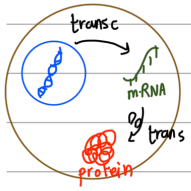
ch1 Molecular biology

Nucleic Acids هي biochemistry بس مركزة على

كود لتصنيع البروتين وغيره

AGCT } → protein

1 gene = 1 polypeptide = 1 protein



***central Dogma**

gene expr

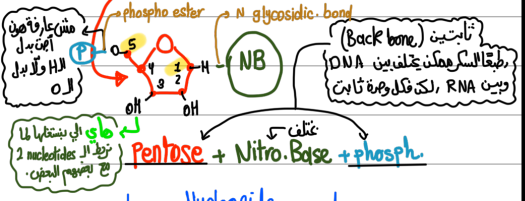
= transc + trans

* Nucleic Acids polymer

→ Macromolecules

O—O—O—O—

↳ Nucleotide (Monomer)



مش عارف وين أحط بدل الـ H ولا بدل الـ OH

(Back bone) ثابت — طبعاً السكر ممكن يختلف بين DNA وبين RNA لكن فكرة ثابت

هاي الي بنشبك الها 2 nucleotides لتربط مع بعضهم البعض

Pentose + Nitro. Base + phosph. (تختلف)

|—— Nucleoside ——|

|—— Nucleotide ——|

*Pentoses → ((الفرق في كربون رقم 2))

↳ Ribose (RNA)

↳ deoxyRibose (DNA) منقوص الاكسجين

* Nitrog. bases (+)

↳ Pyrimidines C U T (Both, RNA, DNA)

C U T

الـ T بنضيع من الـ U

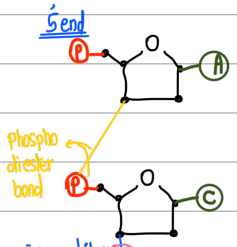
↳ Purines A G (Both DNA & RNA)

A G

* T + Pentose = Thimosine

* T + Pentose + P = Thimosine phosphate

* A + Pentose = Adionsine



* A + Pentose + P = Adionsine phosphate

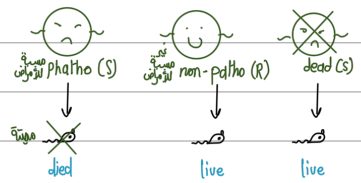
→ Guanine { Guanosine { Guanosine pho.

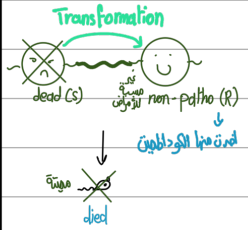
Nitro-base — NB + Pentose — NB + Pentose + P

* Nucleic Acid

polymer of nucleotides

((OH بنبني من عنّا))





الي لسا فاضل الها الـ OH مابه استقلال

5' 3' } Antiparlel

1) DNA

2) RNA mostly single (mostly مش Always فئ)

كيف توصلوا لكل هاي الأمور

* Transformation "Griffith"

strep Pneumonia — مشرف تعامل مع بكتيريا وفئران

Pr, CHO, RNA, DNA ✓✓ صار Transform

فاستنتجوا انو هو المادة الي فيها هالكود.

* Chargaf's rules

1. [A] = [T], [G] = [C] in DNA
2. variation in NB

*Rosalind → X ray crystalography

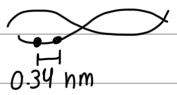
*Watson & Crick

وصلوا الى النموذج الي وصلوا لآخر الأمر لكل هالشي.

- DNA double helix
- Antiparallel 5'→3', 3'→5'
- Back bone برا الثابت & NB جوا
- fixed width
- A=T, G=C } متممة

((لأنو غالبا موجودين بالنواة)) ((وليس دائما))

Ch 3. Nucleic Acid structure



*DNA O—O—O—O polymer ↳ phospho diester bond

↳ distance between nucleotides

cells → Procaryotes / Eukaryotes

* size DNA

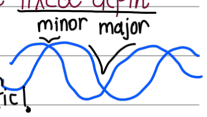
∴ DNA length = 0.34 * no. Base pairs

انتبه لو أعطاك عدد الـ nucleotides انو اقسم على 2

ex: plasmid, 4,361 BP → 4,361 * 0.34 = 1.480 Mm

*Fragile مش → in covalent bond O-x-O

مش بكون قوي عن انفصال الـ Base pairs عن بعض



ولونه مش مبين كثير بالرسمة لأنها 3D

→ Major & minor groove have fixed depth but different width

Protein binding to DNA is specific to Bases pairs & to groovs (Major or Minor)

Un winding — re-anealing

* denaturation & renaturation

انو هون فكينا الـ non-covalent bonds مثل الـ Hydrogen bonds وبس رجعها للشكل الأصلي على عكس لو أكسر الـ Covalent bond صعب أرجعه للشكل الأصلي.

- **dynamic (DNA Breathing)**

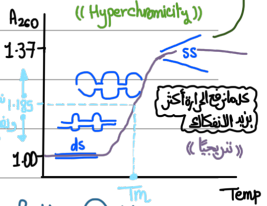
لأنه بزيادة الحرارة تتحول من ds لـ ss ((Hyperchromicity))

قارن امتصاصها للضوء 260

→ ds DNA → $A_{260} = 1.00$

→ ss DNA → $A_{260} = 1.37$

→ nucleotides → $A_{260} = 1.60$



Tm: is the temp where half of the DNA is ss & half of it is ds. (Absorbtion between 1.37 & 1.00)

Tm بتختلف من مركب لمركب ولما كانت أعلى بتكون أكثر stability وهي بتعبر عن قوة الـ molecule.

• factors that affect stability

1- hydrophobic interaction

2. H. bonds $C \equiv G$ $A = T$ ↑stability

← اجمالاً الـ H.b أقوى من (1) لكن (1) أكثر فكحصلة بطلعوا أقوى

cuz it's triple bond

∴ ↑ CG ↑ stability ↑ Tm

3. hydrostatic / ionic interactions لما يتجاذب اشي موجب مع اشي سالب

↓ stability like between phosphates

وجوده بلغي التنافر * Na^+

∴ وجود NaCl بزيد الـ stability ↑

4. Temp ↓ stability

Can break phosphodiester فبدنا نشتغل مع الحرارة اشياء ثانية لمنع تكسر هاي الروابط

أو مادة قاعدية مثل NaOH

5. Alkali ↓ stability = تفكك وتكسر

without breaking phosphodiester bond.

6. Acid ↓ stability

depurination ((بيتفكك الـ Purines فبيضل فراغ))

* for correct reannealing:

1. [NaCl] 0.15 – 0.5 M

2. Temp 20° – 25° less than Tm

اذا قللنا كثير بصير في ربط خاطئ واذا زدنا بيبطل في ربط

● Topoisomers → 3D يختلفوا بالشكل الـ

Bacterial DNA (Circular)

Chromosomal — Plasmid

انا لما يكون double stranded دائري بس بقدر يعمل فيه اشكال أكثر

• by enzymes

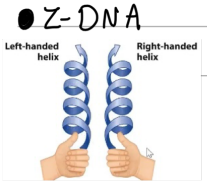
اللي ركزوا عليه Watson & crick

* DNA conformations أنواعه :-

● B-DNA → B-DNA واللي اكتشفوا الـ DNA كان يفترض انه right handed

((The most common one)) ((أيضاً))

● A-DNA ((أوسع)) right



● Z-DNA (check slides) عن الفروقات بينهم left

بشكل أساسي هو single stranded لكن بكون فيه ارتباطات محددة وقد يكونوا double في بعض الأحيان

* RNA Structure

((complex 3d shapes يختلفوا حسب الوظيفة))

• mRNA ~~~ • tRNA

← وظيفته انه بنقل الـ Amino acids للـ Ribosome عشان يتم بناء البروتين

• rRNA • ribozyme انزيمات مصنوعة من RNA

← لما نيجي نحكي عن الـ structure تبع الـ RNA نفس الخصائص تبعت الـ Structure تبع الـ Protein

→ Primary structure → Proteins → Amino acids sequence
→ RNA → GGAU base sequence

→ Secondary structure → Protiens — α helix, β-sheet, loop
→ RNA

→ Tertiary → Protein
→ RNA

→ Quaternary? OO

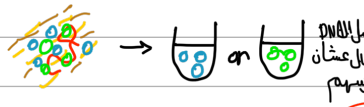
قد يكون موجود وقد يكون لا, اذا كان موجود بكون 2 subunits أو أكثر مرتبطين مع بعضهم البعض.

↑ هاد الكلام كله كان خاص بالـ DNA أما الـ RNA ما بعملنا أشكال معقدة لهاي الدرجة بس الـ RNA بعمل دائمًا أشكال معقدة.

← ليش ما بنحط الـ RNA تبع الفيروسات بالبداية لما نقارن بين الـ DNA والـ RNA في RNA, بالعادة DNA, مستحيل يكون عنده RNA.

ch. 4 Molecular Techniques

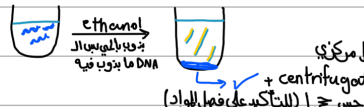
→ in vivo في جسم الانسان
→ in vitro في المختبر وهو ما سنتحدث عنه



بيختلف حسب من وين بدنا نأخذه

→ Nucleic Acid Isolation (Extraction)

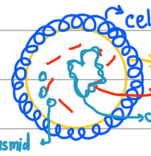
1) Viral DNA (الفيروسات)



2) Bacterial DNA (circular → chromosomal)

+ lysozymes ∝ cell wall

+ SDS → same as viral DNA



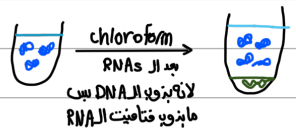
مادة شحنتها سالبة اسمها Detergive زي الصابون (تذوب) الدهون الـ membrane

والـ centrifigation أهم وأهم هون.

+ RNAse قبل الـ centrifigation ∝ RNA

3) Plasmid DNA

lysozymes → SDS → NaOH → netralize with acid



hydrolyse RNA

ليش ما حطينا RNAse ؟ لانه NaOH
يترسب مع قطع الـ DNA الكبيرة الـ chrom.
not plasmid

و كما same as viral

→ chloroform

4) fungi (yeast)

الـ cell wall تبعهم أعقد

* special enzymes (cellulase) ~~cell wall~~

+ SDS + phenol + RNAs + ethanol + centrifigation

↳ sodium dodecyl sulfate

5) RNA not stable! (RNAses already In cells)

* liquid nitrogen تجمد الخلية to stablize RNA عشان ما بتكسر

بنطحن المكونات

ethanol / or iso propanol → لترسبه وافرزه → centrifigation

• phenol • chloroform ← الـ Mixture هو

• sodium acetate • guanidinium thiocyanate

* centrifigation

مش بس خاص بالـ DNA والـ RNA

المركبات بتتعرض لقوة بتطردها لتحت فبنفصل المركبات حسب حجمها وكثافتها, فالمركبات الكبيرة بتنزل لتحت أكثر والأخف بتطلع لفوق.

Sedemindation ترسب : depends size & shape

↑ faster ○ compact faster
↓ slower ⌷ slower

*الـ DNA ماله أشكال مختلفة فالعامل الوحيد الي بتأثر فيه هو الـ size

بعكس الـ RNA

Ultracentrifugation 800,000 gravity

← الـ S هو رقم بعبر عن قوة ترسب المواد بيعتمد على الـ Velocity سرعة الترسيب والقوة

S (small) sed coefficient S (capital) = 10^{-13}

$S = \frac{V}{F} = ** * 10^{-13} \rightarrow S_{capital} = 5 * 10^{-13} = 5S$

50S + 30S ≠ 80S لانه بيرتبطوا مع بعض بتغير الشكل

S = Svedberg نسبة إلى العالم

1) Sucrose gradient

مع وجود تدرجي الـ sucrose

2) Equilibrium gradient

لأنو فوق بكون في كشي تاني ونفرقا الـ gradient

((دقة أكبر))

→ very high resolution خصوصاً with ultracentrifigation.

NB → N^{14} , NB → N^{15} ((بقدر يفرق بينهم))

★ Gel electrophoresis ((إعادة))

هلام / كهربائي / فصل

The movement depends on?

1) size ↓ size ↑ distance & ↑size ↓ distance
2) Shape • Compact ↑ distance &{} ↓ distance
3) charge ↑(-) ↑ distance

← لمعرفة المعلومات بشكل أدق بفضل نوجد معلومات
← الـ DNA بنحتاج انهم نفس الـ shape ونفس الـ charge في احنا مطمئنين بنقارن حسب الـ size

نحطها على سطح زجاجي عشان يتجمد ويتماسك عشان أتناء تحركه نغطي هي الفراغات اللي غير فيها الجل

← مثلاً 1 sample بنحتاج انه على الأقل فيها نوعين من الـ DNA (ليش على الأقل لأنه ممكن يكون في قطع غير متطابقة) واحد منهم ساير بين الـ 50-40 والثاني ساير بين الـ 10-20 وهكذا.

low amount ▮ band , ▇ also band بس بتعبر عن كمية أكبر high amount

→ when we want to do gel electrophoresis

for NA gel: agarose , Polyacrylamide

agarose ↓ (size↑) أكبر وأكثر إبطاء ; Polyacrylamide ↓ (resolution↑) أقل resolution أقل

تشع مع الـ UV، دون الـ UV هي شفافة

الطريقة لإظهار الـ Band's إنها تكون شفافة → • ethidium bromide ← UV
∴ مسببة للسرطان carcinogenic

• colored dyes

← هاد بالنسبة للـ Nucleic acids

★ for polypeptides (Proteins) gel: polyacrylamide + SDS

تُغطى كل البروتينات بـ -ve شحنة وتلغي X shape بخليهم كلهم نفس الشكل

((عشان نعتمد بشكل أكبر على الـ size فلازم نضيف الـ SDS))

★ so when we say (SDS Polyacrylamide) المقصود فيها عن الـ Polypeptides

Although quite effective in separating DNA molecules by size, slab gel electrophoresis is (1) slow (usually requiring hours to complete a run), (2) difficult to automate, and (3) does not easily provide quantitative data. An alternate means for separating DNA in an applied electric field, called capillary gel electrophoresis, does not suffer from these disadvantages (BOX 4.2 IN THE LAB: CAPILLARY ELECTROPHORESIS).

---

*تعرف sequence معين وتقطع منه ←
*واخذة من البكتيريا ← داخل

★ Restriction Endonucleases

NA (enzyme) داخل

تكنيك صغير يستخدم مع تكنيكس آخرين

★ Nucleases & NA

↳ DNAs / RNAs / General (Both DNA & RNA بكسر)

exo يقطع من الأطراف ; endo يقطع من الداخل

← لحالتي الـ endo بنوع قدر نوع منه اسمه Restriction

عند بـ sequence معين يقطع من عنده

((بالحرى ← انزياح القطع المحددة))

← وممكن الـ cutting site ما يكون الها الـ restriction site عادي ممكن يقطع قبلها بعدها.

فتقوم البكتيريا بقطعها باستخدام الـ restriction neuclease

* نفس الـ DNA الـ Bacterial عمي حاله من الـ restriction neuclease

تبعه بواسطة مجموعة CH_3 ميثيل عند الـ sequences.

→ Type 2 of restriction neuclease

GTTAAC / CAATTG (Palindromic)

CAC / GTG X not palindromic

cutting types

GTT|AAC / CAA|TTG — blunt ends / flush نهايات غير لازقة

G|TTAAC / CAATT|G — sticky ends / cohesive نهايات لازقة يحتاجوا ((الأكثر انتشاراً))

Different restriction endonucleases that recognize the same nucleotide sequence and that cleave it in the same position are called isoschizomers.

★ Blotting لطخ ((بنقل قطع من مكان لمكان))

جزء نقل ناتج الـ Gel electrophoresis من الجل إلى ورقة للدراسة ((من مكان لمكان))

SNOW / DROP

بس مابكون فيهم الـ restriction endonuclease

((اكتشافها إلى اسم العالم والأخرى رموز))

Southern blotting → DNA ; Northern blotting → RNA

Western blotting → proteins

★ restriction endonuclease → Gel Electrophoresis

→ Transfer blotting

+ Probe قطعة DNA مكملة للقطعة المطلوبة

TAC ★ مشعة

قبل اضافة الـ Prob لازم نحطها تحت الـ UV لتثبت الـ DNA
وبنبعها الحرارة لكي تصبح الـ single strand

← طبعاً قطع الـ DNA بتكون معرضة للحرارة وبتكون single strand

هي لقينا الـ sequence اللي بدنا ايا

← الفائدة النهائية من الـ Blotting ؟

→ To detect specific sequences. like mutant DNA

★ Polymerase chain Reaction (PCR)

سلسلة من التفاعلات

to amplify (تكثير) DNA

→ in vivo → DNA Replication
→ in vitro → PCR

• We use DNA Polymerase

★ بنكثر فيه DNA الفايروس ان وجد عشان اقدر اشوفه

← داخل جسمنا في مين يساعد الـ DNA polymerase انها تعمل الـ DNA لكن الـ in vitro
ماكين مين يساعده فـ بدنا نلعب بالحرارة.

1) denaturation 90°c

2) Anealing (الربط بالـ Primer) مش re-annealing لأنو بنا نزيد بعض كاملين
وقتها بنكون نزلنا الحرارة لدرجة مناسبة الى تربط بس الـ Primers

3) Elongation DNA Pol. البناء من 5 → 3

((Thermal cycles))

* DNA polymeras = Taq polymeras (aqueous, Thermophilic)
متحمل للحرارة العالية ((من بكتيريا تعيش في الينابيع الساخنة))

1+2+3 cycle ، وبنعيد هو الـ cycle ، بتكون 1 cycle ← ـــما

وبنضل نعيد وبحصل أكثر من المتماثلين.

★ DNA sequencing

★ Sanger Method

Dideoxynucleotide

* If incorporated, synthesis will stop.

→ small amount of ddN + large amount of dN (flurescence)

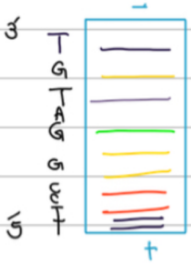
لازم أول 3 أو أول 3 أحرف طريقة
← بنا نكتشف الـ 10 الي ضايل

بنضيف ال DNA-P ونوفر لها جوها

بنضل نشتغل الـ Polymerase على أساس انه بتوصل لكل خيط

كل مايدخل الـ ddN بوقف بناء

→ Then we do gel electrophoresis



ملون تكون كـ waves

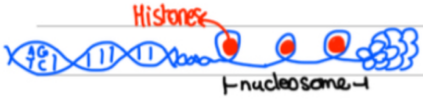
slow! & expensive

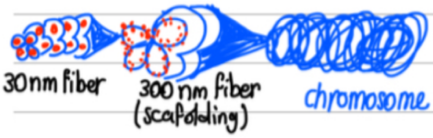
→ next generation sequencing أسرع

ساعات وعا تقارير الاف الدولارات بنقدر نعرف ال genome تبعنا

Ch.5 chromosomes

→ Eukaryotes





* chromatin = DNA + protein = nucleoprotein

2 chromosomes & 3 chromatide here

• somatic cells (diploid) 2n

Homologous متماثلة, واحد من الأم و الثاني من الأب مسؤولين عن نفس الصفات

• germ cells (gametes) (haploid) 1n

* nucleosome

chromatosome → with H1

Histones +ve charge ↑Arg+ ↑lys+

عشان يرتبطوا مع ال NA الي شحنتها سالبة

by micrococcus bacteria تدريكسو ال linker DNA وفصل ال nucleosome لحالهم عشان يدرسوهم.

164 bp in nucleosome

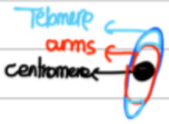
166 bp in chromatosome

rich in A & T

Mainly with Minor groove الارتباط بكون

* Telomere

chromosomal end (non-coding)



in DNA Replication

لما يبلش ينقص من ال coding region

بتنتحر الخلية بعمل Apoptosis

(TTAGGG) repeats

Telomerase rebuilds telomerase

:(warner syndrome ↓ telomerase

Premature aging

:(cancers ↑ telomerase

3' الطول فيعمل loop

→ Bacteria E. coli

أكثر تنوعاً بشوي كـ أشكال

circular

smaller

(super coiling)

لما بدنا نعمل expression لـ ? بنفك جين معين بنفتح ونرجع نسكر

-some proteins that help to determine bacterial chromatin architecture
-MuKB protein—> help in organise and compact DNA
- H-NS (histone like nucleoid structuring): appear to be homodimer or oligomer—> forming bridges
-DNA bind proteins like:
-FIs: inversion stimulation
-IHF
-Hu
To sum up
Circle ————> loops——————>supercoiled
Folding By topoisomerase

TABLE 5.1 Histone Composition

Histone	Molecular Mass (kDa)	% Lysine	% Arginine	% Lysine + Arginine
H1	الأكبر ~21.0	الأكبر 29	الأقل 1.5	الأكثر 30.5
H2A	14.5	11	9.5	20.5
H2B	13.7	16	6.5	22.5
H3	15.3	10	13.5	23.5
H4	11.3	11	14.0	25.0

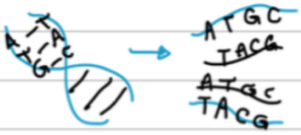
Ch.8 DNA Replication

Matthew meselson & franklin stahl expt

ليش ال ds DNA شو الفرق المضاف لما يكون ds

• 3 models

1) conservative model



2) semi-conservative

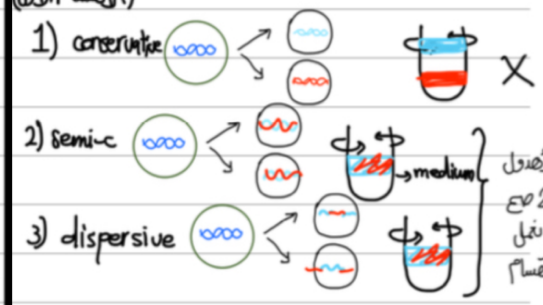
3) dispersive

E. coli $N^{15} > N^{14}$

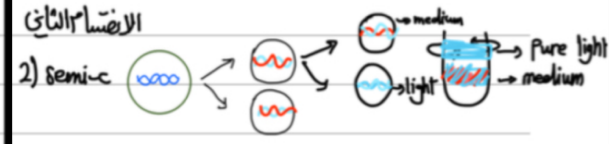
لما بنأت تقسم حطولهم ال N14

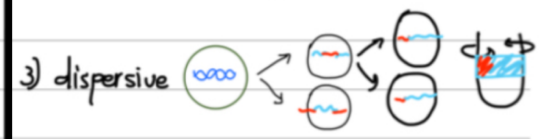
(الانقسام الأول)

بالأصل ال 2 مع لازم نعمل 2 انقسام



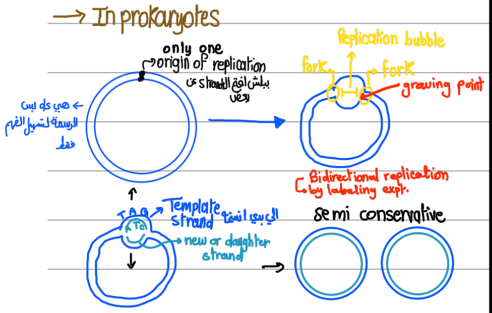
الانقسام الثاني





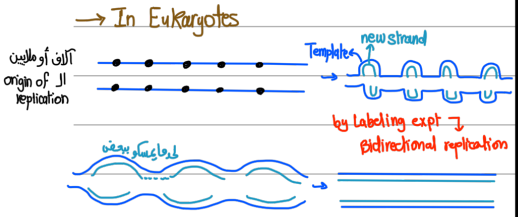
((DNA Replication))

→ In prokaryotes

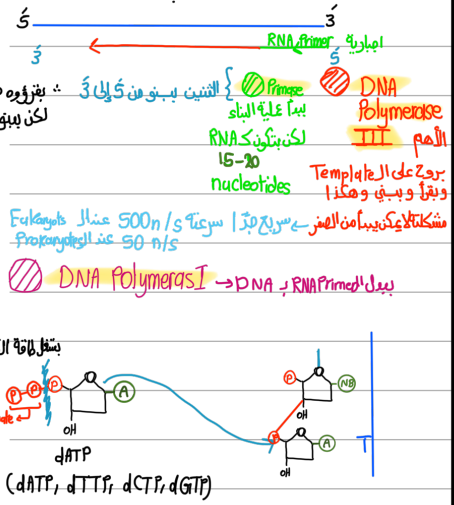


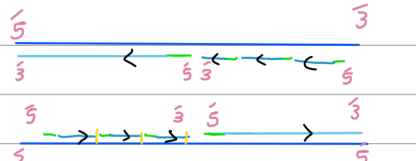
→ In Eukaryotes

*how to open?



*how to built?





∴ بقرؤوه من 3́ لـ 5́ لكن بيبنوا من 5́ لـ 3́

الاتنين ببنو من 5́ إلى 3́ { Primase: يبدأ عملية البناء، لكن بتكون كـ RNA 15-20 nucleotides

DNA Polymerase III الأهم: بروح على الـTemplate وبقرأ وببني وهكذا

مشكلتها لا يمكن يبدأ من الصفر ← سريع جدًا | سرعته 500n/s عند الـ Eukaryots، 50 n/s عند الـProkaryotes

DNA PolymerasI → بيبدل الـRNA Primer بـ DNA

(dATP, dTTP, dCTP, dGTP)

← شو صار بقطع الـRNA؟ by DNA polymerase I

بشطبهم وبحط مكانهم DNA

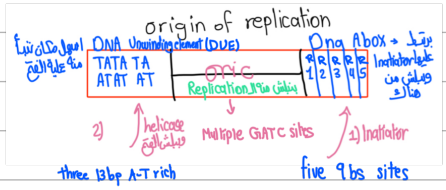
لكن برضو في مشكلة انو الـ Primers والـ lokazaki fragment

مفصولين عن بعض (شاهد الأصفر)

بيجي (DNA ligase) ربط بربطهم مع بعض

← طبعًا مهم في الـ leading والـlagging لكن في الـlagging

أكثر عشان في فواصل أكثر joins fragments



* كل البروتينات الي حكينا عنهم بكونوا متجمعين in DNA replication complex/machine (replisome)

(DNA polymeras I & III | DNA ligase / Primase)

ومع كل هاي الدقة لساتي proof reading

→ Bacterial DNA Replication ((E. coli))

1) Initiation   2) Elongation

3) Termination

- Initiation → starts from OriC

- 4 important proteins in Initiation

1) Dna A – initiator   2) Dna B – helicase

3) DnaC – loader   4) DnaG – primase

[2 ما رتبط الا مع 3]

- Elongation — والعكس لـ DNA polymerase I بس الـ primers

→ DNA polymerase III → 3 subassemblies

1) Core poly merase
- α subunit → 5́→3́ chain grow
- ε subuit → 3́→5́ exonuclease activity
- θ subunit → stimulates ε (not essential)

& Proofreading

2) Clamp loader بتشبقهم → uses energy to load ③ onto a DNA template – primer with a 5́ overhang

3) Sliding clamp (الي عليه ماسكه) → forms a ring around DNA

*Tromobone replication

- Termination → when the two growing forks meet in the terminus region

(Tus) → (Terminus utilization substance) binds to the Ter site

→ Topisomerase IV & recombinase

بفصلهم نهائيًا عن بعض

ما في Termination لأنه بالأخير هو linear مش circular.

* Eukaryotic DNA replication

SV40 → فايروس يصيب القرود (vitro)

Helicase → 6 large T antigen

- DNA polymerase α – primase (Pol α) initator DNA
  بعطي 15–25 deoxyribonu. + 8–12 primer
- DNA Pol Δ & 3 → synthesis of leading & lagging s.
- PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) = Sliding clamp
- Replication factor C (clamp loader)
- Flap endonuclease (FEN1) → بفك الـ Primer فنيستبدله بالـ DNA
- ORC (origin Recognition complex) 6 protein subunits, MCM2-7
  bound to DNA + Cdc6 تلعثه
  عشان مايصير بداية أكثر من مرة لانه بكل cycle بنا تفاصلك مرة وحدة

*linear eukaryotic chromosomes requires telomerase

* requires 3 different DNA polymerases

1) Pol α → RNA Primer & initiator DNA

2) Pol δ → lagging strand synthesis

3) Pol ε → leading strand synthesis.

* For telomere formation → terminal transferase-like enzyme

cuz leading strand replication presents a serious Problem

Telomerase function

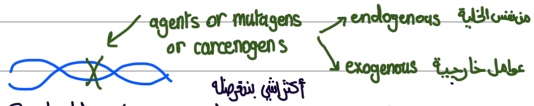
1. A strand specific DNA 5’→3’ exonuclease removes nucleotides to generate an overhang
2. Telomerase extends the 3’ overhang
3. Newly synthesized region serves as a template for standard replication, restoring the 5’ end 0

* لارتباط الـ histones أثناء الـreplication بكون في 300bp naked قبل الـ fork و 250 بعد الـ fork

* chromatin modifiers also participate by adding acetyl, methyl, phosphate or other groups to histones or removing them from modified histones.

ch9. DNA Damage & repair

- DNA Damage ((مابعد الـreplication بس تغير في الـDNA))



- Radiation (exogenous) → UV, Xray, Gama rays
  عامل خارجي
  كالشمة ← الأشعة

→ Xray & Gama ray are ionizing radiation.

* Ultra violet (UV) → λ (100-400nm)

UV-C (100-295) rare

UV-B (295-320) most common

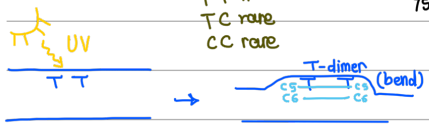
UV-A (320-400)

• احنا DNA وتعرض لـ UV-B شو رح يصير؟ أخذنا مسار UV

1) → cyclobutane pyrimidine/Thymine dimer (more common) 75%

TT *
TC rare
CC rare

∴ if it was (C-C) → C dimer & (C-T) → CT dimer



2) → 6-4 photoproduct (25%)

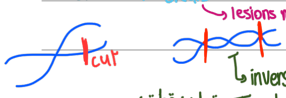
تأثر أكثر على الـB-DNA يعني أكبر major distortion

* X ray & γ-ray

→ Direct effect → DNA or water tightly bound to it to absorb radiation

lesions or breaks

↳ lesions may be isolated or clustered



cut

↳ inversion قلب
Translocation ← تبديل بين قطعتين
deletion.

clustered ↳ also chromosomal aberrations ds breaking

→ Indirect effect 65% بأثر على البيئة المحيطة

ionizing water → free radicals

single electrons — بيسرق من DNA وغيره

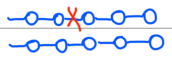
$H_2O^\bullet$, $OH^\bullet$, $O_2^\bullet$

Water molecule absorb radiation & generate reactive species (free radicals)

● Hydrolysis (adding water) عامل داخلي

• PDE cleavage (rare)
((least dangerous))

• N-glycosidic break → abasic sites مش قاعدي



• Deamination (NH_3) → NB موجودة بتركيب الـ كلهم ماعدا الـ T فبتتغير بصير غيره.

((all NBs expect T))

هلا بيجي الجسم بحاول يصلح بس ممكن يصلح بطريقة خاطئة

→ transition → transversion

Pur A → G Pur; Pyr T → C Pyr

Pur A → C Pyr; Pyr T → G Pur

↳ صار في خطأ بالجسم بعد التركيب

● Oxidative damage ← free radical

لأنه يسحب الالكترونات بالأكسدة

قد يكون عامل خارجي
وقد يكون عامل داخلي

endo + exo
metabolism eg H_2O_2 ↳ radiation

لأنه سارق ... تكون الـ radicals

•OH (hydroxide radical)
– Generated by ionizing radiation or cellular H_2O_2
– 8-oxyguanine: oxoG-A > T-A transversion
– Can produce cytotoxic mutations: thymine glycol > inhibit replication

← من الأشياء الي بتساعد على التخلص من الـ radicals ؟

catalaze, peroxidase, vitamins
بتخفي على الـ ... من الـ radicals مرة

G → oxo G or other mutation

* Alkylation

Requires: cytochrome P450

agents → commonly have 2 fused aromatic rings & damage DNA after being metabolized

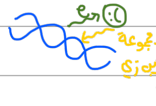
electrophiles + they transfer a group

حط مجموعة الكيل (CH_3) ((monoadduct))

* cross linking

Alkylation + 2 reactive sites نقل 2 groups

interstrand cross link (lethal) (Prevents separation)



intra strand cross link

→ cross linking agents used as ((chemotherapeutics))

ex: mustard gas (inter & intra) (weapon)

cisplatin (drug for cancer)

● DNA repair — بسبب الأخطاء الي ما مسكها الـ proofreading أو إلي أجت من العوامل الأخرى الي حكينا عنها

⊛ Direct reversal (1 step only)

a) Photo reactivation — تصحيح باستخدام الضوء المرئي

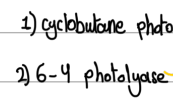
← اكتشفوه من خلال تجربة انهم كانوا يعملوا على طفرات بالـ UV light بس لما يعرضوها بالضوء المرئي (وتحديدا الأزرق) بترجع طبيعية

dimer — Photolyase uses visible light (blue) طول موجي (350-450nm)
بكسر الـ dimer

1) cyclobutane photolyase

2) 6-4 photolyase

b) Dealkylation



(O6-alkylguanine DNA alkyltransferase 1)

suicide enzyme (acts only 1 time)

→ بتصير transc. factor → بزيد الـ Transc. للجين الي بشفر الـ enzyme مرة أخرى

⊛ Base Excision repair → أول خطوة انو الـ Base استئصال

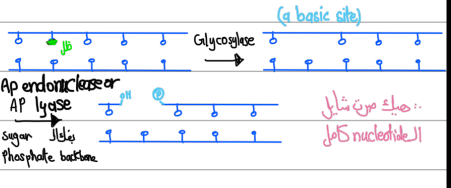
اكتشف في الـ Euk ويوجد أيضا في الـ Pro

>1 step

(a basic site) — Glycosylase

AP endonuclease or AP lyase — بقطع Sugar Phosphate backbone

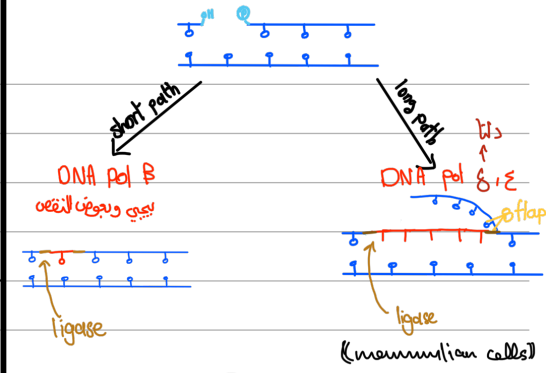
حيث مرة شايل الـ nucleotide كله



enzyme → 1 step → mono functional

enzyme → >1 step → multi functional

⊛ Nucleotide Excision repair. من البداية بشيل الـ nucleotides كامل

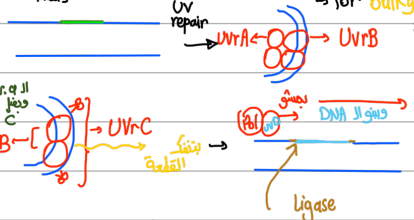


in bacteria → E coli — dimers

↳ for bulky adducts

UV repair → UvrA, UvrB — بطيحو ويفكوه إلى ss

☹ xeroderma pigmentosum مرض جلدي تشققات → ↓ Nu excision repair

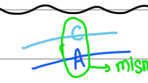


لهيك صدق الناس مالازم يتعرضوا للـ UV او بطلعوا بس بالليل

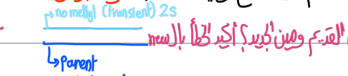
لانه بيكون عندهم ↑ risk لـ skin cancer

⊛ Mismatch Repair — mismatch

طيب كيف بدنا نعرف فيهم مين الصح ومين الغلط؟ سؤال جوهري



Bact → no methyl (transient) 2s → كيف الخلية بتعرف مين القديم ومين الجديد؟ أكيد الغلط بالـ new طبعا.



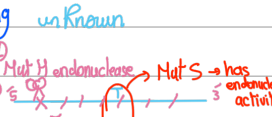
↳ Parent methylated

خلال الـ 2S بيقدروا يشوفوا اذا في خطأ أو لا

Euk — lagging — okazaki fragment — سهل يميزوا الـ new من الـ

Leading — unknown

Bac — (1) MutH endonuclease — MutS → has endonuclease activity — (MutL-MutS ATP complex)



بكونوا ماشيين وبكتشفوا الخلل خلال الـ 2S scanning

Process — E. coli

→ DNA pol III

يختلف الـ Bac عن الـ Euk وبتختلف بين أنواع الـ Bac