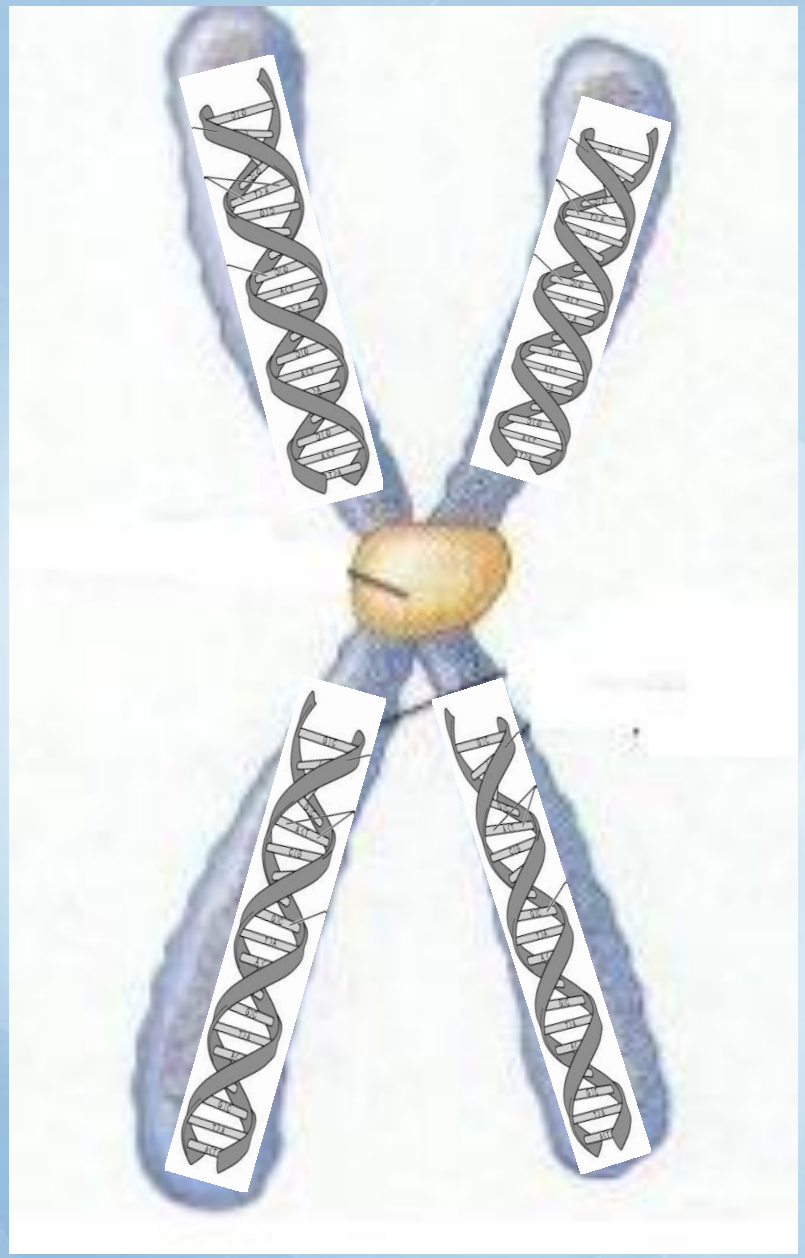
DNA

DNA stands for deoxyribonucleic acid.

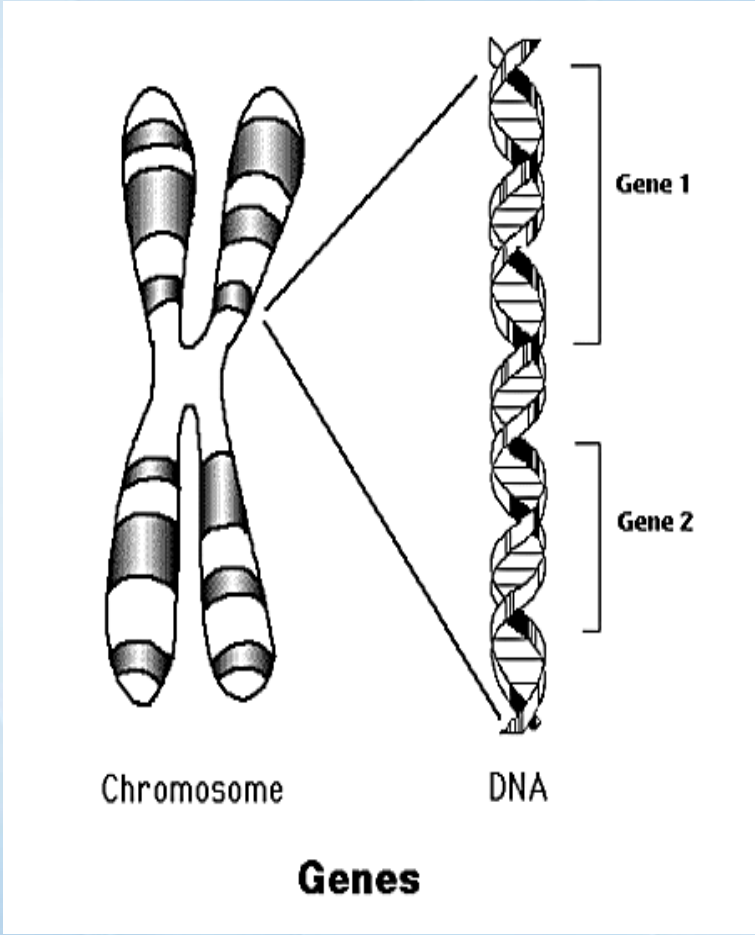
Where is DNA found?

James Watson and **Francis Crick** discovered that chromosomes are made up of DNA and called it a **Double helix.** These chromosomes are located in the **nucleus**!!



Genetic Information

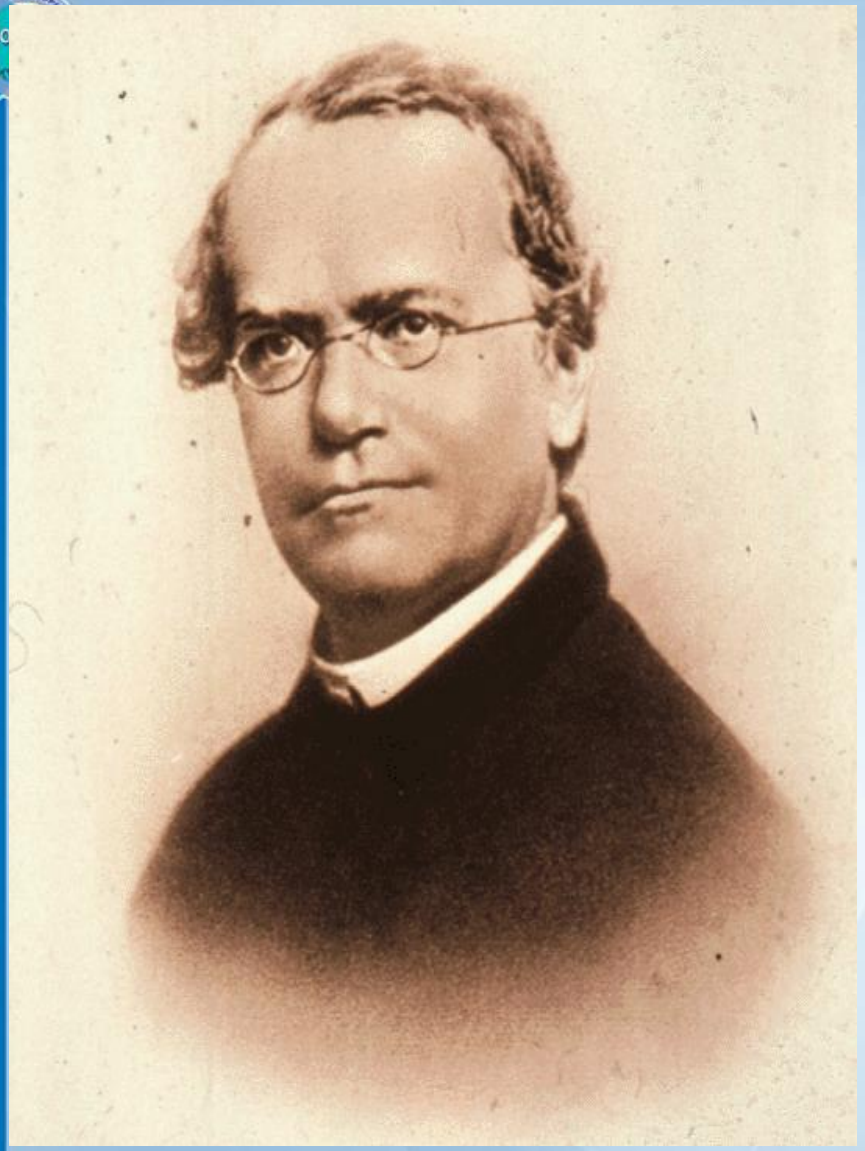
- **Gene** – basic unit of genetic information. Genes determine the inherited characters.
- **Genome** – the collection of genetic information.
- **Chromosomes** – storage units of *genes*.
- **DNA** - is a nucleic acid that contains the genetic instructions specifying the biological development of all cellular forms of life



Genotypes ⟺ Phenotypes

- At each locus (except for sex chromosomes) there are 2 genes. These constitute the individual's ***genotype*** at the locus.

- The expression of a genotype is termed a ***phenotype***. For example, hair color, weight, or the presence or absence of a disease.



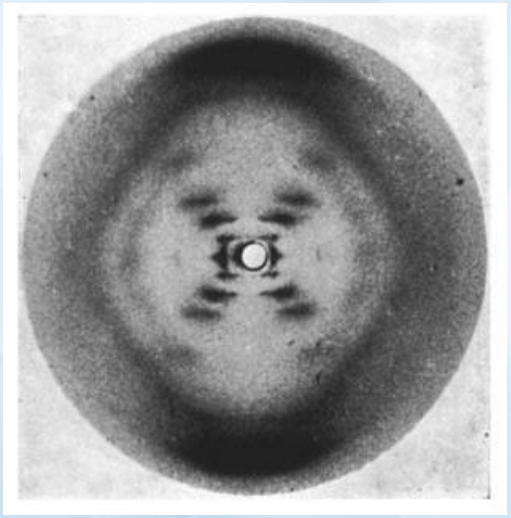
- **1866**
- **Gregor Mendel published the results of his investigations of the inheritance of "factors" in pea plants.**

A HISTORY OF DNA

- **Discovery of the DNA double helix**

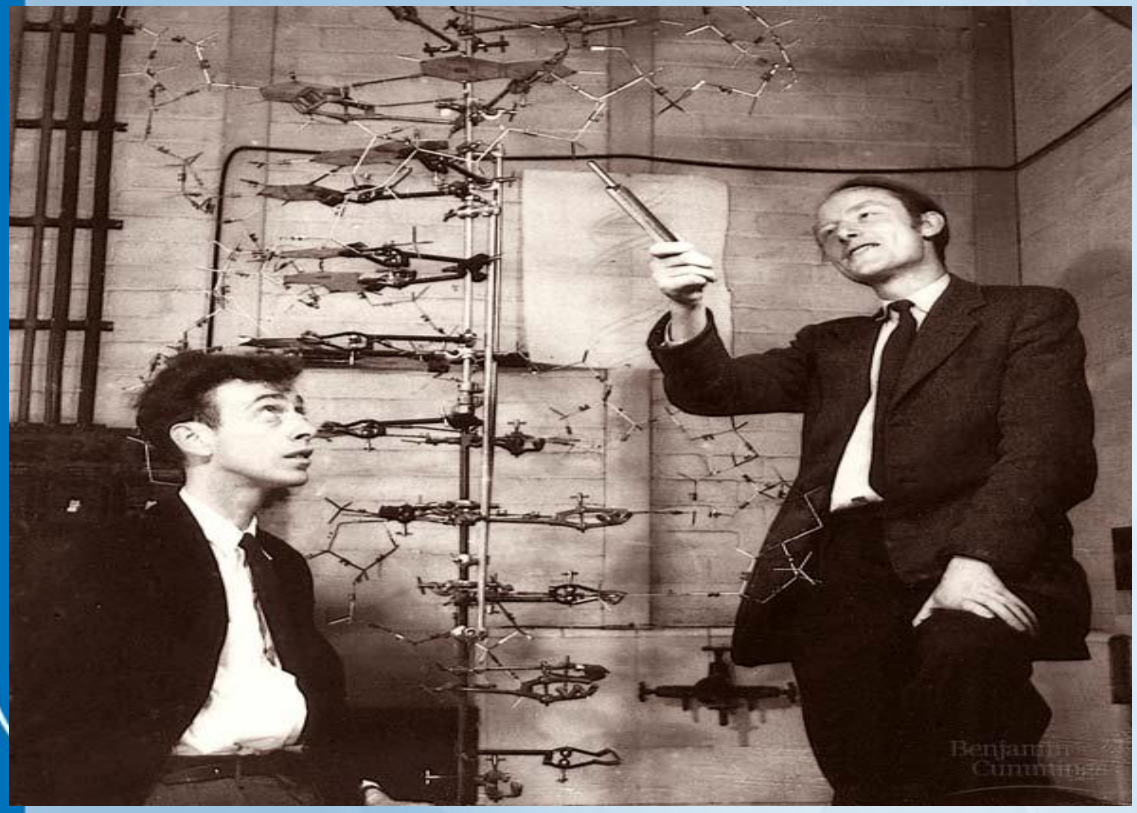
A. **Frederick Griffith** – Discovers that a factor in diseased bacteria can transform harmless bacteria into deadly **(1928)** bacteria

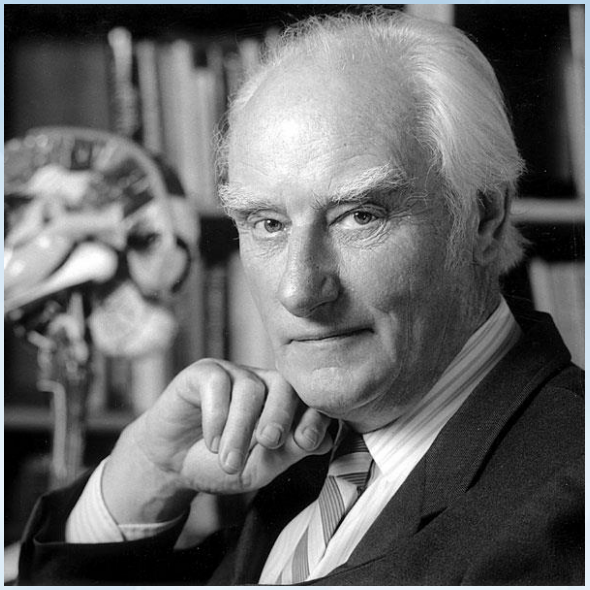
Rosalind B. **Franklin** - X-ray photo of DNA. **(1952)**



Watson (U.S.A) and Crick (Britain)

1953 article in Nature





Watson and Crick - described the DNA molecule from Franklin's X-ray. **(1953)**

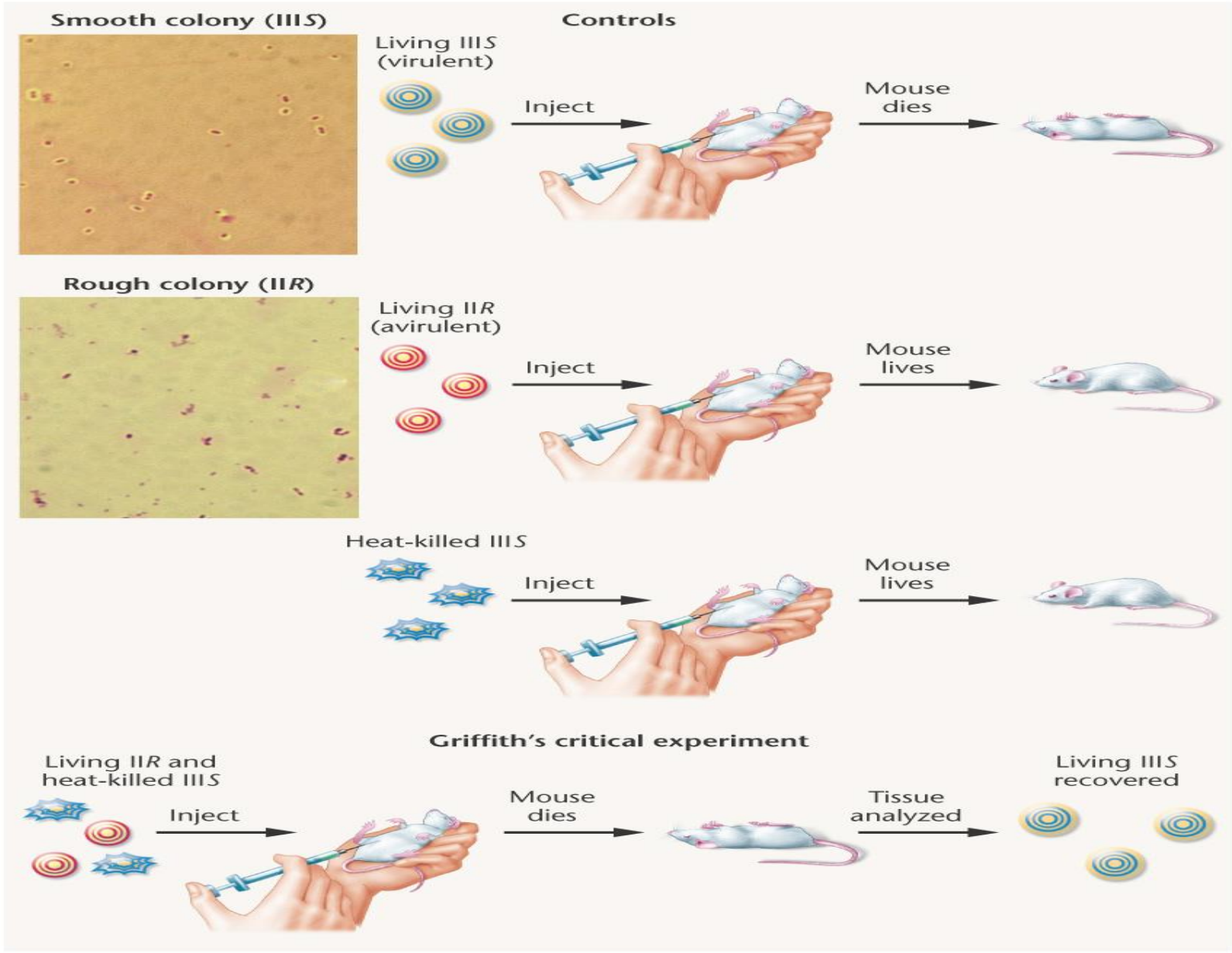
C.

Frederick Griffith

- **تجارب فريدريك جريفث(التحول البكتيرى) Frederick Griffhth Experiments**
- درس الطبيب البريطاني جريفث عام 1928م نوعا من البكتيريا Streptococcus Pneumonia التي تسبب مرض الالتهاب الرئوي Pneumonia للثديات حيث نمّى مستعمرات تلك البكتيريا في أطباق بتري, واستطاع التمييز بين سلالتين, تنتج إحداهما مستعمرات ملساء Sooth(S), محاطة بغلاف أملس من السكريات المتعددة Polysaccharide capsule, وتنتج الأخرى مستعمرات خشنة Rough(R), غير محاطة بغلاف, وهذه الطرز الظاهرية تورث. فعندما حقن جريفث سلالة البكتيريا (S) الحية في الفئران وجد أنها هي المعدية Pathogenic

- والمسببة لمرض الالتهاب الرئوي حيث ماتت الفئران, لكن السكريات المتعددة المكونة للمحفظة ليست هي سبب الالتهاب الرئوي. وعندما حقن الفئران بخلايا R الحية لم تمت الفئران. وعندما عاود جريفث حقن الفئران بخلايا S المقتولة بالحرارة لم تمت الفئران وعندما حقن جريفث الفئران بخليط من خلايا S التي قتلت بالحرارة مع خلايا R الحية (علماً أن كلاً منهما على حدة غير مميت للفئران) ماتت الفئران بالالتهاب الرئوي نتيجة الحقن بهذا الخليط. والغريب في الأمر أن جريفث وجد خلايا S حية في عينات دم الفئران الميتة, بالرغم من أن خلايا S الميتة هي التي حقنت في الفئران.

- وهذا يعني أن بعض خلايا R اكتسبت القدرة من خلايا S الميتة لعمل محافظ من السكريات المتعددة, وقد وجد أيضا أن هذه القدرة تورث, فعندما زرع جريفث خلايا S التي أخذها من الفئران الميتة, انقسمت وأنتجت خلايا ذات أغلفة, وتسمى هذه الظاهرة التي اكتشفها جريفث بظاهرة التحول البكتيري Transformation. وبالرغم من أن جريفث لم يعرف الطبيعة الكيميائية للمادة المتحولة, إلا أن ملاحظاته شجعت العلماء للبحث عن المادة الوراثية علماً أن استعماله للحرارة للقضاء على نشاط خلايا S أكد أن البروتين ليس المادة الوراثية؛ لأن الحرارة تتلف معظم البروتينات, كما أن المادة الوراثية لخلايا S المقتولة بالحرارة هي المسؤولة بطريقة ما عن تحويل خلايا R الحية إلى خلايا S الحية المميته.



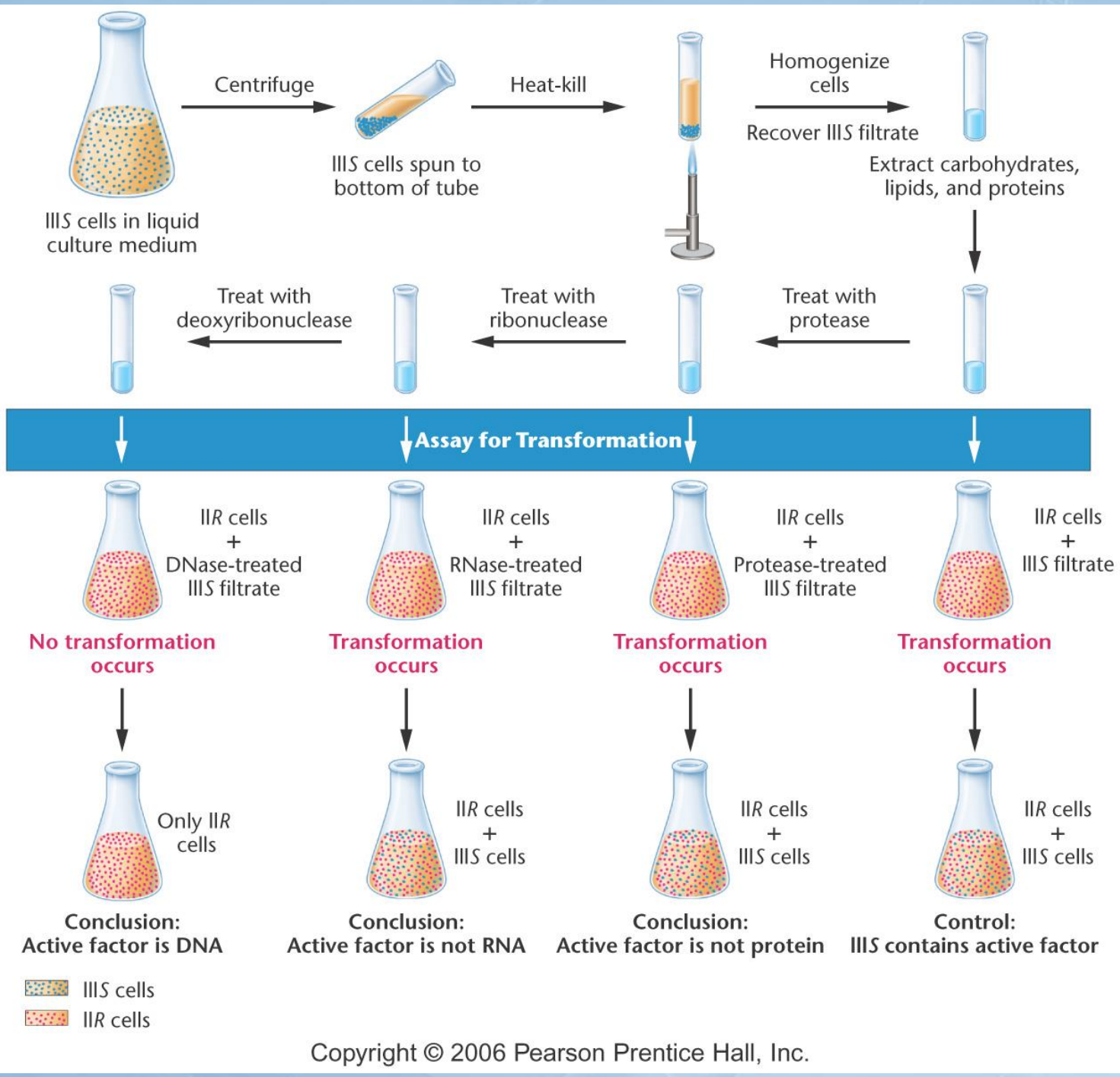
Copyright © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

Griffith's Experiment

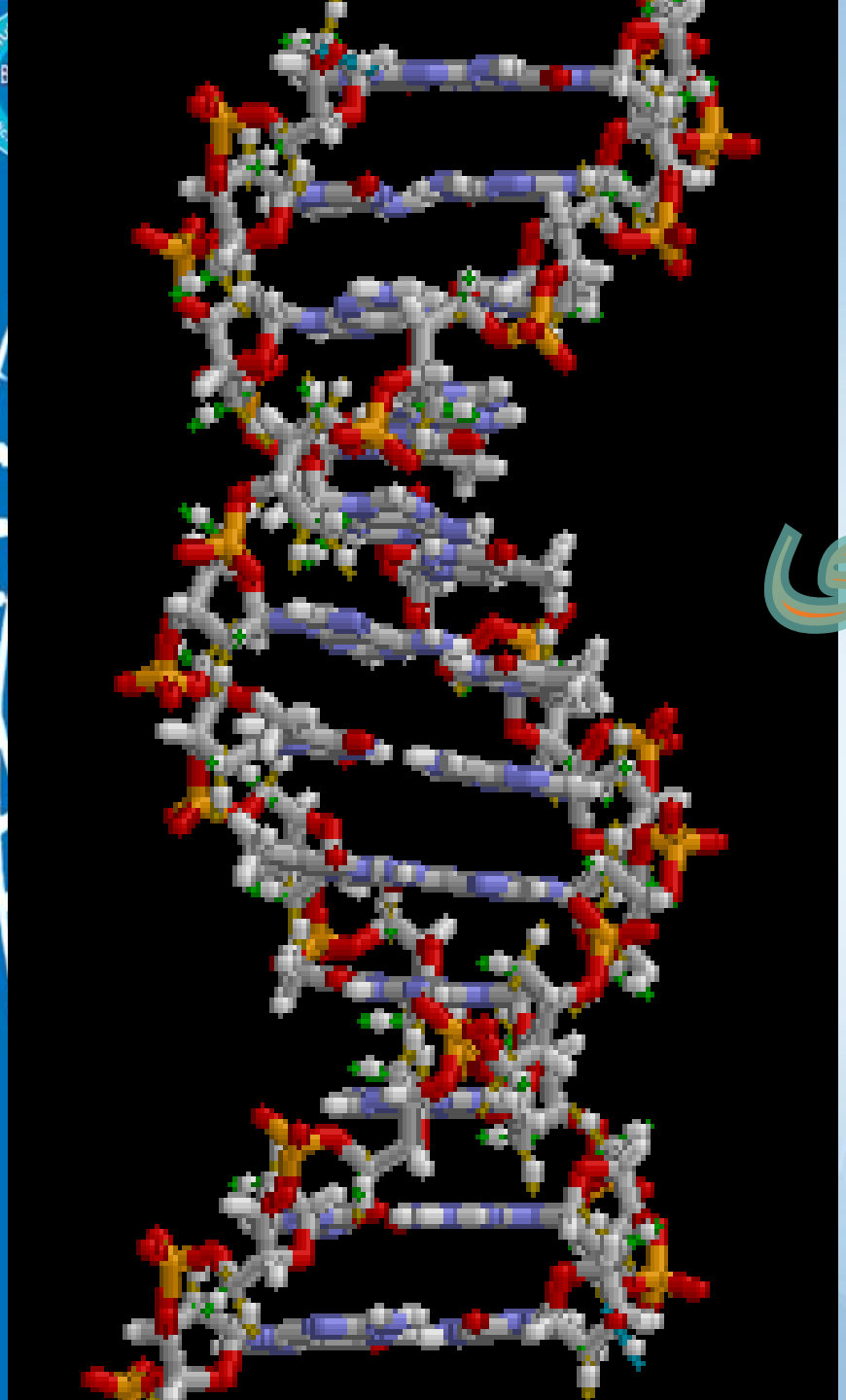
تجارب آفري Avery وزميلاه:

- تابع العلماء ما بدأه جريفث حول ظاهرة التحول فقد قام عالم البكتيريا الأمريكي أوسوالد آفري Oswald Avery وزميلاه ماكلين مكارتي Maclyn McCarty وكولن ماكلويد Colin Macleod عام 1944م بتحديد مادة التحول في تجربة جريفث, حيث أعاد هؤلاء العلماء تجربة جريفث, فبعد قتل خلايا S بالحرارة, تخلصوا من البروتينات في هذه الخلايا بهضمها بإنزيمات محللة للبروتينات Protease, وكذلك تخلصوا من RNAبهضمه بواسطة إنزيم Ribonuclease, ثم حقنوا الفئران بمزيج من DNAالمستخلص من خلايا S مع خلايا R الحيه, فوجدوا أن الفئران قد ماتت, وبذلك تأكد لديهم أن إزالة البروتين وRNA, لم تؤثر في عمليه التحويل البكتيري, وهذا يثبت أن المادة الوراثية في هذه الخلايا ليست بروتينا, ولا RNA, وإنما هي DNA.

Avery, McCarty and MacLeod

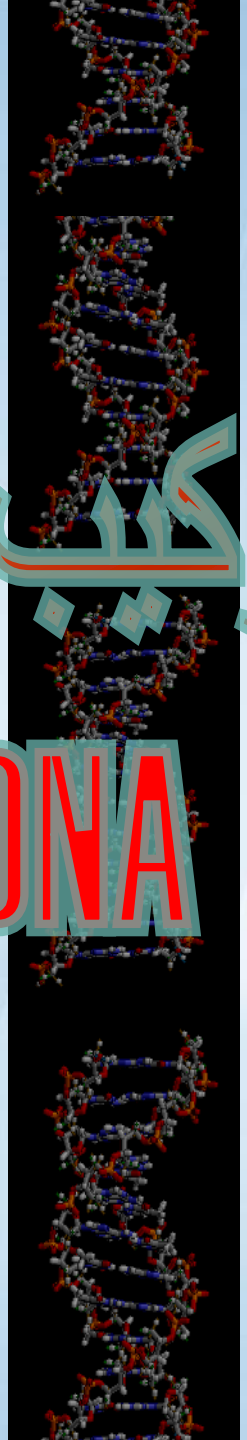


Copyright © 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.



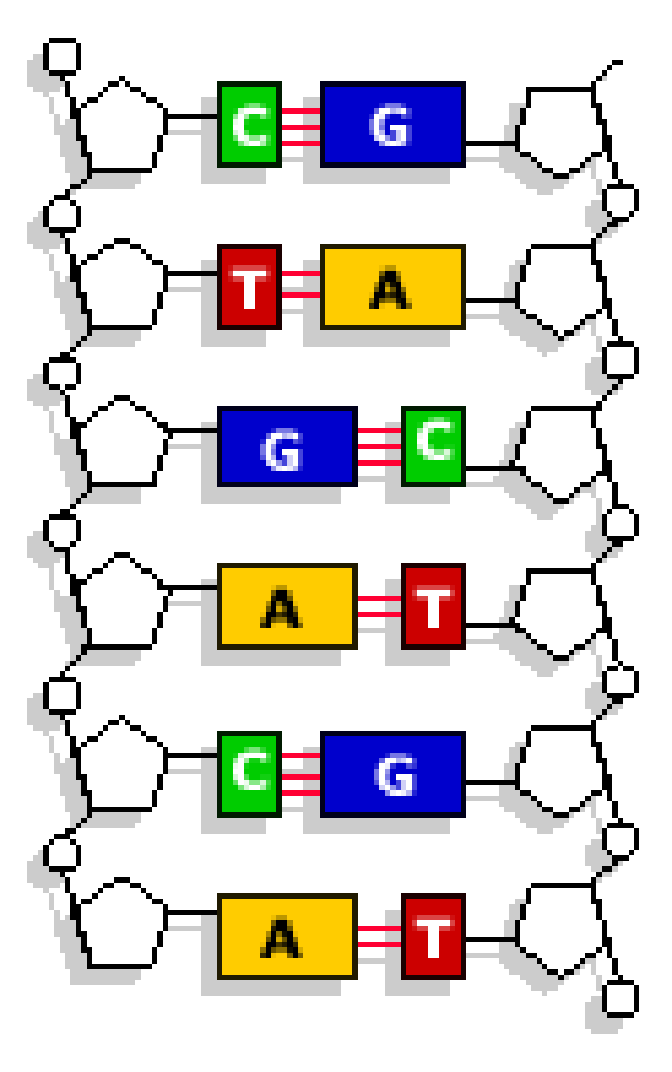
التركيب الكيميائى

DNA



ترکیب

DNA

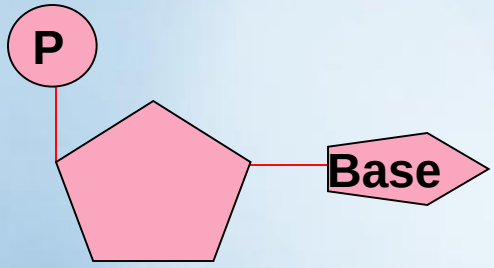


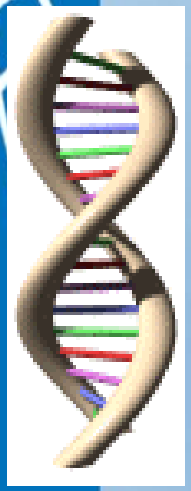
تتكون النيوكليوتيدة من ثلاثة أجزاء هي :

1- سكر خماسي الكربون ديوكسي ريبوز .

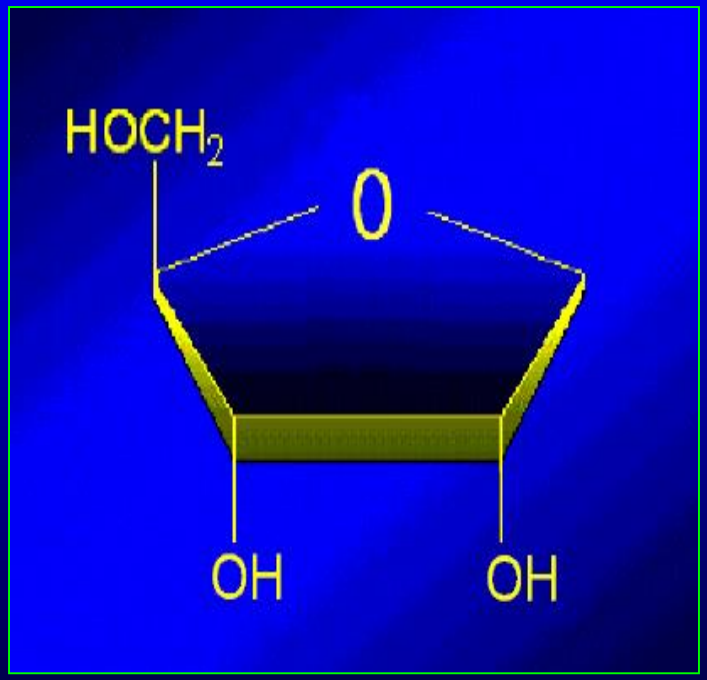
2- مجموعة من الفوسفات

3- قاعدة نيتروجينية



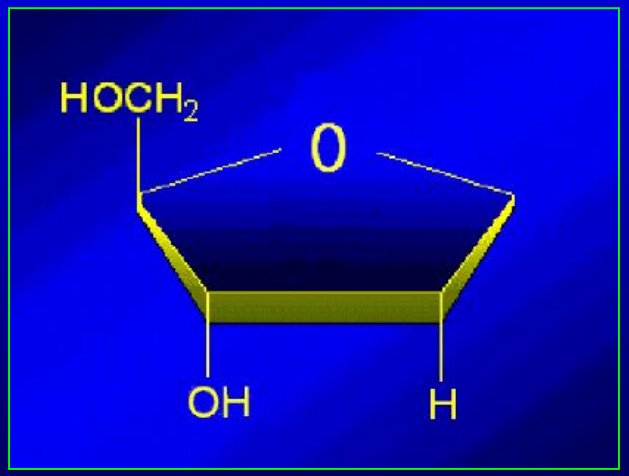


Ribose



the five-carbon sugar
found in RNA.

Deoxyribose



the five-carbon sugar
found in DNA.

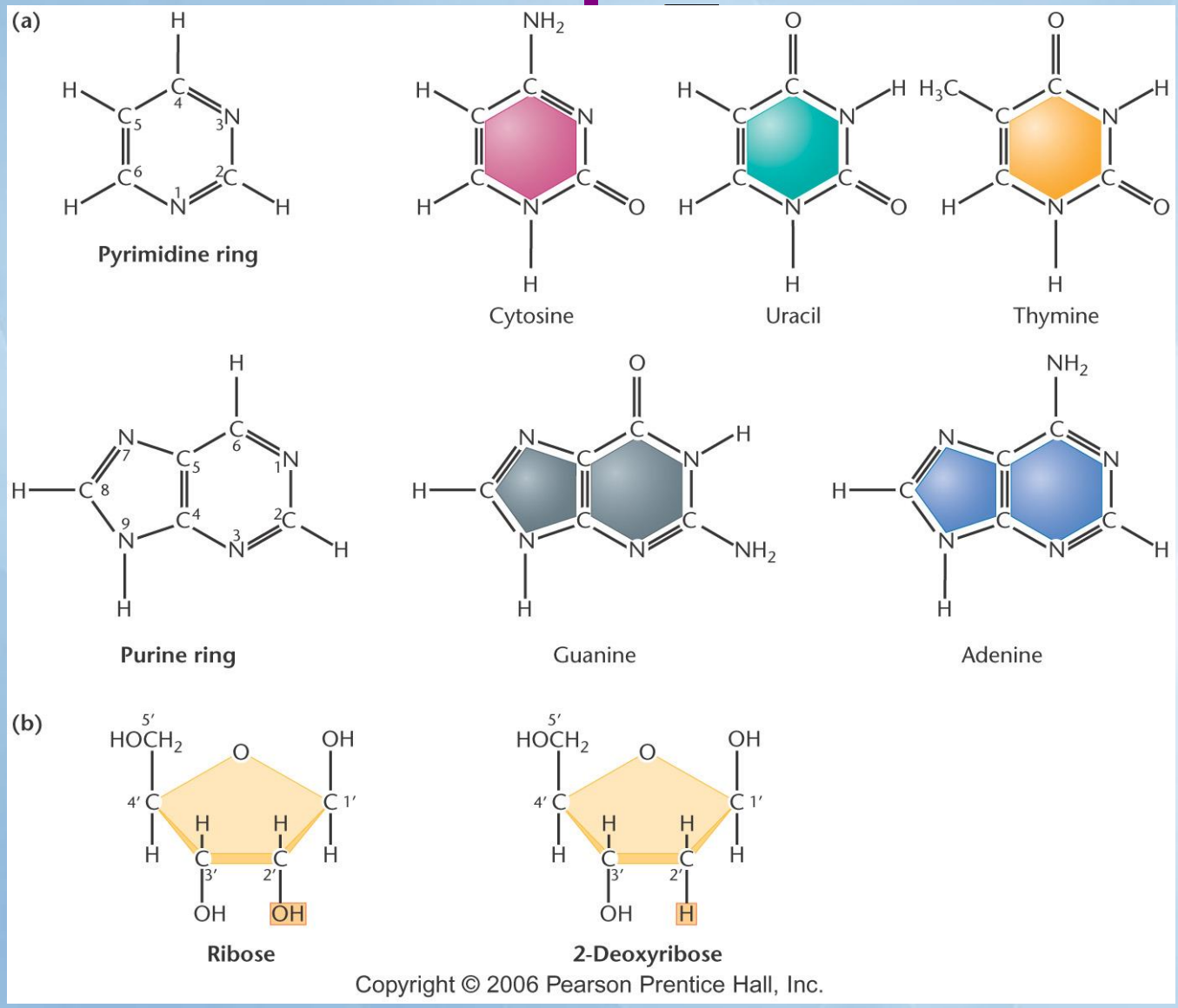
ribose

deoxyribose

ما هو الاختلاف

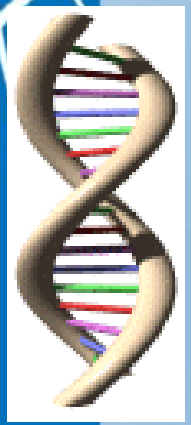
القواعد النيتروجينية :

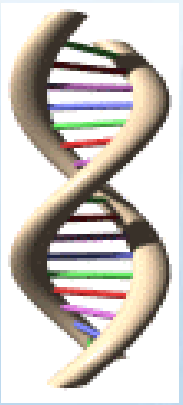
البيورينات & البيريميدينات

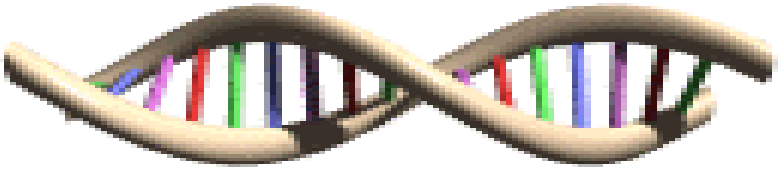


بيريميدينات

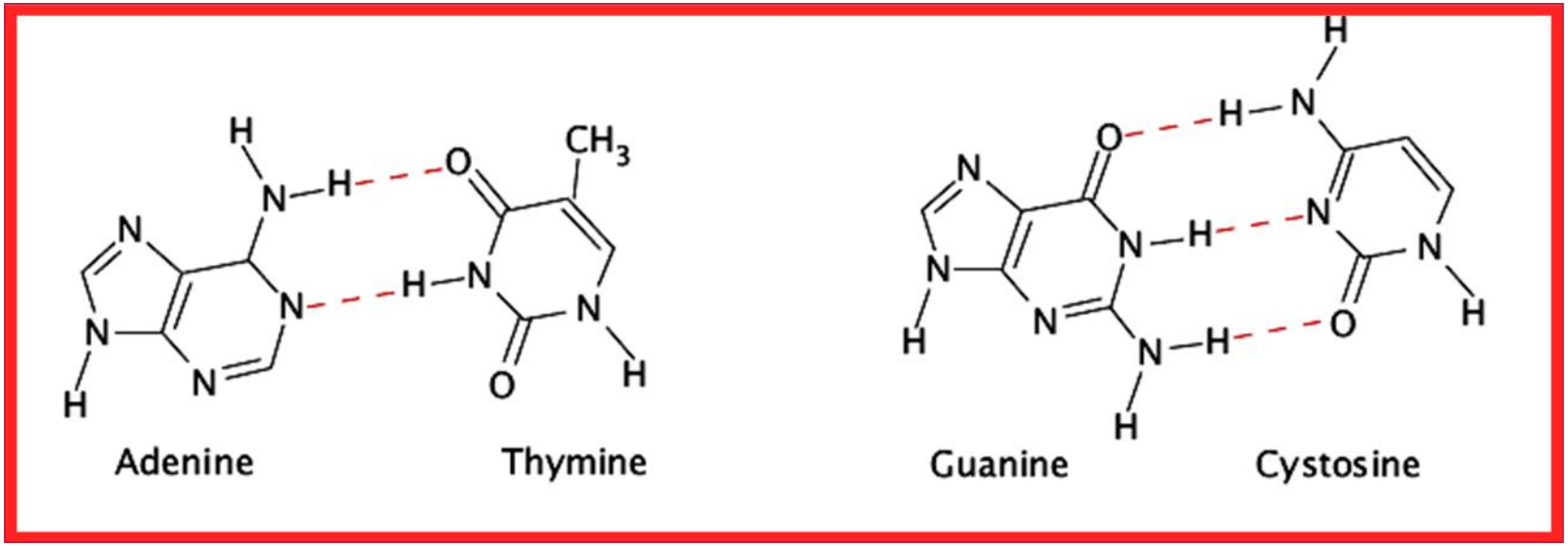
بيورينات

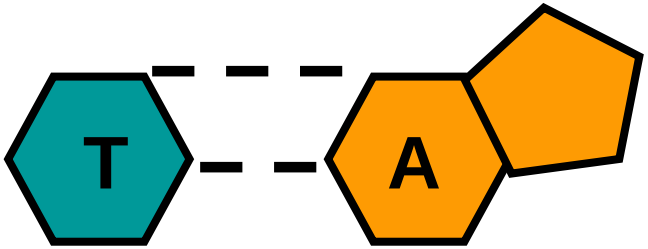


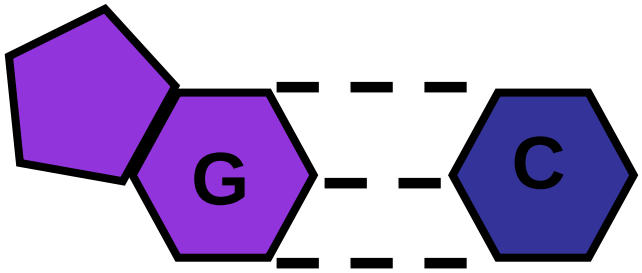




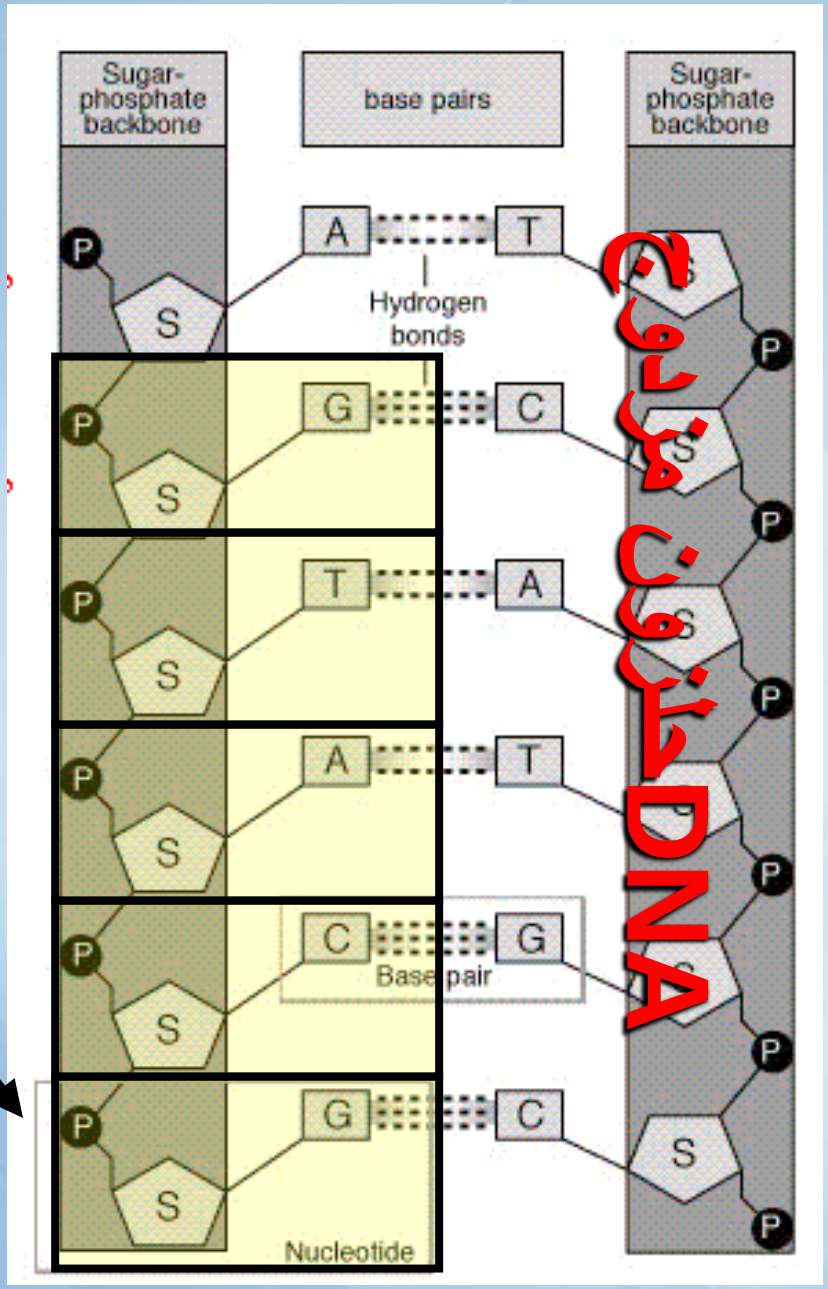
ارتباط القواعد



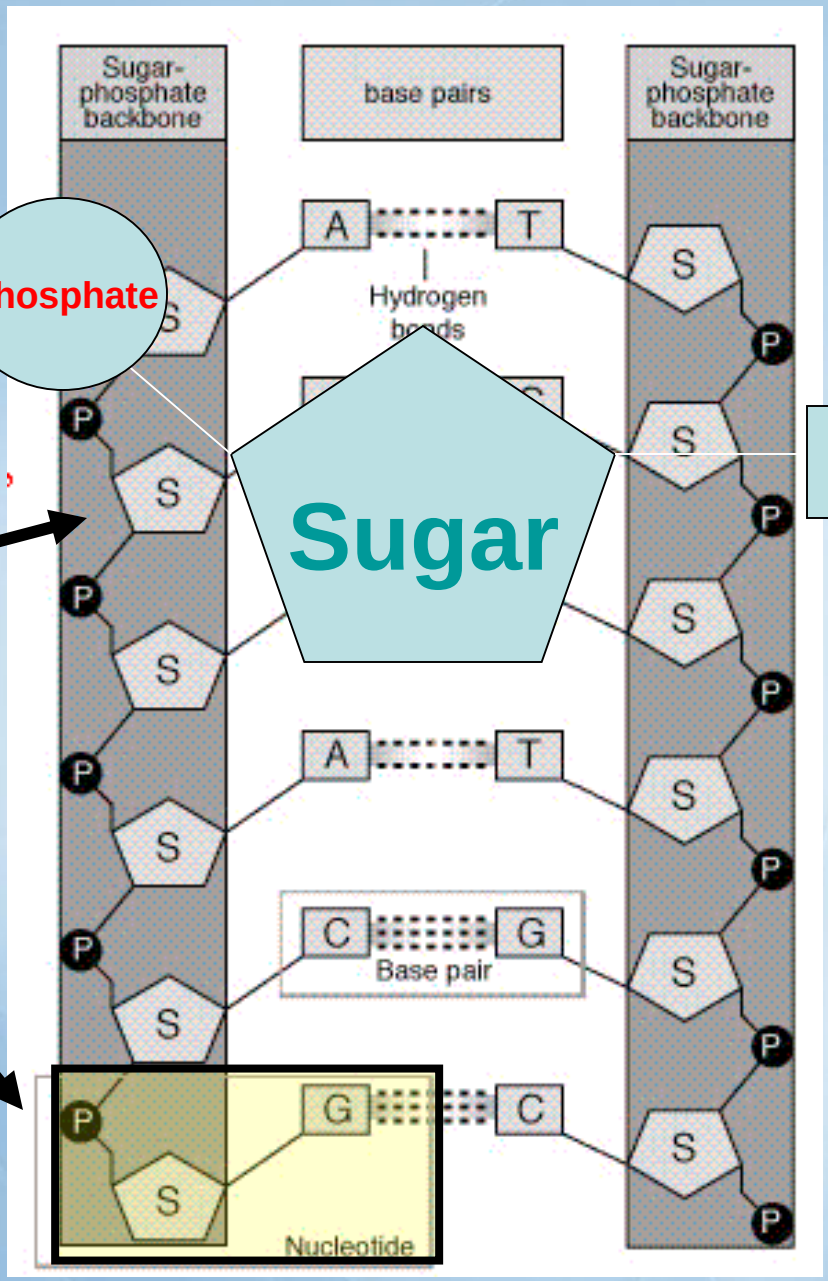




Nucleotide



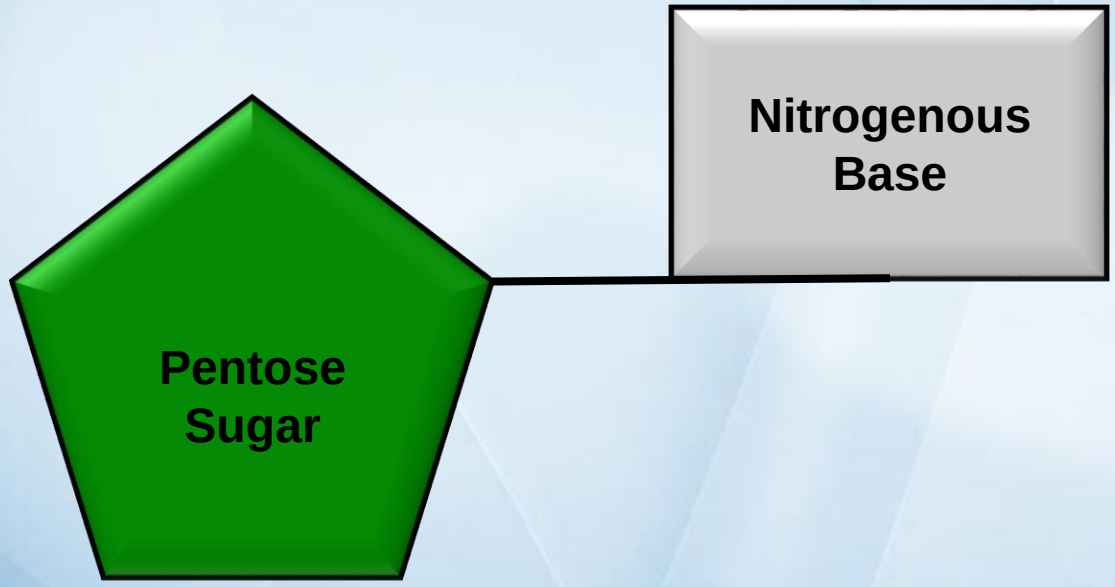
Sugar-phosphate backbone
base pairs
Sugar-phosphate backbone
Hydrogen bonds
Base pair
Nucleotide
DNA حلزون مزدوج



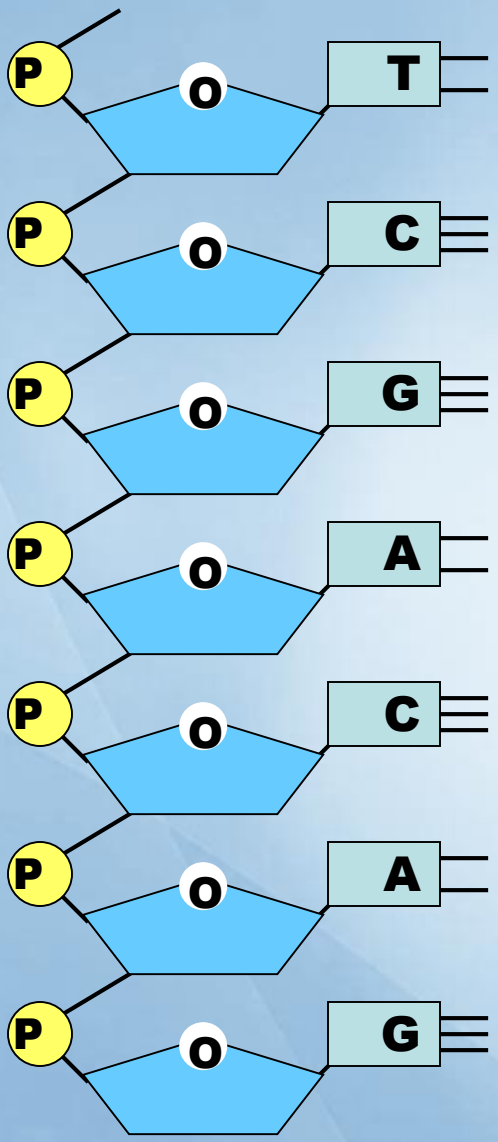
Sugar-phosphate backbone
base pairs
Sugar-phosphate backbone
A
T
Hydrogen bonds
Phosphate
Sugar
Base
Nucleotide
النيوكليوتيدة
A
T
C
G
Base pair
G
C
Nucleotide

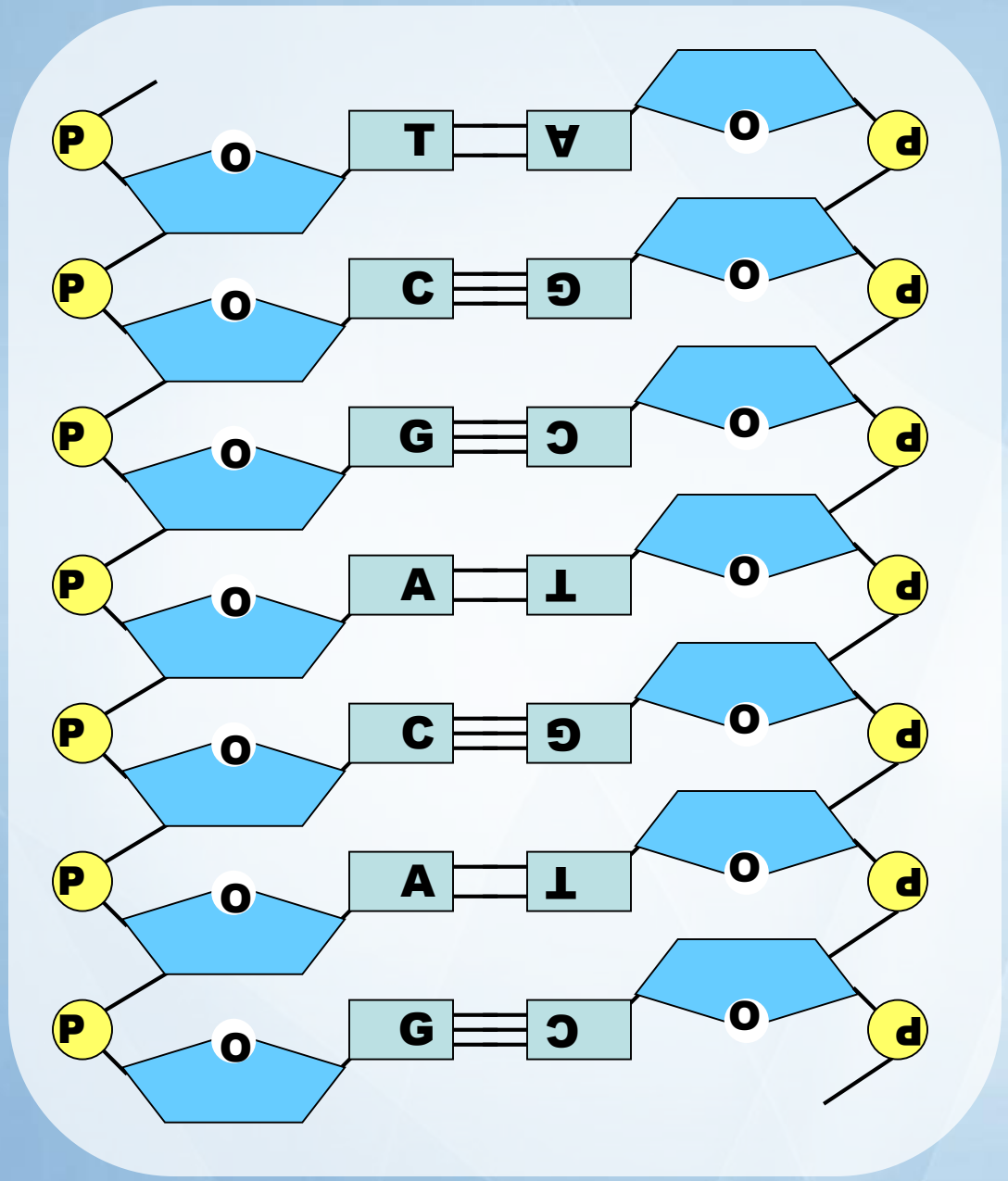
Nucleosides

النيوكليوسيدة



تركيب DNA

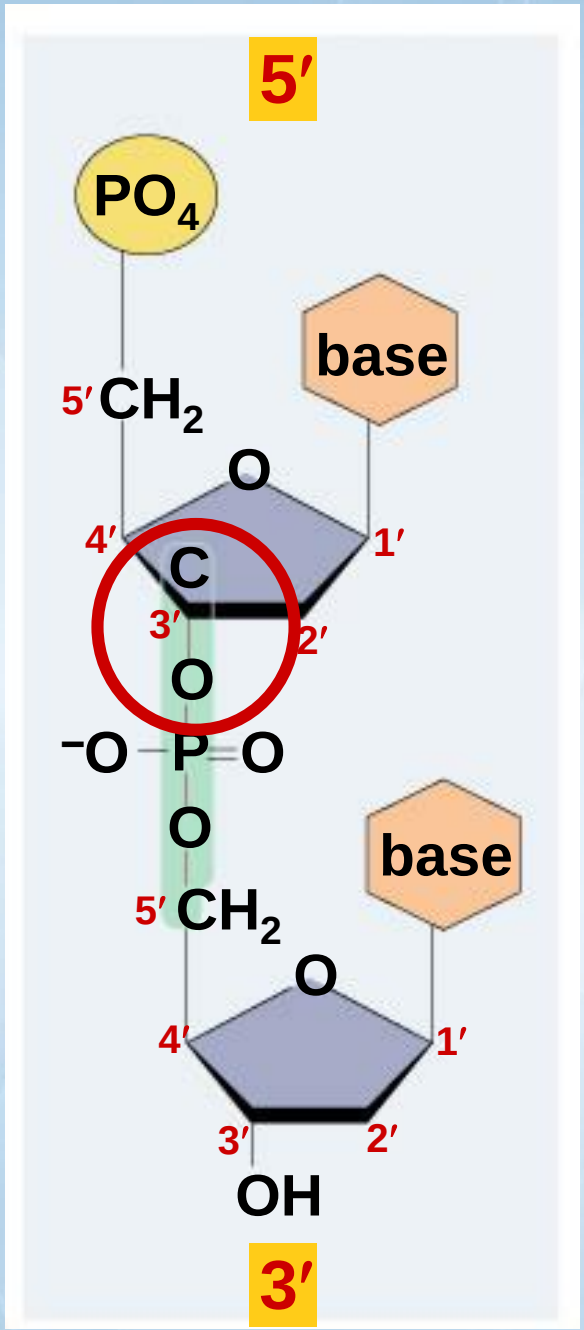




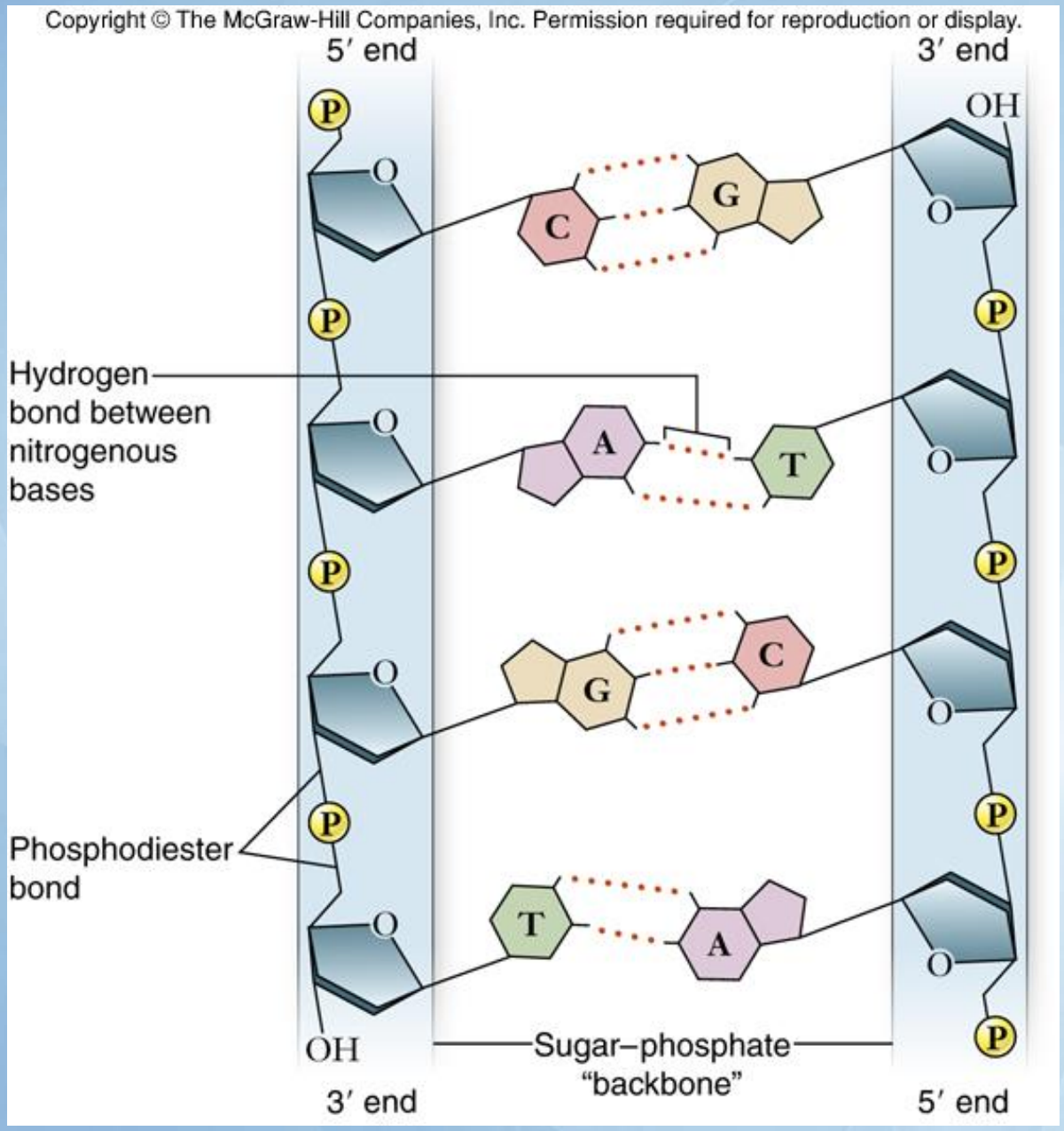
ارتباط النيوكليوتيدات لتكوين DNA

The DNA backbone

- Putting the DNA backbone together
  - refer to the 3′ and 5′ – ends of the DNA
    - the last trailing carbon

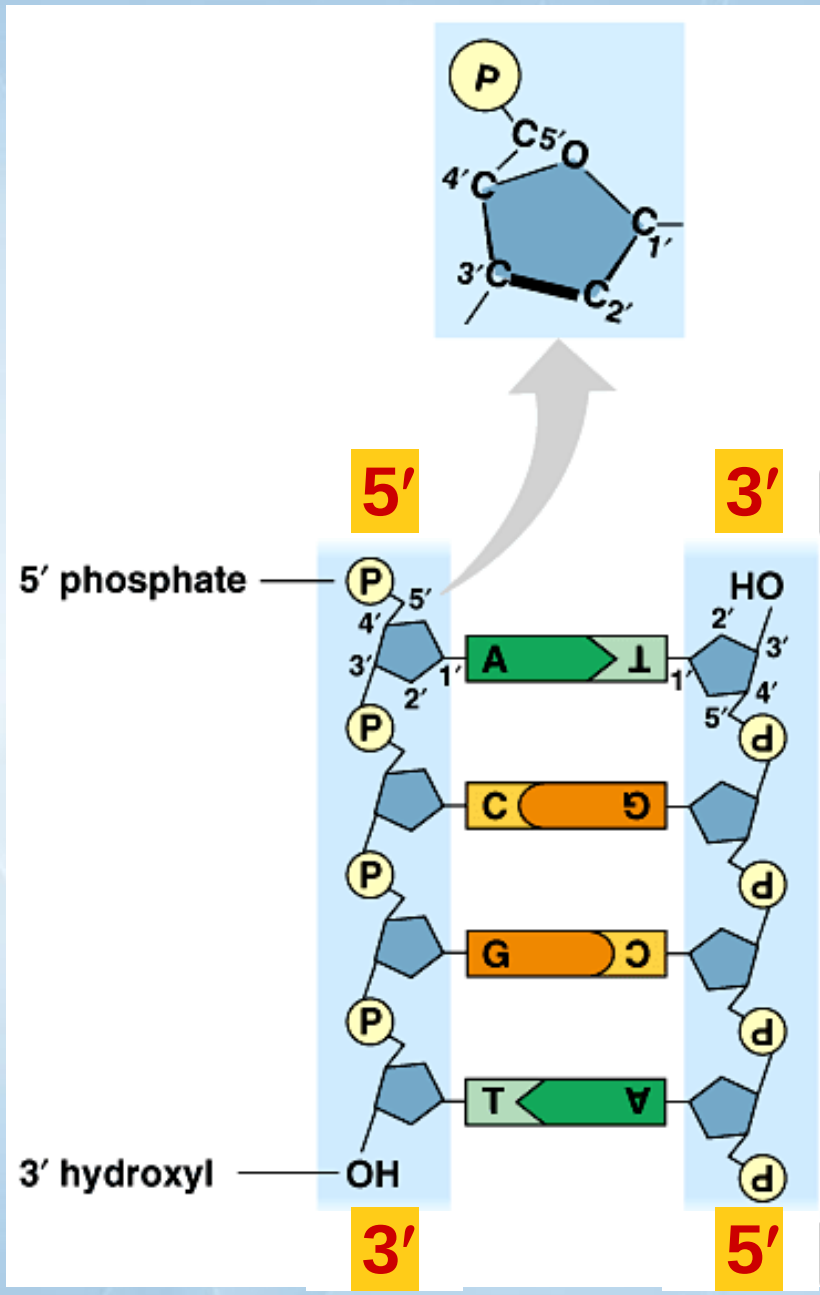


Assiut University Biotechnology Lab Genetics Department



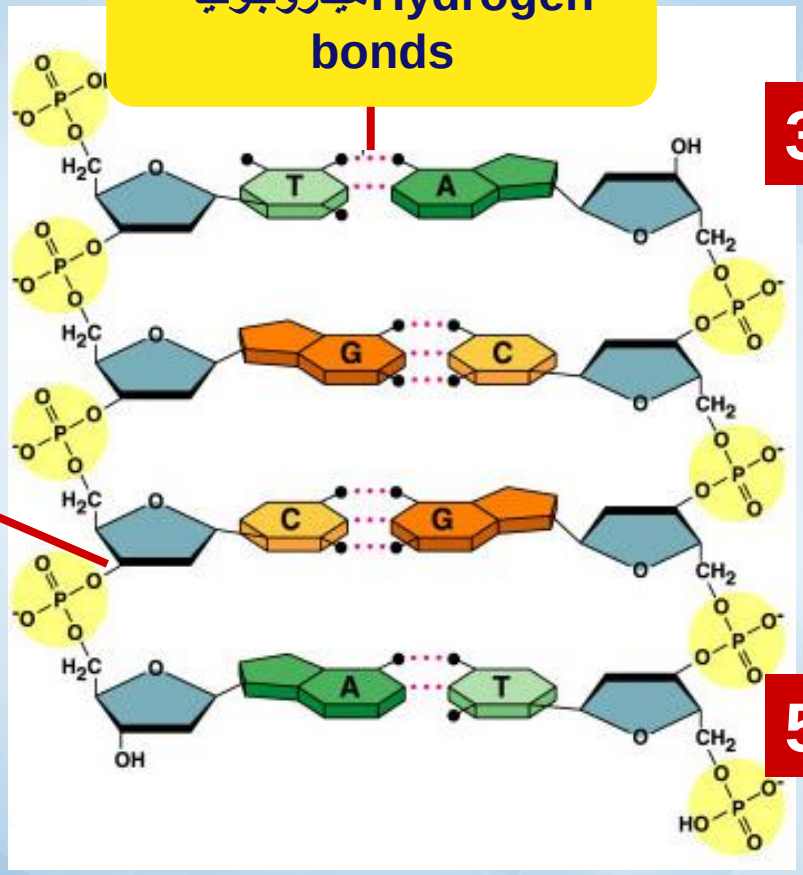
Anti-parallel strands

- Nucleotides in DNA backbone are bonded from phosphate to sugar between 3′ & 5′ carbons
- DNA molecule has “direction” – complementary strand runs – in opposite direction



الروابط فى DNA

هيدروجونية Hydrogen bonds

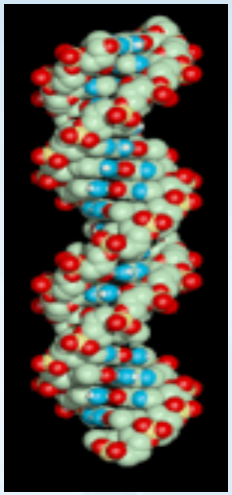


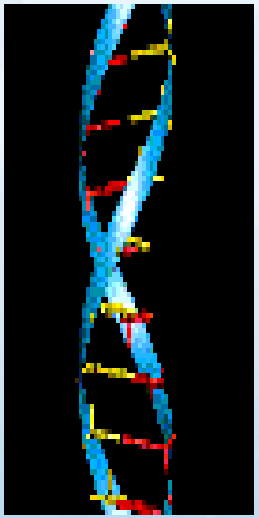
covalent phosphodiester Bonds

فوسفودايستر

DNA Replication

تضاعف الDNA-





DNA Replication

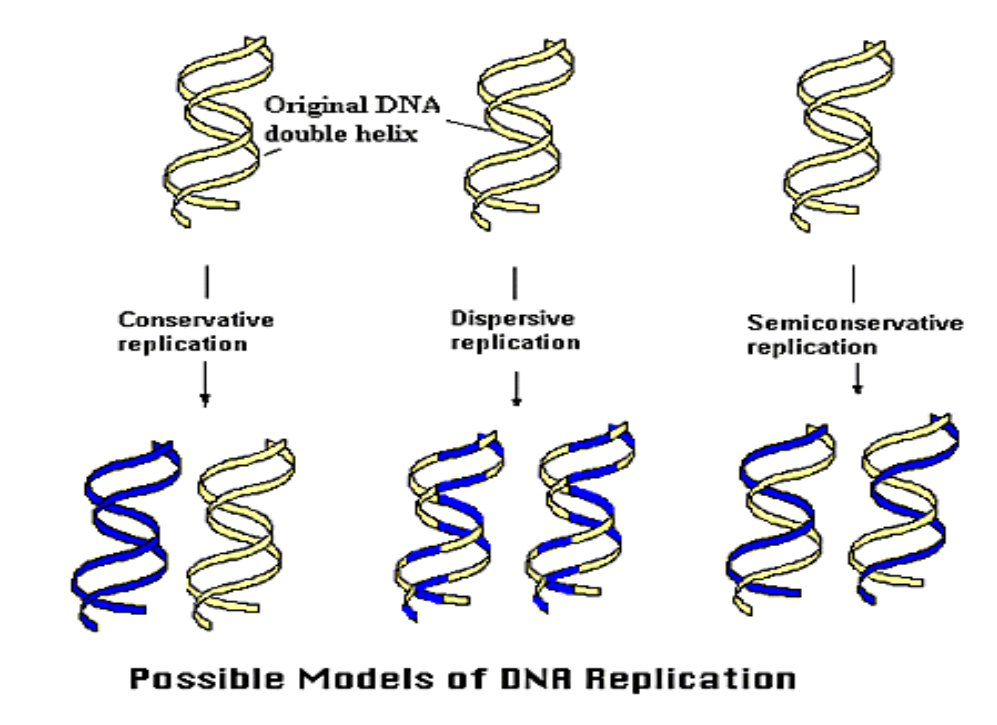
تضاعف DNA

يتم بثلاثة طرق هى :

1- الطريقة الشبه محافظة

2- الطريقة المحافظة

3- الطريقة التشتتية



Possible Models of DNA Replication

الطريقة الشبة محافظة لتضاعف المادة الوراثية

Semiconservative Replication of DNA

في هذه الطريقة تتكسر الروابط الهيدروجينيه لكل زوج من القواعد النيتروجينية فينفصل الخيطان المكونان للحلزون المزدوج.

وكل خيط في هذه الحاله يعمل كقالب لبناء خيط جديد وبالتالي بعد اتمام عمليةالنسخ يكون الناتج تكون سلسلتين جديدتين من DNAيكون في كل منها شريط اصلي من الأب و شريط جديد .

الطريقة المحافظة لتضاعف المادة الوراثية

Conservative Replication of DNA

الحلزون الابوى المزدوج يعمل كقالب لتكوين خيطين جديدين وبعد عملية التضاعف تنضم السلسلتين الجديدتين معاً في حلزون جديد تماماً بينما تتجاذب السلسلتين الابويتين معاً لتكون الحلزون الاصلي لذلك سميت بالطريقة المحافظة لانها تحافظ على الحلزون الاصلي.

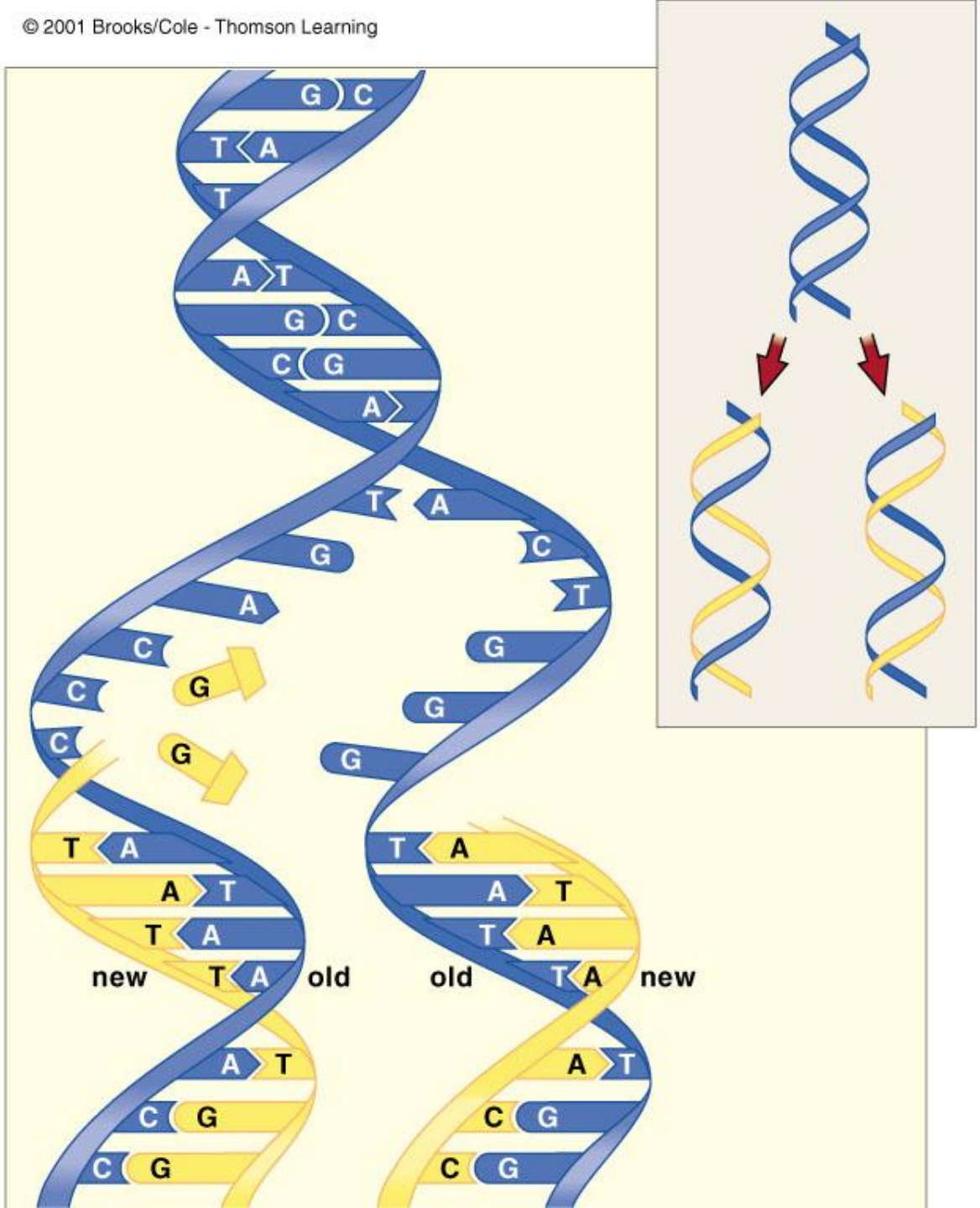
الطريقة التشتتية لتضاعف المادة الوراثية

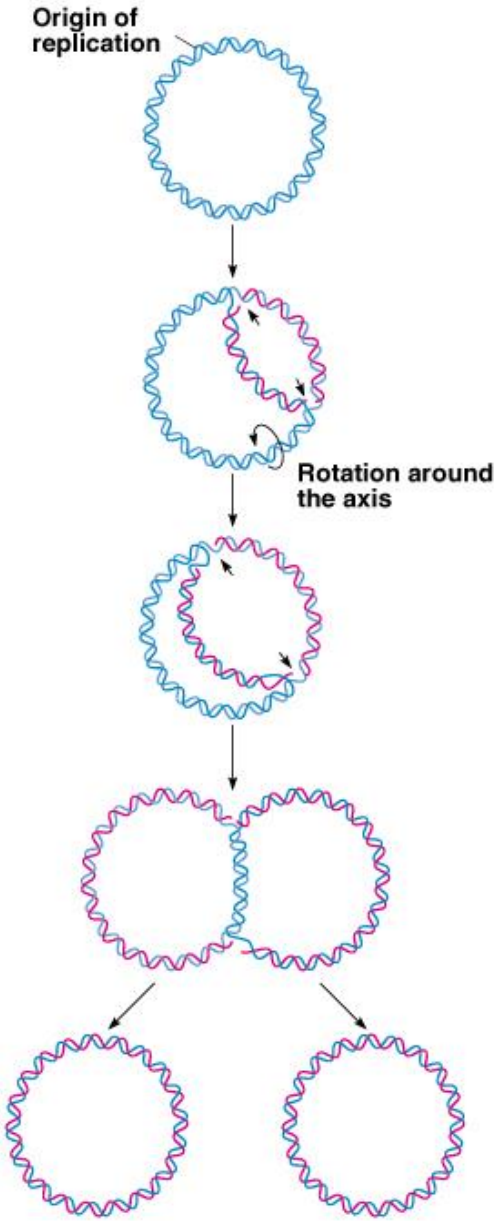
Dispersive Replication of DNA

في هذه الطريقه تتوزع السلسلتان الابويتان بين حلزونين جديدين بعد تمام عملية النسخ وبالتالي تكون كل سلسلة مكونة من اجزاء من DNA الابوي واخرى من DNA الجديد .

ولذلك سميت هذه الطريقة بالطريقة التشتتية.

© 2001 Brooks/Cole - Thomson Learning





Replication of circular DNA in *E. coli* (3.10):

1. **Two replication forks result in a theta-like (θ) structure.**
2. **As strands separate, positive supercoils form elsewhere in the molecule.**
3. **Topoisomerases relieve tensions in the supercoils, allowing the DNA to continue to separate.**

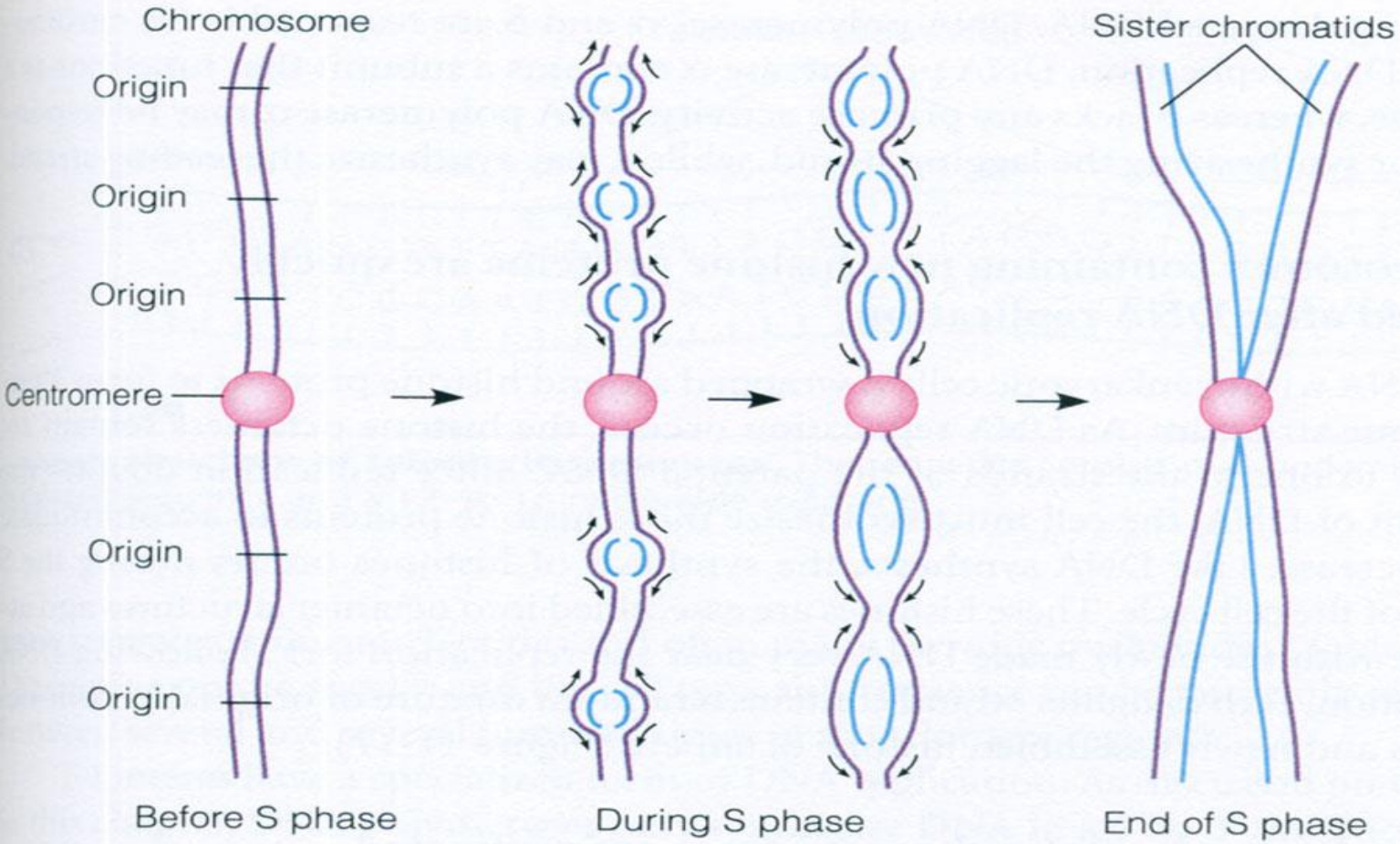
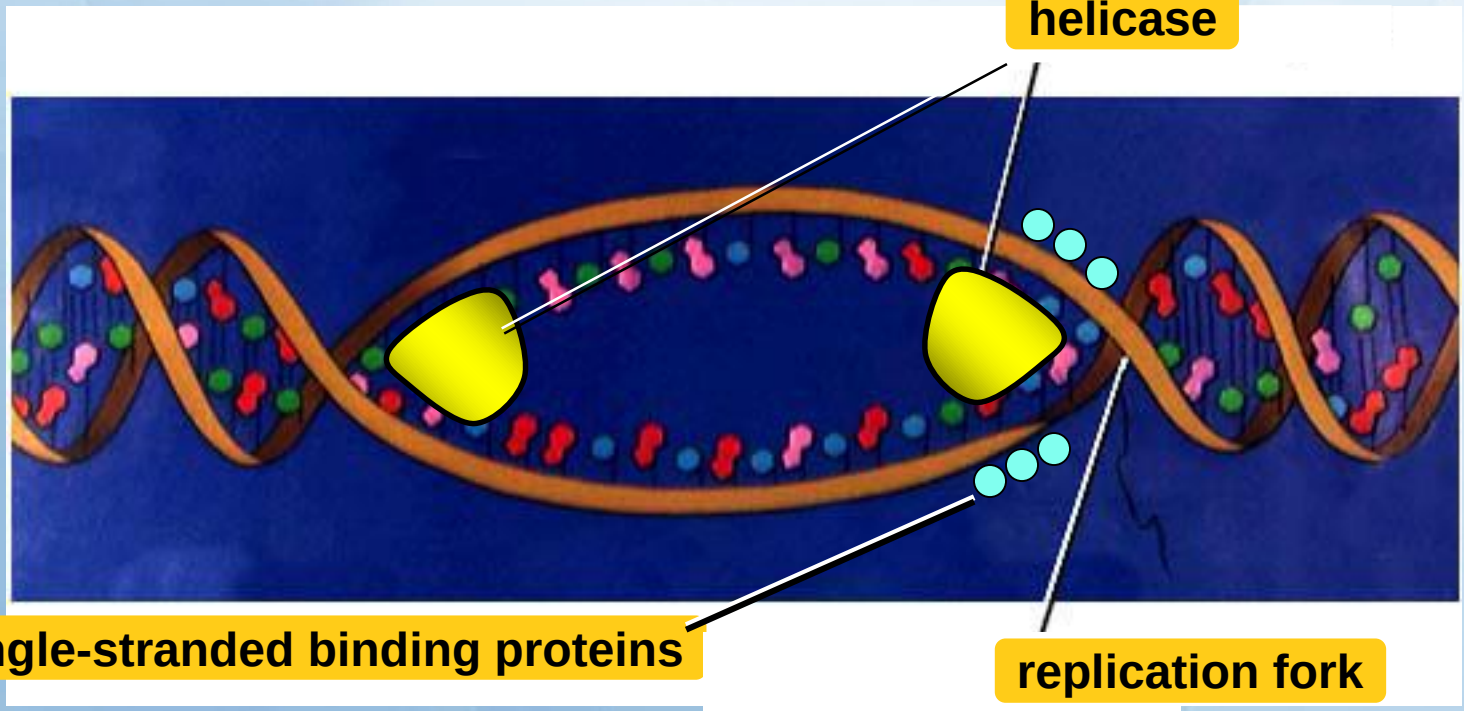


FIGURE **11-16**

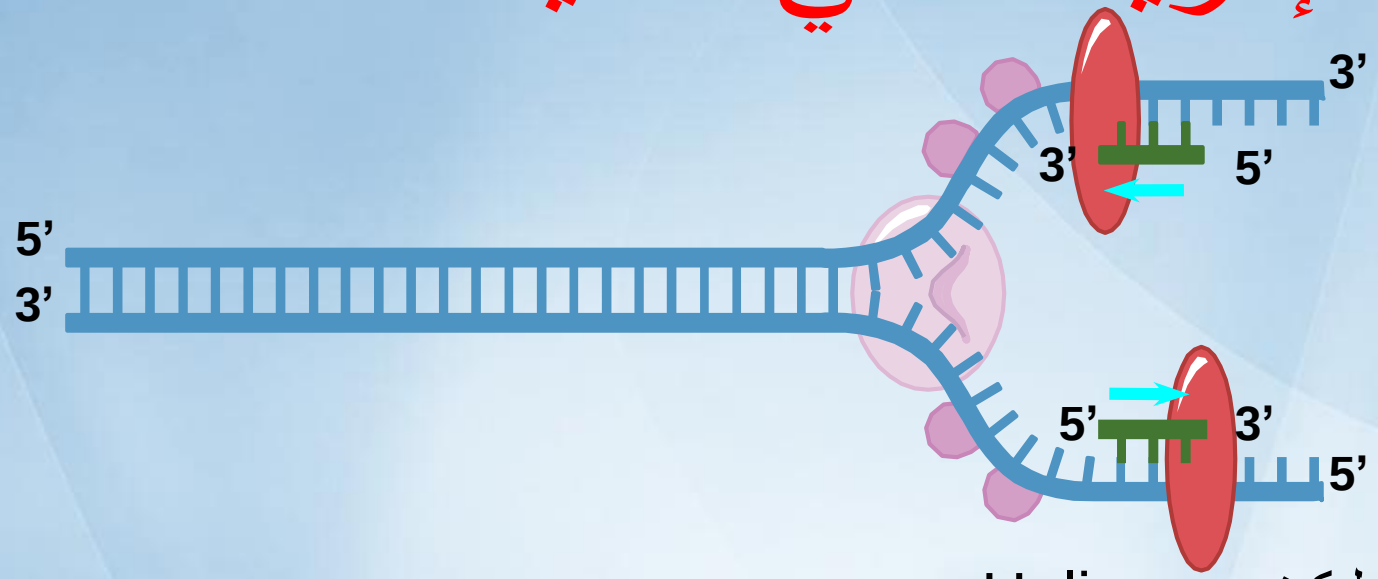
The replication of eukaryotic chromosomes. At the beginning of the S phase of the cell cycle, eukaryotic chromosome replication begins from multiple origins of replication. As the S phase continues, the replication forks move bidirectionally to replicate the DNA. By the end of the S phase, all the replication forks have merged. The net result is two sister chromatids that are attached to each other at the centromere.

Replication: 1st step

- Unwind DNA
  - helicase enzyme –
    - unwinds part of DNA helix
    - stabilized by single-stranded binding proteins



دور الإنزيمات في عملية التضاعف



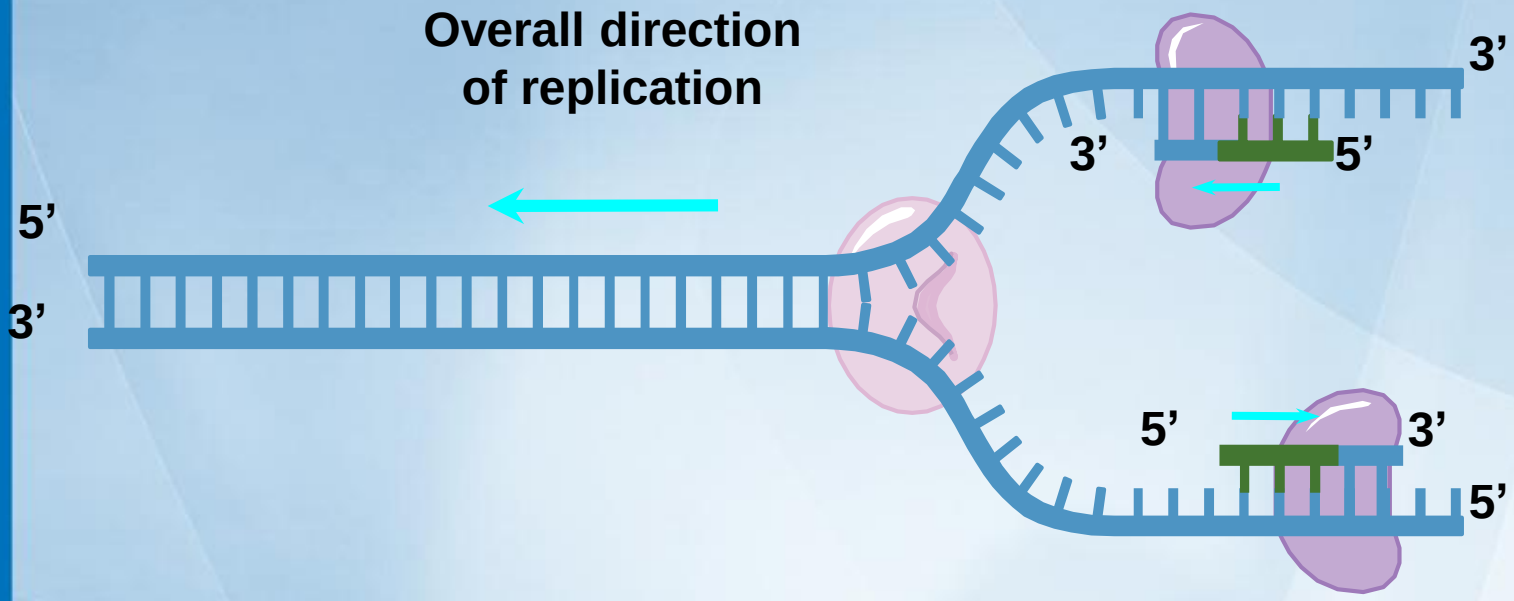
1- انزيم الهليكيز: Helicase

يقوم بتحطم الروابط الهيدروجينيه التي تربط ازواج القواعد النيتروجينية فى خيطى DNA

2- SSB protein يعمل على المحافظة على وجود خيطىDNA فى صورة مفردة

3- انزيم Primase هو المسؤل عن تصنيع البادئ RNA primer

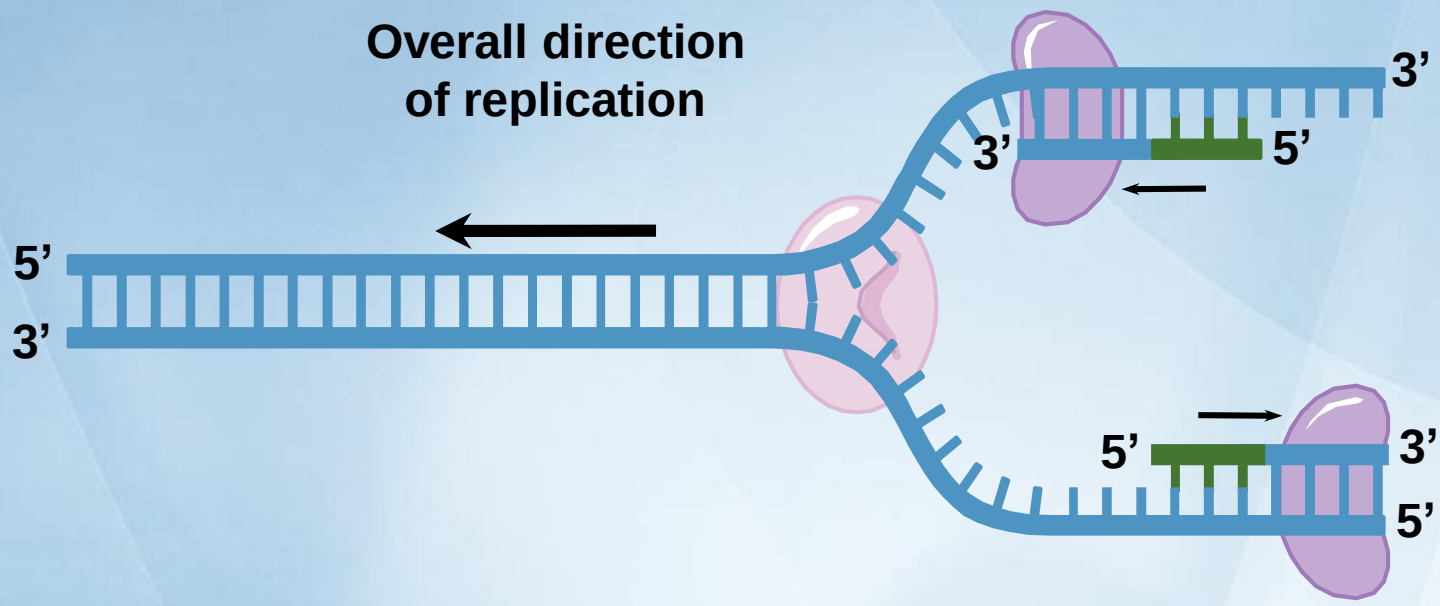
Replication



4- DNA polymerase III

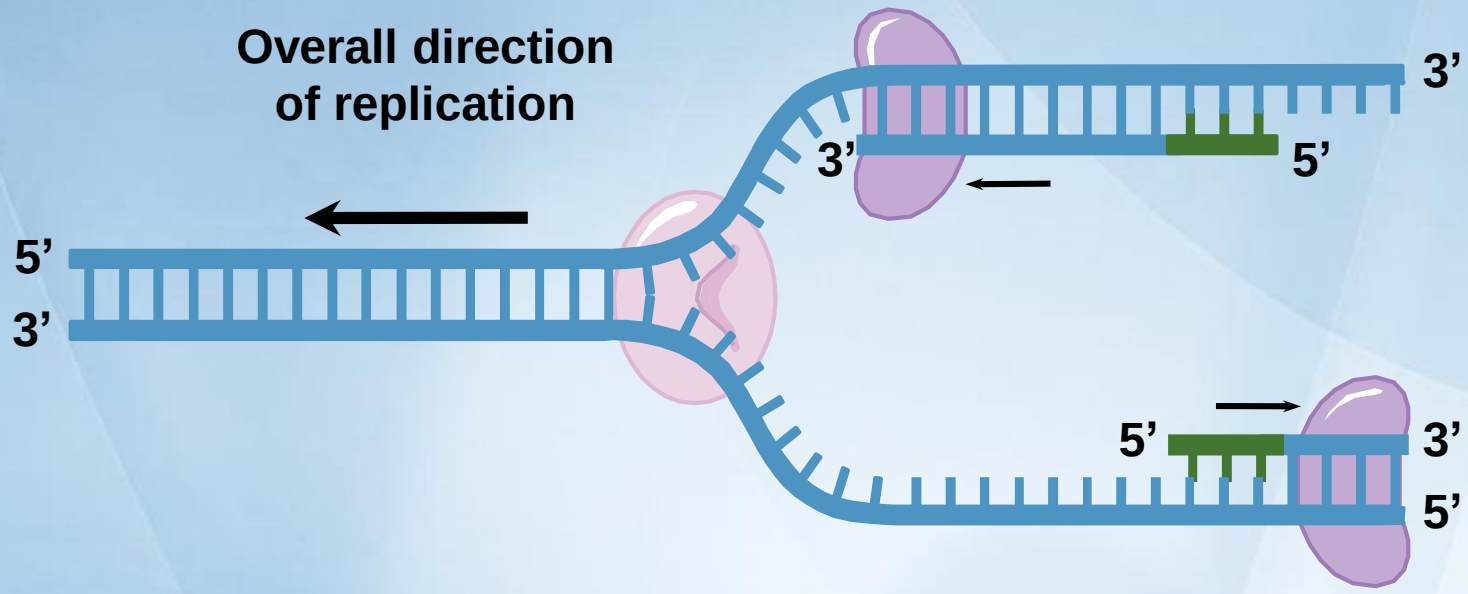
هذا الانزيم الرئيسي والمسئول عن بلمرة جزئ DNAاي بناء السلاسل الجديدة و هناك شرطين لكى يعمل هذا الانزيم: 1- وجود البادئ 2- لايعمل الا فى اتجاة 5 الى 3

Replication



حيث يقوم باضافة النيوكليوتيدات الى RNA primer

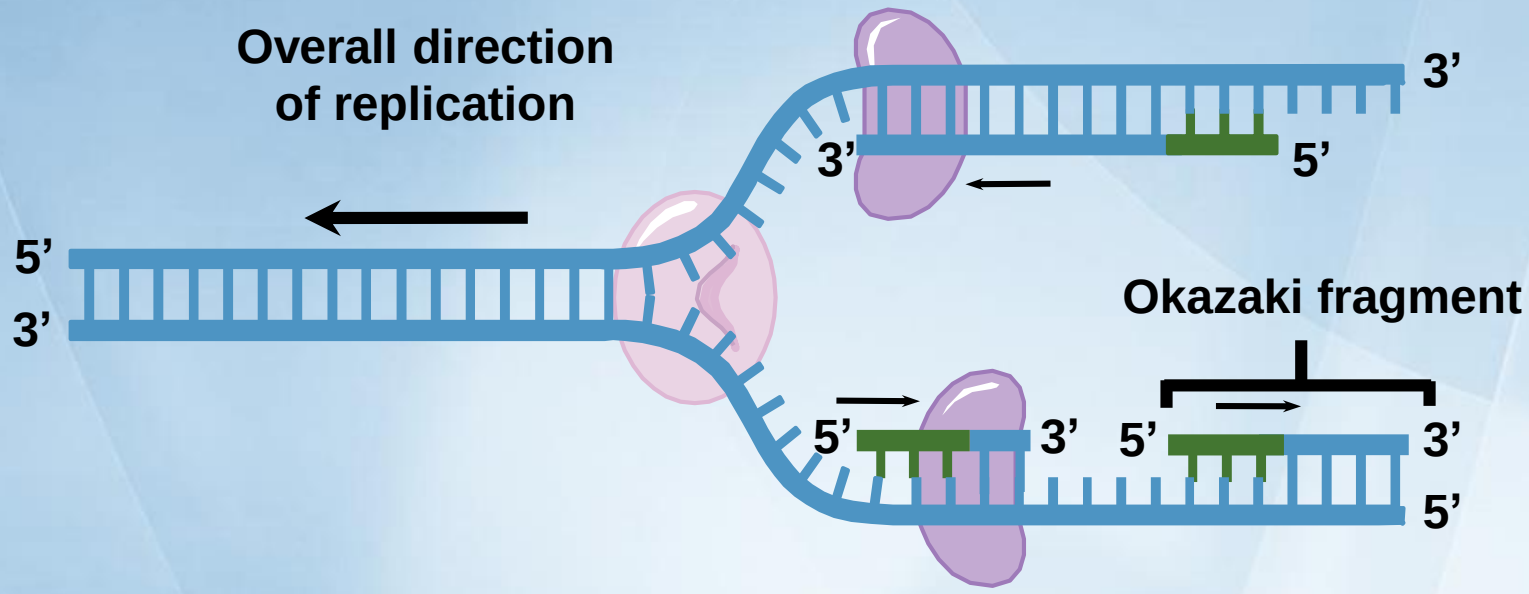
Replication



leading strand الخيط القائد:

يبنى مستمر فى الاتجاة 5’ ←---- 3’

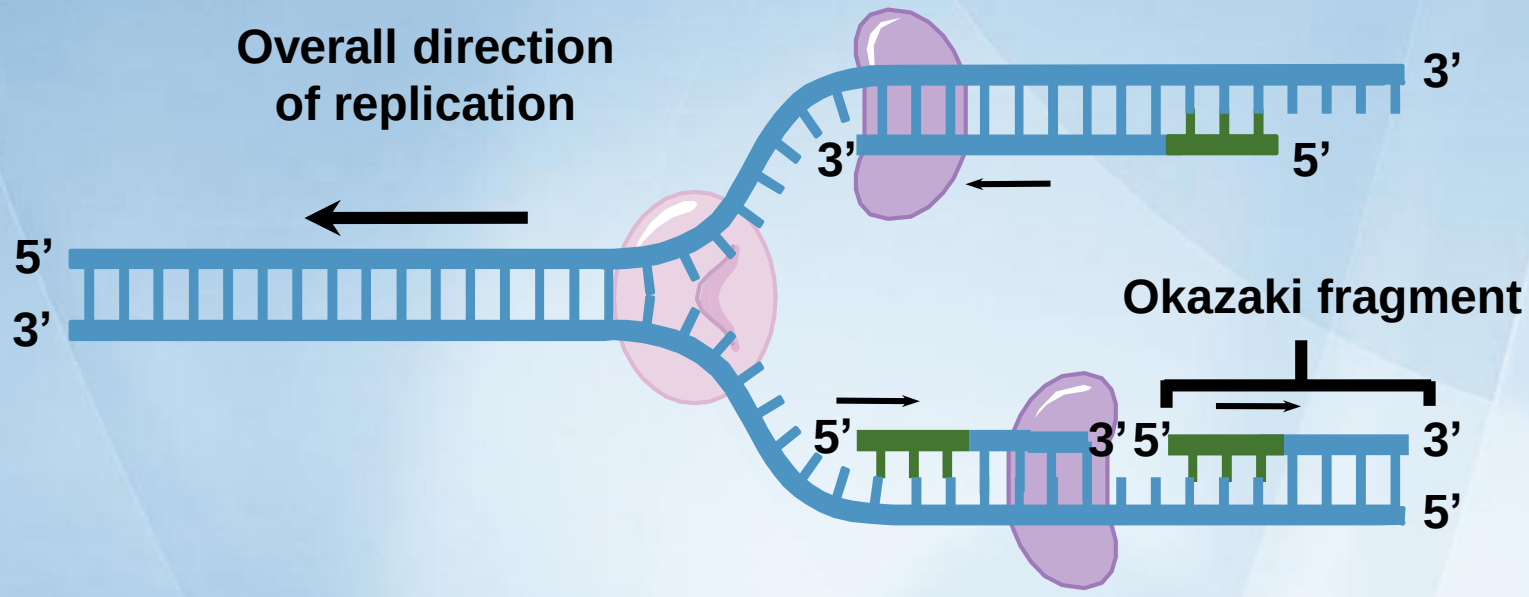
Replication



Leading strand synthesis continues in a 5’ to 3’ direction.

Discontinuous synthesis produces 5’ to 3’ DNA segments called Okazaki fragments.

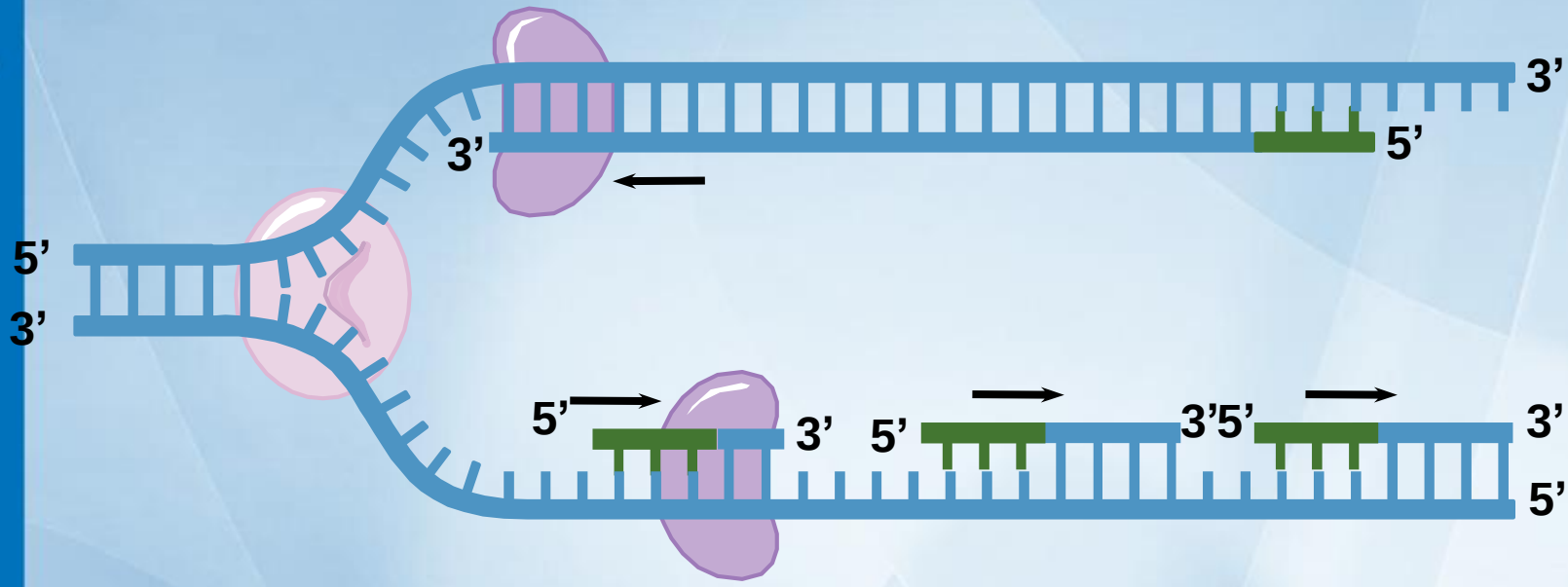
Replication



Leading strand synthesis continues in a 5’ to 3’ direction.

Discontinuous synthesis produces 5’ to 3’ DNA segments called Okazaki fragments.

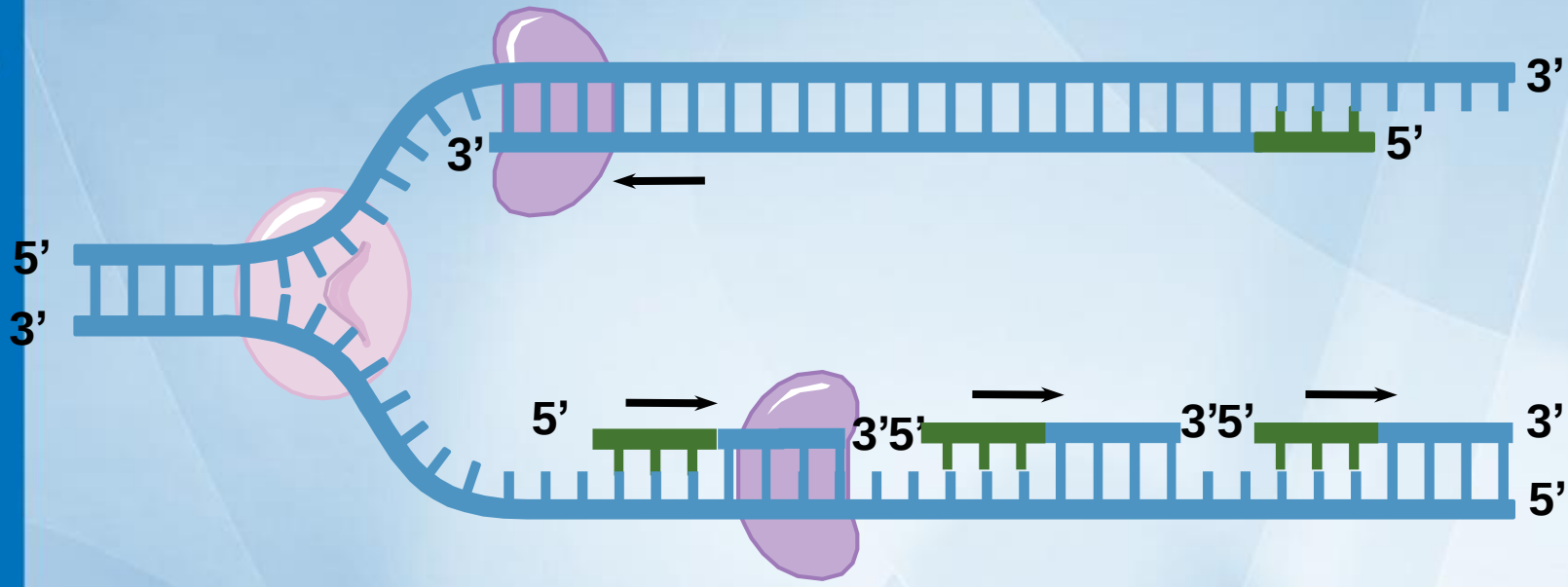
Replication



Leading strand synthesis continues in a 5’ to 3’ direction.

Discontinuous synthesis produces 5’ to 3’ DNA segments called Okazaki fragments.

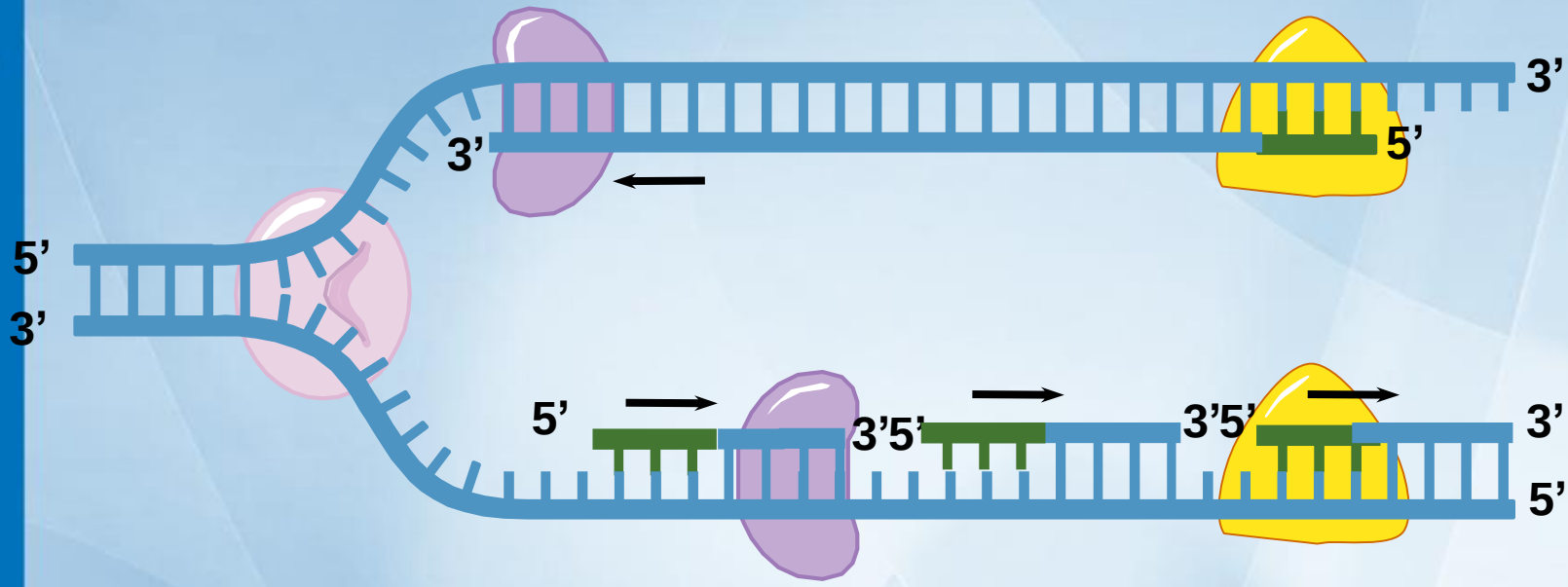
Replication



Leading strand synthesis continues in a 5’ to 3’ direction.

Discontinuous synthesis produces 5’ to 3’ DNA segments called Okazaki fragments.

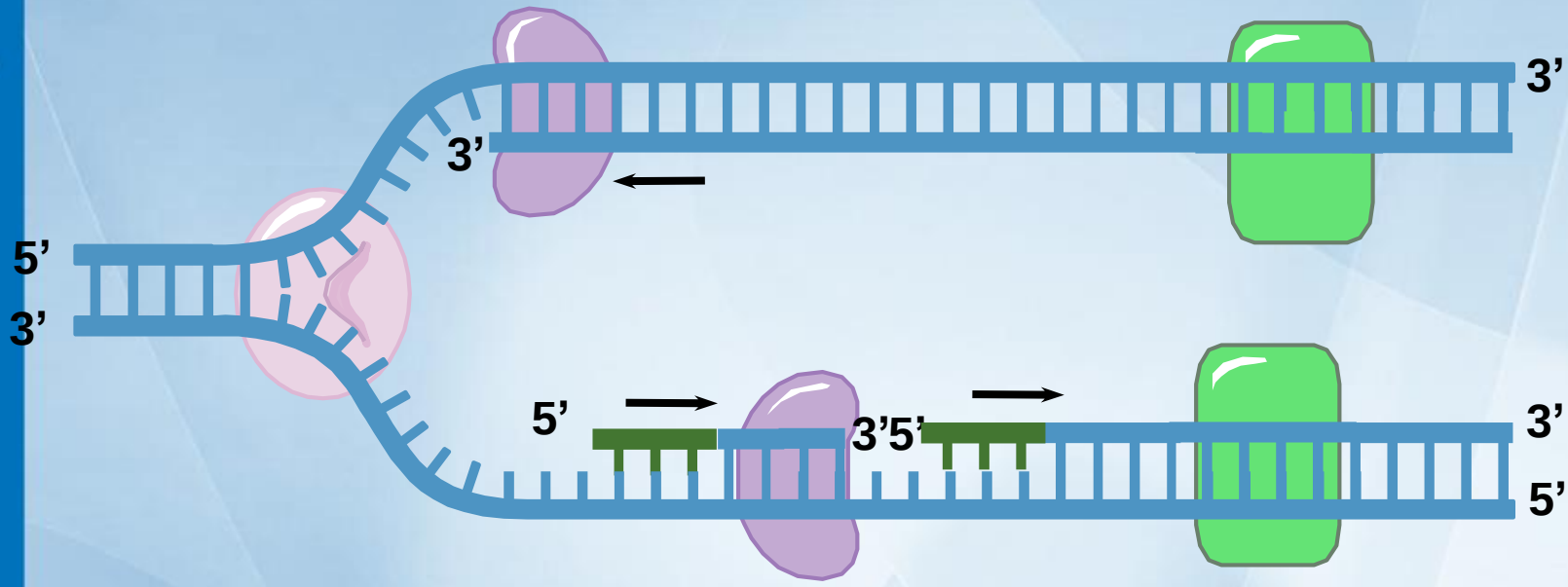
Replication



5- DNA polymerase I

DNA pol 1: المسئول عن ازالة RNA primer ويقوم بملئ الفراغات او الفجوات الصغيرة بين شظايا اوكازاكي التي تتكون على الشريط المتلكئ

Replication



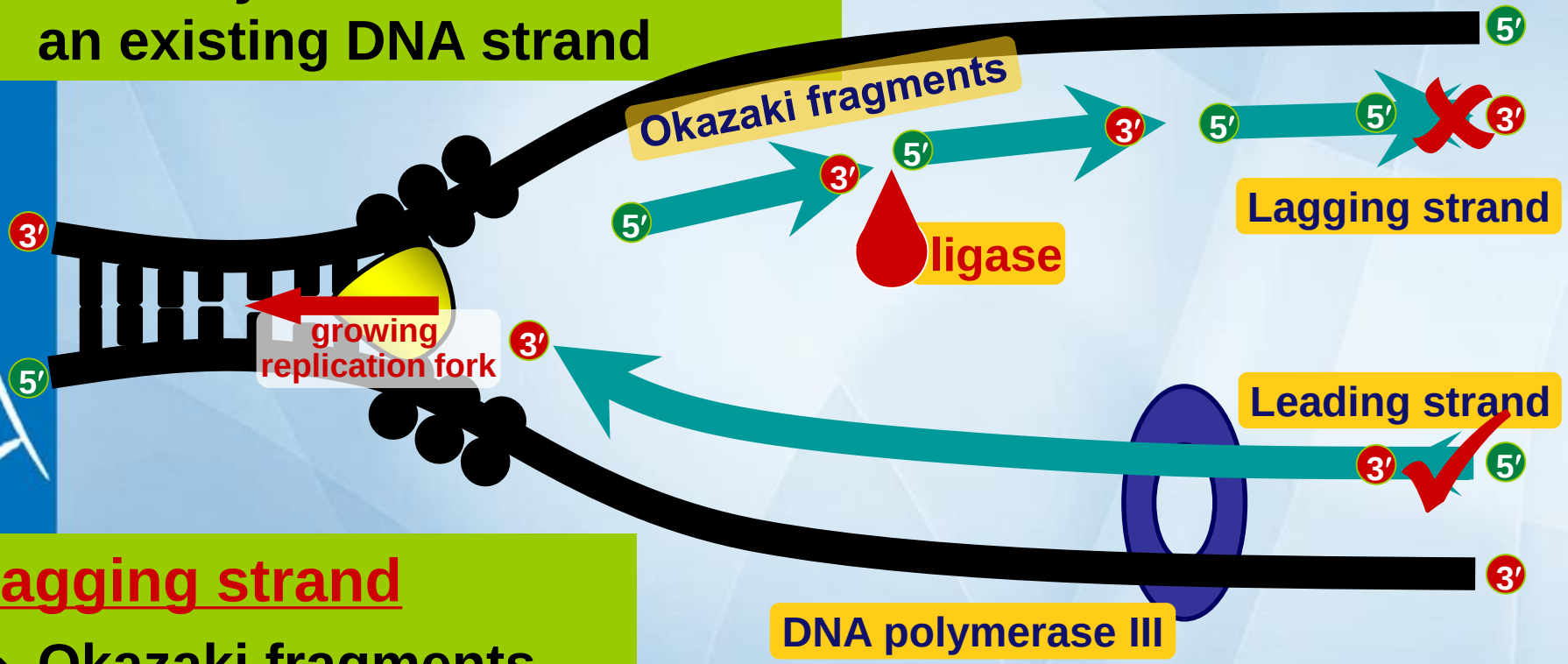
Ligase forms bonds between sugar-phosphate backbone.

DNA pol II:يلعب دور في إصلاح الأخطاء الناجمة عن التلف الذي قد يحدث في جزئ DNA.

Leading & Lagging strand

Limits of DNA polymerase III

- can only build onto 3′ end of an existing DNA strand

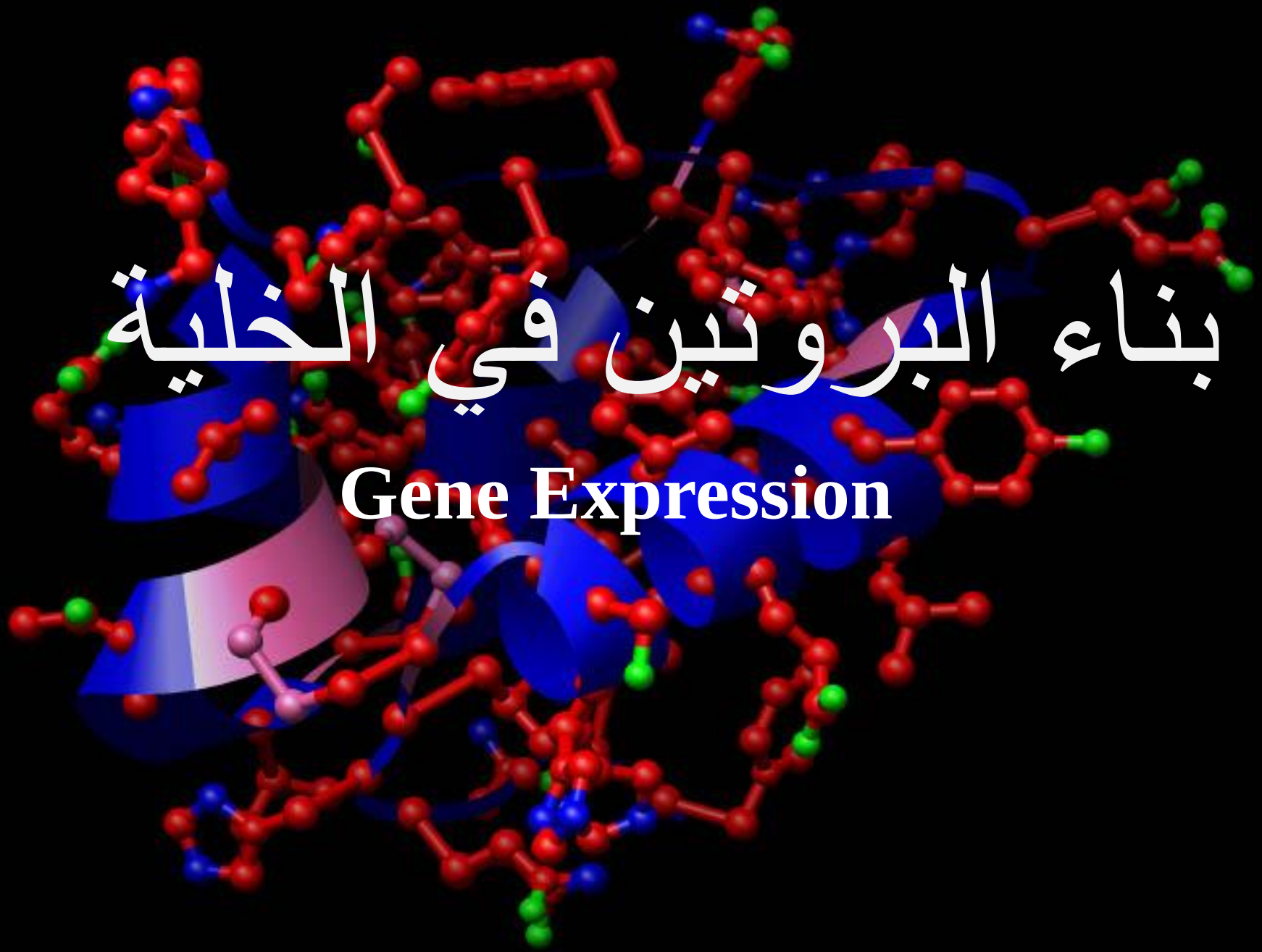


Lagging strand

- Okazaki fragments
- joined by ligase
  - "spot welder" enzyme

Leading strand

- continuous synthesis



بناء البروتين في الخلية

Gene Expression

إن المعلومات الوراثية في DNA الخلية تعبر بـ

- 1- Transcription النسخ: وهذه العلمية تستلزم تكوين جزئ الـ RNA باستخدام DNA كطابع template.

- 2- Translation الترجمة : وهي عبارة عن استخدام المعلومات الوراثية في الـ RNA المتكون، لبناء البروتين.

ب

(T

RNA يسمى

- و RNA Polym
  ب promo
- على طول خيط
  A terminatio
- ف (DN ال
  A

ويطلق على جزئ الـ RNA هذا اسم (m-RNA) messenger RNA.

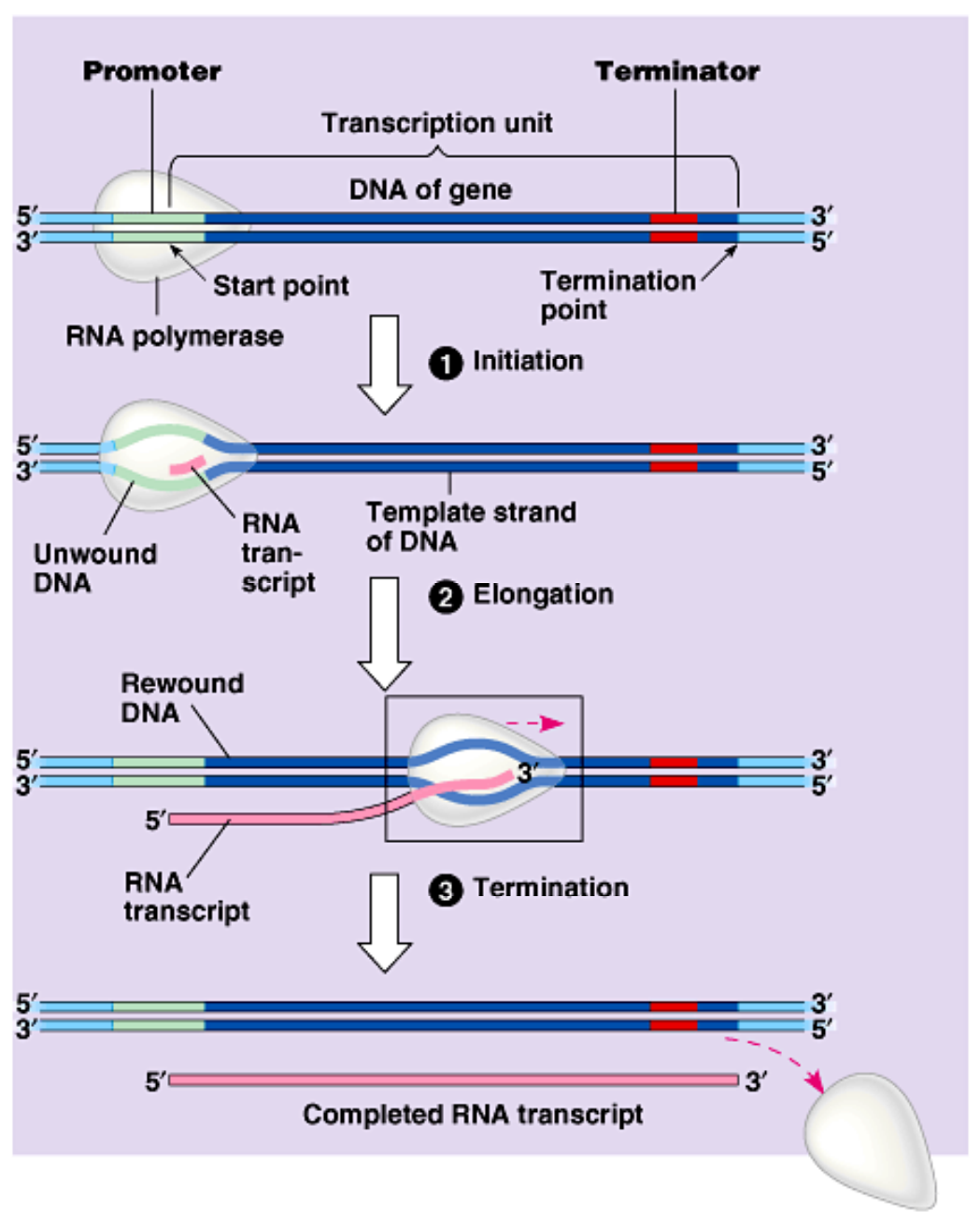
Stages of Transcription

Promoter Binding

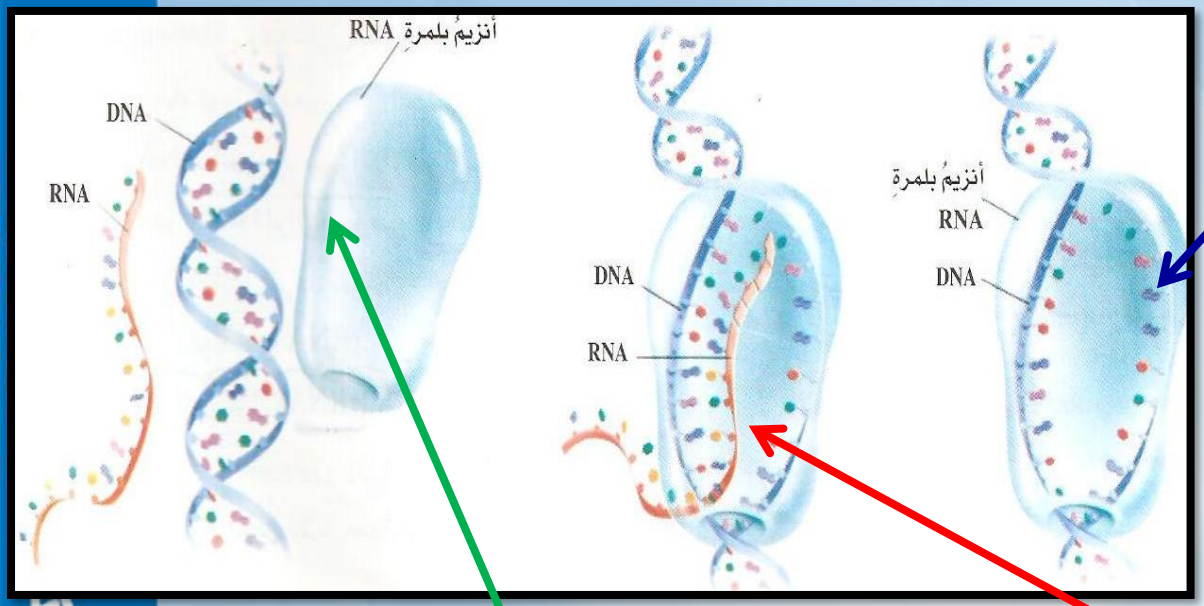
Initiation

Elongation

Termination



النسخ: عملية يتم من خلالها إعادة كتابة التعليمات الوراثية في جين معين لجزيء RNA.
يتم النسخ في أنوية الخلايا حقيقية النواة، و في منطقة السيتوبلازم التي تحتوي على DNA في الخلايا بدائية النواة.



خطوات النسخ

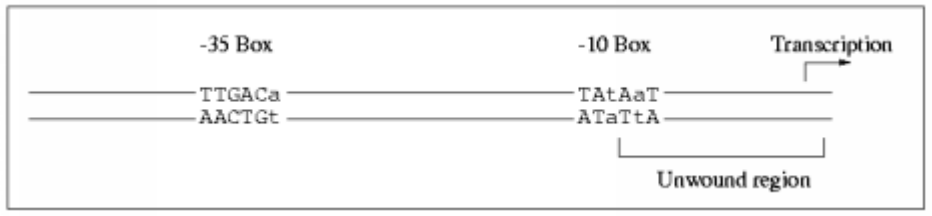
1- يرتبط أنزيم بلمرة RNA في موقع الابتداء promoter .
موقع الابتداء هو تتابع معين من نيوكليوتيدات DNA، حيث يرتبط أنزيم بلمرة RNA
يبدأ النسخ.
ينفك التفاف سلسلتي DNA و تنفصلان.

2- يضيف أنزيم بلمرة RNA نيوكليوتيدات RNA الحرة إلى جانب النيوكليوتيدات الموجودة في إحدى سلستي DNA. السلسلة التي تنتج عن ذلك هي جزيء RNA. و كما في تضاعف DNA يحدد ازدواج القواعد النيتروجينية المتممة تتابع النيوكليوتيدات في RNA الذي أنتج حديثا
يستخدم النسخ منطقة معينة فقط (جينا) في إحدى سلستي DNA كقالب. و فيما يغادر أنزيم بلمرة RNA هذه المنطقة، تلتف سلسلتا DNA مجددا.

3- يصل أنزيم RNA إلى إشارة انتهاء، و هو تتابع معين من النيوكليوتيدات يحدد نهاية جين معين.
عند بلوغ إشارة الإيقاف هذه، أنزيم بلمرة RNA يحرر RNA الناتج حديثا و DNA. يمكن لـ RNA الذي نتج أثناء النسخ أن يكون mRNA أو tRNA أو rRNA

Promoter in prokaryotic

A site on DNA to which RNA polymerase can bind and begin transcription



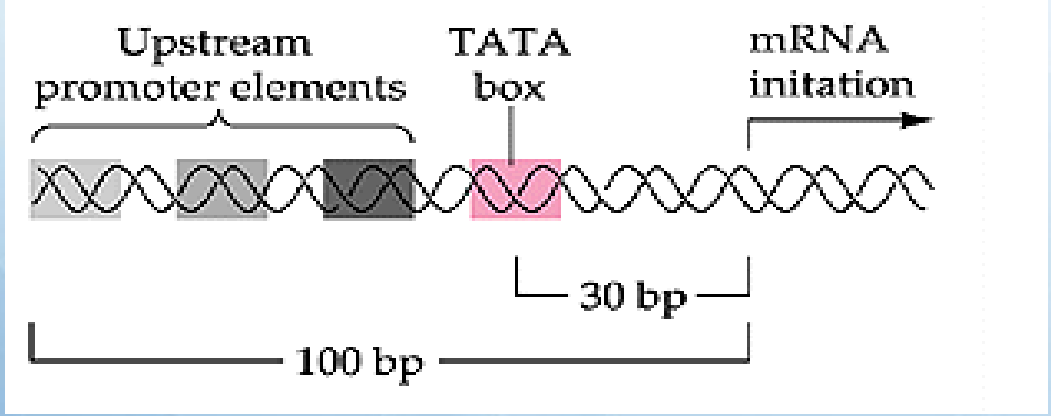
The first region -10 box ---------- -----TATA box (pribnow box)

The second region -35 bases from the start codon TTGACA

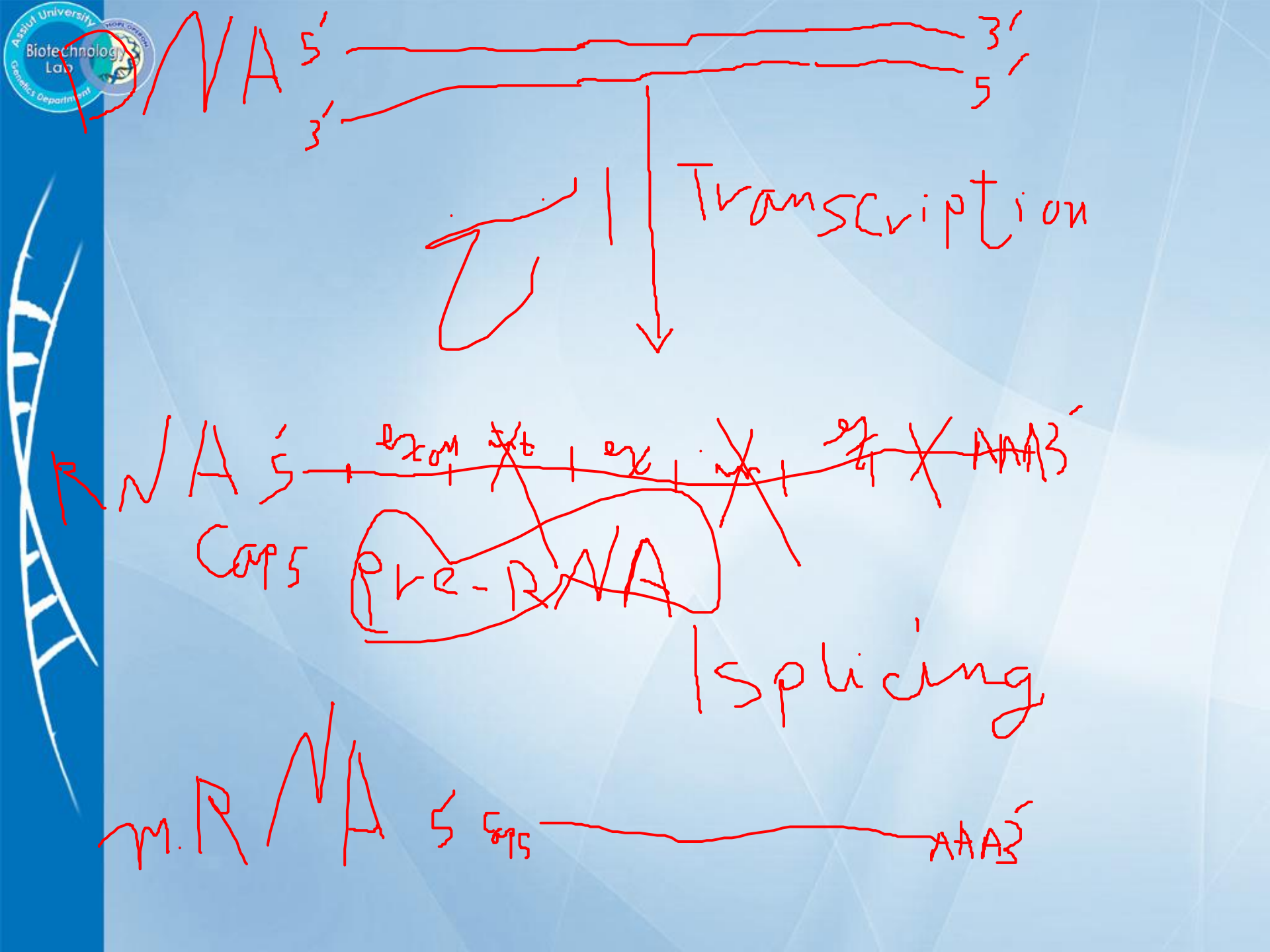
Promoter in eukaryotic

-25 region TATA box

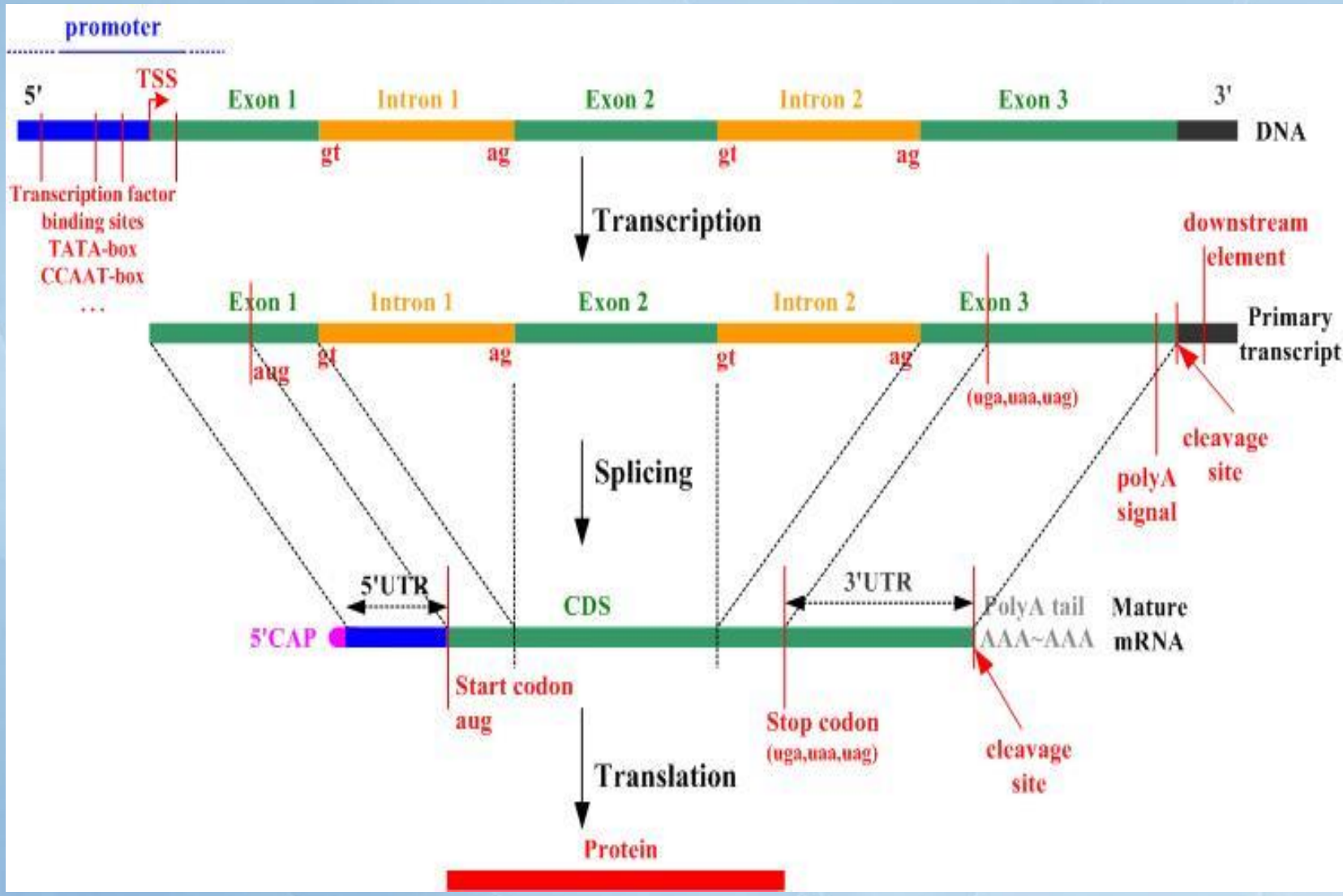
-80 region CAAT



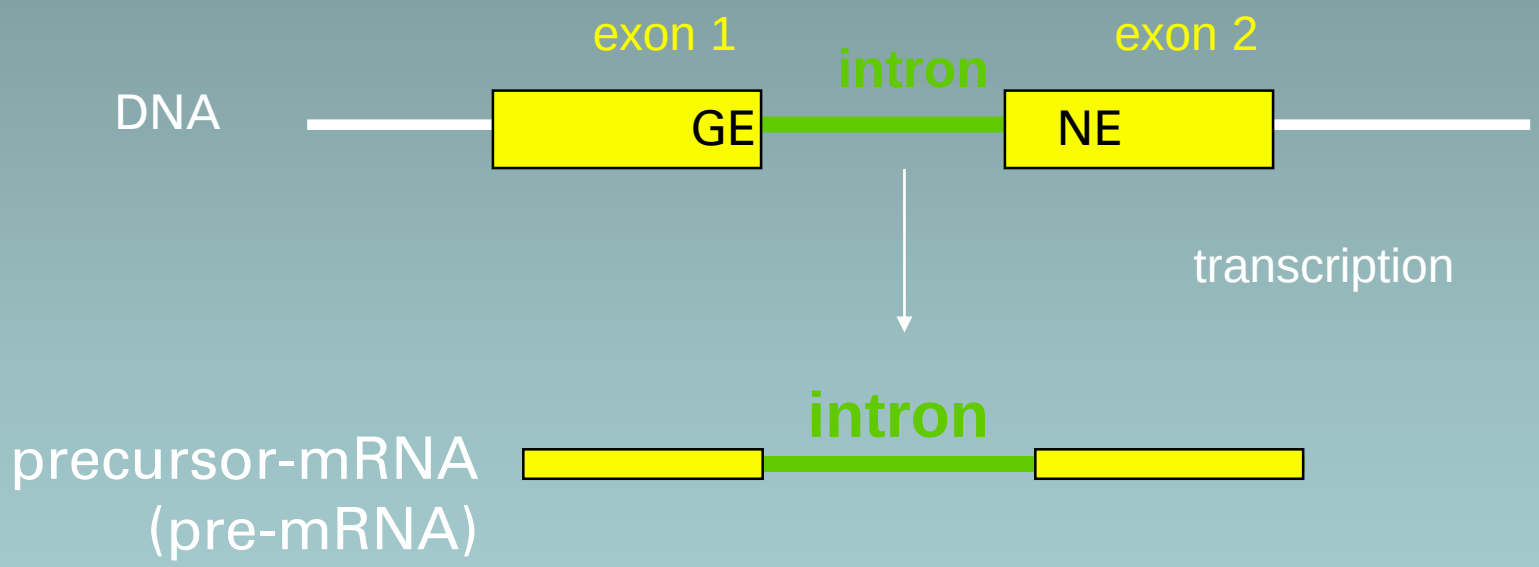
RNA processing



DNA 5' 3'
3' 5'
Transcription
RNA 5'
exon
int
AAA3'
Caps
Pre-RNA
splicing
mRNA 5'
AAA3'

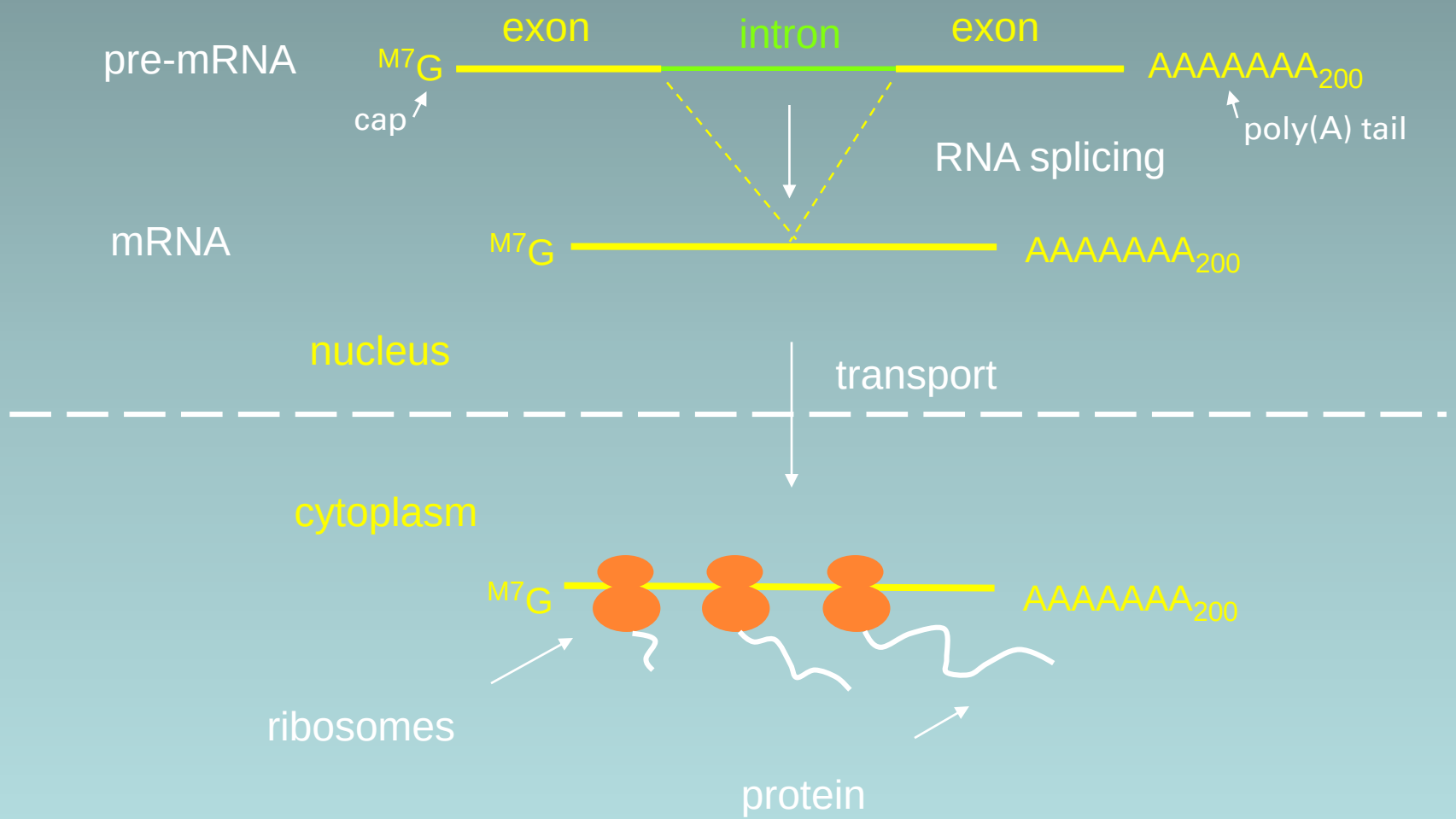

promoter
5'
TSS
Exon 1
Intron 1
Exon 2
Intron 2
Exon 3
3'
DNA
gt
ag
gt
ag
Transcription factor
binding sites
TATA-box
CCAAT-box
...
Transcription
downstream
element
Exon 1
Intron 1
Exon 2
Intron 2
Exon 3
Primary
transcript
aug
gt
ag
gt
ag
(uga,uaa,uag)
cleavage
site
polyA
signal
Splicing
5'UTR
CDS
3'UTR
PolyA tail
AAA~AAA
Mature
mRNA
5'CAP
Start codon
aug
Stop codon
(uga,uaa,uag)
cleavage
site
Translation
Protein

Some genes have their protein-coding information interrupted by non-coding sequences called introns. The coding sequences are then called "exons"

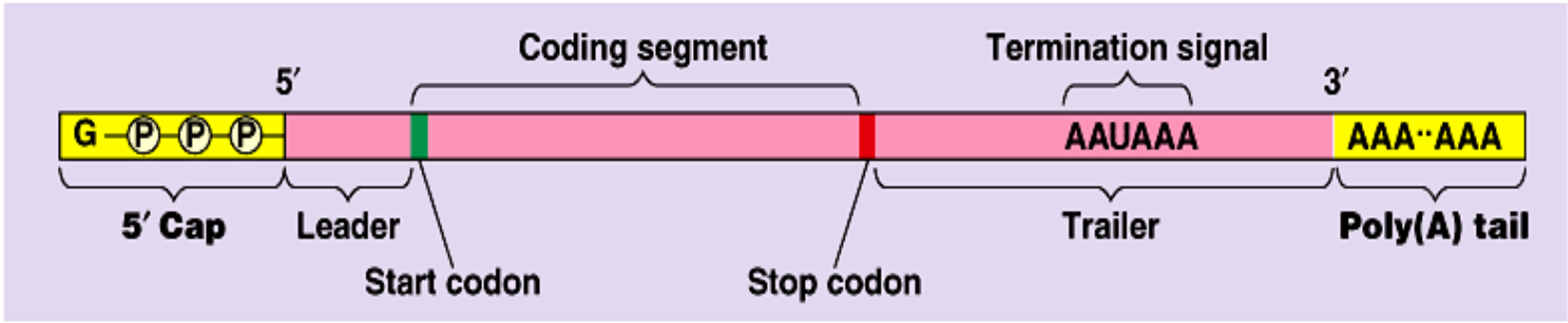


The intron is also present in the RNA copy of the gene and must be removed by a process call "RNA splicing"

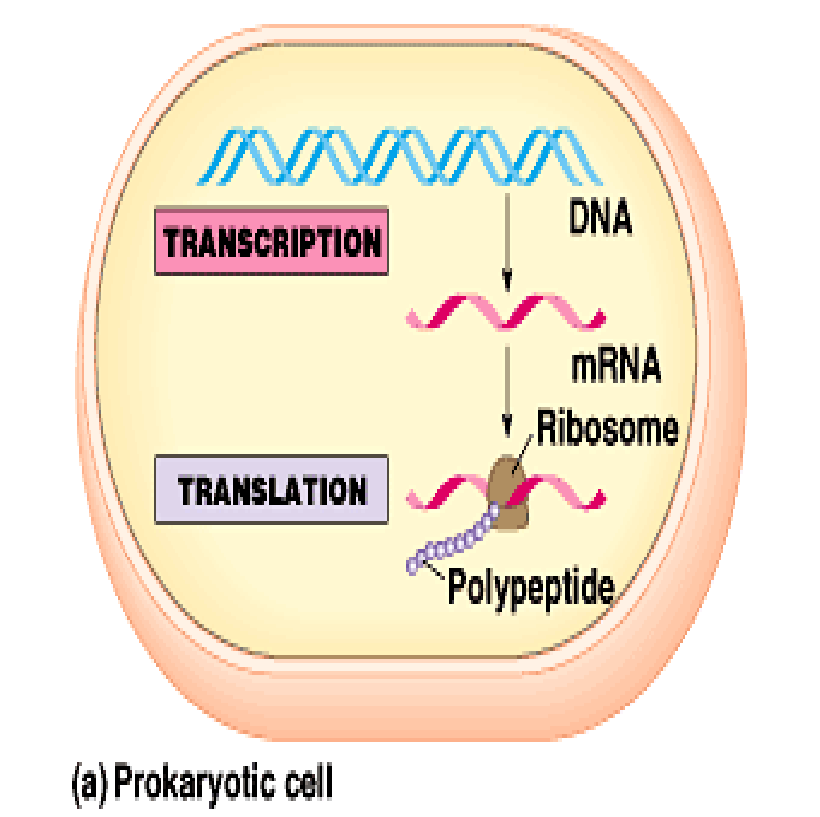
Pre-messenger RNA Processing



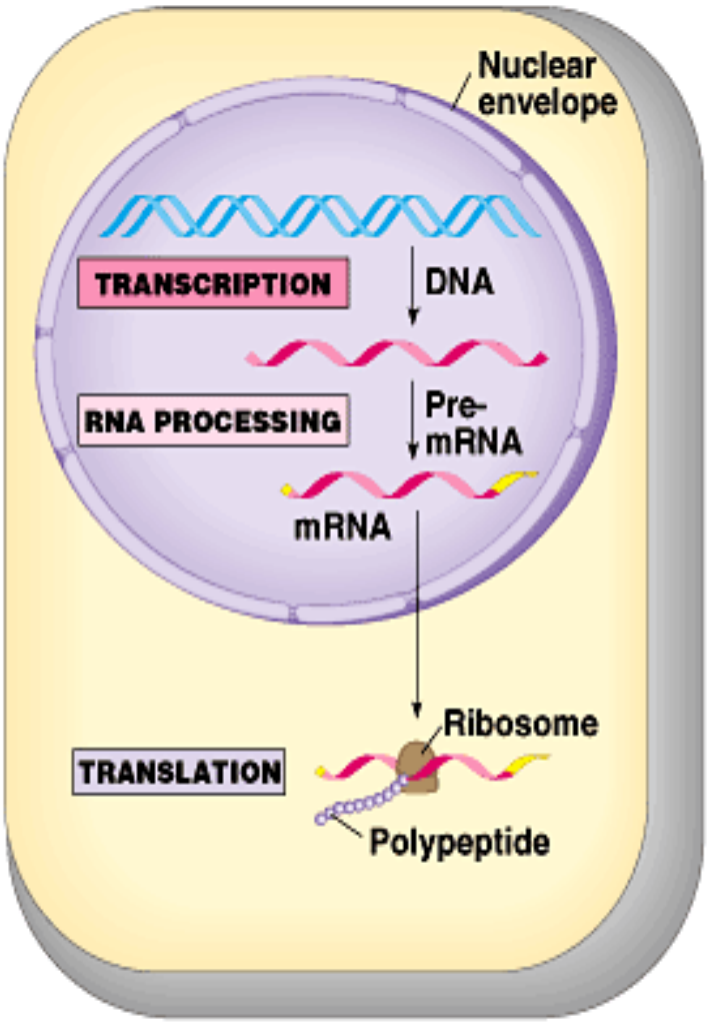
a) 5’ CAP: CAPPED WITH MODIFIED GUANINE – WHY?
b) POLY A TAIL: 50 – 250 ADENINE NUCLEOTIDES – WHY?



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



(a) Prokaryotic cell



(b) Eukaryotic cell

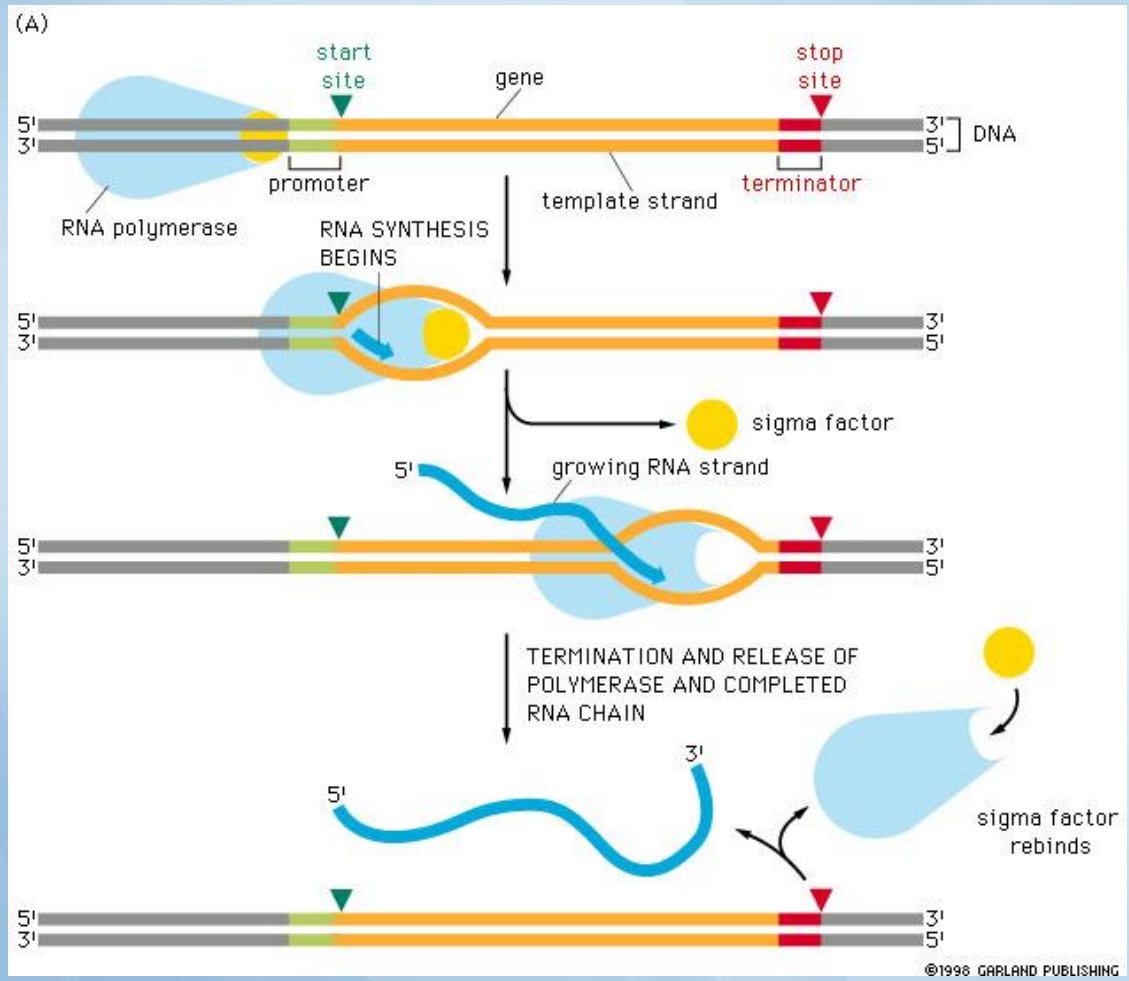
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Types of RNA polymerases
RNA polymerases انواع ال

- prokaryotic → One type of RNA poly.
- Eukaryotic → three RNA polymerase
  - RNA poly.I → rRNA
  - RNA poly.II → mRNA
  - RNA poly.III → tRNA

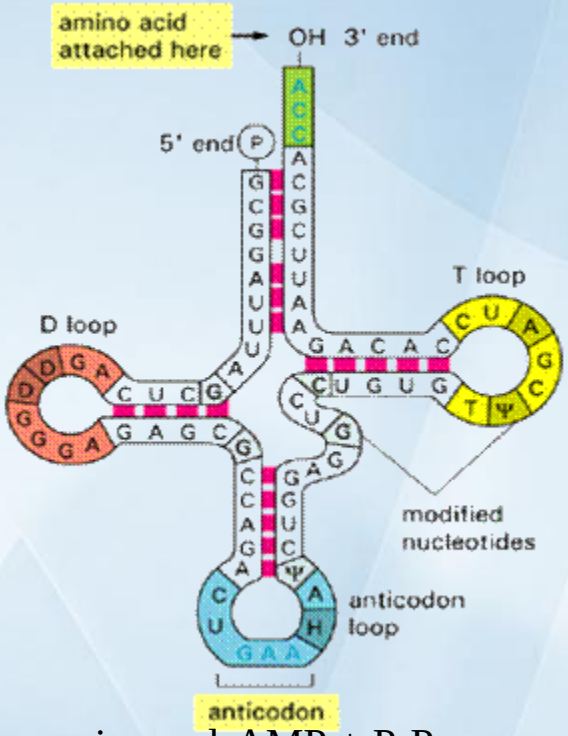
Messenger RNA (mRNA)

An RNA molcule that contain the genetic infomation necessary to encode to a particular protein



Transfer RNA (tRNA)

An adaptor molecule used in translation that has specificty for both a particular amino acid for one or more codons



73-93 nucleotides

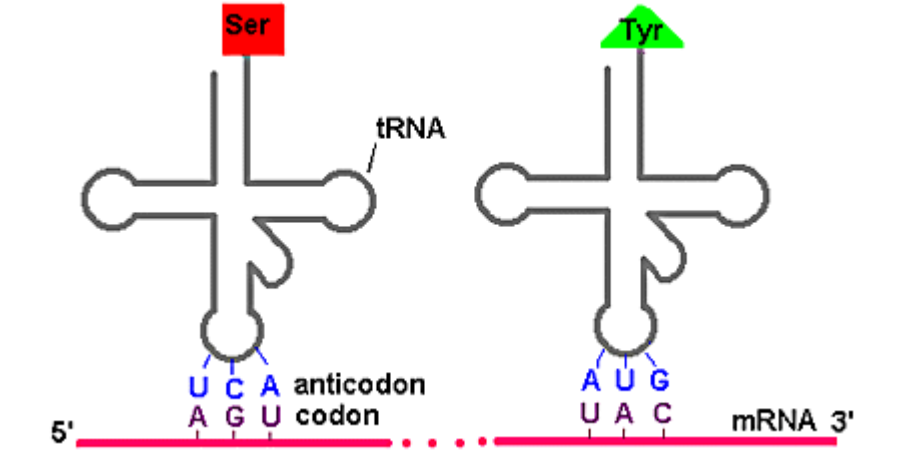
Acceptor end

Anticodons

Amino acid +ATP+ Aminoacyl-synthetase ⟶ aminoacyl-AMP + P-P

Aminoacyl-AMP +tRNA ⟶ aminoacyl-tRNA + AMP

EX: alanyl-tRNA synthetase

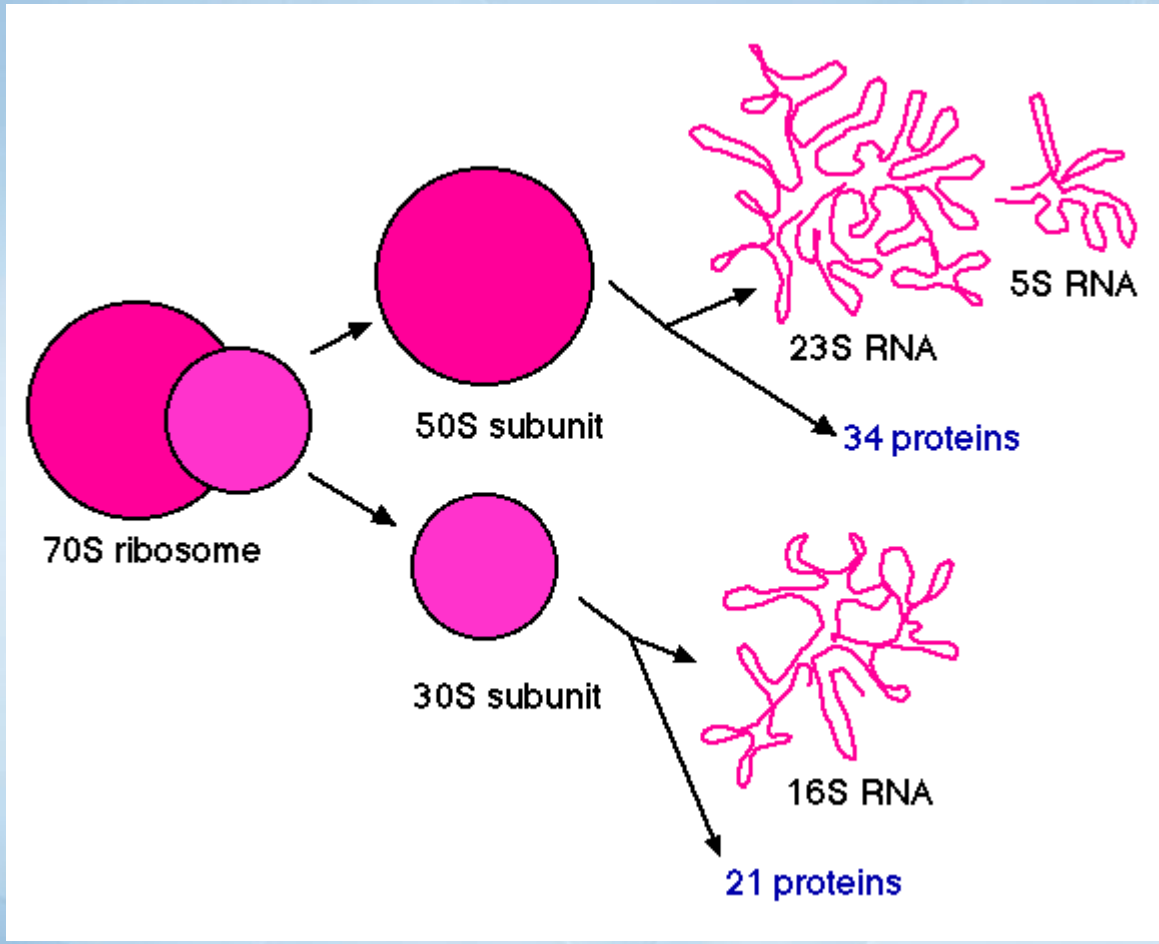


Codon : a sequence of three bases in mRNA that encodes an amino acid

Anticodon : a sequence of three bases in tRNA molecule that base-paires with codon during protein synthesis

Ribosomal RNA (rRNA)

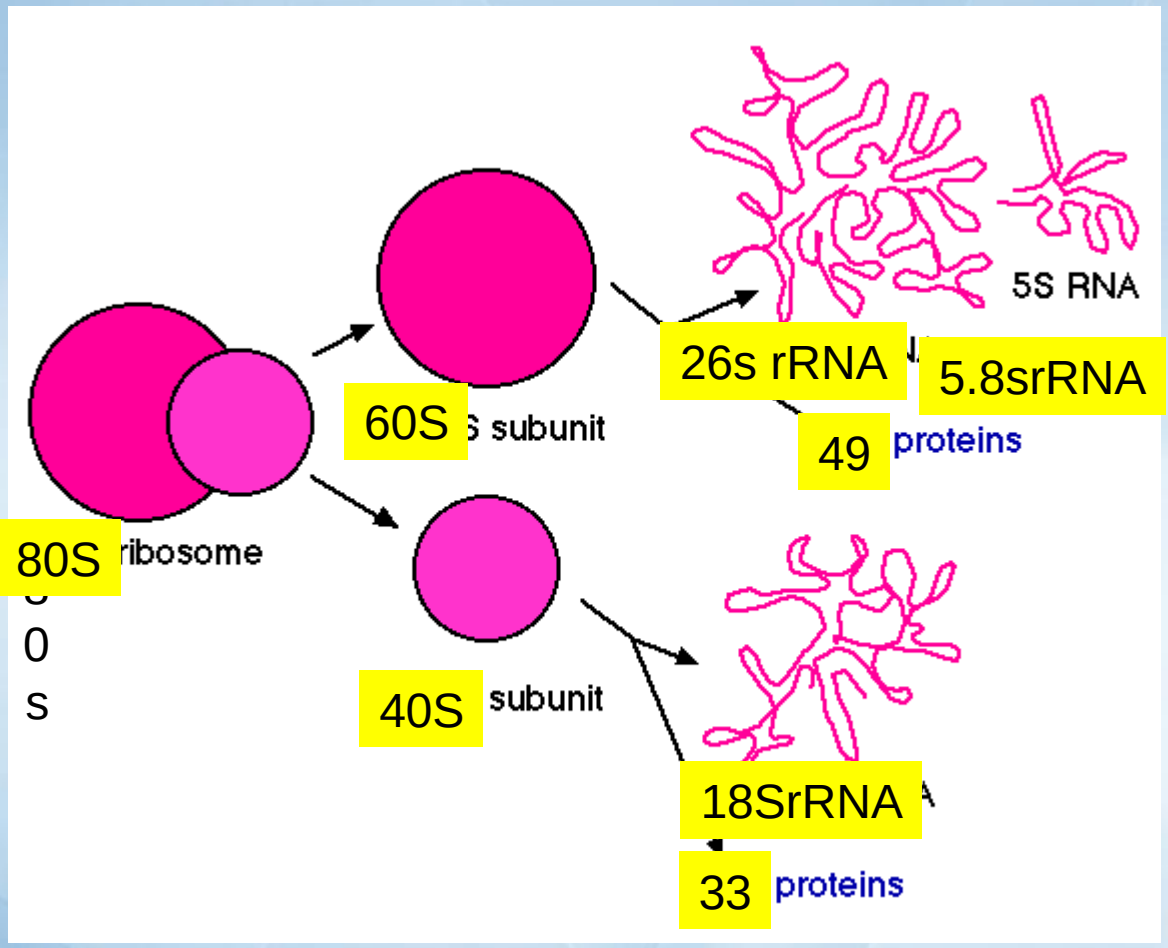
Prokaryotic cell



Euokaryotic cell: Ribosomal RNA consists of 40S + 60S = 80S

Ribosomal RNA (rRNA)

Euokaryotic cell



Euokaryotic cell: Ribosomal RNA consists of 40S + 60S = 80S

مقارنه بين
DNA , RNA

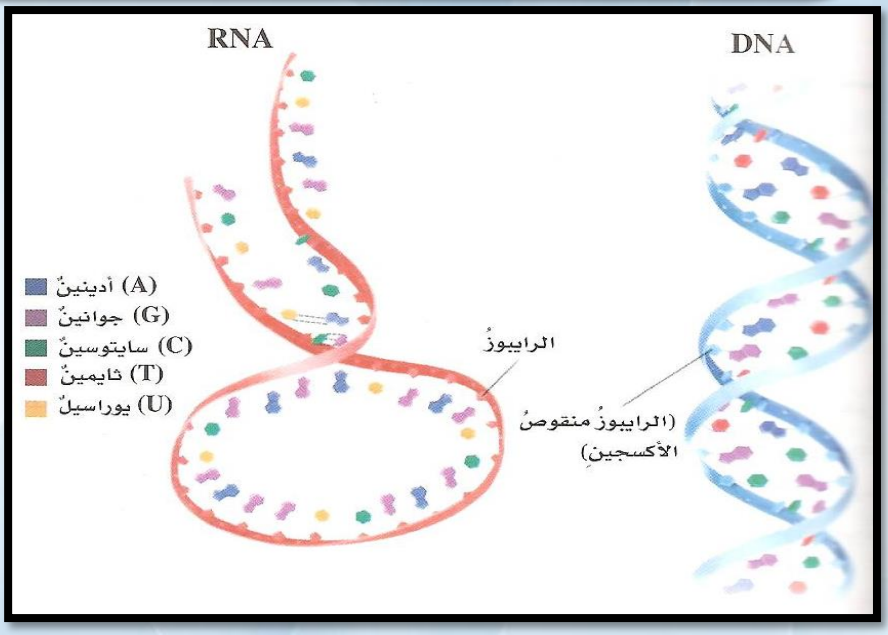
DNA

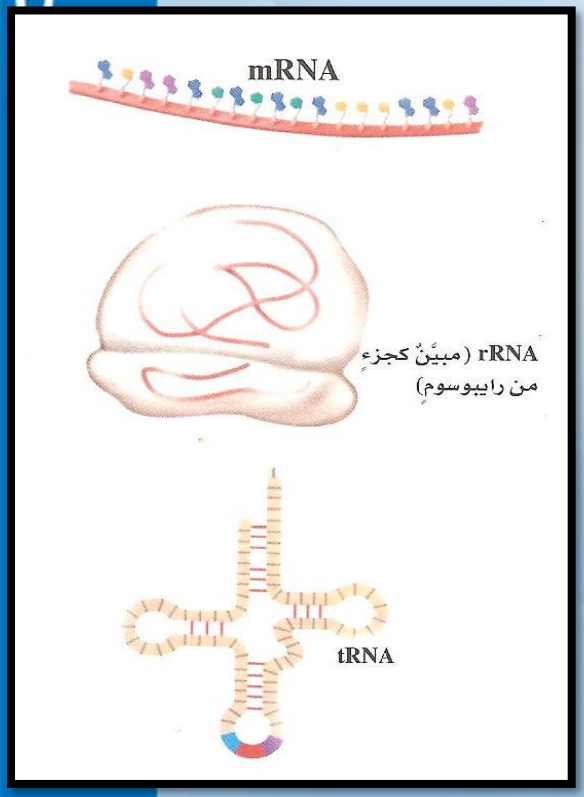
1. يحتوي على سكر رايبوزي منقوص الأكسجين.
2. يحتوي على القواعد النيتروجينية A,T,C,G.
3. يتكون من سلسلة مزدوجة.
4. أطول من RNA.
5. نوع واحد

RNA

1. يحتوي على سكر رايبوزي.
2. يحتوي على القواعد النيتروجينية A,U,C,G.
3. يتكون من سلسلة واحدة.
4. أقصر من DNA.
5. له ثلاثة أنواع tRNA, rRNA, mRNA

مقارنه بين DNA, RNA





وظائف أنواع RNA:

- **tRNA**: ينقل الأحماض الأمينية الى الرايبوسوم لبناء البروتين.
- **rRNA**: جزء من تركيب الرايبوسومات التي يتم فيها بناء البروتين.
- **mRNA**: ينقل التعليمات من جين معين لبناء بروتين معين

translation

-

Genetic Code الشفرة الوراثية

Colinearity between base sequences in DNA and amino acid sequences in protein

Start codon = AUG

شفرة البدء

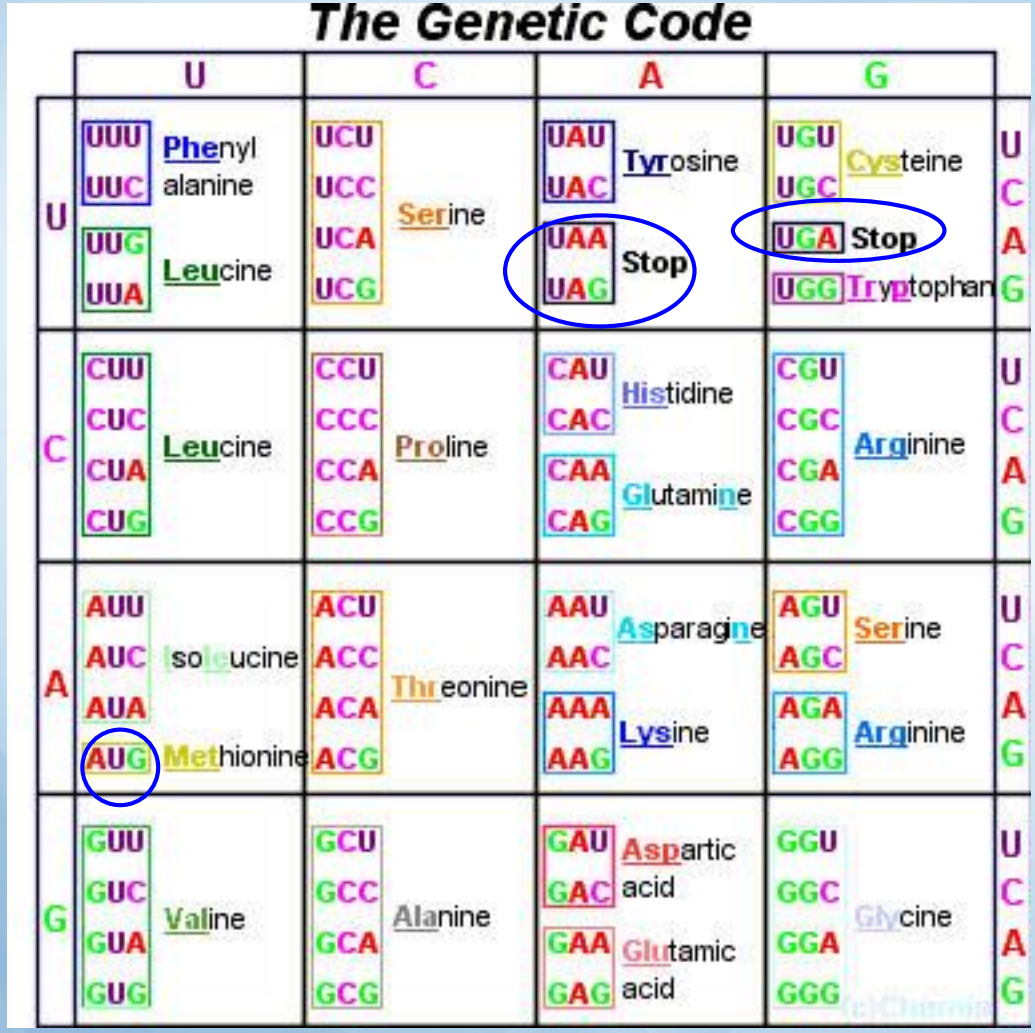
Formylmethionine

Methionine

Stop codons = Nonsense codons

شفرات الإيقاف

UAA
UGA
UAG

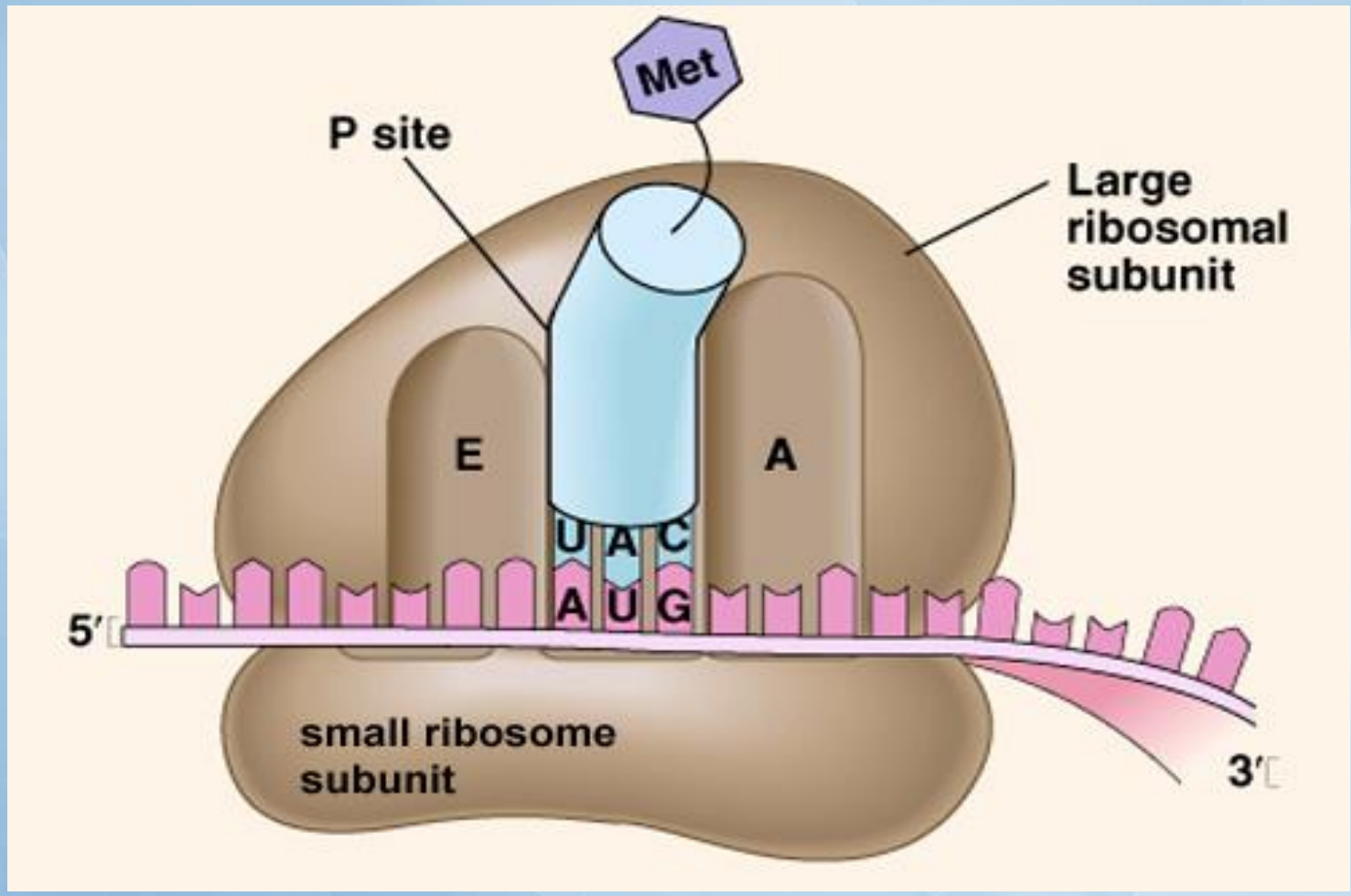


خصائص الشفرة الوراثية
Characteristics of the genetic code

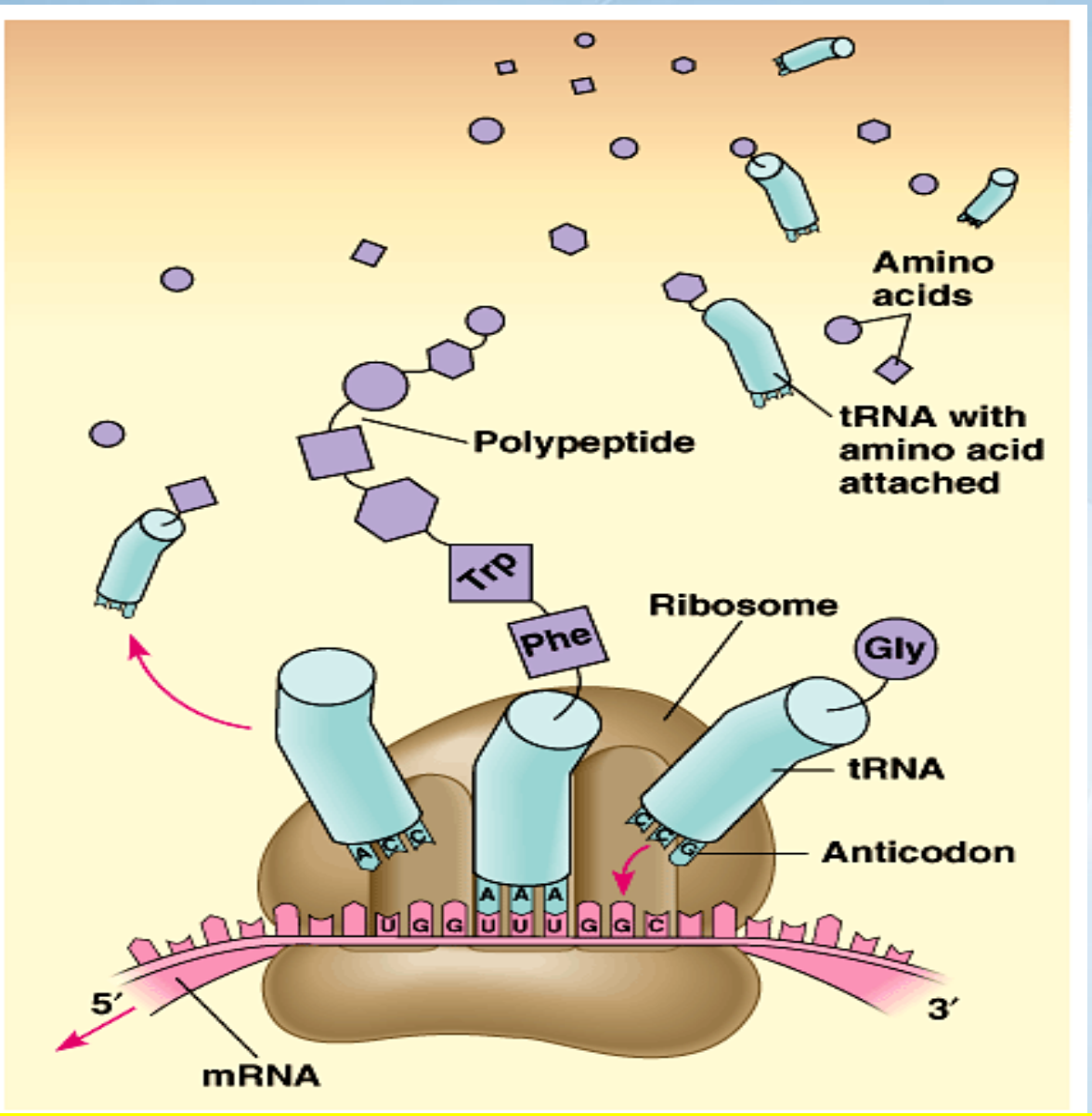
- خصائص الشفرة الوراثية
- ثلاثية: ثلاثة نيوكليوتيدات متتالية تختصص بحامض أميني واحد
- تتطابق 61 شفرة مع الأحماض الأمينية
- تشفر AUG للميثايونين وتعطي إشارة البدء لعملية النسخ
- تعطي 3 شفرات "توقف" إشارة انهاء عملية الترجمة
- الترادف: قد يوجد أكثر من شفرة لبعض الأحماض الأمينية
- عدم الغموض: أي شفرة لأي من الأحماض الأمينية لا تُستخدم لأي حامض أميني أخر
- لا تحتوي على فراغات أو علامات وقف: الشفرات ملتصقة ببعضها البعض بدون أي فراغات بينها
- العمومية والشمول "تقريباً"

Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.

Ribosome



A site = Aminoacyle site P site = peptidyl site E site = Exit site



A site = Aminoacyle site P site = peptidyl site E site = Exit site

2 – Translation
الترجمة

1- Initiation stage

مرحلة البدء

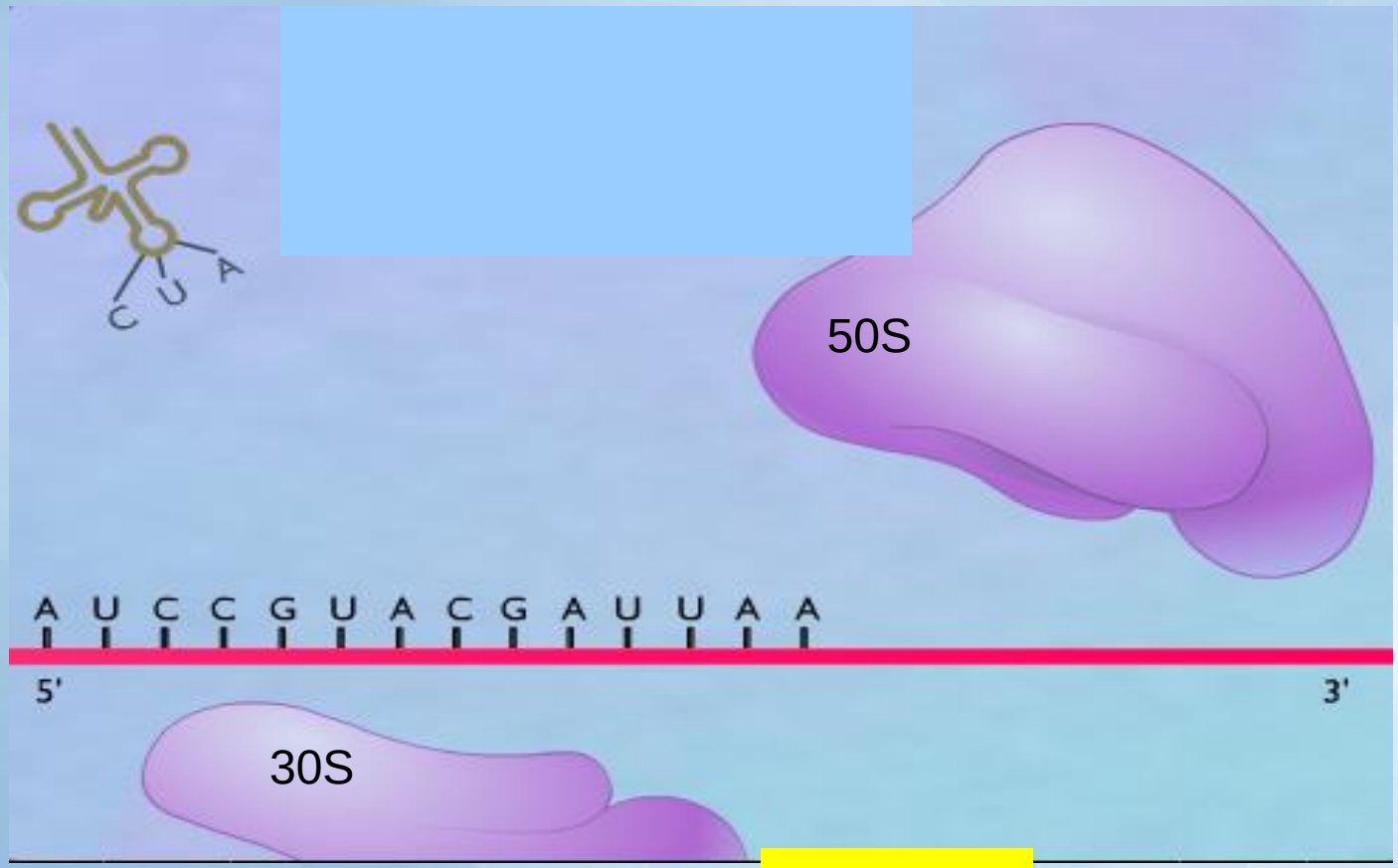
2- Elongation stage

مرحلة الاستطالة

3- Termination stage

مرحلة النهاية

1- Initiation stage



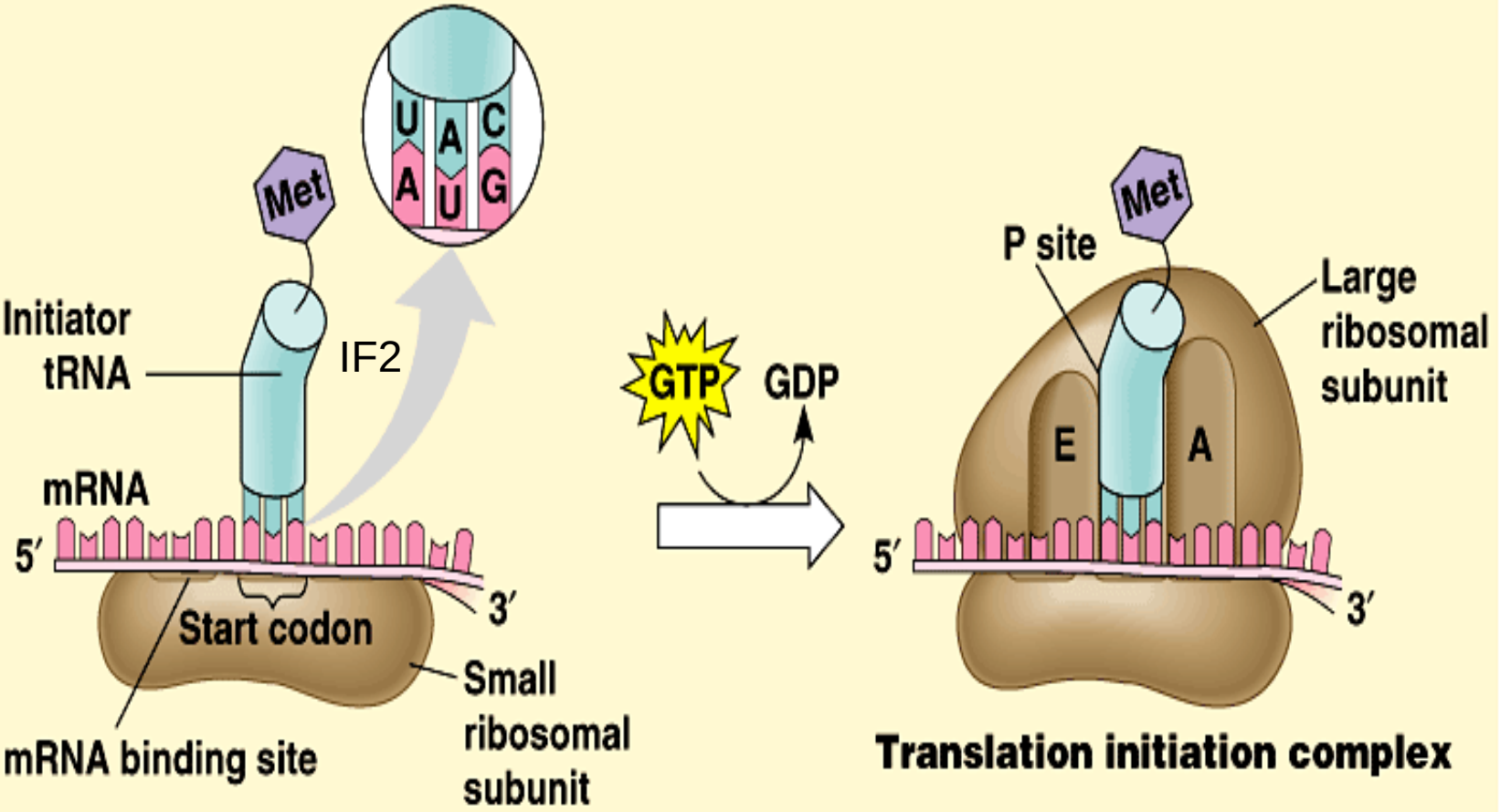
t RNA + mRNA+ ribosome

IF1,IF2,IF3

Initiation factors

Initiation complex

1- Initiation stage

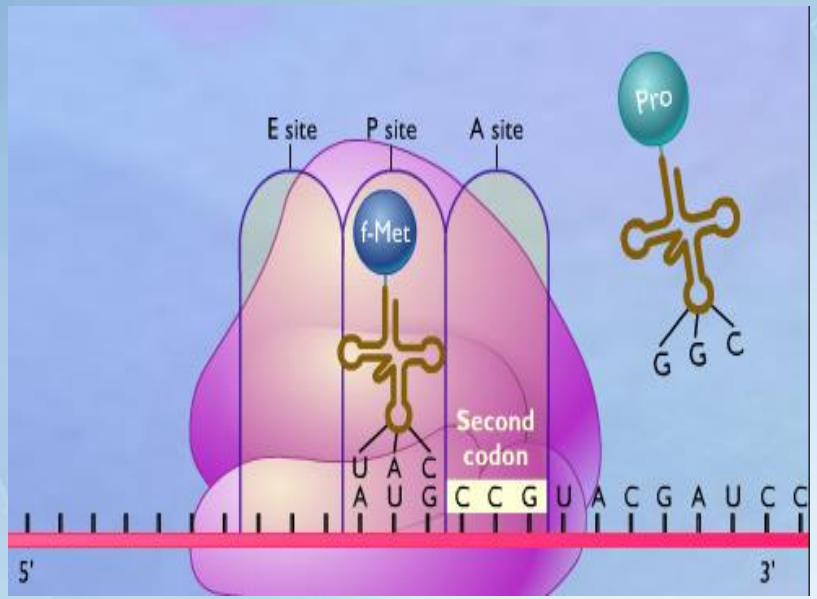


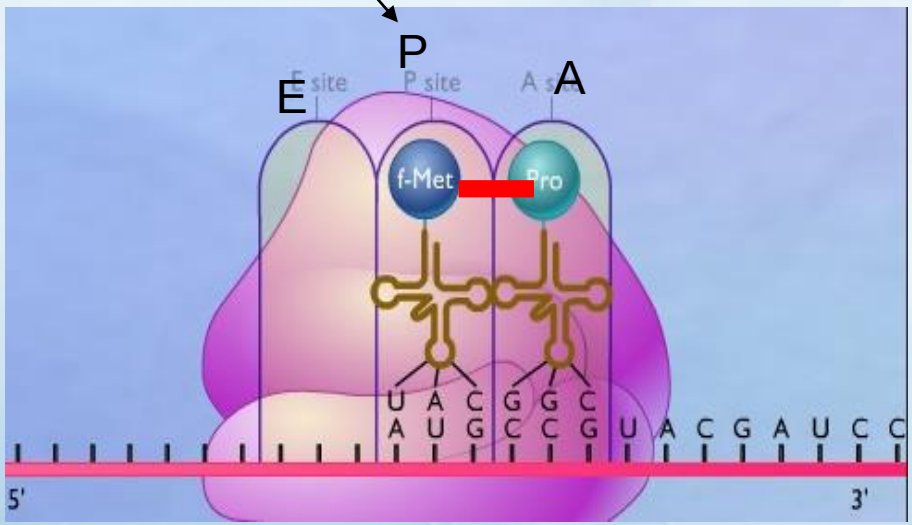
Ribosomal binding site= Shine Dalgarno sequence

- Sequence in mRNA complementrary to sequence in r RNA in small ribosomal subunit

2- Elongation stage

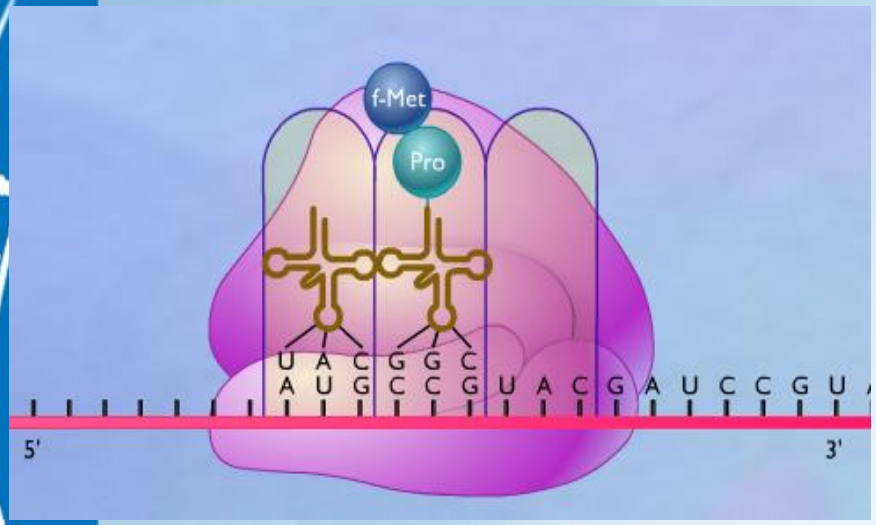
الاستطالة

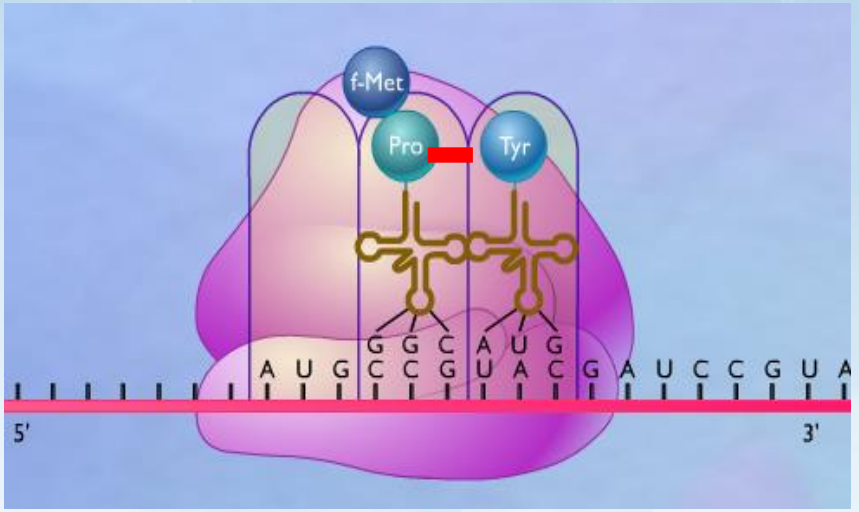


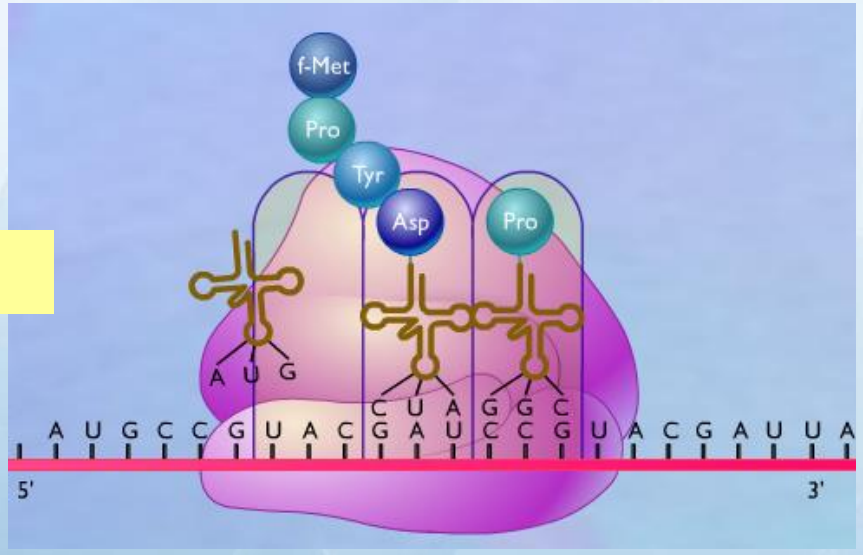


Peptidyl transferase----peptidyl bound

2- Elongation stage





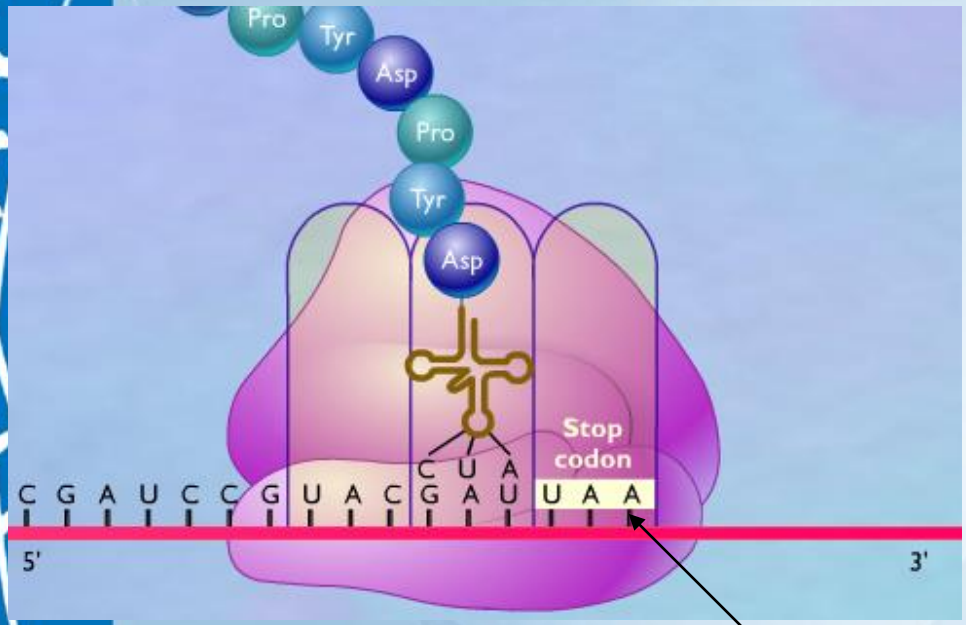


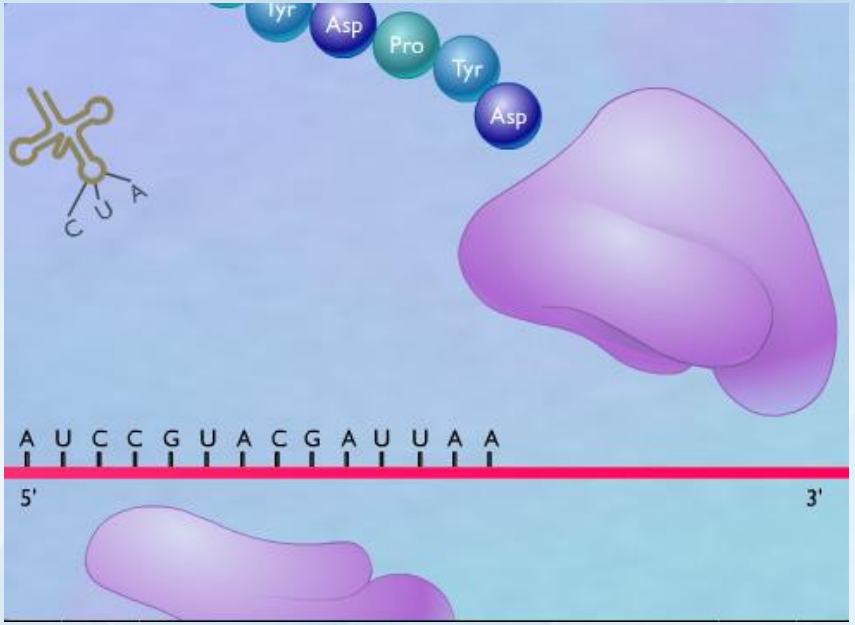
Peptidyl transferase----peptidyl bound

3- Termination stage

النهاية

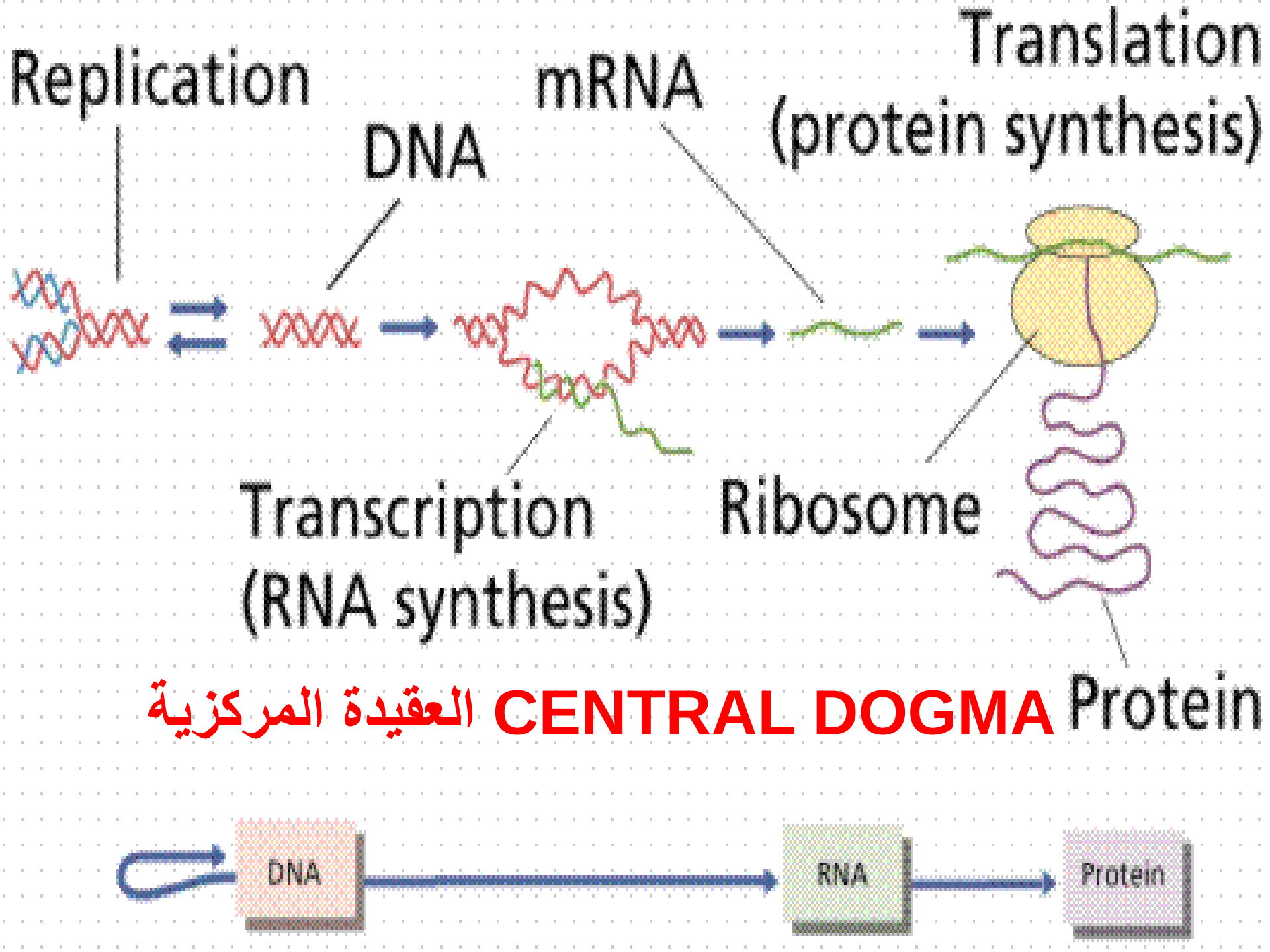
Stop codons = nonsense codons: UGA, UAA,UAG





Release factors: prokaryotics -----RF1(UAA), RF2 (UGA,UAG) RF3

Eukaryotics ------eRF (for three stop codons)



العقيدة المركزية CENTRAL DOGMA

Practice

Make the complementary RNA strand for the single strand of DNA below:

T T A G T A G T G C A A

- **A A T C A T C A C G T T**
- **U U A G U A G U G C A A**

خصائص الشفرة الوراثية
Characteristics of the genetic code

- **خصائص الشفرة الوراثية**
  - **ثلاثية: ثلاثة نيوكليوتيدات متتالية تختص بحامض أميني واحد**
    - **تتطابق 61 شفرة مع الأحماض الأمينية**
    - **تشفر AUG للميثايونين وتعطي إشارة البدء لعملية النسخ**
    - **تعطي 3 شفرات "توقف" إشارة انهاء عملية الترجمة**
    - **الترادف: قد يوجد أكثر من شفرة لبعض الأحماض الأمينية**
    - **عدم الغموض: أي شفرة لأي من الأحماض الأمينية لا تُستخدم لأي حامض أميني أخر**
    - **لا تحتوي على فراغات أو علامات وقف: الشفرات ملتصقة ببعضها البعض بدون أي فراغات بينها**
    - **العمومية والشمول "تقريباً"**

Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.

الطفرة Mutation

تعريف الطفرة Mutations :

هي تغير فجائي في التركيب الوراثي ينتج عنه تغير في الشكل المظهري

تعريف الطافرmutant :

* يعرف الفرد أو الخلية الناتجة من عملية التطفر بالطافرة.

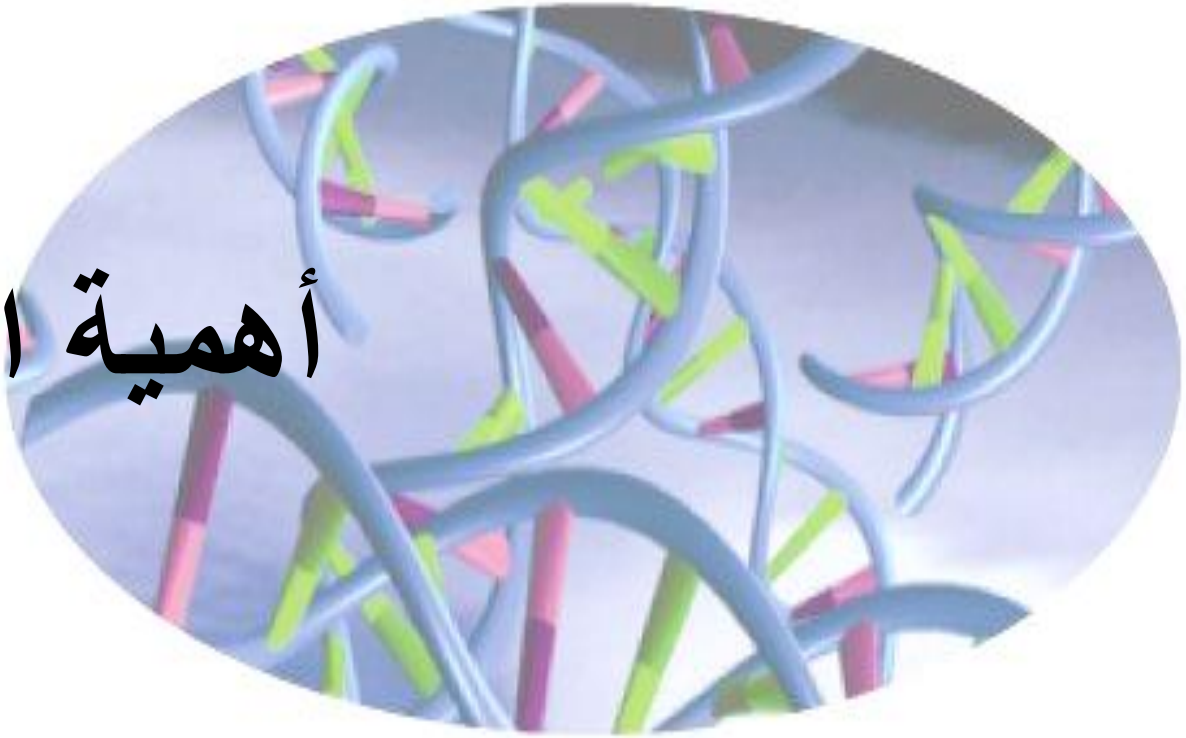
تعريف Mutagen

هى المادة الكيميائة او الفيزيائية التى تسبب حدوث الطفرة

تعريف : Mutagenesis

عملية حدوث الاطفار نفسها

أهمية الطفرة



أهمية الطفرة :

تعتبر الطفرة هي المصدر الأساسي لجميع الاختلافات الوراثية و ذلك لأنها :

توفر المادة الأساسية اللازمة لحدوث التطور

أنها مصدر الحصول على الأليلات متعددة للجين ..

مثال ..

أ- الاتحادات الجديدة تقوم بإعادة ترتيب التباين الوراثي في تباديل و توافيق جديدة .

ب- الانتخاب الطبيعي أو الصناعي يحافظ على التراكيب الأكثر تكيفاً مع الظروف البيئية الموجودة .

و بذلك لولا وجود الطفرة لوجدت كل الجينات في صورة واحدة و بالتالي لما وجدت الأليلات و لما كان التحليل الوراثي ممكناً و الأهم من ذلك ما كانت الكائنات قادرة على التطور evolve و التكيف مع التغيرات البيئية . و على ذلك فالطفرة تعتبر ظاهرة هامه لأن وجودها سيؤدي إلى التابين الوراثي و يسمح للكائنات بالتكيف مع البيئات الجديدة و في نفس الوقت قد يؤدي ازدياد معدل الطفور إلى عدم انتظام انتقال المعلومات الوراثية بدقة من جيل إلى آخر .

تقسيم الطفرات

يمكن تقسيم الطفرات من حيث نوع حدوثها إلى نوعين :

1- طفرة تلقائية Spontaneous

2- طفرة مستحدثه Induced

1/ الطفرة التلقائية
: Spontaneous mutation

- الطفرة التلقائية هي التي تظهر على شكل تغيرات فجائية و راثية طبيعياً ، وتعاود الظهور بين الحين و الآخر و معدل حدوثها ضئيل جداً . ويتراوح بين واحد في المائه ألف إلى واحد في العشرة مليون ، وتختلف من جيل إلى آخر و يعتمد معدل حدوث الطفرة التلقائية على الحالة الفسيولوجية و الكيموحيوية للخلية .

2/ الطفرة المستحدثة Induced mutation

هي الطفرة التي يحدثها الإنسان أو العلماء صناعياً باستخدام المواد المطفرة سواء كانت كيماوية او فيزيائية

الطفرات التلقائية نادرة الحدوث ، برغم أن تكرارها يتخلف من جين إلى آخر ، و من كائن إلى آخر و تتراوح قياسات تكرارات الطفرات التقدمية التلقائية لمختلف الجينات في البكتيريوفاج بين , 10^{-10} -108 لكل زوج من أزواج النيوكليوتيدات في الجيل الواحد . وفي الكائنات حقيقة النواة يتراوح معدل الطفرات التقدمية بين -107 , -109 لكل زوج من النيوكليوتيدات في الجين .

تزيد المعاملة بالمطفرات تكرارت الطفرات بدرجات كبيرة ، فتكرار الطفرات لكل جين في البكتيريا و الفيروسات على سبيل المثال يتعدى 1% عند المعاملة بمطفر كيميائي قوي ، أي أن ما يزيد عن 1% من جينات الكائنات المعاملة ستتضمن الطفرات . أو بصورة أخرى يمكن أن نقول أن أكثر من 1% من أفراد عشيرة الفيروسات أو البكتيريا المعاملة ستحتوي على طفرة في أي جين .

يمكن تقسيم الطفرات من حيث مكان حدوثها إلى نوعين :

1- طفرة جينية Gene or point mutation

- A- Base pair (=nucleotide pair) substitution
- B- Frameshift mutation

2- طفرة كروموسومية Chromosome mutation

- **1- Change in chromosome structure**

A- Deletions B- inversions C- translocations D- duplications

- 2- **Change in chromosome number.**

A- Aneuploidy B- Polyploid

التغيرات الجينية Gene mutation :

- الجين عبارة عن مقطع معين من تتابع نيوكليوتيدي مميز يحتوي على الأربع قواعد A , C , G , T أي تغير يحدث في الجين الواحد ينتج عنه صورة أخرى لهذا الجين يتبادل معه الوجود في الأفراد المختلفة و هذه الطريقة هي الوسيلة الوحيدة للحصول على الأليلات المختلفة للجين الواحد .
- تعرف هذه التغيرات من النمط الوراثي بالتطفرات mutation و التغير في الجين يعرف بالطفرة الجينية Point mutation وهي تغيرات داخل الجين intra-cistronic changes .

مميزات التطفرات

وتتميز التطفرات بالخواص التالية :

1. لا تستطيع تغير عدد النيوكليوتيدات الوراثية و نوعها و تسلسلها .
2. تغيرات غير عادية نادرة نسبياً
3. تغيرات مستديمة على أساس تأثيرها الجزيئي في الحمض النووي

* تنقسم الطفرات الجينية إلى أنواع كثيرة سواء كانت تلقائية أو مستحدثة :

1/ الإحلال القاعدي Base Substitution :

- هو يشمل الجزء القاعدي من النيوكليوتيدة .
- يوجد نوعان من الإحلال القاعدي .

1. احلال قاعدة من نوع البيورين (A , G) بآخر من البيورين أو احلال البيرميدين بقاعدة أخرى من البيرميدين و يطلق عليه اسم احلال متكافئ Transitionو يوجد اربع احتمالات مختلفة للاحلال المكافئ .
2. احلال قاعدة بيورين بقاعدة بيرميدين أو العكس ويسمى احلال أو استبدال متعاكس أو غير مكافئ Trasversions و يوجد منه 8 احتمالات مختلفة وتعرف هذه الظاهرة بتحور المشابهات Tautomerism.

- وجد أن هذه الاحتمالات جميعها تحدث و يستدل على حدوث الطفرة عن طريق تحديد تسلسل الأحماض الأمينية (a.a) داخل السلسلة الببتيدية المتكونة عن الجين الطافر و مقارنتها بالحالة الأصيلة .

Purine ⟷ Purine
(A, G)

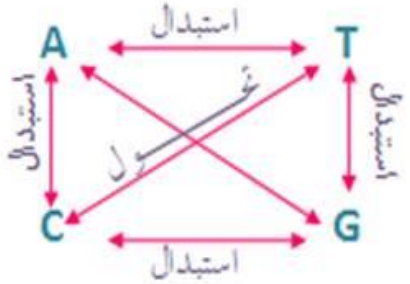
احلال متكافئ
Transition

Pyrimidine ⟷ Pyrimidine
(C, T)

Purine ⟷ Pyrimidine
(A, G) (C, T)

احلال غير مكافئ
(استبدال)
Transversion

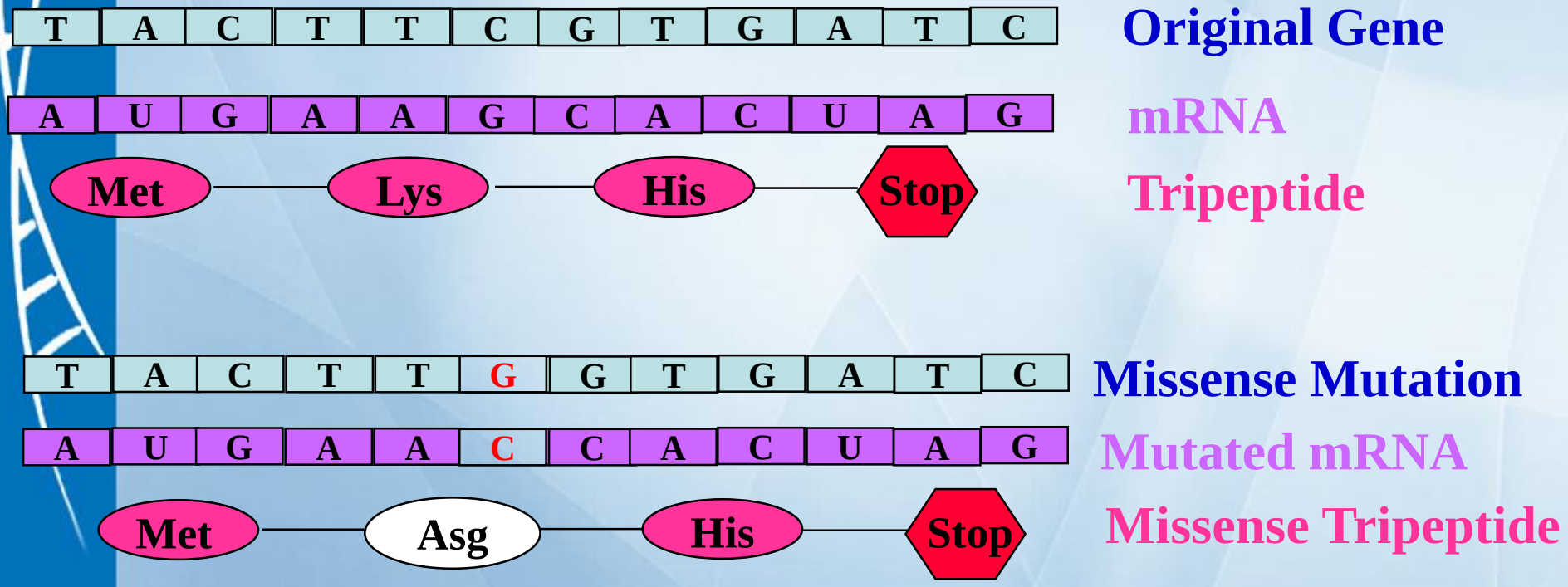
تعرف هذه الظاهرة بالاستبدال و التحول Tautomerism



ومن أنواع الإحلال القاعدي المسببه طفرات

1. طفرات خاطئة المدلول Missense mutation :

هي طفرة يحدث فيها إحلال قاعدي وينتج عنها تكوين حمض أميني مختلف (احلال حامض أميني محل حامض أميني آخر) .. مثال :



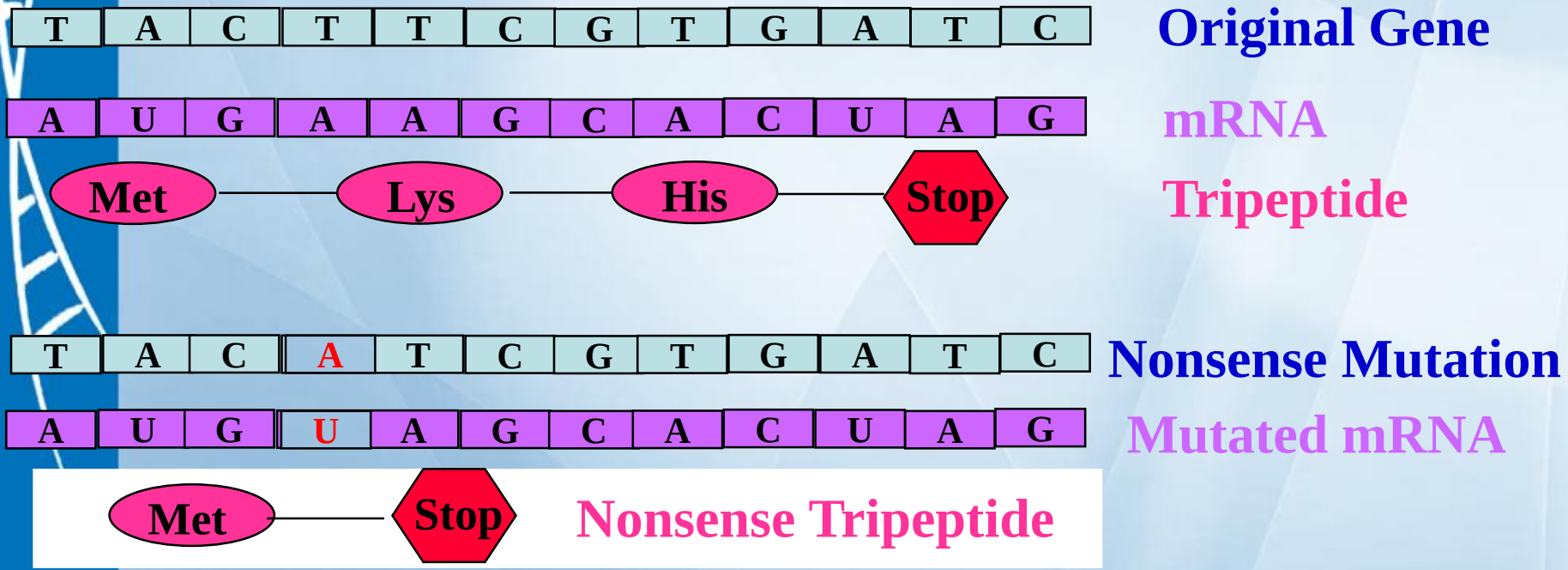
AAC codon codes for Asg so there is an amino acid change in the tripeptide.

1. Point mutations (cont.):

2-طفرات عديمة المدلول Nonsemse mutation

يؤدي الاحلال القاعدي إلى تغير الشفرة الوراثية إلى واحد من الشفرات الثلاثة و التي تقوم بانهاء عملية الترجمة في بناء البروتين و تسمى **Stop Codon** و هذه الشفرات لا تترجم إلى أحماض أمينية بل مهمتها انهاء عملية البروتين .

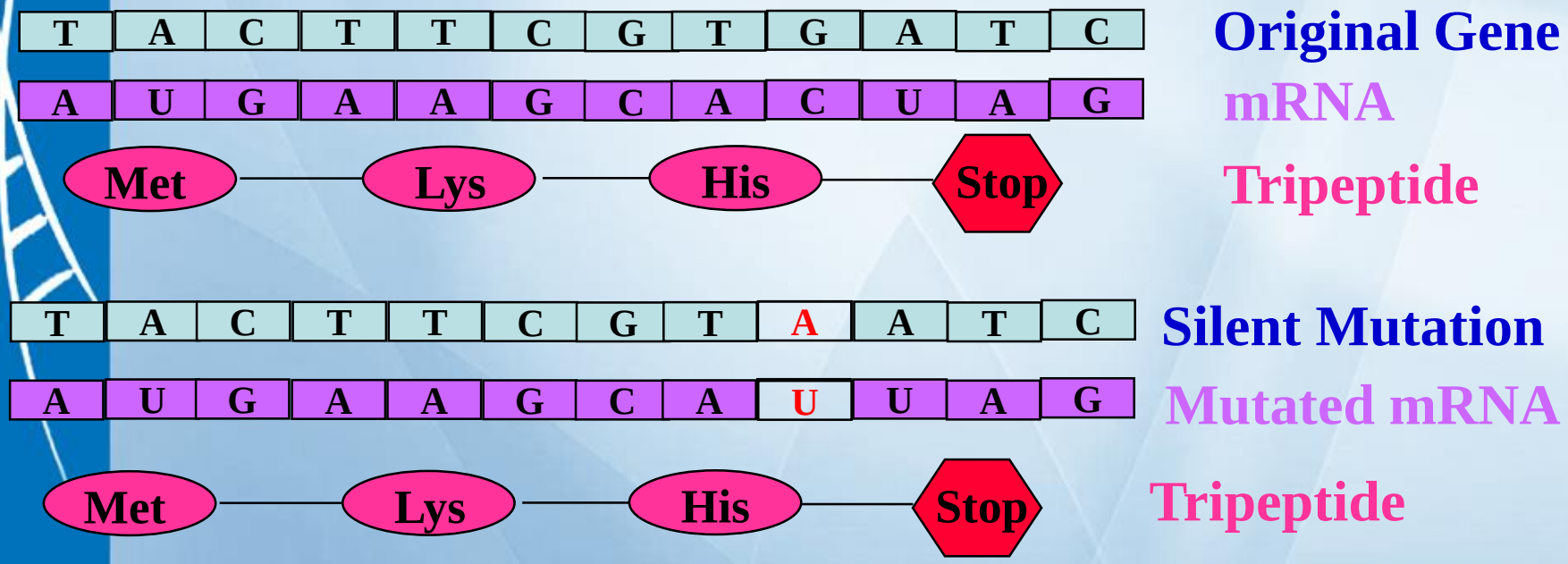
مثل: **UAG , UAA , UGA**



UAG codon codes for Stop so there is a premature termination of translation.

3- طفرات صحيحة المدلول: Silent Mutation

تحدث نتيجة الإحلال القاعدي لأحد القواعد النيتروجينية في الشفرة و لكنها لا تؤدي إلى تغير نوع الحامض الأميني (تنتج نفس الحمض الأمينى) و يعود ذلك إلى ظاهرة كثرة عطاء الشفرة degeneracy حيث أن للحامض الأميني الواحد أكثر من شفرة تؤدي إلى استقطابه . مثال :



CAU codon still codes for His so there is no change to the Tripeptide.

2/ طفرات هيكلية (إضافة أو نقص قاعدة أوعدد من القواعد)

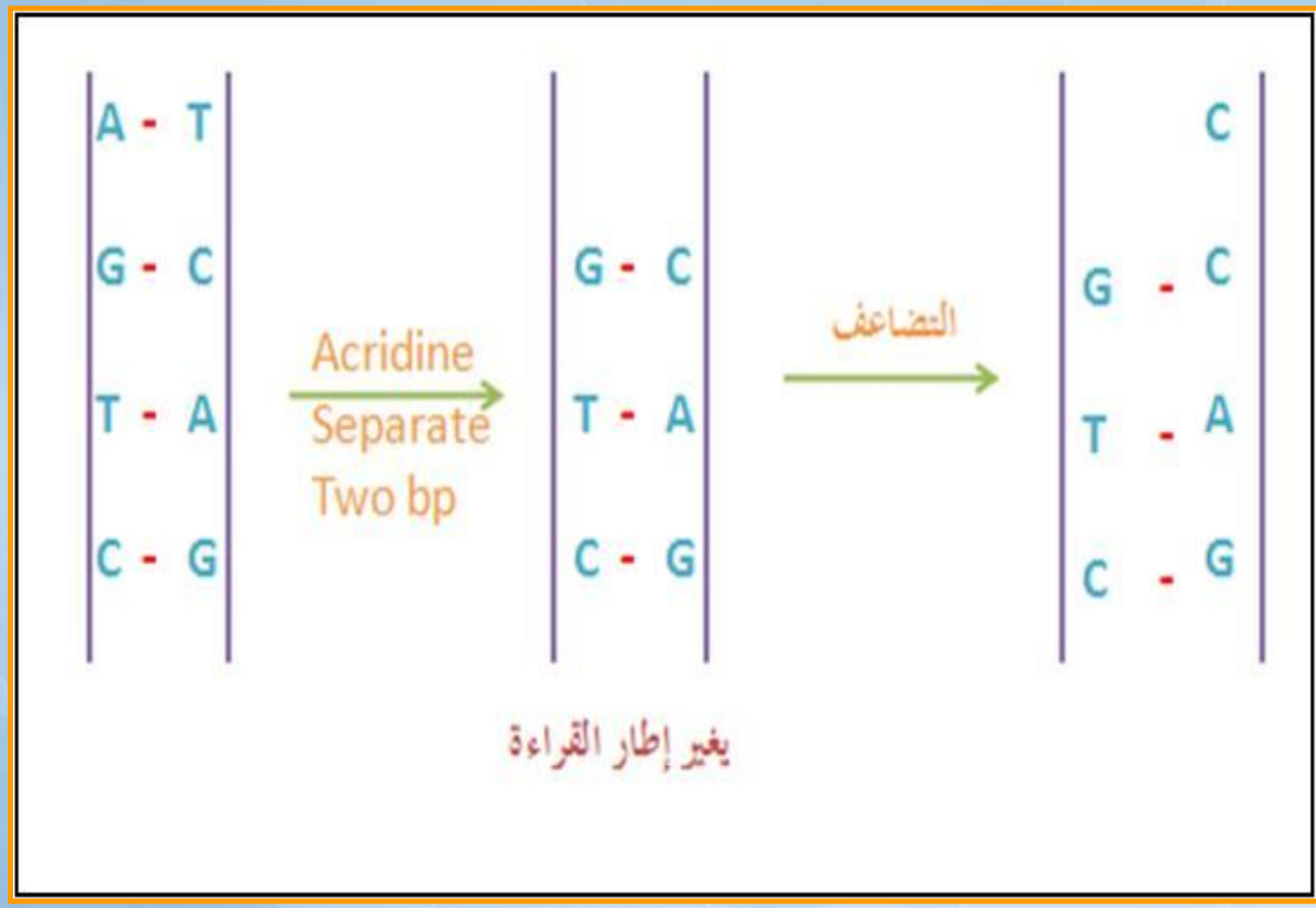
Farm-shift mutation طفرات تغير الإطار:

هي تشمل الطفرات الناتجة من النقص أو الإضافة لزوج واحد أو عدد قليل من أزواج القواعد وهذه الطفرات تؤدي إلى تغير أطار القراءة داخل بعض التتابعات الشفرية للبروتين مسببه احلال كامل في عملية بناء ذلك البروتين و تسمى هذه الطفرة طفرة تحرك الاطار .farm shift mut

التسلسل الجديد يصبح مختلف نتيجة إضافة A وكل الأحماض المتكونة تكون قصيرة وتظهر صفة مظهرية جديدة نتيجة الإضافة . نفس التأثير ينتج من نقص أو ازالة قاعدة أو قواعد من السلسلة .

من أمثلة طفرة تحرك الاطار ، حدوثها تلقائيا تحت تأثير بعض المركبات الكيمائية مثل Acridine dye و Proplavin.. وهي تؤثر على الجزئ أثناء عملية التضاعف بعد حدوث كسر ، وهي تشمل فقد أو اضافة قاعدة إلى الجديلة المكسورة ، وقد تظهر نتيجة بعض مسببات التطفر الكيميائية مثل صبغات و هما يعملان كعوامل متداخلة داخل سلسلة الحامض Intercalating وتعمل كالتالي :

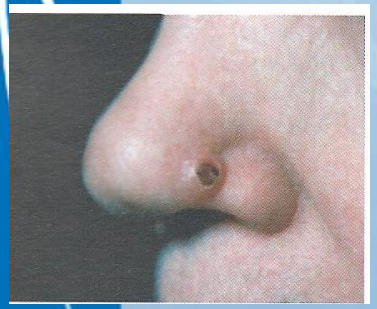
ترتبط الأكردينات Acridines بالسطح الخارجي للحامض النووي مزدوج الجديلة أو يحشر نفسها بين نيوكليوتيدات متجاورة في جديلة في مزدوج ما . و قد تؤدي إضافة أكريدين واحد أو أكثر إلى زيادة طول جزئ المزدوج . و في وقت التضاعف التالي قد يحشر نيوكليوتيد غير محدد في الجديلة في الموضع المناظر لجزئ الأكريدين ، و بذلك يحدث تطفر تغير الاطار بالاضافة النيوكليوتيد و لما كانت الأكردينات تستطيع تشويه المزدوج .


A - T
G - C
T - A
C - G
Acridine
Separate
Two bp
G - C
T - A
C - G
التضاعف
C
G - C
T - A
C - G
يغير إطار القراءة

الأخطاء في تضاعف DNA

يحدث خطأ واحدُ فقط تقريباً لدى إضافة كل مليار من أزواج النيوكليوتيدات .
لدى أنزيمات بلمرة DNA وظائف إصلاح تقوم بالتدقيق في قراءة DNA
إذا ازدوج أدينين مع سايتوسين بدلاً من ثايمين ، فإن أنزيمات البلمرة يمكن أن تصلح الخطأ بإزالة السيتوسين الذي أضيف بصورة خاطئة ، و استبدال الثايمين به .

عندما تحدث أخطاء في عملية تضاعف DNA ، يختلف تتابع قواعد DNA المكون حديثاً من تتابع قواعد DNA الأصلي.
يسمى التغير في تتابع النيوكليوتيدات في جزيء DNA طفرة.
يمكن لبعض الطفرات أن تؤدي إلى مرض السرطان ،
إن الآلية الفعالة في إصلاح DNAالمصاب بضرر هي ذات أهمية بالغة في بقاء الكائن الحي على قيد الحياة .

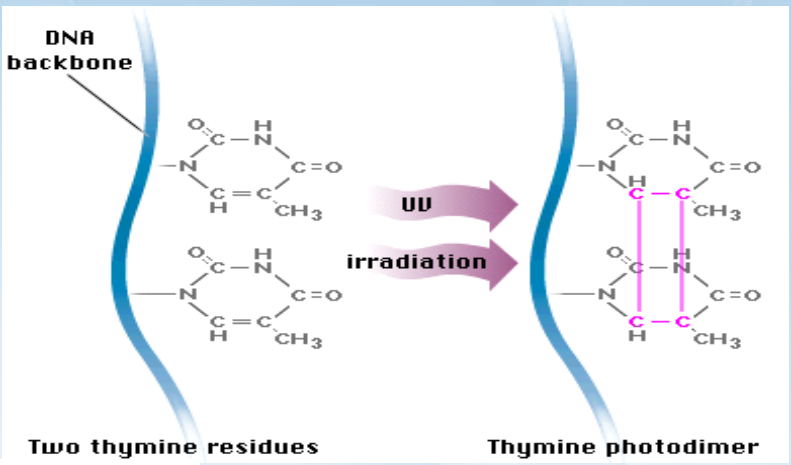


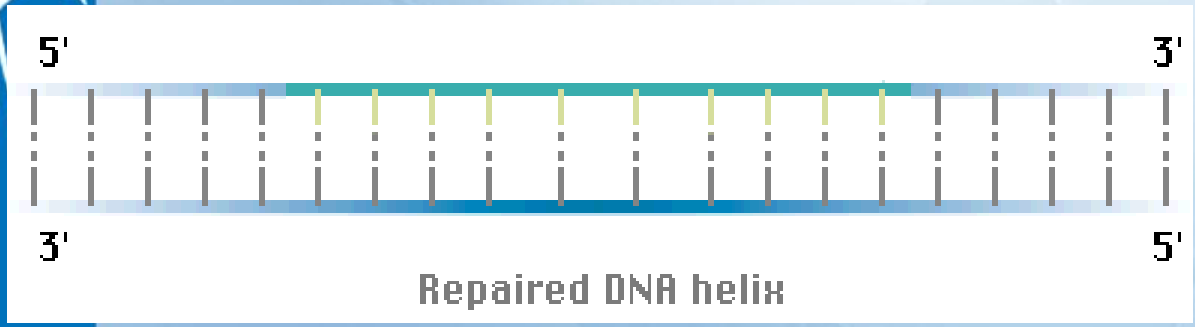
تضاعف DNA و مرض السرطان

في بعض الأحيان ، يمكن لطفرات غير صالحة أن تتسبب في أمراض مثل مرض السرطان . مثلاً ، يمكن للطفرات التي تصيب الجينات التي تتحكم في كيفية انقسام الخلية أن تؤدي إلى تكوين كتلة خلايا غير طبيعية تسمى ورماً.

Repaired DNA

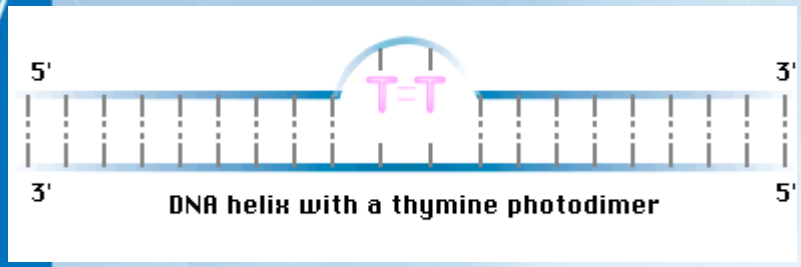
1- Photoreactivation



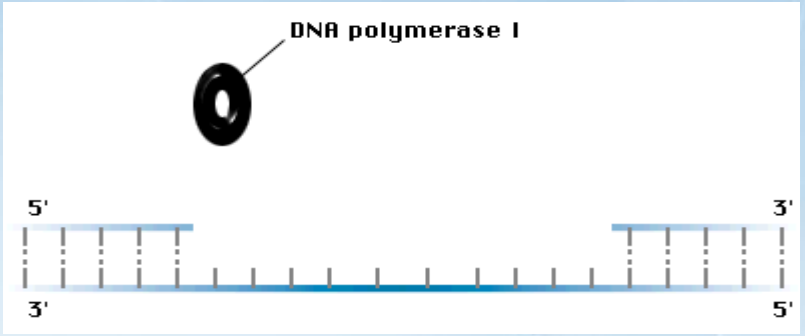


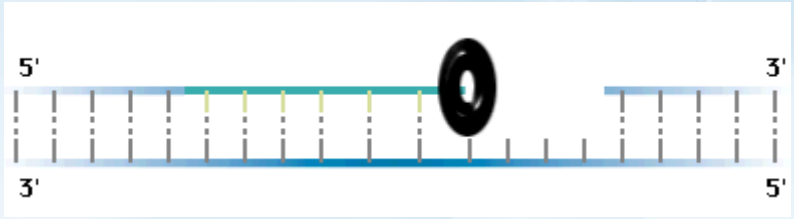
photolyase

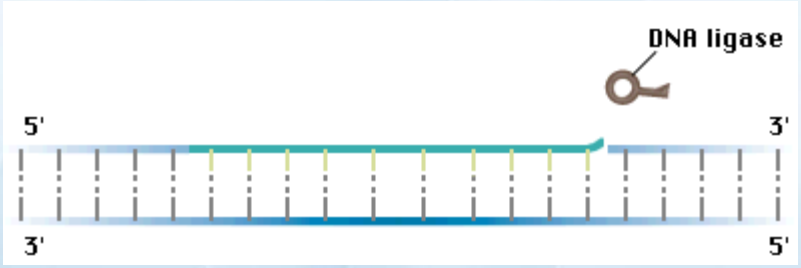
2-Excision repair mechanism



Exonuclease







Mutation

- **UV radiation** causes thymine dimers.
- **Light-repair enzymes** separate thymine dimers.

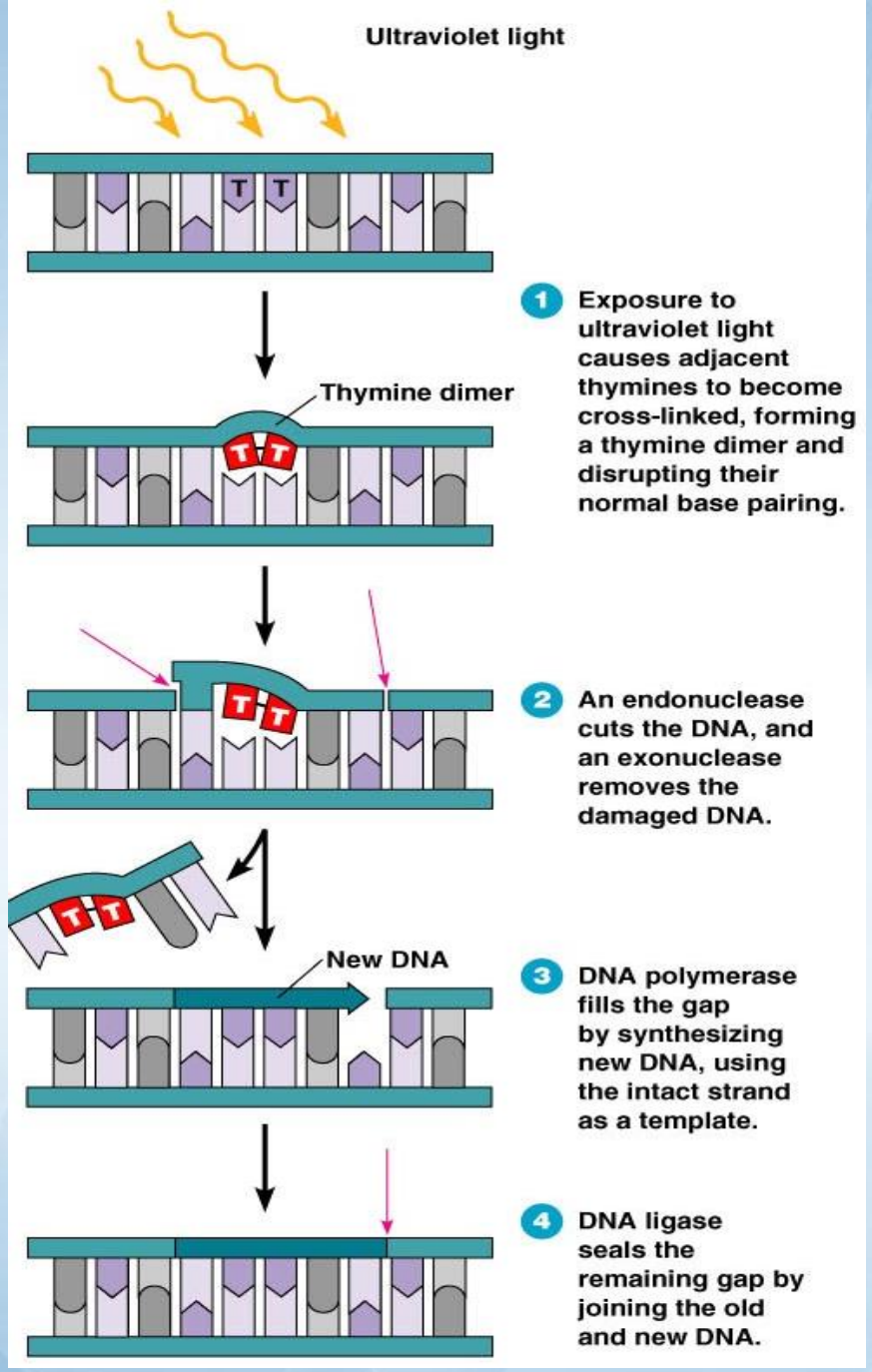


Figure 8.19

Gene Regulation in Prokaryotes

تنظيم الجينات في الكائنات غير مميزة النواة

Lactose operon (Lac. operon)

عندما تنمو البكتريا في بيئة بها سكر اللاكتوز كمصدر وحيد للكربون ينتج ثلاثة أنواع من الإنزيمات :

β - galactosidase (z)

β - galactoside permease (y)

β - galactoside transacetylase (a)

الإنزيم الأول : هو إنزيم يقسم اللاكتوز إلى جلوكوز و جالاكتوز .

الإنزيم الثانى : هو إنزيم يقوم بدفع وحدات الإنزيم الأول داخل الخلية .

الإنزيم الثالث : غير معروف له وظيفة محددة .

بينما عندما تنمو البكتيريا في بيئة ليس بها لاكتوز فإن انتاج هذه الإنزيمات ليس له نفع .

Operons

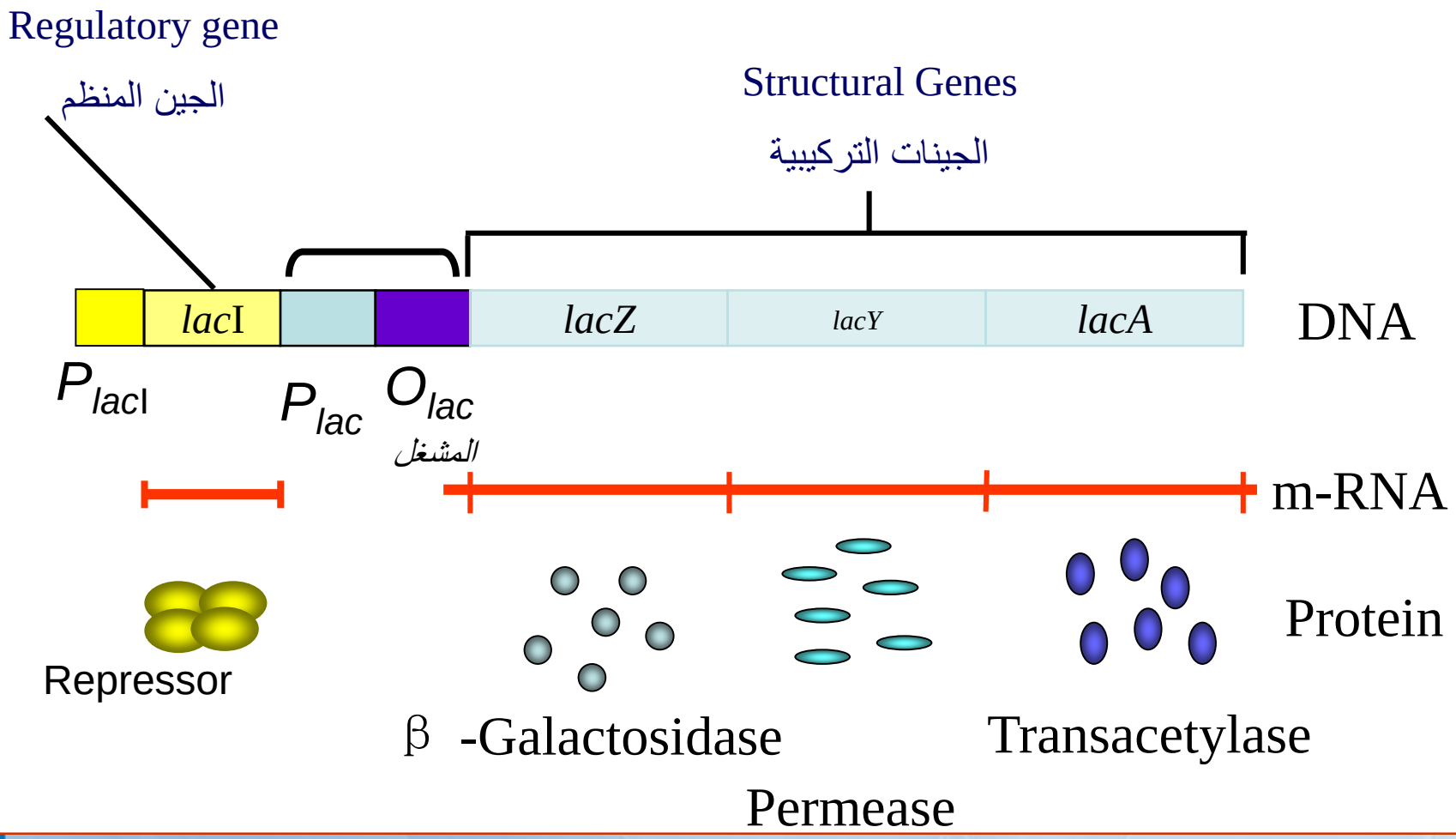
- An operon is a group of genes that are **transcribed at the same time**.
- **الأوبرون : هو وحدة نسخ وراثية ذات تعبير متناسق وهي مجموعة من الجينات توجد في عدد كبير من البكتيريا وهي تشفر لعدد من البروتينات النوعية التي ترتبط ببعضها لعلاقات وطبقة محددة و يمكن أن يتحكم في تعبيرها مشغل واحد (o) و تكون هذه المجموعة من الجينات مرتبطة بشدة على الكرموسوم البكتيري**
- They are **only found in prokaryotes**.

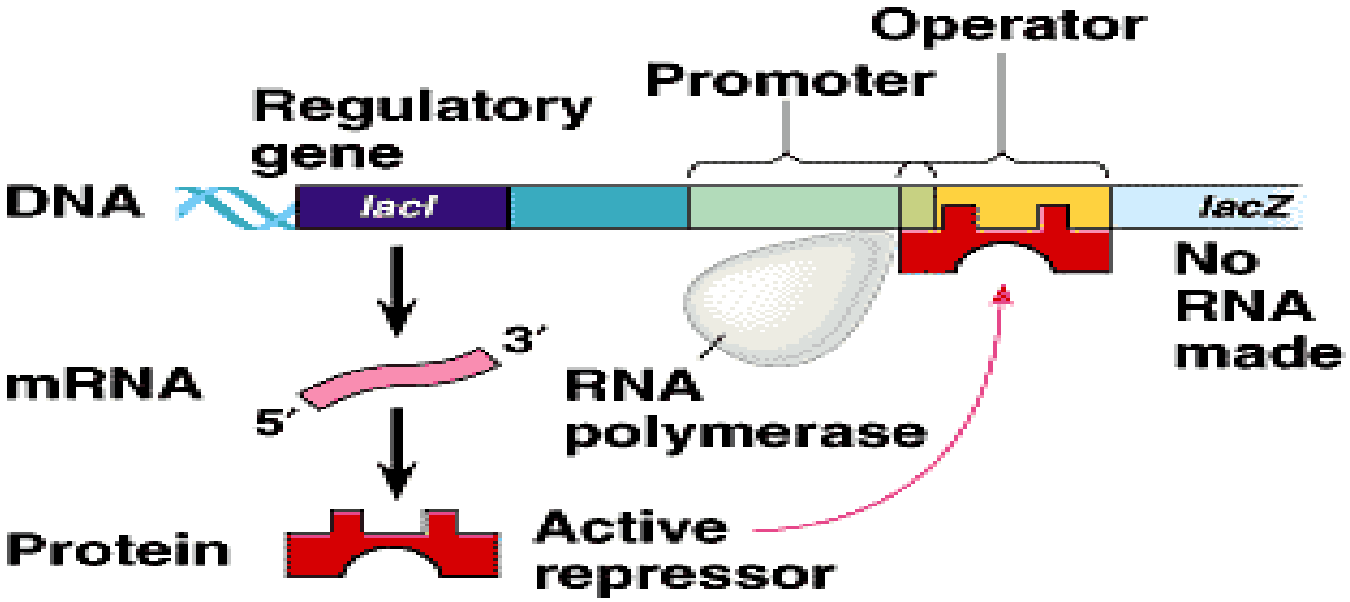
- تعريف Operon :

وحدة جينية لتشغيل الجينات اللازم لتكسير اللاكتوز

- <u>العناصر الرئيسية للأوبرون :</u>
- جينات تركيبية Structural genes .
- المشغل Operater : هو الموقع الذي يتحد فيه الـ repressor (ناتج الجين المنظم)
- المحفز Promoter :موقع ارتباط RNA polymerase ويوجد ملاصقاً للـ operator أو متداخلاً معه .
- الجين المنظم Regulator gene (i) : يقوم بالتحكم في انتاج البروتين المثبط الذي ينتج عن تفاعله مع (o) إحداث تثبيط تناسق و منتظم لجميع الجينات التركيبية معاً و في نفس الوقت بمعنى أن تحدث توقف كمي في تعبير الجينات التركيبية .

Lactose operon: a regulatory gene and 3 stuctural genes



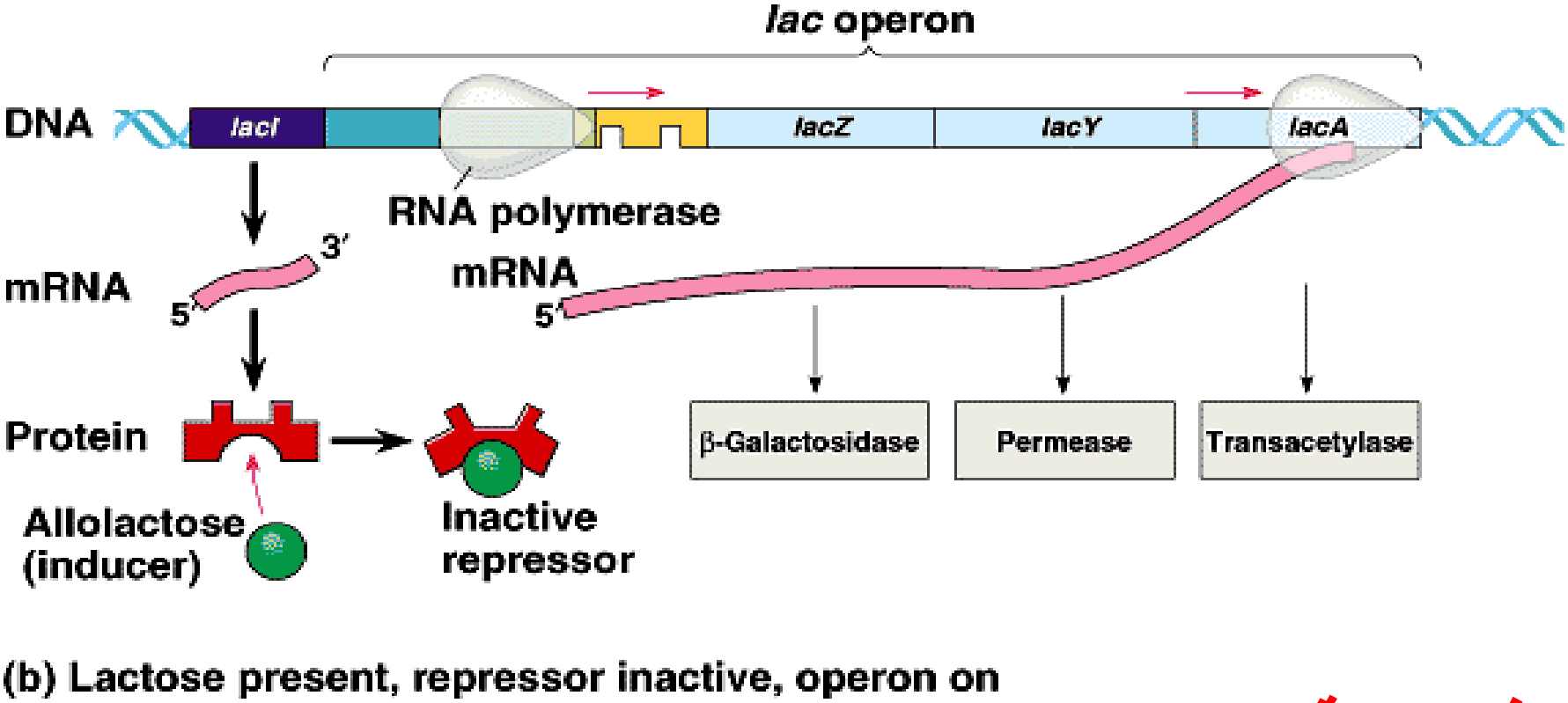


فى حالة غياب اللاكتوز:

البروتين المثبط يرتبط بالمشغل فيمنع مرور

RNA polymerase

و بالتالي يمنع عملية النسخ للجينات التركيبية



(b) Lactose present, repressor inactive, operon on

في حالة وجود اللاكتوز:

جزء من اللاكتوز يرتبط بالبروتين المثبط فيفقدة نشاطه و بالتالي لا يستطيع الارتباط بالمشغل فيصبح الطريق مفتوح امام RNA polymerase فيتم نسخ الجينات التركيبية كما في الرسم

تعريف تفاعل البلمره التسلسلي PCR

تقنية واسعة الإستخدام في البيولوجية الجزيئية ذات خاصية تستهدف جزء معين من شريط ال DNA وتقوم بمضاعفة هذا الجزء للحصول على كمية كبيرة من العينه ابتداء من كميه جدا بسيطة.

اذا يمكن القول بأن تفاعل البلمرة التسلسلي هو عبارة عن:

عملية تكرار الحمض النووي تتم في انبوبة اختبار

PCR is DNA replication in a test tube

DNA Engine
MJ RESEARCH
PTC-200

مخترع جهاز تفاعل البلمره التسلسلي

Kary Mullis

حصل على جائزة نوبل

Nobel Prize 1993

استعمالاته

ناتج التفاعل يفيد لكثير من التجارب والتحليلات بما في ذلك :

- الاستنساخ.
- معرفة تسلسل القواعد النيتروجينية.
- الطفرات.
- تحديد الهوية الوراثيةو إثبات الأبوه .
- يفيد فى مجالات الطب الشرعى
- فى تشخيص بعد الامراض مثل HIV

التفاعل يحتاج إلى
Components of a PCR Reaction

- 10x Buffer (containing Mg^{++}) محلول منظم

- Template DNA
- 2 Primers

نوعان من البادئات (أمامي و خلفي)

- dNTPs

(A, G, T, C) مخلوط من القواعد النيتروجينية

- *Taq* DNA Polymerase انزيم التفاعل

البادئات

CCGAATGGGATGC
GGCTTACCCTACG

وتكون نوعان (أمامي و خلفي)

وهي تسلسل قواعد نيتروجينيه في شريط واحد قصير(20-25 bp)

مكمل لبداية الجزء المراد تضخيمه في الحمض النووي.

انزيم التفاعل Taq DNA polymerase

مستخرج من سلالة بكتيريه تسمى *Thermus aquaticus* التي تعيش في مياه حارة.

PCRبدأ تفاعل

دوره متعاقبه لتفاعل يعتمد على إرتفاع درجة الحرارة وانخفاضها لنسخ جزء معين من الحمض النووي DNA وتضخيم هذا الجزء عدديا.

سير عملية التفاعل

هناك ثلاث خطوات مهمه والتي يقوم الجهاز بإعادتها تلقائيا بعد برمجته وهي:

1- (denatuer) مباعدة خيطي الحمض النووي عن بعضهما

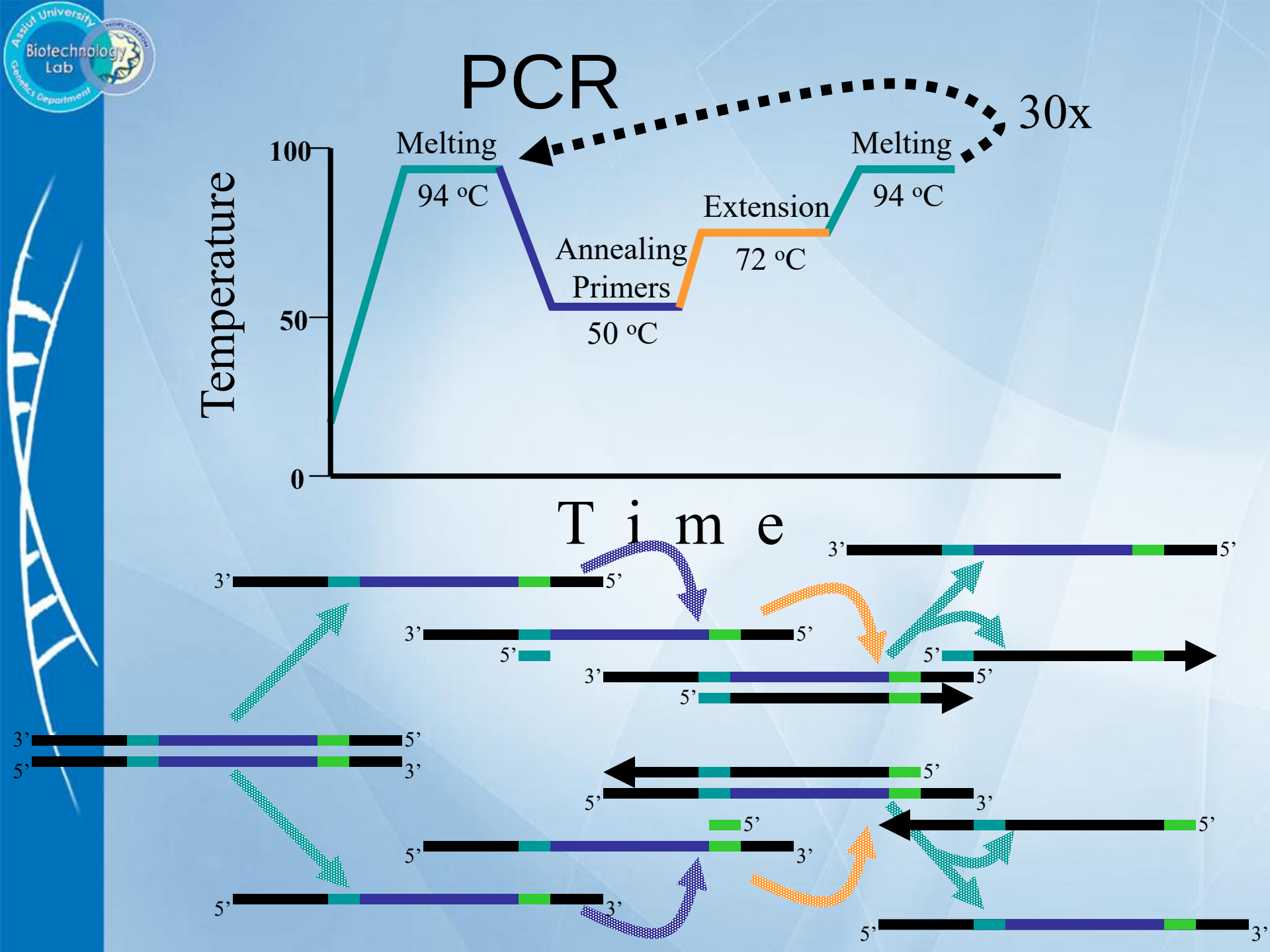
(عند 94ºC)

2- (anealing) ارتباط البادئ بخيط DNA

(عند 60 ºC)

3- (extension) استثارة الإنزيم لبدء التفاعل

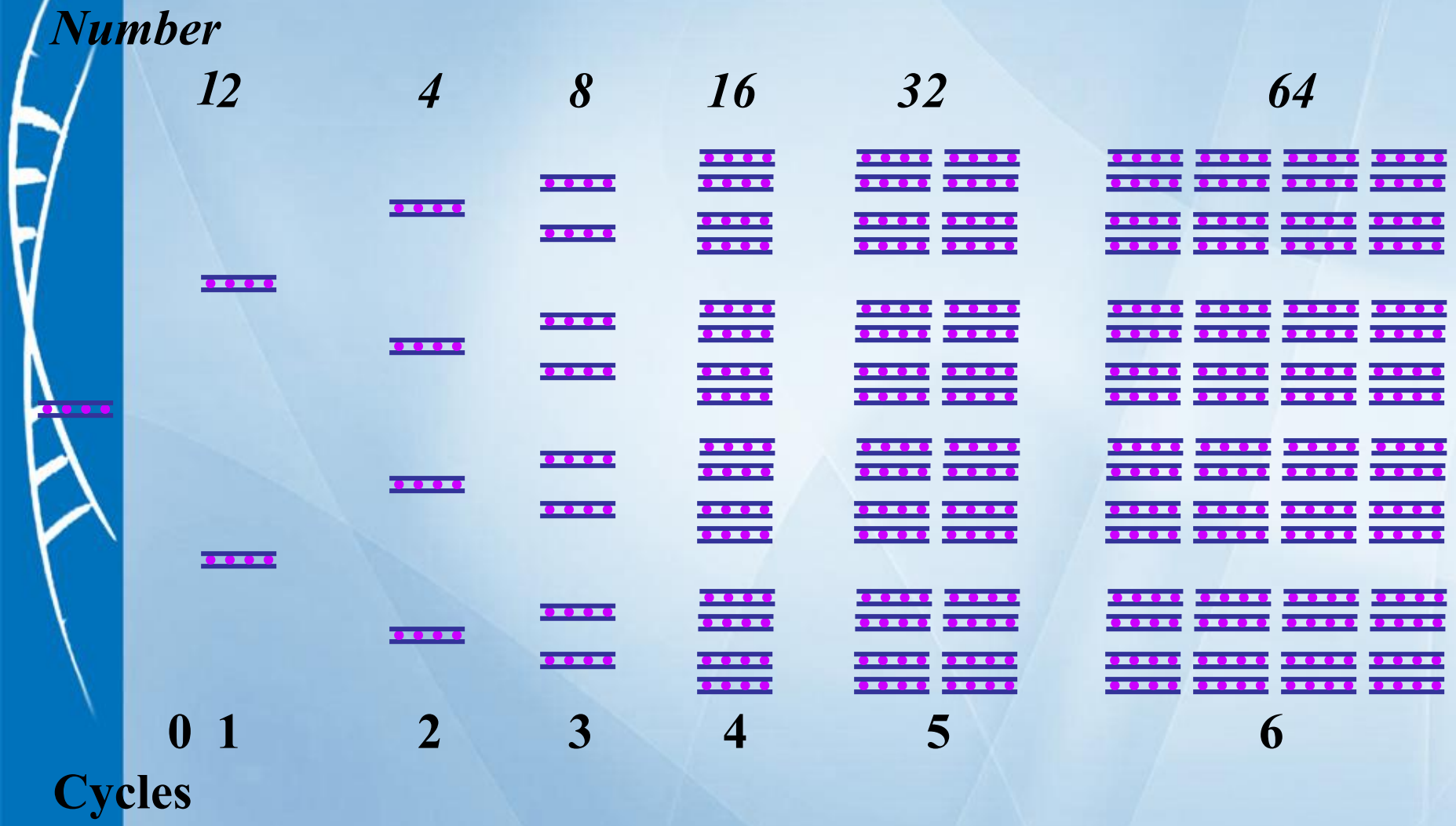
(عند 72 ºC)



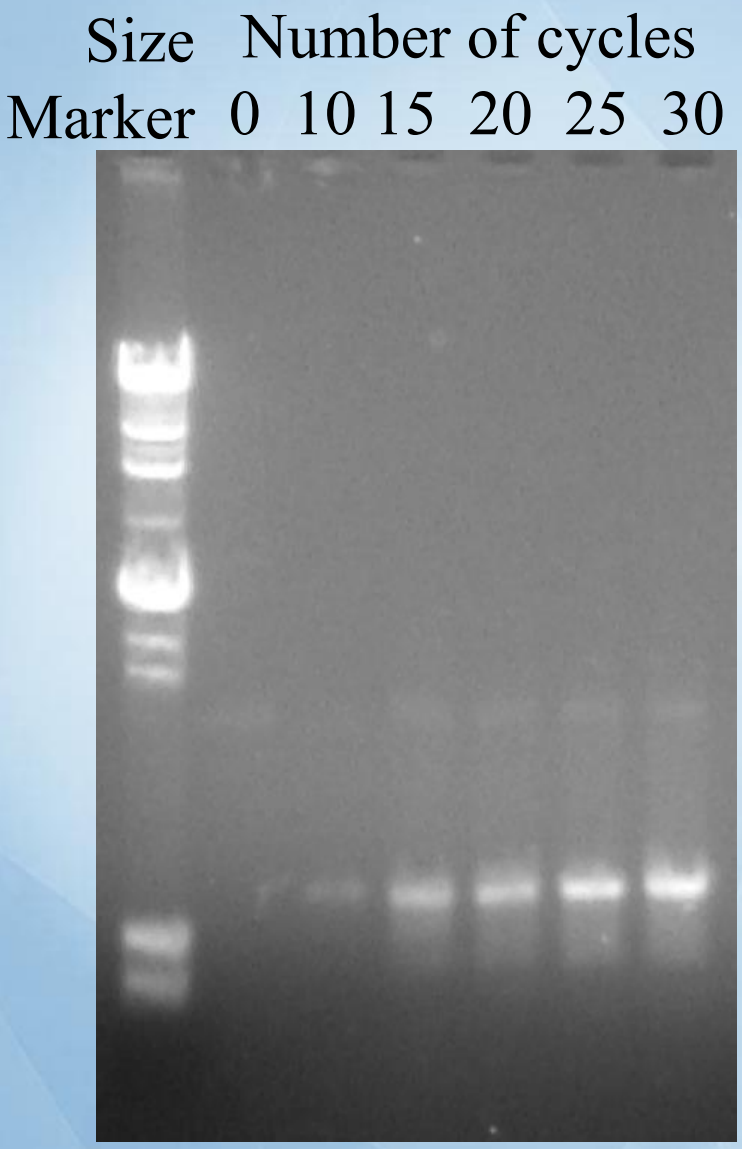
PCR

30x
Melting
94 oC
Annealing
Primers
50 oC
Extension
72 oC
Melting
94 oC
Temperature
100
50
0
T i m e
3’
5’
5’
3’

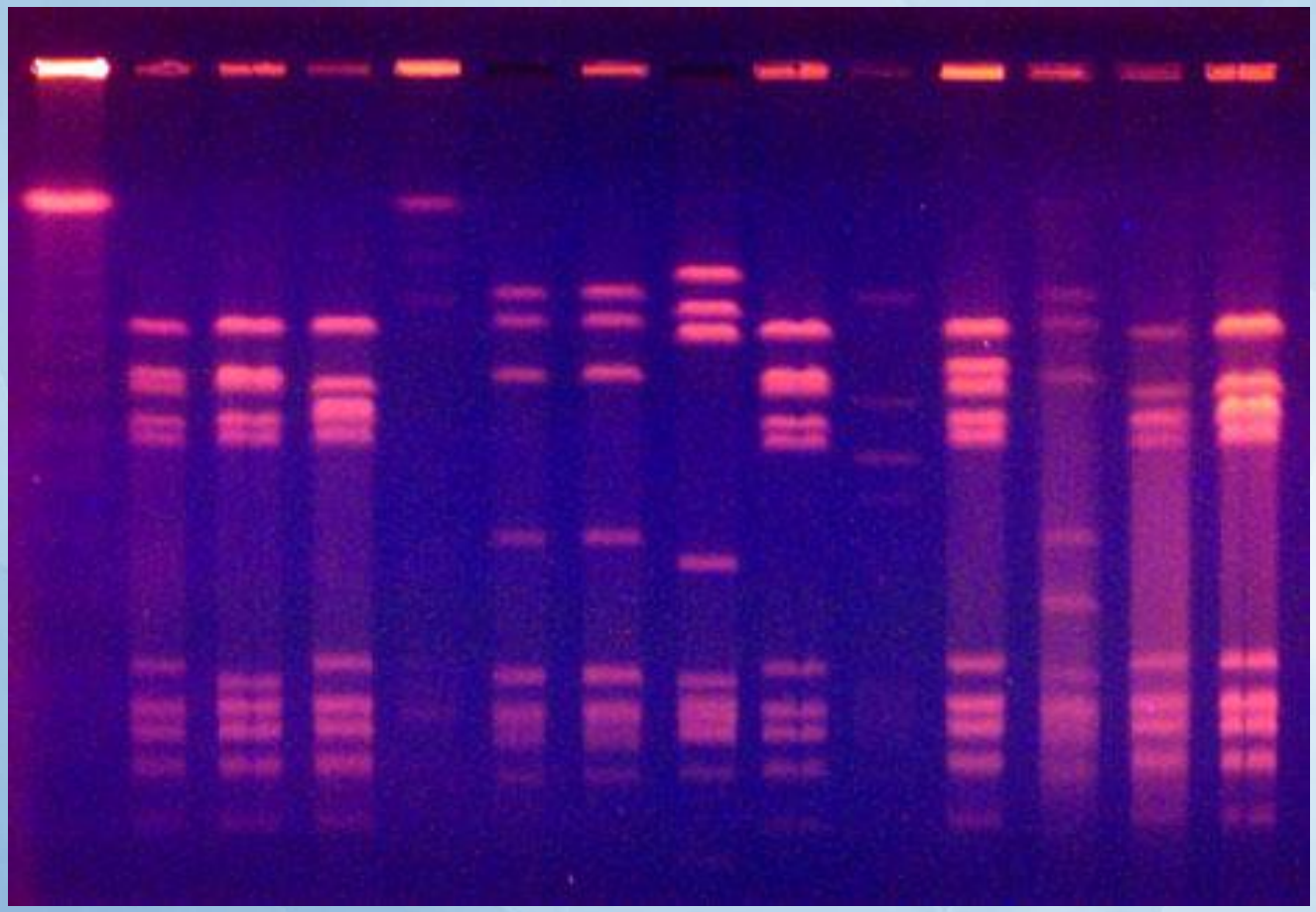
DNA Between The Primers Doubles With Each Thermal Cycle



More Cycles = More DNA



An ethidium-stained gel photographed under UV light



****Each band that you see is a collection of millions of DNA molecules, all of the same length!!**

Theoretical Yield Of PCR

التقدير النظرى لناتج PCR

Theoretical yield = 2^n x y

Where y = the starting number of copies and

n = the number of thermal cycles

If you start with 100 copies, how many copies are made in 30 cycles?

2^n x y

= 2^{30} x 100

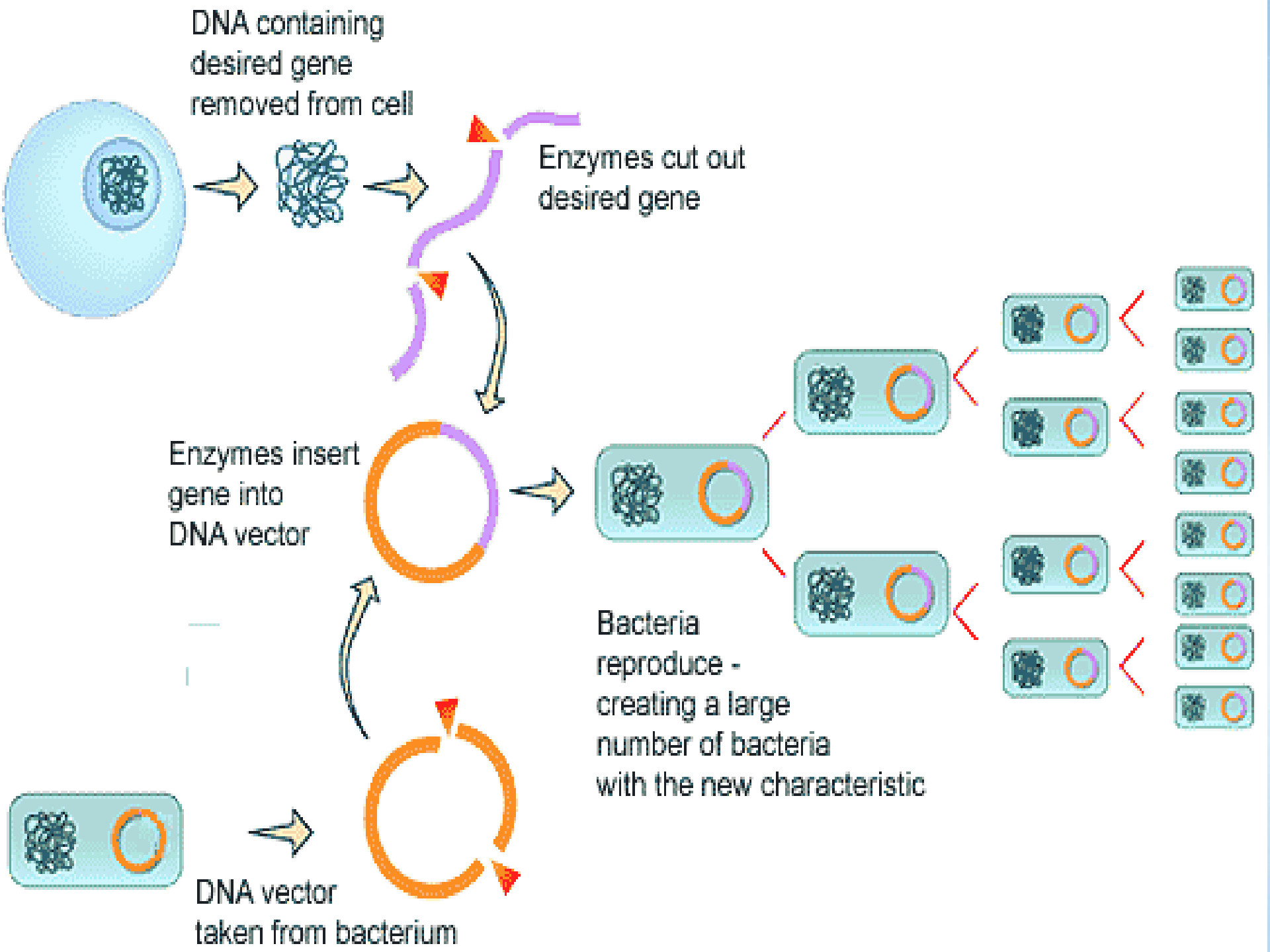
= 1,073,741,824 x 100

= 107,374,182,400

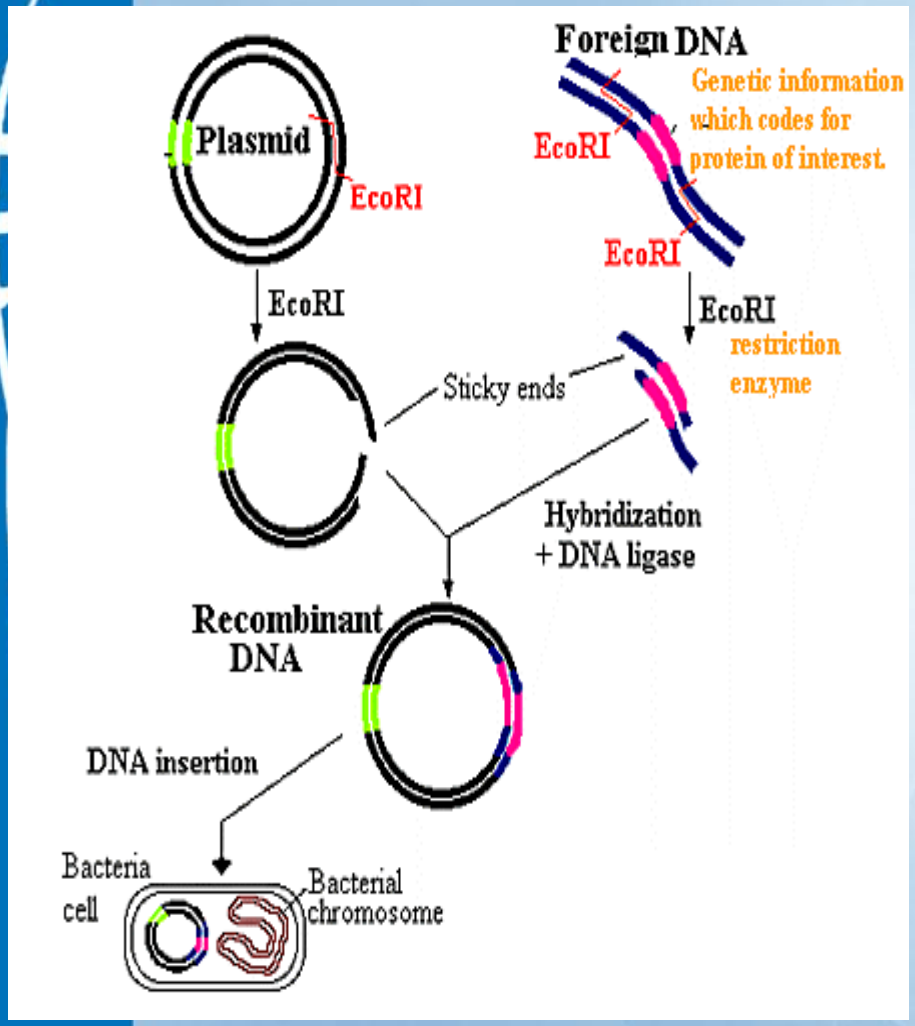
Principles of Genetic Engineering الهندسة الوراثية

- **الهندسة الوراثية : Genetic Engineering**
-
- تعتبر الهندسة الوراثية أحد أهم فروع التقنية الحيوية والتي تختص بالتقنيات والأساليب التي يمكن عن طريقها إعادة تشكيل المادة الوراثية بحذف أو إضافة أجزاء منها وذلك بهدف تغيير التركيب الوراثي للكائن الحي لإنتاج صفات وراثية جديدة ومحسنة.

ويمكن **تعريف الهندسة الوراثية** بأنها التقنية التي تتضمن نقل الجينات من كائن إلى نوع آخر من الكائنات و التعبير عن نفسها في الكائن الجديد


DNA containing desired gene removed from cell
Enzymes cut out desired gene
Enzymes insert gene into DNA vector
Bacteria reproduce - creating a large number of bacteria with the new characteristic
DNA vector taken from bacterium

Recombinant Bacteria



1. Remove bacterial DNA (plasmid).
2. Cut the Bacterial DNA with "restriction enzymes".
3. Cut the DNA from another organism with "restriction enzymes".
4. Combine the cut pieces of DNA together with another enzyme and insert them into bacteria.
5. Reproduce the recombinant bacteria.
6. The foreign genes will be expressed in the bacteria.

الخطوات الأساسية للهندسة الوراثية:

- 1- عزل الحمض النووى DNA من الكائن أو الخلية التي يراد نقل مادته الوراثية ثم تنقيته.
- 2- قطع الحمض النووى إلى أطراف حيث يحتوي كل طرف على جين معين.
- 3- التعرف على الجين المطلوب من بين هذه الجينات المعزولة.
- 4- نقل الجين المطلوب من الكائن المتبرع إلى الكائن المستقبل بواسطة ناقل مناسب.
- 5- اكثار الكائن المحتوى على الجين الجديد

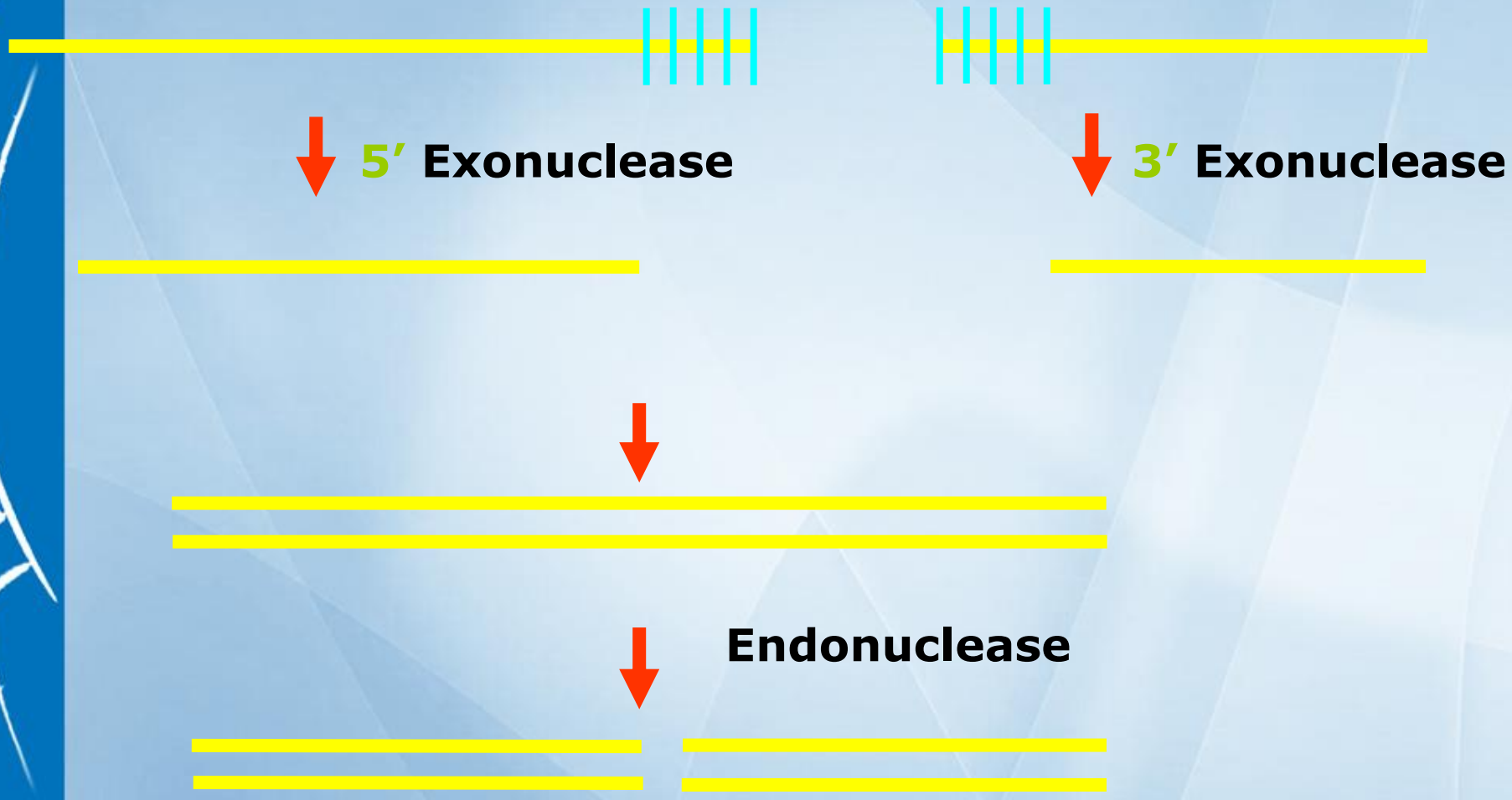
قاطعات الأحماض النووية :

Restriction Enzyme (Nucleases)

انزيمات الحد

-
- توجد في الخلية أنواع من الأنزيمات تقوم بقطع DNA عند مناطق محددة، وتعرف هذه الأنزيمات باسم **انزيمات الحد**. وتتميز مناطق القطع باحتوائها على عدد محدد من القواعد النيتروجينية. ويمكن لهذه الأنزيمات قطع خيطيى DNA عند مناطق غير متناظرة مما يؤدي إلى أطراف أحادية الخيط، ويسهل التصاق هذه الأطراف بأطراف أخرى متممة

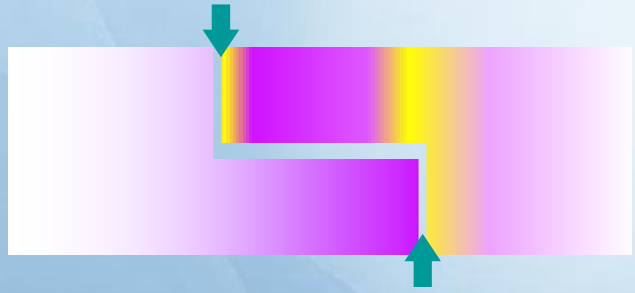
Restriction Enzyme (Nucleases)
انزيمات الحد

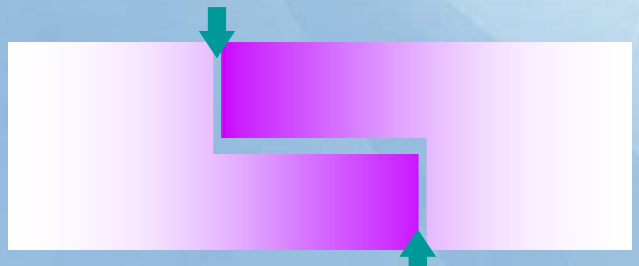


Restriction enzyme cut DNA molecules at defined positions

Palindromic sequence (Palindromes DNA)

- Because DNA is double stranded and the strands run antiparallel, palindromes are defined as any double stranded DNA in which reading 5’ to 3’ both are the same





- Some examples:

The EcoRI cutting site:

5'-GAATTC-3' –

3'-CTTAAG-5'

The HindIII cutting site:

5'-AAGCTT-3' –

3'-TTCGAA-5' –

Examples of Restriction Enzymes

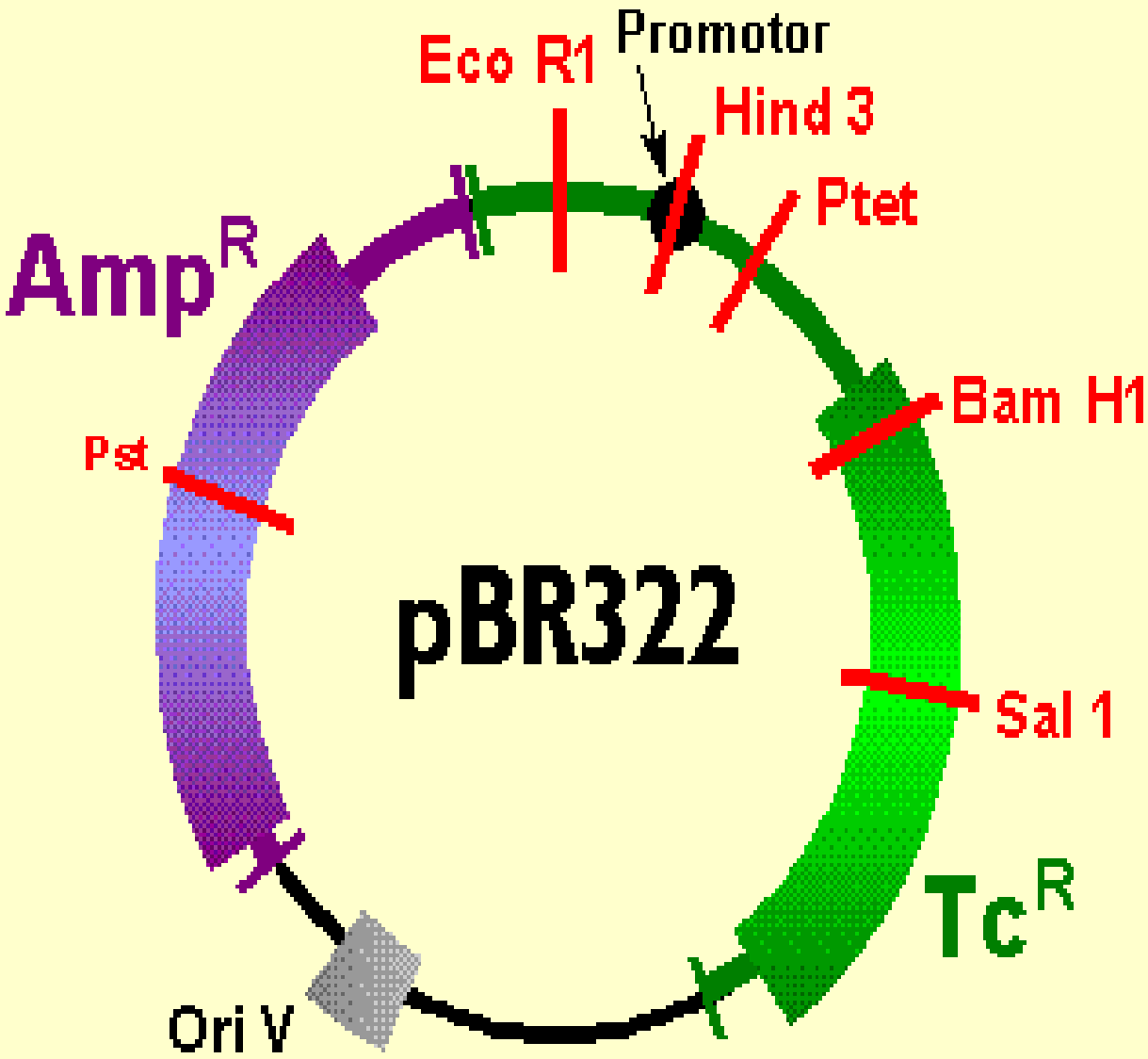
TABLE 15-1 SOME RESTRICTION ENDONUCLEASES AND THEIR CLEAVAGE SITES

Name of Enzyme	Microorganism	Target Sequence and Cleavage Sites
Generate flush ends		
Bal I	*Brevibacterium albidum*	↓ TGG|CCA ACC|GGT ↑
Generate cohesive ends		
EcoR I	*Escherichia coli*	↓ GAA|TTC CCT|AAG ↑
BamH I	*Bacillus amyloliquefaciens H.*	↓ GGA|TCC CCT|AGG ↑
Hind III	*Haemophilus influenzae*	↓ AAG|CTT TTC|GAA ↑
Pac I	*Pseudomonas alcalignes*	↓ TTAA|TTAA AATT|AATT ↑

نواقل الجينات :البلازميد plasmid

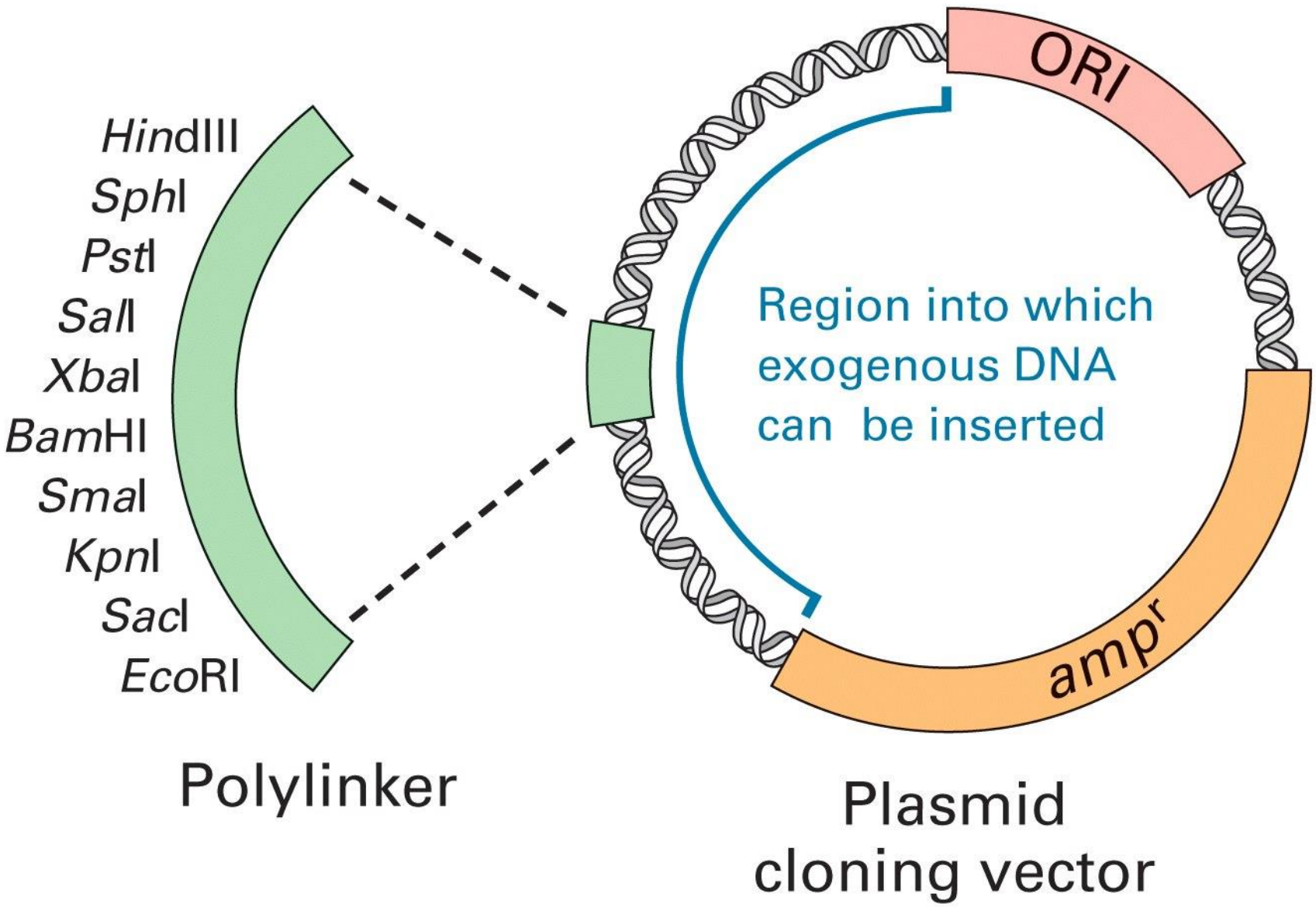
- توجد أنواع من البكتيريا تحتوي خلاياها على كروموسوم صغير، إضافة إلى الكروموسوم الأصلي الموجود في النواة. وقد أطلق على هذا الكروموسوم الصغير اسم: **البلازميد**. وهو عبارة عن جزيء من DNA الحلقى صغير الحجم ويحمل بعض الجينات تمكن البكتيريا من مقاومة بعض المضادات الحيوية. ومن طبيعة هذه البلازميدات أنها تتكاثر ذاتياً داخل الخلايا الجديدة وتنتقل من جيل إلى آخر.
- ومن امثلتها بلازميد **pBR322**

Cloning Vector - pBR322



Amp^R = Ampicillin Resistance gene

Tc^R = Tetracycline Resistance gene


HindIII
SphI
PstI
SalI
XbaI
BamHI
SmaI
KpnI
SacI
EcoRI
Polylinker
ORI
Region into which exogenous DNA can be inserted
ampr
Plasmid cloning vector

ويمكن تلخيص أهداف الهندسة الوراثية في الإنتاج الحيوانى فيما يلي :

- 1- تحسين إنتاجية الحيوانات .
- 2- تغيير خصائص المنتجات الحيوانية وإنتاج مركبات حيوية مهمة .
- 3- زيادة قدرة الحيوانات على مقاومة المرض .
- 4- تحسين قدرة الحيوانات على الاستفادة من العناصر الغذائية .
- 5- زيادة قدرة الحيوانات على التأقلم مع الظروف البيئية .
-

تطبيقات (أهمية) الهندسة الوراثية في المجال الزراعي:

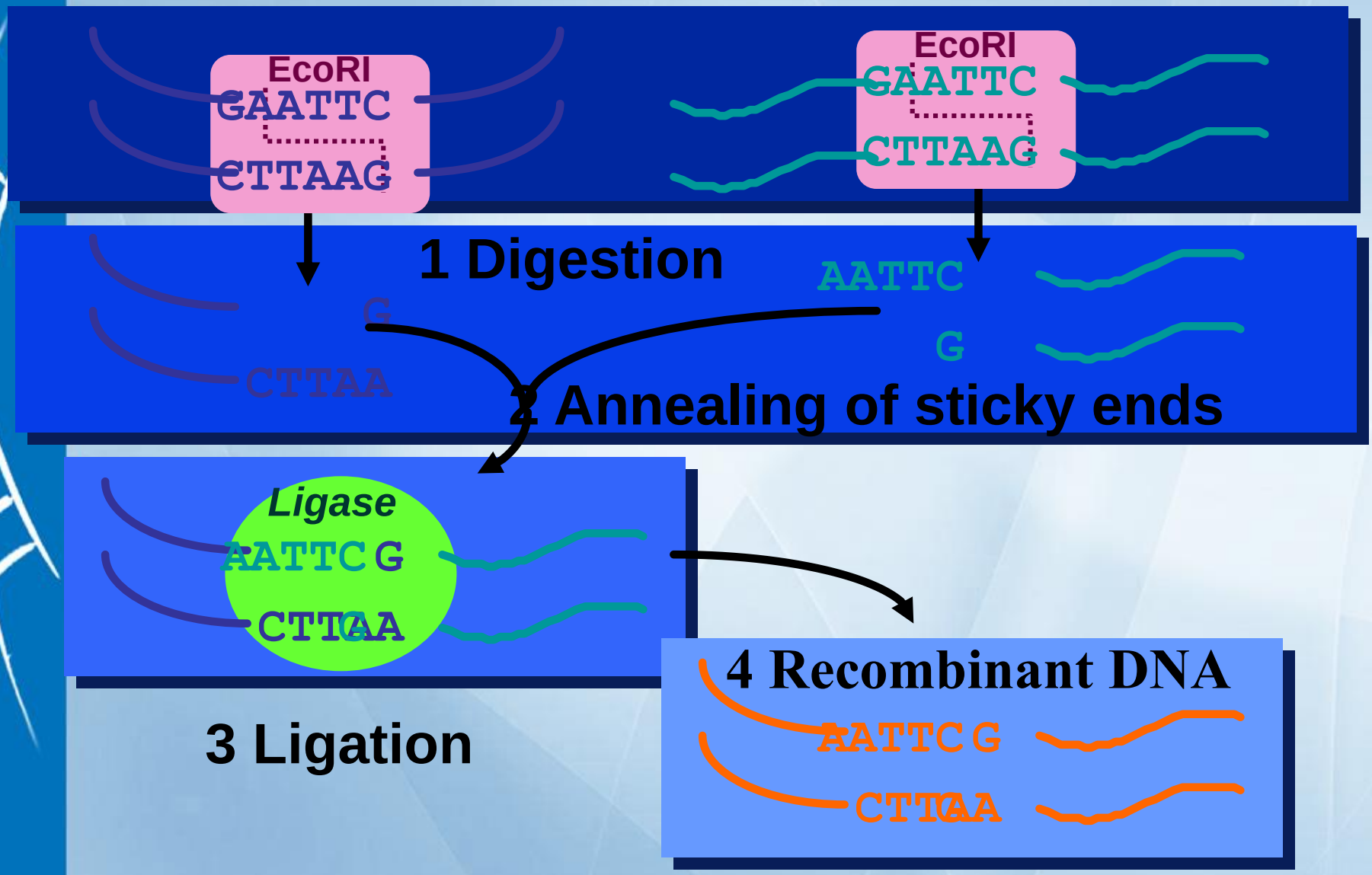
- 1- إنتاج سلالات نباتية جديدة مقاومة للأمراض الفيروسية.
- 2- إنتاج محاصيل مقاومة للآفات الحشرية
- 3- إنتاج نباتات لها القدرة على تكسير مركبات المبيدات.
- 4- إنتاج أزهار بألوان زاهية وبتشكيلة متنوعة.

اهمية الهندسة الوراثية في المجال الطبي

- 1- تحديد البطاقة الشخصية الوراثية للجنس البشري.
- 2- الكشف عن قابلية شخص ما للإصابة بأحد الأمراض أكثر من غيره بسبب استعداده الوراثي.
- 3- بناء مشاريع أكثر طموحاً، كصناعة الأنسولين، الإنترفيرون، والأنترلوكين، وهرمونات النمو.
- 4- تم التوصل إلى فهرسة حوالي 1500 جين، وقد عرف موضع وبنيان حوالي 3000 جين .
- 5- عزل الجينات المريضة ودراسة التتالي فيها(التتابعات)، وقد تم تحديد تتابع 3000 مليون قاعدة تؤلف مجموع جينات الإنسان، وهذا يساعد على فهم أعمق لطبيعة المرض وطريقة انتقاله وراثياً وإمكانية علاجه.
- 6- اكتشاف جديد في مستوى دور الجين في الأمراض السرطانية، حيث تم عزل أكثر من 30 مورثة جينية مسؤولة عنها.

R. E.s and DNA Ligase

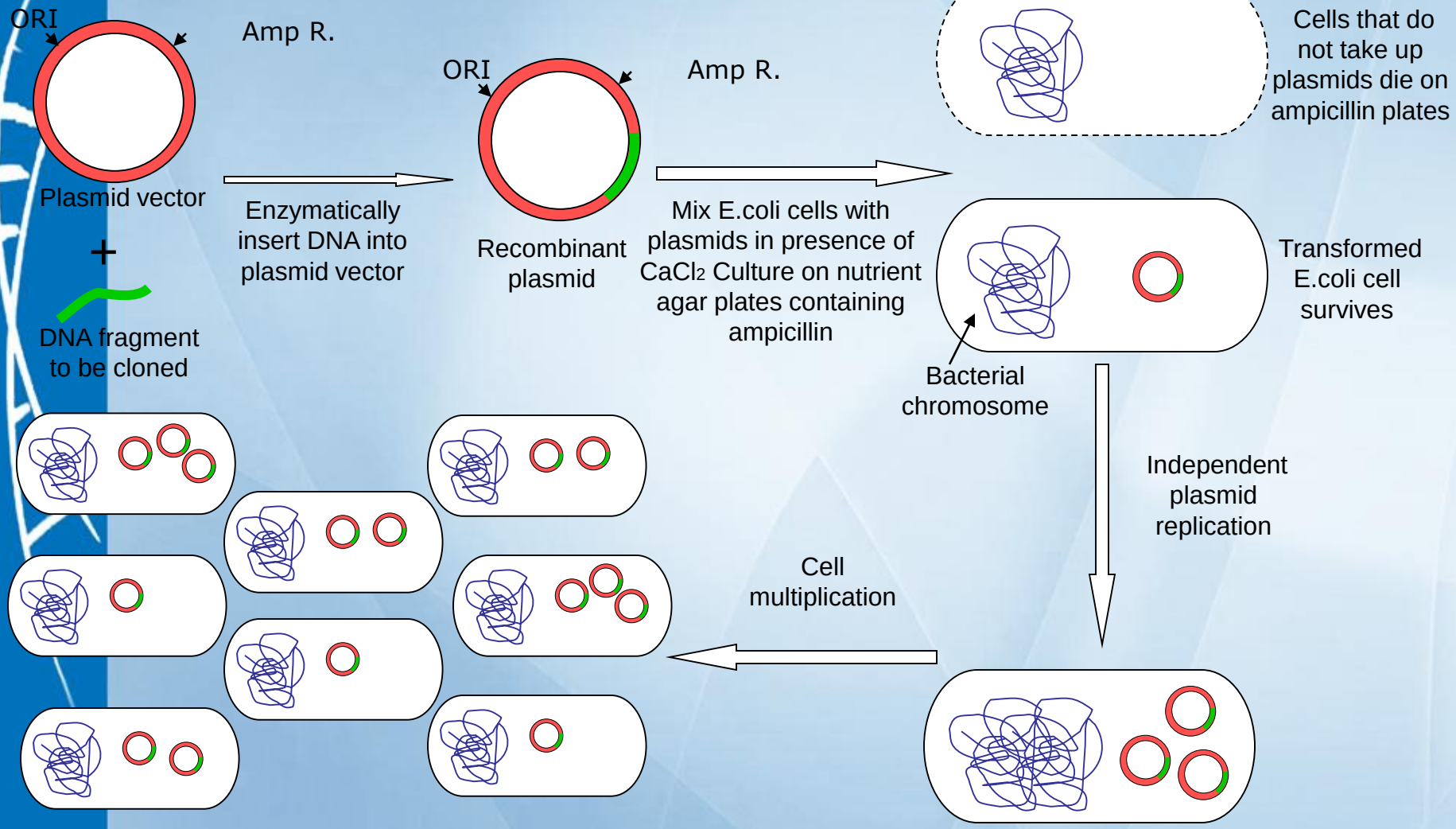
Can be used to make recombinant DNA



Recombinant DNA
معاد الاتحادDNA

- يتم في هذه الحالة قطع الحمض النووي من الخلايا المتبرعة المحتوية على الجين المرغوب والبلازميد بنفس أنزيم الحد لأجل استحداث أطراف ذات نهايات متممة بين الحمض النووى والبلازميد، وعند إضافة الأجزاء المقطوعة من الحمض النووى إلى أجزاء البلازميد يتكون بلازميد جديد يحمل الجين المرغوب يمكن إدخاله في الخلية البكتيرية ليتكاثر بداخلها.

Clone library



Benefits of Recombinant Bacteria

1. Bacteria can make human insulin or human growth hormone.

1. Bacteria can be engineered to “eat” oil spills.

The DNA of plants and animals can also be altered.

PLANTS

.1 disease-resistant and insect-resistant crops

2. Hardier fruit

3. 70-75% of food in supermarket is genetically modified.