A-T-A-C-A-A-C-A-G-G وهكذا

مستويات بناء جزيئة DNA:

تتكون جزيئة DNA من سلسلتين من Polynucleotides متقابلتين متعاكستين في الاتجاه فاحداها باتجاه ٥ـ الى ٣ـ والثانية باتجاه ٣ـ الى ٥ـ . تزدوج في هاتين السلسلتين القواعد النتروجينية حسب نظام يعرف بنظام ازدواج القواعد النتروجينية Base Pairing وفية ترتبط قاعدة نتروجينية بيورينية في سلسلة، بقاعدة نتروجينية بيريميدرنية مقابلة لها في السلسلة الثانية ، عبر اواصر هيدروجينية . وحسب هذا النظام فان A يقابل او يزدوج مع T وان G يزدوج مع C دائماً . وعدد الاواصر الهيدروجينية التي تربط A بـ T هو اصرتين و G بـ C هو ثلاثة اواصر . وتؤدي الاواصر الهيدروجينية على التفاف السلسلتين حول بعضهما البعض لتكوين البنية الحلزونية Double helix DNA.

ولم يأت هذا التصور الدقيق والصحيح معا ًعن جزيئة DNA الحلزوني كما اوضحه العالمان James Watson و Francis Crick في عام ١٩٥٣ الا بعد تجارب مضدنية للتعرف على كيفية تواجد او دور القواعد النتروجينية الاربعة (النيوكلتيدات الاربعة) في تكوين جزيئة DNA . والذي مهد السبيل لرسم التركيب الصحيح لجزيئة DNA تلك التجارب التي أجراها Erwin Chargoff اروين جاركوف.

تجارب Chargaff جاركوف:

Erwin Chargaff من جامعة كولومبيا الامريكية قام باجراء تحليلات مسهبة على التركيب الكيمياوي DNA. فقد استخدم جاركوف مع زملائه E. Vischer و S. Zamenhof تقنية كانت حديثة في حينها جديدة وتتسم بحساسيتها ، تلك هي تقنية كروموتوكرافيا الورقية paper chromatographic techniques في تعيين كمية القواعد النتروجينية في نماذج من DNA اخذت من انسجة وكائنات مختلفة وتم تنقيتها حد التجانس . فكانت النتائج التي تم التوصل اليها جديرة بالاهتمام. وضعت هذه النتائج في صيغ رياضية بسيطة توضح علاقة بين هذه القواعد .اذ تبين ان كمية A في أي نموذج من DNA المأخوذ من أي كائن او نسيج تساوي كمية T وان كمية G تساوي كمية C وبناءً عليه فان كمية البيورين تساوي كمية البريميدين أي ان :

A=T و G=C

A+G=T+C or purine=pyrimidine

لكن جاركوف لم يبن أملاً كبيرة على هذه النتائج معتقداً أن الضرورة تقضي إجراء مزيد من التحاليل الكمية الدقيقة على DNA نماذج أخرى للاقرار بصحة هذه النتائج وتعميمها. وتسمى الملاحظات التي إنتهى اليها جاركوف والموضحة أعلاه بنسب قواعد جاركوف Chargoff base ratios ولعل من الاستنتاجات المهمة لتجارب جاركوف ذلك الاستنساخ أن محتوى GC (GC content) لـ DNA يختلف باختلاف الأنواع Species (يختلف من كائن الى اخر). ويوضح الجدول الأتي مكونات DNA من القواعد النتروجينية الاربعة ونسبتها الى بعضها البعض

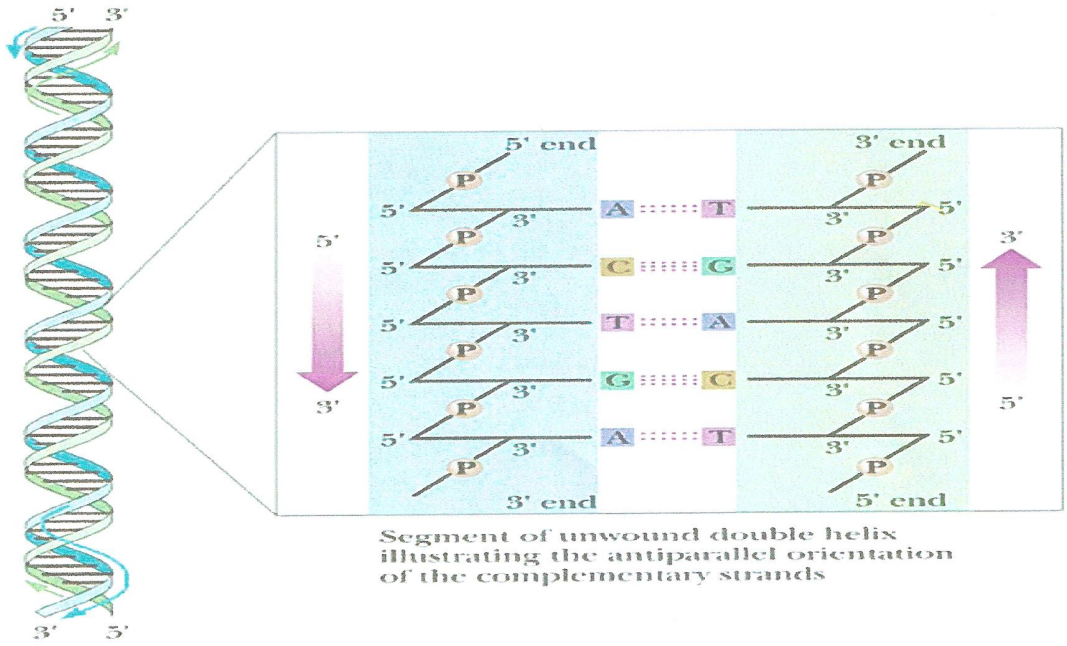
table 1.4

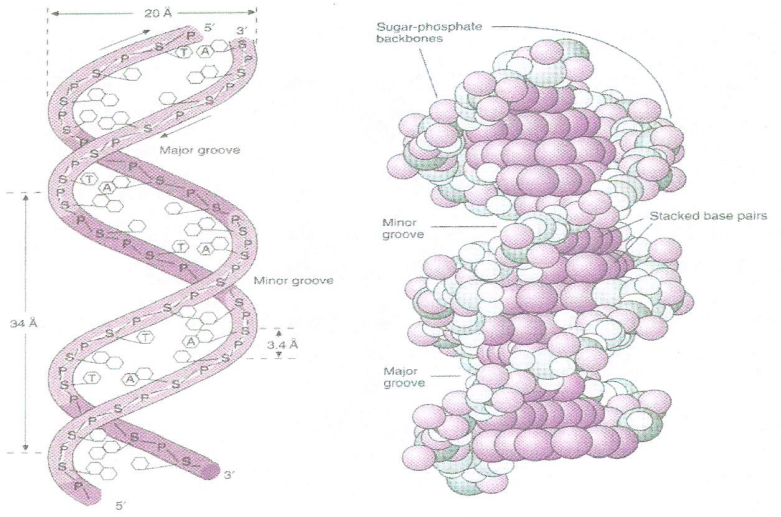
BASE COMPOSITION OF DNA EXPRESSED AS PERCENTAGES IN SELECTED SPECIES

SPECIES	ADENINE %	GUANINE %	CYTOSINE %	THYMINE %
VIRUSES				
Bacteriophage T2	32.6	18.1	16.6	32.6
Herpes simplex	13.8	37.7	35.6	12.8
Lambda	26.0	23.8	24.3	25.8
Pseudorables	13.2	37.0	36.3	13.5
Vaccinia	31.5	18.0	19.0	31.5
BACTERIA				
Escherichia coli	26.0	24.9	25.2	23.9
Diplococcus pneumoniae	29.8	20.5	18.0	31.6
Micrococcus hysodeikticus	14.4	37.3	34.6	13.7
Ramibacterium ramosum	35.1	14.9	15.2	34.8
FUNGI				
Neurospora crassa	23.0	27.1	26.6	23.3
Aspergillus niger	25.0	25.1	25.0	24.9
Saccharomyces cerevisiae (baker's yeast)	31.7	18.3	17.4	32.6
HIGHER EUKARYOTES				
Arachis hypogaea (peanut)	32.1	17.6	18.0	32.2
Bombyx mori (silkworm)	30.7	18.9	19.4	31.1
Drosophila melanogaster (fruit fly)	30.7	19.6	20.2	29.4
Homo sapiens (human)				
liver	30.3	19.5	19.9	30.3
spermatozoa	29.8	20.2	18.2	31.8
thymus	30.5	19.9	20.6	28.9
Nicotiana tabacum (tobacco)	29.3	23.5	16.5	30.7
Rana pipiens (frog)	26.3	23.5	23.8	26.4
Zea mays (corn)	25.6	24.5	24.6	25.3

نموذج الحلزُن المزدوج لجزيئة DNA:

لقد تمكن واطسن وكريك عام 1953 من وضح نتائج الدراسية الكمية لDNA والملاحظات التي خرج بها جاركوف ونتائج تحليل حيود الاشعة السينية للباحثة Fracklin في إطارها الصحيح من التفسير باقتراح نموذج الحلزون المزدوج لجزيئة DNA (Double helix model) وهذا النموذج يوضح ان DNA يتكون من سلسلتين (Two strands) او شريطين من النيوكليوتيدات ، تلتفان حول بعضهما ليكونا حلزوناً مزدوجاً منتظماً يبلغ قطره ٢٠ A° (عشرون انكستروم) وتشكل فيه وحدات Deoxyriboses ومجاميع الفوسفات الحرة، الجزء الخارجي للحلزون (او اللولب)، في حين تبرز القواعد النتروجينية من العمود الى الداخل وبمستوى عمودي على محور دوران الحلزون. وتكون المسافة الفاصلة بين قاعدة نتروجينية واخرى A° ٣.٤ . مما يعني أن كل سلسلة تحتوي على عشر نيوكليوتيداً في كل لفة كاملة (او دورة كاملة) . وترتبط السلسلتان او الشريطان باواصر هيدروجينية التي تتكون بين القواعد النتروجينية القابلة للازدواج وهي اصرتين مابين A و T وثلاثة اواصر مابين C و G ...





ان اتجاه حركة دوران الشريطين في نموذج الحلزون هو باتجاه اليمين right handed (أي الى الأعلى صعودا) وهنالك نماذج اخرى تتخلف في نظام دورانها سنأتي عليها لاحقا.

تقاس الاوزان الجزيئية لـ DNA بالدالتون Daltons ويقدر معدل الوزن الجزيئي لزوج النيوكليوتيدات Base pair بـ 660 دالتون . اما اطوال جزيئات DNA فتقاس عادة بعدد ازواج القواعد النتروجينية (زوج النيوكليوتيدات) فطول قطعة DNA تتألف من ١٠.٠٠٠ زوج من القواعد النتروجينية يساوي ١٠ كيلو زوج قاعدة Kilobase ويرمز له (Kb) حيث كيلو زوج قاعدة = ١٠٠٠ زوج قاعدة... يوضح الجدول التالي عدد ازواج القواعد النتروجينية Base pairs وطول جزيئة DNA (عدد ازواج القواعد النتروجينية مضروبا في المسافة بين قاعدة واخرى وهي A° ٣.٤) والحجم النسبي لهذه الجزيئة في عدد من الكائنات الحية.

table 1.3

SOME CHARACTERISTICS OF HAPLOID CELL DNA

ORGANISM	DNA CONTENT ($\times 10^{-12}$ g)	NUMBER OF BASE-PAIRS ($\times 10^3$)	LENGTH* (μM)
VIRUSES			
SV40	0.0000051	5.1	1.8
Herpes simplex	0.00011	110.0	38.0
Lambda	0.000055	55.0	19.0
T_2, T_4, T_6	0.0002	200.0	69.0
BACTERIA			
Escherichia coli	0.0047	4700	1620
Staphyloccus aureus	0.007	7000	2414
Streptococcus pneumoniae	0.002	2000	690
YEAST			
Saccharomyces cerevisiae	0.245	245,000	84,483
PLANTS			
Corn	7.5	7,500,000	2,586,000
Tobacco	1.2	1,200,000	413,790
ANIMALS			
Drosophila melanogaster	0.18	180,000	62,070
Frog	6.5	6,500,000	2,241,380
Chicken	1.3	1,300,000	448,275
Mouse	2.5	2,500,000	862,070
Cattle	3.0	3,000,000	1,034,483
Human	3.2	3,200,000	1,103,448
Lungfish	102.0	102,000,000	3,517,241

*Number of base pairs can be converted into physical lengths by the formula 2.9×10^{-9} base pairs of double-stranded DNA = 1 m.

أنواع البنية الفراغية للحلزون المزدوج Helix Conformations:

هنالك حسب رأي الباحثين عدة أشكال فراغية لجزيئة DNA الحلزون المزدوج:

١. **B-DNA**: وتنطبق مواصفات هذا النوع على النموذج الذي وضعه واطسن وكريك حيث يكون اتجاه دوران الشريطين الى جهة اليمين صعودا right handed. ويلاحظ تكون هذا التركيب الفراغي في الظروف الفسيولوجية ويحتاج الى نسبة رطوبة ٩٢% لتكونه خارج الجسم الحي.

٢. **A-DNA**: تتحول البنية الفراغية لجزيئة DNA من نوع B الى A عند انخفاض نسبة الرطوبة الى ٧٥% ويتصف هذا الحلزون بان ازواج القواعد النتروجينية لاتكون عمودية على محور الدوران وانما تميل بزاوية مقدارها ٢٠أنكستروم وينشأ عن ذلك هبوط في دورة الحلزون من ٣.٤ انكستروم الى 2.8 أنكستروم. ويتصف هذا النوع بإحتواءه على أحد عشر زوجاً من القواعد النتروجينية في الدورة الكاملة (اللفة الواحدة) مع بقاء إتجاه الدوران يميناً.

٣. **Z-DNA**: أكتشف هذا النموذج سنة ١٩٧٩ ويكون إتجاه الدوران فيه الى جهة اليسار left handed، وكل دورة او لفة تحتوي على ١٢ زوجاً من القواعد النتروجينية ويكون backbone فيه غير منتظمة او خاضعة لنظام معين، بل يكون متعرجا Zig Zag ومن هنا تسمية هذا النموذج بـ Z .. وجدت هذه الصيغة الفراغية لجزيئة DNA في الغدة اللعابية Salivary gland لذبابة الخل Drosophila . كما وجد أن قطع DNA المزدوج او المصنع مختبرياً من GC فقط سوف تتخذ أشكالاً فراغياً من نوع Z، ويعتقد ، على هذا الاساس، أن جزيئات DNA الغنية GC في مواقع معينة فان تلك المواقع ربما تتخذ الهيأة الفراغية من نوع Z أيضا داخل الخلية مع الهيأة الفراغية من نوع B-DNA . وعموماً فان البنى الفراغية لـ DNA الحلزوني المزدوج تخضع لإعتبارات تسلسل أزواج القواعد النتروجينية ولإعتبارات تتعلق بالبيئة المحيطة به.

وليس بالضرورة أن تكون جزيئة DNA موجوداً بالشكل المزدوج دائماً في جميع الكائنات الحية ولاسيما تلك التي تكون اكثر بدائية مثل بعض انواع الفايروسات. فقد تكون جزيئة DNA خطياً وبشريط مفرد Linear Single Stranded أي مفتوح النهايتين و يمكن لهذه الجزيئة المفردة الشريط ان يتحول الى شكل دائري (مفرد دائما) من خلال تكون اصرة فوسفاتية ثنائية الاستر Phosoho-diester bond بين نهايتي الشريط المفرد 5^- ، 3^- بواسطة انزيم Ligase، اوتكون من نوع Linear double stranded

كما هو الحال في الكائنات حقيقة النواة أما في بدائية النواة مثل البكتريا وبعض انواع الفايروسات فان الشريط المزدوج يكون مغلق النهايتين عليه فان جزيئة DNA تتخذ شكلا دائريا حلقيا Double stranded covalently closed circular ويرمز له cccDNA وذلك بارتباط نهايتي ٥- و ٣- ولكلا الشريطين بواسطة انزيم Ligase ايضا.

table 1.2

FEATURES OF A, B, AND Z FORMS OF DNA

	FORM OF DNA		
FEATURE	A	B	Z
Helical rotation	Right-handed	Right-handed	Left-handed
Conditions	75% relative humidity	92% relative humidity	High salt concentration and methylation of cytosines
Diameter	26 Å	20 Å	18Å
Number of base pairs per helical turn	11	10	12
Helical twist per base pair	33°	36°	60°
Rise per turn of helix	28 Å	34 Å	45 Å
Helix rise per base pair	2.6 Å	3.4 Å	3.7 Å
Base tilt normal to the helix axis	20°	6°	7°
Major groove	Narrow and deep	Wide and deep	Flat
Minor groove	Wide and shallow	Narrow and deep	Narrow and deep