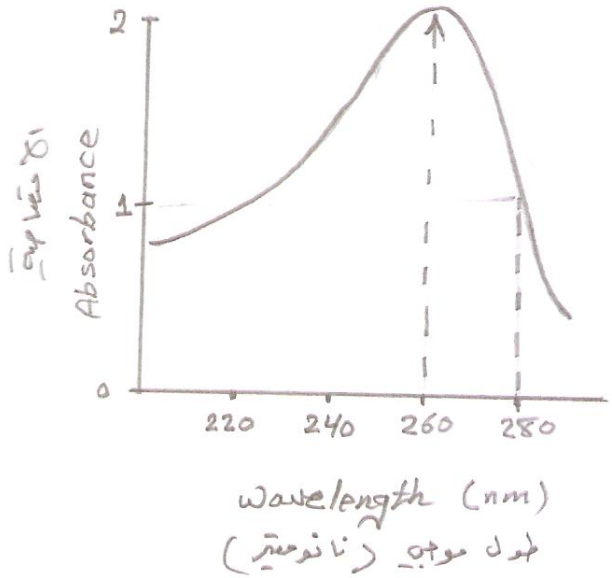
# الخواص الفيزياوية لـ DNA

## الامتصاصية Adsorbance :

تتميز المركبات الحاوية على اواصر مزدوجة بقدرتها على امتصاص الاشعة الكهرومغناطيسية و تتوقف قدرة المركب على امتصاص الاشعة على تركيبه الالكتروني او تركيب الجزيئة وعدد مواقع الاواصر المزدوجة فيهـــا. وتمتاز القواعد النتروجينية بإمتصاصها للاشعة في مجال فوق البنفسجي **Utraviolet** . ويقع اعلى امتصاصية لهذه الاشعة من قبل القواعد النتروجينية في الطول الموجي 260 نانوميتر. بينما يكون اعلى امتصاص للاشعة من قبل البروتينات **(الاحماض الامينية الحلقية)** في 280 نانوميتر. يستفاد من خاصية تباين قدرة DNA والبروتينات في امتصاص الاشعة فوق البنفسجية في اطوال موجية مختلفة وهي 260 و280 نانوميتر على التوالي ، في التعرف على نقاوة مستخلصات DNA . فاذا ما كان مقدار الامتصاص لمستخلصات DNA على 260 نانوميتر يساوي مقدار امتصاصه في 280 نانوميتر يعني ذلك ان المستخلص يحتوي على كمية من DNA بقدر كمية البروتين تقريبا.

ويمكن التحقق من نقاوة مستخلص DNA وخلوه الى حد ما من البروتين متى ماكانت النسبة بين امتصاص الاشعة فوق البنفسجية للمستخلص على 260 نانوميتر و280 نانوميتر مساوياً الى (2).




**ملاحظة:** تتراوح اطوال الاشعة فوق البنفسجية **Utra violet** مابين (300-150 ) نانوميتر اما الاطوال الموجية للضوء المرئي **Visible Light** فتتراوح مابين (750-300) نانوميتر.

## التآثرات الأيونية Ionic interaction:

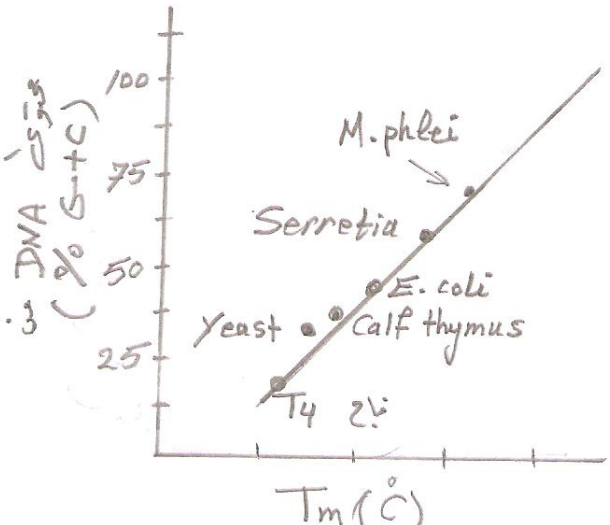
في وضعها او هيأتها الحلزونية المزدوجة تكون جزيئات DNA في سطوحها الخارجية حاملةً لشحنات سالبة بكثافة عالية **highly anionic** بسبب وجود اعداد عائلة من مجاميع الفوسفات. عليه فان جزيئات DNA تمتلك القدرة على الارتباط مع جزيئات ذات شحنات موجبة كإرتباطها ببعض البروتينات القاعدية مثل الهستونات **Histones** والتي تشكل مع DNA معا ما يعرف بالكروموسوم في خلايا كائنات حقيقة النواة.

## المسخ Denaturation:

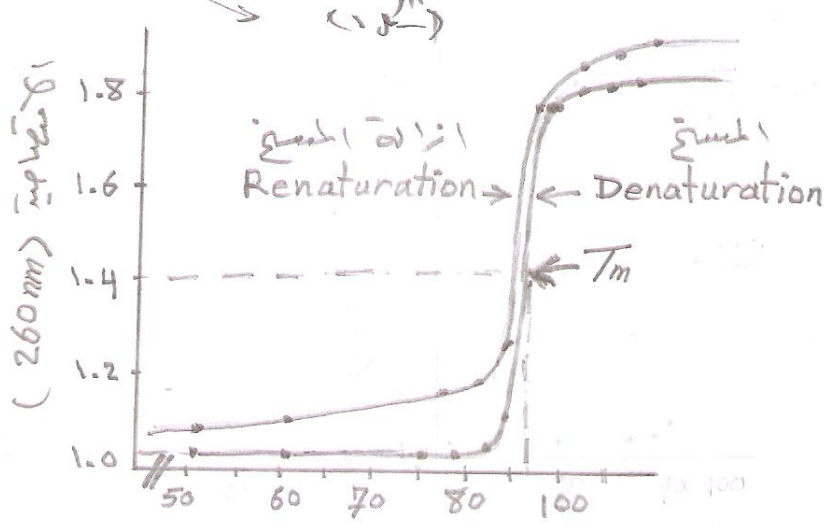
المعروف ان الشريطين المزدوجين في جزيئة DNA ذات الشكل الحلزوني يرتبطان ببعضهما البعض بواسطة اواصر هيدروجينية. وتعد الاواصر الهيدروجينية من الاواصر الضعيفة مقارنة بالاواصر التساهمية مثلا ، والتي تربط اجزاء او مكونات النيوكليتدات المختلفة مع بعضهما.

علية فهي سريعة التأثر بالحرارة وهذا يعني احتمال انفصال شريطي DNA عن بعضها البعض عند تعرضه (اي تعرض DNA) الى المعاملة الحرارية في محاليل بتراكيز معينة. ليست الحرارة وحدها بل ان بعض العوامل الكيمياوية، كالحوامض والقواعد والمواد التي تسبب زيادة في ذوبان المجموعات غير المستقطبة (مثل القواعد النتروجينية) كاليوريا والفورمالديهايد وغيرها، تؤدي الى تغير الشكل الحلزوني لجزيئة DNA. وتسمى هذه الظاهرة بالمسخ **Denaturation** وتؤثر عمليات المسخ في البيئة او الهيأة الفراغية وفي الخواص الفيزياوية الكيمياوية لـDNA كالكثافة واللزوجة وطيف امتصاص الاشعة **Absorption Spectra** . فعملية المسخ ترافقها زيادة في الكثافة الضوئية الممتصة من محلول DNA الممسوخ، بسبب انفصال الشريطين عن بعضهما، اي زيادة امتصاص الاشعة فوق البنفسجية على طول موجي 260nm.

تتوقف سرعة انفصال الشريطين في DNA بفعل الحرارة على عدد الاواصر الهيدروجينية الرابطة بين ازواج القواعد النتروجينية المكملة لبعضها في الشريطين المتقابلين، والذي يعكس بطبيعة الحال كمية G≡C و A=T فيه. وتسمى ظاهرة زيادة امتصاص الضوء في 260 نانومتر لمحلول من DNA نتيجة رفع درجة حرارته تدريجياً بظاهرة **Hyperchrmic shift** . اما درجة الحرارة التي تبلغ عندها هذه الظاهرة نصف قيمتها فتسمى بدرجة الذوبان **Melting Temperature** (Tm) والتي تختلف باختلاف مصدر DNA وباختلاف النسبة المئوية لـ (%C+G)، حيث تزداد قيمة Tm بزيادة نسبة %G+C في DNA. (شكل ٢)




شكل (٢): العلاقة بين Tm ومحتوى الدناتين %G+C في بعض الكائنات الحية.




شكل (١): تعيين قيمة Tm لـ DNA

**ويمكن استخراج %G+C بمعرفة قيمة (Tm) بالاعتماد على المعادلة الاتية:**

$$\%G+C = 2.44\ (Tm-69.3)$$

وذلك عند اجراء المعاملة الحرارية لـDNA في محلول كلوريد الصوديوم بتركيز 0.2M وتمثل النسبة المذكورة في المعاملة النسبة المولارية للقاعدتين النتروجيتين.

ويذكر ان هذه النسبة في الاحياء المجهرية شديدة القرب فيما بينها وراثيا، تكون متقاربة او متشابهة. عليه اعتمدت هذه النسبة كاساس في تصنيف البكتريا خاصة. ولكن التشابه في هذه النسبة لا تدل على التقارب على مستوى التصنيف دائماً. فالانسان وبكتريا ***Penumonococcus*** مثلا ، يمتلكان نفس النسبة من G+C تقريبا وهي 40%. فالتشابه هنا لايقود الى الاستنتاج من أن الانسان وهذه البكتريا مرتبطان مع بعضهما بصلة وراثية وثيقة. إذ أن التطابق في محتوى %G+C هنا محض صدفة ، ولايقرر شيئا عن تتابع القواعد النتروجينية في كلا هذين الكائنين، ذلك التتابع الذي يختلف اختلافاً بيناً. والذي يعني بدوره اختلافاً واضحاً في الصفات الوراثية. على ان معرفة نسب DNA من القواعد النتروجينية تظهر بعض الحقائق الهامة جداً، حيث تتغير هذه النسب كثيرا ان نسبة %G+C تتراوح بين 22% الى 75% . وعموما تعد الكائنات التي تظهر اختلافا في نسبة %G+C بمقدار يزيد على 10% كائنات غير قريبة الصلة من بعضها وراثياً.

| Bacteria | %G+C |
|---|---|
| Clostridrium | 25 |
| Micrococcus | 75 |
| E. coli | 50 |

renaturation

ولابد من الاشارة أيضاً ان انخفاض درجة حرارة محاليل DNA وبصورة تدريجية سوف تعيد او تتيح الفرصة للشريطين المنفصلين بالعودة الى الارتباط مع بعضهما البعض **reossocition annealing** يرافق ذلك انخفاض في امتصاص الاشعة فوق البنفسجية في الطول الموجي 260 نانومتر ويعرف ذلك بتأثير قلة الامتصاص **Hypochromic effect**.

ونظراً لان تفاعل اعادة الارتباط **annealing** يتطلب توفر مبدأ تكامل شريطي DNA حتى يغدو بالامكان إعادة تكوين الحلزون المزدوج، لذا كان بالإمكان استخدام الطريقة نفسها او الاسلوب نفسه لتحديد مدى تشابه تتابع القواعد النتروجينية في DNA مأخوذ من كائنين يرتبطان مع بعضهما بصلة وراثية.

وفي هذه الحالة تمزج اشرطة DNA مفردة من كائنين مختلفين فان كان هذان الكائنان ذو صلة وراثية وثيقة كان تتابع القواعد النتروجينية في DNA هذين الكائنين مكملاً ، الامر الذي يؤدي الى ارتباط الاشرطة المفردة لتكوين جزيئة DNA مزدوج الشريط. وقد يستخدم mRNA بدلاً من احد شريطي DNA لغرض ملاحظة حدوث اعادة الارتباط. وتعرف هذه الطريقة بتهجين الحامض النووي **Nucleic acid hybridization** او **Hybridization** وهي من الطرق المباشرة والفعالة لتحديد القرابة بين الكائنات حقيقة النواة كالفطريات مثلاً و قابلة للتطبيق في النباتات والحيوانات أيضاً. وهذا النوع من التصنيف يعرف ايضاً **genetic clasification** (كما تستخدم هذه الطريقة للتعرف على حدوث الطفرات). ويوضح المخطط الآتي قياس درجة القرابة او الصلة بين الكائنات الحية بطريقة تهجين الاحماض النووية.

كما سنأتي الى تلك الاستخدامات كلاً حسب موضعهُ.

**Density of double stranded DNA as function of (G+C):**

| | | |
|---|---|---|
| *A-T polymer* | 1.679 g / cm³ | 0 G+C% |
| *Strepf. Pneumonia* | 1.700 g / cm³ | 40 G+C% |
| *E. coli* | 1.710 g / cm³ | 50 G+C% |
| *Serratia marcescens* | 1.718 g / cm³ | 59 G+C% |
| *Mycobacterium phlei* | 1.732 g / cm³ | 73 G+C% |

العلاقة بين محتوى جزيئات الدنا (DNA) من G+C لعدد من الكائنات الحية وكثافتها الطافية -