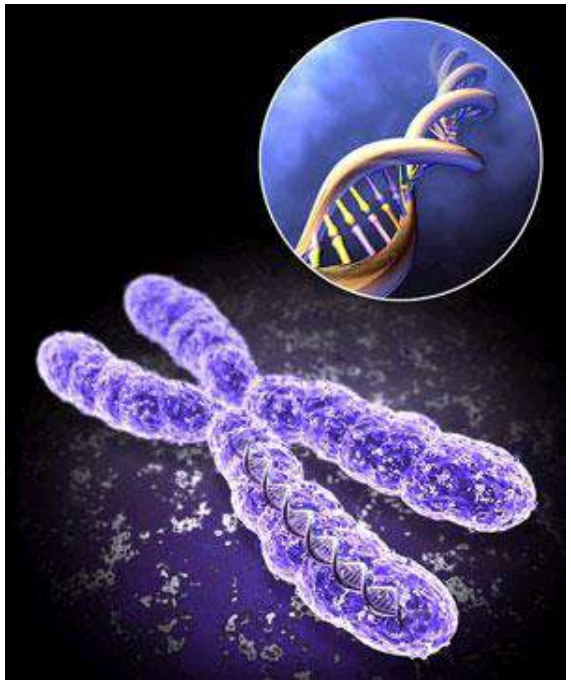
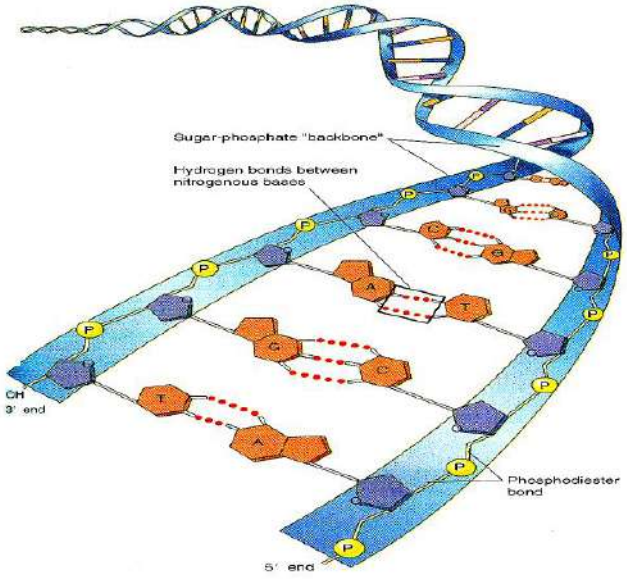
كلية الزراعة الثانية في السويداء
د. ربا محمد

مقرر علم الوراثة والبيولوجيا الجزيئية
لطلاب السنة الثانية

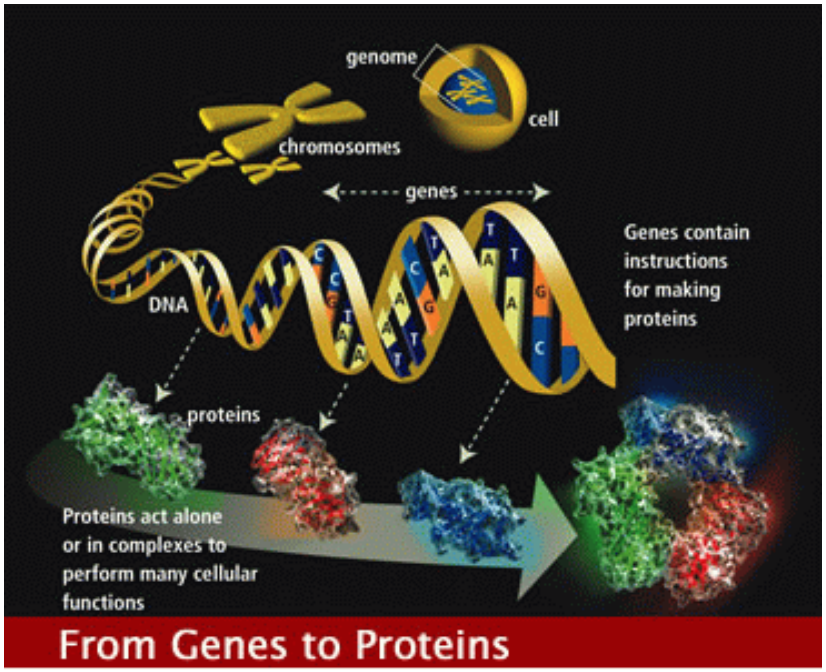
الطبيعة الكيميائية للمادة الوراثية





علم الوراثة الجزيئي Molecular genetics :

هو فرع من علم الوراثة يهتم بدراسة بنية وتركيب المادة الوراثية على المستوى الجزيئي ويدرس بنية ووظيفة المورثات والتعبير المورثي، وكذلك يتعامل مع الوراثة وتوريث الصفات الوراثية وتغيراتها على المستوى الجزيئي.



ماهية المادة الحاملة للمورثات

الكروموسومات مكونة من مركبات عديدة تشمل البروتينات والأحماض النووية وخاصة الحمض النووي الديزوكسي ريبوزي DNA.

في البداية تركّز البحث على محاولة تحديد أنواع من البروتينات النوعية نظراً لأن البروتينات تحتوي بين جزيئاتها على قدر واسع من الاختلافات الكيمياوية والبيولوجية مما يؤهلها للقيام بمهمة المادة الوراثية في حين اعتُبرت الأحماض النووية غير صالحة للقيام بهذه المهمة نظراً لافتقارها إلى التباين الكيماوي الواسع بين جزيئاتها، بالتالي من المستبعد وجود وظيفة وراثية لجزيء الـ DNA وأنّ كل مهمته تنحصر في كونه إطار لتدعيم البنية الأساسية للكروموسومات.

ماهية المادة الحاملة للمورثات

الشروط الواجب توافرها فى المادة الوراثية:

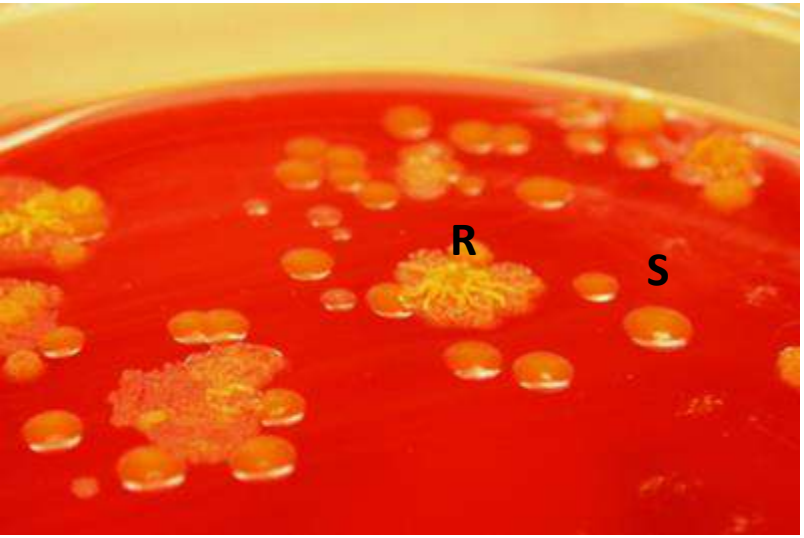
1- القدرة على اختزان جميع المعلومات الوراثية المطلوبة لإدارة وتنظيم الأنشطة الأيضية في الخلية.

2- القدرة على التضاعف بانتظام وبدقة بحيث يمكن انتقال المعلومات وتوريثها للخلايا البنوية بطريقة مضبوطة.

3- القدرة على التعبير لهذه المعلومات الوراثية في صورها المختلفة.

4- القدرة على التطفر بنسب منخفضة جداً بحيث تحدث تغيرات وراثية يمكن توريثها إلى النسل.

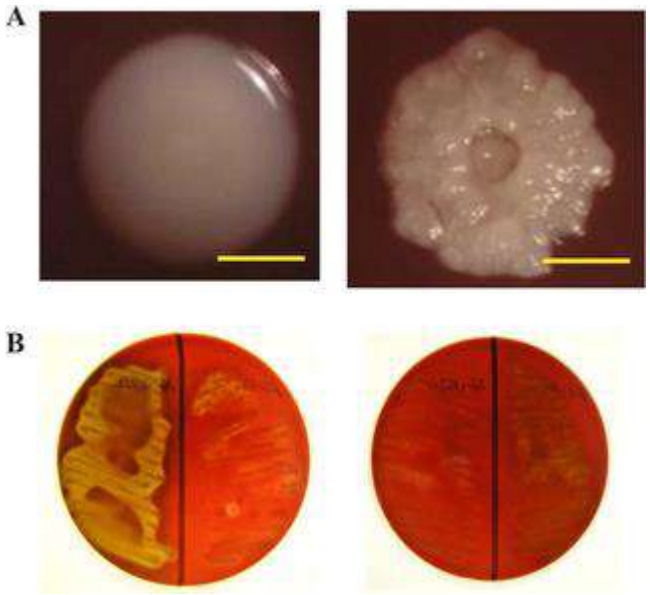
ماهية المادة الحاملة للمورثات



الأدلة على أنّ الـ DNA هي المادة الوراثية:

1- التحوّل الوراثي Genetic transformation:

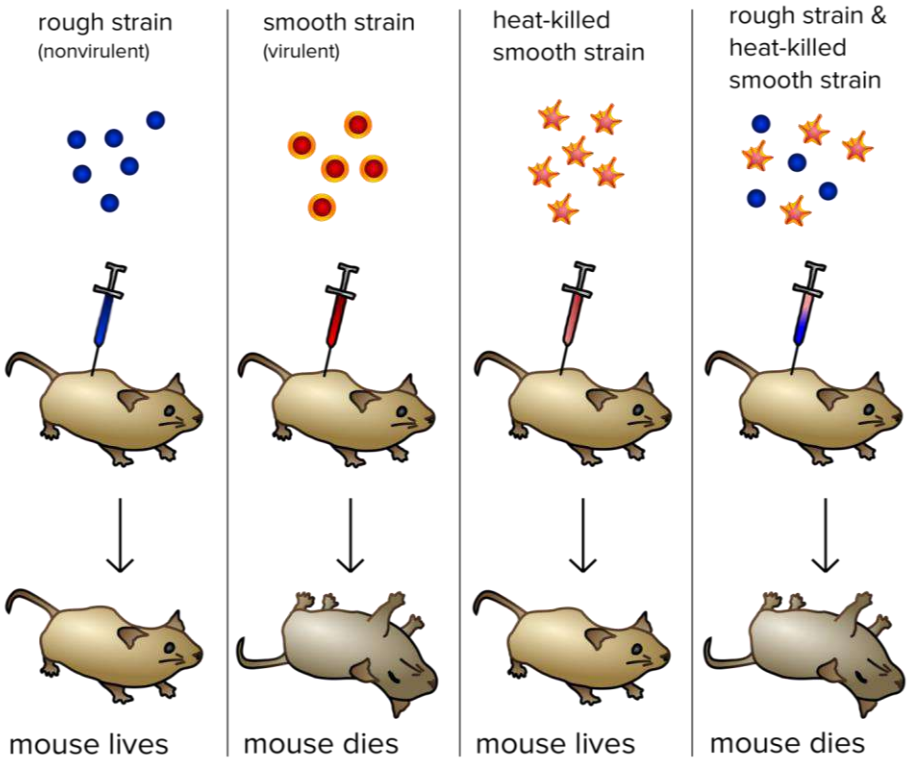
- سلالة سامة من بكتيريا *Streptococcus pneumoniae* (S).
- سلالة غير سامة S. pneumoniae (R).



ماهية المادة الحاملة للمورثات

الأدلة على أنّ الـ DNA هي المادة الوراثية:

1- التحوّل الوراثي Genetic transformation:



•حقن فأر بالسلالة غير السامة R ...بقي حيّاً وعند فحص الدم لم يوجد أثر لتلك السلالات فيه.

• حقن فأر بالسلالة السامة S....مات

• حقن فأر بالسلالة السامة S بعد قتلها بالحرارة ..بقي حيّاً ولدى فحص الدم لم يلاحظ أي أثر لتلك السلالات فيه.

•حقن فأر بالسلالة الغير سامة R مع خلاصة من السلالة السامة S بعد قتلها بالحرارة ...مات ولدى فحص دم هذا الفأر تبين احتواءه على مكورات تنتمي إلى السلالة السامة S.

ماهية المادة الحاملة للمورثات:

الأدلة على أنّ الـ DNA هي المادة الوراثية:

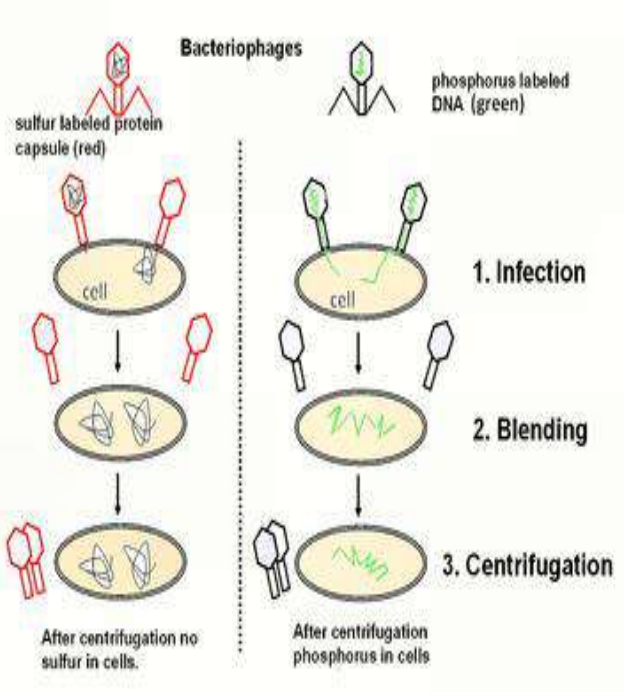
1- التحوّل الوراثي Genetic transformation:

هذه التجربة أشارت إلى أنه حدثت عملية تحول للسلالات غير السامة R إلى سلالات من النمط السام S هذا التحوّل دائم وعلى الأرجح وراثي. لأنّ جميع الأجيال التالية كانت من السلالات السامة S.

ماهية المادة الحاملة للمورثات

الأدلة على أنّ الـ DNA هي المادة الوراثية:

2- الاستنقال الوراثي (النقل الفاجي) Genetic transduction:



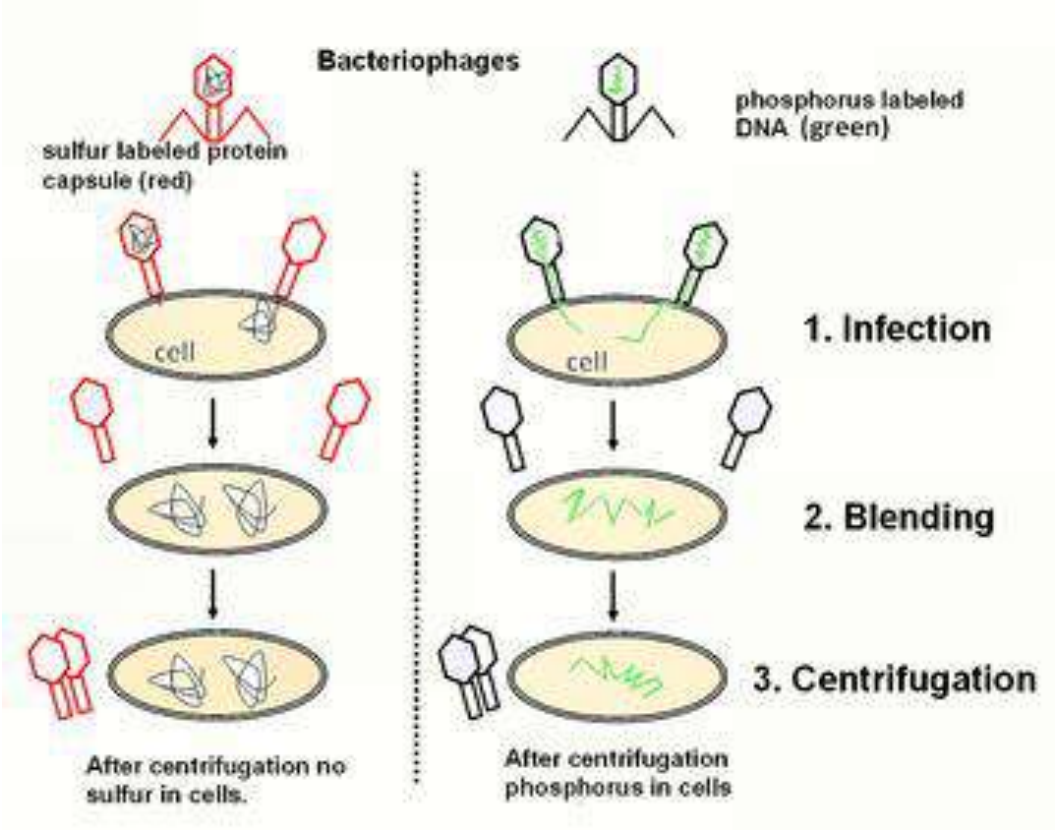
قام هيرشي Hershey و تشيز Chase عام 1952 بعدوى بكتيريا القولون *E. Coli* بفيروس من لاقمات البكتيريا (الفاج T2) بعد تعليم بروتينات الغطاء المحيط بالفاج بالكبريت المشع S^{35} في حين تمّ تعليم جزيء الـ DNA بالفوسفور المشع P^{32}. من المعروف أن الفاج يقوم بحقن محتوياته الداخلية فقط إلى داخل الخلية البكتيرية في حين يبقى الغطاء المغلف له معلّقاً خارج الخلية المحقونة ويمكن التخلص منه بالرج بحرص في خلاط. تبين أنّ معظم الفوسفور المشع (وبالتالي DNA الفاج) قد دخل إلى داخل الخلية البكتيرية في حين لم تظهر آثار للكبريت المشعّ إلا نادراً والتي وجدت كانت معلقة بالجدار الخارجي للخلية البكتيرية.

وقد وجد أنّ جميع النسل الناتج من الفاج بعد تكاثره داخل الخلية البكتيرية والذي خرج بعد تحلل الخلية البكتيرية Lysis وانفجارها يحتوي على الفوسفور المشع P^{32} مصدره DNA الفاج الأصلي ولايحتوي أي نسل من الفاج على أي أثر من S^{35} مما يدل على أنّ بروتين الفاج لم يكن له أي دور في انتقال المادة الوراثية إلى النسل في حين أنّ الـ DNA هي المادة الوراثية.

ماهية المادة الحاملة للمورثات

الأدلة على أنّ الـ DNA هي المادة الوراثية:

2- الاستنقال الوراثي (النقل الفاجي) Genetic transduction:



ماهية المادة الحاملة للمورثات

الأدلة على أنّ الـ DNA هي المادة الوراثية:

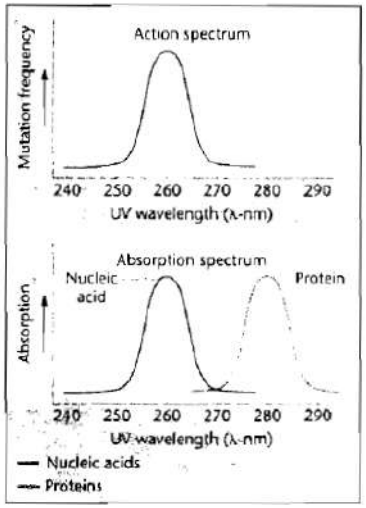
3- ثبات كمية الـ DNA في الكروموسومات:

بيّنت الدراسات السيتولوجية والسيتوكيماوية في الكائنات حقيقية النواة أنّ الـ DNA يوجد في النواة فقط (فيما عدا DNA الميتوكوندريا والكلوروبلاست) في حين أنّ البروتينات توجد في النواة والسيتوبلازم والغشاء البلازمي. بالإضافة إلى ذلك فقد ثبت أنّ كمية الـ DNA في الخلية الثنائية العدد الكروموسومي Diploid Cell يكون ثابتاً دائماً للكائن الواحد ويساوي ضعف الكمية الموجودة في الخلية الجاميطية الأحادية Haploid.

في حين لا توجد هذه العلاقة الثابتة في كمية البروتينات من نوعية الخلايا أعلاه.

التأثير المطفّر للأشعة فوق البنفسجية

تبيّن أنّ الأشعة فوق البنفسجية تعطي أعلى معدل تطفّر عند طول موجة 260nm. ومعروف أنّ جزيئات الـ DNA و الـ RNA يمتصان هذه الأشعة بقوة عند 260nm ومن جهة أخرى وُجد أنّ البروتين يمتص معظم هذه الأشعة عند 280nm إلا أنه لم تحدث أية تأثيرات تطفيرية عند هذه الموجة الأخيرة. ويعطي هذا الدليل غير المباشر برهاناً على أنّ الأحماض النووية وليست البروتينات هي بالفعل المادة الوراثية.



الشكل (١-٣): مقارنة المجال الضوئي الذي يحدد طوله موجة UV الأكثر فاعلية لإحداث الطفور ومجال الامتصاص الذي يبين أطوال الموجات التي يمتص عندها كل من د ن أ والبروتين للأشعة فوق البنفسجية UV

التأثير المطفّر للأشعة فوق البنفسجية

ومن أمثلة الأدلّة المباشرة :

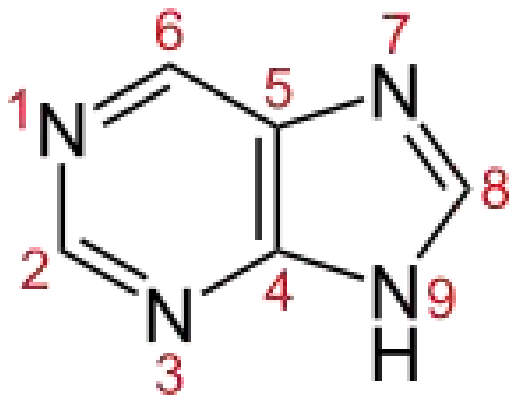
❖ وقد أمكن أيضاً الحصول على دليل مباشر آخر عندما تمّ حقن أو إدخال جين β-Globin البشري في البويضة المخصبة للفأر حيث وجد أنّ هذا الجين موجود بالفعل في أنسجة الفأر الناضج جنسياً والمحوّل وراثياً وأنتج β-Globin البشري وأمكن متابعة توريثه في نسل هذا الفأر.

ويدل ذلك وغيره من النتائج التحوّل الوراثي في حقيقية النواة دلالة قاطعة على أنّ الـ DNA هو المادة الوراثية حيث أنّه اجتاز شرط القدرة على التعبير Expression وسيتم التعرف على بنية وتركيب ونسخ وتضاعف الـ DNA..

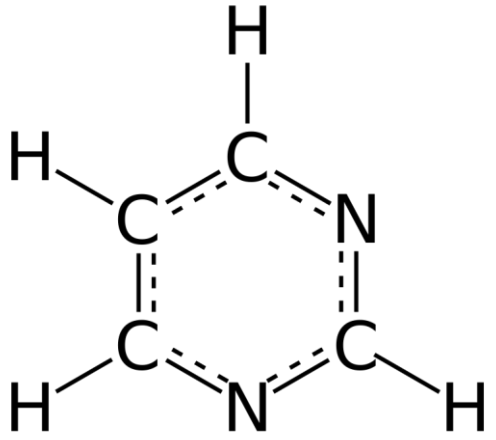
تركيب الأحماض النووية

تتكون الأحماض النووية من جزيئات بسيطة:

- حمض الفوسفور H3PO4
- حلقة البنتوز (سكر خماسي تتكون من خمس ذرات كربون)
- أسس آزوتية (بيورين أو بيريميدين)

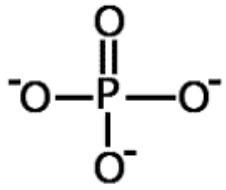


بيورين

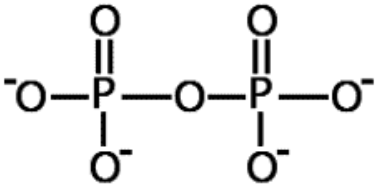


بيريميدين

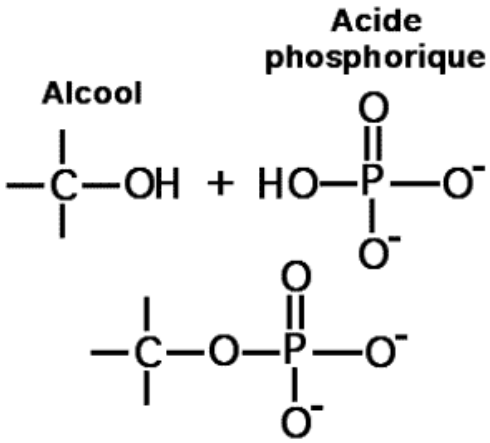
أشكال الفوسفات



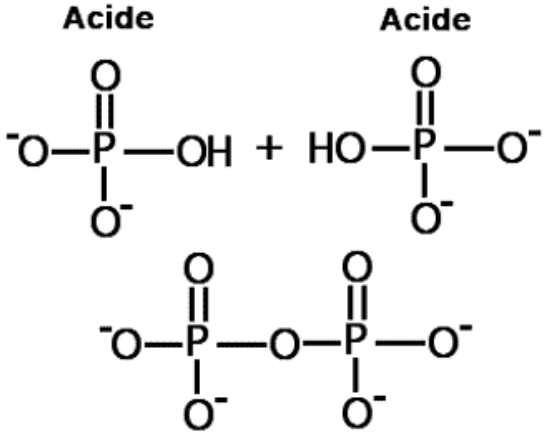
الفوسفات اللاعضوي Pi



بيروفوسفات PPi

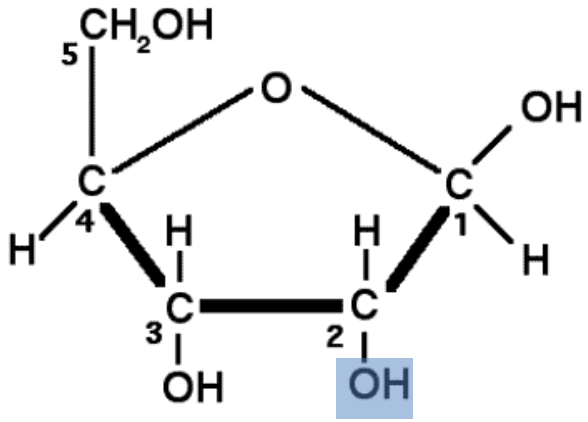


رابطة إستيرية

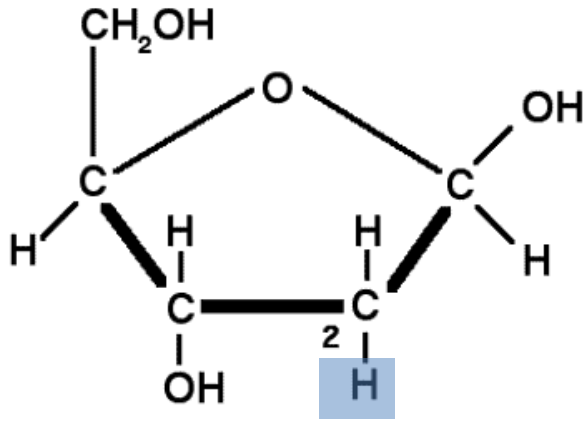


رابطة حمضية أنهيدرية (بلمهة أو نزع الماء من الحمض)

الرايبوز والرايبوز منقوص الأكسجين

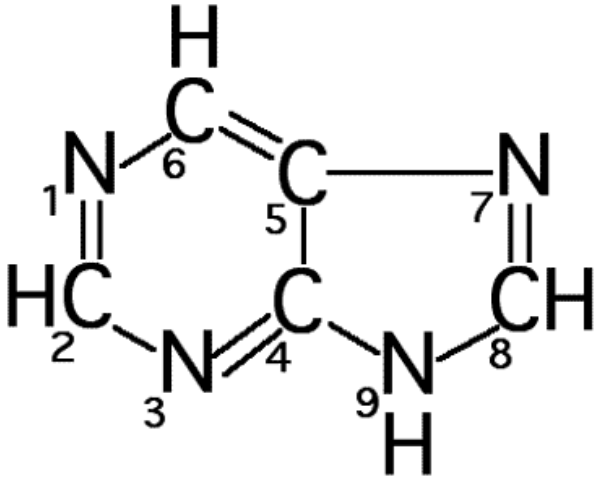


b-D-Ribose



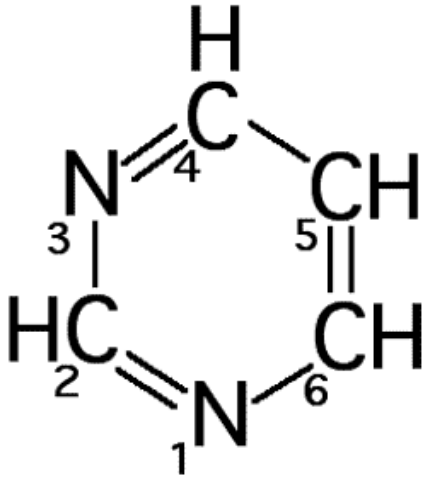
2-désoxy-b-D-Ribose

الأسس الآزوتية: البيورين و البيريميدين



البيورين : نواتين غير متجانستين

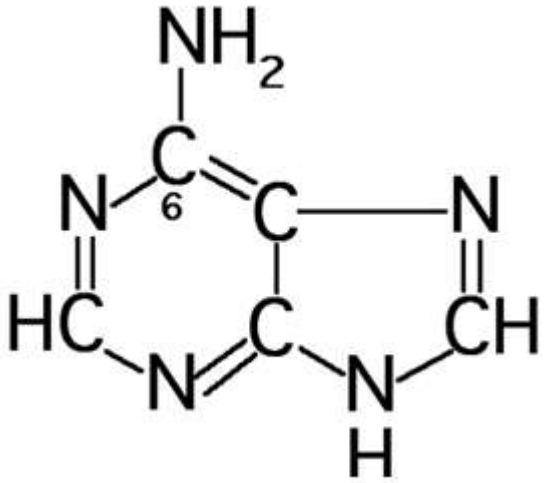
- ✓ واحدة من ست ذرات
- ✓ الأخرى من خمس ذرات
- ✓ تتشارك الحلقتين بذرتي كربون



البيريميدين : نواة عطرية مؤلفة من ست ذرات

- ✓ أربع ذرت كربون
- ✓ ذرتين آزوت

الأسس البيورينية

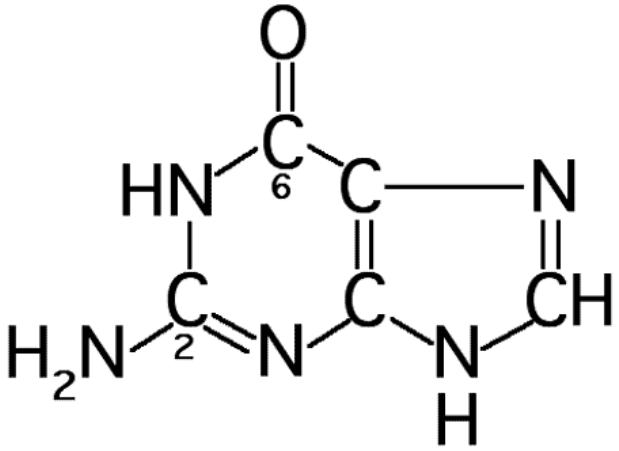


الأدنين :

ذرة الكربون السادسة مرتبطة بـ NH2

الأساس النووي الوحيد الذي لايحتوي على

ذرة أوكسجين



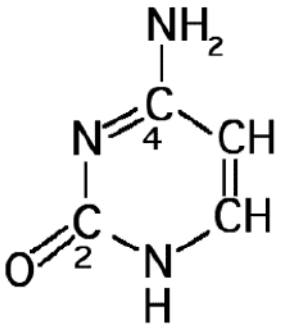
الغوانين :

ذرة الكربون الثانية مرتبطة بـ NH2

ذرة الكربون السادسة مرتبطة بذرة

أوكسجين برابطة مزدوجة.

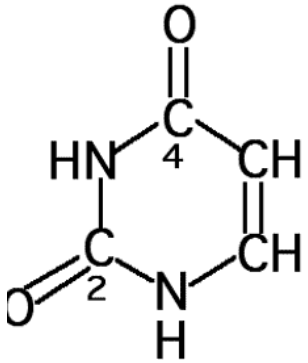
الأسس البيريميدية



السيتوزين :

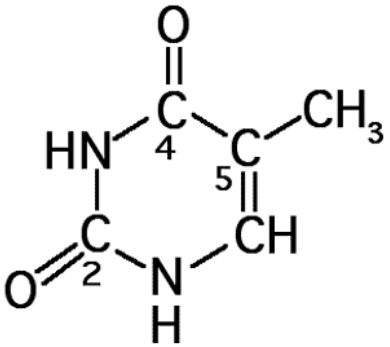
ذرة الكربون الرابعة مرتبطة بـ NH2

ذرة الكربون الثانية مرتبطة بذرة أوكسجين



اليوراسيل :

ذرتي الكربون الثانية و الرابعة مرتبطتين بذرة أوكسجين

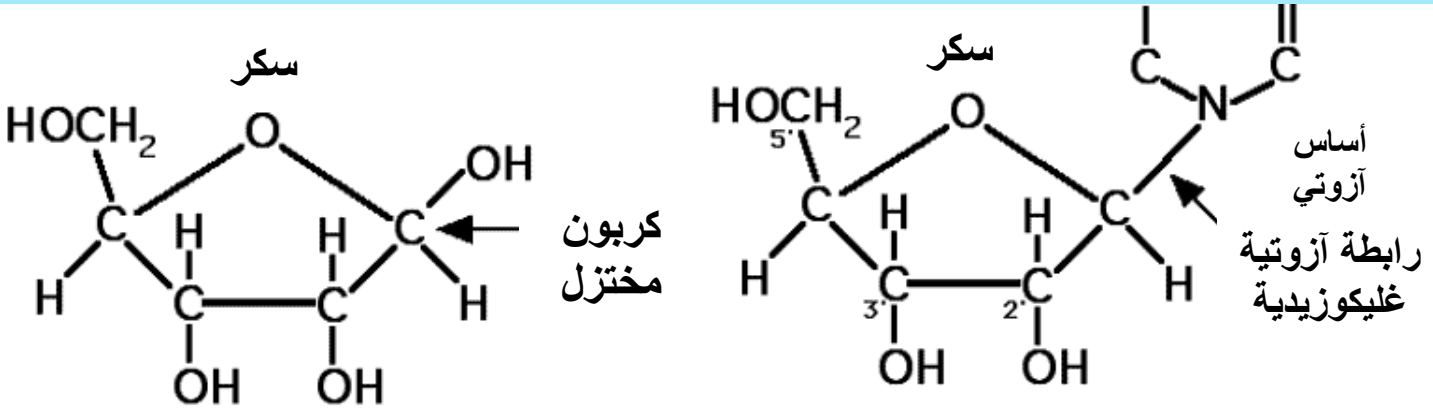


التيامين:

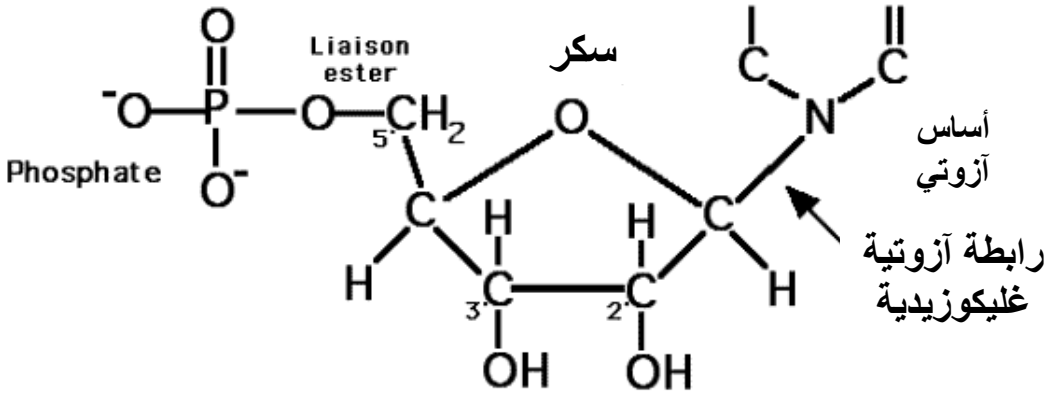
ذرتي الكربون الثانية و الرابعة مرتبطة بذرة أوكسجين

ذرة الكربون الخامسة مرتبطة بـ CH3

النيكليوزيد والنيكليوتيد

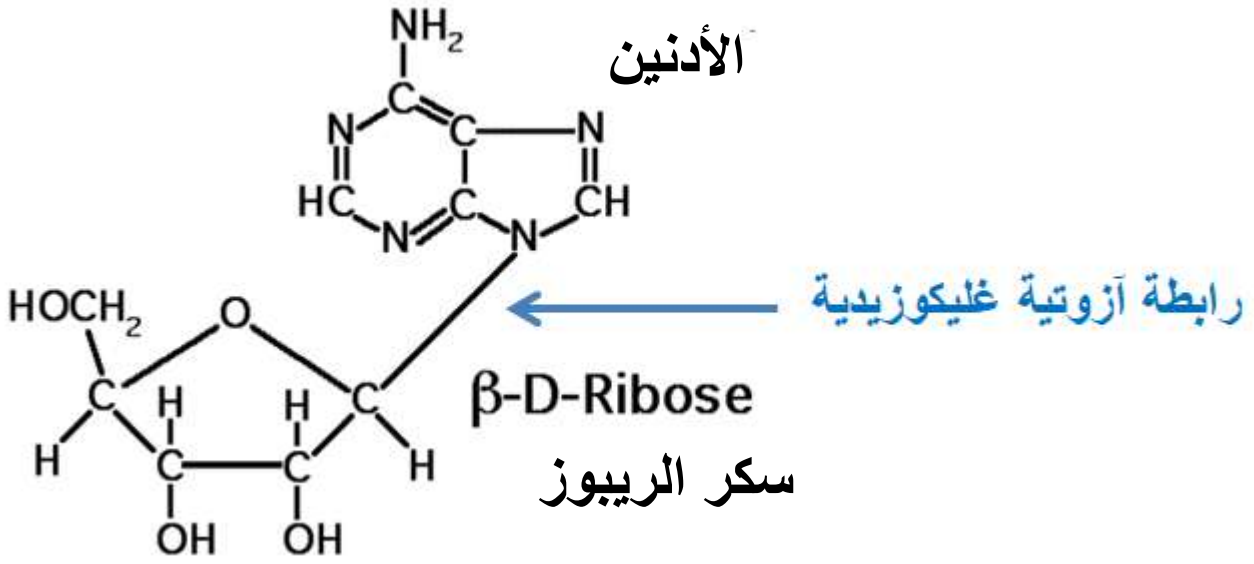


أساس + سكر = نيكليوزيد



أساس + سكر + فوسفات = نيكليوتيد

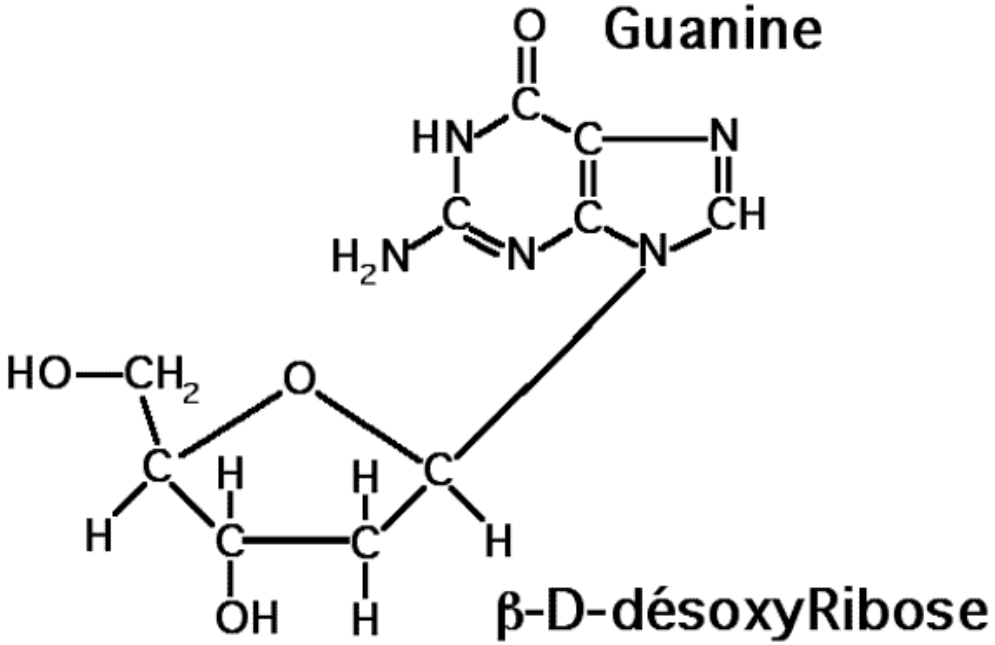
مثال عن نيكليوزيد : الأدنيوزين



النيكليوزيد =
[بنتوز (ريبوز أو ريبوز منقوص الأكسجين)] رابطة آزوتية غليكوزيدية [أساس آزوتي]

الرايبونيكليوزيدات الأخرى هي : الغوانوزين، السيتيدين و اليوريدين.

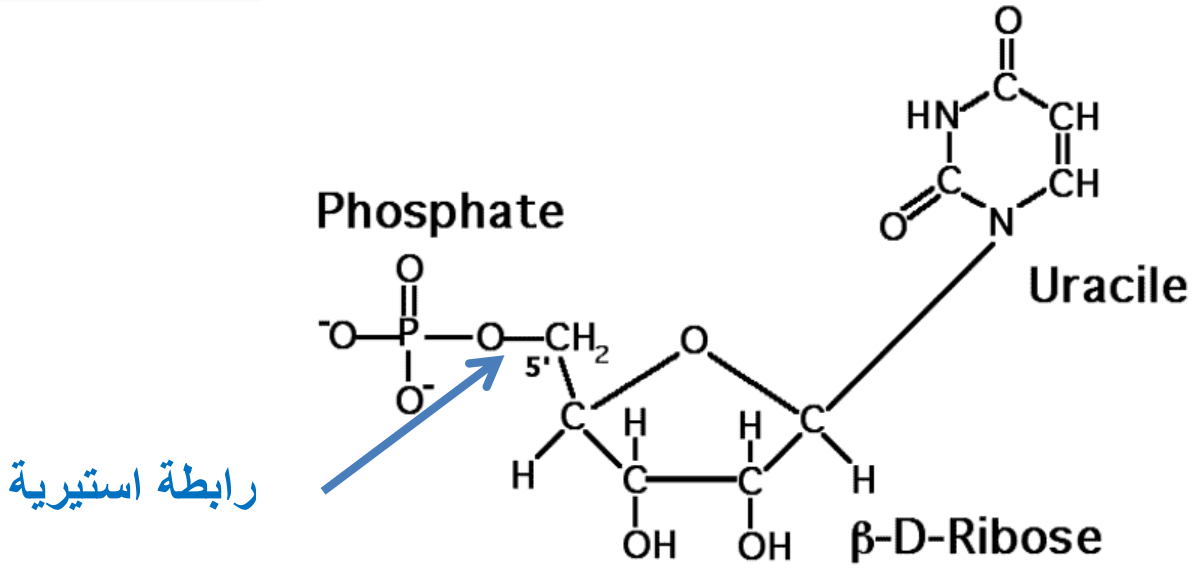
مثال عن رايبونيكليوزيد منقوص الأكسجين : ديزوكسي غوانوزين



سكر الريبوز منقوص الأكسجين

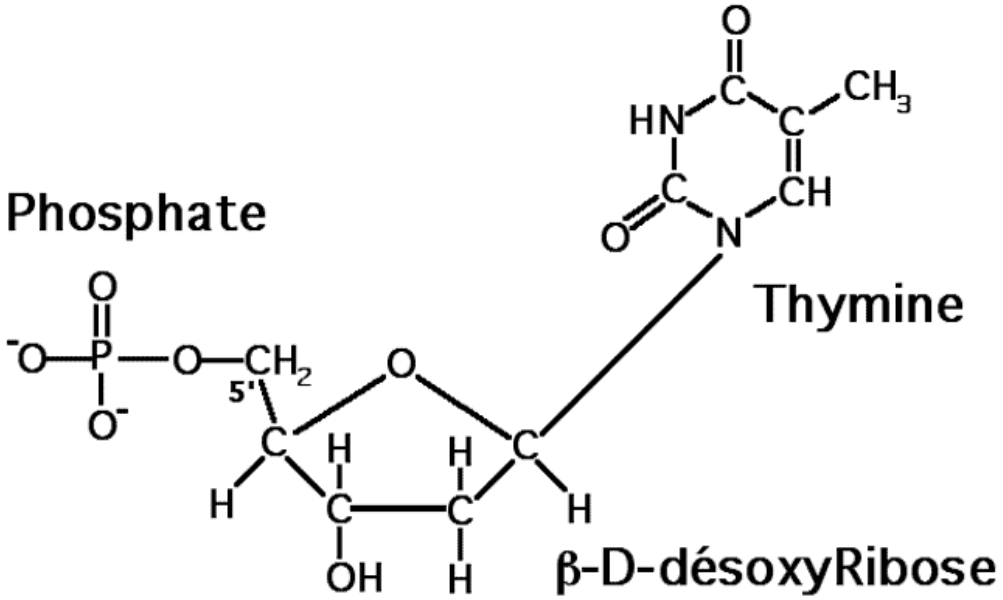
الديزوكسي رايبونيكليوزيدات الأخرى هي : ديزوكسي أدينوزين، ديزوكسي سيتيدين و الديزوكسي تياميدين (اختصاراً تياميدين).

مثال عن نيكليوتيد: اليوريدين أحادي الفوسفات أو uridylate



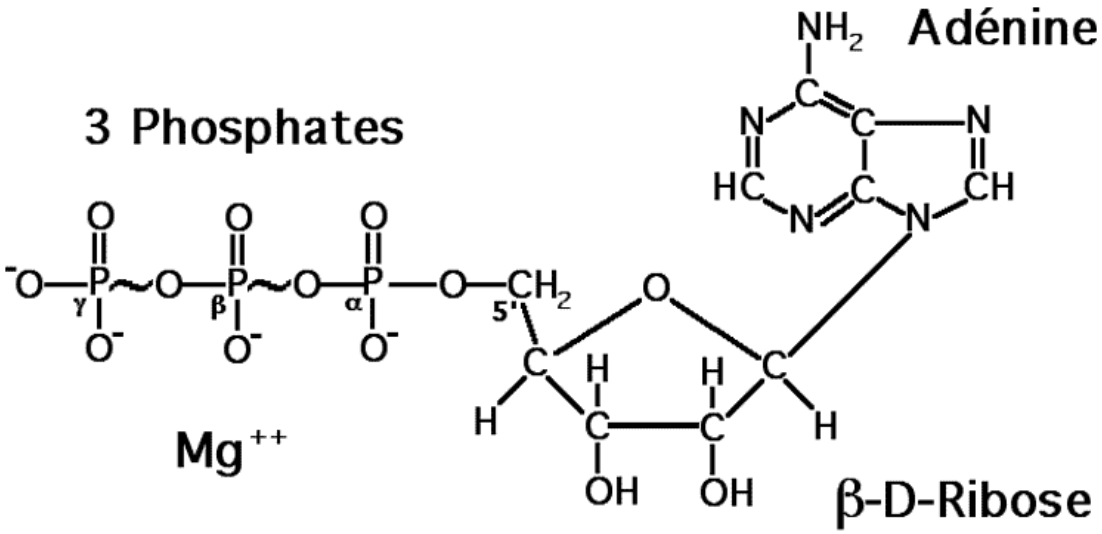
- النيكليوتيد = [النيكليوزيد] رابطة استيرية [حمض فوسفور]
- اليوريدين أحادي الفوسفات (UMP) = حمض اليوريديليك = اليوريديلات uridylate
- الريبونيكليوتيدات أحادية الفوسفات الأخرى هي: AMP، GMP و CMP

مثال عن نيكليوتيد منقوص الأكسجين:
ديزوكسي تياميدين أحادي الفوسفات



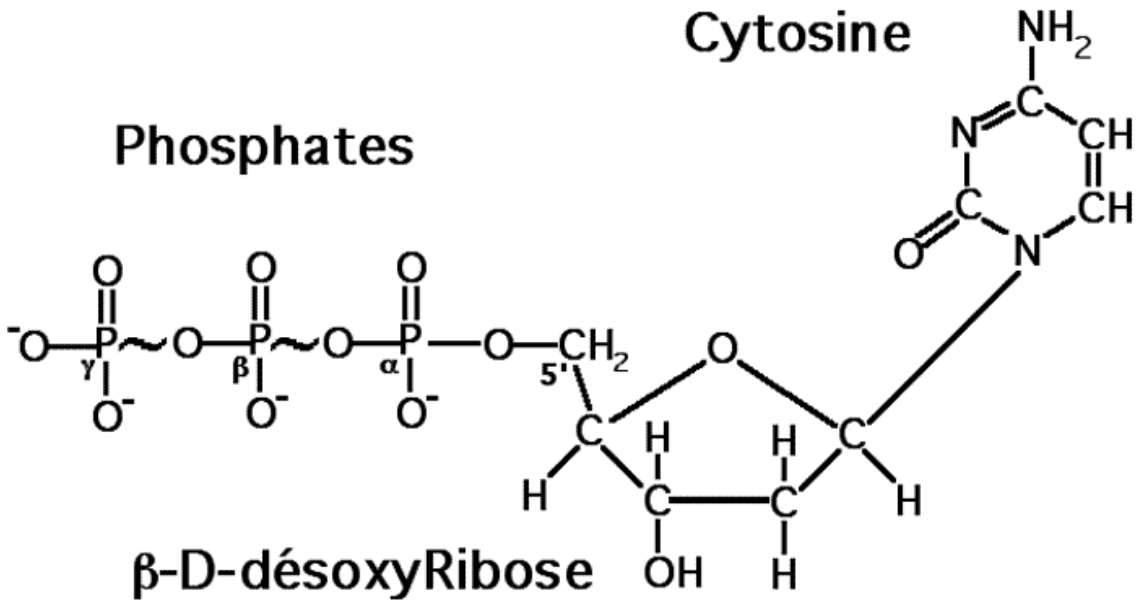
•الديزوكسي ريبونيكليوتيدات أحادية الفوسفات الأخرى هي: dAMP، dGMP و dCMP

مثال عن نيكليوتيد ثلاثي الفوسفات:
أدينوزين ثلاثي الفوسفات

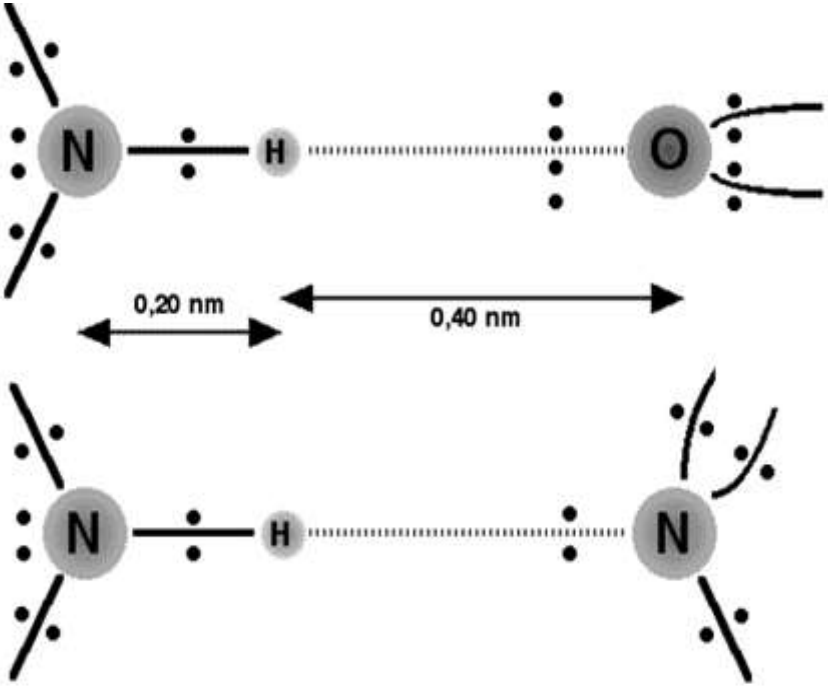


- روابط أنهيدريدية (تنتج عن نزع الماء من الحموض) التي تربط حموض الفوسفور هي روابط غنية بالطاقة.
- المساعدات الأنزيمية ATP/ADP هي نواقل عامة للطاقة.
- النيكليوزيدات الأخرى ثلاثية الفوسفات بحسب السكر أو الأساس الذي تحتويه هي: GTP، CTP، UTP و dATP، dGTP، dCTP و dTTP.

مثال عن ديزوكسي نيكليوتيد ثلاثي الفوسفات:
ديزوكسي سيتيدين ثلاثي الفوسفات



الروابط الهيدروجينية

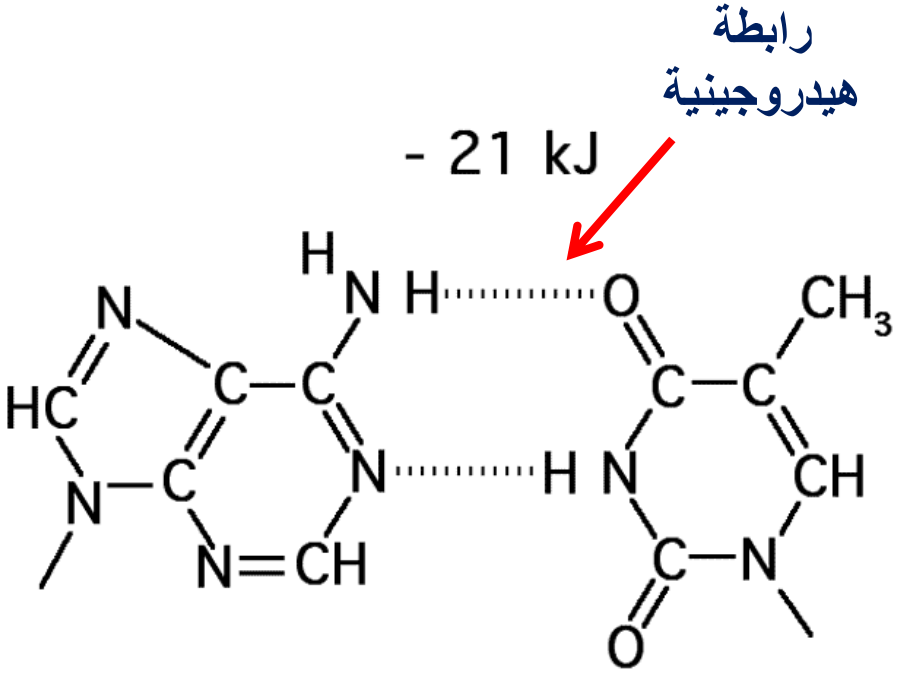


الروابط الهيدروجينية

- الرابطة الهيدروجينية: هي رابطة ضعيفة بين ذرتين ، إحداهما نيوكليوفيل (محبّة للنواة، غنية بالالكترونات) والأخرى الكتروفيل (محبّة للالكترونات،لاتمتلك سوى بروتونات نواتها).
- الهيدروجين : هو الكتروفيل.
- الأكسجين والآزوت : نيكلوفيل
- الأكسجين والآزوت تجذبان الهيدروجين مكونتان رابطة تسمى هيدروجينية.

الترابط أو الاتحاد hybridisation

- في المحلول، ترتبط النيكليوتيدات مع بعضها كل اثنين مع بعضهما بفعل الروابط الهيدروجينية.
- النيكليوتيد A يرتبط مع النيكليوتيد T والنيكليوتيد C يرتبط مع النيكليوتيد G.
- هذا نطلق عليه اسم hybridisation

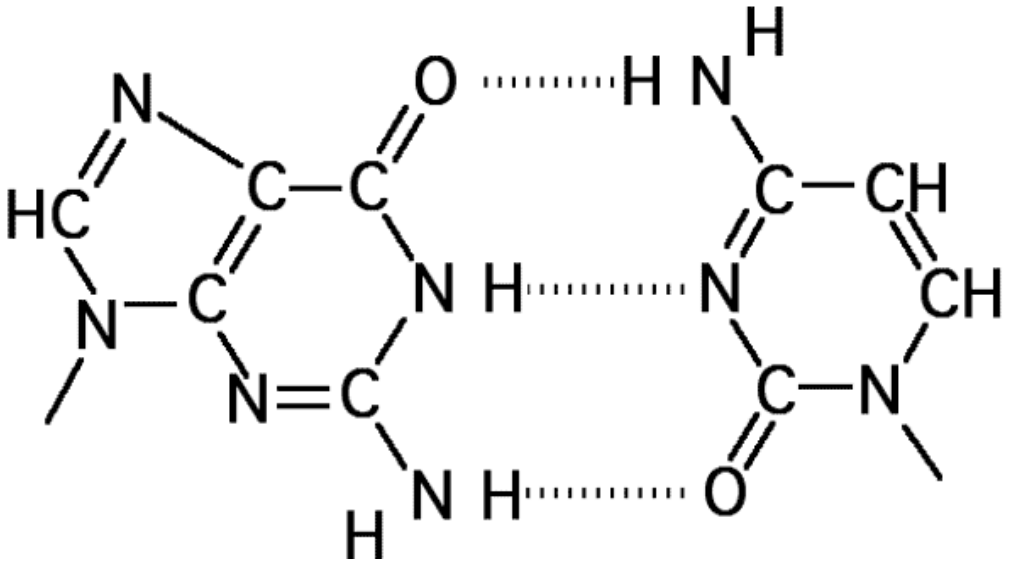


Hybridisation A-T

(2) hybridisation الترابط أو الاتحاد

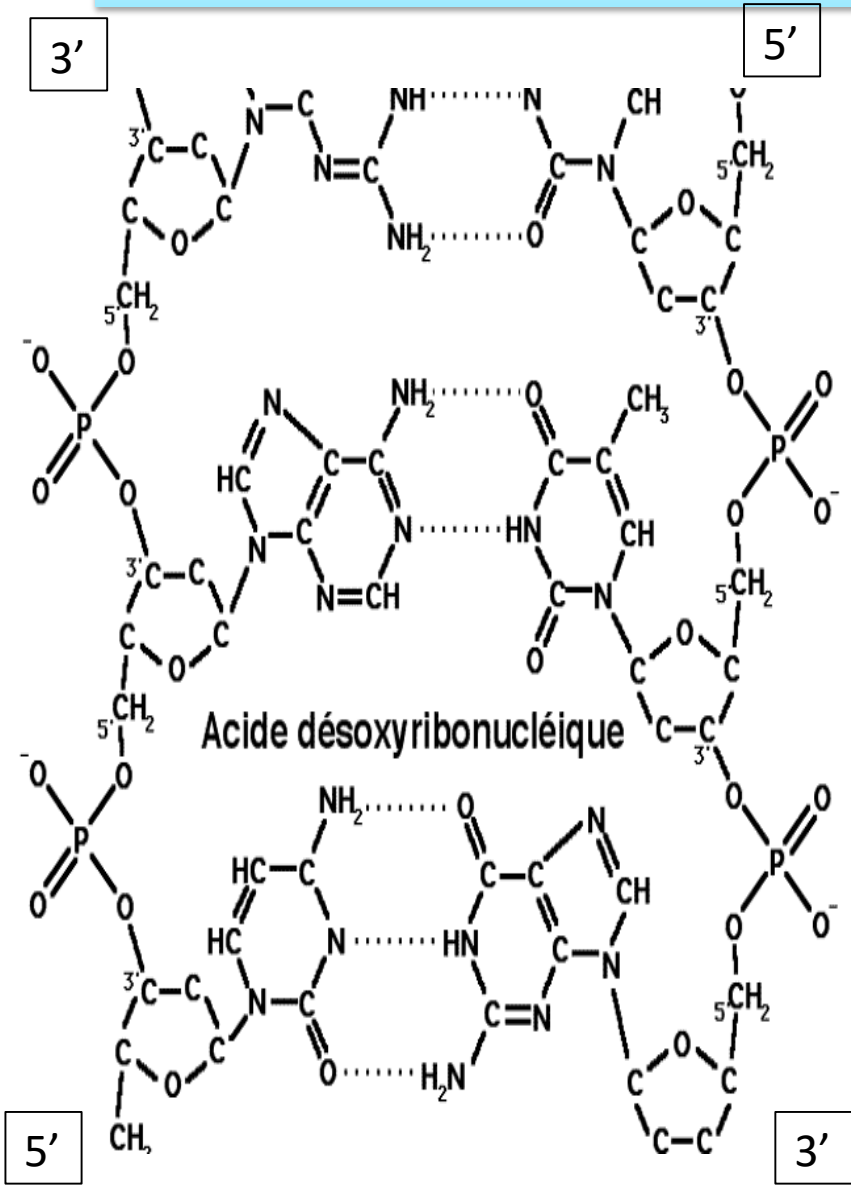
Hybridisation G-C

- 63 kJ



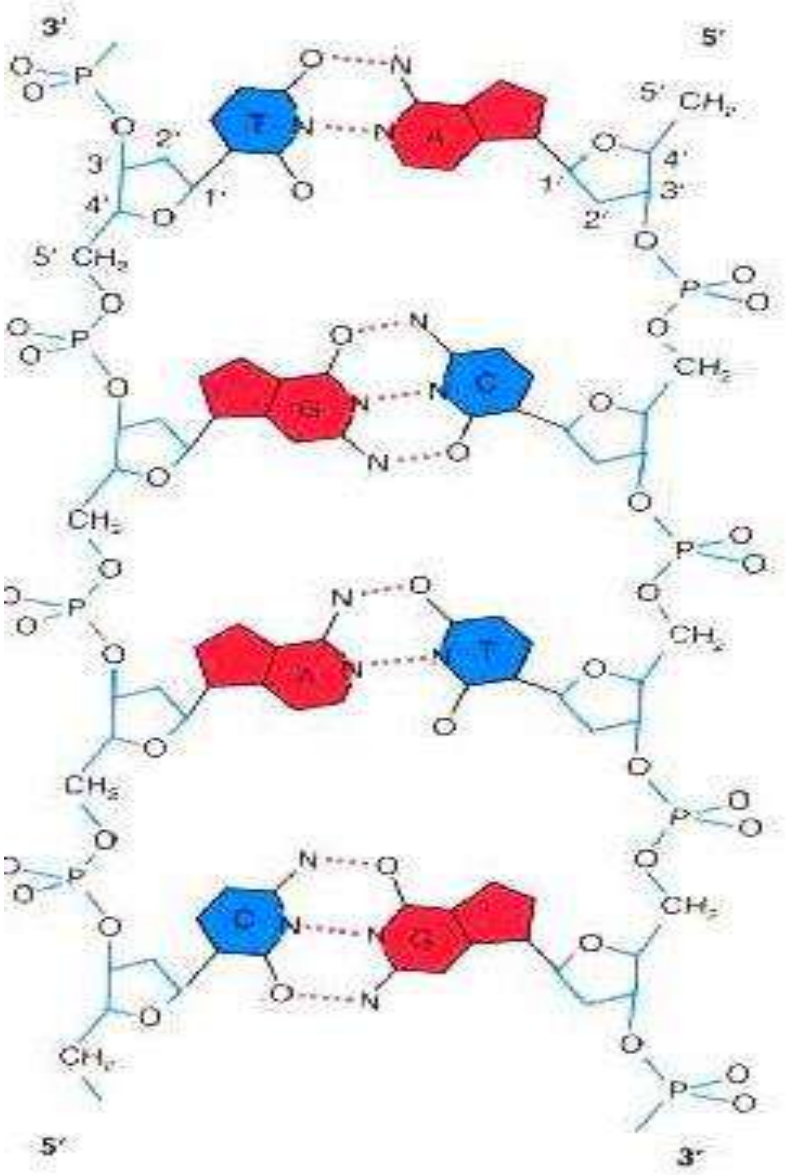
- الترابط بين الغوانين والسيتوزين أكثر ثباتية (ثلاث روابط هيدروجينية، -63 KJ) مقارنة بتلك التي بين الأدنين والتيامين (رابطتي هيدروجين، -21 KJ)

الحمض الريبي النووي المنقوص الأكسجين DNA



- يتكوّن من سلستين متكاملتين ومتعاكستين
- الأسس الآزوتية متجهة نحو الداخل
- الرايبوزات والأحماض الفوسفورية : محبة للماء تتجه نحو الخارج مشكّلة الهيكل الأساسي للـ DNA.

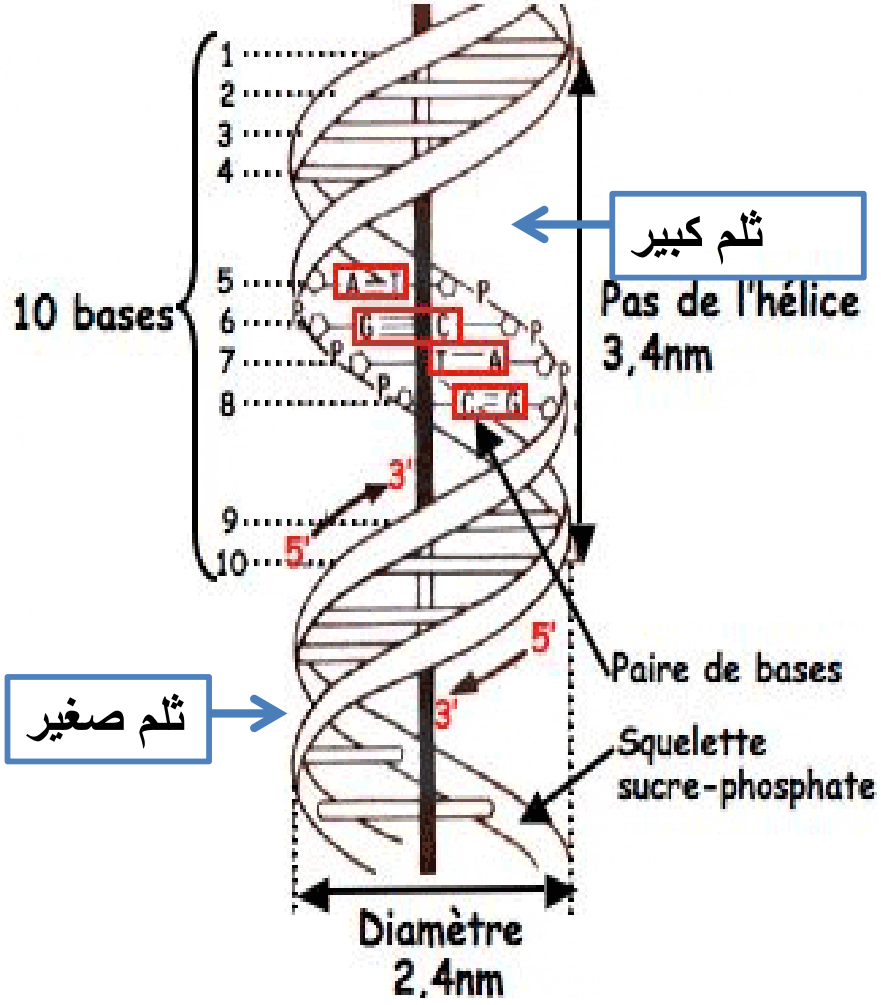
الـ DNA: التركيب ثنائي الأبعاد



- في التدوين التقليدي يشار إلى السلسلتين على النحو الآتي:

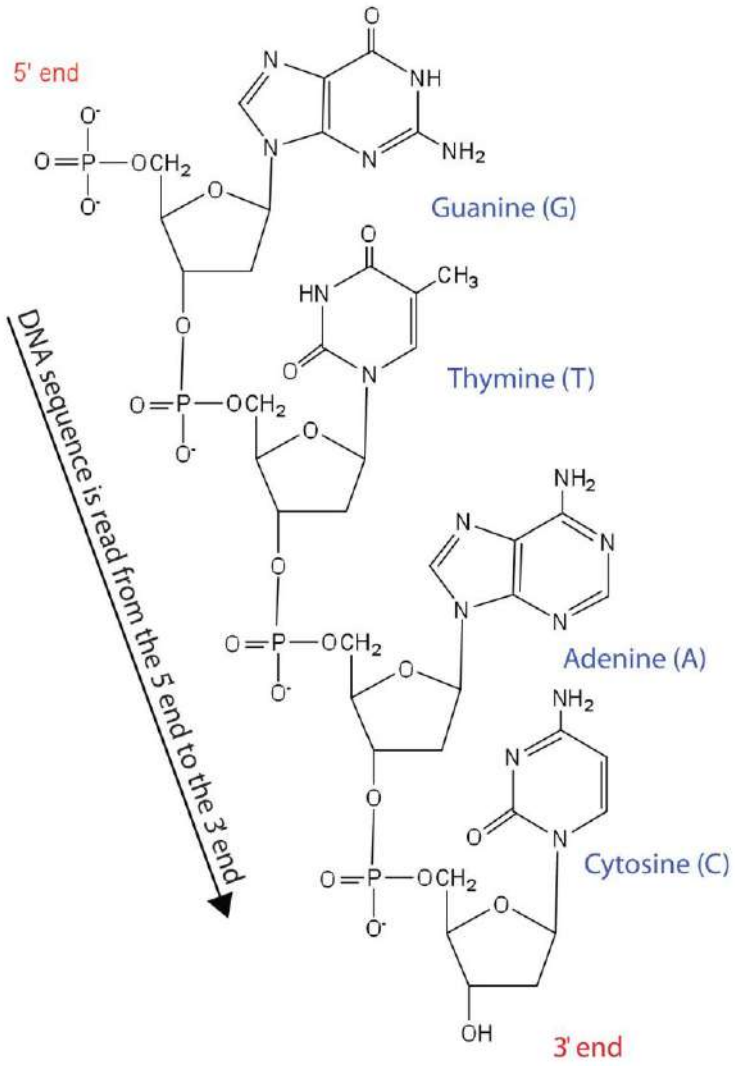
5′ ACCTGAACGCGTTAGGCTA 3′
3′ TGGACTTGCGCAATCCGAT 5′

البناء الحلزوني للـ DNA

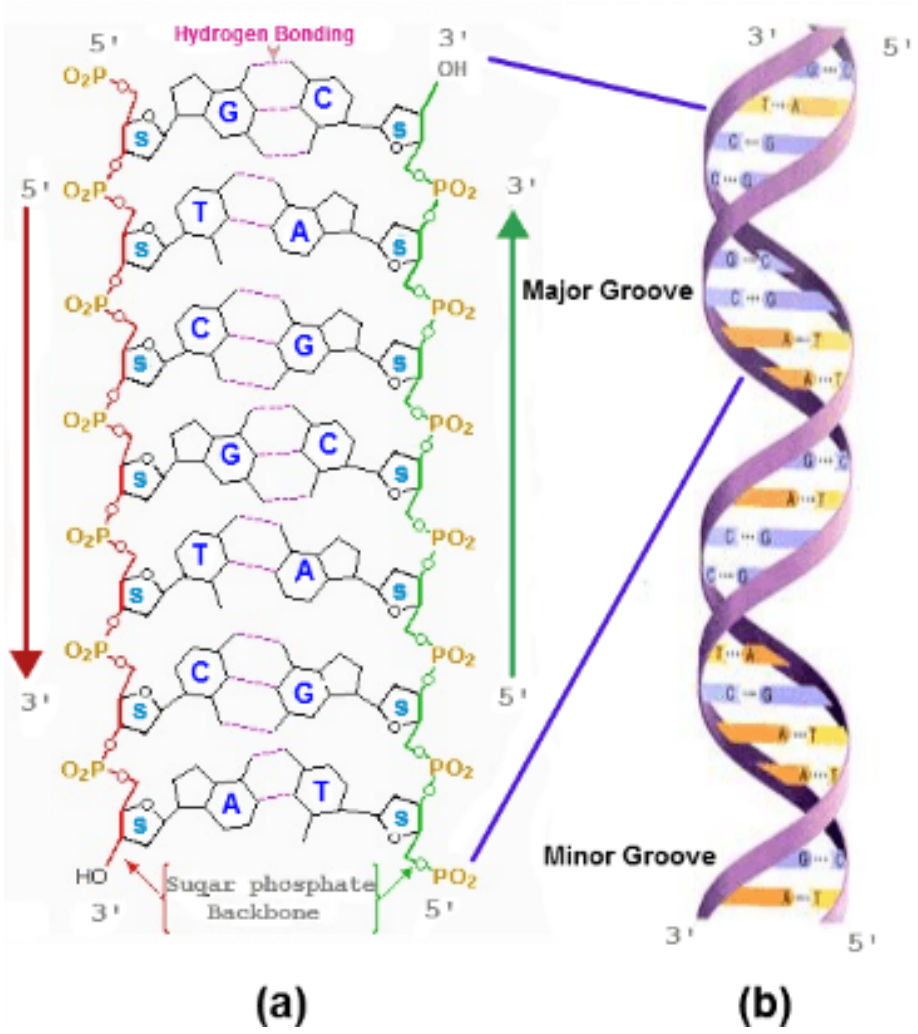


- كل دورة من دورات الحلزون تعادل 10-10,5 bp (زوج نيكليوتيدي، base pair) وطول 3.4 نانومتر
- التباعد بين الشريطين هو 2.4 نانومتر

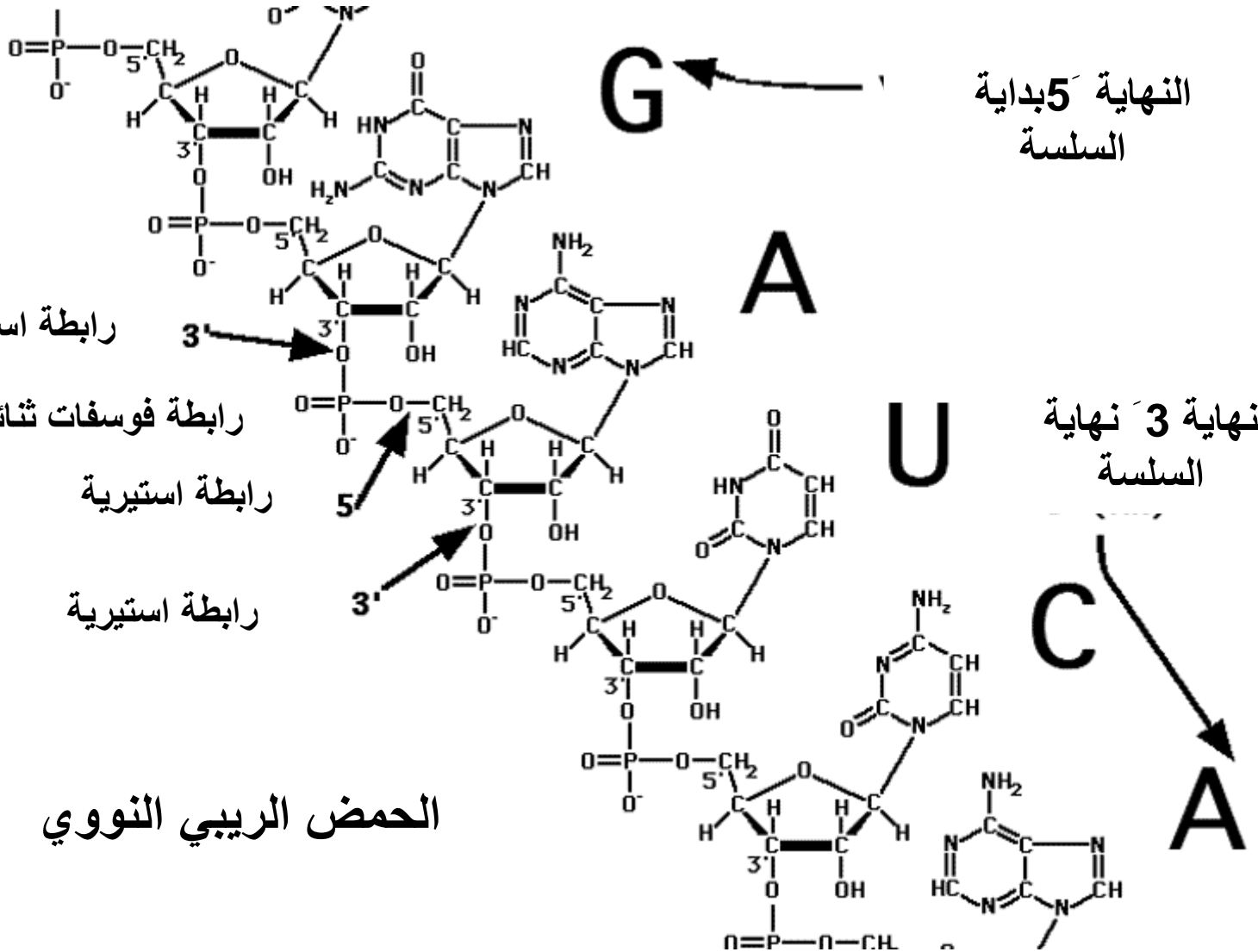
الحمض الريبي النووي المنقوص الأكسجين DNA



البناء الثانوي لـ DNA



الحمض الريبي النووي RNA



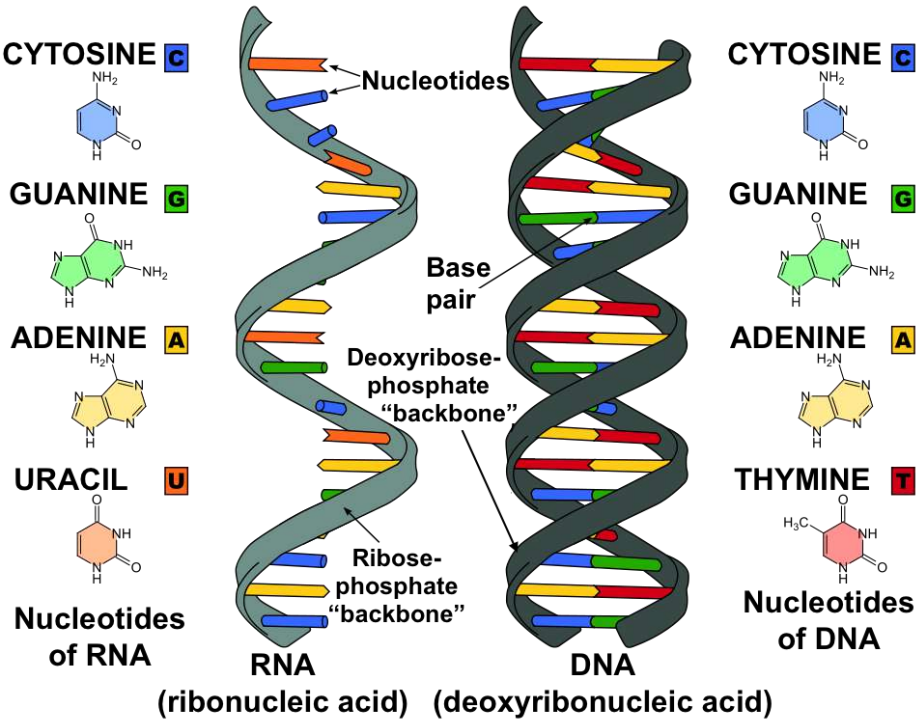
البناء الثانوي لـ RNA ومقارنته بـ DNA

❑ تختلف الـ RNA عن الـ DNA بعدّة خصائص:

- الـ RNA أقصر من الـ DNA

(70-10000نيوكليوتيد)

- تحتوي الرايبوز مكان الرايبوز منقوص الأكسجين.
- تحتوي اليوراسيل مكان التيامين
- تتكوّن من أخدود أو شريط واحد.



أشكال جزيء الـ DNA

- تمتلك الكائنات حقيقيات النوى جزيئات من الـ DNA على هيئة حلزون مضاعف السلسلة خيطي وطويل (Double-stranded) dsDNA.

- تمتلك الجسيمات الكوندرية والصانعات الخضراء جزيئات من الـ DNA بشكل حلزون مضاعف حلقي، وكذلك تكون جزيئات الـ DNA لدى الكائنات طلائعيات النوى على هيئة حلزون مضاعف السلسلة حلقي.

- أما في الفيروسات فبعضها يمتلك جزيئات من الـ DNA مضاعفة السلسلة خيطية كالفيروسات المسببة لجدري الماء Chickenpox أو تلك المسببة للهربس Herpes.

خواص جزيء الـ DNA

أ. الدنترة وإعادة الاتحاد Denaturation and Anealing:

Table 2.3 Relative G + C Contents of Various DNAs

Sources of DNA	Percent (G + C)
Dictyostelium (slime mold)	22
Streptococcus pyogenes	34
Vaccinia virus	36
Bacillus cereus	37
B. megaterium	38
Hemophilus influenzae	39
Saccharomyces cerevisiae	39
Calf thymus	40
Rat liver	40
Bull sperm	41
Streptococcus pneumoniae	42
Wheat germ	43
Chicken liver	43
Mouse spleen	44
Salmon sperm	44
B. subtilis	44
T1 bacteriophage	46
Escherichia coli	51
T7 bacteriophage	51
T3 bacteriophage	53
Neurospora crassa	54
Pseudomonas aeruginosa	68
Sarcina lutea	72
Micrococcus lysodeikticus	72
Herpes simplex virus	72
Mycobacterium phlei	73

Source: From Davidson, *The Biochemistry of the Nucleic Acids*, 8th ed., revised by Adams, et al. Copyright © Chapman & Hall, London.

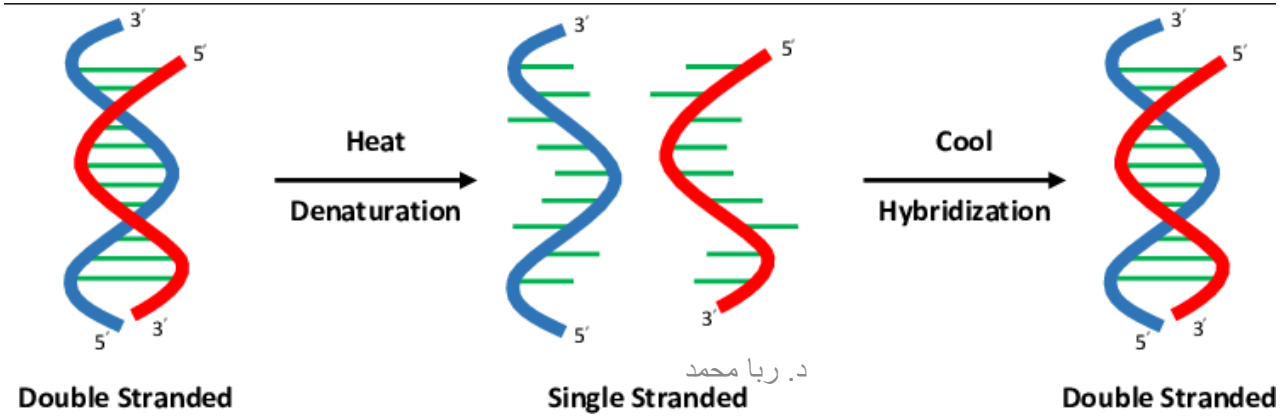
- تتفاوت محتوى الـ DNA من G+C بحسب الكائن الحي
- الـ DNA الغني بـ G+C يعتبر أكثر ثبات واستقرار

خواص جزيء الـ DNA

أ. الدنترة وإعادة الاتحاد Denaturation and Anealing:

❑ يتطلب الـ DNA الغني بـ C=G كمية أكبر من الطاقة لإحداث الدنترة (Denaturation: **فك الروابط الهيدروجينية بين الأسس في السلسلتين، والعودة إلى البنية الأولية المتمثلة بالسلاسل المفردة**).

- التسخين لدرجة حرارة 100°م لعدة دقائق يؤدي إلى فك الروابط الهيدروجينية بين السلسلتين دون أن يؤدي ذلك إلى انفصام الروابط الفوسفاتية ثنائية الاستر.
- التبريد البطيء يؤدي إلى عودة هذه السلاسل لتشكل جزيئات مزدوجة Renaturation.



خواص جزيء الـ DNA

أ. الدنترة وإعادة الاتحاد Denaturation and Anealing:

❑ يتطلب الـ DNA الغني بـ C=G كمية أكبر من الطاقة لإحداث الدنترة (Denaturation: **فك الروابط الهيدروجينية بين الأسس في السلسلتين، والعودة إلى البنية الأولية المتمثلة بالسلاسل المفردة**).

- التسخين لدرجة حرارة 100°م لعدة دقائق يؤدي إلى فك الروابط الهيدروجينية بين السلسلتين دون أن يؤدي ذلك إلى انفصام الروابط الفوسفاتية ثنائية الاستر.
- التبريد البطيء يؤدي إلى عودة هذه السلاسل لتشكل جزيئات مزدوجة Renaturation.
- التبريد السريع يؤثر سلباً على إعادة التجميع ويبقي السلاسل بشكلها المفرد.
- تترافق عملية الدنترة بزيادة في الكثافة وزيادة في القدرة على امتصاص الأشعة فوق البنفسجية.
- تستخدم هذه الطريقة لدراسة درجة التشابه والاختلاف بين الأنواع المختلفة.

خواص جزيء الـ DNA

أ. الدنترة وإعادة الاتحاد Denaturation and Anealing:

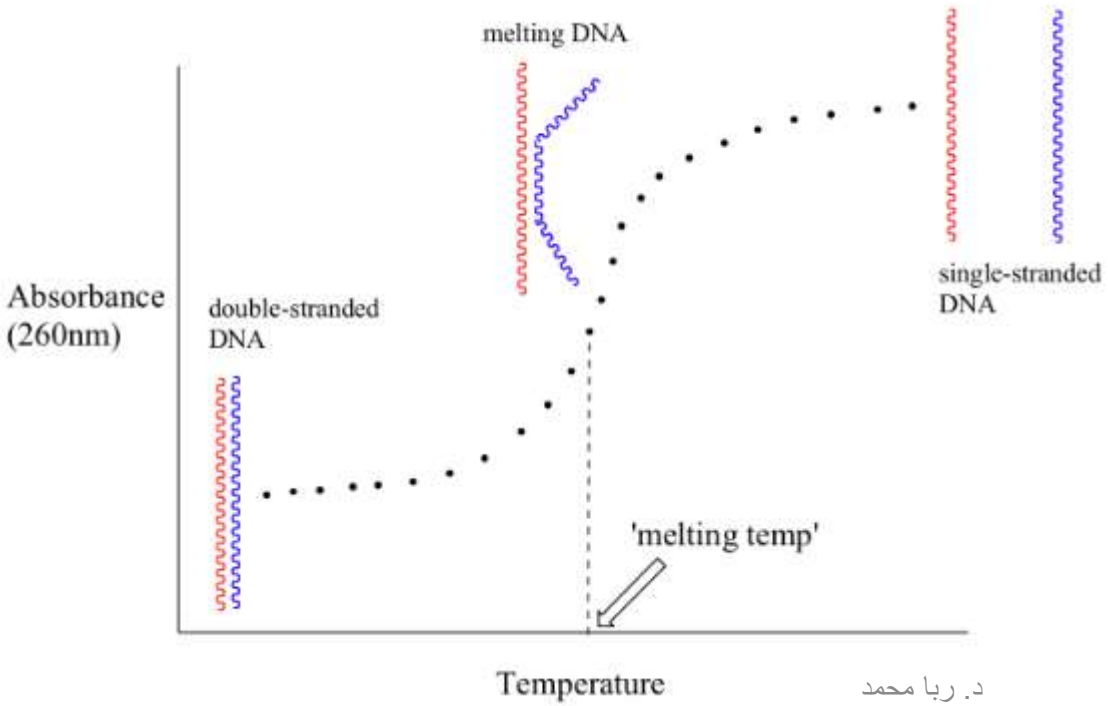
❑ يتطلب الـ DNA الغني بـ C=G كمية أكبر من الطاقة لإحداث الدنترة (Denaturation: **فك الروابط الهيدروجينية بين الأسس في السلسلتين، والعودة إلى البنية الأولية المتمثلة بالسلاسل المفردة**).

- درجة الحرارة اللازمة لفك الروابط الهيدروجينية بين A-T أو G=C تسمّى بدرجة حرارة الانصهار
- ونقطة الانصهار melting temperature (Tm) **هي درجة الحرارة التي تكون عندها نصف عدد جزيئات الـ DNA بشكل حلزون مضاعف ونصفها الآخر بشكل سلاسل مفردة.**
- Tm تعتمد على نسبة G+C / A+T، حيث ترتفع بزيادة نسبة GC.

خواص جزيء الـ DNA

أ. الدنترة وإعادة الاتحاد Denaturation and Anealing:

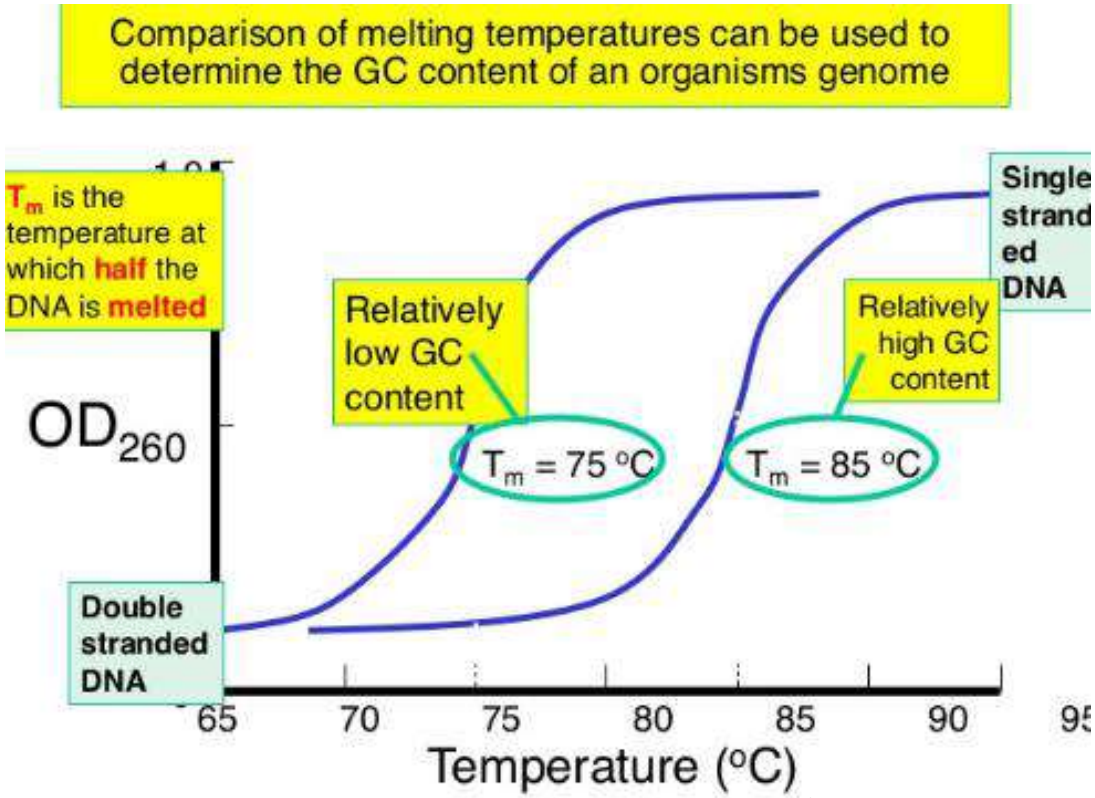
- توجد علاقة بين درجة الحرارة الموجود فيها الـ DNA وكمية امتصاصه للأشعة بطول موجة تبلغ 260 nm، وهي الموجة الخاصة بالـ DNA. يعود هذا الامتصاص إلى البنية الالكترونية الخاصة للأسس في جزيء الـ DNA، وتزداد درجة الامتصاص للأشعة بمقدار 40-60% مع اكتمال حادثة الدنترة.



خواص جزيء الـ DNA

أ. الدنترة وإعادة الاتحاد Denaturation and Anealing:

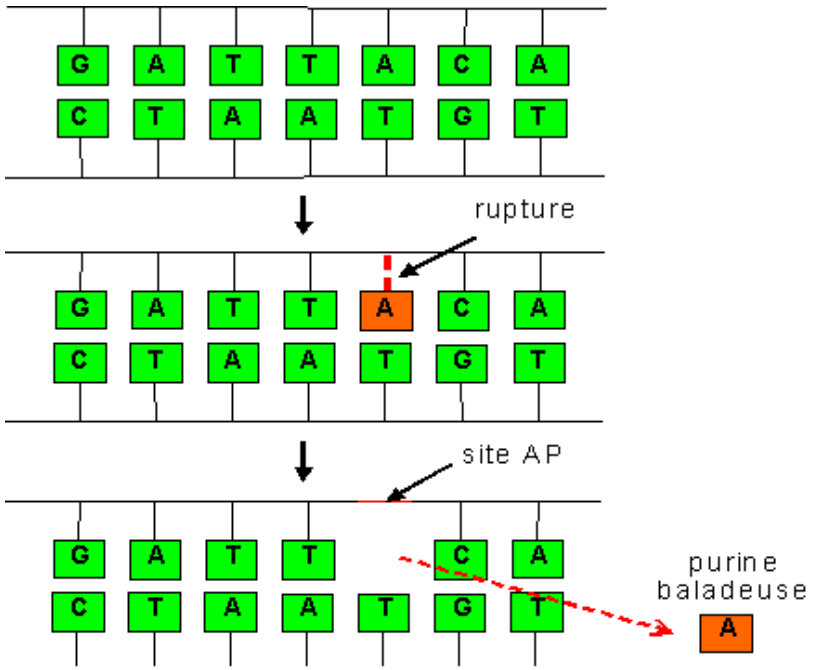
- هناك علاقة بين محتوى الـ DNA من G-C ودرجة Tm، ترتفع Tm مع زيادة المحتوى من G-C بسبب غزارة الروابط الهيدروجينية.



خواص جزيء الـ DNA

أ. الدنترة وإعادة الاتحاد Denaturation and Anealing:

❑ قد تحدث الدنترة بطرق غير الحرارة مثل المعاملة ببعض الأملاح العضوية، درجة الـ pH وتركيز الأملاح.



• أثر الحموض : (pH<7)

-نزع البيورينات Depurination (حلمهة الروابط الغليكوزيدية فقط) عند pH>3 وحلمهة كاملة للـ DNA عند pH <2 مع الحرارة حيث يحدث فصل للروابط ثنائية الإستر.

- الأوساط شديدة الحموضة تعمل على هضم الـ DNA لذلك المعدة شديدة الحموضة.

خواص جزيء الـ DNA

أ. الدنترة وإعادة الاتحاد Denaturation and Anealing:

❑ قد تحدث الدنترة بطرق غير الحرارة مثل المعاملة ببعض الأملاح العضوية، درجة الـ pH وتركيز الأملاح.

• أثر القلويات وبعض المواد الكيميائية :

- الأوساط عالية الـ pH : فك الروابط الهيدروجينية بين الأسس في السلستين وإعادته إلى البنية الأولية denature.

- حيث يكون الوسط القلوي غني بشوارد الهيدروكسيل OH^- فتجذب الهيدروجين الموجود في سلسلة الـ DNA محوّلة الـ DNA إلى DNA منزوع البروتونات deprotonated.

- بعض المواد الكيميائية مثل اليوريا والفورأميد تزعزع القوى الكارهة للماء بين الأسس المرصوصة مما يؤدي إلى فك ترابط السلستين.

خواص جزيء الـ DNA

ب. ثبات التناظر Stability of tautomeric form:

- ذرات الهيدروجين المرتبطة بالأكسجين أو النيتروجين في الأسس البيورينية أو البيريميدية تفضّل صور ارتباط معينة، وتميل للبقاء في أماكن معينة ولا تنتقل بين ذرات الأكسجين أو النيتروجين إلا في حالات نادرة.
- الوضع الطبيعي للنيتروجين هو وجوده بالصورة الأمينية NH2 أما الوضع النادر تكون في الصورة الإيمينية NH.
- الأكسجين المرتبط بذرة الكربون السادسة C6 في الغوانين والتيامين تكون عادة بالصورة الكيتونية C=O ونادراً ما تأخذ الشكل الإينولي COH.

هذا الاستقرار ضروري لجزيء الـ DNA ليتمكن من القيام بوظائفه البيولوجية بصورة منتظمة.

خواص جزيء الـ DNA

ج. لجزيء الـ DNA أبعاد مختلفة :

❑ يعبّر عن أبعاد جزيء الـ DNA بثلاث طرق:

- الوزن الجزيئي
- عدد الأزواج النيكليوتيدية والطول
- الطول : 1 لفة مزدوجة = 10.5bp =34°A ، 1bp= 660 دالتون (غ/مول)

❑ تقاس أبعاد الـ DNA :

- الميكروسكوب الالكتروني
- الرحلان الكهربائي

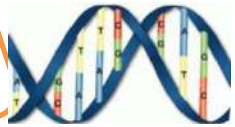
الخواص البيولوجية لجزيء الـ DNA

- يتميز جزيء الـ DNA بقابلية التضاعف الذاتي (Replication) وبقابلية نسخ الـ RNA عنه (Transcription) والترجمة (Translation) حيث يؤمن بذلك السيطرة الوراثية على تركيب البروتين وبالتالي كافة الأفعال الحيوية داخل الخلية وللمتعضية ككل.

دور الـ DNA

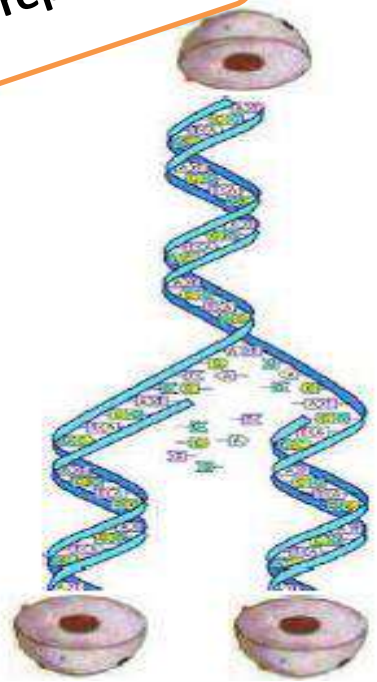
الـ DNA هي أبجدية من أربعة أحرف : A, T, C, G

البروتين (ابتداءً من عشرين حمض أميني)



الدور الأساسي للـ DNA هو مثل بروتوكول أو كتاب وصفات تبنى على أساسه جميع البروتينات الضرورية لقيام الخلية بوظائفها.

DNA replication



الدور الآخر المهم هو التضاعف الذاتي للـ DNA عند الانقسام الخلوي. هذا يزوّد الخلايا البنت بنفس الحقيبة الوراثية.