مقدمة

Genetics science علم الوراثة

علم الوراثة هو أحد الفروع الاساسية لعلوم الحياة الذي يختص بدراسة التوارث والتغاير بين الاجيال المتعاقبة، من خلال دراسة التشابه والاختلاف بين الابناء والاباء والاقارب كما يهتم بدراسة وحدات التوارث (الجينات) وكيفية انتقالها من جيل الى الجيل الذي يليه وتأثيرها في صفات الكائنات الحية.

كما يمكن تعريفه على انه العلم الذي يبحث في كيفية انتقال المعلومات الوراثية (الصفات) من جيل الى جيل ، كما يهتم أيضاً بكيفية تعبير هذه المعلومات داخل الكائن الحي.

قانون الوراثة هو قانون تماثل النسل مع الاصل أي أن الوراثة هي أن يرث الأبناء صفاتهم من الآباء ووسيلة انتقال هذه الصفات هي الجينات عن طريق خلايا جنسية تسمى الكيميتات Gametes التي تختلف باختلاف الكائن الحي فتكون حبة لقاح في النبات ونطفة في الانسان عند الذكور وبيضة وبويضة عند الإناث (الإنسان) والانثى.

علاقة علم الوراثة بالفروع الأخرى

- ✓ تلعب الجينات دوراً مهما في تحديد كل سمات حياة الكائن الحي من خلال النواتج التي تحددها هذه الجينات.
- ✓ فهم الانتقال الجيني والتركيب والتعبير الجيني مهم جدا للعديد من الفروع الأخرى من علم الأحياء،

ولذلك فإن علم الوراثة يعتبر موضوع مركزي في علم الأحياء:

❖ فعلى سبيل المثال :

- ■ فإن فهم أساسيات الوراثة التقليدية ووراثة العشائر مهم جدا لعلم الأحياء العشائري وعلم البيئة والتطور والسلوك
- ■ إن فهم أساسيات الوراثة الجزيئية مهم جدا في دراسات بيولوجيا الأعصاب وبيولوجيا الخلية والصفات وبيولوجيا التكوين وعلم وظائف الأعضاء وعلم المناعة.

بعض اسباب دراسة علم الوراثة

Molecular genetics Dr. Fouad Razzaq

أ- أحد فروع علم الأحياء، ولذلك فلابد من الالمام باساسيات هذا العلم الذي أصبح يحتل موقعا مرموقا في علم الأحياء.

ب- لأن المواضيع التي تدرس فيه لها تداخل كبير ومباشر مع علوم اخرى مثل علم الأحياء الجزيئي، علم بيولوجيا الخلية وعلم وظائف الأعضاء والتطور والسلوك والبيئة والمناعة وغيرها .

ت- فهم آليات التوارث هو الأساس للفهم الشامل للحياة نفسها ،لأن المعلومات الوراثية هي التي تحدد الوظيفة الخلوية ،الشكل المظهري للفرد وهي حلقة الوصل بين الأجيال في جميع الكائنات الحية .

ث- فهم الامراض الوراثية وعلوم الهندسة الوراثية، تربية وتحسين النبات والحيوان الى جانب الأستشارات الوراثية.

إن الاهتمام بدراسة علم الوراثة جعل منه فرعاً كبيرا يضم فروعاً هي بحد ذاتها علوم ومنها :

1- وراثة الخلية Cytogenetic

يهتم هذا العلم بدراسة التركيب الوراثي والتغيرات الحاصلة في كروموسومات الخلايا بعد تعريضها لعوامل مؤثرة بيئية وكيمياوية . وقد نشأ بعد اكتشاف عناصر ومكونات الخلية الوراثية ودورها في نقل الصفات الوراثية.

2- **الوراثة السيتوبلازمية Cytoplasmic inheritance**

يهتم بدراسة الوحدات الوراثية الموجودة في سيتوبلازم الخلايا.

3-علم الوراثة الجزيئية Molecular Genetics

هو دراسة تركيب ووظيفة الجينات على المستوى الجزيئي.

4- علم وراثة العشائر Population Genetics

دراسة توزيع وسلوك الجينات في العشائر مع التركيز على التباين الوراثي وكيفية ارتباط هذا التباين ببيئة الكائن الحي.

وقد وضع العالمان Hardy وWeinberg قانونهما في وراثة العشائر الذي ينص على أنه عند غياب عوامل الهجرة والطفرات والانتخاب تبقى التكرارات الجينية والتراكيب الوراثية ثابتة من جيل إلى جيل في العشائر الكبيرة التي يتزاوج أفرادها تزاوجا عشوائياً، ويسمى ايضاً بمبادئ هاردي-واينبرغ Hardy–Weinberg principle

Molecular genetics Dr. Fouad Razzaq

أي إن العشيرة أو المجموعة الكبيرة الواقعة تحت ظروف التزاوج أو التلقيح العشوائي وهي في حالة الاتزان، لا يتغير هذا الاتزان من جيلِ الى آخر، بمعنى بقاء تكرار الجين ثابتاً ما لم تؤثر عليه عوامل خارجية كالطفرة او الإنتخاب أو الهجرة من وإلى المجتمع أو حصول إنحراف في الإنقسام الإختزالي، الى جانب حدوث إختلاف في التكرار الجيني أثناء الإزدواج Pairing لأحد الأليلات مثل A عن نظيره الأليل a بسبب صغر حجم المجتمع، وبذلك وحسب هذا القانون فإن المجتمع سيصل الى الإتزان الجيني Genetical equilibriumبعد جيل واحد من التزاوج العشوائي.

5- وراثة السلوك Behavior genetics

يهتم بدراسة اثر التركيب الوراثي على السلوك وما تلعبه الاختلافات الوراثية من دور في تعيين الاختلافات السلوكية في العشيرة.

6-الوراثة الكيميائية الحياتية Biochemical genetics

يهتم بدراسة وتغيير طبيعة المسارات الايضية عن طريق حصول ضروب Varieties للكائنات الحية التي لا تستطيع تصنيع مكون ايضي معين لذلك فأنها تحتاج المكون لغرض اداء فعاليات مختلفة.

7- الوراثة المناعية Lmmuno genetics

يهتم بدراسة عوامل الجينات التي تنتج اجساما مضادة معينة مع العلاقة بين الاجسام المضادة والانتي جينات (المستضدات) في انسجة الجسم. إذ لاحظ العلماء بان هناك جين مسؤول عن وجود انتي جين معين او عدم وجوده كالانتي جينات في الدم.

8- الهندسة الوراثية Genetics engineering

اتجاه حديث في علم الوراثة يهتم هذا الفرع بادخال جينات غريبة الى كائن حي معين ، حيث تصبح امكانية الحياة والتحكم بالصفات اكثر فعالية من عملية الانتخاب الوراثي من خلال اختيار كائنات حية ذات مواصفات معينة وتكثيرها للاستفادة منها في الغذاء الدواء وفي التربية وتحسين الانتاج النباتي والحيواني وغيرها.

9- الوراثة الكمية Quantitative Genetics

كانت الصفات المندلية الكلاسيكية صفات نوعية Qualitative traits سهلة التصنيف الى مجاميع متميزة من الأنماط الظاهرية ونتجت هذه الصفات من تأثير جين أو جينين بالأضافة الى الصفات النوعية يوجد الكثير من الصفات المهمة في النباتات والحيوانات والإنسان لا يمكن تصنيفها الى مجاميع متميزة .

ولكن يمكن قياسها والتعبير عنها بوحدات قياس المسافة أو الوزن أو الحجم وبذا تشكل إختلافات مستمرة .

Molecular genetics Dr. Fouad Razzaq

وتكون هذه الصفات كمية Quantitative trails في طبيعتها وتنتج من فعل وتفاعل عدة جينات تتراوح من 10 – 100 جين أو أكثر من ذلك ، وكذلك تتأثر هذه الصفات بعوامل البيئة المختلفة.

فالصفات الكمية هي التي يوجد فيها إستمرار في الشكل المظهري والتي تتدرج من مستوى الى آخر دون وجود فواصل محددة بين تلك المستويات والتي يتحكم بها عدد كبير من الجينات، كما في صفات الطول، قوة النمو، وزن وحجم البذرة، موعد النضج، الحاصل (أنتاج الحبوب) وإرتفاع النبات إنتاج الحليب والبيض.

ومن الصفات الكمية في الأنسان هي القامة ووزن الجسم.

10- علم الوراثة الجزيئية Molecular genetics

تعريفه: هو فرع من علم الأحياء الحديث الذي يدرس تركيب ووظيفة المورثات على المستوى الجزيئي لتناقل المعلومات الوراثية (على مستوى الـProtein, RNA, DNA)، وبالتالي فإنه يستخدم أساليب كل من **البيولوجيا الجزيئية وعلم الوراثة**.

إن علم الوراثة الجزيئية Molecular genetics يدرس كيفية بناء الجينات، تناقل المعلومات الوراثية والطفرات، الكروموسومات والتعبير الجيني وإنتقال المورثات من جيلٍ الى آخر. ما يعني أن علم الوراثة الجزيئية يسعى لفهم كيفية إنتقال المعلومات الوراثية وكيفية حدوث الطفرات بين الخلايا وبين الاجيال المتعاقبة.

تأسسَ علم الوراثة الجزيئي بناء على علم الوراثة الكلاسيكي لكنه يرتكز أكثر على تركيب ووظيفة الجينات على المستوى الجزيئي مع أن وجود الجينات على الكروموسومات كان أمراً معروفاً إلا أن الكروموسومات تتكون من البروتينات والأحماض النووية DNA معاً ؛ لذا لم يعلم العلماء أياً منهما المسؤول عن الوراثة. و قد اكتشف غريفيث في عام 1928 م ظاهرة التحويل أي إمكانية نقل البكتيريا الميتة للمادة الوراثية حتى تتحول إلى بكتيريا أخرى لا تزال حية، وفي 1944 م حدد كل من أفري وماكلويد ومكارتي أن الحمض النووي DNA هو المسؤول عن التحويل Transformation.

وكان قد تم التأكد من دور نواة الخلية كمستودع للمعلومات الوراثية في الكائنات الحية حقيقية النوى من قبل هامرلنغ في سنة 1943 م من خلال عمله على الطحلب وحيد الخلية (جنس من الطحالب الخضراء ، كما أكدت فيما بعد تجربة (هيرشي – تشيز) التي أُجريت في عام 1952م أن DNA وليس البروتين هو المادة الوراثية للفيروسات التي تصيب البكتيريا ، مما قدم المزيد من الأدلة التي تُثبت أن الحمض النووي هو الجزيئة المسؤولة عن الوراثة في الكائنات الحية.

Molecular genetics Dr. Fouad Razzaq

حدد كل من جيمس واطسون وفرانسيس كريك تركيب الحمض النووي في عام 1953 باستخدام الأشعة السينية لعلم البلورات من عمل روزا ليندا فرانكلين وموريس ويلكنز والتي أشارت إلى أن الحمض النووي له بنية حلزونية (على شكل لولبي)، وكان لنموذجهما الحلزوني المزدوج اثنان من أشرطة الحمض النووي مع النيوكليوتيدات مشيرة إلى الداخل، كل من النيوكليواتيدات التكميلية له مطابق على شريط آخر لتشكيل ما يشبه الدرجات على سلم مفتول . أظهرت هذه البنية المعلومات الوراثية الموجودة في تسلسل النيوكليويتدات في كل شريط من الحمض النووي. اقترحت البنية ايضاً أسلوبا بسيطا بالنسبة للتضاعف الكروموسومي، وهو أنه : إذا ما تم فصل الأشرطة يمكن إعادة بنائها من جديد وفق تسلسل الأشرطة القديمة . مع أن بُنية الـ DNA أظهرت كيفية عمل الوراثة، إلا أنه لم يكن معروفاً وقتها كيف يؤثر الـ DNAعلى سلوك الخلية. وفي السنين اللاحقة ، حاول العلماء أن يفهموا كيفية تحكم ال DNA بعملية تصنيع البروتين. فتم اكتشاف أن الخلية تستعمل ال DNA كقالب لتصنع منه mRNA مشابه جداً الـDNA يُستعمل تسلسل الـ mRNA لصُنع تسلسل من الأحماض الأمينية في البروتين؛ يعرف هذه التنقل بين تسلسل النوكليوتيد و تسلسل الحمض الأميني بالشفرة الجينية.

لقد أدى الفهم الجزيئي الحديث للوراثة إلى بداية ثورة من الأبحاث ، وإحدى أهم هذه التطورات كان تسلسل إنهاء سلسلة الحمض النووي في عام 1977 من قبل فردريك سانغر. حيث تسمح هذه التكنولوجيا للعلماء بأن يقرأوا تسلسل النووید (النوكليوتيد) في جزيئية الـDNA، وفي عام 1983 طور موليس تفاعل PCR، مما أعطى طريقة جديدة لعزل وتضخيم جزء معين من الـDNA من أي خليط.

يضم علم الأحياء الخلوي والجزيئي العديد من فروع علم الأحياء التي ترتبط بدراسة العمليات الحيوية على مستوى الخلية وعلى المستوى الجزيئي ضمن الخلية وخارجها. يضم التقانة الحيوية، علم الوراثة، علم الأحياء التنموي وأخيرا علم الأحياء الدقيقة. علم الأحياء الخلوي يدرس الخلايا الحية من حيث فسيولوجيتها وبنيتها وبنية عضياتها إضافة لدورة حياتها، الانقسام الخلوي وأيضا موت الخلية. أما علم الأحياء الجزيئي فيدرس العمليات الحيوية على المستوى الجزيئي مما يجعله متداخلا مع الكيمياء الحيوية وعلم الوراثة.

تعد الفترة الممتدة بين عامي 1884(عام وفاة مندل) و1914 (بداية الحرب العالمية الاولى) عصر وضع أساسيات علم الوراثة الجزيئية، إذ تـم تحقيق عدد من الإنجازات التي أسست لعلم الوراثة الجزيئية، ومنها:

1- إعادة إكتشاف قوانين كريكور يوهان مندل في الوراثة عام 1900م من قبل ثلاثة علماء اوربيين وهم Hugo DeVries, Carl Correns, Erich von Tschermak لتحديد القواعد الأساسية لعلم الوراثة، والذي يمكن أن يعتبر تاريخ ولادة تربية النبات.

2- إثبات أن المادة الوراثية (DNA) وليس البروتينات (كما كان يعتقد سابقا) هي المسؤولة عن نقل المعلومات الوراثية من الاباء الى الابناء.

3- وان المادة الوراثية موجودة في النواة.

4- إفترض ستون في عام 1903 أن الجينات تقع على الكروموسومات.

5- أطلق Bateson عام 1906 م مصطلح Genetics على علم الوراثة.

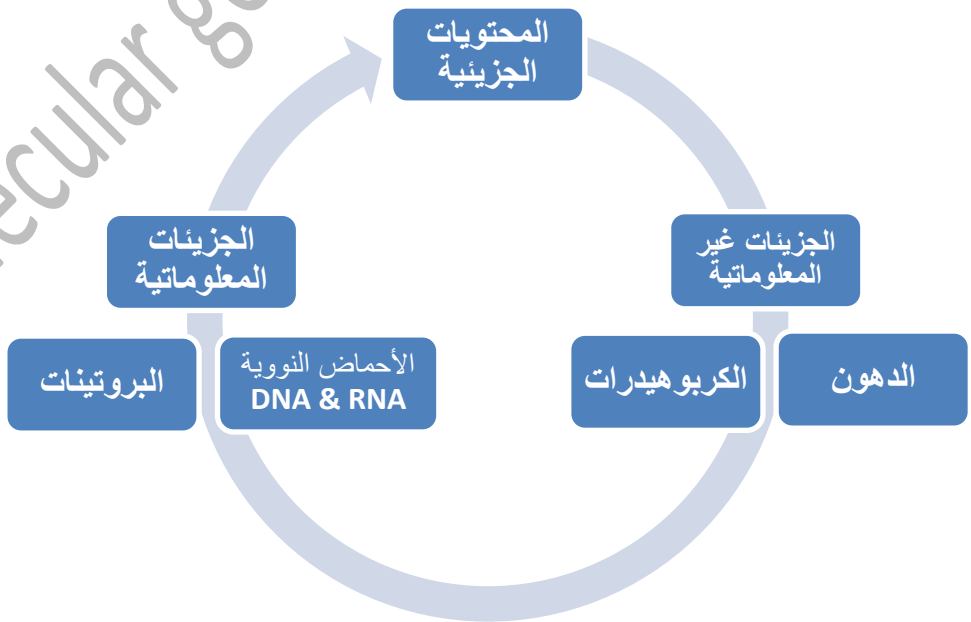
6- أطلق Wilhelm Johannsen عام 1909، المصطلح العلمي جين Gene على العوامل الوراثية التي وصفها مندل في تجاربه.

7- وصفَ ثوماس هانت تركيب الكروموسوم وأثبت جود الجينات محمولة على الكروموسوم.

8- الكشف والتعرف على المراحل التفصيلية التي تحدث في الانقسام الخلوي ودوره في نقل الصفات الوراثية من خلية الى اخرى وانتقالها بين الاجيال.

محتويات الخلية الجزيئية

الخلية Cell هي وحدة بناء الكائن الحي،وتعتمد وظائف الخلية على التفاعلات البيوكيميائية التي تحدث داخلها.



إن **الهدف من دراسة الجزيئات الكبرى(الأحماض النووية والبروتينات) هو:**

Molecular genetics Dr. Fouad Razzaq

1- دراسة تركيب الجزيئات الكبيرة في الخلية وكيفية انتظامها مع بعضها لتكوين عضيات الخليه وللقيام بالوظائف البيوكيميائية للخلية.

1- إستخلاص الجزيئات الكبرى للخلايا الدقيقة وإستعمالها كأدوات للتطبيقات في مجال الهندسة الوراثية مثل إستخلاص الأحماض النووية والبروتينات لدراسة المكونات الوراثية للخلية.
2- إستغلالها في تعريف الكائنات الدقيقة وتصنيفها ورا ثياً .
3- إستعمال البروتينات الخلوية والانزيمية في الصناعة.
4- الكشف عن وجود الطفرات.

Molecular genetics Dr. Fouad Razzaq

Genetic material المادة الوراثية

مقدمة

في أواسط القرن 19 بدء العلماء محاولاتهم العلمية لكشف النقاب عن العوامل التي تسبب التشابه والإختلاف بين الآباء و أبنائهم، ثم دراسة بعض الأمراض التي لاحظ إنتقالها بين العوائل لتحديد مدى اثارها السلبية.

وتوالت النظريات التي تشرح طبيعة التوارث، و لكن كان العالم النمساوي " Gregory Johann Mendel" أول من عرف أن العوامل المسؤولة عن إنتقال الصفات الوراثية موجودة في نواة الخلية، وأنها تتكون من وحدات صغيرة (سميت فيما بعد Genes).

في أواخر القرن 19م، تطورت المجاهر إلى مدى سمح برؤية عضيات الخلية و من ضمنها النواة؛ فركزت الأبحاث عليها، فوجد العلماء (Morgan) أن بها أجساماً قضيبية الشكل تصطبغ أكثر من غيرها لذا سميت "صبغيات Chromosomes"، و عرفوا أن لها القدرة على نسخ نفسها، والتوزع بالتساوي في خليتين بنواتين بعملية إنقسام دقيقة.

بعد أن أثبت كل من مندل G. Mendel في تجاربه على نبات البزاليا **بأن الصفات الوراثية تنتقل من الآباء الى الذرية بواسطة العوامل الوراثية (المورثات)** ثم اعقبه توماس موركان T. Morgan وطلابه ليثبت في تجاربه على حشرة ذبابة الفاكهة **بأن تلك العوامل محمولة على الكروموسومات** داخل نواة الخلية والتي تتضح خلال عملية إنقسام الخلية، برز دور هذه الكروموسومات في إنتقال المورثات بين الأجيال وبالتالي مسؤوليتها وتحكمها بصفات الكائنات الحية، ومن ثم توالت دراسات وبحوث الكثير من علماء الوراثة والبيولوجيا على الكروموسوم لمعرفة تركيبه بشكل دقيق.

Molecular genetics

الكروموسومات

هي تراكيب خيطية اسطوانية الشكل توجد دائما بين قطبي الخلية حقيقية النواة المنقسمة ولها القدرة على التضاعف الذاتي.

وهي تراكيب حركية (متغيرة)، تحتوى على المادة الوراثية والتي تعمل كنواقل لتخزين ونقل وتعبير وتطور المعلومات الوراثية.

يتكون تركيب الكروموسوم المظهري من:

1- الشريط الكروموسومي (الخيط الصبغي): عبارة عن خيوط طويلة ودقيقة والذي يكون جزء منه حامل للمادة الوراثية التي تسمى الكروموميرات Chromomers.

2- المادة المغلفة: هي مواد غير جينية محيطة بالخيوط ومغلفه بغشاء.

3- الكروماتيدات (الحبيبات الصبغية): هي أجزاء تركيبية طويلة على الكروموسوم لها القابلية على الاصطباغ الداكن وان الـ DNAيحتوي على (10-100) حبيبة صبغية ذات حجم صغير جداً.

4- السنترومير: هو جزء من الكروموسوم بواسطته تتمكن الخيوط المغزلية من الإرتباط الكروموسومي الآخر خلال مراحل الإنقسام الخلوي وهذا الاتحاد ضروري لحركة الكروموسوم أثناء الإنقسام .

5- الإختناقات الطرفية: مناطق طرفية يتكون فيها الخيط الكروماتيدي لها علاقة بالنوية وتنظيمها وتظهر النوية في هذه الاختناقات من خلال الطور النهائي .

6-التابع: هو قطعة صغيرة جدا وضروري جدا لتشخيص العدد الأساسي لاطقم الكروموسوم للكائن (الجينوم).

7- الآيروكروماتيد: هي تراكيب مختلفة تتواجد على طول الكروماتيدات وتحوي اغلب الجينات المندلية .

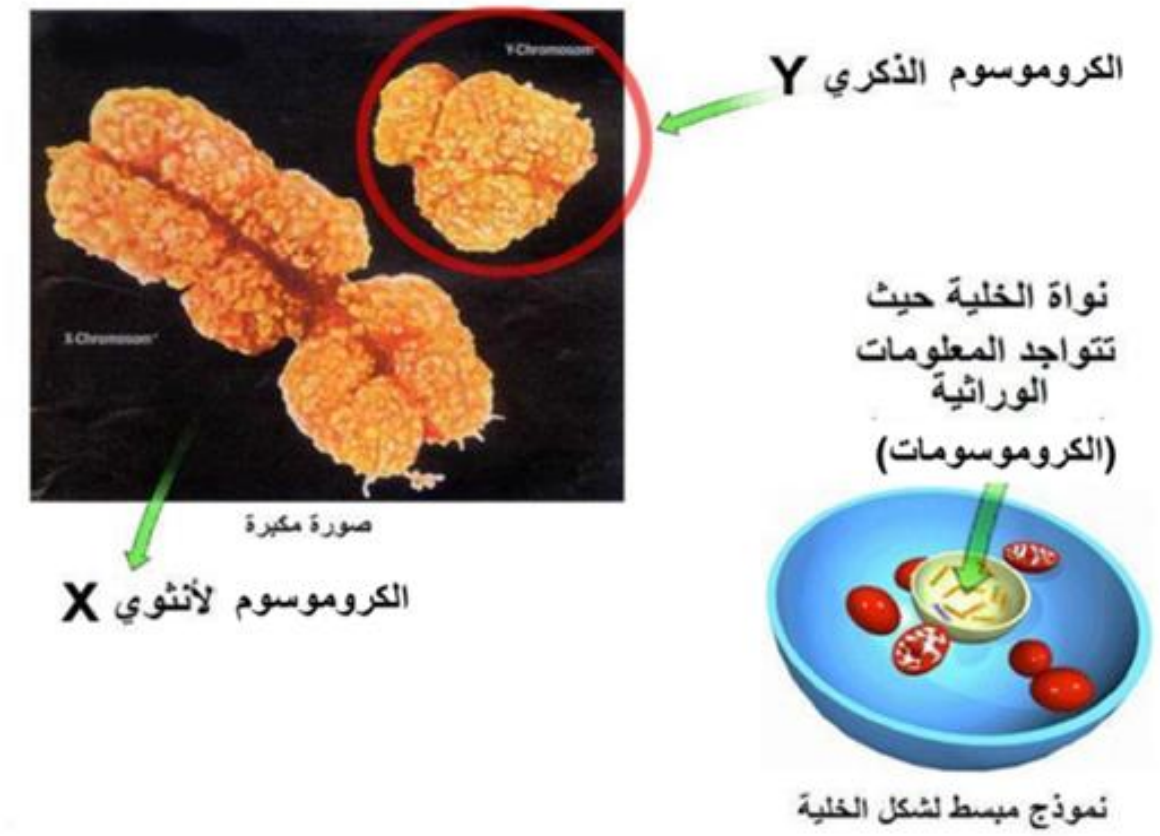
8- الهتروكروماتيد: تراكيب مختلفة تتواجد على طول الكروماتيدات التي تحوي جينات غير مندلية، فقابليتها للاصطباغ أكثر من الإيروكروماتيد، وهي على علاقة بتحديد الجنس من خلال كروموسوم الجنس.

9- الحبيبات: هي جسم طرفي ينتهي بها الكروموسوم، لها القابلية على الإصطباغ العالي باللون الداكن خاصة في بداية الطور التمهيدي وهي موجودة في بعض الكائنات لا جميعها.

Molecular genetics

إن المادة الوراثية في النواة في طور الراحة (قبل الإنقسام) مؤلف من مادة الكروماتين الذي يتكون من البروتين والـDNA (شريط او خيوط الحمض النووي ملتفة حول جزيئات الهستونات فتؤلف الكروماتين)، وعند الانقسام الخلوي وفي الطور التمهيدي تتكسر خيوط الكروماتين ويلتف كل خيطين فيصبحا اقصر وأسمك ليشكلا الكروماتيدان الشقيقان (الكروموسوم).

ان الكروموسوم بهيئته هو عبارة عن كروماتيدين متحدين، إذ يتكون كل زوج من الكرموسومات من خيطين (قضيبين) يسمى كل واحد منهما بالكروماتيد Chromatid، فعند إتحاد كروماتيدين يتكون الكروموسوم، فيترتب كل كروماتيد بشكل حلزوني ليحمل في طياته عشرات الألاف من الجينات، وعلى هذا التركيب الحلزوني للكروماتيد يوجد موقع خاص لكل جين (وهو الأليل) على الكروماتيد المقابل، فيتحد الأليلان على الكروماتيدين (أليل تم وراثته من الأب وأليل تم وراثته من الأم عند اندماج الحيوان المنوي ببويضة الأم) لتكوين الجين، فإذا كان الأليلان متشابهين تشابها تاماً في التسلسل النوكليوتيدي فيطلق على هذه الحالة متماثل الجينات Homozygote ، واذا كان الأليلان مختلفين في تسلسلهما النوكليوتيدي فيطلق على هذه الحالة مختلف الجينات (متباين) Heterozygote.



الأحماض النووية Nucleic Acids

الأحماض النووية: هو الاسم العام لمركب DNA & RNA وكلاهما مركبات كيميائية متعددة النوكليوتيد, بمعنى ان النوكليوتيدات هي الوحدة التركيبية المتكررة للأحماض النووية وتشارك في عملية نقل المعلومات الوراثية.

* جميع الكائنات على إختلافها، تشترك في أن جميعها تحتوي على كروموسومات "جزيئات من DNA" لها القدرة على ان تتكاثر و بالتالي تستطيع الكائنات ان تتكاثر و تحافظ على نوعها من الانقراض.

* كل نوع من الكائنات يتميز بأن له جزيئات DNA ذات تسلسل خاص به و يختلف عن غيرة. ويمكن تعريف الـDNA على انه جزيئات من مركب عضوي يوجد مقترناً ببعض البروتينات (هستونات أو بروتامينات أو كليهما) لتكوين مركب يدعى البروتينات النووية (Nucleo proteins).

لماذا يسمى الحمض النووي حمضاً؟
إن الأحماض هي مواد يمكنها اعطاء البروتونات .
ويمكن لل DNA ان يعطي البروتونات، لذلك فإن الحمض النووي هو حمض.

التركيب الكيميائي للأحماض النووية:

وجد علماء الكيمياء الحيوية أن الحمض النووي هو عبارة عن مركب كيميائي يوجد على شكل خيط (كروموسوم) مكون من شريطين (كروماتيدين)، كل منهما يتركب من عدة آلاف أو عدة ملايين من وحدات صغيرة هي"نوكليوتيدة" تتصل مع بعضها كالسلاسل مكونة تراكيب نوكليوتيدية "جينات Genes" .

- تتكرر الجينات على مسافات منتظمة مكونة عدد هائل من التراكيب الجينية التي تعرف بـ " الشفرة الوراثية Genetic Code".

- فالكروموسوم هو (عدد من الجينات تحتل مواقع "Loci" محددة على طول الكروموسوم).

ملاحظات:

* الشفرة الوراثية عبارة عن كلمات ثلاثية الأحرف (ثلاثة حروف من الأحرف الأربعة A , T . C & G التي ترمز للقواعد النيتروجينية).

Molecular genetics

* تركيب الـ DNA يحوي ضمنه عدد من الجزيئات التي تحكم تشغيل أو حبس الشفرات (الجينات) داخل الخلايا في النسيج.

إن الجينات معقدة التركيب ، و هو ما يوضح كم تكون عملية إضافة تعليمات جديدة (هندسة مادة الوراثة) صعبة في الكائنات الحية دون مساعدة الطرائق الطبيعية للتكاثر.

أنواع الأحماض النووية Types of Nucleic Acids

قبل أكثر من 50 عام تمكن العلماء من فصل نوعين من الأحماض النووية بصورة نقية هما:

1- حمض DNA 2- حمض RNA.

1- حمض ديؤكسي ريبو نوكليك (DNA أو Deoxyribonucleic Acid) :

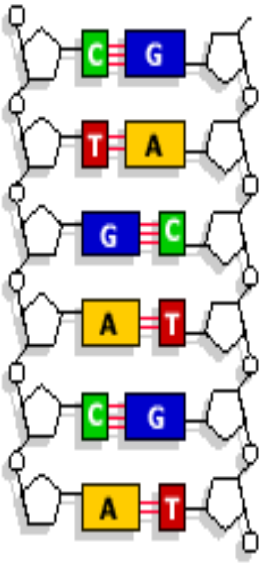
تعددت النظريات حول طبيعة التركيب الجزيئي لـ DNA ، و أقربها للواقع هو ما أقترحه العالمان (واطسون و كريك) عام 1953م ؛ بأنه:

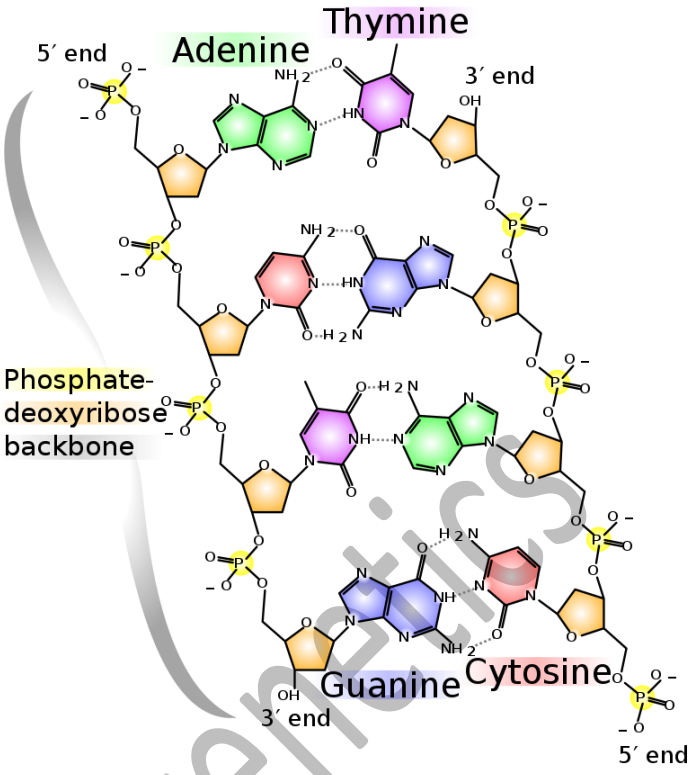
[عبارة عن شريطين طويلين ملتفين حول بعضهما بطريقة لولبية متوازية أسموه بالحلزون المزدوج (Double Helix) و يدوران من اليمين لليسار

و نالا عليه جائزة نوبل لعام 1962م.

بعبارة أخرى: يتركب جزيء DNA من سلسلتين متقابلتين ترتبطان ببعضهما أفقياً بواسطة أزواج من القواعد النيتروجينية، التي يرتبط كل زوج منها بروابط هيدروجينية. و يمكن تمثيله بالسلم يتكون جانباه من جزيئات السكر و مجموعات الفوسفات، و درجات السلم هي القواعد النيتروجينية.

Molecular genetics

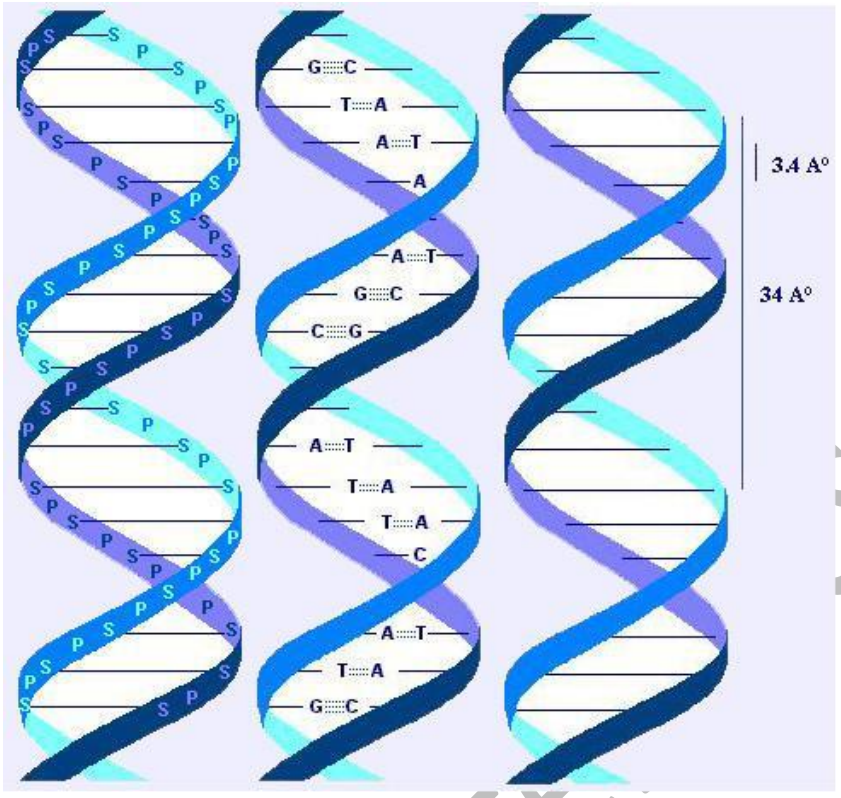




التركيب الجزيئي لحمض DNA

عادةً ما يكون الحمض النووي بأشكالٍ عدة، فعند إستعراض محوره فانه عبارة عن شريطين يتحلزنان او يكوّنان لفة كل 34 أنكستروم عند كل عشرة أزواج قاعدية وبذلك يدعى هذا الشكل بـB-DNA الذي تكون فيه قواعده متراصة وعمودية على المحور الرئيسي وهو الأكثر شيوعاً، أما الشكل الآخر فيدعي بـA-DNA الذي تكون فيه اللفة أو الحلزنة عند الزوج القاعدي رقم 11 ويحدث هذا الشكل عندما يكون المحتوى المائي أكثر من 75%، والتي تنحني فيه القواعد النيتروجينية قليلاً عن المحور الرئيسي وهو الأقل شيوعاً، وفي كلا الشكلين فإن هذا التحلزن أو الإزدواج عادة ما يتجه من اليسار الى اليمين أي انه يدور بإتجاه عقارب الساعة، كما ان هناك شكلا نادراً يدعى بالشكل Z-DNA والذي يدور عكس عقارب الساعة، إذ تلتف فيه قواعده بشكل متعرج لـ 180 درجة (وهو مشابه للشكل B-DNA) ويتحلزن الشريطين او يكوّنان لفة عند كل اثنى عشرة زوجاً قاعدياً.

Molecular genetics



عموماً، يتركب الـ DNA من النوكليوتيدات التي تتكون من 3 جزيئات:

1- جزيء سكر أحادي يحتوي على 5 ذرات كربون (Pentose).

2- مجموعة فوسفات (PO_4) مشتقة من جزيء من حمض الفوسفوريك (H_2PO_4).

لماذا الفوسفات وليس غيره هو الرابطة التي تربط النوكليوتيدات ؟ بسبب امتلاك جزيئة الفوسفات خواصاً عدة ومنها الإستقرارية (التي تمنع تحطمها بالتحلل الانزيمي المائي) والتي تمكنها من تكوين أواصر رابطة ثنائية الأستر لتكوين بوليمر طويل من النوكليوتيدات.

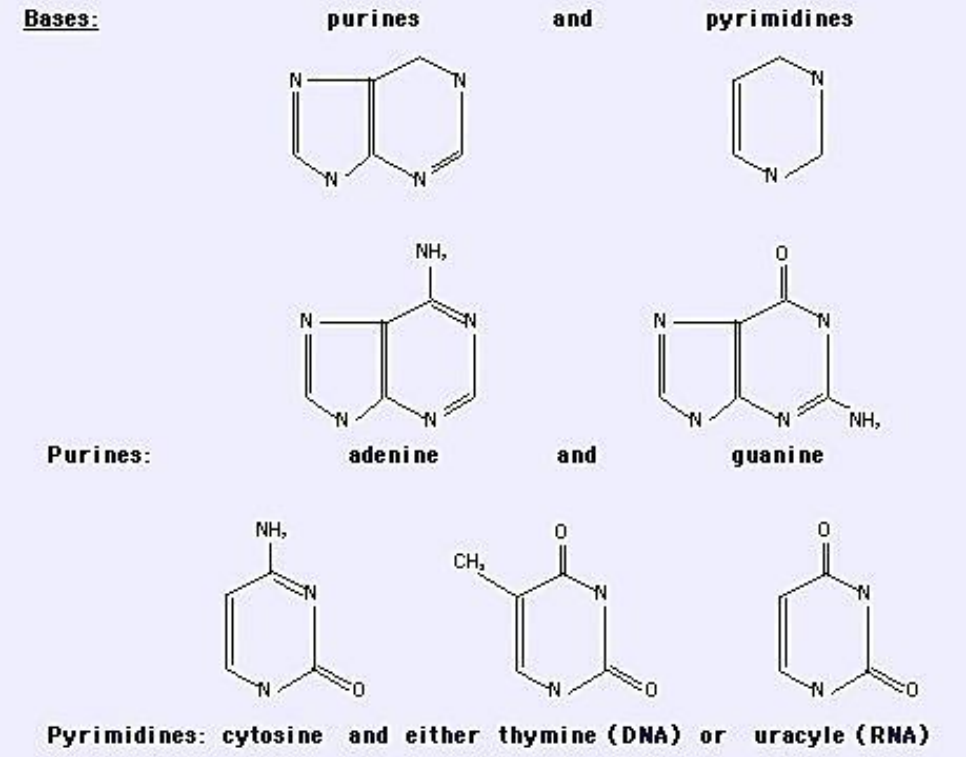
3- جزيء من أحد النيتروجينات القاعدية ، و لها نوعان

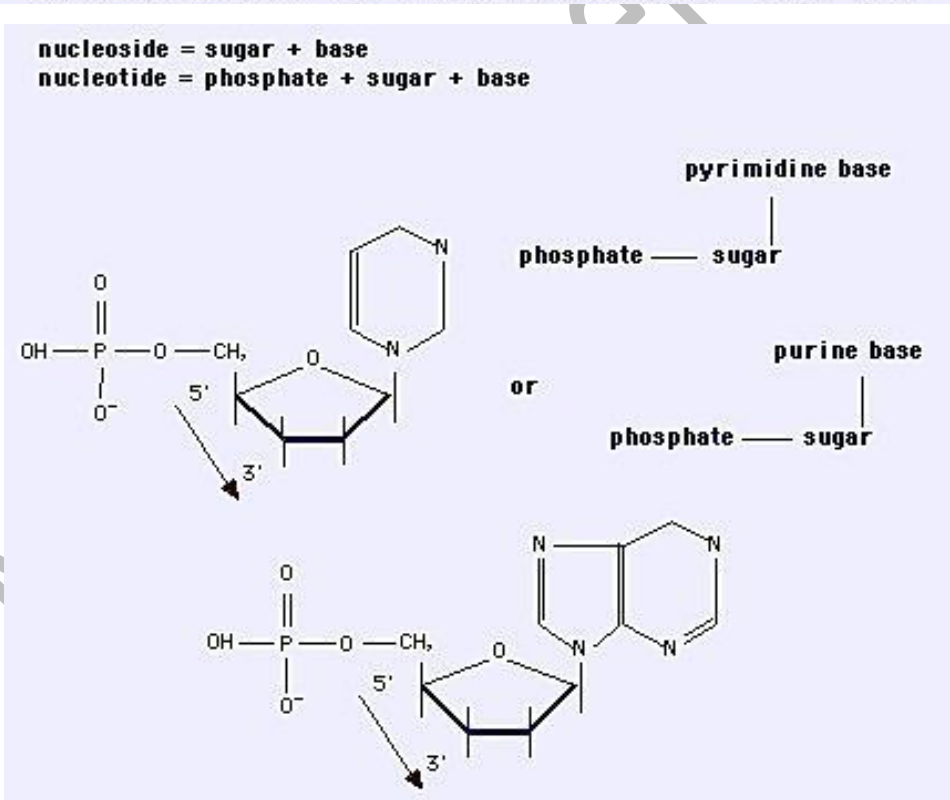
أ- بيورينات (Purines) وهي جزيئات مكونة "A و G".

ب- بيريميدينات (Pyrimidines) وهي جزيئات مكونة من حلقة واحدة، من أهمها الـ "Cytocine أو C" و "Thyamine أو T".

- الثيمين (T) يرتبط فقط بالأدنين (A) بزوج (أثنين) من الروابط الهيدروجينية Two Hydrogen Bonds
- أما السيتوزين (C) والذى لا يرتبط إلا بالجوانين (G) فهم يرتبطوا ببعض بثلاث روابط هيدروجينية

Molecular genetics


Bases: purines and pyrimidines
Purines: adenine and guanine
Pyrimidines: cytosine and either thymine (DNA) or uracyle (RNA)


nucleoside = sugar + base
nucleotide = phosphate + sugar + base
pyrimidine base
phosphate — sugar
or
purine base
phosphate — sugar
5'
3'

النوكليوسيدات

تتكون النوكليوسيدات من اتحاد ذرة كربون رقم واحد للسكر الخماسي مع ذرة النيتروجين رقم واحد في البريميدين و رقم 9 في البيورين بواسطة رابطة الكَلايكوسيل من نوع β ويكون السكر الخماسي في صورة حلقة .

الفرق بين النوكليوسيدات والنيكليوتيدات

يختلف النوكليوسيد عن النوكليوتيد في عدم احتوائه على مجموعة الفوسفيت:

1. النوكليوسيدات: تحتوي على جزيء سكر خماسي وقاعدة نيتروجينية
2. النوكليوتيدات: تحتوي على جزيء سكر خماسي ,مجموعة فوسفات، وقاعدة نيتروجينية
3. النوكليوسيدات احادية الفوسفات هي نفسها النوكليوتيدات
4. النوكليوتيدات الاحادية هي عبارة عن وحدة تركيب النوكليوتيدات المتعدده او الحامض النووي التي تحتوي على عدد كبير منها

النوكليوتيدات المتعددة Multiple nucleotides

النوكليوتيدات الاحادية هي عبارة عن وحدة تركيب النوكليوتيدات المتعدده او الحامض النووي التي تحتوي على عدد كبير منها

هناك نوعان من الاحماض النووية، إعتماداً على نوع السكر، وهما:

1. الحمض النووي الديؤكسي ريبوزي *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA)
2. الحمض النووي الريبوزي *Ribo Nucleic Acid* (RNA)

ترتبط النوكليوتيدات ببعضها عن طريق الروابط التساهمية التي تربط مجموعة **الهيدروكسيل في ذرة الكربون الثالثة في جزئ** سكر بالفوسفات المرتبطة بمجموعة الهيدروكسيل في ذرة الكربون الخامسة في جزئ السكر المجاور له ليكون رابطة الفوسفيت الثنائي الاستر(3,5 phosphodiester linkage)، ولذا فمن الممكن تكوين عديد النوكليوتيدات بأي طول ومهما كان.

إن هذه الروابط التساهمية هي بمثابة عمود فقري يتكون من تعاقب السكر والفوسفات -Sugar Phosphate backbone.

Molecular genetics

إن سلسلة متعدد النوكليوتيدات لها إتجاه، فمهما كان طول هذه السلسلة فان لها نهايتين، وهما النهاية الخامسة The 5`end والتي لها ذرة الكربون الخامسة والنهاية الثالثة The 3`end والتي لها ذرة الكربون الثالثة والتي لا ترتبط بنوكليوتيد أخر.

الحمض النووي الريبوزي RNA

يتكون من سلسلة واحدة فقط من النوكليوتيدات وقد تكون خطية او حلقية او كروية كما في الفيروسات.

يحتوي على القواعد النيتروجينية التالية : الأدنين A , الجوانين G , السايتوسين C , اليوراسيل U ,.

هناك ثلاثة أنواع من الحمض النووي الريبوزي وهي ثلاث أنواع

1- الحمض النووي الريبوزي الناقل (t RNA).

2- الحمض النووي الريبوزي المراسل (m RNA)

3- الحمض النووي الريبوزي الرايبوسومي (r RNA)

1- الحمض النووي الريبوزي الناقل (t RNA).

- يمثل 15% من الحمض النووي الريبوزي ككل
- يوجد في صورة ذائبه في السيتوبلازم
- وظيفته هي نقل (حمل) الأحماض الأمينيّة من السيتوبلازم إلى الرايبوسومات اثناء عملية تصنيع البروتين {يوجد 34 نوع (جزيئ) من هذا الحامض الريبوزي الناقل، إذ أن كل حمض اميني له جزيء tRNA خاص به}.
- **ما هو الكودون المضاد؟**

هو كودون يتكون من ثلاث نوكليوتيدات يكون موجود في الحلقة الثانية من tRNA بحيث يكون متمم للكودون الموجود على .mRNA

- **أين يرتبط الحمض الأميني في tRNA ؟**

موقع ارتباط الحمض الاميني يكون مقابل لحلقة الكودون المضاد حيث يرتبط بمساعدة انزيم , إذ ان لكل حمض أميني انزيم خاص لربطه مع الناقل له.

2- الحمض النووي الريبوزي الرايبوسومي (r RNA)

Molecular genetics

- يمثل 80% من الحمض النووي الريبوزي ككل
- يوجد في رايبوسومات السيتوبلازم
- يُصنّع هذا النوع في نوية الخلية كسلسله متممه للحامض الديؤكسي رايبوزي في النواة. ثم يُكسّر الى قطع صغيره ترتبط ببروتينات مختلفه لتكوين الجزيئات الرايبوسومية.
- **rRNA وظيفته هي** ربط الأحماض الأمينية المتجاورة في سلسلة متعدد الببتيد أثناء عملية الترجمة.

3- الحمض النووي الريبوزي الرسول (m RNA)

يمثل جزء بسيط من الحمض النووي ويصنع في النواة بواسطة الحامض الديؤكسي الرايوزي ثم يُرسَل الى الرايبوسوم و يحمل الحمض الرايبوزي المراسل رساله من الحمض الديؤكسي الرايوزي في النواة.

تتضمن تلك الرساله شفرة معينة (هي عباره عن القواعد النيتروجينيه ويكون تسلسلها مسؤول عن ترتيب الاحماض الامينية بطريقة معينة في سلسلة متعدد الببتيد) المطلوب تكوينها لتصنيع نوع محدد من البروتين.

ان تصنيع البروتين يتطلب الثلاثة انواع من ال RNA حيث ان الرايبوسوم **rRNA** هو مكان تصنيع البروتين وال **tRNA** هو الذي يحمل الاحماض النوويه التي يصنع منها البروتين بينما يحمل ال **mRNA** المعلومات التي تحدد نوع البروتين المصنع.

الرايبوسوم هو أحد عضيات الخلايا الحية وهو المكان المسؤول عن تصنيع البروتينات (وظيفته) بعد ترجمة mRNA الى سلاسل ببتيدية من الأحماض الأمينية المترابطة فيما بينها.

يتواجد في جميع أنواع الخلايا حرّة في السيتوبلازم أو عالق على الشبكة الإندوبلازميّة الخشنة، على طول الغشاء النووي، داخل النواة، داخل البلاستيدات الخضراء وداخل الميتوكوندريا.

بشكل عام يتكون الرايبوسوم من:

40% من Protein وظيفتها فقط تركيبية فهي تشكل الأجزاء الخارجية للرايبوسوم

و 60% rRNA.

مكوّن من وحدتين بنائيتين: صغيرة مكونة من جزيئات بروتينية وجزيء rRNA

Molecular genetics

وكبيرة مكونة من عدد أكثر من البروتينات وثلاث جزيئات .rRNA.

أنواع الرايبوسومات

1- رايبوسومات الخلايا البدائية

أصغر حجما من الرايبوسومات في الخلايا حقيقية النواة .

تتكون من وحدات(S=Svedberg-Unit. 70 S) والوحدة الصغرى 30 S والوحدة الكبرى50 S

توجد هذه الرايبوسومات في البكتريا وكذلك في المايتوكوندريا داخل الخلية.

ثانياً. رايبوسومات الخلايا الحقيقية

وتتكون من وحدات 80S بحيث أن الوحدة الكبرى تبلغ 60Sوالوحدة الصغرى .40S

وتحتوي على ما يقارب 85 بروتينا و 3 .rRNA. تحتوي هذه البروتينات على الكثير من الأحماض الأمينية ذات الخاصية القاعدية مثل الأرجنين والليسين لأنها موجبة الشحنة مما يمكنها الإلتحام بـ mRNA بطريقة أفضل.

يحتوي الرايبوسوم على أربعة مواقع للارتباط هي:

1- موقع ارتباط mRNAوهي عبارة عن منطقة الانغماد بين الوحدتين البنائيتين.

2- ثلاثة مواقع لارتباط tRNA، إذ تشكل ثلاثة انغمادات على الوحدة البنائية الكبيرة للرايبوسوم، وهي (A) (P) (E)

إذ إن:

موقع (A)هو موقع أرتباط tRNA الحامل للحمض الأميني الذي سيتم إضافته للسلسلة.

موقع (P)هو موقع أرتباط tRNAالحامل للسلسلة النامية من متعدد الببتيد .

موقع (E)هو موقع ترك tRNA للأحماض الأمينية وربطها بالسلسلة النامية من متعدد الببتيد ومغادرة الرايبوسوم.

أهمية الاحماض النووية من الناحية البيولوجية

1- تتركب الجينات التي تحمل المعلومات الوراثية من الـDNA.

2- إن تصنيع البروتين يتطلب الانواع الثلاثة من الـ RNA، إذ ان الرايبوسوم **rRNA** هو مكان

Molecular genetics

تصنيع البروتين وال **tRNA** هو الذي يحمل الاحماض النووية التي يصنع منها البروتين بينما يحمل ال **mRNA** المعلومات التي تحدد نوع البروتين المصنّع.

اوجه التشابه والاختلاف بين الاحماض النووية DNA &RNA

	DNA	RNA
١- مجموعة السكر	ديوكسي رابيوز	رايبوز
٢- قاعدة البيورين	ادنين و جوانين	ادنين و جوانين
٣-قاعدة البيريميدين	ثيامين و سيتوسين	يوراسيل و سايتوسين
٤- مجموعة الفوسفات	موجوده	موجوده
٥- مكان الوجود	في النواة	في النواة
٦- التركيب الحلزوني المزدوج	موجود	غير موجود
٧- الوظيفه	حمل وحفظ المعلومات الوراثيه	تصنيع البروتين
٨- الانواع	نوع واحد	ثلاثه انواع

Molecular genetics

تركيب الجين وآلية عمله

لقد وصف الجين مندل في أبحاثه واطلق عليه بالعوامل الوراثية دون معرفة ماهيته، وقد كان أول من إستعمل إصطلاح الجين Gene لوصف الوحدة الوراثية العالم جوهانسون عام 1909 م الذي عُرِّف فيما بعد وسميّ بالجين أو المورثة.

إن الأساس الجزيئي للجينات هو الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين DNA الذي يتكون الحمض النووي من سلسلة من النوكليوتيدات, وهي عبارة عن اربعة انواع: أدينين (A),سايتوسين (C) ,كَوانين (G) وثايمين (T) ، تتواجد المعلومات الوراثية في تسلسل (ترتيب أو تتابع) هذه النوكليوتيدات, وتتواجد الجينات على شكل سلاسل (تعاقبات) ممتدة على طول سلسة الحمض النووي، وتعد الفيروسات هي الاستثناء الوحيد من هذه القاعدة، فأحيانا تستعمل الفيروسات الحمض الريبي النووي RNA بدلاً عن الـDNA كمادة وراثية.

ومن المعلوم أنه لا يمكن للفيروسات التكاثر بدون وجود المضيف (العائل) ولا تُعد مخلوقات "حية" لذلك لا تخضع للكثير من مبادئ علم الوراثة وأساسياته.

إذاً الجين هو الوحدة الوظيفية للوراثة الذي يحمل المعلومات الوراثية، وهو قطع من حمض DNAمتمركزة في مكان محدد على الكروموسوم، يعمل على تنظيم عملية تكوين الإنزيم أو أي بروتين آخر.

إن مصطلح الجينوم The Genome يطلق على ما يحتويه الكائن الحي من المادة الوراثية من جينات (متكونة من سلسة طويلة من القواعد النيتروجينة) محمولة على الكروموسومات (التركيب الجيني او الوراثي) وتتكون من مجموع المعلومات الجينية وتشفر في الحمض النوويDeoxyribo .Nucleic Acid (DNA)

يتركب الجين في الكائنات حقيقية النواة (Diploid) من نسختين يسمى بالأليل، أحدهما مصدره الأب والآخر مصدره الأم، هذه الأليلات عادةً ما تكون أما سائدة Dominant ترمز لها بالاحرف الانجليزية الكبيرة أو متنحية Recessive يرمز لها بالأحرف الصغيرة،

Molecular genetics

تترتب الجينات خطياً Linear على شكل سلاسل طويلة من تسلسل القواعد النيتروجينية في الحمض النووي.

عادة ما تحتوي كل خلية من خلايا الكائنات بدائية النواة (كالبكتريا او الفيروسات)على حامل جين حلقي (دائري) Genophore ، بينما في الكائنات حقيقية النواة (كالإنسان والحيوان) تملك الحمض النووي المرتب بشكل خطي Linear متعدد على الكروموسومات، وغالباً ما تكون شرائط الحمض النووي طويلة جدا، فيبلغ طول أطول كروموسوم في الإنسان 247 مليون زوج من القواعد النيتروجينية تقريباً، بينما توجد كائنات تحتوي على نسخة واحدة من كل كروموسوم، أما معظم الحيوانات وأنواعاً من النباتات تمتلك أعداداً مضاعفة من النسخ وتحتوي على اثنين من كل كروموسوم ونسختين من الجينات الثنائية في الأليلات يكون متموضعا بشكل هندسي على الكروموسومات المتماثلة.

إن للمورثات لغة تخاطب بها الخلية، تنقل اليها رسائل تقرئها الخلية فتنفذ ما فيها من تعليمات وأوامر بدقة متناهية، لغة الجينات هذه تتألف من أربعة حروف (قواعد) هي A،C،T،G، اما كلماتها فتتألف من ثلاثة أحرف فقط من تلك الحروف الأربعة، ولتلك اللغة شفرات لكي تفهمها الخلية كعلامات الترقيم والفواصل بمعنى ابدأ من هنا .. توقف هنا، بعض هذه الشفرات تعمل كأقواس بين الجمل تسمى أنترونات Intron.

تمتاز الكائنات حقيقية النواة بامتلاكها نسختين لكل جين وتسمى بالأليل Allele أي ان لكل جين أليليين احدهما يؤخذ من الأب (1n) والأخر من الأم (1n)، سواء أكان إنسانا أو حيواناً أو نباتاً، وهو بطبيعته يكون اما سائد Dominant ويرمز له بالحرف الكبير أو متنحٍ Recessiveويرمز له بالحرف الصغير بالتالي تسمى جينات حقيقية النواة ب Diploid ويرمز لها (2n).

يتكون الجين من مناطق متعاقبة باستمرار تسمى بـ **Exon** وهي مناطق تحوي المعلومات الوراثية التي تشفر فيما بعد، و **Intron** التي لا تشفر، لكنها لها وظائف تنظيمية.

يتكون الجين عموماً في حقيقية النواة من المناطق التالية:

Molecular genetics

1. منطقة المحفز أو التحفيز Promoter

وتسمى تسلسل المحفز أو المثير، وهي المنطقة الأولى و المهمة في الجين، التي يمكن إستغلالها في تحديد توقيت عمل الجين وموقع ومستوى تعبير الجين، فهي تعد بمثابة شفرة للجين نفسه، التي تحدد مكان بدء نسخ الحمض النووي mRNA، تحتوي منطقة التحفيز على تسلسل خاص يرتبط عندها انزيم البلمرة RNA polymerase II عند بدء عملية الاستنساخ Transcription، وتقع قبل منطقة المحفز منطقة تسمى منطقة التنظيم او السيطرة Control or Regulatory Gene وظيفتها تنظيم عملية بدأ الاستنساخ ومنها المُسِّرع Enhancer، كما وتحتوي منطقة المحفز على تسلسل يسمى ب TATA box وهو التسلسل الذي يرتبط عنده معقد انزيم RNA polymerase II لبدء إستنساخ الـ DNA لتكوين الـmRNA.

2. منطقة المشغل Operator

وهي المنطقة التي يرتبط عندها مثبت عملية الاستنساخ Repressor.

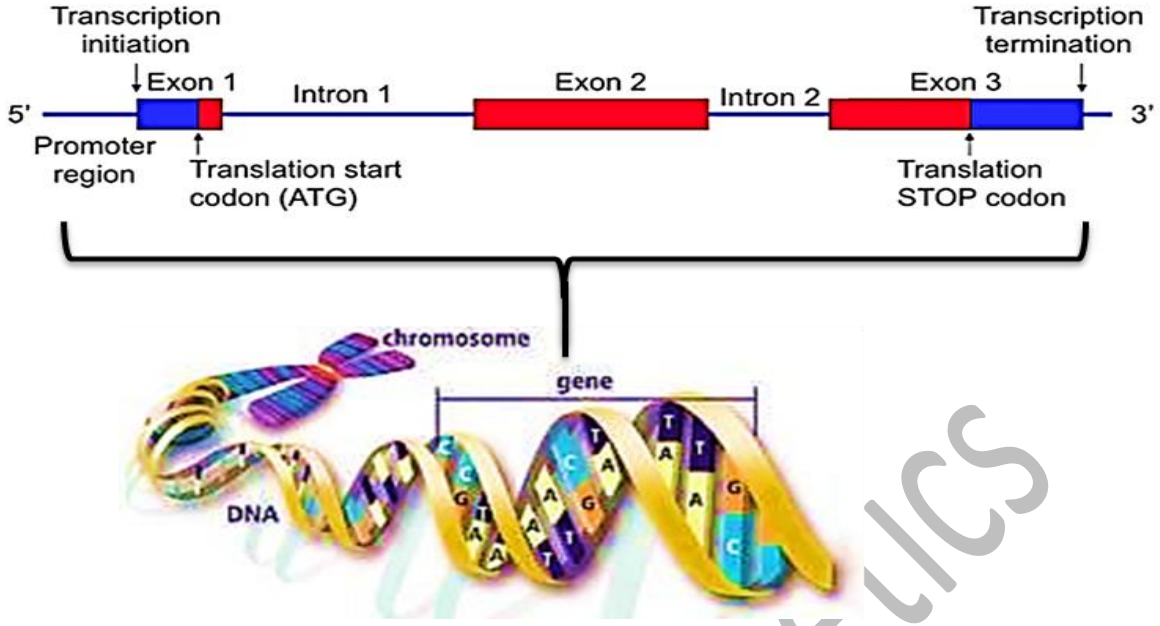
3. **منطقة الجين التركيبي Structural gene**

وتسمى ايضاً منطقة التسلسل المشفر او التشفير Coding sequence، وهي المنطقة التي تحمل المعلومات الوراثية التي سيتم استنساخها لتحديد طبيعة البروتين الذي يشفره الجين التركيبي.

4.منطقة الإنهاء Terminator

وتسمى منطقة تعدد الأدننة Ploy adenylation (Poly-A) وهي المسؤولة عن انهاء عمل نسخة الحمض النووي tRNA للحمض النووي RNA transcript Messengerعلى الوجه الصحيح، وكأنها تأمر الجين (إنهي عملية النسخ هنا)، ولكل من هذه المناطق تسلسل خاص ووظيفة خاصة بها

Molecular genetics



فبإمكان المهندس الوراثي مزج هذه المناطق والموائمة بينما وتجميعها من جينات مختلفة لتنتج ما يسمى بالجينات الكيميرية او الخليطة Chimeric genes وبذلك امكن للمتخصصين في الهندسة الوراثية اختيار محفزات متباينة وتوجيه تعبير الجين الى اعضاء بذاتها مثل الاوراق او البذور او الجذور او الدرنات بل الى انماط بذاتها من الخلايا داخل النسيج الواحد. وقد يصمم الجين الكيميري او الخليط من جينات كائنات مختلفة فالمحفز يكون من فيروس نباتي ومنطقة التشفير يكون مصدرها بكتيريا *E. coli* وموقع تعدد الأدننة Poly A من بكتريا *Agrobacterium*، ثم يتم الإيلاج في خلية نباتية التي تقوم بنسخ الحمض النووي mRNA لتترجمه الرايبوسومات Ribosomes فتنتج البروتينات. أما في بدائية النواة Prokaryote gene structure، فان تركيب الجين يكون أقل تعقيداً مما في حقيقية النواة، إذ تحتوي بدائية النواة على كروموسوم حلقي واحد Circular ، ويشابه تركيب الجين فيها في الكائنات حقيقية النواة مع بعض الاختلافات، ومنها أن منطقة المحفز تحتوي على تسلسل يدعى Pribnow box، ذو تسلسل مميز TATAAT يرتبط عنده انزيم RNA polymerase ، فضلاً عن إنه لا يحتوي على منطقة الانترون Intron .

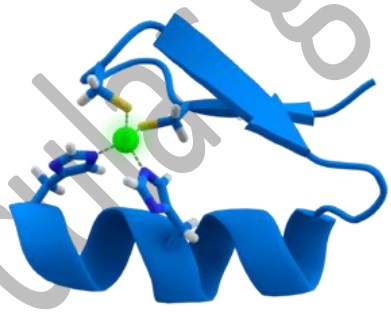
إن الجينات هي المكان الذي يتم فيه خزن جميع المعلومات عن كل عملية كيميائية–حيوية (Bio-chemichal) تجري داخل الكائن الحي وموقعها على الحمض النووي DNA .

Molecular genetics

تنشيط الجين Gene activation

إن عملية تنشيط أي جين تستلزم وجود عوامل للنسخ **Transcription factors** والتي هي مجموعة من البروتينات التي ترتبط بالجين بمنطقة المحفز أو المنشط Promoter لتتمكن بقية مناطق الجين من التنشيط (لذلك يعد عامل النسخ بمثابة مفتاح التشغيل للجين **On-gene**) وبالتالي تعبير الجين عن نفسه من خلال بدء نسخ الحمض النووي المراسل **mRNA** المسؤول عن إنتاج الأنزيم الذي يعمل على إتمام التفاعل الحيوي واظهار الصفة المسؤول عن إظهارها ذلك الجين.

وقد تمكن العلماء من إيجاد الوسيلة التي يتعرف بها عامل النسخ للوصول الى الجزء المنشط للجين Promoter لتفعيله من خلال بدء عملية النسخ **Transcription** فوجدوا ان احد عوامل النسخ مثلاً يحتوي على نتوءات عرفت باسم اصابع الزنك **Zinc fingers** (أنظر الشكل أدناه).



شكل يمثل تنسيق إصبع الزنك Cys2His2، ويتكون من α helix, antiparallel β sheet، ويتم تنسيق أيون الزنك (الأخضر) بواسطة بقايا الهستيدين وبقايا السيستين.

في عام 1985 إكتشف كلاك أن أصابع الزنك هي عبارة عن متواليات من احماض امينية لها القدرة على الإلتواء حول ايون الزنك، إذ قام بتحليل وفك تتابعات الاحماض الامينية في احدى عوامل النسخ ووجد ان هناك ترتيب خاص لتتابع الاحماض الامينية في تسع تتابعات او وحدات متتالية مرقمة من 1- 9 وحدات تتشابه او تتطابق بوجود زوج من الاحماض السيستيئينية **(c)** وزوجها من الاحماض الهيستيدينية **(H)** وان زوجي هذين الحمضين في

Molecular genetics

كل وحدة بنائية ينضمان الى ايون الزنك مما يجعل الاحماض الامينية الموجودة بينهما تتخلق.

وفي عام 1991 كشفت نتائج عدد من الدراسات وباستخدام الرنين المغناطيسي أن أصابع الزنك يجب ان تستعمل على الاقل اصبعين لكي يتعلق البروتين بصندوق TATA بقوة كافية وبالتالي إتصال والتصاق اصابع الزنك بجزء الـ DNA.

تعد أصابع الزنك بمثابة رؤوس قارئة **Reading heads** تتصل بعضها بوصلات مرنة، كما وجد ان حمض اميني معين (E، G، A) يتصل مع قاعدة نيتروجينية واحدة من الزوج القاعدي على DNA بالمجموعات الفوسفاتية في سلاسل السكر والفوسفات التي تكوّن جانبي شريط DNA. ونظرا لان الجين في خلايا الكائنات حقيقية النواة Eukaryotes لا يتكون من تتابعات شفرية مستمرة بل تخلله تتابعات غير مشفرة طويلة بعكس جينات الكائنات بدائية النواة Prokaryotes فتسمى التتابعات التي تمثل باسم الاكسونات **Exons** وتسمى التتابعات التي تعرف اسم الانترونات **intones** ثم توصل الاكسونات ببعضها الحمض النووي RNA splicing حيث تنبعج الانترونات للخارج في شكل عروات قبل استبعادها.

Molecular genetics

تضاعف او تناسخ (تكرار) المادة الوراثية DNA Replication

Introduction

تنمو وتتكاثر الكائنات الحية وحيدة الخلية أو عديدة الخلايا بالانقسام الخلوي، ولهذا الانقسام عدة أسباب، فقد يكون السبب تعويض الخلايا الميتة أو النمو او انتاج الامشاج وغيرها العديد من الأسباب.

لقد كان هناك اعتقاد سائد بأن المرحلة البينية Interphase هي فترة راحة للخلية أو فترة نمو خالية من الأحداث وليس لها علاقة بالانقسام الخلوي، ولكن الأبحاث والدراسات الحديثة اثبتت عكس ذلك، فهذه المرحلة مهمة وضرورية للانقسام الخلوي ويتم خلالها مضاعفة المادة الوراثية (DNA). تتم عملية التضاعف الـ DNA synthesis في مرحلة S-phase من دورة الخلية. والغرض من التضاعف هو المحافظة على المحتوى الوراثي للخلايا بعد كل عملية انقسام خلوي.

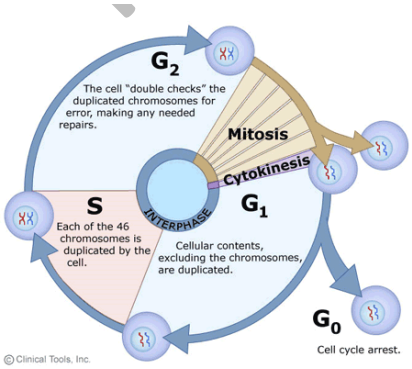
ان ما يميز الحمض النووي عن جزيئات الخلية الاخرى هو قدرته على توجيه تضاعفه فضلاً عن انه يحمل المعلومات الوراثية ، وان سبب وجود الازدواج بين القواعد النيتروجينية المتممة ان احد شريطي الحمض النووي يعمل كقالب لتخليق الشريط المكمل الثاني (بالتضاعف)،

تعريف تضاعف الحمض النووي DNA Replication

هي عملية يحدث فيها فك إرتباط شريطي DNA من خلال تكسير الروابط الهيدروجينية التي تربط بينهما، ويتبع هذا تراص نيوكليوتيدات جديدة امام كل شريط قديم، وارتباط بعضهما ببعض بمساعدة انزيم البلمرة DNA polymerase، وبعد ذلك يتم تخليق شريطين جديدين من متعدد النوكليوتيدات (حيث أن كل شريط قديم يعمل كقالب للشريط الجديد، وبذلك فان كل جزء من DNA يكون قد تضاعف الى جزئين).

فترة تضاعف جزيء DNA DNA Replication

يتم تضاعف DNA في فترة محدودة من الطور البيني تعرف بفترة التضاعف أو البناء قبل الانقسام الخلوي. يسبق فترة التضاعف أو البناء فترة من فترات الدور البيني تعرف بفترة ما قبل التضاعف ويرمز لها بالرمز (G1) يتم بناء وتمثيل معظم ما تحتاجه الخلية من مكونات عضوية تساهم في تجهيز الخلية لمرحلة الانقسام وكذلك ما تحتاجه الخلية لبناء مادة وراثية جديدة (تضاعف المادة الوراثية القديمة)، كما يعقب فترة تكاثر DNA فترة تعرف بفترة ما بعد التكاثر أو فترة النمو الثانية ويرمز لها بالرمز (G2) في هذه الفترة تكون الخلية مستعدة للانقسام الخلوي حيث أن أهم مادة في الخلية قد



تضاعفت وهي DNA. ومن أهم الاحداث التي تحدث خلال هذه الفترة التفاف وقصر للدنا بشكل متدرج. وهذ بدوره يتبع بفترة انقسام الخلية التي تبدأ بالدور التمهيدي بانقسام السيتوبلازم.

آلية تضاعف الـ DNA

هناك ثلاث نظريات وضعت سابقاً لتفسر آلية تضاعف الحامض النووي DNA وهي :-

1- طريقة التضاعف الجزئي (شبه أو نصف المحافظ)

Semiconservative DNA replication

2- طريقة التضاعف المحافظة Conservative DNA replication

3- طريقة التضاعف التشتتية Dispersive DNA replication

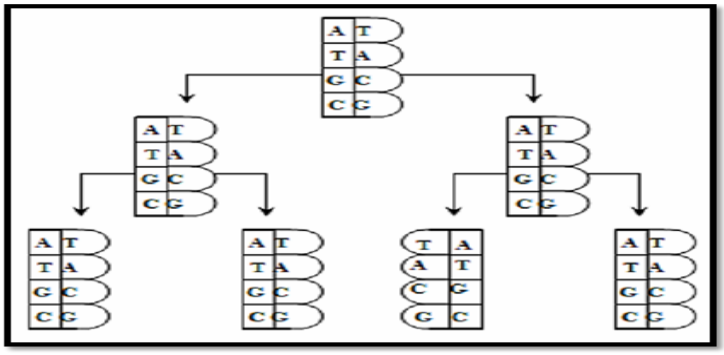
اقترح واتسون وكريك انه عند إعادة انتاج الشريط الحلزوني فإن كل جزئ من DNA يتكون من شريط قديم من الجزيء الأصلي (**شريط ابوي يعمل كقالب لشريط جديد**) وشريط جديد مكمل للشريط القديم، وسميت هذه الطريقة بالطريقة **شبه المحافظة** للتكرار نظراً لان الحلزون الابوي المزدوج يحافظ عليه جزئياً اثناء تكرار الـ DNA.

ولقد أثبت هذا النموذج العالمان ماثيو مسلسون وفانكلن ستول، ونتيجة لذلك تم استبعاد نموذجين كانا مقترحين، لتفسير تضاعف DNA الأول هو **النموذج المحافظ** حيث يبقي جزيء DNA الأم (الأصلي) كما هو من غير فصل الشريطين، ويتم بناء دنا جديد مكون من شريط مزدوج مشابه له تماماً. والثاني هو نموذج **الطريقة التشتتية** حيث ينقسم جزيء DNA إلى جزيئات صغيرة، تبنى من جديد مع جزيئات جديدة وتندمج معاً، ويتكون جزيئان جديدان من DNA، كل منهما مزيج من المادة القديمة والجديدة لجزيء .DNA

تضاعف جزئ DNA شبه المحافظ

يوصف تضاعف DNA بأنه "شبه محافظ" Semiconservative، وذلك ان كل جزيء ناتج عن التضاعف يكون محتفظاً بأحد شريطي الجزيء الاصلي، بينما يكون الشريط الاخر لهذا الجزيء الناتج مستحدث التكوين، وتتابع القواعد النيتروجينية في الشريط القديم هو الذي يحدد تتابعها على الشريط الجديد، فاذا كانت القاعدة النيتروجينية على الشريط القديم الادينين مثلاً جاءت امامها قاعدة الثيامين على الشريط الجديد، والعكس بالعكس، كذلك إذا كانت قاعدة

الجوانيين على الشريط القديم جاءت امامها القاعدة السيتوسين على الشريط الجديد والعكس صحيح.



هناك شروط عدة لكي تحدث عملية تضاعف ال DNA وهي :

1- جزيء DNAالذي يلتزم في عملية المضاعفة ليتم إنتاج جزيئات DNAجديدة.

2- النيوكليوتيدات الأربعة.

3- إنزيم يساعد على تضاعف الـ DNA(إنزيم بلمرة DNA)، فضلا عن أنزيمات أخرى.

تضاعف DNA في بدائية النواة:

المادة الوراثية للخلايا بدائية النواة عبارة عن جزئ وحيد دائري الشكل وعادة يعتبر صغيراً إذا ما قورن بـ DNA الخلايا حقيقة النواة. وهذا الـ DNA دائري الشكل يتضاعف قبل كل مرحلة انقسامية بينما عملية التكاثر تبدأ من منطقة محددة على هذا DNA تعرف بموقع المنشأ وهذا الموقع يعتبر وحيد في الخلايا بدائية النواة.

ويمكن تلخيص عملية تضاعف DNA في الخلايا بدائية النواة كالتالي:

- عملية تكاثر DNA في الخلايا بدائية النواة تتم بطريقة التكاثر نصف المحافظ.
- تتم عملية التكاثر من موقع محدد ذو تتابع نيوكليوتيدي فريد يعرف باسم منشأ التكاثر.
- التعرف على منشأ التكاثر بواسطة انزيم يعرف باسم انزيم هليكيز DNA DNA helicase وهو المسؤول عن فك حلزنة شريطي DNA.
- عندما يبدأ التكاثر يعمل انزيم DNA المبلمر على بناء شريط مكمل للشريط القديم.

- تتم عملية بناء أو تكاثر شريط DNAبطريقة غير مستمرة متقطعة إلى قطع صغيرة من DNA يتراوح طولها بين 1000 إلى 2000 نيوكلتيدة تعرف باسم قطع اوكازاكي Okazaki fragments.
- نظراً لان جزئ DNA حلزوني الشكل فإن فك الحلزنة اثناء عملية التكاثر تحتاج الى انزيمات متخصصة لهذه العملية تعرف بإنزيمات DNAالتوبوايزوميرَز DNA وهي على نوعين:

DNA topoisomerase 1 هذا الإنزيم متخصص بكسر وربط شريط واحد من DNA.

بينما الانزيم DNA topoisomerase 2 متخصص في كسر وربط كلا الشريطين.

ثانياً: تضاعف DNA في حقيقية النواة

تعتبر عملية تضاعف DNA في حقيقة النواة عملية منظمة وتحدث بانتظام ودقة متناهية، وهنالك طورين أساسين لدورة حياة الخلية وهما الطور البيني Inter phase الواقع بين كل انقسامين متتالين والذي يعد الطور الفعال في الدورة الخلوية.

يليها طور الانقسام الخيطي Mitotic phase ولكل من هذين الطورين أطوار ثانوية، والمهم هنا هو معرفة حدوث عملية تضاعف DNA ، إذ تحدث هذه العملية استعداد للانقسام الخلوي وتحدث في طور التصنيع Synthesis phase ويرمز له S phase وهو من الأطوار الثانوية للطور البيني، وتحدث هذه العملية في المنطقة النووية Nucleoid في بدائية النواة، وفي النواة والميتوكوندريا (في حقيقية النواة).

مراحل عملية تضاعف DNA في حقيقة النواة

هناك عدة مراحل تمر بها المادة الوراثية اثناء التضاعف خلال الطور البيني في الخلايا حقيقة النواة حتى يتم التضاعف الكلي لها قبل عملية الانقسام الخلوي.

1) تمييز منشأ التضاعف Origin of Replication Recognition:

تسمى المنطقة التي يبدأ عندها التضاعف **بـمنشأ التضاعف** ومن مميزات هذه المنطقة انها غنيه بالأزواج القاعدية الادينين والثيامين ويعزى بدأ التضاعف في هذه المنطقة على وجه التحديد إلى ضعف الروابط الهيدروجينية بين هذه القواعد.

2) عملية الإرخاء Relaxation

تتضمن هذه الخطوة فك الالتفاف الفائق بواسطة انزيم Topoisomerase وهنالك نوعين من هذا الإنزيم هما Topoisomerase I (الذي يقوم بقطع أحد الشريطين ليدور حول الثاني ومن ثم اعادة لصق الشريط) والثاني هو Topoisomerase II (الذي يقوم بقطع الشريطين لتدور حول جزيئة DNA المزدوجة الأخرى ومن ثم اعادة لصقهما).

اما آلية عمل انزيم التوبوايزوميريز فيمكن تلخيصها كلاتي: يقوم الأنزيم بعمل قطع في DNA (أحد الشريطين او كلاهما) وبالتالي تحصل عملية الإرخاء ثم يعاد غلق الشريط او الشريطين المقطوعة وهذا يؤدي الى الحصول على الحلزون المزدوج الجاهز لعملية بدء التضاعف.

3) عملية فتح شريطي Double Helix Denaturation DNA

تحدث هذه العملية بكل من الاتجاهين لفتح الشريط المزدوج بواسطة انزيم Helicase وتتزامن معها ارتباط Single-stranded binding proteins SSBP للشريط المزدوج.
وان الهدف من ارتباط الـ SSBP هو منع اعادة ارتباط الشريطين ولضمان استقرار الشريطين المنفصلين لحين بدأ تصنيع الشريط المتمم لكل منهما.
وتسمى هذه المنطقة المفتوحة بنقطة التضاعف Replication fork والتي تتجه بالاتجاهين، هنالك العديد من شوكات التضاعف تتكون في آن واحد في حقيقية النواة وشوكة تضاعف واحدة في بدائية النواة.

4) إرتباط البادئ Primer Binding (Annealing)

تعد خطوة ارتباط البريمر أو البادئ من الخطوات المهمة والأساسية في بدء عملية التضاعف للمادة الوراثية وذلك لأنه يمثل الأساس لتصنيع الشريط المتمم للشريط القديم.

تنجز هذه الخطوة بواسطة انزيم Primase وهو أحد أنواع انزيمات RNA polymerase حيث يحفز هذا الأنزيم تصنيع قطعة صغيره من RNA تسمى البادئ Primer ويزال هذا البادئ فيما بعد بواسطة إنزيم البوليميريز.

5) البلمرة وإطالة شريط الـDNA (Polymerization and Strand Extension)

تتم هذه العملية بواسطة انزيم DNA polymerase بالاتجاه

3' →5' إذ يقوم بإضافة النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات الى مجموعة الهيدروكسيل الحرة للنيوكليوتيده السابقة ويتم الحصول على الطاقة اللازمة من مجموعتي الفوسفات التي كانت في النيوكليوتيده الحرة.

عند بدأ البلمرة يحتاج الشريط القائد **Leading Strand** الى قطعة برايمر واحده فقط، أما الشريط المتأخر **Lagging Strand** الذي يكون بالعكس فانه يحتاج الى عدة قطع من البرايمرات ويبنى على شكل قطع وتسمى القطع الصغيرة بقطع اوكازاكي.

6) عملية إزالة البرايمر وغلق القطع Primer removing and Nick sealing

تعد عملية إزالة البرايمر من الشريط الجديد من العمليات الهامة (لأنه عبارة عن قطعة صغيرة من الرنا وليس قطعة من DNA)، ويتم إنجاز هذه العملية بواسطة انزيم بلمرة الحمض النووي DNA polymerase

أما عملية غلق او لصق القطع التي تم بناؤها في الشريط الجديد فتتم بواسطة انزيم اللصق DNA Ligase.

7) عملية الإنهاء Termination

تحدث هذه العملية في عدة مناطق تسمى مناطق إنهاء التضاعف، وتحدث هذه العملية نتيجة لارتباط بروتينات الإنهاء بهذه المناطق.
ومن الجدير بالذكر ان بدائية النواة فيها منطقة إنهاء واحده وهي المنطقة المحصورة بين منطقة البدء والإنهاء. في حين أن هنالك عدة مناطق إنهاء في حقيقية النواة.

إن مراحل تضاعف جزيء DNA باختصار هي :

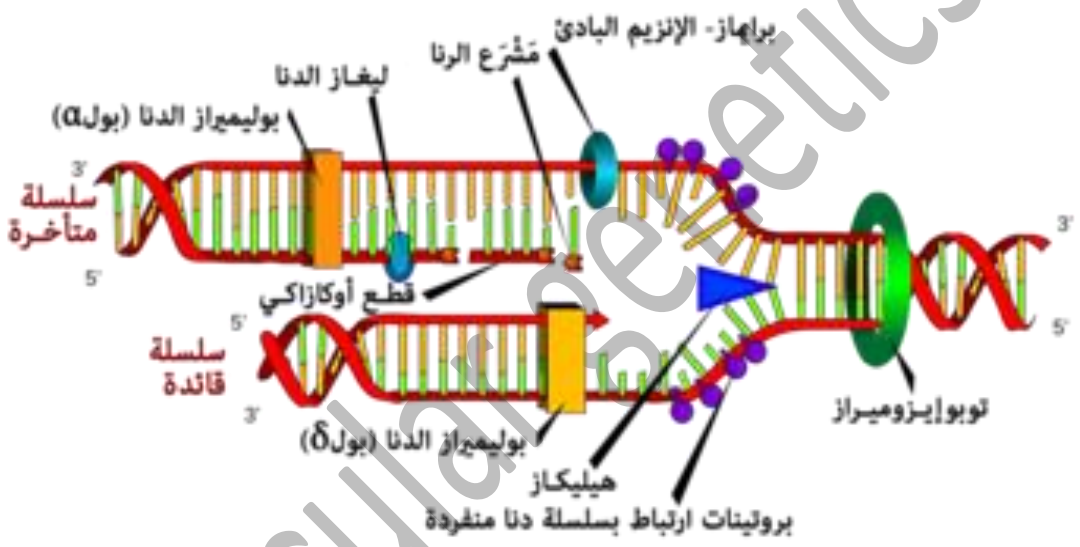
1- تنفصل سلسلتا جزيء DNAعن بعضهما البعض ويكون ذلك بسبب تكسّر الروابط الهيدروجينيّة وهي التي تربط الروابط النيتروجينيّة ببعضهما ، ويتم انشطار الجزيء على شكل طولي حتى نهاية السلسلة ، وبالتالي تتحول إلى سلاسل أحادية .

2- ومن ثمّ يرتبط إنزيم التضاعف (إنزيم بلمرة DNA)بالسلسة الأحادية بعد انشطارها ليتم وضع النيوكليوتيدات بحسب ترتيب القواعد النيتروجينيّة الموجودة في سلسلة الـ DNA

3- ومن ثم يتضاعف جزيئين من DNA بنفس الوقت ونفس السرعة ، فبالتالي ينتج من تلك العميلة سلسلتين من DNAواحدة قديمة وأخرى جديدة .

4- ومن بعدها تأتي عمليّة الإرتباط بجزيئات DNAوالتي تقوم بها هذه العمليّة بروتينات الهستونات الأصليّة والتي يتم بعدها تكوّن الكروموسومات وتتكاثف داخل النواة.

هنالك العديد من مناطق منشأ التضاعف في حقيقة النواة على العكس من بدائية النواة التي تحتوي على واحد فقط.



عملية تضاعف DNA

Molecular genetics

Molecular genetics

المحاضرة الخامسة

تعبئة وتكثيف الحمض النووي Nucleic Acid Packaging and Condensation

إن المقصود بتعبئة الأحماض النووية أو ترتيبها هي الشكل النهائي الذي يكون عليه الحمض النووي DNA في نواة الخلية، كما في هيئة او تركيب الـDNA الفراغي في الكرموسوم، أي تعبئة الـDNA الخاصة أو ترتيبه على الكرموسوم.

في الكائنات حقيقية النواة Eukaryote، تلعب بروتينات الهستون دوراً محورياً في عملية تعبئة Packing وتكثيف الحمض النووي (حشده) DNA Condensation، إذ تتم تعبئة الـDNA على كروموسوماتها بمرحلتين، وهما:

1- يتكوّن اللب Core بعد تجمع وحدتين مع بعض من هستونات H2A, H2B, H3, H5 ليلتف بعد ذلك شريطي DNA حول ذلك اللب فتنغلق نقطتي تلاقي الـDNA بالهستون الرابط H1 لتكوّن ما يشبه الحبات او خرزات المسبحة على جزيئة الـDNA تسمى النوكليوسوم Nucleosome (ذات قطر يبلغ 10 نانوميتر).

2- يتكوّن تركيب السولينويد Solenoid structure (ذو شكل اسطواني يبلغ قطره 30 نانوميتر) نتيجة تجمع كل ستة نوكليوسومات

أما فيما يتعلق بتعبئة الـDNA في كروموسوم الكائنات بدائية النواة Prokaryote فيطلق عليها بالإلتفاف الفائق Supercoiling، وهو على نوعين:

1- الإلتفاف الفائق الموجب Positive Supercoiling، والذي يحدث عندما يكون الإلتفاف الفائق بإتجاه الحلزون المزدوج للـDNA.

2- الإلتفاف الفائق السالب Negative Supercoiling، والذي يحدث عندما يكون الإلتفاف الفائق عكس إتجاه الحلزون المزدوج للـDNA.

وبسبب طبيعة المادة الوراثية في الكائنات بدائية النواة التي تكون اقل تعقيداً مما في حقيقية النواة فإن تعبئة الحمض النووي فيها يكون بدرجة اقل تعقيداً مما هي عليه في حقيقة النواة، إذ تتم التعبئة بإرتباط بروتينات تشبه الهستونات تسمى مجتمعة بـ Histon like protein ومنها هستونات (HU protein وN-HS وFIS)، وعادةً ما يتم هذا الإلتفاف الفائق للحمض النووي بعد حدوث عملية تضاعف الـDNA مباشرةً وبوجود بروتين HU وأنزيم التوبوآيزوميريز الأول Topoisomerase I وبذلك تتم عملية تعبئة الـDNA.

Molecular genetics

بعد إنتهاء عملية التعبئة فإن طول الكروموسوم الانقسامي مثلا والأكثر ضغطاً يكون أصغر بمقدار 20,000 مرة من طول الحمض النووي الذي يتم تعبئته بداخله.

يعد الحمض النووي DNA من أطول المبلمرات الطبيعية، إذ يصل طول جزيء DNA واحد بشكل خطي الى عشرات السنتيمترات وحسب الكائن الحي ويبلغ قطره حوالي 2 نانومتر أو 20 انكستروم (يحمل الحمض النووي شحنة سالبة بمعدل شحنة واحدة لكل 0.17 نانومتر)، إن طول اللفة الواحدة يبلغ 34 انكستروم، وتتكون اللفة الواحدة من 10.5 زوج قاعدي (وزن الزوج القاعدي الواحد يبلغ 660 دالتون)، وبذلك يكون طول القاعدة الواحدة او الزوج القاعدي قرابة 3.3 انكستروم.

إن كل زوج قاعدي يلتوي او ينحرف عن مسار الزوج القاعدي الذي يسبقه بحوالي 36 درجة، وبالتالي يصبح من السهل معرفة عدد الأزواج القاعدية في اللفة الواحدة وتتابعها، من خلال معرفة ان اللفة الواحدة تعني التواء او استدارة بمقدار 360 درجة، ما يعني أن هناك عشرة أزواج قاعدية تقريبا في اللفة الواحدة، ففي الإنسان مثلاً، تتكون خلاياه من زوجين (أحدهما مصدره الأب والآخر من الأم) تضم 23 كروموسوما مختلفا، ويمتد طول DNA في خلية البشر بطول مترين بشكل متماثل، ويصل طول DNA الموجود في جسم الإنسان إلى حوالي (60.000.000.000) كيلومتر، ما يعادل المسافة بين كوكبي الأرض والقمر (8000) مرة ذهاباً وإياباً، كما أن وزن جزيء الـ DNA لدرجة أنه لو جمع كل الـ DNA الذي تحتوي عليه أجسام سكان الأرض لما زاد وزنه عن (36) ملغم، كل ذلك يعني أنه يمكن اعتبار المسافات الكبيرة في الحمض النووي كحبل مرن، وإن المساحة المتاحة للحمض النووي في الخلايا الحية هو أصغر بكثير من المساحة التي سيشغلها في حالة الإنتشار الحر في المحلول.

كما يُعد الحمض النووي DNA من أصلب المبلمرات الطبيعية بفضل خاصية إلتفاف الحمض النووي حول نفسه (الشكل الحلزوني المزدوج) في ظروف المحلول المناسبة بمساعدة الأيونات والجزيئات الأخرى والتي لها دور في إضفاء التركيب الصلب للحمض النووي، من بينها الخواص الميكانيكية لهيكل فوسفات-السكر، التنافر الكهربائي بين جزيئات الفوسفات، التفاعلات بين سلسلتي الحمض، فضلاً عن تفاعلات التراص بين القواعد النيتروجينية في كل سلسلة منفردة.

ومن أجل التغلب على القيود التي تفرض على هذا الحجم الكبير للحمض النووي وطوله أثناء الحفظ والتخزين أو قيامه بعمله في النظام الحيوي لابد من توفر آلية تقلل من هذا الحجم وأن

Molecular genetics

يضغط بطريقة منظمة للتمكن من الوصول إليه بيسر في المساحة المتاحة بالميكروميتير داخل النواة.

إن عملية ضغط جزيئات الحمض النووي هذه في الخلية الحية أو في المختبر تدعى بتكثيف الحمض النووي DNA condensation الذي يعرف على إنه إنهيار كبير وممتد بسلاسل الحمض النووي إلى جزيئات مضغوطة بشكل منظم تحتوي على جزىء واحد أو عدد قليل فقط من الجزيئات، بحيث يعتمد على التركيز النسبي للمادة المضغوطة في المساحة المتاحة.

إن عملية تكثيف أو ضغط الحمض النووي أساسية له لتأدية عمله في تنظيم الجينات في الأنظمة الحية، كما يعد تكثيف الحمض النووي في المختبر بمثابة نظام نموذجي للعديد من العمليات الفيزيائية ،الكيمياء الحيوية وعلم الأحياء، فضلاً عن التطبيقات المحتملة للتكثيف في كل من الطب والتقانات الحيوية.

ومما يجدر ذكره أنه من الممكن أن يستحث تكثيف الـDNA في المختبر بإحدى طريقتين وهما:

1- عن طريق توفير قوة خارجية لجمع سلستلي DNA المزدوجة معاً.

2- حث قوى الإنجذاب بين جزيئات الحمض النووي، والتي يمكن تحقيقها من خلال أحد الإحتمالين التاليين:

أ. مساعدة الضغط الأزموزي الذي يوفر مزاحمة محايدة للبوليمر بوجود وسط من الأملاح ذات التكافؤ الأُحادي (إن الأملاح تعمل على معادلة شحنة الحمض النووي السالبة وتقليل التنافر البيني أي بين حمض النووي وحمض نووي آخر)، وان مصدر هذه القوى (التي تقوم بدفع سلستلي DNA المزدوجة) هو الإصطدامات العشوائية مع حشد البوليمرات المحيطة بالحمض النووي المتكثف.

ب. إحتمال حث قوى الإنجذاب بين جزيئات DNA يمكن أن يتحقق بتحفيز تفاعلات التجاذب بين جزئيات DNA من خلال الشحنة الموجبة المرتبطة ذات التكافؤ المتعدد (الأيونات المعدنية المتعددة، متعدد الأمين، الشحنات الموجبة غير العضوية، الببتيد، الدهون، الليبوزومات، البروتامينات والبروتينات.

فيزيائياً، فإن تكثيف سلسة لولبية مزدوجة طويلة للـDNA ترتبط ارتباطاً وثيقاً ببعضها البعض في مرحلة التكثيف وضمن فترة زمنية ضيقة تحت تأثير تركيز عوامل التكثيف والعلاقات المتبادلة بين أعداد الأيونات في المحلول هي بالمجمل تعد مرحلة إنتقالية حادة وحرجة، وان هذا الإرتباط الوثيق بين السلسلتين يؤدي إلى إعادة تشكيل جزيئات الماء الذي ينتج عنه ما يسمى قوة

Molecular genetics

الترطيب.

في البكتيريا يتم تكثيف وضغط الحمض النووي (الكروموسوم البكتيري) بمساعدة البروتين ومتعدد الأمين، إذ يشكل البروتين المرتبط بالحمض النووي في البكتيريا ما نسبته 25% من مساحة التخزين الداخلية، بحيث تشكل طوراً لزجاً مرّكزاً ذات خصائص تشابه تماماً الحالة البلورية السائلة التي تدعى شبه نواة أو نوكليوتيد وبطريقة مشابهة للطريقة التي يتكثف ويُضغط بها الحمض النووي الموجود في الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضر.

إن تطور النوكليوتيدات البكتيرية يمثل حلاً هندسيا وسط ما بين ضغط الحمض النووي الخالي من البروتين في الفيروسات وضغط الحمض النووي المحدد بالبروتين في الكائنات حقيقة النواة.

في الفيروسات عموماً، فإن هناك تغايراً نسبياً في تعبئة وتكثيف الحمض النووي DNA بسبب وجود غشاء دهني يغلف المادة الوراثية سواء أكانت DNA أو RNA، إذ يُخزَن الحمض النووي المزدوج في الغلاف البروتيني مكوناً ما يشبه ملفاً، يضم أنواعاً مختلفة من الإلتواءات ما ينتج عنها حالات مختلفة من الإنضغاط أو التعبئة البلورية السائلة التي من الممكن أن تتحول من الشكل السداسي إلى حالة تراصف تام للجزئيات الى حالة متكافىء الجزئيات في مراحل عدة من أداء الفيروس.

وعلى الرغم من أن السلسلة اللولبية المزدوجة دائماً ما تكون بحالة إصطفاف، إلا أن الحمض النووي داخل الفيروس لا يمثل حالة بلورية سائلة حقيقة بسبب إفتقارها إلى الميوعة .

إن الحمض النووي الفيروسي المكثف مختبرياً، وبمساعدة متعدد الأمين يعد منظما ومائعاً في نفس الوقت.

لماذا يبقى DNA داخل النواة حصراً ولا يمكن ان يخرج منها ؟

لأنه يلف أو يحزم نفسه داخل الكروموسومات وبذلك يبقى داخل النواة.

عملية التعبئة داخل الكروموسومات تتمثل بلف DNA نفسه مرارًا وتكرارًا في كتل صغيرة الحجم يتم تعبئتها بشكل جيد على الكروموسومات من خلال البيورينات والبريميدنات...الخ، وبالتالي وعندما تنقسم الخلايا يتم نقل الحمض النووي إلى خلايا جديدة عبر الكروموسومات ثم يعاد تجميعها مرة أخرى.

بالاضافة الى ان هناك سبباً آخر وهو العلاقة الالكترونية بين الحمض نفسه والهستونات، وكتوضيح سريع لهذي العلاقة فان طبيعة شحنة الحمض النووي هي سالبة التي تدور حول مجموعة مكونة من 8 بروتينات من الهستون ذات الشحنات الموجبة التي تعزز بإضافة بروتين

Molecular genetics

آخر على شكل قضيب الذي يفرغ في الحمض النووي دائرتين مثل السلك ليعرف فيما بعد بالهيكل ومثالها يتجسد بالـ Nucleosome .

ما هو سبب بقاء DNA داخل الكروموسومات وعدم تمكنه من الخروج خارج النواة ؟

هنا نتأمل حكمة الخالق وعظيم تصويره: إذ لا يمكن للـ DNA أن يخرج من النواة عبر الغشاء النووي (لان الكبير لا يمكن أن يخترق الصغير)، فالله جلّ في علاه وحكمته جعل من تركيب شريط DNA كثيفاً وسمكه كبيراً فضلاً عن إرتباطه ببروتينات الهستونات التي اضفت عليه سمكاً اكبر، لا يستطيع المرور عبر الثقوب النووية (الأصغر حجما من الDNA) في الإنسان والحيوان والنبات (حقيقية النواة)، كما ان الحمض النووي DNA يوجد بشكل منظم داخل النواة وليس بشكل عشوائي ويرتبط بمناطق معينة بالسطح الداخلي لجدار النواة.

لكنه، أي الـDNA يستطيع أن يمر عبر الغشاء النووي في حالتين فقط:

الاولى: عند تغير صورته إلى mRNA واثناء الإنقسام عندما يستنسخ إلى mRNA (شريط واحد= حجم أصغر) داخل النواة (يتم استنساخ الجين المطلوب ترجمته فقط) ومن ثم ينتقل الى السيتوبلازم ويترجم إلى بروتين في الرايبوسومات، في الإنسان والحيوان والنبات والفطريات....الخ (حقيقية النواة Eukaryote).

الثانية: الحمض النووي للفايروس يمكن أن يمر عبر الغشاء الى الخلية اثناء الاصابة، أو بعض انواع البكتريا لان نواتها أصلاً غير محاطة بغشاء ولأن المادة الوراثية ليست منتظمة ضمن نواة مغلقة بغشاء Prokaryotes ، هذا كله في الحالة الطبيعية للكائن الحي، ويمكن إحداث العبور للـ DNAبإستحداث الصدمة الكهربائية أو الحرارية وغيرهما لغشاء الخلية والذي نستخدمه بتقانة التحويل Transformation بإستخدام النواقل Plasmids مثالاً.

وكفكرة مبسطة عن سبب بقاء DNA داخل الكروموسومات وعدم تمكنه من الخروج خارج النواة فلأنه اي DNA يلف أو يحزم نفسه داخل الكروموسومات، وتنطوي عملية التعبئة داخل الكروموسومات على لف DNA نفسه مرارًا وتكرارًا في كتل صغيرة الحجم يتم تعبئتها بشكل جيد في الكروموسومات. في نهاية المطاف، عندما تنقسم الخلايا من خلال الانقسام ، يتم نقل الحمض النووي إلى خلايا جديدة عبر الكروموسومات ثم يعاد تجميعها مرة أخرى .

فسبحان مَن أبدع.

Molecular genetics

المحاضرة النظري 6

بناء الحمض النووي الريبي RNA (التعبير الجيني) Gene expression

على مستوى الشخص نفسه، فإن تعبيراته تتغير وملامحه قد تتغير بين لحظة ولحظة والذي يعبر عن مشاعر اللحظة كالفرح وضحكاته او ابتسامته والحزن او الدهشة أو قد يكون ردا على التغير البيئي من بردٍ قارص وهكذا، والتعبير الجيني هو توظيف الجينات المنتج (نوع البروتين) الذي يكون ضرورياً لتلك اللحظة، فكلما كانت هناك حاجة لبروتين معين، فإن التعبير الجيني يوفر ذلك.

وراثياً، يعد التعبير الجيني هو المستوى الأكثر أساسية في التركيب الوراثي للكائن الحي والذي يؤدي بالنتيجة إلى النمط الظاهري (ظهور الصفة في الكائن الحي) من خلال تخليق البروتينات التي تتحكم في شكل الكائن الحي، أو أن يكون بمثابة تشكيل البروتينات للأنزيمات والمواد الكيميائية الأخرى التي تقوم بوظائف مختلفة في الجسم أو تحفيزها للمسارات الأيضية المحددة التي تميز الكائن الحي. إذاً،

فالتعبير الجيني هو قدرة الجينات على التعبير عن نفسها لتخليق منتج جيني وظيفي (بروتين)، ولكن الجينات المُشفَرة{مثل جينات الحمض الريبي الناقل tRNA أو الحمض الريبي صغير النووية Small nuclear (snRNA) } فيكون المنتج في هذه الحالة هو حمض نووي ريبي RNA وليس بروتينات وظيفية. إن التعبير الجيني عملية متعددة الخطوات تبدأ بعملية النسخ وذلك يتم بنسخ قطعة من DNA إلى mRNA ثم ترجمة الأخير إلى بروتين (أحماض أمينية) في الرايبوسوم.

يمكن لكل جين أن يُشفّر (يُرمّز) إلى بروتينات مختلفة، لذلك فإن عدد البروتينات المعروفة في الخلايا أكبر من عدد الجينات، وإن جميع الجينات لا يُعبّر عنها أو تُرمّز لأي بروتين، إذ يُعد التعبير الجيني أساسًا لتمايز الخلايا، فالتعبير الجيني لخلايا الورقة يختلف عن خلايا الجذر.

إن البيئة تلعب دوراً أيضاً في تحديد السمات النهائية، إذ يعتمد النمط الظاهري (صفاته) للكائن الحي على تفاعل الجينات مع البيئة، فمثلاً في الإنسان تلعب البيئة دورًا في التأثير على المرض الوراثي الفينيل كيتون يوريا(البوال التخلفي)، وتؤدي الطفرة المسببة للمرض إلى تعطيل قدرة

Molecular genetics

الجسم على تكسير الحمض الأميني الفينيل ألانين، ما يؤدي إلى تراكم سموم بعض الجزئيات، ويسبب ذلك التخلف العقلي والصرع للمصاب، ويمكن للأشخاص الذين لديهم طفرة الفينيل كيتون يوريا اتّباع نظامٍ غذائيٍ صارمٍ بعيدًا عن هذا الحمض الأميني، ما يسمح لهم بالعيش بطريقة طبيعية وصحية.

طرائق قياس التعبير الجيني

هناك عدة تقنيات وأدوات جزيئية تمكننا من قياس ومعرفة تعبير الجينات في الكائنات الحية عموماً، وهي:

(نشاط)

Measuring of Gene Expression:

- **Differential Display**
- **Serial Analysis of Gene Expression (SAGE)**
- **Rapid Analysis of Gene Expression (RAGE)**
- **RT-PCR (real-time PCR)**
- **Northern/Southern Blotting**
- **DNA Microarrays or Gene Chips**

Molecular genetics

تنظيم التعبير الجيني Regulation of gene expression

يعد تنظيم التعبير الجيني (تنظيم بناء الـ RNA) أساسياً في حفظ التكامل الوظيفي للخلية، الذي يسمح للخلية بالتحكم ببنيتها و وظيفتها، حيث أنه يُشَكّل أساس عمل التمايز الخلوي، التشكل الحيوي، فضلاً عن قدرة الكائن الحي على التكيف ، وإن كمية البروتين التي تعبر عنها الخلية تعتمد على طبيعة النسيج ومرحلة التطور العضوية والحالة الفسيولوجية للخلية.

إن الهدف من

تنظيم التعبير الجيني والسيطرة عليه هو للتأكد من أن البروتينات المصنوعة هي صحيحة وتوافق حاجة الخلية الفعلية وأين ومتى تكون الحاجة الى تصنيعها من خلال توليف الحوامض الأمينية (تصنيع البروتين) الخاصة بهذا الجين أو ذاك، لأن التحكم في التوقيت والموقع وكمية التعبير الجيني يمكن أن يكون له تأثير عميق على وظائف الجين في الخلية أو في الكائن متعدد الخلايا.

إن عملية التنظيم هذه تحدث بطرائق عدة منها التنظيم الموجب والتنظيم السالب، إذ انه يحدث في بدائية النواة عند بدء إستنساخ mRNA، أما في خلايا حقيقية النواة فإن هناك اكثر من ميكانيكية لعملية تنظيم نسخ mRNA لأنه اكثر تعقيداً، وعلى الرغم من ذلك فان تنظيم عملية الإستنساخ في حقيقية وبدائية النواة يحدث من خلال ارتباط بروتينات معينة مع تسلسل معين على شريط DNA ما ينتج عنه زيادة في معدل الإستنساخ او نقصاناً فيه.

في الخلايا حقيقية النواة فان هناك ميكانيكية للإستنساخ تكون متخصصة بنوع الخلايا، ويتحقق ذلك من خلال المعالجة الاختيارية او البديلة لشريط mRNA الأولي غير الناضج وتكوين اشرطة مختلفة من mRNA وبالتالي ترجمته الى بروتينات مختلفة خاصة بوظيفة تلك الخلية.

تعد العملية التي يتم فيها بناء الـ RNA من أحد شريطي الـ DNA إستنساخ القالب DNA ، وتسمى هده العملية بـ الإستنساخ (النسخ) Transcription.

تتضمن عملية بناء البروتين عمليتين أساسيتين، هما :

أولاً. عملية نسخ (إستنساخ) من DNA إلى mRNA ، وإستنساخ الـ RNA تتضمن ثلاثة مراحل هي : 1- البدء. 2- الإستطالة. 3- الإنهاء.

ثانياً. عملية الترجمة Translation من mRNA إلى بروتين.

هي ترجمة المعلومات الموجودة في شريط mRNA من لغة القواعد النيتروجينية إلى احماض أمينية من أجل بناء بروتين (وتكوين الصفة).

فالبروتينات هي عبارة عن تسلسل من الأحماض الأمينية Amino acids (كل حمض أميني يحتوي على مجموعتين فعالة، هما مجموعة الكربوكسيل COOH – ، ومجموعة الأمين– NH3) ترتبط معاً عن طريق روابط ببتيدية.

Molecular genetics

إن التركيب البنائي الأولي للبروتين هو تسلسل من الأحماض الأمينية ولكن الإلتفاف والانثناء لمتعدد الببتيد يكوّن البروتين الوظيفي في الخلية.

تلعب البروتينات دوراً هاماً كمواد بنائية مثل بروتينات الغشاء البلازمي أو كمواد محفزة كالإنزيمات والهرمونات أو مواد مناعية مثل الأجسام المضادة.

- لماذا لا يتم إنتاج البروتين في حالة إستبدال الثايمين باليوراسيل في شريط mRNA ؟

لان أنزيم RNA polymerase لا يستطيع تمييز قاعدة الثايمين لأنه لا يملك ألفة للارتباط مع الثايمين والتي هي من اختصاص إنزيم البلمرة DNA polymerase الذي لديه ألفة عالية للارتباط مع الثايمين، وبالتالي لا يمكن بدء عملية الترجمة Translation، فضلا عن الـ-Anti codon لشفرة البداية start codon هو UAC، واذا ما أُستبدل الـU بالـT فإن عملية الترجمة لا تبدأ بسبب القراءة الخاطئة من قبل الـ Anti-codon

تتطلب عملية الترجمة لكي تتم ما يلي :

1- جزيئات mRNA حاملة للشفرة.

2- جزيئات tRNA حاملة للاحماض الأمينية.

3- الرايبوسومات والتي تشكل موقع بناء البروتين .

مراحل إستنساخ (نسخ) الـ RNA الثلاثة

أولاً. البدء

1- يتم التعرف على بداية الجين المراد نسخه عن طريق انزيم بلمرة RNA في منطقة المحفز (Promoterهو عبارة عن تتابع معين من النوكليوتيدات يرتبط به انزيم بلمرة RNAمن اجل بداية عملية النسخ).

Molecular genetics

2- يرتبط أنزيم بلمرة RNA بمنطقة المحفز.

3- يتم فتح سلسلتي DNAالملتفتين في موضع إرتباط أنزيم بلمرة RNA

4- يبدأ الأنزيم عملية النسخ لإحدى السلسلتين والتي تعمل كقالب، فينتج كمية من mRNA من الجين الواحد حسب حاجة الخلية.

ثانياً. الاستطالة

1- يبدأ انزيم بلمرة RNA بإضافة نوكليوتيدات للسلسلة النامية من mRNA بحيث تكون متممة للنوكليوتيدات على قالب .DNA

2- بمجرد مرور الأنزيم تعود سلسلتي DNA للالتفاف ثانية.

ثالثاً. الإنهاء Termination

منطقة الإنهاء هي عبارة عن تتابع معين من النوكليوتيدات ينفصل عندها أنزيم بلمرة RNA وعندها تنتهي عملية النسخ.

فعند وصول الانزيم إلى منطقة الانهاء: 1- ينفصل الأنزيم.

2- تنفصل سلسلة mRNA الجديدة التي تم تصنيعها عن قالب DNA

إن المقصود بسلسلة mRNA الأولية هي السلسلة التي تنتج من عملية النسخ والتي لم يحدث لها معالجة.

أما سلسلة mRNA الناضجة فهي سلسلة mRNA والتي تمت معالجتها عن طريق إزالة الانترونات وإضافة القبعة Cap5 والذيل الأديني.

معالجة وتجهيز الـ mRNA لعملية الإستنساخ

إن تجهيز mRNA يختلف اختلافا كبيرا بين حقيقيات النوى، وبدائية النوى (البكتيريا، والفطريات)، إذ إن mRNA في غير حقيقية النواة يكون جاهزاً عند النسخ ولا يحتاج إلى معالجة، إلا في حالات نادرة، أما في الكائنات حقيقية النواة فهناك mRNA الأولي ، الذي يتطلب معالجة شاملة.

وهناك ثلاثة خطوات لتجهيز الـ mRNA لعملية الإستنساخ :

Molecular genetics

1- إزالة الإنترونات. 2- إضافة القبعة. 3- إضافة ذيل أديني.

أولاً. إزالة الإنترونات: يتكون mRNA الأولي من سلسلة تحتوي على إنترونات وإكسونات. فالإكسون: هي المنطقة التي يتم ترجمتها إلى أحماض أمينية، وتعتبر الناضجة فقط إكسونات، أما الانترون: فهي الأجزاء التي يتم إزالتها والتي لا تترجم (دورها تنظيمي فقط).

ثانياً. إضافة القبعة Cap5 : هو إضافة نوكليوتيد الكوانين G بحيث يرتبط مع النوكليوتيد الأول في شريط mRNAعن طريق رابطة ثلاثية الفوسفات تعرف بالقبعة على الطرف الأول من الشريط.

وتكمن أهمية القبعة في:

1- ثبات وحماية mRNA من التحلل في السيتوبلازم.

2- لها دور مهم في عملية الترجمة.

3- تشكل إشارة لارتباط mRNA بالرايبوسوم.

ثالثاً. إضافة ذيل أدينين Polyadenyl ويُعرف بأنه إضافة وحدات متكررة (50 -250) وحدة من نوكليوتيد الأدينين.

وأهميته تكمن في أنه :

1- يساعد mRNA في خروجه من الغلاف النووي .

2- يساعد في ارتباطه بالرايبوسوم.

3- يعمل على ثبات mRNA وعدم تحطمه في السيتوبلازم.

أهمية الانترونات في الخلية

1- لها دور مهم في التحكم في نسخ بعض الجينات عن طريق توفير تتابع معين من النوكليوتيدات تؤثر على عمل أنزيمات بلمرة RNA Polymerase

2- لها دور مهم في معالجة mRNA الأولي لبعض الجينات بطرق مختلفة بعد النسخ أي انتاج جزيئات من mRNAالناضج من نفس سلسلة mRNA الأولي .

تزيد الانترونات من احتمال حدوث عملية العبور بين الجينات، من خلال تزويد مواقع اكبر للعبور دون المساس بالاكسونات فهي تزيد من احتمالية تكوين تراكيب جينية جديدة بين أليلين في الجين.

Molecular genetics

يتم فتح الأشرطة للمنطقة المراد استنتساخها او الجين لإنتاج او بناء جزيئات RNA الذي يتحول بعد عدة عمليات في الخلايا حقيقية النواة الى mRNA ويستعمل كقالب لصف الحوامض الامينية.

ان جزيئات mRNA تكون أطول قليلا من الجينات التي يعبر عنها الى حوامض أمينية وذلك لانها تحوي على جهة اليسار على قطع بدء ألإستنساخ (بالمحفز أو المثير Promoter)، كما تحتوي على مناطق في جهة اليمين بعد شفرة التوقف.

في حالة الخلايا حقيقية النواة تكون نتيجة الإستنساخ هي: hnRNA (heterogeneous nuclear RNA) الحاوي على الانترونات التي يجب ان تزال والتي لا يمكن لمكائن الترجمة قراءتها وتحدث عملية الإزالة في النواة ثم تصدر mRNA الناضجة (Mature) الى السايتوبلازم.

الإنزيم الأساسي المسؤول عن عملية الإستنساخ هو RNA polymerase

أو DNA dependent RNA polymerase هو إنزيم مسؤول عن بلمرة الـ Ribonucleotides إلى تسلسل مكمل للشريط المشفر في الجين.

يرتبط الإنزيم بمناطق متخصصة وهي المحفزات Promoters، الواقعة على الشريط المشفر.

يتبع هذا بدء تخليق الـ RNA عند نقطة بدء الإستنساخ transcription starting point ، وتستمر العملية حتى يتم الوصول إلى تسلسل الانتهاء termination sequence.

تعرف وحدة الإستنساخ transcription unit بأنها المنطقة التي تمتد بين المحفزات Promoters والمنهيات Terminator.

ان الـ RNA الناتج، والذي يخلق بالاتجاه من 5 إلى 3 يدعى بالمستنسخ الأولي primary transcript .

وفي الكائنات بدائية النواة، فان هذا المنتج الأولي يمثل ناتج عدة جينات، بينما في خلايا حقيقية النواة، فانه يمثل عادة ناتج جين مفرد.

Molecular genetics

إنزيم الـــ RNA polymerase الذي يقوم بعملية نسخ RNA من جزيء DNA، وسمي بإنزيم البلمرة لأنه يقوم بإنتاج جزيئات ضخمة من جزيئات أصغر تعرف بـ منومرات .

إنزيم الـ RNA polymerase في بدائية النواة:

ان إنزيم RNA polymerase في بكتريا القولون يحفّز على تصنيع كل أنواع الـ RNA الثلاثة، يستثنى من ذلك البادئ RNA primer، والذي يرتبط عند النهاية 5′ لقطع أوكازاكي حيث إنه يُصَنَّع بواسطة نوع مختلف من إنزيمات RNA polymerases يسمى

RNA Primase (الذي يسمى الانزيم التمهيدي التكميلي لقالب الـDNA اي ssDNA)

لا يوجد هنالك أنواع متعددة من إنزيمات RNA polymerases على غرار إنزيمات DNA polymerases وإنما هنالك نوعية واحدة من هذا الإنزيم دوره هو تصنيع أنواع الـ RNA الثلاثة.

يتألف إنزيم بوليمريز RNA الكامل RNA polymerase holoenzymeمن خمسة وحدات ثانوية تمكن Roger D. Kornberg من تشخيصها في *E. Coli* ونال بسببها جائزة نوبل في الكيمياء:

هذه الوحدات الفرعية للإنزيم يتم الاستعانة بها في عمليات التحفيز.

فهو يتكون من : إثنين من العامل ألفا (2α) وعامل واحد من العامل بيتا (β) وعامل واحد من العامل بيتا برايم (β') { ان كل من وحدتي بيتا β ′β و ββهما وحدتان كبيرتان، أما وحدتي ألفا αα فهما وحدتان متماثلتان}وعامل واحد من العامل أوميكًا (ω)، و وحدة سكما σ .subunit

ويطلق على الوحدات التي تؤلف الإنزيم الصميمي Core enzyme بالوحدات الدائمة Permanent subunits والتي يحتاجها الإنزيم ولا يستغني عنها في كل مراحل الإستنساخ

Molecular genetics

الثلاثة (مرحلة البدء والإطالة والنهاية)، وهذا يختلف بالنسبة للعامل σ حيث يحتاجه الإنزيم في مرحلة البدء فقط.

ولو إن الدور الدقيق للعديد من وحدات الإنزيم الصميمي هو غير معروف، ولكن وحدة بيتا برايم β´ Subunit ذات الشحنة الموجبة هي عبارة عن متعدد ببتيدي polypeptide يُحتَمل أنه يدخل في الارتباط الحاصل مع الـ DNA.

وحدة بيتا β subunit : هو موقع الارتباط بالعديد من مثبطات الإستنساخ transcription inhibitors و يعتقد بأنه يحتوي على أغلب أو كل المواقع الفعالة active sitesلتكوين آصرة الفوسفات ثنائية الأستر Phosphodiester bound، ولها القابلية على تكوين ارتباط عرضي مع الـ DNA.

ان كل من وحدتي β و β´ يؤلفان مركز المحفز Catalytic center، والذي يأخذ على عاتقه انشطار شريطي الـ DNA.

وحدتي ألفا α subunit: تكون ضرورية لإعادة تركيب الإنزيم من وحدات منفصلة، أي أنها ضرورية لتحمي الإنزيم الصميمي Core enzyme .

ومن المقترح بأن هذه الوحدة تلعب دورا في تمييز البروموتر Promoter، وذلك لأنه عندما يفسد العاثي T4 خلايا بكتريا القولون، فان وحدة α تتحور من قبل العاثي، ان هذا التحوير يؤدي إلى اختزال ألفة إنزيم بكتريا القولون في تمييز الـ Promoter. وبهذه الطريقة، خدع العاثي T4 بكتريا القولون، (فبدلاً من أن يرتبط محفز بكتريا القولون بإنزيم RNA polymerase البكتيري ليخلق من الجينات البكتيرية، فانه ارتبط بإنزيم T4 RNA polymerase وخلّق الجينات الفيروسية).

وبالإضافة إلى ذلك، تمثل وحدة α الثانوية موقعاً للاتصال بعدد من عوامل الإستنساخ Transcription factors الضرورية لحدوث عملية الإستنساخ .

وحدة سكما σ subunit: لكي نتعرف على وظيفة هذه الوحدة لابد من معرفة ماذا يحدث عند غيابها، يتميز الإنزيم الصميمي الذي لا يحتوي على وحدة سكما بإمكانيته الكاملة على تحفيز بلمرة النوكليوسيدات ثلاثية الفوسفات إلى الـ RNA، وهذا يعني ان الإنزيم لا يحتاج الى هذه الوحدة في تفاعلاته التحفيزية الأساسية Catalytic activity .

Molecular genetics

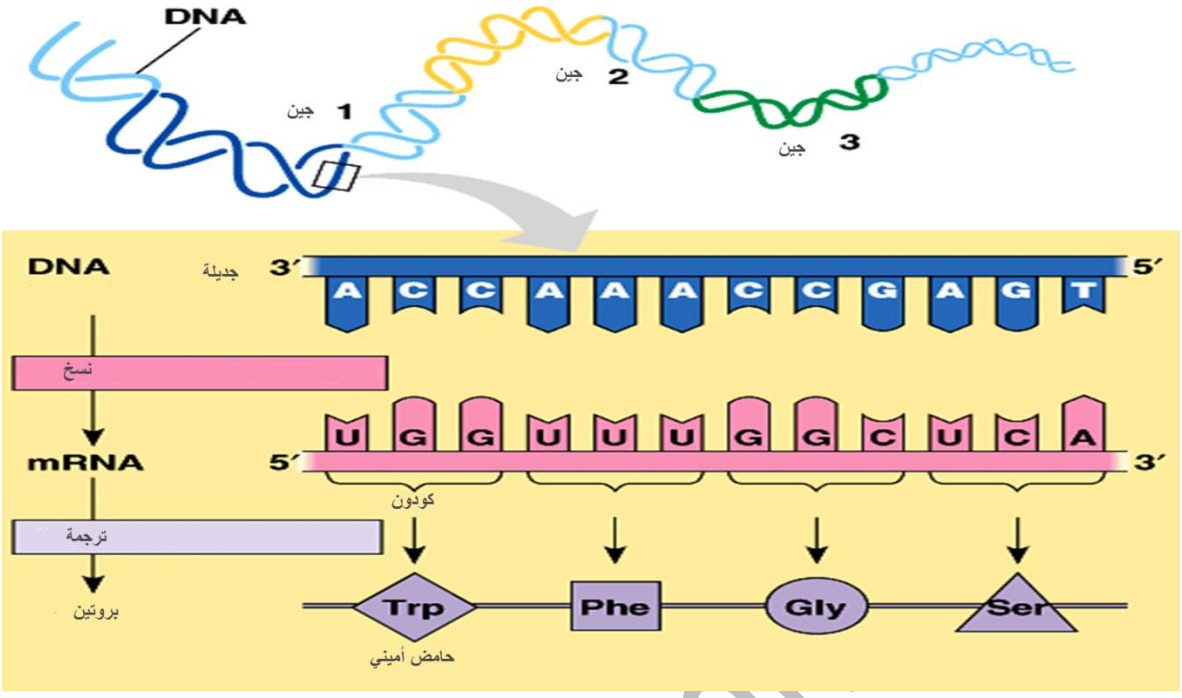
ولكنه و على الرغم من قدرة الإنزيم الصميمي على الارتباط بالـ DNA، إلا ان هذا الارتباط غير متخصص، أي أنه ليس للإنزيم القدرة على تمييز التسلسلات المتخصصة التي يبدأ عندها الإستنساخ، ولقد تم معرفة ذلك عندما أزيلت وحدة سكما الثانوية من إنزيم RNA polymerase، إذ لوحظ بأن هذا الإنزيم يرتبط بشكل غير متخصص بتسلسلات الـ DNA وبألفة واطئة Low affinity، ولهذا السبب يعد عامل سكما ضروري لتشخيص المناطق الصحيحة لبدء الإستنساخ، وهي مناطق الـ Promoter التي يعجز الإنزيم الصميمي عن تشخيصها .

فعند ارتباط وحدة سكما الثانوية بالإنزيم الصميمي فإنها تعمل على توجيه الإنزيم الصميمي إلى البروموتر، وذلك بواسطة الارتباط بشكل متخصص بتسلسلات البروموتر 10-و 35-، وهذا يؤدي إلى بدء عملية الإستنساخ عند بداية الجين.

إذن، فان عوامل الإستنساخ Transcription factors (هي بروتينات ترتبط بتسلسلات منظمه Regulatory sequence على شريط DNA، فضلاً عن إمكانية ارتباطها بانزيم بلمرة RNA وبعوامل إستنساخ اخرى، تملك على الاقل حقلين للارتباط Binding domains احدهما يدعى حقل الارتباط بالحمض النووي DNA –binding domain والاخر يدعى حقل التنشيط Activator domain) في حقيقية النواة تساهم في تكوين معقد البدأ من خلال ارتباطها بالمثير والذي يسمح بارتباط انزيم بلمرة الحمض الريبوزي RNA polymerase II، ولكن هناك عوامل إستنساخ متخصصة (Specific transcription factors) ترتبط بالـ Enhancer او Silencer وهي تسلسلات معينة من القواعد النيتروجينية على شريط DNA تعمل على إحداث تحوير في تكوين معقد البدأ، ترتبط بها عوامل الإستنساخ الخاصه والتي من خلالها يتم تنظيم عملية الإستنساخ ، إذ تعمل Enhancerعلى زيادة معدل الإستنساخ الذي يكون اما في اعلى 5\ او في اسفل 3\ من منطقة المحفز، في حين أن تسلسل Silencer يعمل على تثبيط عملية الإستنساخ .

Molecular genetics

من الـ DNA إلى البروتين



Molecular ge

محاضرة رقم 7 التعبير الجيني: الجزء الثاني

التعبير الجيني Gene expression

ثانيا. الترجمة Translation

مراحل عملية الترجمة

أولا. مرحلة بدء السلسلة، ويتم فيها ما يلي:

1- يرتبط mRNA بالوحدة البنائية الصغيرة على الرايبوسوم، حيث يكون كودون البدء (AUG) في موقع (P)، بعد ذلك يرتبط tRNA الحامل للميثونين على كودون البدء (يعتبر الميثونين إشارة بدء عملية الترجمة).

2- ترتبط الوحدتين البنائيتين للرايبوسوم معاً.

ويتم تجميع الوحدتين البنائيتين معاً كالتالي:

1- يرتبط mRNA بالوحدة البنائية الصغيرة على الرايبوسوم، حيث يكون كودون البدء (AUG) في موقع (P) عن طريق إشارة خاصة من نيوكليوتيدات موجودة في مقدمة جزيء mRNA ثم بعد ذلك يرتبط tRNA الحامل للميثونين على كودون البدء.

2- ترتبط الوحدة البنائية الكبيرة بالوحدة البنائية الصغيرة.

3- في هذه العملية يكون tRNAفي موقع Pوموقع A فارغ ومستعد لاستقبال جزيء tRNA جديد.

عند بدء عملية الترجمة للقواعد النيتروجينية في الرايبوسوم فان الاخير يرتبط مع الـ mRNA

حاملاً معه الحامض الأميني الأول الخاص بالكودون الأول للـ mRNA.

tRNA ثم يصل الـ ويرتبط الأنتيكودون للـ tRNA الحامل للحامض الأميني مع الكودون الملائم له في الـ mRNA.

ثانياً. مرحلة الاستطالة

- حيث يتم فيها إضافة حامض أميني الواحد تلو الأخر في ثلاث خطوات:

1- تعريف الكودون.

2- تكوين الرابطة الببتيدية، من خلال:

أ- أن يعمل الـحمض الرايبوزي الرايبوسومي rRNA الموجود في الوحدة البنائية الكبيرة

Molecular genetics

كأنزيم على تكوين الرابطة الببتيدية بين الحمض الأميني في موقع P والحمض الأميني الجديد في موقع A .

ب- ثم ينفصل tRNA في موقع P عن الحمض الأميني الحامل له.

3- تغيير موقع الرايبوسوم، وتتم هذه العملية حسب الخطوات التالية:

أ- يتحرك الرايبوسوم بمقدار كودون واحد.

ب- ينتقل tRNA من موقع Aالى موقع .P

ج- بسبب هذا التحرك يتغير موقع tRNA الحامل لثنائي الببتيد من موقع Aإلى موقع P

د- يصبح موقع A فارغاً ومستعداً لاستقبال جزيء جديد من tRNA

هـ - ينتقل جزيء tRNA الذي كان في موقع P الى موقع E ثم يغادر الرايبوسوم.

س/ كيف ينتقل شريط mRNA من موقع P إلى موقع E؟

عن طريق ارتباط الكودون المضاد الموجود في tRNA مع الكودون المتمم له في شريط mRNAبروابط هيدروجينية وعند تحرك tRNAمن موقع Aإلى موقع Pفإن شريط mRNAيتحرك من موقعه.

- تستغرق عملية الاستطالة (الدورة) أقل من 10 ثواني وتتكرر هذه العملية كلما اضيف حمض أميني جديد للسلسلة حتى يكتمل بناء متعدد الببتيد.

-tRNA آخر يصل إلى الـ mRNA حاملاً معه حامض أميني آخر.

- يرتبط الأنتيكودون الخاص بهذا الـ tRNA بالكودون الملائم له في الـ mRNA الذي يلي الكودون الأول.

- تتكوّن آصرة ببتيدية بين هذين الحامضين الأمينيّين ليكونان بداية السلسلة الببتيديّة.

-ينفصل الـ tRNA الأوّل عن الحامض الأميني الذي يحمله وعن الـ mRNA .

يتحرّك الرايبوسوم على طول الـ mRNA إلى الكودون التالي.

جزيء آخر من الـ tRNA يتحرك حاملاً معه حامض أميني آخر ليرتبط مع الكودون التالي الخاص فيه.

تتكوّن آصرة ببتيدية بين الحامض الأميني الثاني والثالث.

Molecular genetics

مرحلة الانهاء

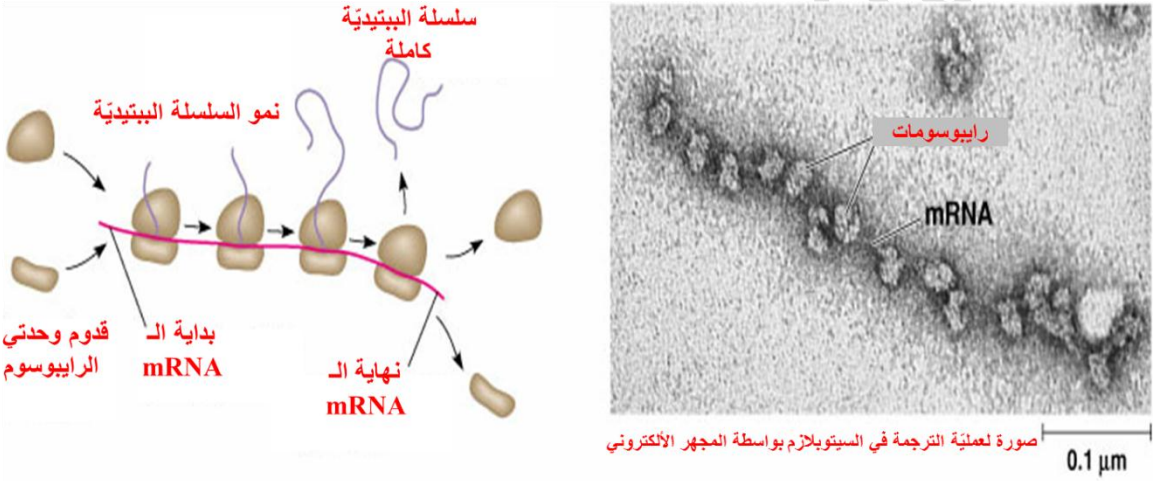
1- تستمر عملية الترجمة حتى يصل احد كودونات الايقاف في mRNAالى موقع Aفي الرايبوسوم.

2- يرتبط عامل بروتيني خاص مع كودون الايقاف في موقع A بدلا من tRNA

3- تنفصل سلسلة متعدد الببتيد عن tRNA في موقع P

4- تنفصل باقي الأجزاء عن بعضها البعض (الوحدتان البنائيتان للرايبوسوم و mRNA والعامل البروتيني).

تستمر العملية ، والسلسلة الببتيديّة تصبح أطول وأطول. وتستمر العمليّة حتى تصل إلى كودون النهاية لتتوقف عنده وبذلك تكتمل السلسلة الببتيديّة.



الصورة اعلاه لعملية الترجمة Translation

ما هي الخطوات التي تمر بها سلسلة متعدد الببتيد حتى تصبح بروتينا فعالاً؟

1- الالتفاف: عبارة عن التفاف سلسلة متعدد الببتيد حول نفسها من أجل أن تعطي شكلا خاصاً بالوظيفة الطبيعية لهذا البروتين في الخلية.

2- الإضافة: أحيانا يتم إضافة سكر أو دهون بطريقة كيميائية كما هو الحال في البروتينات السكرية الداخلة في تركيب الغشاء الخلوي (البلازمي).

3- المعالجة: هي أن تقوم بعض الأنزيمات بإضافة أو إزالة حمض أميني أو أكثر من أحد طرفي السلسلة، وفي أحيان أخرى يتم تجزئة سلسلة متعدد الببتيد الناتجة إلى قطعتين أو اكثر بواسطة الأنزيمات.

الببتيد ((Peptideهو سلسلة أحماض أمينية.

الرابطة الببتيدية هي رابطة كيميائية تنشأ بين الأحماض الأمينية لتكوين البروتينات المختلفة وهي من الروابط القوية في البناء البروتيني.

كيف تؤثر الطفرات في عملية النسخ والترجمة؟

نعرف أن الطفرة هي عبارة عن تغير مفاجئ في تركيب DNAوهذا يؤدي إلى حدوث خلل في عملية النسخ والترجمة.

تؤثر الطفرات على عملية النسخ وبالتالي يؤدي إلى تغير في ترتيب وتسلسل القواعد النيتروجينية في سلسلة mRNA الناضجة ما يؤدي إلى خلل في عملية الترجمة ما سيؤثر في البروتينات الناتجة وبالتالي إلى خلل في وظيفة البروتين، إذا حدثت الطفرة في منطقة الاكسون.

أذ تحصل الطفرة على أكثر من مستوى ومنها:

1- تغير في تسلسل القواعد النيتروجينية في الجينات وهذا يؤثر على عملية نسخ mRNAما يؤدي الى تغير في كمية البروتين الناتج كون ان كمية mRNA الناتجة ستكون غير طبيعية، فضلاً عن تغير في تسلسل mRNA الناضج وهذا يؤثر على:
ترجمة mRNA بواسطة الرايبوسومات الذي يؤدي الى تغير تركيب البروتين الناتج.

ما هي الطفرات المرتبطة بتغير تركيب البروتين الناتج؟

أ- طفرة الاستبدال.

ب - طفرات الحذف.

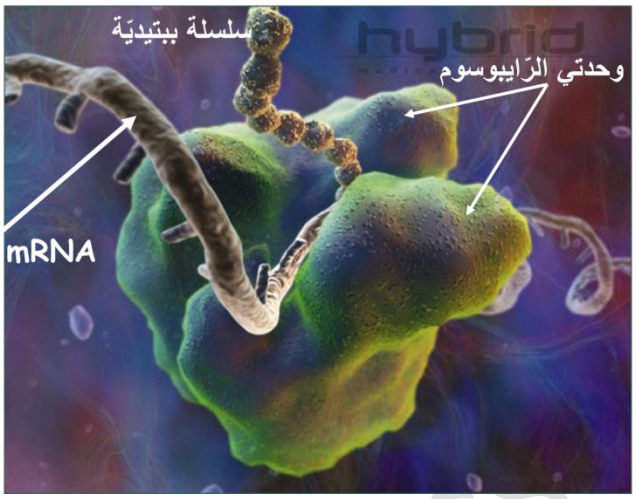
أ- طفرة الاستبدال Substitution mutation

هي استبدال زوج من النيوكليوتيدات في جزيء DNAوهذا يؤدي إلى حدوث تغيير في تركيب mRNAوبالتالي خلل في عملية الترجمة.

ما هي حالات طفرات الاستبدال؟

أولاً. إستبدال حمض أميني واحد فقط وهذه تكون تأثيرها ضمن الطفرات المتوسطة وهذا النوع يتفاوت تأثيره حسب موقع الحمض ولها 3 حالات وهي:
أ- إذا كان الحمض الأميني المستبدل قريبا من أو في موقع مهم لعمل البروتين مثل الموقع النشط **للأنزيم فإن فعالية هذا البروتين تقل أو تفقد كلياً.**

Molecular genetics



عمليّة التّرجمة تتم في الرّايبوسوم

مناطق التشفير Coding regions

- ❑ كل ثلاثية متتالية من النوكليوتيدات في الـ mRNA يسمى كودون.
- ❑ بما أن عدد القواعد النيتروجينيّة المكوّنة للـ mRNA

هو 4 لذلك عدد الكودونات يكون 64 كودون (64 = 43).

- ❑ بما أن عدد الأحماض الأمينيّة في الطبيعة هو 20 حامضاً (بالإضافة إلى **كودون لبداية** عمليّة تركيب البروتين **وكودون لنهاية** عمليّة تركيب البروتين)، هذا يعني أن لكل حامض أميني يوجد أكثر من كودون واحد.

كل كودون في الـ mRNA يرتبط مع الأنتيكودون الملائم له في الـ tRNA

تتكون مناطق التشفير (الترميز) من الشفرات الجينية (الكودونات Codons)، والتي يتم فك الشفرة وترجمتها الى البروتينات في الرايبوسومات (تمثل كودوناً واحداً في حقيقية النواة إلى عدة كودونات في بدائية النواة).

تبدأ مناطق التشفير مع شفرة (كودون) البداية والنهاية بالاضافة الى شفرة التوقف. بشكل عام، شفرة البداية تكون ثلاثية هي AUG وشفرة التوقف هي UAA، UAG، UGA . إن مناطق الترميز تميل إلى أن تستقر من قبل أزواج قاعدية داخلية، وهذا يعيق تحطيمها.

ب- طفرات الازاحة Frame shift mutation

هي طفرات ناتجة عن اضافة أو حذف بعض نيوكليوتيدات سلسلة DNA ما، وفي كلتا الحالتين ستتم عمليتا النسخ والترجمة بشكل خاطئ بسبب حدوث تغير في اطار القراءة.

حالات طفرات الازاحة

1- إضافة نيوكليوتيد واحد او اثنان حيث يكون تاثيرها كبيراً وهذا يؤدي إلى حدوث تغيير في البروتين بشكل كلي.

2- قد تؤدي بعض الطفرات إلى توقف عملية بناء البروتين وذلك عندما يصبح أحد الكودونات كودون إيقاف وفي هذه الحالات يصبح البروتين غيرفعال أو مفقود.

- تعتبر طفرات الازاحة أخطر من طفرات الاستبدال؟ وذلك لان طفرات الاستبدال يتم فيها فقط استبدال كودون واحد بينما يتم تغيير كل الكودونات التي تلي مكان حدوث هذه طفرة الإزاحة.

المناطق غير المترجمة Untranslated region

عادة ما يكون mRNA مُشفَراً لإنتاج بروتين ما، وعندما يقوم الرايبوسوم بترجمة تسلسل الأحماض الأمينية عن طريق نقل سلسلة متعدد الببتيد بواسطة نسخ تسلسل القواعد النيتروجينية فإنه سينتج البروتين المعني، ولكن هناك بعض أجزاء النوكليتيدات في الـ mRNA غير مترجمة وبالتالي فهي لا تنتج بروتينًا، لذلك سميت بالمناطق غير المترجمة وهي 5 ‘UTR و3’ UTR (UTRs 5′, 3′= Untranslated region) التي يمكن تعريفها على أنها مناطق من الحمض الريبوزيmRNA تقع قبل شفرة البداية وبعد شفرة التوقف التي لا تترجم، إذ المنطقة المشفرة في الـ mRNA محددة بالنهايتين غير المترجمتين وهما منطقة البدء′5 UTRs (التي يصل طولها إلى عدة مئات من النوكليوتيدات) والمنطقة الطرفية النهائية ′3 UTRs (التي قد يصل طولها الى اكثر من 1000 نيوكليوتيدة) اللتان تترجمان تتابعات القواعد النيتروجينية على mRNA ولكنها لا تشفر تتابع من الأحماض الأمينية.

وتشارك هذه المناطق غير المترجمة في عدة وظائف بشكل مباشر وغير مباشر في التعبير الجيني وإستقرار mRNA ، وتحديد موقعه الى جانب تحديد كفاءة الترجمة، إذ ان قدرة UTR لأداء هذه المهام تعتمد على تسلسل UTR في الـ mRNAs .

إن كفاءة الترجمة ، بما في ذلك التثبيط الكلي للترجمة، يمكن أن يُسيطر عليها من قبل UTRs، كما ان البروتينات التي ترتبط بـ ′5 UTRs أو ′3 UTRs قد تؤثر على الترجمة من خلال التأثير على قدرة الرايبوسوم لربط mRNA.

ففي بعض حالات العنصر SECIS، تكون أهدافاً لربط البروتينات، كما في الـ Riboswitches الذي يقوم بربط الجزيئات الصغيرة بشكل مباشر، والذي يغير هيكلته لتعديل مستويات النسخ أو الترجمة وبالتالي فإن الـ mRNA ينظم نفسه.

وقد ثبت أن أنواعاً من mRNA قصيرة العمر ذات التسلسل AUUUA بتكرار مترادف في منطقة 3′ UTRs وبعد نقل هذا التسلسل الى منطقة 3′ UTRs لجزئ mRNA آخر أكثر ثباتاً، قد تحوّل الى جزئ أقل ثباتاً وأقصر عمراً.

ب- إذا كان الحمض الأميني المستبدل ليس في موقع مهم لعمل البروتين فإما أن يكون تأثيره قليلاً أو لا يؤثر على فعالية هذا البروتين.

ج- إذا كان الحمض الأميني المستبدل مشابه للحمض الأميني المضاف، أي أن صفاته الكيميائية مشابهة له فعندها سيكون التاثير قليل.

ثانياً. إذا تم استبدال قاعدة نيتروجينية بأخرى فأصبح الكودون (الشفرة) كودون إيقاف بدلا من الحمض الأميني، ففي هذه الحالة سيتم فقد باقي سلسلة mRNA ويكون التأثير كبيراً وتسمى Nonsense.

ثالثا. وجود طفرات عديمة التأثير، بسبب إعطاء القاعدة النيتروجينية المستبدلة له نفس الحمض الأميني الذي يتميز بأن له اكثر من شفرة مثل البرولين.

Molecular genetics

الشفرة الوراثية Codon

إن المحتوى الوراثي للكائن الحي يدعى بالجينوم Genome وهو اما ان يكون DNA في حقيقية النواة مثلاً، أو أن يكون RNA كما في حالة بعض الفايروسات والبكتريا، وان جزء الجينوم الذي يشفر للبروتين هو الجين (على الكروموسوم) الذي يتركب من مجموعة من وحدات ثلاثية النيوكليوتيدات Tri-nucleotide unit تدعى بالشفرات الوراثية Genetic code، التي تحدد نوع وتسلسل الأحماض الأمينية في البروتين، إذ ان كل شفرة وراثية تتخصص بحمض أميني واحد مع وجود بعض الاستثناءات.

في أواسط الستينات، اكتشف عالم الفلك "جورج كامو" أن المعلومات الوراثية تكون مرتبة بشكل منظم سمي "شفرة وراثية Genetic Code" و نال عليها جائزة نوبل، ومن ثم تم التعرف على الشفرات الخاصة بكل حمض أميني

إن الشفرة الوراثية (Code أو Codon) هي تسلسل معلومات النظام الجيني، أو الترتيب النيوكليوتيدي في جزيئ mRNA الذي يذهب الى الرايبوسوم حيث يُترجم الى تتابعات للأحماض الأمينية في سلسلة متعدد الببتيد الذي يكوّن بروتيناً ما إستجابة لحاجة الخلية وتفاعلاتها، بمعنى آخر فإن الشفرة الوراثية هي ثلاثية (تسلل لثلاثة قواعد نيتروجينية للحمض الرايبوزي النووي المراسل) التي يتم بواسطتها بناء سلسلة من الببتيدات (وحدة البناء الأساسية في البروتينات)، فهي بذلك تُمكِّن من تحويل تسلسل الحمض النووي DNA sequences إلى بروتينات عن طريق مقابلة كل ثلاثية نيوكليوتيدية بحمض أميني واحد.

سابقاً، كان المعروف عن الشفرة الوراثية، أن عدد الأحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة عشرون حامضا، وعدد القواعد النيتروجينية الداخلة في تركيب جميع النيوكليوتيدات أربعة وهي (T،A،C،G)، وللحصول علي لغة وراثية سليمة لابد من أن تشكل حروف هذه اللغة (القواعد النيتروجينية الأربعة) عشرين كلمة (الأحماض الأمينية) وبالتالي الكلمة الوراثية (الحمض الأميني)، آما الآن فيتكون من حرف أو حرفين أو ثلاثة حروف أو أكثر، ومنطقياً من المستحيل أن تتكون الكلمة الوراثية من حرف واحد (قاعدة نيتروجينية واحدة) لأن معنى ذلك ان عدد الأحماض الامينية هي أربعة فقط، وهذا منافٍ للواقع، إذ إن عددها هو عشرون، فلو كانت اللغة ثنائية الحروف $4^2=16$ حمض أميني وهو أقل من العدد المطلوب، إذن ستتكون الشفرة الوراثية من ثلاثة أحرف $4^3 =64$ حمض أميني، أي أكثر من العدد الموجود فعلا من الأحماض الأمينية، ورغم أن هذا العدد يزيد عن العدد الفعلي للأحماض الأمينية الا انه يعتبر أصغر مجال نظري

Molecular genetics

لكلمة شفرة، فعندما تم الوصول الي الشفرة الخاصة بكل حامض أميني عام 1965م تأكد بعد ذلك أن هناك أكثر من شفرة لكل حامض أميني، كما ان هناك كودونات التوقف لإنهاء آلية بناء البروتين، وكودونات البداية (بدأ الترجمة)، أي انه يعطي الإشارة للنقطة التي يبدأ عندها بداية آلية جديدة لصنع بروتين جديد (صفة جديدة).

مما أظهرته دراسات الوراثة الجزيئية على الشفرة الوراثية أنها عامة أي أن جميع الكائنات الحية تشترك بنفس شفرة الأحماض الأمينية، فمثلا الحامض الأميني الكَلايسين في جميع الكائنات الحية يتواجد بشفرته المعروفة (GGA،GGC،GGU)، ويتم توزيع الجينات علي الكروموسوم بشكل متقن وليس بعشوائية، وهذا التحديد يتم بواسطة المسافات الفاصلة بين الجينات على الكروموسوم، وكما في الشكل أدناه.

	T			C			A			G		
T	TTT	Phe	F	TCT	Ser	S	TAT	Tyr	Y	TGT	Cys	C	T
	TTC	Phe	F	TCC	Ser	S	TAC	Tyr	Y	TGC	Cys	C	C
	TTA	Leu	L	TCA	Ser	S	TAA	Och	*	TGA	Opa	*	A
	TTG	Leu	L	TCG	Ser	S	TAG	Amb	*	TGG	Trp	W	G
C	CTT	Leu	L	CCT	Pro	P	CAT	His	H	CGT	Arg	R	T
	CTC	Leu	L	CCC	Pro	P	CAC	His	H	CGC	Arg	R	C
	CTA	Leu	L	CCA	Pro	P	CAA	Gln	Q	CGA	Arg	R	A
	CTG	Leu	L	CCG	Pro	P	CAG	Gln	Q	CGG	Arg	R	G
A	ATT	Ile	I	ACT	Thr	T	AAT	Asn	N	AGT	Ser	S	T
	ATC	Ile	I	ACC	Thr	T	AAC	Asn	N	AGC	Ser	S	C
	ATA	Ile	I	ACA	Thr	T	AAA	Lys	K	AGA	Arg	R	A
	ATG	Met	M	ACG	Thr	T	AAG	Lys	K	AGG	Arg	R	G
G	GTT	Val	V	GCT	Ala	A	GAT	Asp	D	GGT	Gly	G	T
	GTC	Val	V	GCC	Ala	A	GAC	Asp	D	GGC	Gly	G	C
	GTA	Val	V	GCA	Ala	A	GAA	Glu	E	GGA	Gly	G	A
	GTG	Val	V	GCG	Ala	A	GAG	Glu	E	GGG	Gly	G	G

شكل يوضح شفرة وراثية نموذجية

مناطق التشفير Coding regions

تتكون مناطق التشفير (الترميز) من الشفرات الجينية (الكودونات Codons)، والتي يتم فك الشفرة وترجمتها الى البروتينات في الرايبوسومات.

تبدأ مناطق التشفير مع شفرة (كودون) البداية والنهاية بالاضافة الى شفرة التوقف.

بشكل عام، شفرة البداية تكون ثلاثية هي AUG وشفرة التوقف هي UAA، UAG، UGA .

المناطق غير المترجمة Untranslated region

عادة ما يكون mRNA مُشفَراً لإنتاج بروتين ما، وعندما يقوم الرايبوسوم بترجمة تسلسل الأحماض الأمينية عن طريق نقل سلسلة متعدد الببتيد بواسطة نسخ تسلسل القواعد النيتروجينية فإنه سينتج البروتين المعني، ولكن هناك بعض أجزاء النيوكليتيدات في الـ mRNA غير مترجمة وبالتالي فهي لا تنتج بروتينًا، لذلك سميت بالمناطق غير المترجمة وهي 5 'UTR و3' UTR(′5 UTRs،Untranslated region =′3) التي يمكن تعريفها على أنها مناطق من الحمض الريبوزي mRNA تقع قبل شفرة البداية وبعد شفرة التوقف التي لا تترجم،

إذ المنطقة المشفرة في الـ mRNAمحددة بالنهايتين غير المترجمتين وهما منطقة البدء UTRs ′5(التي يصل طولها إلى عدة مئات من النيوكليوتيدات) والمنطقة الطرفية النهائية ′3 UTRs (التي قد يصل طولها الى اكثر من 1000 نيوكليوتيدة) اللتان تترجمان تتابعات القواعد النيتروجينية على mRNA ولكنها لا تشفر تتابع من الأحماض الأمينية.

وتشارك هذه المناطق غير المترجمة في عدة وظائف بشكل مباشر وغير مباشر في التعبير الجيني وإستقرار mRNA ، وتحديد موقعه الى جانب تحديد كفاءة الترجمة، إذ ان قدرة UTR لأداء هذه المهام تعتمد على تسلسل UTR في الـ mRNAs .

خصائص الشفرة الوراثية

يوجد العديد من الخصائص التي تميّز الشفرة الوراثيّة، وأهمّها AUG

1- تعد الشفرة الورائية غير متشابكة أو متقطعة، فكلّ شيفرة تشكّل مجموعات مستقلة من 3 قواعد، ولا يوجد تشابك بينها، كما يمكن قراءة الشفرة من خلال نقطة بداية محددة، بحيث يتم عدّ 3 قواعد في كل مرة، ولهذا تعدنقطة البداية مهمة للغاية، حيث يُطلق عليها اطارات القراءة Reading frames

2- تعد الشفرة الوراثية محدّدة،

إذ يوجد شفرة جينيّة محددة لنفس الحمض الأميني، مثل: كودونات UUUلحمض فينيل ألانين التي من غير الممكن أن ترمز لحمض أمينيّ آخر.

3- تتشابه الشفرة الوراثيّة لدى جميع الكائنات الحية، ولكن هذا لا يشمل شيفرة المتقدّرات .

Molecular genetics

فبينما تشير AGA و AGG إلى الأرجنين arginine في السيتوبلازم، فإنّها تشير إلى رمز الإنهاء في الشيفرات المتقّدرة.

4- يمكن أن يكون للحمض الأمينيّ الواحد عدّة شيفرات، ولكنّ الشفرة الواحدة تمثّل حمضاً أمينيّاً واحداً، باستثناء التريبتوفان Tryptophan، والميثيونين Methionine اللّذان يوجد لكلّ حمض أمينيّ لديهما عدّة شيفرات.

5- يوجد 3 كودونات من أصل 64 شيفرة وراثيّة لا ترمز لأيّ حمض أمينيّ، ويُطلق عليها كودونات التوقّف Stop codon :، أو كودونات الانتهاء termination codon :، وهي : UAA، UAG،UGA، حيث يتوقّف الرّيبوسوم هنا، وينهار في (mRNA)

6- يعتبر AUG رمز البداية في معظم البروتينات، لكن هناك بعض الحالات التي يكون فيها GUGرمز البداية، كما يُعتبر الميثيونين Methionine :الحمض الأمينيّ الوحيد الذي يتمّ تحديده من خلال رمز واحد.

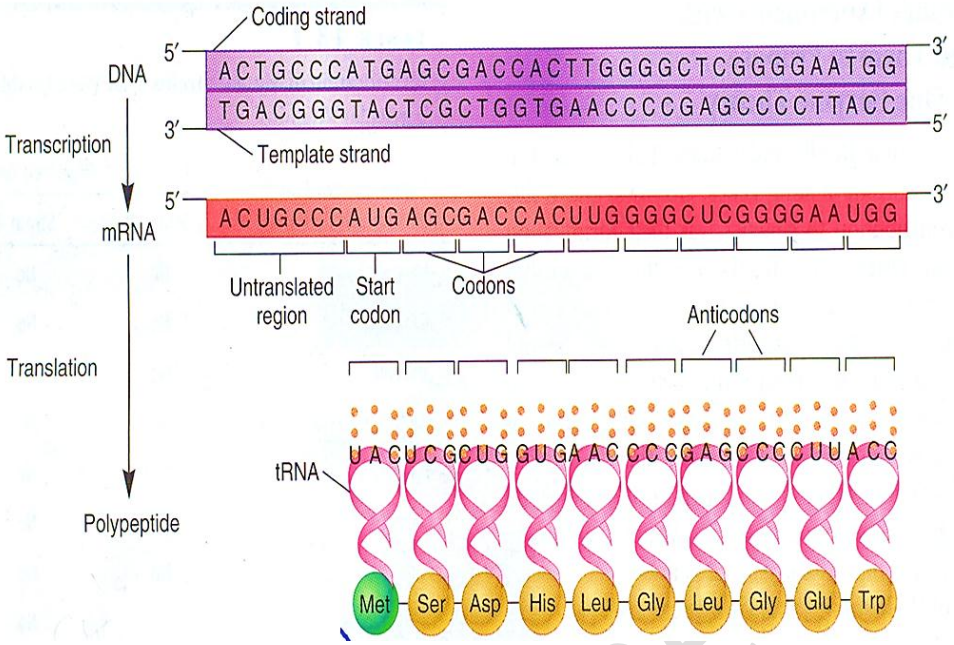
الكودون المضاد Anticodon

إن الشفرة المضادة عبارة عن تتابع يتألف من 3 قواعد يوجد في منطقة معينة من الـ tRNA والذي يميز (يقوم بقراءة) كودون او اكثر في (mRNA) ، إذ انها عبارة عن تسلسل معاك

الكودون عبارة عن مجموعة من ثلاثة نيوكليوتيدات ، خاصة على المراسلmRNA والكودون المضاد موجود على جزيئات الحمض الريبي النووي الناقل tRNA.

إن الفرق الرئيسي **بين الكودون ومضاد الكودون هو أن** الكودون يعد اللغة التي تمثل حمض أميني على جزيئات **المراسلmRNA** في حين أن المضاد هو تتابع النكليوتيدات المكمِّل للشفرة المكوِّنة على جزيئات الحمض الريبي الناقل.

Molecular genetics



الشفرة الثلاثية Triplet code

هناك اربعة انواع من القواعد النيتروجينية فقط في جزيء DNA وهي التي تقوم بتكوين الاحماض الامينية العشرين في البروتين ، فانه من الضروري ان توجد توافيق وتباديل لهذه القواعد الاربعة لكي يتسنى لها ان تفي بالتشفير لتلك الاحماض الامينية، فبناء البروتين يحتاج الى اكثر من عشرين شفره عند الاخذ في الاعتبار اشارات البدء و اشارات التوقف او انهاء بناء سلسلة البروتين .

يسمى تتابع القواعد في mRNA الموازي او المحدد لحامض اميني معين الكودون Codon لهذا الحامض الاميني وتسمى تتابعات إشارات البدء كودونات الابتداء Start codons (شفرة البدأ) في حين تسمى تتابعات اشارات الانهاء كودونات الايقاف Stop codons (شفرة الانتهاء او النهاية) ويطلق على مجموع هذه الكودونات اسم الشفرة الوراثية Genetic code .

Molecular gene

الادلة الوراثية على ثلاثية الشفرة

اذا تمت تنمية بكتريوفاج T4 الخاص ببكتيريا القولون في بيئة محتوية على المطفر الكيماوي Proflavin الذي يتداخل مع الاسطح المتراصة المفلطحة للقواعد في جزيء DNA ، فانه ينتج طفرات حذف او اضافة لقاعدة واحدة مما يؤدي الى طفرات تحريك الاطار Frame shift mutation نظرا لان القواعد تقرأ بالتتابع كما يلي:

5‘ – AGU CAG UCA GUC AGU CAG UCA GUC -3‘

اتجاه القراءة

فإن أي من طفرة الاضافة او الحذف سيؤدي كل منهما الى تحريك او تغيير اطار القراءة لوحدات الكودونات الخاصة بالأحماض الامينية الداخلة في تركيب البروتين حيث نجد ان كل حامض اميني يلي القاعدة المضافة مثلا سيكون مختلف كما يلي:

Ser His Phe Asp Lys Leu

5‘ – AGC CAC UUA GAC AAA CUA - 3‘ mRNA من DNA الاصلي

5‘ – AGC ACA CUU AGA CAA ACU A - 3‘ mRNA من DNA المضاف اليه

Ser Thr Leu Arg Gln Thr القاعدة

الادلة الوراثية على ثلاثية الشفرة

واذا نُمّيت مطفرات تحريك الاطار مرة اخرى في بيئة محتوية على المطفر بروفلافين فان بعض الفاج يستعيد الطراز البري لتتابع الاحماض الامينية في البروتين، وقد تبين ان حدوث طفرة حذف في موقع قاعدة اخرى قريبة من موقع الاضافة الاول قد يؤدي الى استعادة اطار القراءة الصحيح ويتنج عنه بروتين فعال بيولوجيا على الرغم من عدم تطابق التتابع في البروتين الاصلي مع البروتين الناتج من الطفرتين (الاضافة والحذف).

يحتوي بروتين rIIB لفاج T4 على منطقة يمكن تغيير او استبدال عدد كبير من الاحماض الامينية بها دون ان تتغير او تتاثر فعالية البروتين بشكل ملحوظ ، كما يمكن للبروفلافين استحداث طفرات تؤدي الى ايقاف نشاط البروتين تماما وعند تهجين سلالتين من الفاج تحمل كل منهما طفرة مختلفة في نفس الجين ، فان بعض الطرز البرية للفاج تنشأ من الاتحادات الوراثة بين موقعي الطفرتين، أما عند تهجين طفرتين بروفلافين عشوائيتين لـ rII فانه لا ينتج نسل فاج ذو طراز بري.

Molecular genetics

الادلة الوراثية على ثلاثية الشفرة

اثبتت نتائج الاتحادات الجديدة ان الطافرات يمكن تصنيفها الى مجموعتين تسمى احداهما المجموعة (+) والاخرى (-) وان التهجين بين طافرتين مختلفتين سيؤدي الى الحصول على الطراز المظهري البري للبروتين الناتج ، في حين لا نحصل على هذه النتيجة لو تم التهجين بين طرازين من نفس المجموعة فإذا كانت مجموعة (+) تحتوي على اضافة لقاعدة واحدة فان مجموعة (-) تحتوي على نقص لقاعدة واحدة ، اما الطافرات المزدوجة من النوع (+) (+) او (-) (-) ستحتوي على قاعدتى اضافة او تنقص في قاعدتين، فكل طفرة مزدوجة متشابهة ستؤدي الى تحريك اطار القراءة بمعدل قاعدتين مما لا يعطي طرازا بريا للبروتين حيث لن يتكون بروتين فعال ، اما في حالة الطفرة المزدوجة المختلفة (+) (-) فانه على الرغم من ان تحريك اطار القراءة الذي تم في النقطة التالية لموقع طفرة الاضافة سيؤدي الى قراءة غير صحيحة للاطار وإدخال احماض امينية خاطئة ، فانه سرعان ما يتم التصحيح عند النقطة التالية لطفرة الحذف حيث يستعيد اطار القراءة الصحيح مرة اخرى

الادلة الوراثية على ثلاثية الشفرة

وفيما بين موقعي الاضافة (+) والحذف (-) سيكون تتابع الاحماض الامينية غير صحيح في سلسلة متعدد الببتيد ولن يتطابق مع البروتين البري ، ولكن طالما وقعت الطفرتين في منطقة لا يؤثر تغيير الاحماض الامينية بها كثيرا في فعالية البروتين الناتج فان الجمع بين (+) (-) سينتج بروتينا فعالاً، اما الطفرات المزدوجة المتشابهة لن تستطيع استعادة الاطار الصحيح للقراءة نظرا لان الشفرة الوراثية لا يمكن ان تكون ثنائية الاحرف ، وعند الاتحاد بين ثلاث طفرات من نفس المجموعة (+++) (---) امكن استعادة الطراز البري للبروتين في حين الجمع بين طفرات ثلاثية مختلفة (+) (+) (-) او(-) (-) (+) لن يعطي بروتين بري.

اذا كانت مواقع الطفرات الثلاثية المتشابهة قريبة جدا من بعضها على جزيء DNA فإنها ستنتج بروتين شبيه بالطراز البري حيث سيكون تتابع الاحماض الامينية فيه مشابها للطراز البري فيما عدا مواقع حدوث الطفرات الثلاثية مما يؤكد ان الشفرة الوراثية ثلاثية الاحرف.

وجد أنه: وتحت ظروف خاصة، عند وضع حمض **RNA الذي يحتوي على القاعدة النيتروجينية U فقط** (يسمى Poly Uracil) في انبوبة إختبار و **إضافة خليط من (احماض أمينيه و إنزيمات و رايبوسومات)**، يتكون نوع واحد من البروتينات هو سلسلة من الحمض الأميني "فينيل آلانين Phenyl alanine".

وإنه تحت ظروف خاصة، عند وضع **حمض RNA يحتوي على القاعدة النيتروجينية U +** **A** في انبوبة إختبار و **إضافة خليط من (احماض أمينيه و إنزيمات و ريبوسومات)**، يتكون بروتين هو خليط متسلسلة من عدد من الأحماض الأمينية "فينيل آلانين و ليوسين و ايزوليوسين و تيروسين" و تختلف كمية كل منها بحسب مرات تكرار الكودون المحدد لكل حمض أميني منها.

و بتكرار ما سبق من تجارب، امكن التعرف على الكودونات التي يحدد كل منها احد الأحماض الأمينية، فوجد ان عددها 64 كودون (أي 64 شفرة لتكوين الأنواع المختلفة من البروتينات).

إستنباط الشفرة الوراثية

تم إعتماد التجارب البيوكيماوية للتعرف على الشفرات الوراثية الدالة على الاحماض الامينية المختلفة على استخدام نظام بناء البروتين خارج الخلية In Vitro ، وقد استخدمت بعض التقنيات كما يلي:

1- تقنية المتعدد النيوكليوتيدي المتجانس Homo polymerase

إستخدمت سلسلة من التفاعلات تحتوي كل منها على 20 حامض اميني ، واحد منها فقط معلم بالإشعاع ووضعت في انابيب تحتوي على جميع المكونات الاخرى اللازمة لبناء البروتين في المختبر (ريبوسومات –tRNA – انزيمات Aminoacyl synethetases -احماض امينية) فيماعدا mRNA الطبيعي الذي استبدل mRNA تركيبي مكون من تتابعات مترادفة من نفس القاعدة مثلا PolyU وبوجود وفرة من ثنائي الفوسفات فان التفاعل اجبر على السير في اتجاه تكوين mRNA التركيبي ، وبعد التحضين تم ترسيب البروتين المتكون في كل انبوبة بإضافة ثلاثي كلورات الخليك TCA ثم كشف عن وجود الاشعاع في البروتين المترسب والتييستدل بها على نوع الحامض الاميني المعلم بالإشعاع المدخل .

وجد ان PolyU يؤدي الى ادخال حامض الفينيل الانين المشع فقط في البروتين المترسب، فاستنتج من ذلك ان UUU لابد ان يكون هو كودون حامض الفينيل الانين

وبتكرار تجارب مشابه وجد ان AAA يشفر لليسين و CCC للبرولين.

2- تقنية البوليميرات المختلطة العشوائية

كانت الخطوة التالية هي تخليق بوليمرات من mRNA وتحديد الشفرات الوراثية في تجارب مشابهة للتجارب السابقة . فعند تخليق بوليمر مختلط عشوائي متعدد النيوكليوتيدات باستخدام انزيم Polynucleotide phosphatase مع اضافة كلا منGDP، UDP بنسبة 1:5 كان الاحتمال النسبي للحصول على) 125 UUU فينيل الانين)، في حين ان الاحتمال النسبي

Molecular genetics

للحصول على 5 UG2 وتشفر للحامض الامينيالمجهول X وبتكرار اضافة حامض الفينيل الانين الى سلسلة عديد الببتيد الناتجة ستكون النسبة كما يلي:

UG2/U3 = 125/5 = 4% .

أي انه لكل مائة جزيء حامض فينيل الانين مضاف للسلسلة سيوجد 4 جزيئات من الحامض المجهول في نفس السلسلة وعندما تم تحليل متعدد الببتيد الناتج وجد ان نسبة حامض الجلايسين Glycine في السلسلة المتكونة كان بالفعل 4% في حين كانت نسبة التربتوفان حوالي 5% مما يفترض معه ان الثلاثي UG2 يشفر لهذين الحمضين ولكن مع اختلاف تتابع القواعد .

هذه التقنية لا تعطي معلومات محددة عن تتابع القواعد في الكودونات لذلك كانت النتائج غامضة

3- تقنية الارتباط المباشر للقواعد التركيبية الثلاثية Direct triplet binding

اجريت تجارب مختبرية على الارتباط المباشر النوعي لثلاثيات من القواعد النوعية المحددة التتابع على الريبوسومات ضمن نظام بناء البروتين وكما يلي:

1- Ribosome + aminoacyle - tRNA no complex

2- Ribosome + aminoacyl- tRNA + trinucleotide codon complex

إذ ان الـ tRNA المُحمَّل بحامض اميني نوعي X يسمى أمينو أسيل tRNA لن يرتبط مع الريبوسومات الحرة الا في وجود الثلاثية النيوكليوتيدية (الكودون) النوعية التي تعمل كوسيط لربط أمينو أسيل tRNA بالريبوسومات، تم اضافة نيوكليوتيدات ثنائية او ثلاثية تركيبية معروفة التتابع مع امينواسيل tRNA ذو نشاط اشعاعي نوعي في الحامض الاميني المعلم بالإشعاع ، وإختُبِرت هذه النيوكليوتيدات بحيث يكون في كل مرة احداها فقط هو المعلم بالإشعاع و19 الاخرى غير معلمة :

1- وجد ان ثنائيات القواعد لا تعطي ارتباط على الريبوسومات ، اما ثلاثيات القواعد ترتبط

2- تتابع القواعد في الشفرة الثلاثية مهم لتحديد نوع الحامض الاميني النوعي المشفر بكودون ثلاثي .

4- تقنية النيوكليوتيدات المتعددة المعروفة التتابع

إن تقنية النيوكليوتيدات المتعددة المعروفة التتابع Polymers of known sequence استخدمت سلاسل تركيبية من متعدد النيوكليوتيدات ذات تتابع معروف، إذ استخدم بوليميرات مختلطة مكونة من وحدات متكررة ترادفيا من قاعدتين مختلفتين مما يؤدي الى اضافة حامضين

Molecular genetics

من الاحماض الامينية النوعية في نظام بناء البروتين في المختبر In vitro مثلا تم تحفيز اضافة الڤالين والسستين بواسطة poly-UG ،

فإذا كان تتابع القواعد في الشريط أدناه:

UGU GUG **UGU** GUG **UGU** فالاحماض الامينية لها هي:

Cys –Val – **Cys** – Val – **Cys**

تكوين متعدد الببتيد UGU الذي يمثل السستين و GUG الذي يمثل الڤالين .

بهذه التقنية امكن التعرف على حوالي نصف عدد الشفرات الاربعة والستون، فمثلا المتعدد PolyGAA يتحكم في تكوين الليسين Polylysine او متعدد الكَلوتامين Polyglutamine او متعدد الارجنين Polyarginine مما يعني ان واحدا فقط من احد الاحماض الامينية الثلاثة سيدخل في تكوين متعدد الببتيد معتمدا على نقطة البدء لثلاثية قواعد عشوائية عند بداية الرسالة.

Molecular genetics