مدخل إلى علم الوراثة الجزيئية *Molecular Genetics*

يعد علم الوراثة احد فروع علوم الحياة المهمة ويمكن تقسيمه الى 4 فروع هي :

1- **علم الوراثة الكلاسيكية Classical Genetics** : ويصف كيفية انتقال الصفات (المورثات) من جيل الى اخر.
2- **علم الوراثة الجزيئية Molecular Genetics** : وهو دراسة البنية الفيزيائية والكيميائية للمادة الوراثية والبروتين.
3- **وراثة الجماعات (العشائر) Population Genetics** : ويعتمد بشكل كبير على الوراثة المندلية (وراثة الافراد ضمن الاسرة الواحدة) ويتم اسقاطها على التركيب الوراثي لمجموعات اكبر (توزيع تواتر الانماط الوراثية والاليلات ضمن المجتمع وتحديد المصير المحتمل لهذا التوزيع) .
4- **الوراثة الكمية Quantitative Genetics** : حقل رياضي الى حد كبير يدرس العلاقات الرياضية والاحصائية التي تحدث بين المورثات والصفات التي ترمز لها .

تعريف علم الوراثة الجزيئية Molecular Genetics :هو احد فروع علم الوراثة (مزيج من علوم الحياة والكيمياء) والذي يهتم بدراسة تكوين وتركيب ووظيفة الجزيئات الخلوية الكبيرة Macromolecules كالأحماض النووية والبروتينات ودورها في الفعاليات البايولوجية المهمة كالتضاعف الخلوي وتناقل المعلومات الوراثية.

نبذة تاريخية عن علم الوراثة الجزيئية:

على الرغم من مكانته البارزة بين العلوم الحيوية الا ان علم الوراثة الجزيئية هو علم حديث النشأة حيث ان بدايات نشوئه كانت في ثلاثينيات القرن التاسع عشر لكنه دخل حيز التطبيق المؤسساتي وبدأ العمل به في اواسط خمسينيات وبداية ستينيات القرن التاسع عشر. ان نشوء هذا العلم نتج من تقارب وتداخل واندماج علم الوراثة والفيزياء والكيمياء التركيبية وعلى الرغم من قوانين مندل الوراثية الا ان الية تضاعف المادة الوراثية وحدوث الطفرات والتعبير الجيني بقيت غير معروفه. ويمكن ايجازها بما يلي:

المرحلة الاولى: ما بين 1900-1950 واهم الاحداث فيها هي:

- وضعت (فرضية الجين كأساس للحياة) ودراسة تأثير الاشعة السينية كعامل مطفر من قبل عالم الوراثة الامريكي Hermann J. Muller وعمد لدراسة تركيب الجين كذلك استنتج هذا العالم من دراساته المتعددة ان عالم الوراثة يكون عديم الفائدة مالم يعمل كفريق مشترك مع عالم الفيزياء والكيمياء لدراسة الجزيئات الخلوية الكبيرة ((حصل هذا العالم على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1946 لدراسته تأثير الاشعة السينية كعامل مطفر)).
- تحديث(فرضية الجين" والتي تنص على ان الجين هو وحدة التوارث) من قبل عالم الاجنة الامريكي Thomas Hunt Morgan وكذلك استخدام ذبابة الفاكهة *Drosophila* كموديل لدراسة العلاقة بين الجين والكرموسوم في عملية التوارث ((حصل على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1933 لاكتشافه دور الكروموسومات في التوارث)).

- اكتشاف عاثيات البكتريا Phage من قبل علم الفيزياء الحيوية الالماني Max Delbrueckوعالم المايكروبايولوجي الايطالي Salvador Luria والامريكي Alfred Hershey عام 1945 ((حصلوا على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1969لاكتشافهم عاثيات البكتريا Phage.
- وضعت فرضية (جين واحد-انزيم واحد one gene-one enzyme hypothesis) من قبل الامريكيينGeorge Beadle و Edward Tatum في عام 1941 واللذين حصلا فيما بعد على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1958 نتيجة لهذه الفرضية).

المرحلة الثانية: ما بين 1950-2000 واهم الاحداث فيها هي:

- اكتشاف تركيب الجين من قبل المايكروبايولوجي الامريكي Alfred Day Hershey وعالم الوراثة الامريكي Martha Cowles Chase حيث اجروا تجارب مهمه على عاثيات البكتريا اثبت فيها ان الجينات تتكون من deoxyribonucleic acid (DNA) بدلا من البروتين عام 1952 وعرفت تجربتهم الشهيرة فيما بعد بـHershey-Chase experiment[6] .
- اكتشاف التركيب الحلزوني المزدوج للـ DNAمن قبل عالم البيولوجيا الانكليزي Francis Crick و الامريكي James Watson عام 1953 ((حصلوا على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1962 وذلك لاكتشافهم التركيب الحلزوني المزدوج للـ DNA)) وكذلك اكتشاف الشفرة الوراثية Genetic code ومن الجدير بالذكر ان الكيمياوي السويسريFriedrich Meischer هو اول من اكتشفت الـ DNA واسماه بـNuclein.
- اكتشاف طريقة تحديد تتابع الاحماض الامينية في البروتينات من قبل الكيمياوي الانكليزي Frederick Sanger في 1952 والذي اكتشف فيما بعد طريقة انهاء السلسلة لتحديد تتابع القواعد النيتروجينية في الاحماض النووية في 1977 والتي عرفت فيما بعد بـSanger sequencing ((ومن الجدير بالذكر انه حصل مرتين على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1958 وعام 1980)).
- اكتشاف الطريقة الكيمياوية لتحديد تتابع القواعد النيتروجينية في عام 1977من قبل الامريكيين Walter Gilbert و Allan Maxam وسميت الطريقة فيما بعد بـ Maxam-Gilbert sequencing[9].
- اكتشاف تقنية ال PCR من قبل الكيمياوي الامريكي Kary Banks Mullis عام 1983 والذي حصل فيما بعد على جائزة نوبل في الكيمياء عام 1993[10].
- في عام 1990 تم وضع مشروع الجينوم البشري Human Genome Project (HGP) والذي يهدف الى معرفة تتابع القواعد النيتروجينية لكل ال DNA المكون للجينوم البشري حيث اكتمل هذا المشروع في عام 2003 [11].

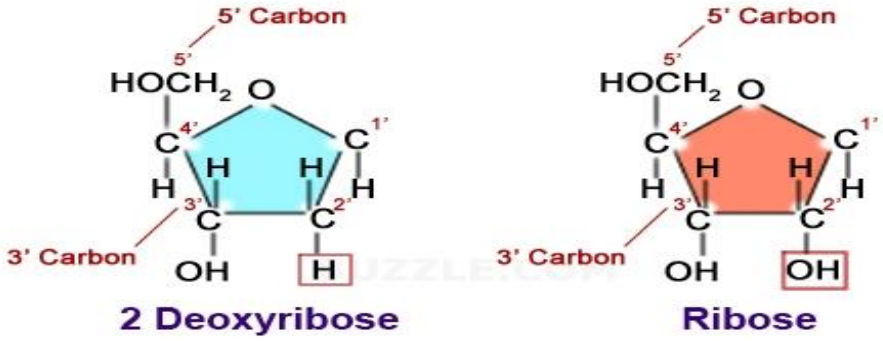
المرحلة الثالثة: ما بعد عام 2000 واهم الاحداث فيها هي:

- استخدام الـ STR للتحري عن الضحايا والجرائم الجنائية واختبار الابوة[12].

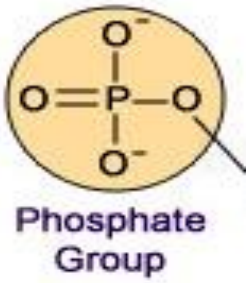
المادة الوراثية للأحياء بدائية النواة Genetic Material of Prokaryote

تعرف المادة الوراثية على أنها الجزيئات الحاملة للمعلومات والصفات الوراثية (Genotype) التي تشفر للصفات المظهرية (Phenotype) . بالنسبة للإحياء بدائية النواة (prokaryote) تكون المادة الوراثية إما حامض نووي رايبوزي منقوص الأوكسجين Deoxyribonucleic acid (DNA) او حامض نووي رايبوزي الأوكسجين Ribonucleic acid (RNA) . بصوره عامه تتكون هاتين الجريئتين من مجموعة فوسفات + سكر + قاعدة نيتروجينية وفيما يلي شرح مفصل لهاتين الجزيئتين:

1-كلاهما يحتوي على سكر الرايبوز (منقوص الأوكسجين في DNA) والرايبوز الاعتيادي (في RNA)

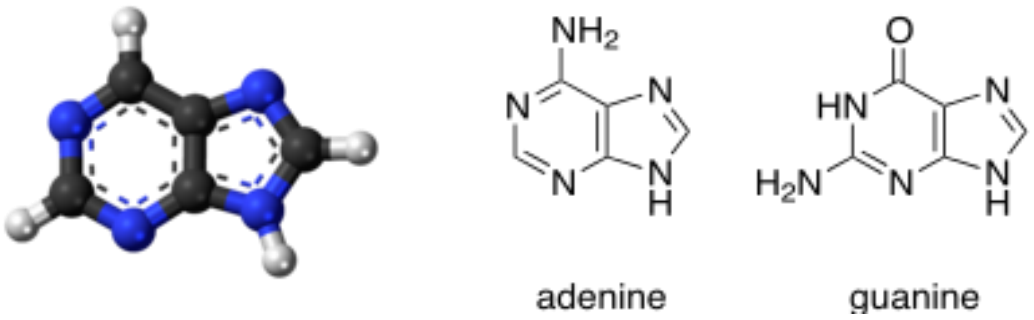


2- كلاهما يحتوي مجموعة الفوسفات والتي تكون بشكل (ثلاثي الفوسفات)



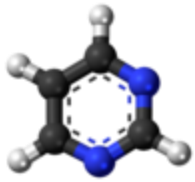
3- كلاهما يحتوي على القاعد النيتروجينية : هنالك مجموعتين من القواعد النيتروجينية وهي:

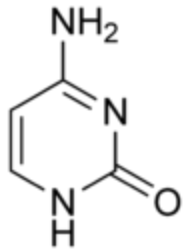
1- البيورينات Purines وهي مركبات ثنائية الحلقة وتشمل: Adenine and Guanine حيث ان كلتا القاعدتين تكون موجوده في DNA و RNA



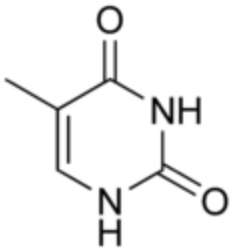
2- البرميدينات Pyrimidine : وهي احادية الحلقة وتشمل ثلاث قواعد هي

- الثايمين Thymine (موجود فقط في DNA ولا توجد في RNA)
- اليوراسيل Uracil(موجود فقط في RNA ولا توجد في DNA)
- السايتوسين Cytosine (موجود في RNA و في DNA)

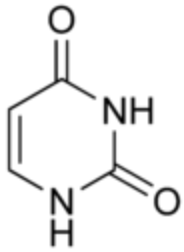




Cytosine



Thymine



Uracil

- تسمى الوحدة البنائية للحامض النووي بالنيوكليوتيدة Nucleotide
- تتكون النيوكليوتيدة من (سكر [الرايبوز الاعتيادي او منقوص الاوكسجين]+ مجموعة فوسفات +قاعده نيتروجينية
- النيوكليوتيدة الحرة تكون ثلاثية الفوسفات
- تسمى نيوكليوتيدات ال DNA بما يلي:

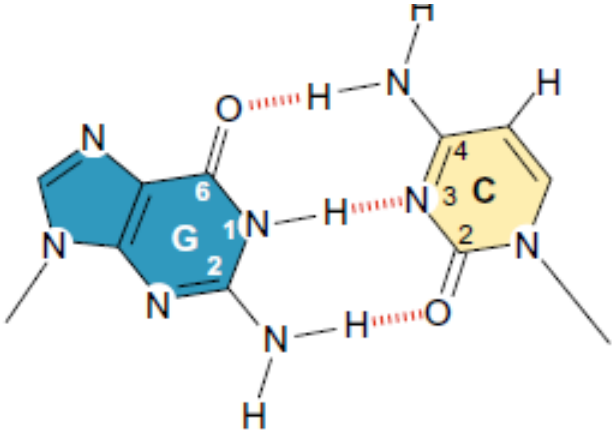
Deoxyadenosin triphosphate (dATP)
Deoxythymidine triphosphate (dTTP)
Deoxyguanidine triphosphate (dGTP)
Deoxycytosine triphosphate (dCTP)

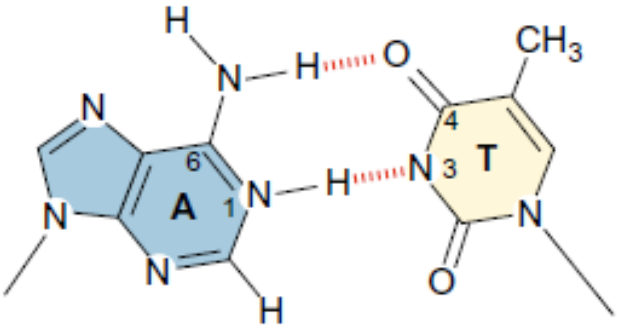
- تسمى نيوكليوتيدات ال RNA بما يلي:

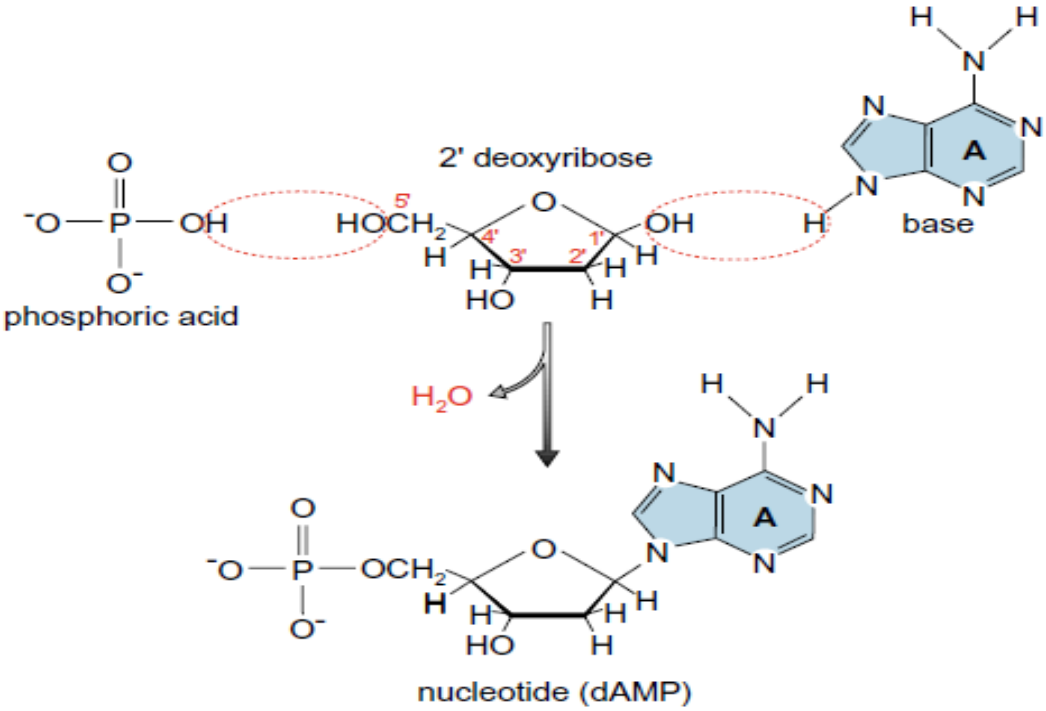
Adenosin triphosphate (ATP)
Guanidine triphosphate (GTP)
Cytosine triphosphate (CTP)
Uracil triphosphate (UTP)

- عندما تسحب مجموعة الفوسفات من النيوكليوتايد تسمى نيوكليوسايد Nucleoside
- النيوكليوتيدة المرتبطة داخل شريط DNA او RNA تكون احادية الفوسفات (المجموعتين الاخرى للنيوكليوتيده الحرة تستهلك عند اضافة النيوكليوتيدة الى الشريط الجديد).
- ترتبط الكوانين بالسايتوسين بثلاث اواصر هيدروجينية . ولذلك يكون الزوج G+C اقوى ارتباطا واكثر استقرارا واثقل وزنا.

- ترتبط الادنين بالثايمين او اليوراسيل باصرتين هايدروجينية. ولذلك يكون الزوج A+T او A+U اضعف ارتباطا واقل استقرارا واخف وزنا.





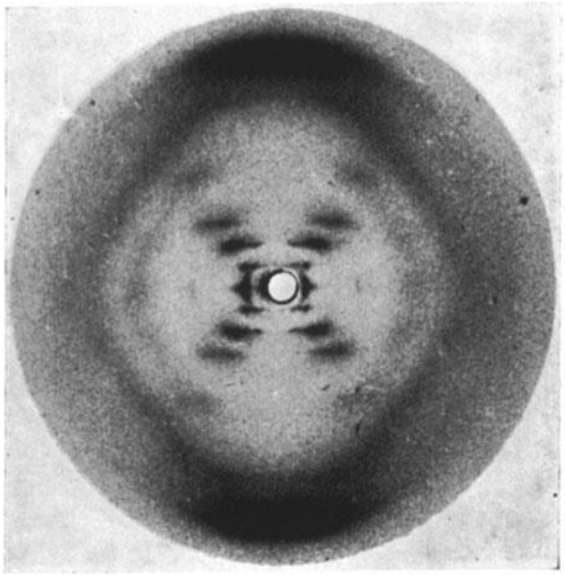


تركيب الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA

تم عزل ال DNA من الخلايا القيحية WBCs لأول مره من قبل الطبيب السويسري Friedrich Meischer عام 1869والذي اسماه ب Nuclein لكنه لم يعرف على انه المادة الوراثية .

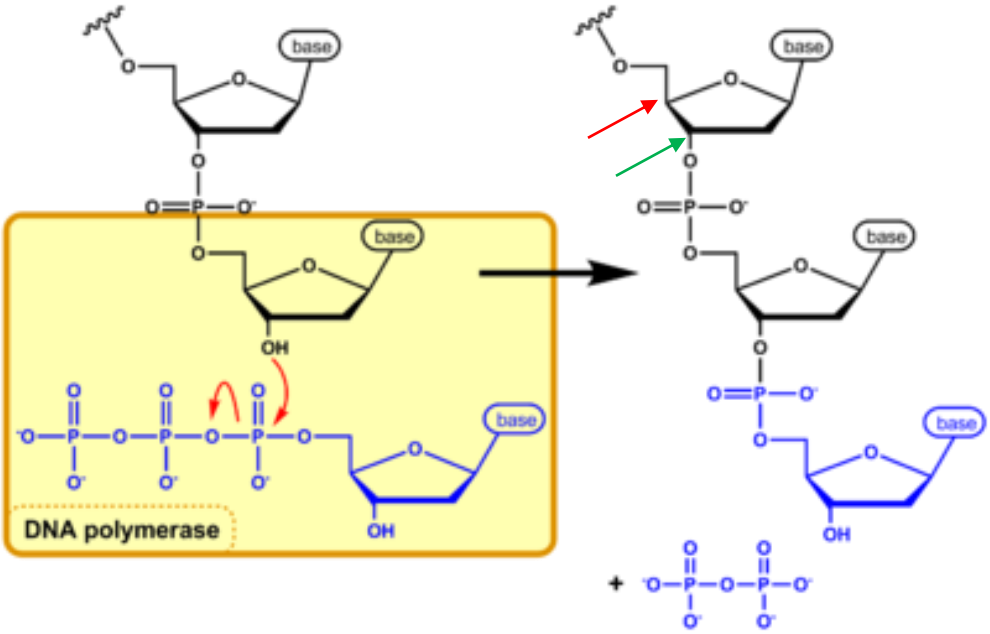
يتركب الDNA من النيوكليوتيدات ويكون ثنائي الشريط Double Strand ويسمى dsDNA (ماعدا بعض الفيروسات يكون في بعض الاحيان بشكل شريط منفرد Single strand ويسمى ssDNA) ومن مميزات جزيئة DNA :

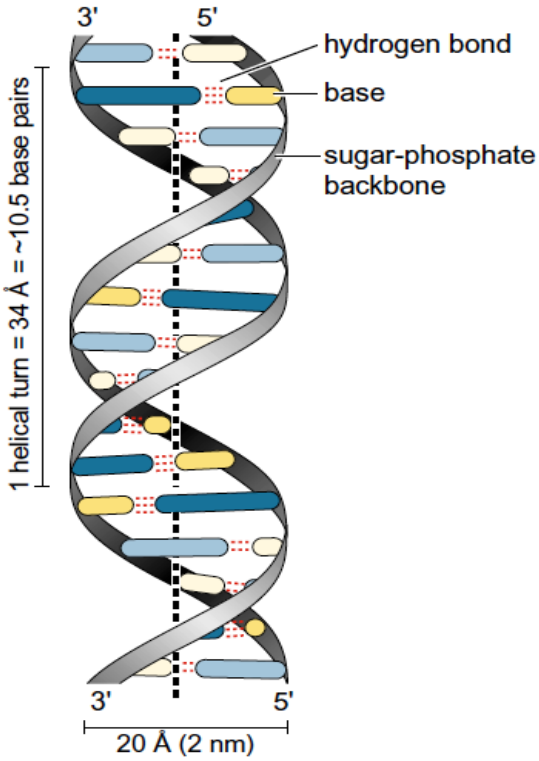
1- **Double helix** : إن أول من اكتشف تركيب الDNA بشكل Double helixهما العالمين واتسن وكرك عام 1953 (James Watson and Francis Crick) واللذين حصلا فيما بعد على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1962 لأجل هذا الاكتشاف . تم الحصول على هذه النتائج من خلال التجارب التي أجريت على DNA باستخدام الأشعة السينية حيث تم الاستدلال على هذا التركيب من خلال قراءة انحراف الاشعة السينية



تجربة انحراف الأشعة السينية التي أجريت من قبل روزلاند فرانكلين

2- **5'-3' direction** : ويقصد بها ان شريط DNA يبنى بالاتجاه **5'** ⟸ **3'** حيث تمثل 5' موقع ذرة الكاربون لسكر الرايبوز منقوص الاوكسجين التي ترتبط بها مجموعة الفوسفات بينما **3'**موقع ذرة الكاربون لسكر الرايبوز منقوص الاوكسجين التي تضاف عندها نيوكليوتيدة جديده وهذا يعني ان DNA يبنى بالاتجاه **5'** ⟵ **3'**؟





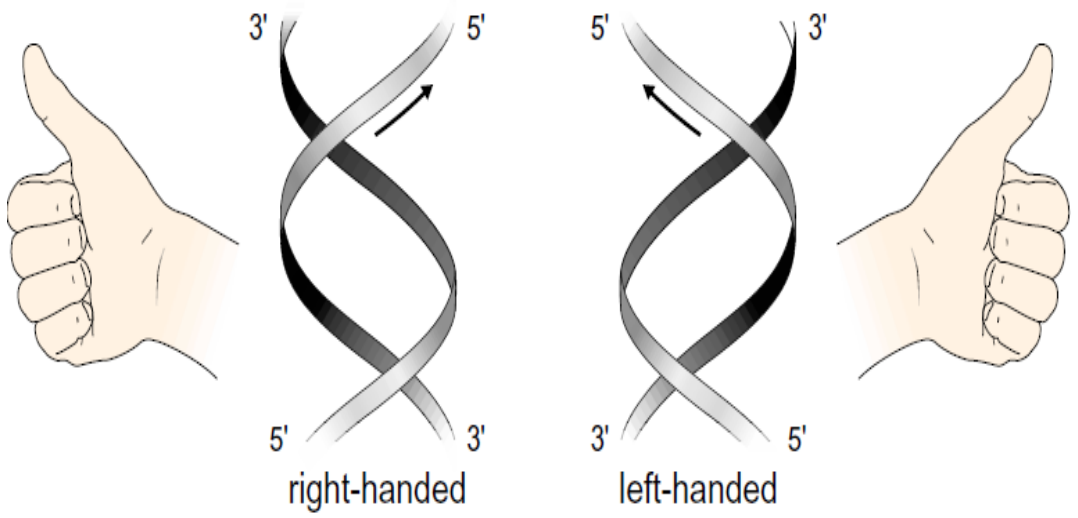
3- **Anti parallel** : التضاد ويقصد بها إن شريطي جزيئية DNA يلتفان حول بعضهما البعض باتجاهين متعاكسين .

4- قطر جزيئة DNA هو 20 انكستروم في حين ان اللفة الواحدة طولها 34 انكستروم

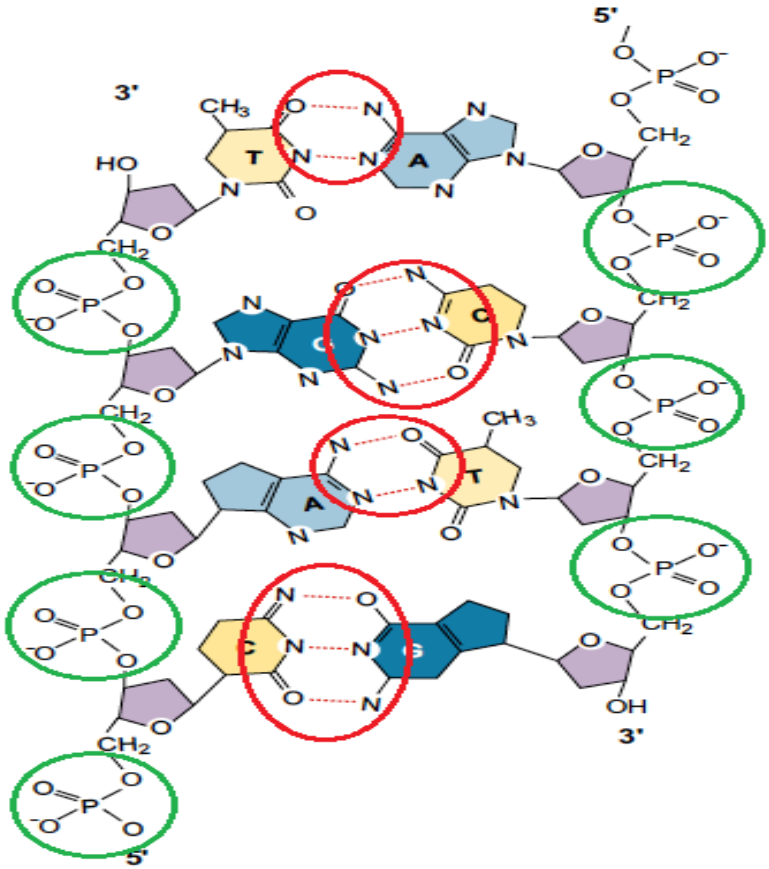
5- تتكون اللفة الواحدة من DNA من 10.5 زوج قاعدي وبذلك يكون طول القاعدة الواحدة او الزوج القاعدي حوالي 3.3 انكستروم .

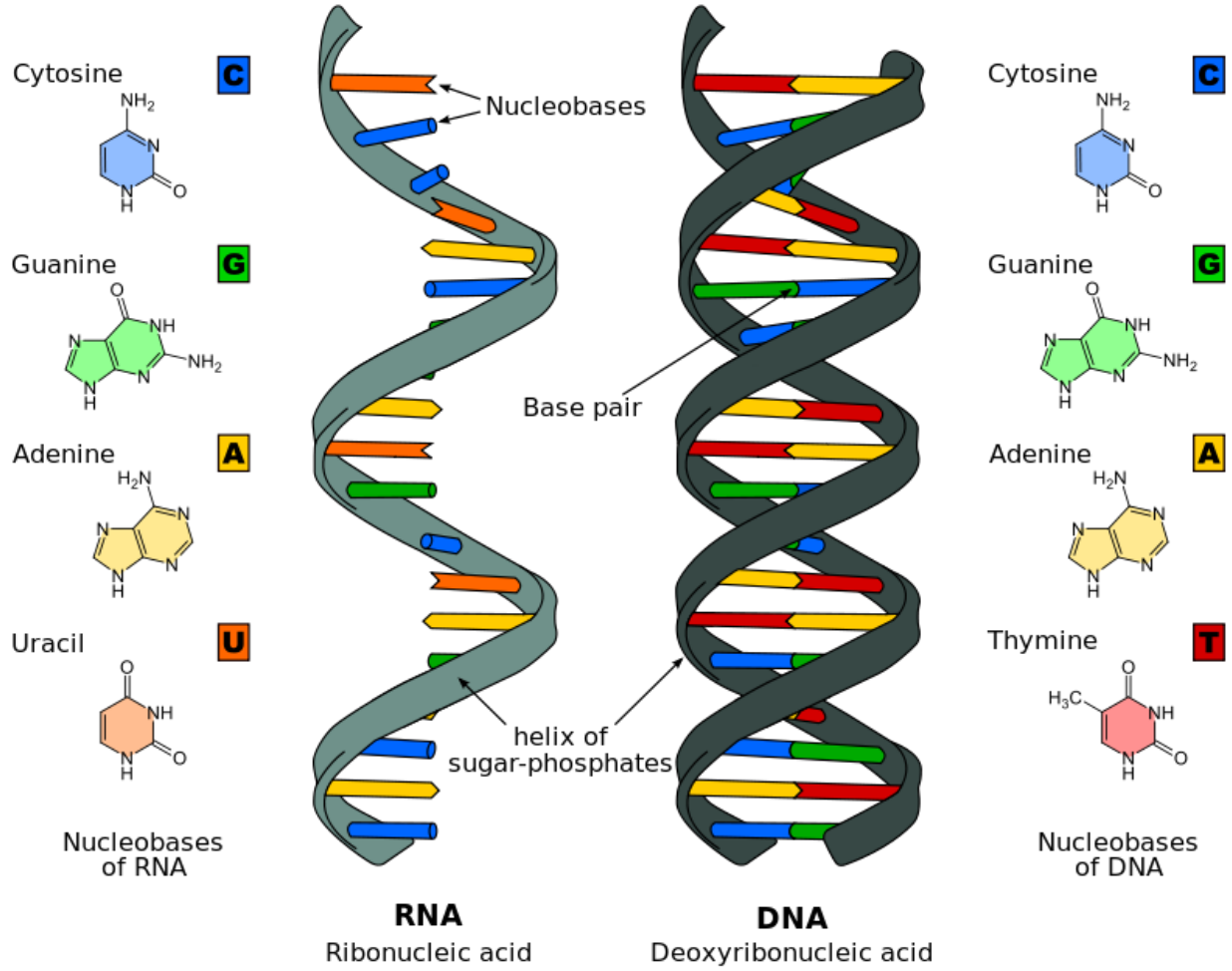
6- وزن الزوج القاعدي هو 660 دالتون

7- يكون اتجاه اللفة اما لليمين وتسمى right handed او لليسار وتسمى left handed



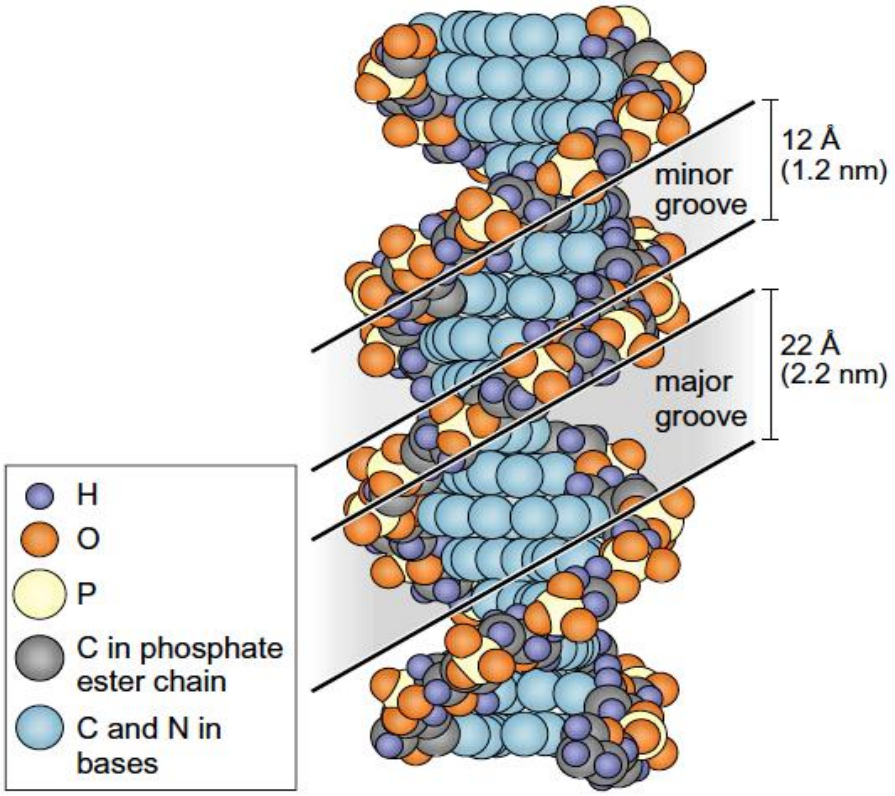
8- **Inter and intra strand bonds**: هنالك نوعين من الاواصر في جزيئة DNA المزدوجة وهي الأصرة الهيدروجينية ما بين نيوكليوتيدات شريطي DNA والأصرة ثنائية الفوسفات التساهمية التي تربط بين نيوكليوتيدات الشريط الواحد وكما موضح ادناه:





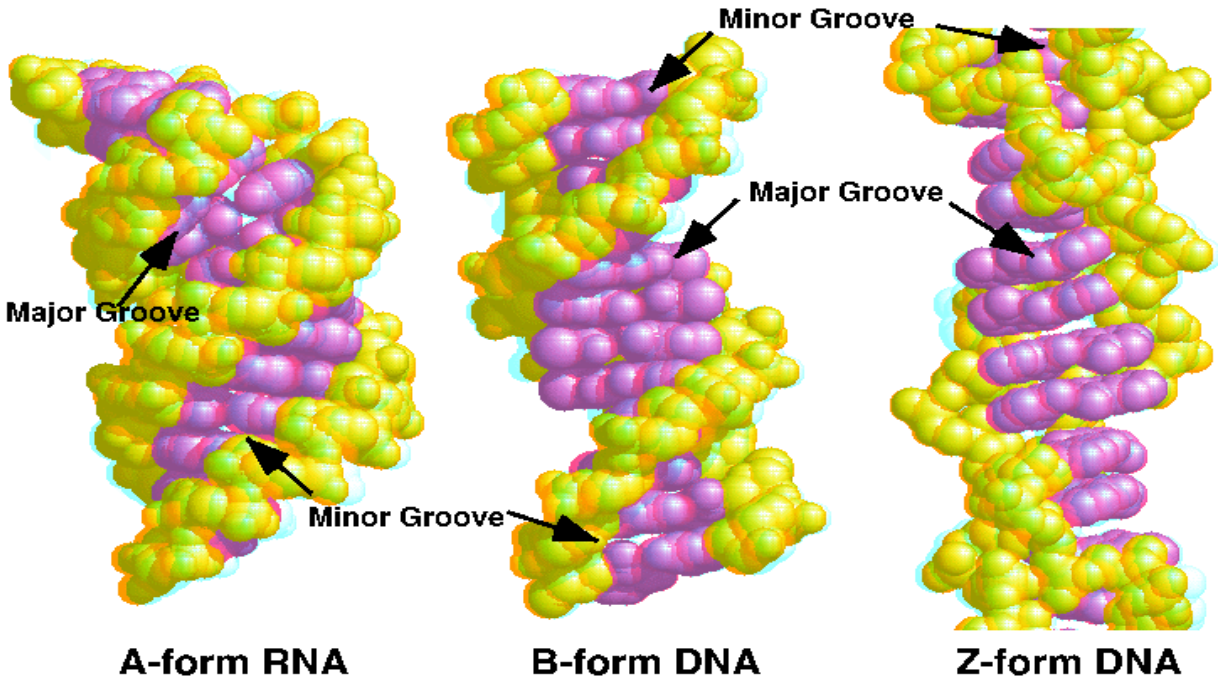
9- **الأخدود الأساسي Major groove والأخدود الثانوي Minor groove :** تتكون هذه الأخاديد نتيجة للشكل المزدوج المتضاد Anti-parallel double helix لجزئية الدنا وللتركيب الفراغي للقواعد النيتروجينية. وتكون هذه الأخاديد غير متساوية بالحجم. أن كل زوج قاعدي يلتوي او ينحرف عن مسار الزوج القاعدي الذي يسبقه بحوالي 36 درجه وبالتالي يصبح من السهل علينا معرفة عدد الأزواج القاعدية في اللفة الواحدة من خلال معرفة ان اللفة الواحدة تعني التواء او استدارة بمقدار 360 درجه وبالتالي هنالك تقريبا عشرة ازواج قاعديه في اللفة الواحدة.

10- **التركيب الأولى والثانوي للـ DNA:** يتكون التركيب الأولي من الشريط المنفرد الذي يتألف من سلسلة من النيوكليوتيدات التي تبنى بالاتجاه '5 ← '3 وتمتاز بوجود أصره تساهمية فقط (Phosphodiester bond) اما التركيب الثانوي فيتألف من شريطي الدنا التي تمتاز بأنها Anti parallel double helix وتحتوي على الأصرة الهيدروجينية التساهمية في تركيبها.



11- أشكال الـ DNA :بصوره أساسيه هنالك ثلاثة أشكال للـ DNA يكمن إيجازها بالجدول التالي:

Characteristics	A-form	B-form	Z-form
Helix sense(اتجاه الحلزون)	Right handed	Right handed	Left handed
Rotation degree **التواء الحلزون لكل زوج قاعدي**	33.6°	35.9°	60/2°
Mean bp/turn **معدل ازواج القواعد لكل لفه**	10.7	10.0	12
Diameter(القطر)	26A	20	18 A
Medium **طبيعة الوسط الذي يتواجد فيه**	Found in dehydrated medium	Found in hydrated medium	Found in dehydrated medium
Commonalty **العمومية**	Less common than B and Z form	More commonly found in cell that A and z form	Rarely found in cell



12- في بدائية النواة تكون جزيئة الدنا مزدوجة الشريط Double strand (dsDNA) كما في البكتريا وبعض الفيروسات وقد تكون مفردة الشريط Single strand (ssDNA) كما في بعض الفيروسات مثل Parvovirus B19.

13- يسمى الشريط ذو الاتجاه '5←'3 بـ sense (الحساس او القائد)اما ذو الاتجاه'3← '5 فيسمى بـ anti-sense (المتأخر).

14- يمكن فك ارتباط (denaturation) الشريط المزدوج للـ DNA بتعريضها لما يلي:

- High temperature (about 95 ˚C)
- High PH solution
- High salt concentration

ثانيا: تركيب الحامض النووي الرايبوزي RNA

يشابه في تركيبه للـDNA مع بعض الاستثناءات وكما يلي:

1- يكون مفرد الشريط عادة Single strand (ssRNA) مع بعض الاستثناءات حيث يكون مزدوج الشريط Double strand (dsRNA) كما في الحامض النووي الرايبوزي الناقل tRNA وكذلك في بعض الفيروسات مثل Rotavirus.

2- يحتوي في تركيبه على الرايبوز بدلا من الرايبوز منقوص الاوكسجين.

3- لا يحتوي في تركيبه على القاعدة النيتروجينية الثايمين thymine بل يحتوي بدلا عنها على اليوراسيل Uracil (لماذا ؟).

4- هنالك عدة أنواع من الـ RNA تختلف في وظائفها البيولوجية وهي:

mRNA=messenger RNA**(carry genetic information encoding for protein)**

tRNA=transfer RNA **(transfer amino acid during translation)**

rRNA=ribosomal RNA **(one component of ribosomes)**

snRNA=small nuclear RNA (**one component of spliceosomes)**

exRNA= Extracellular RNA (also known as exosomal RNA) found in body fluid like blood, saliva, breast milk, urine, semen, menstrual blood, and vaginal fluid (**syntrophy**)

piRNA= Piwi-interacting RNA (gene silencing)

snoRNA= small nucleolar RNA (required for rRNA maturation)

miRNA=micro RNA (halt translation or degrade mRNA)

siRNA=small interfering RNA (halt translation or degrade mRNA)

تعبئة الأحماض النووية Nucleic Acid Packaging

أن المقصود بتعبئة الأحماض النووية هي الشكل النهائي الذي يكون عليه الحامض النووي في الجزيئة الخلوية وهي تختص بالـDNA دون الـ RNA ؟ ومثال على ذلك الهيئة او التركيب الفراغي للـ DNA الموجود في الكرموسوم. ولتوضيح الفكرة نطرح السؤال التالي: اذا علمنا إن طول جزيئة الـ DNA البشري المتواجد في الكرموسوم يصل إلى 2 متر لكن في الحقيقة يكون الكرموسوم تركيب مجهري لا يمكن رؤيته بالعين المجردة وبذلك يكون الجواب هو التعبئة الخاصة للـ DNA في الكرموسوم البشري.

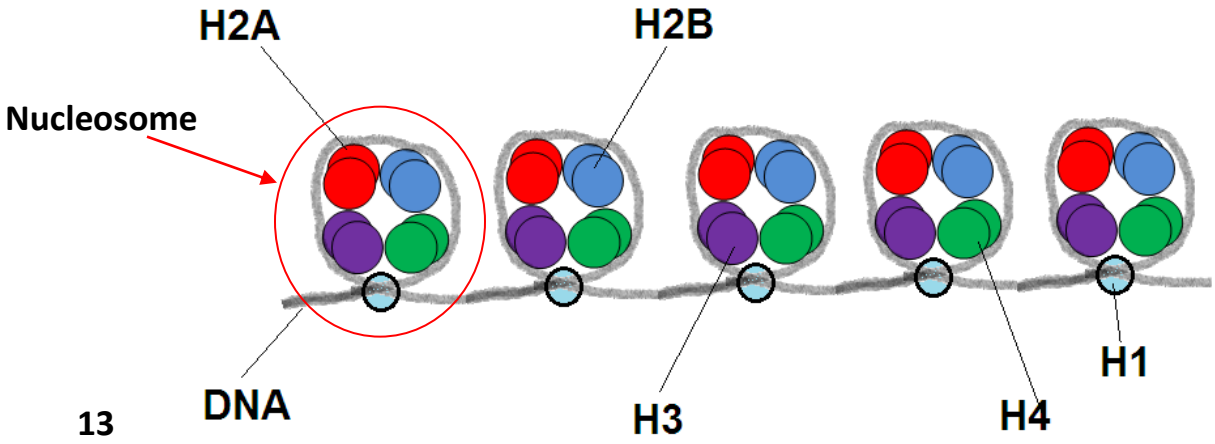
تركيب الكرموسوم البشري Human Chromosome Structure :

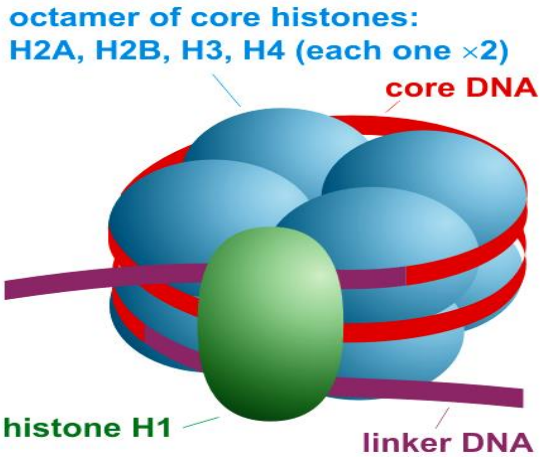
يتألف الكرموسوم من ذراعين وقطعه مركزيه. الذراع القصير Short arm ويسمى ب p arm والذراع الطويلLong arm ويسمى ب q arm وتسمى القطعة المركزية ب Centromere . كيميائيا يتركب الكرموسوم من حامض نووي منقوص الاوكسجين DNA وبروتين الهستون Histone. بالنسبة إلى تركيب الـDNA تطرقنا له بإسهاب في المحاضرة السابقة اما الهستون فهنالك خمسة أنواع من الهستون هي H1, H2A, H2B, H3, H4 يسمى كل من H2A, H2B, H3, H4 بهستون اللب Core Histon ؟ اما H1 يسمى بالهستون الرابط Linker Histon؟

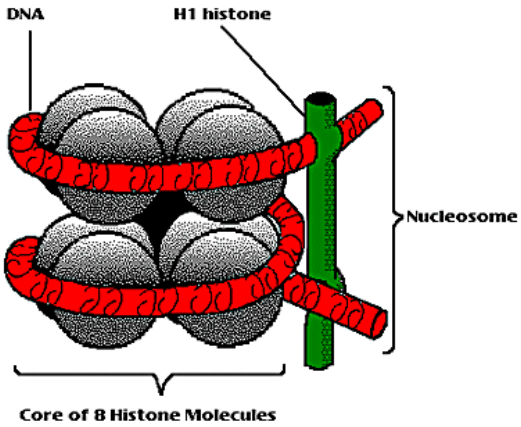
اولا: تعبئة الدنا DNA في كروموسوم حقيقية النواة Eukaryote DNA packaging

إن تعبئة الدنا (DNA) في كروموسوم حقيقية النواة تكون كما يلي:

1- تتجمع وحدتين لكل من H2A, H2B, H3, H5 وتكون ما يسمى باللب Core ثم بعد ذلك تلتف جزيئة الدنا مزدوجة الشريط حول اللب وتغلق نقطتي تلاقي الدنا بالهستون الرابط H1 لتكون مايسمى بالنيوكليوسوم Nucleosome والذي يكون قطرها 10 نانوميتر و تكون بشكل حبات او خرزات المسبحة على جزيئة الدنا وكما موضح بالشكل ادناه:

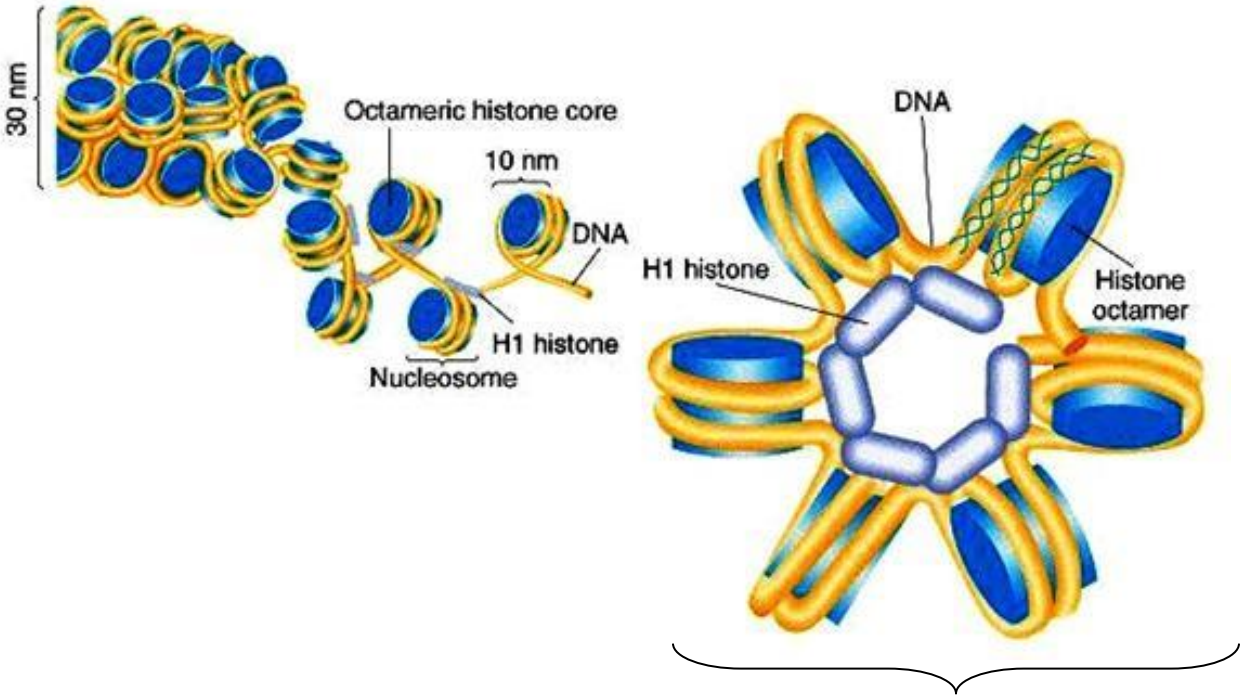






Nucleosome

2- تتجمع كل ستة نيوكليوسومات لتشكل شكل اسطواني يسمى بSolenoid structure والذي يكون قطرها 30 نانوميتر



Solenoid structure (30nm)

مما تقدم يتضح لنا جليا دور الهستون في عملية تعبئة Packing وحشد Condensation الدنا DNA بالنسبة إلى الكائنات حقيقية النواة Eukaryote اما بالنسبة إلى الكائنات بدائية النواة فهل هنالك تعبئة للدنا DNA ؟ والجواب يكون بنعم وكما سيأتي ذكره لاحقا.

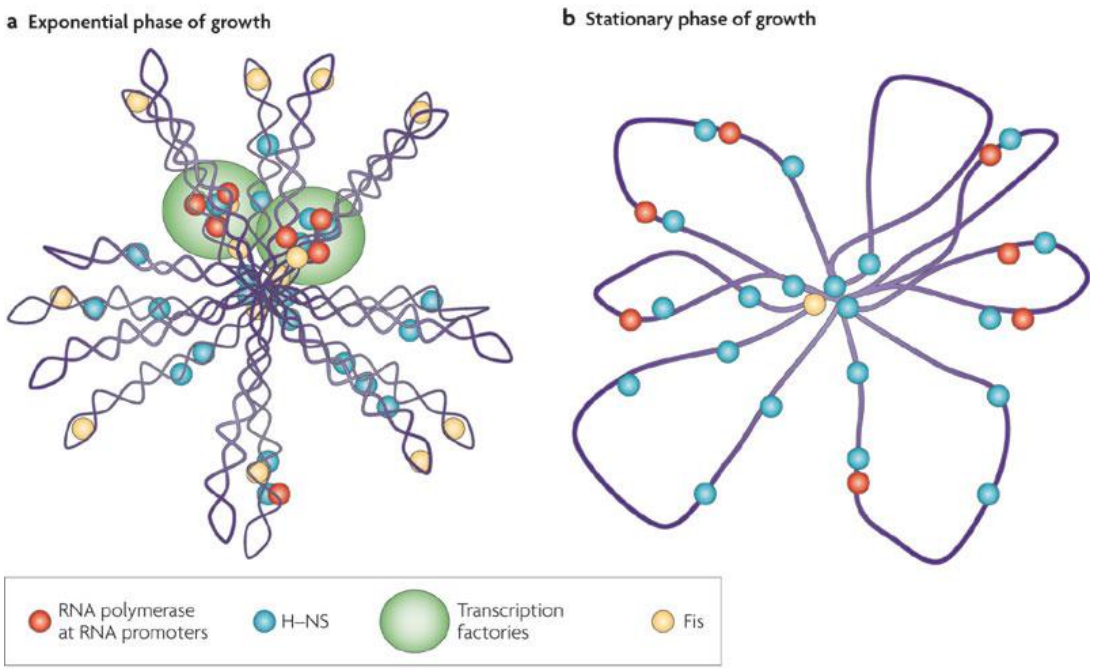
ثانيا: تعبئة الدنا DNA في كروموسوم بدائية النواة Prokaryote DNA packing

من الجدير بالذكر ان طبيعة المادة الوراثية في الكائنات بدائية النواة اقل تعقيدا مما في حقيقية النواة وفيما يخص تعبئة الدنا في بدائية النواة فانه يحصل لكن بدرجه اقل من التعقيد مما في حقيقة النواة حيث تتم العملية بارتباط بروتينات شبيهه بالهستون تسمى مجتمعة بـ Histon like protein كما في HU protein وN-HS وFIS وتسمى عملية التعبئة بالالتفاف الفائق Supercoiling حيث تتم بوجود بروتين HU وأنزيم التوبوايزوميريز الأول Topoisomerase I حيث تحدث هذه العملية بعد تضاعف الدنا DNA مباشرة.

هنالك نوعين من الـ Supercoiling :

1- **بالالتفاف الفائق الموجب Positive Supercoiling : يحصل عندما يكون الالتفاف الفائق بنفس اتجاه الحلزون المزدوج للدنا DNA.**

2- **بالالتفاف الفائق السالب Negative Supercoiling : يحصل عندما يكون الالتفاف الفائق عكس اتجاه الحلزون المزدوج للدنا DNA.**



Nature Reviews | Microbiology

ويكمن تلخيص اهم الفروقات في المادة الوراثية لحقيقية النواة وبدائية النواة كما موضح في الجدول التالي:

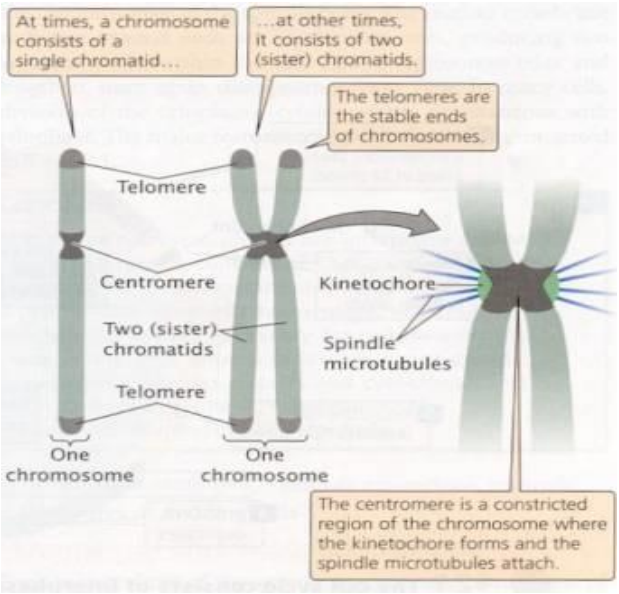
Prokaryotic Chromosomes	Eukaryotic Chromosomes
1-Many prokaryotes contain a single circular chromosome.	1-Eukaryotes contain multiple linear chromosomes.
2-Prokaryotic chromosomes are condensed in the nucleoid via DNA supercoiling and the binding of various architectural proteins.	2-Eukaryotic chromosomes are condensed in a membrane-bound nucleus via histones.
3-Because prokaryotic DNA can interact with the cytoplasm, transcription and translation occur simultaneously.	3-In eukaryotes, transcription occurs in the nucleus, and translation occurs in the cytoplasm.
4-Most prokaryotes contain only one copy of each gene (i.e., they are haploid).	4-Most eukaryotes contain two copies of each gene (i.e., they are diploid).
5-Nonessential prokaryotic genes are commonly encoded on extrachromosomal plasmids.	5-Some eukaryotic genomes are organized into operons, but most are not.
6-Prokaryotic genomes are efficient and compact, containing little repetitive DNA.	6-Extrachromosomal plasmids are not commonly present in eukaryotes.
	7-Eukaryotes contain large amounts of noncoding and repetitive DNA.

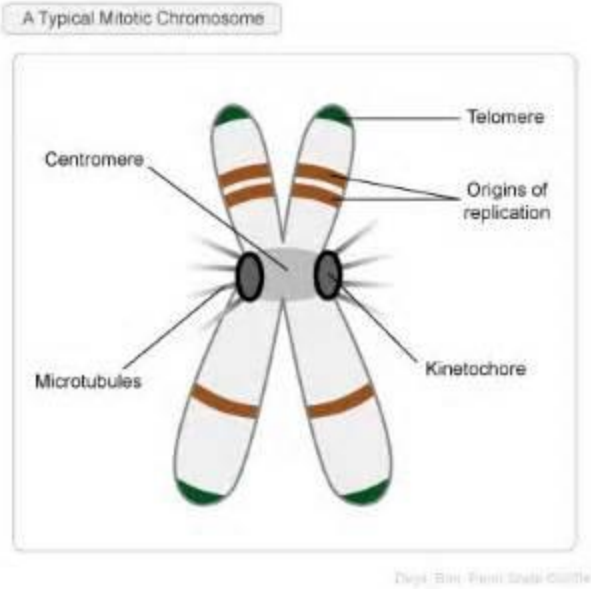
ثالثا: تركيب الموروثة في حقيقية النواة Eukaryote Gene Structure :

تعرف الموروثة او الجين على إنها اصغر وحده تركيبه تحمل المعلومات الوراثية. اول من اكتشف الجين هو العالم جورج مندل بين سنة 1857 و 1864. تمتاز الكائنات حقيقية النواة بامتلاكها نسختين لكل جين وتسمى بالأليل Allele أي ان لكل جين أليليين احدهما يؤخذ من الأب والأخر من الأم وهذه بطبيعتها تكون اما سائدة Dominant ويرمز له بالحرف الكبير او متنحية Recessive ويرمز له بالحرف الصغير بالتالي تسمى جينات حقيقية النواة ب Diploid ويرمز له 2N. تكون الجينات محمولة على الكرموسوم وبالنسبة للإنسان فهنالك 23 زوج كرموسومي (منها 22 زوج تسمى الكروموسومات الجسمية وزوج واحد يسمى بالكر موسومات الجنسية وهي X و Y). من حيث الشكل كل هذه الكروموسومات تكون بشكل غير

حلقي او ما تسمى خطية Linear وتحتوي في نهاياتها على تسلسلات متكررة repetitive sequence من الـ GGGATT وتسمى هذه المنطقة بالتلومير Telomere.

ماهي فائدة منطقة التلومير للكروموسوم؟





يتكون الجين من مناطق متعاقبة باستمرار تسمى بـ Exon وهي مناطق تحوي المعلومات الوراثية التي تشفر فيما بعد و Intron التي لا تشفر لكنها لها وظائف تنظيمية وتتكون الموروثة (الجين) في حقيقية النواة من المناطق التالية:

1- منطقة المحفز Promoter:

منطقة مميزة من الجين تحتوي على تسلسل خاص يرتبط عندها انزيم RNA polymerase II عند بدء عملية الاستنساخ Transcription تقع قبل منطقة المحفز منطقة تسمى منطقة التنظيم او السيطرة Control or Regulatory Gene وظيفتها تنظيم عملية بدا الاستنساخ ومنها المسرع Enhancer .

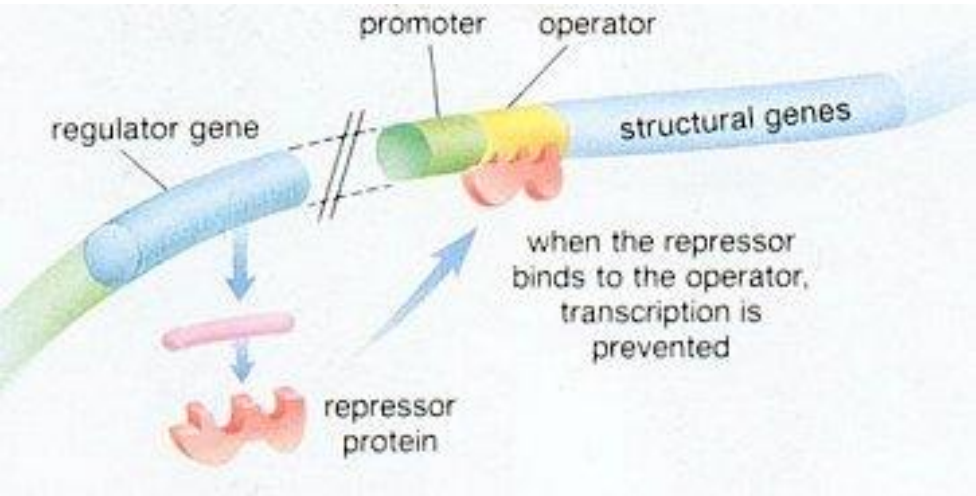
تحتوي منطقة المحفز على تسلسل يسمى ب TATA box وهو التسلسل الذي يرتبط عنده معقد انزيم RNA polymerase II لبدء استنساخ الدنا لتكوين الـ mRNA .

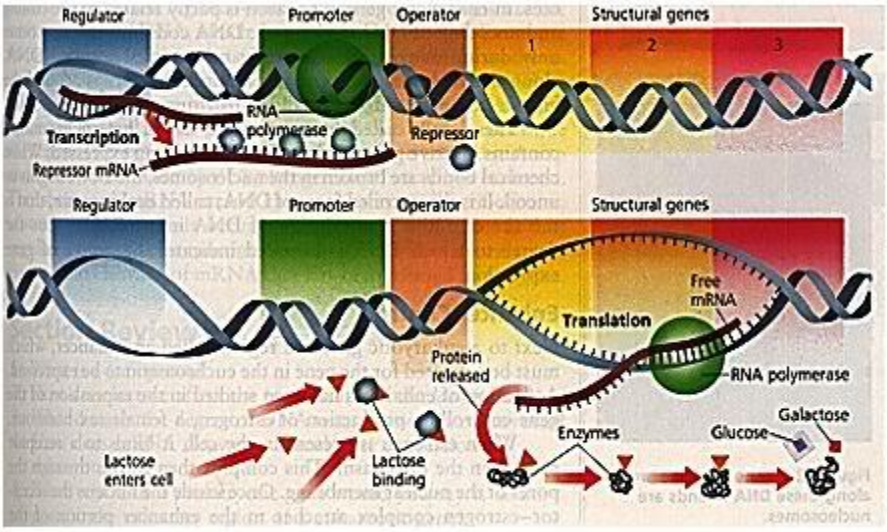
2- منطقة المشغل Operator:

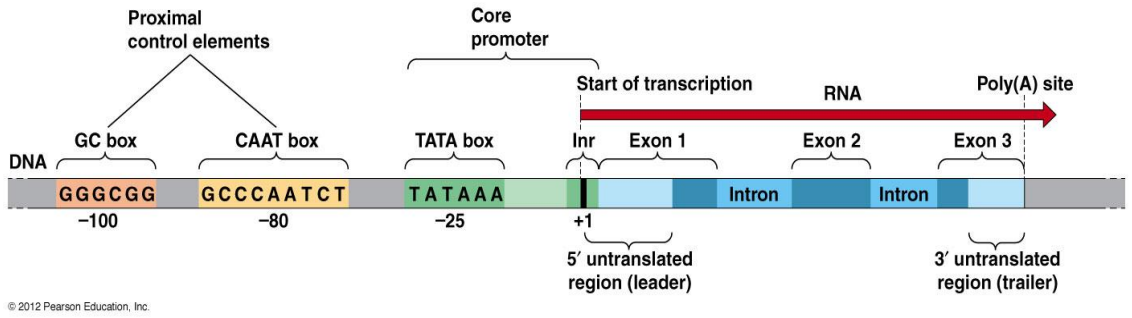
وهي المنطقة التي يرتبط عندها مثبت عملية الاستنساخ Repressor .

3- **منطقة الجين التركيبي Structural Gene** او تسمى التسلسل المشفر Coding sequence . وهي المنطقة التي تحتوي على المعلومات الوراثية التي سيتم استنساخها .

4- منطقة الإنهاء Terminator ولكل من هذه المناطق تسلسل خاص ووظيفة خاصه بها سياتي ذكرها لاحقا.







ثالثا: تركيب الموروثة في بدائية النواة Prokaryote Gene Structure :

من الجدير بالذكر ان تركيب الكرموسوم والجين في بدائية النواة يكون أسهل مما في حقيقية النواة كما سنوضحه لاحقا. تحتوي بدائية النواة على كروموسوم حلقي واحد circular. ويكون تركيب الجين مشابها لما في حقيقية النواة مع بعض الاستثناءات ومنها:

1- لا يحتوي على الانترون Intron

2- منطقة المحفز تحتوي على تسلسل يسمى Pribnow box ذو تسلسل مميز TATAAT يرتبط عنده معقد RNA polymerase.

الفكرة المركزية Central Dogma

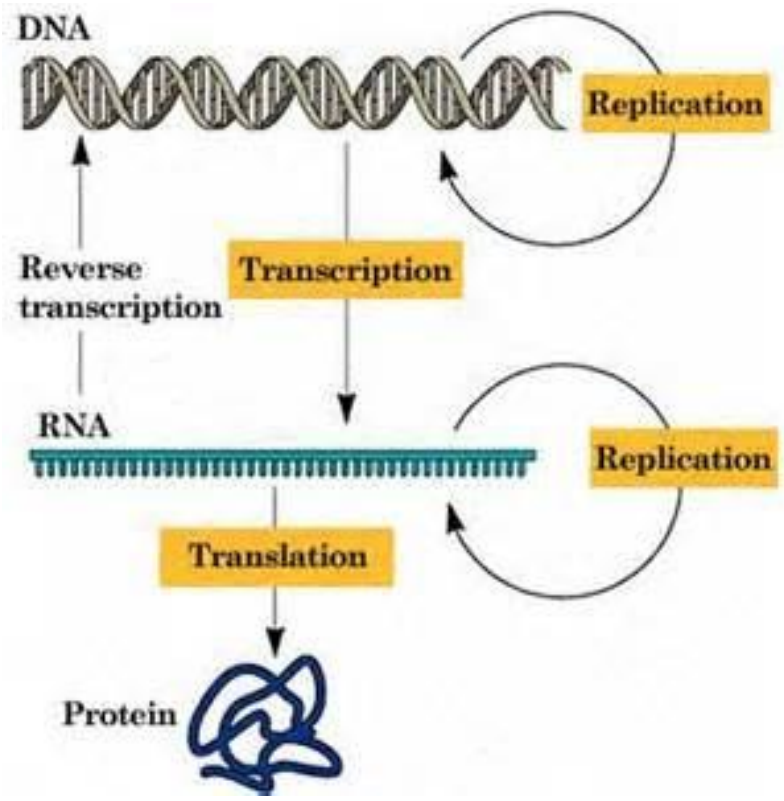
تعرف الـ Central dogma على أنها توضيح او تفسير لانسياب المعلومات الوراثية خلال الأنظمة الحياتية وتشمل:

1- عملية تضاعف الحمض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA replication.

2- عملية استنساخ الحمض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA Transcription .

3- عملية صنع البروتين (الترجمة) Translation.

ويمكن توضح الــ Central dogma بالمخطط التالي:



وسنتطرق إلى هذه العلميات بالتفصيل وأولها عملية تضاعف الحمض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA replication وقبل الشروع في شرح هذه عملية لابد لنا من التذكير بشكل هذا الحمض في بدائية وحقيقية النواة.

في حقيقية وبدائية النواة يكون الدنا DNA معبأ بشكل كروموسوم وهذا الكروموسوم يكون خطي Linear في حقيقية النواة وحلقي Circular في بدائية النواة وكروموسوم المايتوكوندريا الذي يرمز له اختصارا بـ mtDNA وهذا يؤدي بالنتيجة إلى بعض الاختلافات في كيفية حدوث التضاعف وكما سيتم تبيانه لاحقا.

اولا: تضاعف الحمض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA replication في حقيقية النواة:

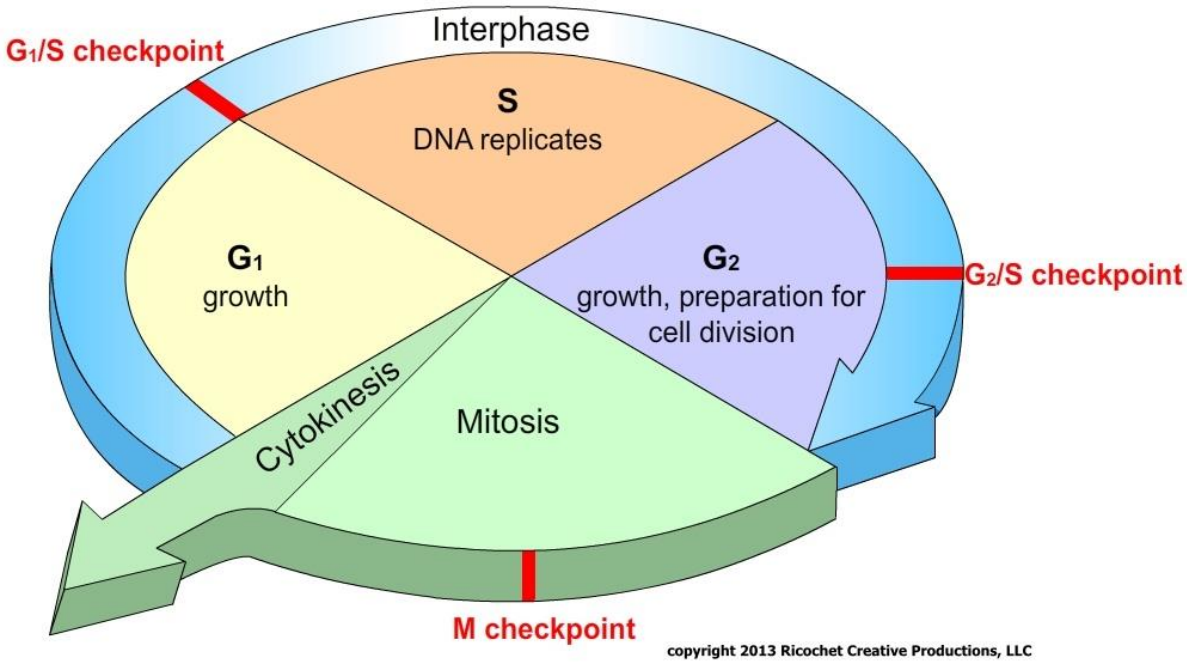
قبل البدء بالحديث عن هذه العملية يجب الإجابة على التساؤلات التالية:

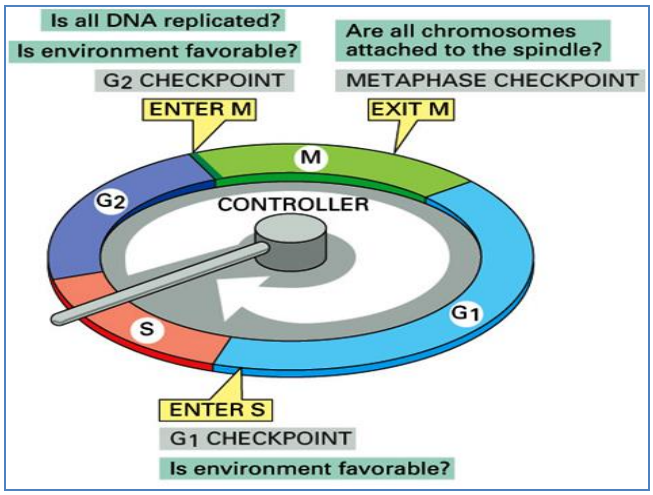
متى تحدث عملية التضاعف؟

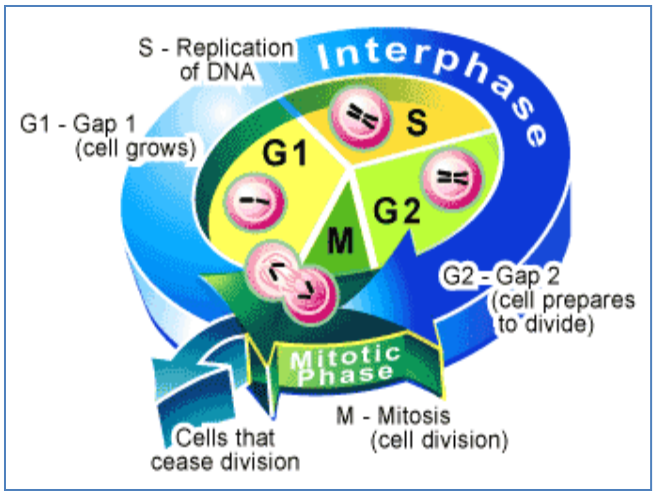
هل هي عملية عشوائية غير مسيطر عليها؟

أين تحدث هذه العملية؟

وللإجابة على هذه التساؤلات نقول: ان عملية التضاعف عملية منظمه تحدث بانتظام ودقة متناهيه . هنالك طورين أساسين لدورة حياة الخلية Cell cycle وهما الطور البيني Inter phase وطور الانقسام الخيطي Mitotic phase ولكل من هذين الطورين أطوار ثانوية والمهم هنا هو تبيان توقيت حدوث عملية تضاعف الدنا DNA حيث تحدث هذه العملية استعدادا للانقسام الخلوي وتحدث في طور التصنيع Synthesis phase ويرمز له S phase وهو من الأطوار الثانوية للطور البيني وكما موضح بالمخططات ادناه:





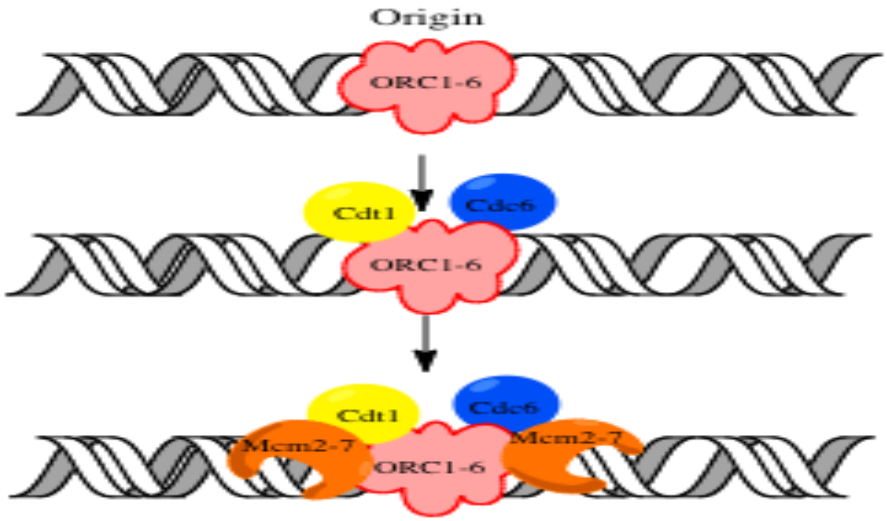


تحدث هذه العملية في النواة والمايتوكوندريا (في حقيقية النواة) وفي المنطقة النووية Nucleoid في بدائية النواة. ويمكن تلخيص خطوات عملية التضاعف بما يلي:

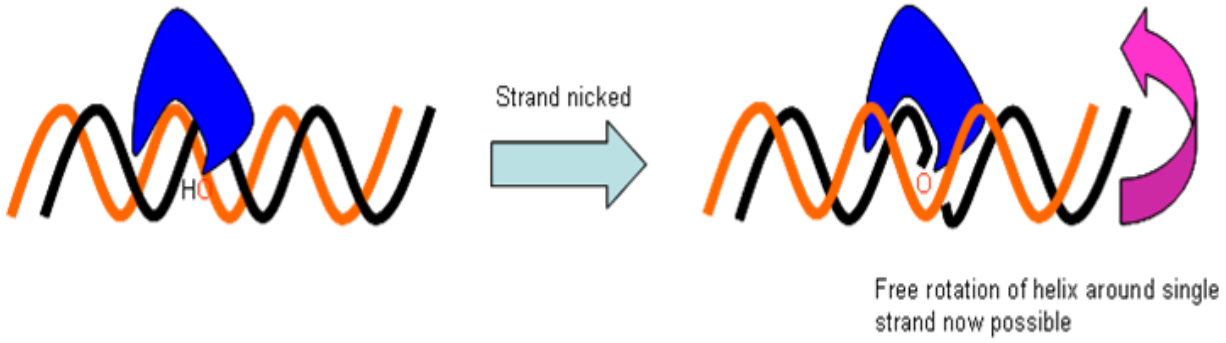
1- **تميز منشأ التضاعف** Origin of Replication Recognition:

تسمى المنطقة التي يبدا عندها التضاعف بـ Origin of Replication ويمز لها في الكروموسوم بـ OriC ، اما في البلازميد فيرمز له بـ OriT حيث تميز هذه المنطقة من قبل معقد البدء Origin of Replication Complex ويرمز له ORC حيث يتكون هذا المعقد في حقيقية النواة من ستة وحدات هي ORC1, ORC2, ORC3,ORC4, ORC5, ORC6 وبعد ارتباط هذا المعقد ترتبط بروتينات اخرى مثل Cdc6 و Cdt1 و Mcm2-Mcm7 لتكون معقد البدء Initiator ويحدث هذا الارتباط في طور G1 بعد ذلك يطلب الإذن بالدخول الى طور S لبدء عملية التضاعف من خلال فسفرة معقد البدء Initiator وبعد هذه الخطوة تأتي خطوة الإرخاء relaxation.

من الجدير بالذكر ان هنالك العديد من OriC في حقيقة النواة على العكس من بدائية النواة التي تحتوي على OriC واحد فقط. من مميزات هذه المنطقة انها غنيه بالأزواج القاعدية AT ؟

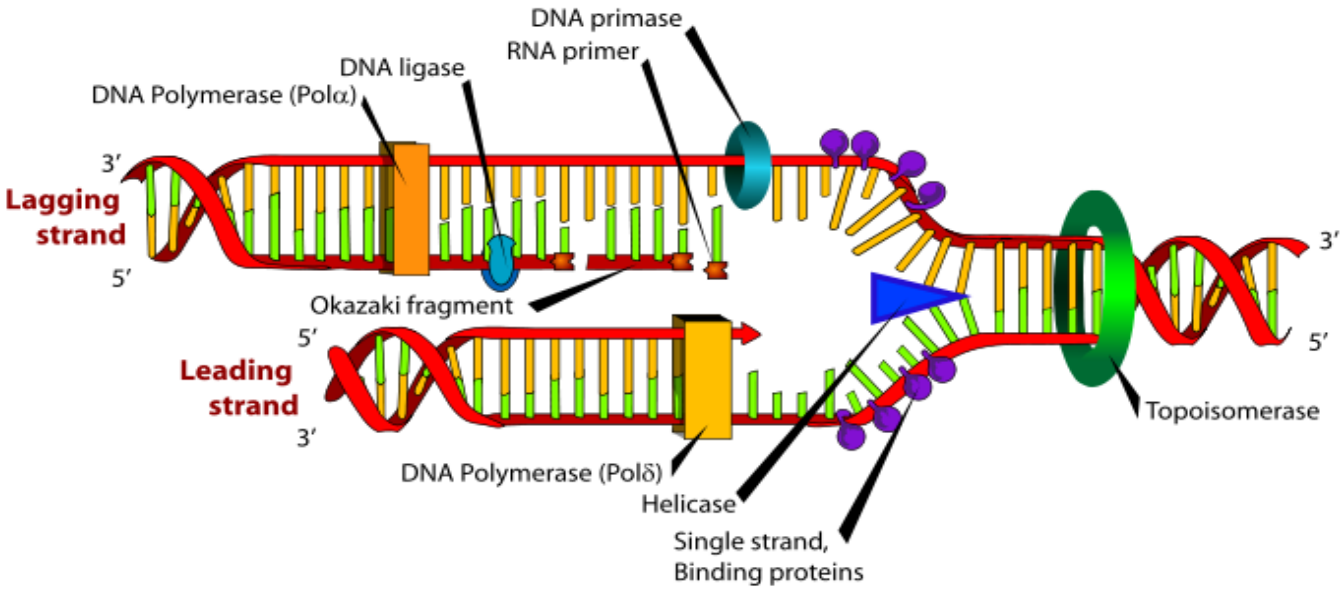


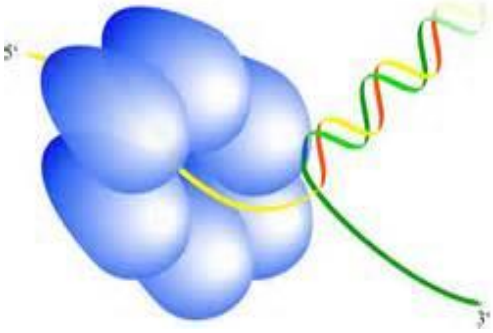
2- **عملية الإرخاء Relaxation**: حيث تتضمن هذه الخطوة فك الالتفاف الفائق Supercoiling من خلال انزيم Topoisomerase وهنالك نوعين من هذا الإنزيم هما Topoisomerase I (الذي يقوم بقطع احد الشريطين ليدور حول الثاني ومن ثم اعادة لصق الشريط) والثاني هو II Topoisomerase(الذي يقوم بقص الشريطين لتدور حول جزيئة الدنا المزدوجة الأخرى ومن ثم اعادة لصقهما). وهنالك نوعين لكل منهما Topoisomerase IA و Topoisomerase IB و Topoisomerase IIA و Topoisomerase IIB وفي السابق كان يعتقد ان Topoisomerase IA موجود في بدائية النواة ولذلك سمى بـ (Prokaryotic Topoisomerase) اما Topoisomerase IB فكان يعتقد انه موجود في حقيقة النواة ولذلك سمى بـ (Eukaryotic Topoisomerase) اما في الوقت الحاضر فوجد ان كلاهما موجود في حقيقية وبدائية النواة. يمتاز Topoisomerase IA بأنه قادر على إرخاء الالتفاف الفائق السالب فقط Negative supercoiling اما Topoisomerase IB فيكون قادرا على إرخاء الالتفاف الفائق الموجب فقط positive supercoiling. اما آلية عمل انزيم التوبوايزوميريز فيمكن تلخيصها كلاتي: يقوم الأنزيم بعمل قطع في الدنا (احد الشريطين او كلاهما) وبالتالي تحصل عملية الإرخاء Relaxation ثم يعد غلق Reseal الشريط او الشريطين المقطوعة وهذا يؤدي الى الحصول على الحلزون المزدوج الجاهز لعملية بدء التضاعف وكما موضح في الشكل الاتي :

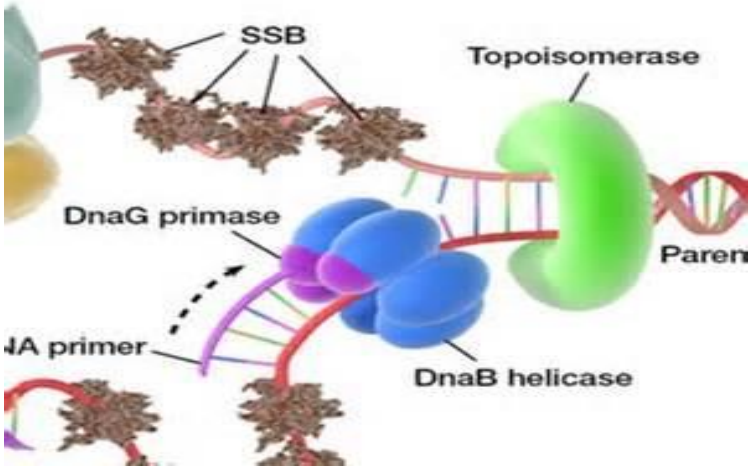


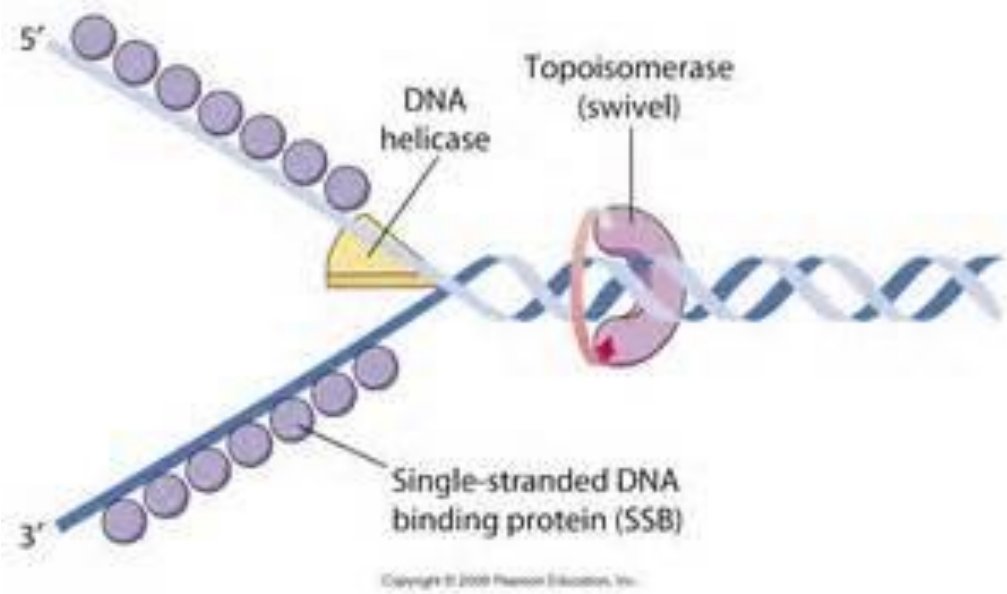
3- **عملية فتح المزدوج Double Helix Denaturation وارتباط بروتين الشريط المنفرد Single Strand Binding Protein(SSBP) :**

تحدث هذه العملية بكل من الاتجاهين لفتح المزدوج بواسطة انزيم Helicase وتتزامن معها ارتباط SSBP للشريط المزدوج . ان 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 . هنالك العديد من شوكة التضاعف تتكون في ان واحد في حقيقية النواة وشوكة تضاعف واحدة في بدائية النواة؟


DNA primase
RNA primer
DNA ligase
DNA Polymerase (Polα)
3′
Lagging strand
5′
Okazaki fragment
5′
Leading strand
3′
DNA Polymerase (Polδ)
Helicase
Single strand, Binding proteins
3′
5′
Topoisomerase


5′
3′

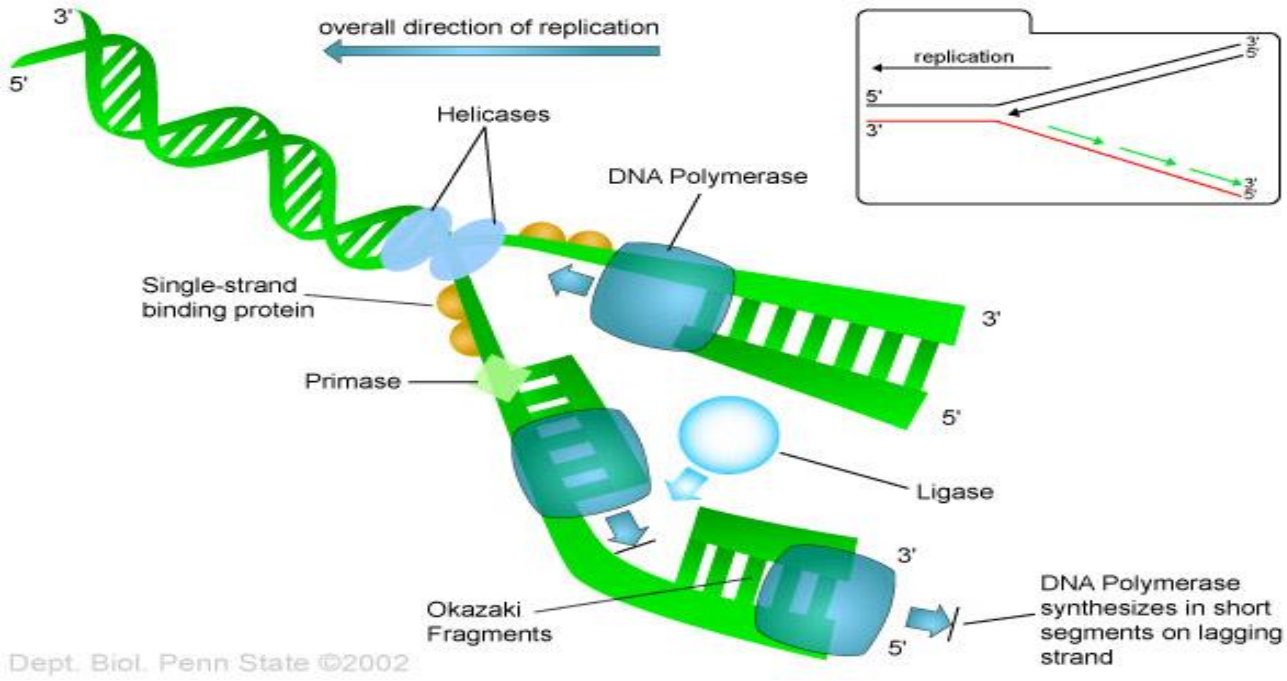

SSB
Topoisomerase
DnaG primase
Paren
A primer
DnaB helicase


5′
DNA helicase
Topoisomerase (swivel)
Single-stranded DNA binding protein (SSB)
3′

4- ارتباط البادئ Primer Binding:

تعد خطوة ارتباط البادئ من الخطوات المهمة والأساسية في بدء عملية التضاعف وذلك لأنه يمثل الأساس لتصنيع الشريط المتمم الجديد. تنجز هذه الخطوة بواسطة انزيم Primase وهم احد أنواع انزيم RNA polymerase حيث يحفز هذا الأنزيم تصنيع قطعة صغيره من الرناRNA تسمى البادئ Primer ويزال هذا البادئ فيما بعد بواسطة احد أنواع انزيم تصنيع الدنا DNA polymerase .

لماذا يجب إزالة البادئ ؟



5- البلمرة وإطالة الشريط Polymerization and Strand Extension :

تتم هذه العملية بواسطة انزيم DNA polymerase بالاتجاه 5'→3' حيث يقوم بإضافة النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات الى مجموعة الهيدروكسيل الحرة للنيوكليوتيده السابقة ونحصل على الطاقة اللازمة من مجموعتي الفوسفات التي كانت في النيوكليوتيدة الحرة.

ما نوع النيوكليوتيدة الحرة هل هي ثلاثية الفوسفات ام احادية الفوسفات؟

ما نوع النيوكليوتيدة المرتبطة هل هي ثلاثية الفوسفات ام احادية الفوسفات؟

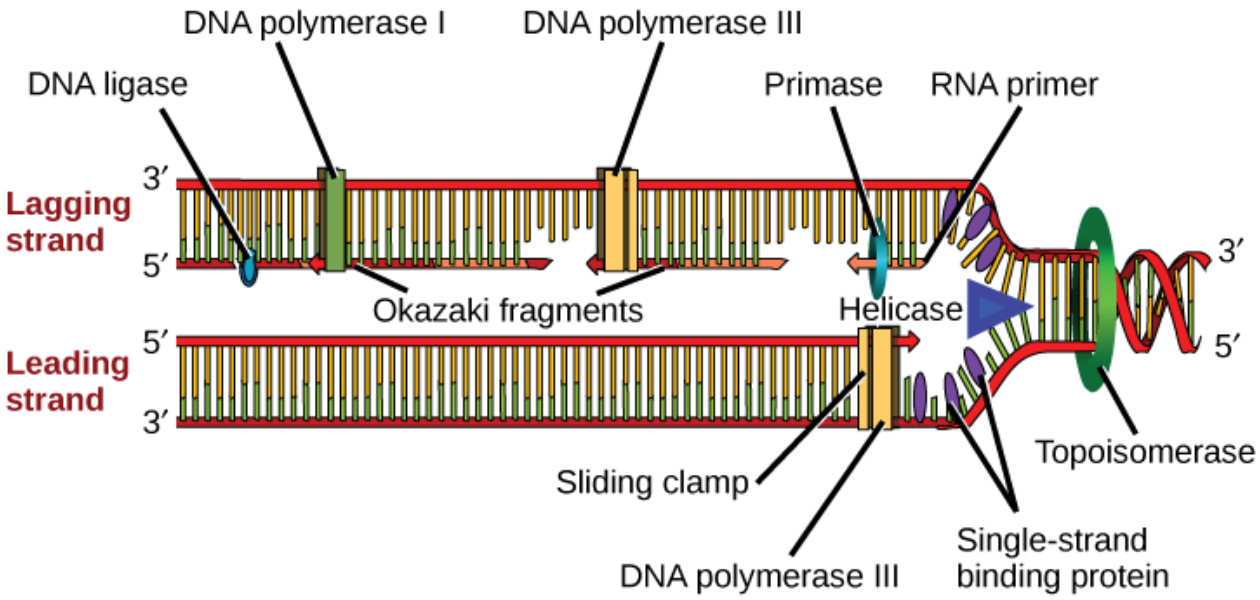
في الشريط الجديد الذي يكون الشريط القالب (الاصلي الابوي) له بالاتجاه5'→3' يبنى هذا الشريط باستمرار ويحتاج الى قطعة برايمر واحده فقط ويسمى بالشريط القائد Leading Strand اما الذي يكون بالعكس فانه يحتاج الى عدة قطع من البرايمرات ويبنى بشكل منقطع غير مستمر ويسمى بالشريط المتأخر Lagging Strand وتسمى القطع الصغيرة بقطع اوكازاكي Okazaki Fragment.

في حقيقة النواة هنالك عدة انواع من انزيم بلمرة الدنا DNA polymerase كل منها ينجز مهمه خاصه وكما يلي:

1- **بوليميريز الفا Pol α:** يعمل هذا الأنزيم على إضافة عدة نيوكليوتيدات الى البادئ (البرايمر) في كلا من الشريطين المتقدم Leading والمتأخر Lagging. ويقابله في بدائية النواة الانزيم Pol I (كذلك هذا الانزيم يقوم بإزالة البوادئ الموجودة في قطع اوكازاكي).

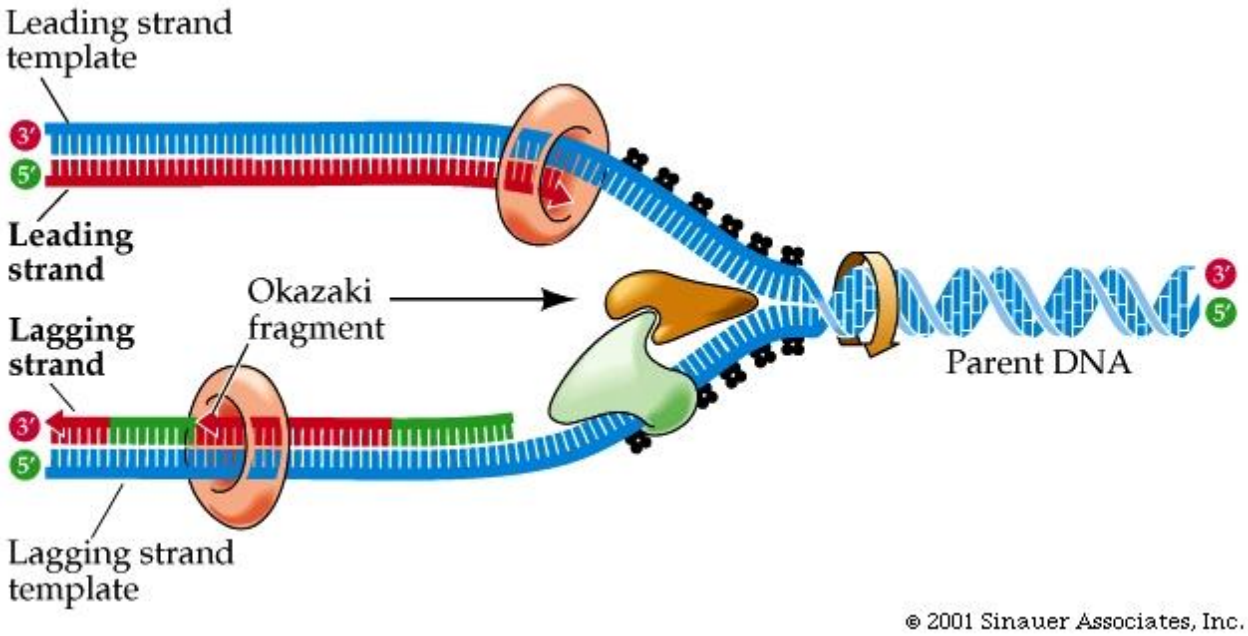
2- **بوليميريز ايبسلون Pol ε:** يعمل على اطالة الشريط المتقدم Leading بعد النيوكليوتيدات التي اضافها بوليميريز الفا (Pol α). ويقابله في بدائية النواة الانزيم Pol III

3- **بوليميريز دلتا Pol δ :**يعمل على اطالة الشريط المتأخر Lagging بعد النيوكليوتيدات التي اضافها بوليميريز الفا (Pol α) وكذلك يقوم بإزالة البوادئ الموجودة في قطع اوكازاكي. ويقابله في بدائية النواة الانزيم Pol I

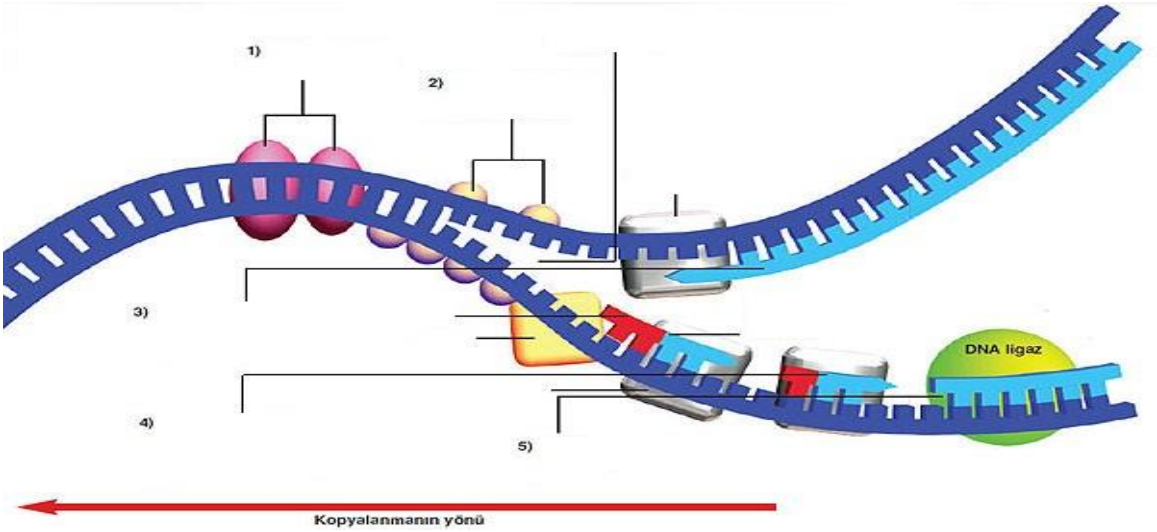


6- **عملية إزالة البرايمر وغلق القطع Primer removing and Nick sealing :**

تعد من العمليات المهمة لإزالة البرايمر من الشريط الجديد وتتم بواسطة نوع خاص من انزيم الدنا DNA polymerase اما عملية غلق او لصق القطع الناتج فتتم بواسطة انزيم اللصق DNA Ligase.



© 2001 Sinauer Associates, Inc.



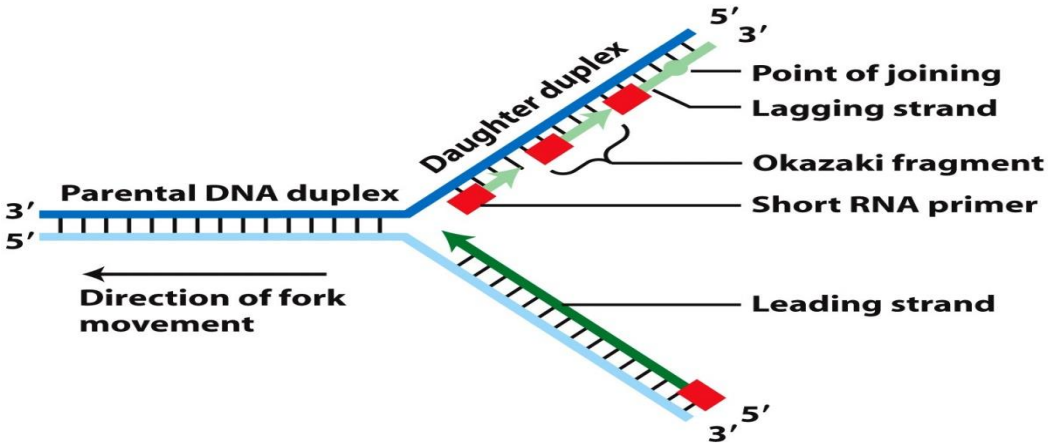
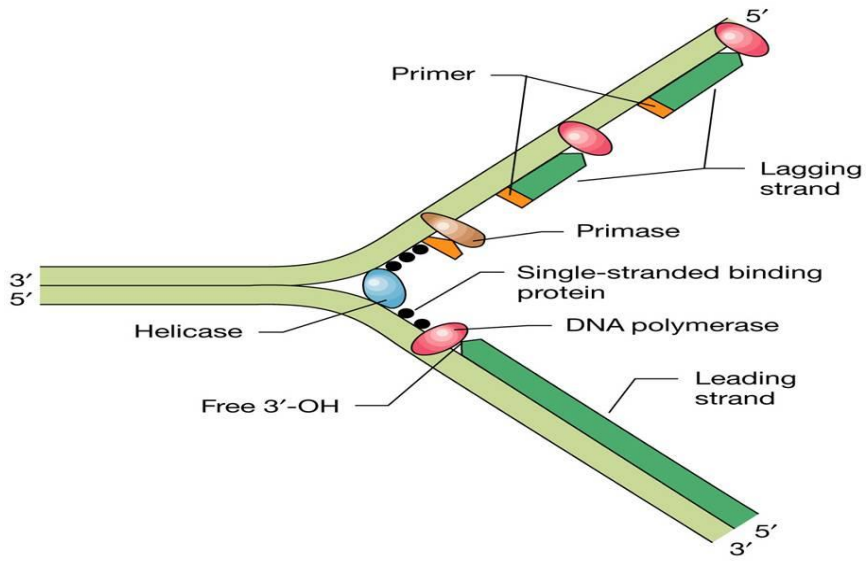
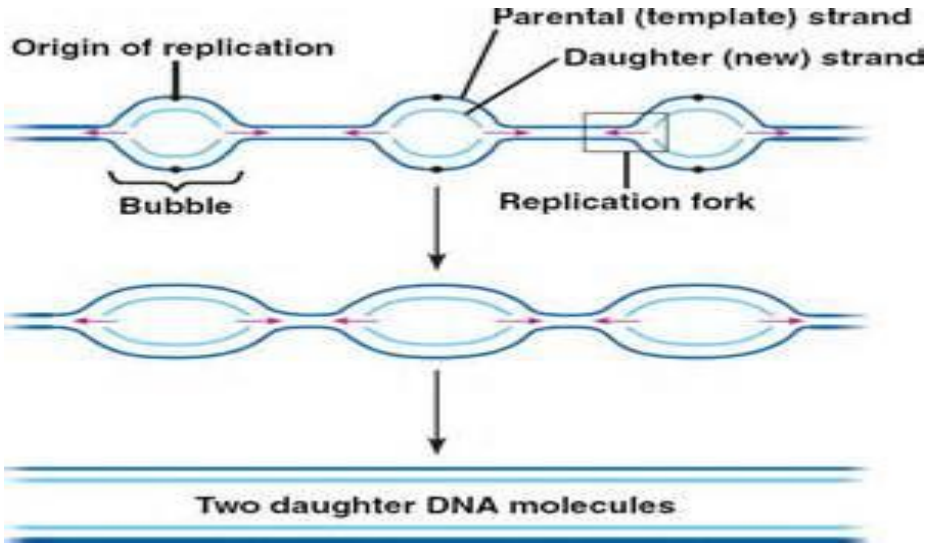


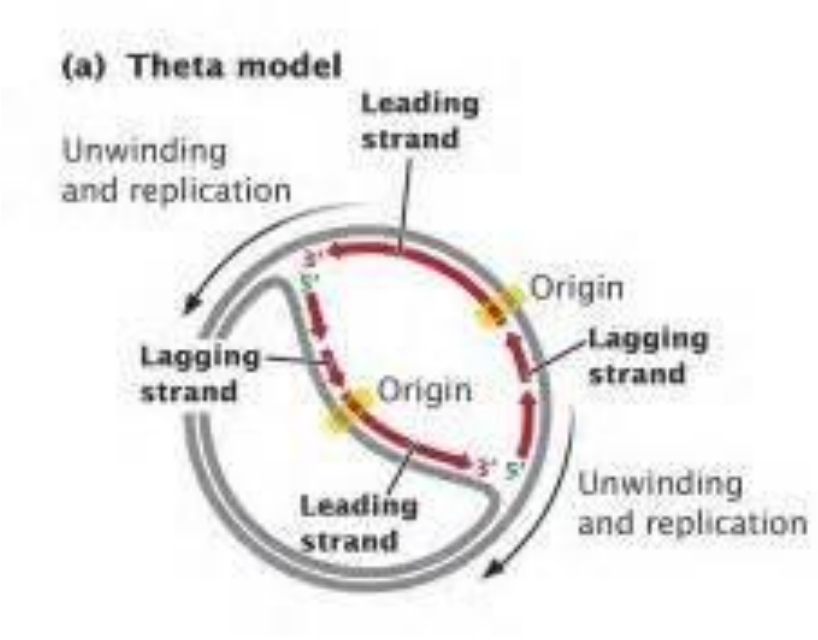
Figure 4-30
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company



بما انه هنالك أكثر من شوكة للتضاعف على طول جزيئة الدنا DNA في حقيقية النواة لذلك سيتكون أشبه بالفقاعات Bubbles التي تقترب من بعضها البعض وتلتقي لتكوين جزيئة الدنا الجديدة. اما في بدائية النواة فهنالك شوكة تضاعف واحده ؟ تبدأ في مكان معين وتمتد على طول الدنا الكرموسومي الحلقي لتلتقي مرة اخرى .



في كل من بدائية وحقيقية النواة يكون اتجاه التضاعف ثنائي Bidirectional ماعدا تضاعف البلازميدات يكون أحادي الاتجاه Unidirectional .



7- عملية الإنهاء Termination:

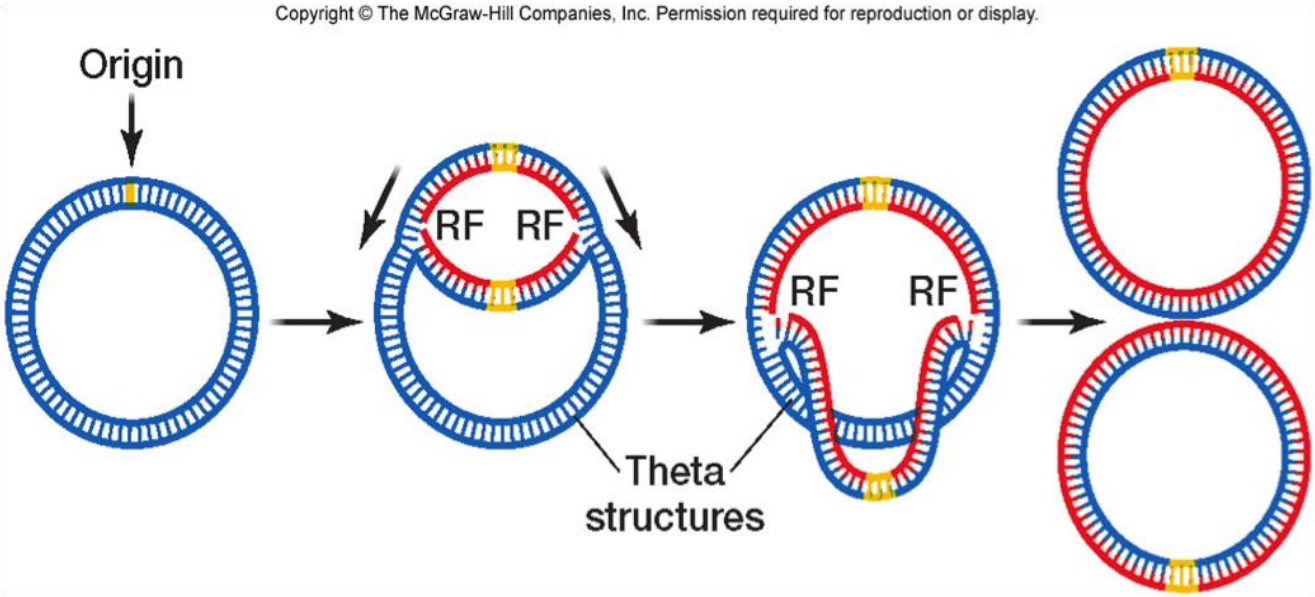
تحدث هذه العملية عند مناطق تسمى مناطق الإنهاء وتحدث عملية إنهاء التضاعف نتيجة لارتباط بروتينات الإنهاء بهذه المناطق. من الجدير بالذكر ان بدائية النواة فيها منطقة إنهاء واحده وبالتالي منطقة متبلمر واحده Replicon (وهي المنطقة المحصورة بين منطقة البدء والإنهاء) في حين هنالك عدة مناطق إنهاء وعدة متبلمرات في حقيقية النواة؟؟

بالتالي يتبادر للذهن الاتي اذا كانت عملية التضاعف في بدائية النواة وحقيقية النواه متشابه تقريبا فأين يكمن الاختلاف ؟ في البداية لابد من التعرف على كيفية تضاعف الدنا في بدائية النواة.

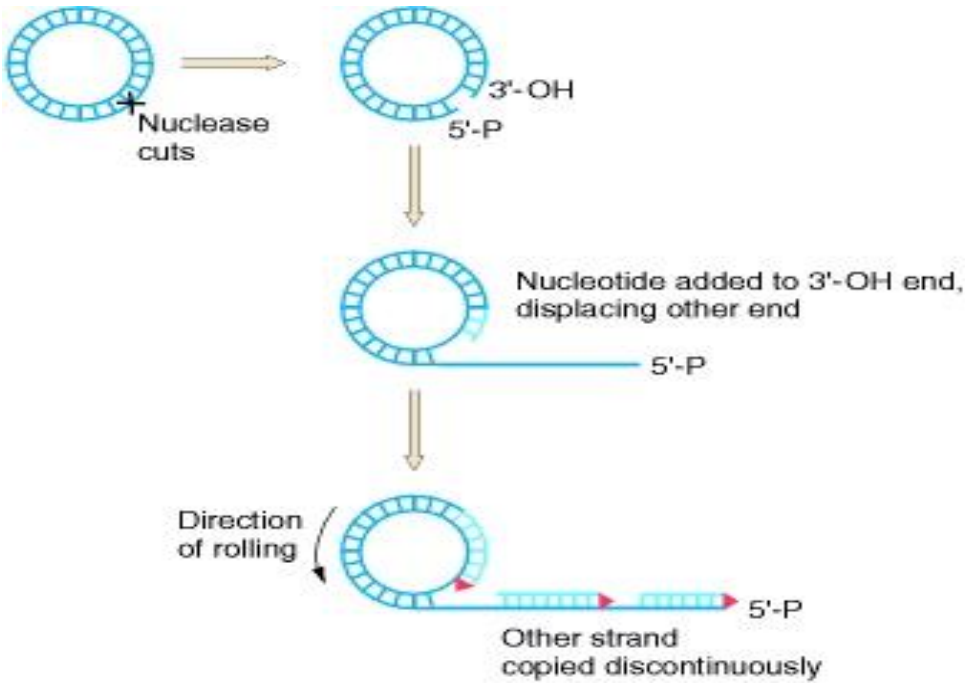
ثانيا: تضاعف الحمض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA replication في بدائية النواة:

كما أسلفنا سابقا هو مشابه لما في حقيقية النواة مع بعض الاختلافات. وهنالك نوعين من التضاعف في بدائية النواة وهي :

1- **التضاعف ثيتا Theta Shape replication:** وهذا يحدث في الكروموسوم الحلقي لبدائية النواة وكما موضح بالشكل ادناه :



2- تضاعف الحلقة المتدحرجة Rolling Circle Replication : يحدث هذا النوع من التضاعف في البلازميدات وكما موضح بالشكل ادناه:



ويمكن تلخيص الفروقات بين عملية تضاعف دنا DNA حقيقية النواة وبدائية النواة في الجدول الاتي:

ت	الصفة	حقيقية النواة	بدائية النواة
-1	عدد الـ OriC او OriT	متعدد ولايوجد OriT	واحد فقط
-2	اتجاه شوكة التضاعف	ثنائي Bidirectional	ثنائي Bidirectional في الكروموسوم أحادي Unidirectional في البلازميد
-3	عدد مناطق الإنهاء	متعددة	واحدة
-4	عدد الـ Replicon	متعددة	واحدة
-5	مكان حدوث التضاعف	النواة	المنطقة النووية
-6	الطور الذي يحدث فيه	S phase	بداية التضاعف
-7	انزيم الدنا DNA polymerase	Pol α Pol ε Pol δ	Pol I Pol II Pol III

عملية الاستنساخ وما بعد الاستنساخ ***Transcription and Post transcription Processes***

تعد عملية الـ Transcription من العمليات الأساسية ضمن ***الـcentral Dogma*** والتي تضمن نقل المعلومات الوراثية من الدنا الى الحامض النووي الرايبوزي المراسل mRNA لتترجم فيما بعد الى البروتين

عملية الاستنساخ (Transcription): تعرف على إنها عملية تصنيع الحامض النووي الرايبوزي المراسل mRNA باستخدام الدنا DNA كقالب بوجود انزيم بلمرة الرنا RNA polymerase.

تتضمن هذه العملية الخطوات التالية:

1- **البدء Initiation**
2- **الإطالة Elongation**
3- **الإنهاء Termination**

وفيما يلي شرح مفصل لمجمل الأحداث التي تجري في كل خطوة.

الاستنساخ في حقيقية Eukaryote وبدائية النواة Prokaryote :

وتتضمن الأحداث التالية:

1- ارتباط انزيم .RNA pol (هنالك ثلاثة انواع) بتسلسل مميز يقع ضمن منطقة المحفز Promoter وتسمى هذه المنطقة بـ **TATA box** وتكون ذات تسلسل من 6 نيوكليوتيده 5'-TATAAA-3' . في بدائية النواة تسمى المنطقة التي يرتبط بها .RNA pol بـ **Pribnow box** ذات تسلسل مكون من 6 نيوكليوتيده 5'-TATAAT-3'

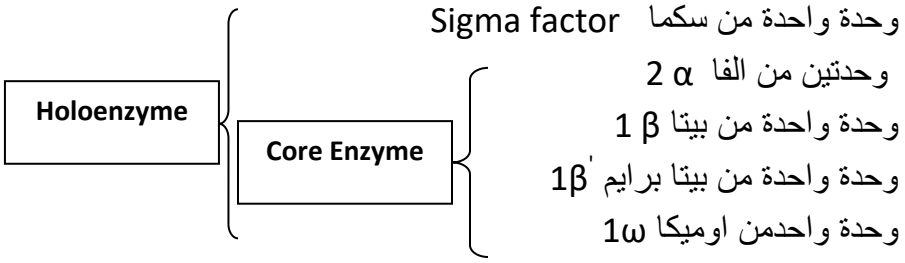
هنالك ثلاثة انواع من انزيم البلمرة في حقيقية النواة وهي:

RNA Polymerase I ويستخدم لتصنيع الرنا الرايبوسومي rRNA

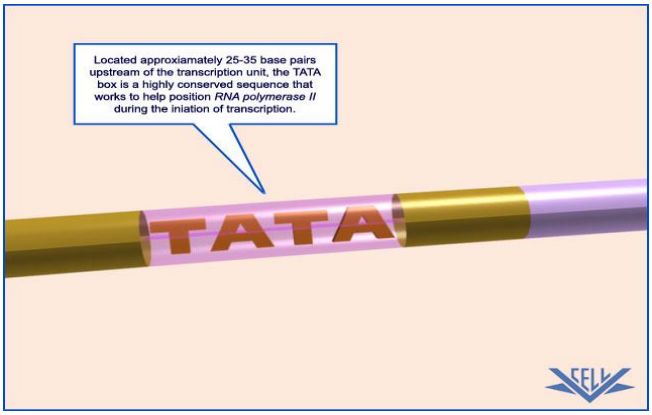
RNA Polymerase II ويستخدم لتصنيع الرنا المراسل mRNA

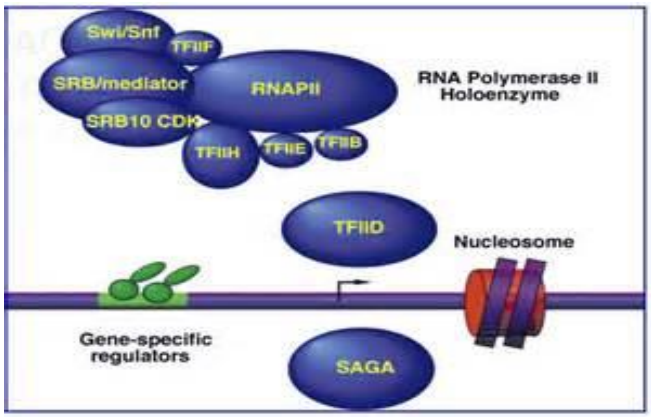
RNA Polymerase III ويستخدم لتصنيع الرنا الناقل tRNA

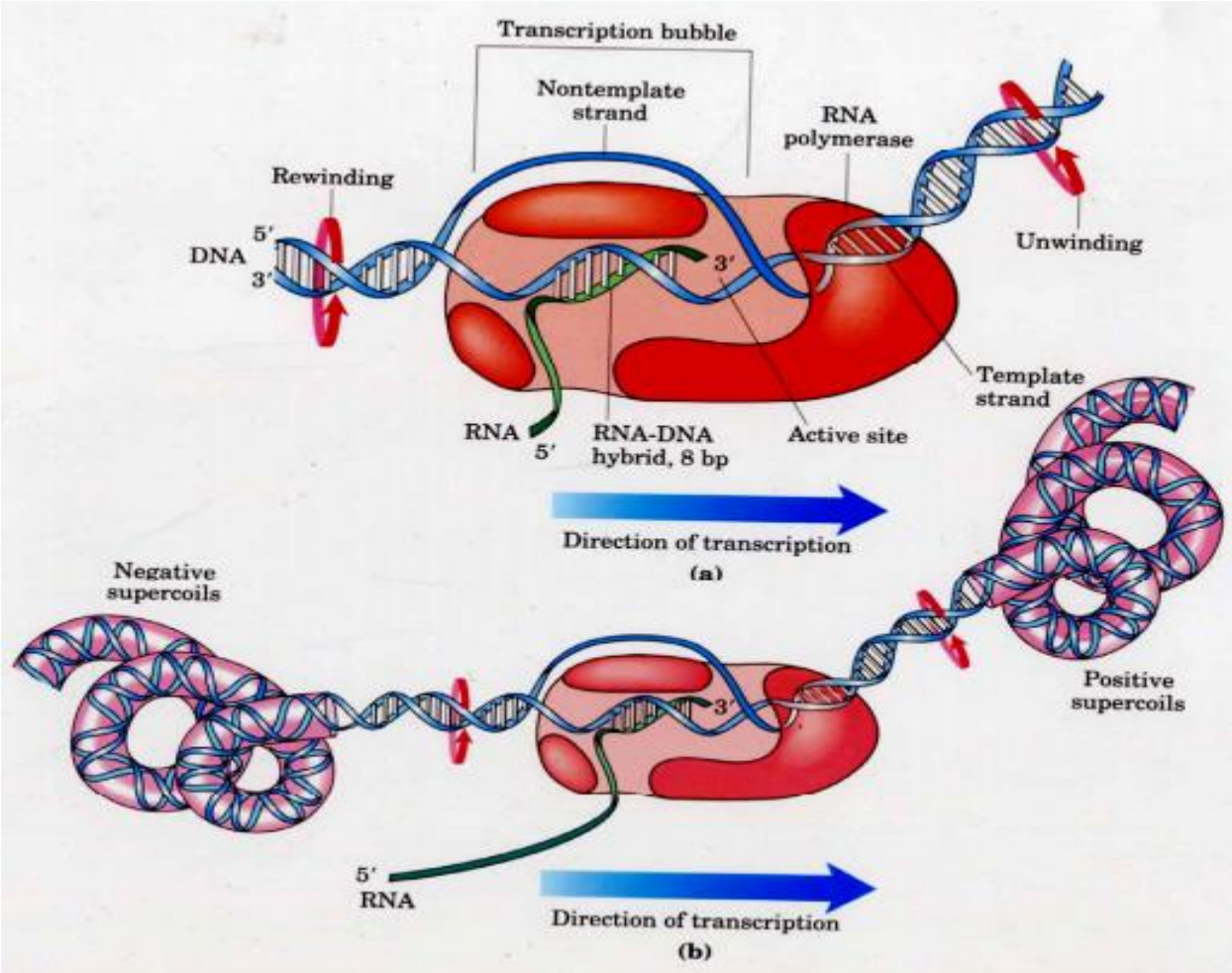
اما في بدائية النواة فهنالك نوع واحد مكون من عدة وحدات وهي:



ان وظيفة عامل سكما هو فقط لبدء عملية الاستنساخ ثم بعد ذلك ترتبط بقية الوحدات لتشكل انزيم البلمرة المتكامل Holoenzyme وتبدأ عملية الاستنساخ ثم ينفصل عامل سكما ويبقى ما يسمى ب Core enzyme

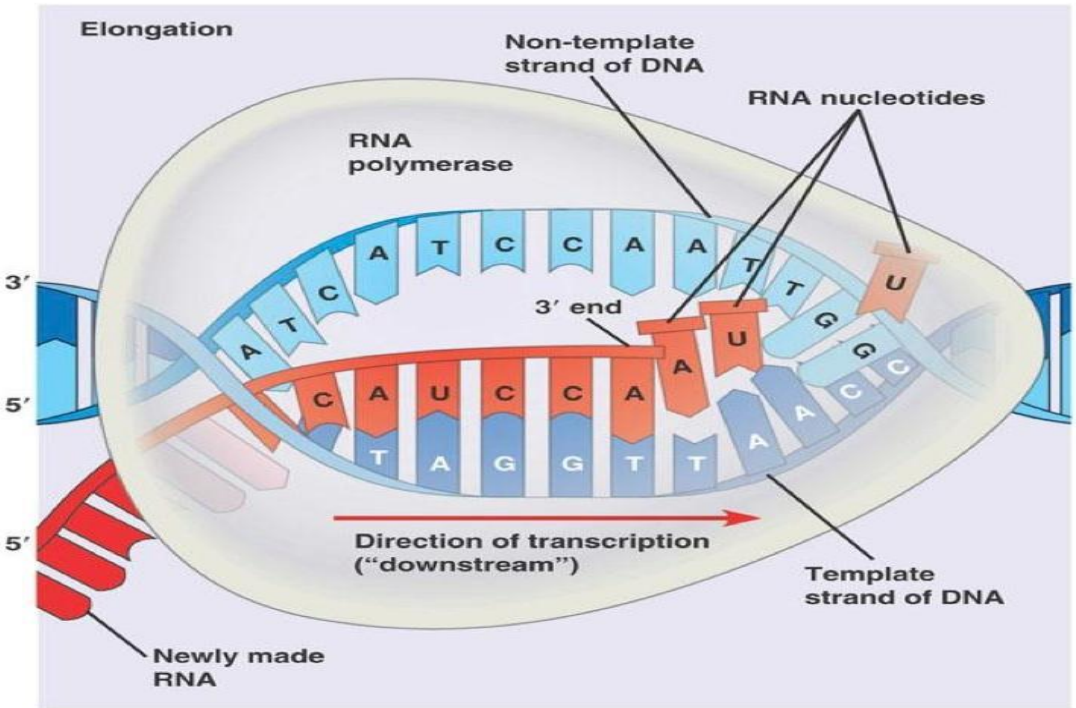




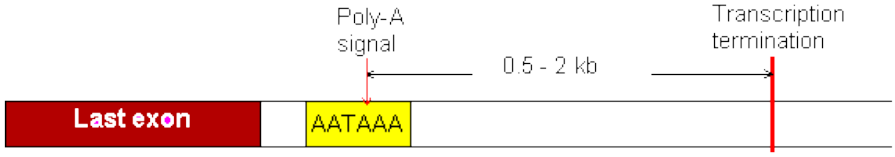


يستخدم شريط الدنا ذو الاتجاه '5 ← '3لإنتاج شريط mRNA ذو الاتجاه '3→'5

2- الإطالة Elongation : وتتم بإضافة نيوكليوتيدات رايبوزية الى السلسلة المتنامية

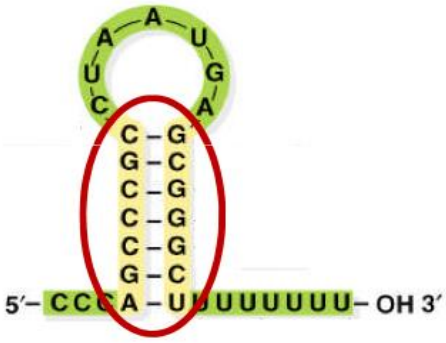


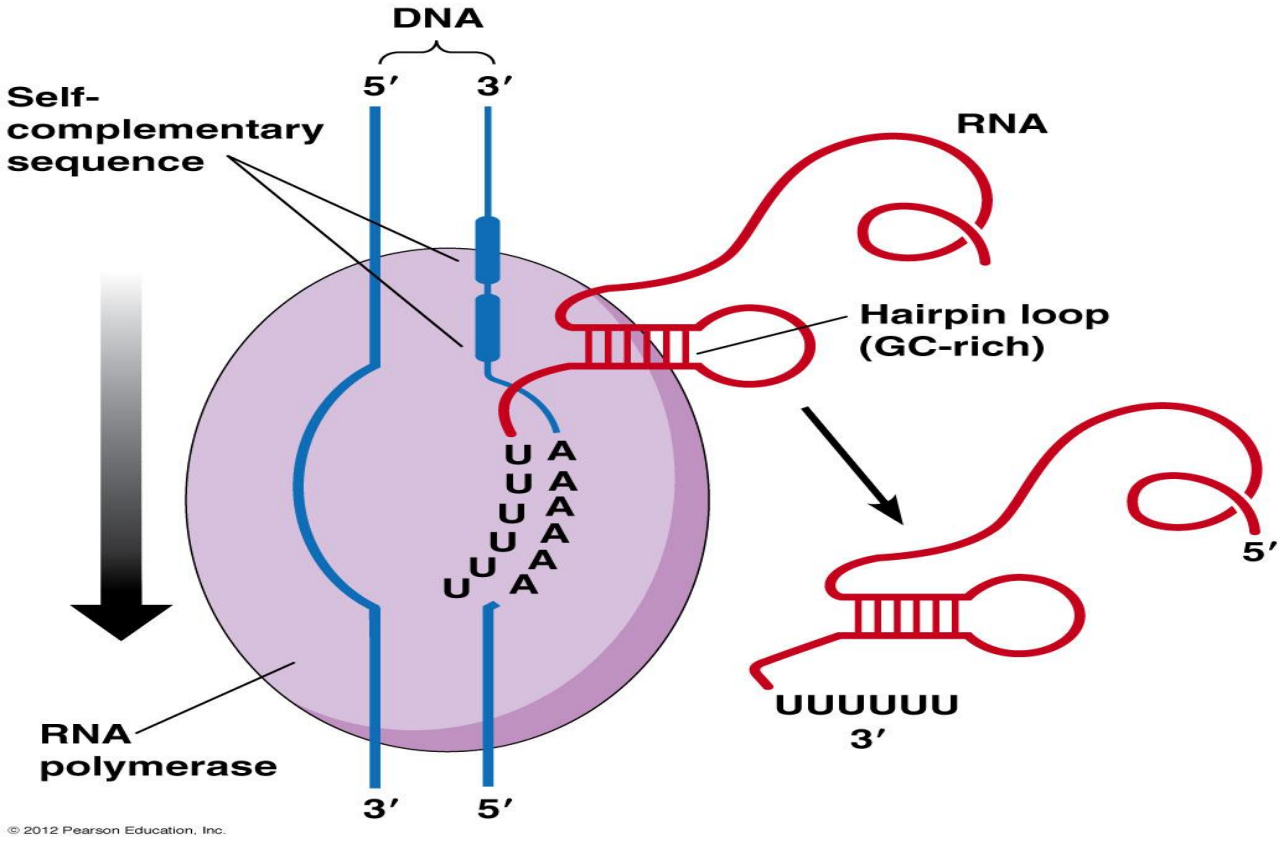
3- الإنهاء Termination : في حقيقية النواة يكون اما معتمد على بعض عوامل الانهاء التي تميز النهاية ذات المتعدد poly-A او غير معتمد ويتم بتكوين hairpin .



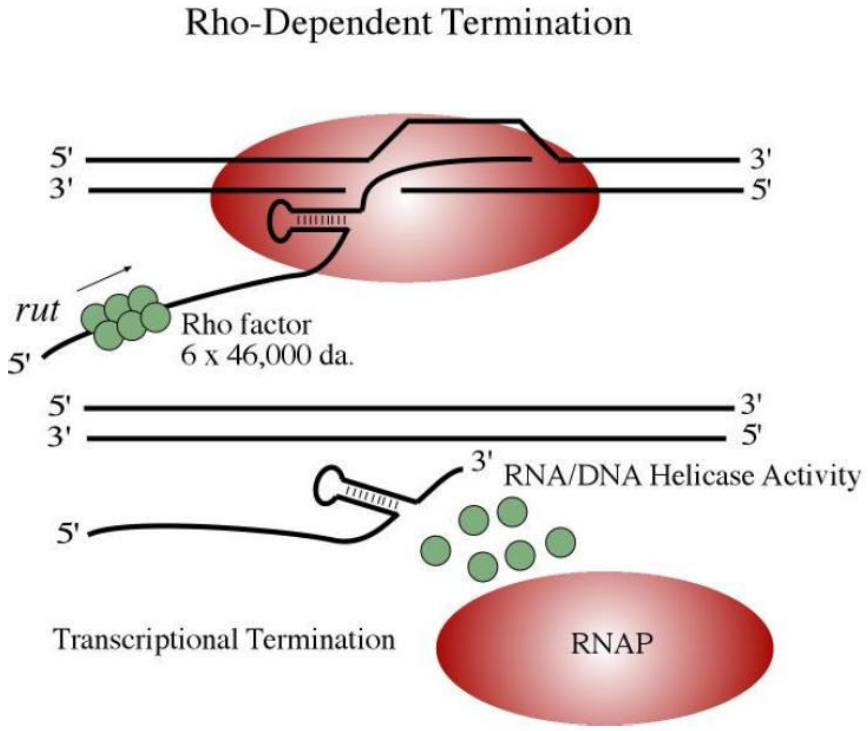
4- هنالك نوعين من عملية الانهاء في بدائية النواة وهي:

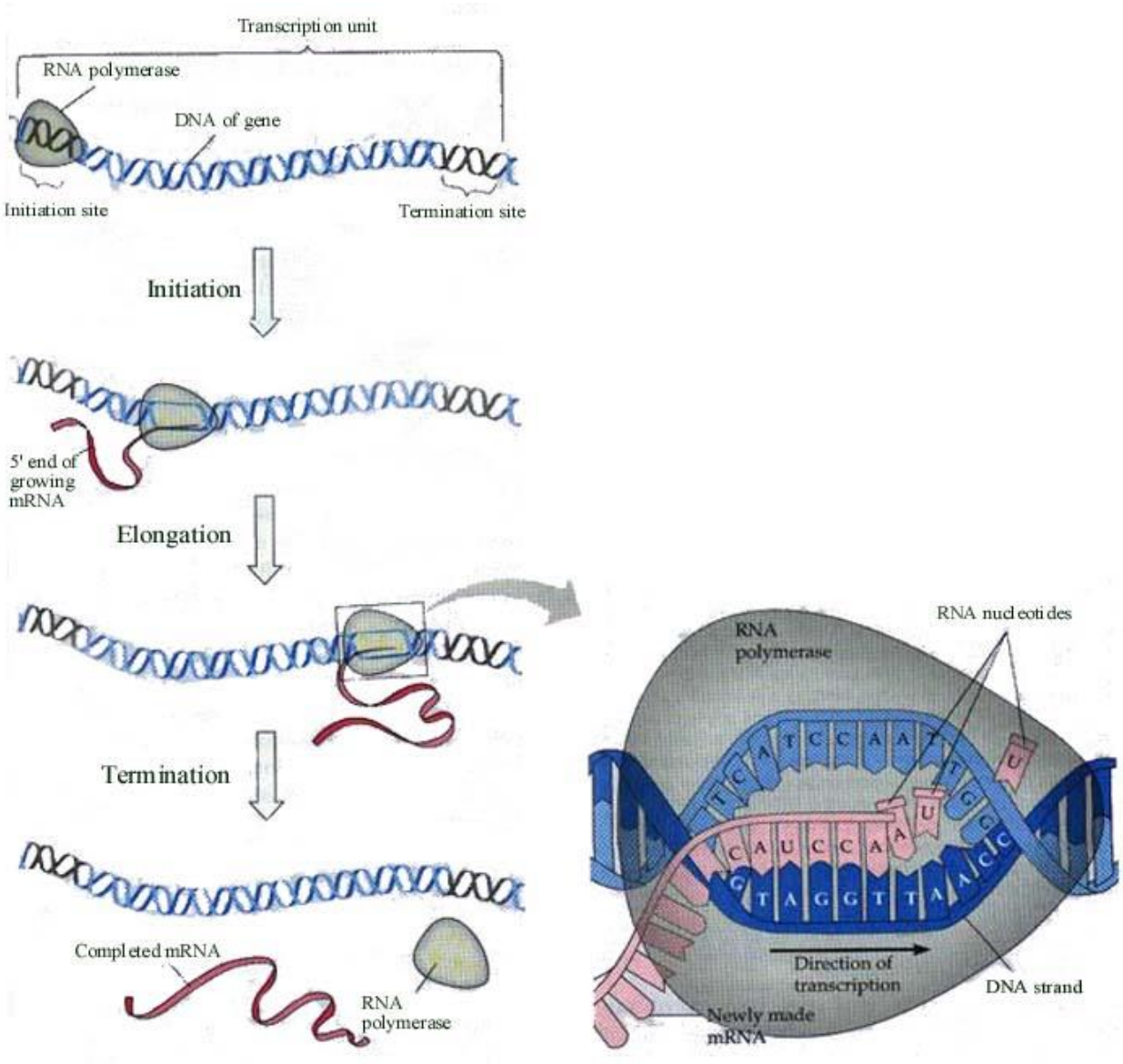
1-**Rho independent** : وتتم بتكوين G-C hairpin التي تعمل على انفصال شريط الرنا الجديد عن شريط الدنا القالب.





2- **Rho dependent:**وتتم بمساعدة بروتين الإنهاء المسمى Rho





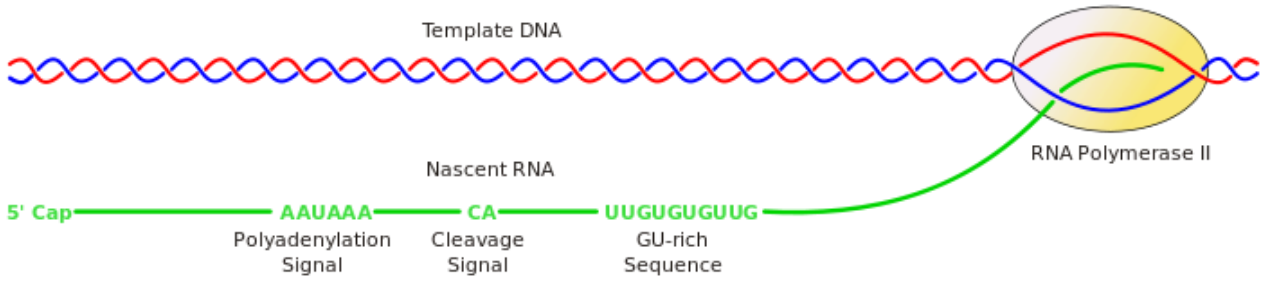
عمليات ما بعد الاستنساخ Post transcription processing :

ان الـmRNA يكون غير ناضج ويسمى(precursor mRNA (pre-mRNA حيث يكون غير فعال ولا يتم ترجمته الى بروتين. يعاني pre mRNA عدد من التحويرات ليصل الى الشكل النهائي الفعالmature mRNA. وتشمل هذه العمليات التالية:

1- 5' capping
2- 3' polyadenylation
3- splicing

تتضمن عملية الـ 5' capping إضافة 7-methylguanosine الى بداية الـ mRNA عند الطرف 5'.

تتضمن عملية الـ 3' polyadenylation إضافة 250 نيوكليوتيده من الأدنين عند الطرف 3' لتكون ما يسمى بالذيل متعدد الأدنين Poly A tail .

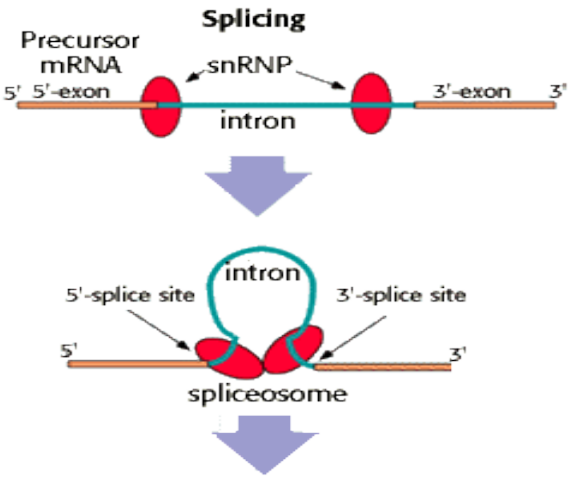


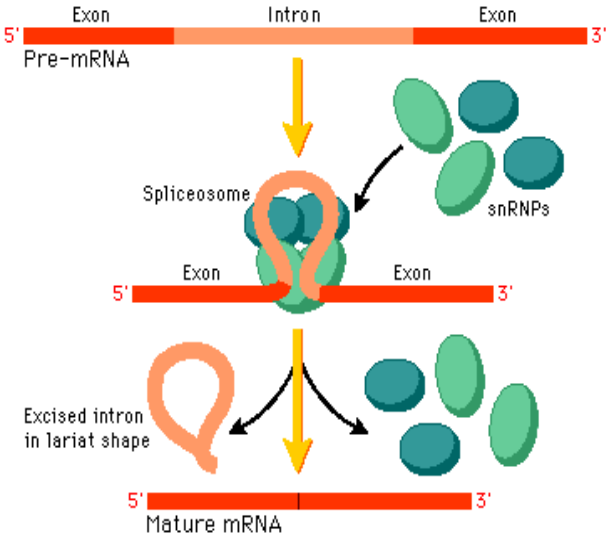
اما عملية الـ Splicing فتتضمن إزالة الانترونات introns و اعادة ربط الاكسونات Exons وتتم هذه العملية بواسطة ما يسمى بـ Spliceosomes التي تتكون من بروتينات بالإضافة الى snRNA الذي يميز المنطقة التي يحدث عندها فصل الانترون.

يجدر الإشارة الى ما يلي:

1- كل هذه العمليات تحدث فقط في حقيقية النواة Eukaryote ولا تحدث في بدائية النواة Prokaryote .

2- كل هذه العمليات تحدث في النواة.





الشفرة الوراثية وعملية صنع البروتين ***Genetic Code and Translation***

كمقدمة لفهم عملية صنع البروتين Protein synthesis او ماتسمى بالـTranslation يجب التطرق الى ماهية الشفرة الوراثية Genetic code والتي تعرف على أنها تسلسل لثلاث نيوكليوتيدات تشفر الى حامض اميني واحد معين ويعد حدوث الطفرات في الشفرة الوراثية هو السبب الأهم في حدوث بعض الأمراض الوراثية.

تمتاز الشفرة الوراثية بمايلي:

1- **التخصص Specificity** : وتعني ان الشفرة الوراثية التي تشفر لحامض اميني معين لايمكن ان تشفر لحامض أخر فعلى سبيل المثال الشفرة الوراثية UUU تشفر للحامض الاميني فنيل الأنين لكنها لايمكن ان شفر لأي حامض أخر .

2- **العمومية Universality** : وتعني ان الشفرة الوراثية تكون متشابه عند كل الأحياء حقيقية وبدائية النواة مع بعض الاستثناءات أي ان الشفرة الوراثية UUU تشفر للحامض الاميني فنيل الأنين في الإنسان والحيوان والبكتريا والنبات.

أمثلة على الاستثناءات:

في الحالة الطبيعية الشفرة AUA تشفر للحامض الاميني ايزوليوسين *لكن* وجد أنها في المايتوكوندريا تشفر للحامض الاميني المثيونين.

في الحالة الطبيعية الشفرة UGA لا تشفر لأي حامض الاميني (Stop codon) *لكن* وجد أنها في المايتوكوندريا تشفر للحامض الاميني التربتوفان.

في الحالة الطبيعية الشفرة AGA & AGG تشفر للحامض الاميني الارجنين *لكن* وجد أنها في المايتوكوندريا لا تشفر لأي حامض الاميني (Stop codon) .

3- **الوفرة او الترهل Redundancy :** وتعني ان الحامض الاميني ممكن ان تشفر له اكثر من شفرة وراثية واحدة وكما موضح في الشكل ادناه :

	U	C	A	G
U	UUU, UUC — Phe UUA, UUG — Leu	UCU, UCC, UCA, UCG — Ser	UAU, UAC — Tyr UAA, UAG — Stop	UGU, UGC — Cys UGA — Stop UGG — Trp
C	CUU, CUC, CUA, CUG — Leu	CCU, CCC, CCA, CCG — Pro	CAU, CAC — His CAA, CAG — Gln	CGU, CGC, CGA, CGG — Arg
A	AUU, AUC, AUA — Ile AUG — Met	ACU, ACC, ACA, ACG — Thr	AAU, AAC — Asn AAA, AAG — Lys	AGU, AGC — Ser AGA, AGG — Arg
G	GUU, GUC, GUA, GUG — Val	GCU, GCC, GCA, GCG — Ala	GAU, GAC — Asp GAA, GAG — Glu	GGU, GGC, GGA, GGG — Gly

4- **صفة او ظاهرة التذبذب wobble phenomenon** وهي الصفة التي تتصف بها القاعدة الثالثة في الشفرة (third base of codon) المحمولة على mRNA والتي تقابل القاعدة الأولى في ضد الشفرة (first base of anticodon) المحمولة على tRNA وتسمى هذه القاعدة بـ wobble base حيث تتصف بعدم التخصص حيث وجد انه من الممكن ان يحدث ارتباط غير طبيعي non traditional base pairing في القاعدة الثالثة من الشفرة والأولى من ضد الشفرة وكما مبين في الجدول ادناه:

Base pairing	m RNA (Third base)	t RNA (first base)
Traditional	G	C
Traditional	U	A
Traditional	A	U
Nontraditional	G	U
Traditional	C	G
Nontraditional	U	G
Nontraditional	U	I
Nontraditional	C	I
Nontraditional	A	I

تركيب الرايبوسوم في حقيقية وبدائية النواة:

بصوره عامه تتكون الرايبوسوم من وحدتين هم الصغيرة Small subunit و الكبيرة Large subunit وهذه الوحدات تتكون من بروتينات احماض نووية رايبوسومية rRNA وتختلف في حقيقة النواة عما في بدائية النواة وكما موضح بالشكل ادناه:

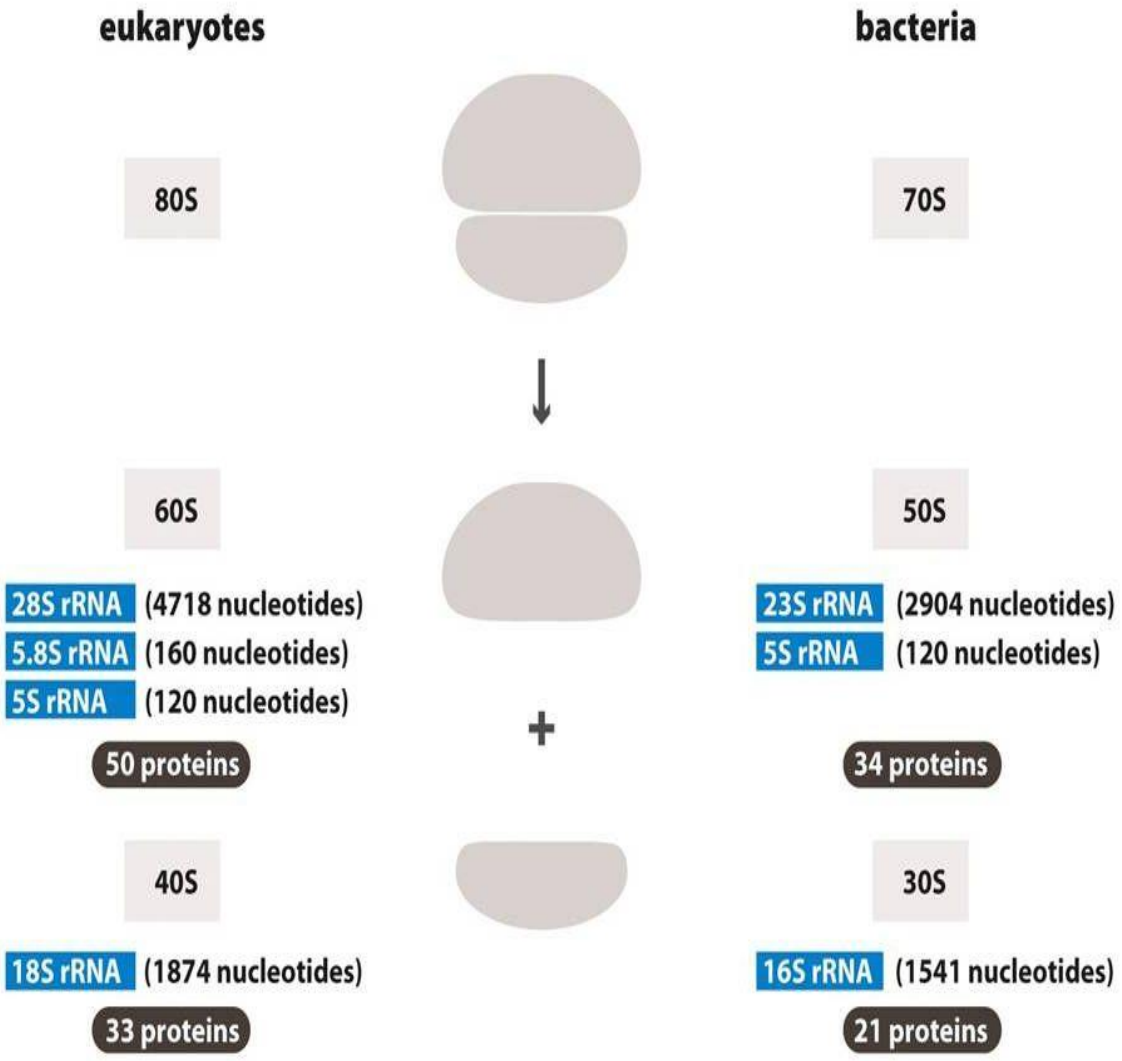


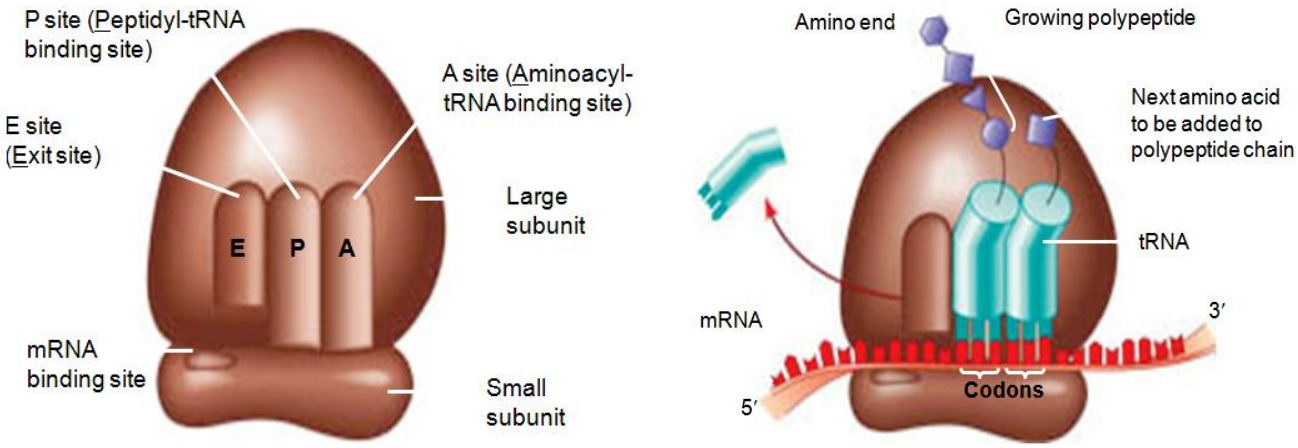
Figure 6.4 Introduction to Genetics (© Garland Science 2012)

تحتوي الرايبوسومة المتكاملة على ثلاث جيوب او مواقع تسمى بـ:

(E site) Exit site موقع الخروج الذي عن طريقه يخرج الـtRNA الفارغ.

(P site) Peptidyl-tRNA Binding site الموقع الذي يتموضع به tRNA المحمل بالحامض الاميني المرتبط بسلسلة الاحماض الامينية التي سبقته. وكما مبين ادناه

(A site) Aminoacyl-tRNA Binding site الموقع الذي يتموضع به tRNA المحمل بالحامض الاميني الجديد المنفرد. وكما مبين ادناه



الترجمة Translation

وهي عملية ترجمة المعلومات الوراثية المخزونة في mRNA الى سلسلة من الاحماض الامينية ومن ثم تكوين جزيئة بروتين فعال .

ان عمليتي الاستنساخ والترجمة هي عمليتان مرتبطتان مع بعضهما البعض بقوة حيث تعمل الرايبوسومات بسرعة على ترجمة mRNA الى بروتين وذلك بسبب تعرض شريط mRNA الى انزيمات القطع الموجودة في السايتوبلازم ، **ويكون معدل حياة mRNA في E coli بحدود 3 دقائق فقط اما في حقيقية النواة فيعتمد معدل حياة mRNA على خاصية التمايز للخلايا والنسيج فقد يكون معدل حياته قصير يتراوح من عدة ساعات او ايام او قد يصل الى عدة سنوات كما يحدث في حالات السبات لبعض البذور والنباتات** .

يشترك كل من الـ tRNA و mRNA والرايبوسومات في عملية الترجمة حيث ان للـ tRNA القدرة على التعرف والارتباط بالأحماض الامينية لتكون المعقد الناقل للأحماض الامينية ،وهناك حوالي 61 ناقل للأحماض الامينية (61 نوع من tRNA) اذ يوجد ناقل واحد لكل حامض اميني .ويحتوي شريط mRNA على شفرات ثلاثية(مكونة من 3 قواعد نيتروجينية

) تسمى Code ترتبط مع anti –Code الموجود على tRNA والحامل للحامض الاميني . وهنالك 64 شفرة وراثية تشفر للأحماض الامينية ، و61 شفرة منها لل20 حامض اميني amino acids والشفرات الثلاثة الباقية تسمى بالشفرات عديمة المعنى, وتكتب الشفرة دائما باتجاه 5 3 .

تبدأ عملية الترجمة عن طريق ارتباط الوحدة الصغيرة small subunit للرايبوسوم مع شريط mRNA لتكوين معقد الابتداء بوجود عوامل مساعدة وتكوين شفرة البدء Initiation Code على شريط mRNA والتي هي AUG ترتبط بعدها الوحدة الكبيرة للرايبوسوم مع معقد الابتداء لتكوين الرايبوسوم الفعال ، وتمتلك الوحدة الكبيرة للرايبوسوم 3 Large subunit مواضع هي (A site amino acyl site) و peptidyl site (P) site) و Empty site (E site) وبذلك يصبح mRNA محصورا في الاخدود الناتج من ارتباط وحدتي الرايبوسوم وفي هذه الحالة تصطف وتتقابل شفرة البدء للـ mRNA مع الشفرة المضادة لها على tRNA في موقع (P site) للرايبوسوم وهنا تثبت الشفرة التالية على المواقع (A site) حاملة الحامض الاميني الثاني في السلسلة الببتيدية . بعدما تحدث عملية إزاحة للحامض الاميني الموجود على الموقع P ويرتبط بالحامض الاميني الاخر الموجود بالمواقع A وهنا تتكون سلسلة بروتينية ثنائية الحامض . وفي هذه الخطوة تحدث الاستطالة للسلسلة البروتينية اذ يتكون او يحدث ما يعرف بالانتقال Translocation إذ تحدث هنا عمليتين في نفس الوقت:-

الاولى هي تحرك tRNA الحامل للسلسلة البروتينية الثنائية من موضع A الى الموضع P مزيحا الـ tRNA الاول الى الموضع E . الحدث الثاني هو تحرك الرايبوسوم بكامله على طول mRNA بمقدار 3 قواعد نيتروجينية (شفرة واحدة).

ويدخل حامض اميني اخر محمول على tRNA جديد الى موضع A ، وبذلك تعيد الخطوات نفسها ويتحرك الرايبوسوم بالاتجاه 5←3 على طول شريط mRNA . يندمج حوالي 8 - 15 حامض اميني في السلسلة البروتينية الناتجة في كل ثانية وtRNA تجد شفراتها على شريط mRNA عن طريق التجربة والخطأ.

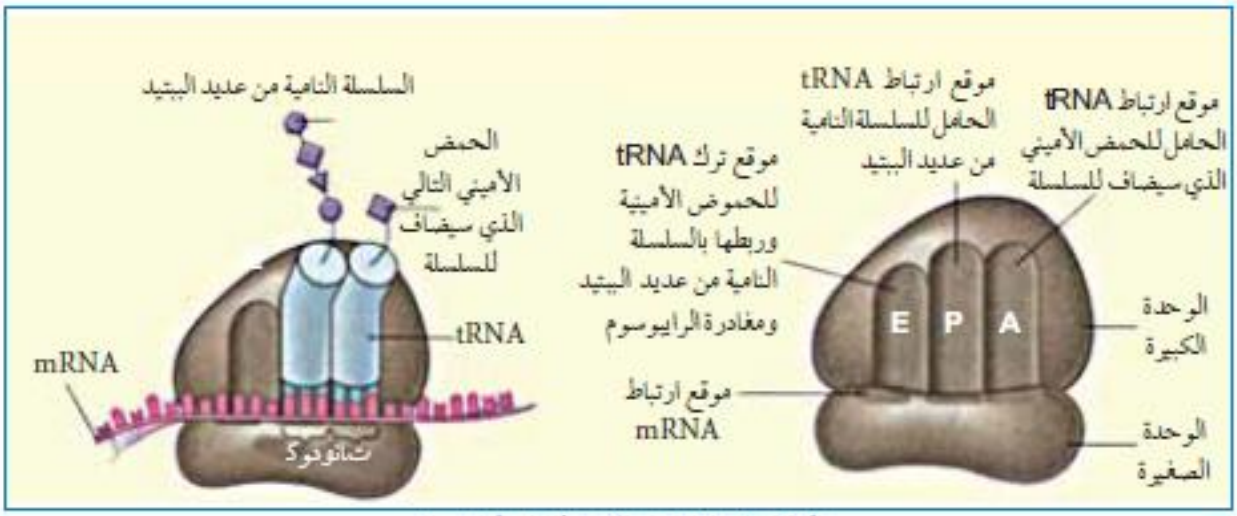
بعد قيام الرايبوسوم بترجمة 25 شفرة mRNA يصبح الطرف 5 للـ mRNA حراً فيدخل رايبوسوم اخر في تكوين معقد ابتداء ثاني ويؤدي الى انتاج سلسلة بروتينية ثانية ويسمى التركيب الناتج بـ polysome والذي هو عبارة عن شريط mRNA واحد يُترجم في ان واحد بواسطة عدة رايبوسومات الى عدة سلاسل ببتيدية. ويزداد عدد الرايبوسومات على طول شريط mRNA كلما طالت جزيئة الشريط . ان وجود الـ polysome يزيد من كفاءة الخلية في تخليق البروتين من عدد اقل من جزيئات mRNA .

تنتهي عملية تصنيع البروتين عندما يصادف الرايبوسوم إشارة الانتهاء ويتم تحديد إشارة الانتهاء من قبل واحد او اكثر من شفرات الانتهاء وهي من الشفرات عديمة المعنى بحيث لا يستطيع اي tRNA من التعرف عليها وبالتالي وجود هذه الشفرة على الموقع A يمنع إضافة اي

حامض اميني الى السلسلة ويحدث تداخل بين شفرة الانتهاء وعوامل الاطلاق Release Factors لتكوين معقد الإطلاق والذي يعمل على إيقاف السلسلة البروتينية . تبقى السلسلة الببتيدية الكاملة مرتبطة مع الناقل tRNA في الموقع P ، بعدها ينكسر هذا الارتباط عن طريق التحلل المائي وتنطلق جزئية الناقل من الرايبوسوم ثم يدخل الرايبوسوم الى وحداته الثانوية الكبيرة والصغيرة وتكون حره لتكوين معقد اخر في شريط mRNA جديد.

يحتوي الرايبوسوم اربعة مواقع للارتباط:

- موقع لارتباط mRNA، عبارة عن منطقة الانغماد بين الوحدتين البنائيتين.
- ثلاثة مواقع لارتباط tRNA، تشكل ثلاثة انغمادات على الوحدة البنائية الكبيرة للرايبوسوم موقعاً لارتباطها، وهذه المواقع هي: (Aminoacyl - tRNA site : A) و (Peptide site : P) و (Exit site: E). انظر الشكلين (١٠أ و ١١).



الشكل (١١): مواقع الارتباط على الرايبوسوم

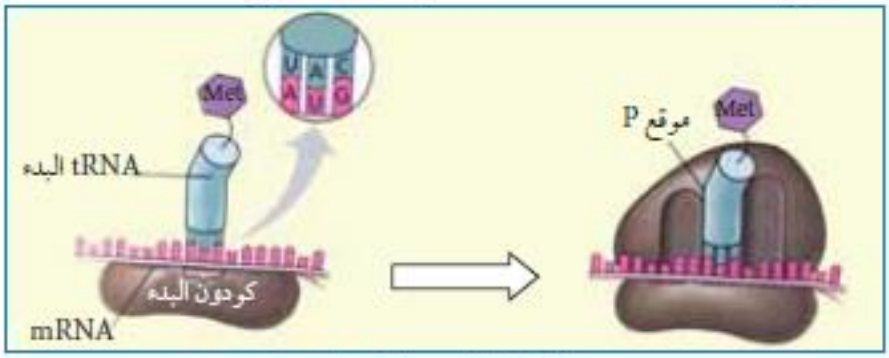
مراحل عملية الترجمة:

١ مرحلة بدء السلسلة (Initiation):

يتم تجميع كل من mRNA و tRNA الحامل للحمض الأميني الأول في السلسلة (مثيونين) والوحدتين البنائيتين للرايبوسوم معاً وفق الخطوات الآتية، انظر الشكل (١٢).

أ يرتبط mRNA بالوحدة البنائية الصغيرة على الرايبوسوم، بحيث يكون كودون البدء AUG في موقع P، ويتم توجيه ذلك بوساطة إشارة خاصة من نيوكليوتيدات موجودة في مقدمة جزيء mRNA، ثم يرتبط tRNA الحامل للميثيونين على كودون البدء.

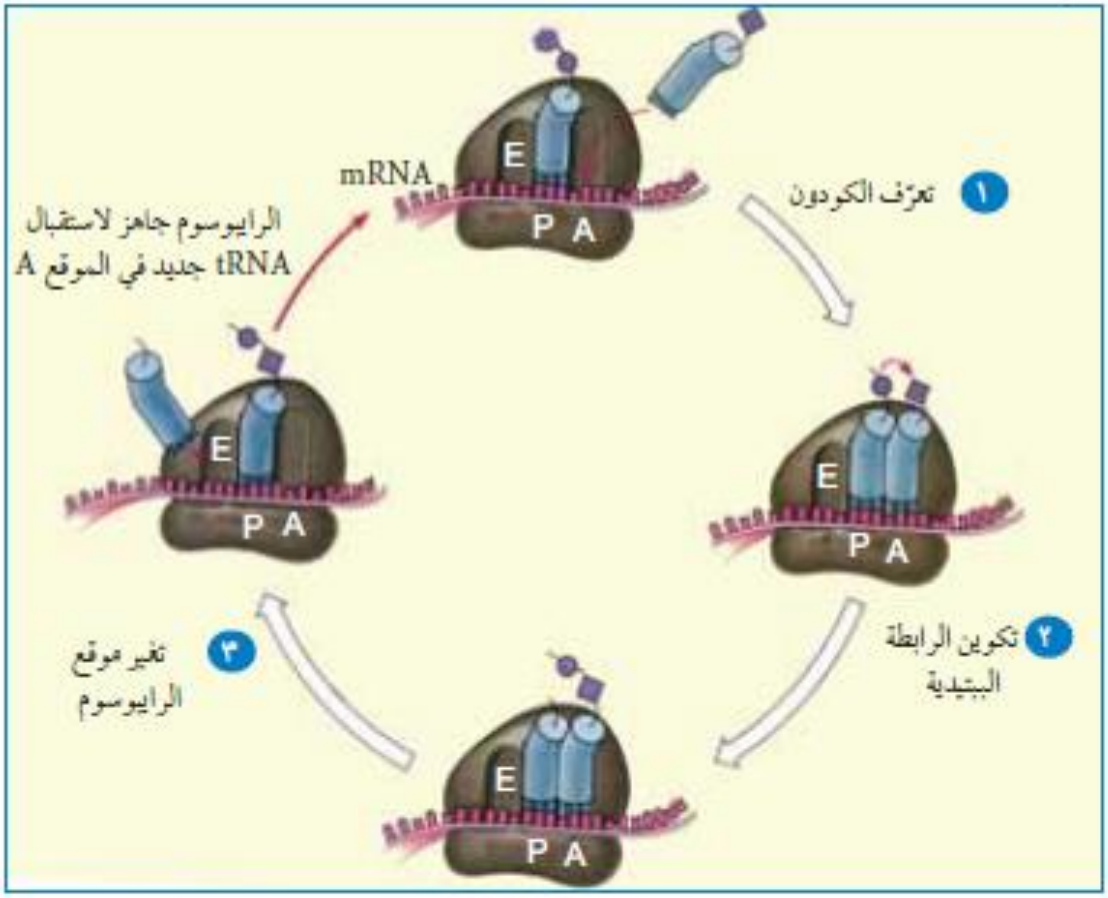
ب ترتبط الوحدة البنائية الكبيرة بالوحدة البنائية الصغيرة. ومع نهاية العملية يكون tRNA في موقع P والموقع A فارغاً ومستعداً لاستقبال جزيء tRNA التالي.



الشكل (١٢): مرحلة بدء الترجمة

٢ مرحلة الاستطالة (Elongation):

يتم إضافة الحموض الأمينية في هذه المرحلة واحداً تلو الآخر، وتتم هذه المرحلة في ثلاث خطوات. انظر الشكل (١٣):



الشكل (١٣): مرحلة الاستطالة

أ **تعرّف الكودون (Codon recognition):** يرتبط الكودون المضاد في الجزيء القادم من tRNA والحامل للحمض الأميني بروابط هيدروجينية مع الكودون المتمم على mRNA في موقع A.

ب **تكوين الرابطة الببتيدية (Peptide bond formation):** يعمل rRNA في الوحدة البنائية الكبيرة كإنزيم (ribozyme)، ويكوّن رابطة ببتيدية بين الحمض الأميني في موقع P والحمض الأميني الجديد في موقع A، عندها ينفصل tRNA في موقع P عن الحمض الأميني الحامل له.

جـ **تغيّر موقع الرايبوسوم (Translocation):** يتحرك الرايبوسوم بمقدار كودون واحد فينقل tRNA من موقع A إلى موقع P، ونتيجة لذلك يتغير موقع tRNA الحامل لثنائي الببتيد من موقع A إلى موقع P، ويصبح موقع A فارغاً ومستعداً لاستقبال جزيء جديد من tRNA. وبحركة tRNA، حيث يرتبط الكودون المضاد فيه برابطة هيدروجينية مع كودون mRNA؛ فإن شريط mRNA يتحرك معه. وخلال ذلك فإن جزيء tRNA الذي كان في موقع P يتحرك إلى موقع E ويغادر الرايبوسوم من هناك. وتستغرق دورة الاستطالة هذه أقل من ١٠ ثوان، وتتكرر كلما أضيف حمض أميني

٣ مرحلة الإنهاء (Termination):

تستمر عملية الترجمة حتى يصل أحد كودونات الإيقاف (UAA أو UAG أو UGA) في mRNA إلى موقع A في الرايبوسوم.

فيرتبط عامل بروتيني خاص (release factor) مع كودون الإيقاف في موقع A بدلاً من tRNA. انظر الشكل (١٤). وتنفصل سلسلة عديد الببتيد عن tRNA في موقع P، ثم تنفصل باقي الأجزاء بعضها عن بعض (الوحدتان البنائيتان للرايبوسوم، وmRNA، والعامل البروتيني).

هل تعلم؟

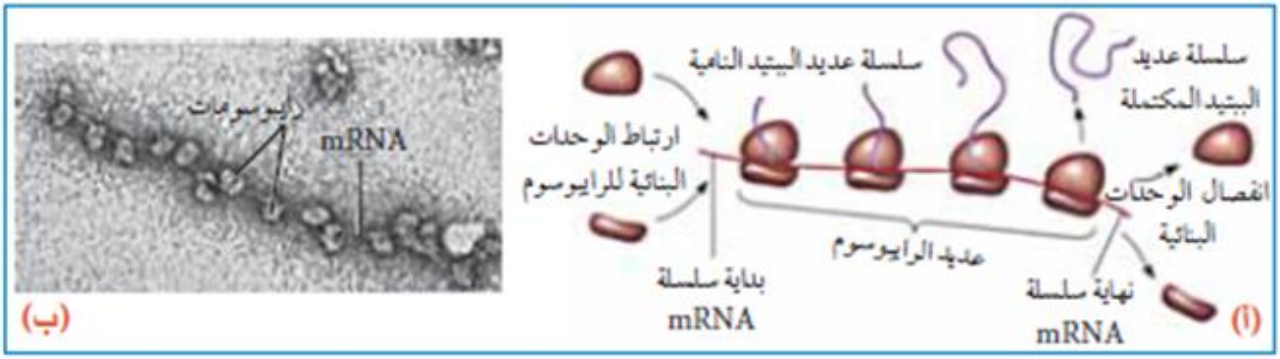
- أن البكتيريا تستطيع بناء بروتين يتكون من ٣٦٠ حمضاً أمينياً في حوالي ١٨ ثانية، أما في الخلية حقيقة النوى فتستغرق العملية دقيقة واحدة.
- أن سلسلة عديد الببتيد النامية تمر من خلال قناة خاصة في الوحدة البنائية الكبيرة، للرايبوسوم، ثم تخرج منها عبر فتحة أسفل هذه الوحدة. وأنّ A و P و E تقع في معظمها في الوحدة البنائية الكبيرة لكنها تستكمل بشكل متمم في الوحدة البنائية الصغيرة.

الشكل (١٤): مرحلة إنهاء الترجمة

وقد يستخدم mRNA لعمل عدة نسخ من عديد الببتيد في آن واحد، وهذا خاص بالخلايا الإفرازية، مثل خلايا الغدد، فيعمل عدد من الرايبوسومات معاً في ترجمة الرسالة في نفس الوقت، فيما يعرف بعديد الرايبوسوم (polyribosomes)، فبمجرد أن يمر الرايبوسوم عن كودون البدء يتصل بكودون البدء رايبوسوم ثانٍ، وبذلك يتجمع عدد من الرايبوسومات على نفس السلسلة من mRNA. انظر الشكل (١٥).

هل تعلم؟

- أن العديد من المضادات الحيوية التي تقتل البكتيريا، تعتمد آلية عملها على التدخل في عملية بناء البروتين على الرايبوسوم، فمثلاً يثبط الستربتوماسين (streptomycin) عمل الرايبوسوم مسبباً قراءة غير صحيحة لرسالة mRNA. أما التراسيلكين (Tetracydin)، فيمنع ارتباط جزيئات tRNA إلى شريط mRNA. ويسبب البيروماسين (Puromycin) إنهاء عملية الترجمة قبل الوصول إلى كودون الإيقاف، وذلك بمحاكاته شكل tRNA، وهذه المضادات الحيوية تؤثر على بناء البروتين في البكتيريا، ولكن ليس في الخلايا حقيقية النوى.



الشكل (١٥): أ- رسم تخطيطي لعديد الرايبوسوم . ب- صورة مجهرية لعديد الرايبوسوم .

من سلسلة عديد ببتيد إلى بروتين وظيفي فعّال

بعد الانتهاء من عملية الترجمة وتشكيل سلسلة عديد البيتيد، فإن السلسلة تخضع للخطوات الآتية لتكوين بروتين وظيفي فعّال:

١ **الالتفاف:** تلتف سلسلة عديد البيتيد على نفسها مكونة بروتيناً فعّالاً ذا شكل خاص طبيعي واللازم للقيام بوظيفته في الخلية.

هل تعلم؟

ان هناك بروتيناً خاصاً في الخلية يساعد عديد البيتيد على الالتفاف، وهو بروتين مكون من جزأين، احدهما يشكل اسطوانة مجوفة، والآخر يشكل غطاء يمكن ان يثبت على أي طرف من طرفي البروتين، حيث يتم دخول سلسلة عديد البيتيد إلى الأسطوانة المجوفة، ويُغلق الغطاء مسببة تغيير شكل الأسطوانة في بيئة مائية مؤدية إلى انثناء عديد البيتيد، ثم يفتح الغطاء ويخرج البروتين بشكله المطلوب.

٢ **الإضافة:** قد يتم تعديل بعض البروتينات (سلسلة عديد البيتيد الملتفة) كيميائياً، مثل إضافة سكر، أو دهون، كما يحدث في البروتينات السكرية الداخلة في تركيب الغشاء البلازمي.

٣ **المعالجة:** تتم المعالجة بعدة طرق:

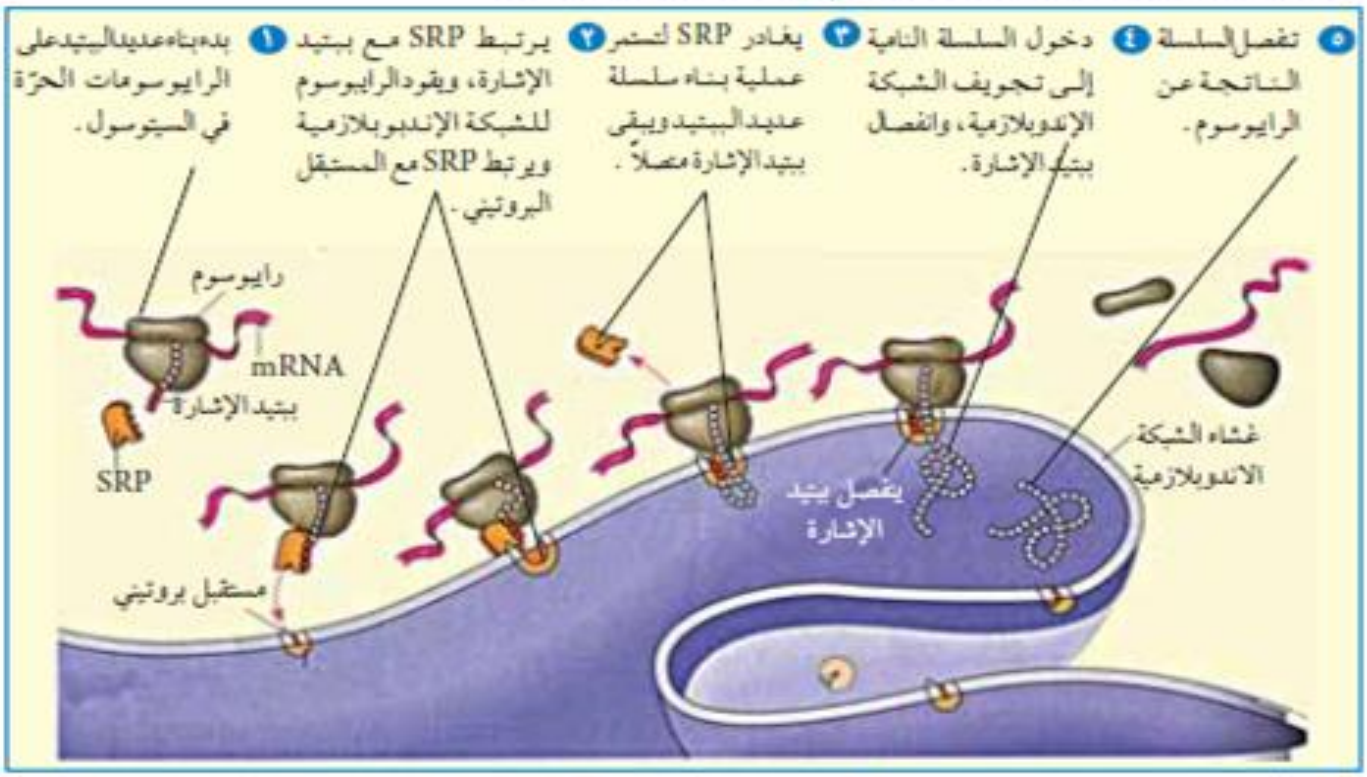
أ قد تقوم بعض الإنزيمات بإضافة أو إزالة حمض أميني أو أكثر من أحد طرفي السلسلة، وفي بعض الحالات يتم تقسيم سلسلة عديد البيتيد الناتجة إلى قطعتين أو أكثر بوساطة الإنزيمات. كما يحدث في تصنيع هرمون الأنسولين.

ب قد يتم في حالات أخرى ارتباط سلسلتين أو أكثر من عديد البيتيد معاً لتشكل وحدة من البروتين الفاعل، بعد أن كانتا سلسلتين منفصلتين، تم تصنيعهما بشكل مستقل، مثل بروتين الهيموغلوبين.

مواقع الترجمة

تقوم الرايبوسومات بعملية الترجمة، عندما تكون بشكل حرّ في السيتوسول، أو على سطح الشبكة الإندوبلازمية الخشنة. فإذا كان البروتين المراد بناؤه خاصاً بالسيتوسول أو النواة أو الميتوكندريا، فإن ترجمته ستتم على الرايبوسومات الحرة في السيتوبلازم، أما إذا كانت البروتينات المطلوبة ستدخل في تركيب أغشية الخلية وعضياتها، مثل (الغلاف النووي، أو الغشاء البلازمي، أو الشبكة الإندوبلازمية وغيرها) أو سيتم إفرازها خارج الخلية كما في بروتين الأنسولين أو يشكّل البروتين أحد إنزايمات الأجسام الحالّة، فإنه سيتم ترجمتها على سطح الشبكة الإندوبلازمية الخشنة. فما الذي يقرر فيما إذا سيبقى الرايبوسوم حراً أو يرتبط بالشبكة الإندوبلازمية الخشنة؟

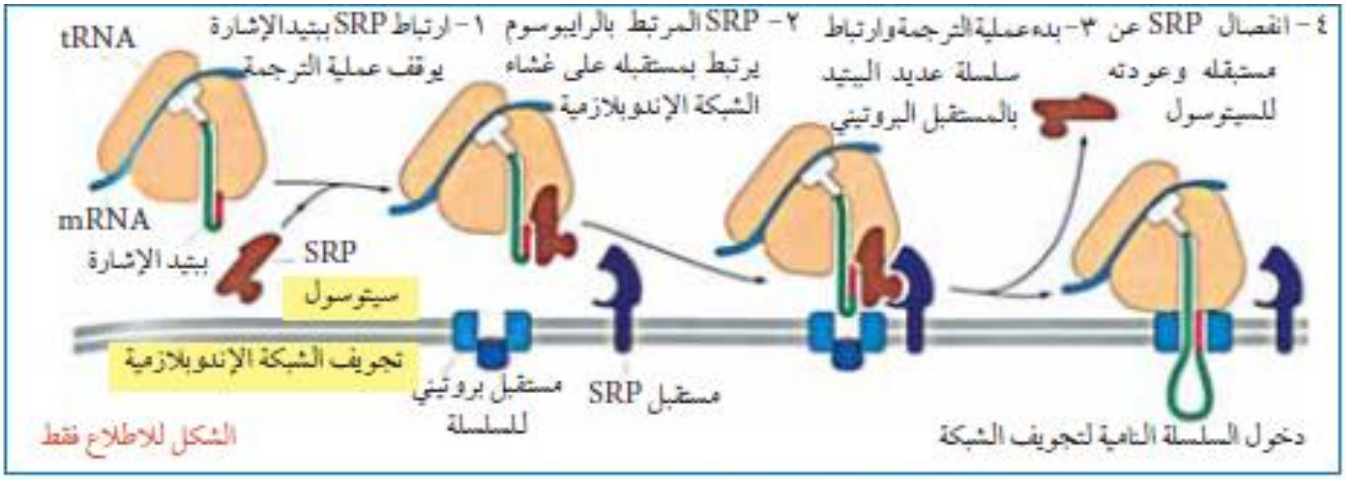
إن تصنيع جميع البروتينات يبدأ في السيتوسول عندما يبدأ رايبوسوم حرّ بترجمة mRNA، وقد تنتهي هذه العملية في السيتوسول، إلاّ إذا كان هناك **إشارة خاصة** في السلسلة النامية من عديد الببتيد تقود الرايبوسوم إلى الارتباط بالشبكة الإندوبلازمية، فكيف يتم ذلك؟ انظر الشكل (١٦).



الشكل (١٦): آلية توجيه الرايبوسوم للشبكة الإندوبلازمية الخشنة.

١ يبين الشكل أن هناك تسلسلاً معيناً من الحموض الأمينية في السلسلة النامية يسمى **ببتيد الإشارة** (Signal peptide)، وهذا الببتيد يتكون من حوالي ٢٠ حمضاً أمينياً في مقدمة السلسلة النامية، يتم التعرف عليه من قبل جسيم يتكون من بروتين وRNA يسمى جسيم **تعرّف الإشارة** SRP (signal recognition particle)

٢ يرتبط جسيم SRP ببتيد الإشارة، وبموقع A في الرايبوسوم بدلاً من ارتباط tRNA، فتتوقف عملية الترجمة ويرتبط SRP بمستقبل خاص له في غشاء الشبكة الإندوبلازمية مما يؤدي إلى انتقال الرايبوسوم إلى سطحها. انظر الشكل (١٧).



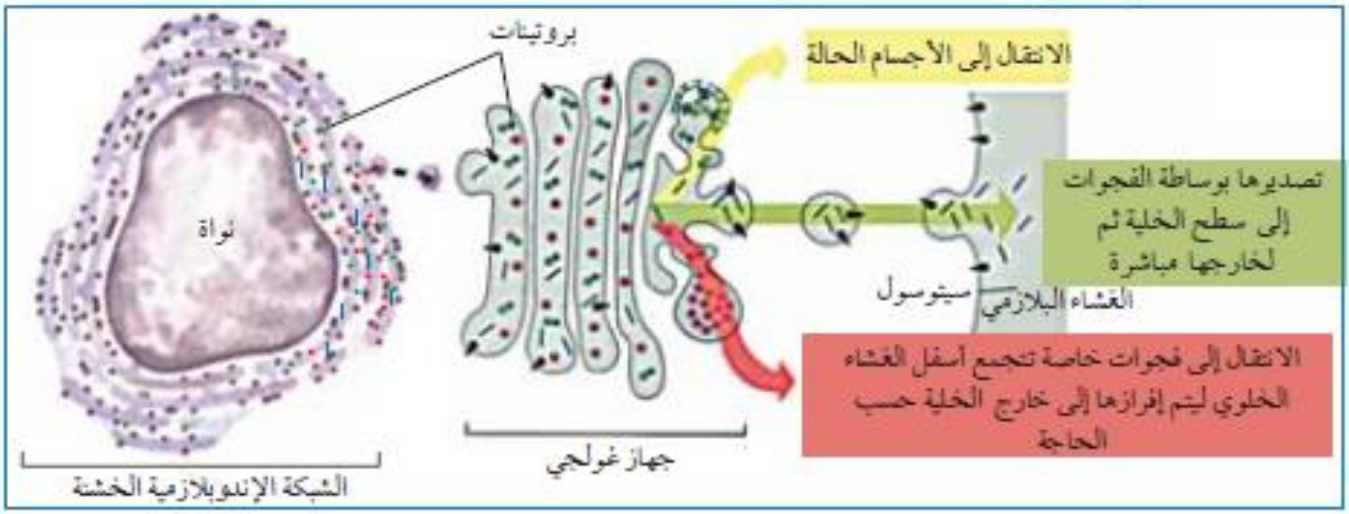
الشكل (١٧): ارتباط جزيء SRP بالرايبوسوم ونقله لغشاء الشبكة الإندوبلازمية الخشنة

٣ يتحرر جسيم (SRP) من ببتيد الإشارة التي ترتبط ببروتين خاص على شكل قناة في غشاء الشبكة الإندوبلازمية، ويصبح SRP حراً، ويعود للسيتوسول ليتم استخدامه مرة أخرى، وتستمر عملية الترجمة بوساطة الرايبوسوم على سطح الشبكة الإندوبلازمية.

٤ تدخل السلسلة النامية عبر فتحة خاصة في البروتين (سابق الذكر) إلى التجويف الداخلي للشبكة الإندوبلازمية.

٥ مع نهاية عملية الترجمة يتم إزالة ببتيد الإشارة بوساطة إنزيم خاص يوجد في غشاء الشبكة الإندوبلازمية، ويختلف مصير سلسلة عديد الببتيد الناتجة، فإما أن:

١ تصبح سلسلة عديد الببتيد حرة داخل تجويف الشبكة الإندوبلازمية، وفي هذه الحالة إما أن تبقى في تجويف الشبكة الإندوبلازمية لتعمل هناك، أو أن تصل إلى جهاز غولجي وتبقى هناك، أو أن تنتقل من جهاز غولجي إلى الأجسام الحالة (الليسوسومات) كأحد إنزيماتها، أو أن يتم انتقالها إلى فجوات خاصة تتجمع أسفل الغشاء الخلوي لتعد للإفراز عند الحاجة، أو يتم افرازها بشكل تلقائي خارج الخلية. انظر الشكل (١٨).



الشكل (١٨): مصير سلسلة عديد الببتيد الناتجة.

ب تبقى منغمسة في غشاء الشبكة الإندوبلازمية في حال كونها بروتينات تركيبية في الغشاء . وهذا يعتمد على وجود إشارة خاصة تسمح لها بالتواجد في غشاء الشبكة الإندوبلازمية .

وهناك أنواع أخرى من بيتيدات الإشارة توجه سلسلة عديد الببتيد الناتجة نحو المايتوكندريا، أو البلاستيدات، أو إلى داخل النواة، أو إلى عضيات أخرى . وفي هذه الحالة تتم الترجمة كلياً في السيتوسول، ثم يتم توجيه البروتين الناتج (وليس الرايبوسوم كما في حال الشبكة الإندوبلازمية) إلى هذه العضيات .