المحاضرة الخامسة : الخواص الفيزيائية للحوامض النووية

تمتلك الحوامض النووية من DNA و RNA شأنها شأن المواد العضوية الاخرى عددا من الخواص الفيزيائية المميزة التي يمكن الاستفادة منها في العديد من المجالات المختبرية والتطبيقية ومن هذه الخواص:

1- امتصاص الضوء:

تتميز المركبات الحاوية على اواصر مزدوجة بقدرتها على امتصاص الاشعة الكهرومغناطيسية وتتوقف قدرة المركب على امتصاص الاشعة على تركيب الجزيئة وعدد الاواصر المزدوجة فيها وموقعها ، وتمتاز القواعد النيتروجينية التي هي وحدات البناء المهمة لكل من الدنا والرنا بامتصاصها للأشعة في المجال فوق البنفسجي Ultraviolet ، ويقع أعلى امتصاصية لهذه الاشعة من قبل القواعد النيتروجينية في الطول الموجي 260 نانوميتر ، بينما يكون اعلى امتصاصية للأشعة من قبل البروتينات (الاحماض الامينية) في 280 نانوميتر ، يستفاد من خاصية تباين قدرة الحوامض النووية والبروتينات في امتصاص الاشعة فوق البنفسجية في اطوال موجية مختلفة في العرف على نقاوة مستخلصات الدنا والرنا ، اذ يعد مستخلص الدنا بنقاوة 50% او اكثر متى ما كانت نسبة امتصاصيته على الطولين الموجيين (260/280) لا تقل عن 1.8 ، وتتميز الاشرطة المفردة من الدنا بكون قابلية امتصاصها اعلى من الاشرطة المزدوجة اذ كلما قل التعقيد زاد الامتصاص .

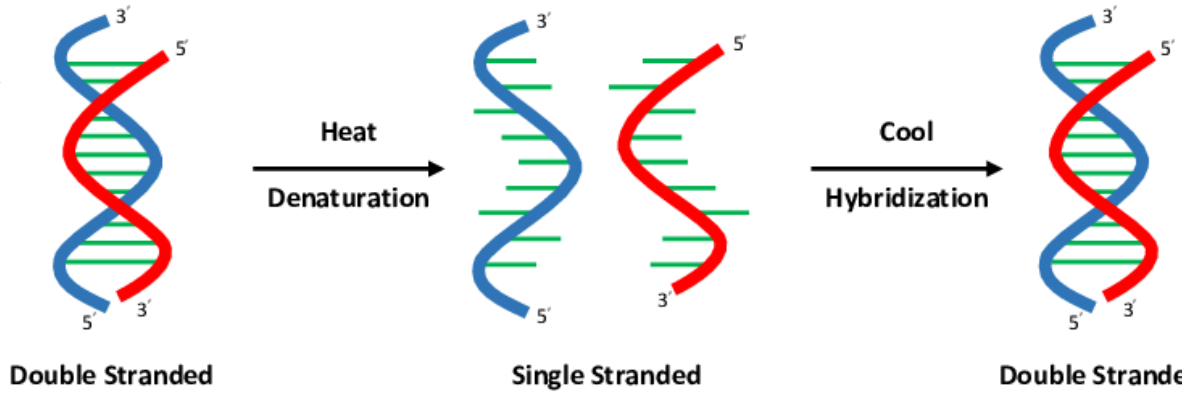
ويذكر ان وجود بعض الملوثات مثل الفينول ، الذي عادة ما يستخدم في استخلاص الدنا غالبا ما يؤثر في دقة تقدير تركيز الدنا في مستخلصاتها ، فوجود الفينول يسبب في زيادة الامتصاصية للمحلول مما يوهم بوجود الدنا بتركيز عال ، ويفضل في حالة وجود الملوثات في محاليل الاستخلاص بتراكيز عالية او في حالة وجود الدنا نفسها بتراكيز ضئيلة اعتماد قياس كثافة التفلور Fluorescence intensity باضافة صبغات خاصة الى المستخلصات مثل بروميد الاثيديوم الذي يتميز بارتباطه النوعي بالاحماض النووية ، وعادة ما تحتاج العملية الى اجهزة قياس التفلور الضوئي Fluorescence photometer ،وتستخدم المادة نفسها (بروميد الاثيديوم) في التعرف على حزم الدنا عند ترحيلها كهربائيا على الاكاروز من حيث الموقع والتركيز بالمقارنة مع الحزم القياسية.

2- مسخ الحامض النووي الـ DNA (Denaturation) :

من المعروف ان الشريطين المزدوجين في جزيئة الدن ذات الشكل الحلزوني يرتبطان ببعضهما بواسطة اواصر هيدروجينية ، وتعد الاواصر الهيدروجينية من الاواصر الضعيفة مقارنة بالاواصر التساهمية التي تربط اجزاء او مكونات النيوكليوتيدات المختلفة مع بعضها ، عليه فهي سريعة التأثر بالحرارة وهذا يعطي احتمال انفصال شريطي الدنا عند تعرضهما الى المعاملة الحرارية في محاليل بتراكيز معينة.

ليست الحرارة وحدها بل ان بعض العوامل الكيمياوية كالحوامض والقواعد والمواد التي تسبب في زيادة ذائبية المجاميع غير المستقطبة مثل القواعد النيتروجينية كاليوريا والفورمالديهايد وغيرها ، اذ توصف عملية المسخ بانها عملية تحول الحلزون المزدوج الفعال للـ DNA الى خيط عادي غير فعال.

عند ارتفاع درجة حرارة المحلول الذي يحتوي على الدنا يؤدي هذا الارتفاع الى انفصال شريطي المزدوج الحلزوني بانفصال الاواصر الهيدروجينية بين القواعد النيتروجينية ، ويرافق عملية الانفصال زيادة في الكثافة الضوئية ، وعند انخفاض درجة الحرارة تبدأ عملية اعادة الارتباط تدريجيا والتخريب الجزئي يعاود الارتباط بسرعة في حين التخريب الكلي يستغرق وقتا اطول ، ويرافق اعادة الارتباط هذه قلة في الكثافة الضوئية.



3- التأثرات او التداخلات الايونية :

تكون جزيئات الدنا في شكلها الحلزوني سطوحها الخارجية حاملة لشحنات سالبة بكثافة عالية بسبب وجود اعداد هائلة من مجاميع الفوسفات ، وعليه فان جزيئات الدنا تمتلك القدرة على الارتباط مع مجاميع ذات شحنات موجبة كارتباطها ببعض البروتينات القاعدية مثل الهستونات والتي تشكل مع الدنا ما يعرف بالكروموسومات في خلايا كائنات حقيقية النواة.

4- خزن الحامض النووي داخل نواة الخلية:

يرزم الحامض النووي داخل نواة الخلية مهما كان طوله من خلال الكروموسومات ذات اللف الفائق.

5- اللف الفائق للحامض النووي :

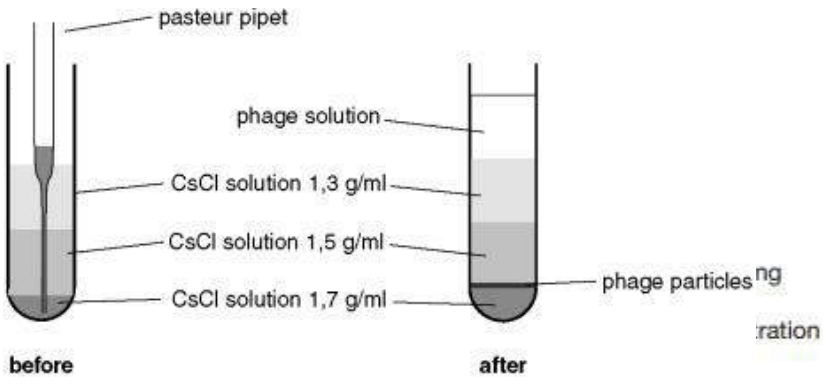
يحصل لف فائق في كل من DNA و RNA الخلايا الحقيقية النواة والبدائية النواة وكذلك في الفايروسات ولكن درجة اللف الفائق في RNA اقل تعقيدا من DNA ، ولهذا اللف الفائق وظائف منها :

- خزن الحامض النووي ضمن حجم النواة .
- السيطرة على ظروف تضاعف واستنساخ الحامض النووي داخل الخلية.
- الوقاية من تأثير انزيمات التجزئة.

6- اللزوجة والكثافة :

نقصد باللزوجة مقاومة السائل للانسياب ، واللزوجة ناتجة اساسا من احتكاك الجزيئات بعضها ببعض في السوائل ، وتمتاز محاليل DNA بلزوجتها العالية وتزداد اللزوجة مع زيادة طول جزيئات DNA ، وان الدنا الحلزوني المزدوج يمتلك لزوجة اكبر من الدنا ذات الاشرطة المفردة.

اما كثافة محاليل DNA فيعتمد على تركيز المحلول وعلى شكل الدنا البنائي او هيئتها الفراغية وفيما اذا كان مفردا او مزدوجا او دائريا مغلقا او مفتوح النهايتين او فائق الالتواء، ويمكن استخراج كثافة الدنا بالطرد المركزي الفائق Ultracentrifgation في المحاليل متدرجة الكثافة من كلوريد السيزيوم CsCl اذ تتحرك جزيئات الدنا باتجاه القوة الطاردة المركزية وتستقر في موقع معين من هذا المحلول تساوي كثافته جزيئات الدنا أي عند النقطة التي تتعادل فيها كثافة المحلول مع كثافة الدنا والتي تسمى Isopycnic density ويمكن تحديد مواقع تجمع جزيئات الدنا بقياس امتصاص الضوء على الطول الموجي 260 نانوميتر للاجزاء متدرجة الكثافة لمحلول كلوريد السيزيوم وتتركز الكثافة العالية لكلوريد السيزيوم باتجاه القوة الطاردة المركزية.



density	1,7 g/ml	1,5 g/ml	1,3 g/ml
quantity of CsCl	56,24 g	45,41 g	31,24 g
volume of solution SM	43,76 ml	54,59 ml	68,76 ml