وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بغداد – كلية الزراعة

قسم المحاصيل الحقلية
المرحلة الرابعة

المادة :. الوراثة الجزيئية
مدرس المادة :. د. زينب كريم كاظم
و د. فائز فياض محمد
رقم المحاضرة :.
العام الدراسي :. ٢٠١٦/٢٠١٧

المحاضرات النظرية

الوراثة الجزيئية (Molecular Genetics)

قسم المحاصيل الحقلية — **د. زينب كريم كاظم**
المرحلة الرابعة — **د. فائز فياض محمد**

نبذة تاريخية عن تطور مفهوم الوراثة الجزيئية :

منذ ان عرف الإنسان كيف يزرع النباتات أو كيف يربي الحيوانات بدأ يتكهن بأنه لابد أن كل بذرة أو كل بيضه ملقحة تحتوي على خطة غير مرئية أو تصميم معين لنمو وتمايز (growth and differentiation) الكائن الذي تعود له. وقد نشأ علم الوراثة حول فكرة وجود عناصر غير مرئية محتوية على المعلومات الوراثية، والتي سميت فيما بعد باسم الجينات، وعند انقسام الخلية فان هذه العناصر تنتقل إلى كل من الخليتين الناتجتيين من عملية الإنقسام. إلا أنه قبل ان يتم الإنقسام فلابد أن يكون بمقدور الخلية الأم تكوين نسخة من جيناتها حتى تعطي مجموعة كاملة من هذه الجينات الى كل خلية ناتجة من الإنقسام. إذ ان الجينات في الحيوان المنوي أو في البويضه تنقل الصفات الوراثية من جيل إلى الجيل التالي .

عند اعلان قوانين مندل للوراثة تم تصحيح الفكرة السائدة عن العوامل الوراثية من **نظرية الدمج** (blending theory) إلى **نظرية العوامل المستقلة المتميزة** (particulate theory) والتي تظل فيها الجينات محتفظه بكينونتها واستقلالها من جيل إلى جيل. وقد أدى ذلك إلى الإعتقاد بأن هذه العوامل الوراثية المسؤوله عن الصفات البيولوجية المختلفة لابد أن تكون مركبة من نظم من الذرات التي لابد أن تخضع لقوانين الكيمياء والفيزياء أو بمعنى آخر لابد أن هذه الجينات تتكون من جزئيات معينه موجودة في الخلية الحية.

في البداية لم يمكن تحديد أو حتى تكهن طبيعة هذه الجزيئات التي يمكن أن تُختزن في الخلية ويكون بمقدورها **ادارة الأنشطة** المختلفة للكائن الحي اثناء نموه وتمايزه وفي نفس الوقت يكون باستطاعتها أن **تتضاعف** بطريقة دقيقه وصحيحة وبشكل مستمر تقريباً (unlimited). عقب اعلان **نظرية الكروموسومات للوراثة** في بداية القرن العشرين أصبح من الواضح أن الكروموسومات هي الحاملة للمعلومات الوراثية ولكن تبين في المرحلة المبكرة أن الكروموسومات مكونة من مركبات عديدة تشمل **البروتينات والأحماض النوويه** وخاصة الحامض النووي الديوكسي ريبوزي DNA. وقد تركز البحث على التعرف على انواع من البروتينات الخاصه نظراً لأن البروتينات تحتوي بين جزيئاتها على قدر واسع من الاختلافات الكيميائية والبيولوجية مما يؤهلها للقيام بمهمة المادة الوراثية في حين اعتبرت الأحماض النووية غير صالحة لهذه المهمة نظراً لإفتقارها إلى التباين الكيميائي الواسع بين جزيئاتها وعليه فانه من المستبعد وجود وظيفة وراثية لجزيء DNA وأن كل مهمته أن يعمل كإطار لتدعيم البنية الأساسية للكروموسوم. ظلت المحاولات مركزة في هذا الإتجاه إلى أن وصلت إلى طريق مسدود حيث ثبت انه لا يوجد أي نوع من بروتينات الخلية يمكن أن تتوفر فيه شروط المادة الوراثية وهي:-

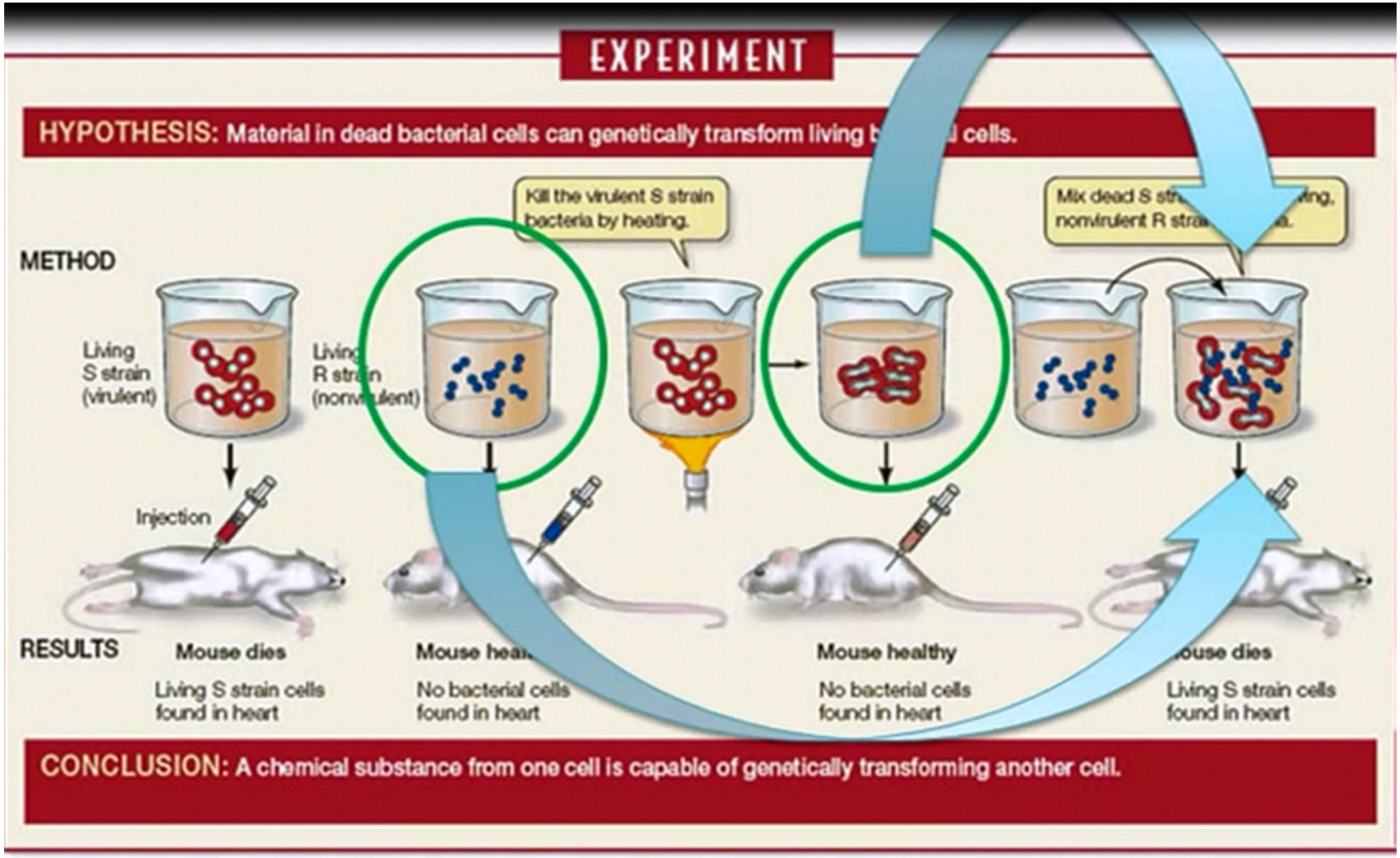
١. أن **يحتوي على جميع المعلومات الوراثية** المطلوبة لإدارة وتنظيم الأنشطة الأيضية في الخلية.
٢. له **القدرة على التضاعف** بانتظام وبدقة بحيث يمكن انتقال المعلومات وتوريثها للخلايا الناتجة من عملية الإنقسام بطريقة مضبوطه.
٣. له **القدرة على حدوث الطفرة بنسب منخفضة جداً** بحيث تحدث تغيرات وراثية يمكن توريثها إلى النسل.

وعلية تحول الإنتباه إلى DNA على اعتبارة هو بالفعل المادة الوراثية في معظم الخلايا الحية عدا قليل من الفيروسات حيث يكون RNA هو المادة الوراثية بها.

لاحظ مندل أن الكائنات الحية ترث الصفات بطريقة مميزة **(قابلة للعد)** وتتم عن طريق "وحدات الوراثة " اطلق عليها فيما بعد بالجينات (المورثات). ان هذا المصطلح والذي لا يزال مستخدما حتى وقتنا الحاضر يُعد تعريفا مبهما والتعريف العملي الأكثر حداثة للجينات هي **أنها الجزء (أو التسلسل) من الحامض النووي الذي يُرَمِّز لوظيفة خلوية معينة معروفة**. هذا الجزء من الحامض النووي هو **متغير** أي انه يمكن ان يكون **صغيرا** أو **كبيراً**، وقد يحتوي على **القليل** او **الكثير** من **الأقسام الفرعية** (اجزاء الجين). ان كلمة جين تشير الى الاجزاء من الحامض النووي المطلوبة من أجل عملية خلوية واحدة أو وظيفة واحدة، أكثر من كونها تشير الى عنصر مادي واحد. المصطلح الذي يستخدم غالبا (ولكن ليس دائما صحيحا) هو "جين واحد، بروتين واحد" ويعني أن كل جين معين يرمز الى نوع معين من البروتين في الخلية. حيث انتشر في الوراثة التقليدية مبدأ يقول (لكل جين واحد، بروتين واحد) بمعنى ان كل جين يحمل معلومات لبناء بروتين وأحد فقط، لكن هذه العبارة يشكك بها كثيرا هذه الأيام وتعتبر إحدى الأخطاء التي وقع بها علم الوراثة التقليدية (Classical genetics). **من المؤكد الآن أنه يمكن لنفس الجين أن ينتج عدة بروتينات ويتحكم بهذا الأمر طريقة التعبير للجين (Gene expression) ومن ثم الترجمة (تحويل) للشفرة الوراثية وتنظيم هذه العملية المعقدة.** ويمكن تشبيه الجينات على انها مثل "الجُمَل" والنيوكليتيدات مثل "الأحرف". يمكن وضع سلسلة من النيوكليوتيدات معا دون ان تشكل جينًا (المنطقة الغير قابله للترجمة في الجين)، تماما كوضع مجموعة من الأحرف بشكل عشوائي دون أن تشكل جملة مفيدة ، ومع ذلك فجميع الجمل يجب ان تحتوي على حروف، كما يجب أن تحتوي جميع الجينات على نيوكلتيدات.

تم تأسيس علم **الوراثة الجينية الحقيقية** والتي تؤدي إلى علم **الوراثة الجزيئي** بناء على علم **الوراثة الكلاسيكي** لكنه يرتكز أكثر على بنية وظيفة الجينات على المستوى الجزيئي. مع أن تواجد الجينات على الكروموسومات وأن الكروموسومات تتكون من البروتينات والأحماض النووية DNA معاً كان أمراً معروفاً؛ إلا أن العلماء لم يعلموا أياً منهما المسؤول عن الوراثة في بادئ الأمر. وقد اكتشف **فريدريك كَريفيث (Frederick Griffith)** في عام **١٩٢٨** م **ظاهرة التحويل الوراثي** في دراسة اطلق عليها " تجربة كَريفيث " (شكل ١) حيث اشارت هذه التجربة الى إمكانية انتقال المادة الوراثية من بكتيريا ميتة ألى بكتيريا اخرى حية لا تمتلك القدرة على إحداث الإصابة حتى تتحول إلى بكتيريا يمكن ان تحدث الإصابة. وبعد ستة عشر عاماً في عام **١٩٤٤** م حدد **أسولد أفري (Oswald Avery) الجزيء المسؤول عن التحويل بأنه الحامض النووي DNA**. وكان قد تم التأكد من دور نواة الخلية كمستودع للمعلومات الوراثية في الكائنات الحية حقيقية النوى من قبل **هامرلنغ** في سنة **١٩٤٣** م من خلال عمله على الطحلب وحيد الخلية (جنس من الطحالب الخضراء). كما

أكدت تجربة **هيرشي** التي أُجريت في عام **١٩٥٢** م أن الحامض النووي DNA وليس البروتين هو المادة الوراثية للفيروسات التي تصيب البكتيريا، مما قدم المزيد من الأدلة التي تُثبت أن الحامض النووي هو الجزيء المسؤول عن الوراثة.


EXPERIMENT
HYPOTHESIS: Material in dead bacterial cells can genetically transform living
cells.
METHOD
Kill the virulent S strain bacteria by heating.
Living S strain (virulent)
Injection
RESULTS
Mouse dies
Living S strain cells found in heart
No bacterial cells found in heart
Mouse healthy
No bacterial cells found in heart
Living S strain cells found in heart
CONCLUSION: A chemical substance from one cell is capable of genetically transforming another cell.

شكل ١: تجربة

حدد **جيمس واطسون وفرانسيس كريك** بنية الحامض النووي في عام **١٩٥٣**، باستخدام الأشعة السينية لعلم البلورات من عمل **روزاليندا فرانكلين وموريس ويلكنز** وان نتائج هذه الدراسة أشارت الى أن الحامض النووي له بنية حلزونية (على شكل لولبي). وكان لنموذجهم الحلزوني المزدوج اثنان من خيوط الحامض النووي مع النيوكليوتيدات مشيرة إلى الداخل، كل من النيوكليوتيدات التكميلية له نيوكليوتيدة قرينة (مطابق) على خيط آخر لتشكيل ما يشبه الدرجات على سلم مفتول. أظهرت هذه البنية المعلومات الوراثية الموجودة في تسلسل النيوكلتدات في كل شريط من الحامض النووي. مع أن بُنية الDNA (الحمض النووي الريبوزي منقوص الأوكسجين) أظهرت كيفية عمل الوراثة، إلا أنه لم يكن معروفاً وقتها كيف يؤثر الDNA على سلوك الخلية. وفي السنين اللاحقة، حاول العلماء أن يفهموا كيفية تحكم الDNA بعملية تصنيع البروتين. فتم اكتشاف أن الخلية تستعمل الDNA كقالب لتُصَنِعْ منه مرسال الحامض النووي **mRNA**، وهو جزيء ذو نوكلتيد يشابه جداً الDNA. يُستعمل تسلسل النوكلتيد لمرسال الحامض النووي mRNA لصُنع تسلسل من الأحماض الأمينية في البروتين؛ يعرف هذه التحول من تسلسل النوكلتيد الى تسلسل الحامض الأميني **بالشفرة الجينية**.

يتواجد الـDNA بشكل طبيعي على هيئة سلسلة مزدوجة، كل نيكلوتيد من السلسلة الأولى يقابله ويتممه نيكليوتيد من السلسلة الثانية. فكل سلسلة مفردة تقوم بعمل قالب للسلسلة الأخرى، وهذه هي آلية نسخ الـDNA وانتقال الجينات. تترجم الخلية ترتيب النيكلتيدات في الجين إلى سلسلة من الأحماض الأمينية (amino acids) وهذه السلسلة تؤلف بروتين معين حيث ان ترتيب الأحماض الأمينية في البروتين تتوافق مع ترتيب النيكلتيدات في الجين، والعلاقة بين ترتيب النيكلتيدات وترتيب الأحماض الأمينية تدعى **الشفرة الوراثية (genetic code)**. ان الأحماض الأمينة التي تؤلف البروتين تحدد شكله الثلاثي الذي يحدد وظيفة البروتين ودوره، فتختلف بذلك البروتينات عن بعضها البعض لتلعب أدواراً مختلفة في الخلية، فالبروتينات تلعب تقريباً كافة الوظائف داخل الخلية. فتغير بسيط في الـDNA لجين معين يؤدي إلى تغير في الأحماض الأمينية لأحد البروتينات مما يغير شكله فتتغير وظيفته ودوره وقد يكون هذا التغير ممرض أو مميت للخلية وللكائن الحي. ومثال على ذلك مرض **فقر الدم المنجلي Sickle Cell Anemia** ناتج عن تغير لنيكلوتيد واحد مما يغير أحد الأحماض الأمينية مما يغير البروتين فيتغير دوره فتتشكل كريات دم غير قادرة على نقل الأوكسجين بشكل طبيعي فينتج عنه مرض فقر الدم المنجلي. وعلى الرغم من أن الوراثة تلعب دوراً في شكل وتصرفات الكائن الحي، لكن ما يمر به الكائن الحي من تجارب في حياته يلعب دورا كبيراً في ذلك. مثال على ذلك ان الجينات هي المسؤولة عن تحديد طول الشخص ولكن التغذية والظروف التي مر بها هذا الشخص في طفولته تؤثر وتلعب دوراً كبيراً أيضاً.

ان علم الوراثة الجزيئي يدرس العمليات الحيوية على المستوى الجزيئي مما يجعله متداخلا مع **الكيمياء الحيوية** و**علم الوراثة**. ويمكن تعريف علم الوراثة (Genetics) بانه العلم الذي يدرس المورثات (الجينات) وما ينتج عنه من تنوع الكائنات الحية. وكانت مبادئ توريث الصفات مستخدمة منذ تاريخ بعيد لتحسين المحصول الزراعي وتحسين النسل الحيواني عن طريق تزويج حيوانات من سلالة ذات صفات جيدة

وكمثال على ذلك **الحصان العربي الأصيل** حيث كان العرب يزاوجون الحصان والفرس الأقوياء ليحصلوا على نسل قوي واستمروا بذلك عبر السنين.

أدى الفهم الجزيئي الحديث للوراثة إلى بداية ثورة من الأبحاث، وإحدى أهم هذه التطورات كان في عام **١٩٧٧** من قبل **فردريك سانغر** باستخدام تكنولوجيا تسمح للعلماء بأن يقرأوا تسلسل النوكلتيد في جزيء DNA (الحامض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين). وفي عام **١٩٨٣** طور **كاري بانكس موليس** تفاعل البوليميريز المتسلسل polymerase chain reaction (PCR)، مما أعطى طريقة جديدة لعزل وتضخيم جزء معين من DNA من أي خليط.

أن مصطلح الوراثة الجزيئية يشير في بعض الأحيان الى النظرية ألأساسية القائلة أن الجينات توجه كل العمليات الحيوية (life processes) من خلال إنتاج **البوليبيبتيدات (polypeptides)** والتي هي عبارة عن الوحدات الأساسية المكونة للبروتينات، واحياناً اخرى يشير الى **التعبير الجيني** (gene expression) **والتنظيم الجيني** (gene regulation) على المستوى الجزيئي، واحياناً اخرى يشير الى المنهج الذي يستخدم اسلوب التحقيق من خلال تطبيق علم الكيمياء البيولوجية (biomedical science) التي تستند على إستراتيجيات التحقيق المستندة على النظرية الأساسية حول الجين.
أن كثرة إستخدام مصطلح الوراثة الجزيئية في هذه الأيام يعود الى ان علم الوراثة المعاصر يتعامل بشكل كامل على المستوى الجزيئي. وعندما يُستخدم مصطلح الوراثة الجزيئية من قبل البايولوجون فإنهم يشيرون الى مجموعة من **التقنيات المختبرية** التي تهدف الي كشف (identifying) قطعة الحامض النووي (DNA segment) المسؤولة عن بناء المادة البايولوجية (biological molecules) تحت الدراسة أو حتى التلاعب بهذه القطعة من الحامض النووي لاجل تحقيق أهداف الباحث.

أن الإختلافات في الجين (وذلك بوجود عدة اليلات لجين معين) يؤدي الى اختلافات في الصفات الظاهرية (phenotypic differences). وان هذه الإختلافات تعطي الوسيلة لتوضيح كيفية انتقال (transmission) الصفات من جيل الى آخر دون توضيح كيفية انتاج هذه الصفات في عملية التطور (development) لكائن معين وهذا يُمَكِّنْ علماء الوراثة التقليدية (classical geneticists) لإيجاد علم التوريث (science of heredity) دون الإجابة على الأسئلة حول كيفية حصول هذا التطور.

ان ممارسة الوراثة التقليدية يتضمن **التحليل النظري** (theoretical analysis) لطرز الإنتقال المعقدة للصفات التي تشمل إعادة التركيب (recombination) للصفات الظاهرية (phenotypic traits). وأن تحليل هذه الطرز ينتج معلومات حول العمليات البايولوجية الأساسية مثل **ميكانيكية سلوك الكروموسومات** (chromosomal mechanics)، وكذلك يمكن الحصول على معلومات فيما يخص **الترتيب الخطي** (linear arrangement) للجينات المرتبطة بمجموعات. ولكن **التوضيحات النظرية** هذه لا تستند على المفاهيم التي تطرح الأسئلة التالية: ما هو الجين؟ وكيف تتظاعف الجينات (gene replication) ؟ وماذا تعمل الجينات؟ أو كيف تؤدي الإختلافات في الجينات (gene differences) الى إختلافات في الصفات الظاهرية (phenotypic traits)؟. كل هذة الأسئلة يمكن ان يجيب عليها علم الوراثة الجزيئي.

ويُعرف علم الوراثة الجزيئي **بانه فرع من علم الأحياء الحديث الذي يدرس تركيب ووظيفة المورثات (Genes) على المستوى الجزيئي ويهدف هذا العلم لفهم كيفية تناقل المعلومات الوراثية من جيل إلى آخر وكيفية حدوث طفرات وراثية في الخلايا وبين الأجيال.** ويجب التمييز بينه وبين فروع علم الوراثة الأخرى مثل علم **الوراثة البيئية** الذي يدرس الوراثة في المجتمعات الطبيعية (natural populations) وعلم **الوراثة السكانية** الذي يبحث **التركيب الجيني** لمجموعات من أفراد من نفس النوع (species) وكيف يحدث التغيير لهذا التركيب الجيني على مر الزمان والمكان الجغرافي. فعليه فان علم وراثة السكان يدرس القوى التي تؤثر على **التنوع الجيني للسكان** ونشوء الأنواع **(تحور، تدفق، انتخاب)** بتطوير نماذج رياضية وإحصائية. عليه فإن علم وراثة السكان يهتم بدراسة توزيع تواتر الكروموسومات والتغيير تحت تأثير اربعة عمليات تطورية رئيسية هي: **الانتقاء الطبيعي، الانحراف الجيني، الطفرة، وتدفق الجينات.** كما وإنه يأخذ في عين الاعتبار أيضا عوامل التقسيم مثل إعادة التركيب السكاني والهيكل السكاني.

ومن الجوانب التطبيقية لعلم الوراثة الجزيئية مثلاً: علم **الوراثة الجزيئي الإكلينيكي** (Clinical Molecular Genetics) وهو علم يهتم بتطبيقات علم الوراثة ونقلها من المختبر إلى الفائدة التطبيقية المباشرة للإنسان، حيث يقوم الطبيب المعالج بتحليل نتائج فحص الحامض النووي DNA وعلاقة هذه النتيجة بالمريض. ومن الأمراض التي تشخص عن طريق تحليل الحامض النووي **مرض التليف الكيسي.** ويمكن ان تساهم التقنات المستخدمة في الوراثة الجزيئية في العديد من التحسينات الحياتية خاصة في المجال الزراعي مثل في مجالات تربية وتحسين النباتات والحيوانات وبالتالي استخدام أصناف المحاصيل عالية الإنتاج لسد الفجوه بين الإنتاج والإستهلاك وكذلك إستخدام أدوات تشخيص الأمراض البيطرية واللقاحات. ان الاستخدام الغير صحيح للتكنولوجيا الحيوية والوراثة الجزيئية ينتج جوانب سلبية كبيرة اما اذا احسن التعامل مع هذا العلم فإنه يؤدي إلى فوائد كبيرة. ويوضح الجدول رقم ١ تلخيص لبعض الجوانب التطبيقية للوراثة الجزيئية.

جدول ١: ملخص لبعض الجوانب التطبيقية لعلم الوراثة الجزيئية.

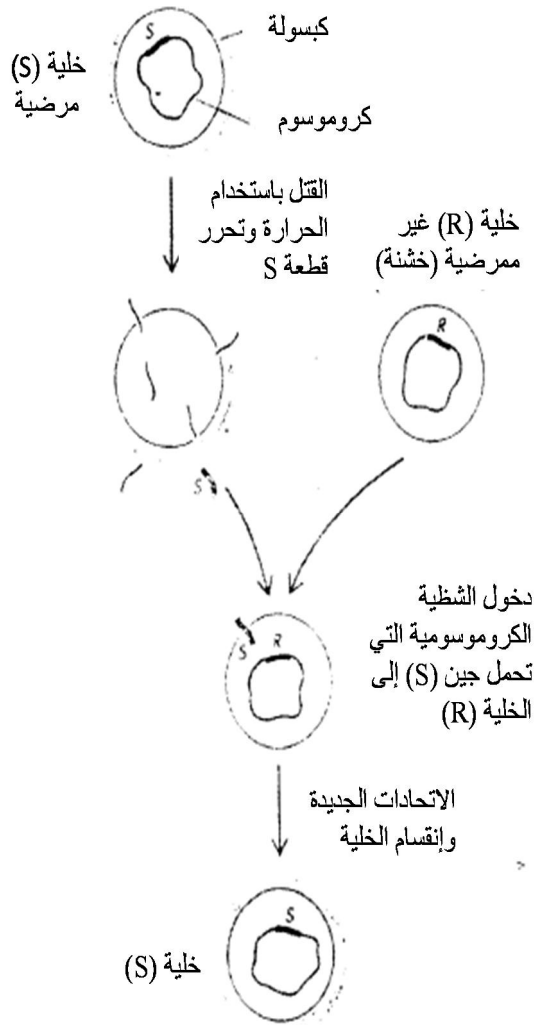
المجال	أهم التطبيقا ت
الرعاية الصحية	١. تفعيل إستخدام تقنيات التفاعل البنائي المتسلسل **PCR** في الكشف المبكر للأمراض. ٢. العلاج الجيني ٠ ٣. صناعة الدواء بالتقنية الحيوية كما حدث في انتاج الأنسولين البشري.
البيئة	١ .تفعيل الإستفادة من مخلفات المحروقات والحد من التلوث. ٢ .التخلص من مخلفات الصناعة ٠ ٣ .الإستفادة من المخلفات العضوية ٠ ٤ .تدوير إستخدام المياه ٠
الصناعة	١ .صناعة الدواء من المواد الكيماوية النباتية ٢ .إنتاج المواد الكيمائية والمحفزات الحيوية ٠
الزراعة	١ .إنتاج نباتات محسنة وراثيًا لمقاومة الأمراض والآفات خاصة المحاصيل الإقتصادية كالرز والذرة والقمح.

٢ .إنتاج نباتات محسنة وراثيًا لتحمل الظروف البيئية القاسية خاصة الملوحة والجفاف لاسيما مع ظروف شحة الموارد المائية. ٣ .تطوير إنتاجية الحيوانات المزرعية ٠ ٤ .الكشف المبكر لأمراض الحيوان ٠	

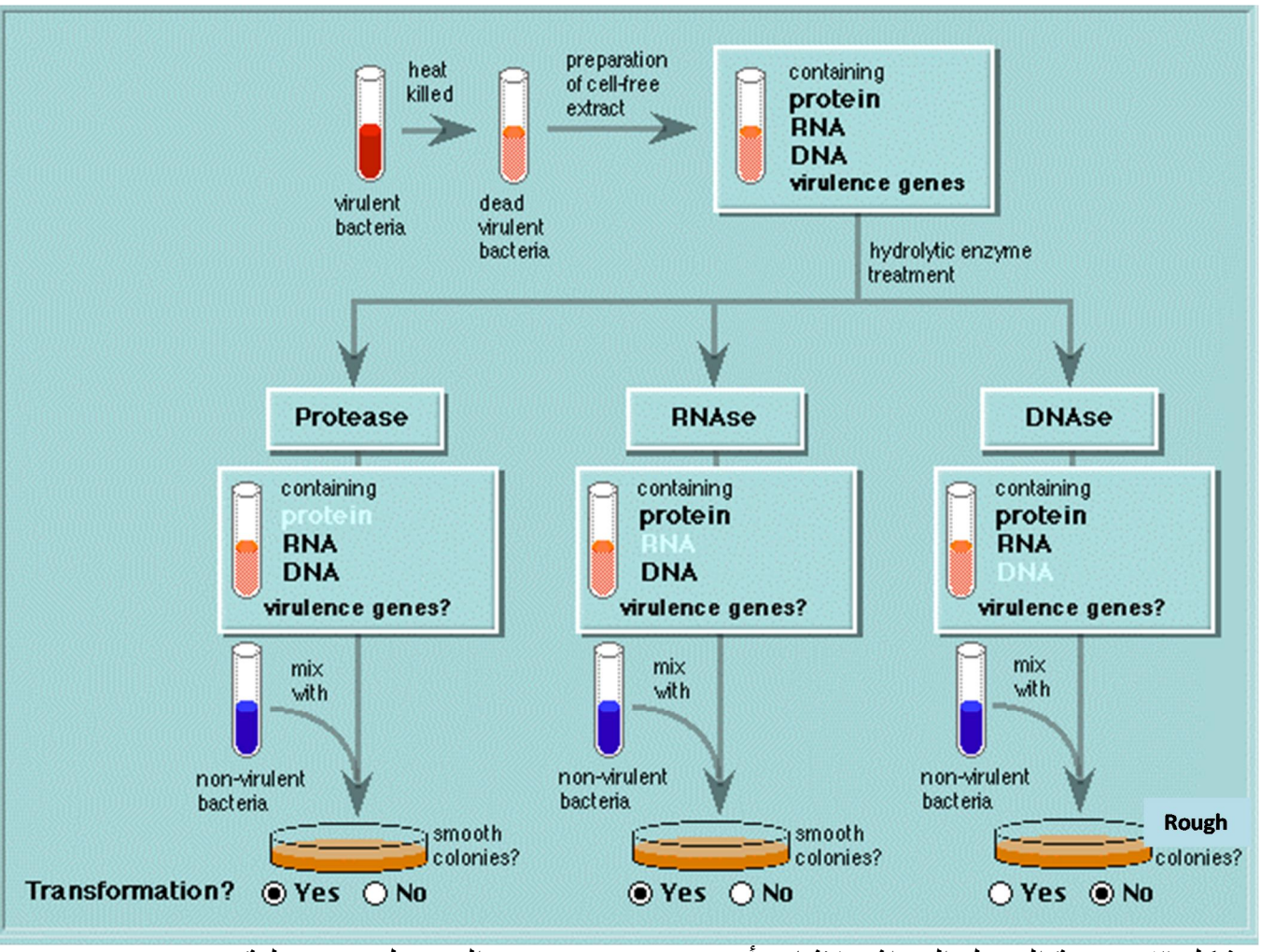
كن تلخيص الأدلة على ان DNA هو المادة الوراثية في تي:-

١. التحول الوراثي Genetic Transformation :-

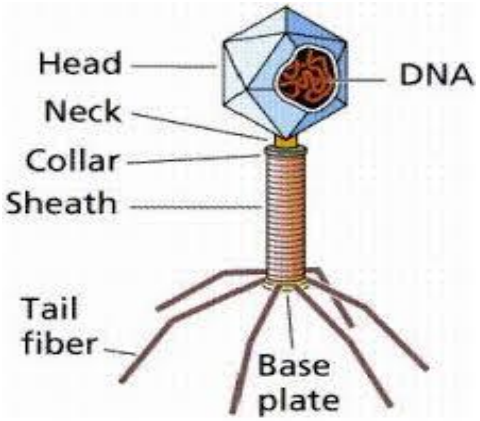
اكتشف فريدريك گريفيث في عام ١٩٢٨م ظاهرة التحويل راثي في دراسة اطلق عليها " تجربة گريفيث " (شكل ٢) ث اشارت هذه التجربة الى إمكانية انتقال المادة الوراثية من تيريا ميتة ألى بكتيريا اخرى حية لا تمتلك القدرة على إحداث صابة حتى تتحول إلى بكتيريا يمكن ان تحدث الإصابة. ثم د ستة عشر عاماً تمكن أفري (Avery) ومعاونوه عام ١٩٤ من التوصل إلى أن المادة الوراثية تكمن في DNA خلية وليس في بروتينها وذلك بعد قيامهم بتجربة لها دلالات ى التحول الوراثي بين سلالتين من البكتريا المسببه للالتهاب ئوي في الانسان من نوع ***Streptococcus pneumonia***. حيث كانت السلالة الاولى والتي تسمى **S–type** لها القدرة على تكوين حافظة أو كبسولة من عديدات كر (Polysaccharides) حولها مما يقيها من أجهزة فاع في الحيوان المصاب ويمكنها من احداث الاصابة مرض وقد اعطيت الاسم S (Smooth) لان مستعمراتها امية على البيئة الصلبة تعطي مظهراً املساً. أما السلالة خرى المستخدمة فهي السلالة **R–type** وهي سلالة طافرة ي يوجد فيها طفرة وراثية (mutation) حيث تفتقر إلى نزيم المسؤول عن بناء سكريات الكبسولة مما يجعل مظهر ستعمرة لهذه السلالة على البيئة الصلبة خشناً (Rough) هذه السلالة تكون غير مرضية لعدم قدرتها على مقاومة جهاز المناعي بالجسم نظراً لعدم وجود الكبسولة الواقية لها. عندما أضاف Avery مستخلصاً نقياً من DNA للسلالة S–typ بعد التخلص من البروتينات و RNA إلى مزرعة من سلالة R–type أمكنه الحصول على بعض الخلايا من نوع S–typ (شكل ٣). ومن جهة أخرى فقدت السلالة S–type درة على تحويل السلالة R–type تماماً عندما تم تكسير DN بالمعاملة بإنزيم DNase أي أن جزيء DNA هو سؤول عن عملية التحول الوراثي. وكان هذا أول دليل عملي ى أن DNA هو مادة الوراثة (الشكل٣)



شكل ٢: تجربة التحول الوراثي لاثبات أن DNA هو المادة الوراثية حيث أضيفت صفة الكبسولة الملساء للنوع S – type ألى خلية من سلالة غير مكبسلة أي خشنة من نوع R – type فتحولت الأخيرة إلى خلايا ملساء من نوع S – type.



شكل ٣: تجربة التحول الوراثي لاثبات أن جزيء DNA هو المسؤول عن عملية التحول الوراثي

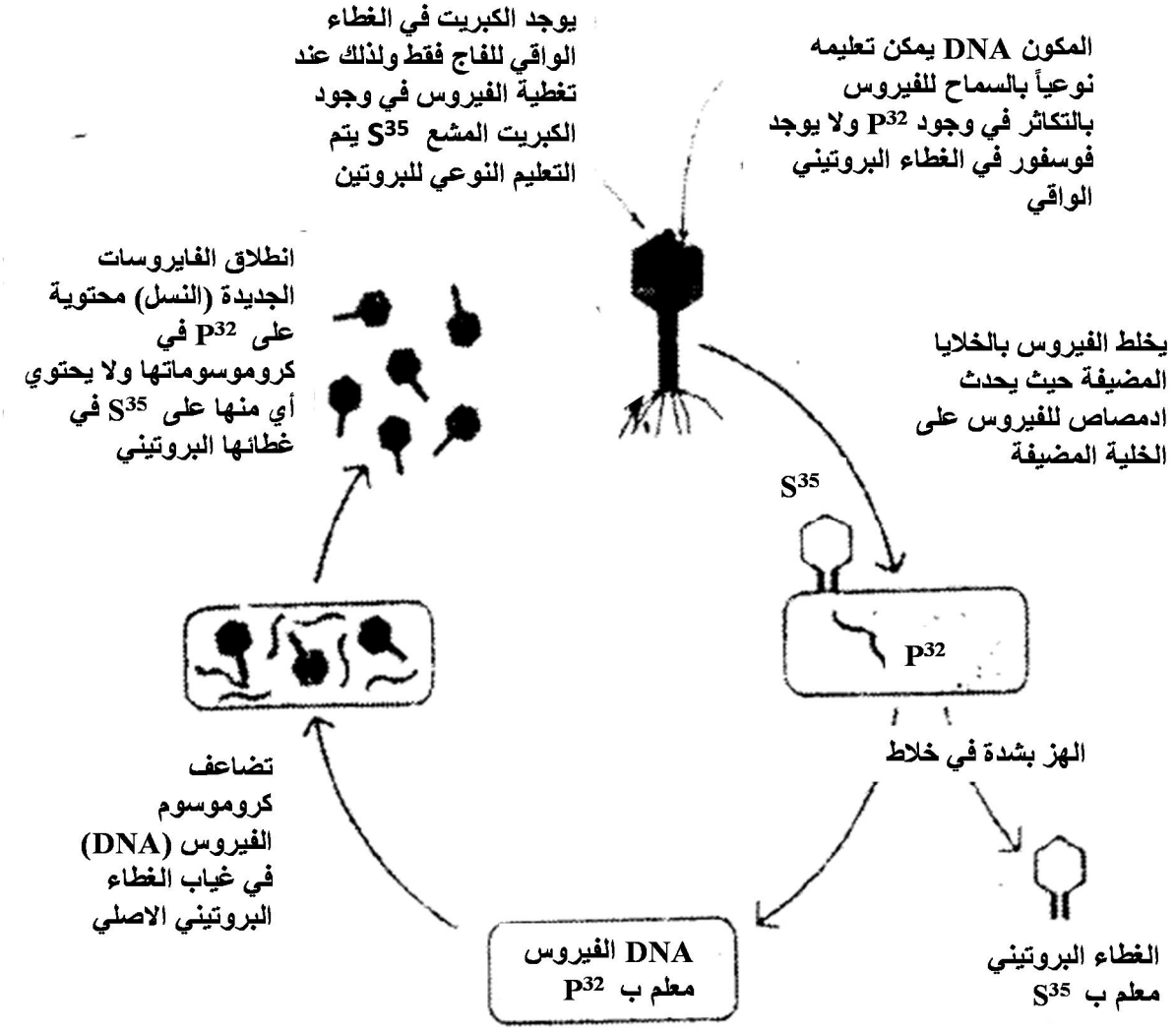


شكل ٤: الفاج من نوع T_2

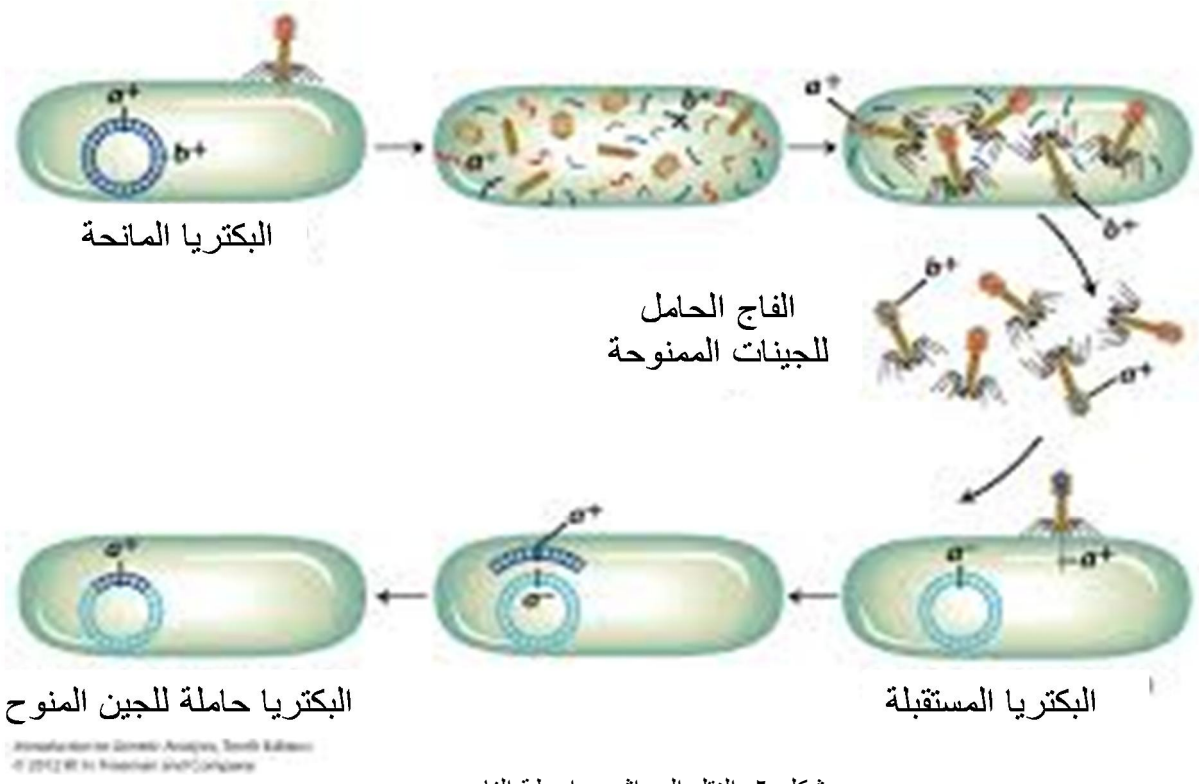
٢ - النقل الوراثي بواسطة الفاج Genetic Transduction :-

حيث قام **هيرشي** Hershey **وشيز** Chase عام **١٩٥٢** بعدوى بكتريا القولون اشريشيا كولاي E. Coli بالفاج T_2 (شكل ٤) بعد تعليم بروتينات الغطاء المحيط بالفاج بالكبريت المشع S^{35} في حين تم تعليم جزيء DNA الداخلي بالفوسفور المشع P^{32} ومن المعروف ان الفاج يقوم بحقن محتوياتة الداخلية فقط (DNA) إلى داخل الخلية البكتيرية في حين يبقى الغطاء المغلف له معلقاً خارج الخلية المحقونة ويمكن التخلص منه بالرج بشدة في خلاط. لقد تبين أن معظم الفوسفور المشع (أي DNA الفاج) قد

دخل الى الخلية البكتيرية في حين لم تظهر آثار للكبريت المشع إلا النادر جداً والتي وجدت معلقة بالجدار الخارجي للخلية البكتيرية وقد وجد أن جميع النسل الناتج من الفاج بعد تكاثره داخل الخلية البكتيرية والذي خرج بعد تحليل الخلية البكتيرية وانفجارها يحتوي على P^{32} فوسفور مشع مصدره بالطبع DNA الفاج الأصلي ولا يحتوي أي نسل من الفاج على أي أثر من S^{35} مما يدل على ان بروتين الفاج لم يكن له أي دور في انتقال المادة الوراثية إلى النسل في حين أن DNA هو المادة الوراثية (شكل ٥). ولقد استخدم الفاج في نقل المادة الوراثية وعلى سبيل المثال نقل جين من خلية الى خلية اخرى (شكل ٦).



شكل ٥: إثبات أن DNA للفاج T_2 هو الذي يحمل المعلومات الوراثية وان الغطاء البروتيني يستخدم فقط كغطاء واقي ولا يحمل أي معلومات وراثية.



شكل ٦: النقل الوراثي بواسطة الفاج

٣ - ثبات كمية DNA في الكروموسومات:-

بينت الدراسات في علم الخلية (Cytology) وعلم كيمياء الخلية (Cytochemistry) في الكائنات حقيقية النواة (eukaryotic) أن DNA يوجد في النواة فقط (فيما عدا DNA الميتوكوندريا والكلوروبلاست) بالاضافة إلى ذلك فقد ثبت أن كمية DNA في الخلية الثنائية العدد الكروموسومي (diploid cell) يكون ثابتاً دائماً للكائن الواحد ويساوي ضعف الكمية الموجودة في الخلية الجنسية الاحادية (haploid). بالإضافة إلى ذلك فإن DNA، بعكس البروتينات وغيرها من الجزيئات الآخرى في الخلية، يكون ثابتاً أيضياً Metabolically Stable بمعنى انه **لا تجري له عملية بناء ثم هدم** بسرعة ولكن بمجرد أن يتم بناؤه في الخلية فإن DNA يظل فيها محتفظاً بخواصه طالما أن الخلية تنمو نمواً طبيعياً.

شهد عام ١٩٥٣ الميلاد الحقيقي لعلم الوراثة الجزيئية بالمعنى الحديث حين أعلن **واتسون وكريك** Watson and Crick نموذج الحلزون المزدوج لتفسير تركيب جزيء DNA (شكل ٧). وذلك بعد اجرائهما لدراسات مستفيضة وكذلك تفسيرهما الصحيح للنتائج التي اظهرتها صور انحراف الأشعة السينية X – ray diffraction التي أجراها **ويلكنز** Wilkins ، **وفرانكلين** Franklin لجزيء DNA وكذلك بالإستفادة من النتائج التي أعلنها **شاراجاف Charagaff** عام **١٩٥٠** عن محتوى DNA من القواعد النيتروجينية فيما يعرف بقاعدة شاراجاف. وقد قوبل هذا النموذج في البداية بحملة من عدم التصديق الا أن البحوث والدراسات المستفيضة في هذا المجال أثبتت أن هذا النموذج هو الوحيد حتى الآن الذي يمكن على أساسه تفسير خواص المادة الوراثية وبذلك فتح الباب على مصراعية لتطور علم الوراثة الجزيئية. والجدول رقم ٢ يبين بعض الأحداث الهامة في مجال تطور علم الوراثة الجزيئية.

جدول ٢: أهم الإنجازات في مجال الوراثة الجزيئية.

١٨٦٩	ميشر (Miescher) عزل مادة DNA لأول مرة وأسماها نيوكلين Nuclein .
١٩٢٨	**فريدريك كَريفيث (**Frederick Griffith**)** إمكانية انتقال المادة الوراثية من بكتيريا ميتة ألى بكتيريا اخرى حية.
١٩٤٣	**هامرلنغ** التأكد من دور نواة الخلية كمستودع للمعلومات الوراثية في الكائنات الحية حقيقية من خلال عمله على الطحلب وحيد الخلية.
١٩٤٤	**أسولد أفري** (Oswald Avery) **ومعاونوه أثبتوا أن DNA هو المادة الوراثية من خلال تجارب التحول الوراثي في بكتريا القولون.**
١٩٥٠	**شاراجاف (Charagaff) اثبت العلاقة بين كمية القواعد النيتروجينية في جزيء DNA (C = G , A = T).**
1952	**هيرشي Hershey أثبت أن DNA هو المادة الوراثية في تجارب الانتقال الوراثي (انتقال بالفاج).**
1953	**جيمس واطسون وفرانسيس كريك Watson and Crick أعلان نموذج الحلزون المزدوج لتركيب جزيء DNA.**
1957	كورنبيركَ Kornberg إكتشاف انزيم بلمرة جزيء DNA (DNA Polymerase).
1961	مارمور ودوتي Marmur and Doty أكتشاف خاصية إعادة الاتحاد (Renaturation) في جزيء DNA المدنتر (Denatured) مما فتح المجال لعملية التهجين بين جزيئات الاحماض النووية.
١٩٦٢	اربر Arber أعطى اول دليل على وجود انزيمات القطع المحددة DNA (Restriction endonucleases) مما أدى بعد ذلك إلى تنقيتها واستخدامها في دراسة تتابع DNA بواسطة ناثان وسمث (Nathan and Smith).
١٩٦٦	نيرنبيرك واوكوه وخورانا (Nirenberg, Ochoa and Khorana) فك الشفرة الوراثية (Genetic Code).
١٩٦٧	جيليرت Gellert اكتشاف انزيم اللحام (DNA ligase) الذي يستخدم في وصل شظايا DNA ببعضها.
١٩٧٠	تيمن و ميتزوتاني وبالتيمور Temin, Mizutani and Baltimore اكتشاف انزيم النسخ العكسي (Reverse Transcriptase) الذي أدى فيما بعد إلى الحصول على جينات تركيبية Synthetic genes (cDNA).
١٩٧٢ - ١٩٧٣	تطور تقنيات كَلوَنَه DNA في معامل Beng, Cohen and Boyer
١٩٧٥ - ١٩٧٧	Maxam and Gilbert, Sanger and Barrell استنباط طرق سريعة لدراسة تتابع القواعد في جزيءDNA .
١٩٨١ - ١٩٨٢	Palmiter & Brinster انتاج فئران محوله وراثياً. كما أنتج Spardling دروسوفيلا محوله وراثياً.
١٩٨٣	**كاري بانكس موليس** طور تفاعل البوليميريز المتسلسل polymerase chain reaction (PCR).
١٩٨٣	Cech & Altman (حصلا على جائزة نوبل عام ١٩٨٩) أثبتا أن RNA يمتلك خواص انزيمية.
١٩٨٨	اختيار Watson كمنسق عام لمشروع الجينوم البشري.
١٩٨٩	اللجنة الإستشارية للمعهد القومي للصحة لبحوث DNA توافق لأول مرة على تجربة نقل جين بشري.
١٩٨٩	استطاع Collins & Tsui ومعاونوهما أن ينسخوا أي يكلونوا (Clone) جين التليف الحويصلي وهو الجين الذي يؤدي أليله الطافر إلى موت طفل من كل ٢٠٠٠ طفل في الولايات المتحدة ، ويدعى هذا المرض بمرض الطفولة الممت.

تركيب جزيء DNA (DNA Structure)

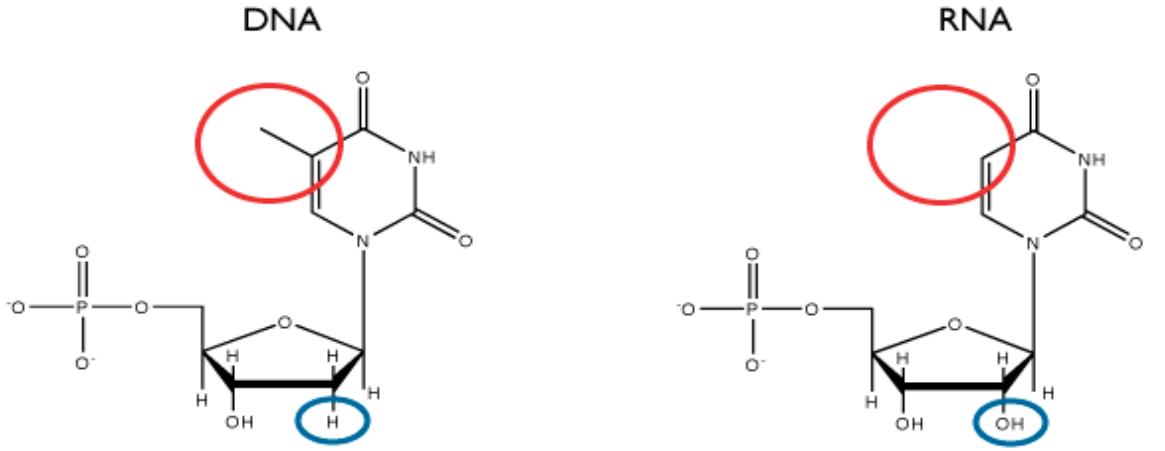
قبل أن نتطرق إلى تركيب جزيء DNA (الحلزون المزدوج) يجدر بنا أولاً أن نتعرف على المكونات الكيميائية للأحماض النووية بنوعيها DNA و RNA نظراً للأدوار الرئيسية التي تقوم بها في حفظ المادة الوراثية ونقلها من جيل إلى جيل.

الأحماض النووية Nucleic Acids :-

تلقى الأحماض النووية عظيم الإهتمام في الدراسات والبحوث في الحقبة الحالية لما أحدثتة من ثورة في العلوم البيولوجية. ولا شك ان هذه الثورة العلمية التي نعيشها الآن في مجال دراسات الأحماض النووية سيكون لها أبلغ الأثر في حياة الإنسان في القرن الحادي والعشرين.

أنواع الأحماض النووية Types of Nucleic Acids :-

١. حامض الديوكسي رايبونيوكلييك **Deoxyribonucleic acid (DNA)**
٢. حامض الرايبونيوكلييك **Ribonucleic acid (RNA)**



There are two differences between the structure of DNA (on the left) and RNA (on the right). DNA contains a sugar group with a 2' hydrogen, while RNA contains a 2' hydroxyl group (circled in blue). DNA contains the base thymine, which base pairs with adenine. Instead of thymine, RNA contains a related base called uracil. Uracil is similar to thymine but lacks a methyl group (circled in red). Like thymine, uracil can base pair with adenine.

شكل 7:

ويوجد ثلاثة انواع من الحامض النووي **RNA** وهي:-

a. الحامض النووي الرسول **mRNA** ويقوم بنقل الشفرة الوراثية من الجينات في النواة إلى الرايبوسومات، ليتم تصنيع البروتينات المختلفة داخل السيتوبلازم.
b. الحامض النووي الناقل **tRNA** ويقوم بنقل الأحماض الأمينية في السيتوسول إلى الرايبوسومات لاستخدامها في عملية بناء البروتينات.
c. الحامض النووي الرايبوسومي **rRNA** يستخدم في إنتاج الرايبوسومات في النوية داخل نواة الخلية.

وقبل التطرق بشئ من التفصيل إلى وظيفة تلك الأنواع من الأحماض النووية، يجب معرفة اهم الفروقات بين تلك الأحماض (الجدول ٣).

جدول ٣: الفرق بين الحاض النووي **DNA** والحامض النووي **RNA**.

وجة المقارنة	**الحاض النووي DNA**	**الحامض النووي RNA**
وجوده	النواة بشكل رئيسي ويتواجد بشكل بسيط في	النواة والسايتوبلازم

	والمايتوكوندريا والكلوروبلاست	
الوظيفة	المادة الوراثية ومكون للكروموسومات	يساعد ال **DNA** في الوظيفة
أنواعه	ليس له أنواع	١. الحامض النووي الرسول **mRNA** ٢. الحامض النووي الناقل **tRNA** ٣. الحامض النووي الرايبوسومي **rRNA**
السكر الخماسي	الديوكسي رايبوز	الرايبوز
القواعد النيتروجينية	الأدنين – **الثايمين** – الگوانين - السايتوسين	الأدنين – **اليوراسيل** – الگوانين - السايتوسين
الشكل	ثنائي حلزوني الشكل (Double helix) ويتكون من سلسلتين من متعدد النيوكليوتيدات	يتكون من خيط واحد من النيوكليوتيدات المتعددة

تعد الأحماض النووية من الجزيئات الكبيرة الحجم نسبياً وذات أهمية بيولوجية قصوى. تحتوي معظم الكائنات الحية على كميات متفاوتة من الأحماض النووية بنوعيها DNA و RNA في حين أن بعض الفايروسات لايوجد بها الا DNA والبعض الآخر لايحتوي إلا على RNA فقط. يوجد DNA في الكائنات الحقيقية النواة (Eukaryotic) داخل النواة في حين يتكون RNA في النواة ثم يمر منها إلى السايتوبلازم حيث يتم بناء البروتين على الرايبوسومات.

يتكون جزيء الحامض النووي من سكر خماسي (رايبوز في حالة RNA ، وديوكسي رايبوز في حالة DNA) وحامض الفوسفوريك وقواعد نيتروجينية وهي اما من نوع البيورين (Purine) مثل أدينين adenine (A) وگوانين guanine (G) وهي ثنائية الحلقة أو من نوع البايريميدين (Pyrimidine) مثل السايتوسين cytosine (C) والثايمين thymine (T) وهي احادية الحلقة. وكذلك اليوراسيل uracil (U) في حالة RNA.

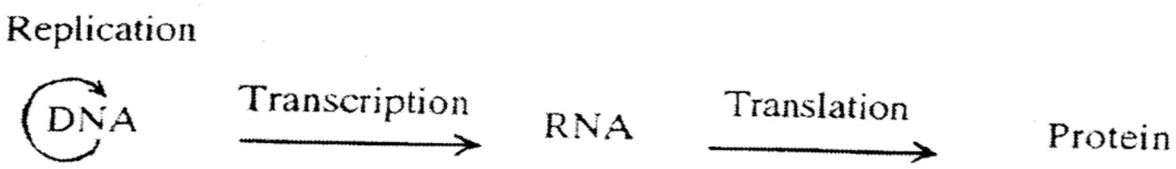
يؤدي التحليل المائي الكامل لجزيء DNA إلى :-

DNA ——— سكر خماسي + قواعد نتروجينية + حامض فوسفوريك

(A, G / T, C) (ديوكسي ريبوز)

يعتبر DNA من المكونات الأساسية للكروموسومات وهو يمثل المادة الوراثية لمعظم الكائنات الحية، وهو المادة الموجهة لعمليات إنتقال الصفات الوراثية من الآباء إلى الذرية، لذلك يعد ال DNA المخزن الرئيسي للمعلومات الوراثية وان لهذا الجزيء القدرة على مضاعفة نفسه (Self-duplication) بنفس تركيبه السابق. ويتم نسخ (Transcription) المعلومات الوراثية الموجودة في جزيء DNA إلى نسخ (Copies) من RNA الذي يحتوي تتابع نيوكلتيداته على الشفرات "الثلاثية الأحرف"

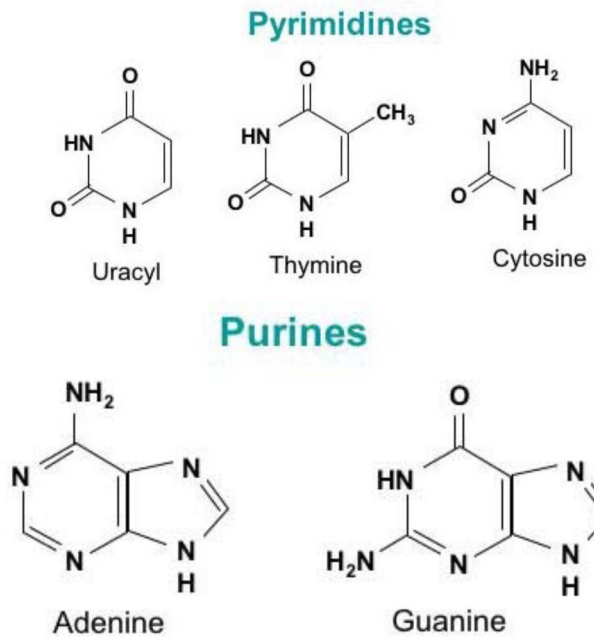
الخاصة بتتابع الأحماض الأمينية عندما يتم بناء البروتينات في عملية تعرف بالترجمة (Translation) لهذه الشفرات. يطلق على تتابع أو سير هذه الأحداث البيولوجية الهامة اسم المبدأ المركزي (Central Dogma) ويمكن تلخيصها كالآتي:-



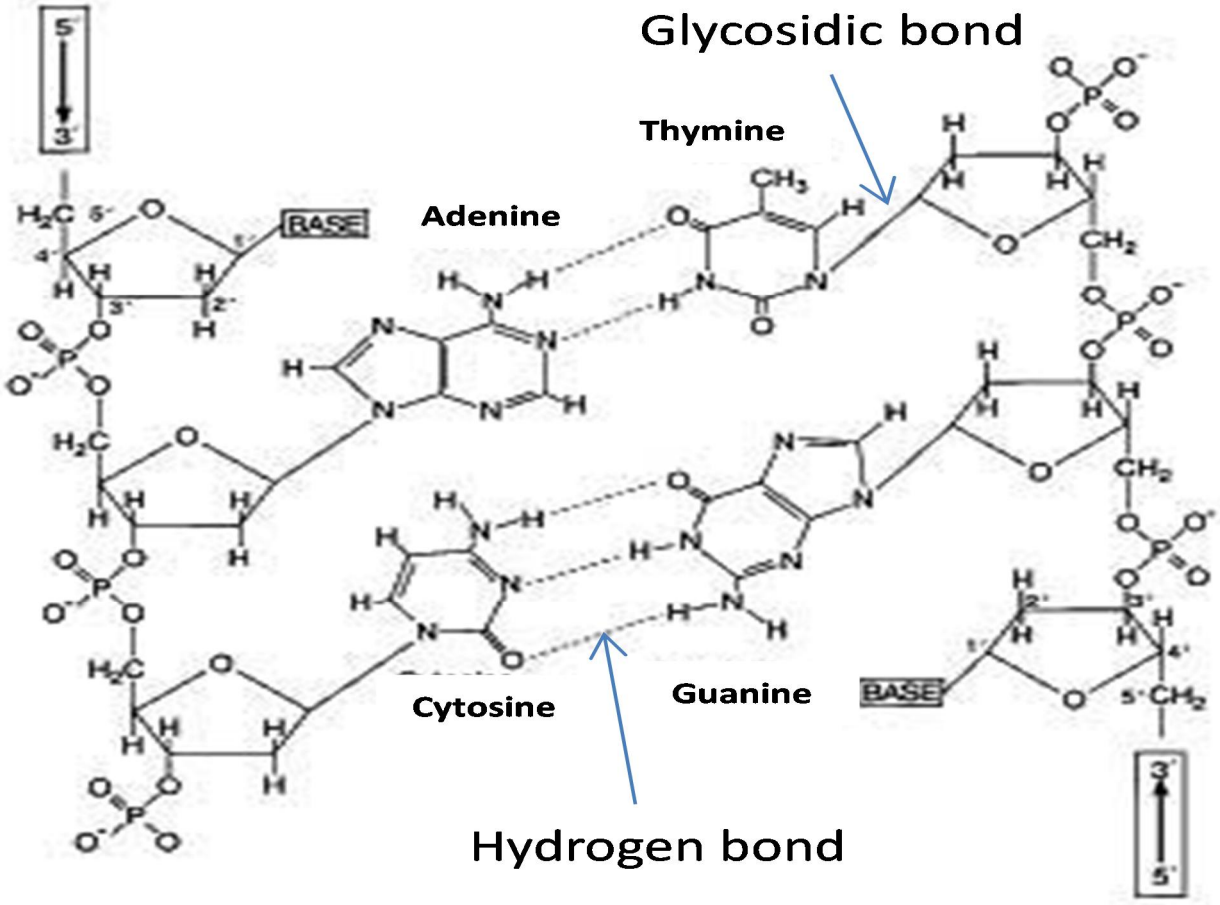
حيث يشير السهم الدائري حول DNA إلى قدرته على التضاعف الذاتي، في حين يتم نسخ جزيء RNA على قالب من DNA وتتم عملية بناء البروتين بالاعتماد على تتابع القواعد (الشفرات) في جزيء DNA التي يقال لها انها تترجم إلى تتابع مقابل من الأحماض الأمينية التي يتم ربطها على الرايبوسوم بروابط بيبتيدية.

ففي عام ١٩٥٣ ، قدم البيولوجيان **واطسون** James Watson (الأمريكي) **وكريك** Francis Crick (البريطاني) بالتعاون مع عالم الفيزياء الحيوية **ولكنز** Maurice Wilkins (النيوزلندي) في جامعة كامبريدج في انكلترا نموذجاً يوضح التركيب الجزيئي لحامض ال DNA . وحسب هذا النموذج تترتب النيوكليوتيدات على صورة شريطين two strands متكاملين complementary ويلتفان حول بعضهما فيكونان حلزوناً مزدوجاً طويلاً سمكه ٢ نانومتر، وطول اللفة الكاملة منه ٤.٣ نانومتر ويتكون جزيء الحامض من عدة آلاف من هذه اللفات.

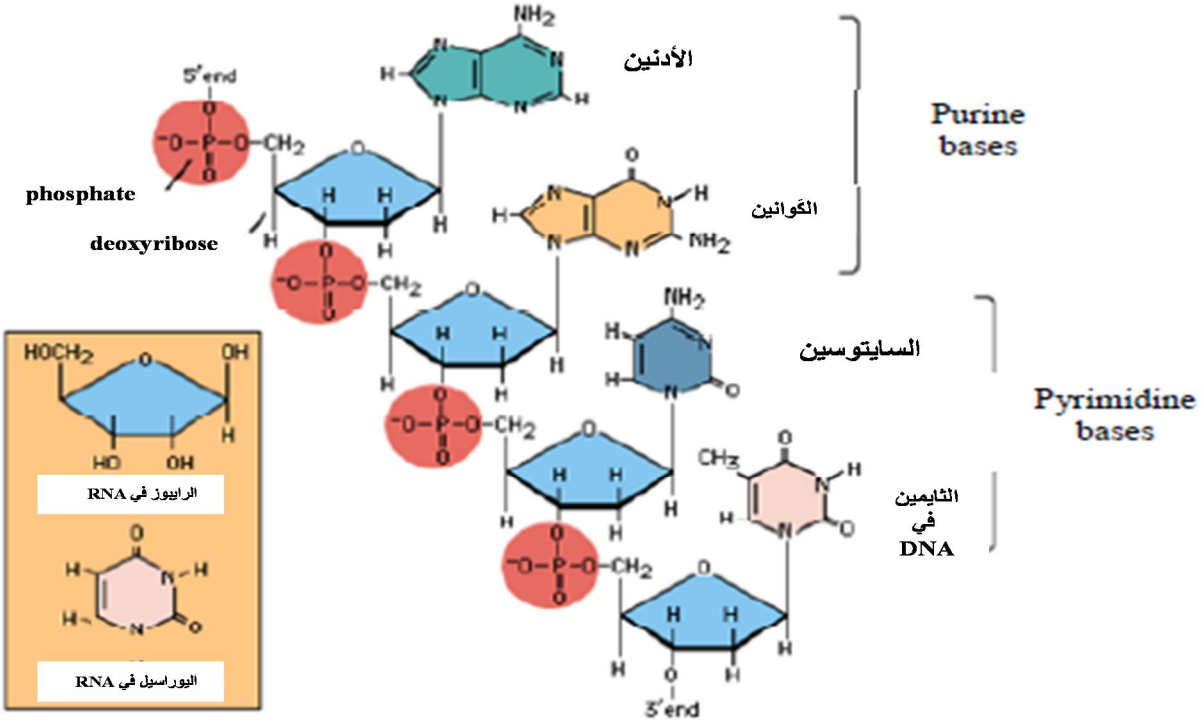
يتكون جزيء الحامض النووي من متعدد خطي من الوحدات البنائية الأساسية التي يطلق على كل منها نيوكليوتايد Nucleotide وتتكون النيوكليوتيدة من ١- مجموعة فوسفاتية ٢- وسكر خماسي ٣- وقاعدة نايتروجينية والتي تكون على طرازين: أحدهما هو البيورينات Purines وهي مركبات عضوية ثنائية الحلقات وهي الأدنين Adenine والگوانين Guanine ،أما الطراز الثاني فهو البيريميدينات Pyrimidines وهي مركبات عضوية أحادية الحلقة وهي الثايمين Thymine والسايتوسين Cytosine (شكل 8) وترتيط النيوكليوتيدات مع بعضها بروابط **فوسفودايسترية ثنائية** (Phosphodiester bond) (شكل 9). تصل هذه الرابطة ذرة كربون رقم '5 في السكر الخماسي للنيوكلتيد بذرة كربون رقم '3 في السكر الخماسي للنيوكليوتيدة التالية لها. وعلى ذلك فإن الهيكل الأساسي للحامض النووي DNA يتكون من تعاقب السكر الخماسي مع حامض الفوسفوريك في حين تتصل القواعد النيتروجينية بهذا السكر برابطة **گليكوسيدية** (glycosidic bond) كما في الشكل ٩ و ١٠. لذا فمن الممكن تكوين عديد النيوكليوتيدات بأي طول كان. وأن النيوكليوتيدات يمكنها أن ترتبط مع بعضها بأي طراز. ومهما كان طول هذه السلسلة فلها نهايتين، النهاية الخامسة The 5`end والتي لها ذرة الكربون الخامسة والنهاية الثالثية The 3`end والتي لها ذرة الكربون الثالثة والتي لا ترتبط بنيوكليوتيد آخر.



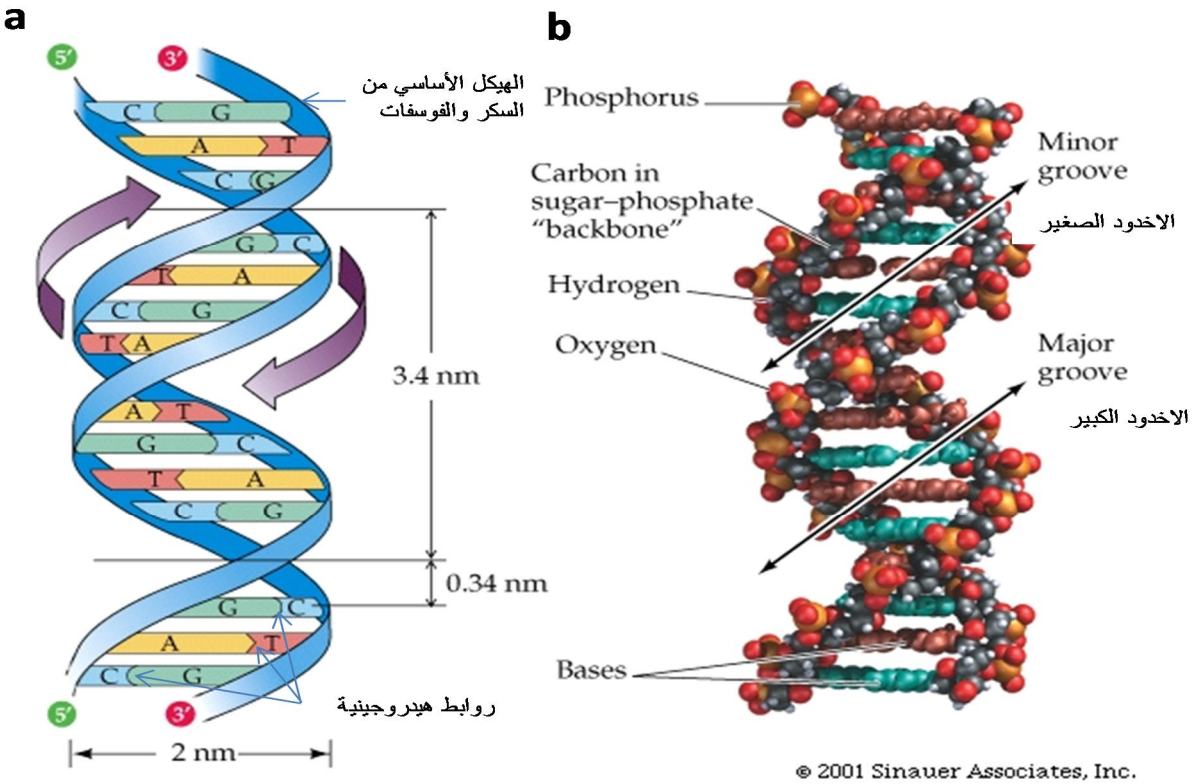
شكل 8: انواع القواعد النيتروجينية المختلفة الموجودة في النيوكليوتايدات والتي هي الوحدات البنائية الأساسية التي يتكون منها جزيء الحامض النووي DNA.



شكل 9: الهيكل الأساسي للحامض النووي DNA.



شكل ١٠a: التركيب الجزيئي للمادة الوراثية في شريط DNA.



شكل ١٠: نموذج الحلزون المزدوج لجزيء DNA. تتزاوج (تلتف) سلسلتان متكاملتان في تتابعات النيوكليوتيدات ومتضادتان في ألإتجاه على شكل حلزون مزدوج يميني الدورة. حيث شكل a يمثل رسماً تخطيطياً للنموذج والشكل b يمثل نموذجاً فراغياً.

قاعدة شاراجاف Charagaff لتزاوج القواعد النيتروجينية:-

قام شاراجاف عام ١٩٤٩ – ١٩٥٣ بتحليل محتوى جزيء DNA من القواعد النيتروجينية في عدد كبير من الكائنات الحية المختلفة (الجدول ٤) وقد وجد ان القواعد الأربعة **لاتوجد بكميات متساوية** كما ان **نسبتها تختلف من نوع من الكائنات إلى النوع الآخر** مما أدى إلى الإعتقاد بان تتابع القواعد النيتروجينية في جزيء DNA

أكثر اهمية من كمياتها أو مقدارها في تحديد خصائصها الوراثية. كما اثبتت نتائج شاراجاف أيضاً أن **نسب القواعد النيتروجينية الأربعة ليست عشوائية** على الإطلاق حيث تبين أن كمية الأدنين (A) في جميع العينات تساوي كمية الثايمين (T) في حين تساوت كمية السايتوسين (C) مع كمية الكوانين (G). وقد ساعدت هذه القاعدة البيولوجية الهامة في فهم التركيب الثلاثي الأبعاد (المُجَسَّمْ) لجزيء DNA في الحلزون المزدوج.

جدول ٤: البيانات التي أدت الى استنباط قاعدة شاراجاف.

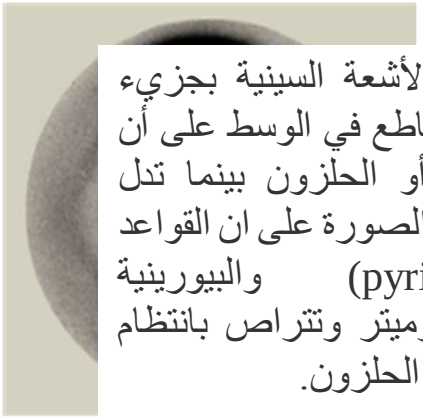
مصدر DNA	نسب القواعد				
	A/G	T/C	A/T	G/C	Purine/Pyrimidine
الثور	1.29	1.43	1.04	1.00	1.10
الإنسان	1.56	1.75	1.00	1.00	1.00
الدجاجة	1.45	1.29	1.06	0.91	0.99
سمك السالمون	1.43	1.43	1.02	1.02	1.02
نبات القمح	1.22	1.18	1.00	0.97	0.99
فطر الخميرة	1.67	1.92	1.03	1.20	1.00
فيروس الانفلونزا	1.74	1.54	1.07	0.91	1.00
بكتريا القولون (K_2)	1.05	0.95	1.09	0.99	1.00
البكتريا السبحية	0.40	0.40	1.09	1.08	1.10

مواصفات الحامض النووي DNA Characteristics :-

تم التعرف على معلومات هامه عن تركيب الحامض النووي DNA عن طريق حيود أشعة أكس X-ray diffraction أي انحراف أشعة أكس إنحرافاً ضئيلاً عند مرورها بحواف الحامض النووي كما ذكر العالمان **روزالين فرانكلين** Rosalin Franklin **وويلكنز** Wilkins بتحليل صور انحراف أشعة X لجزيئات DNA في فترة من ١٩٥٠ – ١٩٥٢ لتوضيح نموذج الحلزون المزدوج لجزيء DNA (DNA Double Helix). فحيود أشعة أكس هي بمثابة طريقة فعالة لتقدير المسافات بين الذرات الموجودة في جزيئات متراصة بانتظام (تركيب متعاقب من البلورات). ولأشعة أكس طول موجة قصير جدًا لدرجة أنها تتبعثر بواسطة الإلكترونات المغلفة للذرة في الجزيء. والذرات التي لها سحابة إلكترونية كثيفة مثل الفوسفور Phosphorus والأوكسجين Oxygen تسبب إنحراف الأشعة بقوة أكبر مقارنة بالذرات ذات العدد الذري الأقل.

من المعروف أنه عند تعريض التركيب البلوري للحامض النووي أشعة أكس المكثفة يحدث أن يسبب التركيب المنتظم للذرات في البلورة إلى حيود أشعة أكس أو إلتوائها في اتجاهات معينة. ونظام حيود أشعة أكس هذا يمكن رؤيته في فيلم ضوئي (فيلم تصوير) كنقاط معتمه (شكل ١١). وعن طريق التحليل الرياضي Mathematical analysis لترتيب النقاط المعتمه والمسافة بينها يمكن ان يستخدم لتقدير المسافة بين الذرات واتجاه هذه الذرات داخل الجزيء بدقة كاملة.

وعندما سعى العالمان واطسون وكريك لحل مشكلة تركيب الحامض النووي DNA كانت **روزالين فرانكلين** قد صور بالفعل عن طريق أشعة أكس X-ray فيلماً لنموذج الحامض النووي DNA والصورة أظهرت بوضوح أن الحامض النووي DNA عبارة عن تركيب حلزوني الشكل، وأن هناك **ثلاثة أنواع هامة من النماذج المنتظمة والمتعاقبة** في الجزيء والتي لها أبعاد ٤.٣ نانومتر، ٢ نانومتر. ومن هذا النموذج توصل فرانكلين إلى أن القواعد النيوكليوتيدية Nucleotide bases (والتي هي عبارة عن جزيئات مسطحة) هي عبارة عن رفوف متراصة فوق بعض مثل درجات السلم المتراصة فوق بعضها. وباستخدام هذه المعلومة بدأ العالمان واطسون وكريك بوضع عدة نماذج لمكونات الحامض النووي DNA مع محاولة توفيقهم مع بعض ليتفقوا مع البيانات المأخوذة من تجارب **روزالين فرانكلين**. وبعد عدة تجارب قاما العالمان بوضع نموذج للحامض النووي DNA يتكون من سلسلتين من عديد النيوكليوتيد two nucleotide chains ملتفين حول بعضهما في صورة حلزون مزدوج. ونجد ايظاً أن السكر والفوسفات المكونين للعمود الفقري للسلسلتين يكونا الجدار الخارجي للحلزون، أما القواعد المتصلة بكلتا السلسلتين فتوجد في الوسط.
وفي نفس الوقت أمكن تحديد الروابط الفوسفواستيرية الثنائية التي تربط بانتظام بين النيوكليوتيدات في سلسلة DNA كما كان لقاعدة إدون شاراجاف اهمية كبيرة في التوصل إلى معرفة العلاقة بين القواعد النيتروجينية في جزيء DNA ذو التركيب الحلزوني المزدوج. أدى ذلك وغيره من الأبحاث إلى إعلان واتسون Watson وكريك Crick عام ١٩٥٣ عن نموذج الحلزون المزدوج لتفسير تركيب جزيء DNA بحيث توفرت في هذا النموذج الخواص والشروط المطلوبة للمادة الوراثية.



شكل ١١: صورة انحراف الأشعة السينية بجزيء DNA حيث يدل الطراز المتقاطع في الوسط على أن الجزيء يأخذ شكل اللولب أو الحلزون بينما تدل المناطق الكثيفة في قمة وقاعدة الصورة على ان القواعد البيريميدينية (pyrimidines) والبيورينية (purines) بسمك ٣,٤ نانوميتر وتتراص بانتظام متجاورة ومتعامدة على محور الحلزون.

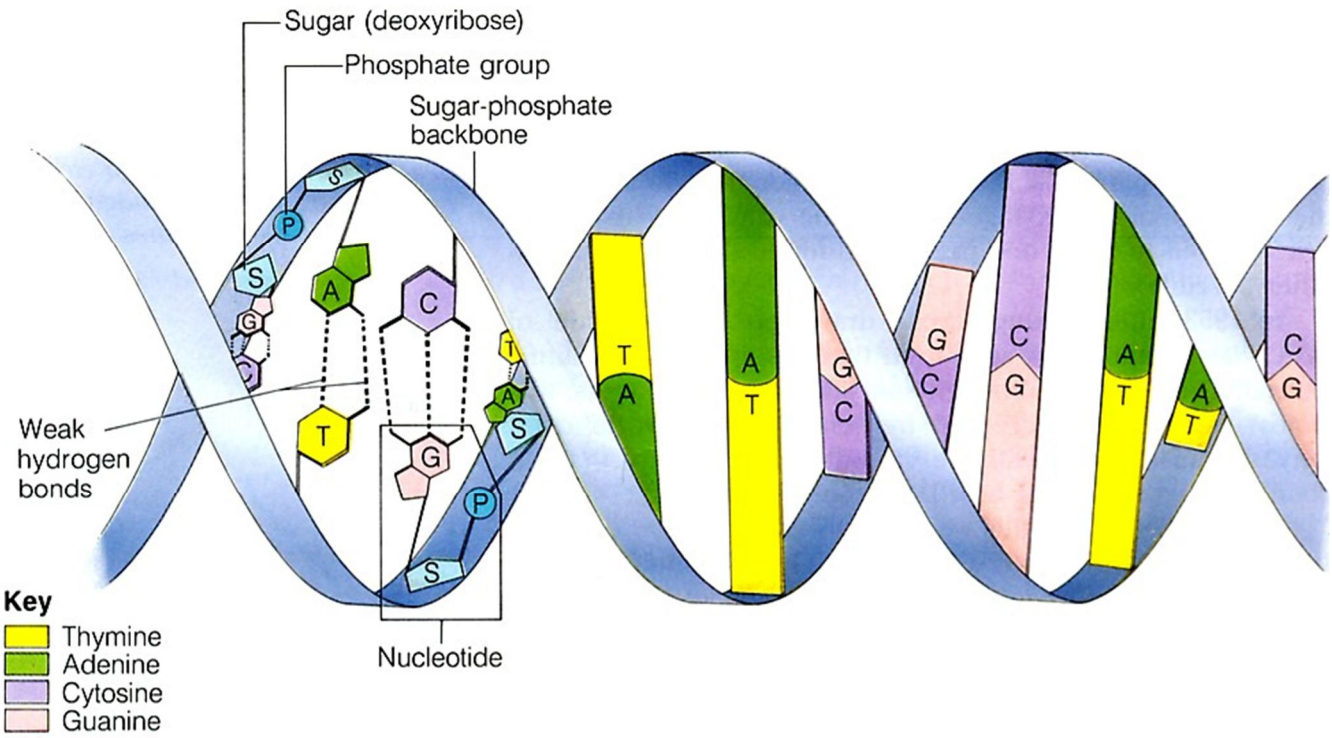
يتكون جزيء DNA حسب هذا النموذج من سلسلتين متكاملتين من متعددات النيوكليوتيدات ملتفة أو متحلزنة كل حول الأخرى بانتظام في شكل لولب مزدوج **يميني الإتجاه**. وتتكون كل سلسلة في هذا الحلزون من عديد من النيوكليوتيدات المرتبطة بروابط فوسفواستيرية ثنائية بين السكر والفوسفات في حين ترتبط القواعد النيتروجينية بالسكر برابطة كليكوسيدية (glycosidic bond) وتكون متعامدة على المحور الاساسي للجزيء وموجودة إلى الداخل بحيث تتقابل القواعد النيتروجينية من احدى السلسلتين مع القواعد المكملة لها في السلسلة المقابلة حسب قاعدة إدون شاراجاف (A=T , C=G). كذلك وجد ان القواعد النيتروجينية تكون مفلطحة واسطحها كارهة للماء مما يجعلها تتلاسق بقوى يطلق عليها قوى التراص (Stacking forces). ترتبط القواعد المتقابلة بين السلسلتين بروابط هيدروجينية بحيث ترتبط G مع C بثلاث روابط هيدروجينية في حين ترتبط A مع T برابطتين فقط (شكل ١٢).

وقد وجد ان هذة التزاوجات بين القواعد هي الوحيدة الممكنة نظراً لأن تقابل قاعدتين من نوع البيورين (ثنائية الحلقة وكبيرة الحجم نسبياً) سيحتل فراغاً كبيراً بحيث لا يسمح بتكوين حلزون منتظم ومن جهة أخرى سيؤدي تقابل قاعدتين من نوع البيرميدين معاً إلى شغل فراغ صغير نسبياً مما يؤدي إلى خلخلة غير مرغوبة في الحلزون.

يؤدي التقيد بقاعدة تزاوج القواعد هذه Base Pairing Rule إلى وجود علاقة تكامل صارمة بين تتابع القواعد بين السلسلتين في الحلزون المزدوج. فمثلاً إذا كان لدينا:

5' - ATGCAGTC - 3' على أحد السلسلتين
فنجد : 3' - TACGTCAG - 5' على السلسلة المقابلة.

يترتب على حتمية التزاوج بين A , T , G , C أنه لابد أن تكون الروابط الفوسفواستيرية الثنائية للسلسلتين موجهة في **اتجاهين متضادين Antiparallel** وعلى ذلك فإن الحلزون المزدوج إذا انقلب بواقع ١٨٠ درجة فانه سيبدو ظاهرياً مطابق للحلزون الأصلي (شكل ١٢).



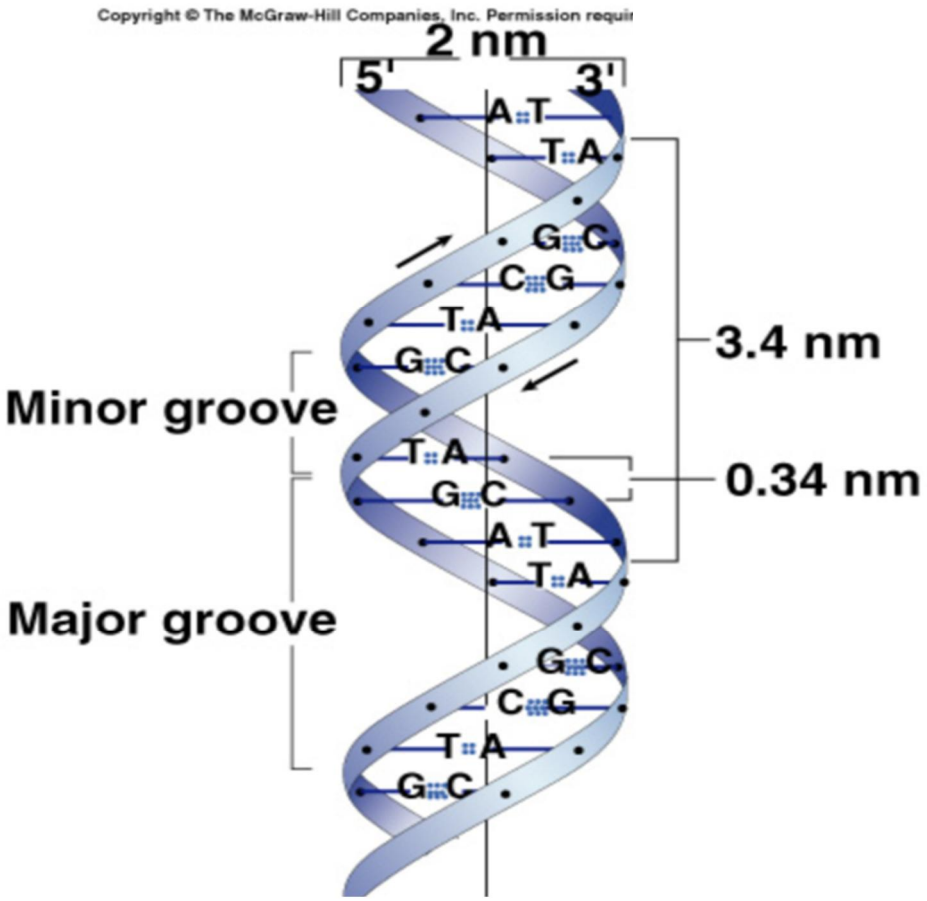
شكل ١٢: نموذج الحلزون المزدوج. يظهر الهيكل الفوسفوري الثلاثي كشريط في حين تتراص القواعد النيتروجينية على بعضها متعامدة على المحور الطويل للحلزون.

تبين ان الروابط الكَليكوسيدية التي تربط القواعد بالسكر **لاتكون مواجهه لبعضها البعض بالضبط** مما يؤدي إلى أن الهيكل الأساسي (سكر – فوسفات) لسلسلتي الحلزون المزدوج لايكونان على مسافات متساوية من محور الحلزون وبذلك يكون الاخدودان المتكونان على طول المحور الأساسي غير متساويان في الحجم (العمق) (شكل ١٣). فيتكون اخدود عميق يسمى الاخدود الكبير أو الرئيسي (Major groove) بالتناوب مع اخدود أقل عمقاً يسمى الاخدود الصغير (Minor groove).

تكون أرضية الاخدود الكبير مملوءة بذرات النيتروجين والاوكسجين التي تخص أزواج القواعد التي تعلوه والتي تمتد إلى الداخل من الهيكل الاساسي الخاص بها.

وعلى العكس من ذلك نجد أن أرضية الاخدود الصغير تكون مملوءه بذرات النيتروجين والاوكسجين للقواعد والتي تمتد إلى الخارج في اتجاه الهيكل الاساسي.

وقد تبين ان امكانات حدوث روابط هيدروجينية في الاخدود الكبير تؤدي إلى امكان زيادة الإعتماد عليه في التعرف على تتابع القواعد في جزيء DNA عما في الاخدود الصغير.



الشكل 13: يوضح الاخدودان المتكونان على طول المحور الأساسي لسلسلتي الحلزون المزدوج

وقد ادت هذه الحقيقة إلى التكهن بان بعض البروتينات المتخصصة (مثل البروتين المثبط Repressor أو المحفزpromotor) التي تتفاعل وترتبط مع تتابعات معينة على جزيء DNA عن طريق تكوين روابط هيدروجينية مع مجاميع معينة توجد على الأغلب في الأخدود الكبير.

خواص الأحماض النووية Properties of Nucleic Acid :-

تمتص **القواعد النيتروجينية** من نوع البيورين والبيريميدين الموجودة في الأحماض النووية **الأشعة فوق البنفسجية** بدرجة كبيرة عند موجة ذات طول ٢٦٠ نانومتر. وتستخدم هذه الخاصية لتقدير هذه القواعد النيتروجينية كمياً من خلال تقدير نيوكليوتيداتها وأيظاً الأحماض النووية الداخلة في تركيبها. وعلى كل حال، فإن للحامض النووي DNA **معامل امتصاص نوعي** عند طول الموجة ٢٦٠ نانومتر لاكنه يقل بمقدار حوالي ٣٥ – ٤٠ % عن معامل الإمتصاص النوعي المتوقع من حاصل جمع الإمتصاص لكل قاعدة (على حدة) من القواعد الداخلة بتركيب الحامض النووي DNA. وهذه النظرية تسمى **بنظرية التأثير الهيبوكرومي Hypochromic Influence Theory**. وهنا الإنخفاض في درجة الإمتصاص النوعي للأشعة فوق البنفسجية بالنسبة للقواعد النيتروجينية المتحدة بجزيئات الحامض النووي DNA عن

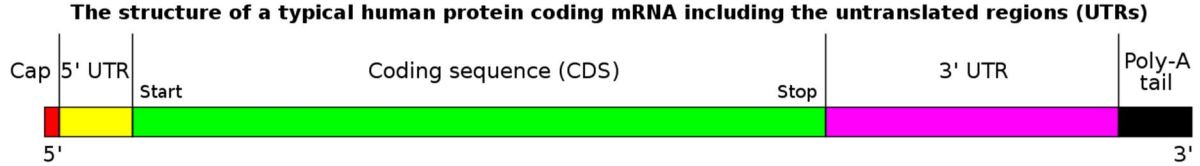
نظيرتها الحرة **يرجع ذلك لتكوين روابط هيدروجينية** بين القواعد النيتروجينية المتراكبة الواحدة فوق الآخرى في كل من السلسلتين الحلزونيتين للحامض النووي DNA. **وهذه الخاصية مفيدة في تقدير درجة الحلزنة Helicity الحامض النووي DNA.**

وعند تسخين الحامض النووي DNA المبلمر بدرجة كبيرة لكن ببطئ فإن السلسلتين الحلزونيتي الشكل تبتعدان عن بعضهما وتسمى عملية الإبتعاد هذه بعملية **إنفصال أو تشتيت السلسلتين Melting**. وهذا التحول من الشكل الحلزوني ذو السلسلتين إلى أي شكل عشوائي يحدث من خلال رفع درجة الحرارة ونتيجة لهذا التحول تزداد درجة الإمتصاص النوعي. وتسمى درجة الحرارة التي يحدث عندها الزيادة المفاجئة في الإمتصاص للأشعة فوق البنفسجية **بدرجة حرارة الإنفصال (Melting temperature Tm)** للحامض النووي. ولكل نوع من أنواع الحوامض النووية DNA درجة Tm خاصة به. أما عند إعادة تبريد المحلول ببطئ فإنة يحدث إعادة لتكوين الشكل الحلزوني ذو السلسلتين مع إمكانية حدوث تبادل بين السلاسل وتسمى هذه العملية **بالإلتحام Annealing**.

تركيب وتنظيم الجين Gene Structure and Regulation

لكي **يعبر الجين عن نفسه** وراثياً أي **يستنسخ الجين نفسه** ويكوين صورة على شكل الحامض النووي mRNA ليتم ترجمتها على الرايبوسومات لتكوين البروتين اللازم لإظهار صفة نباتية معينة يجب أن يتكون هذا الجين من ثلاثة مناطق:-

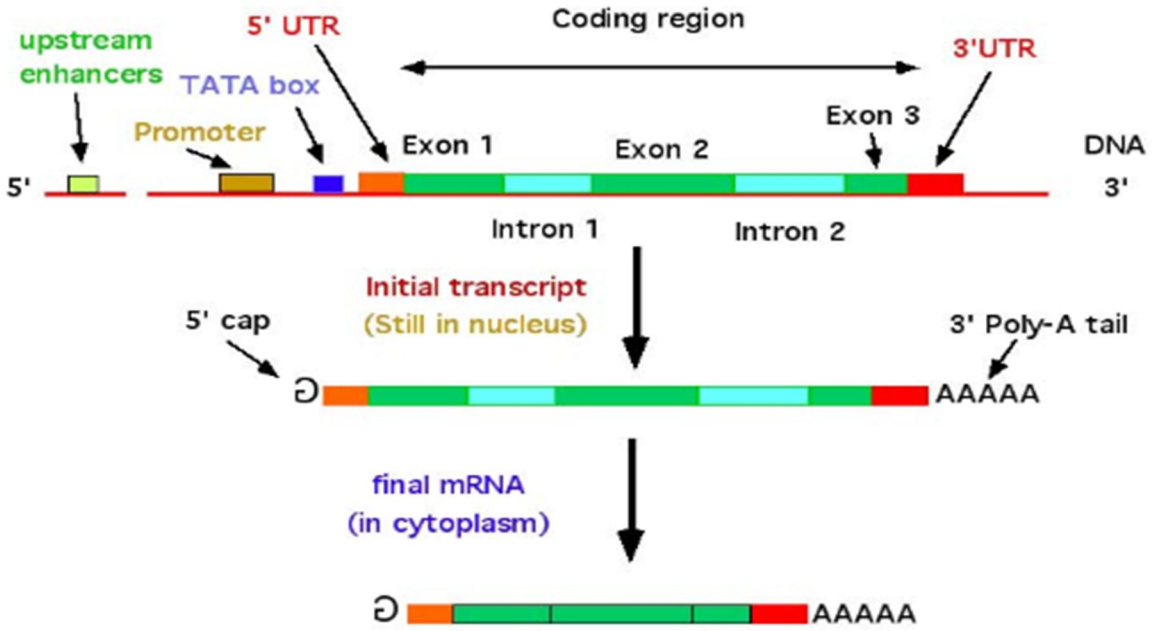
١. المنطقة الأولى: وتسمى **تسلسل المحفز Promoter sequence** :- وهي تساعد في تحديد **توقيت عمل الجين وموقع تعبير الجين** فهي بمثابة شفرة للجين نفسه وتحدد **مكان بدء نسخ الحامض النووي** الرسول **mRNA** (شكل 14).
٢. المنطقة الثانية هي **منطقة التشفير Coding region** وهي تحمل معلومات تحدد طبيعة البروتين الذي يشفره الجين التركيبي Structural gene.
٣. المنطقة الثالثة والتي يطلق عليها **منطقة الأدينين المتعددPolyadenylation** (Poly-A tail) وهي المسؤولة عن **إنهاء عمل نسخة الحامض النووي الرسول mRNA** على الوجه الصحيح وكإن تقول للجين إنهي عملية النسخ هنا.



شكل : تركيب الجين.

ولحسن الحظ أن أمام المتخصص في الهندسة الوراثية حرية واسعة في مزج هذه المناطق والمواءمة بينها وتجميعها من جينات مختلفة لتنتج ما يسمى **بالجينات الكيميرية أو الخليطة (Chimeric genes)** وبذلك أمكن للمتخصصين في الهندسة الوراثية إختبار محفزات متباينة، فأمكنهم توجيه تعبير الجين إلى أعضاء بذاتها مثل الأوراق أو البذور أو الجذور أو الدرنات بل إلى أنماط بذاتها من الخلايا داخل النسيج الواحد. فقد يصمم الجين الكيميري أو الخليط من جينات كائنات مختلفة **فالمحفز** من فايروس نباتي ومنطقة **التشفير** من بكتريا *E. Coli* وموقع **متعدد الأدينين Poly A**

من بكتريا تعود الى الجنس Agrobacterium ثم يتم الإيلاج في خلية نباتية تقوم بنسخ الحامض النووي mRNA لتترجمه الرايبوسومات Ribosomes لتنتج البروتينات التي هي هدف مصمم هذا الجين الكيميري.



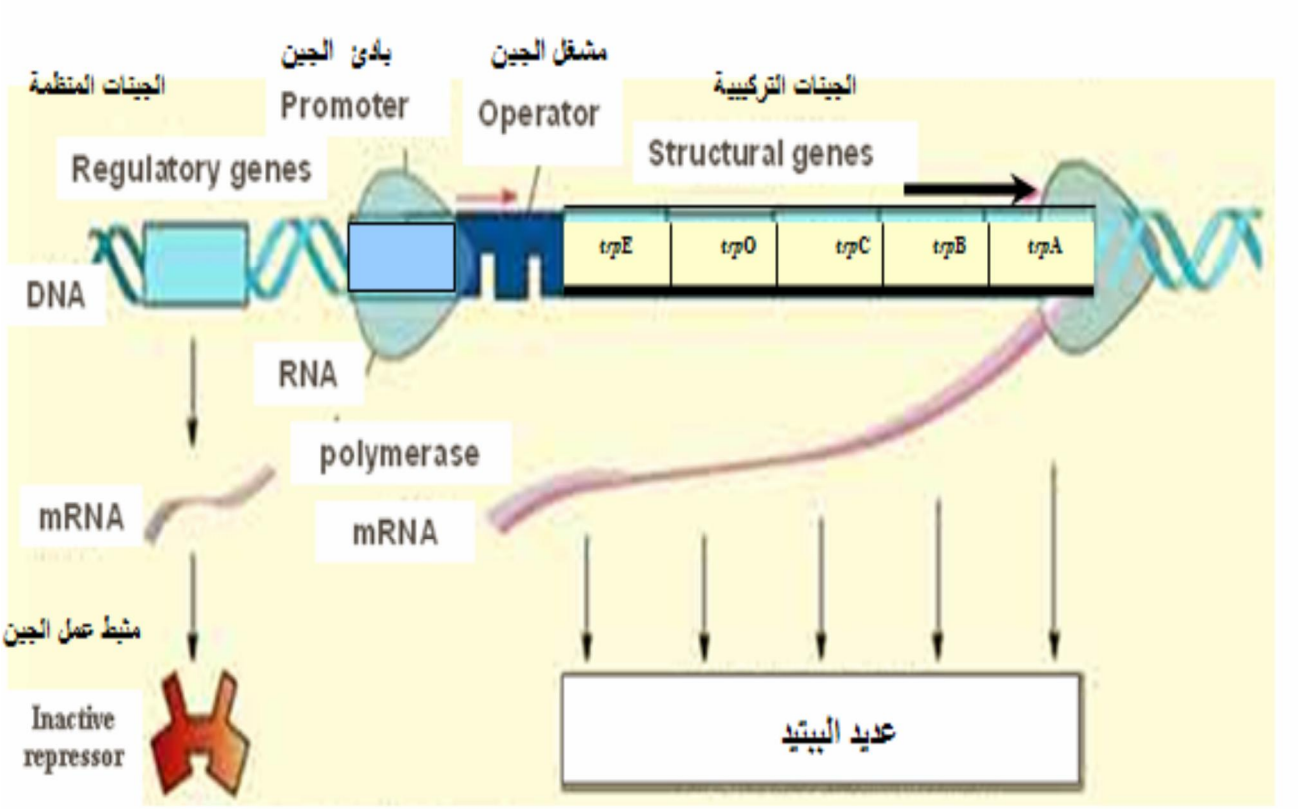
شكل ١٤: تركيب الجين ,إعادة التركيب لل RNA (RNA spilicing).

لقد قسم الباحثون الجينات من حيث الوظيفة إلى ثلاثة أنواع وهي:-

١. Regulatory genes: وهي **الجينات المنظمة** لعمل العديد من الجينات الأخرى والتي يطلق عليها اسم **الجينات العاملة أو الفاعلة**.
٢. Operator genes: وهي **الجينات العاملة** التي تتحكم في فتح وغلق عدد كبير من الجينات الأخرى التي يطلق عليها **الجينات التركيبية** Structural genes.
٣. Structural genes: وهي الجينات المسؤولة عن التركيب الخاص بالبروتينات أو ببروتين الإنزيم.

ولقد افترض ان تنظيم نشاط الجين يكون عن طريق الجينات العاملة أو الفاعلة Operator genes حيث يتحكم في فتح أو قفل عدد من الجينات التركيبية Structural genes والمسؤولة عن **انتاج انزيمات معينة تؤدي تفاعلات بايوكيميائية معينة في سلسلة من التفاعلات ينتج عنها في النهاية ظاهرة فسيولوجية معينة**. ويتم ذلك بان يقوم الجين المنظم Regulator genes بافراز مثبط لعمل الجينات العاملة أو الفاعلة Operator genes ويطلق على هذا المثبط اسم **القامع أو الكابح** ويفترض ان هذا المثبط (Repressor)عبارة عن بروتينات تقوم بمنع الجين العامل أو الفاعل من أتاحة الفرصة لإنزيم بلمرة الحامض النووي RNA من العمل وبالتالي لايؤدي وظيفتة. وقد أقترح أن ذلك يتم بطريقتين: الأولى هي أن المثبط يفقد قدرتة على التثبيط في وجود **منشط Effector** وعند غياب المنشط يقوم المثبط بالإلتصاق بمنطقة Operator فيمنع انزيم بلمرة الحامض النووي RNA من نسخ DNA وبالتالي لا تتم الرسالة (لا يتكوين الحامض النووي mRNA). وإن الآلية الثانية تتم عن طريق المنشط Effector والذي يلغي قدرة المثبط عن العمل وبالتالي يصبح Operator genes حر تاركاً الجينات التركيبية Structural genes قادرة على العمل من خلال اصدارها الأوامر الخاصه بتكوين البروتين وهي الحامض

النووي mRNA وبالتالي انتاج انزيمات متخصصة لإتمام تفاعلات معينة أوظهور ظاهرة فسيولوجية أو صفة أو تميز خلوي أو تكشف خلايا أو أنسجة معينة (شكل ١٥).

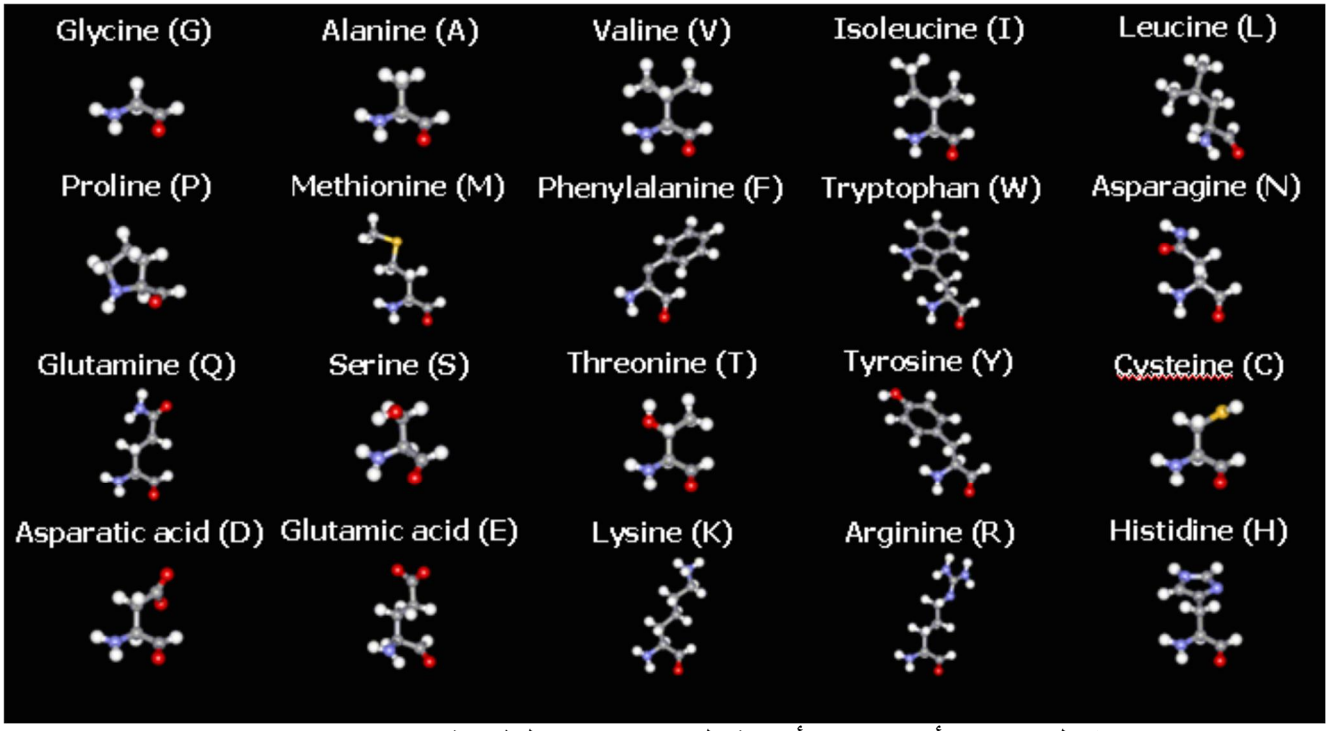


شكل ١٥: تنظيم عمل الجين.

وهناك نظريه تفترض ان **البروتين القاعدي المعروف بالهستون** والذي يحتوي على نسبه كبيره في تركيبه على الحامضين الامينين **الارجنين والليسين** والموجود بالكروموسومات يعمل كماده مثبطه لفصل المادة الوراثيه اذا ما اتحد بها وبذلك ينظم عملها من المراحل الجنينيه وحتى الموت. ويسبق منطقة العامل او Operator منطقة تسمى بمنطقة **المستبدئ** او **المحفز** Promoter وهي التي تحدد لإنزيم بلمرة الحامض النووي mRNA من أين يبدأ العمل.

إذن الجين Gene هو جزء صغير من DNA وهو بمثابة الحبات في المسبحة، وللجينات لغة تخاطب بها الخلية حيث تنقل اليها رسائل تقرأها الخلية فتنفذ ما فيها من تعليمات وأوامر بدقة متناهية، فلغة الجينات تتألف من أربعة حروف هي A, C, T, G السابق ذكرها. أما كلماتها فتتألف من ثلاثة حروف فقط من تلك الحروف الأربعة ولتلك اللغة شفرات لكي تفهمها الخلية كعلامات الترقيم والفواصل بمعنى إبدأ من هنا ، توقف هنا. **كما أن بعض الشفرات تعمل كأقواس بين الجمل ليست لها أهمية تسمى الإنترونات Introns**. وبعض أجزاء من DNA تعمل كمنظم لعمل الجين تعرف بالجينات المنظمة كما سبق ذكرة. وتلك هي السينفونية الربانية التي تعزفها الخلية لتقوم بوظائفها التي حددها الله في صورة هذا التسلسل والتتابع الدقيق للنيوكليوتيدات فيما يعرف بالحامض النووي DNA. وترسل النواة رسالة إلى الخلية تسمى رسالة الحامض النووي mRNA ليتم ترجمتها على المصنع الصغير المسمى بالرايبوسوم Ribosome فيتكون بذلك بروتيناً معيناً. يتكون هذا البروتين من تتابع للأحماض الأمينية حيث تتباين كيميائياً تبايناً واسعاً نتيجة تكونها من عشرين حامض أميني يجعل هذا التباين ممكناً ويتم بناء هذا العدد الهائل من البروتينات داخل الخلية بأوامرها التي ترسلها مع الرسول mRNA وبذلك يتكون الحامض الأميني الصحيح في المكان

الصحيح لينتهي الأمر بصناعة البروتين الذي يقوم بعضه بدور بنائي في الخلية والبعض الآخر له دور تنظيمي أي يقوم بتنظيم سير التفاعلات الحيوية داخل الخلية. **والبروتينات هي الوحدات المكونة للإنزيمات والتي تشبه الكماشة حيث تستطيع ربط المركبات الكيميائية معاً أو تجدلها معاً أو تفككها من بعضها ويتم ذلك بدقة متناهية.** والبروتينات هي التي تصنع الغشاء المحيط بالخلية كما تصنع الأبواب التي تسمح بدخول المركبات اليها أو خروجها منها من خلال إتحادها مع المركبات الداخلة أو الخارجة وتحور فيها حتى يمكنها الدخول أو الخروج، وحتى الكائنات الممرضة كالبكتريا فإن الإنزيمات هي أسنانها التي تقوم بتمزيق مكونات الخلية وتحليلها إلى مواد أبسط لإمتصاصها والتغذية عليها. ومن هنا يمكن القول أن **الشفرة الوراثية هي ترتيب النيوكليوتيدات Nucleotides في جزيء الحامض النووي mRNA الذي يذهب إلى الرايبوسوم حيث يترجم إلى تتابع للأحماض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد الذي يكون بروتيناً ما.** وكان معروف في بداية تفكير العلماء عن الشفرة الوراثية أن عدد الأحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة عشرون حامضاً وعدد القواعد النيتروجينية الداخلة في تركيب جميع النيوكليوتيدات أربعة هم أدنين (A)، گوانين (G)، سايتوسين (C)، ثايمين (T). وللحصول على لغة وراثية سليمة لابد من أن تشكل حروف هذه اللغة (القواعد النيتروجينية الأربعة) عشرين كلمة (الأحماض الأمينية)، وبالتالي الكلمة الوراثية (الحامض الأميني) إما أن يتكون من حرف أو حرفين أو ثلاثة أحرف أو أكثر ومنطقي إستحالة تكون الكلمة الوراثية من حرف واحد (قاعدة نيتروجينية واحدة) لأن معنى ذلك أن عدد الأحماض الأمينية هو أربعة فقط وهذا مناف للواقع حيث أن عددهم هو عشرون ولو كانت اللغة ثنائية الحروف ٤ x ٤ = ١٦ حامض أميني وهو أقل من العدد المطلوب (شكل ١٦) وجدول رقم ٥ يعرض مختصرات الأحماض الأمينية. إذن الشفرة الوراثية تتكون من ثلاثة حروف ٤ x ٤ x ٤ = ٦٤ حامض أميني أي أكثر من العدد الموجود فعلاً من الأحماض الأمينية، وبالرغم من ذلك فإن هذا العدد رغم أنه يزيد عن العدد الفعلي للأحماض الأمينية إلا أنه يمكن فهم هذا الفارق في العدد من خلال ادراكنا بان هناك عدة شفرات وراثية **ترمز** لحامض اميني معين أو **بالإيعاز** لامر معين.



شكل ١٦: الأحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة.

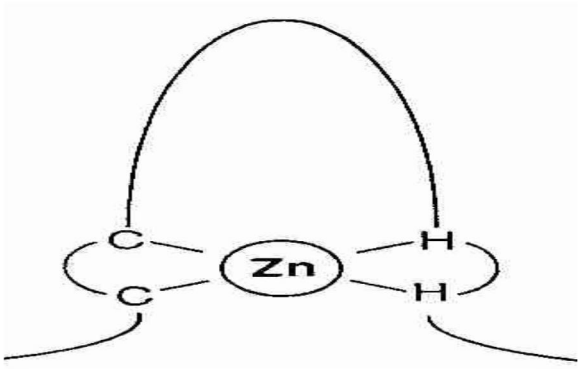
جدول ٥: مختصرات الأحماض الأمينية.

Ala: Alanine	Cys: Cysteine	Asp: Aspartic acid	Glu: Glutamic acid
Phe: Phenylalanine	Gly: Glycine	His: Histidine	Ile: Isoleucine
Lys: Lysine	Leu: Leucine	Met: Methionine	Asn: Asparagine
Pro: Proline	Gln: Glutamine	Arg: Arginine	Ser: Serine
Thr: Threonine	Val: Valine	Trp: Tryptophane	Tyr: Tyrosisne

ففي عام ١٩٦٥ عندما تم التوصل إلى الشفرة الخاصة بكل حامض أميني والتي يطلق عليها إسم كودونات Codons تأكد بعد ذلك أن هناك أكثر من شفرة لكل حامض أميني. أيضاً **هناك كودونات توقف آلية بناء البروتين**. كما أن هناك **كودون بداية**، أي يعطي الإشارة للنقطة التي يبدأ عندها بداية آلية جديدة لصنع بروتين جديد. ومما أظهرت الدراسات على الشفرة الوراثية أنها **عامة أو كونية** بمعنى أن الأحماض الأمينية في الكائنات المختلفة لها نفس الشفرة فمثلاً الحامض الأميني **الكَلايسين** (Glycine) في جميع الكائنات الحية يتواجد بشفرته المعروفة GGU, GGC, GGA وهناك ثلاثة كلمات لا تشفر شيئاً وهي UAA, UAG, UGA. ويتم توزيع الجينات على الكروموسومات بشكل مقنن وليس عشوائياً وهذا التحديد يتم بواسطة المسافات الفاصلة بين الجينات على الكروموسوم.

تنشيط الجين Gene Activation:-

لتنشيط أي جين لابد من وجود عدداً من البروتينات تعرف **بعوامل النسخ Transcription factors** التي ترتبط بجزيء من الجين يدعى **المنشط أو المعزز Promoter** ليتمكن باقي الجين من التعبير عن نفسة Gene expression في بدأ عمل نسخ الحامض النووي الرسول mRNA المسؤول عن إنتاج الإنزيم والذي يقوم بإتمام التفاعل الحيوي وإظهار الصفة المحددة وعليه فإن عامل النسخ هذا هو بمثابة مفتاح التشغيل للجين. وكان العلماء يفكرون في الوسيلة التي يهدي بها عامل النسخ هذا للوصول الى الجزء المنشط أو المعزز للجين حتى إمكنهم من فك اللغز عندما وجدوا أن أحد عوامل النسخ يحتوي على نتوءات عرفت فيما بعد بإسم **أصابع الزنك Zinc fingers** والتي وجد أنها وسيلة للتعرف على الجزء الخاص من الجين والمسؤول عن تنشيطه (شكل ١٧).



شكل ١٧: أصابع الزنك
(Cys – His Zinc finger).

إكتشف **كلاك** إصابع الزنك عام **١٩٨٥** ووجد إنها عبارة عن متواليات من أحماض أمينية تستطيع الإنطواء حول أيون الزنك ولقد إكتشف أصابع الزنك عندما حللت تتابعات الأحماض الأمينية في إحدى عوامل النسخ ووجد أن هناك ترتيب خاص لتتابع الأحماض الأمينية في تسع **تتابعات** أو **قطع متعاقبة** أو **وحدات متتالية** مرقمة من ١ –

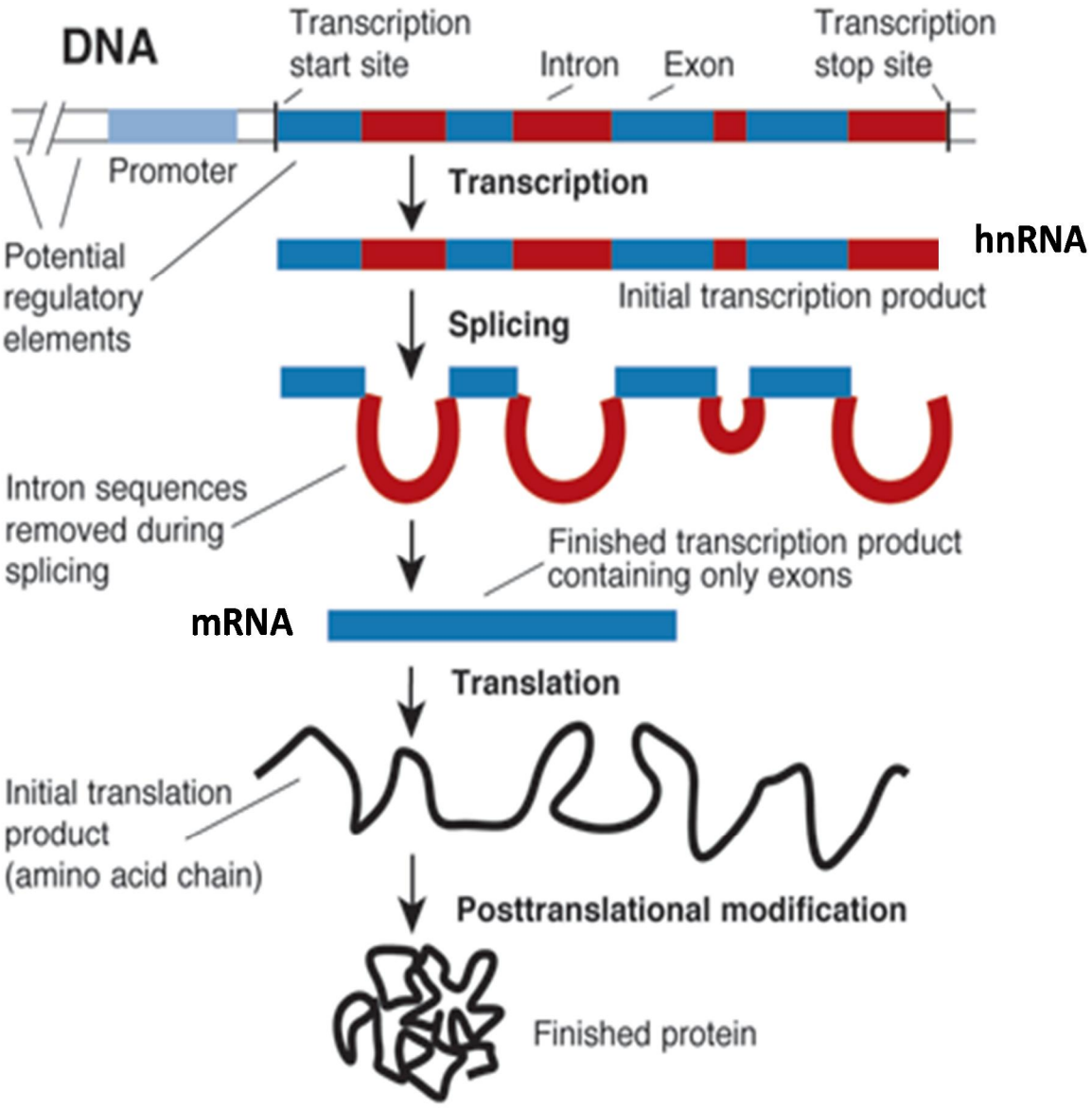
٩ بينهما تشابهات مهمة حيث تتشابه أو تتطابق وجود زوج من الأحماض Cysteine (C) وزوجاً من الأحماض Histidine (H) وان زوجي Cysteine و Histidine في كل وحدة بنائية ينضمان إلى أيون الزنك مما يجعل الأحماض الأمينية الموجودة بينهما تتخلق.

تعتبر أصابع الزنك رؤوس قارئة Reading heads تتصل ببعضها بوصلات مرنه. ونظراً لان الجين في الخلايا الحقيقة النواة Eukaryotes لا يتكون من **تتابعات شفرية مستمرة** بل تتخلله تتابعات غير شفرية طويلة بعكس جينات أولية النواة Prokaryotes فتسمى التتابعات التي تترجم بإسم الإكسونات Exons وتسمى التتابعات التي لا تترجم بإسم الإنترونات Introns . وتسمى النسخة الأولى من الحامض النووي RNA بإسم الحامض النووي heteronuclear RNA (hnRNA) وفي عملية تعرف **بإعادة التركيب** لل RNA **(RNA spilicing)** يتم فيها توصيل الإكسونات ببعضها وتنبعج الإنترونات إلى الخارج بشكل عروات قبل إستبعادها لتكوين الحامض النووي المرسال mRNA (شكل ١٨) .

ويضاف لجزيء الحامض النووي hnRNA ذيل عديد الأدنين Poly A Tail. ويبدو أن للذيل وظيفة تسهيل خروج الحامض النووي mRNA من النواة إلى الساتوبلازم ويؤخر هدمه في السايتوبلازم ليتيح الدخول في أكثر من دورة من دورات الترجمة.

التخليق الحيوي أو بناء البروتين Protein Synthesis:-

تحتوي الخلية على مجموعة من الحامض النووي الناقل tRNA وهي عبارة عن جزيئات من الاحماض النووية الرايبوسومية صغيرة الطول (٧٠-٩٠) نيوكليوتيدة. يسمح تركيب جزيء الحامض النووي tRNA بوجود موقعين نوعيين فيه حيث يمكن لاحد هذان الموقعان أن يتعرف على الحامض الأميني ويرتبط به بمساعدة إنزيم نوعي يسمى tRNA synthetase في حين يقوم الموقع الآخر وهو المحتوي على الكودون المضاد (Anticodon) والذي يحتوي على ثلاث قواعد بالتعرف على الكودون الموجود في تتابع جزيء الحامض النووي mRNA مما يسمح للأحماض الأمينية أن تصطف طبقاً لهذا التتابع النيوكليوتيدي. ويوجد لكل حامض أميني حامض النووي tRNA أو أكثر **والذي يعد بمثابة عربة لنقل الأحماض الأمينية من السايتوبلازم إلى الرايبوسوم** حيث يتحد الحامض الأميني المعين مع احدى نهايتي الحامض النووي الرايبوسومي في حين يتم التزاوج الصحيح بين الكودون ومضاد الكودون بالروابط الهيدروجينية وعليه يقوم الحامض النووي tRNA **بدور أساسي كوسيط في عملية الترجمه** ويقوم بتحويل تتابع النيوكليوتيدات إلى تتابع من الأحماض الأمينية وفي نفس الوقت يتم تكوين رابطة ذات طاقة عالية عند النهاية الكربوكسيلية لهذا الحامض بحيث يمكنها أن تتفاعل مع المجموعة الأمينية للحامض الأميني التالي (شكل ١٩).



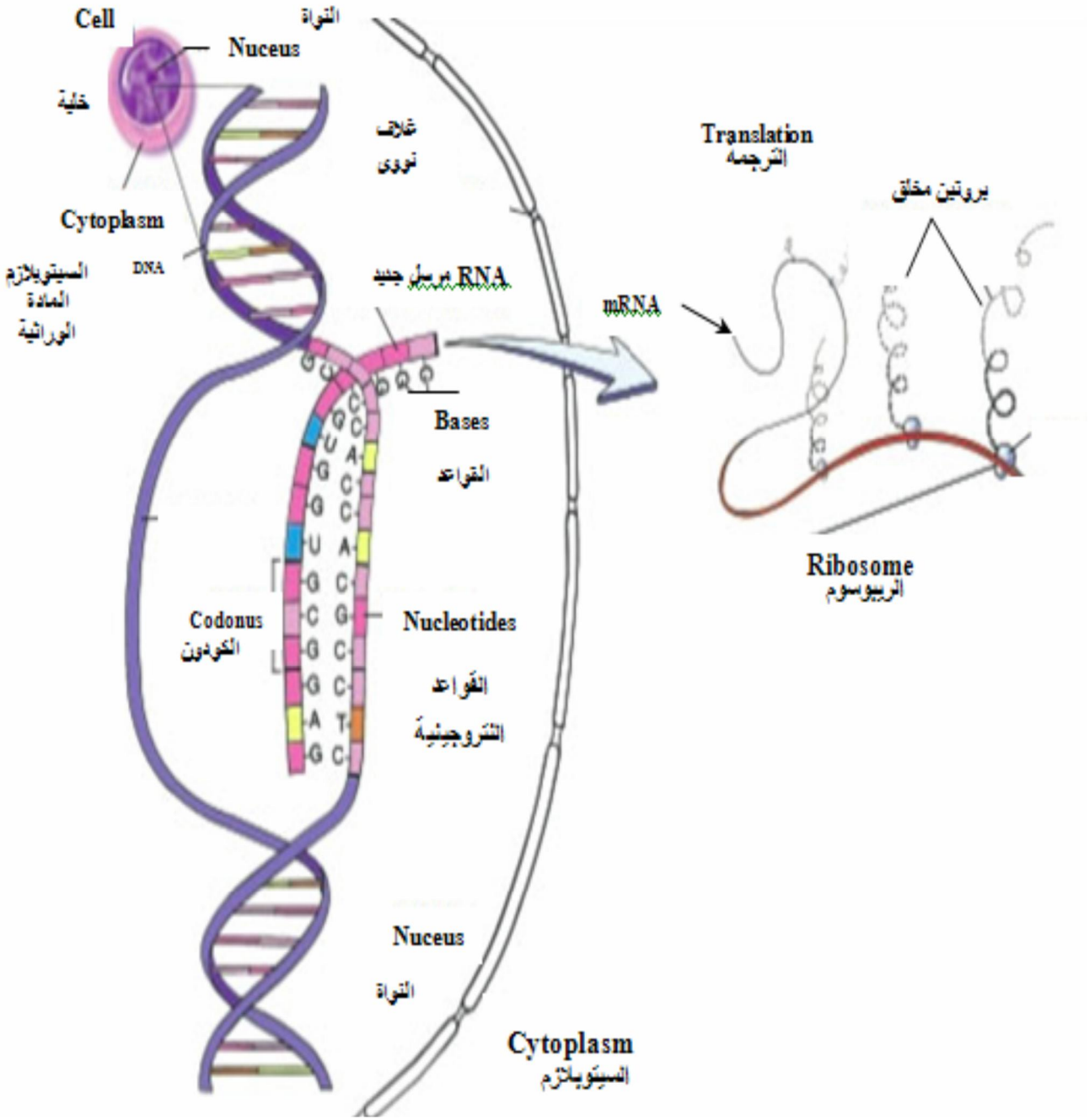
شكل ١٨: إعادة التركيب RNA (RNA splicing) حيث يتم فيها توصل الإكسونات ببعضها وتنبعج الإنترونات إلى الخارج بشكل عروات قبل إستبعادها.

ويتم نسخ الحامض النووي الرسول mRNA أي الرسالة التي ترسلها النواة إلى الخلية بشكل إنتقائي حيث يحدث نسخ جزئي فقط لتتابعات معينة من DNA الجين لإنتاج الحامض النووي mRNA. وتنتقي النواة جينات معينة لنسخها لتقوم بوظائف محددة تبعاً لنوع الخلية ومكانتها ووظيفتها في النسيج أو العضو لذلك **فانزيمات بلمرة الحامض النووي RNA** لابد لها من التعرف على منطقة **المستبدئ** أو **المحفز** الموجودة في الجين والمعروفة بإسم **Promoter** عن طريق إرتباط **بروتينات معينة** مع **تتابعات معينة** من DNA القالب لتنشيط المحفز. ويطلق على تلك البروتينات إسم **عوامل النسخ Transcription factors**، وهي بمثابة مفتاح التشغيل لبدء التناسخ، وتبحث عوامل النسخ على تتابع معين يعرف **بصندوق TATA** يتم التعرف عليه بإستخدام أصابع الزنك في عامل النسخ **ويكون عادة على بعد ٢٥٠ قاعدة من موقع بدء النسخ** فيؤدي عامل النسخ على تحفيز النشاط النسخي **لإنزيمات بلمرة الحامض النووي RNA** وينتج سلسلة الحامض النووي hnRNA من عدد من الوحدات يتراوح عددها بين ٨٠٠٠ – ٢٠٠٠٠ **نيوكليوتيدة** وهي أطول كثيراً من طول الحامض النووي mRNA الذي يكون البروتين وكذلك فإن طول الحامص النووي mRNA يكون اطول من سلسلة البروتين (وعلى سبيل المثال إذا كان الحامص النووي mRNA

يتكون من ١٢٠٠ نيكلوتيدة فإنها تشفر لحوالي ٤٠٠ حامض أميني ليكون سلسلة البروتين).

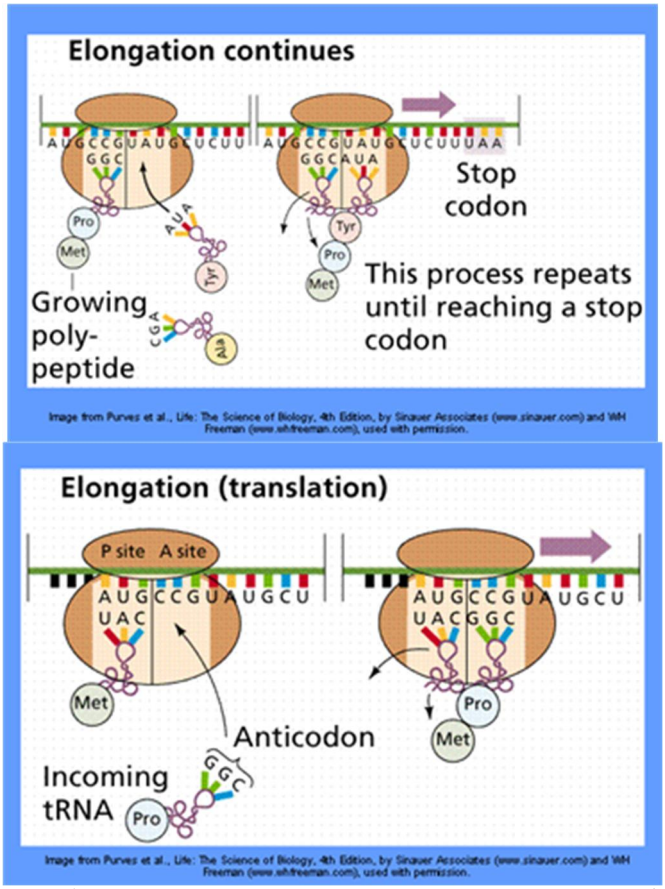
والسؤال الآن كيف يتسنى لإنزيم Aminoacyl-tRNA synthetase ربط الحامض النووي tRNA بالحامض الأميني المعين والتوفيق بين الحامض الأميني الصحيح وبين الحامض النووي tRNA النوعي الخاص وخاصة للأحماض الأمينية المتشابهة التركيب حيث يقوم الإنزيم بالتفرقة بين الأحماض الأمينية تبعاً للمراكز النشطة له وكذلك التفافه حول الحامض النووي tRNA الملائم.

ويدخل في بناء البروتين الرايبوسومات وهي بمثابة مواقع يتكون عليها البروتين ويتكون جسم الرايبوسوم الذي يظهر كحبيبات على الشبكة الاندوبلازمية من الحامض النووي RNA الرايبوسومي من تحت وحدتين أحدهما كبيرة والأخرى أصغر ويبدأ تخليق البروتين عندما ترتبط تحت وحدة رايبوسومية بجزيء الحامض النووي mRNA الذي يكون له أول كودون AUG وهو كودون أو شفرة البدأ للترجمة وتكوين سلسلة عديد الببتيد أو البروتين التي ستبنى، ثم ترتبط تحت وحدة رايبوسوم كبيرة بالمركب السابق وعندئذ تبدأ تفاعلات بناء البروتين. ويوجد على الرايبوسوم موقعين يمكن أن ترتبط بهما جزيئات الحامض النووي tRNA أحدهما يطلق عليه موقع الببتيديل (P site) والثاني يطلق عليه موقع أمينو أسيل (A site) (accepter site) وهناك موقع آخر يطلق عليه موقع الخروج (E site) وتبدأ سلسلة عديد الببتيد في الإستطالة في دورة تتكون من ثلاث خطوات وهي مرحلة البداية (Initiation) ومرحلة الإستطالة (Elongation) ثم مرحلة الإنتهاء (Termination).



شكل ١٩: بناء الحامض النووي المرسال mRNA ومن ثم البروتين.

يرتبط مضاد الكودون للحامض النووي tRNA بالكودون التالي على جزيء الحامض النووي mRNA وبالتالي يصبح الحامض الأميني الذي يحمله الحامض النووي tRNA الحامض الأميني التالي في السلسله عديد الببتيد، ثم حدوث تفاعل نقل الببتيديل الذي ينتج عنه رابطة ببتيدية بعده يكون الحامض النووي tRNA الأول فارغاً ويترك الرايبوسوم، أما الحامض النووي tRNA الثاني فيحمل الحامض الأميني له مع الحامض الأميني الأول (المثيونين). ويتحرك الرايبوسوم على إمتداد الحامض النووي mRNA فينتقل الحامض النووي tRNA حاملاً الحامض أو الحامضين الأمينيين في الموقع P ويدخل إلى الموقع A كودون جديد وهو التالي ثم تبدأ الدورة مرة أخرى مكونه الحامض الأميني الثالث وهكذا يتكرر الأمر. وتقف عملية البناء عندما يصل الرايبوسوم إلى كودون وقف البناء على الحامض النووي mRNA وهناك بروتين يرتبط بكودون الإيقاف يسمى عامل الإطلاق Release factor حيث يحرر الرايبوسوم من الحامض النووي الرسول mRNA (شكل ٢٠).



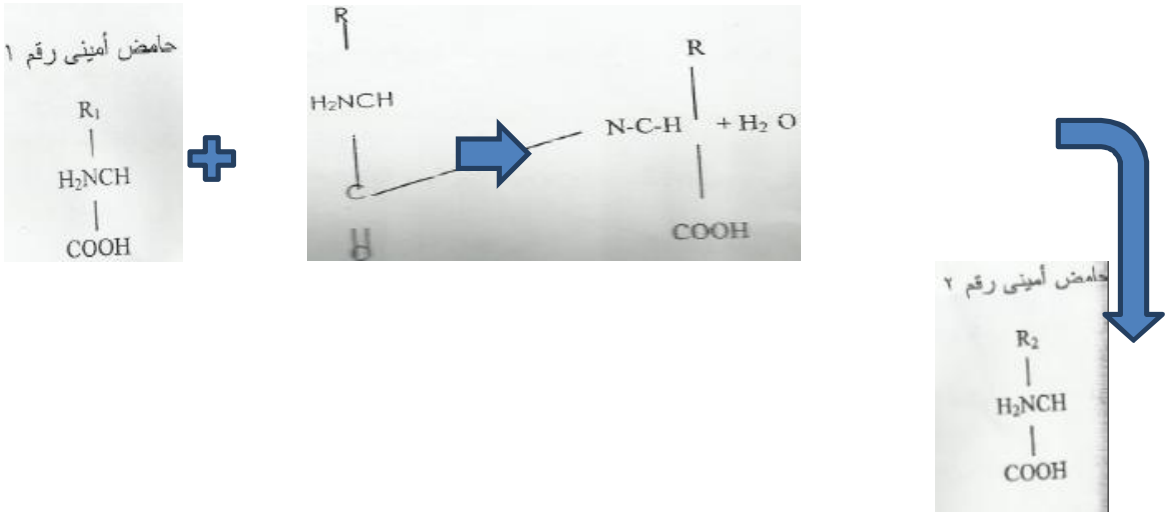
شكل ٢٠: رسم تخطيطي يوضح خطوات بناء البروتين.

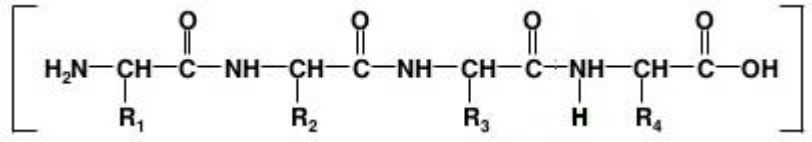
بناء الابروتين Protein Synthesis:-

أن معظم الجينات تبدي تأثيرها من خلال انتاجها للبروتينات سواء كانت جينات منظمة Regulatory genes أو جينات فعالة Operator genes أو جينات تركيبية Structural genes وهذه الأخيرة تنتج بروتينات تركيبية وهي البروتينات التي تدخل في **تركيب** مكونات الخلية أو مكونات الأنسجة والأعضاء المختلفة للكائن الحي أو قد تكون هذه البروتينات **وظيفية** وهي التي تقوم بوظيفة معينه داخل الخلية مثل الانزيمات.

وتعتبر الانزيمات جزيئات كبيرة معقدة التركيب حيث يُظهر بعضها درجه عالية من التخصص الوظيفي مثل الانزيمات التي تُحفز لتفاعل كيميائي معين، وهذا يبين **لماذا يكون للجين عادة تأثير متخصص على الشكل المظهري للكائن**. وتترتب البروتينات عموما اما من نوع واحد من السلاسل عديدة الببتيد Polypeptide chain وقد يختلف هذا العدد من بروتيين لآخر أو قد يتكون البروتين من اكثر من نوع من السلاسل عديدة الببتيد كما في حالة هموگلوبين الدم في الانسان حيث يتركب من نوعين من السلاسل عديدة الببتيد هي الفا وبيتا (α , β) وان الجزيء الكامل من الهيموگلوبين يتركب من اربعة سلاسل عديدة الببتيد، اثنين منهم من نوع الفا (α) واثنين من النوع بيتا (β) حيث تحتوي السلسلة الفا على ١٦٤ حامض اميني بينما تحتوي السلسلة بيتا على ١٦٦ حامض اميني وبشل عام **تتركب السلسلة عديدة الببتيد من** تتابع معين طويل من الاحماض الامينية والتي ترتبط بعضها ببعض عن طريق الرابطة الببتيدية Peptide bond بين مجموعة الكربوكسيل (COOH) في اول حامض أميني في السلسلة مع مجموعة الامين (NH_2) الموجودة في الحامض الاميني الثاني في السلسلة. ويستمر تكوين الرابطة الببتيدية بين مجموعه الكربوكسيل في الحامض الاميني الثاني مع مجموعة الامين في الحامض الاميني الثالث ثم ربطه ببتيدية اخرى بين مجموعة

الكربوكسيل في الحامض الاميني الثالث مع مجموعه الامين في الحامض الاميني الرابع وهكذا على طول السلسلة عديدة الببتيد كما هو مبين في شكل ٢١ .





شكل ٢١

وبذلك سوف تحتوي السلسلة عديدة الببتيد على مجموعة امينية واحدة في الطرف الذي بدأ من عنده تكوين السلسلة ومجموعة كربوسيل حره واحدة في الطرف الاخر من السلسلة وهو الطرف الذي ينتهي عنده تكوين السلسلة عديدة الببتيد. وتسمى بالسلسلة عديدة الببتيد لاحتوائها على العديد من الاحماض الامينية التي تدخل في بنائها وعموما هناك عشرون حامض اميني مختلفة تدخل اساسا في تركيب كل البروتينات الطبيعية ولكن تختلف البروتينات عن بعضها في عدد الاحماض الامينية ونوعها وترتيبها في السلسلة عديدة الببتيد. وتختلف عدد الاحماض الامينية في السلسلة عديدة الببتيد باختلاف البروتينات حيث يتراوح ما بين ٥١ حامض اميني كما في بروتين **الانسولين** الى اكثر من ١٠٠٠ حامض اميني كما في بروتين **الفيبروين** Fibroin وهو بروتين **الحرير الطبيعي**. وعموما فان ترتيب الاحماض الامينية في سلسلة عديدة الببتيد يعرف **بالتركيب الاولي (primary structure) للبروتين** وهذا الترتيب الذي يحدده ويمليه تتابع النيوكليوتيدات الاربعة (C, G, T, A) في جين ما، ويمثل هذا التتابع النيوكليوتيدي الشفرة الوراثية لكل حامض اميني، ويتحكم الجين في التركيب الاولي للبروتين (تتابع الاحماض الامينية في البروتين) عبر ميكانيكية خاصة، وتتمثل هذه الميكانيكية بالتعبير الجيني Gene expression والتي هي عبارة عن عمليتين رئيسيتين هما:-

اولاً،عملية نسخ الجين (gene transcription) وهي العملية التي يتم بواسطتها انتقال المعلومات الوراثية (التتابع النيوكلوتيدي في الجين) الموجودة في جين ما الى السايتوبلازم عن طريق وسيط يعرف بالحامض النووي الرسول (mRNA).

وثانياً، عملية الترجمة الى بروتين (Translation) وتعرف عملية الترجمة بانها عبارة عن تحويل المعلومات الوراثية من جزيئة mRNA الى بروتين ، حيث يتم

تغيير لغة التعبير من الترتيب النيوكلوتيدي في جزيء mRNA الى ترتيب الاحماض الامينية في البروتين كما سبق الاشارة اليهما.

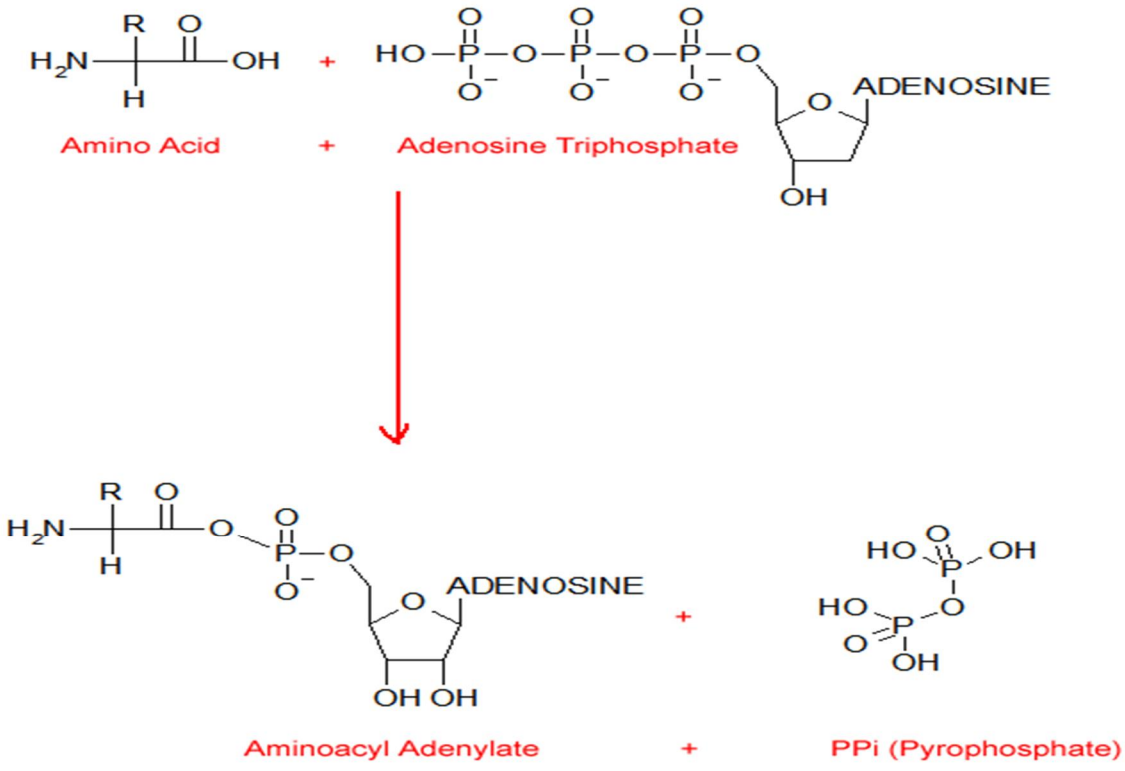
وبشكل عام تشمل عملية بناء البروتين خطوتين هما:-

أولاً: الخطوة الاولى في بناء البروتين هي ارتباط الحامض الاميني بالحامض النووي الناقل tRNA المناسب، وتتم هذه الخطوة على مرحلتين هما:-

١. تنشيط الاحماض الامينية Amino Acids Activation :-

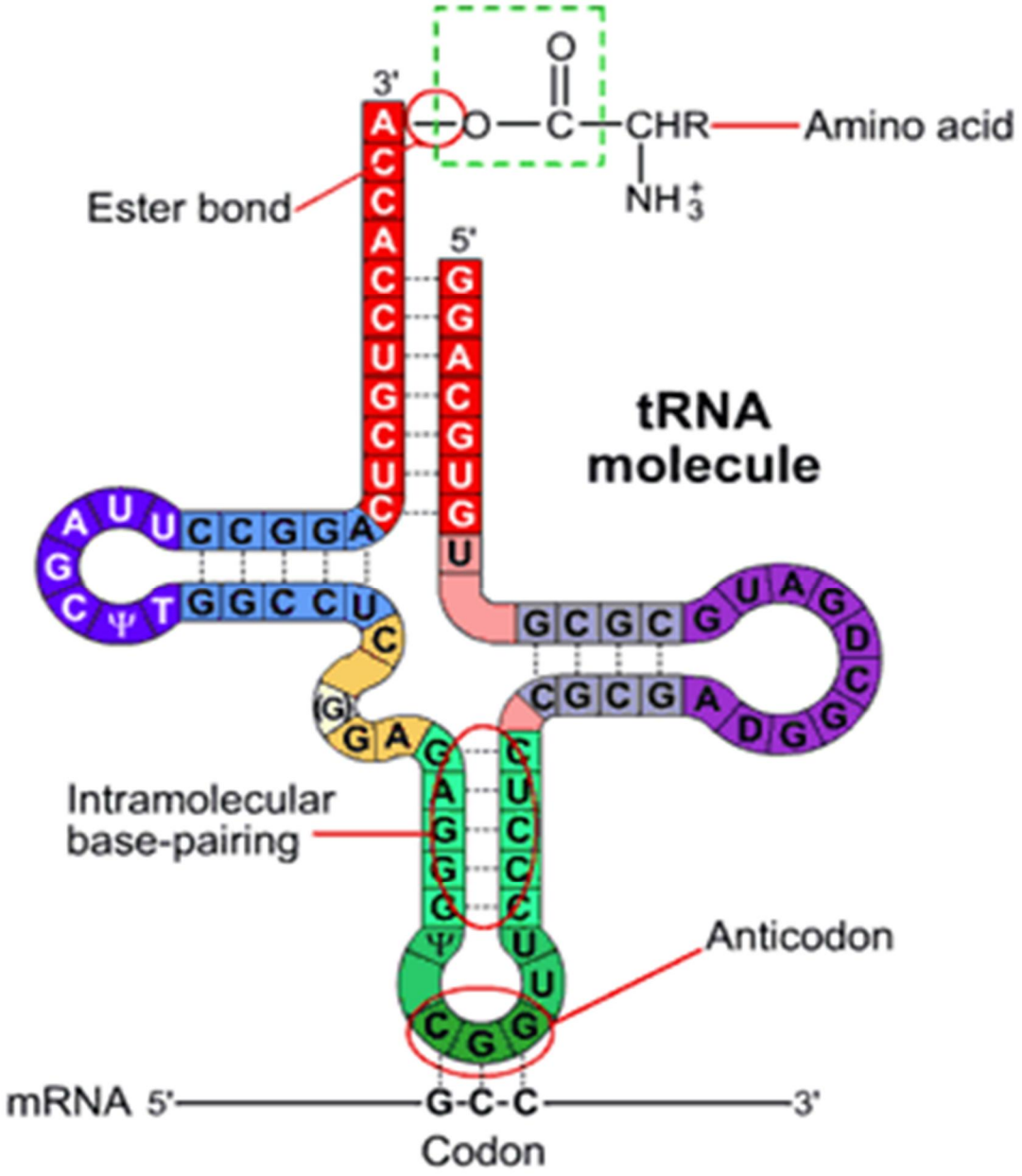
وفي هذه المرحلة يتم تنشيط كل حامض اميني من الاحماض الامينية العشرين قبل ارتباطها بالاحماض النووية الناقلة tRNA، حيث يقوم انزيم **Amino Acyl-tRNA synthetase** بتحفيز ارتباط كل حامض اميني بمركب **الادينوسين ثلاثي الفوسفات** (ATP) لتكوين مركب Amino acyl adenylate (aa–AMP) كما في شكل ٢٢ .

$$\text{Amino Acid} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Amino Acyl–tRNA synthetase}} \text{aa–AMP} + \text{PPi}$$



شكل ٢٢

المركب الناتج من ارتباط الحامض الاميني بمركب الادنوسين احادي الفوسفات (AMP) يعرف باسم **الحامض الاميني المنشط** حيث يحتوي على مستوى من الطاقة تمكنه من الارتباط بالحامض النووي الناقل tRNA كما في شكل ٢٣.

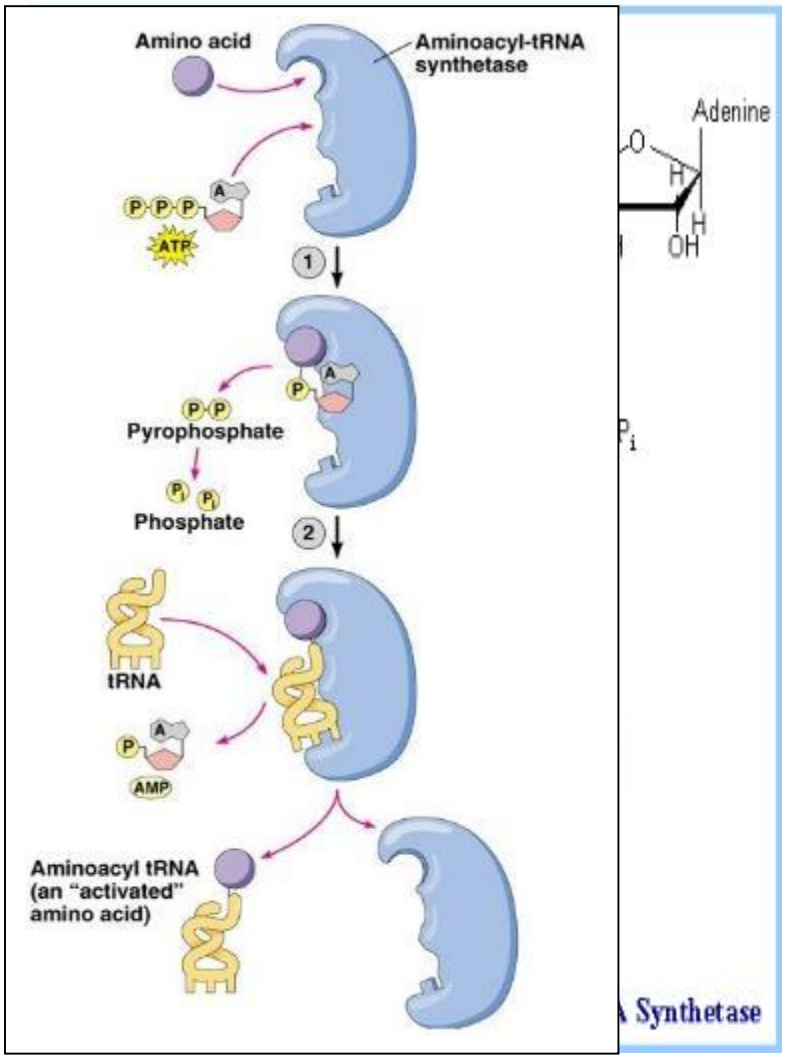


شكل ٢٣

ومما يجدر الاشارة اليه ان **الخلية الحية تحتوي على الاقل على عشرين نوع من هذه الانزيمات** حيث يتعرف كل نوع منها على **الحامض الاميني المعين** وكذلك على **الحامض النووي الناقل الذي ينقل نفس الحامض الاميني المعين** وبذلك فان كل نوع من هذه الانزيمات يحتوي على موقعين احدهما للتعرف على الحامض الاميني والاخر للتعرف على **الحامض النووي الناقل (tRNA)** (شكل ٢٤).

٢. نقل الحامض الاميني المنشط الى الحامض النووي الناقل:

وفي هذه الخطوة يقوم نفس الانزيم بالتعرف على الحامض النووي الناقل وينتقل الحامض الاميني المنشط اليه حيث يرتبط الحامض الاميني به عند الطرف الذي يحتوي على نيوكليتيدة الادنين الطرفية ويتحرر الادنوسين احادي الفوسفات كما يلي:-



شكل ٢٤ : ارتباط الحامض الاميني بمركب الادنوسين احادي الفوسفات (AMP) وكذلك الارتباط بالحامض النووي الناقل tRNA .

ويكون اتصال الحامض الاميني بمجموعة الهايدروكسيل (3-OH) في سكر الرايبوز الموجود في نيوكلوتيدة الادنين الطرفية في جزئين ال tRNA عن طريق رابطة من نوع اسيل acyl bond مع مجموعة الكربوكسيل الموجودة في الحامض الاميني.

$$\text{aa–AMP} + \text{tRNA} \xrightarrow{\text{Amino Acyl–tRNA synthetase}} \text{aa–tRNA} + \text{AMP}$$

ثانياً: والخطوة الثانية في بناء البروتين هى تجميع الاحماض الامينية المنشطة والمرتبطة بالاحماض النووية الناقلة الى الرايبوسوم حيث يبدأ تكوين **الروابط الببتيدية** بين الاحماض الامينية ويحتوي الرايبوسوم في كل الكائنات سواء بكتريا او كائنات راقية على موقعين احدهما يعرف باسم **amino acyl site (A)** والاخر يعرف باسم **Peptidyl site (P)**.
وتبدا عملية ترجمة **الرسالة الوراثية** المتمثلة بالحامض النووي المرسال mRNA بارتباط الرايبوسوم بخيط mRNA عند **شفرة بداية الترجمة AUG** وهي الشفرة الخاصة بالحامض الاميني **مثيونين** (في البكتريا يكون فورمايل مثيونين) ويمكن تلخيص خطوات السلسلة عديدة الببتيد الى ثلاث مراحل على النحو التالي :-

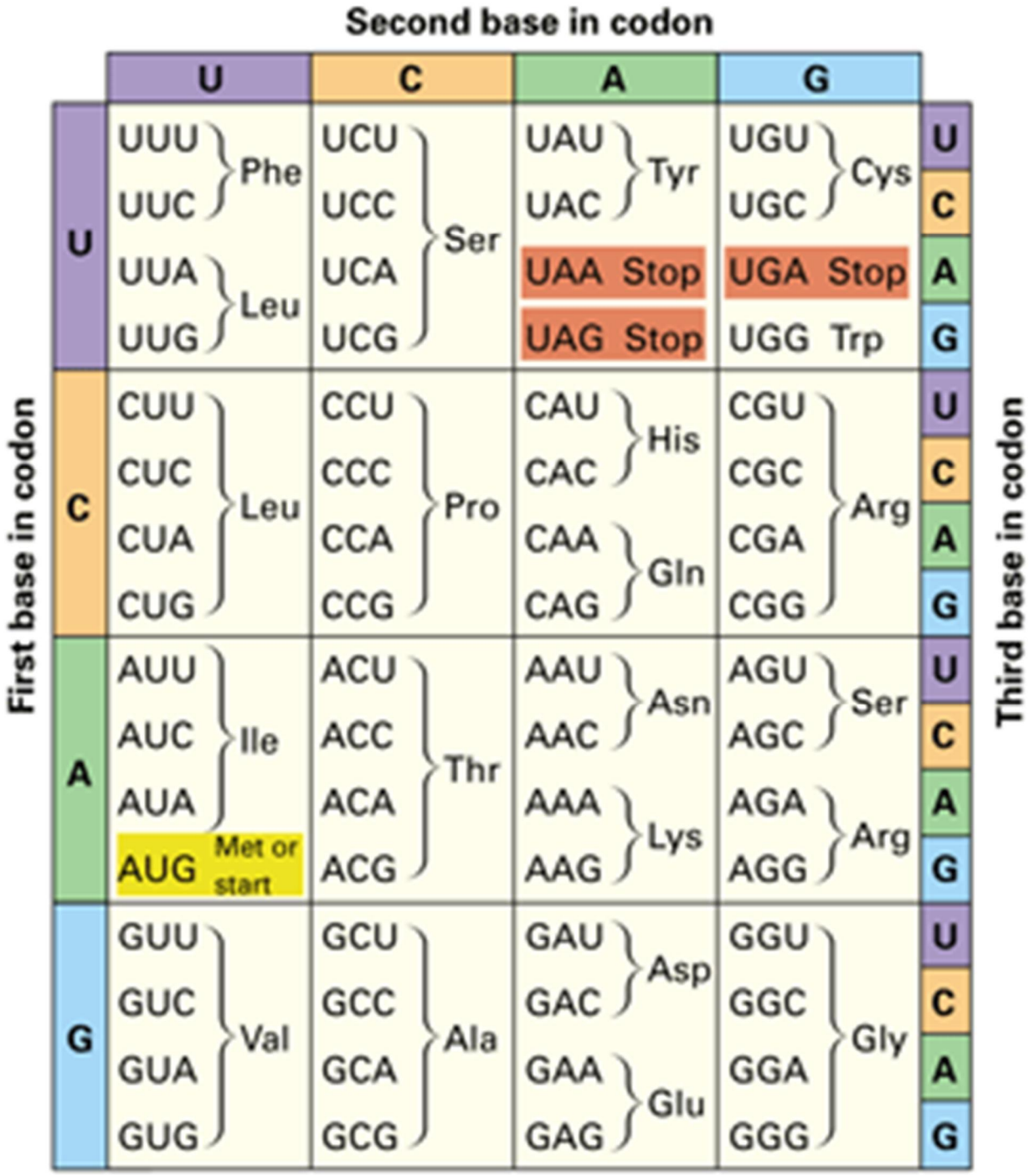
a) **بدأ تكوين السلسلة Initiation**:- تبدأ هذه الخطوة بارتباط الرايبوسوم بخيط ال mRNA عند شفرة بداية الترجمة حيث يتم دخول اول حامض نووي ناقل الذي يحمل الحامض الاميني **مثيونين** الى الموقع (P) من الرايبوسوم.

b) **إطالة السلسلة Elongation** وتتم إطالة السلسلة عديدة الببتيد في الطول على النحو التالي :-

١. يدخل ثاني حامض نووي ناقل وما يحملة من حامض اميني في الموقع (A) من الرايبوسوم وبذلك يكون كلا الموقعين من الرايبوسوم محتلين بنوعين من الاحماض النووية الناقلة وما يحمله كل منها من حامض اميني، ثم يقوم انزيم **peptidyl transferase** بتكوين الرابطة الببتيدية بين مجموعة الكربوكسيل في الحامض الاميني الاول مع مجموعة الامين في الحامض الاميني الثاني.
٢. بعد تكوين الرابطة الببتيدية بين الحامض الاميني الاول والثاني يتحرر الحامض النووي الناقل الاول ويترك الرايبوسوم ويصبح الحامض النووي الناقل الثاني محملا باثنين من الاحماض الامينية.
٣. يتحرك الرايبوسوم على طول خيط ال mRNA حركة مقدارها شفرة ثلاثية واحدة وبذلك ينتقل الحامض النووي الناقل الثاني من الموقع A الى الموقع P من الرايبوسوم وبذلك يصبح الموقع A خالي.
٤. يدخل الحامض النووي الناقل الثالث وما يحمله من حامض اميني الى الموقع A من الرايبوسوم وتتكون رابطة ببتيدية بين الحامض الاميني الثالث والحامض الاميني الثاني وبذلك يتحرر الحامض النووي الناقل الثاني ويترك الموقع P من الرايبوسوم بينما يصبح الموقع A محتل بالحامض النووي الناقل الثالث والذي يحمل الاحماض الامينية الثلاثة.
٥. تتكرر هذه الخطوة كلما تحرك الرايبوسوم حركه مقدارها شفرة واحدة ليتم وضع حامض اميني اخر على طول خيط ال mRNA حتى يتم التعبير عن كل الشفرات الوراثية الموجودة في الرسالة الوراثية mRNA وتكون حركة الرايبوسوم في الاتجاه **5'** الى **3'**.

c) **انهاء ترجمة الرسالة Termination**:- تنتهي عملية تخليق السلسلة عديدة الببتيد عند وصول الرايبوسوم الى احدى **شفرات انهاء الترجمة** الثلاث (**UGA, UAA, UAG**) حيث لا يتم وضع اي حامض اميني وتحرر السلسلة عديدة الببتيد من على سطح الرايبوسوم **بمساعدة بعض العوامل البروتينية** الموجودة بالخلية والتي تعرف باسم **عوامل التحرر**، بعد ذلك يترك الرايبوسوم خيط ال mRNA ويذهب الى السايتوبلازم للارتباط مرة اخرى بنفس الرسالة الوراثية mRNA أو الارتباط برسالة اخرى .

بالاضافة الى **شفرة بداية الترجمة AUG** و **شفرات انهاء الترجمة** الثلاث (**UGA, UAA, UAG**) فانه يوجد عدة شفرات تشترك لحامض اميني معين كما هو مبين في شكل ٢٥ .



شكل ٢٥:جدول الكودونات وما يقا بلها من الاحماض الامينية

تضاعف أوتناسخ (تكرار) المادة الوراثية DNA replication :-

ان الخلية التي تكون في حالة انقسام تمر وبشكل نشط بسلسلة من المراحل تعرف هذه المراحل مجتمعتاً باسم **دورة الخلية The cell cycle** وهي عبارة عن الأطوار المتتابعة من النمو والانقسام التي تحدث للخلية في الفترة الزمنية الواقعة بين انقسامين متتاليين وتختلف مدة هذة الفترة من خلية إلى أخرى. تستمر دورة الخلية لمدة أقلها ١٢ ساعة، ولا تنتقل الخلية من طور إلى آخر حتى تجهز المركبات الكيميائية التي تحتاجها للانقسام من أحماض أمينية وليبيدات وسكريات ولذلك يعتمد وقت وسرعة انقسام الخلية على كمية المواد الغذائية التي يتلقاها الجسم. وتتكون دورة الخلية من طورين متبادلين هما الطور البيني وطور الانقسام الخلوي (شكل ٢٦).

- **أولاً: الطور البيني (Interphase)** :- ويستغرق ٩٠% من زمن الدورة، ويتضمن ثلاث فترات هي:
  - طور النمو الأول Growth phase (G_1) :- فيه يتضاعف عدد عضيات الخلية وبالتالي يزداد حجم الخلية.
  - طور البناء (التركيب)Synthesis phase (S) :- **فيه يتضاعف الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA)**.
  - طور النمو الثاني Growth phase (G_2) :- فيه تنمو الخلية سريعا تأهبًا للانقسام
- **ثانيا: طور الانقسام الخلوي**Mitosis phase (M phase):- والذي ينتهي بتكوين خليتين، تدخل كل خلية منهما طورا بينيا جديدا (شكل ٢٧).