أساسيات البيولوجيا الجزيئية

أولاً: مقدمة

تهتم البيولوجيا الجزيئية المعاصرة بشكل أساسي بفهم الآليات المسؤولة عن نقل المعلومات الوراثية التي تحكم بنية ووظيفة الخلية والتعبير عنها. وكما ذكرنا سابقاً، تشترك جميع الخلايا في عدد من الخصائص الأساسية، وتكون هذه الخصائص واضحة بشكل خاص على المستوى الجزيئي. لقد سمحت الخصائص المشتركة للخلايا لعلماء الحياة باختيار الكائنات الحية البسيطة (مثل البكتيريا) كنماذج للعديد من التجارب الأساسية، مع توقع أن تكون الآليات الجزيئية المتشابهة هي نفسها في الكائنات المختلفة مثل E. coli والبشر. لقد أثبتت العديد من التجارب صحة هذا الافتراض، ومن الواضح الآن أن البيولوجيا الجزيئية للخلايا تشكل سبيلاً لفهم الجوانب المختلفة لسلوك الخلية.

وقد ساعد على تطور البيولوجيا الجزيئية عدة عوامل أهمها:

1- الاستفادة من النمو السريع للبكتيريا.
2- سهولة معالجة المادة الوراثية للبكتيريا البسيطة، مثل الإيشيريشيا القولونية وكذلك الفيروسات.
3- استخدام تقنية تأشيب ال DNA، التي طُوّرت لأول مرة في بدائيات النوى، لكل من المبادئ الأساسية والكثير من الأساليب التجريبية لتوسيع نطاقها إلى خلايا حقيقية النواة. لقد كان لتطبيق تكنولوجيا الحمض النووي المؤشب تأثير هائل.
4- عزل مورثات حقيقية النواة المكونة من خلية واحدة ووصفها بالتفصيل، والتي سمحت مؤخراً بتحديد التسلسل الكامل للجينومات الخلوية.
5- فهم كيفية تضاعف المادة الوراثية ونقل المعلومات من خلية إلى أخرى ومن كائن حي إلى كائن حي.

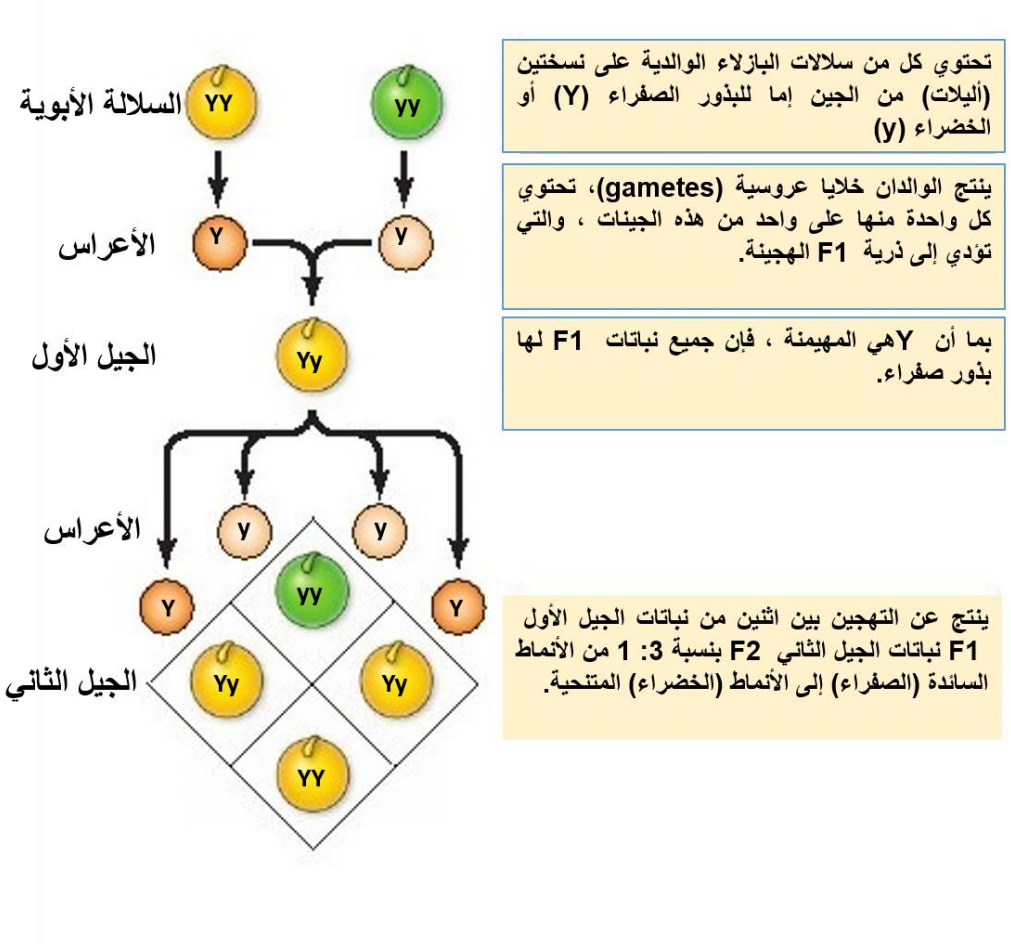
ولعل أهم خاصية لكل الكائنات الحية هي القدرة على التكاثر، إذ ترث جميع الكائنات الحية المعلومات الوراثية التي تحدد تركيبها ووظيفتها من والديها .وبالمثل، تنشأ جميع الخلايا من خلايا موجودة مسبقًا، لذلك يجب على الخلية مضاعفة المادة الوراثية وتمريرها إلى الخلايا البنات في كل انقسام خلوي. وبالتالي، فإن توضيح آليات النقل الجيني وتحديد المادة الوراثية كال DNA كانت اكتشافات شكلت الأساس لفهمنا الحالي لعلم الأحياء على المستوى الجزيئي.

د. حسان حسن

ثانياً: المورثات والصبغيات

تم استنباط المبادئ الكلاسيكية لعلم الوراثة من قبل مندل في عام 1865، بالاستناد إلى نتائج تجارب التهجين لنبات البازلاء. درس مندل وراثة عدد من الصفات المحددة جيداً، مثل لون البذور، وكان قادرا على استنتاج القواعد العامة لانتقال هذه الصفات. وقد تم تفسير أنماط الوراثة المدروسة بشكل صحيح من خلال افتراض أن كل صفة يتم تحديدها بواسطة زوج من العوامل الموروثة، والتي تسمى الآن المورثات. يتم توريث مورثة واحدة (تسمى أليل) من كل والد لتحديد صفة معينة.

على سبيل المثال، فإن تهجين سلالتين من البازلاء، إحداهما تحتوي على بذور صفراء، والأخرى على بذور خضراء تعطي النتائج الموضحة في الشكل (1:2).



الشكل (1:2): وراثة المورثات السائدة والمتنحية

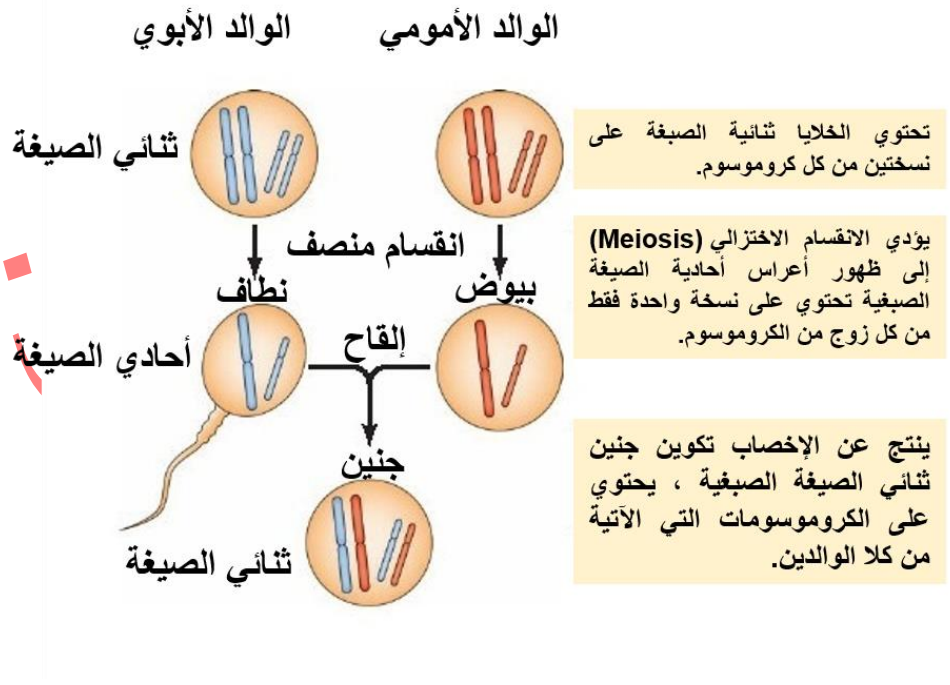
لكل من السلالات الأبوية نسختان متطابقتان من المورثة يحددان البذور الصفراء (Y) أو الخضراء (y) ، على التوالي. لذا فإن نباتات السلالات في الجيل الأول هي هجينة، حيث ورثت

أفراد هذا الجيل مورثة واحدة للبذور الصفراء (Y) ومورثة أخرى للبذور الخضراء (y). وتكون جميع أفراد الجيل الأول (F1) لها بذور صفراء، لذلك يقال أن اللون الأصفر (Y) هو الصفة السائدة واللون الأخضر (y) هو الصفة المتنحية. يكون النمط الوراثي للبازلاء في الجيل الأول F1هو (Yy) ، والنمط الظاهري لها هو الأصفر.

إذا تم تهجين أفراد الجيل الأول F1 مع بعضها، فإننا نحصل على أفراد الجيل الثاني (F2)، وتتوزع مورثات البذور الصفراء والخضراء بطريقة مميزة بحيث تكون النسبة بين نباتات الجيل الثاني (F2) ذات البذور الصفراء ونباتات البذور الخضراء (1:3) على الترتيب.

تم تجاهل النتائج التي توصل إليها مندل إلى حد كبير حتى عام 1900، عندما أعيد اكتشاف قوانين مندل وتم الاعتراف بأهميتها. بعد ذلك بوقت قصير، تم اقتراح دور الصبغيات (الكروموسومات) كبنى خاصة حاملة للمورثات. لقد تم إدراك أن معظم خلايا النباتات والحيوانات ثنائية الصيغة الصبغية (تحتوي على نسختين من كل صبغي).

ومع ذلك، فإن تكوين الخلايا العروسية (الأعراس الذكرية والأنثوية) ينطوي على نوع واحد من الانقسام الخلوي وهو الانقسام المنصف (الانقسام الاختزالي) الذي ينتقل فيه نسخة واحدة فقط من كل زوج من الصبغيات إلى كل خلية بنت (الشكل 2:2).



الشكل (2:2): الصبغيات في الانقسام الاختزالي والإخصاب. تم توضيح اثنين من أزواج الكروموسوم من كائن افتراضي.

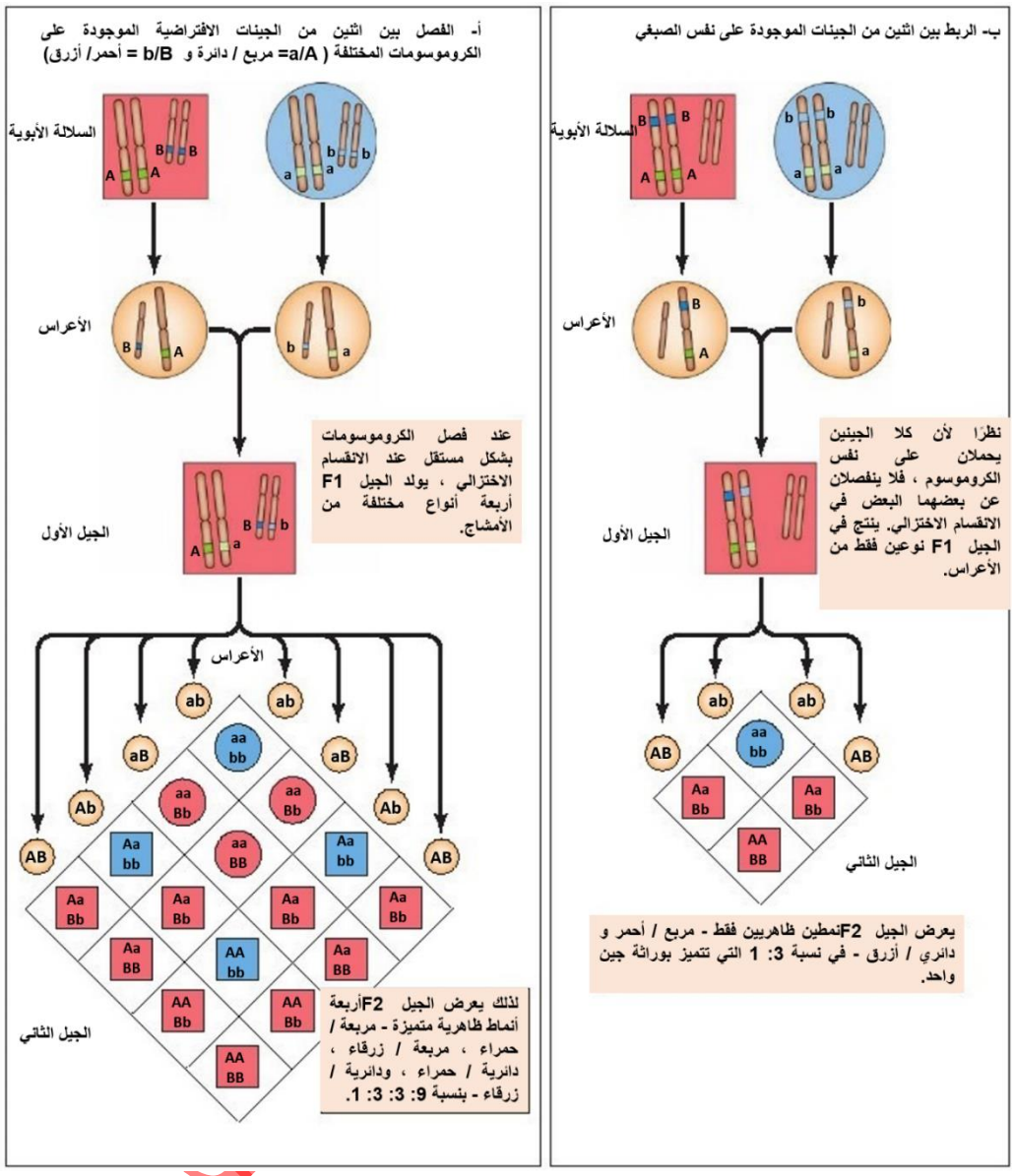
وبالتالي، فإن الأعراس تكون أحادية الصيغة الصبغية، وتحتوي فقط على نسخة واحدة من كل صبغي. إن اتحاد هاتين الخليتين أحاديتي الصيغة الصبغية عند الإخصاب ينتج عنه كائنًا جديدًا ثنائي الصيغة الصبغية، يحتوي كل زوج من صبغياته على نسخة واحدة من الأب ونسخة من الأم. يتشابه سلوك أزواج الصبغيات مع سلوك المورثات، مما يقود إلى استنتاج أن الصبغيات تحمل المورثات.

كما تم تحديد أساسيات الطفرة، والارتباط الوراثي، والعلاقات بين المورثات والصبغيات إلى حد كبير عن طريق التجارب التي أجريت على ذبابة الفاكهة Drosophila melanogaster. يمكن تربية ذبابة الفاكهة بسهولة في المختبر، وهي تتكاثر مرة كل أسبوعين، وهذه ميزة مهمة للتجارب الوراثية والتحليل الوراثي وخاصةً لعمليات التشكل والتمايز.

في أوائل القرن العشرين، تم تحديد عدد من التعديلات الوراثية (طفرات) في ذبابة الفاكهة، والتي تؤثر عادة على الصفات التي يمكن ملاحظتها بسهولة، مثل لون العين أو شكل الجناح. حيث أشارت تجارب التكاثر إلى أن بعض المورثات التي تحكم هذه الصفات موروثة بشكل مستقل عن بعضها البعض، مما يشير إلى أن هذه المورثات تقع على الصبغيات المختلفة التي تنفصل بشكل مستقل خلال الانقسام المنصف (الشكل 3:2). غير أن المورثات المحمولة على نفس الصبغي غالباً ما تُورث معًا كخصائص مقترنة.

ويقال إن مثل هذه المورثات مرتبطة ببعضها البعض بحكم وجودها على نفس الصبغي. إن عدد مجموعات المورثات المرتبطة هو نفس عدد الصبغيات (أربع في ذبابة الفاكهة)، مما يدعم فكرة أن الصبغيات هي البنى الحاملة للمورثات. بحلول عام 1915، كان قد تم تحديد ما يقرب من 100 مورثة ورسمت على الصبغيات الأربعة لذبابة الفاكهة، مما أدى إلى القبول العام للأساس الصبغي للوراثة.

د. حسان حسن

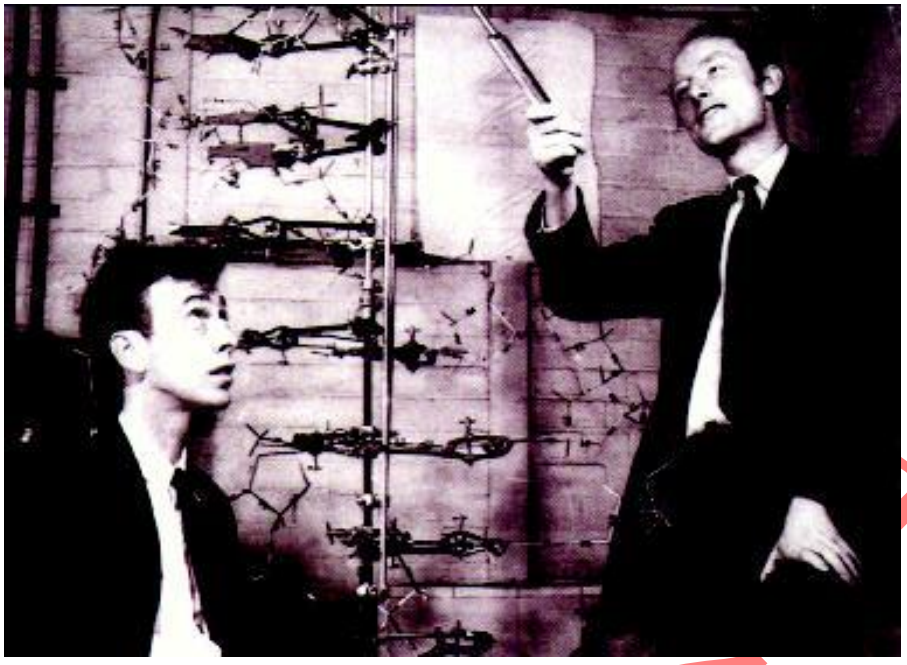


الشكل (3:2): الفصل الجيني والربط

ثالثاً: تحديد الحمض النووي باعتباره المادة الوراثية

أ- كتيب عمل الحياة:

في نيسان من عام 1953، فاجأ العالمان جيمس واتسون وفرانسيس كريك المجتمع العلمي بنموذج أنيق مزدوج الحلزون لبنية الحمض النووي (Deoxyribonucleic acid)، أو ال DNA. يبين الشكل (4:2) العامان واتسون وكريك يبديان إعجابهما بنموذج ال DNA. خلال الخمسين سنة الماضية، تطور نموذجهما من اقتراح علمي جديد إلى أيقونة لعلم البيولوجيا الحديث. إن ال DNA، مادة الوراثة. وفي الحقيقة تتكون العوامل الوراثية لماندل ومورثات مورغان على الصبغيات من ال DNA.



الشكل (4:2): واتسون وكريك مع نموذجهما لجزيء الDNA الذي وضعوه.

تنفرد الحموض النووية من بين كل جزيئات الطبيعة بقدرتها على تنسخها. وبالتأكيد فان التشابه بين النسل ووالديه له أسسه في التنسخ الدقيق لل DNA وانتقاله من جيل إلى آخر.

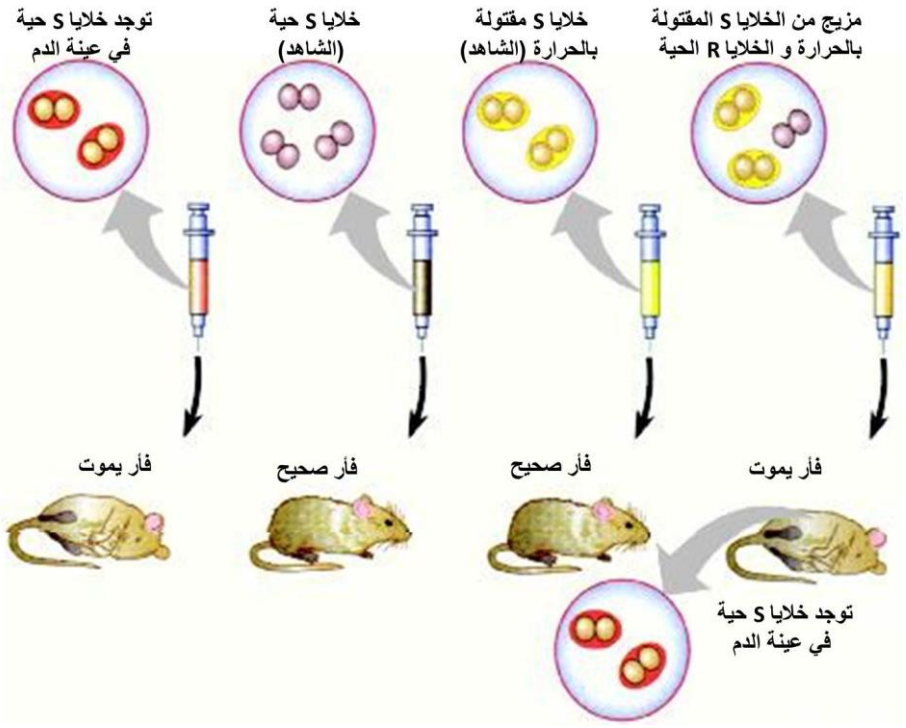
فال DNA يشرف على تطور الصفات الكيميائية الحيوية والتشريحية والفيزيولوجية والى حد ما الصفات السلوكية. ويتعامل العلماء اليوم مع ال DNA في المختبرات بشكل روتيني ويستخدمونه لتغيير الصفات الوراثية للخلايا. لكن في بدايات القرن العشرين بدا تحديد جزيئات الوراثة تحدياً رئيسيا للبيولوجيين.

ب- البحث عن المادة الجينية (الوراثية):

عندما بين فريق عمل الباحث مورغان أن المورثات متوضعة على الصبغيات، أصبح المكونان الكيميائيان للصبغي، ال DNA والبروتينات، هما المرشحان للمادة الوراثية. وحتى أربعينيات القرن الماضي، بدا ان البروتين هو المرشح الأقوى خاصة بعد أن حدد العلماء البروتينات على أنها صنف من الجزيئات الكبيرة ذات قابلية كبيرة للتغاير ونوعية عالية في الوظيفة، وهي المتطلبات الأساسية للمادة الوراثية. كما أن المعروف عن الحموض النووية كان قليلا، وقد بدت صفاتها الفيزيائية والكيميائية موحدة بشكل أكبر من أن تفسر الصفات النوعية الموروثة الظاهرة في كل كائن حي.

يمكننا تعقب اكتشاف الدور الوراثي للDNA حتى عام 1928. كان فريدريك غريفت، وهو طبيب بريطاني، يدرس المكورات الرئوية، وكان لدى غريفت ذريتان من تلك البكتريا، إحداهما ممرضة والأخرى غير ممرضة. وكان مندهشا عندما وجد أنه عند قتل البكتيريا الممرضة بالحرارة ومن ثم مزج بقايا الخلية مع بكتيريا حية من النوع غير الممرض، أصبحت بعض تلك البكتيريا الحية ممرضة (الشكل 5:2). كما أنه تم توريث هذه الصفة الإمراضية الجديدة لكل البكتيريا المتحدرة من هذه البكتيريا المتحولة.

ومن الواضح أن بعض المكونات الكيميائية للخلايا الممرضة الميتة هي التي سببت هذا التحول المتوارث، على الرغم من أن هوية هذه المادة غير معروفة. أطلق غريفت على هذه الظاهرة "التحول Transformation" والذي يعرف حاليا على أنه تغير في النمط الوراثي والشكلي بسبب تمثل assimilation الخلية ل DNA خارجي. هذا الاستعمال لكلمة التحول " Conversion" يجب ألا يختلط مع تحول الخلية الحيوانية الطبيعية الى خلية سرطانية.



الشكل (5:2): شكل يوضح انتقال الصفة الوراثية الممرضة بين البكتيريا. ان البكتيريا من الذرية "S" (ناعمة) وممرضة لأنها تمتلك محفظة تحميها من آليات الدفاع عند الحيوان، لا تمتلك البكتيريا من الذرية "R" (خشنة) تلك المحفظة وهي غير ممرضة. حقن غريفت الفئران بالذرية "S" كما هو موضح في الشكل. استنتج أن البكتيريا "R" الحية تم تحويلها الى بكتيريا "S" ممرضة بواسطة مادة موروثة غير معروفة من الخلايا الميتة.

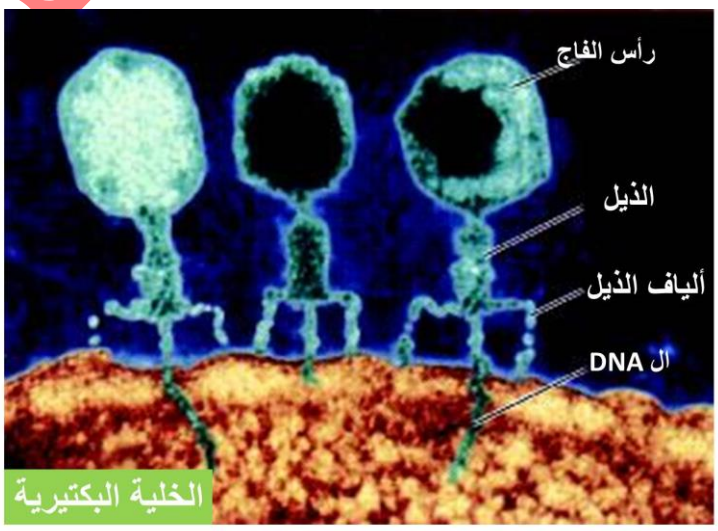
لقد أطلق عمل غريفت مرحلة بحث دامت 14 عاما لتحديد المادة المتحولة، قام بها عالم البكتريا أفيري Avery. عزل افيري عدة أنماط من الجزيئات من البكتيريا الممرضة المقتولة بالحرارة، ثم حاول تحويل البكتيريا غير الممرضة الحية مع كل نمط على حدة. في عام 1944 أعلن أفيري و زميلاه ماكارتي و ماكلود أن العامل المحول هو ال DNA. تم الترحيب بهذا الاكتشاف باهتمام ولكن بقدر كبير من الشك لعدة أسباب أهمها:

- الاعتبار الأقدم بأن البروتينات هي المرشح الأفضل للمادة الوراثية.
- لم يقتنع عدد من العلماء بأن مورثات البكتيريا ستكون مشابهة بالتركيب والوظيفة لمورثات الكائنات الحية الأكثر تعقيداً.
- المعلومات المتوفرة عن ال DNA في ذلك الوقت كانت قليلة جداً بالمقارنة مع البروتينات.

ت- الدليل على أن ال DNA الفيروسي يستطيع برمجة الخلايا:

أتى برهان آخر على أن ال DNA هو المادة الوراثية من خلال دراسات عن الفيروسات المعدية للبكتريا. إن الفيروسات أبسط بكثير من الخلايا، والفيروس هو عبارة عن كمية من ال DNA أو ال RNA مغلف بمعطف واق يتكون غالبا من البروتين. ولكي يتكاثر الفيروس عليه أن يعدي خلية ويستولي على ماكينتها الاستقلابية.

تستخدم الفيروسات المعدية للبكتريا بشكل واسع من قبل الباحثين كأدوات في الوراثة الجزيئية Molecular genetics. تدعى هذه الفيروسات العاثيات أو آكلة البكتريا " Bacteriophage" أو فقط الآكلات Phages (الشكل 6:2).



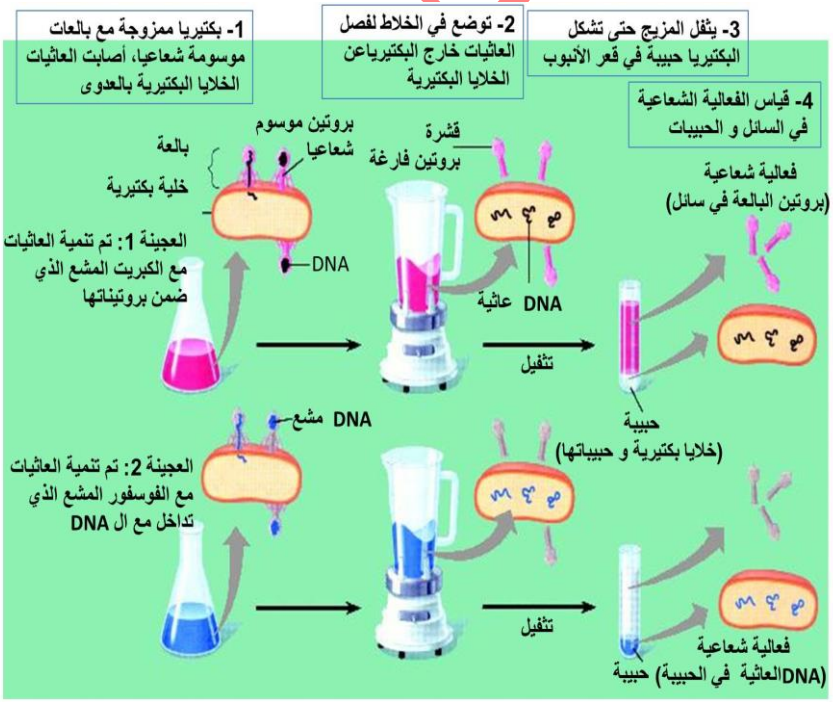
الشكل (6:2): تغزو الفيروسات الخلايا البكتيرية. تلتصق العاثياتT2 بالخلية المضيفة و تحقن مادتها الوراثية.

في عام 1952 أجرى Martha Chase و Alferd Hershey تجارب بينت أن ال DNA هو المادة الوراثية في العاثية المعروفة ب T2 و هي:

- واحدة من عدد من الفاجات (الآكلات) التي تغزو جرثومة ال "E. coli" التي تعيش عادة في أمعاء الثدييات.
- ال T2 كغيرها من الفيروسات مكونة بشكل كامل تقريبا من ال DNA والبروتين،
- ال T2 قادرة على تحويل ال E. coli بسرعة إلى معمل منتج للT2 و الذي يحرر عندما تنفجر الخلية عدة نسخ من هذا الفيروس.

إذاً بطريقة ما استطاعت ال T2 أن تعيد برمجة الخلية المضيفة لتنتج فيروسات. لكن أي المكونين كان مسئولا ال DNA أم البروتين؟

لقد أجاب الباحثان عن هذا التساؤل عندما ابتكرا تجربة توضح أن أحد مكوني ال T2 في الواقع هو الذي يدخل خلية ال E. coli خلال العدوى (الشكل 7:2). وخلال التحضير لتجربتهما استخدما عددا من النظائر المشعة لملاحقة ال DNA والبروتين الخاصين بالعاثية.



الشكل (7:2): في التجربة الشهيرة ل Hershey و Chase استعمل الكبريت المشع و الفوسفور المشع لتعقب مصير البروتين و ال DNA بالتوالي في عاثيات T2 التي أصابت الخلايا البكتيرية بالعدوى. بقيت بروتينات العاثيات خارج الخلايا البكتيرية خلال العدوى بينما دخلDNAالعاثيات الى الخلايا وعند الزرع حررت الخلايا البكتيرية DNA عاثيا فعال شعاعيا في عاثيات جديدة مع بعض الفوسفور المشع. استنتج Hershey و Chase أن ال DNA و ليس البروتين هو الذي يقوم بوظيفة المادة الوراثية في العاثياتT2.

خطوات التجربة:

- في البداية تم حضن ال T2 مع ال E. coli بوجود الكبريت المشع، و بما أن البروتين وليس ال DNA هو الذي يحتوي على الكبريت فإن الذرات المشعة توضعت في بروتين العاثية فقط.
- بطريقة مماثلة تم وسم ال DNA لدفعة أخرى من ال T2 بذرات الفوسفور المشعة، ولأن كل الفوسفور في العاثية موجود في ال DNA. فإن الذرات المشعة توضعت في DNA العاثية فقط.
- سُمح لفيروسات ال T2 موسومة البروتين و ال DNA أن تعدي مجموعات منفصلة من خلايا ال E. coli اللا مشعة.
- بعد وقت قصير من بداية العدوى، تم تدوير المزارع في مدوّمة Blender لفصل أي أجزاء من العاثية باقية خارج خلايا البكتيريا.بعد ذلك تم تثفيل المزيج في مثفلة لإجبار البكتريا على تشكيل حبيبة أسفل أنبوب التثفيل، والسماح للعاثيات الحرة وأجزاء منها بالبقاء معلقة في السائل الطافي.
- وجد Hershey وChase أنه عندما أصيبت البكتيريا بالعدوى بالعاثيات T2 المحتوي على البروتين المشع، تجمع معظم النشاط الاشعاعي في السائل الطافي الذي يحتوي على بقايا العاثية (ليس البكتيريا). وهذا يعني أن البروتين الخاص بالعاثية لم يدخل إلى خلية المضيف، لكن عندما عندما تم عدوى البكتريا بالعاثية T2 الموسومة بال DNA المشع، وجد معظم النشاط الاشعاعي في الحبيبة والتي تحوي على البكتيريا المضيفة.

اقترحت هذه النتيجة أن DNA العاثية قد دخل إلى خلايا المضيف بل و أكثر من ذلك، عندما أعيدت هذه البكتيريا إلى المستنبتات استمر سير العدوى، و حررت ال E. coli عدداً من العاثيات التي احتوت على بعض الفوسفور المشع.

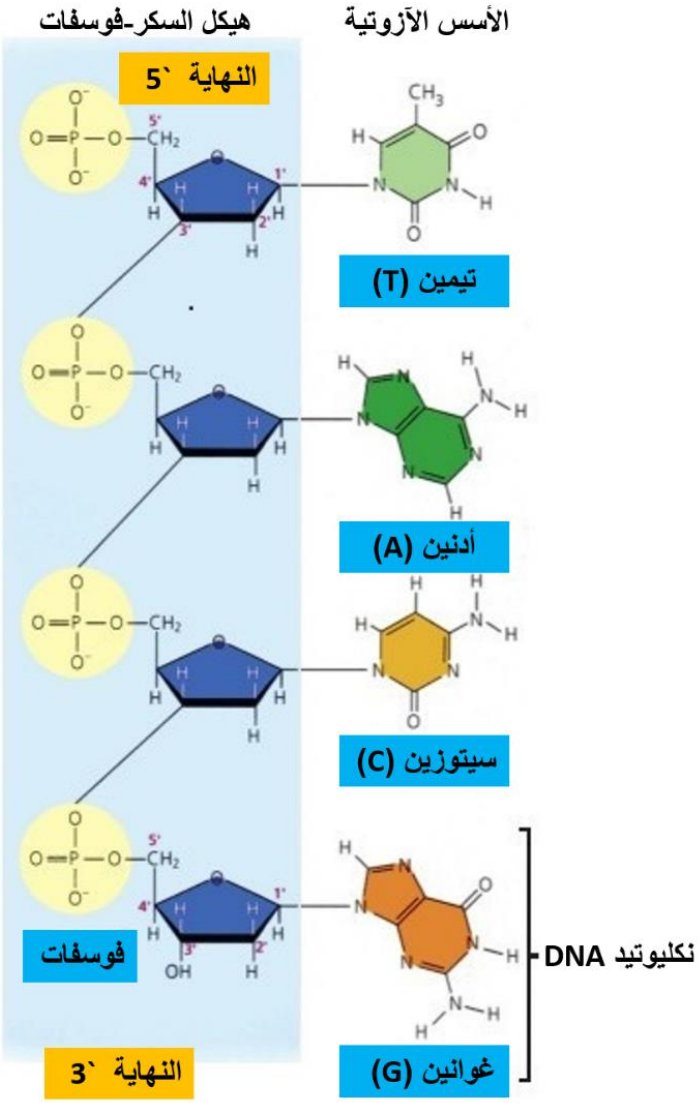
استنتج Hershey وChase أن DNA الفيروس قد تم حقنه في الخلية المضيفة خلال العدوى، وتم ترك بروتين الفيروس خارجاً. زود ال DNA المحقون الخلية المضيفة بمعلومات وراثية جعلت هذه الخلية تنتج ال DNA وبروتين فيروسي جديد، اجتمعا لتشكيل فيروسات جديدة. وبالتالي قدمت تجربة Hershey وChase بينة قوية على أن الحموض النووية هي المادة الوراثية، وليست البروتينات على الأقل عند الفيروسات.

د. حسان حسن

برهان إضافي على أن ال DNA هو المادة الوراثية

أتى برهان إضافي على أن ال DNA هو عبارة عن مكثور (بلمر) من النكليوتيدات، يتكون كل منها من ثلاثة عناصر هي:

1- أساس آزوتي. يمكن أن يكون الأساس: أدنين Adenine (A) أو تيمين (T) Thymine، أو غوانين Guanine (G) أو سيتوزين Cytozine (C).
2- سكر خماسي يدعى الريبوز منقوص الأوكسجين.
3- جذر فوسفات.



الشكل (8:2): بنية شريط ال DNA. يتكون كل نكليوتيد من أساس آزوتي (G أوC أو A أوT)، وسكر الريبوز منقوص الأوكسجين (باللون الأزرق) والزمرة الفوسفورية (باللون الأصفر).

حلل Chargaff تركيب الأساس في DNA عدد من الكائنات الحية المختلفة، وفي عام 1947، بين أن تركيب ال DNA يختلف من نوع لآخر فمثلاً:

- يحتوي 30.3% من ال DNA البشري على الأساس (A)، بينما يحتوي DNA البكتيريا E. coli على 26% من (A). إن هذا الختلاف في التنوع الجزيئي بين مختلف الأنواع، جعل ال DNA مرشحاً ليكون المادة الوراثية.

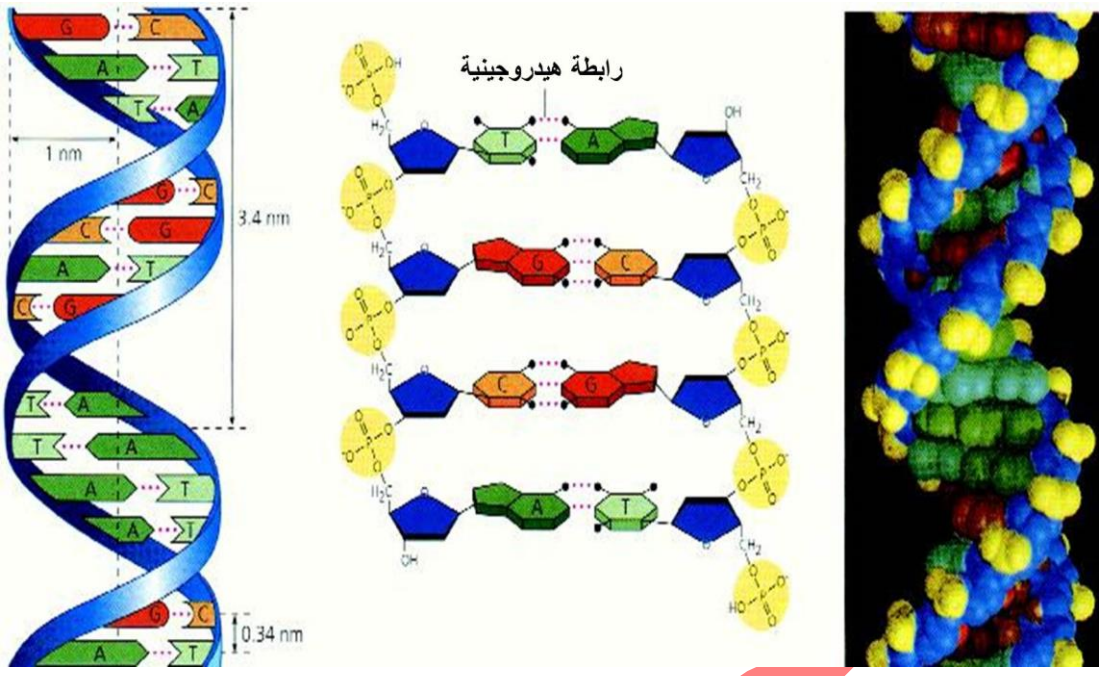
- وجد Chargaff كذلك انتظاماً مميزاً في نسب الأسس النكليوتيدية في النوع الواحد من الكائنات الحية. حيث أنه في DNA كل كائن حي درسه، كان عدد أسس الأدنين يساوي السيتوزين. ففي ال DNA البشري على سبيل المثال، النسب هي كالآتي A = 30.3% و T= 30.3%، C =19.5% و G = 19.5% وأصبح تساوي عدد الأسس A و T والأسس G و C في أي كائن حي معروفاً باسم قوانين Chargaff. بقيت قواعد هذه القوانين غير معروفة حتى اكتشاف الحلزون المزدوج (Double Helix).

بناء نموذج بنيوي للDNA:

عندما اقتنع معظم البيولوجيين بأن ال DNA هو المادة الوراثية، كان التحدي في معرفة كيف يمكن أن تكون بنية ال DNA مسؤولة عن هذا الدور في الوراثة. مع بداية الخمسينيات من القرن الماضي، تم وبشكل جيد معرفة ترتيب الروابط التساهمية في الحمض النووي. وركز الباحثون على اكتشاف البنية ثلاثية الأبعاد لل DNA.

رأى واتسون صورة شعاعية لل DNA تم إنتاجها من قبل زميلته فرانكلين، وهي صورة منتجة عبر تقنية البلوريات الشعاعية وهذه الصورة الشعاعية المنعرجة لل DNA جعلته يقرر بأن:

- ال DNA حلزوني الشكل واستطاع استنتاج عرض الحلزون وفراغية الأسس الآزوتية على طوله.
- اقترح عرض الحلزون أنه كان مكونا من حبلين، على خلاف النموذج الثلاثي المعياري الذي اقترحه حديثا Linus Pauling، وبسبب وجود حبلين وجد التعبير المألوف الحلزون المزدوج double helix(الشكل 9:2).



أ- نموذج ملء فراغ ب- البنية الكيميائية المجتزأة ج- مفتاح خصائص ال DNA

الشكل (9:2): الحلزون المزدوج لجزيء ال DNA

- الهياكل الفوسفورية السكرية الداعمة كانت على السطح الخارجي للحلزون المزدوج. والأسس الآزوتية الكارهة نسبيا للماء في قلب الجزيء و بعيدا عن المحلول المائي المحيط.

بنى واتسون نموذجا تكون فيه الأسس الآزوتية تواجه قلب الحلزون المزدوج (الشكل 9:2). ويمكن تخيل هذه التراتبية كما لو كانت سلما من حبل مع درجات صلبة. حيث يحتل الحبل في كل جانب الهياكل السكرية الفوسفورية الداعمة، وتمثل الدرجات أزواجا من الأسس الآزوتية.

أشارت بيانات فرانكلين الشعاعية إلى أن الحلزون يقوم بدورة كاملة كل 4.3 نانومتر على امتداد طوله. والمسافات بين الأسس هي 0.34 نانومتر، وبالتالي هناك عشر أزواج من الأسس الآزوتية أو عشرة درجات في كل دورة من الحلزون. إن الأسس الآزوتية مرصوفة بشكل أزواج عبر توليفات معينة: الأدنين مع التايمين والسيتوزين مع الغوانين.

لقد فاجأ واتسون وكريك المجتمع العلمي في عام 1953 بمقالة بليغة من صفحة واحدة في مجلة البريطانية. تحدثت المقالة عن نموذجهما الجزيئي لل DNA"الحلزون المزدوج" و الذي أصبح منذ ذلك الحين رمزا للبيولوجيا الجزيئية. وكان جمال النموذج في أن بنية ال DNA أشارت الى الآلية الأساسية لتنسخه.

حسان حسن