من استمرار فعل انزيمات الهضم ، كما أن الهضم الجزئي للكروماتين بهذا النوع من الأنزيمات يعطي قطع من الـ DNA بطول ٢٠٠ زوج من النيوكليوتيدات Nucleotides من كل نيوكليوسوم Nucleosome تكون متضاعفات كاملة من قطع أصغر حجماً ، وهذا يدل على أن الكروماتين تركيب متكرر من وحدات متشابهة. مما سبق يتضح لنا أن الحامض النووي الـ DNA هو المادة المكونة للمورثات والتي تعد المسؤولة عن ورائه الصفات في الكائنات الحية عدي بعض الحالات النادرة لبعض الكائنات يكون فيها الحامض النووي RNA هو المادة الوراثية كما في بعض الرواشح .



تقسم الخلايا الحقيقية النواة الى ما يأتي:

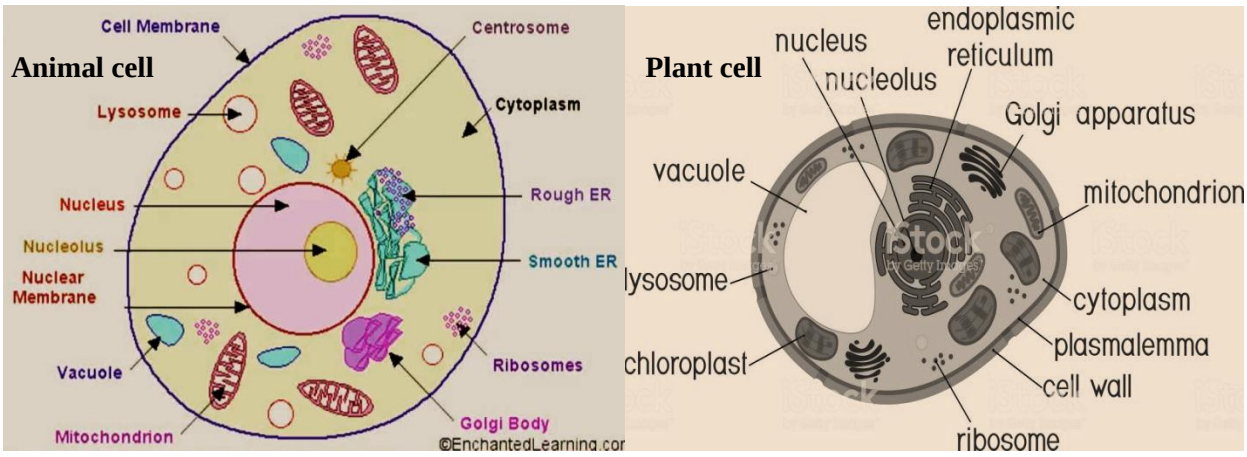
: ١ ـ خلايا حقيقية النواة نباتية Plant cell:

في هذه الخلايا تترتب وتنتظم الأجزاء الخلوية بحيث يختص كل جزء ثانوي بوظيفة بايولوجية معينة وتسمى هذه الأجزاء الخلوية الثانوية المحكمة التنظيم باسم العضيات الخلوية Cell organelles . فالتركيب الضوئي Photosynthsl5 يجري في البلاستيدات الخضراء Chloroplasts والفعالية التنفس ية Respiratory والفسفرة التاكسدية Oxidative phosphorylation تحدث في المايتوكوندريا Mitochondria والمادة الوراثية تتركز في النواة كما تحتوي الخلية النباتية على فجوات Vacuoles لخزن المواد المغذية أو لإجراء

التفاعلات مهدمة degredative reactions الفضلات الخلوية. وبعبارة أخرى فان الوظائف الحيوية المختلفة تحدث في عضيات الخلوية المنفصلة المنتظمة التركيب والمتعاونة مع بقية أجزاء الخلية

٢ - خلايا حقيقية النواة حيوانية Animal cells :

الخلية الحيوانية عبارة عن كتلة من البروتوبلازم المحاط بغشاء محدد وبداخله السايتوبلازم Cytoplasm ويحتوي على نواة واحدة أو أكثر، يمثل السايتوبلازم الجزء السائل الموجود داخل الخلية ويحتوي على عدة عضيات خلوية Cell organelles اكثر كثافة من السايتوبلازم مثل اجسام كولجي والمايتوكوندريا والنواة وبعض الأجسام الكروية مثل جسيمات البيروكسومات Peroxisomes التي يحنث فيها تحطيم الأحماض الأمينية Amino والأحماض الدهنية Fatty acids وكذلك الجسيمات الحالة Lysosomes التي تعمل على تحطيم المواد الغريبة الداخلة الى الخلايا ، هذا فضلا عن احتواء الخلية على بروتينات ليقية fibrous proteins يطلق عليها اسم Cytoskeleton، كما يحتوي السايتوبلازم على تركيب رقيق غشائي يعرف بالشبكة الاندوبلازمية endoplasmic reticulum ومحتويات ناشئة عن فعالية البروتوبلازم تسمى بالمواد البروتوبلازمية المؤقتة مثل المشتملات Inclusions والتي تشمل مواد دهنية وحبيبات مفرزة. وفي بعض الخلايا على نشا حيواني Glycogen وكذلك حبيبات صبغية وبلورات. كما أن بعض الخلايا المسنة Old cells قد تحتوي على فجوات مختلفة الأحجام يوضح الجدول التالي الفريق بين الخلية النباتية الحقيقية النواة والخلية الحيوانية الحقيقية النواة .



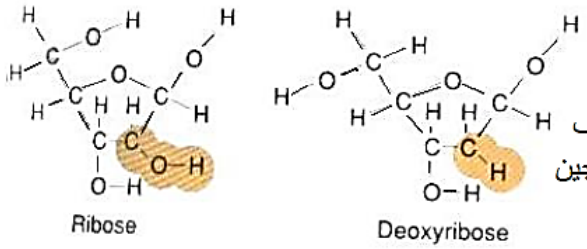
- **الأحماض النووية:**

يوجد الحمض النووي منقوص الأكسجين **(DNA)** على امتداد الكروموسومات في الخلايا مشكلاً أساس الوراثة. وهو اسم مختصر مشتق من اسمه، وذلك نسبة النوع السكر الخماسي الذي يدخل في تركيب وحداته البنائية. ويوجد داخل كروموسومات الخلية في شكل حلزون مزدوج - أي خيطين يلتمان على بعضهما والوحدة البنائية له هي النيوكليوتيدة **(Nucleotide)** والتي تتكون من سكر خماسي، وقاعدة نيتروجينية، ومجموعة فوسفات. وكل مجموعة من النيوكليوتيدات على امتداد الحمض النووي منقوص الأكسجين (DNA) تكون وحدة مستقلة تُسمى مُورّث **(Gene)**، ويمكن اعتبار الحمض النووي منقوص الأكسجين (DNA) مقسم لعدد من العقل كل منها يسمى مُورّث، وهو أساس تصنيع البروتين الموجود في الخلية، ويتم تصنيعه عن طريق حلقة وصل بينهما هو الحمض النووي الريبوزي **RNA (Ribonucleic Acid).**

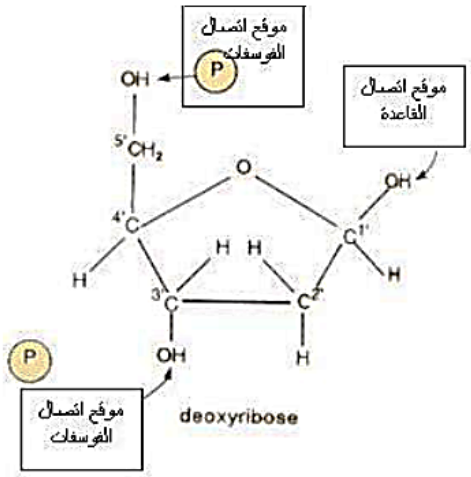
محاضرات التقنيات الاحيائية
د. محمـــد عبد الغفـــور محمـــد
كليـــة الزراعـــة/ جامعـــة الانبـــار

تركيب DNA (DeoxyriboNucleic Acid)

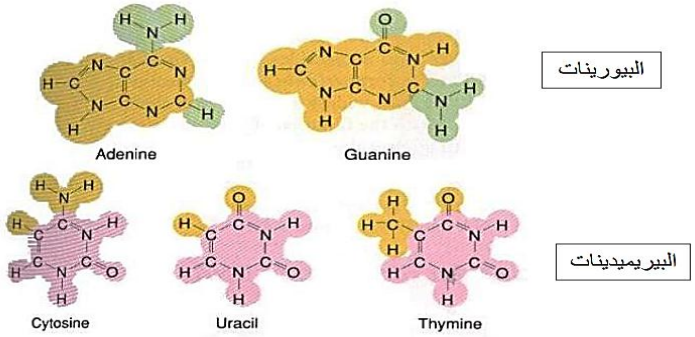
توصل العالم إروِن شارجاف Erwin Chargaff ومساعدوه أن حمض DNA يتكون من وحدات بنائية أسماها **النيوكليوتيدات Nucleotides** ،



ويتركب النيوكليوتيد من ثلاث مكونات :
سكر خماسي (وهو الرايبوز منقوص الأكسجين Deoxyribose في نيوكليوتيد DNA وهو يختلف عن سكر الريبوز في نيوكليوتيد RNA بذرة أكسجين واحدة في ذرة الكربون رقم 2) .
ومجموعة من الفوسفات مرتبطة برابطة تساهمية بذرة الكربون الخامسة في السكر ، وواحدة من القواعد النيتروجينية الأربعة ترتبط برابطة تساهمية بذرة الكربون الأولي في السكر الخماسي والقاعدة النيتروجينية قد تكون أحد مشتقات البيريميدين Pyrimidine الحلقية المفردة ثايمين (T) Thymine أو سايتوسين (C) Cytokine ، أو أحد مشتقات البيورين Purine الحلقية المزدوجة أدنين (A) Adenine أو جوانين (G) Guanine .



عندما ترتبط النيوكليوتيدات بعضها ببعض في شريط DNA فإن مجموعة الفوسفات المتصلة بذرة الكربون رقم 5' في سكر أحد النيوكليوتيدات ترتبط برابطة تساهمية مع ذرة الكربون رقم 3' في سكر النيوكليوتيد التالي .
والشريط الذي يتبادل فيه السكر مع الفوسفات يطلق عليه هيكل سكر- فوسفات وهذا الهيكل غير متماثل بمعنى أنه يوجد به مجموعة فوسفات طليقة مرتبطة بذرة الكربون رقم 5' في السكر الخماسي عند إحدى نهاياته ، ومجموعة هيدروكسيل OH^- طليقة مرتبطة بذرة الكربون رقم 3' في السكر الخماسي عند النهاية الأخرى ، أما قواعد البيورينات والبريميدينات فإنها تبرز على جانب واحد من الهيكل سكر فوسفات .
وكما علمنا فقد توصل شارجاف إلى أن في كل جزئ من DNA يكون عدد نوكليوتيدات $A \approx T$ وكذلك عدد نيوكليوتيدات $G \approx C$ وعرف ذلك بقانون شارجاف .

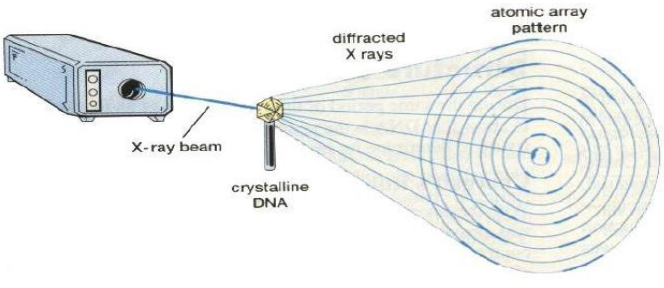


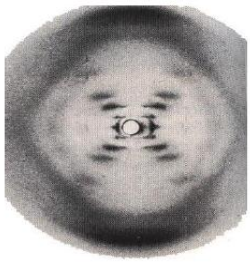
اكتشاف اللولب المزدوج (The Double Helix)

لقد جاء الدليل المباشر على تركيب DNA من دراسات قامت بها روزالين فرانكلين Rosalin Franklin حيث استخدمت تقنية حيود أشعة X في الحصول على صور لبلورات من DNA عالي النقاوة ، حيث تمرر

محاضرات التقنيات الاحيائية
د. محمـــد عبد الغفـــور محمـــد
كليـــة الزراعـــة/ جامعـــة الانبـــار

أشعة X خلال بلورات من جزيئات ذات تركيب منتظم مما ينشأ عنه تشتت أشعة X فيظهر طراز من توزيع نقطي يعطي تحليلها معلومات عن شكل الجزيء .

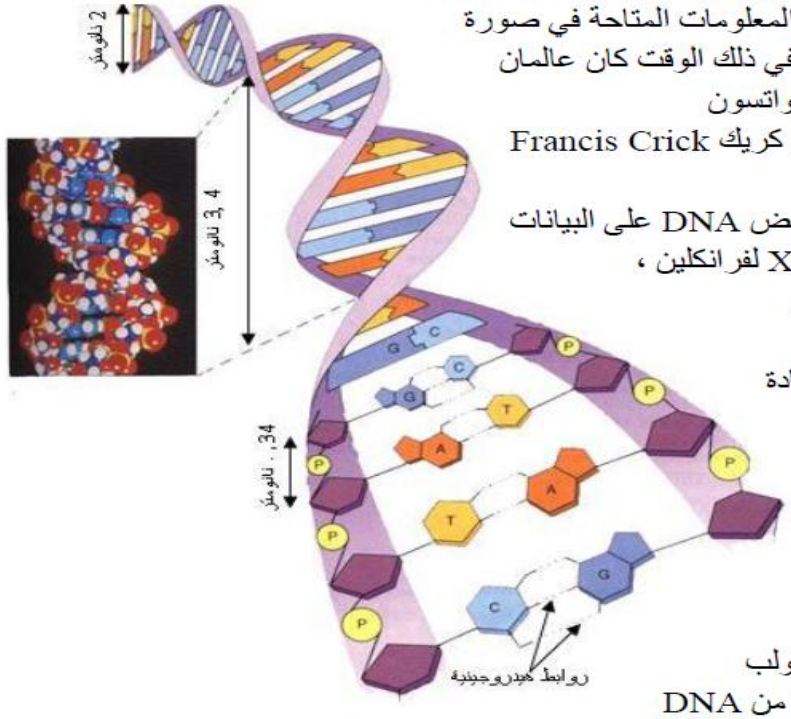




لفرانكلين DNA لحمضXصورة حيود أشعة

وفي عام 1952م نشرت فرانكلين صور بلورات من DNA عالي النقاوة ، حيث بدأ سباق رهيب بين العلماء لوضع المعلومات المتاحة في صورة نموذج model لتركيب جزئ DNA .وفي ذلك الوقت كان عالمان غير معروفين جيداً هما الأمريكي جيمس واتسون James Watson والإنجليزي فرانسيس كريك Francis Crick قد حلا لغز DNA .

اعتمد واتسون وكريك في أنموذجيهما لحمض DNA على البيانات التي استخلصاها من صورة حيود الأشعة X لفرانكلين ، وفسرا نمط البقع على صورة الأشعة لتدل على أن جزئ DNA ملتف على شكل حلزون أو لولب Helix معتمدين على إعادة جمع واتسون للصورة ، حيث استنتجا أن عرض اللولب 2نانومتر بحيث تكون القواعد متعامدة على طول الخيط ، كما وفرت هذه الصورة دليلاً على أن هيكل سكر - فوسفات يوجد في الجهة الخارجية من اللولب وتوجد القواعد النيتروجينية جهة الداخل ، كما أن قطر اللولب دل على أنه يتكون من سلسلتين من شريط من DNA

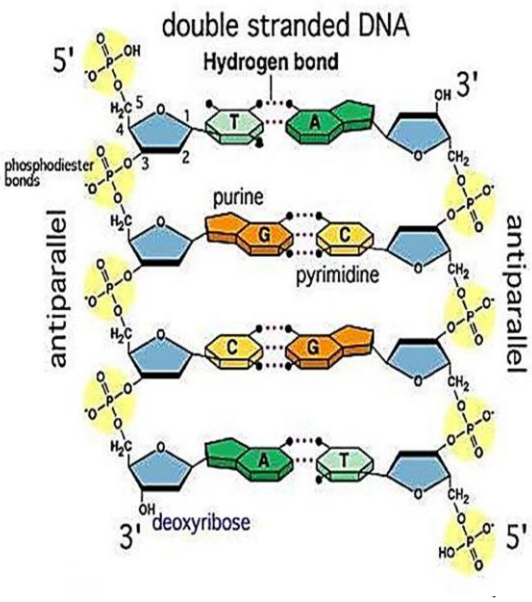


والذي أصبح معروفاً باللولب المزدوج ، كما تم استنتاج أن اللولب يعمل لفة كاملة 3.4 نانومتر من طوله ، ولأن القواعد النيتروجينية يفصل بينها 34, . نانومتر، لذلك توجد عشر طبقات من القواعد النيتروجينية ، أو درجات على السلم في كل لفة من اللولب ، وقد حدد هذا التركيب وضع القواعد النيتروجينية الأكثر كرهاً للماء داخل الجزئ ، وبذلك فهي بعيدة عن الوسط المائي الخارجي .

محاضرات التقنيات الاحيائية
د. محمـــد عبد الغفـــور محمـــد
كليـــة الزراعـــة/ جامعـــة الانبـــار

ولعمل قطر2 نانومتر للولب المزدوج فالحل هو ازدواج بيورين مع بريميدين ، كما أن كل قاعدة نيتروجينية يمكنها تكوين روابط هيدروجينية مع الشريك المناسب لها ، فيمكن للأدنين عمل رابطة هيدروجينية ثنائية مع التايمين فقط ، كما يمكن للجوانين عمل رابطة هيدروجينية ثلاثية مع السايتوسين فقط .

ولكي تتكون الروابط الهيدروجينية بشكل سليم بين زوجي القواعد النيتروجينية وحتى يتساوى قطر اللولب المزدوج رأى واتسون وكريك أن شريطي النيوكليوتيد في جزئ DNA يكون أحدهما معاكس للآخر بمعنى أن مجموعة الفوسفات الطرفية المتصلة بذرة الكربون '5 في السكر الخماسي في شريطي DNA ، كما أن مجموعة الفوسفات في إحدى النيوكليوتيدات ترتبط مع ذرة الكربون '3 للنيوكليوتيد المجاور . والنتيجة سلسلة DNA بقطبية واضحة Distinct polarity . والكربون الطرفي في إحدى نهايتي هيكل السكر – فوسفات ذرة الكربون '3 ، ولا يرتبط هذا الطرف مع مجموعة الفوسفات ويرتبط مع مجموعة OH^- ويسمى النهاية '3 للسلسلة ، وفي الطرف المقابل ينتهي هيكل السكر – فوسفات بمجموعة فوسفات ترتبط مع الكربون '5 للنيوكليوتيد الآخر ويسمى النهاية '5 لسلسلة DNA في اللولب المزدوج ، وبذلك فمن الضروري أن يكون العمودان الفقريان لسلسلتي DNA مقلوبين بالنسبة لبعضهما ، ولأن السلسلتين متعاكستين ، لهذا نجد أنه إذا كان اتجاه إحدى السلسلتين '5 '3 (القطبية) ، يكون اتجاه السلسلة المكملة لها '3 '5 .



سلسلتا DNA المتعاكستان

وفسر نموذج واتسون وكريك قانون شارجاف ، وفي عام 1953م فاجأ واتسون وكريك العالم بمقالة موجزة في مجلة الطبيعة Nature البريطانية أوضحا فيها نموذج جزئ جديد لحمض DNA اللولب المزدوج . والجيد في هذا النموذج أنه أقترح الآلية الأساسية لتضاعف DNA .

تضاعف DNA

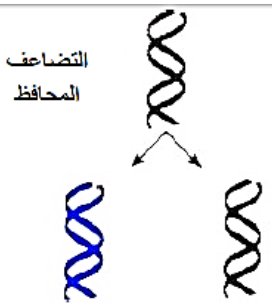
قبل أن تبدأ الخلية في انقسامها تتضاعف كمية DNA بها حتى تستقبل كل خلية جديدة نسخة طبق الأصل من المعلومات الوراثية الخاصة بالخلية الأم ، وقد أشار واتسون وكريك إلى أن تركيب الشريط المزدوج ذي القواعد المتزاوجة لجزئ DNA يحتوي على وسيلة يمكن بها مضاعفة المعلومات الوراثية بدقة . فحيث أن الشريطين يحتويان على قواعد متكاملة ، فإن تتابع النيوكليوتيدات في كل شريط يوفر المعلومات اللازمة لإنتاج الشريط المقابل ن فمثلاً إذا كان تتابع القواعد النيتروجينية في جزء من الشريط ('3 – T – C - C – 5' A - A) فإن قطعة الشريط التي تتكون معها يكون ترتيب قواعدها النيتروجينية ('5 – A – G – G - 3' T – T)، فإذا تم فصل شريطي DNA عن بعضهما البعض فإن أياً منهما يمكن أن يعمل كقالب لإنتاج شريط يتكامل معه، أي لكل جزئ ابن من DNA سلسلة قديمة (القالب) وسلسلة جديدة ، وهو ما يعرف بالتضاعف شبه المحافظ وقام العديد من العلماء بإجراء تجارب للتأكد من ذلك .

فقد فرض كل من العالمان ماثيو ميسلسون Mathew Messelson وفرانكلين ستال Franklin Stahl .

أن هناك ثلاثة طرق محتملة لتضاعف DNA :

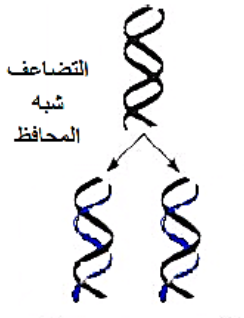
1- التضاعف المحافظ (Conservative model) :

يعمل DNA بعضهما مع بعض كقالب لبناء جزئ DNA جديد مزدوج الشريط حيث يستمر جزيء DNA الأصلي على حاله ويذهب إلى إحدى الخليتين الجديدتين بينما يذهب الجزيء الجديد للخلية الأخرى .



2- التضاعف شبه المحافظ (Semi Conservative model) :

ينفصل شريطا DNA بعضهما عن بعض بكسر الروابط الهيدروجينية التي تربط القواعد النيتروجينية المتزاوجة ويعمل كل شريط من الشريطين كقالب لبناء شريط جديد ثم يتم تكوين روابط بين القواعد المتزاوجة للربط بين شريطين أحدهما جديد والأخر قديم ، وعند انقسام الخلية ترث كل خلية جديدة DNA هجين أي يتكون من شريط قديم وآخر جديد .



3- التضاعف المشتت (Dispersive model) :

يقطع جزئ DNA ككل إلى قطع صغيرة يستخدم كل منها كقالب لبناء لولبين جديدين يرتبط أن بعضهما ببعض بطريقة ما .

وباستخدام سلسلة من التجارب على بكتيريا القولون تمكن ميسلون وستال من إثبات [illegible]

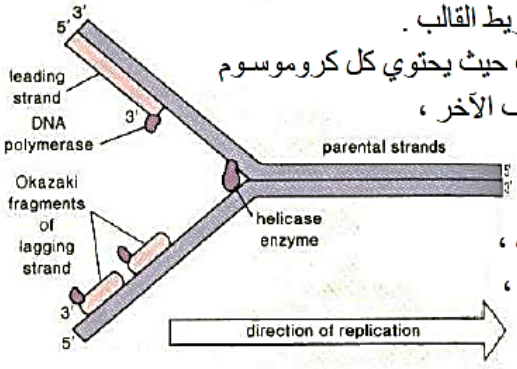
أن الطريقتين الأولى والثالثة لا يمكن حدوثهما ، ووفرا دليلاً قوياً على صدق الطريقة الثانية وهي التضاعف شبه المحافظ .

الإنزيمات وتضاعف DNA :

يتطلب نسخ DNA تكامل نشاط عدد من الإنزيمات والبروتينات في الخلية ، ولكي يتم النسخ يتعين حدوث ما يلي :

1- ينفك التفاف اللولب المزدوج .
2- ينفصل الشريطان بعضهما عن بعض بكسر الروابط الهيدروجينية الموجودة بين القواعد المتزاوجة في الشريطين .
3- يبتعد الشريطان بعضهما عن بعض لتعريض القواعد لتتمكن من تكوين روابط هيدروجينية مع نيوكليوتيات جديدة .

ومن المعروف الآن أن إنزيمات اللولب DNA – helicaes تتحرك على امتداد اللولب المزدوج فاصلة الشريطين عن بعضهما البعض ، أما البناء الفعلي لأشرطة DNA الجديدة فتقوم به إنزيمات البلمرة DNA- Polymerases والتي تساعد على إضافة النيوكليوتيدات واحدة بعد الأخرى إلى النهاية '3 لشريط DNA الجديد ، ولكي يتم إضافة النيوكليوتيدة إلى الشريط الجديد لا بد أولاً أن تتزاوج القواعد النيتروجينية في النيوكليوتيدة مع القاعدة النيتروجينية الموجودة على شريط القالب .

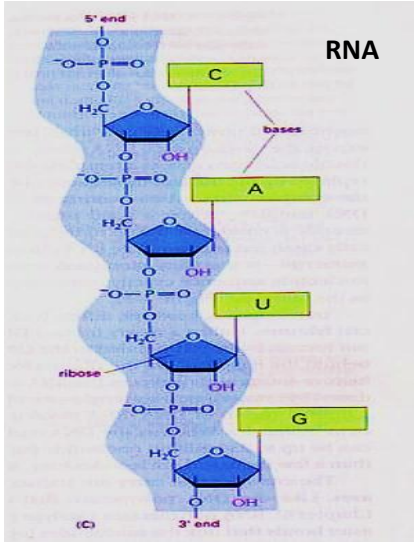


ينتظم DNA في حقيقيات النواة في صورة كروموسومات حيث يحتوي كل كروموسوم على جزئ واحد من DNA يمتد من أحد طرفيه إلى الطرف الآخر ، ويبدأ نسخ DNA عند أي نقطة على امتداد الجزئ ، ومن المعروف أن إنزيم البلمرة يعمل في اتجاه واحد فق من الطرف'5 في اتجاه '3 للشريط الجديد الذي يجري بناؤه ، وحيث أن شريطي لولبDNA المزدوج متوازيان عكسياً ، أي أن أحدهما يكون في اتجاه '5 إلى '3 بينما الشريط المتزاوج معه يتوجه في الاتجاه المعاكس

أي في اتجاه '3 إلى '5 ، وعلى ذلك فعندما يعمل إنزيم اللولب على فصل شريطي جزئ DNA يتم ذلك في اتجاه النهاية '3 لأحد الشريطين والنهاية '5 للشريط الأخر . وبالنسبة للشريط '3 - '5 ليست هناك مشكلة حيث أن إنزيم البلمرة يتبع إنزيم اللولب مباشرة مضيفاً نيوكليوتيدات جديدة إلى النهاية '3 . إلا أن ذلك لا يحدث بالنسبة للشريط الآخر المعاكس ، وذلك لن إنزيم البلمرة لا يعمل في إتجاه '3 - '5 ولذا فإن هذا الشريط يتم بناؤه على شكل قطع صغيرة (قطع أوكازاكي) في اتجاه '5- '3 ثم ترتبط هذه القطع الصغيرة مع بعضها البعض بواسطة إنزيم الربط DNA- ligase .

حامض النووي الريبوزي Ribonuclic Acid RNA

يمثل الحمض النووي الريبوزي RNA المادة الوراثية لبعض انواع الفيروسات كما انه يمثل الأحماض النووية الغالبة في معظم الخلايا الحية والتي تقوم أساسا بعملية تكوين البروتين الخلوي، ويتكون الحمض RNA من شريط مفرد من القواعد النيوكليوتيدية غير المتفرع الذي له نفس تركيب الحمض النووي الديوكسي ريبوزي DNA ماعدا ان السكر الخماسي الريبوزي يدخل في تركيبه بدلا من السكر الديوكسي ريبوزي الذي يدخل في تركيب DNA، كما أنه على هيئة شريط مفرد من النيوكليوتيدات التي تحل فيه قاعدة اليوراسيل محل قاعدة الثايمين التي تتكامل مع قاعدة الأدينين عليه.



محاضرات التقنيات الاحيائية
د. محمـــد عبد الغفـــور محمـــد
كليـــة الزراعـــة/ جامعـــة الانبـــار

يوجد الحمض النووي الريبوزي RNA في ثلاثة أنواع هم:

- **الحمض النووي الريبوزي الرسول mRNA:** الذي يقوم بحمل الشفرة الوراثية التي تحدد تتابع الأحماض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد.
- **والحمض النووي الريبوزي الناقل tRNA:** الذي يحمل الأحماض الأمينية الى الريبوسومات ويضعها في المكان الصحيح في سلسلة عديد الببتيد النامية حيث تترجم الشفرة .
- **الحمض النووي الريبوزي الريبوسوم rRNA:** الذي يدخل في تركيب الريبوسومات.

أهم الفروقات بين أنواع الرنا RNA

mRNA	rRNA	tRNA
جزئ طويل	جزئ قصير	جزئ قصير جداً
غير مدعوم بالبروتين (عاري)	مدعوم بالبروتين	غير مدعوم بالبروتين (عاري)
يشفر لبناء سلسلة عديد الببتيد (بروتين)	يساهم في تكوين الرايبوسوم وربط الأحماض الأمينية	متخصص في نقل الأحماض الأمينية
يحمل الشفرة الوراثية	----	يحمل الشفرة الضدية
يمثل 5٪ من أنواع الرنا	يمثل 80٪ من أنواع الرنا	يمثل 15٪ من أنواع الرنا

مقارنة بين الحامض النووي DNA و RNA

جزئ الدنا DNA	جزئ الرنا RNA
يتكون من شريط حلزوني مزدوج من النيوكليوتيدات	يتكون من شريط حلزوني مفرد من النيوكليوتيدات
يحتوي على القواعد النيتروجينية A, T, G, C	يحتوي على القواعد النيتروجينية A, U, G, C
يحتوي على سكر خماسي رايبوزي منزوع الأكسجين	يحتوي على سكر خماسي رايبوزي
يحمل مورثات جميع الكائنات الحية وبعض الفيروسات	يحمل المورثات في بعض الفيروسات فقط بالإضافة إلى بناء البروتينات
يوجد في النواة (الكروموسومات) والبلاستيدات والمايتوكوندريا	يوجد في النواة (النوية) والسايتوبلازم (الرايبوسومات)
طويل جداً مقارنة بالرنا	قصير جداً مقارن بالدنا
يستطيع تكوين الـ RNA	لا يستطيع تكوين الـ DNA