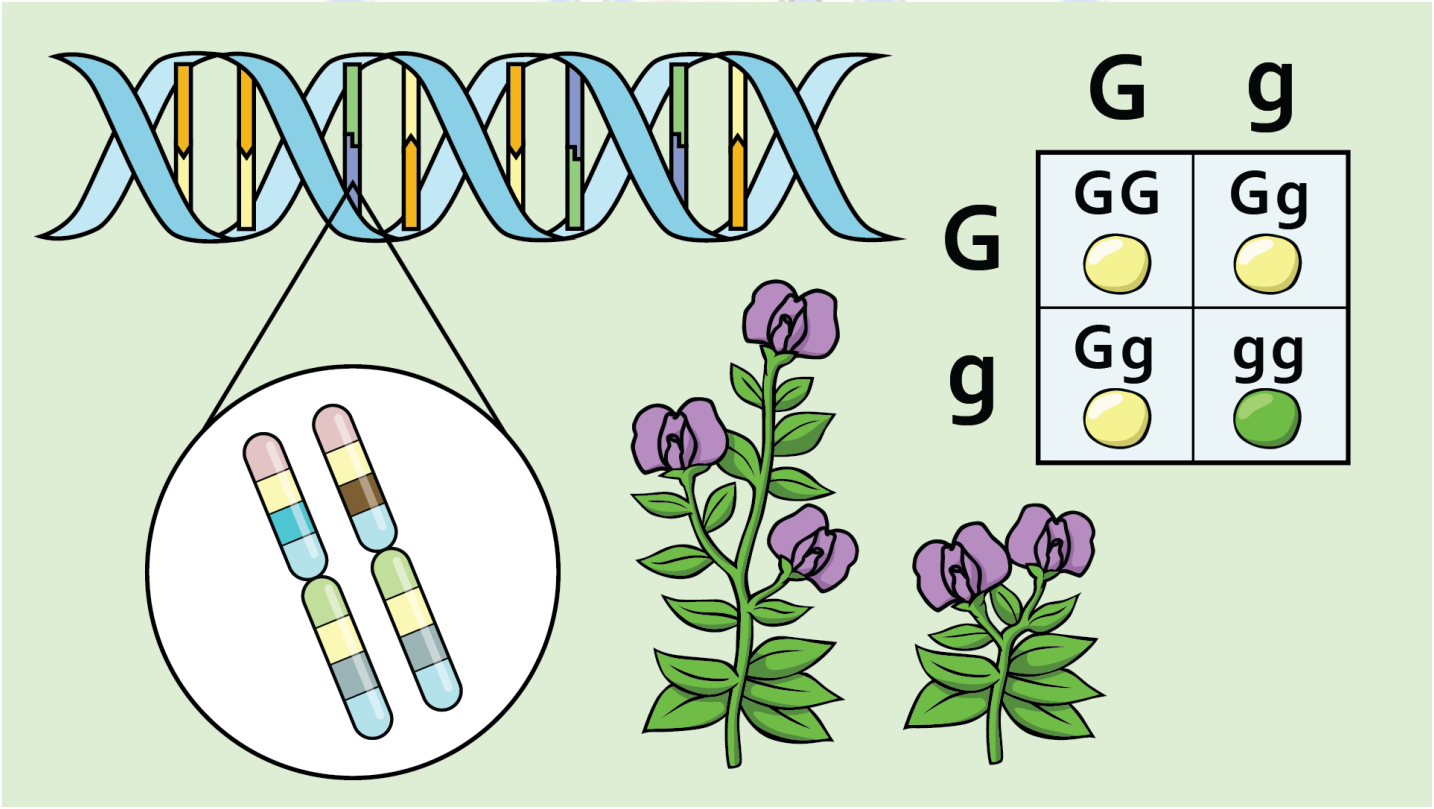
الكلية	التربية للعلوم الصرفة
القسم	علوم الحياة
المادة باللغة الانجليزية	Genetics 2
المادة باللغة العربية	علم الوراثة ٢
المرحلة الدراسية	الثالثة
اسم التدريسي	م.د. هبه عباس جاسم
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	Replication and synthesis of Nucleic acids
عنوان المحاضرة باللغة العربية	تضاعف وتصنيع الحوامض النووية
رقم المحاضرة	٧
المصادر والمراجع	العذاري، عدنان حسن (١٩٨٧) اساسيات في الوراثة، جامعة الموصل
	تاج الدين، سعد جابر و العيسى، عبدالنبي هادي (١٩٨٩) علم الوراثة ج٢، جامعة البصرة
	Brooker, R.J. (2005). Genetics Analysis and Principles, 2ed Edition, McGraw Hill.

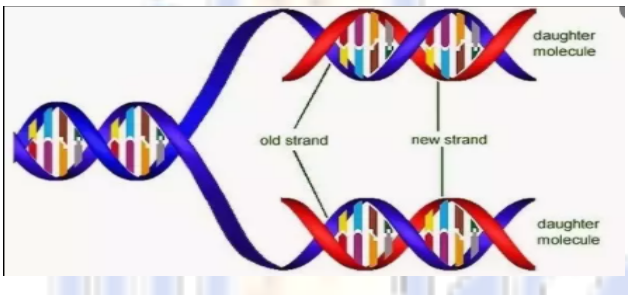


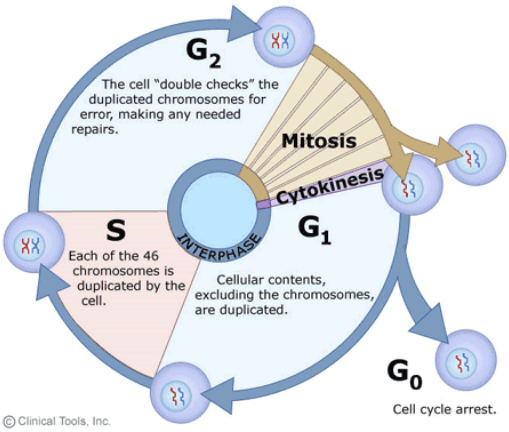
Replication and synthesis of Nucleic acids تضاعف وتصنيع الحوامض النووية

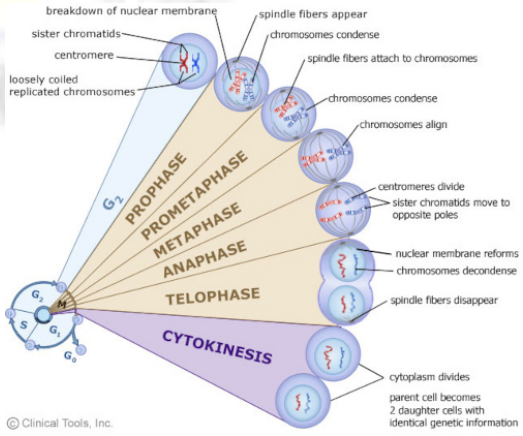
DNA replication :تضاعف الحامض النووي

ان عملية تضاعف الحامض النووي هي ببساطة ان يصبح فيها كل شريط منفصل من اشرطة الحلزون كقالب لتصنيع نسخة جديدة من الشريط . تحتاج هذه العملية تحطيم روابط الهيدروجين الموجودة بين القواعد لفصل الشريطين عن بعضهما وتوفر الينيوكليوتيدات الاربعة لغرض ربطها لتشكيل ازواج مع الشريط الاصلي (القالب). فاذا كان ترتيب القواعد في احد الأشرطة هو ATGCACCG فيكون ترتيب المتمم له في الشريط المقابل هو TACGTGGC.

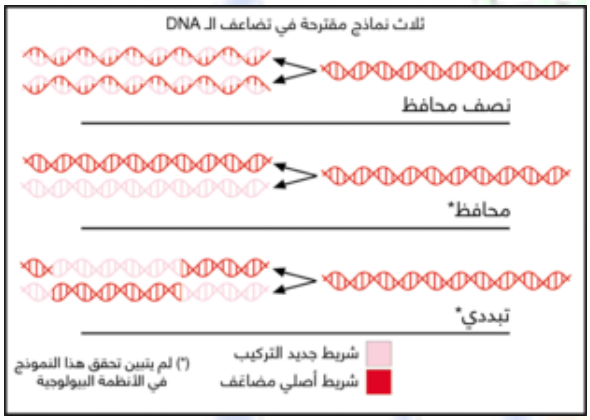
ان عملّة التضاعف عملّة منظمه تحدث بانتظام ودقة متناهّه . هنالك طورّان أساسّيان لدورة حّياة الخلّية cycle Cellوهما الطور البّيني Interphase وطور الانقسام الخّيطي Mitotic phaseولكل من هذّين الطورّين أطوار ثانوّية والمهم هنا هو تبّاين توقّيت حدوث عملّة تضاعف الدنا DNAحّيث تحدث هذه العملّية استعداد للانقسام الخلوي وتحدث فّي طور التصنّيع Synthesis phase وّيرمز له phase S وهو من الاطوار الثانوّية للطور البّيني وكما موضح بالمخططات ادناه:

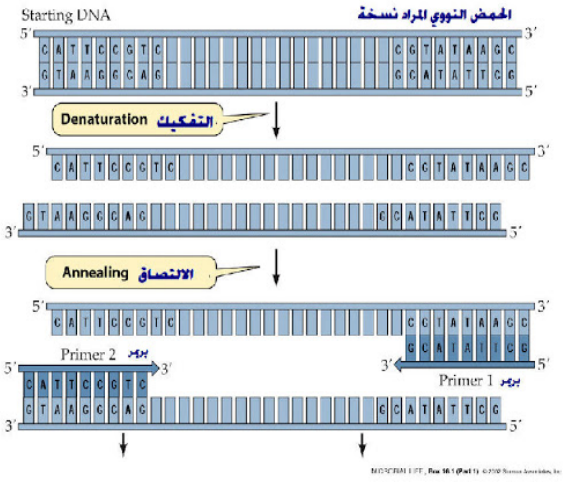






عند تلائم نيوكليوتيدات حرة مع اقرب نيوكليوتيدات ابوية مناسبة (من شريط القالب) (وكأن يكون Aمع Tاو Cمع G) فان النيوكلوتيدات الحرة تترتب بطريقة يتم معها ربط مكوناتها مع السكر والفوسفات مع تلك الموجودة في الشريط الابوي . وهكذا يستمر ربط النيوكليوتيدات الحرة على طول الشريط الابوي حتى اكتمال الشريط الجديد. ويقال عن مثل هذا التضاعف بانه تضاعف شبه محافظ (Semiconservative replication) اي ان شريط واحد ابوي يبقى دائما مع كل مزدوج حلزوني جديد.





شخّص العالم آرثر كورنبرج (Kornberg, 1980) عدداً من القواعد الاساسية التي تسيطر على عملية تضاعف الحامض النووي في اي نظام حياتي وهذه القواعد هي :

1- ان عملية التضاعف هي عملية شبه محافظة .

2- ان كلاً من شريطي الحامض النووي تتضاعف عن طريق اضافة النيوكليوتيدات من النهاية الخامسة الى النهاية الثالثة 5^{-} - 3^{-} .

3- تضاعف الحامض النووي يحدث بشكل مستمر (continuous) في احد الاشرطة الذي يدعى الدال اة القائد (Leading strand) بينما يكون متقطعاً في الشريط الثاني الذي يدعى بشريط التحميل (Lagging strand).

4- ان عملية التضاعف في قطع صغيرة تحتاج لبدئها قطعة من الحامض النووي تعمل كبادئة (Primer) لعملية التضاعف .

5- ان التضاعف يبدأ من موقع معين يدعى بالاصل (Origin) وقد تحتوي جزئية الحامض النووي على موقع اصل واحد او اكثر .

6- يبدأ التضاعف من موقع الاصل باتجاه واحد او اتجاهين وهو الغالب.

تجارب ميسلسون وستال The Meselson -Satail Experiments

لاثبات ان التضاعف نصف محافظ قام العالمان باستعمال بكتريا القولون حيث زرعت في وسط غذائي يحتوي نتروجين ثقيل N^{15}

نقلت الخلايا الى وسط زرعي يحتوي نتروجين اعتيادي N^{14} بعد التضاعف الاول لوحظ وجود شريط DNA هجين

عندما تركت للانقسام ظهرت نوعان من DNA بنسبة ٥٠٪ ثقيل واعتيادي لكل منهما النوع الأول هجين يحتوي على نتروجين اعتيادي - ثقيل N14 – N25 اما النوع الثاني الهجين يحتوي على على نتروجين اعتيادي فقطآ N14 .

عملية التضاعف باضافة النيوكليوتايد بالاتجاه 3 ⟵ ٥

من المعروف ان اتجاه الحزون المزدوج من ٥ الى ٣ في الشريط الاول ومن ٣ الى ٥ في الشريط الثاني

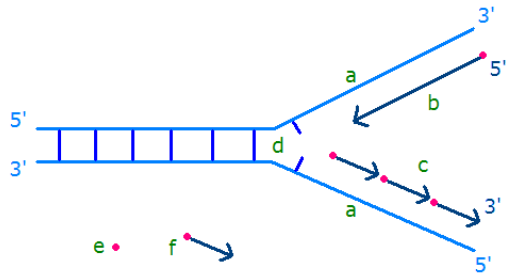
عند حدوث عملية التضاعف تنفصل السلسلتين وتتكون سلسلة جديدة تضاف النيوكليوتيدة الى الكاربون موقع ٣ في السلسلة الجديدة وبذلك تكون السلسلة نامية من الموقع ٥ باتجاه ٣

التضاعف باتجاه واحد او اتجاهين

تحدث عملية التضاعف في نقطه معينة من الكروموسوم حيث تنفصل السلسلتان في هذه المنطقة وتضاف النيوكليوتيدات لتكوين سلسلة جديدة

التضاعف احادي الاتجاه تتكون سلسلة قصيرة باتجاه واحد باضافة النيوكليوتيدات باتجاه ٥ الى ٣ بصورة موازية ومعاكسة للسلسة الاصلية

التضاعف ثنائي الاتجاه تضاف النيوكليوتيدات باتجاهين من ٥ الى ٣ ومن ٣ الى ٥ ثم تلتحم فيما بينها وتسمى منطقة النمو بالشوكةFork



تصنيع الحامض النووي DNA

يحتوي وسط التفاعل عند تصنيع DNA على

١ انزيم بوليميريز polymarase يعمل على ربط النيوكليوتبدات مع بعضها البعض

٢ اربع انواع من الدياوكسي رايبونيوكليوتايد ثلاثية الفوسفات dTTP, dCTP, dGTP, dATP

٣ ايون المغنيسوم MgCl2

٤ قالب DNA

قالب template DNA

- للقالب اهمية في سرعة التفاعل فهو اداة استنساخ رئيسية حيث يلاحظ:
- تطابق القواعد الموجودة في الشريط الجديد مع القالب
- حذف اي من النيوكليوتيدات الاربعة يسبب توقف في صناعة DNA
- درجة الحرارة تزيد من سرعة التفاعل

DNA polymerase

- يعمل الانزيم على تثبيت الحامض النووي القالب في موقع معين ثم يقوم بصناعة الحامض النووي المتمم لهذا القالب
- يقوم الانزيم بترتيب النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات بحيث تكون متممة للنيوكليوتيدات في القالب
- يقوم الانزيم بربط النيوكليوتيدات باصرة كيميائية الى الموقع ٣ من الحامض النووي الجديد
- كما يساعد على تحليل احدى اشرطة DNA الى نيوكليوتيدات مفردة

تضاعف الـDNA في بدائية النواة

تشمل الية التضاعف

- تضاعف السلسلتين عن طريق نظرية القالب
- فك unwinding سلسلتي البولي نيوكليوتايد
- ترتيب النيوكليوتيدات وربطها باواصر بواسطة انزيم بلمرةDNA

- تبدأ العملية في نقطة البداية من الحامض النووي الحلقي
- كسر لاحدى سلاسل الحلزون بواسطة الانزيم القاطعendonuclease
- تتركب سلسلة متكاملة في احدى الاتجاهين وسلسلة متقطعة في الاتجاه الاخر
- تلتحم السلاسل المتقطعة بواسطة انزيم لايكيزligase من خلال تكوين اواصر كيميائية

تقسم عملية التضاعف الى ثلاثة مراحل وهي:

- **١ مرحلة الابتداء Initiation**
- التضاعف يبدا من منطقة تدعى المنشا origin يتكون من تواليات ثابتة لحوالي 9bp وهي 5-TTATCCACA-3 وتتشكل شوكة التكرار التي ترتبط مع بروتينات معقدة تمنع الشريط من الالتصاق مؤلفة من انزيم topoisomerase
- تحتاج ٣ جينات هي DNA A بالقرب من منشا التكرار
- DNAC-D و DNA-B الذي يشفر لانزيم Helicase الذي يعمل على تفكيك DNA
- وجود الممهدات primers وهي سلاسل قصيرة من RNA تكون متممه لقالب DNA والتي تحتاج الى انزيمات يطلق عليهاPrimases
- نمو الشريط المتباطئ lagging strand من النوع غير المستمر لذا تتكون متممات RNA وقطعه اوكازاكي Okazaki fregments طولها ١٠٠٠ نيوكليوتيدة
- عملية تطويل الشريط القيادي Leading strand وبناء قطع اوكازاكي تتم بوجود انزيم DNA Polymerase III ومواد تفاعل الانزيم هي نيوكليوسيدات dTTP, dCTP, dGTP, dATP
- عند اكمال قطع اوكوزاكي تستاصل المتممات RNA وترتبط قطع اوكوزاكي يقوم انزيم DNA ligase الى تكوين اواصر فوسفاتية ثنائية الاستر لربط النهايات الحرة

مرحلة الاستطالة Elongation

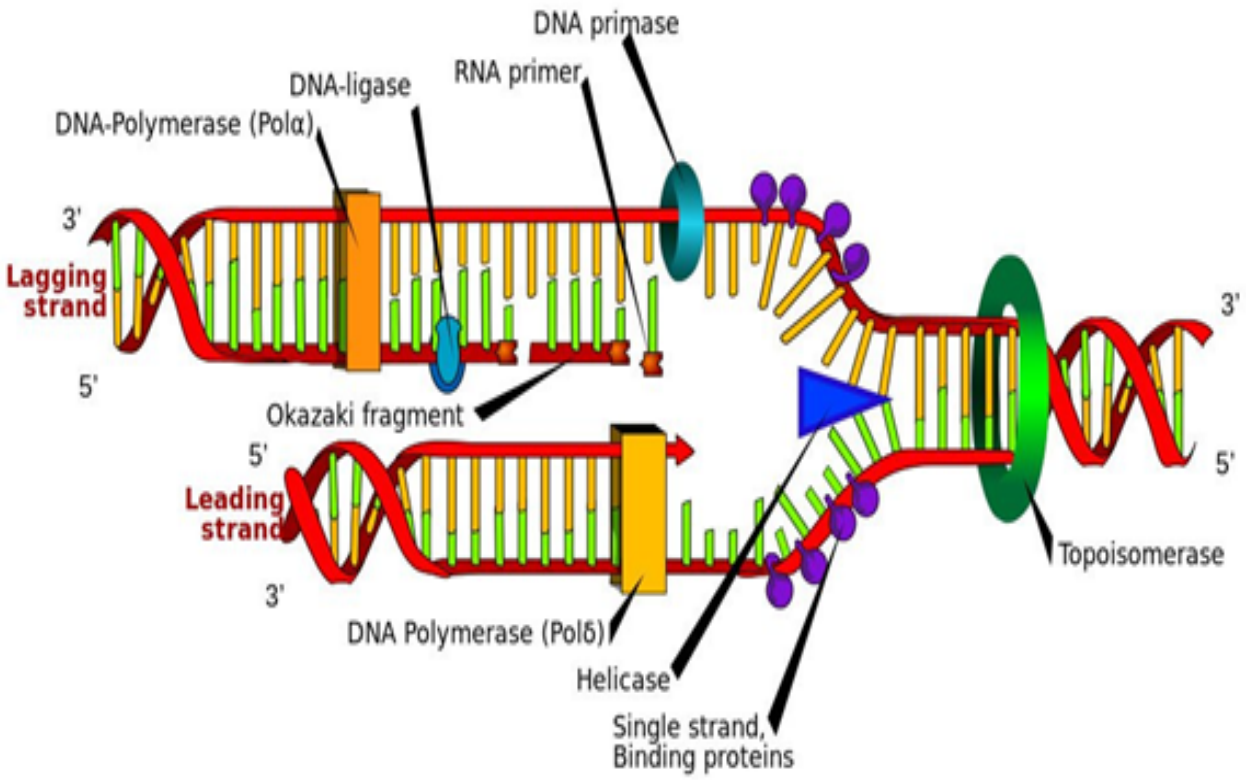
- يتم تطويل شريط leading strand وبناء قطع اوكوزاكي
- خلال انفصال الشريط تصبح كمواقع تتقابل فيها النيوكليوتيدات الحرة
- تتم هذه العمليُة بواسطة انزيم polymerase DNAبالاتجاه ٣'←٥' حيثُ يقوم باضافة النُوكلُوتُدات ثلاثُية الفوسفات الى مجموعة الهُدروكسيُل الحره للنُيوكلُوتُيده

السابقه ونحصل على الطاقة الازمة من مجموعة الفوسفات التَّي كانت فَي النُيوكلُوتُيده الحره.

- فَي الشرُيط الجدُيد الذيُ يكون الشرُيط القالب (الاصلً الابوي) له باالتجاه٥'←٣' يبنى هذا الشرُط باستمرار وُيحتاج الى قطعة برايُمر واحده فقط وُسمى بالشرُيط القائد Strand Leadingاما الذيُ يكون بالعكس فانهُ يحتاج الى عدة قطع من البرأُيمرات وُيبنى بشكل منقطع غُر مستمر وُيسمى بالشرُيط المتأخر Strand Laggingوتسمى القطع الصغُرة بقطع اوكازاكَي Okazaki .Fragment

مرحلة الانتهاء Termination

- في هذه المرحلة يحدث تفاعل بين القطع الجديدة من خلال تجميع قطع اوكاازاكي حيث يتم استاصال القطع المتممة RNA ولحم القطع المنفصلة
- تحدث هذه العملُية عند مناطق تسمى مناطق الانهاء وتحدث عملُة إنهاء التضاعف نتُيجة ارتباط بروتُينات الانتهاء بهذه المناطق. من الجدُر بالذكر ان بدائُية النواة قُيها منطقة إنهاء واحده وبالتالَي منطقة متبلمرة واحده)Repliconو المنطقة المحصورة بُن منطقة البدء والانهاء(فَي حُين هنالك عدة مناطق إنهاء وعدة متبلمرات فَي حقُيقُة النواة



مخطط يوضح تضاعف شريط DNA

تضاعف الـDNA في حقيقة النواة

- تنطبق نظرية تضاعف الـDNA في بدائية النواة على حقيقة النواة
- ففي الحقيقية يبدا تضاعف الكروموسوم في عدة مناطق على طول الكروموسوم في ان واحد
- يتكون الحامض النووي في اتجاهين وعليه تتكون في كل نقطة تضاعف وجود فقاعة حيث تتكون عدة فقاعات ثم تلتقي لتكوين سلسلة واحدة

الاستنساخ transcription:

على الرغم من ان عملية بناء الحامض النووي RNA لاتختلف من الناحية الكيميائية عن بناء الحامض النووي DNAحيث ان كلا العمليتين تتضمنان اضافة نيوكليوتيدات لبناء شريط الحامض النووي مع الاختلاف في بعض التفاصيل . الا انهما يختلفان على مستوى الوظيفة .

فعملية التضاعف تتضمن نقل دقيق وامين للمعلومات الوراثية بينما تتضمن عملية الاستنساخ نسخ تلك المعلومات لاجل تعبير المورثات عن نفسها وتلك اكثر تعقيداً . ان معظم معلوماتنا حول تعبير الموروثات جاءت من دراسات قراءة تتابع الحامض النووي DNAوالبروتينات التي تنظم الاستنساخ وخصوصاً انزيمات بلمرة الحامض النووي RNA .

يتم السيطرة على عملية الاستنساخ من قبل ثلاثة انزيمات بلمرة نووية مختلفة. تدعى هذه الانزيمات بأنزيم بلمرة الحامض النووي الريبوزي الاول (RNA Polymerase I) وانزيم البلمرة الثاني (RNA Polymerase II) وانزيم البلمرة الثالث (RNA Polymerase III) .يمكن تمييز هذه الانزيمات عن بعضها من خلال موقعها الخلوي حيث يقع انزيم البلمرة الاول في النوية (Nucleous) بينما يقع انزيم البلمرة الثاني والثالث في الجدار النووي.

كما تختلف وظيفة كل منهما حيث يكون الانزيم الاول مسؤولاً عن استنساخ الحامض النووي الرايبوسومي (rRNA). والانزيم الثاني يكون مسؤولاً عن استنساخ الحامض النووي الرايبوسومي و الحامض النووي الناقل (t RNA).

استنساخ الحامض النووي المراسل mRNA

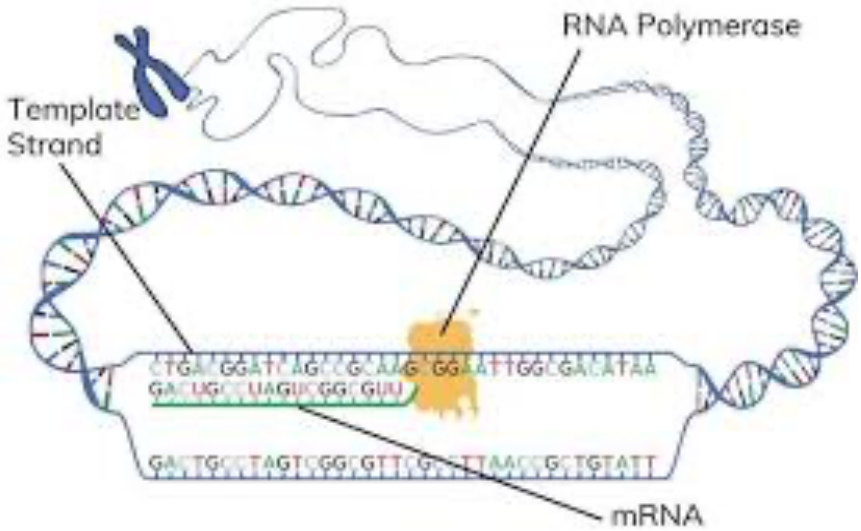
ان الاحماض الامينية ليست متآصراً مع الحامض النووي DNA بل ان هناك خطوة وسطية تعمل على ترتيب الاحماض الامينية في سلسلة عديد الببتيد وكما هو منظم في

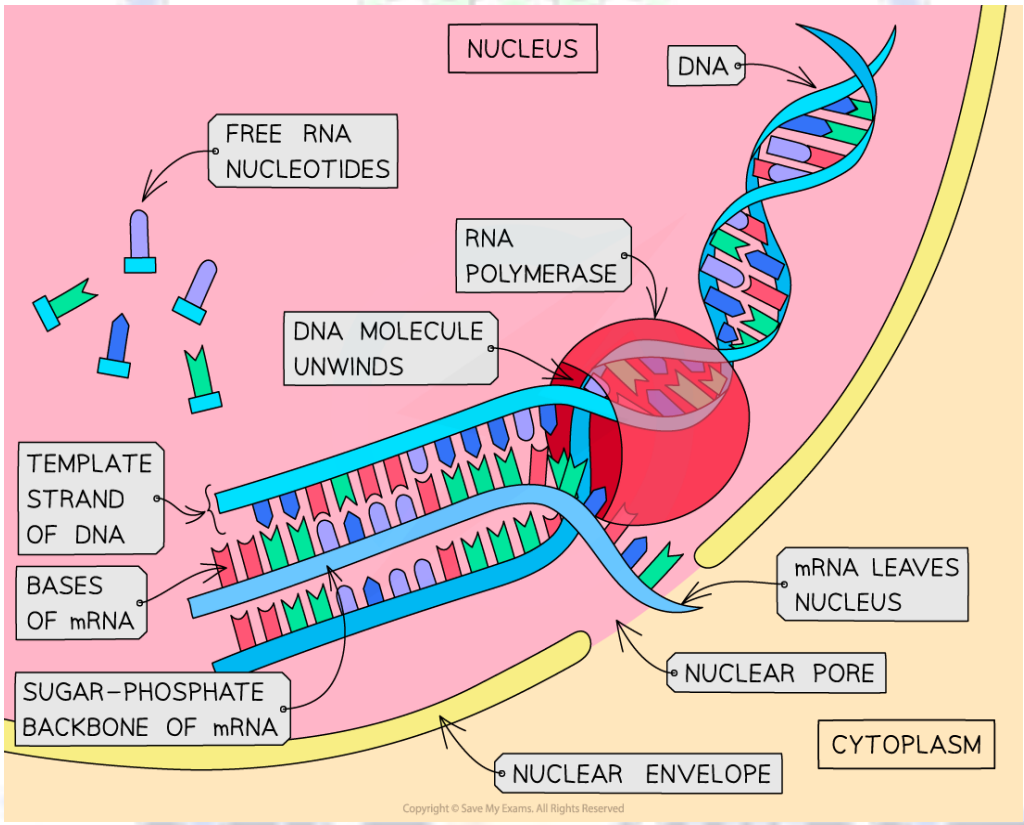
تتابع الحامض النووي DNA (المورثات) . تبدأ هذه الخطوة بانفصال اشرطة الحامض النووي DNAعن بعضها البعض في الموقع المراد استنساخه . تبدأ بعدها عملية الاستنساخ في شريط مفرد واحد من مزدوج الحامض النووي DNA يدعى بالشريط المشفر او الشريط الحساس (DNA coding or sense strand) لتنتهي بتكوين حامض نووي يمتلك نفس تتابع القواعد في شريط الحامض النووي الحساس . ويستخدم الشريط المشفر فقط في عملية الاستنساخ لانه يحتوي على معظم مورثات الكائن بينما يحمل الشريط الثاني الذي يدعى بالشريط غير الحساس (Anstisense strand) بعض المورثات . يتكون الهجين (RNA - DNA) نتيجة تماثل في تتابع القواعد النيتروجينية في كل من شريطي الحامض النووي DNAوالحامض النووي RNA . ان حصول الهجين يؤكد بان الحامض النووي RNAفي الهجين هو مستنسخ من شريط الحامض النووي DNAالمرتبطة معه .

وفي جميع الاحوال فان الاستنساخ يتم باتجاه 5¯ _ 3¯ على طول القالب حيث تضاف النيوكلوتيدات الجديدة الى النهاية الثالثة بما ان اشرطة الحامض النووي DNAمتعاكسة كما ان اتجاه الاستنساخ لتكوين الحامض النووي RNAيكون من النهاية الخامسة 5¯ الى النهاية الثالثة 3¯ فان تردد المورث يجب ان يبدأ من النهاية 3¯ . ان ذلك مهم عند مقارنة تتابع قواعد الاحماض النووية (m RNA , DNA) مع سلسلة عديد الببتيد الناتجة

تحتوي النهاية الخامسة للحامض النووي على قواعد متممة لقواعد اخرى في النهاية الثالثة للحامض النووي الرايبوسومي في الريبوسوم. تساعد هذه على ارتابط الحامض النووي المرسال مع الريبوسوم لاجل الترجمة . تعتبر هذه اول وظائف الرسائل التي يحملها الحامض النووي المراسل الا وهي الارتباط الصحيح في منطقة مناسبة في الرايبوسوم لاجل ترجمة المناطق المشفرة من النهاية 5الى 3 . في النهاية الثالثة تقع شفرات غلق عملية الترجمة.

يتكون الحامض النووي المراسل الاولي الناتج عملية الاستنساخ من تتابعات مشفرة تدعى بالمحاور Exonsمحاطة بتتابعات اخرى غير مشفرة تدعى بالمتداخلات Introns. يختلف عدد المحاور والمتداخلات في الحامض النووي المراسل الاولي Primary mRNAمن كائن الى اخر. تفصل المحاور عن المتداخلات بواسطة عدد من التتابعات الخاصة التي تدعى بتتابعات العزل Consensus Sequences. يعتقد بان لهذه التتابعات دورا رئيسيا في عملية تحوير الحامض النووي المراسل الاولي لاجل التخلص من قطع المتداخلات او التتابعات غير المشفرة. لذلك يهاجر الحامض النووي من النواة الى السايتوبلازم حيث يرتبط مع الريبوسومات التي هي بيوت تصنيع البروتين. يدعى الحامض النووي في هذه المرحلة بالحامض النووي المراسل الناضج.





UNIVERSITY OF ANBAR