البيولوجية الجزيئية

المحاضرة الأولى

علم البيولوجية الجزيئية

تعرف البيولوجيا الجزيئية (أو علم الأحياء الجزيئي) بأنها دراسة الكائنات الحية (المتعضيات) على مستوى الجزيئات التي تتحكم بها وتشكلها مما يجعلها متداخلة مع الكيمياء الحيوية وعلم الوراثة.

وتهتم البيولوجيا الجزيئية بشكل نوعي بكل من الحمضين النووين الريبيين، منزوع الأوكسجين وغير المنزوع DNA وRNA والبروتينات التي تبنى باستخدام تعليمات وراثية مرمزة في تلك الجزيئات. بالإضافة إلى جزيئات أخرى مثل الكربوهيدرات والشحوم لتحري تداخلاتها مع الحموض النووية والبروتينات.

أهمية دراسة البيولوجية الجزيئية من الناحية الصيدلانية

- العديد من البروتينات العلاجية يتم اصطناعها عبر تقنيات البيولوجيا الجزيئية مثل: الأنسولين وهرمون النمو والهيموغلوبين.

الأنسولين:

قديماً : كان يستخدم الأنسولين من مصدر بقري أو خنزيري لكنه لم يبدي فعالية علاجية..بعض الأشخاص أبدو حساسية وردور فعل مناعية

حالياً : تحضير الأنسولين المأشوب بإدخال جينة الأنسولين البشري ضمن دنا جراثيم التي تقوم بتصنيعه كبروتين.

يتواجد الأنسولين في الجسم على نوع واحد فقط بينما في الصيدليات تم تصنيعه على أنواع بحسب مدة التأثير (سريع، مديد)... من خلال إحداث طفرات في مورثة الأنسولين الطبيعي.

- تشخيص الأمراض

1. الكشف عن وجود الطفرة المسببة للمرض مثل فقر الدم المنجلي المسؤول عنه طفرة محددة تحول الخضاب السليم إلى خضاب شاذ.

2. تحرّي جينة معينة أو موقع جين محدد، وهو مبدأ فحوصات ما قبل الزواج لمعرفة استعداد الأطفال للإصابة بمرض وراثي ما.

- البصمة الوراثية

يتشابه البشر بجينات مسؤولة عن إعطاء بروتينات وظيفية و يكون الاختلاف ببعض تسلسلات النيكلوتيدات على DNA التي تعطي الخصوصية للأفراد حيث لكل شخص نسخة مختلفة تتطابق فقط عند التوائم الحقيقية وتستخدم هذه الفروق في الفحوصات الشرعية التي تمكن من التعرف على الجثث في الحوادث أو كشف هوية المجرمين.

- فهم آلية عمل بعض الأدوية التي تؤثر على انتساخ وتضاعف الـDNA

مثل تحديد آلية عمل بعض الصادات الحيوية كـ الفلوروكينولونات:

في بداية عملية تضاعف الدنا يكون عمل أنزيم Topoisomerase و أنزيم Gyrase هو قص الالتفاف الحلزوني الفائق لـ DNA مما يؤدي إلى وتسهيل عمل أنزيمات النسخ.

Topoisomeraseموجود عند الإنسان وكل الكائنات الحية، بالمقابل أنزيم Gyrase موجود فقط عند الجراثيم. من خلال هذا الفارق تم إيقاف النمو عند الجرثوم دون أن نؤثر على تنسخ الدنا وعمليات تصنيع البروتين عند الإنسان.

المسلمة الأساسية للبيولوجيا الجزيئية

تعبر المعلومات الجينية عبر الأجيال من الدنا إلى الدنا عبر تضاعف الدنا بواسطة أنزيم بوليميراز الدنا.

يعكس النمط الظاهري Phenotype للكائن الحي التعبير الجيني Gene Expression في خلاياه من خلال انتقال المعلومات الجينية من الدنا إلى البروتين.

تنتقل المعلومات الجينية من الدنا إلى البروتين خلال مرحلتين

1. الانتساخ :Transcription نقل المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا المرسال

2. الترجمة Translation: نقل المعلومات من الرنا المرسال إلى البروتين

من الضروري أن نعرف ....

نسخة الـ DNA واحدة في كل خلايا الجسم تنتقل مع الإنسان دون تغيير طول فترة حياته قد تحدث بعض الطفرات لكنها تكون محدودة وفي مواقع معينة

أثناء الانقسام قد تحدث طفرات:

في حال حدوث طفرة عند كل تضاغف لخلية تنقسم 50 مرة فالخلية البنت رقم 50 تحوي على 50 طفرة أي يصبح الدنا مختلف تماماً عن الخلية الأصلية لذلك يوجد في الخلايا الـ repair DNA.

في حال حدوث طفرة أثناء التضاعف يتم إصلاح الطفرة باستخدام جهاز اصلاح الدنا أو تخضع الخلية للموت المبرمج أو ينتقل الدنا الطافر إلى الخلايا الأخرى التي قد تكون خلايا جنسية فتنتقل الطفرة عبر الأجيال أو خلايا جسدية خاصة بالشخص نفسه فلا تنتقل لأجيال أخرى.

تنظيم التعبير الجيني....

عند ارتفاع سكر الدم تقوم خلايا البنكرياس المنتجة للأنسولين بنسخ جينة الانسولين فقط وليس كامل الدنا حتى يعود مستوى السكر للحالة الطبيعية ثم يتوقف الانتساخ

بما أن الجينة المسؤولة عن انتساخ الأنسولين موجودة في كل خلايا الجسم فلماذا لا يتم التعبير عنها إلا في خلايا البنكرياس؟

لأن الجين يكون مفعل (on) أي يمكن انتساخه وإبعاد طاقي الدنا عن بعضهما، أما في باقي الجسم كالجلد لا يمكن إبعاد طاقي ال عن بعضهما في منطقة جين الأنسولين وبالتالي لا يحدث الانتساخ أي الجين مثبط (off).

الحموض النووية

تعد الحموض النووية والـ DNA بالخصوص من الجزيئات الكبيرة الرئيسية في الجسم بالإضافة إلى السكاكر، البروتينات والحموض الدسمة.

يحمل الـ DNA المعلومات الوراثية التي تُمرر من الآباء للأبناء، حيث تعطي المعلومات الوراثية تعليمات لكيف ومتى تصنّع البروتينات المتعددة التي نحتاجها للبناء والحفاظ على وظائف الخلايا، الأنسجة، والعُضيّات.

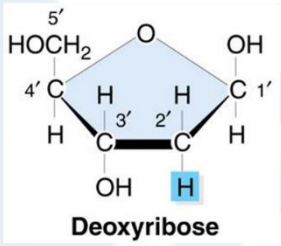
DNA يتألف من الجينات: وهي تسلسل من الـ DNA يمكن أن يتحول إلى RNA يترجم إلى بروتين، وتسمى هذه التسلسلات اكسونات Exones، وتشكل 5-10% من كامل الـ DNA. أما 90 - 95 % فهي تسلسلات لايمكن التعبير عنها، وتسمى انترونات Entrones.

DNA هو الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجينDeoxyribo Nucleic Acid

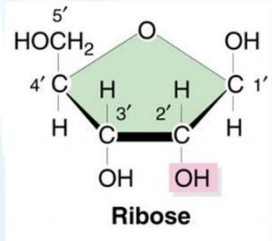
RNA الحمض النووي الريبي Ribo Nucleic Acid ويختلفان عن بعضهما بنقصان ذرة أوكسجين من مجموعة OH المرتبطة على الكربون 2’ في الـ DNA.

الحمض النووي الريبي
Ribo Nucleic Acid
RNA

الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين
Deoxyribo Nucleic Acid
DNA



Deoxyribose

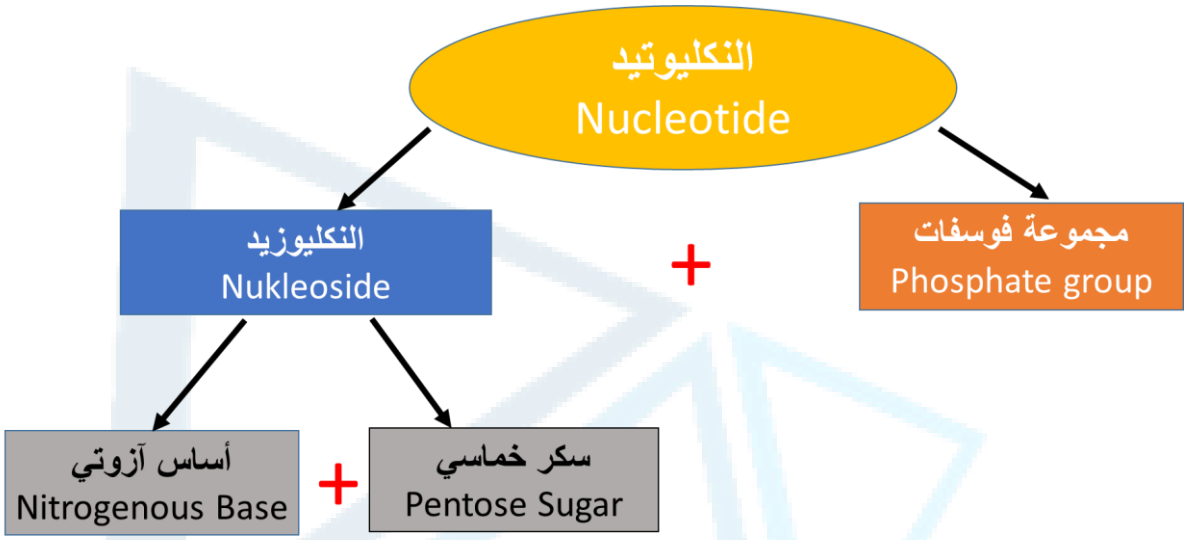


Ribose

النكليوتيدات

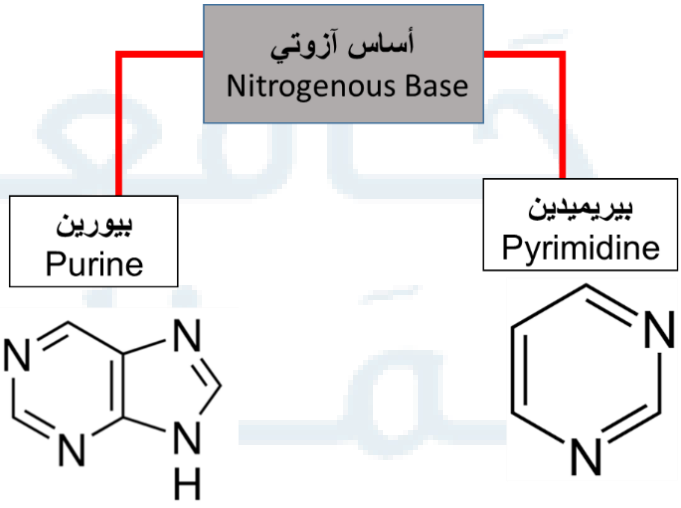
تتألف الأحماض النووية كيميائيا من تتالي أحجار أساسية هذه الأحجار تسمى بالنكليوتيدات ويتألف كل نكليوتيد من نكليوزيد ومجموعة فوسفات.

يتألف النكليوزيد من سكر خماسي وأساس آزوتي.

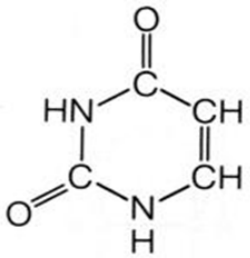


الأسس الآزوتية

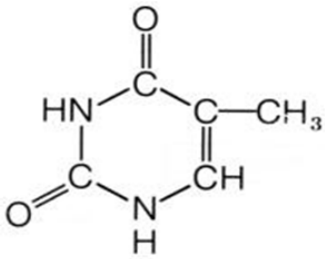
تقسم الأسس الآزوتية التي تدخل في تركيب الأحماض النووية إلى بيورينات وبيريميدينات.
البيورينات هي الغوانين والأدنين والبيريميدينات هي اليوراسيل والتايمين والسيتوزين.



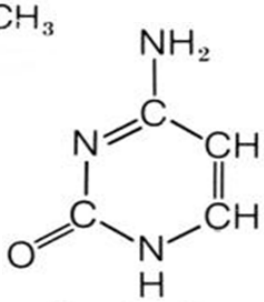
البيريميدينات
Pyrimidines



اليوراسيل Uracil (U)

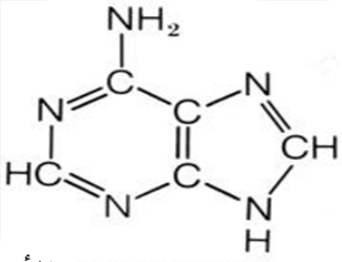


التيمين Thymine (T)

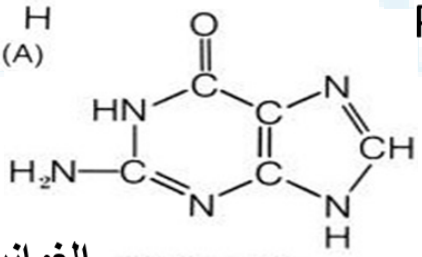


السيتوزين Cytosine (C)

البيورينات
Purines



الأدينين Adenine (A)

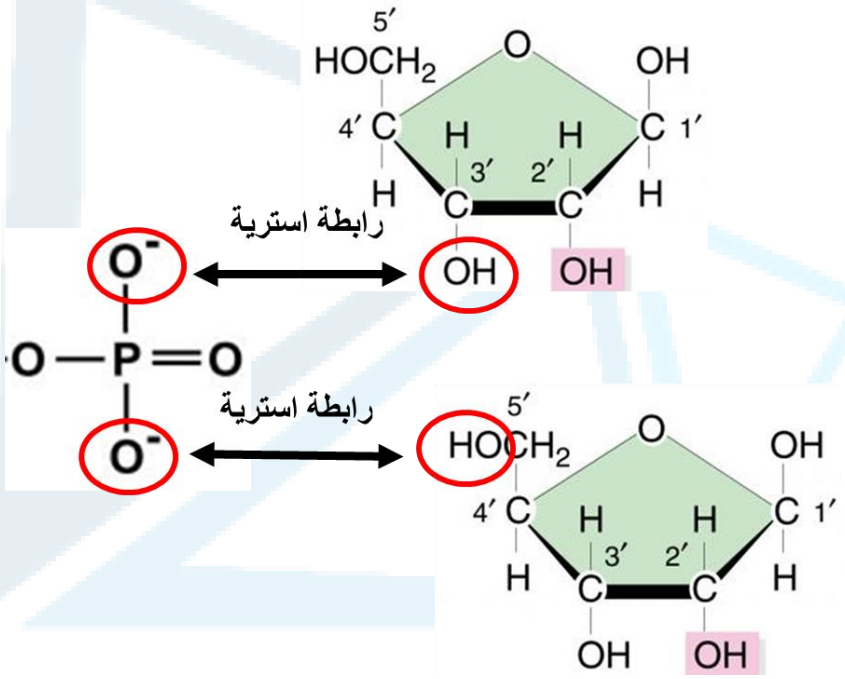


الغوانين Guanine (G)

جامعة المنارة MANARA UNIVERSITY

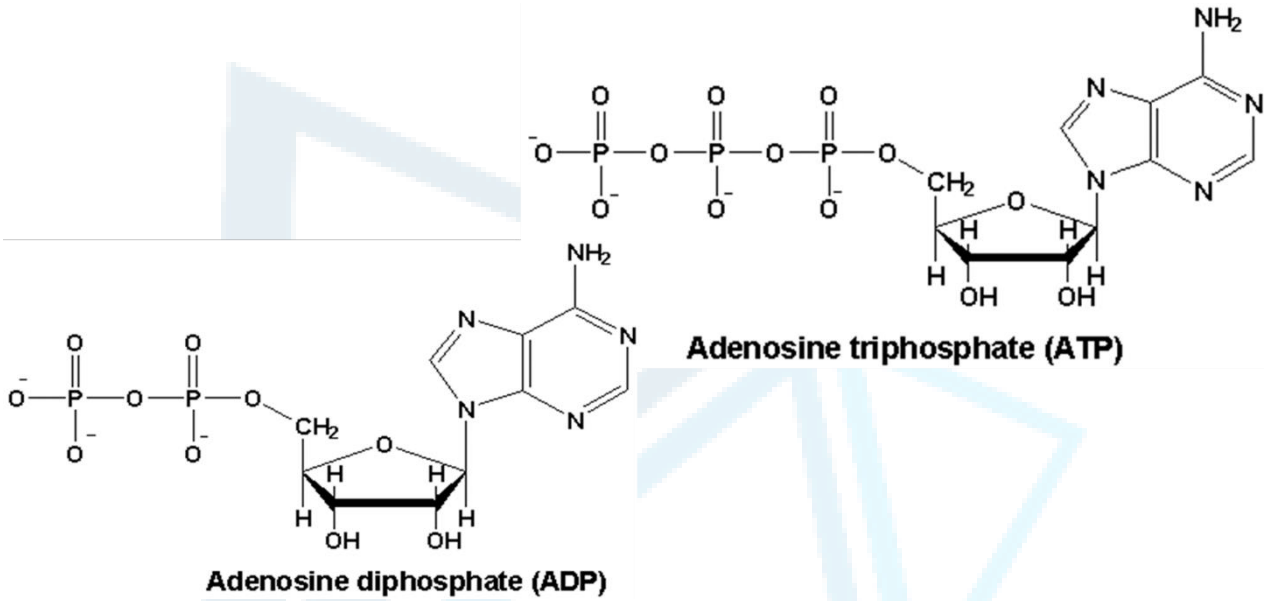
السكر الخماسي وارتباط النكليوتيدات

يدخل السكر الخماسي الريبوز في تركيب الأحماض النووية بشكلين في الحمض النووي الريبي يتواجد سكر الريبوز وفي الحمض النووي الريبي المنقوص الأوكسجين يتواجد الريبوز المنقوص الاوكسجين. ترتبط النكليوتيدات المتجاورة ضمن سلسلة الحمض النووي بواسطة مجموعة الفوسفات برابطو فوسفو دي استر.



مركبات الطاقة في الخلية

نكليوتيدات ثلاثية أو ثنائية أو أحادية الفوسفات تتواجد بشكل حر في الخلية وتستخدم في بناء سلاسل الحموض النووية بالإضافة إلى أنها الجزيئات التي تختزن الطاقة في الخلية. تستخدم الخلية حصرا النكليوتيدات الثلاثية الفوسفات لبناء سلاسل الحموض النووية حيث تحولها إلى أحادية الفويفات في شكلها النهائي ضمن الحمض النووي وتستخدم الطاقة الناتجة من تحول هذه النكليوتيدات من شكلها الثلاثي إلى الأحادي لبناء سلاسل الحموض النووية.



مركبات الطاقة الريبية

أحادية الفوسفات	ثنائية الفوسفات	ثلاثية الفوسفات	قاعدة
AMP	ADP	ATP	Adenine
GMP	GDP	GTP	Guanine
CMP	CDP	CTP	Cytosine
UMP	UDP	UTP	Uracil

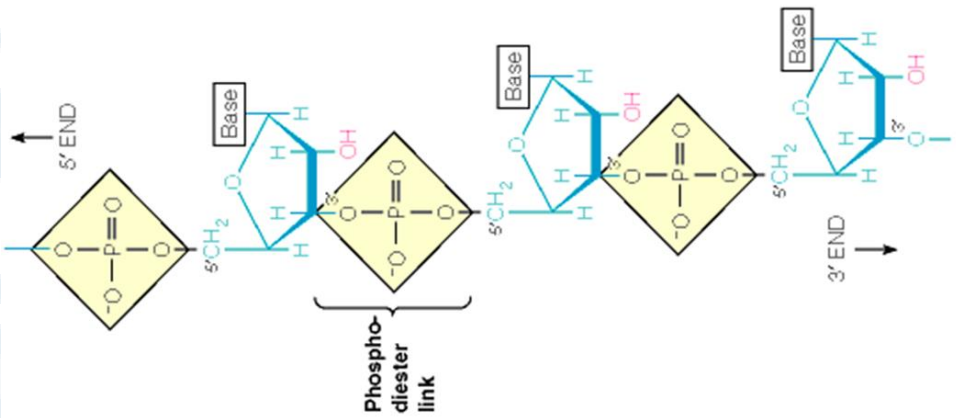
مركبات الطاقة الريبية منقوصة الأوكسجين

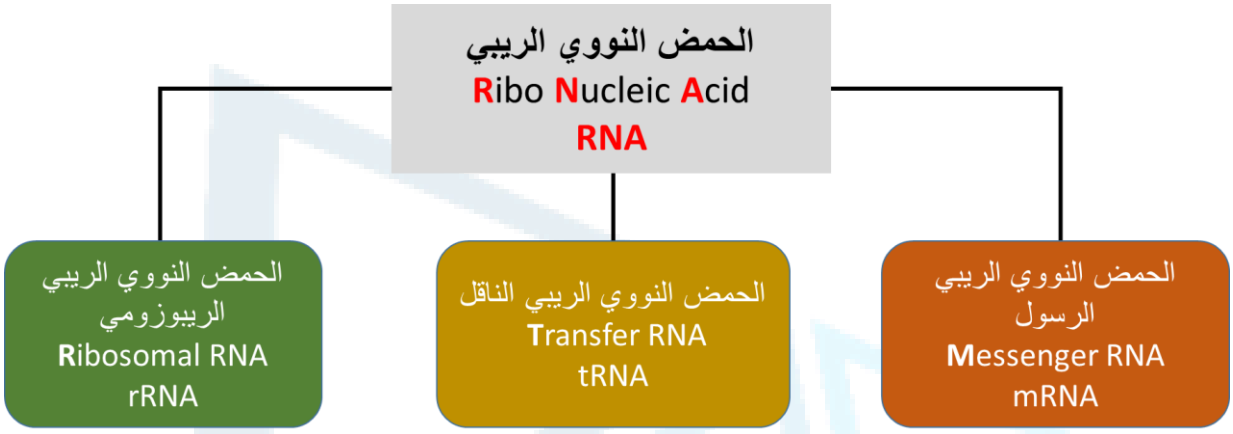
قاعدة	ثلاثية الفوسفات	ثنائية الفوسفات	أحادية الفوسفات
Adenine	dATP	dADP	dAMP
Guanine	dGTP	dGDP	dGMP
Cytosine	dCTP	dCDP	dCMP
Thymine	dTTP	dTDP	dTMP

الحمض النووي الريبي RNA

يتكون من سلسلة واحدة فقط من النكليوتيدات وقد تكون خطية او حلقية او كروية. يحتوي على القواعد النيتروجينية التالية :

الأدنين A الغوانين G السيتوسين C اليوراسيل U





الحمض النووي الريبي الرسول mRNA

يمثل 10% من الـRNA

يصنع في النواة بواسطة الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين ثم ينبعث إلى السيتوبلاسما محملا برسالة مشفرة.

هذه الرسالة بمثابة المايسترو لتصنيع نوع محدد من البروتين. شيفرات هذه الرسالة هي عباره عن الأسس الآزوتية وتسلسلها هو المسؤول عن ترتيب الأحماض الأمينية بطريقه معينه في البروتين المطلوب تصنيعه.

الحمض النووي الريبي الريبوزومي rRNA

يمثل حوالي 75% من الـ RNA

هذا النوع كبير الحجم و يتواجد في ريبوزومات السيتوبلاسما

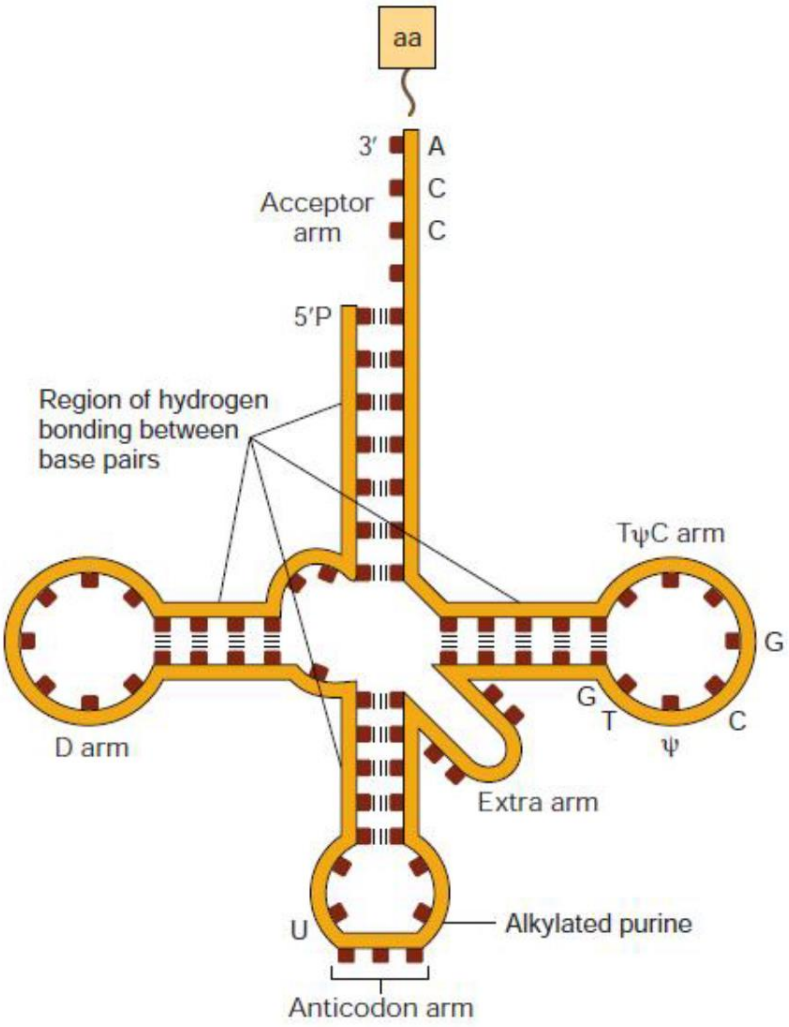
يصنع هذا النوع في نوية الخلية كسلسلة متممه للحمض النووي المنقوص الأوكسجين. ثم يشطر إلى قطع صغيره ترتبط ببروتينات مختلفه لتكوين الجزيئات الريبوزومية

الحمض النووي الريبي الصغير Small Nuclear RNA (snRNA)

وظائفه إنزيمية بشكل أكبر وليس له علاقة مباشرة باصطناع البروتين.

الحمض النووي الريبي الناقلtRNA

يمثل 15% من الـ RNA. أصغر أنواع الـ RNA يوجد بصورة ذائبة في السيتوبلاسما ويصنع في النواة. وظيفته تتمثل في نقل الأحماض الأمينية أثناء عملية تصنيع البروتين. لكل حمض أميني tRNA معين مخصص لنقله وبذلك يوجد على الأقل 20 نوع من الـ tRNA. له بنية تشبه ورقة البرسيم ، في البداية يكون شكله خطياً ولكن بسبب وجود عدة تسلسلات متقابلة مكمّلة لبعضها فترتبط بروابط هيدروجينية وتعطيه شكل ورقة البرسيم في المناطق التي تتمم فيها النيكليوتيدات المتقابلة بعضها ينتج ذراع، وفي المناطق التي لا تتمم بعضها تنتج العرى يسمى بالملئم Adapter لأنه من طرف يكون مرتبط مع كودون في mRNA بواسطة ذراع الرامز المعاكس Anticodon arm، ومن طرف آخر مرتبطة مع حمض أميني بواسطة الذراع المستقبلة Acceptor arm.



البيولوجية الجزيئية

المحاضرة الثانية

الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA

معظمه يوجد في نواة الخلية كجزء من التركيب الكروموزومي جزء قليل منه يتواجد في الجسيمات الميتاكوندرية

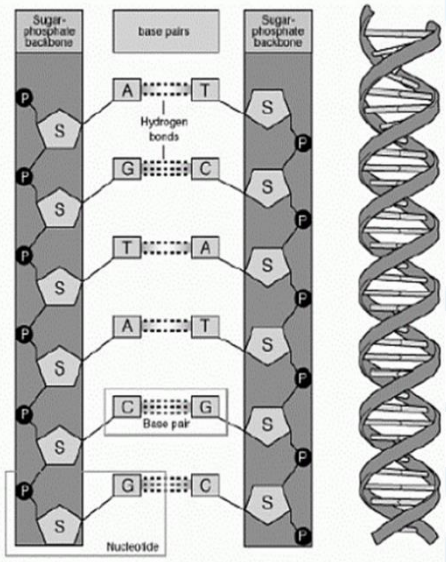
في النباتات والطحالب يتواجد أيضا في الصانعات اليخضورية.

يتكون من سلسلتين من النكليوتيدات ملتفتين حول بعضهما في صورة حلزون يحتوي على القواعد النيتروجينية التالية : الأدنين A الغوانين G السيتوزين C التيمين T

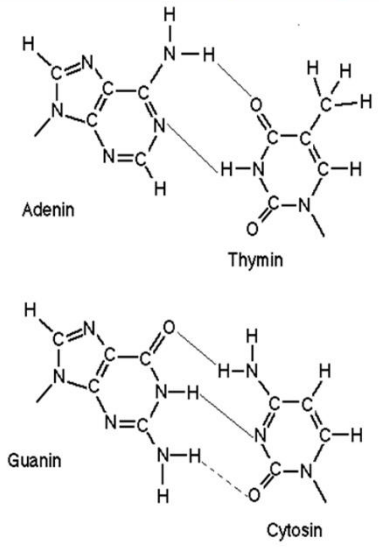
اكتشف كل من الباحثين James Watson و Francis Crickفي عام 1953 بتطبيق انعراج الأشعة X على الدنا المبلور (Crystallized DNA) أن الدنا يأخذ شكل حلزوني ثنائي الطاق عكسي التوازي.

ترتبط السلسلتان معاً عن طريق القواعد النيتروجينية بواسطة روابط هيدروجينية حيث يرتبط الأدينين مع التيمين برابطتين هيدروجينيتين، ويرتبط الغوانين مع السيتوزين بثلاث روابط هيدروجينية.

بنية DNA

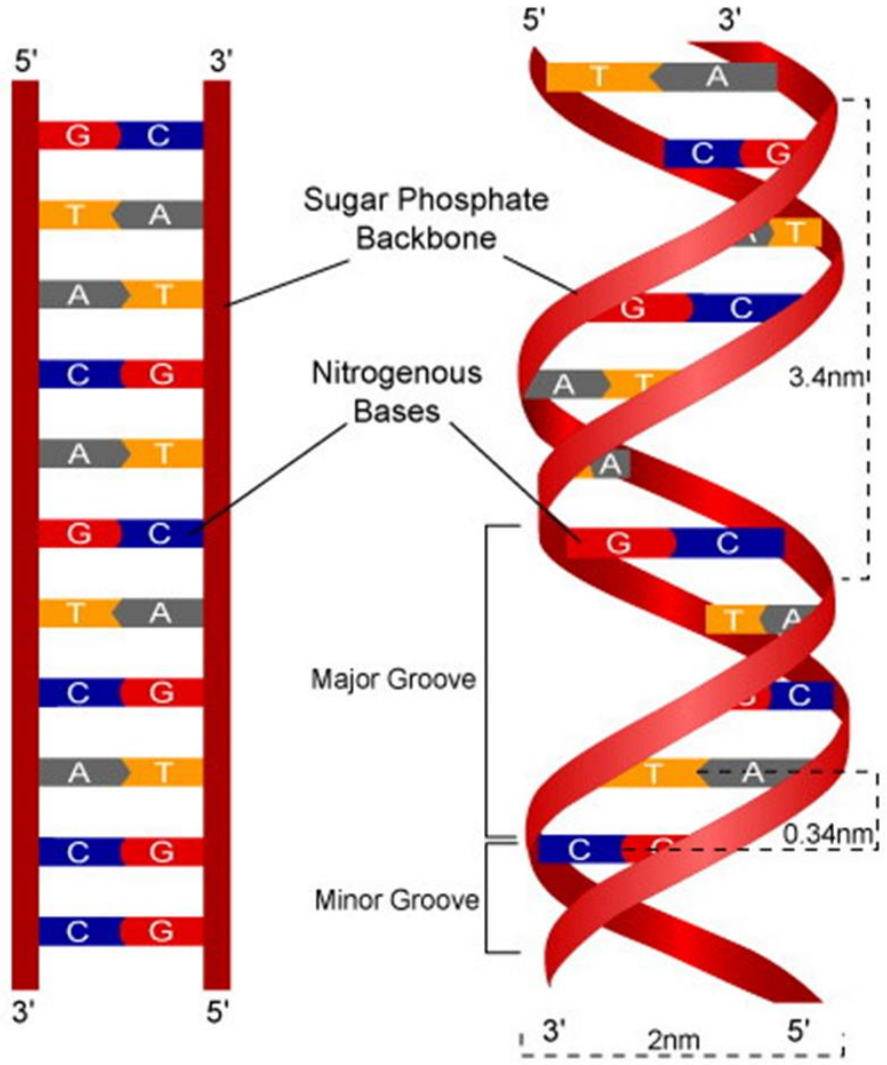


ارتباط القواعد النيتروجينية في سلسلتي DNA



يبلغ طول اللفة الكاملة 34 انغستروم، تحدث اللفة كل عشر أشفاع من الأسس الآزوتية. يتشكل نتيجة التفاف طاقي الدنا مايسمى بالثلم الكبير Major Groove والثلم الصغيرMinor Groove .

تستعمل أزواج الأسس المتتامة (Complementary base pairs لتحديد طول جزيئة الدنا التي تقاس بشفع من الأسس ويرمز لها اختصارا bp من مصاعفاتها Kilo base (Kb والميغا أساس Mega base (Mb) يبلغ طول الصبغي البشري مثلا نحو 263 Mb

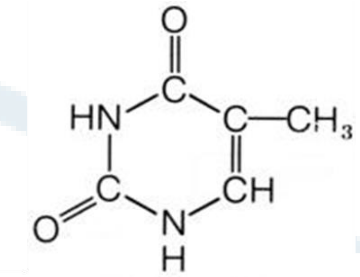


الفرق بين الأسس الآزوتية والأهمية الوظيفية لهذا الفرق

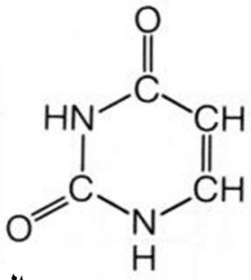
التايمين يختلف عن اليوراسيل بمجموعة ميتيل. التايمين هو 5 -ميتيل اليوراسيل. عملية إضافة الميتيل (المتيلة) Methylation لأي مركب تجعله أكثر ثباتا.

التايمين أكثر ثباتاً من اليوراسيل، فهو أكثرمقاومة لأنزيمات النوكلياز التي تقوم بحلمهة النكليوتيدات

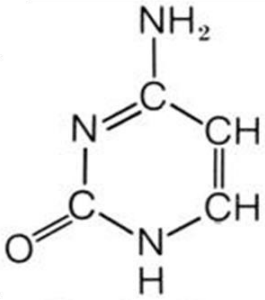
السيتوزين فيختلف عن اليوراسيل بمجموعة أمينية.



التيمين Thymine (T)



اليوراسيل Uracil (U)



السيتوزين Cytosine (C)

في الـ DNA يتواجد التايمين حصراً ولا يتواجد اليوراسيل

حيث أن وجود التايمين يحمي الـ DNA من حدوث الطفرات التي تحصل نتيجة التبدلات في البنية الكيميائية للأسس الداخلة في تركيبه وذلك عن طريق الآلية التالية:

تحدث في بعض الأحيان تفاعلات تؤدي إلى نزع أمين السيتوزين وتحوّله إلى يوراسيل. في الحالة الطبيعية تقوم أنزيمات الإصلاح في الـ DNA بتمييز حصول هذا التفاعل وبسبب خلو الـ DNA من اليوراسيل واحتواءه حصراً على التايمين فإن الأنزيمات ترى اليوراسيل على أنه أساس غريب وتقوم بإصلاح الخطأ.

أما في حال افترضنا أنّ الـ DNA يحتوي بالحالة الطبيعية على اليوراسيل:

فإن أنزيمات الإصلاح لن تكون قادرة على التمييز إن كان اليوراسيل أصلي أم متحول عن السيتوزين، وبالتالي عند حدوث عملية تضاعف للـ DNA وانفصال طاقيه لتصنيع جزيء جديد فإن الـ DNA Polymerase ستميز اليوراسيل المتحول عن السيتوزين على أنّه أساس طبيعي وتضع الأدنين مقابله.

وفي الواقع فإن الأساس الصحيح هو السيتوزين الذي يحتاج إلى غوانين كأساس مقابل له. حدوث هذا التغيير في تسلسل الأسس النكليوتيدية يؤدي إلى نشوء طفرات في خيط الـ DNA ، لذلك وجود التايمين في الـ DNA يقلل من حصول هذه الأخطاء ويعطي الـ DNA ثبات أكثر.

وجود اليوراسيل في الـ RNA مناسب أكثر، لأن الـ RNA له الخواص التالية:

هو عبارة عن جزيء وسيط يتم اصطناعه فقط عند الحاجة لبروتين معين.

كما أنه ذو عمر نصفي قصير، فلا تكون هذه التبدلات ذات أهمية.

DNA Denaturation

عملية تمسخ الدنا. وتسمى عملية انصهار، وهو تخريب للروابط الهيدروجينية بين طاقي الـ DNAمما يؤدي إلى انفصالهما، وهي عملية عكوسة ولا تؤدي إلى تخرب الـ DNA.

تختلف عن عملية التمسخ في البروتين حيث تؤدي إلى تخرب البروتين وتكون غير قابلة للعكس.

إن عملية التمسخ لجزيء الـ DNA هو إجراء أساسي كي نتمكن من العمل على الحمض النووي خارج المنظومة الحيوية. فلا بد من إبعاد الطاقين عن بعضهما unwinding قبل البدء بأي تجربة عليه.

أما إعادة تشكل الروابط الهيدروجينية بين الأسس وارتباط طاقي الـ DNA تدعى بالـ Renaturation

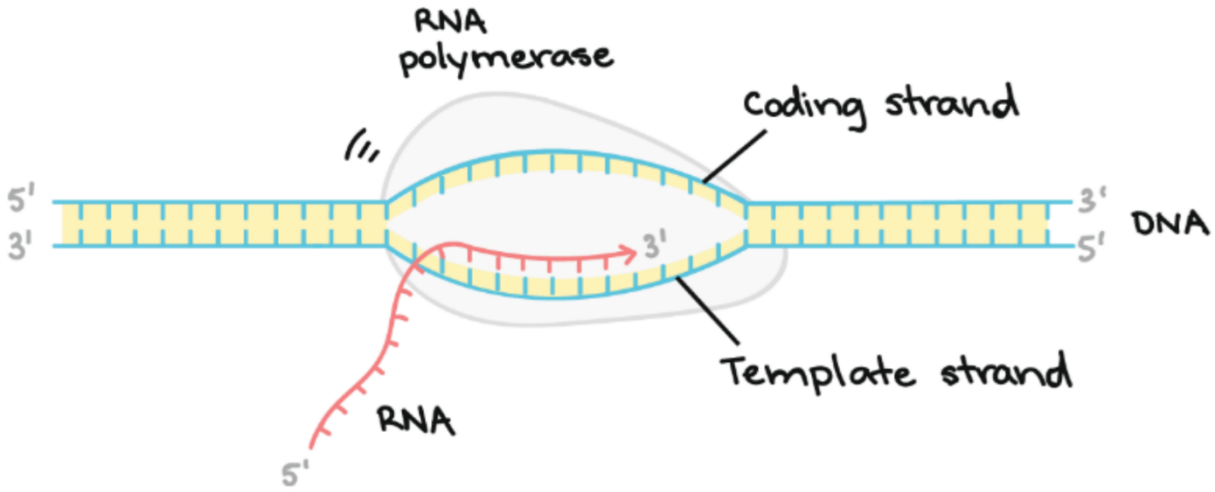
طاق الدنا المرصاف وطاق الدنا المرمز

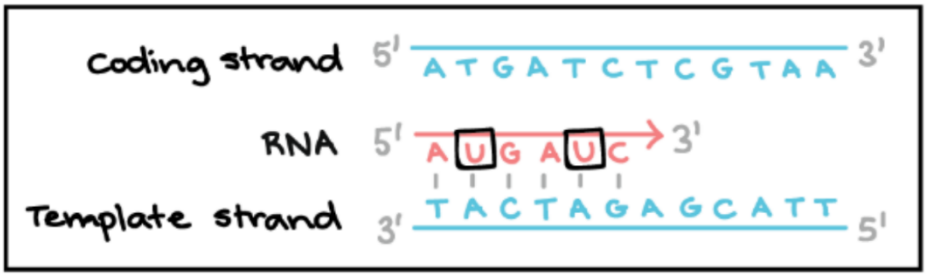
يكمن محتوى المعلومات الوراثية في تسلسل النكليوتيدات على أحد الطاقين:

ندعو هذا الطاق بالطاق المرمّز Coding Strand ، لأنه يطابق تسلسل mRNA المنتسخ غيرأنه يحمل T في الـ DNA و U في mRNA بينما يدعى الطاق الآخر بالمرصاف Template Strand، هذا الطاق هو الذي يُنتسخ أثناء عملية اصطناع الـ mRNA ويسمى الطاق غير المرمّز Non-coding Strand

أما عند تضاعف الـ DNA يشكِّل كل طاق مرصاف Template للطاق الجديد،حيث يتباعد طاقي الـ DNA عن بعضهما ويشكِّل كل منهما قاعدة لاصطناع طاق متمم للآخر فتنتج جزيئتي DNA متطابقتين.

https://manara.edu.sy/

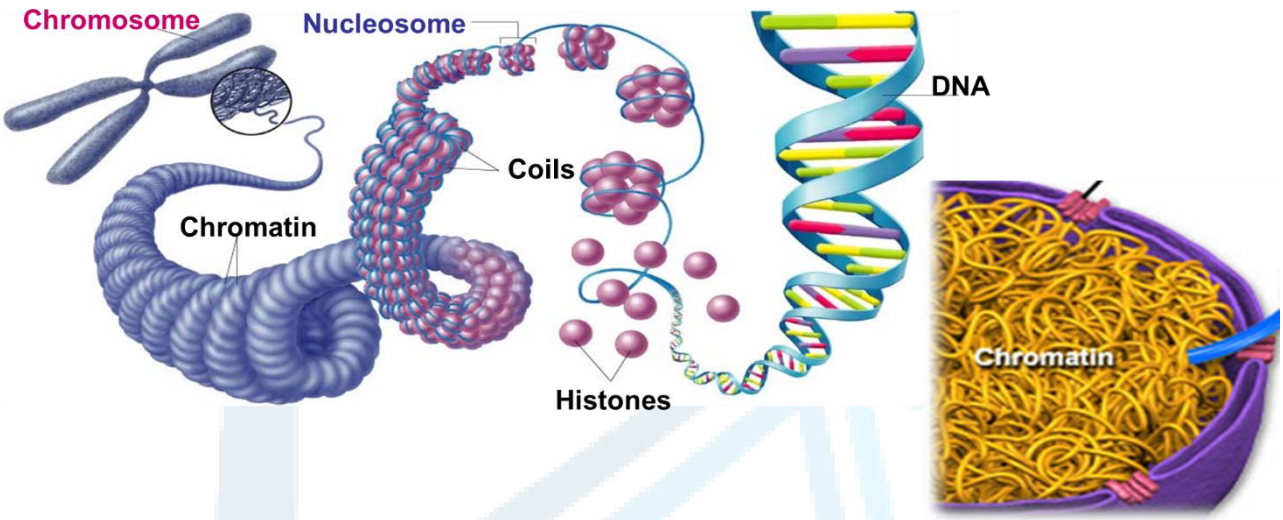




هندسة المجين البشري وتوضع الـ DNA الخلية

يتواجد الـ DNA في النواة إما بشكل مسترخي Relaxed أو فائق الالتفافSuper Coiled

نرى في بعض الكائنات كالبكتيريا وأيضاً في الميتوكوندريا أن نهايتي جزيء الـ DNA متصلتان ببعضهما ليتشكل DNA حلقيّ. تظهر الحالات فائقة الالتفاف عندما يلتف الـ DNA الحلقي حول محوره أو عندما يلتف الـ DNA الخطي بعد تثبيت أحد نهايتيه يتم التحول بين الشكلين المسترخي أو فائق الالتفاف بواسطة أنزيم Topoisomerase ، حيث تقوم أنزيمات الـ Topoisomerase بقص الـ DNA لفكّ التوتر عملية تحرر طاقة أو زيادته عملية متطلبة للطاقة ثم إعادة ربط الطاق المقصوص أنزيم الـ Topoisomerase يضم فعاليتين أنزيميتين متعاكستين.



الهيستونات Histones

الهيستونات هي عائلة صغيرة من البروتينات الأساسية تتألف بشكل أساسي من حمضين أمينيين هما الأرجينين والليزين وتكون بشكل بكرات يلتف عليها خيط ال DNA ، ولها 4 أنواع H1, : H2A, H2B, H3, H4

الهيستونات من النمط H1: لها دور تنظيمي ولا يعد من مكونات البكرة الأساسية وهي الأقل ارتباطاً بالكروماتين وتوجد في بعض المناطق وقد لا توجد في مناطق أخرى .

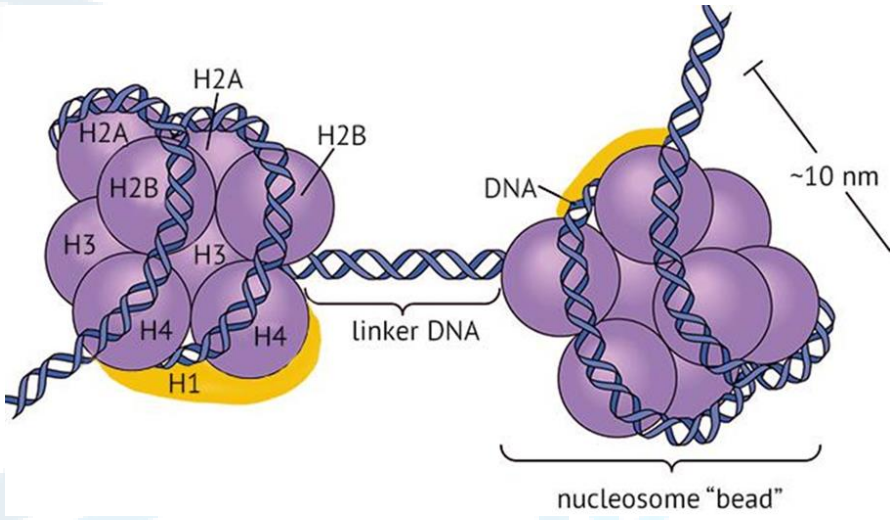
الهيستونات من النمط H2A, H2B, H3, H4: تدعى أيضا هيستونات اللب Core histones يتواجد كل نوع بروتيني منها بشكل مثنوي Dimer ، وتشكل المثمن الهيستوني ضمن الشروط الفيزيولوجية حيث تتجمع هذه المثنويات الهيستونية الـ 4 لتشكل مثموناً هيستونياً histone octamer يحوي 8 وحيدات.

المجين البشري يشكل بنية عالية الانضغاط والتنظيم يساعده في ذلك العديد من البروتينات. هذه البنية العالية الانضغاط هي الكروماتين المؤلف من DNA وبروتينات. تدعى الوحدة الأساسية المؤدية لانضغاط المجين النيكليوزومNucleosome وتتألف من التفاف نحو 147 شفع من الأسس في الدنا حول نواة مؤلفة من بروتينات الهيستون.

تتألف نواة الهيستون البروتينية من اجتماع أربع مستويات من كل من الهيستونات H2A, H2B, H3, H4

تتدلى نهايات أمينية من الهيستونات خارج النكليوزوم فيها أحماض أمينية معينة تخضع لتفاعلات كيميائية مثل:

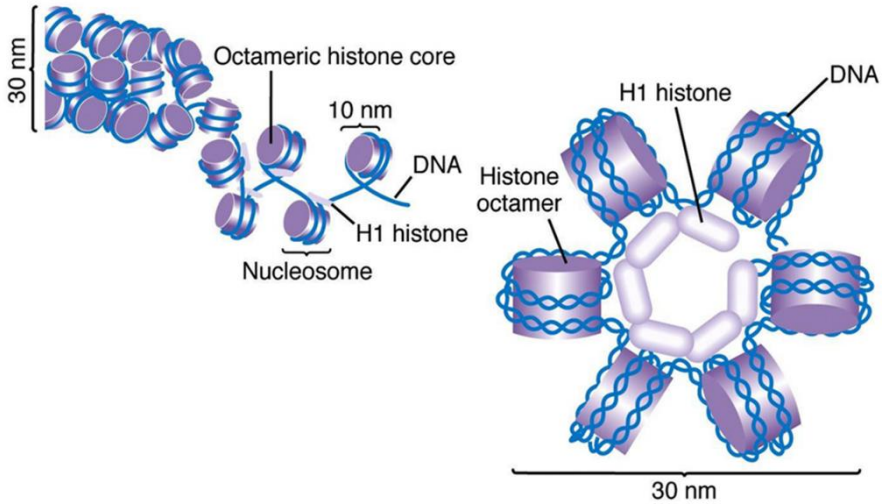
الأسْتلةAcetylation الفسفرةPhosphorylation المتيلة Methylation كل هذه التفاعلات تلعب دورا مهما في تنظيم التعبير الجيني



ليف

الكروماتين: Chromatin Fiber

هو عبارة عن بنية تتكدس فيها النيكليوزومات بعضها فوق بعض بمساعدة الهيستون H1. إذا ما أخذ مقطع عرضي في هذا الليف سيظهر كملف لولبي.



آلية التفاف الـ DNA حول الهيستونات

- آلية ميكانيكية: حيث يمكن تشبيه الهيستون بالبكرة التي يلتف عليها خيط الـ DNA-

- تجاذب كهربائي: ناجم عن اختلاف الشحنة بين الـ DNA ذو الشحنة السالبة يعود ذلك لغناه بمجموعات الفوسفات والهيستون ذو الشحنة الموجبة لغناه بالحموض الأمينية الحاوية على مجموعة أمينية إضافية كالأرجينين واللليزين وهما يحويان مجموعتي NH2 مما يكسبها شحنة موجبة.

الأهمية الوظيفية لالتفاف شريط الـ DNA

خيط الـ DNA طويل جداً لذلك في الحالة الطبيعية للخلية يحتاج إلى عمليات التفاف حول نفسه أولاً، ثم حول الهيستونات بالإضافة إلى عمليات التكديس ليستطيع أن يتوضع داخل الحيّز الصغير المُتاح له في النواة.

عند انقسام الخلية نحتاج إلى فك تكدس والتفاف الـ DNA وتحوّله للشكل المسترخي ليخضع لعملية التضاعفReplication .

يسهم الالتفاف في إخفاء مورثات معينة أو إظهارها، وحتى في حمايتها من الأنزيمات، وأيضاً في التعبير الجيني.

أنزيمات النوكلياز Nucleases

يقصد بأنزيمات النوكلياز الأنزيمات التي تحلمه الحموض النوويّة والنكليوتيدات، وتخرب روابط فوسفو دي استر.

يوجد منها نوعين:

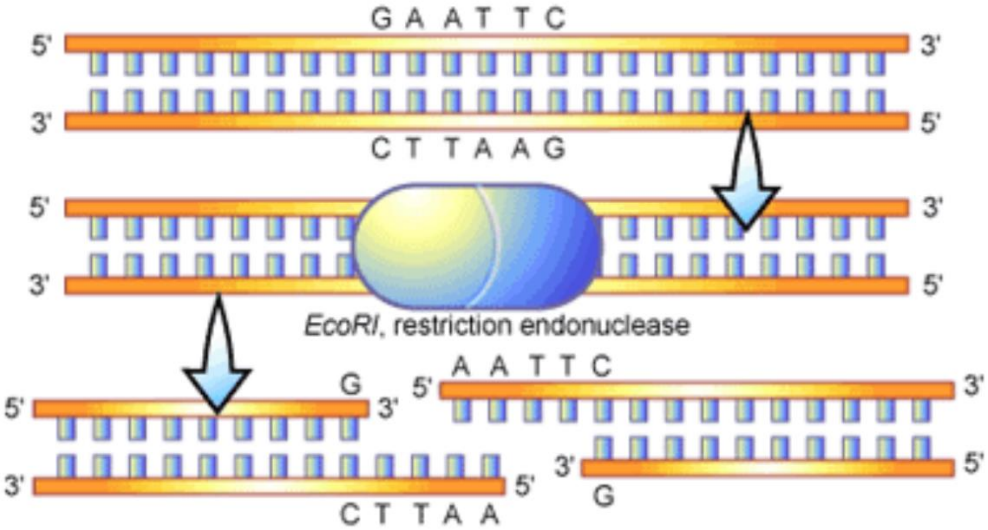
Exonuclease: تقوم بعملية هجوم على الأطراف 3' و 5'، ويوجد منها أنزيمات تعمل من النهاية 5 ' إلى 3 ' وأخرى بالعكس من النهاية 3 ' إلى 5'.

Endonuclease: تخرب النيكليوتيدات ضمن السلسلة، أي أنها تقوم بحلمهة الروابط الفوسفو دي إسترية الداخلية في الحموض النووية.

أنزيمات الاقتطاع Restriction enzymes

أنواع من Endonuclease تتعرّف على تسلسلات محددة من DNA وتقوم بحلمهتها (قطع الرابط الفوسفو دي إستري) تدعى بإنزيمات الاقتطاع.

هذه الأنزيمات موجودة عند الجراثيم فقط وليس البشر مثال عليها *EcoRI*



أنزيم *EcoRI*

موجود لدى الجراثيم والذي يقوم بقطع تسلسل محدد فقط مؤلف من 6 نكليوتيدات وهذا التسلسل هو GAATTC .

لكل *EcoRI* في الجرثوم أنزيم متيلة Methylation يضيف جذر ميتيل على التسلسلات التي يستهدفها الأنزيم، وبالتالي تقي الجراثيم نفسها من الحلمهة.

هذه الأنزيمات تستخدمها الجراثيم كوسائل دفاعية عند وجود أي جسيم غريب.

الأهمية التطبيقية لأنزيمات الاقتطاع

لا توجد مجموعات ميتيل تحمي الـ DNA لدى البشر، وعند عزله نجد أن تأثير إنزيمات الاقتطاع يختلف بين شخص وآخر بعدد مواقع التسلسلات التي تقتطعها والمسافة بينها.

يستفاد من هذه الخاصية في تحديد هوية شخص, وفي قضيا الأبوة الشرعية مثلا لتحديد هوية شخص

تؤخذ عينة DNA من الشخص المجهول ومقارنتها ب DNA الشخص المفروض أن تُطابق هويته هوية المجهول والتي يمكن أخذها من أشياء تخصه تركها قبل أن يسافر، أو يمكن أخذها من أقاربه...إلخ

ثم يتم تقطيع النسختين بالإنزيمات الاقتطاع وبعدها يتم ترحيل القطع كهربائيا ومقارنة النتيجة، ففي حال التطابق يكون التعرف على هوية المجهول قد نجح.

البيولوجية الجزيئية

المحاضرة الثالثة

تضاعف الـ DNA في الخلية الحية DNA Replication

يتضاعف DNA تضاعفا ذاتيا ومن خلال هذه العملية التي تعد أهم عملية حيوية تحدث على سطح الكرة الأرضية يتم نقل المعلومات الوراثية من خلية الى أخرى و من الآباء إلى الأبناء وبالتالي المحافظة على الثبات الوراثي والحصيلة الوراثية, استمرار الأنواع وبقائها.

في أي طور من دورة حياة الخلية يتم تتضاعف DNA؟

تقسم دورة حياة الخلية Cell cycle إلى:

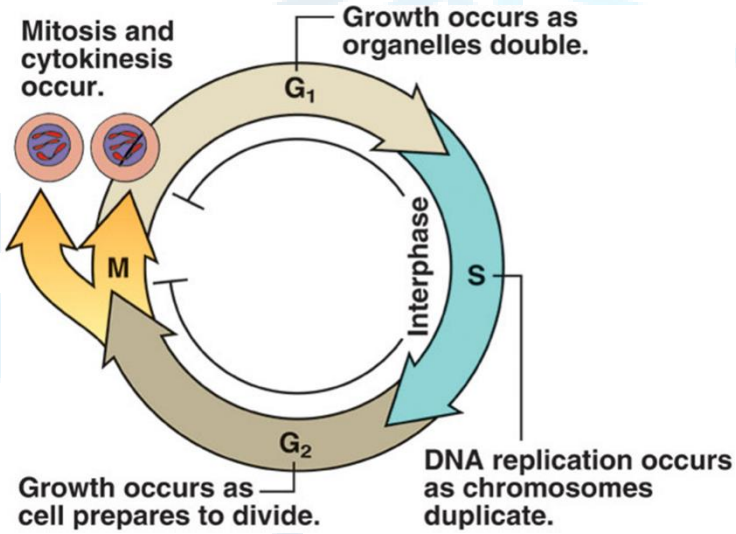
1. الطور البينيInterphase يضم ثلاث فترات

الفترة الأولى للنموG1 : تتضاعف خلالها عضيات الخلية وأنزيماتها

فترة البناءS : تتضاعف خلالها المادة الوراثية بمافيها الدنا والهيستونات

الفترة الثانية للنموG2: يتضاعف خلالها حجم الخلية وتصبح جاهزة تماما للانقسام

2. طور الانقسام الخلوي Mitosis and cytokinesis



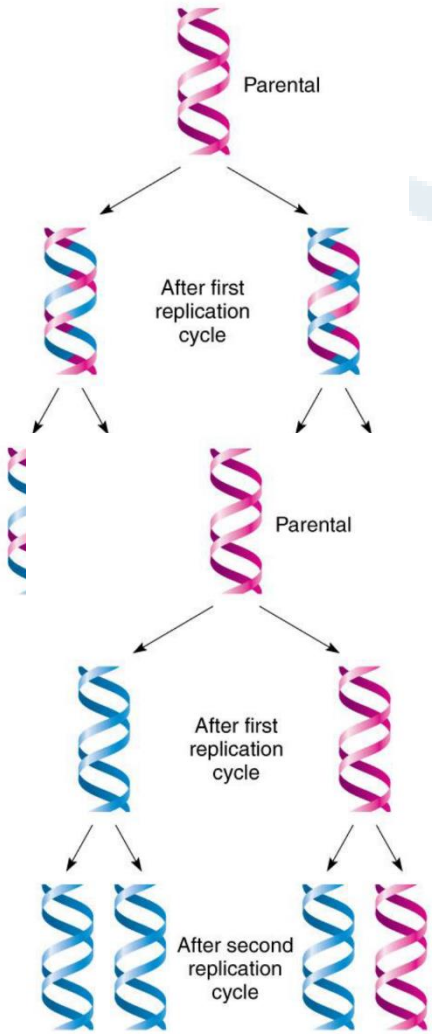
يبدأ تضاعف شريط الدنا عند بدائيات النوى من موقع واحد Single site ةعند حقيقيات النوى يبدأ تضاعف DNA من عدة مواقع Multiple sites

الطريقة التي يتضاعف بها DNA

https://manara.edu.sy/

ظهرت عدة فريضات تفسر آلية تضاعف الدنا هذه الفرضيات كالتالي:

1. تضاعف الدنا بالطريقة التشتتية Dispersive model



تفترض هذه النظرية أن خيوط DNA الأبوي تتكسر عشوائيا خلال عملية التضاعف بطريقة ما وتأخذ كل خلية بنت كمية عشوائية من الدنا الأبوي.

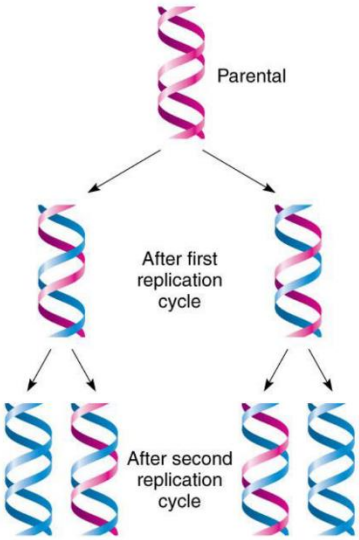
جزئيات DNA المزدوجة في الخلايا الجديدة تحتوي على كميات متباينة من كل من DNA الأبوي والجديد.

2. تضاعف الدنا بطريقة محافظة Conservative model

الجزئ المزدوج الأبوب الأصلي يعمل كقالب لجزئ مزدوج جديد على أن يبقى كاملا.

ينتج في نهاية الدورة الأولى من التضاعف جزيئين مزدوجين أحدهما قديم والآخر جديد.

طريقة شبه محافظة Semiconservative model



سلسلتي DNA تعمل كل منهما كقالب لإنتاج سلسلة جديدة متممة له.

ينتج بعد عملية التضاعف جزيئين مضاعفين كل منهما يحوي سلسلة أبوية.

أثبتت التجارب العملية أن الدنا يتضاعف بطريقة شبه محافظة أهم هذه التجارب.

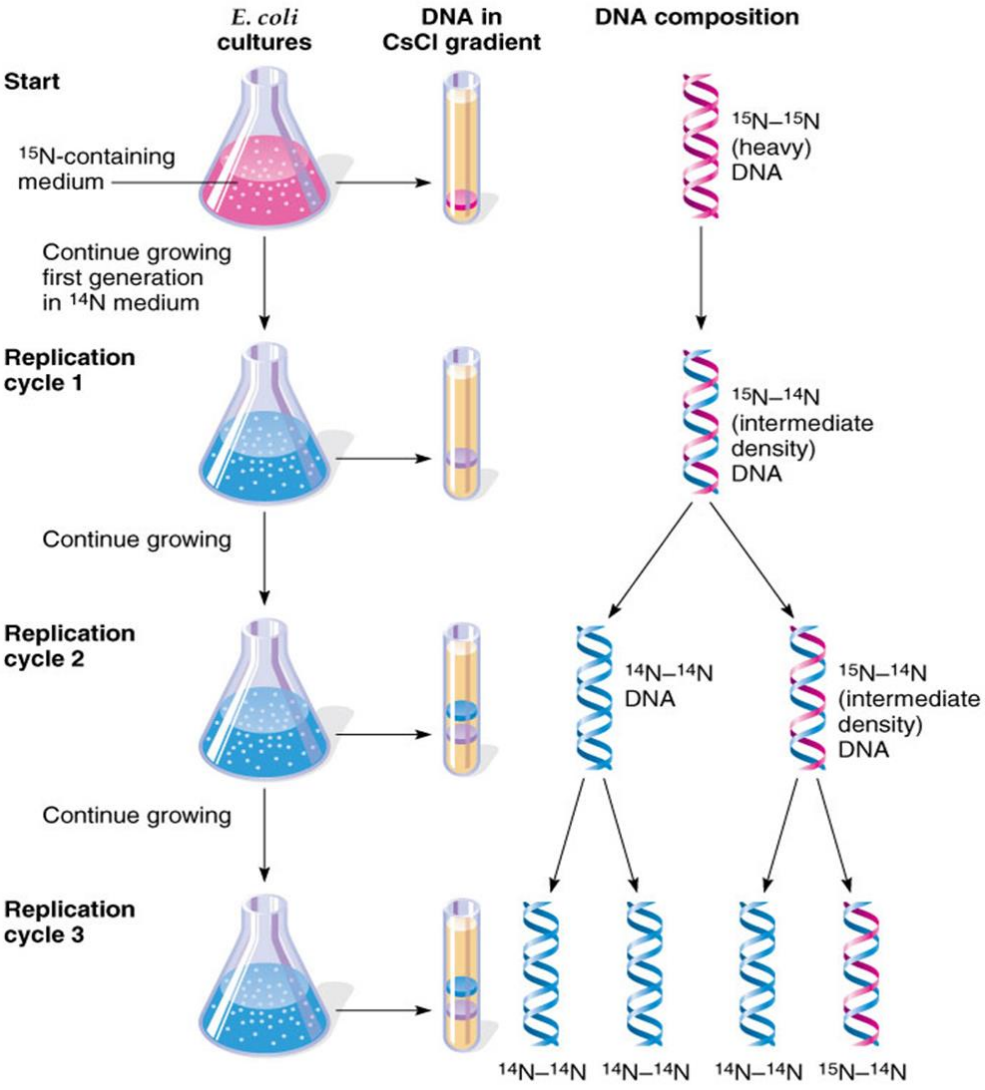
تجارب Meselson and Stahl

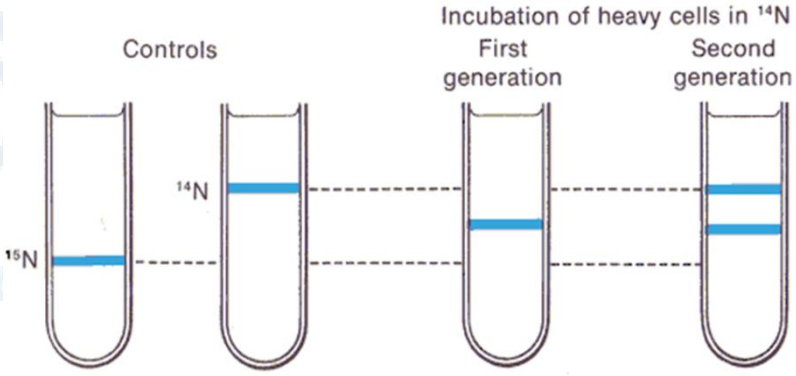
زرع الباحثان جرثومة الإشيريكية الكولونية Escherichia coli في وسط يحوي $^{15}NH_4Cl$. N^{15} هو نظير ثقيل (Heavy isotope) وثابت للتنروجين.

جمع العالمان الجراثيم وقاما بإجراء تنبيذ متدرج الكثافة (Density gradient centrifugation)لاحظو تواجد جزيئات الدنا الحاوية على N^{15}فقط في أسفل الأنبوب. هذا دليل على ارتباط هذا دليل على أن جزيئات الحاوية على نظير N^{14}الطبيعي مرتبطة مع تلك المصنعة حديثا. أعيدت التجربة وزرعت الجراثيم الحاوية على N15 في وسط يحوي NH_4Cl^{14} ليكون مصدر للتنروجين.

أجري التثفيل فلوحظ ترسب الدنا الجديد بعد جيل واحد في مكان أعلى من أسفل الأنبوب وبعد جيلين من الزرع ظهرت عصابتا ترسيب وبقيت العصابتين بعد ثلاثة أجيال . تفسير ذلك أن الدنا الحاوي على N^{15}و N^{14} في الجيل الأول كانت متساوية . قلت نسبة جزيئات الدنا الحاوية على N^{15} دون أن تختفي وزادت نسبة جزيئات الدنا الحاوية على N^{14}. هذا مايفسر ظهور عصابتين.

نشر العالمين نتائج تجاربهما حول تنسخ الدنا في الجراثيم عام 1958. جاءت تجاربهما لإثبات بأن تنسخ الدنا يتم بالطريقة نصف محافظة.


E. coli cultures
DNA in CsCl gradient
DNA composition
Start
15N-containing medium
15N–15N (heavy) DNA
Continue growing first generation in 14N medium
Replication cycle 1
15N–14N (intermediate density) DNA
Continue growing
Replication cycle 2
14N–14N DNA
15N–14N (intermediate density) DNA
Continue growing
Replication cycle 3
14N–14N
14N–14N
14N–14N
15N–14N


Controls
Incubation of heavy cells in 14N
First generation
Second generation
15N
14N

خطوات تضاعف DNA

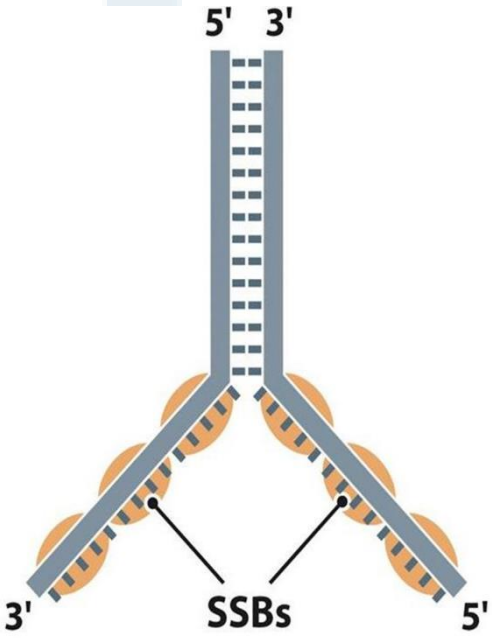
1. تمييز منشأ التضاعف Recognition of Replication origin

في البداية يتم تمييز الموقع الذي سيبدأمنه تضاعف الدنا

2. عملية الإرخاء Relaxation

يقوم أنزيم Topoisomerase بفك الارتياط الحلزوني الفائق في منشأ التضاعف

3. عملية فتح حلزون DNA Double Helix Denaturation وارتباط بروتين الشريط المنفرد Single Starnd Biondng Protein(SSBP)



الغاية من ارتباط الـ SSBP هو لمنع اعادة ارتباط الشريطين وتكوين الحلزون المزدوج وكبح عملية التضاعف أي ان عمل الـ SSBP هو لضمان استقرار الشريطين المنفصلين لحين بدء تصنيع الشريط المتمم لكل منهما. وتسمى هذه المنطقة المفتوحة والمهيأة الى التضاعف بشوكة التضاعف Replication fork والتي تتجه بالاتجاهين .

4. ارتباط البادئ Primer Binding

يتم ارتباط البوادئ على شريطي الدنا ذه البوادئ تتركب كيميائيا من نكليوتيدات ريبية.

5. البلمرة وإطالة الشريط Polymerization and Strand Extension

يقوم أنزيم الدنا بوليميراز بالارتباط على شريط الدنا والبرايمر ويبدأ برصف النكليوتيدات الريبية منقوصة الأوكسجين ثلاثية الفوسفات باتجاه 5 إلى 3. يتم بناء السلاسل الجديدة ضمن شوكة التضاعف تسمى السلسلتين الجديدتين بالسلسلة المباشرة Leading strand والسلسلة المتلكئة Lagging strand

السلسلة المباشرة أو الطاق المباشر يتشكل بشكل مباشر قطبيته من 5 إلى 3 وتحتاج إلى برايمر واحد فقط. أما الطاق المتلكئ يتشكل على شكل قطع منفصلة تدعى قطع أوكازاكي قطبية هذا الطاق من 3 إلى 5 ويحتاج تشكيله إلى العديد من البرايمز.

6. عملية إزالة البرايمر وغلق القطع Primer removing and Nick sealing

تتم إزالة البرايمز ذات الطبيعة الريبيية وملئ الفراغات مكانها بنكليوتيدات ريبية منقوصة الأوكسجين.

7. عملية الإنهاءTermination

تحدث هذه العملية في عدة مناطق تسمى مناطق إنهاء التضاعف، وتحدث هذه العملية نتيجة لارتباط بروتينات الإنهاء بهذه المناطق.

الأنزيمات المسؤولة عن تضاعف DNA في بدائيات النوى

Topoisomerase: المسمى بأنزيم الاسترخاء relaxing enzyme بالتخلص من اللفائف فوق الحلزونية الكبيرة

DNA helicas: يقوم بشطر الروابط الهيدروجينية بين سلسلتي الدنا

RNA primase: بناء البوادئ اللازم لعملية التضاعف

DNA polymerase III: مسؤول عن يلمرة (تكثير) سلسة DNA الجديدة من أهم خواصه أنه ليس له القدرة على البدء بتخليق DNA وإنما هو فقط يضيف نيوكليوتيدات إلى الطرف 3` H-o للبادئ المرتبط بروابط هيدروجينية مع سلسلة DNA الأصلية.

DNA polymerase I: يقوم باستبدال بوادئ RNA ب DNA على السلسلة المتلكئ

DNA ligase: الربط بين قطع أوكازاكي على السلسلة المتلكئة

أنزيمات البلمرة

تختلف إنزيمات الـ polyremase عن بعضها: بسرعة التصنيع وعدد النكليوتيدات التي تصنعها

وبالتالي DNA polymerase الأساسي يجب أن تكون سرعته كبيرة.

أما باقي الأنواع سوف تكون أبطأ بالتصنيع، وبالمقابل لها وظائف أخرى كإصلاح الدنا أي

لها خاصيتين هي:

تصنيع وإصلاح

أنواع الـ DNA Polymerase في بدائيات النوى

DNA Pol III

https://manara.edu.sy/

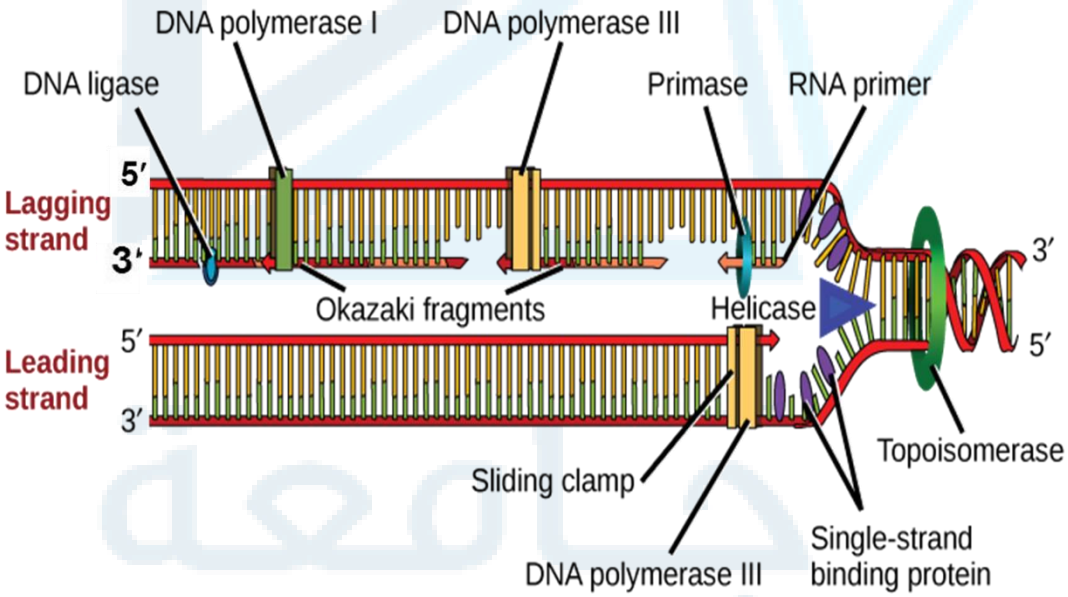
يعمل على شوكة التضاعف وهو الإنزيم المسؤول عن الإطالة واصطناع طاقي الـ DNA الجديدين، والأساسي في عملية التضاعف وهو من بين جميع أنواع البوليمراز الأسرع في معدل إطالة السلسلة والأكثر قدرة على إضافة نكليوتيدات.

DNA Pol II

يعمل على التدقيق **proofreading** وإصلاح الأخطاء.

DNA Pol I

مسؤول عن التخلص من مشارع الـ RNA وإعادة ملء الفراغات التي تركتها هذه المشارع أي أن له فعاليتين إنزيميتين Rnase و Polymerase



أنواع الـ DNA Polymerase في حقيقيات النوى

Polymerase α

اصطناع مشارع أو بوادئ الـ RNA له فعالية Primase

Polymerase β

إصلاح الأخطاء له فعالية مشابهة لـ Polymerase II عند الجراثيم فيقوم بإزالة النكليوتيد الخاطئ، وإضافة نكليوتيد صحيح وهو إنزيم بطيء جداً يعمل على إصلاح النسخة النهائية.

Polymerase γ

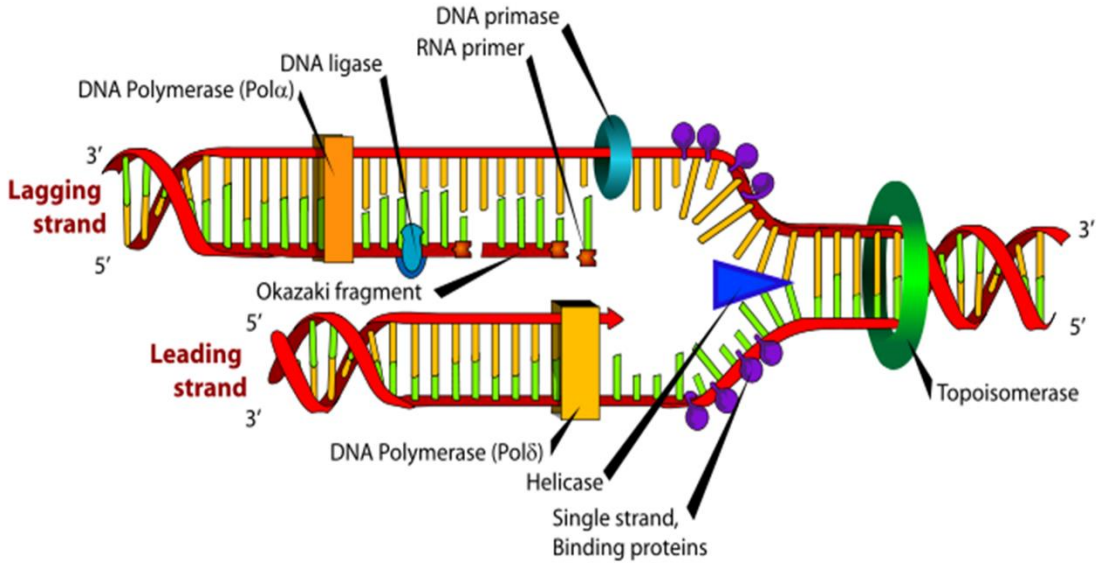
تنسخ الـ DNA المتقدري مسؤول عن عمليات الاستقلاب وانزيمات السلسلة التأكسدية والتي تتطلب سرعة بالإنتاج.

Polymerase δ

لها الدور الأساسي في إطالة سلسلة الـ DNA الجديدة ورصف النكليوتيدات، بالإضافة إلى قدرتها على إصلاح الأخطاء يقابل Pol III عند الجراثيم.

Pol ε

ملء الفراغ الناتج عن حذف primers RNA بنكليوتيدات DNA.



التنسخ عند القسيم الطرفي Replication at the Telomere

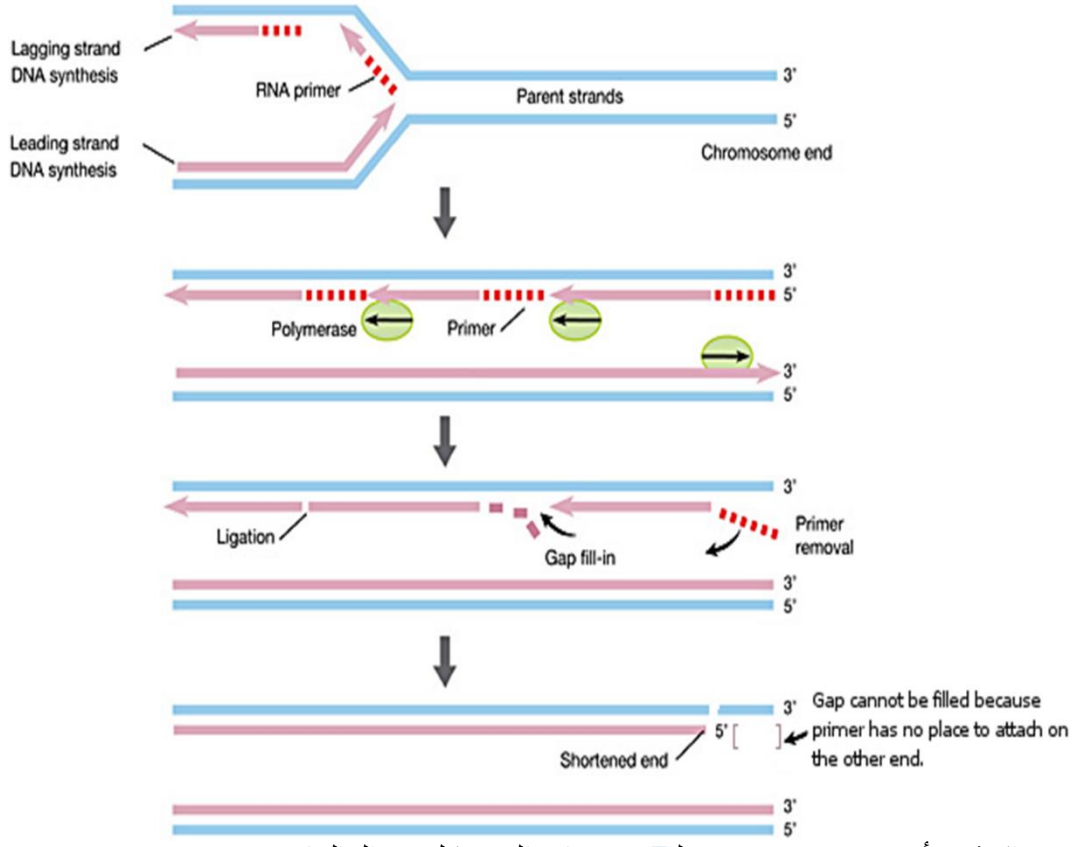
يقع القسيم الطرفي عند طرفي الصبغي عند الثدييات يكثر فيه تسلسل TTAGGG عند أحد الطاقين (الطاق الغني بالغوانين) ويقابله على الطاق المقابل التسلسل AATCCC (الطاق الغني بالسيتوزين).

الطاق الغني بالسيتوزين يبدأ ب 3` وينتهي ب 5`

الطاق الغني بالغوانين يبدأ ب 5` وينتهي ب 3`

عند تنسخ الدنا فإن الطاق الغني بالسيتوزين هو الطاق المرصاف لتصنيع الطاق المباشر أما الطاق الغني بالغوانين هو الطاق المرصاف لتصنيع الطاق المتلكئ.

عندما يتم نزع المشرع المتوضع عند النهاية 3` فلن يتم ملئ الفراغ وسيترك فجوة (Gap) بالتالي الطاق المتلكئ سيكون أقصر من الطاق المرصاف عند وجود هذه الحالة فإنه كلما حدث انقسام خلوي ستصبح الصبغيات أقصر في الخلايا البنت المتولدة عن الانقسام حتى يطال النقص في طول الصبغيات وحذف الجينات القريبة من القسيم الطرفي.



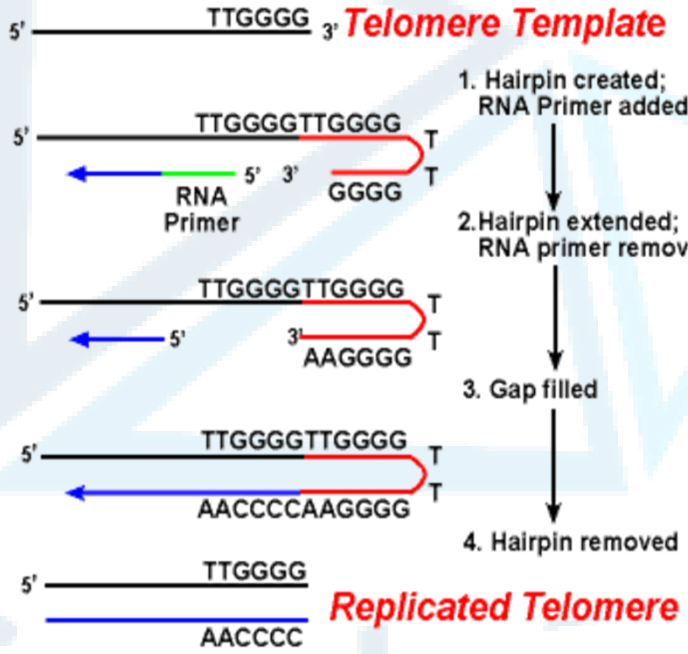
اكتشف أنزيم Telomerase لدى حقيقيات النوى كل من العالمان Elizabeth Blackburn and Carol greider هذا الأنزيم هو الذي ساعد على فهم حماية الصبغي من التقصير Shortening . الطاق الغني بالغوانين يمتد بشكل طاق مفرد يطلق عليه ذيل أحادي الطاق (Singel-stranded-tail).

آلية عمل إنزيم التيلوميراز عند:Tetrahymena يحوي الذيل أحادي الطاق عدة تكرارات للتسلسل 3`5 TTGGGG ` يحوي أنزيم التيلوميراز عند Tetrahymena في بنيته على قطع صغيرة من تسلسلات الرنا وهي AACCCCAAC هذه القطع تعمل كإشارة تضمن ارتباط إنزيم التيلوميراز مع القسيم الطرفي وتعمل كمرصاف لاصطناع تكرار TTGGGG الموجودة في في طاق الدنا تسمى عملية اصطناع الدنا من الرنا بالانتساخ العكسي Reverse Transcription

آلية عمل إنزيم التيلوميراز عند Tetrahymena

يتقابل جزء من الرنا الموجود في معقد إنزيم التيلوميراز مع بضعة نكليوتيدات موجودة في نهاية الذيل أحادي الطاق يليها انتساخ عكسي لجزء من الرنا مما يؤدي إلى استطالة الذيل أحادي الطاق.

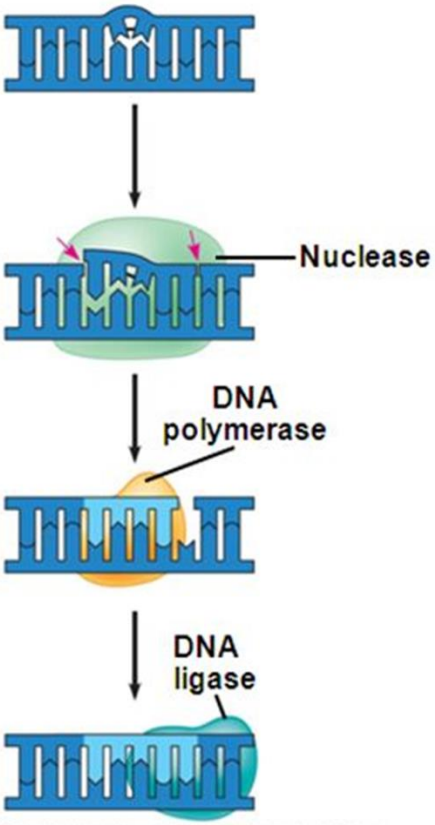
ينزاح معقد إنزيم البوليميراز نحو اليسار ويكرر العملية نفسها مؤديا لزيادة في استطالة الذيل أحادي الطاق بعدها تقوم أنزيمات البريماز وبوليميراز الدنا والليغاز باصطناع وملئ الفجوة وفق الخطوات المذكورة في تنسخ الدنا.



فعالية أنزيم التيلوميراز Telomerase activity

فعالية أنزيم التيلوميراز غائبة في الخلايا الجسدية Somatic cells لذلك تفقد هذه الخلايا قدرتها على البقاء بعد عدة انقسامات. الخلايا الخبيثة Malignant cells تملك فعالية التيلوميراز لذلك فهي خلايا خالدة Immortalized cells.

تدقيق وإصلاح الدنا (Proofreading (and Repairing DNA



خطوات إصلاح الدنا من قبل جهاز إصلاح الدنا:

- اكتشاف الأذية في جزيئة الدنا من قبل مجموعة من الأنزيمات.
- يقوم أنزيم النوكلياز (Nuclease) بقص الدنا المتأذي في نقطتين وإزالة الشدفة المتأذية.
- يملأ إنزيم بوليميراز الدنا بالنكليوتيدات المناسبة مكان النكليوتيدات التي تمت إزالتها.
- يربط إنزيم الليغاز بين نهايات النكليوتيدات بتشكيل روابط فوسفودي استر بينها.

ماهي الأخطاء التي تصيب الدنا أثناء عملية التنسخ؟

1. تغير في زوج واحد من الأسس
2. حذف لشدف من الدنا
3. تضاعف لشدف من الدنا

يقوم أنزيمات بوليميراز الدنا بإصلاح (repair) وتنقيح (proofread) كل نكليوتيد يتم رصفه مقابل النكليوتيد الآخر المتمم الموجود على الطاق المرصاف. إذا دخل نكليوتيد بشكل خاطئ يقوم إنزيم بوليميراز الدنا بإزالته ووضع النكليوتيد الصحيح مكانه.

ماهي الأخطاء التي تصيب الدنا ولايستطيع أنزيم الدنا بوليمراز إصلاحها؟

حدوث ما يسمى بالتقابل الخاطئ بين النكليوتيدات (Mismatched nucleotides) كأن يتقابل السيتوزين مع الثيمين. يقوم جهاز إصلاح الدنا (DNA repair system) بمهمة إصلاح الخلل. هذا الجهاز عبارة عن مجموعة من البروتينات والأنزيمات.

يقو م هذا الجهاز بإصلاح الخلل الناجم عن تنسخ الدنا وإصلاح أذيات الدنا (Damaged DNA) المسببة بعوامل كيميائية أو فيزيائية كي لا تتشكل طفرة.

الفرق بين إنزيم الـ Ligase وإنزيم الـ Polymerase

الأنزيم	Ligase	Polymerase
تشكيل الروابط الفوسفودي إسترية	يساهم بتشكيل الروابط الفوسفو دي إسترية	يساهم بتشكيل الروابط الفوسفو دي إسترية
قراءة الطاق وإضافة الأسس المكملة	غير قادر	يتمتع بخاصية قراءة الطاق المقابل وإضافة الأسس المتممة له
الطاقة اللازمة لتشكيل الروابط الفوسفودي إسترية	يحتاج إلى ATP لتشكيل تلك الروابط	يأخذ الطاقة التي يحتاجها لتشكيل الرابطة من شطر مجموعتي فوسفات للنكليوتيد ثلاثي الفوسفات المضاف

البيولوجية الجزيئية

المحاضرة الرابعة

تضاعف الـ DNA خارج الخلية الحية

DNA Amplification

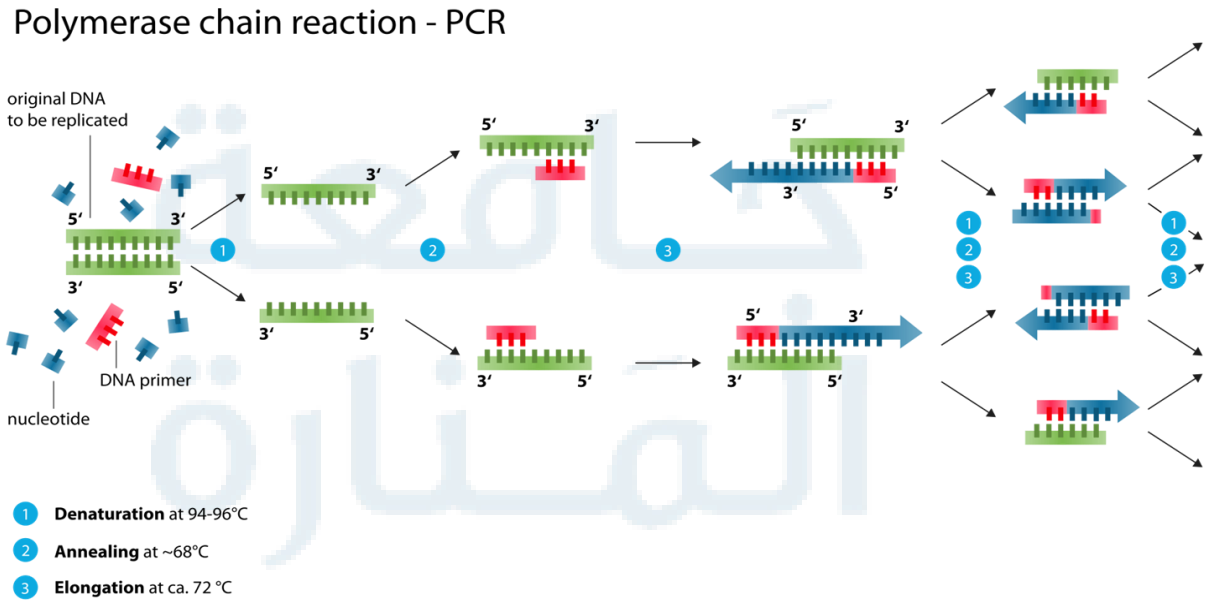
اكتشف العالم Kary Mullis تفاعل البوليميراز السلسلي ونال جائزة نوبل في الكيمياء عام 1993 لهذا الاكتشاف.

تفاعل البلمرة المتسلسل **PCR** Polymerase Chain Reaction : هو عبارة عن تضخيم جزيئة واحدة أو بضع نسخ من قطعة من الحمض النووي عبر عدة أوامر، لتوليد آلاف الملايين

من النسخ من تسلسل الحمض النووي بصفة خاصة ,وهي تقنية لايمكن الغنى عنها في كثير من الأحيان تستخدم في مختبرات البحوث الطبية والبيولوجية لمجموعة متنوعة من التطبيقات.

آلية التفاعل:

- فصل طاقي الدنا الأصليين .
- استخدام بوادئ Primers نوعية للتتالي المراد تضخيمه.
- ينفصل طاقي الدنا الأصليين وتتفكك الروابط الهيدروجينية بين النكليوتيدات المتقابلة بفعل الحرارة العالية.
- ترتبط البوادئ بالتسلسل النكليوتيدي المتمم لها .
- يقوم إنزيم بوليميراز الدنا DNA Polymerase بإنتاج طاقين متممين لكل من الطاقين الأصليين.
- يحدث التفاعل بشكل متوالية هندسية لتنتج مئات ملايين النسخ من قطعة دنا واحدة في غضون ساعات قليلة.



تفاعل البوليميراز السلسلي وتضاعف DNA في الخلية

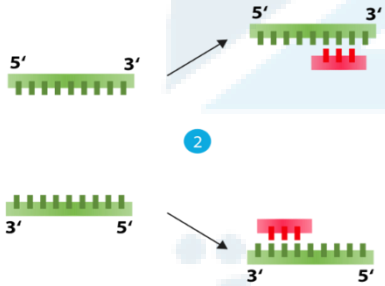
تضاعف الدنا :

- يتم فصل طاقي الدنا باستخدام أنزيم الهيليكاز
- البوادئ من الرنا
- أنزيم الدنا بوليميراز يعمل في درجة حرارة 37 درجة مئوية

تفاعل البلمرة السلسلي:

- يتم فصل طاقي الدنا بتسخين عينة الدنا إلى الدرجة 95 درجة مئوية
- بوادئ من الدنا
- أنزيم الدنا بوليميراز يسمى Taq DNA Polymerase يعمل في درجة حرارة 72 درجة مئوية

مواصفات البوادئ في تفاعل البوليميراز السلسلي



- طولها 18 إلى 25 أساس نكليوتيدي
- متممة في تسلسلاتها للنهاية 3` لكل من طاقي الدنا الأصلي
- بعد ارتباطها بالدنا تشكل نقطة البداية لعمل بوليميراز الدنا

انزيم بوليميراز الدنا Taq DNA Polymerase المستخدم في تفاعل البوليميراز السلسلي

يستخرج هذا الأنزيم من جراثيم Thermus aquaticus التي تعيش على سفوح البراكين وتصنف من أليفات الحرارة ويتحمل حرارة تصل إلى مئة درجة مئوية .

الشروط المخبرية لتفاعل ال PCR

مواد التفاعل

DNA Template, Primers, dNTPs (Deoxynuleoside triphosphates), Buffer, Mg^{+2}, H2O, DNA Polymerase

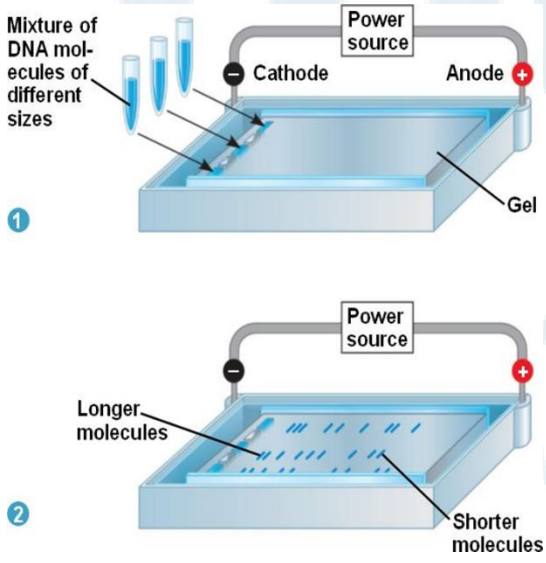
خطوات تفاعل البوليميراز السلسلي

خطوات دورة تفاعل البوليميراز السلسلي	درجة حرارة الخطوة (درجة مئوية)	هدف الخطوة
الصهر (Melting) أو التمسخ (Denaturation)	94 أو 95	فصل طاقي الدنا المراد تضخيمه
الارتباط (Annealing)	50 إلى 60	ارتباط بوادئ الدنا بالتسلسلات المتممة لها في النهاية `3 من كل من طاقي الدنا
الإطالة (Extension)	72	رصف النكليوتيدات المتممة لتسلسل دنا الطاقين الأصليين من قبل أنزيم Taqمعتمدة على البوادئ المرتبطة بالدنا ويقوم الأنزيم بتطويل الطاقين بالاتجاه ´5 إلى `3

يتم تكرار الدورة السابقة حوالي 25 إلى 30 مرة باستخدام جهاز المدور الحراري Thermocycler

الرحلان الكهربائي

الغاية من هذه التقنية هو فصل شدف الدنا الناتجة من التضخيم في تفاعل PCR حيث تعبر شدف الدنا ذات الشحنة السالبة عبر مادة هلامية ضمن حقل كهربائي من القطب السالب إلى الموجب تبعا لحجومها. هذه المادة الهلامي عي عبارة عن بولي أكريل أميد, أو الآغاروز.



هلامة بولي أكريل أميد

تمتاز بالفصل الجيد لشدف الدنا المختلفة بالطول.

عند استخدام تراكيز عالية منها يمكن لهذه الهلامات أن تفرق بين قطعتي دنا تختلفان بنكليوتيد واحد.

تمكن من كشف طفرات الإقحام أو الخبن.

صعبة التطبيق لتطلبها جهد ووقت طويل بالإضافة إلى سمية مادة بولي أكريل أميد العالية.

هلامة الآغاروز

ليست عالية الدقة، تحضيرها سهل لا يكلف جهد ووقت طويل، غير سامة.

تفاعل البوليميراز السلسلي بالناسخة العكسية Reverse Transcription PCR (RT-PCR)

يعتمد هذا التفاعل على مايلي :

المادة الوراثية عبارة عن جزيئات رنا مرسال بدلا من دنا

وجود عديد الأدنين Poly A في النهاية 3` لجزيء الرنا المرسال

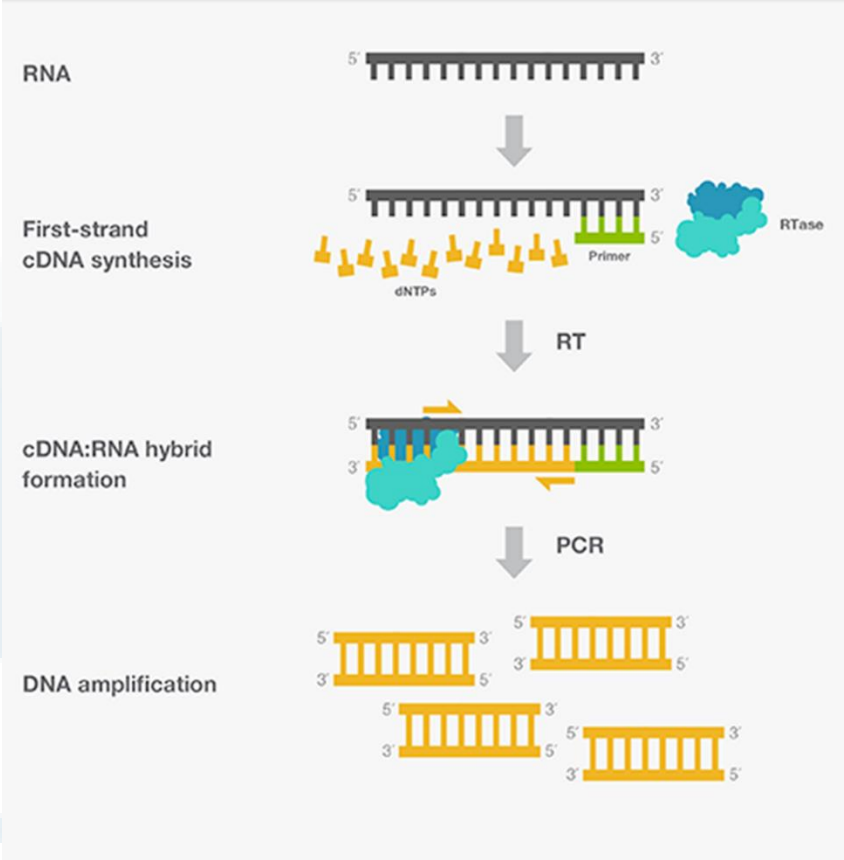
استخدام بوادئ مؤلفة من عديد الثايمين Poly T التي ترتبط بعديد الأدنين في النهاية 3` للرنا المرسال

استخدام إنزيم الناسخة العكسية Reverse Transcriptase

تستخرج أنزيمة الناسخة العكسية من أحد أنواع الفيروسات القهقرية Retroviruses والتي تملك مجينا من الرنا. تقوم هذه الأنزيمة بنسخ جزيء دنا متمم لجزيء الرنا المرسال Complimentary DNA (cDNA).

https://manara.edu.sy/

بعد انتساخ جزيء الرنا المرسال يتم تفكيكه بإنزيم RNAase وحلمهة الروابط بين نكليوتيداته الريبية. جزيء الدنا المتمم يمكن تضخيمه ضمن تفاعل الـ PCR. تتم عملية التضخيم باستخدام بوادئ الرنا المتبقية أو بوادئ دنا نوعية.



من أهم تطبيقات RT-PCR

التحري عن جزيئات الرنا الفيروسي في مصل الأفراد الذين يشك بإصابتهم بفيروس معين كفيروس الإيدز ويتم ذلك عبر الخطوات التالية:

يستخلص الرنا من بلاسما الدم

يجرى تفاعلRT-PCR

يتم تضخيم جزيء cDNA

يرحل ناتج التضخيم

يقارن مع عينات شاهدة غير مصابة

تظهر عصابة في عينة المريض ولاتظهر في العينة الشاهدة

التطبيقات الطبية والتشخيصية العامة لتفاعل PCR

- التحليل الوظيفي للجينات
- تشخيص الأمراض الوراثية
- تحديد البصمات الوراثية (المستخدمة في علوم الطب الشرعي واختبار الأبوة)
- كشف وتشخيص الأمراض المعدية

البيولوجية الجزيئية

المحاضرة الخامسة

التعبير الجيني Gene expression

يعكس النمط الظاهري Phenotype للكائن الحي التعبير الجيني Gene Expression في خلاياه من خلال انتقال المعلومات الجينية من الدنا إلى البروتين.

https://manara.edu.sy/

تنتقل المعلومات الجينية من الدنا إلى البروتين خلال مرحلتين:

1. الانتساخTranscription : نقل المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا المرسال
2. الترجمة Translation: نقل المعلومات من الرنا المرسال إلى البروتين

في الفيروسات:

تنتقل المادة الوراثية خلال تضاعف الفيروسات من الرنا إلى الرنا في بعض الفيروسات تنتقل المعلومات من الرنا إلى الدنا بعملية الانتساخ العكسي Reverse Transcription بواسطة أنزيم الناسخة العكسية.

الانتساخ Transcription

نقل المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا المرسال بواسطة أنزيم بوليميراز الرنا المعتمد على الدنا.

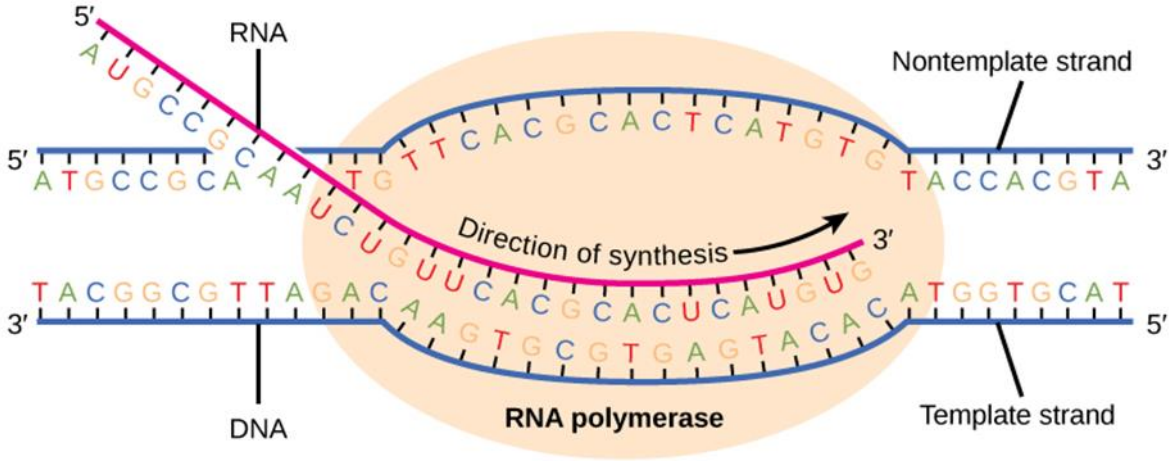
تختلف آلية اصطناع الرنا عن الدنا فيما يلي:

- ركائز التفاعل هي نكليوتيدات ريبية
- يستخدم شريط واحد من الدنا كمرصاف Tamplate لاصطناع سلسلة الرنا
- سلسلة الرنا يمكن أن تبدأ بدون وجود مشارع Primers

الرنا المرسال Messenger RNA

- متمم و معاكس بالقطبية لطاق الدنا المرصافTemplate strand
- مطابق القطبية لطاق الدنا غير المرصافNon-tamplate strand
- مطابق بالتتاليات النكليوتيدية لطاق الدنا غير المرصاف Non-tamplate strand عدا استبدال U بدلا من T
- يصنع في الاتجاه 5` إلى 3`

https://manara.edu.sy/



مقارنة بين الرنا المرسال عند بدائيات النوى وحقيقيات النوى

الرنا المرسال عند بدائيات النوى:

- المنتسخ الأولي Primary Transcript أو الرنا المرسال البدئي Primary mRNA مطابق تماما للرنا المرسال الناضج Mature mRNA
- يصنع في الهيولى
- يسمى بمتعدد الجينات Multigenic لأنه يحتوي على مناطق مرمزة لجينتين أو أكثر
- يوجد رنا بوليميراز واحد يمتلك خمس وحيدات
- لا يحتاج إلى عوامل الانتساخ لبدء اصطناع سلسلة الرنا

الرنا المرسال عند بدائيات النوى :

- الرنا المرسال البدئي Primary mRNA يمثل طليعة فقط للرنا المرسال الناضج Mature mRNA
- يصنع في النواة ثم ينقل للهيولى
- يسمى بوحيد الجين Monogenic لأنه يحتوي على مناطق مرمزة لجين واحد لا غير
- يوجد خمس أنواع رنا بوليميراز تملك عشر وحدات أو أكثر
- يحتاج إلى عوامل الانتساخ Transcription factors لبدء اصطناع سلسلة الرنا

ماهو الأنزيم الذي يتوسط الانتساخ؟

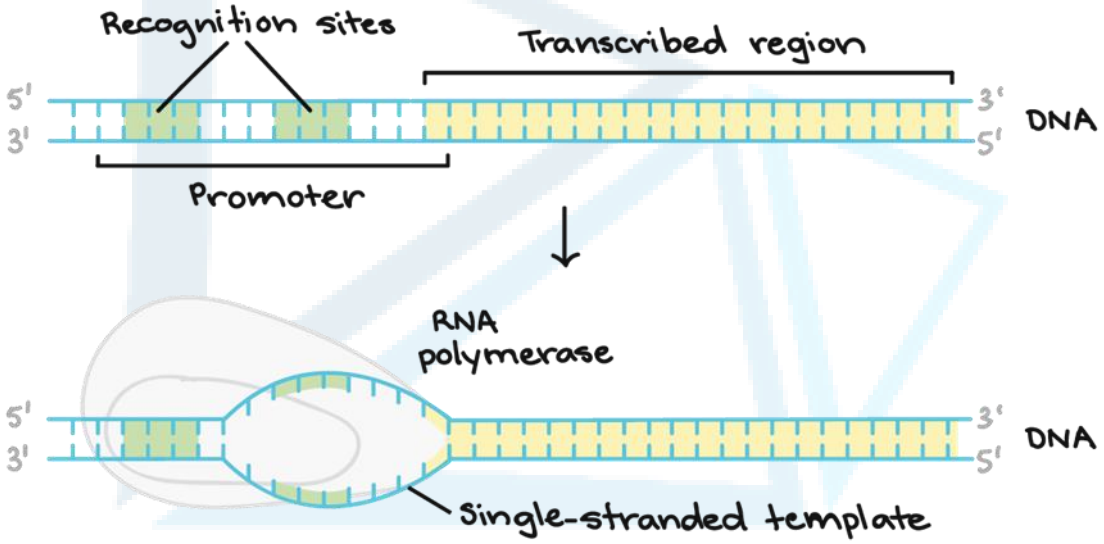
بوليميراز الرناRNA Polymerase

أين يرتبط أنزيم بوليميراز الرنا؟

على تتاليات نكليوتيدية نوعية على الدنا تدعى المحضضاتPromoters

أين يحصل اصطناع الرنا على الدنا؟

على قطعة من الدنا منفكة الطاقين تدعى بفقاعة الانتساخ Transcription Bubble



من المسؤول عن تشكيل فقاعة الانتساخ؟

بوليميراز الرنا

ماهو عدد أنواع الرنا بوليميراز في البدائيات و الحقيقيات؟

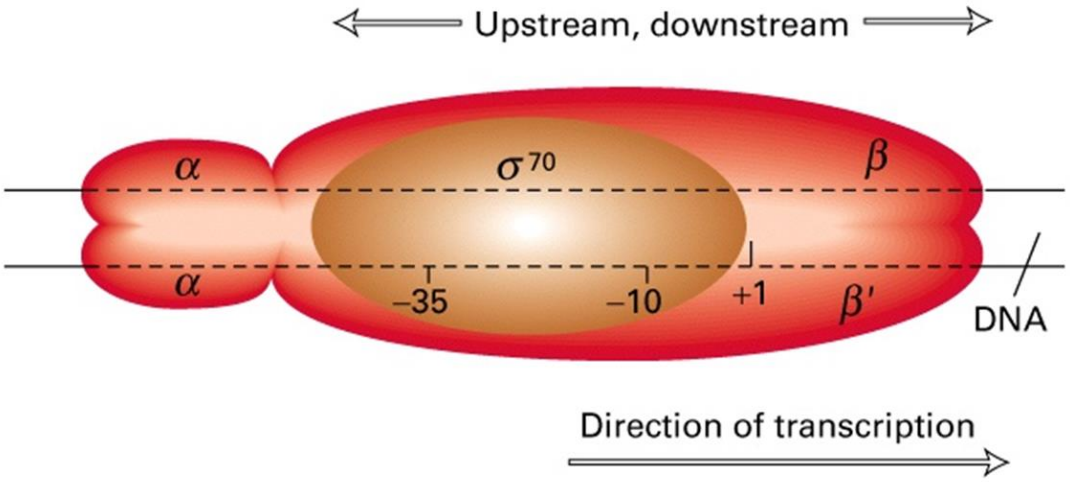
في البدائيات رنا بوليميراز وحيد وفي الحقيقيات خمسة أنواع

ماهو نوع الارتباط الكيميائي في الجزيء المضاعف المتغاير Heteroduplex الناجم عن الارتباط المؤقت بين طاق **الدنا المصاف وسلسلة الرنا الناشئة؟**

روابط هيدروجينية بين الأسس الآزوتية لكلا الشريطين

الانتساخ في بدائيات النوى Transcription in Prokaryotes

تمت دراسة الرنا بوليميراز في الجراثيم القولونية E.coli بشكل مكثف وهو عبارة عن بروتين معقد متعدد الأجزاء (Multimeric) يتألف من خمس وحيدات Subunits تشكل مجمل الإنزيم Holoenzymeهذه الوحيدات هي: $\alpha 2\beta\beta'\sigma$



وظائف وحيدات الرنا بوليميراز في البدائيات

- **وحدتي ألفا:** تساعد في تشكيل المعقد الرباعي $\alpha 2\beta\beta'$
- **الوحيدات بيتا وبيتا فتحة:** تحتوي على موقع الارتباط بالنكليوتيد الريبي ثلاثي الفوسفات
- **الوحيدة سيغما:** تمتلك المنطقة الرابطة للدنا المرصاف، تنخرط في بدء الانتساخ و لاتؤدي أي دور في الإطالة، بعد بدء الانتساخ مباشرة تتحرر وتتواسط الوحيدات $\alpha 2\beta\beta'$ إطالة السلسلة.

مهمة وحيدة سيغما الأساسية التعرف على المحضض وتوجيه بوليميراز رنا للارتباط به

مراحل الانتساخ في بدائيات النوى

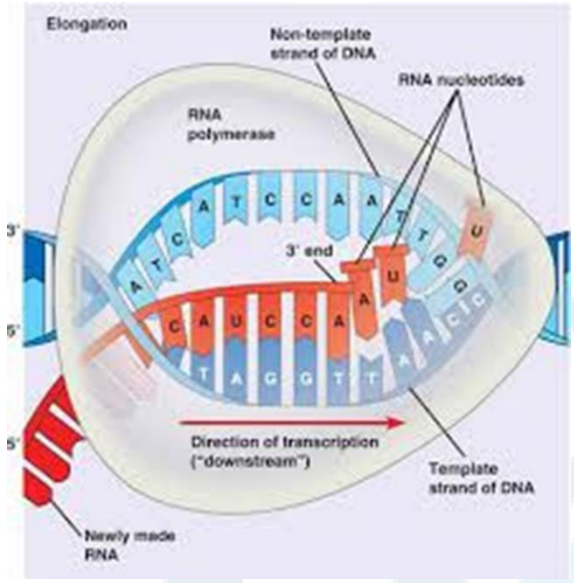
طور البدء Initiation Phase

طور الإطالة Elongation Phase

طور الإنهاء Termination Phase

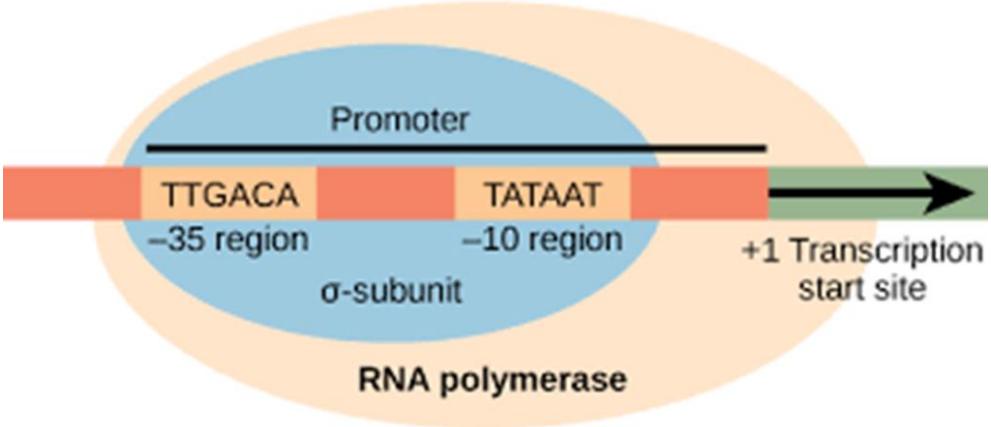
طور بدء الانتساخ Initiation Phase

يتضمن ثلاث خطوات:



1. ارتباط كامل أنزيم بوليميراز الرنا إلى منطقة المحضض في الدنا.
2. فك ارتباط طاقي الدنا بواسطة أنزيم بوليميراز الرنا حيث يتولد طاق حر من الدنا المرصاف يكون ركيزة لاصطناع شريط الرنا عبر رصف النكليوتيدات الريبية.
3. تشكيل روابط فوسفورية ثنائية الإستر بين النكليوتيدات الريبية القليلة الأولى في سلسلة الرنا عددها 8 إلى 9 .

يدل الرقم +1 على وحدة الانتساخ (الدنا المرصاف) موقع بدء الانتساخ وهو أول نوكليوتيد في النهاية 5 لسلسلة الرنا الناتج عن الانتساخ. إشارة النكليوتيدات السابقة لموقع البدء إشارة سالبة. يقع المحضض في وحدة الانتساخ تماما قبل موقع بدء الانتساخ لذلك ترمز نكليوتيداته بإشارة سالبة.



التتاليات المصانة في المحضضات Consensus Sequences

هي تتاليات من النكليوتيدات المتماثلة المصانة Conserved Nucleotides المشتركة بين المحضضات تقع التتاليات المصانة على وحدة الانتساخ ضمن المحضض في منطقتين -10 و -35.

التسلسل النكليوتيدي في المنطقة -10 TATAAT و المنطقة -35 TTGACA من محضض بدائيات النوى ترتبط وحيدة سيغما منطقة في المحضض على التتالي -35.

دور المنطقة -10 من المحضض

يسهل عملية فك طاقي الدنا لغناه بالأدنين والثايمين الذين يرتبطان برابطتين هيدروجينيات فقط.

طور إطالة الانتساخ Elongation Phase

وحيدات الرنا بوليميراز المسؤولة عن إطالة شريط الرنا هي $\alpha 2\beta\beta'$ متوسط طول فقاعة الانتساخ في *E.coli* حوالي 18 زوج نكليوتيدي

كيف تتم الإطالة؟

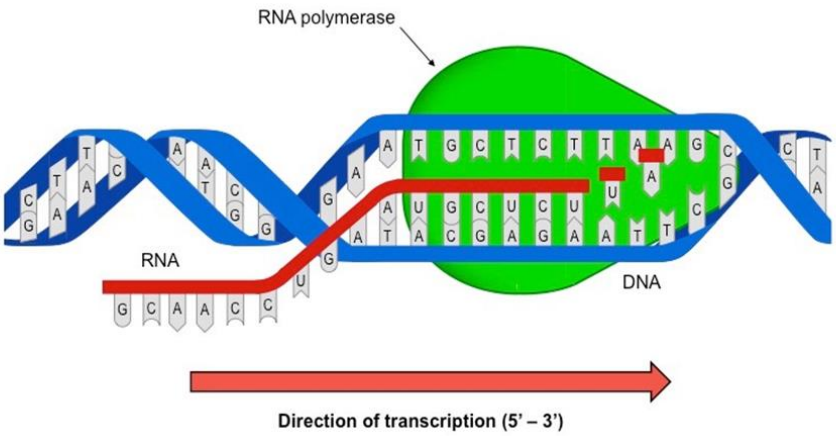
بإضافة نكليوتيدات ريبية جديدة إلى سلسلة الرنا المتشكلة بمعدل 40 نكليوتيد كل ثانية حيث ترتبط النكليوتيدات الجديدة على مواقع خاصة في وحدتي بيتا و بيتا فتحة من الرنا بوليميراز.

من المسؤول عن إعادة ربط Rewinding طاقي الدنا؟

أنزيم الرنا بوليميراز

كيف ترتبط نكليوتيدات الرنا المتشكل مع بعضها و مع طاق الدنا المرصاف؟

مع بعضها بروابط فوسفورية ثنائية الإستر, مع الدنا المرصاف بروابط هيدروجينية



طور إنهاء الانتساخ Termination Phase

يحصل إنهاء الانتساخ حين تصل سلسلة الرنا المتشكلة إلى إشارة الإنهاء Termination Signal

الميزة الهامة والرئيسية للانتساخ في بدائيات النوى هي تزامن الانتساخ والترجمة . في البدائيات لايوجد نواة و غلاف نووي يفصل الدنا عن الهيولى لذلك بمجرد أن تصنع النهاية 5 من جزيء الرنا فإنها تستخدم كمرصاف لاصطناع البروتين.

الانتساخ في حقيقيات النوى Transcription in Eukaryotes

يوجد في جميع حقيقيات النوى ثلاث إنزيمات بوليميراز الرنا (RNA Pol I, II, III) في النباتات وبعض الفطريات فقط تم التعرف على Pol IV و Pol V

ماهي بوليميرازات الرنا في حقيقيات النوى التي تساهم في الانتساخ؟

RNA Pol I, II, III

ماهي البوليميرازات في حقيقيات النوى التي تلعب دور في التنظيم الجيني؟

Pol IV, Pol V

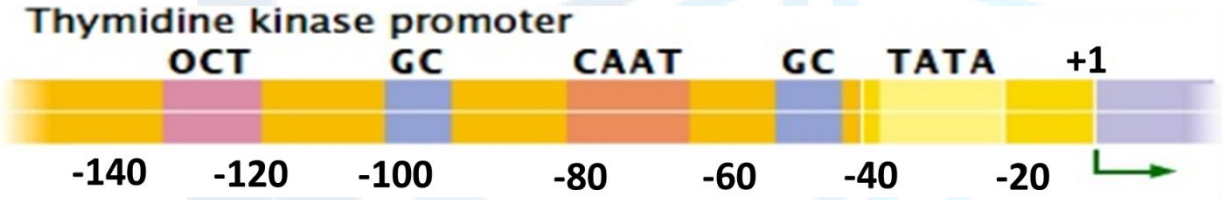
خصائص البوليميرازات في حقيقيات النوى

Enzyme	Location التواجد	Products المنتج المنتسخ بواسطته
RNA Pol I	Nucleolus النوية	الرنا الريباسي rRNA باستثناء S5 rRNA
RNA Pol II	Nucleus النواة	الرنا المرسال الأولي **Nuclear pre-mRNA ينتسخ غالبية الجينات في حقيقات النوى**
RNA Pol III	Nucleus	جزيئات الرنا الناقل tRNAs جزيئة الرنا الريباسي S5 rRNA و جزيئات الرنا النووي الصغير Small nuclear RNAs
RNA Pol IV	Nucleus (Plant)	جزيئات الرنا المتداخل الصغير Small interfering RNAs (siRNAs)
RNA Pol V	Nucleus (Plant)	بعض جزيئات siRNAs ومنتسخات غير مرمزة لجزيئات siRNAs

طور بدء الانتساخ في حقيقيات النوى

معقد بدء الانتساخ في حقيقيات النوى هو منطقة المحضض المرتبطة إلى عوامل انتساخ. أنزيم الرنا لوليميراز الذي ينتسخ الغالبية العظمى من جينات حقيقيات النوى Pol II.

ماهي التتاليات المصانة في محضضات حقيقيات النوى (كمثال محضض جين الثيميدين كيناز)؟



التتالي المصان	الموقع	التتالي النكليوتيدي	الوظيفة
TATA Box	على الدنا غير المرصاف بين الموقعين -40 -20	TATAAAA	تحديد موقع بدء الانتساخ
CAAT Box	قرب الموقع -80	GGCCAATCT	يؤثر في فعالية المحضض
Octamer Box صندوق الثمانية	بين الموقعين -120 -140	ATTTGCAT	يؤثر في فعالية المحضض
GC Box		GGGCGG	يؤثر في فعالية المحضض

طور إطالة الانتساخ في حقيقيات النوى

يتم بشكل مماثل لحقيقيات النوى لكن في هذا الطور يحدث أول تعديل على الرنا المرسال البدئي. تعديل النهاية 5` من المرسال البدئي بإضافة قلنسوة 7 ميتيل غوانوزين 7 MGحيث يرتبط غوانين من GTP مع أول نكليوتيد من النهاية برابطة فوسفورية ثنائية الإستر من النوع 5` إلى 5 `. تتم هذه العملية عندما يبلغ طول سلسة الرنا 30 نوكليوتيد

وظيفة القلنسوة؟

- حماية سلسلة الرنا من التدرك بأنزيمات النكلياز Nucleases ((RNAases
- ضرورية لربط عدة عوامل بروتينية و المساعدة في عملية ترجمة الرنا في الهيولى

طور إنهاء الانتساخ في حقيقيات النوى

في هذا الطور يطرأ التعديل الثاني على الرنا المرسال البدئي بإضافة ذيول عديد الأدنين Poly A للرنا البدئي

ماهو عدد مراحل هذه العملية؟

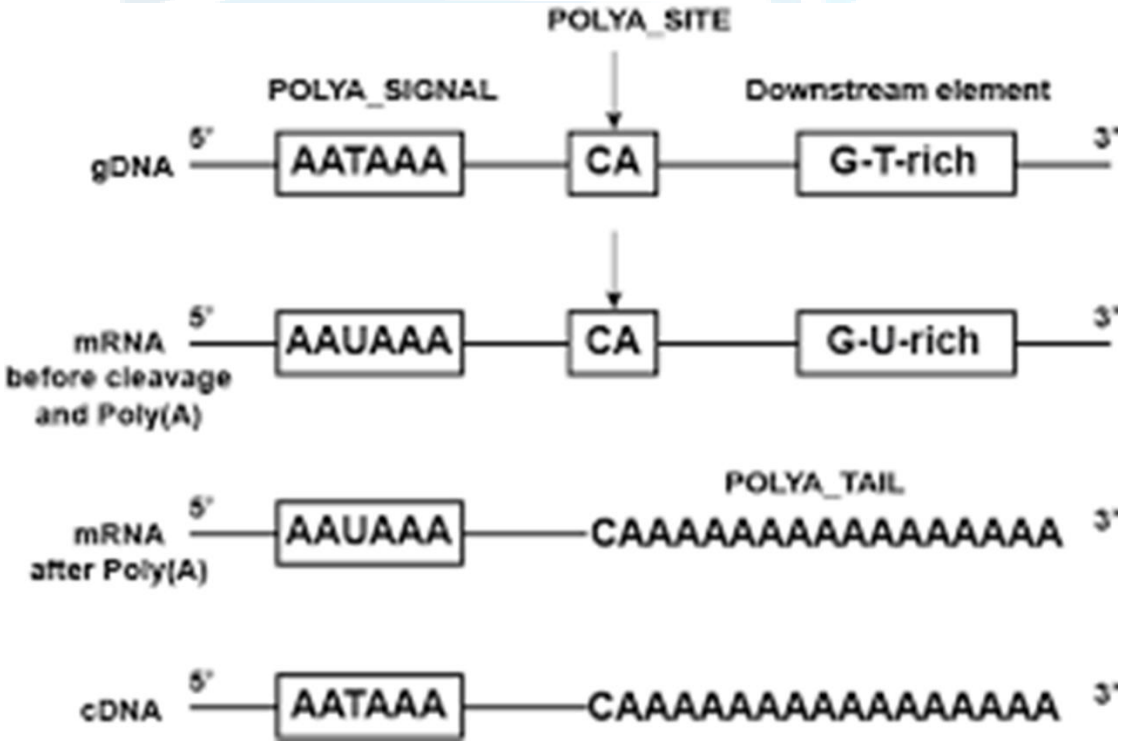
الأولى شطر جزيء الرنا البدئي باتجاه النهاية 3` من التالي المصانAAUAAA الثانية إضافة تسلسل من نكليوتيدات الأدنين يصل طولها إلى 200 نوكليوتيدإلى النهاية 3 `

ماهو عدد الأنزيمات التي تتوسط عملية إضافة ذيولPoly A ؟

أنزيم شطر داخلي Endonuclease يتوسط المرحلة الأولى، أنزيم Poly A Polymerase يتوسط المرحلة الثانية

وظيفة ذيول عديد الأدنين عند حقيقيات النوى؟

تحقق ثباتية جزيئات الرنا المرسال، تؤدي دورا مهما في نقل الرنا المرسال إلى الهيولى



معالجة الرنا المرسال البدئي في حقيقيات النوى بعد طور الإنهاء

إزالة تسلسلات الإنترونات عبر تضفير الرنا المرسال البدئي RNA Splicing

العديد من جينات حقيقيات النوى تحتوي على تتاليات نكليوتيدية من الإنترونات Introns و الإكسوناتExons

الإنترونات: تسلسلات منتسخة وغير مترجمة

الإكسونات: تسلسلات منتسخة مترجمة

اكتشاف الإنترونات عام 1977:

لوحظ وجود تسلسلات في بنية الرنا المرسال البدئي لجين البيتا غلوبين في الأرانب وغائبة في الرنا المرسال الناضج

بتطور التجارب أمكن تهجين الرنا المرسال الناضج مع دنا نفس الجين عملية التهجين هذه أدت إلى تشكل عرى Loops تمتد خارج شريك الدنا يتساوى عددها مع عدد الإنترونات حيث يرتبط الرنا المرسال مع الدنا فقط في منطقة الإكسونات و تزيح منطقة الإنترونات.

الإنترونات :

هي تتاليات غير مرمزة Non-coding Sequences، غير فعالة انتساخيا.

لم تحدد لها وظيفة بدقة مع دور محتمل في نتظيم التعبير الجيني، بعضها يحتوي على محضضات نوعية لبعض النسج. بعضها يحتوي على تسلسلات تعزز تراكم جزيئات الرنا المنتسخ.

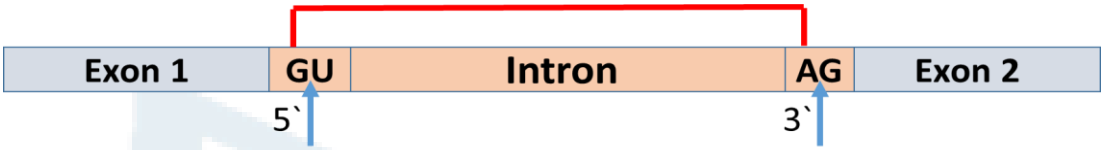
الرنا المرسال البدئي في حقيقيات النوى يحمل الإنترونات والإكسونات يخضع فيما بعد لعملية تضفير Splicing تزيل الإنترونات و تبقي على الإكسونات.

الرنا المرسال الناضج في حقيقيات النوى يحمل فقط الإكسونات تترجم لاحقا في هيولى الخلية.

تتم عملية التضفير في النواة بواسطة جسيمات التضفير Spliceosome هذه الجسيمات عبارة عن معقدات من الرنا (جزيئات رنا نووية صغيرة (Small Nuclear RNAs (SnRNAs والبروتين (Small Nuclear Ribonucleoproteins) تشبه الريباسات.

https://manara.edu.sy/

إزالة تسلسلات الإنترونات عبر تضفير الرنا المرسال البدئي



- شطر الإنترون من نهايته 5` أي بين نهاية الإكسون و النكليوتيد الأول في الإنترون و هو G
- تشكيل رابطة فوسفورية ثنائية الإستر بين الكربون 5` للغوانين في موقع الشطر والكربون 2 للأدنين المصان قرب النهاية 3` للإنترون
- يشطر موقع التضفير 3` للإنترون
- يتم ربط الإكسونين عبر رابطة فوسفورية ثنائية الإستر بين هيدروكسيل النكليوتيد الأخير في الإكسون السابق و مجموعة الفوسفات للنكليوتيد الأول في الإكسون التالي

MANARA UNIVERSITY

البيولوجية الجزيئية

المحاضرة السادسة

الترجمة واصطناع البروتين Translation and protein synthesis

الترجمةTranslation : نقل المعلومات من الرنا المرسال إلى البروتين

تقوم الثلاثيات النكليوتيدية بترميز الأحماض الأمينية حيث ترمز كل ثلاثة نكليوتيدات حمض أميني واحد.

تفسير دور الرامز الثلاثي في ترميز الحموض الأمينية

كيف كانت بداية الفكرة؟

تحديد أن كل رامز مؤلف من ثلاثة نكليوتدات

النكليوتيدات عددها 4 والأحماض الأمينية عددها 20. لايمكن أن يتألف الرامز من نكليوتيد واحد (عدد النكليوتيدات غير كاف).

ولايمكن أن يتألف الرامز من نكليوتيدين لأنه سيكون عدد الروامز 4 للأس 2 وهو 16 بالتالي لا يطابق عدد الأحماض الأمينية.

إذا كان الرامز مؤلف من ثلاثة نكليوتيدات فالاحتمال الكلي 4 للأس 3 أي 64 وهذا عدد يزيد على عدد الأحماض الأولية ويوضح أن كل حمض أميني يحدد بأكثر من رامز.

التجارب الأولى..

تصنيع جزيئات رنا مرسال كيميائيا مؤلفة من تتاليات معروفة مسبقا. النكليوتيدات من نوع واحد هو اليوراسيل. تمت ترجمة هذا الرنا الصنعي في الجراثيم الحمض الأميني الناتج عن ترجمة هذا الرنا الصنعي هوالفينيل ألانين... بالتالي الرامز المرمز لهذا الحمض هو UUU.

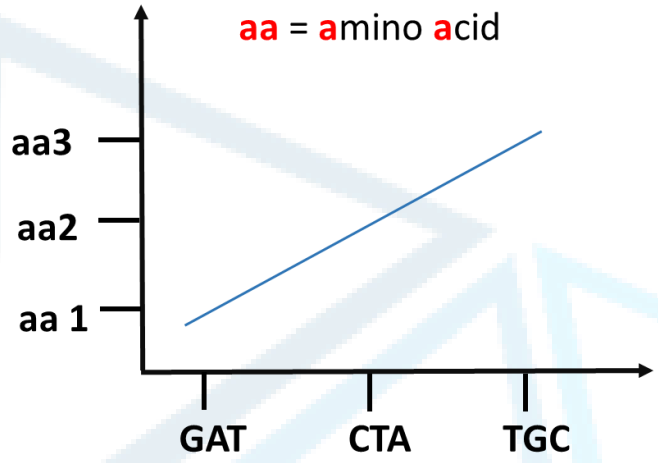
العلاقة الخطية بين الرنا المرسال وعديد الببتيد

علاقة خطية بين المورثة و البروتين الناتج عنها في بدائيات وحقيقيات النوى.

العلاقة الرياضية بين النكليوتيدات و الأحماض الأمينية الناتجة عنها عبارة عن خط مستقيم باتجاه واحد.

أثبتت العلاقة الخطية من خلال إحداث طفرات في تسلسل الدنا وملاحظة التغيير في النمط الظاهري للبروتين.

في بدائيات النوى هناك تقابل واضح في النكليوتيدات المرمزة في الجين و الحموض الأمينية الناتجة عنها. في حقيقيات النوى يتغير هذا التقابل بسبب وجود الإنترونات لكن التقابل يعود بشكل واضح بين الرنا المرسال الناضج و الحموض الأمينية.



خصائص الرامز الوراثي (الشيفرة الوراثية)

- يقرأ الرامز الوراثي بشكل متتال بدون فواصل ضمن الروامز أو بينها
- كل الأحماض الأمينية ماعدا المثيونين تحدد بأكثر من رامز
- الروامز التي تحدد حمض أميني واحد تختلف عادة عن بعضها البعض بنكليوتيد واحد
- يعتبر الرامز الوراثي عام
- لأنه يمتلك نفس المعنى عند جميع الأحياء حيث يقرأ ويترجم بنفس الطريقة من الجراثيم إلى الانسان

خاصية العمومية هذه مكنت الباحثين من إنتاج بروتينات بشرية في الجراثيم عبر إدخال جين بشري إليها ينتسخ رنا مرسال بشري تتم قراءته وترجمته من قبل الجراثيم بالشكل نفسه في الانسان.

مصطلح إطار القراءة المفتوح للترجمة Open Reading Frame (OPR)

التتالي النكليوتيدي المستمر للرنا المرسال بدءا من الرامز AUG إلى أحد روامز التوقف.

يحدد الرنا المرسال نوعية الحموض الأمينية المندرجة في تسلسل عديد الببتيد

تبدأ ترجمة الرنا المرسال من رامز البدء AUG إلى أحد روامز التوقفUAA, UGA, UAG

هل توجد مناطق على الرنا المرسال لاتترجم؟

نعم منطقتين: 5`UTR (Untranslated Region)

3`UTR (Untranslated Region)

5`UTR: تتالي نكليوتيدات غير مترجمة قبل الرامز البدء على الرنا المرسال

3`UTR: تتالي نكليوتيدات غير مترجمة تلي روامز التوقف على الرنا المرسال

متطلبات ترجمة الرامز الوراثي

- الجزيئات الكبرية Macromolecules

أكثر من 50 عديد ببتيد وثلاثة إلى خمسة جزيئات رنا ريباسي موجودة في كل ريباسة

على الأقل 20 إنزيم يقوم كل منها بتنشيط أحد الأحماض الأمينية

40 إلى 60 جزيء رنا ناقل tRNA

الكثير من البروتينات المنحلة التي تساعد في المراحل الثلاث للترجمة

- الريباسات

تشكل المنظومات الهي تساهم في تركيب البروتين حوالي ثلث الكتلة الجافة لمعظم الخلايا في بدائيات النوى تتواجد في أرجاء الخلية. في حقيقيات النوى تتواجد قي الهيولى وبشكل مكثف على الوجه الهيولي لأغسية الشبكة

الإندوبلازمية تستخدم وحدة سفيدبرغ Svedberg (S. Unit) تستخدم للتعبير عن سرعة تسدم Sedimentationالريباسات خلال عملية التثفيل تتألف الريباسة من نحو 50% برونتين و 50% جزيئات رنا.

تتألف الريباسة من وحيدتين كبيرة و صغيرة، ترتبط الوحيدتين عند بدء الترجمة و تنفك عن بعضها عند نهاية الترجمة.

الريباسة	وحيدة صغيرة	وحيدة كبيرة
E. Coli **70S**	جزيء رنا ريباسي 16S و 21 عديد ببتيد مختلف	جزيئين رنا ريباسي 5S و 23S و 31 عديد ببتيد
الثدييات **80S**	جزيء رنا ريباسي 18S و 33 عديد ببتيد	ثلاث جزيئات رنا ريباسي 5S و 5.8S و 28S 49 عديد ببتيد

- الرنا الناقل

لايمكن لاعتبارات كيميائية حصول تفاعل مباشر بين الأحماض الأمينية وبين روامز الرنا المرسال.

الاقتراح:

في عام 1958 اقترح العالم Francis Crick وجود نوع من الملئمات Adaptors تتوسط ربط نوع الحمض الأميني بالرامز النوعي المشفر له .حددت هذه الملئمات لاحقا على أنها جزيئات رنا يبلغ حجمها S4 وطولها بين 70 و 95 نوكليوتيد أطلق عليها اسم جزيئات الرنا الناقل.

الرامز العكسي Anticodon تتالي نكليوتيدي ثلاثي يوجد على الرنا الناقل, متمم لتتالي أحد الروامز في جزيء الرنا المرسال ويتشافع معها أثناء الترجمة .عدد جزيئات الرنا الناقل لكل حمض أميني حوالي 4

الروابط بين الحموض الأمينية وجزيئات الرنا الناقل:

الروابط هي روابط عالية الطاقة (استرية), تتشكل بين المجموعات الكربوكسيلية للأحماض الأمينية والنهايات الهيدروكسيلية 3‘ لجزيئات الرنا الناقل.

ارتباط الرنا الناقل بالحمض الأميني

يتم الارتباط على خطوتين

في الخطوة الأولى يتم تفعيل الحمض الأميني مع حلمهة جزيءATP

في الخطوة الثانية يتم ربط الحمض الأميني المفعل إلى النهاية 3‘ للرنا الناقل

يتوسط أنزيم Aminoacyl-tRNA Synthetase عملية الارتباط هذه

ماهي آلية عمل أنزيمAminoacyl-tRNA Synthetase ؟

يقرأ الرامز المعاكس للرنا الناقل, ويحدد من خلال ذلك طبيعة الحمض الأميني الذي يجب تحميله على جزيء الناقل نفسه.

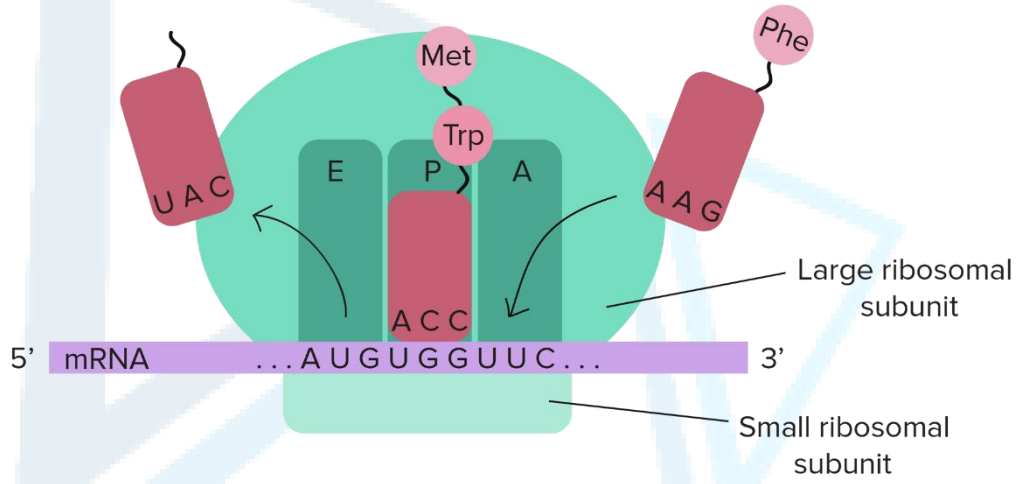
ارتباط الرنا الناقل على الريباسة

يرتبط على ثلاثة مواقع:

الموقع A أوAminoacyl Site : يربط الرنا الناقل والمحمل بالحمض الأميني إلى الريباسة

الموقع P أوPeptidyl Site : يربط الرنا الناقل المحمل بسلسلة عديد الببتيد الأخذة في الازدياد حجما

الموقع E أو Exit Site: يربط الرنا الناقل الفارغ المغادر للريباسة والخالي من الحمض الأميني



أطوار ترجمة الرامز الوراثي

طور البدء Initiation Phase

يتضمن جميع الأحداث التي تسبق تشكل الرابطة الببتيدية التي تربط الحمضين الأمينيين الأول والثاني في سلسلة عديد الببتيد

ماذا تتطلب عملية بدء الترجمة في جراثيم *E.coli*؟

الوحيدة S30

جزيء tRNA بادىء

رنا مرسال

ثلاثة عوامل بدء(Initiation Factors (IF1, IF2,IF3

جزيء واحد GTP

أول خطوة في عملية بدء الترجمة:

تفاعل وارتباط الوحيدة 30 Sمع الرنا المرسال والناقل وعوامل البدء

الخطوة الأخيرة في عملية بدء الترجمة:

ارتباط الوحيدة الكبيرة 50 Sإلى المعقد المتشكل في الخطوة الأولى وتشكيل الريباسة الكاملة . الحمض الأميني المحمل على الرنا الناقل الأول الذي يبدأ اصطناع سلسلة عديد الببتيد هو الميثيونين Methyonyl tRNA

الحمض الأميني في سلسلة عديد الببتيد عند بدائيات النوى هو فورميل ميثيونين fMet وهو حمض المثيونين المعدل و المضاف له مجموعة فورميل.

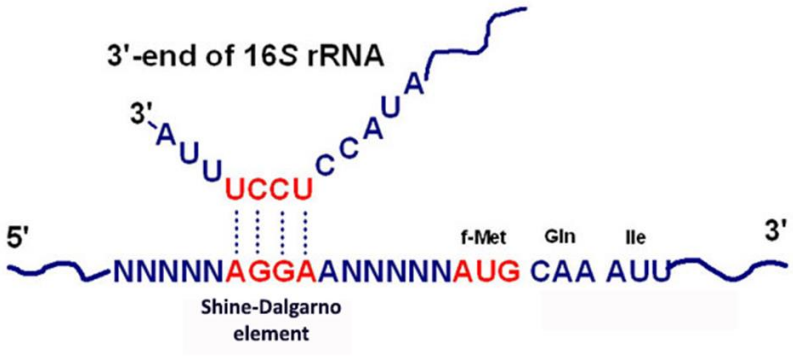
يبدأ طور بدء الترجمة عند بدائيات النوى بتشكيل معقدين:

عامل البدء IF2 والرنا الناقل المحمل بالميثيونين

الرنا المرسال ووحيدة الريبوزوم S30 وعامل البدء

يعتمد ارتباط المعقد 30 Sمع الرنا المرسال

على تشافع تتالي نوكليوتيدي موجود عند النهاية 3` ل S rRNA16 مع تتالي نوكليوتيدي موجود في التتالي 5`UTR للرنا المرسال يدعى تتالي Shine Dalgarno



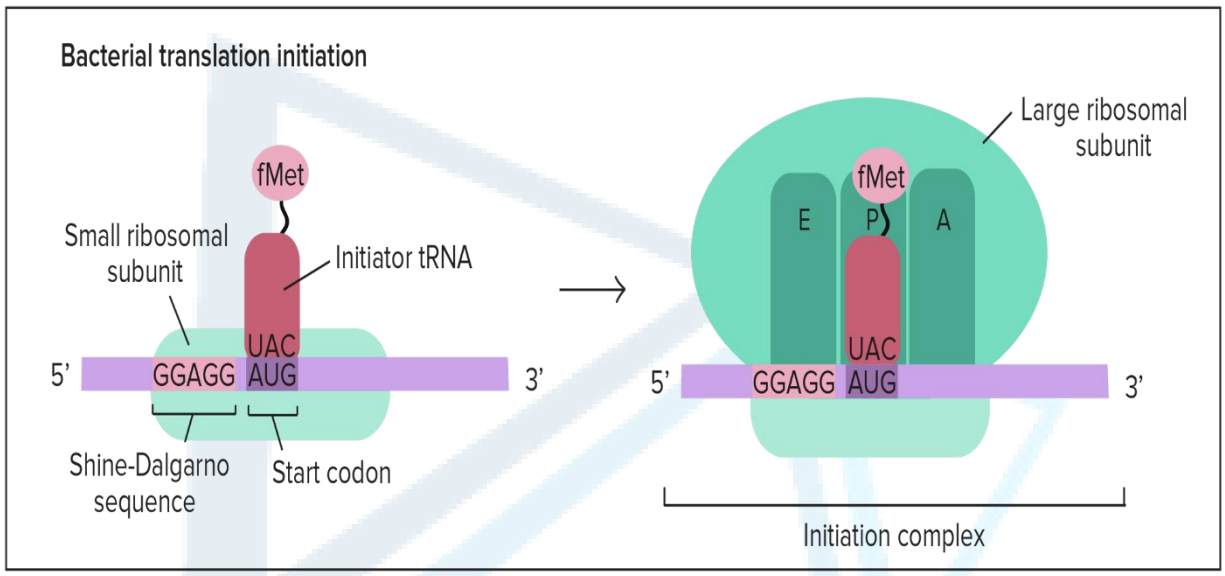
معقد 30 Sالكامل:

يتشكل بانضمام معقد IF2_met-tRNA مع معقد IF3_mRNA_30S مع عامل البدء IF1 وجزيء GTP

ينتهي طور البدء بإضافة الوحيدة S50 إلى المعقد S30 الكامل حيث يدخل الميثيونيل tRNA الموقع P مباشرة بدون المرور أولا بالموقع A. معقد الإطالة:

https://manara.edu.sy/

معقد الإطالة:
70S/mRNA/tRNA



طور البدء في عملية الترجمة عند حقيقات النوى

يختلف عن بدائيات النوى بالنقاط التالية:

الميثيونين غير معدل ولايضاف له جذر فورميل

يتشكل معقد البدء في النهاية 5` للرنا المرسال دون وجود التتالي شاين دالغارنو

طور الإطالة في عملية الترجمة عند بدائيات وحقيقات النوى

إضافة أحماض أمينية إلى سلسلة عديد الببتيد ويتم ذلك بثلاث خطوات:

1. ارتباط الرنا الناقل المحمل بالحمض الأميني إلى الموقع A في الريبوزوم:
2. تشكيل رابطة ببتيدية بين النهاية الأمينية للحمض الأميني المحمل على الرنا في الموقع A و النهاية الكربوكسيلية لسلسلة عديد الببتيد المحمل في الموقع P بواسطة أنزيم Peptidyl Transferase في هذه الخطوة تنتقل كامل السلسلة الببتيدية من الموقع P إلىA
3. ينتقل الرنا الناقل المحمل بالببتيد الموجود في الموقع A إلى الموقع P والرنا الناقل الفارغ إلى الموقع E مخلفا الموقع A شاغرا لاستقبال Aminoacyl-tRNA جديد

تترافق هذه الخطوة بانتقال كامل معقد الريباسة 70 Sثلاثة نكليوتيدات باتجاه النهاية 3` للرنا المرسال انتقال الريبوزم على الرنا المرسال يتطلب طاقة تحصل من إماهة.

طور الإالإنهاء في عملية الترجمة عند بدائيات وحقيقات النوى

يبدأ طور الإنهاء حين يدخل أي من روامز التوقف Stop codons (UAA,UGA, UAG) إلى الموقع A في الريبوزوم

لماذا ينتهي طور الأطالة عند الوصول إلى روامز التوقف؟

لاتوجد أي جزيئات رنا ناقل تحتوي على روامز معاكسة يمكنها التشافع مع روامز التوقف.

مراحل طور إنهاء الترجمة

- تتوقف الريباسة لفترة قصيرة جدا عندما يصل أحد روامز التوقف إلى الموقع A
- تتعرف على روامز التوقف بروتينات تدعى بعوامل الإطلاق(Release Factors (RFs
- عوامل الإطلاق تمتلك بنية فراغية شبيهة ببنية الرنا الناقل تمكنها من الدخول و الارتباط في الموقع A
- يغير ارتباط عامل الإطلاق في الموقع A فعالية البيتيديل ترانسفيراز للS rRNA 23 ويضيف جزيء ماء إلى النهاية الكربوكسيلية لسلسلة الببتيد
- هذا التفاعل يطلق عديد الببتيد من جزيء الرنا الناقل في الموقع P ويحفز انتقال الرنا الناقل الفارغ إلى الموقع E
- يكتمل طور إنهاء الترجمة بتحرر عديد الببتيد و جزيء الرنا المرسال من الريبوزم وتفكك الريبوزوم إلى وحيدتيه المنفصلتين.

عمليات التعديل مابعد الترجمة Post-translational Modification

العلمليات التي تطرأ على السلسلة البروتينية الأولية (الناتجة بشكل مباشر من عملية الترجمة) لتعطي البروتين بشكله الوظيفي وهذه العلميات هي:

شطر الحمض الأميني الأول في سلسلة عديد الببتيد (الميتونين)

بعض البروتينات تنتج بشكل طلائع مثلا ينتج الأنسولين بشكل ماقبل طليعة Pre-pro-insulin ثم يصبح طليعة الأنسولين pro-insulin وعند الحاجة له يصبح بشكله الفعال insulin من خلال عملية طي البروتين ليتحول إلى شكل فراغي ثلاثي الأبعاد الوظيفي

إضافة مجموعات وظيفية إلى سلسلة الببتيد لتشكّل البروتين الوظيفي الفعّال كالهيموغلوبين: يتم اصطناع بروتين الغلوبين Globin عن طريق عملية الترجمة تضاف إليه بعد ذلك مجموعة هيم Hemeليشكّل الهيموغلوبين

https://manara.edu.sy/

إضافة مجموعات السكر أو الفوسفات أو الليبيدات إلى سلسلة عديد الببتيد لتنتج البروتينات السكرية Glycoproteins ، وتنتج البروتينات الفوسفورية Phosphoproteins ، والبروتينات الشحمية Lipoproteins

ترتبط الأحماض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد بروابط ببتيدية Peptide Bonds بين مجموعة الكربوكسيل للحمض الأول والمجموعة الأمينية للحمض الثاني.

مستويات البنى البروتينية

- البنية الأولية Primary Structure

تسلسل من الأحماض الأمينية

- البنية الثانوية Secondary structure

سلسلة من الأحماض الأمينية ملتفة على بعضها البعض في نفس المستوى الفراغي بشكلين:

صفيحة بيتا المنثنية Beta pleated sheet

حلزون ألفا Alpha Helix

- البنية الثالثية Tertiary structure

التفاف سلسلة عديد الببتيد في الفراغ

- البنية الرابعية Quarternary structure

تنتج عن اتحاد سلسلتين ببتيديتين أو أكثر

الروابط الكيميائية التي تثبت البنى البروتينية

البنية الثانوية:

الروابط الهيدروجينية بين الأحماض الأمينية المتقابلة

البنى الثالثية و الرابعية:

روابط هيدروجينية

جسور ملحية بين الشحنات المتقابلة

روابط كارهة للماء

روابط ثنائية الكبريت بين حموض السيستئين المتقابلة

قوى فاندرفالس

أمراض وراثية ناتجة عن خلل في الروامز الوراثية

تغير الحمض الأميني بسبب حدوث طفرة في الثلاثية النكليوتيدية المرمزة، هذا التغير في الحمض الأميني يمكن أن ينشأ عنه تغير في البنية و الوظيفة للبروتين المرمز من قبل المورثة.
والمثال على ذلك:

فقر الدم المنجلي Sickle Cell Anemia

يحدث بسبب طفرة نقطية Point Mutation في جين بيتا غلوبين. تؤدي إلى تغير نكليوتيد واحد فقط من T إلىA في الرامز السادس من الجين. ينتج عنه تغير الحمض الأميني المشفر ب CTC(الغلوتامين Glu إلى الحمض الأميني المشفر ب) CAC الفالين.Val

هذا يؤدي إلى تغير شكل الكرية الحمراء إلى الشكل المنجلي بدل القرص المقعر الوجهين.

تنظيم التعبير الجيني في بدائيات النوى

Regulation of Gene Expression in Prokaryotes

يتم تنظيم التعبير الجيني عند البدائيات على عدة مستويات:

1. الانتساخ
2. معالجة الرنا RNA processing
3. تدرك الرنا RNA turnover
4. الترجمة
5. عمليات لاحقة للترجمة

الآليات المنظمة الأكثر تأثير في النمط الظاهري Phenotype هي الآليات التي تحدث على مستوى الانتساخ.

تصنيف الآليات المنظمة للتعبير الجيني في بدائيات النوى

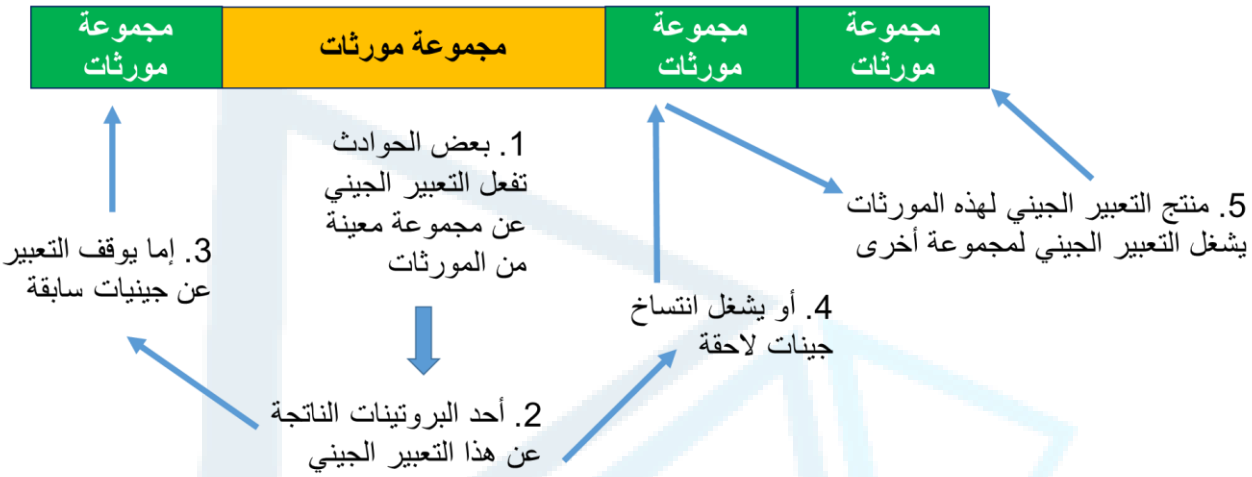
- أليات التشغيل أو الإيقاف السريع للتعبير الجيني

يحدث التنظيم هنا نتيجة التغيرات البيئية المفاجئة هذه التنظيم يزود الكائن الحي بالمطاوعة واللدونة Plasticty للتكيف مع الظروف البيئية.

الهدف: تأمين قابلية تعديل العمليات الاستقلابية بشكل سريع لتحقيق النمو الأعظمي والتكاثر تخت مجال واسع من الشروط البيئية.

- الأليات التي تضم تعبير الدارات المسبقة البرمجة

وثق هذا النموذج من تنظيم التعبير الجيني في عاثيات الجراثيم Bacteriophage وهي عبارة عن فيروسات تعدي الجراثيم ويتم التعبير عن جيناتها بصورة مسبقة مبرمجة. الاسم الشائع لهذه الأليات هو شلالات التعبير الجيني Gene expression cascades



تصنيف الجينات من حيث نمط التعبير الجيني

1. جينات دائمة التعبير Constitutive Genes
2. جينات محرضة التعبير Inducible Genes
3. جينات كظومة التعبير Repressible Genes

الجينات الدائمة التعبير

ماهو الاسم الآخر الشائع لهذه الجينات هو الجينات الخدمية Housekeeping genes سميت بالجينات الخدمية لأنها تقوم بخدمة الخلية في التعبير عن بروتيناتها الضرورية اللازمة لجميع العمليات الحيوية. سميت هذه الجينات بدائمة التعبير لأن التعبير الجيني لهذه الجينات يستمر في جميع الأوقات.

منتجات هذه الجينات : رنا ناقل, رنا ريباسي, بروتينات ريباسية, وحيدات إنزيم بوليميراز الرنا, الأنزيمات المحفزة للعمليات الاستقلابية.

الجينات المحرضة التعبير

يتم التعبير عن هذه الجينات تحت ظروف بيئية محددة فمنتجاتها ضرورية لنمو الخلية فقط تحت هذه الظروف. المثال الشائع عن هذه الجينات هو تحريض جينات مسؤولة عن نمو جراثيم *E. coli* في وسط يحوي

على اللاكتوز. السكريات التي تستخدمها جراثيم *E. coli* للنمو الغلوكوز, السكروز, الغالاكتوز, الأرابينوز, و اللاكتوز لكن السكر المفضل للاستقلاب عند *E. coli* هو الغلوكوز إذا توفر في الوسط يتم استقلابه بصورة أفضل.

كيف تتأقلم *E. coli* بالنمو على وسط يحتوي على اللاكتوز كمصدر كربوني وحيد الطاقة؟

بإنتاج اثنين من الأنزيمات:

الغالاكتوزيد بيرمياز :Galactoside Permease يقوم بضخ اللاكتوز من خارج الخلية إلى داخلها

الغالاكتوزيداز :Galactosidase يشطر اللاكتوز إلى غلوكوز وغالاكتوز

لاينتج هذين الأنزيمين بشكل دائم فإنتاجهما يكلف الخلية الكثير من الطاقة, مثلا في البيئات الطبيعية للجراثيم كلمعة الأمعاء ومياه الصرف الصحي لا تواجه *E. coli* غياب الغلوكوز فيتوقف التعبير الجيني المسؤول عن هذه الأنزيمات. يتم تنحريض التعبير الجيني لهذه الجينات على مستوى الانتساخ.

الجينات الكظومة التعبير

يتم كظم التعبير الجيني لهذه الجينات على مستوى الانتساخ . المثال الشائع لعملية كظم التعبير الجيني عند البدائيات إيقاف التعبير الجيني عن الأنزيمات الضرورية لاصطناع التريبتوفان عند *E. coli*

عدد الجينات المسؤولة عن اصطناع التريبتوفان خمس جينات يتم كظم التعبير الجيني للأنزيمات الضرورية لاصطناع التربتوفان عند *E. coli* حين توفر مصادره خارج الخلية.

التحكم الإيجابي والسلبي بالتعبير الجيني

تقسم الجينات من حيث وظيفتها إلى:

الجينات البنيوية Structural genes: هي الجينات المنتجة للبروتينات البنيوية الوظيفية في الخلية التي يتم التحكم بتعبيرها الجيني.

الجينات المنظمة Regulator genes: جينات ترمز بروتينات تنظم التعبير الجيني لجينات أخرى إما بتحريض هذا التعبير أو بكظمه.

تقوم الجينات المنظمة بتنظيم عمل الجينات البنيوية ضمن آليتين:

1. آلية التحكم الإيجابي : منتج الجين المنظم ضروري لتشغيل التعبير الجيني عن واحد أو أكثر من الجينات البنيوية.
2. آلية التحكم السلبي: منتج الجين المنظم ضروري لإيقاف التعبير الجيني عن واحد أو أكثر من الجينات البنيوية.

يرتبط منتج (بروتين) الجين المنظم إلى موقع ربط البروتين المنظم-Regulator Protein Binding Site (RPBS)المجاور لمحضض الجين البنيوي.

تسمى منتجات الجين المنظم في منظومة التحكم الإيجابي المفعلات Activator و تسمى منتجات الجين المنظم في منظومة التحكم السلبي الكاظمات Repressor

يعتمد ارتباط البروتينات المنظمة بموقع RPBS على وجود أو غياب عدد من الجزيئات الفاعلة Effector Molecules.

الجزيئات الفاعلة

جزيئات صغيرة الوزن الجزيئي كالأحماض الأمينية ونواتج الاستقلاب. تقسم حسب نمط تأثيها في تنظيم التعبير الجيني إلى : المحرضات Inducers وهي جزيئات فاعلة تساهم في تحريض التعبير الجيني. و تمائم الكاظماتCo-repressors وهي جزيئات فاعلة تساهم في كظم التعبير الجيني.

ترتبط الجزيئات الفاعلة إلى بروتينات الجين المنظمة هذا الارتباط يؤدي إلى تغيير البنية ثلاثية الأبعاد للبروتين المنظم مما ينعكس على قدرتها على الارتباط إلى مواقع RPBS

الآليات المحتملة لتنظيم التعبير الجيني في حال وجود أو غياب العوامل المنظمة

آلية التحكم المحرض

آلية التحكم المحرض

يتم انتساخ الجينات البنيوية فقط في حضور المحرض

يرتبط الكاظم بشكله الحر غير المرتبط بالمحرض إلى موقع RPBS

لايمكن للمفعل الارتباط بموقع RPBS في غياب المحرض

يمنع التعبير عن الجين البنيوي في غياب المحرض

لايمكن للرنا بوليمراز الارتباط على المحضض في غياب المحرض

بوجود المحرض يرتبط الكاظم معه ويشكلان معقد كاظم محرض Repressor-Inducer

بوجود المحرض يرتبط المفعل معه ويشكلان معقد مفعل محرض Activator-Inducer complex

هذا المعقد لايمكنه الارتباط إلى المحضض بالتالي يرتبط بوليميراز الرنا على المحضض ويتم انتساخ الجين البنيوي

هذا المعقد يرتبط إلى المحضض وعندها فقط يرتبط بوليميراز الرنا على المحضض ويتم انتساخ الجين البنيوي

الآلية المنظمة الكاظمة السلبية

الآلية المنظمة الكاظمة الإيجابية

يتم انتساخ الجينات البنيوية فقط في غياب متمم الكاظم

لايمكن للكاظم الارتباط بموقع RPBS في غياب تميم الكاظم لذلك يستطيع الرنا بوليميراز الارتباط على بالمحضض وانتساخ الجين البنيوي

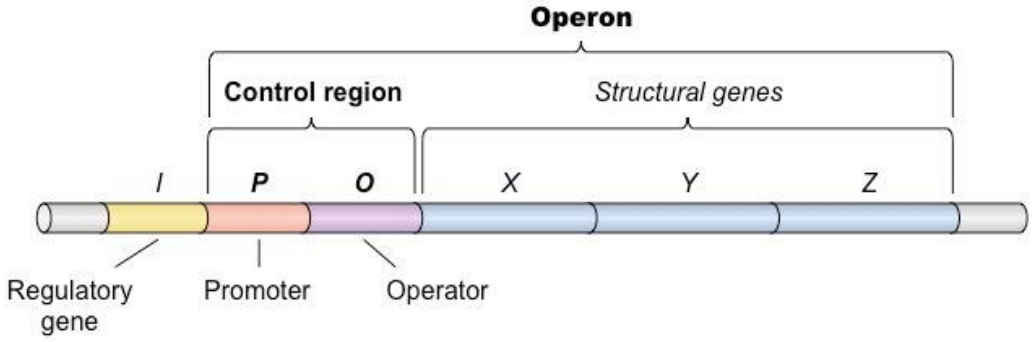
يرتبط المفعل إلى الموقع RPBS حتى يتمكن رنا بوليمراز من الارتباط بالمحضض وانتساخ الجين البنيوي

في حضور تميم الكاظم يرتبط الكاظم معه ويشكل معقد كاظم تميم الكاظم Repressor-corepressor complex كاظم محرض Repressor-Inducer complex

لايمكن للمفعل الارتباط بموقع RPBS في حضور تميم الكاظم

المشغلات Operons

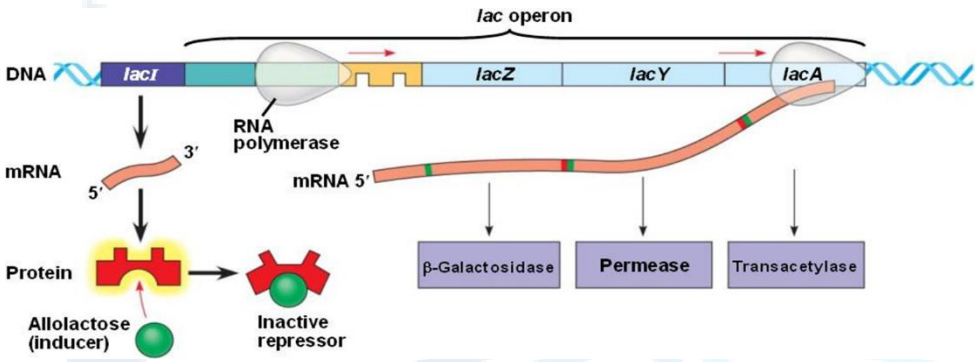
هي عبارة عن محضض وموقع التشغيل Operator يليه مجموعة من الجينيات المتجاورة التي يتم التحكم بتعبيرها الجيني يتواجد موقع التشغيل بين المحضض والجينات البنيوية.



آلية عمل المشغلات

تعمل غالبية المشغلات عند البدائيات بآلية التحكم الكاظمة السلبية. الجين المنظم يرمز الكاظم و الكاظم يرتبط إلى موقع التشغيل هذا يعيق فراغيا بوليميراز الرنا من الانتساخ.

مشغل اللاكتوز Lac operon



عدد الجينات التي يتحكم هذا المشغل في التعبير عنهاثلاث جينات بنيوية.

نواتج الجينات البنيوية التي يتحكم مشغل اللاكتوز في التعبير عنها

ثلاث أنزيمات تسهم في استقلاب اللاكتوز:

ß-Galactosidase (Z)

Permease (Y)

Transacetylase (A)

وظيفة أنزيم البيرمياز: يضخ اللاكتوز إلى داخل الخلية الجرثومية

وظيفة أنزيم البيتاغالاكتوزيداز: شطر اللاكتوز إلى الغلوكوز والغالاكتوز، يحول جزءا من اللاكتوز إلى مركب الأللولاكتوز . وظيفة مركب الأللولاكتوز: يقوم بدور المحرض Inducer في مشغل اللاكتوز

كيف يتم التحكم بمشغل اللاكتوز في غياب اللاكتوز؟

1. يتم التعبير الجيني عن الجين المنظم Lac I
2. تتشكل كاظمة بروتينية ترتبط بموقع التشغيل.O
3. ارتباط الكاظمة بموقع التشغيل يعيق توضع إنزيم الرنا بوليميراز على المحضض.
4. النتيجة معدل انتساخ ضعيف جدا للجينات البنيوية.

كيف يتم التحكم بمشغل اللاكتوز في حضور اللاكتوز؟

1. يتم التعبير الجيني عن الجين المنظم Lac I
2. تتشكل كاظمة بروتينية ترتبط بموقع التشغيل.O
3. تواجد الأللولاكتوز كمحرض Inducer يحرض الحاجة للتعبير عن الأنزيمات اللازمة لاستقلاب اللاكتوز
4. يرتبط الأللولاكتوز بالكاظم ويغير في بنيته الثالثية ولايتمكن المعقد من الارتباط على موقع التشغيل وهذا يسمح للرنا بوليميراز بمعدل انتساخ عالي للجينات البنيوي.

متى يتوقف مشغل اللاكتوز؟

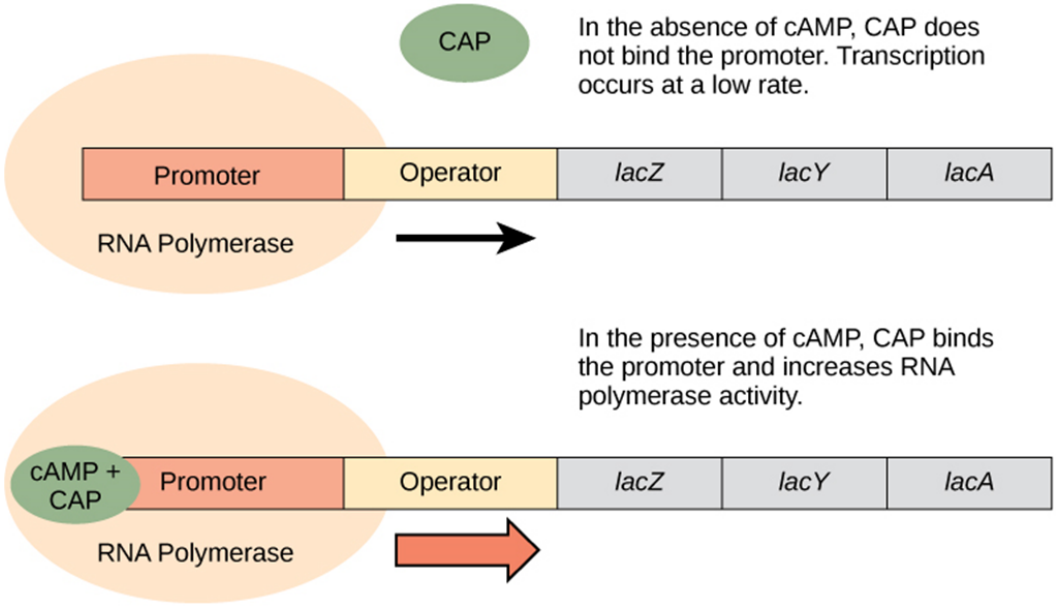
1. وجود اللاكتوز والغلوكوز معا
2. وجود غلوكوز وغياب لاكتوز
3. غياب كل من الغلوكوز واللاكتوز

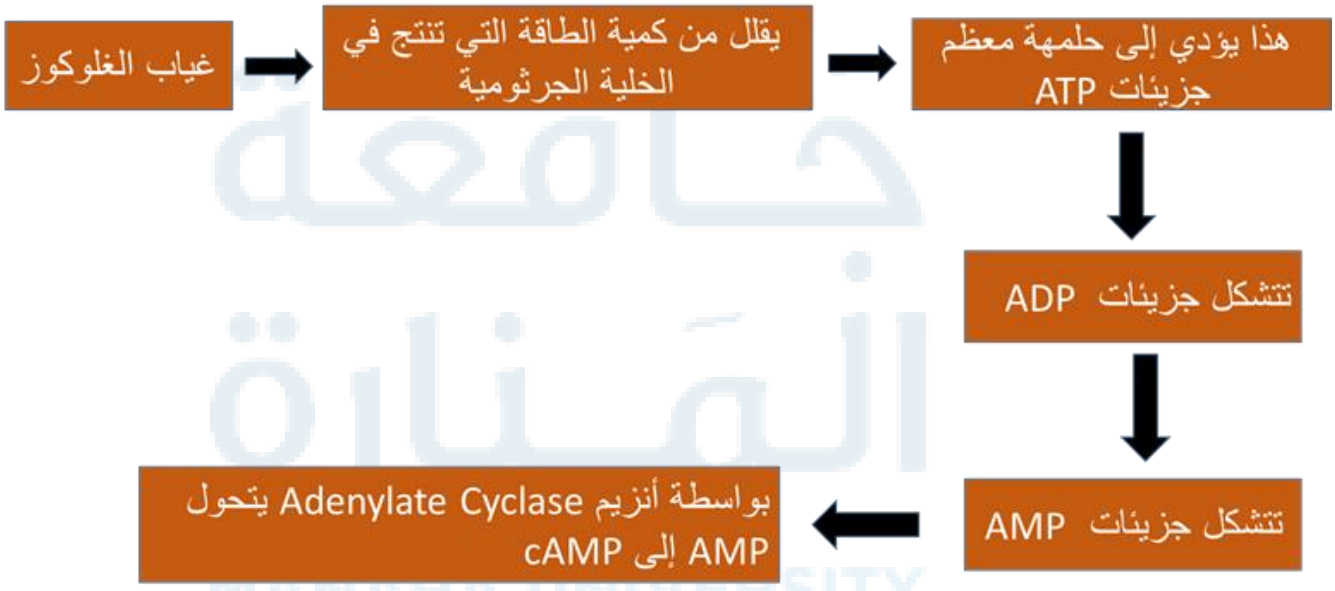
العلاقة بين تفعيل مشغل اللاكتوز وحضور أو غياب الغلوكوز

لوحظ وجود تتالي نوكليوتيدي مجاور للمحضض الخاص بمشغل اللاكتوز. ترتبط على هذا الموقع عوامل انتساخ تدعى Catabolite Activated Protein (CAP) هذه العوامل ضرورية لانتساخ الجينيات البنيوية. يتحول العامل CAP إلى شكله الفعال المرتبط بالدنا عند ارتباطه بمركب cAMP حيث أنه بعد ارتباطه تطرأعليه تغيرات في هيئته تمكنه من الارتباط بموقعه على شريط االدنا.

يعمل المعقدCAP-cAMP على تثبيت أنزيم بوليميراز الرنا والشروع في انتساخ الجينات البنيوية في مشغل اللاكتوز. تنخفض مستويات cAMP بشدة لدى وجود الغلوكوز وترتفع بغيابه.

https://manara.edu.sy/


CAP
In the absence of cAMP, CAP does not bind the promoter. Transcription occurs at a low rate.
Promoter
Operator
lacZ
lacY
lacA
RNA Polymerase
In the presence of cAMP, CAP binds the promoter and increases RNA polymerase activity.
cAMP + CAP
Promoter
Operator
lacZ
lacY
lacA
RNA Polymerase


غياب الغلوكوز
يقلل من كمية الطاقة التي تنتج في الخلية الجرثومية
هذا يؤدي إلى حلمهة معظم جزيئات ATP
تتشكل جزيئات ADP
تتشكل جزيئات AMP
بواسطة أنزيم Adenylate Cyclase يتحول cAMP إلى AMP

تنظيم التعبير الجيني على مستوى الترجمة

تيحدث التحكم النهائي على مستوى الانتساخ، في بدائيات النوى الرنا المرسال متعدد الجينات. لوحظ مثلا أنه لا يتم اصطناع أنزيمات مشغل اللاكتوز الثلاثة بشكل متساو.

فجراثيم *E. coli* تنمو في وسط يحتوي على اللاكتوز كمصدر كربوني تحتوي:

3000 جزيء من أنزيم الغالاكتوزيداز

1500 جزيء من أنزيم البيرمياز

600 جزيء الغالاكتوزيداز ترانس أسيلاز

هذه الفروق في تراكيز الأنزيمات تعود إلى تنظيم لاحق للانتساخ Post-Trancriptional Regulation وليس بالانتساخ.

تفسير آليات التنظيم اللاحق للانتساخ

1. تباين فعاليات الترجمة عند رامز البدء لجينات مختلفة.
2. الاختلافات في فعالية حركة الريباسات على الرنا في المناطق ما بين الجينات حيث تنتج معدلات منخفضة للترجمة من ملاقط الشعر أو غيرها من البنى الثانوية.
3. اختلاف معدلات تحطم مناطق معينة من جزيئات الرنا المرسال.

آليات التنظيم ما بعد الترجمة

تحدث هذه الآليات على مستوى الفعالية الأنزيمية. الأسماء المتداولة لهذه الآلية

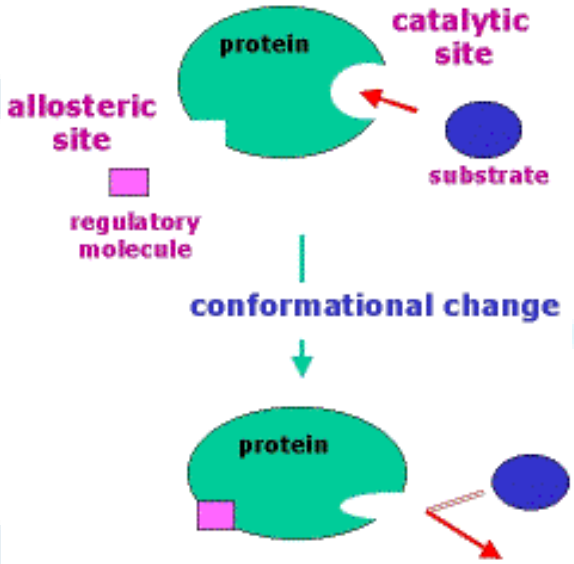
التثبيط عبر التلقيم الراجع Feedback Inhibition

أو التثبيط عبر المنتج النهائي Endproduct Inhibition

تعمل هذه الآلية بتثبيط الانزيم الأول الذى يحفز سبيل اصطناع منتج معين من خلال تواجد مقادير كافية من هذا المنتج. ميزة الأنزيمات الحساسة للتثبيط عبر التلقيم الراجع أنها تحتوي موقعا لارتباط المنتج النهائي يدعى بالموقع التفارغي Allosteric site إضافة إلى موقع الارتباط بركائزها النوعية.

ارتباط الأنزيم بالمنتج النهائي يحدث تغيير في البنية ثلاثية الأبعاد للأنزيم مما يخفض ألفته للارتباط بركيزته.

تسمى الأنزيمات التي تخضع للتغير في الهيئة بعد ارتباط المنتج النهائي بالبروتينات التفارغية
Allosteric Proteins



البيولوجية الجزيئية

المحاضرة الثامنة

تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النوى

Regulation of Gene Expression in Eukaryotes

يتم تنظيم التعبير الجيني عند حقيقيات النوى على المستويات التالية:

1. الضبط على مستوى انتساخ الدنا
2. التضفير البديل للرنا
3. الضبط الهيولي لثباتية الرنا المرسال

التضفير البديل

يمكن للإنترونات أن تزال بشكل فردي أو على شكل مجموعة، أثناء عملية التضفير يمكن أن يزال إكسون واقع بين إنترونين. حذف بعض الإكسونات يؤدي إلى تعديل تتالي الرنا المشفر بالتالي يمكن لجين واحد أن يرمز عدد من البروتينات بدلا من بروتين واحد.

مثال عنه بروتين التروبونين Troponin T المتواجد في العضلات المخططة عند الفقاريات:

حجم هذا البروتين بين 150 و 250 حمض أميني عند الفأر وحجم جين التروبونين 16000 شفع نكليوتيدي ويحتوي 18 إكسون.

يتم تضفير الرنا المرسال المنتسخ من هذا الجين بطرق مختلفة البروتينات الناتجة عن ترجمة الرنا المرسال المنتسخ من هذا الجين متنوعة:

إما ناتج ترجمة الإكسونات من 1 إلى 3 و من 9 إلى 15 و الإكسون 18

قد توجد أو تحذف المنطقة المرمزة بأي من الإكسونات من 4 إلى 8

قد يوجد أو يحذف الإكسونان 16 و 17

الضبط الهيولي لثباتية الرنا المرسال

هل لجزيئات الرنا المرسال المنتسخة من الدنا العمر نفسه؟

لا ليس لها العمر نفسه.. تختلف من رنا إلى رنا حسب حاجة الخلية. حسب عمر الرنا يمكن ترجمته أكثر من مرة فجزيئات الرنا طويلة العمر يمكن أن تتحمل عدة دورات متعاقبة من اصطناع البروتين حتى يتم تتدركها أما الجزيئات قصيرة العمر لا تتمكن من ذلك في حال كان الرنا المرسال عمره قصير يتم سد حاجة الخيلة من البروتين باصطناع جزيئات رنا مرسال جديدة تخرج إلى الهيولى لتجنب توقف اصطناع البروتين.

العوامل المؤثرة في طول عمر الرنا المرسال

1. طول ذيول عديد الأدنين التي تعمل على زيادة ثباتية الرنا المرسال
2. التتاليات في النهاية 3` غير المترجمة 3 UTR`التي تسبق ذيل عديد الببتيد:

تملك جزيئات الرنا قصيرة العمر التتالي AUUUA بعدد من التكرارات في المنطقة 3 UTR` حين تم نقل هذه التتاليات مخبريا إلى جزيئات رنا مرسال طويلة العمر تحولت إلى جزيئات قصيرة العمر.

3. بعض العوامل الكيميائية كهرمون الإستروجين تؤثر في ثباتية الرنا المرسال.
4. وجود جزيئات رنا صغيرة الوزن الجزيئي تدعى جزيئات الرنا المسكتة Silencing RNAs أو جزيئات أخرى تدعى جزيئات الرنا الأصغري Micro RNAs تقوم بتحطيم الرنا المرسال أو تثبيط ترجمته.

تحريض الفعالية الانتساخية بالعوامل البيئية والبيولوجية

درجة تأثر جينات حقيقيات النوى بالعوامل البيئية والتغذوية أقل من تلك التي تبديها بدائيات النوى سندرس مثالين عنها:

- **الحرارة وجينات الصدمة الحرارية**

https://manara.edu.sy/

ماهي بروتينات الصدمة الحرارية(Heat-Shock Proteins (HSP ؟

بروتينات توجد في بدائيات وحقيقيات النوى يتم اصطناعها في الكائن الحي كاستجابة للتعرض لدرجة حرارة مرتفعة. نهي عبارة عن بروتينات محفوظة (مصانة) بين الكائنات الحية حيث يتراوح التطابق في تسلسل الأحماض الأمينية بين جراثيم E. Coli وذبابة الخل Drosophila بين 40 إلى 50 بالمئة.

يتم ضبط التعبير الجيني عن طريق بروتينات الصدمة الحرارية على مستوى الانتساخ حيث تحرض الحرارة بشكل نوعي انتساخ الجينات المرمزة لهذه البروتينات.

مثال عن هذه البروتينات هو بروتين الصدمة الحرارية عند ذبابة الخل HSP70وزنه الجزيئي 70 كيلو دالتون يتم انتساخ هذا البروتين حين ترتفع درجة الحرارة إلى 33 درجة مئوية.

- **جزيئات الإشارة: الجينات المستجيبة للهرمونات**

وجد صفين من الهرمونات عند حقيقيات النوى تولد سلسلة من الحوادث يتم تنظيم التعبير الجيني من خلالها:

1. الهرمونات الستيروئيدية Steroid Hormones
2. الهرمونات الببتيدية Peptide Hormones

الهرمونات الستيروئيدية Steroid Hormones

جزيئات صغيرة منحلة بالدسم ومشتقة من الكولسترول تعبر بسهولة عبر أغشية الخلية بسبب طبيعتها الدسمة

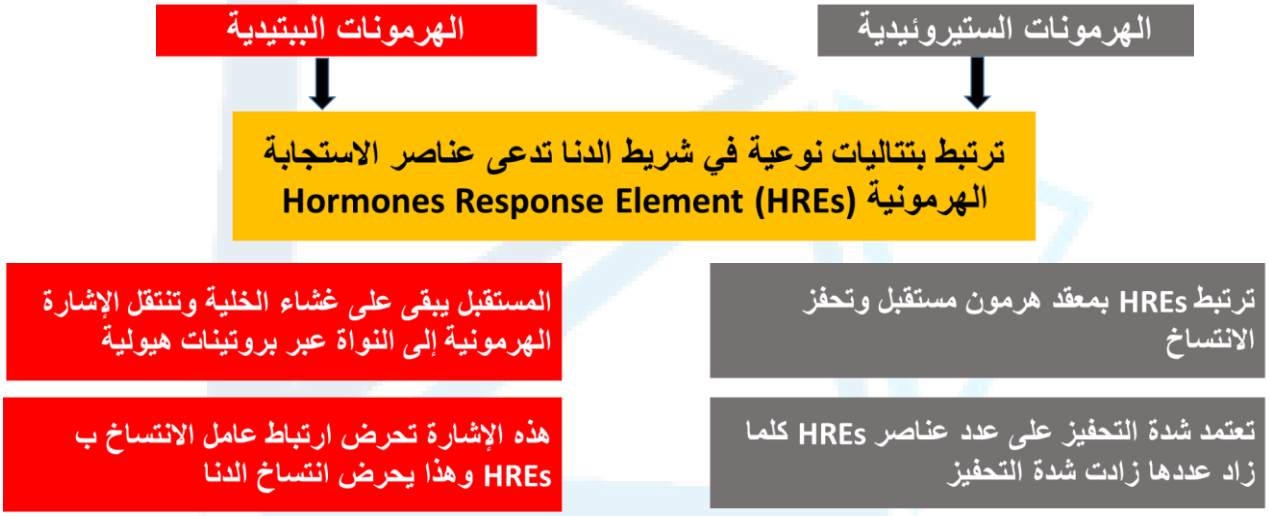
. مثلة عنها: الإستروجين, البروجسترون, التستسترون, السكريات القشرانية.

يدخل الهرمون إلى الخلية يتفاعل مع بروتينات هيولية أو نووية تدعى مستقبلات الهرمون Hormones Receptors ويتشكل معقد هرمون مستقبل يتفاعل لاحقا مع الدنا. هذا المعقد يعتبر بمثابة عامل انتساخ ينظم التعبير الجيني.

الهرمونات الببتيدية Peptide Hormones

سلاسل خطية من الأحماض الأمينية وزنها الجزيئي كبير أمثلة عنها: الإنسولين, السوماتوتروبين, عامل النمو, البرولاكتين. لاتستطيع عبور الغشاء الخلوي، المستقبلات النوعية لهذه الهرمونات تتواجد على الغشاء الخلوي. يرتبط الهرمون على مستقبله فيتحول المستقبل من شكله الغير فعال إلى شكله الفعال هذا التحول في هيئة المستقبل. يترافق مع تغيرات في هيئته في جزئه داخل الخلية تنتقل الإشارة الهرمونية عبر شلال من التغيرات من الغشاء الخلوي إلى النواة تدعى هذه العملية تتبيغ الإشارة Signal Transduction.

آلية تنظيم التعبير الجيني عن طريق الهرمونات



يمكن للفعالية الانتساخية للجينات أن تتحرض ببروتينات أخرى غير هرمونية مثل:

- عامل النمو العصبيNerve Growth Factor
- عامل النمو البشرويEpidermal Growth Factor
- عامل النمو المشتق الصفائحي Platelet-Derived Growth Factor

ألية تفعيل التعبير الجيني عن طريق هذه البروتينات تشبه آلية تفعيل الهرمونات الببتيدية.

التعبير الجيني وتنظيم المادة الصبغية

المادة الصبغية الكروماتينChromatin هي عبارة عن الدنا المرتبط بشكل متساوي كميا مع بروتين الهيستون ضمن نواة حقيقيات النوى. يقسم الكروماتين إلى الكروماتين الحقيقي والكروماتين المغاير.

الكروماتين الحقيقيEuchromatin : هو الكروماتين الأقل كثافة في النواة, يظهر بدرجة لون خفيفة عند تلوين الصبغيات.

الكروماتين المغايرHeterochromatin : الكروماتين الأكثر كثافة في النواة و الأشد تلونا باستخدام ملونات الصبغيات.

جينات الكروماتين الحقيقي والكروماتين المغاير

غالبية جينات حقيقيات النوى تقع في الكروماتين الحقيقي لذلك الكروماتين الحقيقي فعال انتساخيا. نقل جينات من كروماتين حقيقي إلى كروماتين مغاير مخبريا يؤدي إلى تصرف هذه الجينات بشكل غير اعتيادي وفي بعض الحالات لا تؤدي أي وظيفة.

جينات الكروماتين الحقيقي مفتوحة Open وأكثر قابلية للارتباط بعوامل الانتساخ بينما جينات الكروماتين المغاير تكون مغلقة والدنا فيها ملتف بكثافة على البروتينات.

لايمكن لعوامل الانتساخ الوصول إلى مواقع ارتباطها النوعي على جينات الكروماتين المغاير.

إعادة نمذجة الكروماتين

علم ما وراء الجينات Epigenetic أو التخلق المتوالي:

علم حديث يدرس التغيرات الموروثة في التعبير الجيني التي تؤدي إلى إعادة نمذجة الكروماتين. هذه التغيرات مستقلة عن تسلسل الجينات, تنعكس على مستويات جزيئات الرنا المرسال النوعية لبعض الجينات وليس في تسلسل الأحماض الأمينية التي ترمزها.

ماهي أهم العوامل المسيطرة على التخلق المتوالي؟

أستلة الهيستونات Histone Acetylation ومثيلة الدنا DNA Methylation

الكروماتين الذي تعرض لإزالة أستلة أو إضافة ميتيل هو كروماتين غير فعال انتساخيا

تفعيل وتثبيط كامل الصبغيات

- **تثبيط فعالية الصبغي X**

الكائنات التي تملك جملة تحديد الجنس من نمط XX/XY تواجه مشكلة توحيد فعالية الجينات المرتبطة بالصبغي X في كلا الجنسينيتم حل هذه المشكلة بتثبيط عشوائي لأحد الصبغيين X لدى الإناث بحيث تمتلك الأنثى العدد نفسه من الجينات الفعالى انتساخيا لدى الذكر.

- **زيادة في فعالية الصبغي X**

بعض حقيقيات النوى مثل زبابة الخل واجهت مشكلة توحيد فعالية الجينات المرتبطة بالصبغي X من خلال زيادة كبيرة في الفعالية الانتساخية للجينات الواقعة على الصبغي X لدى الذكر.

معاوضة الجرعة الجينية Gene Dose Compensation:

تحقق التقارب في مستويات البروتينات المرمزة بالجينات الموجودة على الصبغي X لدى ذكر و أنثى الكائن الحي

تثبيط فعالية الصبغي X

يبدأ التثبيط في موقع محدد بمركز تثبيط الصبغيX Inactivation Center (XIC) يمتد التثبيط في كلا الاتجاهين ليشمل كامل الصبغي. تبقى بعض الجينات فعالة انتساخيا تدعى X Inactive Specific Transcript (XIST)

تقع جيناتXIST في موقع تثبيط الصبغي XIC وترمز جيناتXIST جزيء رنا يبلغ طوله 17 ألف شفع نكليوتيدي لا يترجم إلى بروتين يتوضع هذا الرنا في النواة وهو الجزيء الفعال في تثبيط الصبغي.

التعبير الجيني لجينات XIST يبدأ في المرحلة الجنينية عند الإناث لكن الرنا الناتج يكون غير ثابت ويتدرك بسرعة. خلال التطور يتم تثبيت الرنا المنتسخ لواحد فقط من الصبغيين X بينما يتدرك الرنا للصيغي الآخر وتثبيط جينات XIST في الصبغي الفعال عبر متيلة محضض جين XIST.

جسيم بارBarr Body

صبغيات X المثبطة والتي تتكثف إلى كلتلة تتلون بشدة بملونات الصبغيات وتظهر متوافقة مع غشاء النواة في الطور البيني.

الطفرات والأمراض الوراثية

Mutations and genetic diseases

الطفرة (Mutation): هي تغير دائم في المادة الوراثية ينجم عنه تبدل في بعض صفات الفرد. قد تصيب الطفرات خلايا الجسم فتسمى طفرات جسمية وهي لا تورث إلى الأجيال التالية. أما الطفرات التي تصيب الأعراس و مولداتها فتسمى طفرات جنسية وهي تورث إلى الأجيال التالية.

تصنيف الطفرات حسب سبب حدوثها

1. طفرات تحدث بشكل تلقائي أثناء عملية تضاعف DNA فمن الممكن أن يقوم أنزيم الDNA بوليميراز بارتكاب خطأ ما أثناء تلك العملية, غالبا مايتم إصلاحه بواسطة أنزيمات القطع الداخلية endonuclease وفي حال لم يتم إصلاح الخطأ و هذا يحدث بمعدل مرة كل 100,000,000أساس تظهر عندها الطفرات.
2. طفرات تنشأ بشكل محدث أي بتأثير عوامل بيئية محيطة أو داخلية مثل بعض المواد الكيميائية كالملونات الصنعية و الصباغات التي تضاف إلى الأطعمة كذلك التدخين و التعرض للأشعة كالأشعة السينية و الأشعة فوق البنفسجية و الإشعاعات النووية.

تصنيف الطفرات حسب تأثيرها

1. الطفرات المميتة: تسبب موت الكائن الجي الذي يحتويها في أي مرحلة من مراحل النمو.
2. الطفرات الشكلية: تؤدي إلى تغير اللون أو الشكل أو الحجم.
3. الطفرات الوظيفية: تؤدي إلى تغيرات وظيفية كالتغيرات في معدل نمو الفرد أو مقدرته على مقاومة ظروف بيئته.
4. الطفرات الكيميائية: تؤثر على قابلية الكائن الحي على إنتاج الكائن الحي للجزيئات الكيميائية مثل النكليوتيدات, السكريات, الحموض النووية.
5. الطفرات الشرطية: يظهر تأثيرها على الكائن الحي في حال وضع تحت شروط بيئية محددة.

تصنيف الطفرات حسب حجمها

1. طفرات صبغية: يطلق عليها بالتغيرات الكبيرة ينتج عنها تغيرات في عدد الصبغيات أو تغير بنيتها

2. طفرات مورثية: يطلق عليها بالتغيرات الصغيرة أو الطفرات النقطية وهي عبارة عن تبدلات تتناول نكليوتيد واحد أو أكثر من جزيء DNA بحيث يؤدي ذلك إلى تغيير نوعية البروتين و من ثم الصفة.

الطفرات الصبغية

- الطفرات النوعية (التركيبية): تشمل التغيرات التي تطرأ على الصبغيات وتؤثر على مواقع الجينات وترتيبها على الصبغي.
- الطفرات الكمية (العددية): وتشمل التغيرات التي تطرأ على العدد الصبغي أي أنها تؤثر من الناحية الكمية وليس على موقع أو الترتيب المورثي على الصبغي.

الطفرات النوعية

هناك أربعة أنماط للطفرات الصبغية:

1. النقص: تفقد الصبغيات قطعا كبيرة أو صغيرة من طرف الصبغي أو من وسطه مما يؤدي إلى فقدان وظيفة هذه القطعة .
2. التكرار: تتكرر قطعة صبغية تحمل مورثة أو أكثر مما يؤدي إلى توسع الأثر الوظيفي للمورثة.
3. الانقلاب: تحدث هذه الطفرة عند حدوث انقطاعين على صبغي واحد بحيث تنقلب القطعة الوسطى 180 درجة مما يؤدي لتغيير الترتيب الخطي للمورثات.
4. الانتقال: يحصل بين أشفاع صبغية مختلفة من خلال تبادل قطعة من الصبغي الأول إلى الصبغي الثاني غير القرين معه.

الطفرات الصبغية الكمية

- التضاعف المجموعي الكامل أو الحقيقي: يطرأ الخلل على المجموعة الصبغية كاملة ويضم نوعين:

I. التعدد المجموعي الذاتي:

يحدث نتيجة فشل في الانقسام الخيطي أو الانقسام المنصف..

في حال الانقسام الخيطي تحصل الخلايا الناتجة عن الانقسام على صيغة صبغية 4 Nبدلا من 2 N

في حال الانقسام المنصف تحصل أحد الأعراس نتيجة خلل في الانقسام على صيغة صبغية ثنائية فإذا خصبت مع عروس نظامية الصيغة صبغية 1 Nسنتج بيضة مخصبة نحتوي صيغة صبغية ثلاثية N3

II. التعدد المجموعي الخلطي :

ناتج من وجود صيغ صبغية مختلفة تابعة إلى أنواع أو أجناس مختلفة و هذه حالة نادرة الحصول في الحيوانات ولكن شائعة في النباتات.

- التضاعف المجموعي غير الحقيقي: يحدث لجزء من المجموعة الصبغية حيث يحدث تضاعف صبغي واحد أو أكثر ضمن المجموعة ثنائية الصيغة الصبغية للكائن الحي. يحث للأسباب التالية:

a. اخفاق انفصال الكروماتيدات لأحد الصبغيات أثناء الانقسام المنصف في هذه الحالة ينتج كائن ثلاثي الصبغيTrisomic
Trisomy 21 (Down syndrome)

b. عدم اقتران أحد الصبغيات في الطور التمهيدي بالتالي ينشأ توزيع عشوائي لصبغيين ينتج عروس ناقصة صبغي عند اتحادها بعروس نظامية ينتج كائن أحادي الصبغي Monosomic

الطفرات المورثية

- طفرات الاستبدال Substitution

a. تغيير في الأساس الأزوتي ضمن الشيفرة الخاصة بحمض أميني و استبدالها بأساس أزوتي أخر مما ينتج عنه حمض أميني مغاير تماما, الأمر الذي ينعكس على بنية ووظيفة البروتين. يسمى هذا النوع من الطفرات بالطفرة المغلوطة المعنى.(Missense mutation)

b. تغيير في الأساس الأزوتي ضمن الشيفرة الخاصة بحمض أميني و استبدالها بأساس أزوتي آخر لكن بدون تغيير الحمض الأميني المشفر وبالتالي لايحدث تغير في البروتين الناتج. يدعى هذا النوع من الطفرات بالطفرة الصامتة (Silent mutation).

- طفرات الإدخال Insertion

هي الطفرات التي يتم فيها إدخال أساس أو أكثر إلى الشيفرة الوراثية.

- طفرات الحذف Deletion

هي الطفرات التي يتم فيها حذف أساس أو أكثر من الشيفرة الوراثية.

على اعتبار أن كل ثلاثة أسس آزوتية تشكل شيفرة وراثية فإن حذف أو إضافة أساس يمكن أن تحدث تعديلات في المورثة أو التسلسل المشفر و بالتالي لا تترجم الشيفرة الوراثية بشكلها الصحيح و يمكن أن تؤدي هذه الطفرات إلى إنتاج بروتين مجتزأ و قصير و غير وظيفي.

الأمراض الوراثية

الأمراض الوراثية: الأمراض التي تحدث نتيجة خلل في واحدة أو أكثر من المورثات. أو خلل في تركيب و عدد الصبغيات أغلبها تصيب الفرد أثناء المرحلة الجنينية ويمكن لبعضها الانتقال من جيل لآخر.

أنواع الأمراض الوراثية

صنفت الامراض الوراثية إلى أربعة أقسام رئيسية:

القسم الأول: الأمراض الوراثية المتعلقة بالصبغيات

القسم الثاني: الأمراض المتعلقة بالمورثات

القسم الثالث: الأمراض الوراثية متعددة الأسباب

القسم الرابع: الأمراض المتعلقة بالميتاكوندريا

تنتقل أمراض القسم الثاني من جيل لآخر من خلال أربعة أنماط:

الوراثة الجسدية المتنحية

الوراثة الجسدسة السائدة

الوراثة المرتبطة بالجنس المتنحية

الوراثة المرتبطة بالجنس السائدة

الأمراض الوراثية ذات النمط الجسدي السائد

1. داء هنتينغتون: يصيب الجهاز العصبي. أعراضه: تنكس في قشرة المخ والعقد القاعدية، ينتج عنه حركة لا إرادية، رقص، خرف.
2. التصلب الحدبي: متعدد الأجهزة. أعراضه: أورام في الدماغ والعيون والجلد والكلى والقلب والرئتين والهيكل
3. داء الكلية متعدد الكيسات: الجهاز المصاب جهاز الإطراح حيث تصاب الكلية بكيسات تنقص مقدرة الكلية على التركيز و ينتج عنه تضخم الكلية و فرط في الضغط.
4. متلازمة فاردينبيرغ: أعراضها :ابيضاض شعر مقدمة الرأس, شيب مبكر, اختلاف لون العينين
5. فرط كوليسترول الدم: جهاز واحد هو الجهاز الدموي يظهر على شكل ارتفاع الكوليسترول المصلي وبدء لمرض الشريان التاجي.

الأمراض الوراثية ذات النمط الجسدي المتنحي

1. تليف كيسي: سببه عيب في نقل الكلور في الأنسجة الظهارية, متعدد الأجهزة :
2. الجهاز التنفسي: أعراضه: انسداد القنيات والمسالك الهوائية, التهاب جيوب وداء رئوي، الجهاز الهضمي: قصور البنكرياس، الغدد في الجسم: خلل في الغدد التناسلية مما يسبب العقم.
3. تنكس ويلسون: الأجهزه المصابة متعددة. السبب الأساسي خلل في الكبد حيث لايعود قادر على تصريف النحاس ويتكدس فيه ثم ينتقل النحاس إلى الدماغ والعينين والبنكرياس.
4. عوز أنزيم الغالاكتوكيناز: سببه واضح عوز في أنزيم الغالاكتوكيناز غالبا تظهر أعراضه على الجهاز العصبي بحدوث تخلف عقلي خفيف و أيضا ابيضاض عدسة العين.
5. داء غوتشيه النمط الأول: الأجهزة المصابة عديدة. سببه زيادة تكسر الكريات الحمر في الطحال ينتج عنه ضخامة الكبد والطحال وهشاشة العظام.

الأمراض الوراثية المرتبطة بالصبغي X

1. الناعور :A جهاز واحد هو الدموي. سببه عوز في العامل الثامن لتخثر الدم. ينتج عنه نزف مفرط ونزوف داخلية.
2. سماك: سببه عوز أنزيم الستيروئيد سلفاتاز أعراضه في جهاز واحد هو الجلد يلاحظ جفاف الجلد ويصبح منظر الجلد يشبه جلد السمكة.

3. نقص فوسفات الدم: سببه عوز الفوسفات أعراضه في جهاز واحد: تلين العظام ينتج عنه تأخر النمو وتشوهات هيكلية وعدم الإستجابة للعلاج بفيتامين.D
4. داء نوري (ضمور المقلة الوراثي): عمى منذ الولادة, صمم متأخر و تخلف عقلي .عيوب الرؤية اللونية: عوز في رؤية اللون الأحمر أو الأخضر أو كليهما.
5. الحثل العضلي من نمط دوشين: جهاز واحد هو الجهاز العضلي: ضعف عضلي متدرج وتنكس في العضلات الهيكلية .
6. متلازمة ألبورت: متعدد الأجهزة. أعراضه: تنكس في الكلى, عيوب في الرؤية,صمم.

الأمراض الوراثية المتعلقة بالصبغيات

التغيرات التي يحدث فيها تغيير في الصبغيات وهذه التغيرات نوعان :

- تغيرات عددية: وهي أمراض وارثية تنتج عن التغيير الذي يحدث في عدد الصبغيات مثل نقص أو زيادة صبغي .مثل متلازمة داون.
- تغيرات تركيبية :وهي أمراض وارثية ناتجة عن تغيير في هيكل وشكل الصبغيات، وتصل نسبة هذه الأمراض إلى 5.6 لكل ألف مولود من الأحياء .مثل مرض مواء القطط.

الأمراض الوراثية متعددة الأسباب

وهي الأمراض التي تحدث نتيجة لأكثر من عامل وارثي وبيئي، تورث طبقا لقوانين ماندل

يندرج تحت هذا النوع من الأمراض:

- كثير من الأمراض التي لم يعرف السبب الرئيسي لظهورها.
- أو الأمراض التي تتداخل فيها العوامل الجينية والعوامل البيئية مثل أمراض ثقوب القلب الوارثية.

تشخيص الأمراض الوراثية

يتم تشخيص الأمراض الوراثية أو تحديد احتمالية الإصابة بمرض وراثي باستخدام طرق مختلفة:

- دراسة شجرة العائلة والسجل المرضي.
- دراسة النمط النووي: من خلال دراسة الصبغيات وسلامتها من حيث العدد أو التركيب.

- التهجين المفلور في الموضع :(FISH) يعمل على تلوين صبغيات بشكل انتقائي باستخدام مادة مفلورة للكشف عن خلل ما في صبغيي معين.
- تفاعل البلمرة المتسلسل :(PCR) يدرس المورثات على مستوى جزيئي ويساهم في تشخيص الأمراض وتحديد نوع الطفرات على مستوى النكليوتيدات والكشف عن حاملي المرض الوراثي الذين لاتظهر لديهم أعراض. والكشف عن المصابين وحاملي المرض في مراحل جنينية مبكرة.
- طرق كيميائية مناعية: تساهم في الكشف عن منتجات الجينات المصابة بدلا من اللجوء إلى تحليل DNA فالخلل في تعبير الجين يدل على خلل في الجين نفسه. تعتمر هذه الطرق على تحاليل مخبرية باستخدام الأجسام المضادة.

علاج الأمراض الوراثية

معالجة الأمراض الوراثية من خلال تصحيح الخلل الجيني عن طريق استبدال الجين الفاقدة لوظيفتها نتيجة الطفرات بجين سليمة تعيد للإنسان النمط الظاهري السليم.

أهم الأمراض الوراثي المستهدفة بالمعالجات الجينية:

التليف الكيسي، الحثل العضلي، الناعور، العمى الخلقي، الأورام، الأمراض التنكسية العصبية، الإيدز، التهاب الكبد.

أنواع العلاجات الجينية

المعالجة الجينية داخل العضوية In vivo gene therapy يجري خلالها حقن مباشر لجسيمات الفيروس المعدل جينيا ضمن الكائن الحي يجري التعبير عن الجين المنقولة ضمن الخلايا المستهدفة بالفيروس

مثال عن مرض عولج بهذا النوع من العلاجات الجينية:

حقن الفيروس المرافق للفيروس الغدي Adeno-Associated Virus الحامل لجين عامل التخثر التاسع في الوريد الكبدي البابي لدى عدد من مرضى الناعور ب اقتيدت جسيمات الفيروس مباشرة إلى خلايا الكبد حيث تمت عدوتها بالفيروس بعد أسابيع قليلة شرعت خلايا الكبد بالتعبير عن العامل التاسع وتصحيح العوز في هذا العامل.

المعالجة الجينية خارج العضوية Ex vivo gen therapy

يتم هنا إخراج خلايا محددة من المريض وإكثارها في المختبر ثم عدوتها بالفيروس المعدل وراثيا. بعدها إعادة الخلايا المعدلة وراثيا إلى المريض تقوم الخلايا بالتعبير عن الجين المدخلة داخل العضوية.

أمثلة عن أمراض تعالج جينيا خارج العضوية

- الخلايا التائية المساعدة التي يستهدفها فيروس الإيدز:

تغيير من شكل أحد مستقبلاتها الغشائية للخلايا التائية الضروري لارتباط فيروس الإيدز به قبل دخوله إلى الخلية. يتم استخراج الخلايا التائية المساعدة للمريض وتعديلها جينيا وإعادتها بحيث لا يتمكن الفيروس من عدوتها.

- تعديل بعض الخلايا السرطانية لتعبر عن أحد عوامل النمو للخلايا التائية:

استخراج بعض الخلايا السرطانية من المريض وتعديلها وراثيا بحيث تصبح هذه الخلايا قادرة عن التعبير عن أحد عوامل النمو للخلايا التائية التي تكون مسؤولة عن القضاء على خلايا الورم. إعادة الخلايا السرطانية المعدلة وراثيا إلى جسم المريض حيث تقوم هذه الخلايا نفسها بتفعيل الخلايا التائية التي تهاجمها مما يقوي الاستجابة المناعية ضد الورم.