جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة الأولى : مدخل إلى علم البايولوجي الجزيئي والمادة الوراثية للاحياء بدائية النواة

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة الأولى : مدخل إلى علم البايولوجي الجزيئي والمادة الوراثية للأحياء بدائية النواة

١. ***تعريف علم البايولوجي الجزيئي Molecular Biology :***هو مزيج من علوم الحياة والكيمياء الذي يهتم بدراسة بدراسة تكوين وتركيب ووظيفة الجزيئات الخلوية الكبيرة Macromolecules كالاحماض النووية والبروتينات ودورها في الفعاليات البايولوجية المهمه كلتضاعف الخلوي وتناقل المعلومات الوراثية. ان مصطلح Molecular Biologyصيغ من قبلالعالم الامريكي Warren Weaver مدير قسم العلوم الطبيعية في مؤسسة Rockefeller حيث صيغ كفكرة للتفسيرات الفيزياوية والكيمياوية للحياة.

٢ . نبذة تاريخية عن علم البايولوجي الجزيئي:

على الرغم من مكانته البارزة بين العلوم الحيوية الا ان علم البايولوجي الجزيئي هو علم حديث النشأة حيث ان بدايات نشوئه كانت في ثلاثينيات القرن التاسع عشر لكنه دخل حيز التطبيق الموؤسساتي 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 انه الية تضاعف المادة الوراثية وحدوث الطفرات والتعبير الجيني بقيت غير معروفه[1]. ويمكن ايجازها بمايلي:

المرحلة الاولى: مابين ١٩٠٠-١٩٥٠ واهم الاحداث فيها هي:

- وضعت (فرضية الجين كأساس للحياة) ودراسة تاثير الاشعة السينية كعامل مطفرمن قبل عالم الوراثه الامريكي Hermann J. Muller وعمد لدراسة تركيب الجين كذلك استنتج هذا العالم من دراساته المتعددة ان عالم الوراثه يكون عديم الفائدة مالم يعمل كفريق مشترك مع عالم الفيزياء والكيمياء لدراسة الجزيئات الخلوية الكبيرة ((حصل هذا العالم على جائزة نوبلفيالطبوالفسلجة عام ١٩٤٦ لدراسته تاثير الاشعة السينية كعامل مطفر)) [٢].

- تحديث(فرضيةالجين" والتي تنص على ان الجين هو وحدة التوارث) من قبل عالم الاجنة الامريكي Thomas Hunt Morgan وكذلك استخدام ذبابة الفاكهه *Drosophila* كموديل لدراسة العلاقة بين الجين والكرموسوم في عملية التوارث ((حصل على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام ١٩٣٣ لاكتشافه دور الكرموسومات في التوارث)) [٣].

- اكتشاف عاثيات البكتريا Phage من قبل علم الفيزياء الحيوية الالماني Max Delbrueckوعالم المايكروبايولوجي الايطالي Salvador Luria والامريكي Alfred Hershey عام ١٩٤٥ ((حصلوعلى جائزةنوبل في الطب والفسلجةعام ١٩٦٩لاكتشافهم عاثيات البكتريا Phage [4] .

- وضعت فرضية (جين واحد-انزيم واحد one gene-one enzyme hypothesis) من قبل الامريكيينGeorge Beadle و Edward Tatum في عام ١٩٤١ واللذين حصلا فيما بعد على جائزة نوبل في الطب والفسلجةعام ١٩٥٨ نتيجة لهذه الفرضية) [5].

المرحلة الثانية: مابين ١٩٥٠-٢٠٠٠ واهم الاحداث فيها هي:

- اكتشاف تركيب الجين من قبل المايكروبايولوجي الامريكي Alfred Day Hershey وعالم الوراثة الامريكي Martha Cowles Chase حيث اجرو تجارب مهمه على عاثيات البكتريا اثبتو فيها ان الجينات تتكون من deoxyribonucleic acid (DNA) بدلا من البروتين عام ١٩٥٢ وعرف تجربتهم الشهيره فيما بعد بـ[6]Hershey-Chase experiment .

- اكتشاف التركيب الحلزوني المزدوج للـ DNAمن قبل عالم البايولوجيا الانكليزي Francis Crick و الامريكي James Watson عام ١٩٥٣ ((حصلو على جائزةنوبل في الطب والفسلجةعام ١٩٦٢ 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 بـ[7]Nuclein.

- اكتشاف طريقة تحديد تتابع الاحماض الامينية في البروتينات من قبل الكيمياوي الانكليزي Frederick Sanger في ١٩٥٢ والذي اكتشف فيما بعد طريقة انهاء السلسلة لتحديد تتابع القواعد النتروجينية في الاحماض النووية في ١٩٧٧ والتي عرفت فيما بعد بـSangersequencing ((ومن الجدير بالذكر انه حصل مرتين على جائزة نوبل في الطبوالفسلجةعام ١٩٥٨ وعام ١٩٨٠)) [8].

- اكتشاف الطريقة الكيمياوية لتحديدتتابعالقواعدالنتروجينية في عام ١٩٧٧من قبل الامريكيين Walter Gilbert و Allan Maxam وسميت الطريقة فيما بعد بـ[9]Maxam-Gilbert sequencing.

- اكتشاف تقنية ال PCR من قب الكيمياوي الامريكي Kary Banks Mullis عام ١٩٨٣ والذي حصل فيما بعد على جائزة نوبل في الكيمياء عام ١٩٩٣[10].

- في عام ١٩٩٠ تم وضع مشروع الجينوم البشري Human Genome Project (HGP) والذي يهدف الى معرفة تتابع القواعد النتروجينية لكل ال DNA المكون للجينوم البشري حيث اكتمل هذا المشروع في عام ٢٠٠٣ [11].

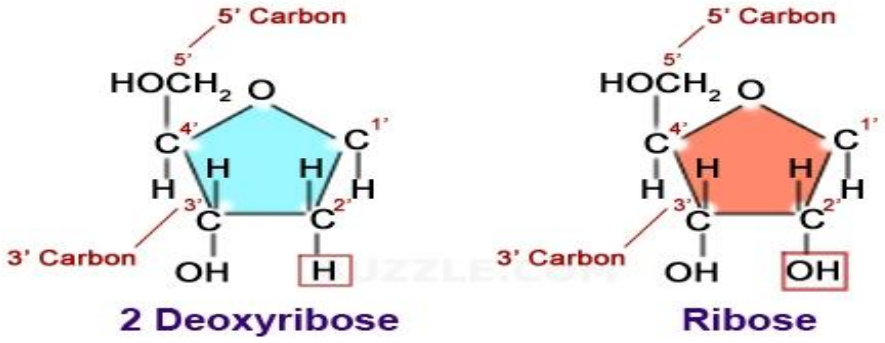
المرحلة الثالثه: مابعد عام ٢٠٠٠ واهم الاحداث فيها هي:

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

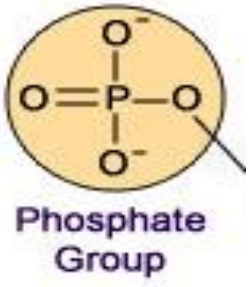
المادة الوراثية للأحياء بدائية النواة *Genetic Material of Prokaryote*

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 مجموعه فوسفات + سكر + قاعدة نايتروجينية وفيما يلي شرح مفصل لهاتين الجريئتين:

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

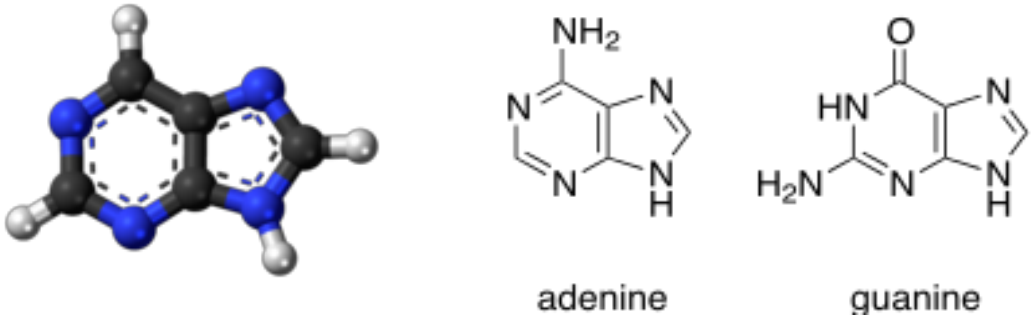


٢- كلاهما يحتوي مجموعة الفوسفات والتي تكون بشكل (ثلاثي الفوسفات)



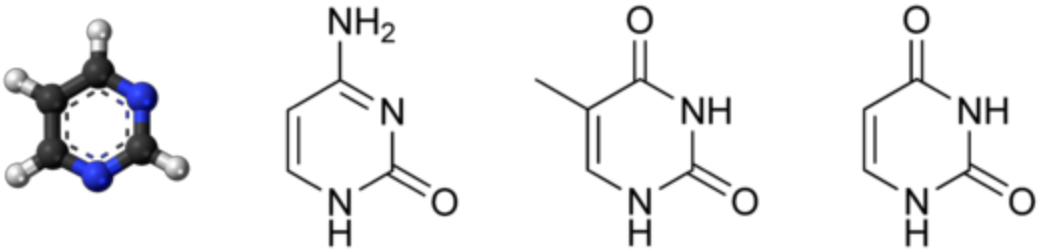
٣- كلاهما يحتوي على القاعد النايتروجينية : هنالك مجموعتين من القواعد النايتروجينية وهي:

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



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

- الثايمين Thymine (موجود فقط في DNA ولاتوجد في RNA)
- اليوراسيل Uracil(موجود فقط في RNA ولاتوجد في DNA)
- السايتوسين Cytosin (موجود في RNA و في DNA)



Cytosine Thymine Uracil

- تسمى الوحدة البنائية للحامض النووي بالنيوكليوتيده Nucleotide
- تتكون النيوكليوتيده من (سكر [الرايبوز الاعتيادي اومنقوص الاوكسجين]+ مجموعة فوسفات +قاعده نايتروجينيه
- النيوكليوتيده الحره تكون ثلاثية الفوسفات
- تسمى نيوكليوتيدات ال DNA بمايلي:

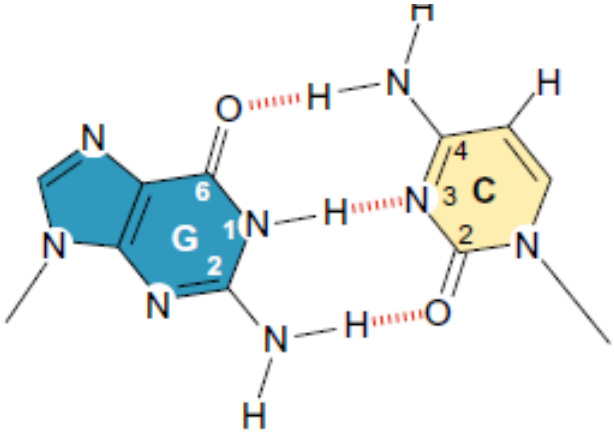
Deoxyadenosin triphosphate (dATP)
Deoxythymidine triphosphate (dTTP)
Deoxyguanidine triphosphate (dGTP)
Deoxycytosine triphosphate (dCTP)

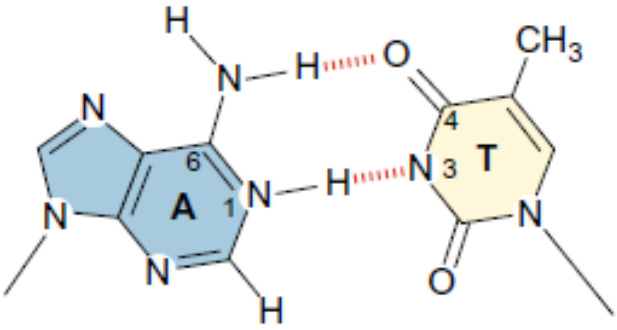
- تسمى نيوكليوتيدات ال RNA بمايلي:

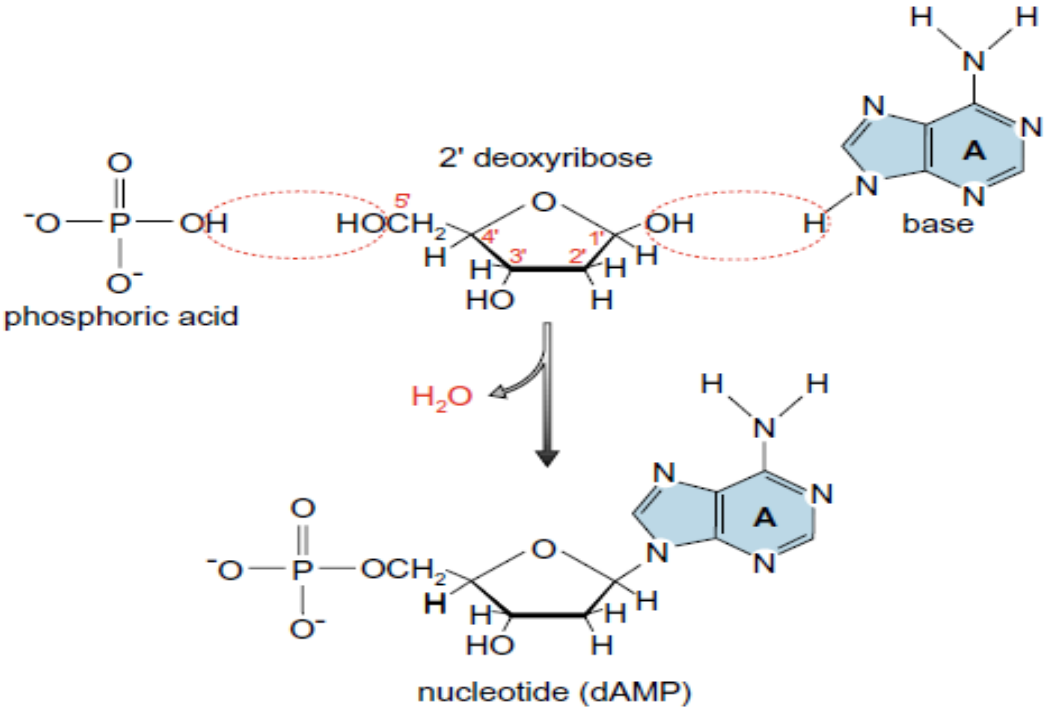
Adenosin triphosphate (ATP)
Guanidine triphosphate (GTP)
Cytosine triphosphate (CTP)
Uracil triphosphate (UTP)

- عندما تسحب مجموعة الفوسفات من النيوكليوتايد تسمى نيوكليوسايد Nucleoside
- النيوكليوتيده المرتبطه داخل شريط DNA او RNA تكون احادية الفوسفات (المجموعتين الاخرى للنيوكليوتيده الحره تستهلك عند اضافة النيوكليوتيده 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.





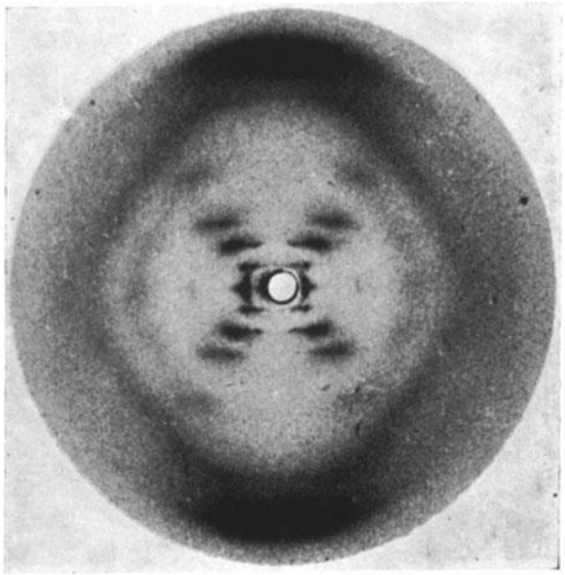


تركيب الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA

تم عزل ال DNA من الخلايا القيحية WBCs لاول مره من قبل الطبيب السويسري Friedrich Meischer عام ١٨٦٩والذي اسماه ب Nuclein لكنه لم يعرف على انه الماده الوراثية .

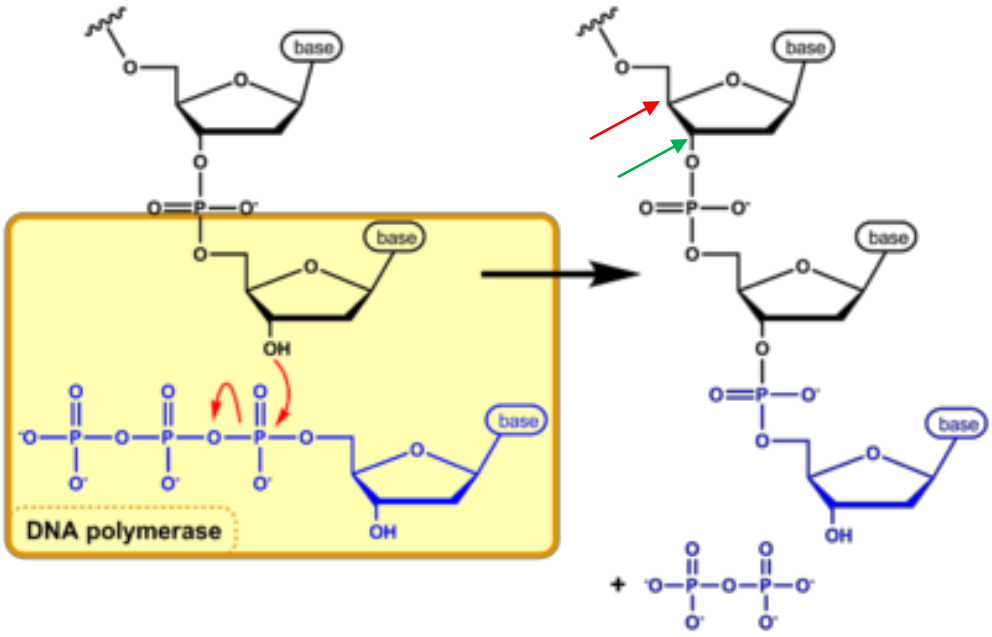
يتركب الDNA من النيوكليوتيدات ويكون ثنائي الشريط Double Strand ويسمى dsDNA (ماعدا بعض الفيروسات يكون في بعض الاحيان بشكل شريط منفرد Single strand ويسمى ssDNA) ومن مميزات جزيئة DNA :

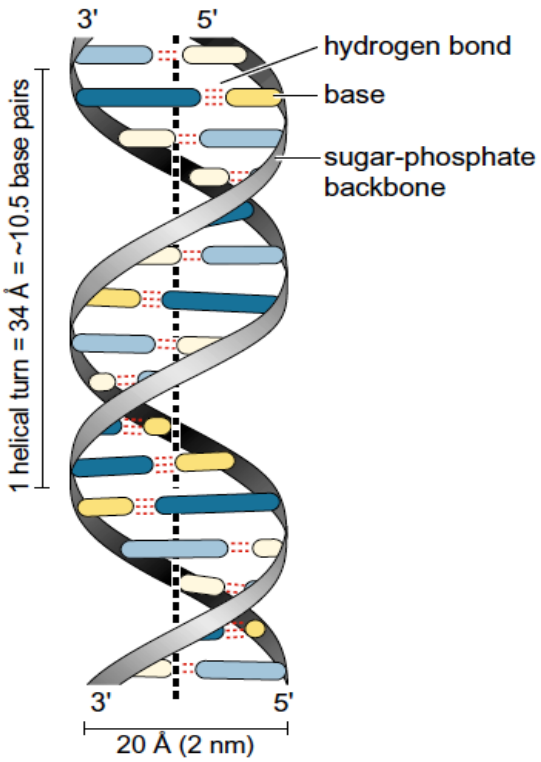
١- **Double helix** : إن أول من اكتشف تركيب الDNA بشكل Double helixهما العالمين واتسن وكرك عام ١٩٥٣ (James Watson and Francis Crick) واللذين حصلا فيما بعد على جائزة نوبل في الطب والفسلجةعام ١٩٦٢ لاجل هذا الاكتشاف . تم الحصول على هذه النتائج من خلال التجارب التي أجريت على DNA باستخدام الاشعه السينيه حيث تم الاستدلال على هذا التركيب من خلال قراءة انحراف الاشعة السينية



تجربة انحراف الأشعة السينية التي أجريت من قبل روزلاند فرانكلين

٢- **5'-3' direction** : ويقصد ب هان شريط DNA ينى 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 نيوكليوتيده جديده وهذا يعني ان DNA يبنى بالاتجاه **5'-3'؟**





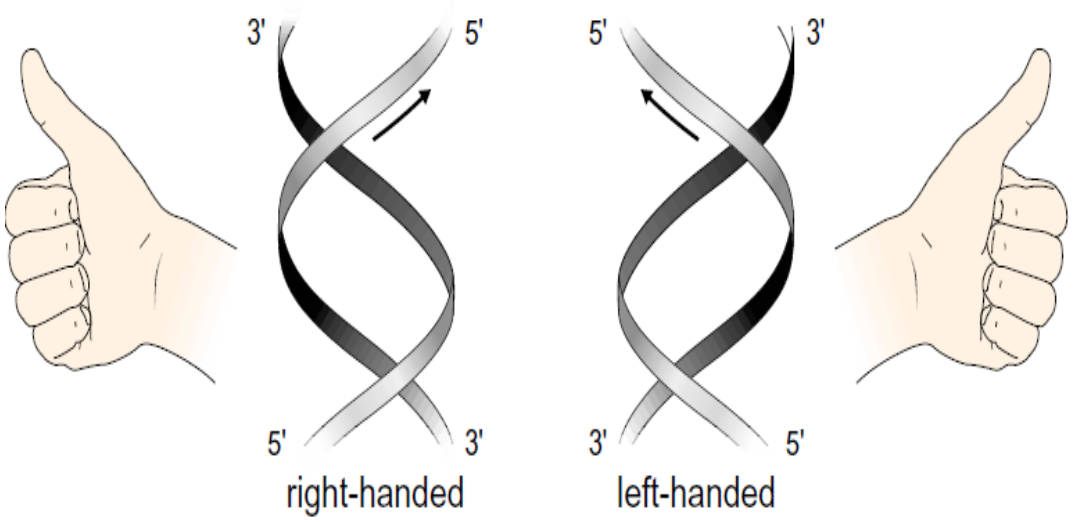
٣- **Anti parallel** : التضاد ويقصد بها إن شريطي جزيئية DNA يلتفان حول بعضهما البعض باتجاهين متعاكسين .

٤- قطر جزيئة DNA هو ٢٠ انكستروم في حين ان اللفه الواحده طولها ٣٤ انكستروم

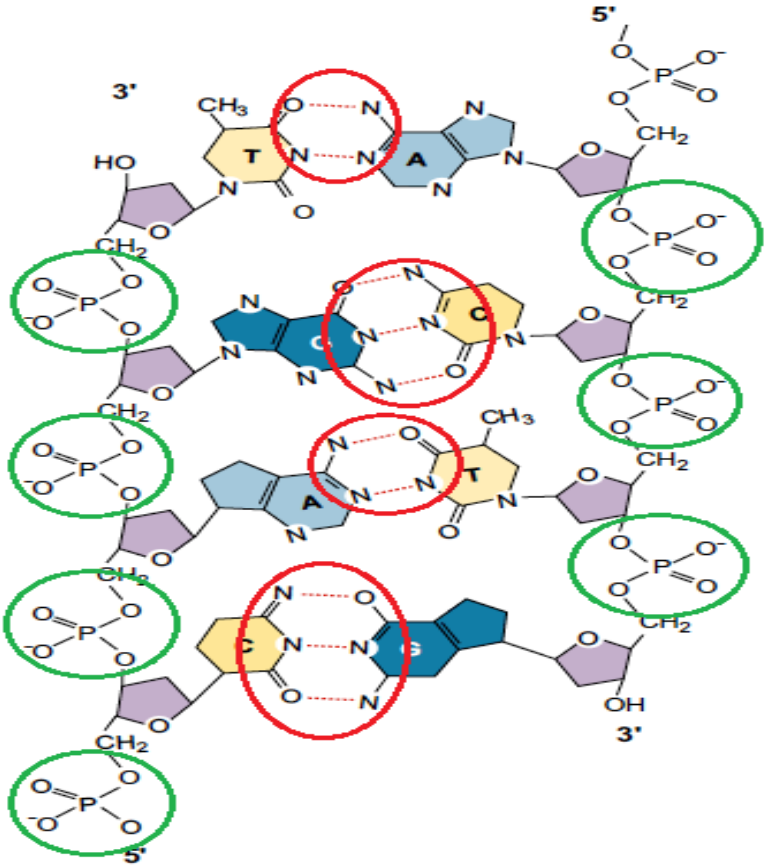
٥- تتكون اللفه الواحده من DNA من 10.5 زوج قاعدي وبذلك يكون طول القاعده الواحده او الزوج القاعدي حوالي 3.3 انكستروم .

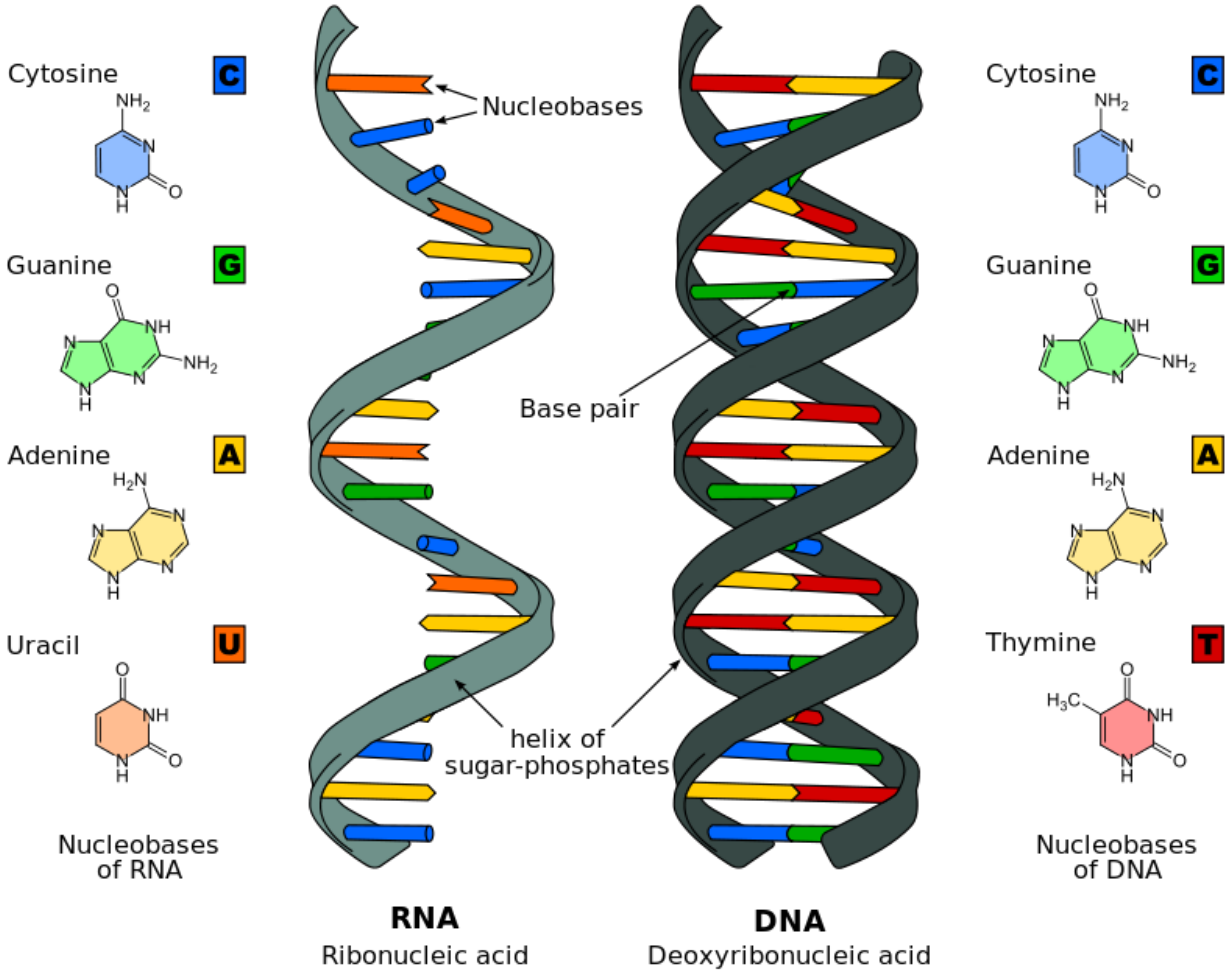
٦- وزن الزوج القاعدي هو ٦٦٠ دالتون

٧- يكون اتجاه اللفه اما لليمين وتسمى right handed او لليسار وتسمى left handed



٨- **Inter and intra strand bonds**: هنالك نوعين من الاواصر في جزيئة DNA المزدوجه وهي الاصره الهايدروجينية مابين نيوكليوتيدات شريطي DNA والاصره ثنائية الفوسفات التساهميه التي تربط بين نيوكليوتيدات الشريط الواحد وكما موضح ادناه:




Cytosine
C
Guanine
G
Adenine
A
Uracil
U
Nucleobases of RNA
Nucleobases
Base pair
helix of sugar-phosphates
RNA
Ribonucleic acid
DNA
Deoxyribonucleic acid
Cytosine
C
Guanine
G
Adenine
A
Thymine
T
Nucleobases of DNA

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), "The Gene as the Basis of Life", Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة الثانية : أنواع الأحماض النووية

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

أنواع الأحماض النووية

تلقى الأحماض النووية عظيم الاهتمام في الدراسات و البحوث في الحقبة الحالية ، لما أحدثته من ثورة في العلوم البيولوجية ، فرصدت لأبحاثها ملايين الدولارات و أنشئت من أجلها العديد من المعامل البحثية و المنح الدراسية و صدرت لدراساتها المجلات العلمية المتخصصة ، و قد أدت الأبحاث فيها إلى تقنيات فريدة جمع بعضها تحت اسم الهندسة الوراثيةGenetic Engineering ، كما أدت إلى أن أصبحت البيولوجية الجزيئيةMolecular Biology علما قائما بذاته تناول آفاقا غير مسبوقة في أساليب البحث و تقنياته وأهدافه، وارتبط ذلك ببعض جوانب ما يسمى التكنولوجيا الحيوية Biotechnology . وكان لذلك آثارا تطبيقية ذات مردود اقتصادي في مجالات مختلفة منها الانتاج الزراعي و الحيواني سواء من ناحية الكم أو النوع ، كما دفعت هذه الدراسات بالفكر البشرى إلى منحنى جديد . و لا شك أن هذه الثورة العلمية التي نعيشها الآن في مجال دراسات الأحماض النووية سيكون لها أبلغ الأثر على حياة الانسان في القرن الحادي و العشرين .

وهناك نوعان من الأحماض النووية:

حامض الديوكسى رايبونيوكلييك (Deoxyribonucleic) acid: (DNA)

حامض الرايبرنيوكلييك (Ribonucleic acid : (RNA.

المادة الوراثية لبعض الفيروسات. ويوجد ثلاث أنواع من (RNA) وهي المرسال mRNA والناقل tRNA و الرايبوزومي rRNA. جميعها تساعد (DNA) في القيام بوظيفته.

جدول يوضح أهم الفروقات بين DNA و RNA:

موضوع المقارنة	DNA	RNA
وجوده	النواة	النواة و السيتوبلازم
الوظيفة	المادة الوراثية و مكون للكروموزومات	يساعد DNA في الوظيفة
أنواعه	ليس له أنواع	المرسال (mRNA) ، الناقل (tRNA) و الرايبوزومي(rRNA)
السكر الخماسي	سكر الديوكسى رايبوز	سكر الرايبوز
القواعد النيتروجينية	الأدينين – الثايمين الجوانين – السايتوسين	الأدينين – اليوراسيل الجوانين – السايتوسين
الشكل	حلزون ثنائي (Double helix) سلسلتين من متعدد النيوكليوتيدات	خيط واحد من متعدد النيوكليوتيدات

الفرق بين سكر الديوكسى رايبوز والرايبوز هو أن الأول تفتقر فيه ذرة الكربون رقم ٢ إلى أوكسجين.. ولذلك يسمى بمنزوع الأكسجين حيث أن ديوكسي تعني نزع الأكسجين.

وبما ان الحامض النووي الدنا (DNA) هو من المكونات الأساسية للكروموزومات وهو يمثل المادة الوراثية لمعظم الكائنات الحية فسيتم تسليط المزيد من الضوء عليه.

حمض الدنا Deoxyribonucleic Acid (DNA)

وهو من المكونات الأساسية للكروموزومات وهو يمثل المادة الوراثية لمعظم الكائنات الحية. وهي المادة الموجهة لعمليات انتقال الصفات الوراثية من الآباء للذرية. في عام ١٩٥٤ ، في جامعة كمبردج بانجلترا ، قدم البيولوجيان واطسون (الأمريكي)James Watson و كريك (البريطاني) Francis Crick بالتعاون مع عالم الفيزياء الحيوية ولكنز Maurice Wilkins (نيوزلندي) نموذجا يوضح التركيب الجزيئي لحمض دنا (DNA). ومن اجل هذا النجار العلمي الكبير منحت لهم جائزة نوبل في الطب و علم وظائف الأعضاء عام ١٩٦٢.

و حسب هذا النموذج تترتب النيوكليوتيدات على صورة شريطين Two Strands متكاملين Complementary يلتفا حول بعضهما فيكونان حلزونا مزدوجا Helix Double طويلا سمكه ٢ نانومتر، و طول اللفة الكاملة gyre منه ٣.٤ نانومتر و يتكون جزئ الحمض من عدة آلاف من هذه اللفات . و يمكن تشبيه الجزيء بالسلم ، حيث يتكون كل من جانبية Banisters من سلسلة من جزيئات السكر و الفوسفات المتبادلة بينما تتكون الدرجات Rungs or Steps فيه (والتي تربط بين الجانبين) من القواعد النيتروجينية ، و المسافة بين الجانبين ثابتة و تسمح بالضبط بوجود قاعدة نيتروجينية أحادية الحلقة مرتبطة مع قاعدة أخرى ثنائية الحلقة ، و القواعد النيتروجينية كما سبق القول على طرازين : أحدهما هو البيورينات Purines ، هى مركبات عضوية ثنائية الحلقات و هى الأدنين Adenine و الجوانينGuanine ، أما الطراز الثانى فهو البيريميدينات Pyrimidines وهى مركبات عضوية أحادية الحلقة وهى الثايمينThymine و السيتوسين Cytosine و ينتظم الجزىء بحيث يرتبط الجوانين مع السيتوسين و يرتبط الأدنين مع الثايمين . و يلاحظ أن الأدنين و الثايمين يرتبطان برابطتين هيدروجينيتين بينما الجوانين و ، السيتوسين يرتبطان بثلاث من هذه الروابط . وعلى ذلك فالطاقة اللازمة لكسر الجوانين عن السيتوسين أكثر من تلك اللازمة لكسر الأدنين عن الثايمين . و يلاحظ أن هذا الشكل السلمي يتحلزن على نفسه ليكون ما يسمى بالحلزون المزدوج Double Helix.

و تمثل النيوكليوتيداتNucleotides الوحدات البنائية لجزئ الحمض النووي (الوحدة التركيبية فى الأحماض النووية هي: **النيوكليوتيدة**). و تتركب كل نيوكليوتيدة من جزئ سكر خماسي يرتبط من ناحية ذرة الكربون رقم $\overline{5}$ بمجموعة الفوسفات . ومن ناحية ذرة الكربون رقم $\overline{1}$ بقاعدة نيتروجينية و يتكون جزئ حمض دنا (DNA) من آلاف من هذه النيوكليوتيدات .

و من المعروف أن ذرات الكربون فى جزىء السكر الخماسى يعطى لكل منها رقما معينا يحدد موقعها، و يلاحظ أن القواعد النيتروجينية تتصل بذرة الكربون رقم $\overline{1}$ فى السكر الخماسى و أن الروابط . الكميائية بين السكر و القواعد النيتروجينية و بين السكر و مجموعات الفوسفات هى روابط تساهمية Covalent Bonds كما يلاحظ أن مجموعة

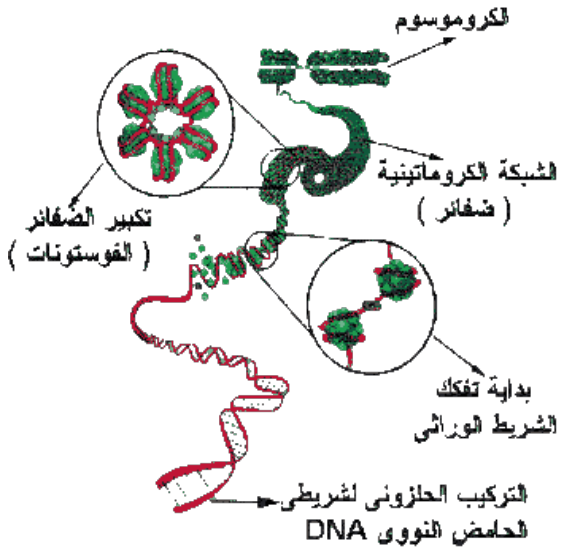
الفوسفات تتصل بذرة الكربون رقم $\overline{5}$ لجزيء السكر من طرف بينما تتصل من الطرف الاخر بذرة الكربون رقم $\overline{3}$ فى جزيء السكر التالي ، كما أن مجموعتى الفوسفات المتصلة بذرة الكربون رقم $\overline{5}$ فى السكر الخماسى فى كل نيوكليوتيدين متقابلتين فى شريط دنا (DNA) تكونا متعاكستين في الاتجاه .

ومما تقدم ندرك انه اذا كان تتابع القواعد النيتروجينية فى جزيء من احد الشريطين $\overline{5}$ TCCAA $\overline{3}$ ، فإن قطعة الشريط الآخر التى تتكامل معها يكون ترتيب قواعدها النيتروجينية 5' AGGTT 3' . و يتضح من ذلك أن شريطي جزيء DNA متوازيان عكسيا antibarallel حيث أن الطرف $\overline{3}$ لأحد الشريطين والطرف $\overline{5}$ للشريط الاخر يكونان فى الناحية نفسها .

و يلاحظ انه اذا نزعت مجموعة الفوسفات من النيوكليوتيد أطلق على المركب الباقى اسم نيوكليوسيد nucleoside ، وعلى ذلك فالنيوكليوسيدات المعرفة هي أدينوزين adenosine ، جوانوزين guanosine ، سيتيدين cytidine ، يوريدين uridine ، ثايميدين thymidine ، ويضاف المقطع الأولي (دي أوكسي) Deoxy– للدلالة على الدي أوكسي نيوكليوسيدات deoxyribonucleosides

ملخص تركيب الحامض النووى الدنا The Structure of DNA

تركيب الحامض النووى DNA ذو طبيعة تسمح له بحمل المعلومات الوراثية ، بالإضافة إلى أن طبيعة هذا التركيب تسمح له أيضا بمضاعفة نفسه . والنيوكليوتيدات Nucleotides يمكنها أن ترتبط بروابط تساهمية بأى نظام لتكوين عديد الوحدات طويل Long polymer . كما ذكرنا فكل بناء من قوالب الحامض النووى DNA عبارة عن نيوكليوتيد Nucleotide يتكون من سكر خماسى وهو الديزوكسى ريبوز Deoxyribose وفوسفات phosphate وقاعدة نيتروجينية Nitrogen base

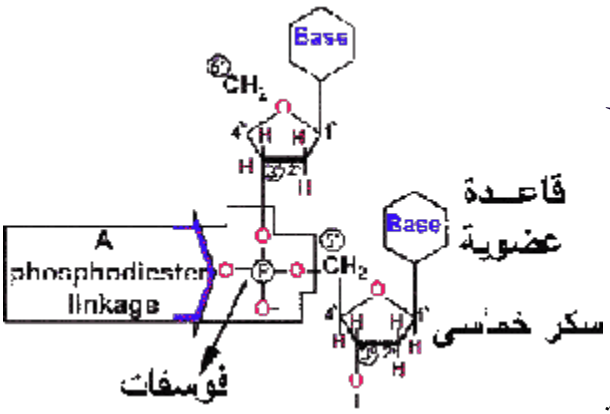


والقواعد النيتروجينية تتضمن مجموعتان البيورين Purines وتتضمن الأدينين (A) Adenine والجوانين (G) Guanine (أما المجموعة الثانية فهى البيرميدين Pyrimidines وتتضمن الثيمين (T) Thymine والسيتوزين (C) Cytosine . والنيوكليوتيدات ترتبط ببعضها بواسطة روابط تساهمية لتكوين عمود فقرى من تعاقب السكر والفوسفات Sugar-Phosphate backbone .

وكما هو واضح فى الشكل فالنيوكليوتيدات ترتبط ببعضها عن طريق الروابط التساهمية التى تربط ذرة الكربون الثالثة فى جزئ سكر بالفوسفات المرتبطة بذرة الكربون الخامسة فى جزئ السكر المجاور له ليكون 3,5 phosphodiester linkage ولذا فمن الممكن تكوين عديد النيوكليوتيدات بأى طول كان . فنحن نعلم أن جزيئات

DNA داخل الخلايا تتكون من ملايين القواعد فى الطول ، وأن النيوكليوتيدات يمكنها أن ترتبط مع بعضها بأى طراز . والشكل يوضح أن سلسلة عديد النيوكليوتيدات لها إتجاه . فمهما كان طول هذه السلسلة (أى بأى طول كانت) فهى لها نهايتين .

النهاية الخامسة The5`end والتى لها ذرة الكربون الخامسة والنهاية الثالثة The3`end والتى لها ذرة الكربون الثالثة والتى لا ترتبط بنيوكليوتيد أخر .



الشكل يوضح أن الروابط الفوسفاتية ثنائية الإستر phosphodiester linkage تربط جزيئين من السكر الخماسى Deoxyribose فى العمود الفقرى Backbone للحامضى النووى DNA.

وعندما أهتم هذان العالمان بدراسة الحامض النووى DNA كمادة الوراثة أوضحوا لنا كثيرا من خصائصه الطبيعية والكيميائية ، كما أنهم اهتموا بتجميع المعلومات المتكاملة عن هذا الحامض مع بعضها فى نموذج يوضح كيف يقوم هذا الجزئ بحمل المعلومات الوراثية بالإضافة إلى قدرته على مضاعفة نفسه Self-duplication بنفس تركيبه السابق .

معلومات عن الحامض النووىDNA

تم التعرف على معلومات هامة عن تركيب الحامض النووى DNA عن طريق حيود أشعة أكس X-ray diffraction (معنى حيود هو إنحراف أشعة أكس إنحرافا ضئيلا عند مرورها بحواف) قام بها العالم روزالين فرانكلين Rosalin Franklin فى معمل M.H.F. Wilkins . فحيود أشعة أكس هى بمثابة طريقة فعالة لتقدير المسافات بين الذرات الموجودة فى جزيئات متراصة بانتظام(تركيب متعاقب من البلورات). وأشعة أكس لها طول موجة صغير جدا لدرجة أنها تتبعثر بواسطة الإلكترونات المغلفة للذرة فى الجزئ . والذرات التى لها سحابة إلكترونية كثيفة (مثل الفسفور Phosphorus والأكسجين Oxygen) تجعل الإلكترونات تنحرف بقوة أكبر من تلك الذرات التى لها عدد ذرى أقل .

وعند تعريض التركيب البلورى لأشعة أكس المكثفة يحدث أن يسبب الترتيب المنتظم للذرات فى البلورة إلى حيود أشعة أكس أو إلتوائها فى إتجاهات معينة . ونظام حيود أشعة أكس هذا يمكن رؤيته فى فيلم ضوئى (فيلم تصوير) كنقاط معتمة . وعن طريق التحليلات الرياضية Mathematical analysis لترتيب النقاط المعتمة والمسافة بينهما يمكن أن يستخدم لتقدير المسافة بين الذرات واتجاه هذه الذرات داخل الجزئ بالدقة الكاملة .

وعندما سعى العالمان واتسن وكريك لحل مشكلة تركيب الحامض النووى DNA . كان فرانكلين قد صور بالفعل عن طريق أشعة أكس X-ray فيلماً لنموذج الحامض النووى DNA . والصورة أظهرت بوضوح أن الحامض النووى DNA عبارة عن تركيب حلزونى الشكل ، وأن هناك ثلاثة أنواع هامة من نماذج منتظمة ومتعاقبة فى الجزئ والتى لها أبعاد ٠.٣٤ نانومتر ٣.٤ نانومتر ، ٢ نانومتر . ومن هذا النموذج السابق استدل فرانكلين أن القواعد

النيكلوتيدية Nucleotide bases (والتى هى عبارة عن جزيئات مسطحة) هى عبارة عن رفوف متراصة مثل درجات السلم المتراصة فى السلم . وباستخدام هذه المعلومة بدأ العالمان واتسن وكريك بوضع عدة نماذج لمكونات الحامض النووى DNA مع محاولة توفيقهم مع بعض ليتفقوا مع البيانات المأخوذة من تجارب العالم فرانكلين . وبعد عدة تجارب قام العالمان واتسن وكريك بوضع نموذج للحامض النووى DNA يتكون من سلسلتين من عديد النيوكليوتيد Two nucleotide chains ملتفين حول بعضهما فى صورة حلزون مزدوج . ونجد أيضا أن السكر والفوسفات المكونين للعمود الفقرى للسلسلتين يكونوا الجدار الخارجى للحلزون . أما القواعد المتصلة بكلا السلسلتين فتوجد فى الوسط .

الروابط الهيدروجينية المتكونة فى الخيط المزدوج لحامض DNA النووى

فى عام ١٩٥٠ قام العالم إدون تشارجاف ومساعدوه بجامعة كولومبيا بدراسة نسب القواعد النتروجينية فى الحامض النووى DNA بالنسبة لبعضها البعض ووجدوا الآتى : أنه بصرف النظر عن مصدر الحامض النووى DNA (أى نوع الخلية التى أخذ منها أو نوع الكائن الحى المأخوذ منه) وجد أن نسبة الأدنين (A) إلى الثيمين (T) وأيضا نسبة الجوانين (G) إلى الستيوزين (c) جميعها لا تبتعد عن الواحد الصحيح كما وجد أيضا أن نسبة البيورين إلى البيرميدين أيضا تساوى واحد صحيح. أو بمعنى أخر وجد أن الأدنين A يساوى الثيمين T وأن الستيوزين C يساوى الجوانين G (G=C) و (A=T)

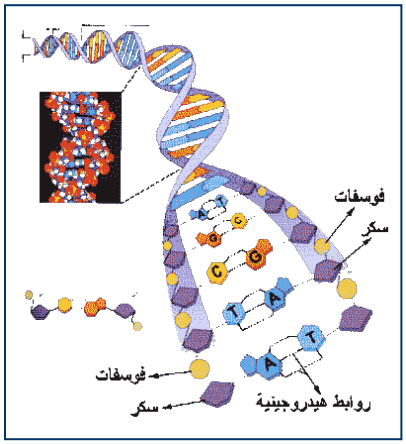
والدراسات على حيود أشعة أكس X=ray diffraction دونت أن الحلزون المزدوج (DNA) له اتساع منتظم ودقيق والذى إستدل عليه من حيود مقداره أثنين نانومتر وهذه النتيجة تتفق مع النتائج السابقة من أن قواعد البيرميدين وهما السيتوزين (C) والثيمين (T) تحتوى فقط على حلقة واحدة من الذرات وهما أصغر من قواعد البيورين وهما الجوانين (G) والأدنين (A) واللذان يحتويان على حلقتين فى تركيبهما . ولذا فالدراسات التى أجراها واتسن وكريك على نماذج الحامض النووى DNA أكدت أنه لو كان عند نقط إتصال خيطى الجزئ ترتبط قاعدة من البيورين مع قاعدة من البيرميدين فيكون اتساع الحلزون عند هذه النقطة يساوى أثنين نانومتر 2 Nanometers . أما لو اتحدت قاعدتين من البيورين (كل واحدة منها إتساعها ١.٢ متر نانومتر) فسوف يكون نقط الاتصال اتساع أوسع من اثنين نانومتر ، أما لو اتحدت قاعدتين من البيرميدين فسوف يكون إتساعها أقل من اثنين نانومتر .

وبالتالى فلابد أن يكون الإرتباط ما بين قاعدة من البيورين مع قاعدة من البيرميدين . ثم أثبتت الدراسات بعد ذلك أن الأدينين (A) يرتبط بالثيمين (T) وأن السيتوزين (C) يرتبط بالجوانين (G) والسبب فى أن الثيمين (T) (يرتبط فقط بالأدنين (A) هو أنهم يرتبطوا ببعض بزوج (أثنين) من الروابط الهيدروجينية Two Hydrogen Bonds أما السيتوزين (C) والذى لا يرتبط إلا بالجوانين (G) فهم يرتبطوا ببعض بعدد ثلاث روابط هيدروجينية . و بالتالى فكل أدنين (A) فى أحد خيطى السلسلة لابد أن يقابل ثيمين (T) فى الخيط المقابل وأيضا كل سيتوزين (C) فى أحد خيطى السلسلة لابد أن يقابله جوانين (G) فى الخيط المقابل . ولذلك فتعاقب القواعد فى السلستين تكون متممة Complementary لبعضهما وبديهي أيضا أنها لا يمكن أن تكون متطابقة مع بعضها . أو بمعنى آخر أننا لو علمنا تتابع القواعد فى أحد السلسلتين فيمكننا معرفة القواعد فى السلسلة الأخرى ومثالا لذلك لو كان ترتيب القواعد فى أحد الخيطين هو .

5_____AGTC ACTG_____3\

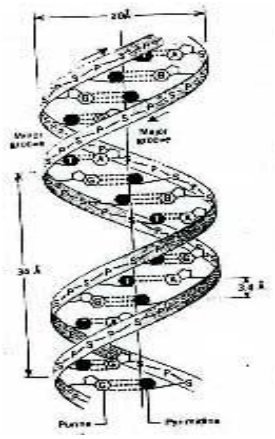
فيكون ترتيب القواعد فى الخيط المقابل هو

3_____TCAGTGAC_____5\



ونموذج الحلزون المزدوج للحامض النووى DNA يؤكد الاعتقاد السائد بأن تعاقب القواعد فى الحمض النووى DNA يمكن أن يسمح بتخزين المعلومات الوراثية . ولأن جزئ DNA داخل الخلية يمكن أن يتكون من ملايين القواعد فى الطول ، لذا فهو يسمح بتخزين كمية كبيرة جدا من المعلومات الوراثية . الشكل يوضح أن الخيطين المكونين للحلزون المزدوج فى الحامض النووى DNAيرتبطوا ببعض بواسطة روابط هيدروجينية والتى تربط القواعد النتروجينية مع بعضها فنجد أن الأدينينAdenine (A) ويرتبط مع الثيمين (C) Thymine والسيتوزين (C) Cytosine يرتبط مع الجوانين. (G) Guanine

رسم تخطيطي يوضح شكل اللولب المزدوج لجزئ DNA



** لاحظ أن الجزئ عرضه ٢nm ويبلغ طول اللفة الكاملة للولب ٣.٤nm .

** لاحظ كذلك أن تركيب الجزئ يشبه السلم الذي يتكون جانبيه من سلسلتين من السكر (S) والفوسفات (P) بينما السلالم نفسها تتكون من القواعد النيتروجينية وفيها ترتبط القاعدة (G) على جانب مع القاعد (C) بثلاث روابط هيدروجينية ، بينما ترتبط القاعدة (A) جانب مع القاعدة (T) على الجانب الآخر برابطتيين هيدروجينيتين .

تضاعف أو تناسخ (تكرار) المادة الوراثية
DNA Replication

تشتمل آلية تضاعف جزئ حمض دنا على فك ارتباط شريطي عديد النيوكليوتيدات المكونين للجزئ بعضهما عن بعض وذلك بفك الروابط الهيدروجينية الضعيفة التي تربط بينهما . ويتبع هذا تراص نيوكليوتيدات جديده أمام كل

شريط ، وارتباطها بعضها ببعض بمساعدة إنزيم بلمرة الدنا DNA polymerase ، وبذلك يتم تخليق شريطين جديدين من عديد النيوكليوتيدات ، حيث يبني شريط جزئ دنا المطلوب مضاعفته . وبمعنى آخر فإن كل شريط قديم يعمل كقالب يتكون وفقا له شريط جديد ، وبذلك فإن كل جزئ من حمض دنا DNA يكون قد تضاعف الي جزيئين. ويحدث هذا التضاعف في المرحلة (S) من الدورة الخلوية .ومن المهم أن نذكر أن تتابع القواعد النيتروجينية ٥ AGGTT 3 في الشريط القديم هو الذي يحدد تتابعها على الشريط الجديد ، ومن هنا جاء القول بأن الشريط القديم يعمل كقالب للشريط الجديد ، فإذا كانت القاعدة النيتروجينية على الشريط القديم ((A مثلا ، جاءت أمامها القاعدة ((T على الشريط الجديد ، والعكس بالعكس ، كذلك إذا كانت القاعدة (G) على الشريط القديم ، جاءت أمامها القاعدة ((C على الشريط الجديد ، والعكس بالعكس .

آلية تضاعف جزئ : DNA

ويوصف تضاعف جزئ حمض دنا DNA بأنه "نصف محافظ" semiconservative ، ذلك أن كل جزئ ناتج عن التضاعف يكون محتفظا بأحد شريطي الجزئ الأصلي ، بينهما يكون الشريط الآخر – لهذا الجزئ الناتج – مستحدث التكوين .

الحامض النووي الدنا يتحكم في العمليات البيولوجية فى أى كائن حى وذلك لأنه يعتبر المركز الوحيد للمعلومات الوراثية Genetic Informations التى تنتقل بطريقة دقيقة من الآباء إلى النسل الناتج.وتضاعف الحامض النووى الديزوكس ريبوزى DNA يتم بثلاثة طرق هى : .

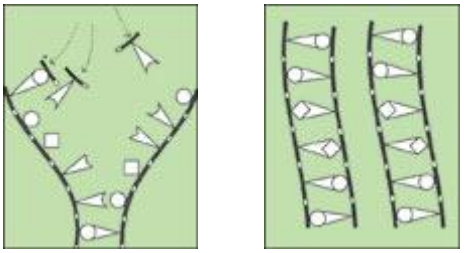
١- الطريقة الشبه محافظة

٢- الطريقة المحافظة

٣- الطريقة التشتتية

تضاعف د ن أ

-1يتضاعف د ن أ قبل أن تنقسم الخلية. ثم ينشطر السلم طوليًا، فاصلاً قواعد كل درجة.



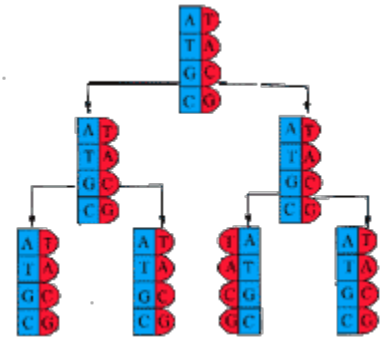
-3الآن تم بناء سلمين، كل متضاعف عن الأصل. وعندما تنقسم الخلية، تحصل كل خلية جديدة على د ن أ مماثل .

-2تتصل القواعد الحرة، مع السكر والفوسفات، بقواعد النصف السلمي الآخر. وتزدوج القواعد المكملة فقط .

الطريقة الشبة محافظة لتكرر المادة الوراثية Semiconservative of DNA Replication

أصبح من الواضح الآن أن الحامض النووى DNA يتكون من حلزون مزدوج تتزاوج فيه القواعد النتروجينية بنظام محدد ومعين فالقاعدة النتروجينية أدنين (A) لا ترتبط إلا بالثيمين (T) وأيضا القاعدة الأزوتية جوانين (G) لا ترتبط إلا بالسيتورزين C) (. وبالتالى فتزاوج القواعد هذا يمدنا بالآلية البسيطة لتكرر الحامض النووى DNA . فلو تكسرت الروابط الهيدروجينية بين الخطين وانفصلت السلسلتين عن بعضهما . فكل نصف حلزون فى هذه الحالة يمكن أن يتكامل مع نيوكليوتيدات جديدة لتحل محل النيوكليوتيدات التى كانت متزاوجة معه فى الخيط القديم . وبعبارة أخرى أنه يمكن

لكل خيط أبوى فى هذه الحالة أن يدير عملية تكوين خليط مكمل جديد على أساس شروط نظام تزاوج القواعد النتروجينية السابق ذكره. وبالتالى فكل خيط أبوى يعمل كقالب لخيط جديد .

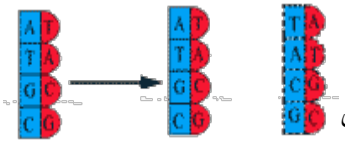


فمثلا الجوانين (G) فى الخيط الأبوى يعمل كقالب لوضع السيتوزين (C) وأيضا الثيمين (T) فى الخيط الأبوى يعمل كقالب لوضع الأدنين (A) . وسميت هذه الطريقة فى تكرر DNA بالطريقة الشبه محافظة للتكرر نظرا لأن الحلزون الأبوى المزدوج يحافظ عليه جزئيا أثناء تكرر الحامض النووى DNA وآلية التكرر شبه المحافظة Semiconservative Replication Mechanism هذه قد تم اقتراحها بواسطة العالمان واتسن وكريك . وهى طريقة بسيطة وتوضح كيفية مضاعفة الحامض النووى DNA

الشكل يوضح الطريقة الشبه محافظة فى تكرر الحامض النووى DNA ويوضح الشكل أن الجزئ الأصلى (أعلى الشكل) ينفصل إلى خيطين (وسط الشكل) كل منهما يكمل نفسه بخيط جديد مطابق لنفس الخيط الأبوى ثم تتكرر نفس العملية أسفل الشكل .

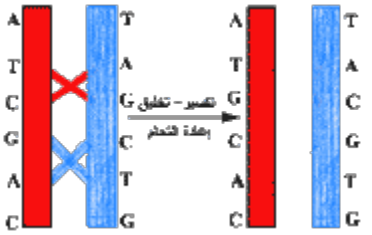
الطريقة المحافظة لتكرر المادة الوراثية Replication of DNA Conservative

آلية الطريقة المحافظة Conservative Replication Mechanism هنا تعنى بقاء الحلزونات الأبوية المزدوجة كما هى بدون أن تنفصل أى بدون تكسر الروابط الهيدروجينية الموجودة بين القواعد الآزوتية ومن هنا جاءت التسمية أنها محافظ عليها تماما . وفى هذه الطريقة فإن الحلزون المزدوج يقوم بتكوين حلزون مزدوج جديد مكون من خيطين مخلقين (لاحظ أن الحلزون الابوى المزدوج استخدام كقالب لتكوين هذان الخيطان) .



الشكل يوضح الآلية المحافظة لتكرر (مضاعفة) DNA ويتضح فى الشكل أن الحلزون الأبوى يبقى كما هو دون أن تنفصل السلسلتين ويستخدم كقالب وتطبع عليه القواعد المقابلة للقواعد النيتروجينية الموجودة فى القالب الأبوى . و بالتالى ينتج قالب جديد من DNA (وهو المرسوم بالنقط وليس بخطوط متصلة) .

الطريقة التشتتية لتكرر المادة الوراثية Dispersive Replication of DNA



الآلية التشتتية للتكرر Dispersive Replication mechanism يتم فيها تداخل أجزاء من الخيوط الأبوية والخيوط الجديدة من خلال عمليات تكسير وتخليق والتحام هذه الأجزاء ويجدر الإشارة أن هذا التداخل بين أجزاء الخيوط بطريقة عشوائية . الشكل يوضح التداخل العشوائى (تكسير . تخليق . إعادة التحام) أثناء الطريقة التشتتية لتكرر الحامض النووى الديزوكس ريبوزى DNA .

تكرر الحامض النووى DNA هو عملية متخصصة جدا ولها آليات فريدة خاصة بها :

بالرغم من أن آلية تكرر الحامض النووى الديزوكس ريبوزى Replication mechanism of DNA هى عملية بسيطة (راجع الآليات المشروحة سابقا) ، إلا أن عملية التكرر هذه تحتاج إلى تركيب متخصص يحتوى على عدد كبير من البروتينات والإنزيمات والتى تعمل مع بعضها البعض مثل الجهاز المتكامل مع بعضه ولذا يطلق عليها العلماء Replication machine . ويجب ملاحظة أن هناك بعض الفروق التى توجد بين الخلايا مميزة النواة Eukaryotic Cells والخلايا غير مميزة النواة Prokaryotic Cells حيث أن درجة تعقيد الحامض النووى DNA تختلف فى كلا منهما. ففى الخلايا غير مميزة النواة يوجد الـ DNA على شكل خيط دائرى مفرد وغير مغلف بغشاء نووى . أما فى الخلايا مميزة النواة فيوجد بداخل نواتها الكروموسومات وكل كروموسوم مفرد (فى الوقت الذى يكون فيه لا يتكرر) يحتوى على جزئ من حلزون مزدوج مكون من خيطين ملتفين حول بعضهما على شكل حلزون ومعهم كمية كبيرة من البروتين والحامض النووى الريبوزى RNA .

ويجدر الإشارة أن الخيطين المكونين لجزئ DNA والملتفين حول بعضهما على شكل حلزون يجب أن يعودوا فى هذا الإلتفاف ليبتعد الخيطين المكونين للحلزون عن بعضهما أثناء عملية تكرر DNA . فكما ذكرنا من قبل عن نموذج واتسن وكريك للحلزون المزدوج المتكون من التفاف خطين DNA حول بعضهما مثل الحبل . ولو أردنا نزع (إبعاد) هاذين الخيطين عن بعضهما فلابد أن يلف أحدهما عكسيا حول الخيط الآخر . ويحفز عملية الإلتفاف لفصل خيطى DNA (المكملين لبعضها) إنزيمات تسمى DNA Helicase Enzymes والتى تنتقل على طول الحلزون وكلما إنتقلت لمكان على حلزون تقوم بفك الخيطين عن بعضهما ، وفى نفس اللحظة التى ينفصل فيها الخيطان عن بعضهما تقوم بروتينات يطلق عليها أسم Helix -Destabilzing Proteins بالارتباط على خيط DNA المفرد وذلك لتلافي ارتباطه مره أخرى بالخيط المكمل(لتكوين الحلزون مرة أخرى) حتى تتم عملية أخذ نسخة (صورة Copy) من كلا الخيطين . ولأن جزئيات DNA طويلة جدا ورفيعة لذا فيجب أن تتم هذه العملية بحيث تبقى الصفات المحمولة على جزئ DNA دون تغير. ولذلك فهناك إنزيمات متخصصة يطلق عليها Topoisomerases وهذه المجموعة من الإنزيمات تقوم بقطع الجزء من DNA ثم إعادة وصله (لحمه) مرة أخرى بعد إجراء عملية التكرر .

عملية تخليق DNA دائما تتم فى إتجاه ٥/ _____٣/ :

الإنزيمات التى تحفز عملية ربط النيوكليوتيدات ببعضها يطلق عليها DNA Polymerases وهذه انزيمات لها عدة خصائص تجعلها موائمة لتخصصية عملية التكرر بمواصفات وحدود معينة ، فهى قادرة على إضافة نيوكليوتيد Nucleotide فقط إلى النهاية ٣/ (3\ end) من الخيط عديد النيوكليوتيد Ploynucleotide Strand والذى يتم تخليقة كنسخة من الخيط الأصلى (لاحظ أن النسخة التى يتم تخليقها تكون بها القواعد المكتملة للقواعد الموجودة بالخيط الأصلى)

وهناك نيوكليوتيدات Nucleotides تعرف باسم Nucleoside Triphosphates وهذه تستخدم كمادة لازمة لتفاعلات البلمرة Ploymerization Reactions ، وهذه الجزئيات مشابهة لحامل الطاقة ATP من ناحية أن كلا الجزيئين يحتوى على ثلاثة مجاميع فوسفات مرتبطة بذرة الكربون الخامسة بمجموعة السكر والقاعدة . ومع كل إرتباط عدد إثنين نيوكليوتيد مع بعضهما يتم نزع مجموعتين فوسفات من جزئ الـ Nucleoside Triphosphates .

ويجدر الإشارة أنه لأن سلسلة عديد النيوكليوتيد Ploynucleotide Chain المخلقة تمتد لتطول بواسطة ربط 5` Phosphate group للنيوكليوتيد القادم بالـ 3`Hydroxyl Group of the Sugar عند نهاية الخيط . لذا فالخيط الجديد المخلق من DNA عادة ما ينمو فى اتجاه ٥/ _____ ٣/ .

عملية تخليق DNA تحتاج إلى RNA بادئ (Primer RNA) :

المحدد الثانى للانزيمات . DNA Polymerases أنهم يستطيعوا إضافة النيوكليوتيد فقط للنهاية ٣/ Termination Signalsأى إرشارات خاصة بنهاية تخليق البروتين . ويعقب ذلك تعاقبات غير مشفرة أيضا 3` Noncoding trailing Sequences والتى يمكن أن تختلف فى الطول .

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), “The Gene as the Basis of Life”, Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة الثالثة : تركيب وخصائص الأحماض النووية

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

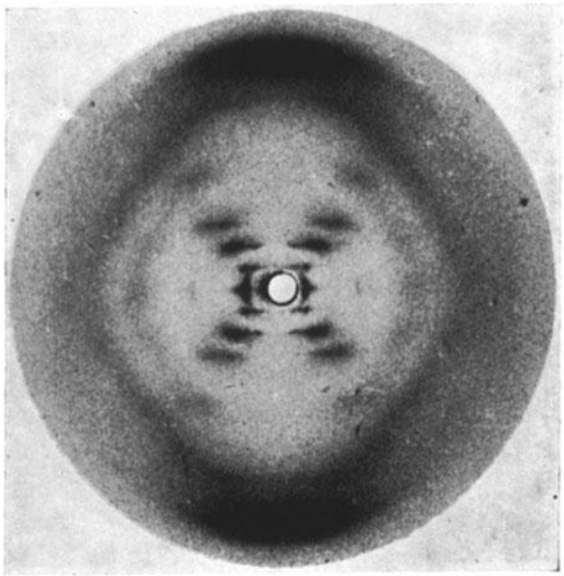
المحاضرة الثالثة : تركيب وخصائص الأحماض النووية

اولا: تركيب الحامض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA

تم عزل الـ DNA من الخلايا القيحية WBCs لأول مره من قبل الطبيب السويسري Friedrich Meischer عام ١٨٦٩والذي اسماه ب Nuclein لكنه لم يعرف على انه المادة الوراثية .

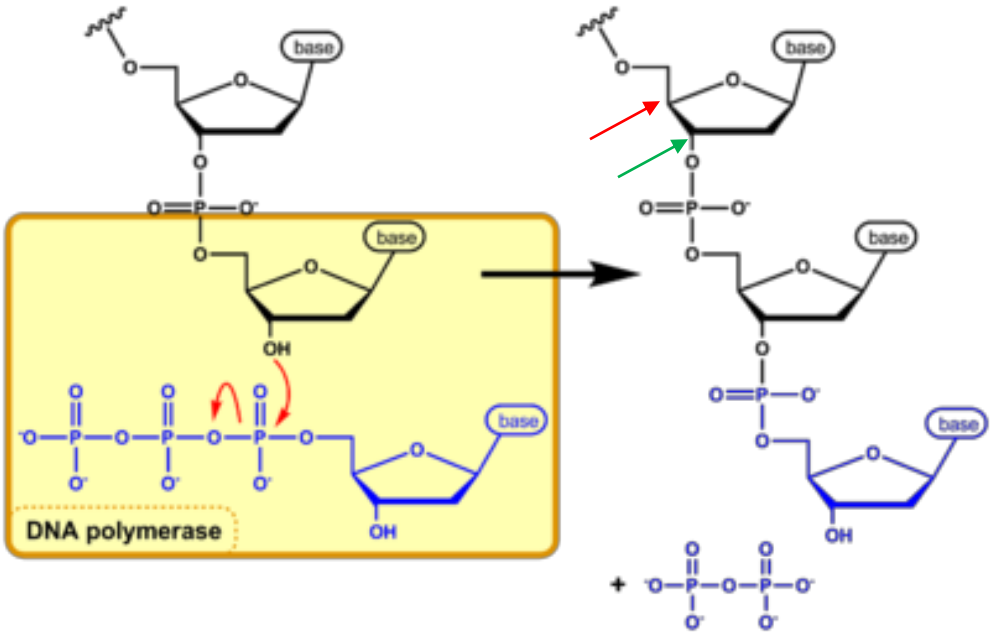
يتركب الـDNA من النيوكليوتيدات ويكون ثنائي الشريط Double Strand ويسمى dsDNA (ماعدا بعض الفيروسات يكون في بعض الأحيان بشكل شريط منفرد Single strand ويسمى ssDNA) ومن مميزات جزيئة DNA :

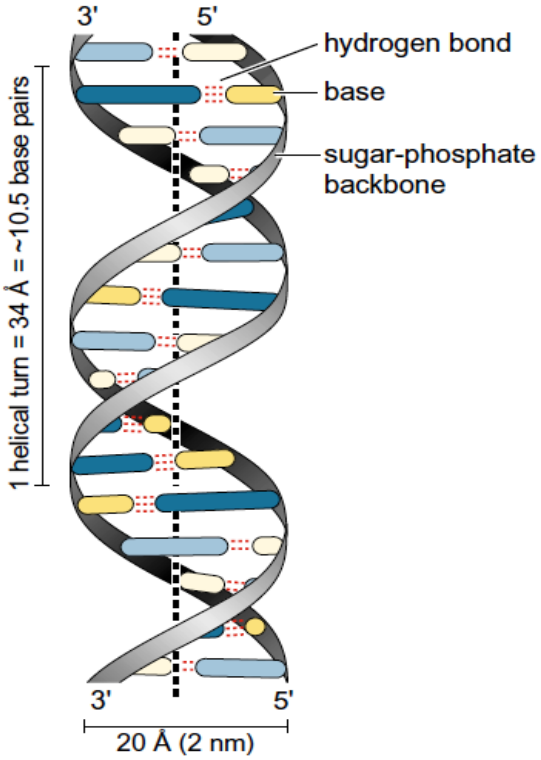
١- **Double helix** : إن أول من اكتشف تركيب الDNA بشكل Double helixهما العالمين واتسن وكرك عام ١٩٥٣ (James Watson and Francis Crick) واللذين حصلا فيما بعد على جائزة نوبل في الطب والفسلجةعام ١٩٦٢ لاجل هذا الاكتشاف . تم الحصول على هذه النتائج من خلال التجارب التي أجريت على DNA باستخدام الاشعه السينيه حيث تم الاستدلال على هذا التركيب من خلال قراءة انحراف الاشعة السينية



تجربة انحراف الأشعة السينية التي أجريت من قبل روزلاند فرانكلين

٢- **5'-3' direction** : ويقصد ب هان شريط DNA ينى 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 نيوكليوتيده جديده وهذا يعني ان DNA يبنى بالاتجاه **'5-'3؟**





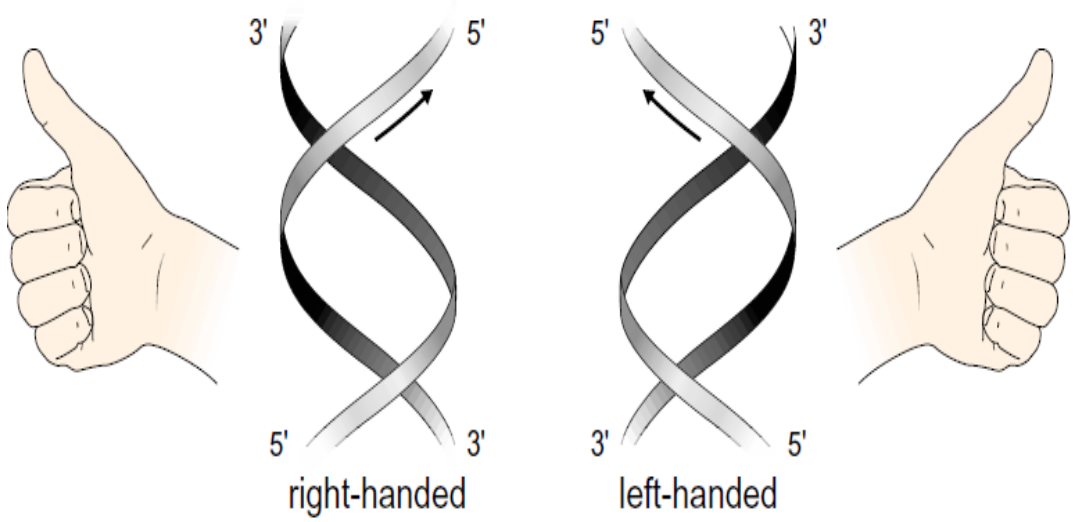
٣- **Anti parallel** : التضاد ويقصد بها إن شريطي جزيئية DNA يلتفان حول بعضهما البعض باتجاهين متعاكسين .

٤- قطر جزيئة DNA هو ٢٠ انكستروم في حين ان اللفه الواحده طولها ٣٤ انكستروم

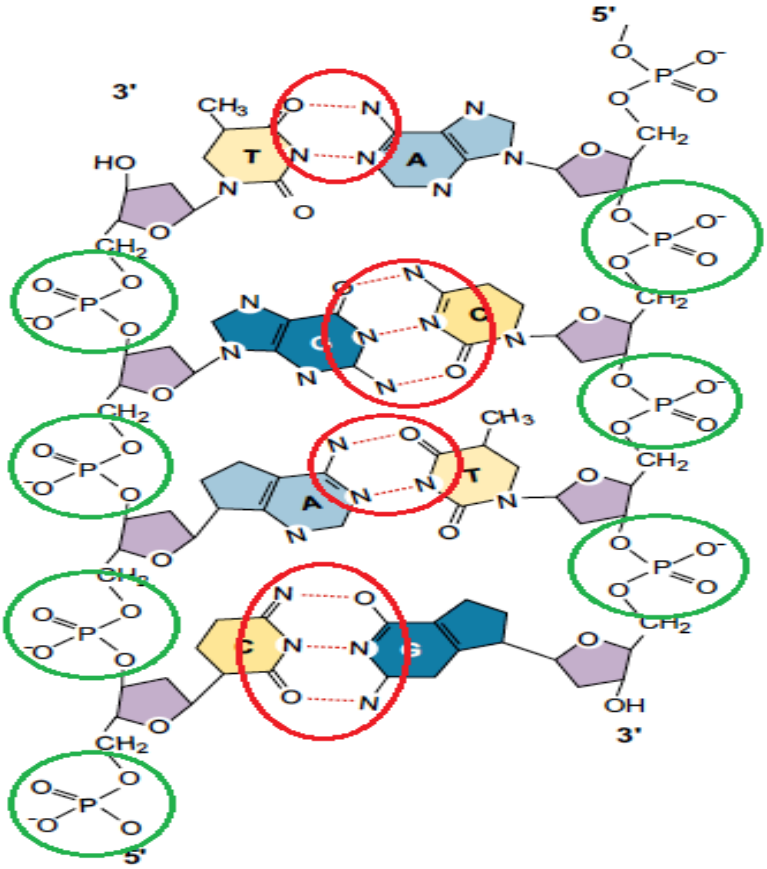
٥- تتكون اللفه الواحده من DNA من 10.5 زوج قاعدي وبذلك يكون طول القاعده الواحده او الزوج القاعدي حوالي 3.3 انكستروم .

٦- وزن الزوج القاعدي هو ٦٦٠ دالتون

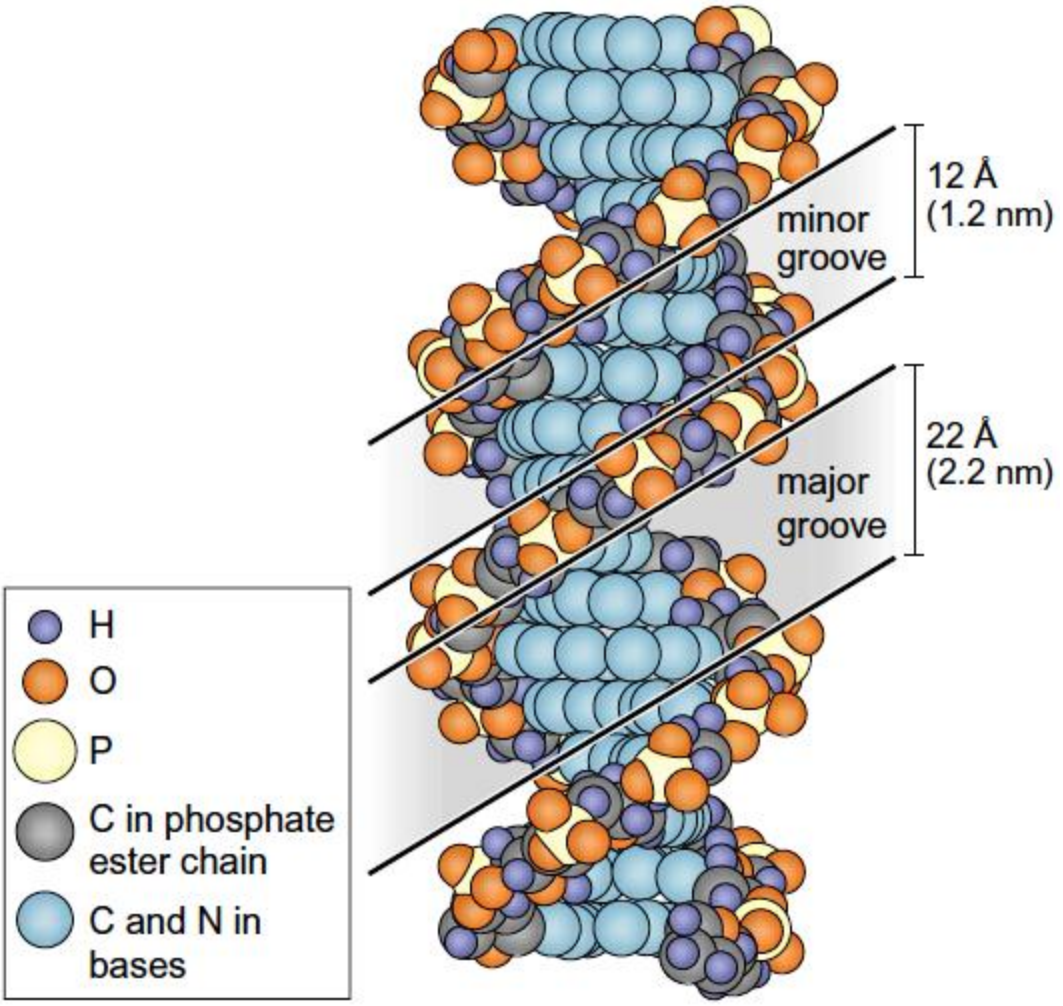
٧- يكون اتجاه اللفه اما لليمين وتسمى right handed كما في جزيئة الدنا نوع A-form DNA وB-form DNA او لليسار وتسمى left handed كما في جزيئة الدنا نوع Z-form DNA.



٨- **Inter and intra strand bonds**: هنالك نوعين من الأواصر في جزيئة DNA المزدوجة وهي الاصره الهايدروجينية مابين نيوكليوتيدات شريطي DNA الاصره ثنائية الفوسفات التساهميه التي تربط بين نيوكليوتيدات الشريط الواحد وكما موضح ادناه:



٩- **الأخدود الأساسي Major groove والأخدود الثانوي Minor groove :** تتكون هذه الأخاديد نتيجة للشكل المزدوج المتضاد Anti parallel double helix لجزئية الدنا وللتركيب الفراغي للقواعد النتروجينية. وتكون هذه الأخاديد غير متساوية بالحجم. أن كل زوج قاعدي يلتوي او ينحرف عن مسار الزوج القاعدي الذي يسبقه بحوالي ٣٦ درجه وبالتالي يصبح من السهل علينا معرفة عدد الأزواج القاعديه في اللفه الواحده من خلال معرفة ان اللفه الواحده تعني التواء او استداره بمقدار ٣٦٠ درجه وبلتالي هنالك تقريبا عشرة ازواج قاعديه في اللفه الواحده.

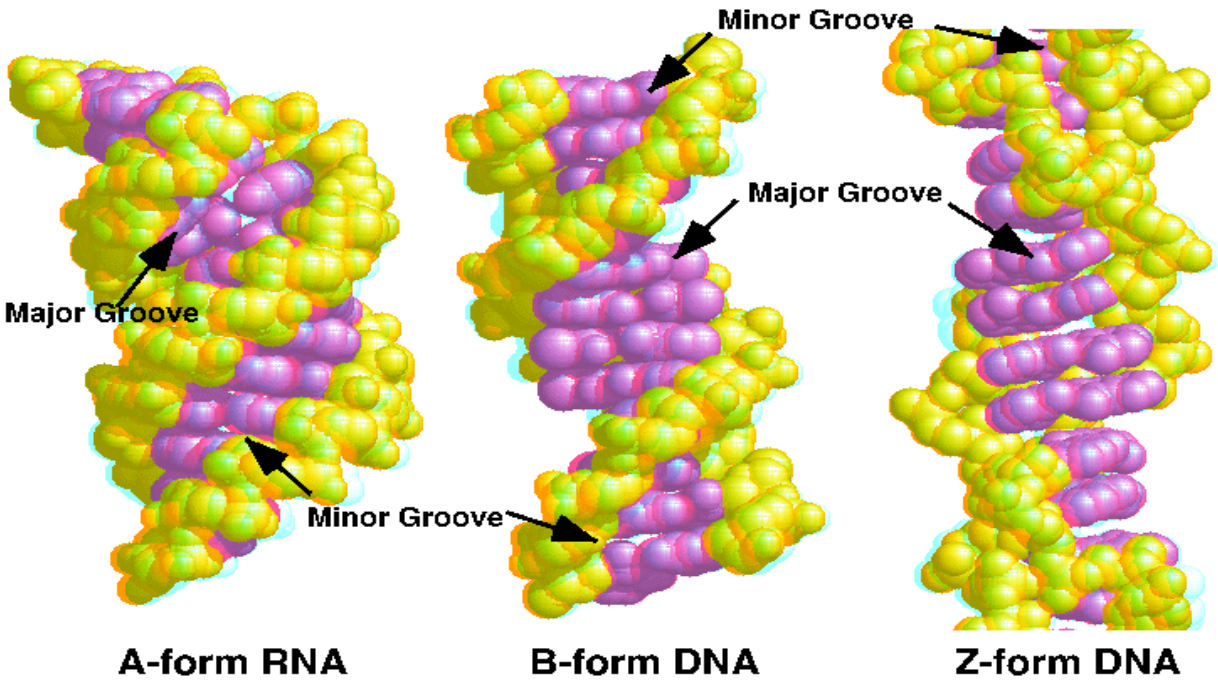


١٠- التركيب الأولى والثانوي للـ DNA: يتكون التركيب الأولي من الشريط المنفرد الذي يتألف من سلسلة من النيوكليوتيدات التي تبنى بالاتجاه 5'-3' وتمتاز بوجود أصره تساهمية فقط (Phosphodiester bond) اما التركيب الثانوي فيتألف من شريطي الدنا التي تمتاز بأنها Anti parallel double helix وتحتوي على الاصره الهايدروجينية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

١١- 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



١٢- **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.

١٣- يسمى الشريط ذو الاتجاه '3-'5 بـ sense اما ذو الاتجاه '5-'3 فيسمى بـ anti sense.

١٤- 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:

١- يكون مفرد الشريط عادتا 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.
٢- يحتوي في تركيبه على الرايبوز بدلا من الرايبوز منقوص الاوكسجين.
٣- لايحتوي في تركيبه على القاعدة النايتروجينيه الثايمين thymine بل يحتوي بدلا عنها على اليوراسيل Uracil .
٤- 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 boby 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)

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), "The Gene as the Basis of Life", Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة الرابعة : آلية تكرر الحامض النووي DNA

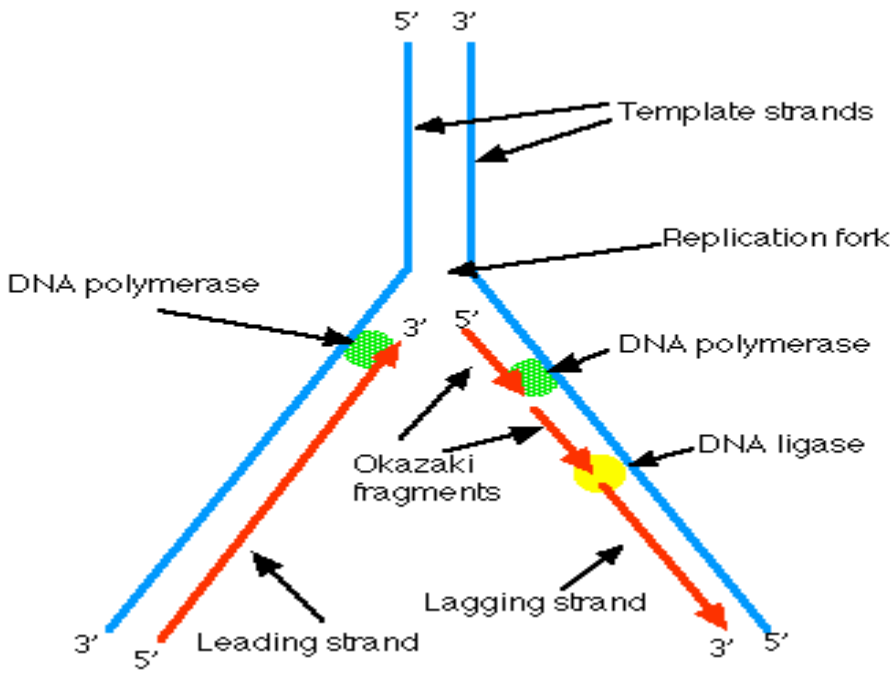
المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة الرابعة : آليات تكرر الحامض النووي DNA

بالرغم من أن آلية تكرر الحامض النووى الديزوكس ريبوزى Replication mechanism of DNA هى عملية بسيطة ، إلا أن عملية التكرر هذه تحتاج إلى تركيب متخصص يحتوى على عدد كبير من البروتينات والإنزيمات والتى تعمل مع بعضها البعض مثل الجهاز المتكامل مع بعضه ولذا يطلق عليها العلماء Replication machine . ويجب ملاحظة أن هناك بعض الفروق التى توجد بين الخلايا حقيقية النواة Eukaryotic Cells والخلايا بدائية النواة Prokaryotic Cells حيث أن درجة تعقيد الحامض النووى DNA تختلف فى كلا منهما. ففى الخلايا بدائية النواة يوجد الـ DNA على شكل خيط دائرى مفرد وغير مغلف بغشاء نووى . أما فى الخلايا حقيقية النواة فيوجد بداخل نواتها الكروموسومات وكل كروموسوم مفرد (فى الوقت الذى يكون فيه لا يتكرر) يحتوى على جزئ من حلزون مزدوج مكون من خيطين ملتفين حول بعضهما على شكل حلزون ومعهم كمية كبيرة من البروتين والحامض النووى الريبوزى RNA .

تتم عملية تضاعف DNA بعد فك الشريط باضافة القواعد النيتروجينية الى النهاية ٣ للباديء RNA الذي يكون وجوده ضروريا لعملية التضاعف. ان شريط DNA المتعرض للتضاعف ينفك الى شريطين يسمى الشريط الذي تتم مضاعفته بصوره كاملة اعتمادا على باديء من RNA بالشريط القائد Leading strand اما الشريط الاخر فيتم مضاعفته باستخدام عدة بواديء من RNA وتترك فواصل بينها يتم ملئها فيما بعد باستخدام الانزيمات الرابطة بحيث تتكون عدة قطع من DNA الجديد وهذه القطع تسمى قطع اوكازاكي Okazaki fragment ويسمى هذا الشريط Lagging strand بعد ان يتم مضاعفة القطع يتم ازالة بواديء RNA وربط القطع الناتجة واكمالها بفعالية الانزيمات الرابطة



ويجدر الإشارة أن الخيطين المكونين لجزئ DNA والملتفين حول بعضهما على شكل حلزون يجب أن يعودوا فى هذا الإلتفاف ليبتعد الخيطين المكونين للحلزون عن بعضهما أثناء عملية تكرر DNA . فكما ذكرنا من قبل عن نموذج واتسن وكريك للحلزون المزدوج المتكون من التفاف خطين DNA حول بعضهما مثل الحبل . ولو أردنا نزع (إبعاد) هاذين الخيطين عن بعضهما فلابد أن يلف أحدهما عكسيا حول الخيط الآخر . ويحفز عملية الإلتفاف لفصل خيطى DNA (المكملين لبعضها) إنزيمات تسمى DNA Helicase Enzymes والتى تنتقل على طول الحلزون وكلما إنتقلت لمكان على حلزون تقوم بفك الخيطين عن بعضهما ، وفى نفس اللحظة التى ينفصل فيها الخيطان عن بعضهما تقوم بروتينات يطلق عليها أسم Helix -Destabilzing Proteins بالارتباط على خيط DNA المفرد وذلك لتلافي ارتباطه مره أخرى بالخيط المكمل(لتكوين الحلزون مرة أخرى) حتى تتم عملية أخذ نسخة (صورة Copy) من كلا الخيطين . ولأن جزئيات DNA طويلة جدا ورفيعة لذا فيجب أن تتم هذه العملية بحيث تبقى الصفات المحمولة على جزئ DNA دون تغير. ولذلك فهناك إنزيمات متخصصة يطلق عليها Topoisomerases وهذه المجموعة من الإنزيمات تقوم بقطع الجزء من DNA ثم إعادة وصله (لحمه) مرة أخرى بعد إجراء عملية التكرر .

عملية تخليق DNA دائما تتم فى إتجاه 3→5-

الإنزيمات التى تحفز عملية ربط النيوكليوتيدات ببعضها يطلق عليها DNA Polymerases وهذه انزيمات لها عدة خصائص تجعلها موائمة لتخصصية عملية التكرر بمواصفات وحدود معينة ، فهى قادرة

على إضافة نيوكليوتيد Nucleotide فقط إلى النهاية 3 من الخيط متعدد النيوكليوتيد Ploynucleotide Strand والذى يتم تخليقة كنسخة من الخيط الأصلى (لاحظ أن النسخة التى يتم تخليقها تكون بها القواعد المكتملة للقواعد الموجودة بالخيط الأصلى)

وهناك نيوكليوتيدات Nucleotides تعرف باسم Nucleoside Triphosphates وهذه تستخدم كمادة لازمة لتفاعلات البلمرة Ploymerization Reactions ، وهذه الجزئيات مشابهة لحامل الطاقة ATP من ناحية أن كلا الجزيئين يحتوى على ثلاثة مجاميع فوسفات مرتبطة بذرة الكربون الخامسة بمجموعة السكر والقاعدة . ومع كل إرتباط عدد إثنين نيوكليوتيد مع بعضهما يتم نزع مجموعتين فوسفات من جزئ الـ Nucleoside Triphosphates .

ويجدر الإشارة أنه لأن سلسلة متعدد النيوكليوتيد Ploynucleotide Chain المخلقة تمتد لتطول بواسطة ربط Phosphate group `5 للنيوكليوتيد القادم بالـ Hydroxyl Group of the Sugar`3 عند نهاية الخيط . لذا فالخيط الجديد المخلق من DNA عادة ما ينمو فى اتجاه 3→5

الانزيمات المشاركة في عملية تضاعف DNA

يوجد الحامض النووي منقوص الاوكسجين في النواة بشكل مضغوط وملتف، تتطلب عملية التحضير للتضاعف مشاركة عدة بروتينات(انزيمات) لتساعد في فك الارتباط بين شريطي DNA وفك الالتفاف المضغوط للجزيء كله، هذه البروتينات تكون مهمه جدا للتضاعف خصوصا وان انزيم بلمرة DNA لايستطيع ان يتم عمله الا اذا كان الشريط مفرد، واهم البروتينات المشاركة في العملية هي

١- DNA topoisomerases &Helicases تساعد هذه الانزيمات في فك الارتباط بين شريطي DNA لايجاد قالب مفرد وتتناسب سرعة هذه الانزيمات مع سرعة تضاعف الحامض النووي

٢- DNA single stranded binding proteins ترتبط هذه البروتينات ب DNA مفرد الشريط كمعقد رباعي لتمنع عملية اعادة الارتباط التلقائي وتكون عملية التضاعف اسرع ١٠٠ مره بوجود هذه البروتينات

٣- DNA gyrase تعمل هذه الانزيمات على فك الالتفاف لشريط الحامض النووي الفائق الالتفاف الموجود في كائنات حقيقية النواة وبدائية النواة وبذلك تهيء العمل لانزيمات Helicase لايجاد خيوط مفرده من الحامض النووي وتعمل هذه الانيزات بسرعه فائقة

٤- DNA polymerases يمثل انزيم DNA polymerase I اول انزيم مكتشف يمتلك القدرة على بلمرة جزيء DNA وهو انزيم موصف بشكل جيد وتوجد ثلاث انواع من انزيمات بلمرة DNA في بدائية النواة هي DNA polymerase I,II,III لهذه الانزيمات ثلاث فعاليات رئيسية هي:-

a- 5' to 3' elongation (polymerase activity)

b- 3' to 5' exonuclease (proof-reading activity)

c- 5' to 3' exonuclease (repair activity)

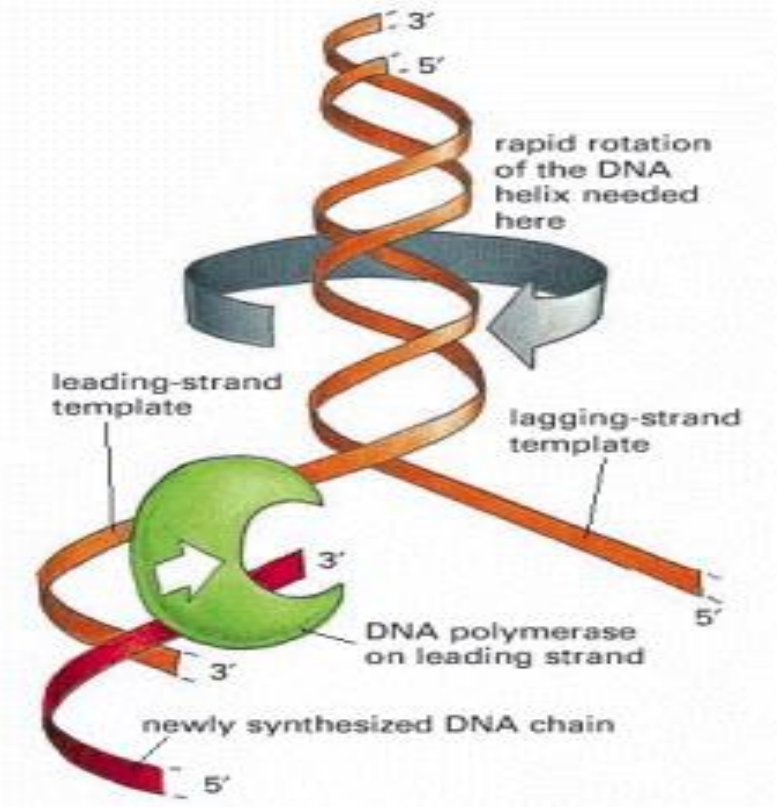
يساهم الانزيم المبلمر الثالث بشكل كبير في عملية تضاعف DNA في بدائية النواة ويضيف النيكوليتيدات الى قالب الحامض النووي بسرعة ١٠٠٠ نيكليوتيد في الثانية الواحدة وعادة ماتعمل فعالية التصحيح بالاتجاه 3→5 على تصحيح الاخطاء الناتجة اثناء عملية التضاعف بحيث من المحتمل ان تترك خطأ واحد لكل ١٠٠٠ قاعدة وبما ان الانزيم المبلمر قد يترك خطأ واحد لكل $١٠^{٦}$ لذا فان احتمالية وجود خطأ في عملية التضاعف في بدائية النواة قد يصل الى قاعدة واحدة خاطئة لكل $١٠^{٩}$ قاعدة متضاعفة

- في حقيقة النواة تتم عملية التضاعف بوجود انزيم DNA polymerase والذي يمتلك نفس فعاليات الانزيم المبلمر لبدائية النواة ولكن الانواع مختلفة فتوجد الانواع التالية **Pol α** **Pol ε**, **Pol β** , وتساهم هذه الانزيمات وخصوصا النوع **ε** في تضاعف المادة الوراثية لاغلب الكائنات كما تساهم الانزيمات الاخرى في تضاعف اجزاء من المادة الوراثية كما يوجد نوع يسمى **Pol γ** يضاعف المادة الوراثية للمايتوكوندريا

يتم التضاعف في حقيقية النواة بسرعة حوالي ٥٠ نيكليوتيد في الثانية الواحدة ولكن وجود عدد كبير من مناطق التضاعف يقلل من زمن التضاعف الكلي للكروموسوم كما ويجدر الاشارة الى انه كل كروموسوم يتضاعف على حدة وبشكل دقيق ولكن يتم اقتصاص الجزء الاخير من الكروموسوم في كل عملية تضاعف وهذا يحدد عمر الخلية وهذا مايسمى Telomer

٥- Primase ان عملية تضاعف الحامض النووي منقوص الاوكسجين تحتاج الى باديء صغير من RNA ويتم تصنيع هذا الباديء بفعالية هذا الانزيم لتوفير نهاية ٣ حرة لبدء عملية التضاعف

٦- DNA ligase يتم اعادة لحم قطع DNA المتكون بعد ازالة باديء RNA المستخدم في بدء عملية التضاعف وكذلك بعد ازالة بواديء RNA المستخدمة لتكوين قطع اوكازاكي في lagging strand باستخدام هذا الانزيم الذي يكون اصره ثنائية الاستر بين النهاية ٣ والنهاية ٥


3′
5′
rapid rotation of the DNA helix needed here
leading-strand template
lagging-strand template
3′
5′
DNA polymerase on leading strand
3′
newly synthesized DNA chain
5′

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), "The Gene as the Basis of Life", Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة الخامسة : أنواع RNA

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة الخامسة : انواع RNA

كما اسلفنا سابقا توجد ثلاث انواع رئيسية ل RNA وهي Messenger RNA, Ribosomal RNA and Transfer RNA وكل هذه الانواع تصنع من تتابعات من جزيء DNA وتساهم هذه الانواع في تصنيع البروتين ولكن لكل منها وظيفة مختلفة كما انها تختلف في تركيبها وطرق تصنيعها في بدائية النواة عن حقيقية النواة، لكن يبقى المبدأ الاساسي متشابه. تمت الاشارة سابقا الى تصنيع mRNA في بدائية النواة ويجب الاشارة الى ان عمر جزيئة mRNA المخلقه يكون قصير جدا في بدائية النواة وبعدها يتم تحطميها من قبل الخلية .

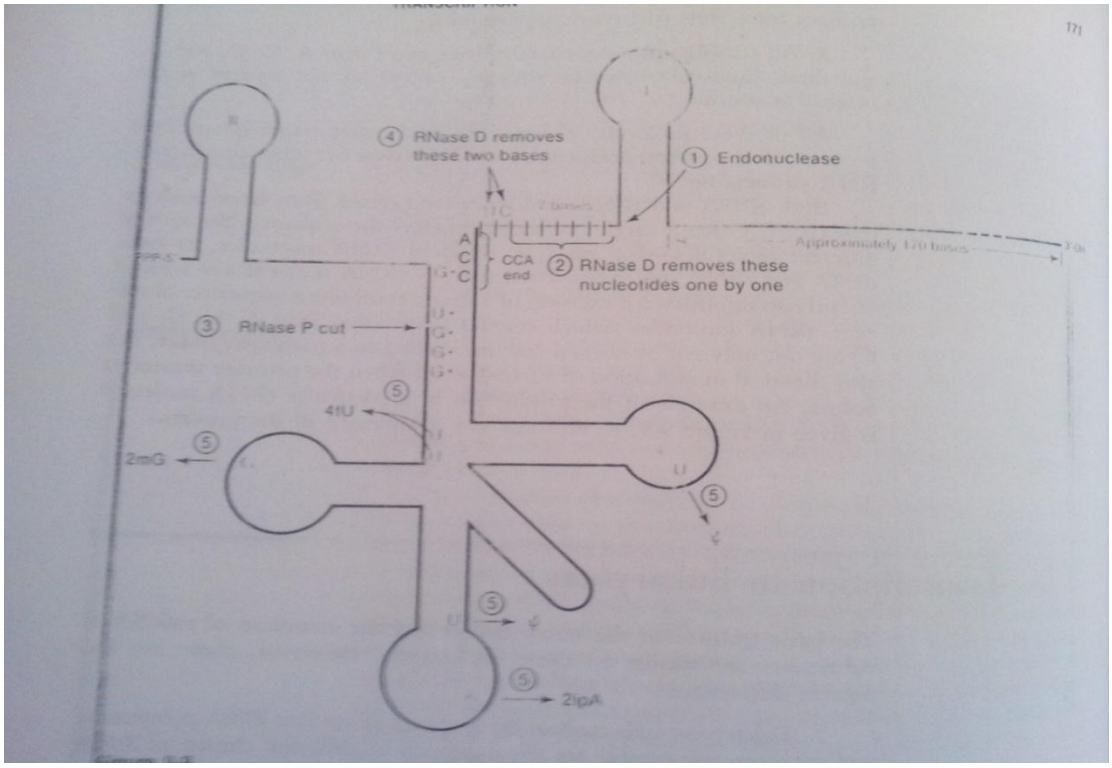
خلال عملية تصنيع البروتين يلعب mRNA دور مهم كقالب يقرأ بشكل شفرات تدعى Codons ولكن تساهم انواع اخرى من RNA في العملية . فمصنع البروتين الرايبوزومات ribosomes يتالف من مجموعه من البروتينات مع ثلاث انواع من RNA يدعى rRNA والذي يكون جزيئه ثابتة كما ان الاحماض الامينية التي تشكل البروتين اعتمادا على قالب من mRNA لاتترتب بشكل عشوائي ومستقل على هذا الشريط وانما تكون محمولة على ٥٠ جزيئه محوره من RNA يدعى بالناقل tRNA ويكون هذا النوع ثابت ايضا .

كل جزيئة tRNA تكون قادره على قراءة ثلاث قواعد على mRNA وتضع مقابلها الحامض الاميني المناسب في الرايبوزوم وتتكون اصره ببتيديه مع الحامض الاميني الاخر ، ولا يستخدم tRNA او rRNA كقالب ابدا. وسيتوضح دور هاتين الجزيئتين من RNA لاحقا في عملية تصنيع البروتين ولكن هنا نناقش طريقة تصنيع كل منهما . يتم تصنيع tRNA , rRNA بشكل مشابه لجزيء mRNA حيث يبدأ بالحفاز وينتهي بالمنهي ولكن بعض التحويرات تلعب دور مهم في عدم استخدام هذين الجزيئين كقالب ومن هذه التحويرات

١- يكون كل منهما منتهي بجزيئه محوره تحوي في نهايتها 5 على 5-monophosphate والذي يختلف عن 5-triphosphate في جزيء mRNA
٢- كل من tRNA, rRNA يكون صغير جدا مقارنه بالجزيء mRNA المستخدم كقالب
٣- يحوي الجزيء tRNA عادة على قواعد تختلف عن البقية A,G,C and U حيث يوجد فيه قواعد غير اعتيادية Unusual bases ولا توجد في القالب

كل هذه التحويرات تجرى بعد عملية الاستنساخ بعملية تدعى تحويرات مابعد الاستنساخ posttranscriptional modification او تدعى عملية معالجة RNA processing

كل من tRNA و rRNA يقطع من نسخ اولية كبيرة، وربما تكون هذه النسخ تحوي على عدة انواع من tRNA و rRNA مرة واحدة . يكون تصنيع rRNA ناتج من عملية تقطيع لجزيئة واحده . جزيء tRNA الذي يحوي قواعد اضافية محورة يتم تحويره لاحقا وتلعب عدة انزيمات دور في عملية التحوير وعملية اعطاء الشكل النهائي لهذا الجزيء الناقل



Stage of processing of tRNA in *E. coli* , there are five stages, in stage no. 3 genarate 5-P end, this step catalyzed by RNase P which is ribozyme(unusual RNA enzyme) step 4 generate 3-OH end (CCA end) . In step 5 six bases all in or near loops of tRNA are modified to form pseudouridine (ψ), 2-isopentenyladenosine(2ipA). 2-o-methylguanosine(2mG) and 4-thiouridine(4tU)

الاستنساخ في حقيقية النواة

تمتلك كائنات حقيقية النواة جينات اكثر بعشر مرات تقريبا من كائنات بدائية النواة ، وتكون عملية التنظيم فيها معقدة وفيها بعض الاختلافات، وتمتلك الكائنات حقيقية النواة ثلاثة انواع من .RNA pol وتنسخ هذه الانواع

الثلاثة مختلف انواع جزيئات RNA كما وتمتلك البلاستيدات الخضراء والمايتوكوندريا .RNA pol خاص بها يكون مشابه لذلك الموجود في البكتريا

تكون العمليات الاساسية لاستنساخ الجين في حقيقة النواة هي نفسها في بدائية النواة ولكن توجد بعض الاختلافات منها

١-تمتلك الخلايا حقيقة النواة ثلاث انواع من .RNA pol لكل منها وظيفة خاصة

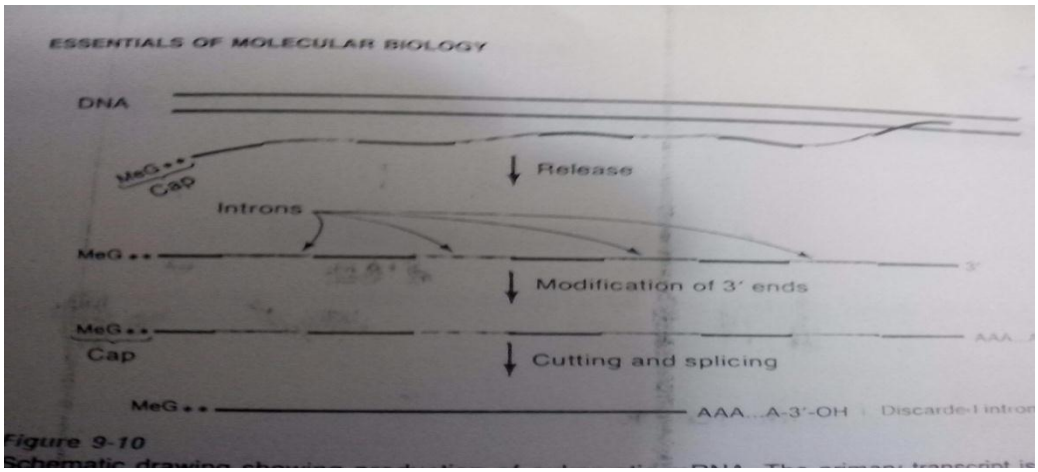
٢- يكون عدد من mRNA في الحقيقية النواة طويل العمر

٣-تتحور كل من النهاية 5 و 3 حيث يضاف تركيب معقد يدعى القبعة cap الى النهاية ٥ ويضاف حوالي ٢٥٠ نيوكليوتايد من نوع A الى النهاية ٣

٤-يكون mRNA المستخدم كقالب لبناء البروتين حوالي عشر من طوله الاصلي عندما يستنسخ فخلال عملية معالجة ال RNA يتم ازالة تسلسلات داخلية في النسخة تدعى الانترونات introns وتربط بعدها القطع المشفره التي تدعى الاكسونات Exons

٥-كل جزيئات mRNA في الحقيقية النواة تكون من النوع المفرد monocistronic

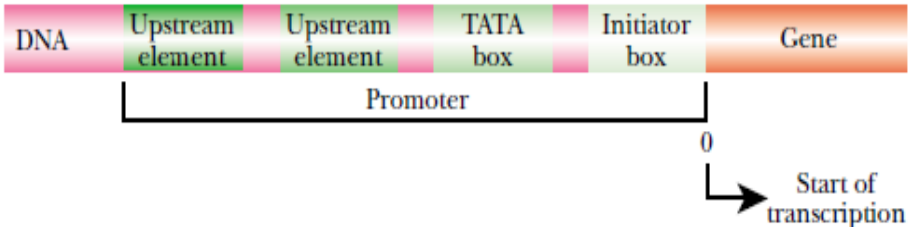
ويوضح الشكل التالي عملية الاستنساخ في حقيقية النواة وكيف يتم معالج النسخة ليتم اخراج mRNA بصيغته النهائية



تكون عملية بداية الاستنساخ في حقيقية النواة من منطقه10- وكلن التسلسل غالبا مايكون TATAAAA كما ويوجد مناطق تنظيمية اعلى منطقة الحفاز للمنشطات والمثيرات activator and enhancer وتوثر هذه المناطق في كفاءة عملية بدء الاستنساخ.

يتالف الحفاز في حقيقية النواة من ثلاث مناطق اولها صندوق البداية initiator box والثاني TATAAA box والثالث upstream elements . يكون صندوق البداية في بداية استنساخ الجين وعادة مايكون اول

قاعدة مستنسخه في شريط mRNA هي A محاطة بالبرميدين من كلا الجانبين . يبعد TATA box حوالي ٢٥ قاعدة اعلى التيار من صندوق البداية ويكون غنيا بتسلسلات A and T والتي يتم التعرف عليها بواسطة بروتينات محددة تدعى TATA binding proteins or TATA box factors وعلى كلا جانبي هذه المنطقه تتواجد تسلسلات متعاقبة من GC .

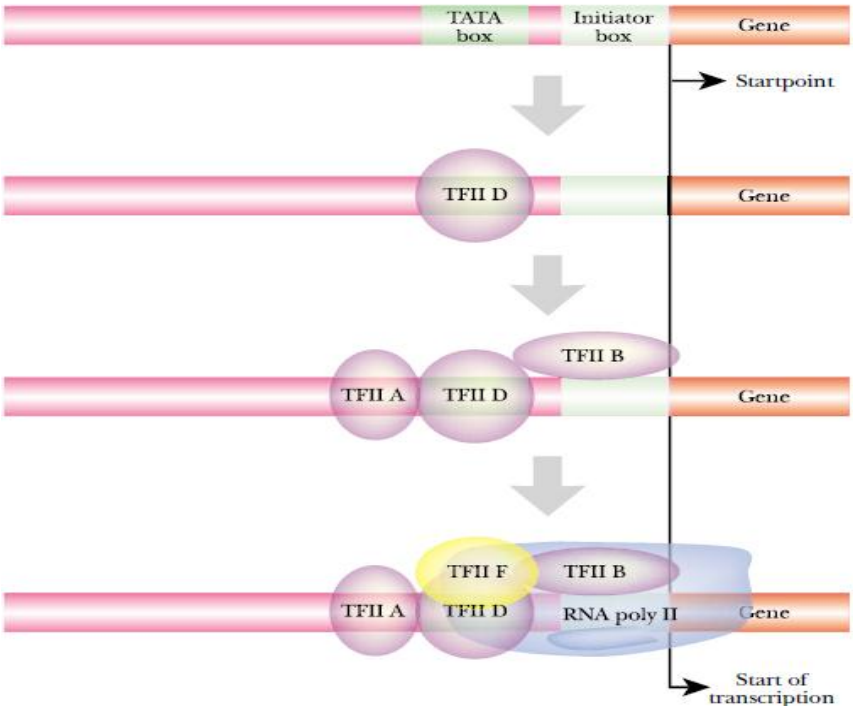


The promoter for RNA polymerase II has an initiator box at the start site and a TATA box slightly upstream of this. Further upstream there are normally several upstream elements (two are shown here).

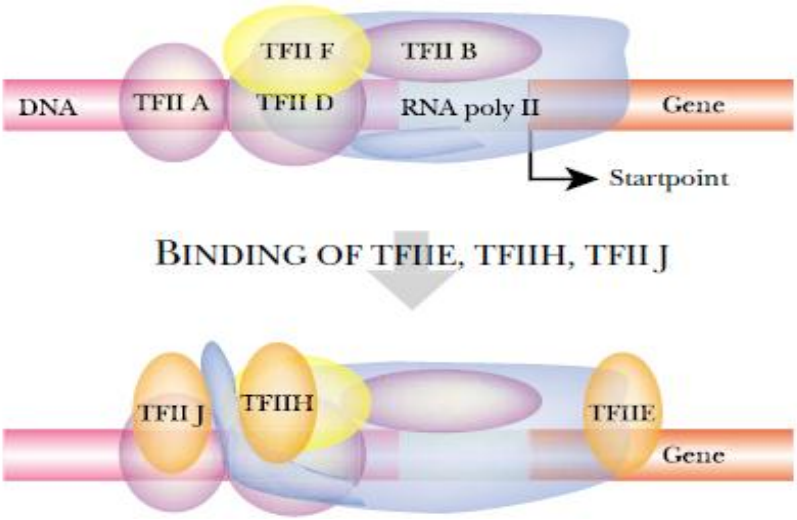
توجد ايضا مناطق لارتباط انواع معينه من البروتينات تدعى بعوامل الاستنساخ transcription factors تزيد من كفاءة الاستنساخ في الحفازات القريبة منها ، في بعض الاحيان تبعد بعض الحفازات مسافات بعيدة عن المثير بحيث يفصل بينهما ٢٠٠٠ الى ٣٠٠٠ قاعدة، توجد عدة انواع من عوامل الاستنساخ وتقسم الى خاصة وعامة حيث تعمل العامة منها مع كل الجينات ومع اي من انواع .RNA pol الموجود في الخلية ، اما الخاصة فتقسم الي TFI,TFII, and TFIII ومن خلال تمسيتها فان لكل منها عمل مرتبط بنوع محدد من .RNA pol وحسب نوع الانزيم .

توجد انواع متعددة من عوامل الاستنساخ للجينات المترجمة في حقيقية النواة حيث سميت هذه العوامل بالحروف تسهيلا لمعرفة ادوراها حيث يترتبط TFIID ليسهل عملية التعرف على الحفاز ويرتبط بعده TFIIA, TFIIB وبعد ان يصل انزيم RNA pol.II لمنطقة الحفاز يحتاج لارتباط عامل اخر TFIIF وهنا تبدأ عملية الاستنساخ ولكن ليس للانزيم القدره على التحرك باتجاه الامام .ترتبط عوامل اخرى TFIIH,TFIIE, an TFIIJ بالمعقد لتبدأ عملية الاستطالة لشريط mRNA المخلق وتوضح الاشكال اللاحقة تفاصيل عملية بدء واستطالة شريط mRNA في حقيقية النواة ودور عوامل الاستنساخ

١

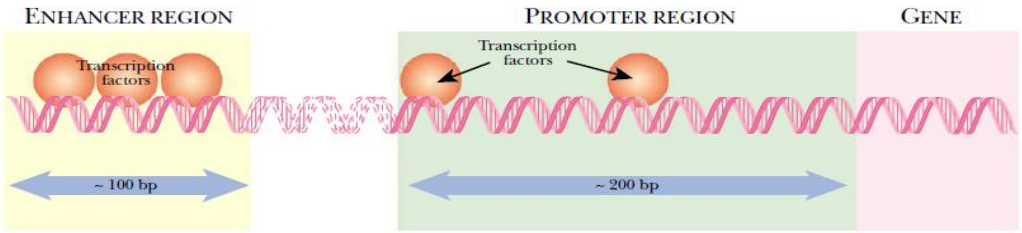


٢



يتم استنساخ الجينات الوضيفية المترجمة في حقيقية النواة بفعل RNA pol.II ويتطلب هذا فعل عدد من بروتينات الاستنساخ ، وتختلف هذه البروتينات من خلية لاخرى وحسب الظروف ، وهذا ناتج ان الخلايا في الانسجة المختلفة متخصصة لنشاطات معينة كما ان نفس الخلايا ونفس الجين قد يختلف من مرحلة لاخرى فالهيموكلوبين في الاطفال يختلف عنه في الكبار وهذا يتطلب عوامل استنساخ مختلفة.

ترتبط عوامل الاستنساخ بال DNA بمناطق مختلفة وقسم منها يكون في منطقة الحفاز فيما يكون القسم الاخر في منطقة المثير enhancer



Although one RNA polymerase is used to transcribe most protein encoding genes, specificity is controlled by transcription factors and their recognition sequences. The promoter region is close to the start site and usually binds several transcription factors. In addition, extra transcription factors bind to regions known as enhancers. These may be far upstream of the promoter, as shown, or may be located downstream. Binding of the transcription factors to their recognition sequences influences polymerase activity and gene expression.

يرتبط ال DNA في حقيقية النواة ببروتينات قاعدية تدعى الهستونات في تركيب متكامل يدعى الكروماتين . وهذا التركيب يجعل عملية الاستنساخ في حقيقية النواة معقدة اكثر من بدائية النواة ، وعملية التنظيم الجيني للاستنساخ لم يتم فهمها بالكامل في حقيقية النواة ولكن من المعروف ان تركيب الكروماتين يتغير اثناء عملية الاستنساخ.

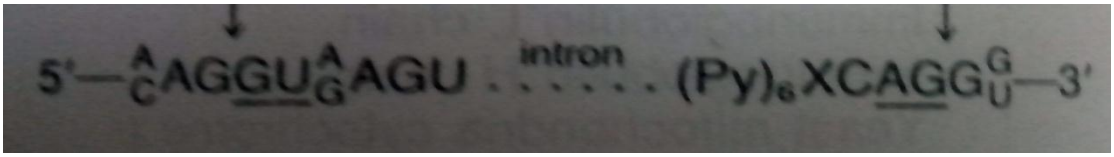
تتحور النهاية ٥ في mRNA فيضاف لها القبعة cap والتي تحمل جزيئة 7-methylguanosine والتي تمثل ارتباط غير طبيعي للقاعدة كوانين في نهايتيها ٥ ، وتتم عملية وضع القبعة بعد بداية الاستنساخ مباشرة وقبل ان يغادر انزيم .RNA pol موقع بداية الاستنساخ . ويعتقد ان لهذا التركيب دور مهم في حماية mRNA من عملية التحلل ولها دور في عملية الصنع الصحيح للبروتين اثناء عملية الترجمة.

في اغلب الخلايا الحيوانية يتم اضافة متعدد الادنين الى النهاية ٣ من جزيئة mRNA ، تتم عملية الاضافة قبل معالجة جزيئة mRNA ويكون الانزيم المسؤول عن هذه الاضافة هو poly (A) polymerase ، تكون هذه العملية مسيطر عليها حيث يتم اضافة قواعد من A الى النهاية ٣ اذا كانت تحتوي على التسلسل AAUAA حوالي ١٠-٢٥ قاعدة قبل نهاية شريط mRNA ويكون طول هذه الاضافة متغيرا حسب الجين حيث تتروح من ٥٠-٢٥٠ قاعدة وتلعب دور في استقرارية جزيئة mRNA وفي تحفيز عملية الاستنساخ.

اغلب الكائنات الراقية تحتوي في النسخة الاولية على مناطق غير مشفرة تدعى الانترونات والتي تكون متداخلة مع المناطق المشفرة ، والتي تزال اثناء عملية نضج جزيئة mRNA ويتروح حجم المناطق المزالة بين ٥٠%-٩٠% من حجم الجزيئة الاولية . ترتبط المناطق الباقية والتي تدعى الاكسونات مع بعضها البعض لتكون جزيئة mRNA الناضجة. تدعى عملية ازالة الانترونات وربط الاكسونات بعملية تقطيع mRNA او RNA splicing

يختلف عدد الانترونات من كائن لاخر حتى وان كان نفس الجين والانترونات تختلف في حجمها وعادة ماتكون اكبر من الاكسونات وتتم عملية التقطيع في النواة وبعد اضافة تركيب القبعة ومتعدد الادنين ولهذا فان النواة عادة ماتكون محتويه على اكثر من نوع من mRNA للجين الواحد. يكون تقطيع الانترونات واحد تلو الاخر ولايتم تقطيع الانترون التالي الا بعد عملية ربط الاكسونات الناتجة من التطقيع الاول ولذلك يكون في النواة عادة عدد كبير من RNA لنفس الجين في كل حالة ويكون جزيء RNA في هذه الحالة متغاير ويدعىHn RNA (Heterogenous RNA) وبعد ان تتم عملية المعالجة يصدر mRNA الناضج الى السايتوبلازم لتتم عملية الترجمة ولا احد يعرف لماذا لايخرج الجزيء الغير الناضج او الغير معالج.

تكون عملية المعالجة دقيقة جدا في عملية ازالة الانترونات وربط الاكسونات لان التغير في تسلسل الاكسونات يسبب تغير في شفرة القراءة وبذلك تسبب تغير كامل في تركيب البروتين. وفي اغلب الجينات المدروسه وجد انه عملية التقطيع تتم في اماكن محددة بتسلسل معين وكالتالي



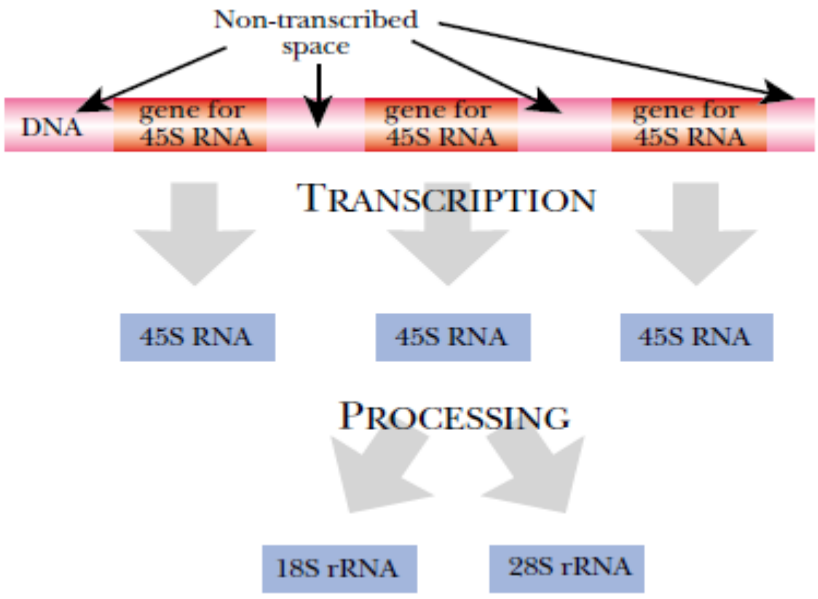
حيث تمثل py اي قاعدة من البرميدينات وx هو اي قاعدة والسهم هو مكان القطع. اما القواعد التي تحتها خط فتم ملاحظتها في كل الانترونات وقد توجد بعض التغيرات في الاماكن الاخرى من جين لاخر.

في النواة يكون المولد ل mRNA اي الغير معالج متصل ببروتينات معينة معطيا تركيبا يدعى ribonucleoprotein particle (RNP) وفي عملية التقطيع للنسخة الاولية تعطي تراكيب متغايرة متصله بالبروتينات تدعى HnRNP . وتتم عملية تقطيع RNA في تراكيب محددة تدعى spliceosomes وتتكون هذه التراكيب في مواقع القطع بتداخل عدد من البروتينات النووية الصغير(small nuclear ribonucleoproteins(snRNP$_s$ويكون المكون الرئيسي ل snRNP على الاقل واحد من snRNA ولكل snRNP وظيفه مختلفه فمثلا 165 nucleotide U1 snRNA يرتبط بالنهاية ٥ للانترون فيما يرتبط U5 snRNA بالنهاية ٣ للانترون وتتم عملية التقطيع.

لايعرف دور محدد للانترونات خصوصا وان حجم الانترونات اكبر كثيرا من الاكسونات ولكن وجد له دور كبير في بعض الفايروسات حيث يتغير نوع البروتينات المنتجة بتغير عملية التقطيع والربط ولكن لم يتم ملاحظة هذه العملية كثيرا في الكائنات الراقية.

-تتم عملية استنساخ rRNA في حقيقية النواة بشكل نسخ متعددة وبعدة مئات وتشكل مناطق هذا الجين مكررات متعددة متوزعة على خمس كروموسومات في الانسان . يستنسخ 18S rRNA و 28S r RNA بشكل نسخة واحدة كبيرة من من الحامض الرايبوزي 45S RNA والتي تتقطع فيما بعد لتكون كل من 28S and 18S وتوجد بينهما مناطق غير مفيدة بشكل انترونات تزال لتعطي نسخة ناضجة تقطع بعد ذلك الى وحدات رايبوزية ويتم هذا بفعل الانزيم RNA pol. I . يكون تصنيع rRNA في النوية ويرتبط الكروموسوم بالنويه بموقع محدد يحتوي على الجينات الخاصة بالرنا الرايبوزي وقد يظهر هذا التركيب تحت المجهر بشكل بقعه داكنه لاتصال الكروموسوم بالنوية وتدعى منطقة الاتصال nucleolar organizer.

يقوم الانزيم RNA pol. III بنسخ 5S rRNA وtRNA ويكون هذا الانزيم ايضا snRNA والحفاز لهذين الجينين يكون متوافق لاغلب الكائنات ، وتتم هذه العملية بمساعدة بروتينات محددة تدعى TFIIIC and TFIIIA والتي ترتبط على بعد ٥٠ قاعدة قبل الحفاز منشطة بذلك ارتباط TFIIIB على الحفاز ليتم ربط RNA pol. III بالحفاز وتتم عملية الاستنساخ.



المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), “The Gene as the Basis of Life”, Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة السادسة : تعبئة الأحماض النووية

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة السادسة : 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 لايمكن رؤيته بالعين المجردة وبذلك يكون الجواب هو التعبئة الخاصة للـ DNA في الكرموسوم البشري.

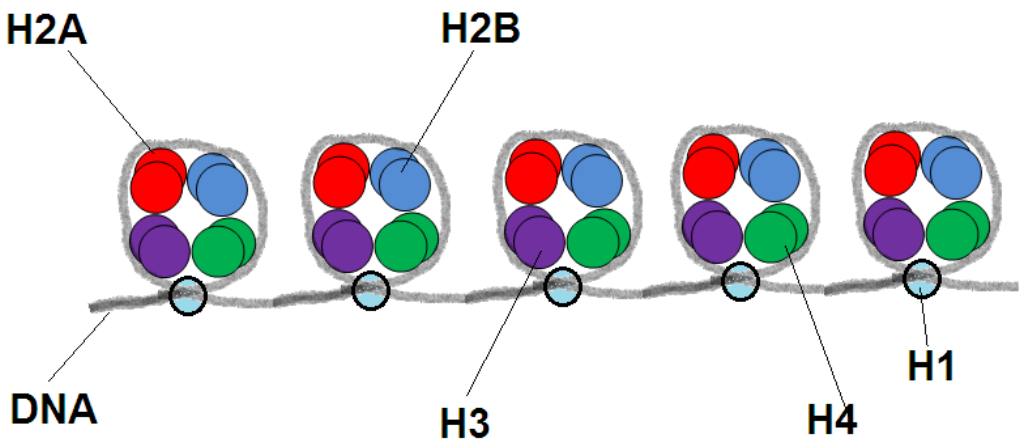
تركيب الكرموسوم البشري Human Chromosome Structure :

يتألف الكرموسوم من ذراعين وقطعه مركزيه. الذراع القصير Short arm ويسمى ب p arm والذراع الطويل Long arm ويسمى ب q arm وتسمى القطعة المركزية ب Centromere . كيميائيا يتركب الكرموسوم من حامض نووي منقوص الاوكسجين DNA وبروتين الهستون Histon. بالنسبة إلى تركيب الـDNA تطرقنا له بإسهاب في المحاضرة السابقة اما الهستون فهنالك خمسة أنواع من الهستون هي H1, H2A, H2B, H3, H5 يسمى كل من H2A, H2B, H3, H5 بهستون اللب Core Histon ؟ اما H1 يسمى بالهستون الرابط Linker Histon؟

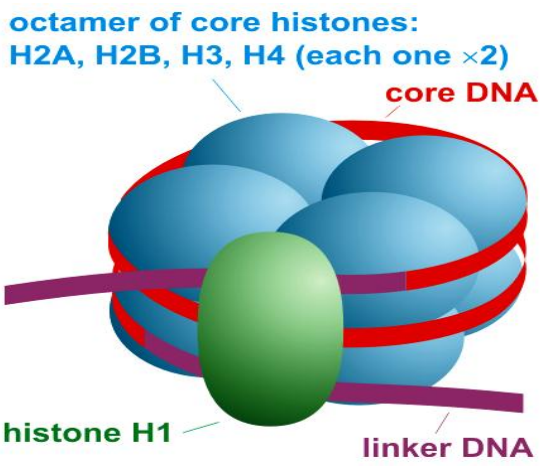
<u>اولا: تعبئة الدنا DNA في كروموسوم حقيقية النواة Eukaryote DNA packing</u>

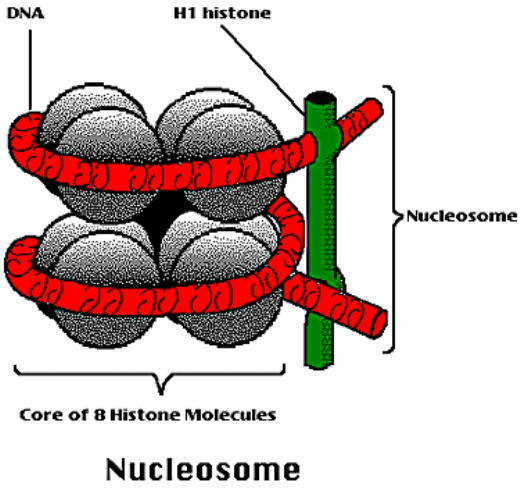
إن تعبئة الدنا (DNA) في كروموسوم حقيقية النواة تكون كمايلي:

١- تتجمع وحدتين لكل من H2A, H2B, H3, H5 وتكون مايسمى 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 ١٠ نانوميتر و تكون بشكل حبات او

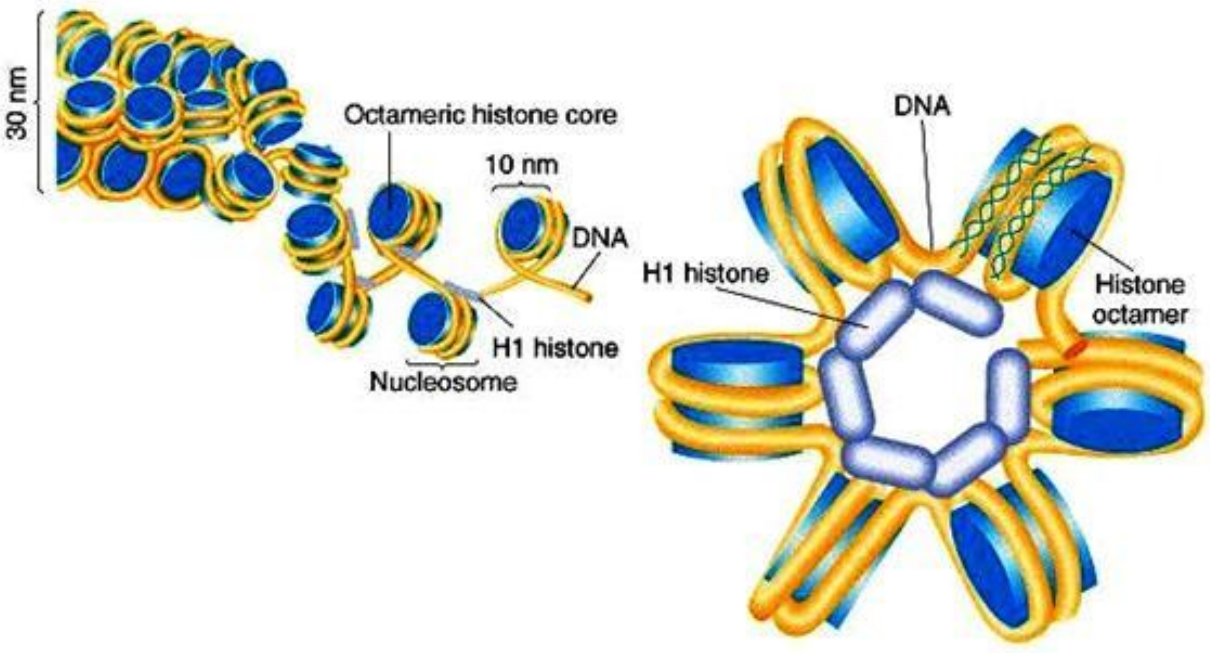


خرزات المسبحة على جزيئة الدنا وكما موضح بالشكل ادناه:





٢- تتجمع كل ستة نيوكليوسوم لتشكل شكل اسطواني يسمى بSolenoid structure والذي يكون قطرها 30 نانوميتر



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

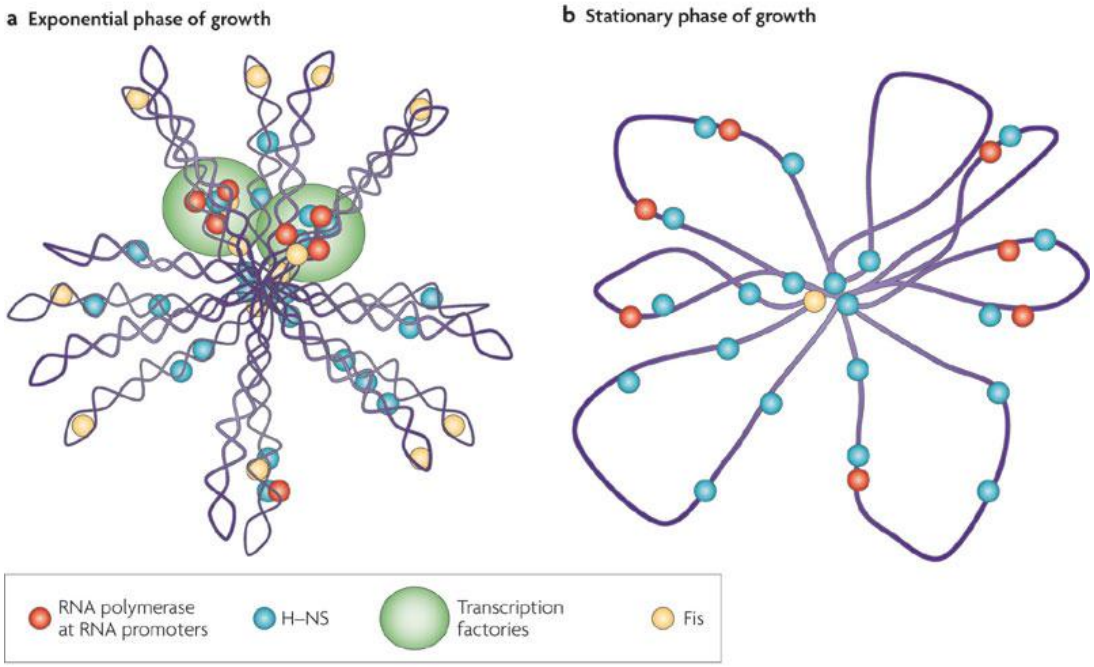
من الجدير بالذكر ان طبيعة المادة الوراثية في الكائنات بدائية النواة اقل تعقيدا مما في حقيقية النواة وفيما يخص تعبئة الدنا في بدائية النواة فانه يحصل لكن بدرجه اقل من التعقيد مما في حقيقة النواة حيث تتم العملية بارتباط بروتينات شبيهه بالهستون تسمى مجتمعة بـ Histon like protein كما في HU protein وN-HS 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 مباشرتا.

هنالك نوعين من الـ Supercoiling :

Solenoid structure (30nm)

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

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



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

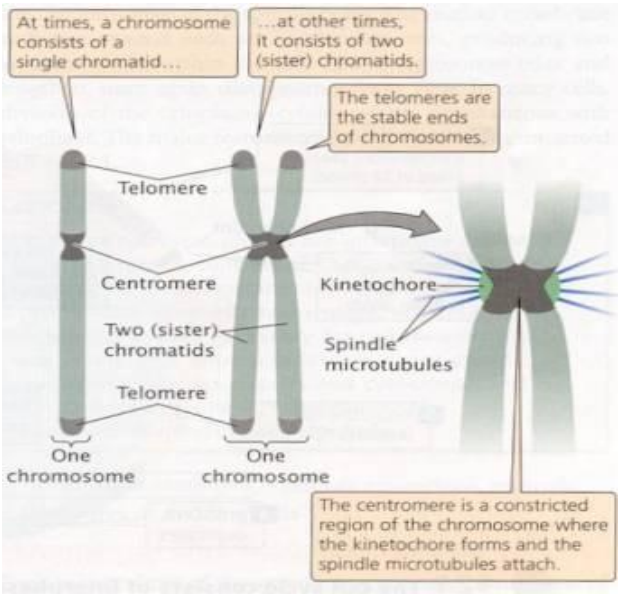
Prokaryotic Chromosomes	Eukaryotic Chromosomes
1-Many prokaryotes contain a single circular chromosome.	1-Eukaryotes contain multiple linear chromosomes.
2-Prokaryotic chromosomes are condensed in the nucleoid via DNA supercoiling and the binding of various architectural proteins.	2-Eukaryotic chromosomes 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.

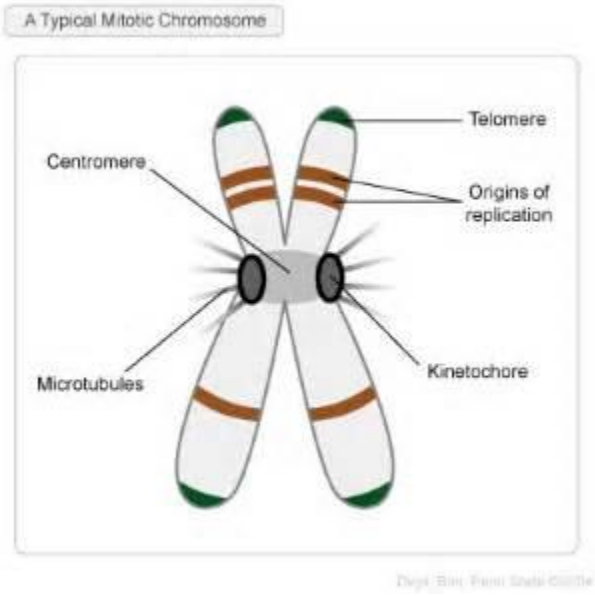
ثالثا: تركيب الموروثه في حقيقية النواة Eukaryote Gene Structure :

تعرف الموروثه او الجين على إنها اصغر وحده تركيبه تحمل المعلومات الوراثية. اول من اكتشف الجين هو العالم جورج مندل بين سنة ١٨٥٧ و ١٨٦٤. 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 محموله على الكرموسوم وبالنسبة للإنسان فهنالك ٢٣ زوج كرموسومي (منها ٢٢ زوج تسمى الكرموسومات الجسميه وزوج واحد يسمى بالكر موسومات الجنسية وهي X و Y). من حيث الشكل كل هذه الكرموسومات تكون بشكل غير حلقي او ماتسمى خطية Linear وتحتوي في نهاياتها على تسلسلات متكرره repetitive sequence من الـ GGGATT وتسمى هذه المنطقة بالتلومير Telomere.

ماهي فائدة منطقة التلومير للكروموسوم؟





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

١- 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 .

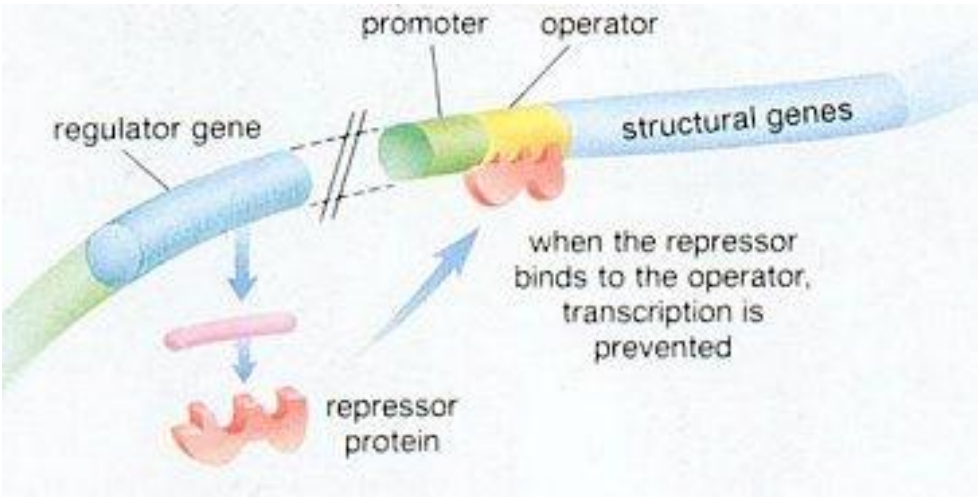
تحتوي منطقة المحفز على تسلسل يسمى ب TATA box وهو التسلسل الذي يرتبط عنده معقد انزيم RNA polymerase II لبدء استنساخ الدنا لتكوين الـ mRNA .

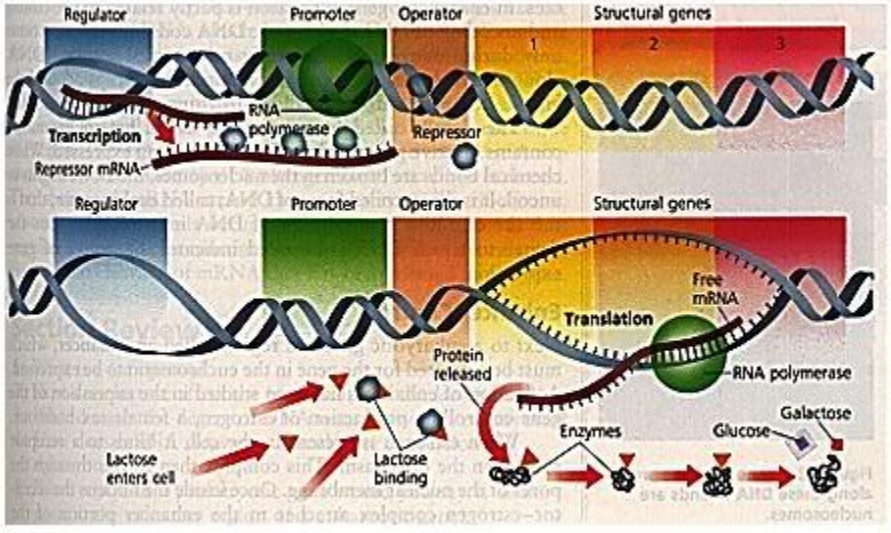
٢- منطقة المشغل Operator:

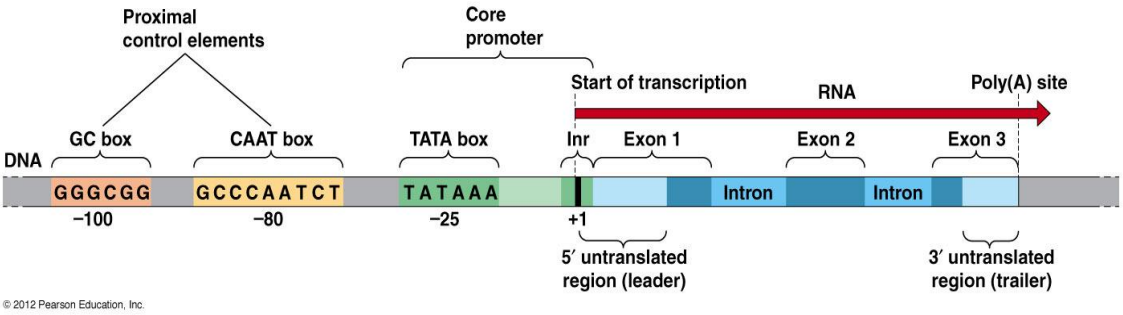
وهي المنطقة التي يرتبط عندها مثبت عملية الاستنساخ Repressor .

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

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







ثالثا: تركيب الموروثه 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:

١- لايحتوي على الانترون Intron

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

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), "The Gene as the Basis of Life", Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة السابعة : الفكرة المركزية للبايولوجي الجزيئي وعناصرها

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة السابعة: الفكرة المركزية للبيولوجي الجزيئي وعناصرها Central Dogma of Molecular Biology

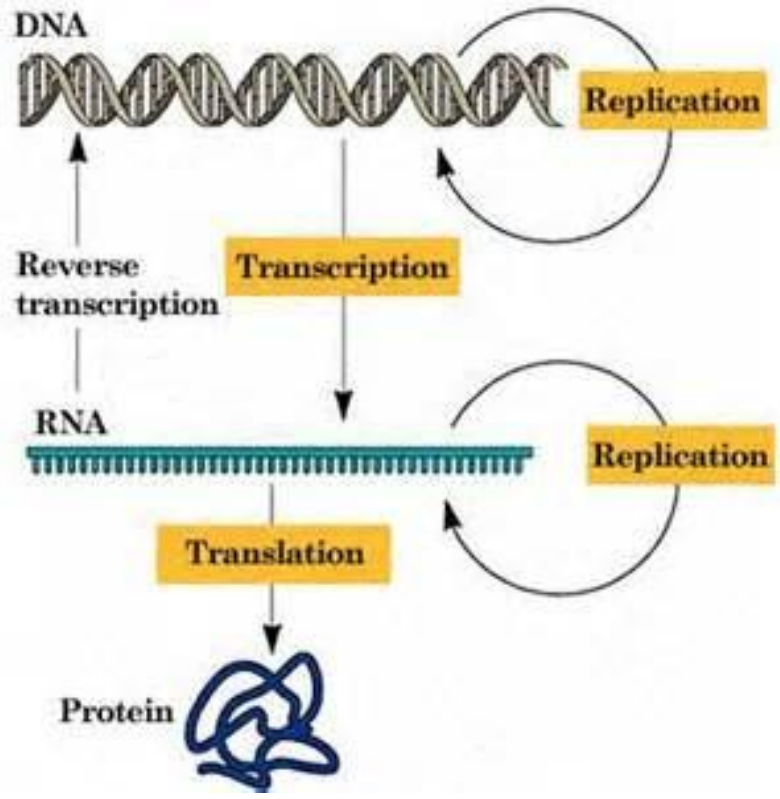
تعرف الـ Central dogma على أنها توضيح او تفسير لانسياب المعلومات الوراثية خلال الأنظمة الحياتية وتشمل:

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

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

٣- عملية صنع البروتين Translation.

ويمكن توضح الـ 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:

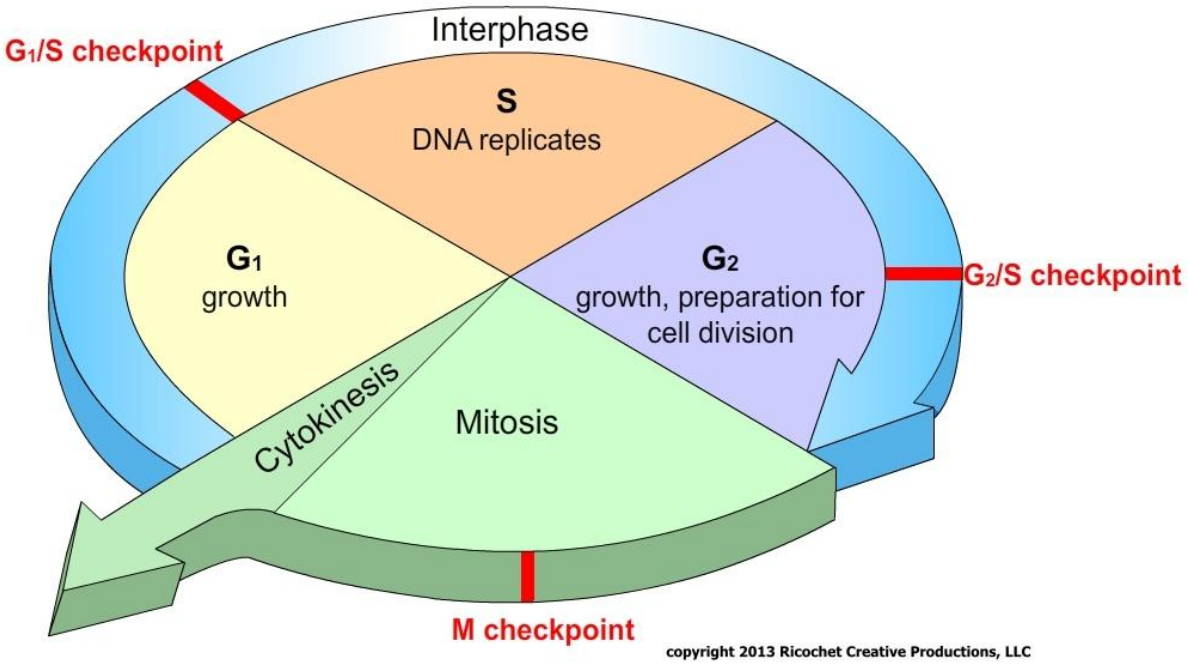
قبل البدء بالحديث عن هذه العملية يجب الإجابة على التساؤلات التالية:

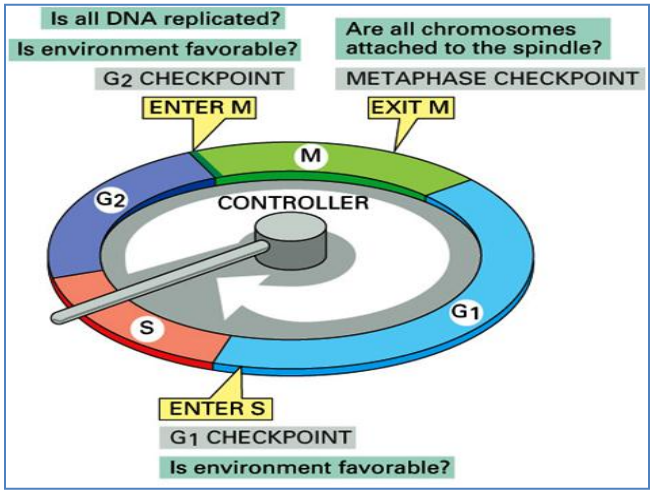
متى تحدث عملية التضاعف؟

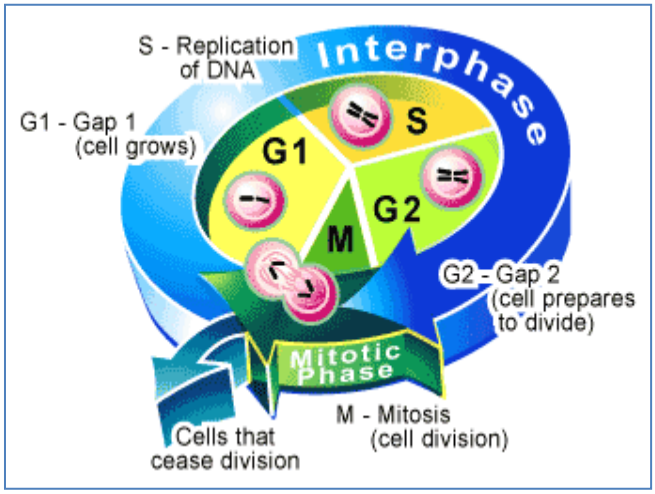
هل هي عملية عشوائية غير مسيطر عليها؟

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 استعداد للانقسام الخلوي وتحدث في طور التصنيع Synthesis phase ويرمز له S phase وهو من الأطوار الثانوية للطور البيني وكما موضح بالمخططات ادناه:





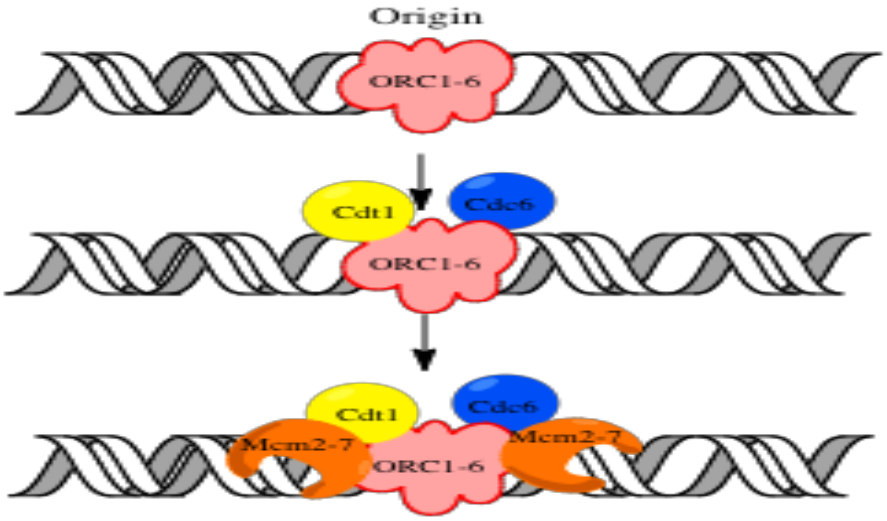


تحدث هذه العملية في النواة والمايتوكوندريا (في حقيقية النواة) وفي المنطقة النووية Nucleoid في بدائية النواة. ويمكن تلخيص خطوات عملية التضاعف بمايلي:

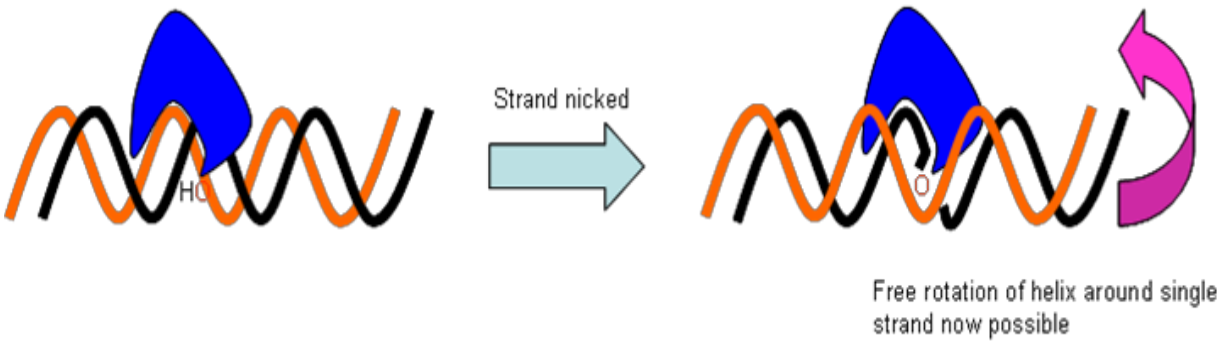
١- **تميز منشأ التضاعف** Origin of Replication Recognition:

تسمى المنطقة التي يبدا عندها التضاعف بـ Origin of Replication ويمز لها في الكروموسوم بـ OriC او 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 المنطقه انها غنيه بالازواج القاعديه AT ؟

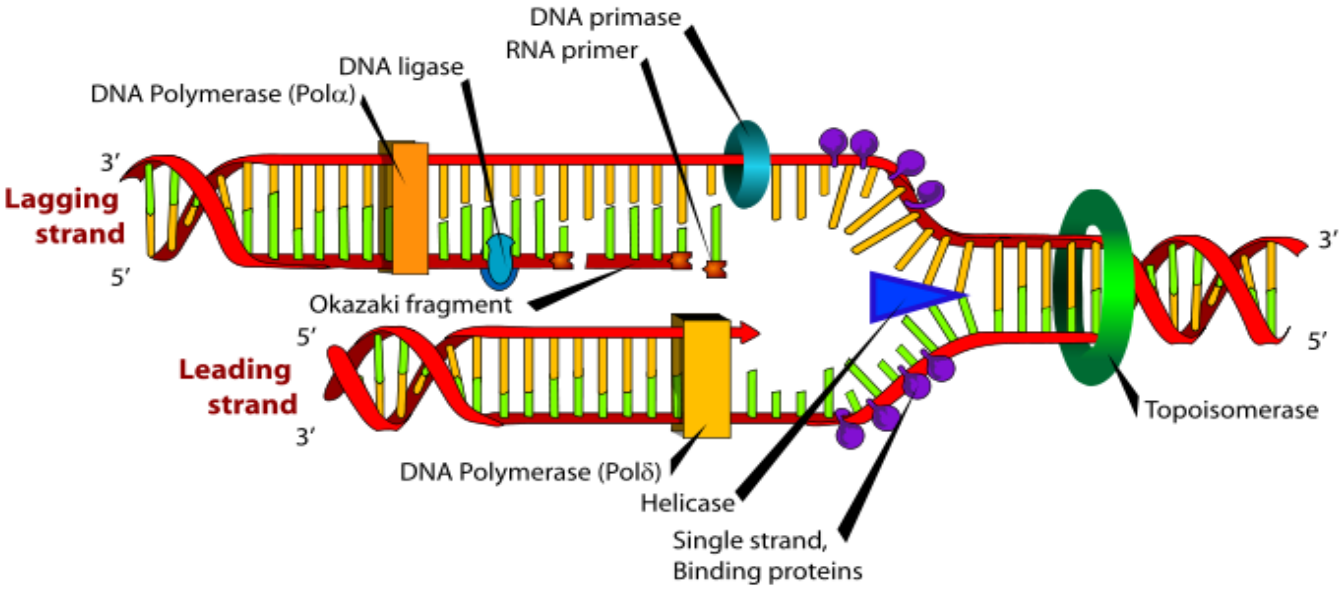


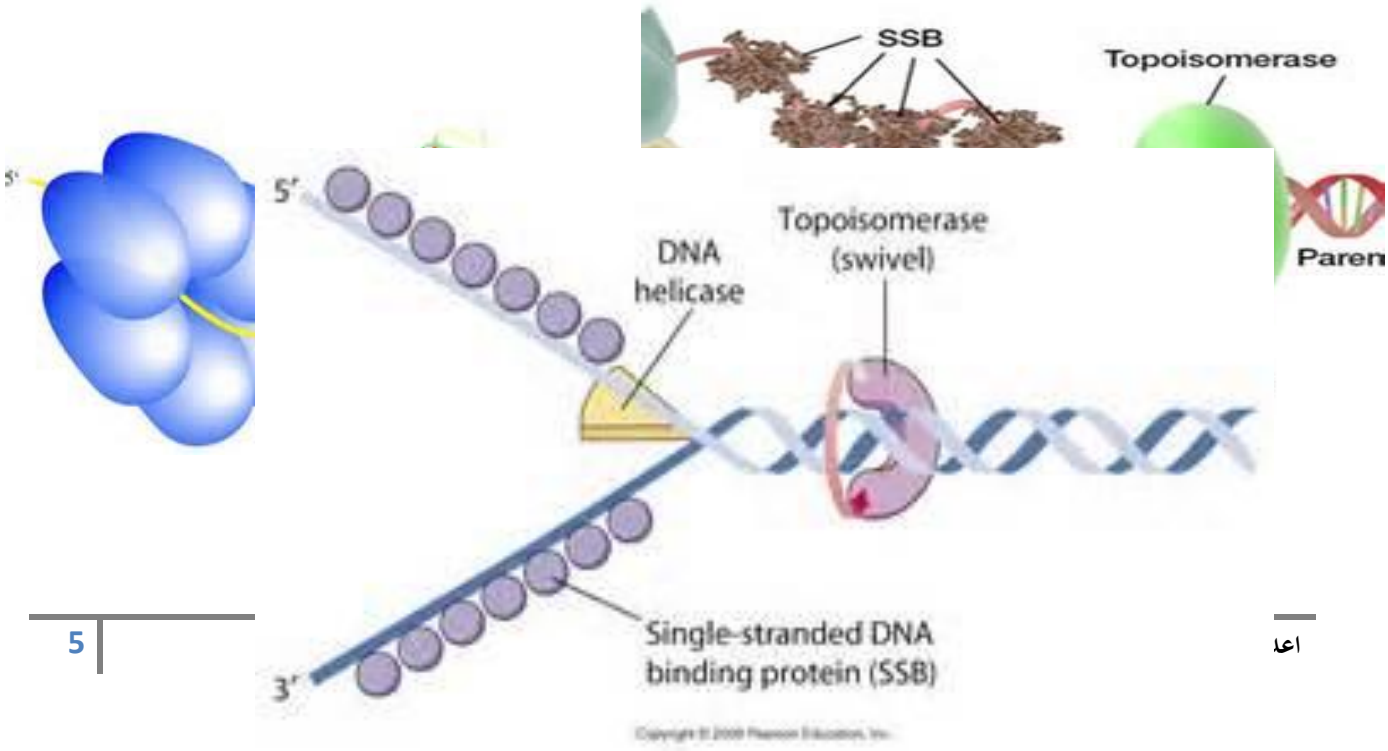
٢- **عملية الإرخاء Relaxation**: حيث تتضمن هذه الخطوة فك الالتفاف الفائق Supercoiling من خلال انزيم Topoisomerase وهنالك نوعين من هذا الإنزيم هما Topoisomerase I (الذي يقوم بقطع احد الشريطين ليدور حول الثاني ومن ثم اعادة لصق الشريط) والثاني هو Topoisomerase II(الذي يقوم الشريطين لتدور حول جزيئة الدنا 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 (Euokaryotic 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 قطف 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 :



٣- عملية فتح المزدوج Double Helix Denaturation وارتباط بروتين الشريط المنفرد Single Starnd Biondng 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 بدر 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؟

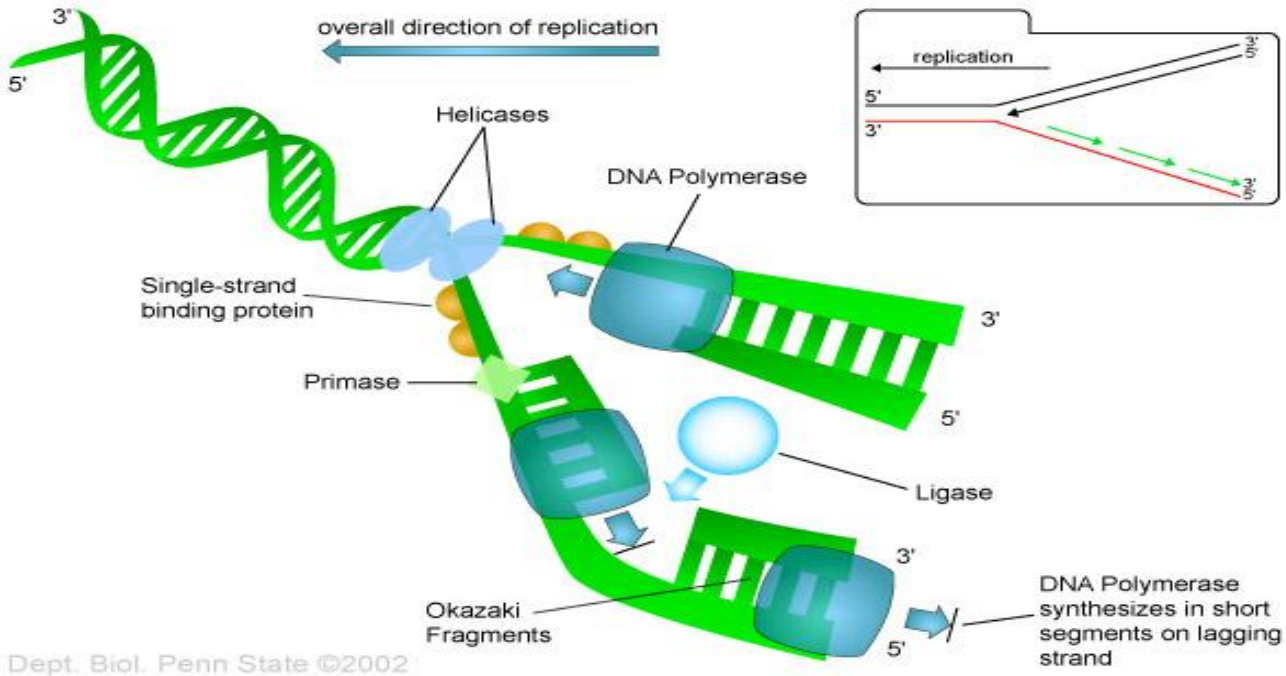




٤- ارتباط البادئ Primer Binding:

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 ؟



٥- البلمرة وإطالة الشريط Polymerization and Strand Extension :

تتم هذه العملية بواسطة انزيم DNA polymerase بالاتجاه 3'→5' حيث يقوم باضافة النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات الى مجموعة الهيدروكسيل الحره للنيوكليوتيده السابقه ونحصل على الطاقة اللازمة من مجموعتي الفوسفات التي كانت في النيوكليوتيده الحره.

مانوع النيوكليوتيده الحره هل هي ثلاثية الفوسفات ام احادية الفوسفات؟

مانوع النيوكليوتيده المرتبطة هل هي ثلاثية الفوسفات ام احادية الفوسفات؟

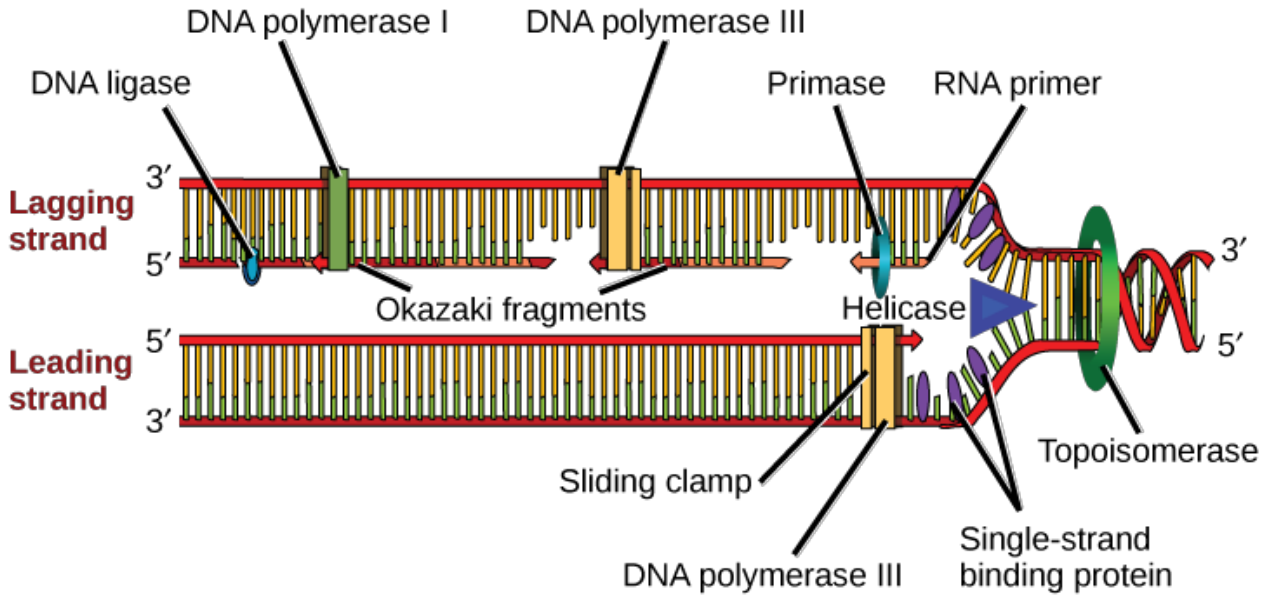
في الشريط الجديد الذي يكون الشريط القالب (الاصلي الابوي) له بالاتجاه5'→3' يبنى هذا الشريط باستمرار ويحتاج الى قطعة برايمر واحده فقط ويسمى بالشريط القائد Leading Strand اما الذي يكون بالعكس فانه يحتاج الى عدة قطع من البرايمرات ويبنى بشكل منقطع غير مستمر ويسمى بالشريط المتأخر Lagging Strand وتسمى القطع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

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

١- **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 بازالة البوادئ الموجوده في قطع اوكازاكي).

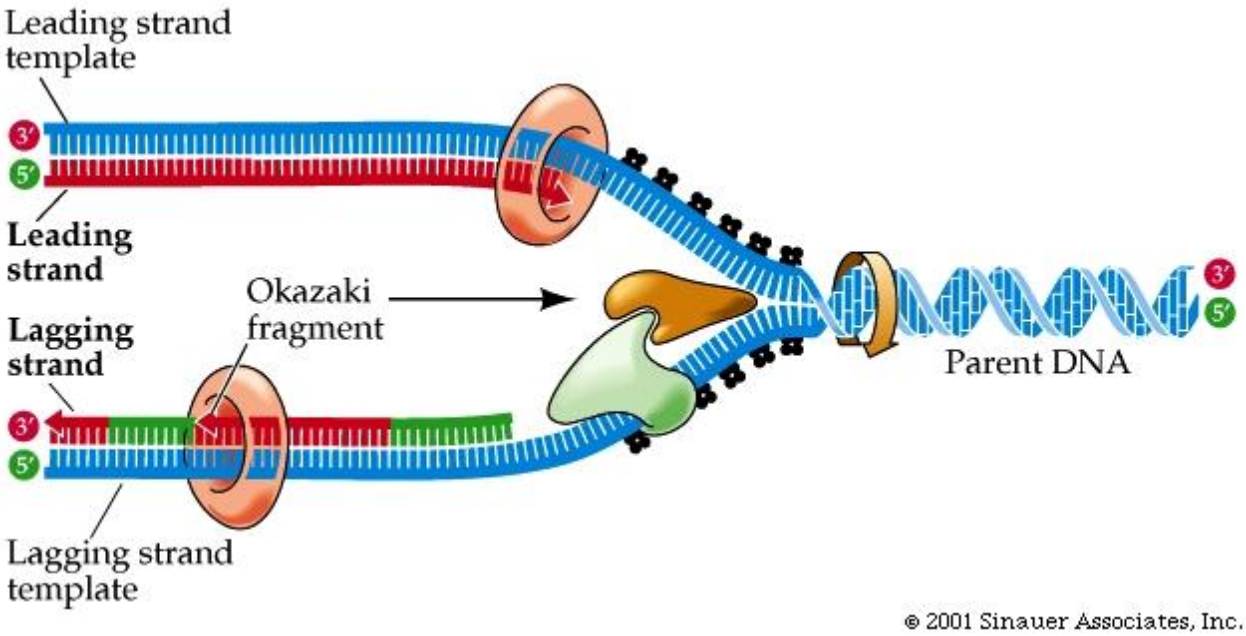
٢- **بوليميريز ايبسلون Pol ε:** يعمل على اطالة الشريط المتقدم Leading بعد النيوكليوتيدات التي اضافها بوليميريز الفا (Pol α). ويقابله في بدائية النواة الانزيم Pol III

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

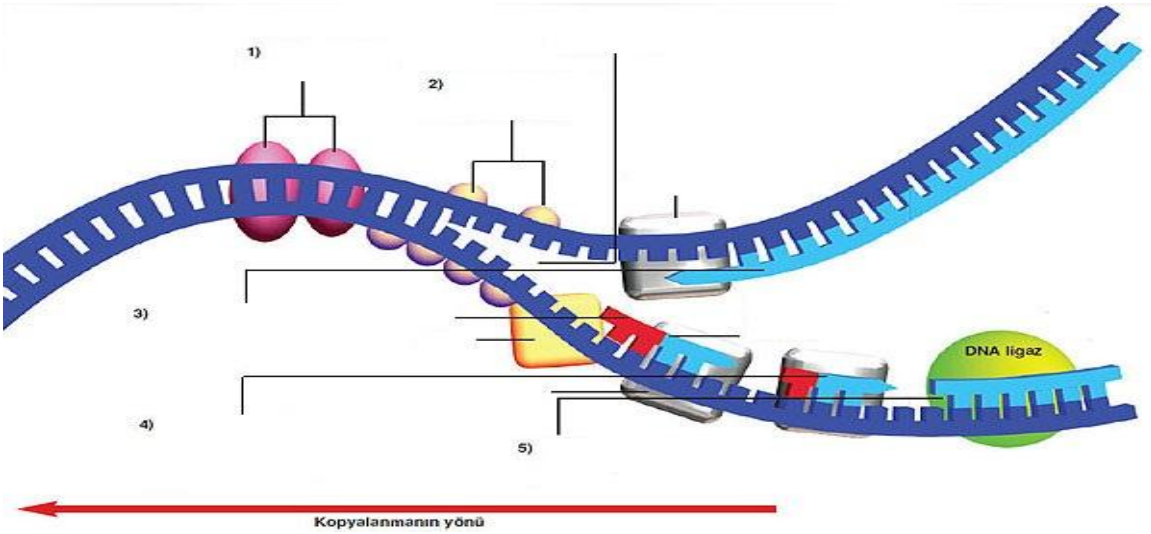


٦- عملية إزالة البرايمر وغلق القطع Primer removing and Nick sealing :

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.



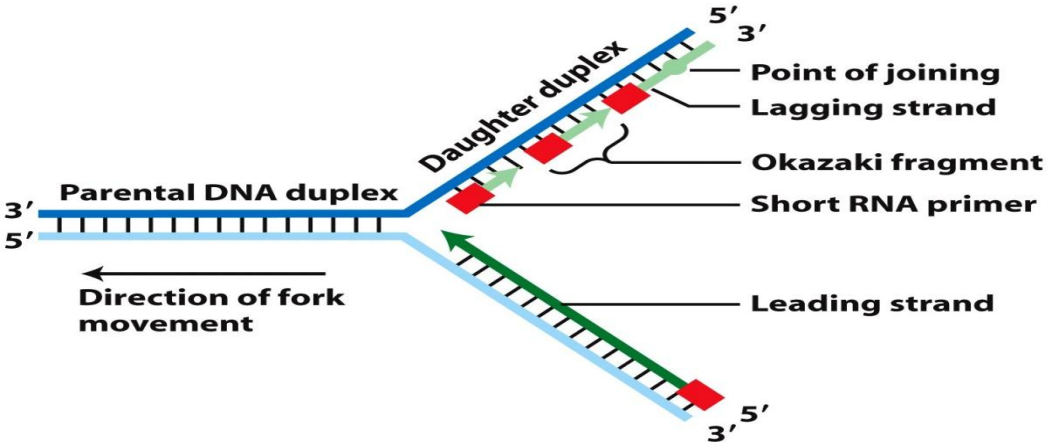
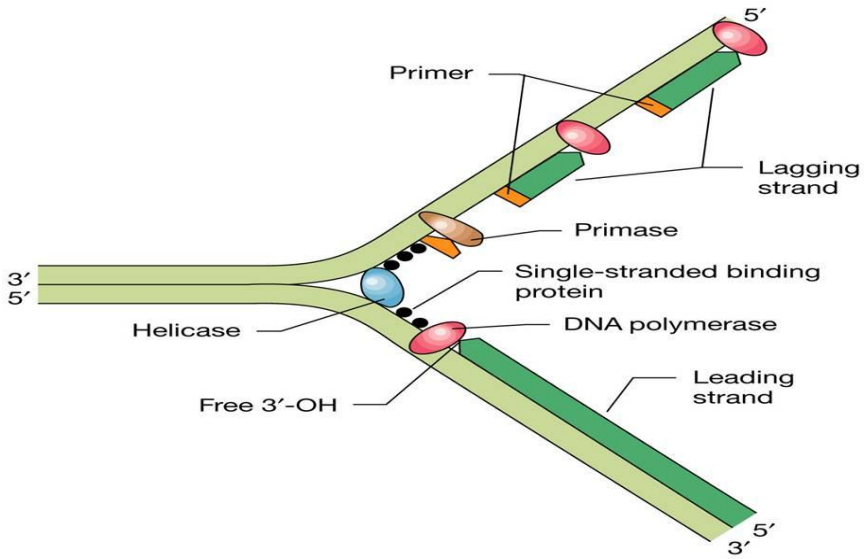
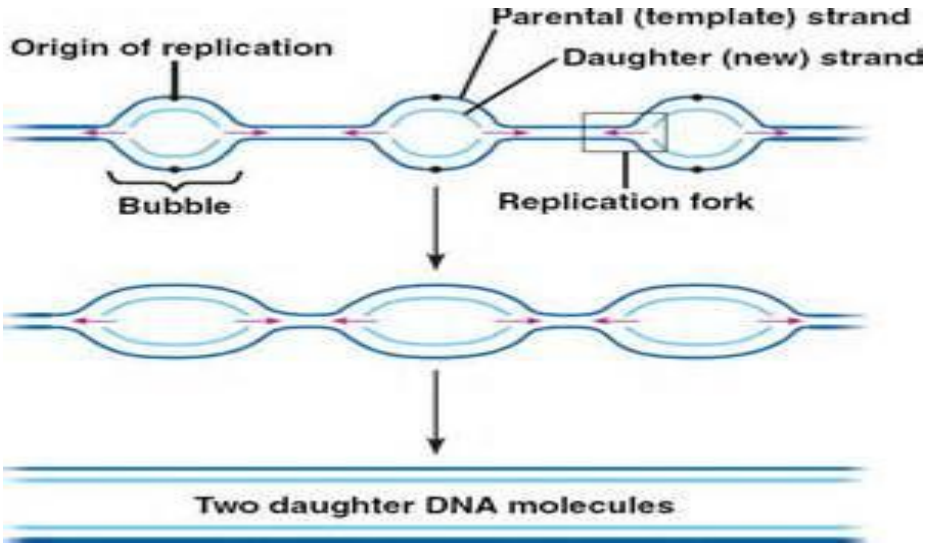


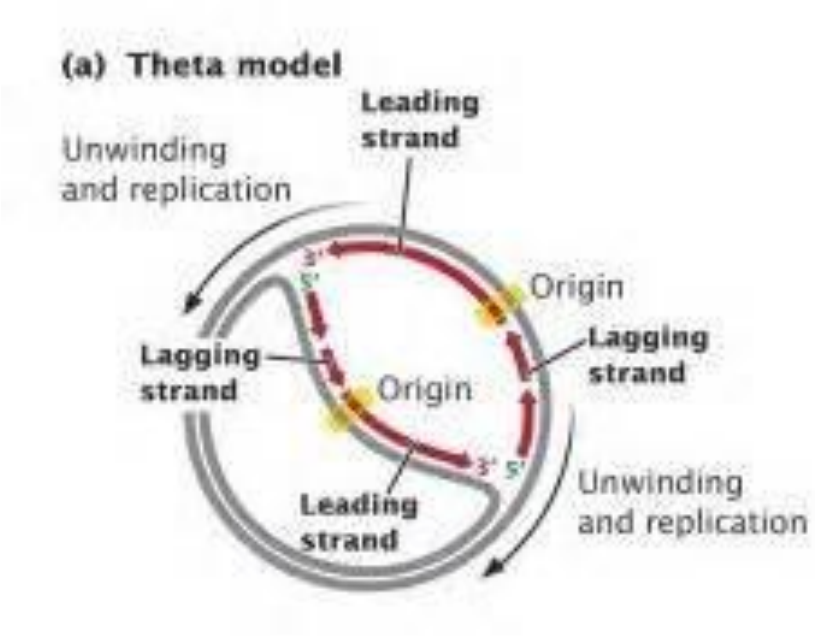
Figure 4-30
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company



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 .



٧- عملية الإنهاء Termination:

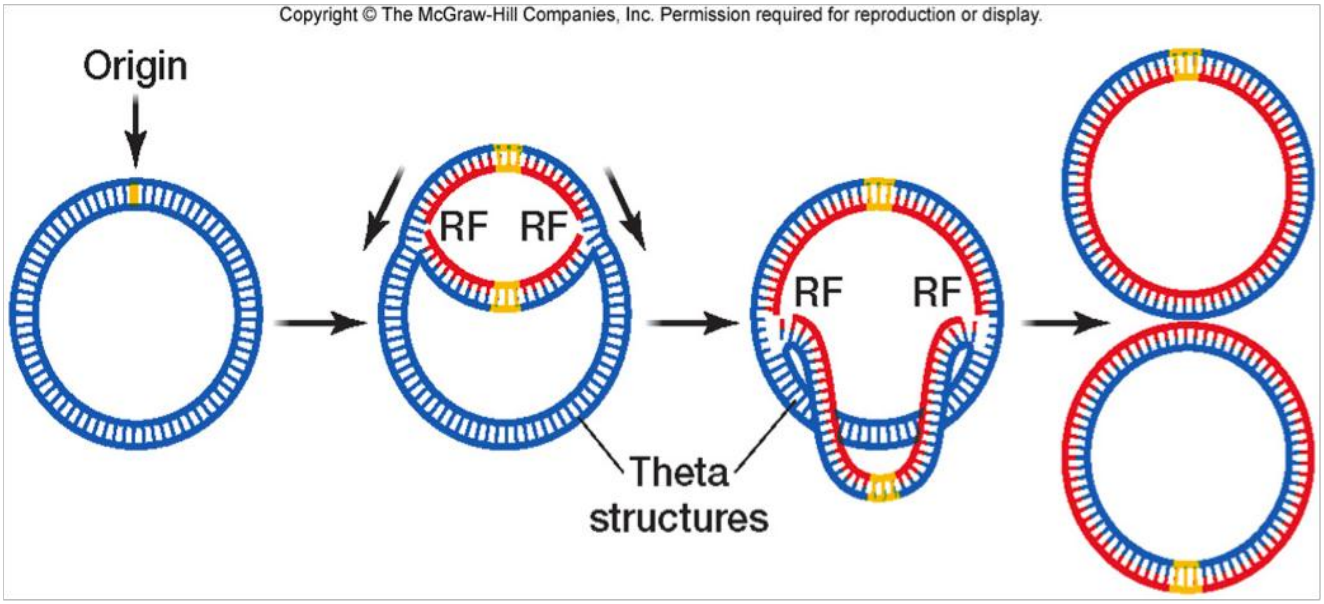
تحدث هذه العملية عند مناطق تسمى مناطق الإنهاء وتحدث عملية إنهاء التضاعف نتيجة لارتباط بروتينات الإنهاء بهذه المناطق. من الجدير بالذكر ان بدائية النواة فيها منطقة إنهاء واحده وبالتالي منطقة متبلمر واحده Replicon (وهي المنطقة المحصورة بين منطقة البدء والإنهاء) في حين هنالك عدة مناطق إنهاء وعدة متبلمرات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

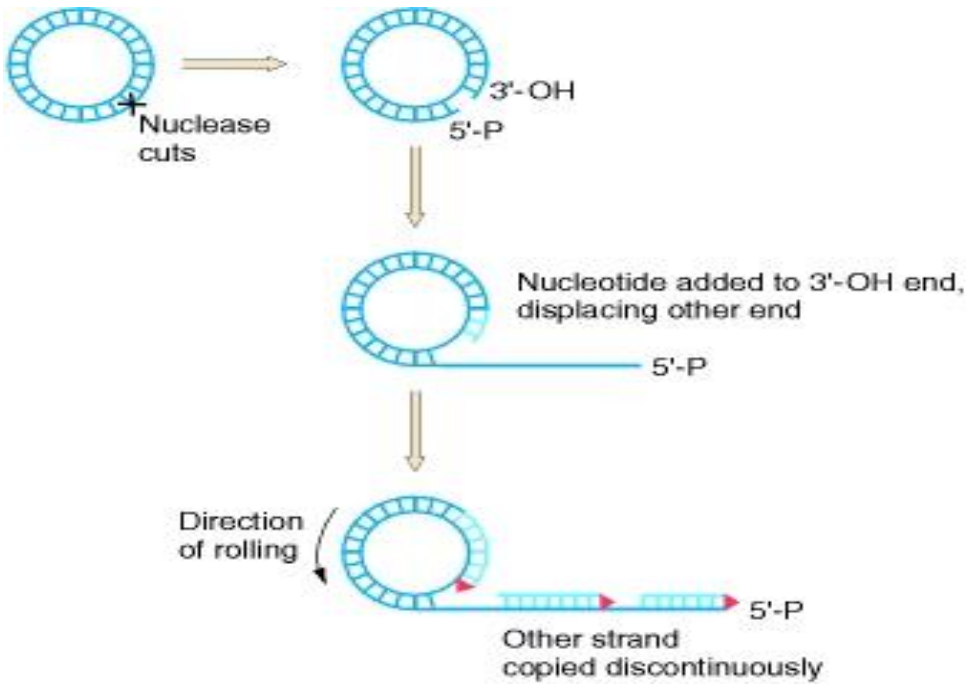
ثانيا: تضاعف الحمض النووي الرايبوزي منقوص الاوكسجين DNA replication في بدائية النواة:

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

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



٢- **تضاعف الحلقة المتدحرجه 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
١-	عدد الـ OriC او OriT	متعدد ولايوجد OriT	واحد فقط
٢-	اتجاه شوكة التضاعف	ثنائي Bidirectional	ثنائي Bidirectional في الكروموسوم أحادي Unidirectional في البلازميد
٣-	عدد مناطق الإنهاء	متعددة	واحدة
٤-	عدد الـ Replicon	متعددة	واحدة
٥-	مكان حدوث التضاعف	النواة	المنطقة النووية
٦-	الطور الذي يحدث فيه	S phase	بداية التضاعف
٧-	انزيم الدنا DNA polymerase	Pol α Pol ε Pol δ	Pol I Pol II Pol III

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), “The Gene as the Basis of Life”, Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة الثامنة : عملية الاستنساخ وما بعد الاستنساخ

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة الثامنة: عملية الاستنساخ وما بعد الاستنساخ Transcription and Post transcription Processes

تعد عملية الـ Transcription على إنها العملية الثانية الأساسية ضمن ***central Dogma الـ*** 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:

١- البدء Initiation
٢- الإطالة Elongation
٣- الإنهاء Termination

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

الاستنساخ في حقيقية Eukaryote وبدائية النواة Prokaryote :

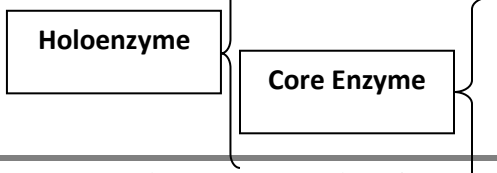
وتتضمن الأحداث التالية:

١- ارتباط انزيم .RNA pol (هنالك ثلاثة انواع) بتسلسل مميز يقع ضمن منطقة المحفز Promoter وتسمى هذه المنطقة بـ **TATA box** وتكون ذات تسلسل من ٦ نيوكليوتيدة 5'-TATAAA-3' . في بدائية النواة تسمى المنطقة التي يرتبط بها .RNA pol بـ **Pribnow box** ذات تسلسل مكون من ٦ نيوكليوتيده 5'-TATAAT-3'

هنالك ثلاثة انواع من انزيم البلمره 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

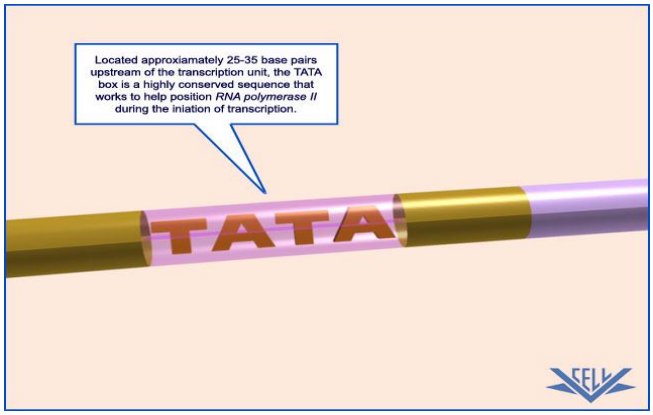
اما في بدائية النواة فهنالك نوع واحد مكون من عدة وحدات وهي:

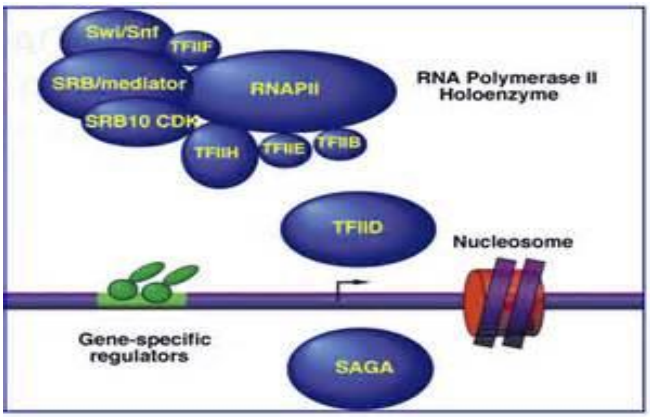


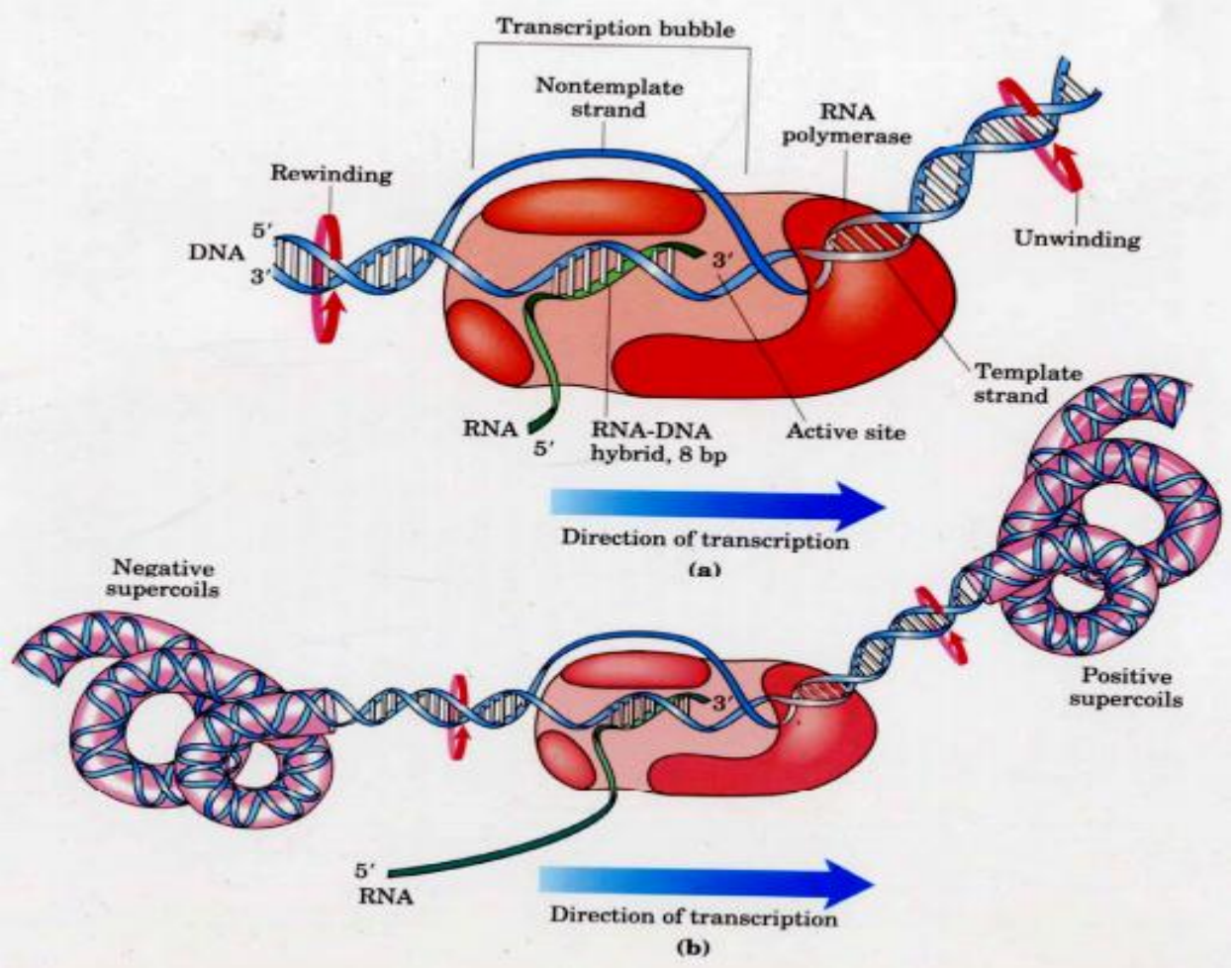
وحدة واحدة من سكما Sigma factor
وحدتين من الفا 2 α
وحدة واحدة من بيتا 1 β
وحدة واحدة من بيتا برايم 1β'

وحدة واحدمن اوميكا ω١

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

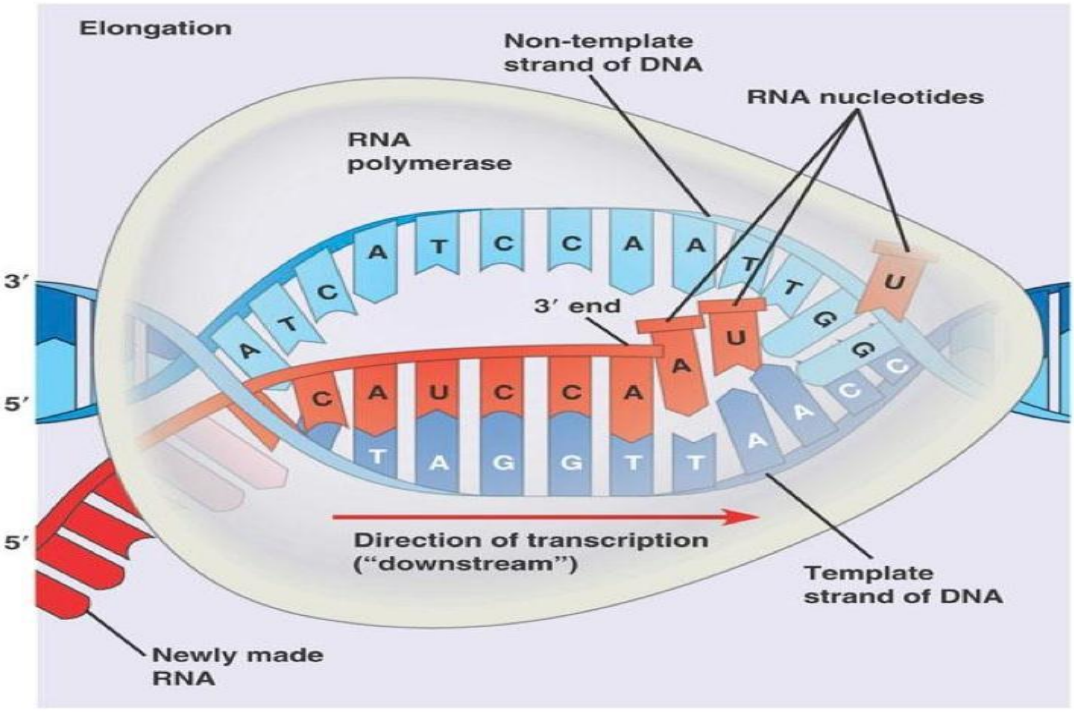




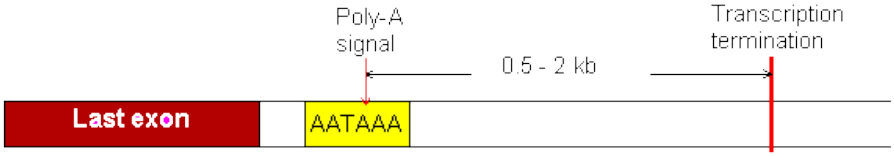


يستخدم شريط الدنا ذو الاتجاه'5→'3 لإنتاج شريط mRNA ذو الاتجاه '3→'5

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

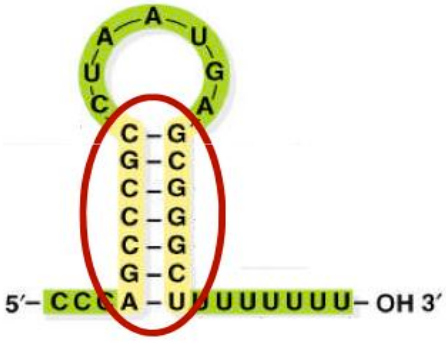


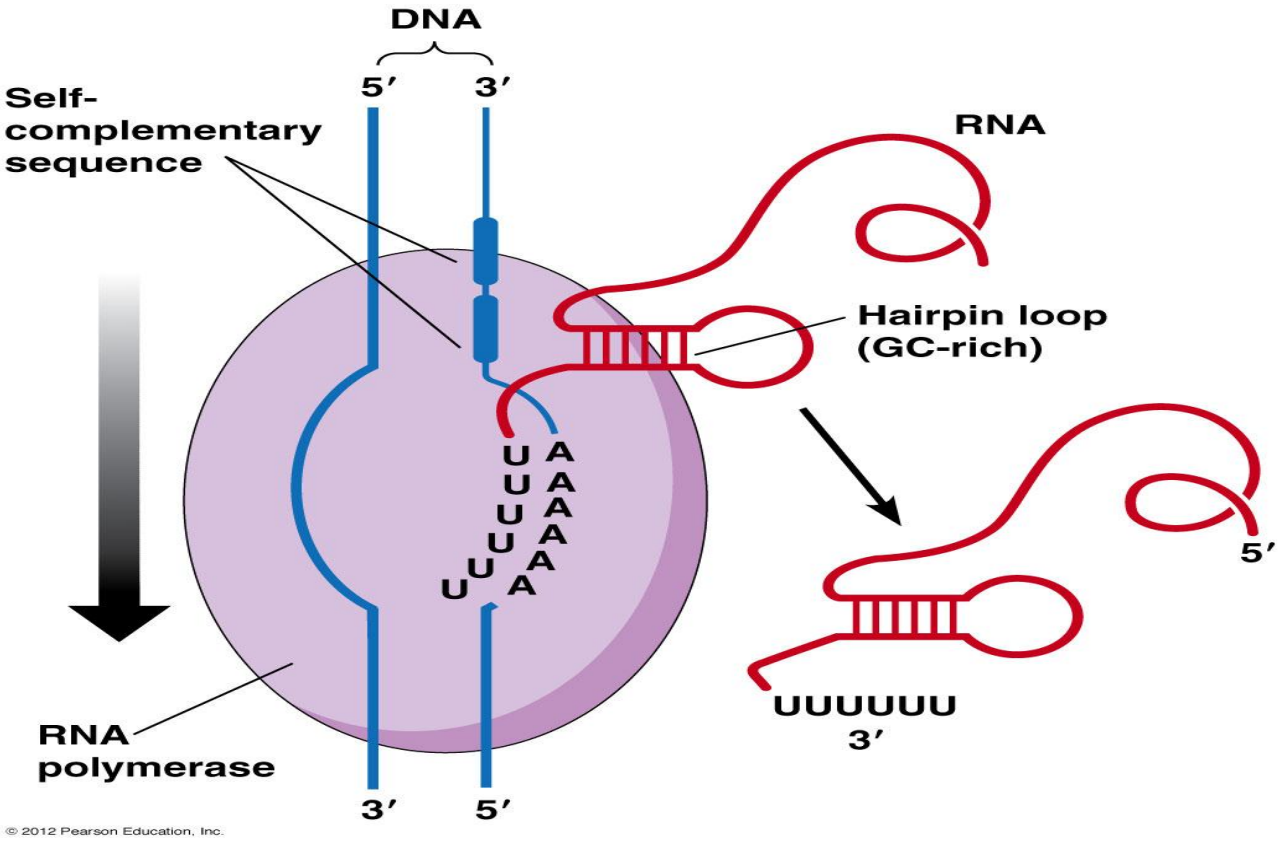
٣- الإنهاء Termination : في حقيقية النواة يكون اما معتمد على بعض عوامل الانهاء التي تميز النهايه ذات المتعدد poly-A او غير معتمد ويتم بتكوين hairpin .



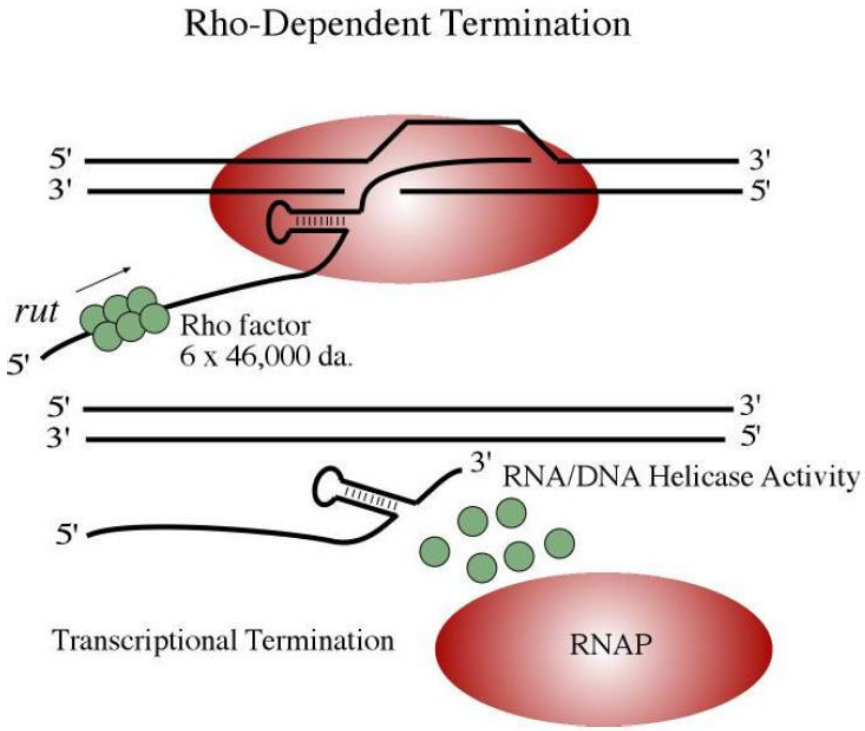
٤- هنالك نوعين من عملية الانهاء في بدائية النواة وهي:

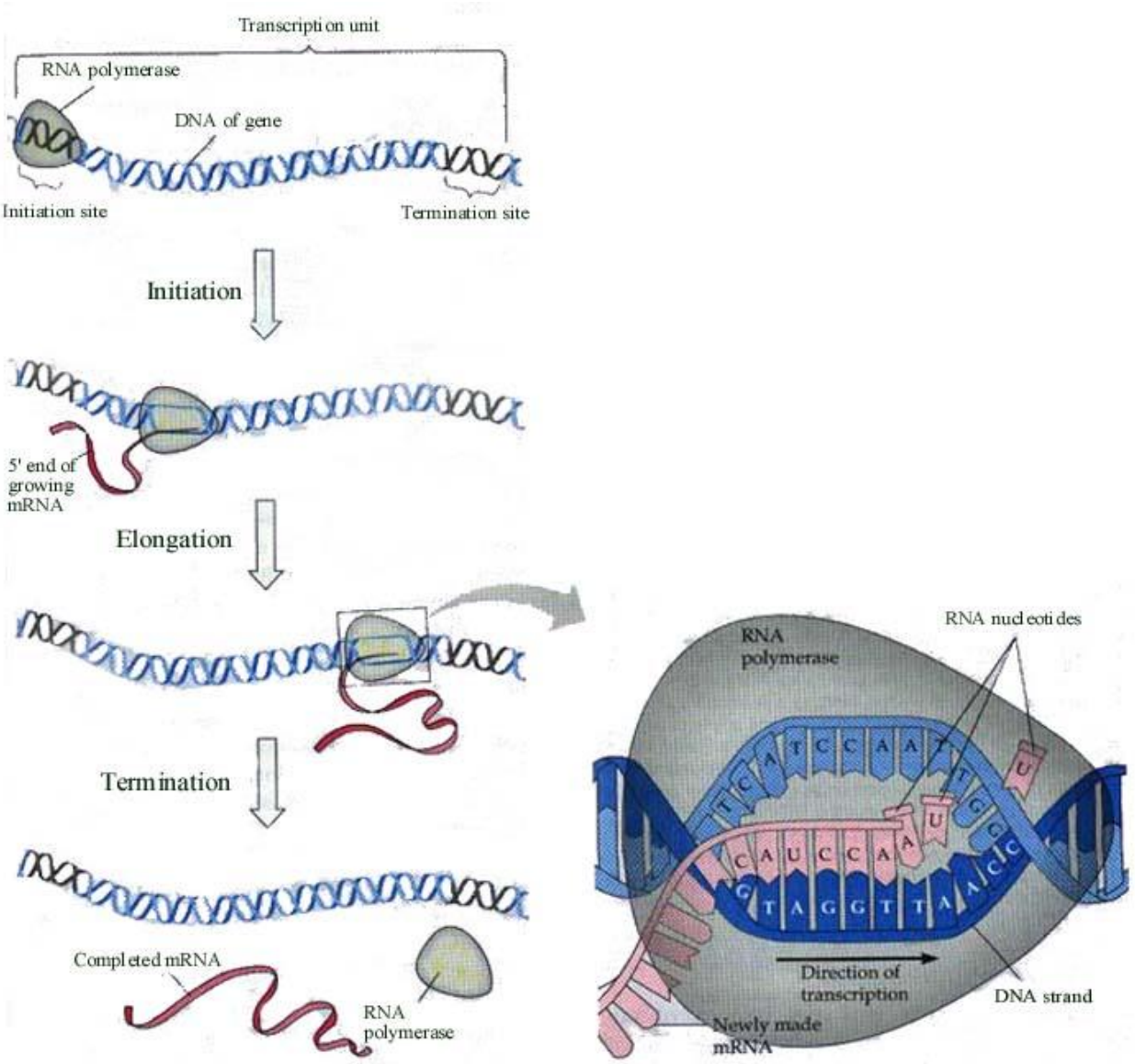
١-**Rho independent** : وتتم بتكوين G-C hairpin التي تعمل على انفصال شريط الرنا الجديد عن شريط الدنا القالب.





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





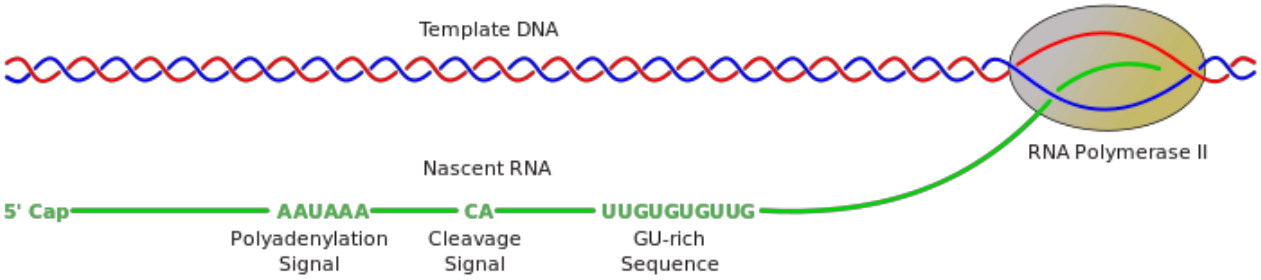
عمليات ما بعد الاستنساخ Post transcription processing :

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:

١- 5' capping
٢- 3' polyadenylation
٣- splicing

تتضمن عملية الـ 5' capping إضافة 7-methylguanosine الى بداية الـ mRNA عند الطرف ٥'.

تتضمن عملية الـ 3' polyadenylation إضافة ٢٥٠ نيوكليوتيده من الأدنين عند الطرف ٣' لتكون ما يسمى بالذيل متعدد الأدنين Poly A tail .

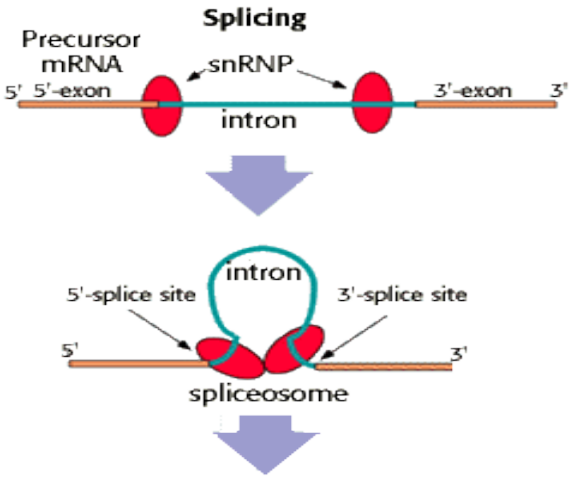


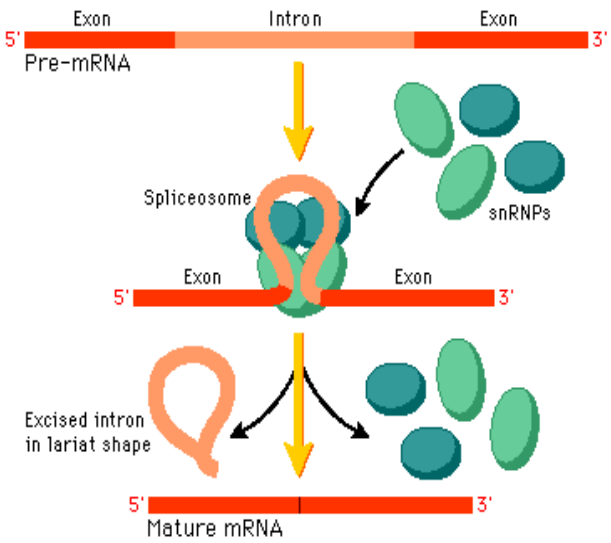
اما عملية الـ Splicing فتتضمن إزالة الانترونات introns و اعادة ربط الاكسونات Exons وتتم هذه العملية بواسطة مايسمى بـ Spliceosomes التي تتكون من بروتينات بالإضافة الى snRNA الذي يميز المنطقة التي يحدث عندها فصل الانترون.

يجدر الإشارة الى مايلي:

١- كل هذه العمليات تحدث فقط في حقيقية النواة Eukaryote ولاتحدث في بدائية النواة Prokaryote .

٢- كل هذه العمليات تحدث في النواة.





المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), "The Gene as the Basis of Life", Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة التاسعة : الشفرة الوراثية وعملية صنع البروتين

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة التاسعة: 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:

١- **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 .

٢- **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 وجد أنها تشفر للحامض الاميني المثيونين.

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

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

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

٤- 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 ان ممكن 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 نوويه رايبوسوميه rRNA وتختلف في حقيقة النواة عما في بدائية النواة وكما موضح بالشكل ادناه:

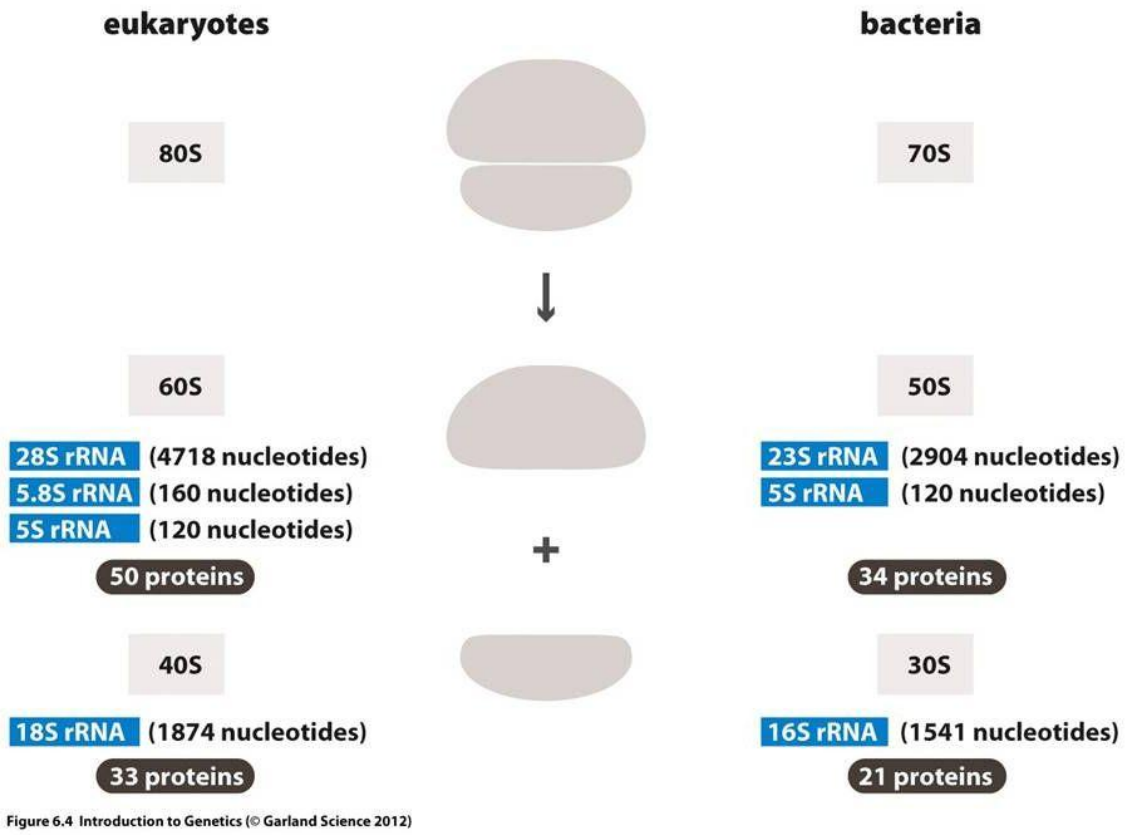


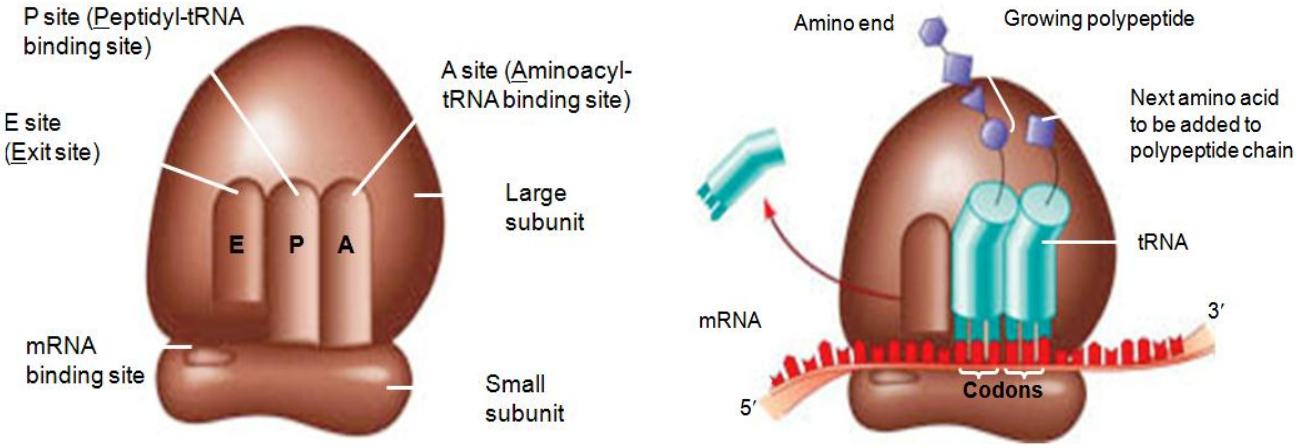
Figure 6.4 Introduction to Genetics (© Garland Science 2012)

تحتوي الرايبوسومه المتكامله 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

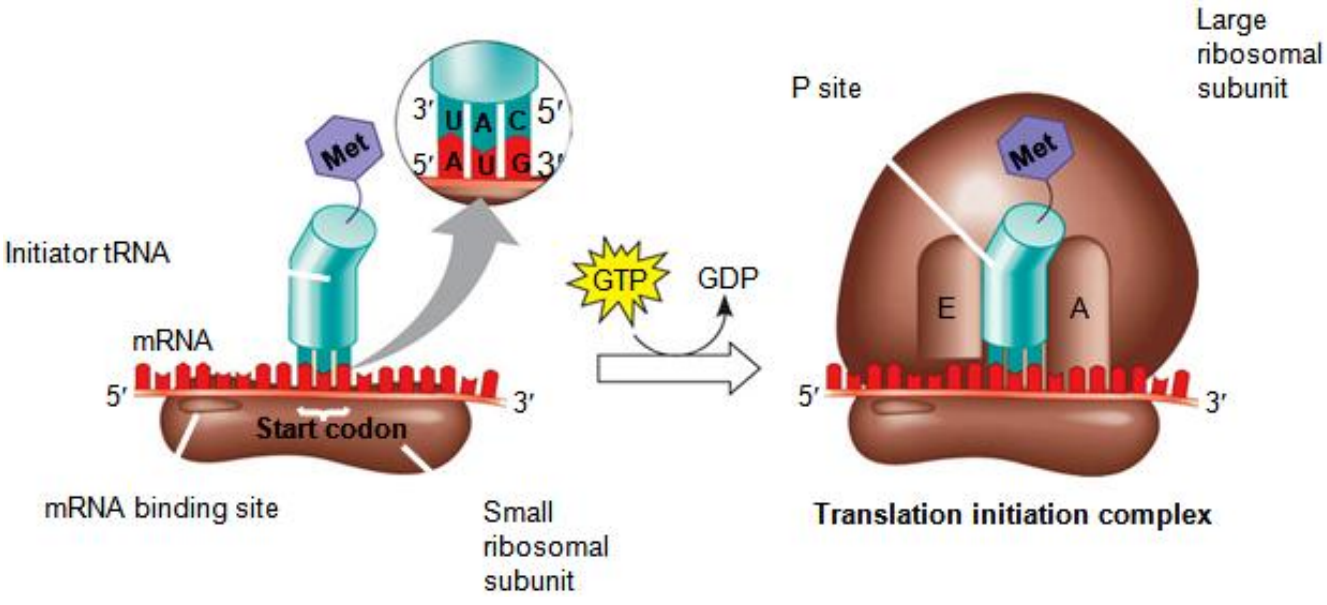
(A site) Aminoacyl-tRNA Binding site الموقع الذي يتموضع به tRNA المحمل بالحامض الاميني الجديد المنفرد. وكما مبين ادناه



عملية صنع البروتين Protein Synthesis (Translation) :

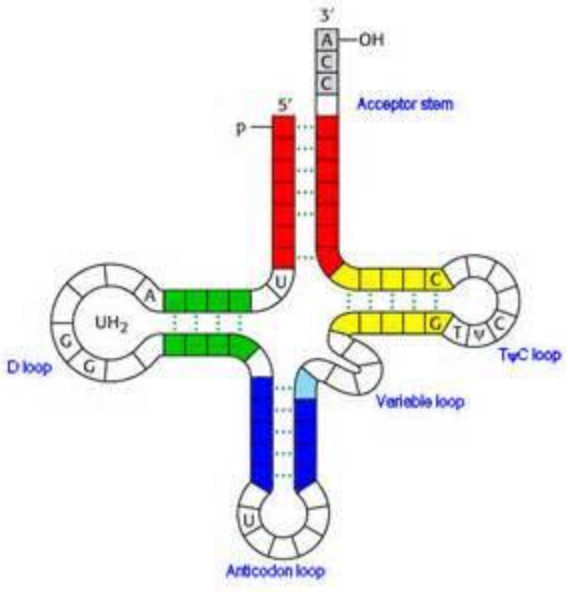
تحدث هذه العملية في منطقة السايتوبلازم في كل من حقيقية وبدائية النواة وتكتمل على ثلاث مراحل وكمايلي:

١- مرحلة البدء Initiation : وتتضمن ارتباط الوحدة الرايبوسومية الصغيرة مع mRNA ثم مع tRNA البدء (initiator tRNA) الذي يميز شفرة البدء الموجودة على الـ mRNA (AUG) حيث يحمل ضد الشفرة UAC حيث يحمل initiator tRNA الحامض الاميني المثيونين في حقيقية النواة (والفورميل مثيونين في بدائية النواة). حيث يتموضع Met-tRNA في الموقع P وليس A (كما يحدث في الاحماض اللاحقه). بعد ذلك ترتبط الوحده الكبيره لتكوين معقد البدء ومن الجدير بالذكر انه هنالك بروتينات تساعد حدوث هذه العملية وتسمى مجتمعة بـ Initiation Factors (IF) وكما موضح بالشكل ادناه:

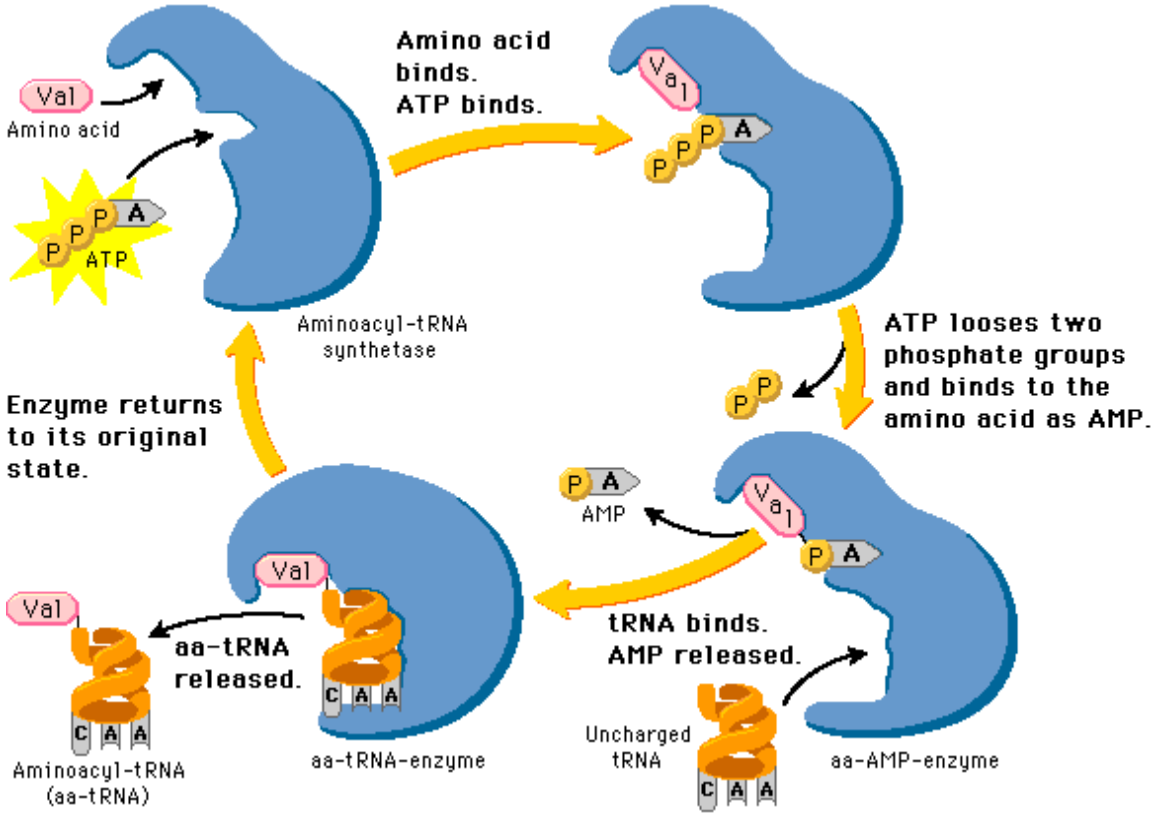


كيف يتم تحميل الحامض الاميني على الـ tRNA ؟

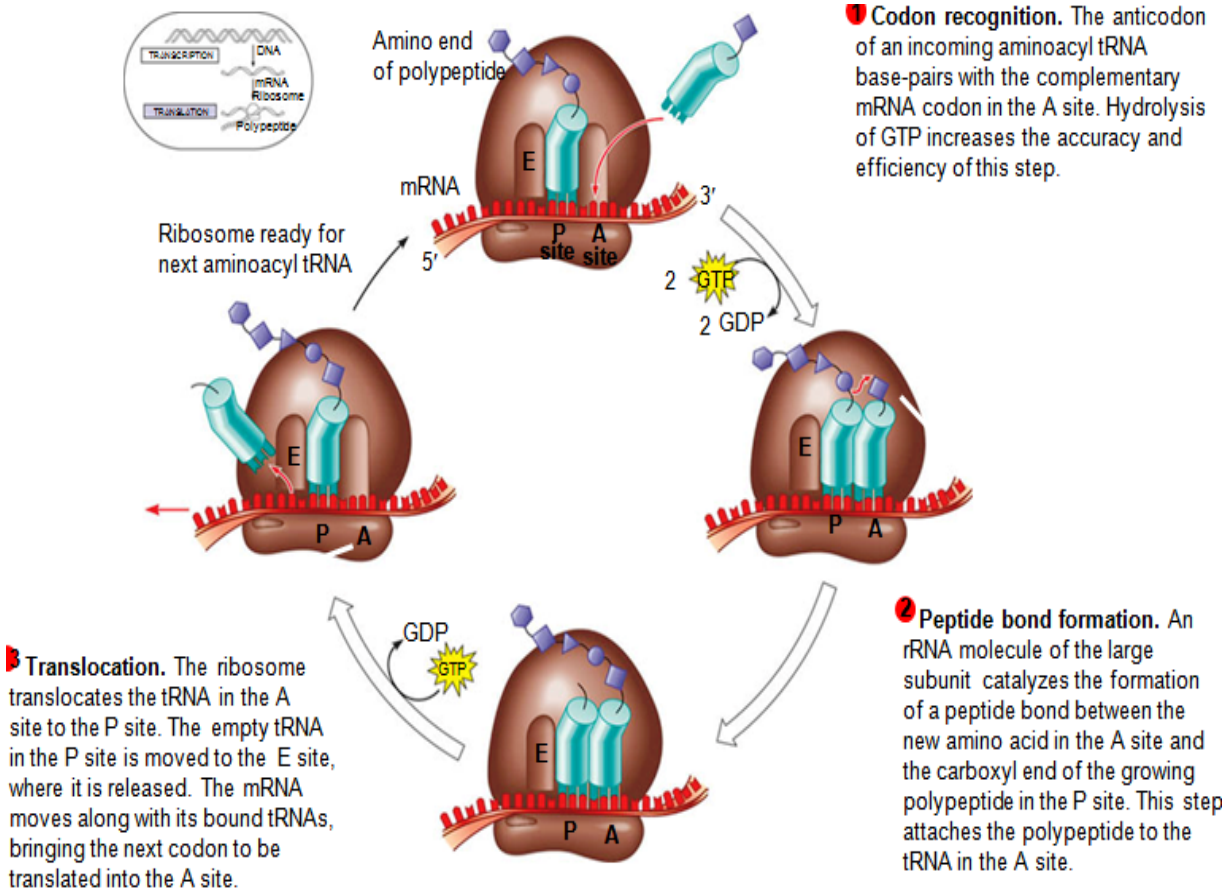
لابد في البدء من معرفة تركيب الـ tRNA ، انه حامض نووي رايبوزي مزدوج الشريط (وهو الحامض النووي الرايبوزي الوحيد الذي يكون مزدوج الشريط في حقيقية النواة) حيث يتكون من عدة التواءات Loops وكما مبين في الشكل ادناه:



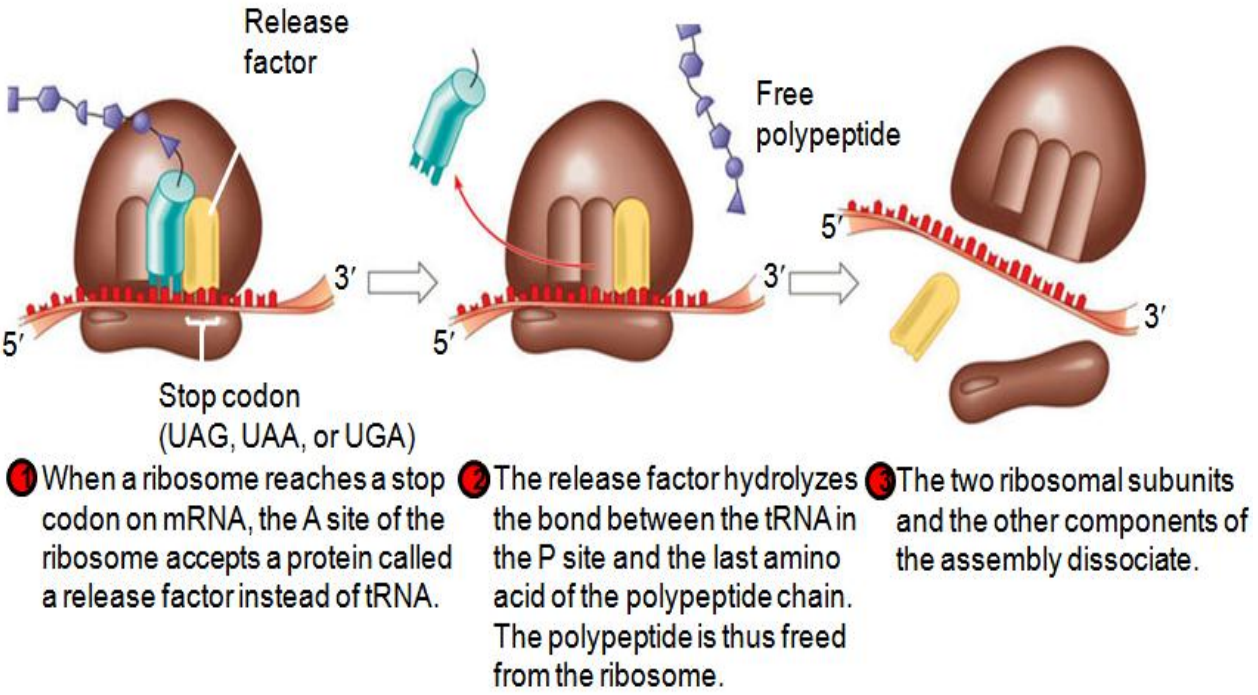
يتم تحميل الـ tRNA بالحامض الاميني بواسطة الأنزيم aminoacyl-tRNA synthetase وكما مبين بالشكل ادناه:



٢- مرحلة الإطالة Elongation : بعد تموضع الـtRNA الثاني في الموقع A سوف تبدا عملية ربط الحامض الاميني السابق (الأول) بالحامض الاميني اللاحق (الثاني) من خلال تكوين أصره ببتيديه بينهما وبالتالي يكون الـ tRNA الثاني محمل بالحامض الاميني الأول والثاني وتتحرك الرايبوسوم خطوه واحده حيث ينتقل الـ tRNA الفارغ الى الموقع E ثم يخرج ليعاد تحميله وينتقل الـ tRNA المحمل بالسلسلة الى الموقع P ويصبح الموقع A فارغ ومهيأ لاستقبال tRNA جديد محمل بحامض اميني جديد وتسمى هذه الحركه بـ Translocation. تحتاج هذه العملية الى طاقه والى وجود بعض البروتينات التي تسمى بعوامل الاطاله Elongation factor (EF) وتستمر هذه العملية الى ان تصل الى شفرة الإيقاف (stop codon) . وكما موضح بالشكل ادناه:



٣- مرحلة الإنهاء Termination : تبدأ هذه المرحلة عندما تصادف الرايبوسوم أي من شفرات الإنهاء stop codon حيث يستقبل الموقع A بعض عوامل الإنهاء Releasing Factors (RF) والذي بدوه يعمل على تحرير سلسلة متعدد الببتيد وفك ارتباط وحدات الرايبوسوم وتحرير الـ mRNA وكما موضح في المخطط ادناه :



Polyribosome : هو مجموعه من الرايبوسومات الموزعة على طول mRNA

وفيما يلي نوضح الفرق بين عملية صنع البروتين في حقيقية وبدائية النواة وكما مبين بالجدول ادناه:

ت	الصفة	حقيقية النواة	بدائية النواة
١	الرايبوسوم	80S	70S
2	tRNA البادئ	Met-tRNA	fMet-tRNA
3	عملية البدء	تحدث بعد ارتباط الوحدة الصغيرة 40s قرب منطقة 5' cap	تحدث بعد ارتباط16s RNA لمنطقة Shine-Dalgarno
3	عوامل البدء IF	اكثر من عشره ويرمز لها eIF (eIF-1 to eIF-6)	ثلاثه ويرمز لها IF (IF-1, IF-2, IF-3)
٤	عوامل الاطالة EF	ثلاثه وهي: **eEF-1α** (هو انزيم GTPase ساعد على دخول الـtRNA المحمل الى الموقع الفارغ P or A) **eEF-1βγ** (ازالة ال GDP من eEF-1α **eEF-2** (يسهل عملية الـ Translocation)	ثلاثه وهي: **EF-Tu** (هو انزيم GTPase ساعد على دخول الـtRNA المحمل الى الموقع الفارغ P or A) **EF-Ts** (ازالة ال GDP من EF-Tu **EF-G** (يسهل عملية الـ Translocation)
٥	عوامل الانهاء RF	ثلاثه يرمز لها eRF وهي: eRF-1 يميز شفرتي الانهاء UAA and UAG eRF-2 يميز شفرتي الانهاء UAA and UGA eRF-3 يسرع من عملية انفصال المعقد	ثلاثه يرمز لها RF وهي: RF-1 يميز شفرتي الانهاء UAA and UAG RF-2 يميز شفرتي الانهاء UAA and UGA RF-3 يسرع من عملية انفصال المعقد
٦	عدد المناطق المشفره في Coding region of mRNA	واحده لكل mRNA يسمى monocistronic mRNA	متعدده ولذلك يسمى Polycistronic mRNA

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), "The Gene as the Basis of Life", Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة العاشرة : التعبير الجيني

المرحلة الرابعة

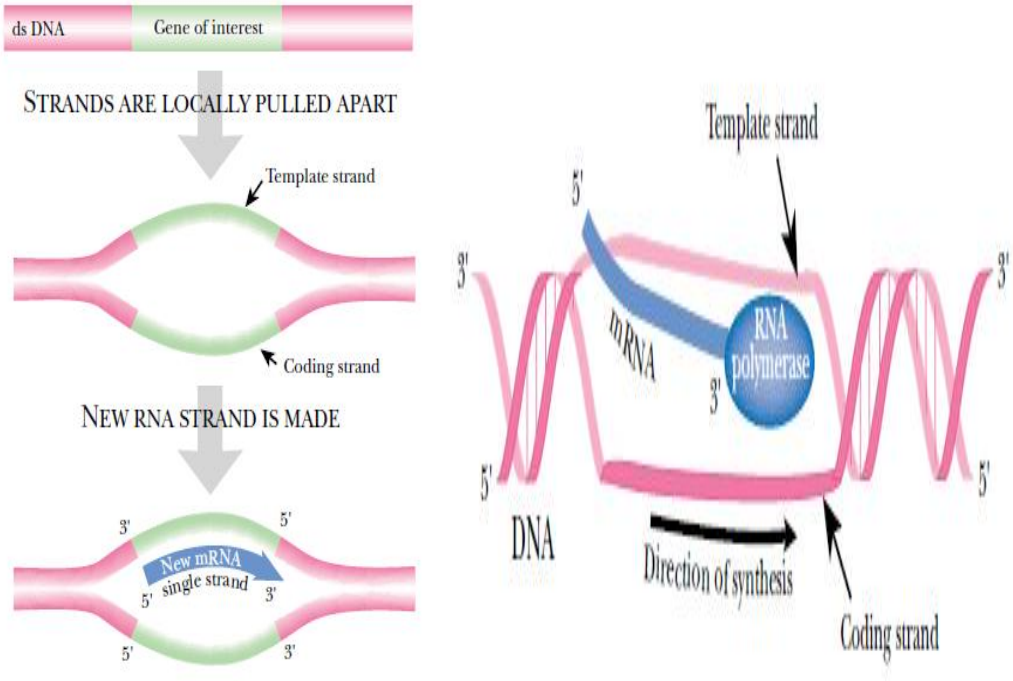
أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة العاشرة: التعبير الجيني Gene Expression

الاستنساخ Transcription

ان الخلية الحية تعمل باستمرار وعملها يتطلب ان يعبر عن الجينات الموجودة فيها، وكلمة التعبير EXPRESSION تعني نواتج الجين والتي تكون عادة RNA او بروتين. يحمل DNA المعلومات الوراثية الاصلية ويستعمل لخزن هذه المعلومات ولا يستعمل كمصدر مباشر لعمل الخلية الحية ولكن بدلا من ذلك تعمل نسخ من الجين العامل بشكل RNA وعملية نقل المعلومات الوراثية من DNA الى RNA تدعى بالاستنساخ Transcription . تقسم الجينات الى مجموعتين رئيسيتين من هذا الجانب فهناك بعض الجينات تكون نواتجها النهائية RNA(tRNA,rRNA,snRNA,hnRNA,RNAi) ، اما الجزء الاخر من الجينات يكون نواتجها النهائية بروتين وفي هذه الحالة يكون RNA مرحلة وسطيه لنقل المعلومات الوراثية من DNA وبذلك يكون RNA الناقل للمعلومات هو المراسل mRNA وبما انه اغلب الجينات تنتج بروتينات لذا سيكون تركيزنا على هذا النوع من عملية الاستنساخ.

ان عملية استنساخ الجين تتطلب فك الشريط المزدوج لجزيئة DNA ومن ثم يعمل انزيم RNA polymerase على تكوين جزيء RNA حيث يرتبط هذا الانزيم بجزيء DNA ويعمل على فك الحلزون المزدوج وتكوين RNA كما موضح ادناه



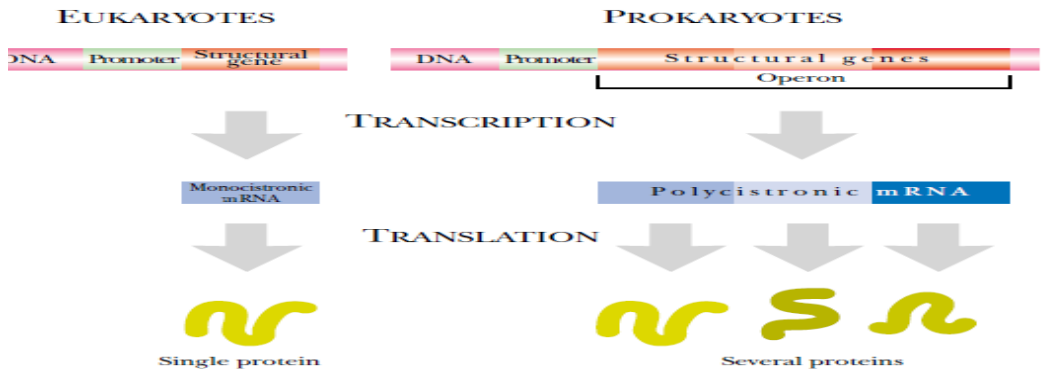
عملية استنساخ RNAمن الشريط المزدوج DNA وتوضيح العناصر الاساسة المساهمة في عملية الاستنساخ واتجاه النسخ .

-يكون تسلسل القواعد في جزيء RNA المخلق مكمل للتسلسل الموجود في شريط DNA الحسي او القالب sense or template strand مع استبدال الثايمين باليوراسيل كما ان القواعد النيتروجينيه المستخدمه في هذه الحالة تكون ATP,GTP,UTP,CTP وهذا يعني ان الشريط المخلق من RNA يكون مطابق للشريط المشفر من coding strand of DNA or antisense strand ويكون اتجاه تصنيع RNA باتجاه --5 3← ويستعمل شريط واحد من DNA في عملية الاستنساخ الواحدة ولكن يجب ملاحظة انه من الممكن ان يعمل اي من الشريطين كشريط حسي في مناطق مختلفه من الكرورموسوم.

يحمل الكروموسوم مئات او الاف الجينات ويستعمل جزء منها في كل وقت ففي الخلية البكتيريه تعمل في اي وقت من اوقات النمو حوالي ١٠٠٠ جين اي مايشكل ٢٥% من مجموع جيناتها ، تعمل بعض الجينات بشكل مستمر في كل مراحل نمو الكائن وهذه الجينات تسمى جينات الخدمه housekeeping genes في حين تعمل الجينات كاستجابه لبعض الضروف البيئية المختلفة ، خلال مراحل النمو المختلفه تعمل جينات مختلفه وبذلك يكون لدينا انواع مختلفه من RNA في الخلية في كل مرحله من مراحل نموها. في الكائنات الراقية يكون عدد الجينات المشتغله تحت ظرف معين اصغر بكثير وفي بعض الاحيان تشتغل الجينات لمرات محدوده في الشهر او في الاسبوع وحسب احتياج الخلية. وبعض الجينات لاتعمل الا في مرحلة معينه من النمو مثل الجينات الجنينية التي تعمل فقط في هذه المرحلة لذا فان تنظيم التعبير الجيني في حقيقية النواة يكون معقد اكثر من الكائنات الاصغر والبدائية النواة.

-cistron ا والجين التركيبي structural gene هي قطعة من DNA تعطي في النهاية سلسلة ببتيدية وقد عرفت هذه الجينات باختبارات التكامل بطرق *cis\trans* methods وفي الوقت الحاضر يستعمل مصطلح ال cistron ليشمل كل قطع DNA المشفره لبروتينات وكذلك الى انواع اخرى من RNA والتي لاتدخل عملية الترجمه مثل tRNA,rRNA…etc .

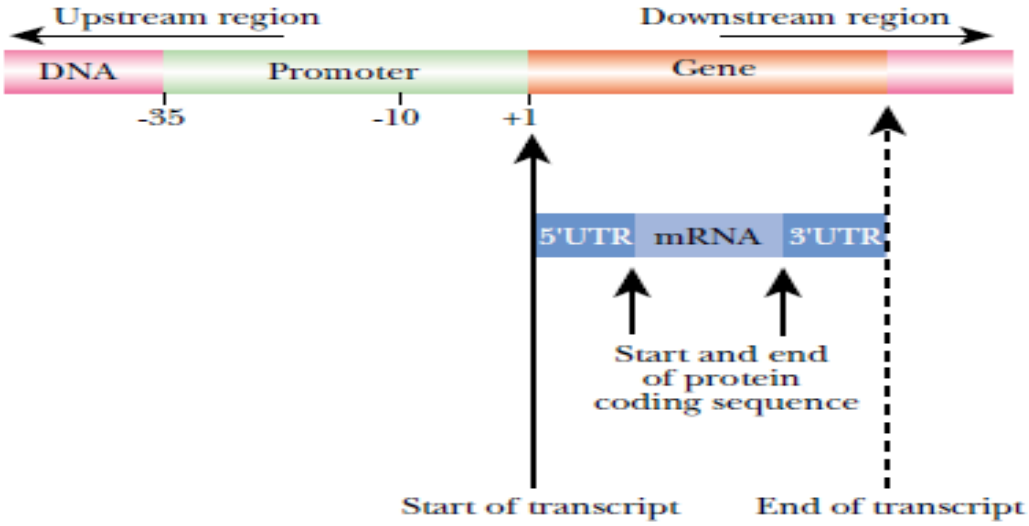
-يطلق مصطلح شفرة القراءة المفتوحة open reading frame (ORF) على اي قطعة من DNA or RNA والتي افتراضا تعطي في النهاية بروتين وبذلك يكون كل ORF هو cistron وليس كل cistron هو ORF. في الخلايا حقيقية النواة يعبر عن كل جين كقطعة من mRNA وتترجم الى بروتين ويسمى monocistronic mRNA في حين في خلايا بدائية النواة ونتيجة الايض السريع ومعدل النمو العالي يعبر عن عدة جينات بشكل mRNA متصلة ويعرف هذا polycistronic mRNA وكما موضح بالرسم.



تفاصيل عملية الاستنساخ

تم توصيف عملية الاستنساخ اولا في البكتريا كونه اسهل واقل تعقيدا من كائنات حقيقية النواة ، مبدأ الاستنساخ واحد لكل الكائنات ولكن هناك بعض الفروق بين الكائنات، واغلب الفرروقات تتركز في عملية البداية للاستنساخ وليس في عملية تصنيع RNA .

في مقدمة كل جين توجد منطقة محددة تنظم عمل الجين ولا تستنسخ الى RNA وتحتوي هذه المنطقة على الحفاز promoter ويرتبط بها انزيم RNA polymerase ويترافق مع هذه المنطقه عدة تسلسلات تساهم في عملية التعبير الجيني gene expression. تدعى المنطقة التي تكون في النهاية 5 للجين وتقع قبل المنطقه المشفره للبروتين بالمنطقة العلوية او المتقدمة upstream region وغالبا لاتكون اول قاعدة نيتروجينيه في شريط mRNA المخلق هي اول قاعدة مشفره للبروتين ولكن يوجد بين التسلسلين منطقة تدعى بالمنطقه غير المترجمة من الجهة 5 untransulated (region or 5-UTR)5 وهي المنطقه التي تستنسخ الى mRNA ولا تترجم الى بروتين ،في الجهة الاخرى من شريط mRNA المخلق توجد غالبا منطقة اخرى غير معبر عنها وتسمى 3UTR وتساهم هاتين المنطقتين في استقرارية mRNA وتصنيع البروتين.



Upstream and Downstream Regions

- يتكون انزيم RNA polymerase في بدائية النواة من وحدتين رئيسيتين core enzyme and sigma subunit ، يتالف جوهر الانزيم من اربع وحدات رئيسية اثنين متشابهتين واثنين تختلف فيما بينها ويرمز له

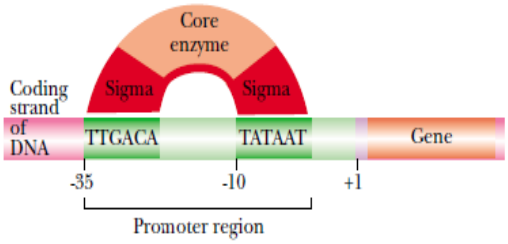
- Four subunits = $\alpha_2\beta\beta'$ Core enzyme

- One subunit = s Sigma factor

اما في حقيقية النواة فهناك ثلاث انواع من RNA polymerase(I,II,III) ويكون كل منها مسؤول عن عمل معين وكما يلي

- Nuclear DNA is transcribed by three different RNA polymerases
- **RNA pol I**
- Transcribes all rRNA genes (except for the 5S rRNA)
- **RNA pol II**
- Transcribes all structural genes .Thus, synthesizes all mRNAs
- Transcribes some snRNA genes
- **RNA pol III**
- Transcribes all tRNA genes .And the 5S rRNA gene

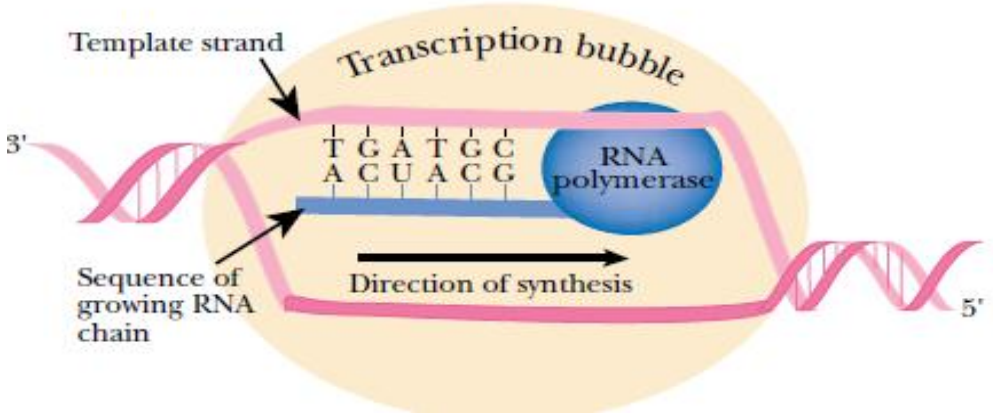
يكون جوهر الانزيم مسؤول عن تخليق شريط RNA الجديد، اما الوحده sigma فهي مسؤوله عن التعرف الى تسلسلات خاصة في منطقة الحفاز. تتعرف الوحدة سكما على تسلسلين محددين من القواعد في المنطقة العلوية للجين في منطقة الحفاز على الشريط غير المشفر وتدعى هاتين المنطقتين 35- and 10- وسميت هكذا بسبب انها تقع على بعد ١٠ و٣٥ قاعدة من اول تستنسخ من الجين وسابقا كان يطلق على المنطقه 10- صندوق بربينوPribnow box وقد انحسر تدريجيا استعمال هذه التسمية . ان التسلسل الشائع(consensus sequence) والمعروف للمنطقة 10- يكون تسلسلات من TATAA اما منطقة 35- فتكون التسلسلات الشائعة فيها هي TTGACA وقد عرفت هذه التسلسلات بمقارنه انواع مختلفة من الكائنات ووجد متوسطها يتكون غالبا من هذه التسلسلات . وقد وجد ان الجينات التي تحوي في حفازها هذه التسلسلات تكون اقوى تعبيرا من الجينات التي تختلف في تسلسلاتها ، وعلى الرغم من ان كثير من الجينات تختلف في هذه المناطق بواقع اربعه الى خمس قواعد ولكن تستمر وحدة سكما بالتعرف عليها. وبمعنى اخر فان كلما اقتربت الجينات من consensus sequence تكون اقوى واكثر تعبيرا وكلما ابتعدت عنها تكون اقل تعبيرا الا في حالة وجود منشط للجين. ان التعرف على تسلسلات التعرف مهم جدا في تجارب الهندسة الوراثية عندما يراد نقل جين من كائن الى اخر حيث يوضع دائما حفاز قوي لكي يتم التعبير عن الجين بصوره جيده.



The sigma protein binds to both the –10 and –35 sequences of the promoter, thereby establishing a constant position with respect to the start of transcription.

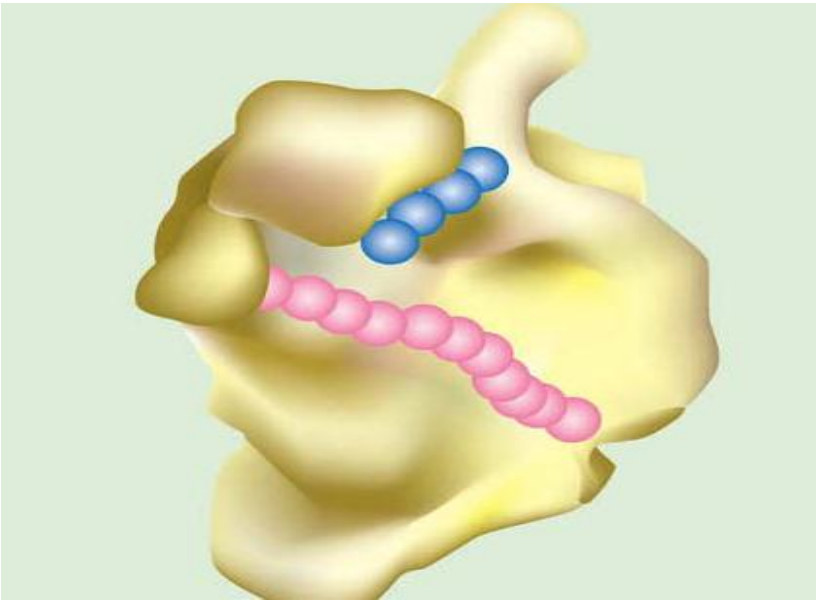
تتم عملية استنساخ الجين بثلاث خطوات رئيسية هي Intiation, elongation and termination ولايمكن التمييز عمليا بين هذه الخطوات ولكن لكل واحده عوامل رئيسية في اتمامها . عندما يتعرف انزيم RNA pol. على مناطق التعرف في جين معين تبدأ عملية الاستنساخ بفتح الحلزون المزدوج لشريطي DNA ويبدأ الفتح من منطقه 10- والتي يكون فك الارتباط فيها سهلا نظرا لاحتوائها على تسلسلات ادنين وثايمين فقط، ويلعب

العامل سكما دور مهم في هذه العملية ، تتكون بد فك الشريطين ماسميى بفقاعة الاستنساخ Transcription bubble . بعد ان تتم عملية فك شريطي DNA تبدأ عملية الاستنساخ لشريط RNA الجديد باستخدام core enzyme والذي يعمل على اطالة شريط RNA الجديد وتنفصل الوحدة سكما عن شريط DNA الحسي ويكون تسلسل القواعد في شريط RNA المخلق مكملا لشريط DNA المشفر ، وفي الحقيقة لايتم انفصال الوحدة سكما الا بعد ان يتحرك جوهر الانزيم مستنسخا حوالي ٨ الى ٩ قواعد جديدة من RNA، وفي هذه النقطه تحديدا تغادر الوحدة سكما مكان الحفاز من الجين ،في اغلب الجينات تكون اول قاعدة نيتروجينية مستنسخة هي ادنين وتكون في الشريط الاصلي للDNA محاطة بقاعدتين من نوع pyrmidine وعادة ماتكون CAT وتكون سرعة الاستنساخ حوالي ٤٠ قاعدة في لثانية الواحدة وهذا اقل كثرا من عملية تضاعف DNA والذي يبلغ حوالي ١٠٠٠ قاعدة في الثانية ولكن هذا المعدل متوافق مع معدل الترجمه والذي يبلغ ١٥ حامض اميني في الثانية الواحدة .



The beginning of RNA synthesis is shown. The DNA strands have separated at the transcription bubble. Synthesis of six bases of RNA complementary to those of the DNA template strand occurs while RNA polymerase remains at the promoter site.

كما اشرنا سابقا يتالف جوهر انزيم .RNA pol من اربع وحدات رئيسية تلعب الوحدة α دور مهم في التعرف الاضافي على مكان الحفاز فيما يكون للوحدتان β' وβ دور مهم في عملية بلمرة شريط RNA المخلق . يمتلك انزيم .RNA pol اخدود كبير في منتصفه يمكن ان يضم حوالي ١٦ قاعدة في بدائية النواة وحوالي ٢٥ قاعدة في حقيقية النواة ، وهناك ايضا اخدود صغير في الزواية اليمنى للاخدود الاول يكون هذا مخصص لشريط RNA الجديد المخلق .



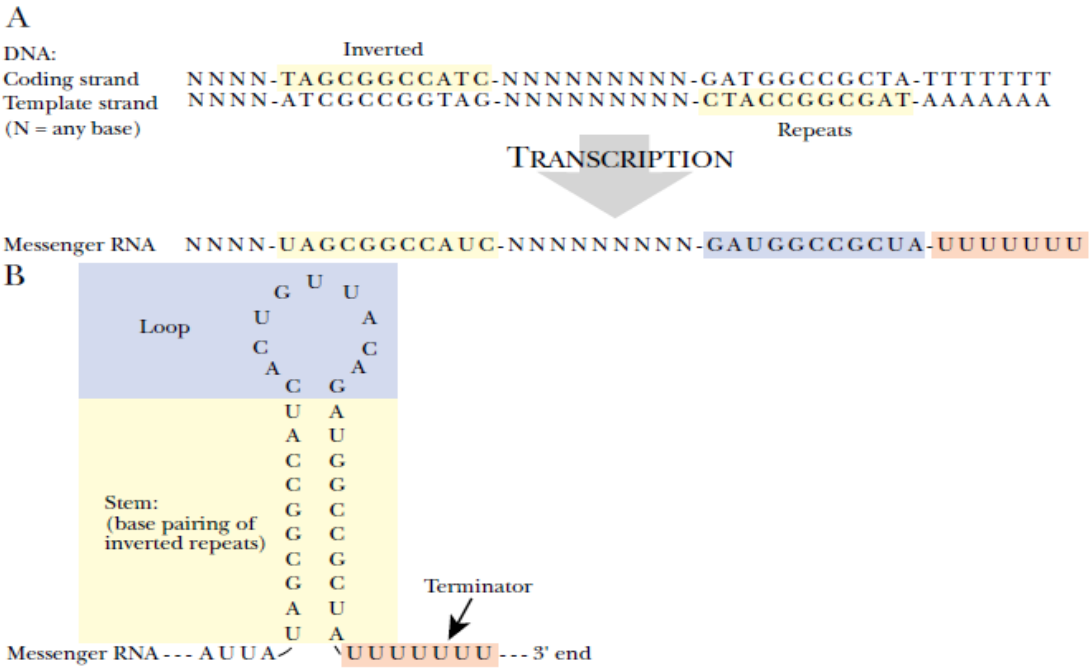
The structure of yeast RNA polymerase reveals a groove that may be used by DNA as it moves relative to the polymerase and a potential groove for the newly formed RNA.

تبدأ عملية فك الالتفاف الفائق لشريطي DNA عند بداية الاستنساخ بواسطة الالتفاف السلبي المعاكس لشريطي DNA بفعل انزيم RNA pol ويلعب انزيمين دور في عملية الاستنساخ هما DNA gyrase الذي يساعد في تكوين لف سلبي امام .RNA pol وانزيم topoisomerase الذي يرجع اللف الاصلي لشريطي DNA خلف .RNA pol بعد ان يتم استنساخه.

- كما توجد هناك مناطق تعرف لبداية الجين كذلك توجد مناطق يتعرف فيها الانزيم على المنطقه التي يجب ان تتوقف فيها عملية الاستنساخ تعرف هذه المنطقة بالمنهي Terminator والذي يكون عادة في الشريط الحسي لDNA ويتالف من سلسلتين وبشكل مقلوب لبعضهما البعض يفصل بينهما حوالي ست قواعد نيتروجينية وتتبع عادة بتسلسلات من الادنين في الشريط الحسي وبهذا فعند الاستنساخ يكون شريط mRNA هو نفس الشريط غير المشفر عدا استبدال الثايمين باليوارسيل وبذلك يكون شريط mRNA المخلق يحتوي على تسلسلات من اليوراسيل في النهاية 3 من الشريط. تكون التسلسلات المقلوبه في اشرطة DNA الاصلي على كلا الشريطين . وقد اشار بعض الباحثين الى انه توجد في بعض اشرطة RNA المخلقه ايضا تسلسلات متعاكسه مما يودي الى تكاملها وتكوين تركيب يعرف بالحلقه متكونه من ساق وعروة "stem and loop hairpin structure" .

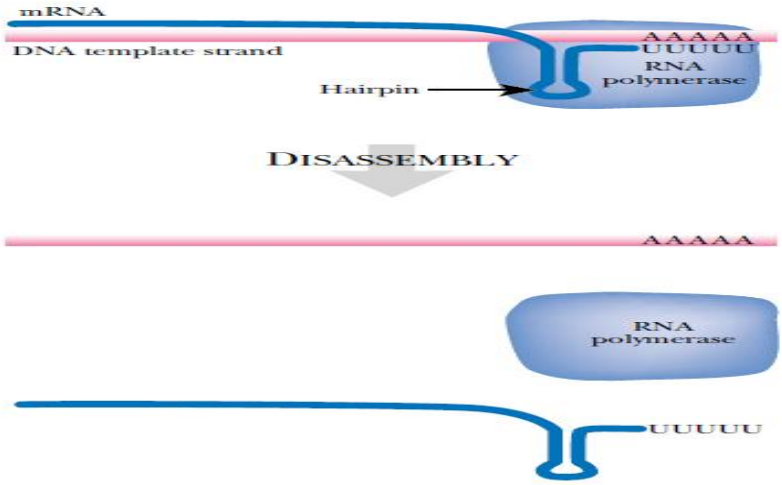
عندما يصل انزيم .RNA pol الى العروة يتوقف عن العمل، تحتوي جزيئة mRNA المخلقة على عدد من العروات التي تستطيع ان تبطيء عمل انزيم .RNA pol ويتوقف لفتره قصيرة وهذا يعتمد على حجم العروة المتكونة. وهذه تعطي فرصة لانهاء عمل .RNA pol وتحرير جزيئة RNA المتكونة في حالة وجود مكررات من U في نهاية الشريط، اما في حالة عدم وجود مكررات U فان الانزيم يعاود عملة ثانية حتى وان توقف لفتره قصيرة ، تستطيع مكررات U في شريط RNA المخلق ان ترتبط ارتباط ضعيف بمكررات A الموجوده في شريط DNA القالب وبذلك تستطيع ان تنهي عمل الانزيم ويتحرر شريط RNA بعد ان ينفك

الارتباط الضعيف بين RNAو DNA . عادة ماتاخذ عملية الانهاء فترات مختلفه ولكن غالبا متاخذ حوالي ٦٠ ثانية



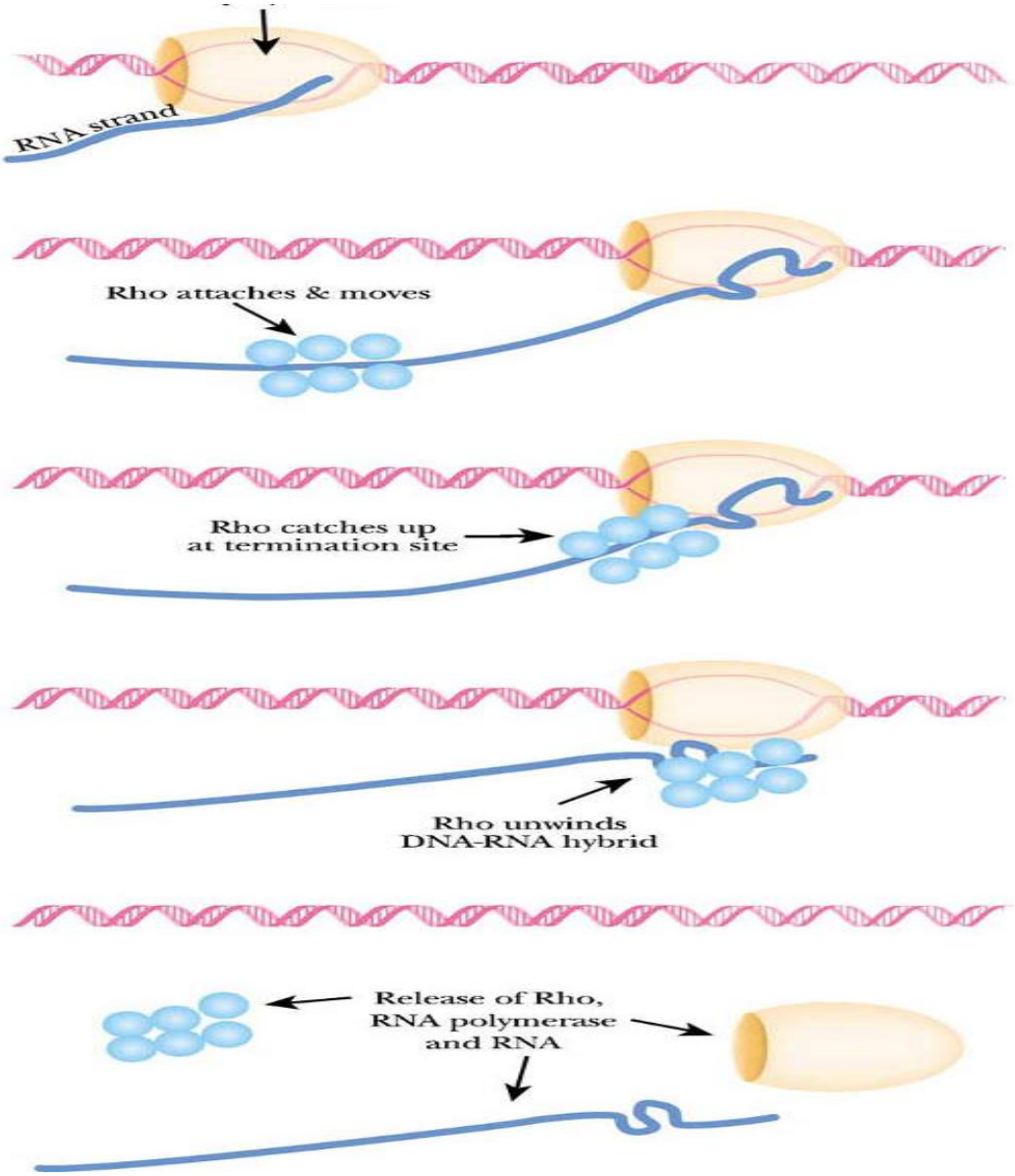
A) The signal for RNA polymerase to stop is shown in both the DNA and the RNA transcribed from it. The terminator consists of an inverted repeat separated by approximately 10 bases from a run of U's. B) The complementary bases form the stem of the hairpin, with the intervening bases forming the loop.

تتم عملية الانهاء في عدة مواقع محتملة من التسلسلات المتعاقبة ل U الموجودة في نهاية شريط mRNA المخلق وبذلك فان جزيئة الانزيم .RNA pol يمكن ان تغادر عملية الاستنساخ في عدة مواقع لنفس mRNA وعندما ينفصل شريطا DNA و RNA في موقع الانهاء يغادر الانزيم باحثا عن جين اخر يتك استنساخه.



-يوجد نوعين من المنهيات لعمل الجين Rho-dependent terminators need Rho (ρ) protein والنوع الاخر Rho-independent ، النوع الاول يحتاج الى العامل Rho لفصل الانزيم عن شريط DNA اما النوع الثاني فلا يحتاج الى اي عامل او بروتين لتتم عملية الانهاء وتكون غالبية المنهيات في *E. coli* من النوع المعتمد على بروتين Rho اما النوع الثاني فقد وجد في غالبية العاثيات .

يتالف العامل Rho من ستة سلاسل ببتيدية متشابهه ويعمل هذا البروتين على الارتباط بجزيء RNA المخلق والذي يكون فقيرا في محتواه من C an G ويتسمر في التحرك على طول الشريط المخلق من RNA وعندما يبطيء انزيم .RNA pol نتيجة لوجود العروة يلحق به هذا البروتين ويرتبط به مما يودي الى فصل الانزيم عن DNA وتوقف عملية الاستنساخ بعدها يتحرر كل من الانزيم والبروتين كل على حدة.

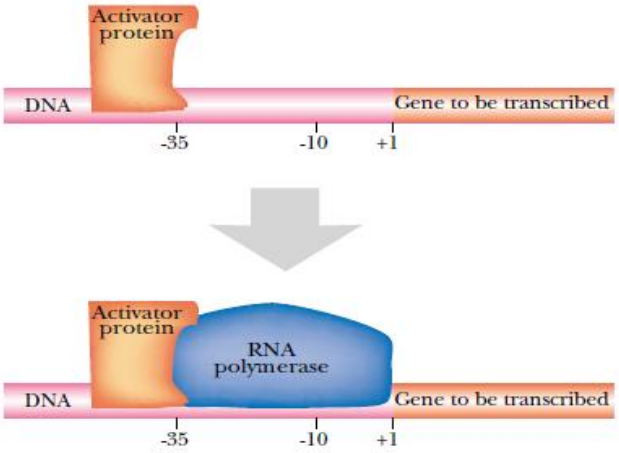


تشغيل الجين

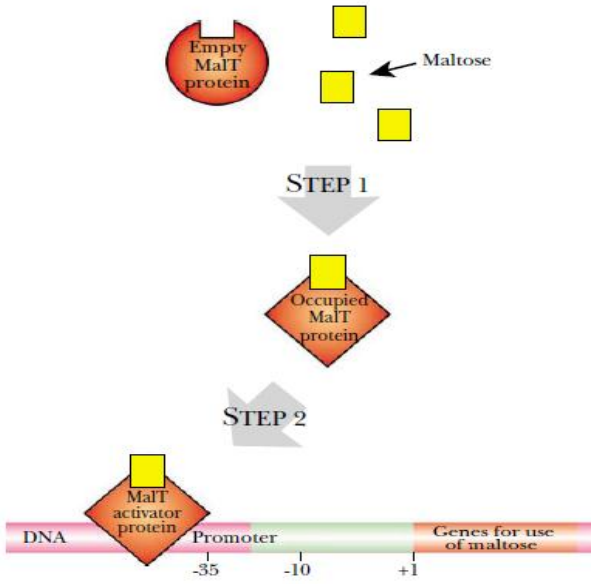
كما تم الاشارة اليه سابقا فبعض يتطلب عملها باستمرار من اجل ديمومة حياة الخلية وهذه الجينات تسمى housekeeping genes وفي هذه الجينات تكون التسلسلات 35- و 10- قريبة او متماثلة مع التسلسلات المحفوظة لهذه المواقع لذا من السهولة ان يتعرف عليها الجزء سكما من انزيم .RNA pol وتبدأ عملية الاستنساخ لهذه الجينات وبشكل مستمر ، بعض الجينات التي تستنسخ بشكل اقل تكون هذه المواقع فيها اقل تشابها بالمواقع المحفوظة . في بعض الاحيان تحتاج الخلية وتحت ظروف معينه الى اشتغال عدد من الجينات او جين واحد وبشكل مستمر لتواجد ظرف بيئي او بايولوجي معين، تكون المواقع 35- و 10- فيها غير مماثلة للمواقع المحفوظه لذلك لايتعرف عليها الجزيء سكما في انزيم الاستنساخ مالم يتم مساعدته ببروتين اخر ليتم التعرف على موقع الحفاز وهذا البروتين يسمى البروتين المنشط activator protein وتوجد عدد

من البروتينات المنشطه التي تعمل في الخلية تحت ظروف معينه وتقوم بتنشيط جينات مختلفه قد يكون جين واحد او عدد من الجينات الي يتطلب تشغليها تحت ظرف معين وقد يقوم بهذا الواجب بروتين منشط واحد. في الكائنات الراقية يعبر عن عدد من الجينات استجابة لظرف معين وقد تكون هذه الجينات متوزعه في مختلف الكروموسومات او في انسجة وخلايا مختلفه لذا في الكائنات الراقية توجد عوامل استنساخ تقوم بهذا العمل transcription factors

-يتبادر الى الذهن السوال التالي من يقوم بتنشيط البروتين المنشط وهو موجود في الحالة الطبيعية للخلية وللاجابه عليه يجب ان نعرف ان في الخلية على مستوى جزيئي يوجد عدة منظمات واحدة تنظم عمل الاخرى وتاتي الاشارة الاولية كاستجابة لعامل خارجي وهذا سيتم توضيحه في محاضرات قادمة لتنظيم التعبير الجيني ولكن لتبسيط الفكرة ناخذ مثلا استهلاك المالتوز من قبل بكتريا *E. coli* حيث تحتاج الى انزيمات معينه لاستهلاك هذا السكر فالبروتين المنشط لعمل الجينات المسؤوله عن استهلاك هذا السكر موجودة في الخلية ولكنها لاتعمل على ربط الانزيم الناسخ بحفاز هذه الجينات الا في حالة وجود سكر المالتوز في الوسط الذي تنمو فيه البكتريا، فعند وجود السكر يرتبط بالبروتين المنشط ويعمل على تنشيط البروتين المنشط ليرتبط بموقع قبل الحفاز وهذا يحفز انزيم .RNa pol على الارتباط بالحفاز واستنساخ الجينات المسؤوله عن استهلاك السكر وتسمى جزيئة المالتوز التي تعمل على تنشيط البروتين المنشط بالمثير inducer وكما موضح بالرسم



The activator protein first binds to the promoter region of the gene. Once bound, the activator protein facilitates the binding of the RNA polymerase. Gene transcription then commences.



The MalT protein has a binding site complementary in shape to the sugar maltose. In step 1, MalT binds to maltose, which causes MalT to change shape. In step 2, the new conformation of MalT protein allows it to bind to DNA at a specific sequence found only in certain promoters. The gene thus activated is involved in the metabolism of maltose.

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), "The Gene as the Basis of Life", Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08

جامعة الأنبار

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

علم البايولوجي الجزيئي

المحاضرة الحادية عشر : عملية الترجمة وصناعة البروتين

المرحلة الرابعة

أستاذ المادة : أ. د. احمد محمد تركي

المحاضرة الحادية عشر: عملية الترجمة وصناعة البروتين Translation and Protein Synthesis

يصنع البروتين بالاعتماد على المعلومات الوراثية المخزونة على الكروموسوم وتنتقل المعلومات الوراثية بمرحلتين اولهما من DNA الى mRNA بعملية الاستنساخ والمرحلة الثانية تستخدم المعلومات المحمولة على شريطmRNA لتعطي سلسلة من الاحماض الامينية بشكل متعدد ببيتايد وهذا يتضمن تحويل الشفرة الوراثية "لغة الحامض النووي" الى قراءة بروتينية ولهذا سمية بعملية الترجمة Translation ، ان انتقال المعلومات الوراثية من DNA الى RNA ثم الى البروتين يعرف بالمبدأ المركزي في علم الحياة الجزيئية Central dogma واول من اقره واشار اليه هو العالم كريك سنة ١٩٦٢. ان عملية فك رموز mRNA تتم في مكائن خاصة تعرف بالرايبوزومات والتي ترتبط بmRNA وتصنع البروتين حيث تتحرك على طول الشريط منتجة سلسلة ببتيدية جديدة.

لقد وضعت عدة مباديء لعلم البايولوجي الجزيئي من ضمنها فرضية Beadle and Tatum والتي تنص على ان كل جين يصنع انزيم واحد ولكن وسع افق هذه الفرضية ليشمل كل البروتينات وليس الانزيمات فقط. ويجب الاشارة الى ان البروتينات هي نواتج جينية ولكنها ليست الوحيدة ف tRNA,rRNA تعتبر ايضا نواتج جينية. كما ومن المعروف ايضا هناك عمليات تقطيع وانتاج لاكثر من بروتين من نفس النسخة من mRNA وهذا كله قد تمت الاشارة اليه سابقا.

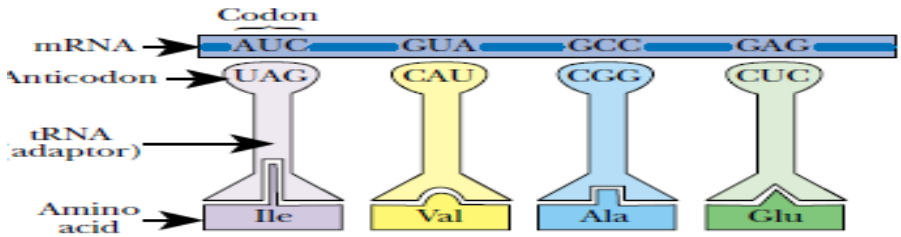
كما هو معروف هناك ٢٠ حامض اميني تكون البروتينات في اغلب الكائنات ولكن توجد فقط اربع قواعد نيتروجينية تؤلف شريط mRNA وبهذا لايمكن لقاعدة واحده ان تشفر لحامض اميني واحد ولايمكن ايضا لقاعديتن ان تشفر لانها تعطي فقط ١٦ احتمال والاحتمال الارجح ان تكون ٣ قواعد تشفر لحامض اميني واحد وهذا يعطي ٦٤ احتمال مختلف للاحماض الامينية العشرين، وهذه الثلاث قواعد تسمة بالشفرة codon وتسمى الاحتمالات الوراثية للاحماض الامينية بالشفرات الوراثية ، وبما انه توجد فقط ٢٠ حامض اميني فانه من البديهي ان لبعض الاحماض الامينية اكثر من شفرة وراثية بالاضافة الى وجود ثلاث شفرات وراثية متخصصة بعملية انهاء الترجمة تعرف بشفرات التوقف stop codon والجدول التالي يوضح الشفرات

1st base	2nd (middle) base U	C	A	G	3rd base
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
	UUA Leu	UCA Ser	UAA stop	UGA stop	A
	UUG Leu	UCG Ser	UAG stop	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

الوراثية والاحماض الامينية الناتجة عنها

The 64 codons as found in messenger RNA are shown with their corresponding amino acids. As usual, bases are read from 5′ to 3′ so that the first base is at the 5′ end of the codon. Three codons (UAA, UAG, UGA) have no cognate amino acid but signal stop. AUG (encoding methionine) and, less often, GUG (encoding valine) act as start codons. To locate a codon, find the first base in the vertical column on the left, the second base in the horizontal row at the top and the third base in the vertical column on the right.

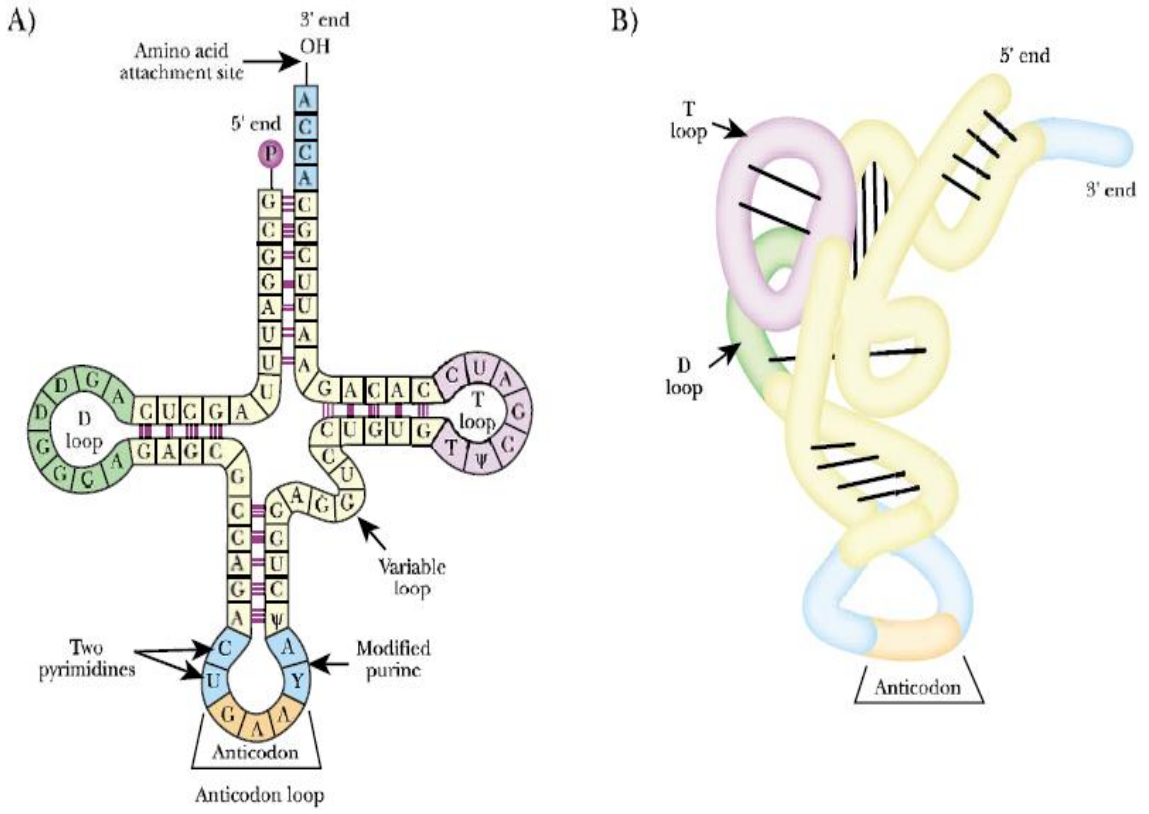
لقراءة الشفرة الوراثية فان جزيئات معينة تقوم بالتعرف على الشفرة في شريط mRNA في جهة وتحمل حامض اميني في جهتها الاخرى ، هذه الجزيئات تكون عبارة عن tRNA حيث يحمل في احد نهايتيه مضاد الشفرة anticodon والتي تتالف من ثلاث قواعد تكون مكملة للشفرة في شريط mRNA وتتكامل معها باواصر هيدروجينية وفي الطرف الاخر يحمل tRNA حامض اميني متوافق مع الشفرة الوراثية.



Several tRNAs are seen bound to mRNA codons by their anticodons. Each tRNA carries a different amino acid at the end of the adaptor stem. This diagram is intended to show the principle of mRNA decoding. It does NOT illustrate the actual mechanism of protein synthesis. In real life, the codons are contiguous and there are no spacers in between and only two tRNAs are bound at any given time.

Cloverleaf structure of tRNA

يتكون الحامض النووي tRNA من حوالي ٨٠ نيوكلوتايد في الطول ويتزواج نصفها ليكون شريط مزدوج ويكون الحامض النووي الناقل المثالي متكون من اربعة سيقان مزدوجة الشريط و ثلاث حلقات وهذا مايعطي له شكل ورقة البرسيم والذي يكون ثنائي الابعاد تلتف فيه احد حلقتيه نحو الاخرى ليعطي تركيب ثلاثي الابعاد و لف يساري وفيه تكون كل من حلقة T وحلقة D متقاربتين ويكون مضاد الشفرة والحامض الاميني على طرفي التركيب ثلاثي الابعاد و اللف اليساري وتختلف الحوامض النووية الناقلة في طولها ولكن تتشابه في تركيبها ويتراوح طولها بين ٧٥-٩٣ نيوكلوتايد واغلب الاختلاف في الطول يكون في الحلقات.



A) A planar view (secondary structure) of a tRNA shows its cloverleaf structure comprised of the 3′ and 5′ acceptor stem, the T- (or TψC) and D-loops and the anticodon loop. A variable loop, which varies in length in different tRNA molecules is also found. B) The folded (tertiary structure) configuration resembles an "L."

يكون الساق المستقبل للحامض الاميني acceptor stem متكون من ازدواج النهاية 5 المنتهية عادة بقاعدة G وتكون مفسفرة مع النهاية 3 التي تنتهي عادة بالتسلسل CCA-OH ويرتبط الحامض الاميني بالنهاية الهيدروكاربوكسيلية للطرف 3 والساق المستقبل.على بعد نصف دورة في الجهة المقابلة تكون حلقة مضاد الشفرة anticodon loop وتتكون من سبع قواعد تكون ثلاث منها مضادة للشفرة في المنتصف ويسبق عادة القواعد المضادة للشفرة بقاعدتين من نوع بيرمدين ويليها قاعدة ادنين محورة كما موضح في الشكل اعلاه.

الساقين والحلقتين الاخريين في تركيب tRNA سميت اعتمادا على قواعدهما المحورة حيث تحتوي الاولى(T) TψC loop (psi) والتي يكون محتواها pseudouracil فيما تتكون الحلقة المقابلة-DHU loop(D) من Dihydrouracil ، يكون لهذه التحويرات دور مهم في عملية التفاف tRNA واداء عمله بشكل صحيح كما تلعب الحلقتين دور مهم في الارتباط بالرابوزومات وعوامل الترجمة وكما سنرى لاحقا

-كما هو معروف يتكون RNA حين استنساخه من شريط الدنا من اربعة قواعد فقط هي A,G,C, and U ، تتحور بعض هذه القواعد بعد عملية الاستنساخ في tRNA ويكون في كل جزيء من الرنا الناقل حوالي ١٥ قاعدة محورة.

اغلب التحويرات تكون بعملية اضافة او ازالة مجموعة المثيل من القواعد النيتروجينية الاربع الموجودة في شريط RNA ، عملية اضافة المثيل تمنع ارتباط بعض القواعد النيتروجينية ببعضها وتساعد في عملية ارتباط البروتينات الرايبورزومية لتتم علمية الترجمة ويلاحظ ان القاعدة النيتروجينية T (5-methyl Uracil)والتي عادة ما تتواجد فقط في DNA ايضا موجودة في tRNA بعملية ميثلة القاعدة U بعد الاستنساخ. في pseudouridine لاتتحور القاعدة U بنفسها ولكن ارتباط سكر الرايبوز فيها يكون مختلف فيرتبط بالكاربون ٥ بدل النايتروجين ١ في uridine الاعتيادي. وتكون القاعدة المحورة Inosine والتي عادة ماتسمى hypoxanthine موجودة في شريط tRNA ويرمز لها بالمز I تجنبا للخلل في القواعد وقراءتها والحال مشابه في القواعد المحورة wyosine, queuosine والتي يرمز لها Q,Y وعلى التوالي.

-يحمل كل جزيء من tRNA حامض اميني واحد وبذلك يكون لزاما ان تتوافر على الاقل ٢٠ جزيئة tRNA لكي تستطيع حمل ٢٠ حامض اميني مختلف هي مكونات البروتين في الخلية الحية. من جانب اخر اذا استثنينا شفرات الايقاف فهناك ٦١ شفره وراثية تعطي احماض امينية وبذلك فهناك اكثر من شفرة وراثية للحامض الاميني الواحد ، على هذا الاساس فعلى نفس جزيءtRNA ان يقرأ اكثر من شفرة تعطي نفس الحامض الاميني اي انه يزدوج مع اكثر من قاعدة، وفي اغلب الخلايا الحية وجد ان هناك حوالي ٣١ نوع مختلف من tRNA تكون هذه الانواع كافية لقراءه جميع الشفرات الاحدى والستون. ومن الطبيعي ان تختلف الكائنات في عدد جزيئات tRNA اعلى او اقل بقليل وحسب الكائن.

كما هو معروف من قوانين الازدواج القاعدي فان لكل قاعدة نيتروجينية قاعدة يمكنها الازدواج معها ، هنا يتبادر الى الذهن سوال عن قدرة tRNA على قراءة اكثر من تسلسل ليعطي نفس الحامض الاميني اي انه يزدوج مع قواعد مختلفه ليعطي نفس النتيجة. ان الانطباع المأخوذ عن قوانين الازدواج القاعدي اتت من الحلزون المزدوج لشريط DNA ولكن حقيقة الامر في عملية الشفرة والشفرة المضادة في عملية الترجمة يكون جوهر العملية هي ازدواج وليس حلزون مزدوج pairing process not double helix ، تزدوج اخر قاعدتين في مضاد الشفرة لشريط tRNA مع اول قاعدتين للشفرة في شريط mRNA وحسب قوانين الازدواج الاعتيادية ، اما القاعدة الاولى في مضاد الشفرة ل tRNA والتي تزدوج مع القاعدة الثالثة في الشفرة لشريط mRNA فانها تتذبذب قليلا وذلك لانها ليست محصورة بين قاعدتين مزدوجتين كما في تركيب

الحلزون المزدوج . وتكون عملية الازدواج بين الشفرة ومضاد الشفرة في عملية الترجمة محكومة بقوانين خاصة حيث تتبع قوانين التذبذبwobble rules وكما في الجدول التالي

	PAIRS WITH THIRD CODON BASE	
First Anticodon Base	normal	by wobble
G	C	U
U	A	G
I	—	C or U or A
C	G	no wobble
A	U	no wobble

Wobble rules codon\anticodon pairing

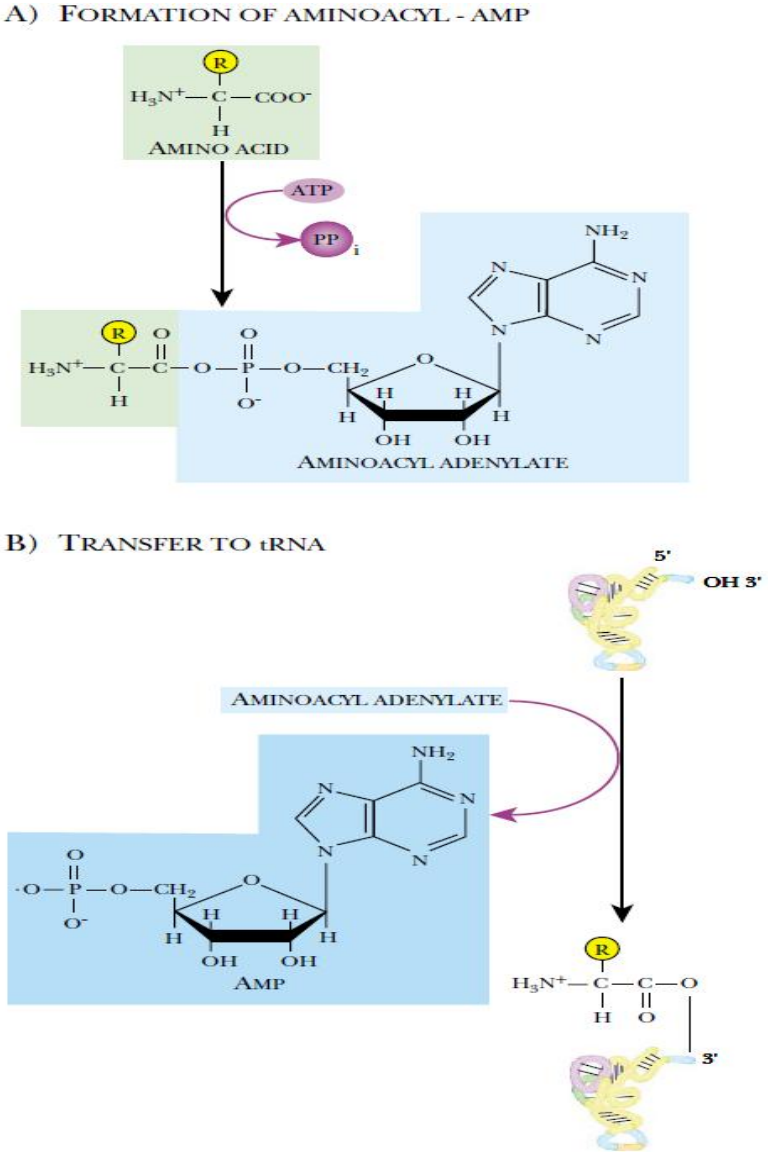
ولتوضيح هذه العملية ، اذا كانت اول قاعدة في مضاد الشفرة من نوع G فانه يستطيع ان يزدوج مع C اعتياديا او مع U حسب قوانين التذبذب وعلى سبيل المثال فان tRNA للحامض الاميني الهستدين يملك مضاد شفره GUG والذي يستطيع التعرف على كل من شفرات CAC و CAU في شريط mRNA وعلى نفس الطريقة اذا كانت اول قاعدة في مضاد الشفرة U فانها تستطيع الازدواج مع كل من A,G. عندما يشفر للحامض الاميني زوج من الشفرات فان الشفرة الثالثة لابد ان تكون U and C كما في الهستدين والتايروسين او A and G كما في اللايسين وحامض الكلوتاميك ولاتوجد أي احتمالية لارتباطات اخرى. وتنطبق هذه الفرضيات على الاحماض الامينية التي تمتلك اربع او ست شفرات فان بمقدور tRNA واحد ان يقرأها اعتمادا على قوانين التذبذب.كما يمكن ل tRNA ان يقرأ ثلاث شفرات مرة واحدة اذا كان محتويا على مضاد الشفرة I الذي يستطيع الازدواج مع كل من U, A, and C .

شحن tRNA بالحامض الاميني

لكل tRNA انزيم خاص يتعرف على كل من جزيء tRNA والحامض الاميني الخاص به ويعرف هذا الانزيم ب aminoacyl tRNA synthetase ويربط الرنا الناقل بالحامض الاميني. وهذه العملية تعرف بعملية شحن جزيء tRNA (charging of tRNA) وتوجد هذه العملية في السايتوبلازم الخلوي وتتم بخطوتين وكما يلي

a) amino acid + ATP → aminoacyl-AMP + PPi
b) aminoacyl-AMP + tRNA → aminoacyl-tRNA + AMP

يكون انزيم aminoacyl tRNA synthetase متخصص بشكل عالي لوضع الحامض الاميني الصحيح على جزيء الرنا الناقل الصحيح ويتم التعرف على الرنا الناقل الصحيح بواسطة مضاد الشفرة في بعض الحالات وبواسطة الساق المستقبل في حالات اخرى وبعض الانزيمات تتعرف على كلا المنطقتين بنفس الوقت

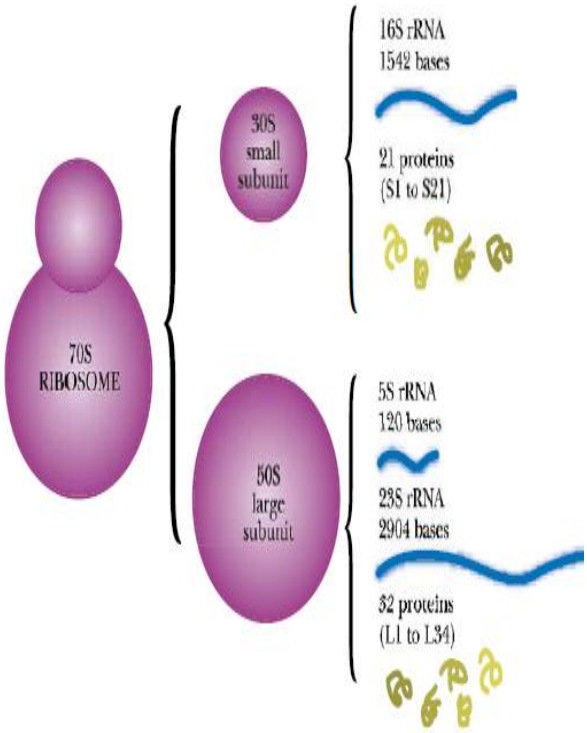


This two-step procedure begins (A) by attachment of the amino acid to adenosine monophosphate (AMP) to give aminoacyl-AMP or aminoacyl-adenylate. This involves splitting ATP and the release of inorganic pyrophosphate. Then, in the second step (B), the amino acid is transferred to the hydroxyl group of the ribose at the 3′-end of the tRNA, yielding AMP as a byproduct.

الرايبوزومات :- مكائن قراءة الشفرات الوراثية

ان عملية قراءة الشفرات الوراثية تتم بواسطة عضيات صغيره تدعى الرايبوزومات والتي تتصل بكل من mRNA وtRNA المشحون لتتم عملية صناعة البروتين. عملية ترجمة mRNA تبدأ عند النهاية ٥ فبعد ان يرتبط الرايبوزوم بهذه النهاية يتحرك على طول شريط mRNA ويضيف احماض امينية الى شريط متعدد الببتايد الجديد كلما قرأ شفرة وراثية جديدة.كل شفرة على شريط mRNA تقرأ بواسطة مضاد الشفره على شريط tRNA .

تم جمع المعلومات عن الرايبوزومات وتحليلها بواسطة الطرد المركزي الفائق السرعة ، واحجام الرايبوزومات يشار اليها (S- value) او مايعرف (Svedberg unit) والتي تقيس سرعة الترسيب لمكونات الرايبوزوم.وعلى الرغم من ان القيم العالية من S-value تشير الى الاجزاء الكبيرة ولكنها لاتتناسب بالضرورة مع الوزن الجزيئي. يكون الرايبوزوم البكتيري من نوع 70S ويتكون من وحدتين الكبيرة 50S والصغيرة 30S فيما يكون رايبوزوم الكائنات حقيقية النواة اكبر ويتكون من 60S and 40S. يتكون رايبوزوم البكتريا من ثلاث انواع من rRNA وتشكل حوالي ثلثي حجم الرايبوزوم والثلث الباقي عبارة عن بروتينات رايبوزومية عددها حوالي ٥٤ بروتين . تتالف الوحدة الصغيرة 30S من 16S rRNA فيما تتالف الوحدة الكبيرة 50S من نوعين هما 5S rRNA and 23S rRNA.



The ribosome is composed of 30S and 50S subunits. These in turn are composed of ribosomal RNA and numerous proteins. The 30S subunit is built from 16S rRNA together with 21 proteins. The 50S subunit contains 5S and 23S ribosomal RNA plus 34 proteins.

تملك جزيئات rRNA تركيبا ثانويا يتكون من عدد من السيقان والحلقات many stems and loops واعتقد ان لهذا التركيب دور مهم جدا في عملية صناعة البروتين . والبحوث الحديثة اظهرت ان لrRNA دور مهم في معظم التفاعلات في عملية صناعة البروتين وخصوصا الجزء 23S في الوحدة الكبيرة للرايبوزوم والتي اطلق عليها فيما بعد ribozyme اشارة الى دورها الانزيمي في عملية صناعة البروتين حيث تلعب هذه الوحدة دور مهم في صناعة الاصرة الببتيدية بين الحامضين الامينين السابق والمضاف حديثا اثناء عملية الترجمة، اي انها تلعب دور انزيمي كانزيم peptidyl transferase واظهرت ايضا التصويرات الاشعاعية للوحدة الكبيرة 50Sبواسطة اشعة اكس عدم وجود بروتينات رايبوزية قرب مركزالتفاعل واثبتت ادوار كل من الوحدات الاساسية باستخدام عمليات التطفير حيث اظهرت الطفرات في 23S قلة في صناعة البروتين او انعدام لاستطالة السلسلة تماما. فيما اظهرت الطفرات في الموقعين ٢٤٤٧ و ٢٤٥١ (هذا بالنسبة لبكتريا *E. coli* 23S of) عدم تاثيرها على صناعة البروتين على الرغم من وجودها في الجزء المؤثر من الوحدة الكبيرة للرايبوزوم وهذا اظهر الدور الحقيقي لهذه الوحدة حيث انها تقوم بوضع الحامضين الامينين بموضع صحيح لتكوين الاصرة الببتيدية بحيث يستطيع انزيم tRNA aminoacyl transferase النشط من عمل الاصرة الببتيدية بينهما.

احتمالات قراءة الشفرة الوراثية

قبل ان يترجم mRNA الى بروتين يجب ان يؤخذ بنظر الاعتبار اطار القراءة reading frame ، حيث تقرأ القواعد في شريط mRNA بثلاث احتمالات اعتمادا على بداية القراءة.وكل نقطة بداية لأي من القواعد الثلاث تعطي قراءة مختلفة وتسلسل احماض امينية مختلف فبالتالي لأي تسلسل من القواعد هناك احتمالات مختلفة للقراءة والمثال التالي يوضح الفكرة ، فرضا لدينا التسلسل التالي GAAAUGUAUGCAUGCCAAAGGAGGCAUCUAAGG فلهذا التسلسل ثلاث قراءت مختلفة تعطي ثلاث احتمالات لسلسة الاحماض الامينية الناتجة وكالتالي

If we start at base #1 we get the following codons:

GAA | AUG | UAU | GCA | UGC | CAA | AGG | AGG | CAU | CUA | AGG

If translated this would give the following amino acid sequence:

Glu | Met | Tyr | Ala | Cys | Gln | Arg | Arg | His | Leu | Arg

If we start at base #2 we get the following codons:

G | AAA | UGU | AUG | CAU | GCC | AAA | GGA | GGC | AUC | UAA | GG

If translated this would give the following amino acid sequence:

– | Lys | Cys | Met | His | Ala | Lys | Gly | Gly | Ile | Stop | –

And if we start at base #3 we get the following codons:

GA | AAU | GUA | UGC | AUG | CCA | AAG | GAG | GCA | UCU | AAG | G

If translated this would give the following amino acid sequence:

– | Asn | Val | Cys | Met | Pro | Lys | Glu | Ala | Ser | Lys | –

كل واحد من الاحتمالات يعطي قراءة بروتينية مختلفة تماما عن الاحتمال الاخر فيما اذا اختلفت نقطة البداية لكل من القواعد النيتروجينية المشكلة للشفرة الوراثية وهذه الاحتمالات للقراءة تعرف باطار القراءة reading frame اي ان لكل سلسلة من القواعد ثلاث اطر قراءة مختلفة اما اذا تغير اطار القراءة بثلاث قواعد كاملة هذا لايعني تغير كامل للبروتين الناتج لانه يعطي احد الاحتمالات الثلاثة مرة اخرى.

-ان اي تسلسل منDNA or RNA يبدأ بشفرة بداية ويعطي نظريا بروتين في النهاية يسمى opening reading frame او اختصارا يعرف ORF ، وبهذا فان لكل mRNA ثلاث احتمالات مختلفة ل ORF

واختيار البداية الصحيحة هي مسالة جوهرية في عملية الترجمة مع الاخذ بنظر الاعتبار ان قسم من mRNA تحتوي على مناطق لاتترجم في بدايتها عرفناها ب 5-untranlated region وبهذا فان عملية الترجمة لاتبدأ بسهولة باول قاعدة في شريط mRNA المرتبط بالرايبوزوم. احد الطرق لمعرفة ORF الصحيح هو باختيار شفرة البدء start codon والتي دائما ماتكون AUG والتي تشفر للحامض الاميني ميثيونين methionine وهذه الشفرة ستكون هي شفرة بداية الترجمة واطار القراءة الصحيح ولكن للمثال الذي اخذ سابقا فان له ثلاث شفرات بداية محتملة (تحتها خط) وهذه الشفرات الثلاث تعطي ثلاث احتماليات مختلفة ايضا وثلاث اطر للقراءة ايضا

GAAAUGUAUGCAUGCCAAAGGAGGCAUCUAAGGA

المراجع

1-Wilkins, Maurice (2003), *The Third Man of the Double Helix: The Autobiography of Maurice Wilkins*, New York: Oxford University Press.

2-Muller, Hermann J. ([1926] 1929), “The Gene as the Basis of Life”, Proceedings of the International Congress of Plant Science, 1: 897–921.

3-Morgan, Thomas H. (1926), The Theory of the Gene, New Haven: Yale University Press.

4- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1969". Nobel Foundation.Archived from the original on June 25, 2013.Retrieved June 25, 2013.

5- Beadle GW, Tatum EL (15 November 1941). "Genetic Control of Biochemical Reactions in Neurospora". PNAS 27 (11): 499–506.

6- Hershey, A. D. and Martha Chase. "Independent Functions of Viral Protein and Nucleic Acid in Growth of Bacteriophage." J. Gen. Physiol., 36 (1): 39-56. September 20, 1952.

7-Watson, J. D., & Crick, F. H. C.A structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 171, 737–738 (1953).

8- Sanger, F. (1980), Nobel lecture: Determination of nucleotide sequences in DNA, Nobelprize.org, retrieved 18 October 2010.

9-Maxam AM, Gilbert W (February 1977). "A new method for sequencing DNA". Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74 (2): 560–4.

10-Shampo, M. A.; Kyle, R. A. (2002)."Kary B. Mullis — Nobel Laureate for procedure to replicate DNA". Proceedings (Mayo Clinic) 77 (7): 606.

11- Barnhart, Benjamin J. (1989). "DOE Human Genome Program". Human Genome Quarterly 1: 1. Retrieved 2011-05-02.

12- National Commission on the Future of DNA Evidence (July 2002). "Using DNA to Solve Cold Cases" (pdf). U.S. Department of Justice. Retrieved 2006-08-08