الحـوامض النـــووية
Nucleic acid

تعتبر الحوامض النووية من اهم المركبات الموجودة في جسم الكائن الحي ، فهي تقوم بحفظ ونقل المعلـومات الخاصة بتحديد النوع والصفات الوراثيـة لهذه الكائنات ، كما تحـدد الطـريق الذي من خلاله يتم تخليق البروتينات داخل هذه الكائنات .
الحوامض النووية عبارة عن مركبات ذات اوزان جزيئية عالية ، وهي تشترك مع البروتينات بهذه الصفة ، وتعتبر جزيئات عالية الحموضة فهي تحمل كثافة عالية من الشحنات السالبة ضمن الاس الهيدروجيني الفسيولوجي ، ولهذا السبب توجد متحدة مع مركبات بروتينية قاعدية مثل الهستونات والمركبات المشابهة لها ، وفي بعض الاحيان تتحد مع الايونات القلوية مثل Mg^{+2} .

تصنف الحوامض النووية الى صنفيين اساسيين اعتمادا على طبيعة الجزء السكري الذي تحويه :

- DNA–Deoxy Ribo Nucleic Acid الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين (يحوي على سكرالرايبوز منقوص الاوكسجين)
- RNA – Ribo Nucleic Acid الحامض النووي الرايبوزي (يحوي على سكر الرايبوز)

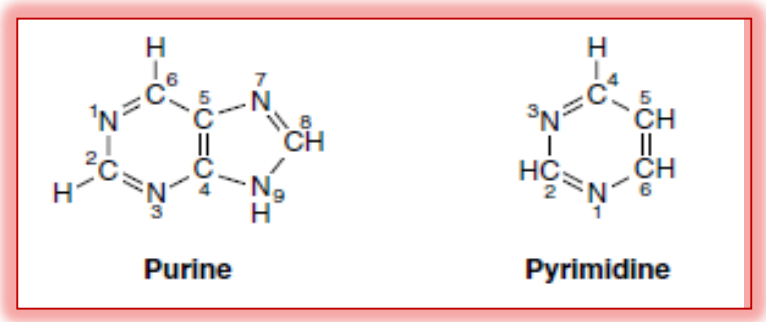
الوحدات البنائية الاولية للحوامض النووية :

يعتمد تركيب الحوامض النووية على وجود المقومات الرئيسية التالية :

١- القواعد النايتروجينية
٢- السكر الخماسي
٣- حامض الفسفوريك

القواعد النايتروجينية Nitrogen Base

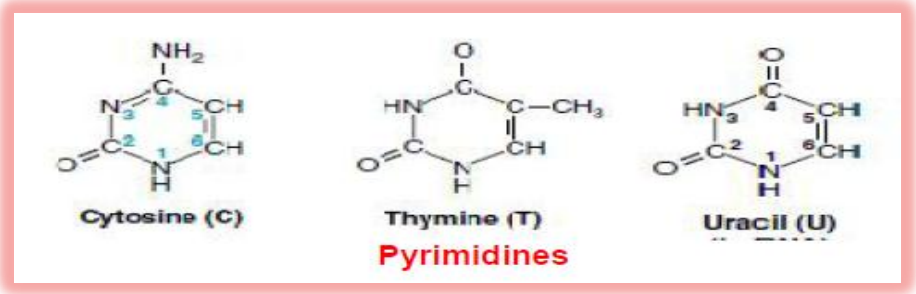
ان القواعد النايتروجينية الموجودة ضمن الحوامض النووية ترجع الى صنفيين اسلسيين هما ، البيورينات والبيرميديينات والتي لها التراكيب التالية :



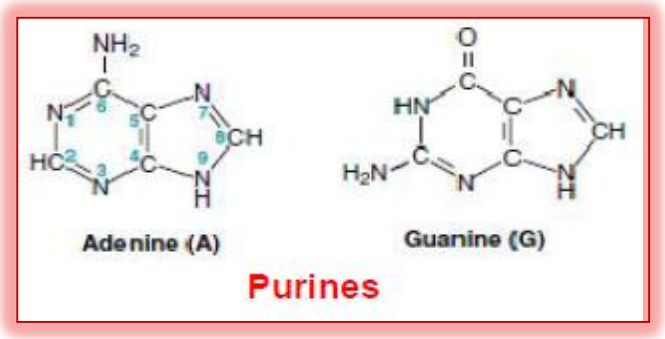
ومن هذين التركيبين يشتق عدد من القواعد التي تدخل في التركيب الاساسي للحوامض النووية .

A: البيرميدينات Pyrimidine : توجد ثلاث قواعد نايتروجينية تعود لصنف البيرميدينات هي :الثايمين (T)، السايتوسين (C)، واليوراسيل (U) ، وكما تظهر بالتراكيب الكيميائية التالية .

جزيئة DNA تحوي على الثايمين والسايتوسين ، اما جزيئة RNA فتحوي على السايتوسين واليوراسيل .

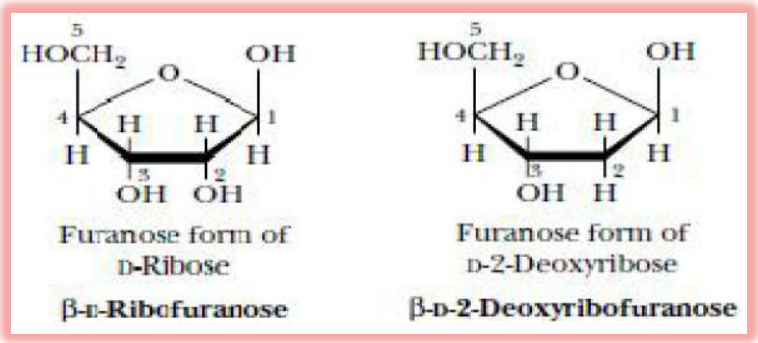


B: البيورينات Purine : تضم قاعدتين نايتروجينيتين هما الادنين والكوانين ، وكلاهما موجودان في DNA , RNA ، ولها التراكيب التالية .



السكر الخماسي Pentose sugar

ان السكر الخماسي الذي يدخل في تركيب الحامض النووي الرايبوزي RNA هو سكر الرايبوز Ribose ، اما الحامض النووي منقوص الاوكسجين DNA فيحوي سكر الرايبوز منقوص الاوكسجين Deoxyribose ، وهذان السكران يكونان من نوع D ، اذ يمكن التمييز بين الحوامض النووية من خلال الجزء السكري ، اذ ان Ribose و Deoxyribose تشترك في تفاعلات مختلفة ممكن ان تعطي الوان مميزة تستخدم بالتمييز بينهم .

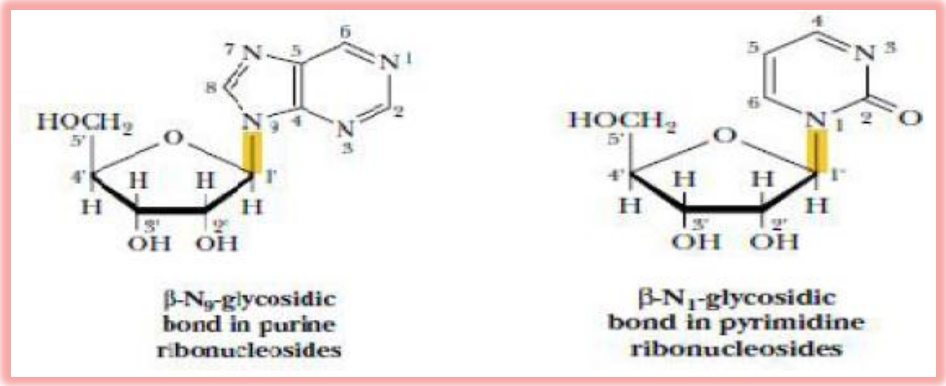


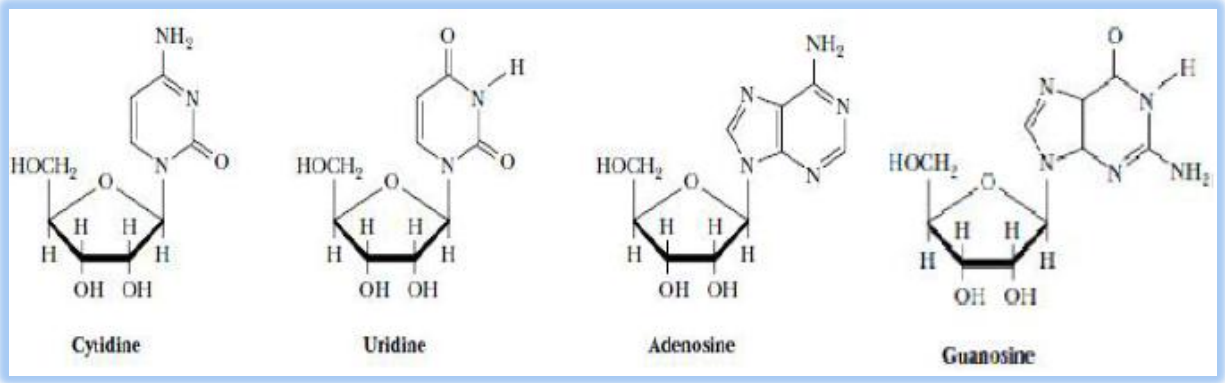
ان اهمية الصفات التركيبية للرايبوز تكمن في مجاميع الهيدروكسيل ذات القابلية على تكوين الاواصر الاسترية الفوسفاتية (Phospho-ester linkage) مع حامض الفسفوريك خصوصا في الموقعين (5,3) . من الجدير بالذكر ان جزيئة Deoxyribose لاتحوي الا على مجموعتين

هيدروكسيل في الموقعين (5,3) والتي تكون مؤهلة لتكوين الروابط الاسترية مع حامض الفسفوريك في جزيئة DNA .

النيوكليوسيدات Nucleosides

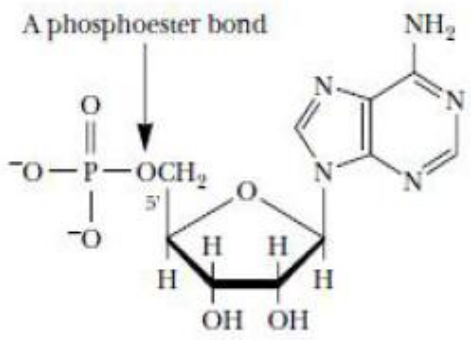
تنتج هذه المركبات من التحلل الجزئي للحوامض النووية ، وتتألف عادتا من ارتباط القواعد النايتروجينية مع سكر الرايبوز او الديوكسي رايبوز ، وتعتبر هذه المركبات بمثابة مشتقات سكرية للقواعد النايتروجينية . يرتبط السكر من خلال مجموعة الهيدروكسيل في ذرة الكاربون رقم (1) مع القاعدة النايتروجينية برابطة كلايكوسيدية (Glycoside linkage) من خلال ذرة النايتروجين N رقم (1) للبريميدينات وذرة النايتروجين N رقم (9) للبيورينات .



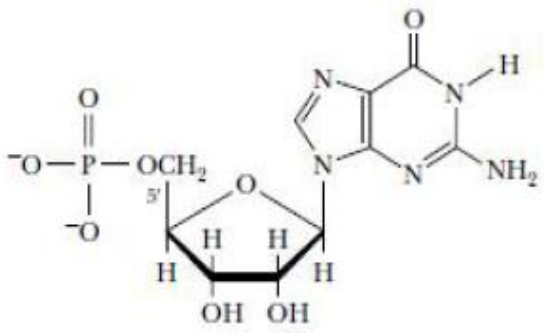


النيوكليوتيدات Nucleotides

تعتبر النيوكليوتيدات الوحدات البنائية للحوامض النووية وتمثل استرات فوسفاتية للنيوكليوسيدات ، ويمكن الحصول عليها من التميؤ الكيميائي او الانزيمي المعتدل للحوامض النووية ، ففي حالة النيوكليوتيدات الناتجة من تحلل RNA يمكن الحصول على 5^-, 3^-, 2^- من النيوكليوتيدات المنفردة ، اما في حالة تحلل DNA يمكن الحصول على النيوكليوتيدات 5^-, 3^- فقط .

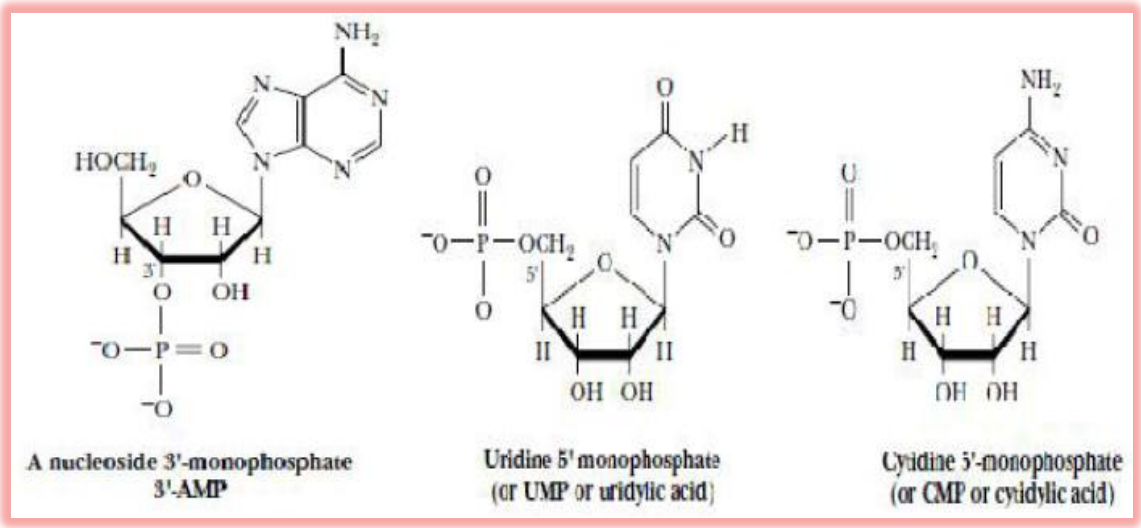


Adenosine 5'-monophosphate
(or AMP or adenylic acid)



Guanosine 5'-monophosphate
(or GMP or guanylic acid)

توجد النيوكليوتيدات في الطبيعة ليس كنواتج لتحلل وهضم الحوامض النووية فقط وانما توجد ايضا مع مكونات المرافقات الانزيمية Co-enzyme للكثير من الانزيمات . ان ارتباط النيوكليوتيدات مع بعضها بروابط الاستر الفوسفاتية تؤدي الى تكوين جزيئات عالية الوزن الجزيئي تسمى النيوكليوتيدات المتعددة Polynucleotide وهنا تكمن اهمية حامض الفسفوريك في الربط بين النيوكليوتيدات المختلفة .] ارقام ذرات القواعد النايتروجينية .1,2,3,....9 ، اما ارقام ذرات السكر يوضع فوقها (-) 5^- , 4^- , 3^- , 2^-] .



A nucleoside 3'-monophosphate
3'-AMP

Uridine 5'-monophosphate
(or UMP or uridylic acid)

Cytidine 5'-monophosphate
(or CMP or cytidylic acid)

تركيب الحوامض النووية

ان التركيب الابتدائي للحوامض النووية يكون على شكل بوليمر غير متفرع ، يتألف من الارتباط المتعاقب لوحدات النيوكليوتيدات من خلال الرابطة الفوسفاتية ثنائية الاستر ، وقد لوحظ ان الوحدات المكونة لجزيئة DNA عادتا ما تتخذ النسب التالية (قاعدة نايتروجينية : ديوكسي رايبوز : الفوسفات) = (١:١:١) ، فيكون التركيب الابتدائي غير المتفرع هو الاحتمال الوحيد وذلك بسبب عدم وجود مجموعة الهيدروكسيل في الموقع (٢) للسكر ، مما ادى الى عدم وجود احتمال اخر لتكون نظير خطي اخر او تكون تركيب متفرع ، الا ان مثل هذا الاحتمال وارد في حالة RNA ، الا انه لحد الان لم يكتشف جزيئة RNA متفرعة .

لقد اوضحت الدراسات التي قام بها العالم كاركوف (Chargoff) وجود علاقات منسجمة بين القواعد النايتروجينية الداخلة في تركيب الحوامض النووية ، يمكن ان تمثل بالنقاط التالية :

١- يتساوى عدد قواعد البيورين مع عدد قواعد البيرميدين الداخلة في تركيب جزيئة الحامض النووي ، بحيث $A+G = T + C$

٢- يتساوى عدد القواعد الحاوية على مجموعة الامين (NH_2) في الموقع (4) او (6) مع القواعد الحاوية على مجموعة كيتونية في المواقع (4) او (6) .

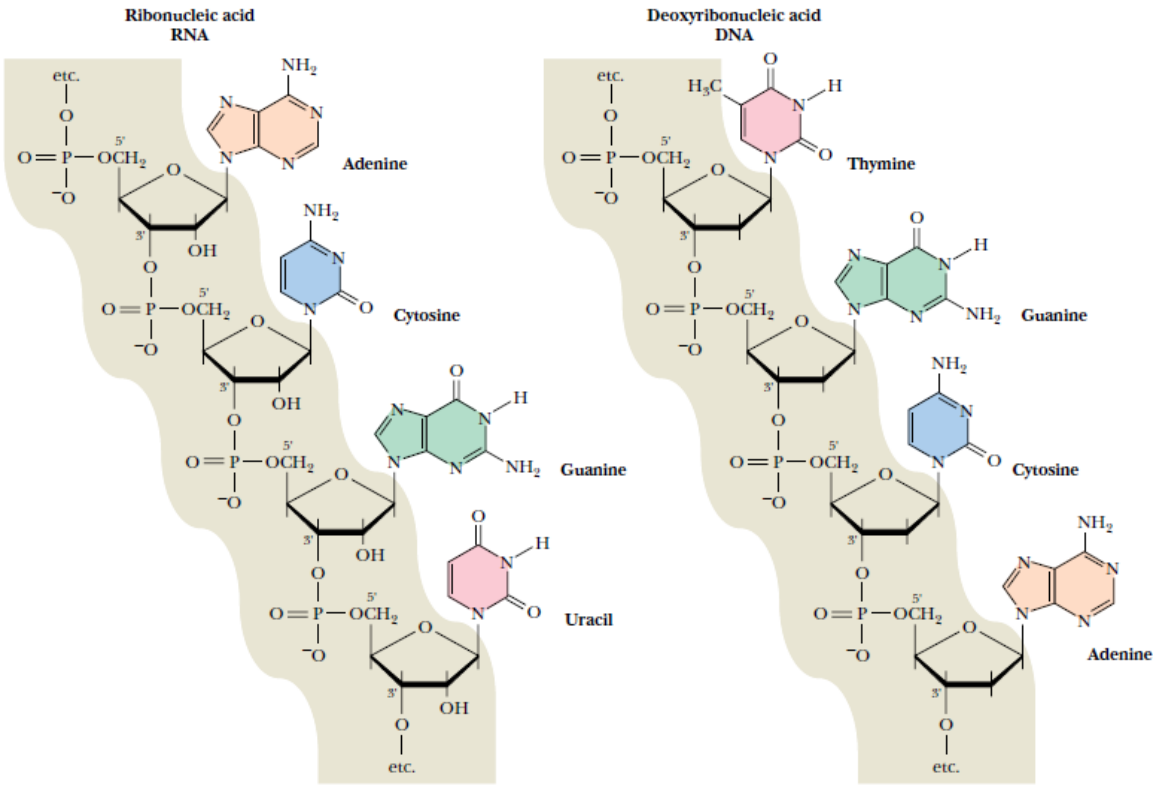
$G=C \quad , A=T$

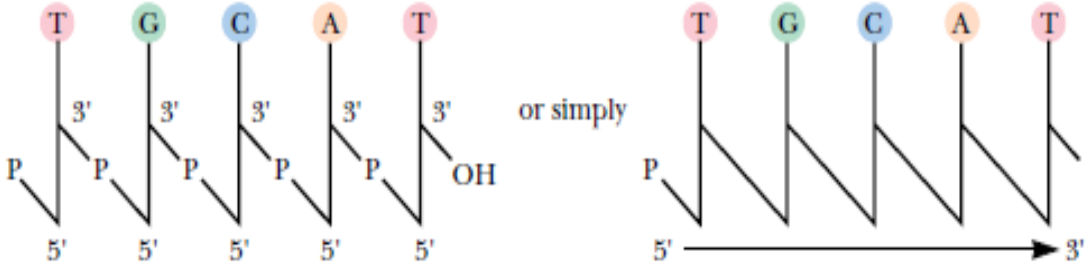
٣- الادنين يرتبط مع الثايمين برابطتين هيدروجينيتين ، اما الكوانين فيرتبط مع السايتوسين ثلاث أواصر هيدروجينية .

الا انه هذه العلاقات غير موجودة في جزيئات RNA .

التركيب الابتدائي للحوامض النووية

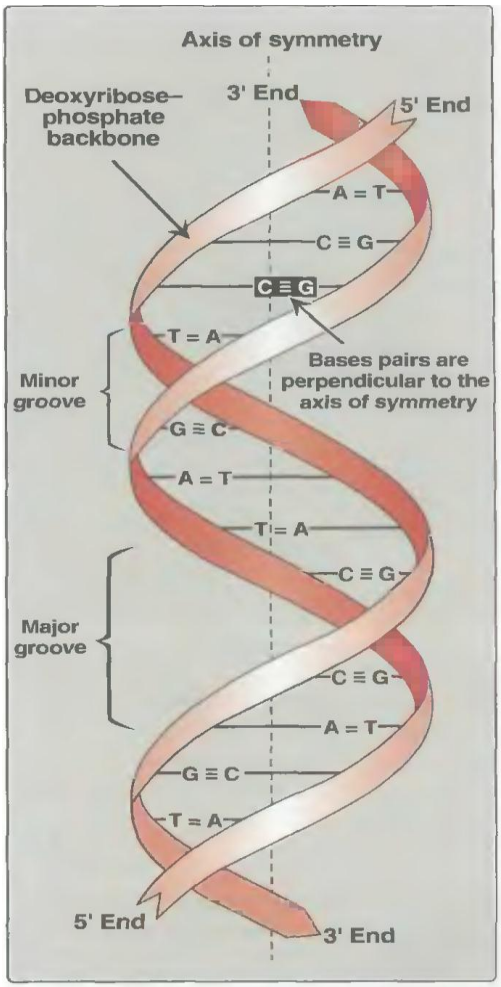
نظرا للـدور المميز الذي تقوم به الحوامـض النووية في تخليـق الجزيئـات الاساسية في الخلايا (البروتينات) والسيطرة على نقل المعلومات الوراثية في الاجناس ، لذا يتوجب علينا القاء النظر على التركيب الابتدائي للحوامض النووية وكيفية ارتباط الوحدات الاساسية (النيوكليوتيدات) مع بعضها ، ان تركيب هذه المركبات يتكون من قاعدة نايتروجينية وسكر خماسي وحامض الفسفوريك ، وقد تم التعرف على الرابطة التي تربط بين السكر وحامض الفسفوريك والتي تتكون من ارتباط مجموعة الهيدروكسيل لحامض الفسفوريك مع احدى مجاميع الهيدروكسيل ($2^{-},3^{-}$) للسكر الخماسي ، ويتعاقب هذا الاتحاد بين النيوكليوتيدات لتكوين العمود الفقري للاحماض النووية . من هذا يتضح ان التركيب الابتدائي للحامض النووي يعتمد على القاعدة النايتروجينية المرتبطة في موقع (1^{-}) للسكر .





التركيب الثانوي والثالثي للحوامض النووية

اوضحت الدراسات ان محاليل DNA تتألف من جزيئات خيطية طويلة ذات سمك متجانس على امتداد طولها ، وان هذه السلاسل مؤلفة من سلاسل نيوكليوتيدية متعددة Polynucleotide ، وتم الحصول على هذه المعلومات من خلال دراسة حيود الاشعة السينية X-Ray لجزيئات DNA . تمكن العالم wilkins من التعرف على الشكل اللولبي (الحلزوني) helical لجزيئات DNA من خلال X-Ray ، اما العالمان Watson and Crick وضعو نظرية لتفسير التناسق الموجود في ترتيب القواعد النايتروجينية الموجودة في جزيئات DNA والتي لوحظت من قبل العالم كركوف Chargoff ، فقد اقترح Watson and Crick ان تركيب DNA يتألف من سلسلتين Polynucleotideتلتف لولبيا حول بعضها لتشكل مايشبه الحبل المزدوج ، وتكون سلسلة السكر الخماسي الفوسفاتي الى الخارج ، بينما تتجه القواعد النايتروجينية الى داخل التركيب الحلزوني ، وتتماسك هذه السلاسلمع بعضها من خلال الاواصر الهيدروجينية التي تنشأ بين الازواج المناسبة من القواعد ، فالادنين يرتبط مع الثايمين والساسيتوسين يرتبط مع الكوانين.



ان الصفات الهيدروفوبية للقواعد النايتروجينية تلعب دور مهم في تركيب الحوامض النووية ووظائفها ، اذ يحصل ترابط قطبي من خلال حافات سطح القواعد ، الا انه لايمكن ان يحصل مثل هذا الترابط من خلال اوجه القواعد ولا تستطيع الارتباط بقوة مع الماء ، الا انها تستطيع الارتباط هيدروفوبيا بقوة مع بقية القواعد عندما يسنح لها المجال ، لذا تلعب هذه الرابطة دور مهم في استقرار التركيب الثانوي للحوامض النووية .

الاواصر الهيدروجينية ذات اهمية بالغة في استقرار جزيئة DNA ، مجاميع الكاربونيل ومجاميع الامين لها القابلية على تكوين الاواصر الهيدروجينية مع الماء ، ومع المجاميع المماثلة لجزيئات القواعد الاخرى ، اذ ان الادنين يكون اصرتين هيدروجينيتين مع الثايمين ، والكوانين يكون ثلاث اواص هيدروجينية مع السايتوسين .

ان جزيئة DNA في شكلها الشبكي المسمى (B- Form) الذي يعد احد الاشكال المستقرة في الرطوبة ، اذ يتكون من سلسلتين ملتفتان على نفس المحور بشكل حلزوني بالاتجاه الايمن وبشكل متعاكس

(two-right handed helical) ، اذ تكون القواعد الى خارج الحلزون وعلى شكل ازواج تترتب بشكل

يسمح لقواعد البيريميدين في احدى السلاسل للترابط مع قواعد البيورين للسلسةالاخرى والعكس بالعكس . اذ تكون القواعد في احدى السلاسل متممة لبعضها البعض وبدرجة تكون فيه تسلسل لبقواعد في احدى السلاسل يمكن ان يقرر تسلسلها في السلسلة الاخرى . يحتوي الشكل الحلزوني B علىعشرة ازواج من النيوكليوتيدات لكل لفة من الحلزون ، وتنفصل هذه الازواج عن بعضها بمقدار ثابت (0.34 nm) وعلى طول محور الجزيئة ، وقد وجد ان جزيئة DNA لها القابلية على التكييف وباشكال مختلفة مع كمية الماء الموجود في المحيط .

التركيب الثانوي لجزيئة RNA

هناك عدة انواع معروفة من جزيئات RNA تختلف فيما بينها من ناحية التركيب والحجم والصفات الوظيفية واماكن تواجدها في الخلية ، اذ تؤلف جزيئات RNA (5-10%) من وزن الخلية . بصورة عامة تتالف هذه الانواع من سلسلة منفردة من Poly ribonucleotide وباشكال جزيئية متعددة ، تفتقر جميع انواع RNA الى التنظيم الموجود في جزيئات DNA ، وقد وجد ان بعض جزيئات RNA تتخذ شكل الحلزون المزدوج ، اوقد يتكون هذا الحلزون من التفاف السلسلة الواحدة حول نفسها وتعطي حلزون مزدوج ،وان هذا الشكل الحلزوني يعزى الى تلك الاجزاء التي تكون فيها القواعد مكملة لبعضها وتسمح بتكوين الاواصر الهيدروجينية الكافية . هناك احتمال اخر هو ان جزيئة RNA تكون على شكل حلزون تتكون فيه الاواصر الهيدروجينية بشكل عشوائي كلما التقى المانح البروتوني بمجاميع مستقبلة ، ويكون معدل الروابط H للازواج الناتجة اثنين على الاقل لكل زوج ، ويكون شكل الجزيئة الناتجة حلزونيا لكنه غير منتظم . ومن اهم انواع RNA مايأتي :

١- الحامض النووي الرايبوزي الناقل (t-RNA)

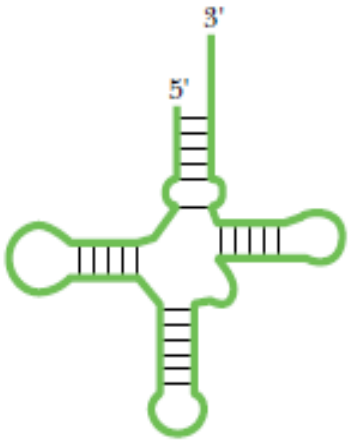
ويسمى ايضا بالحامض النووي الرايبوزي الذائب ، ويلعب دور مهم في عمليات تصنيع جزيئات البروتينات ، اذ تقوم بنقل الحوامض الامينية الى اماكن تصنيع البروتين داخل الخلية ، ويوجد ضمن الخلايا الحيوانية والخمائر .

٢- الحامض النووي الرايبوزي الرايبوسومي (r-RNA)

تحتوي الرايبوسومات على كمية كبيرة من هذا الحامض النووي فهو يكون ما يقارب (80%) من وزن الرايبوسومات فيبعض انواع البكتريا ، وعلى الرغم من ذلك فان الوظيفة الرئيسية لهذا الحامض في عملية تصنيع البروتين غير معروفة بصورة تامة .

٣- الحامض النووي الرايبوزي الرسولي (m-RNA)

يكون هذا الحامض على شكل خيط مفرد وباطوال مختلفة ، ويتكون هذا الحامض انزيميا داخل نواة الخلية ، وان تسلسل القواعد النايتروجينية المؤلفة لهذا الحامض يكون مطابق لتسلسل القواعد النايتروجينية لاحد سلاسل DNA الامر الذي يشير الى ان تحضير m-RNA لايتم الابتحكم خاص من DNA ، وبعد ان يتكون m-RNA يعبر الى السايتوبلازم ومنها الى الرايبوسوم حيث مكان تصنيع البروتينات ، اذ يلعب دور اساسي في تسلسل الاحماض الامينية في السلسلة الببتيدية المراد تصنيعها في داخل الخلية . كل جزيئة من m-RNA تحمل شفرة لواحدة او اكثر من جزيئات البروتين ، ولذلك فان كل خلية تحتوي على مئات الجزيئات من m-RNA المختلفة ، المسؤولة عن تصنيع البروتينات المختلفة .



الحامض النووي الرايبوزي الناقل (t-RNA)

الطرق الاساسية لتفكك الحوامض النووية

سوف نتعرض بايجاز الى اهم الطرق الكيميائية والانزيمية المستخدمة لتفكك جزيئات الحوامض النووية :

A: الطرق الكيميائية Chemical methods

١- تأثير القواعد Base effect : تعتبر هذه الطريقة من اهم الطرق التحلل ويستخدم محلول KOH او NaOH في التميؤ ، اذ انه جزيئة RNA تتفكك وتعطي مزيج من (2`,3`-Ribonucleotide) عند تعرضه الى محلول (0.1 NaOH) ولمدة (20 دقيقة) عند درجة الحرارة (100 C°) ، اذتتضمن هذه الطريقة تكوين مركب وسطي من نوع (2`,3`-Cyclic phosphate) ، وكما في التفاعل التالي :

ان ظهور المركب (2`-Ribonucleotide) يمكن اعتباره ناتج عرضي لانتقال مجموعة الفوسفات من الموقع (5`) الى الموقع (2`) وكما مبين بالتفاعل التالي :

ان تأثير NaOH على جزيئة DNA يكاد يكون معدوم بسبب عدم وجود مجموعة الهيدروكسيل في الموقع (2`) للسكر الخماسي منقوص الاوكسجين الذي يدخل في تركيب DNA .

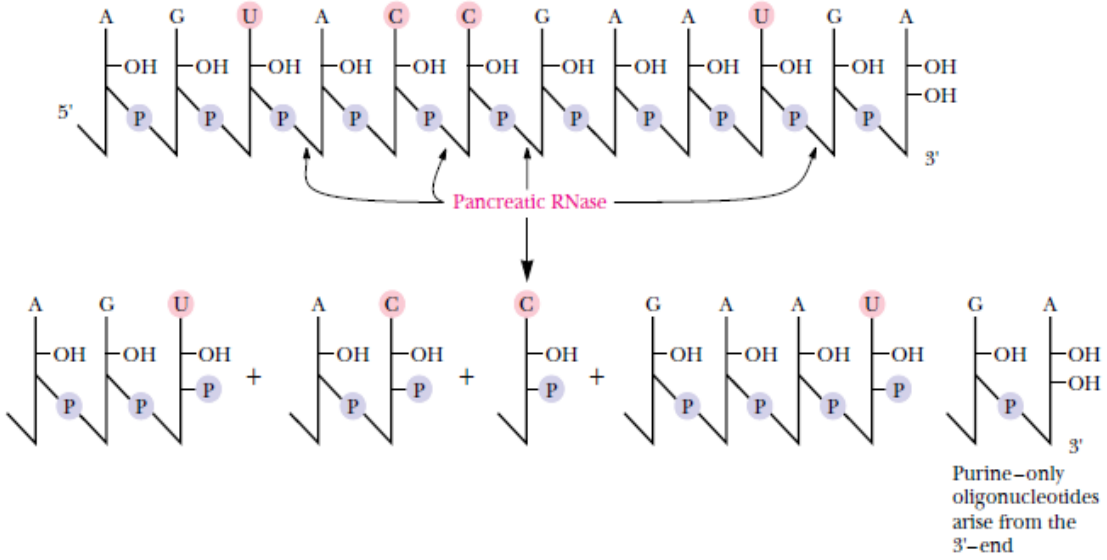
٢- تأثير الحوامض Acid effect : تتحلل جزيئات RNA عند معاملتها بالحامض للحصول على البيورين والفوسفاع اللاعضوية والبيريميدين – ٣- احادي النيوكليوتيد ، اما عند معاملة DNA مع محلول (0.1 HCL) عند درجة حرارة (37C°) فانها تسبب تحرر كافة جزيئات البيورين .

٣- الاكسدة بواسطة البيرايوديت Oxidation by Periodate : في هذه الطريقة تحصل ازاحة للنيوكليوتيد الطرفي للحامض النووي ، وذلك بسبب اكسدتها بواسطة البيرايوديت باستخدام احد الامينات الالفاتية كعامل مساعد . وكما في التفاعل التالي :

B: الطرق الانزيمية Enzymatic methods

١- تأثير انزيم الرايبونيوكلييز Ribonuclease (RNase)

يوجد هذا الانزيم في غدة البنكرياس وبامكانه تفكيك جزيئة RNA ، ولكنه عديم الفعالية اتجاه جزيئة DNA ، وميكانيكية عمل هذا الانزيم مشابهة لتأثير القاعدة ، وان عمل هذا الانزيم يكون كعمل الانزيم Phosphodiesterase الذي يقوم بعزل الاسترات الفوسفاتية الثانوية للبيرميدين (pyrmidine ribo – 3^- phosphate) وكما في التفاعل التالي :



٢- تأثير انزيم ديوكسي رايبونيوكليز DeoxyRibonuclase (DNase)

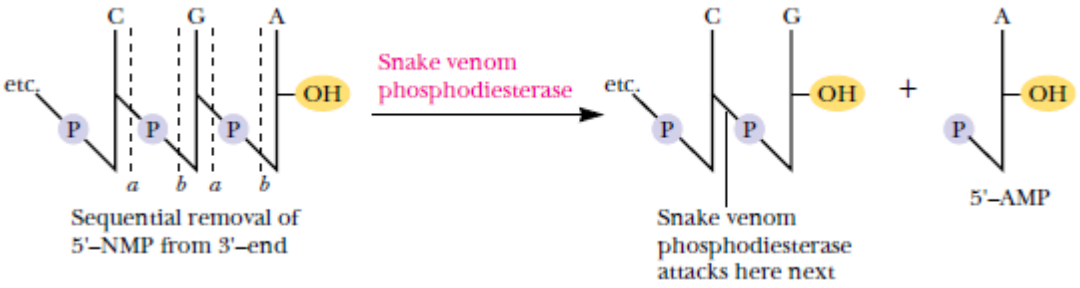
يعمل هذا الانزيم بشكل عشوائي لكسر الروابط الاسترية الفوسفاتية في الموقع (3^-) ، وقد لوحظ ان مايقارب (25 %) من الاواصر الرابطة تتحلل لانتاج خليط من النيوكليوتيدات المتعددة والتي تملك مجاميع فوسفاتية احادية الاستر عند الطرف (5^-) اضافة الى تكون 5^- -deoxy ribonucleotide .

٣- تأثير انزيم الفوسفاتيز Phosphatase

يتلخص تأثير هذا الانزيم بازاحة مجموعة الفوسفات الطرفية من كل من الرايبونيوكليوتيد والديوكسي رايبونيوكليوتيد ، وكما في التفاعل التالي :

٤- تأثير انزيمات سم الافاعي Snake Venom enzyme

يحتوي سم الافاعي على انزيم الفوسفو داي استيريز phosphodiesterase ، فتؤثر على جزيئة RNA محررة (5^- -mononucleotide) اما عند معاملة جزيئة DNA مع انزيم (DNase) اولا ثم تعريضه الى انزيم سم الافاعي فأنه يمكن الحصول على (5^- -mononucleotide) وكما في المعادلة التالية :


C
G
A
etc.
P
P
P
OH
a
b
a
b
Sequential removal of
5'–NMP from 3'–end
Snake venom
phosphodiesterase
C
G
etc.
P
P
OH
Snake venom
phosphodiesterase
attacks here next
+
A
P
OH
5'–AMP