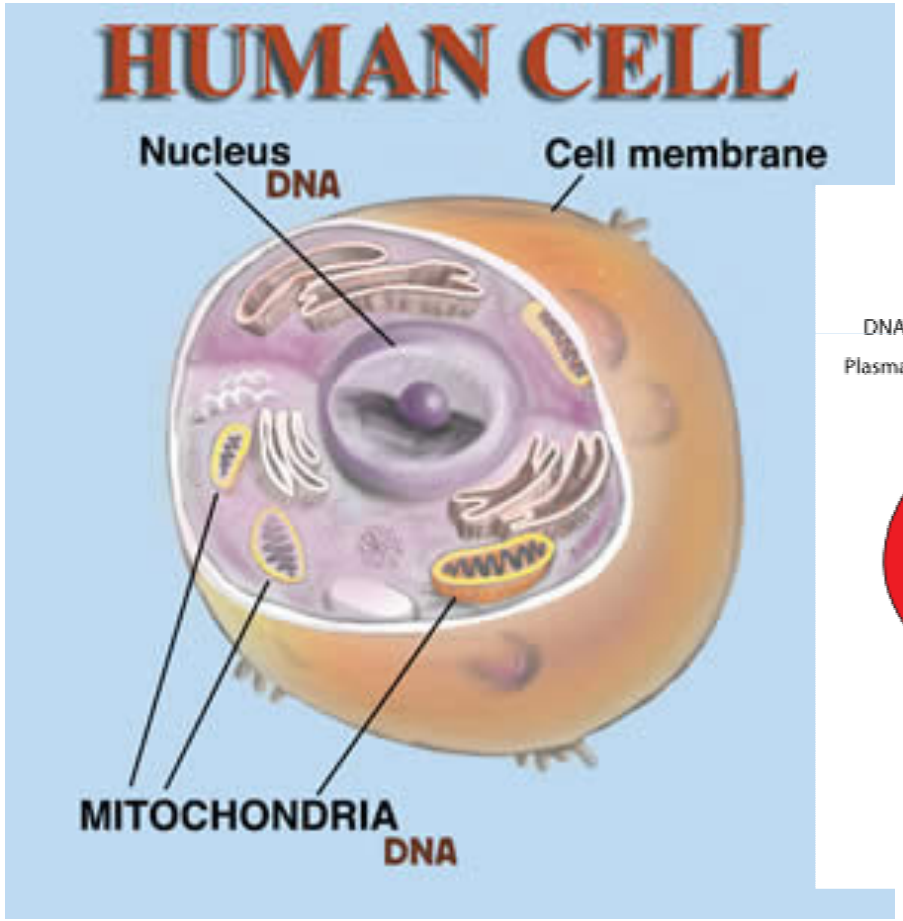
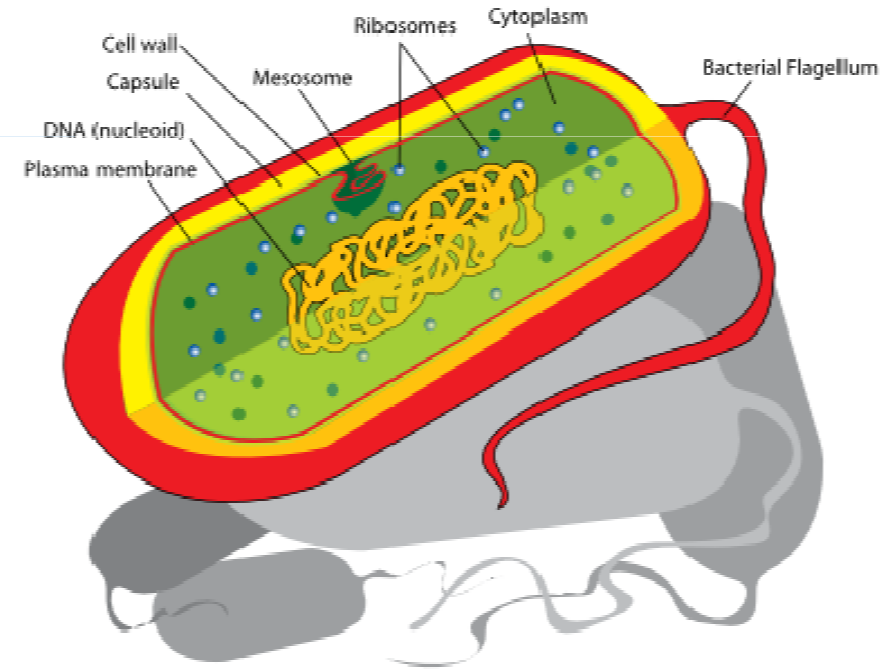
الخليـــــة





محتوى المحاضرة

- تعريف الخلية
- تصنيف الخلية

  ١- خلايا بدائية الأنوية

  ٢- خلايا حقيقية النواة
- وجه التشابه و الإختلاف بين الخلايا بدائية النواة و خلايا حقيقية النواة

محتوى المحاضرة

- مكونات الخلية بدائية النواة و الخلية حقيقية النواة
  ١. الغشاء الخلوي: مكوناته و تركيبه
  ٢. الجدار الخلوي ٣. السيتوبلازم
  ٤. الريبوسومات
- مكونات الخلية الحقيقية النواة
  ١. النواة
  ٢. الشبكة الإندوبلازمية ٣. جهاز جولجي
  ٤. المايتوكوندريا ٥. صانعات الخضراء
  ٦. اللايسوزوم ٧. البيروكسيزوم

تعريف الخليــة

❑ **تعريف الخلية :**

- هي وحدة تركيب الكائن الحي .

١ـ كائنات حية بسيطة

- أبسط الكائنات الحية تتكون غالبا من خلية واحدة مثل البكتيريا.

٢ـ كائنات حية معقدة

- الكائنات الحية المعقدة تتكون من مئات الملايين من الخلايا مثل الإنسان.
- في الكائنات الحية المعقدة هناك أنواع متعددة من الخلايا تختلف في أحجامها وأشكالها وتخصصها الوظيفي .

تصنيف الخليـــة

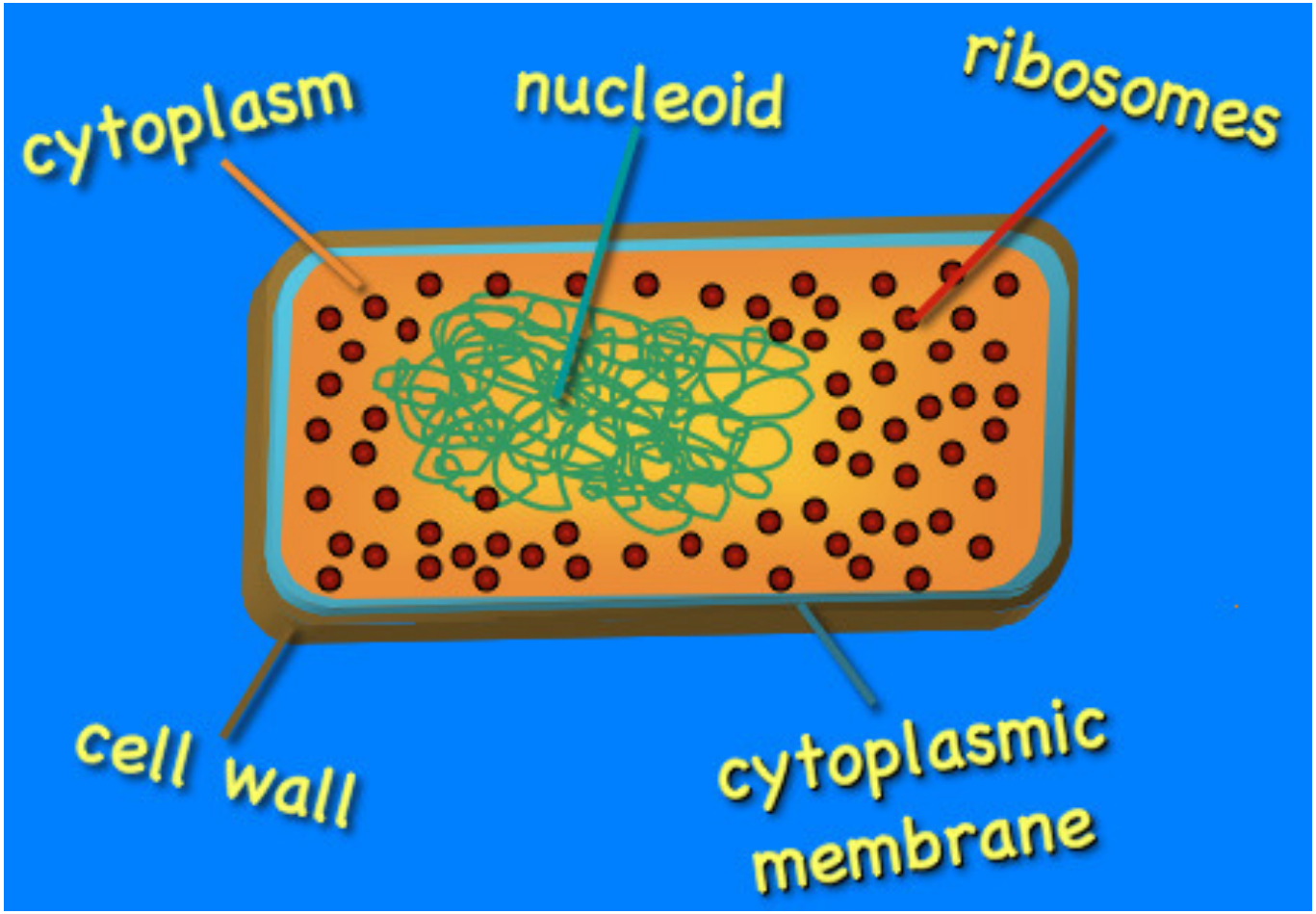
❑ تصنيف الخلايا :

- تصنف الكائنات الحية تبعاً لأنواع الخلايا الأساسية إلى :

١) خلايا بدائية الأنوية (Prokaryotes)

- في هذا الصنف من الخلايا تكون الخلية بسيطة لا تحتوي على نواة واضحة المعالم
- تتكون من خلايا صغيرة الحجم
- الكائنات في هذه المجموعة غالبا ما تكون وحيدة الخلية لأنها يمكن أن توجد على هيئة مستعمرات متعددة الخلايا.
- أمثلة على **الخلايا بدائية الأنوية** مثل الجراثيم (البكتيريا) والطحالب أو الأشنات الخضراء المزرقة .

خلية بدائية النواة



تصنيف الخليــة

❑ تصنيف الخلية

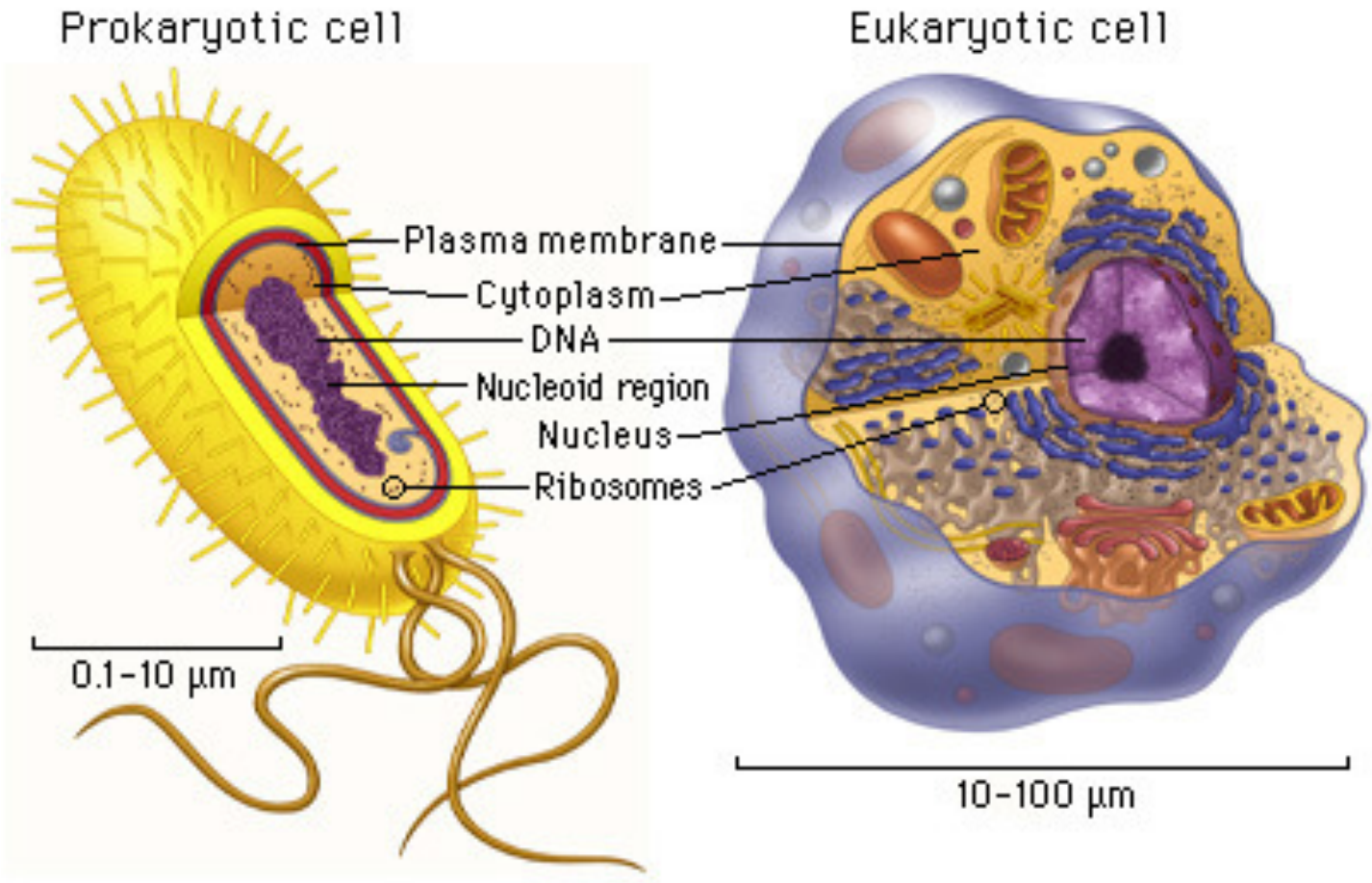
٢) خلايا حقيقية النواة (Eukaryotes)

- eu : في اليونانية تعني حقيقي، karyote: تعني النواة.
- الكائنات التي تحتوي على خلايا معقدة النواة غالبا ما تتكون من أعداد كبيرة من هذه الخلايا.
- خلايا معقدة في محتوياتها.
- خلايا ذات أحجام كبيرة (حجمها أكبر من حجم الخلايا بدائية النواة ب١٠٠٠- ١٠٠٠٠ مرة)
- تحتوي على نواة واضحة المعالم (حقيقية)
- وتشمل هذه المجموعة النباتات والحيوانات الراقية ولكنها تحتوي أيضاً على كائنات وحيدة الخلية مثل الفطريات. (مثال: الخميرة: من الأحياء الدقيقة و هي نوع من أنواع الفطريات وحيد الخلية)

الخلية حقيقية النواة

مقارنة بين

الخلية بدائية النواة



أوجه التشابه و الإختلاف بين الخلايا بدائية النواة و الخلايا حقيقية النواة

- نجد أن **الخلايا بدائية النواة** لا يوجد فيها إلا القليل من العضيات (التراكيب الداخلية) البسيطة في تركيبها والتي تكون منغمسة في السيتوبلازم و غالبها لا يحددها و لا يفصلها عن السيتوبلازم أغشية.

- النواة في الخلايا بدائية النواة أيضا منغمسة في السيتوبلازم وغير محاطة بغلاف نووي.

- أما الخلايا **حقيقية النواة** ففيها عدة عضيات (Organelles) . تراكيب غشائية موجودة داخل الخلية.

- النواة في الخلايا الحقيقية النواة تكون مغلفة بغلاف نووي .

- (كريات الدم الحمراء الناضجة لا تحوي على نواة)

مكونات الخلية

- **مكونات الخلية :**

١.الغشاء البلازمي

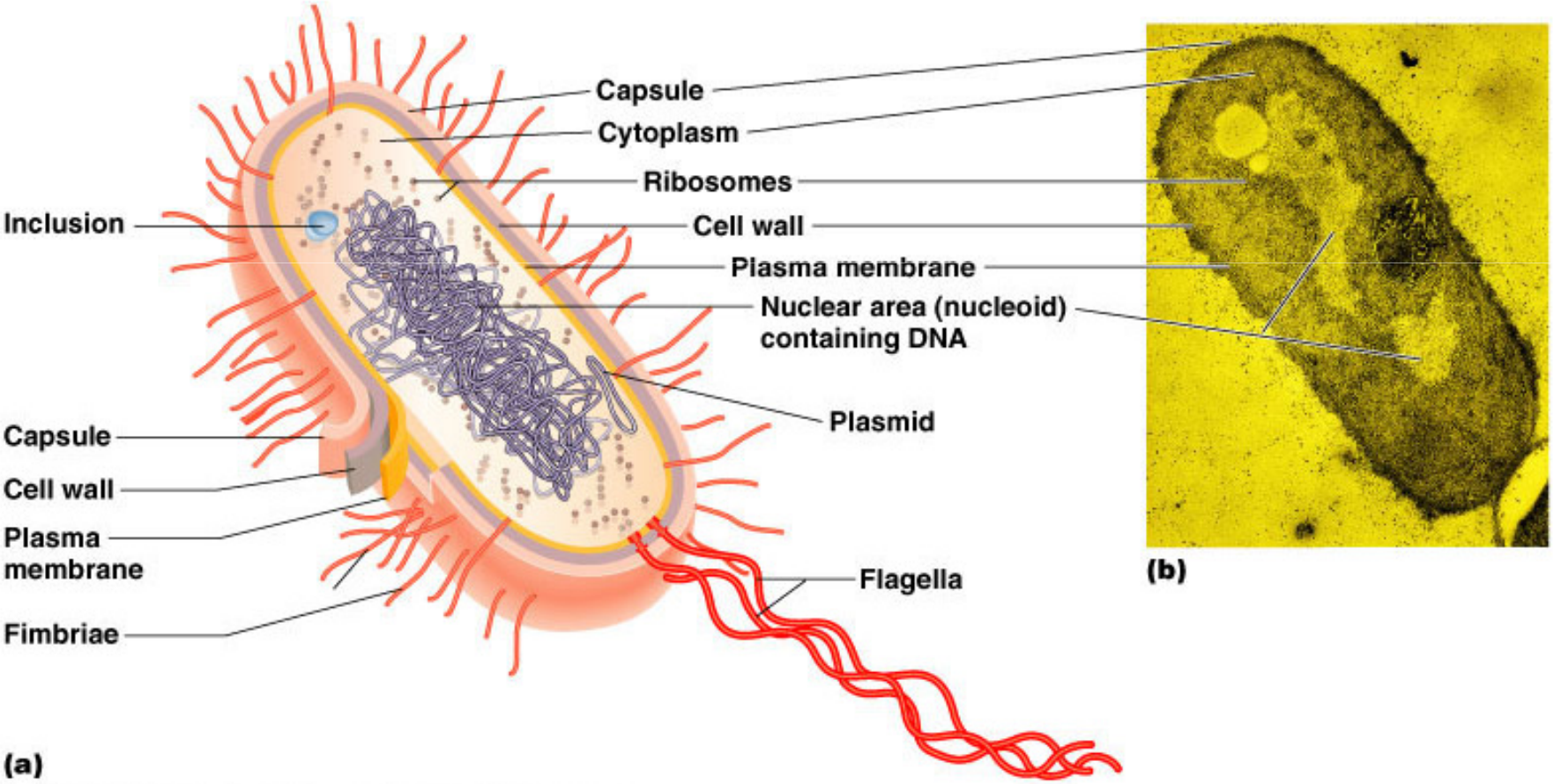
٢.السيتوبلازم (بما فيه من عضيات)

٣.النواة

أوجه التشابه و الإختلاف بين
الخلايا بدائية النواة و الخلايا حقيقية النواة

مميزات الخلايا بدائية النواة	مميزات الخلايا حقيقية النواة
١- خلية بسيطة تحتوي على عدد قليل من العضيات ولا تحتوي على نواة واضحة المعالم.	١- خلية أكبر حجماً وأكثر تعقيداً وعلى درجة كبيرة من الخصوصية وتحتوي على نواة واضحة المعالم (حقيقية) و العديد من العضيات.
٢- الخلية محاطة بغشاء بلازمي وجدار خلوي وأحياناً كبسولة جيلاتينية تفرز بواسطة الخلية .	٢- محاطة بغشاء خلوي . • في الخلايا النباتية فقط يحيط بالخلية جدار خلوي الذي يغلف الغشاء البلازمي للخلية.

خلية بدائية النواة



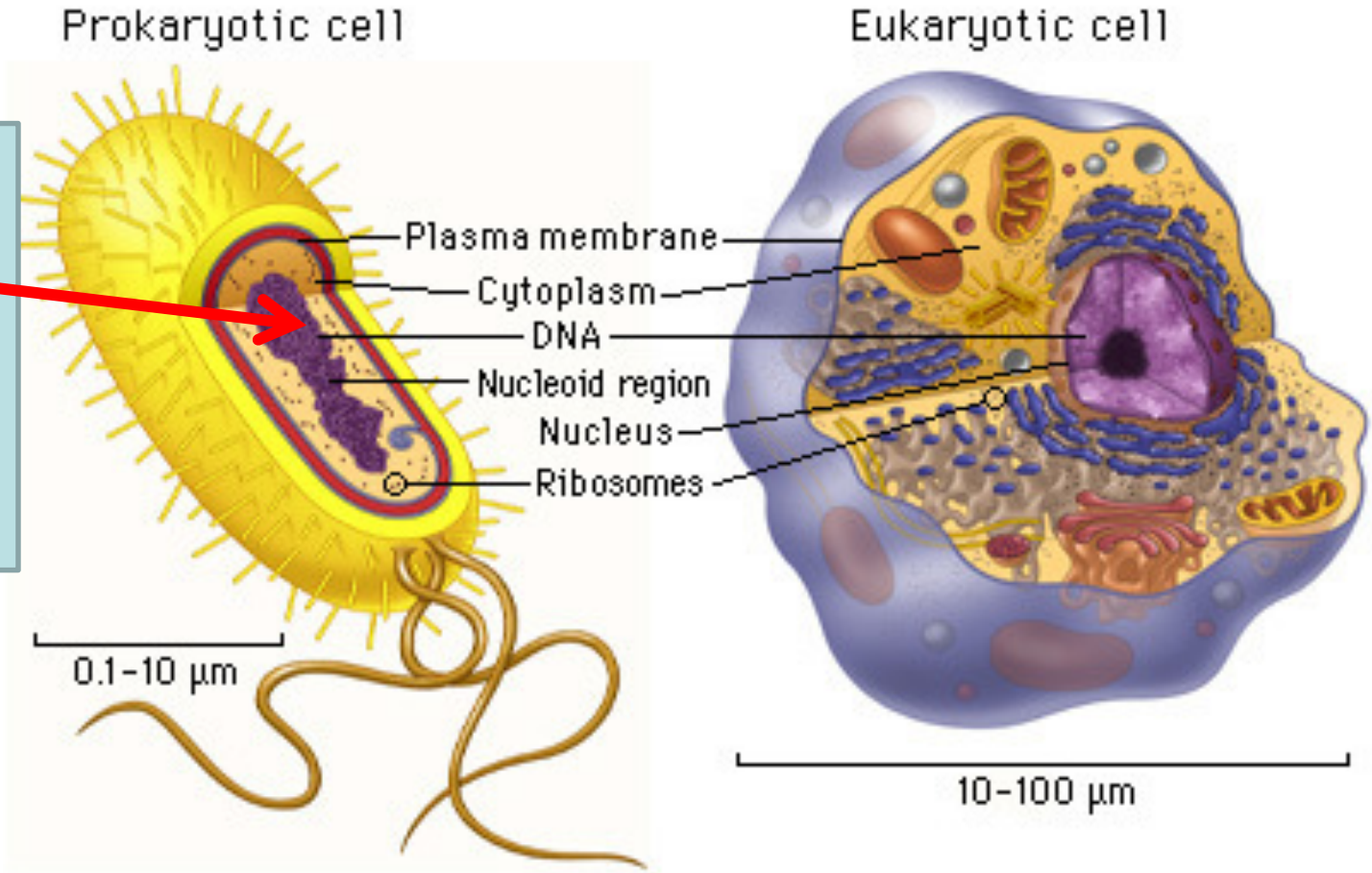
Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

أوجه التشابه و الإختلاف بين
الخلايا بدائية النواة و الخلايا حقيقية النواة

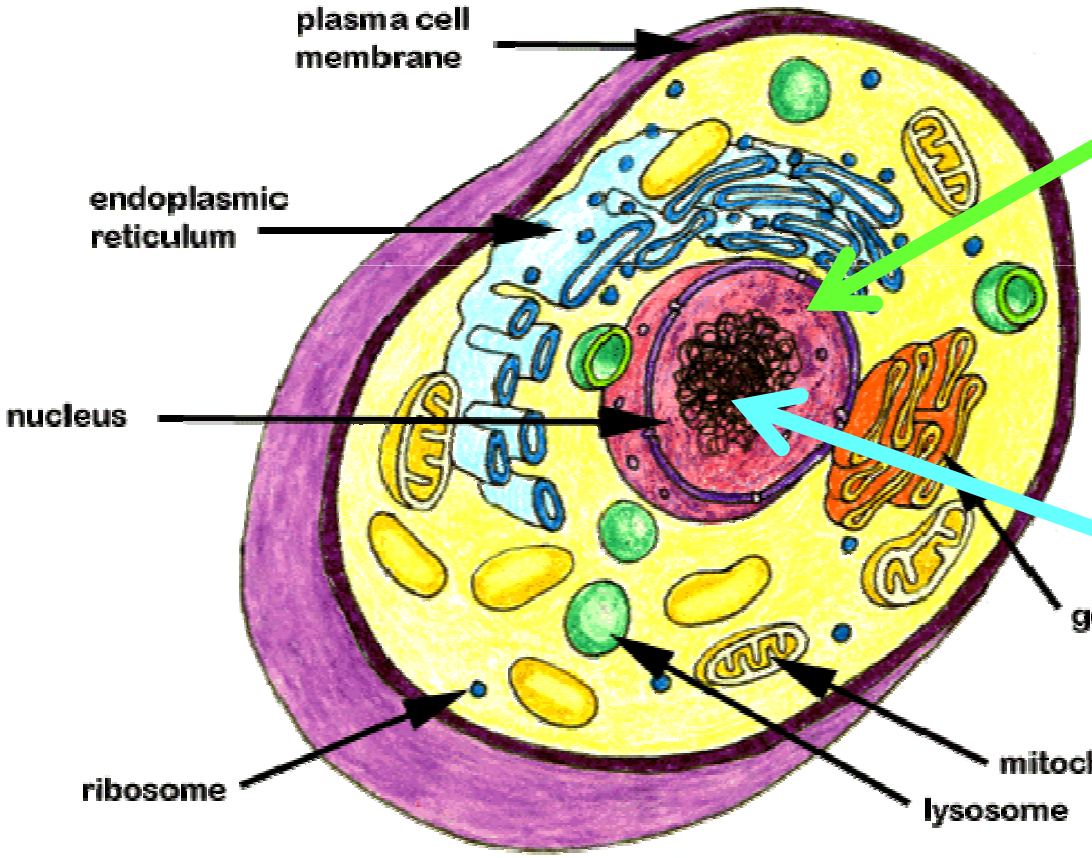
مميزات الخلايا بدائية النواة	مميزات الخلايا حقيقة النواة
٣- النواة غير محاطة بغشاء نووي وتحتوي على كروموسوم واحد . - والجهاز الوراثي ممثل في قطعة واحدة من شريط دائري أحادي وهو الـDNA وتسمى المنطقة التي تحوي DNA بالجسم النووي (Nuclear body) .	٣- تحتوي على عدة كروموسومات - تحتوي على نواة حقيقية واضحة المعالم محاطة بغشاء نووي .

وجه الإختلاف
بين
الخلايا بدائية النواة و الخلايا حقيقية النواة

كروموسوم واحد
شريط دائري
مزدوج من
DNA



مكونات الخلية حقيقية النواة



النواة

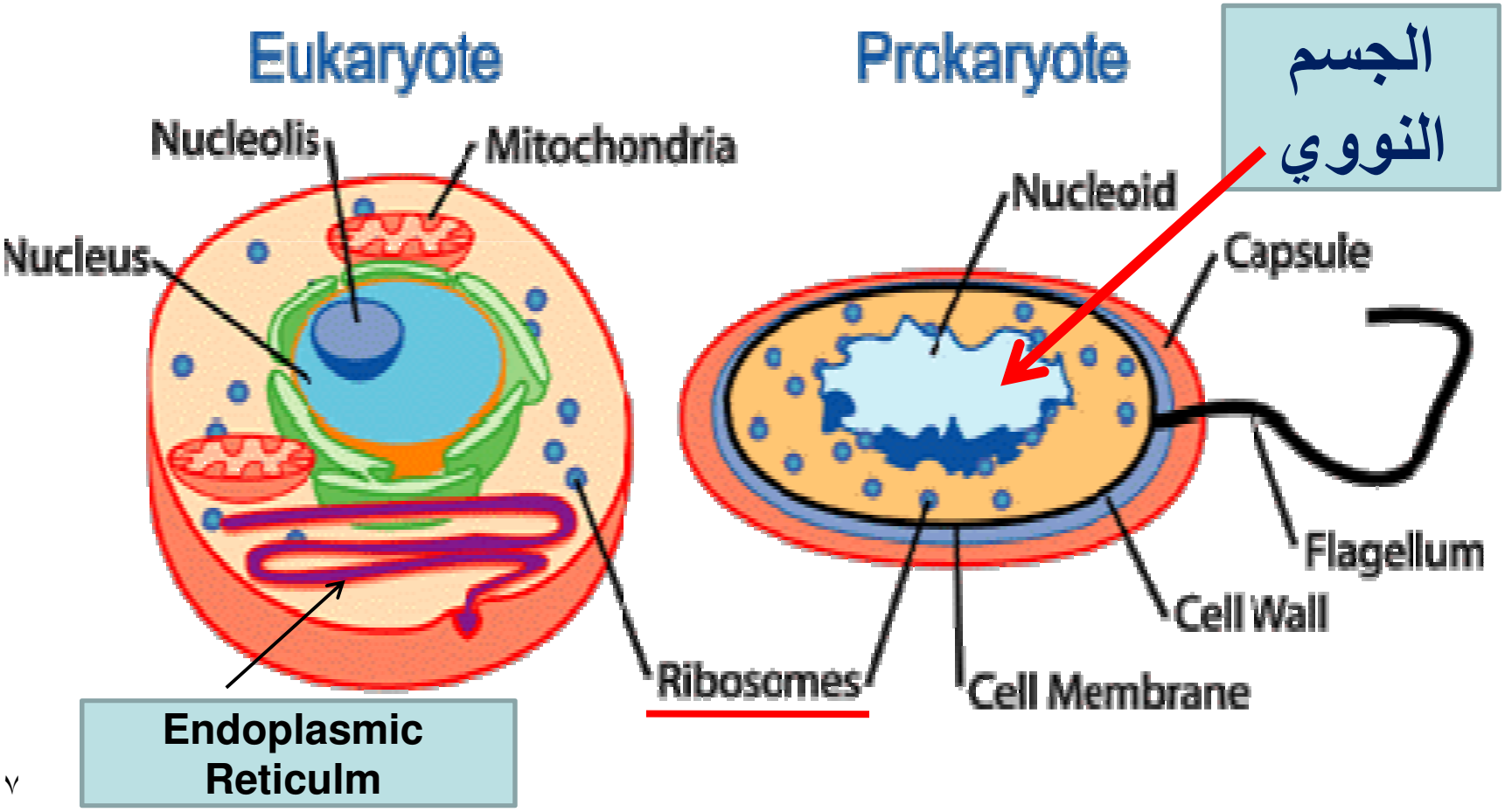
كروموسومات مكونة من DNA

أوجه التشابه و الإختلاف بين الخلايا بدائية النواة و الخلايا حقيقية النواة

مميزات الخلايا بدائية النواة	مميزات الخلايا حقيقة النواة
❑ مكونات أخرى للخلية بدائية النواة (العضيات): ١- يوجد بالطحالب تراكيب غشائية معقدة داخل خلاياها تشمل أجهزة التمثيل الضوئي إلا أنها تختلف عن الصانعات الخضراء (الكلوروبلاست) الموجودة في حقيقية النواة.	❑ مكونات أخرى للخلية الحقيقية النواة (العضيات): - تحتوي على تراكيب غشائية داخلية: ١- الميتوكوندريا . ٢- جهاز جولجي . ٣- الشبكة الإندوبلازمية . ٤- وفي النبات (فقط) توجد الكلوروبلاست
٢- يوجد ريبوسومات حرة في السيتوبلازم (الريبوسومات مصنع البروتين) وتعتبر الريبوسومات العضيات الحقيقية الوحيدة في بدائية النواة.	٥- ريبوسومات

خلية بدائية النواة

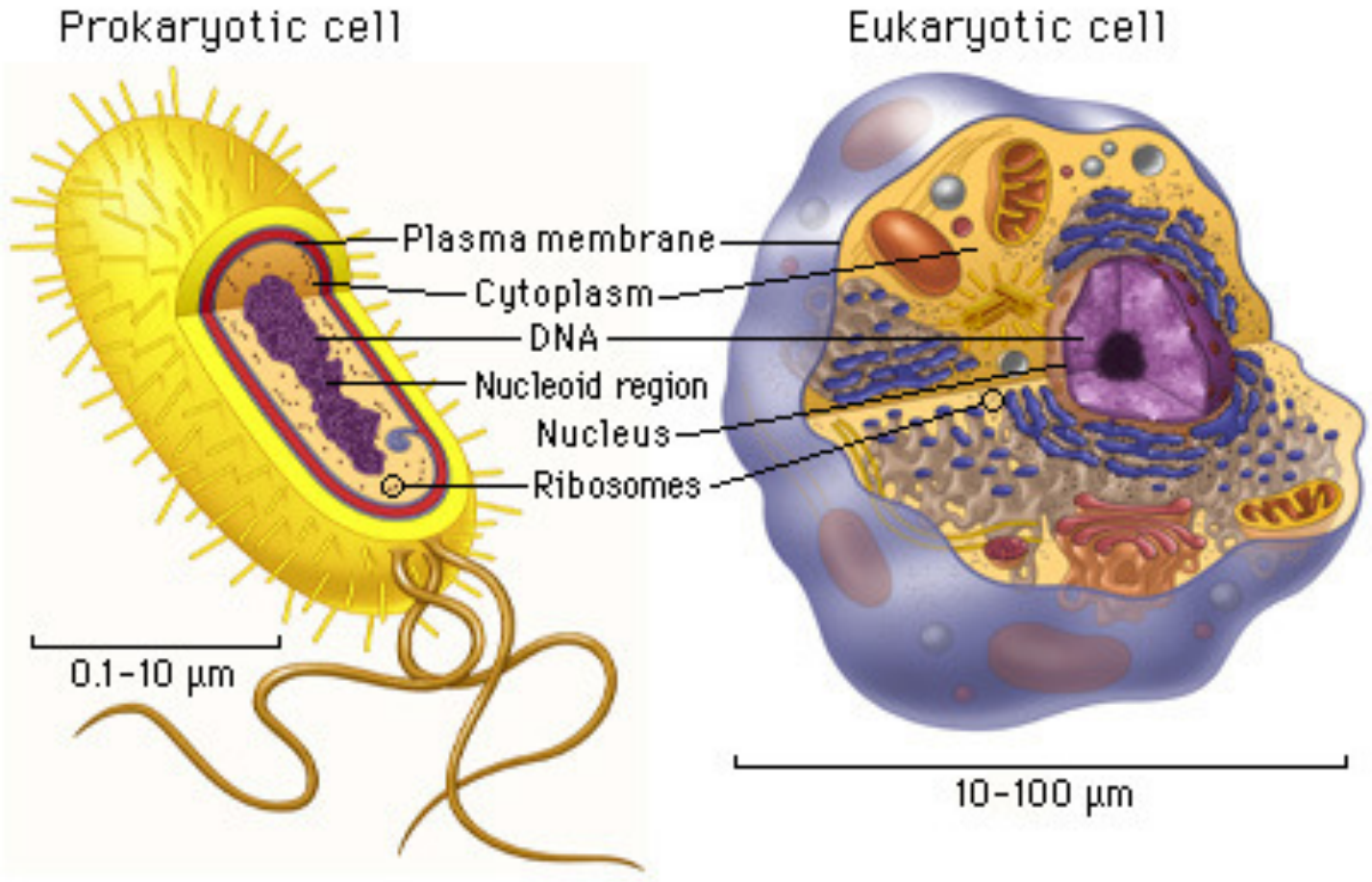
خلية حقيقية النواة



أوجه التشابه و الإختلاف

بين

الخلايا حقيقية النواة و الخلايا بدائية النواة



وجه التشابه و الإختلاف بين الخلايا بدائية النواة و الخلايا حقيقية النواة

مميزات الخلايا بدائية النواة	مميزات الخلايا حقيقة النواة
	٦- لايسوزوم .
	٧- بيروكسيزوم Peroxisomes
٣- لها زوائد مثل أسواط الحركة وأهداب	٨- قد توجد أسواط وأهداب فيها إلا أن تركيبها يختلف عن بدائية النواة.

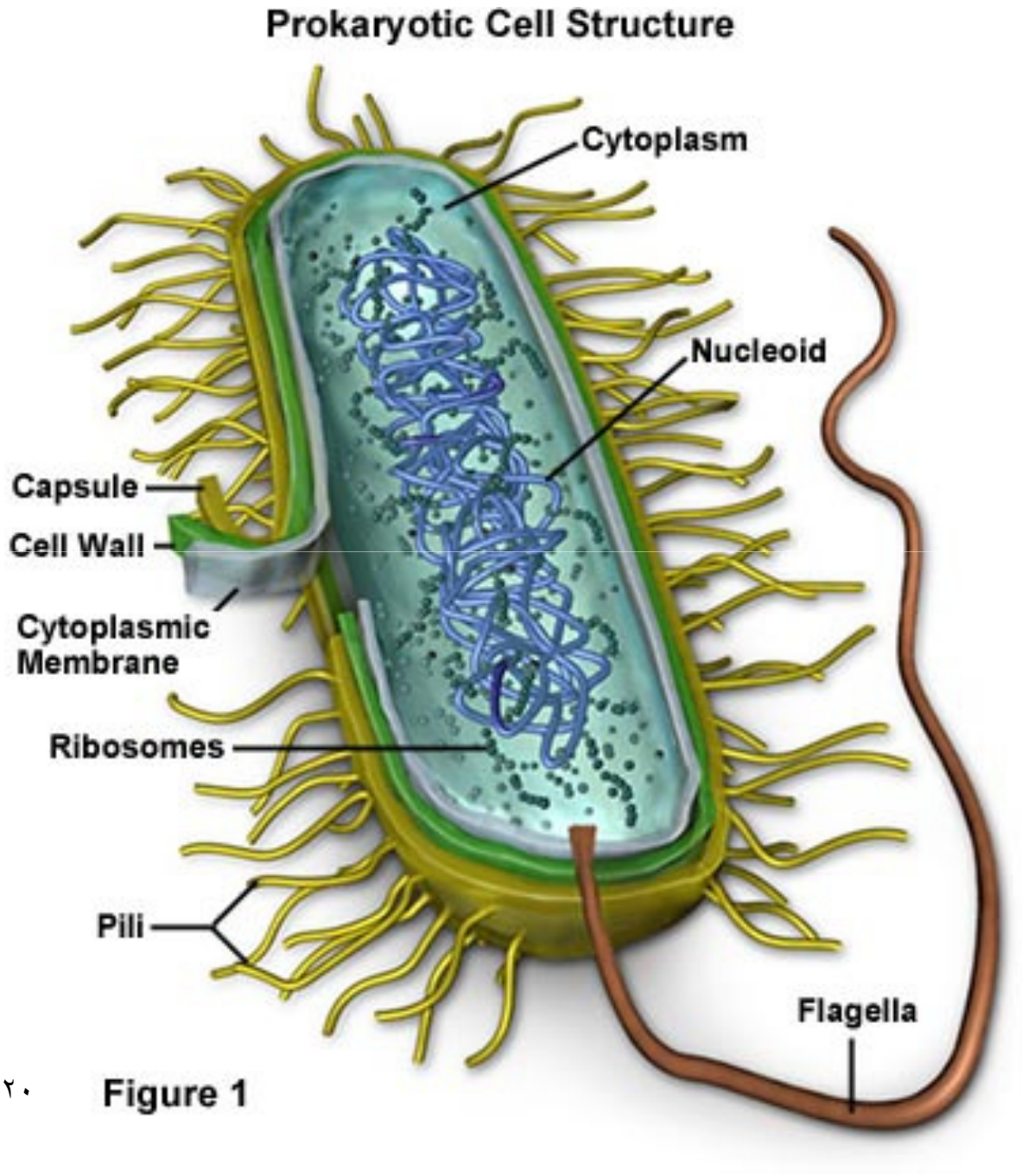


Figure 1

مكونات الخلية بدائية النواة

مكونات الخلية بدائية النواة و الخلية حقيقية النواة

١- الغشاء الخلوي (Cell Membrane)

- يظهر الغشاء بالمجهر الإلكتروني كخط مستقيم مزدوج متصل يحيط بالخلية بسمك مقداره تقريبا ٩ نانومتر .
- يتكون من طبقة مزدوجة (Bilayer) مكونة من:

١. **الدهون المفسفره**
٢. **البروتين**
٣. ويوجد به أيضا وحدات من **الكولسترول** من ضمن طبقة الدهون .
٤. هناك نسبة بسيطة من **الكربوهيدرات** متصلة بالغشاء الخلوي من الخارج ١-١٠%.

مكونات الخلية بدائية النواة و الخلية حقيقية النواة

١- الغشاء الخلوي (Cell membrane)

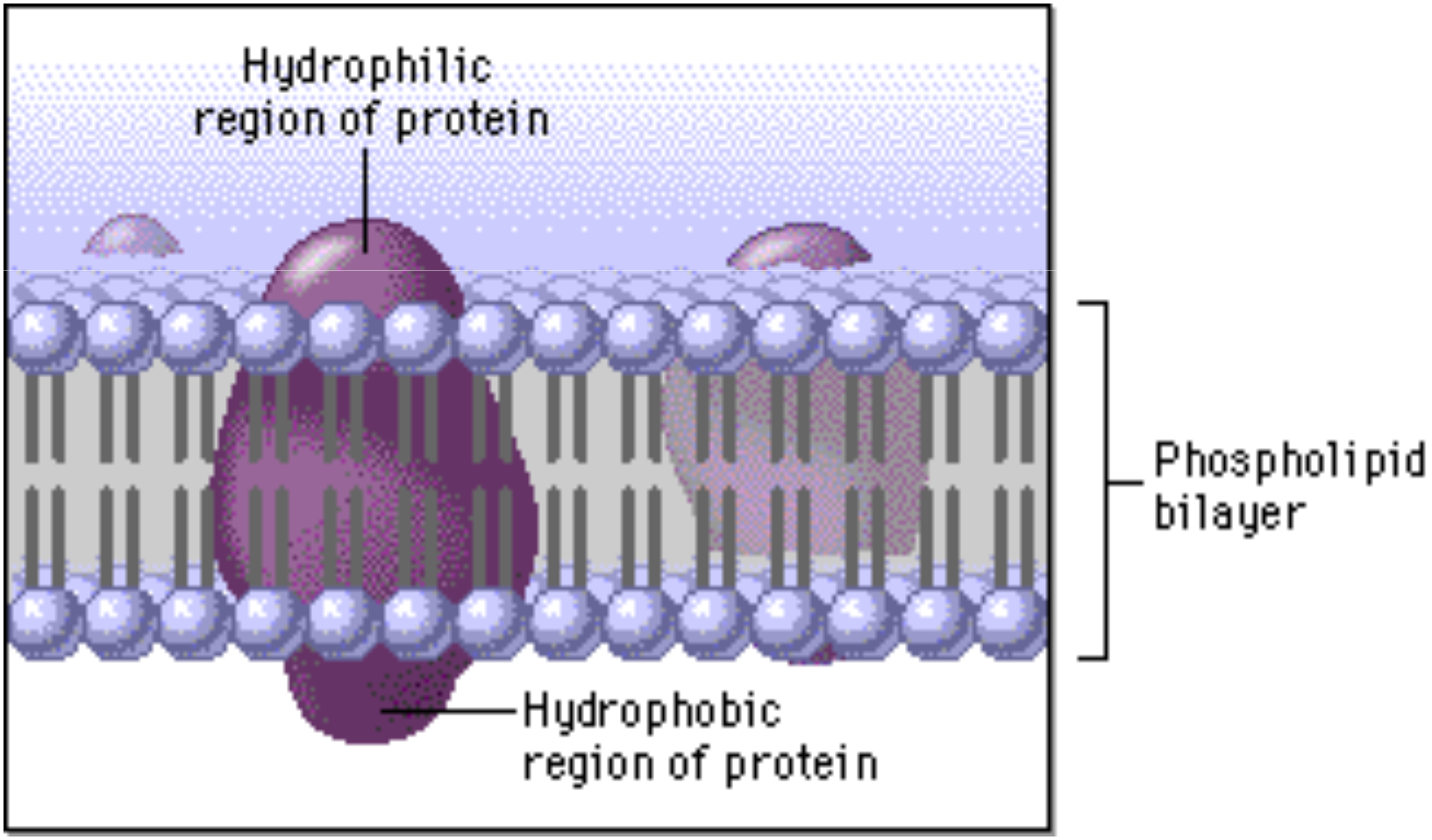
- البروتينات المكونة للغشاء الخلوي :

أ. بروتينات داخلية (Intergral Proteins)

مرتبطة بقوة بطبقة الدهون وتكون البروتينات منغمسة (منطمره) في طبقة الدهون وقد تكون بروتينات صغيرة أو كبيرة تعبر (تخترق) طبقتي الدهون.

- بعضها يعمل: ١) كإنزيمات أو ٢) كحامل بروتيني لنقل المواد الذائبة في الماء أو ٣) كقناة لتمرير المواد الغذائية

بروتينات داخلية في الغشاء النووي



مكونات الخلية بدائية النواة و الخلية حقيقية النواة

١- الغشاء الخلوي (Cell membrane)

- **البروتينات المكونة للغشاء الخلوي :**

II . بروتين خارجي (Peripheral Protein) :

- يرتبط بشكل ضعيف بالغشاء الخلوي.
- ويكون ارتباطه بالسطح ولا يخترق الغشاء الخلوي.
- معظمها يعمل كأنزيمات .

مكونات الخلية بدائية النواة و الخلية حقيقية النواة

٢- الجدار الخلوي (Cell Wall)

I. بعض الخلايا بدائية النواة (خاصة الجرثومية: البكتيريا)

II. ومعظم الخلايا النباتية الراقية حقيقية النواة

تحاط **بجدار خلوي** (Cell Wall) ذا تركيب صلب:

١) يختلف عن الغشاء الخلوي الذي يقوم الجدار الخلوي بلإحاطة به و بحمايته.

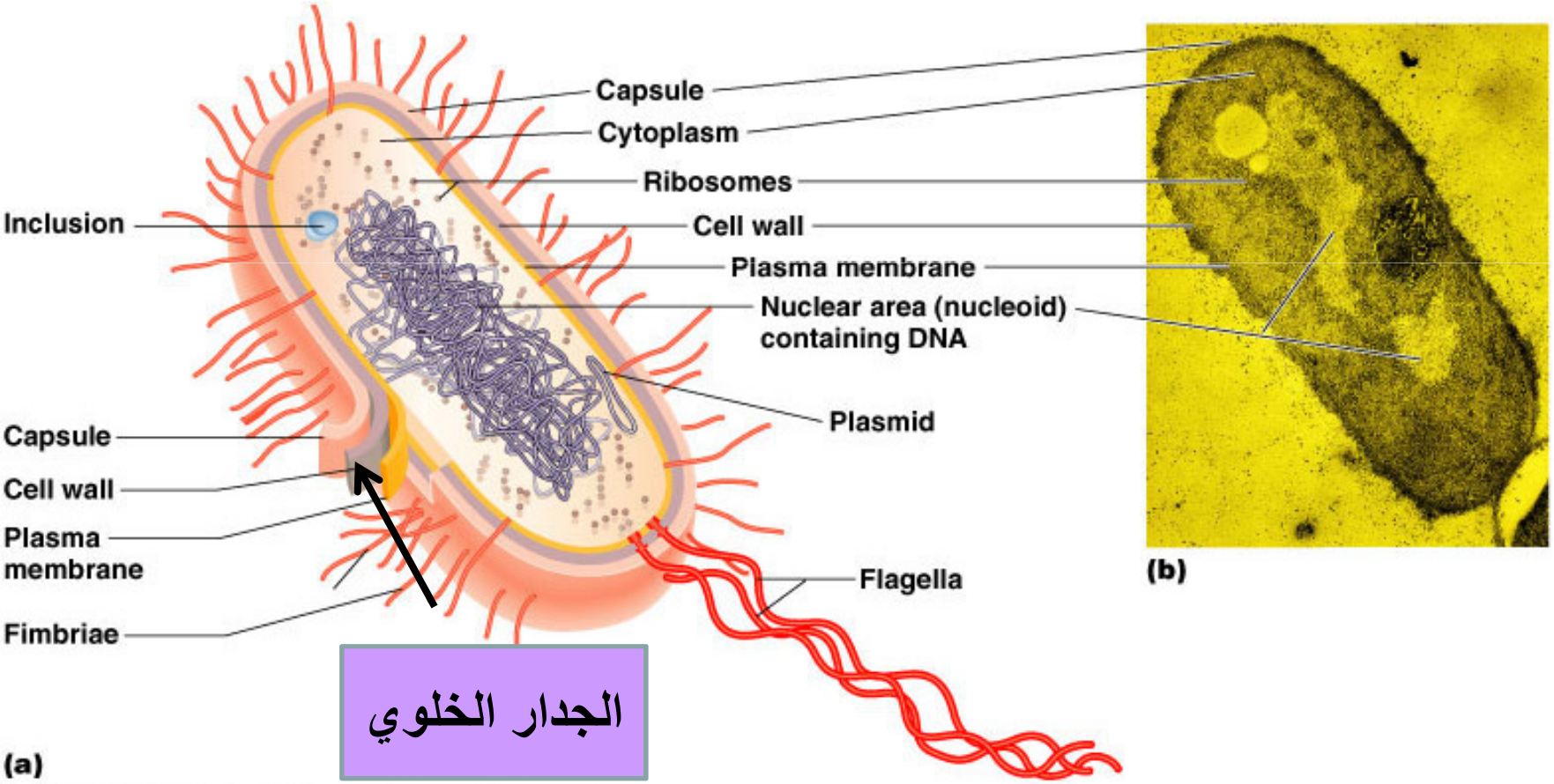
٢) ويقوم هذا الجدار أيضا بدور تركيبي

- ويتكون هذا الجدار في الخلايا النباتية الإيوكاريوتية من:

١) السليلوز (مادة عديدة السكر Polysaccharide)

و ٢) البروتين

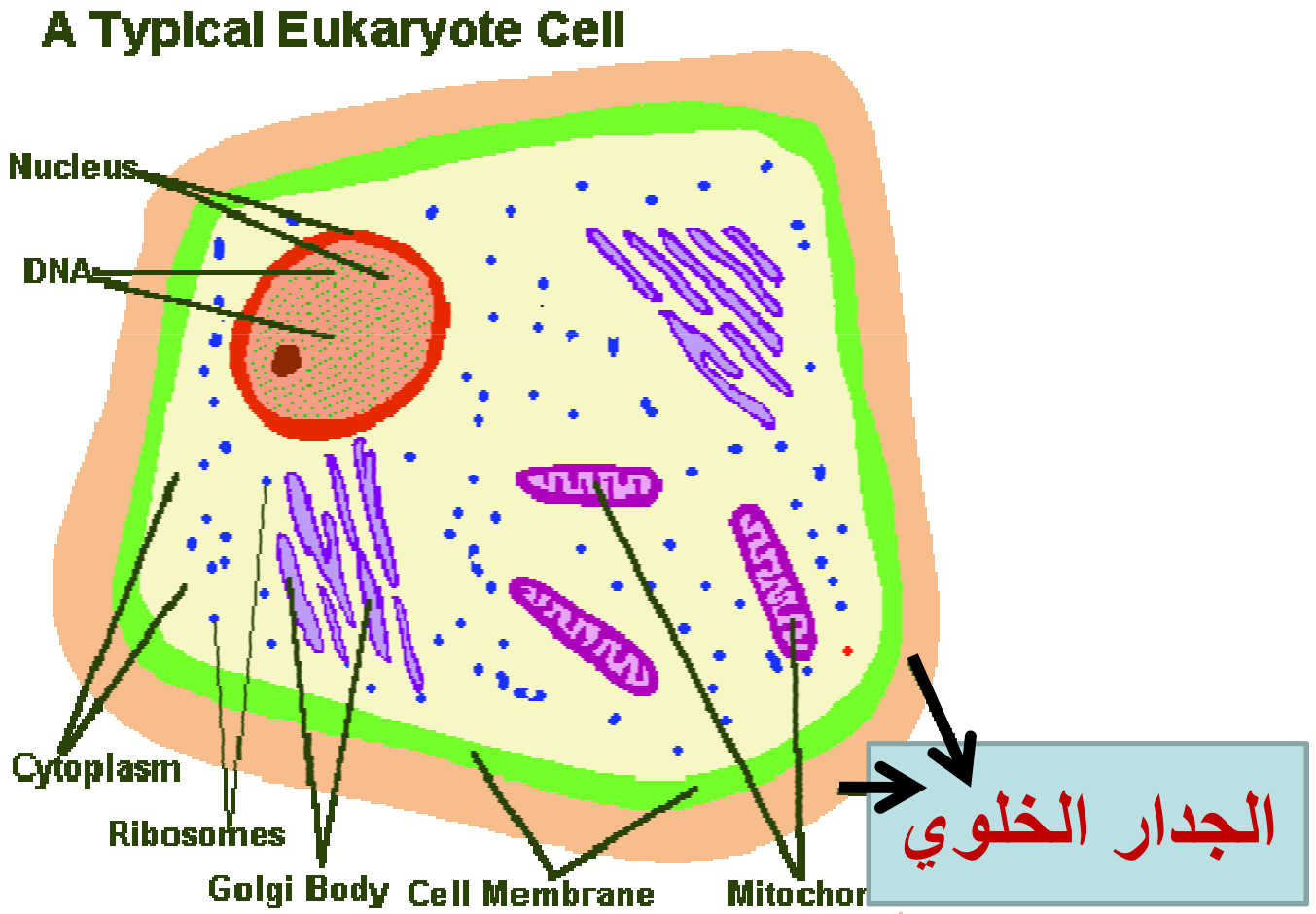
الجدار الخلوي في خلية بدائية النواة

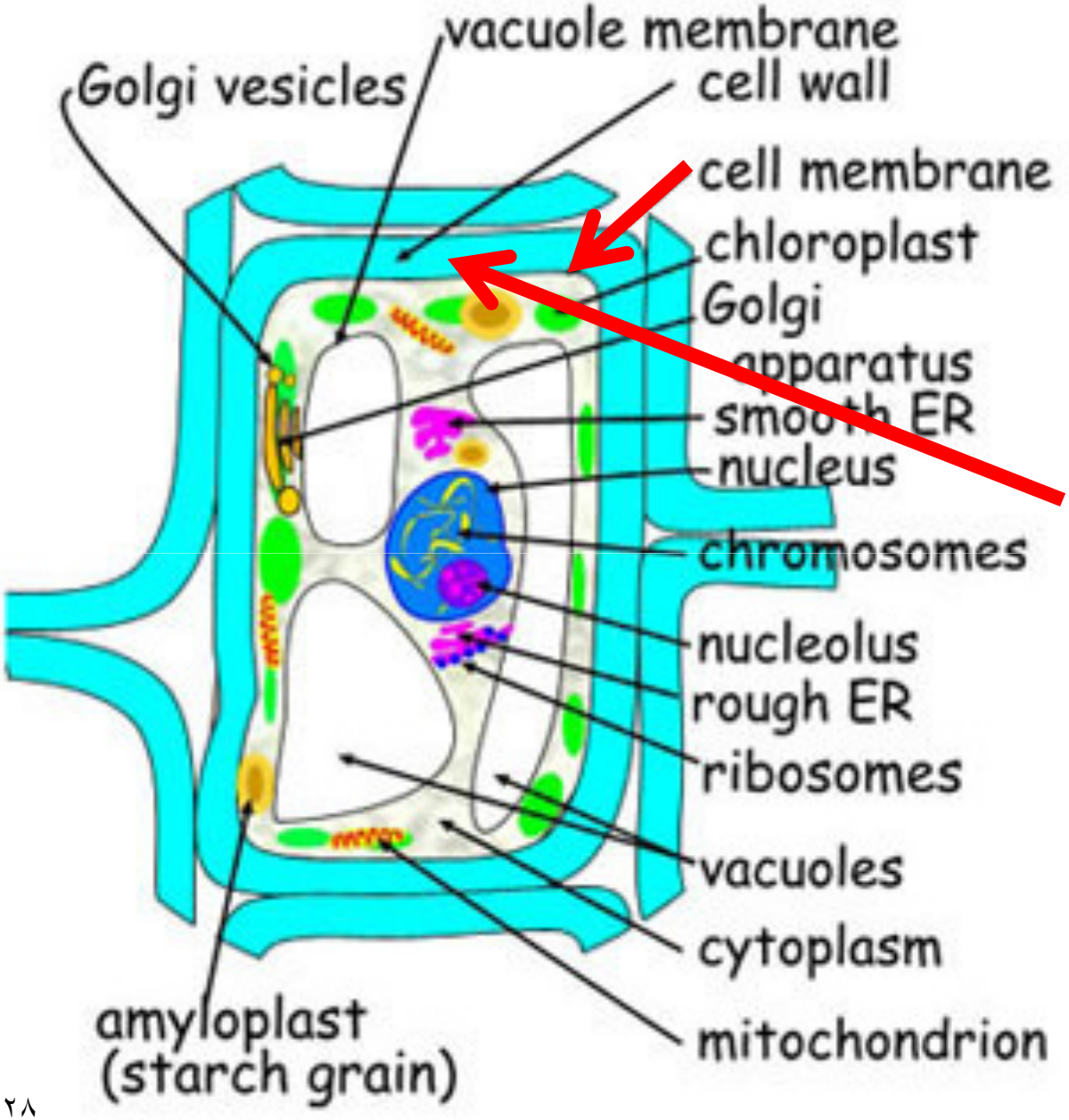


Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

الجدار الخلوي لبعض الخلايا الحقيقية النواة

خلايا النباتات الراقية





الجدار الخلوي لخلية نباتية حقيقية النواة

مكونات الخلية بدائية النواة و الخلية حقيقية النواة

٣) **السيتوبلازم:**

- يحيط الغشاء الخلوي بمادة هلامية (شبه سائلة)؛ تسمى **بالسيتوسول**؛ المكون من: غالبا الماء + بعض الأيونات (Na^+ + K^+) + مركبات أيضية وسطية (Metabolites) + أنزيمات + هرمونات + RNA + جسيمات معلقة غير ذائبة (السنتريولز+ قطرات دهنية + جلايكوجين) + أحماض أمينية + نيوكليوتيدات + الخمائر التي تساعد على عمليات الأيض أو التمثيل الغذائي).
- **سيتوبلازم الخلية Cytoplasm =**

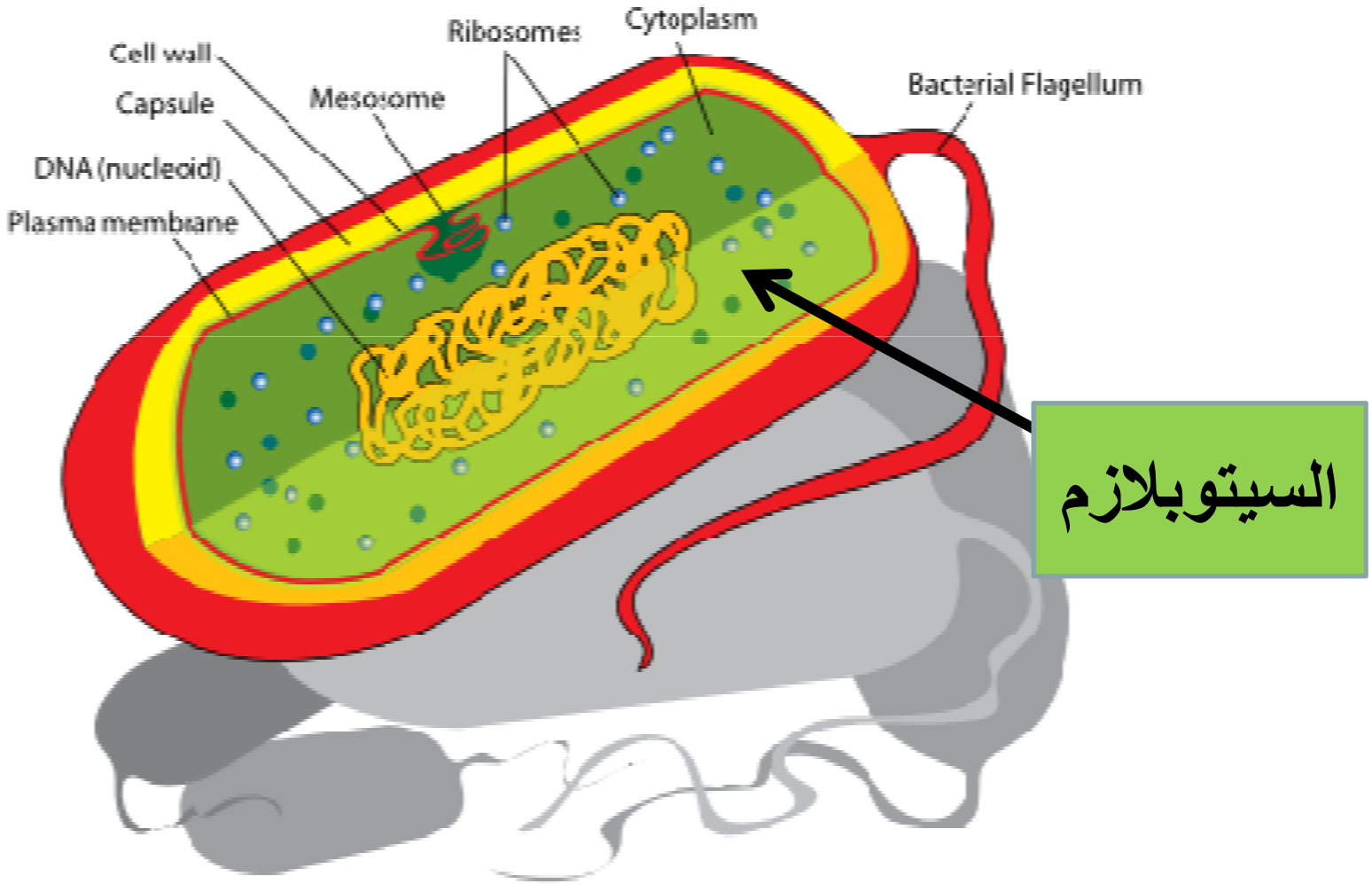
السيتوسول + عضيات الخلية (المنغمسة في السيتوسول) + مكونات خلوية أخرى .

مكونات الخلية بدائية النواة و الخلية حقيقية النواة

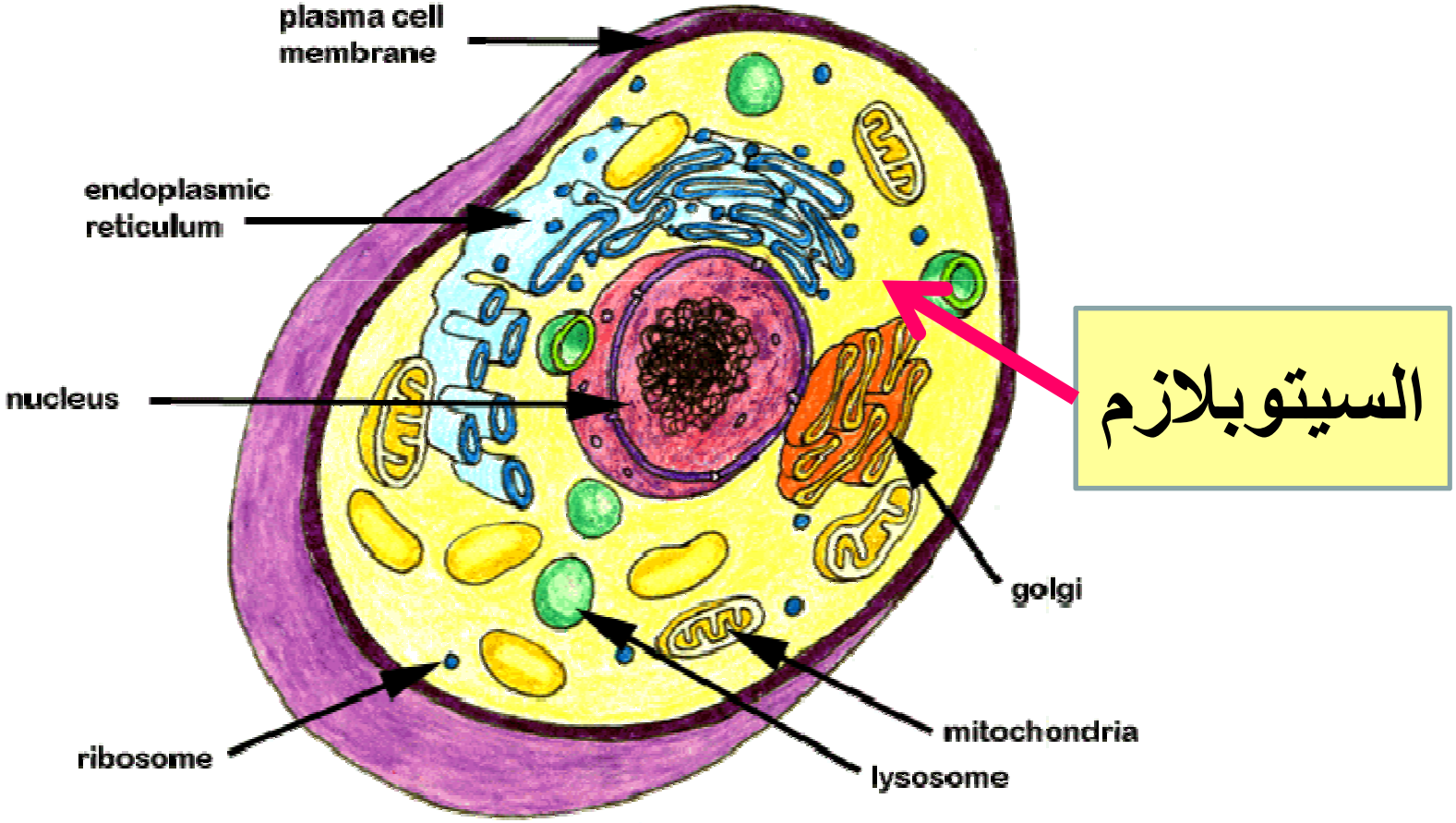
(٣) السيتوبلازم:

- السيتوبلازم مادة حية موجودة خارج النواة و داخل الغشاء الخلوي.
- سيتوبلازم الخلية الحقيقية النواة أكثر تعقيد و تعدد من الخلية البدائية النواة من ناحية مكوناته و العضيات المنغمسة فيه.

السيتوبلازم في الخلايا بدائية النواة



السيتوبلازم في الخلايا حقيقية النواة



مكونات الخلية بدائية النواة و الخلية حقيقية النواة

٤) الريبوسومات:

- كل من الخلايا حقيقية النواة و الخلايا بدائية النواة تحتوي على ريبوسومات حقيقية تقوم بتصنيع بروتينات الخلية.

مكونات الخلية حقيقية النواة

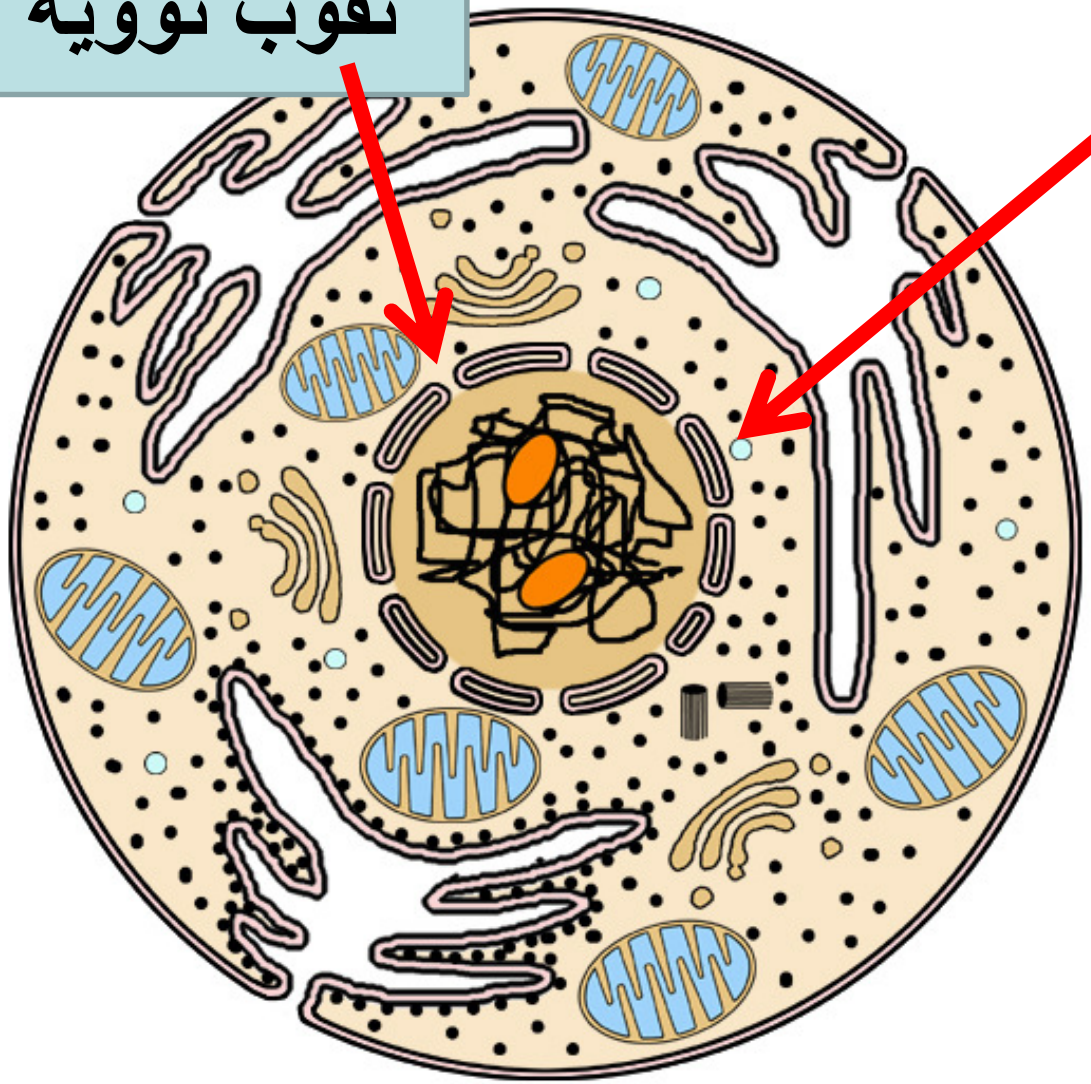
١- النواة (Nucleus):

- بالنسبة للخلايا الحقيقية النواة :

- النواة في الخلايا الحقيقية النواة تكون محاطة بغشاء مزدوج، فيها فتحات نووية دائرية وهي مسئولة عن المرور الإختياري من وإلى النواة .
- تحتوي النواة على (١) DNA ، (٢) RNA، (٣) البروتينات .
- توجد بالنواة نوية غير محاطة بغشاء .

ثقوب نووية

الغلاف النووي



Animal (Eukaryotic) Cell

النواة في الخلايا

حقيقية النواة

(نواة يحيط بها ثقوب)

مكونات الخلية حقيقية النواة

١- النواة (Nucleus):

- النواة تحتوي على النوية التي تحوي عدداً كبيراً من الحبيبات granules الغنية بـ RNA .

- ولقد وجد أن الجينات (المورثات) تكون محمولة على الصبغيات: الكروموسومات الموجودة و الخاصة بالنواة .

- وهذه المادة الوراثية التي تشكل الجينات هي DNA (الحمض النووي الناقص الأكسجين الريبوزي) فخلال عملية انقسام الخلية يحدث مضاعفة للكروموسومات فتنقسم معطية نفس النسخة DNA وتسمى العملية Replication (مضاعفة) وهكذا يتم انتقال نفس الصفات و المعلومات الوراثية من جيل إلى آخر أثناء الانقسام .

مكونات الخلية حقيقية النواة

٢- الشبكة الهيولية الباطنة (الشبكة الإندوبلازمية) Endoplasmic Reticulum

- توجد شبكة من الأغشية في سيتوبلازم الخلايا حقيقية النواة تسمى بالشبكة الإندوبلازمية .
- وظيفتها:

I. تحتوي على فجوات تعمل كحويصلات أو قنوات للنقل الداخلي والتخزين .

بناء: ١) البروتينات (بواسطة الريبوسومات) و ٢) بعض الدهون (الستيرويدات) و ٣) لها وظائف مهمة في عمليات أيضية مختلفة:

(i) إحتوائها على أنزيم يحول الفسفوجلوكوز إلى جلوكوز حر.

(ii)تلعب دور في تخزين الجلايكوجين.

مكونات الخلية حقيقية النواة

٢- الشبكة الهيولية الباطنة (الشبكة الإندوبلازمية)

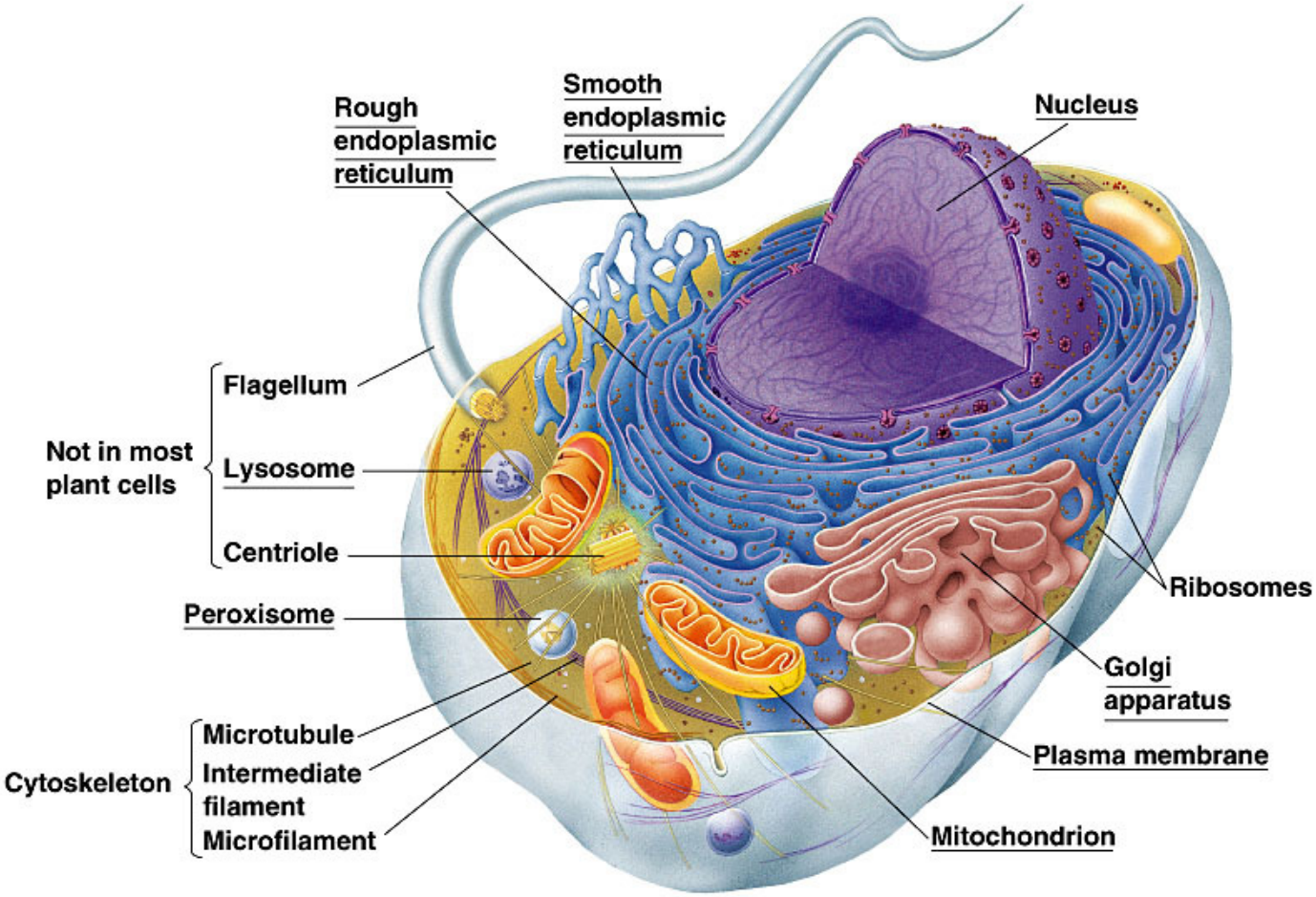
- ❑ Endoplasmic reticulum
- ❑ يوجد من الشبكة الإندوبلازمية نوعان :

١) **شبكة اندوبلازمية خشنة** وهي التي يتصل بسطحها ريبوسومات

٢) **شبكة اندوبلازمية ملساء** لا يتصل بها ريبوسومات .

- كما هو الحال في الخلايا بدائية النواة تعتبر ريبوسومات خلايا حقيقية النواة هي المسئولة عن **بناء البروتينات** .
- الرايبوسومات تتكون من:
- بروتينات + الحمض النووي الرايبوزي (RNA)

الشبكة الإندوبلازمية الخشنة و الملساء

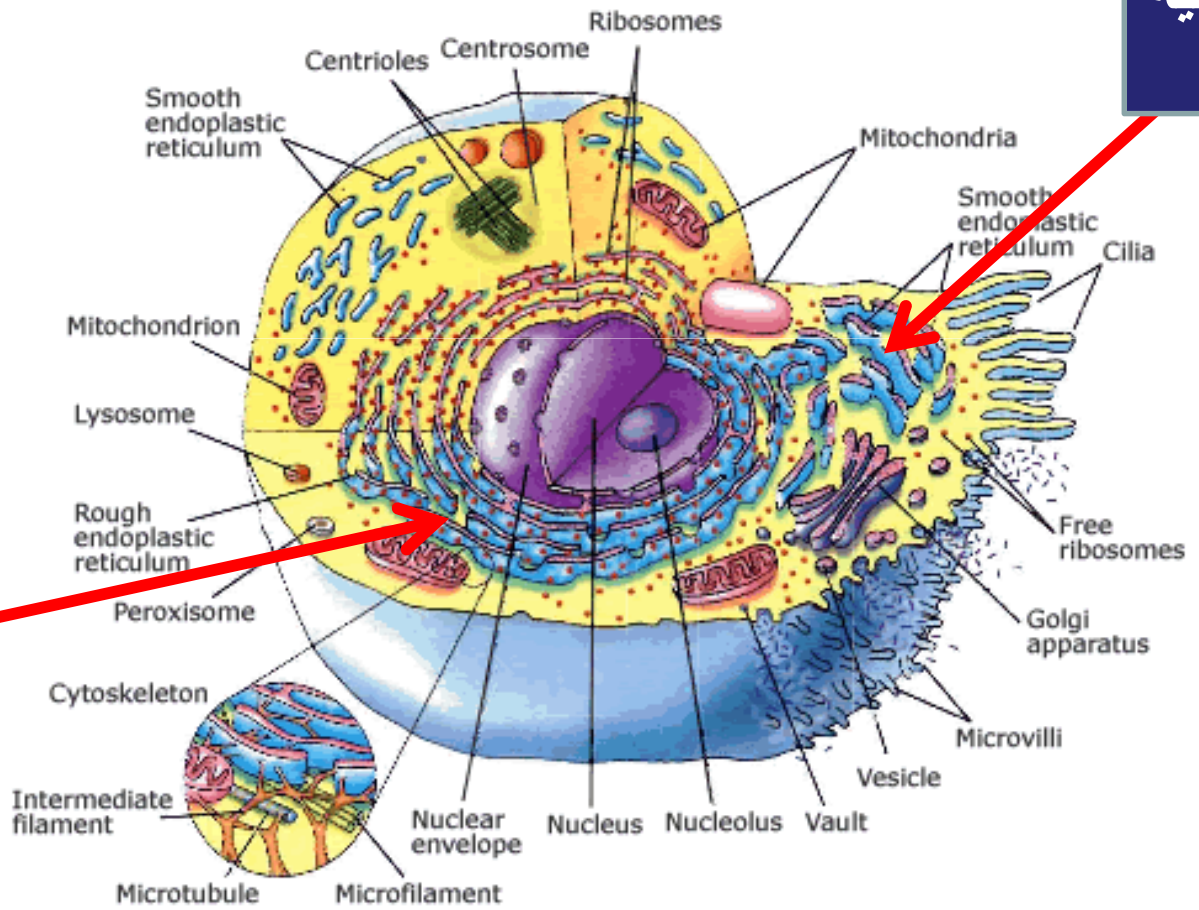


Copyright © 2003 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

الشبكة الإندوبلازمية الخشنة و الملساء

شبكة إندوبلازمية ملساء

شبكة إندوبلازمية حشنة

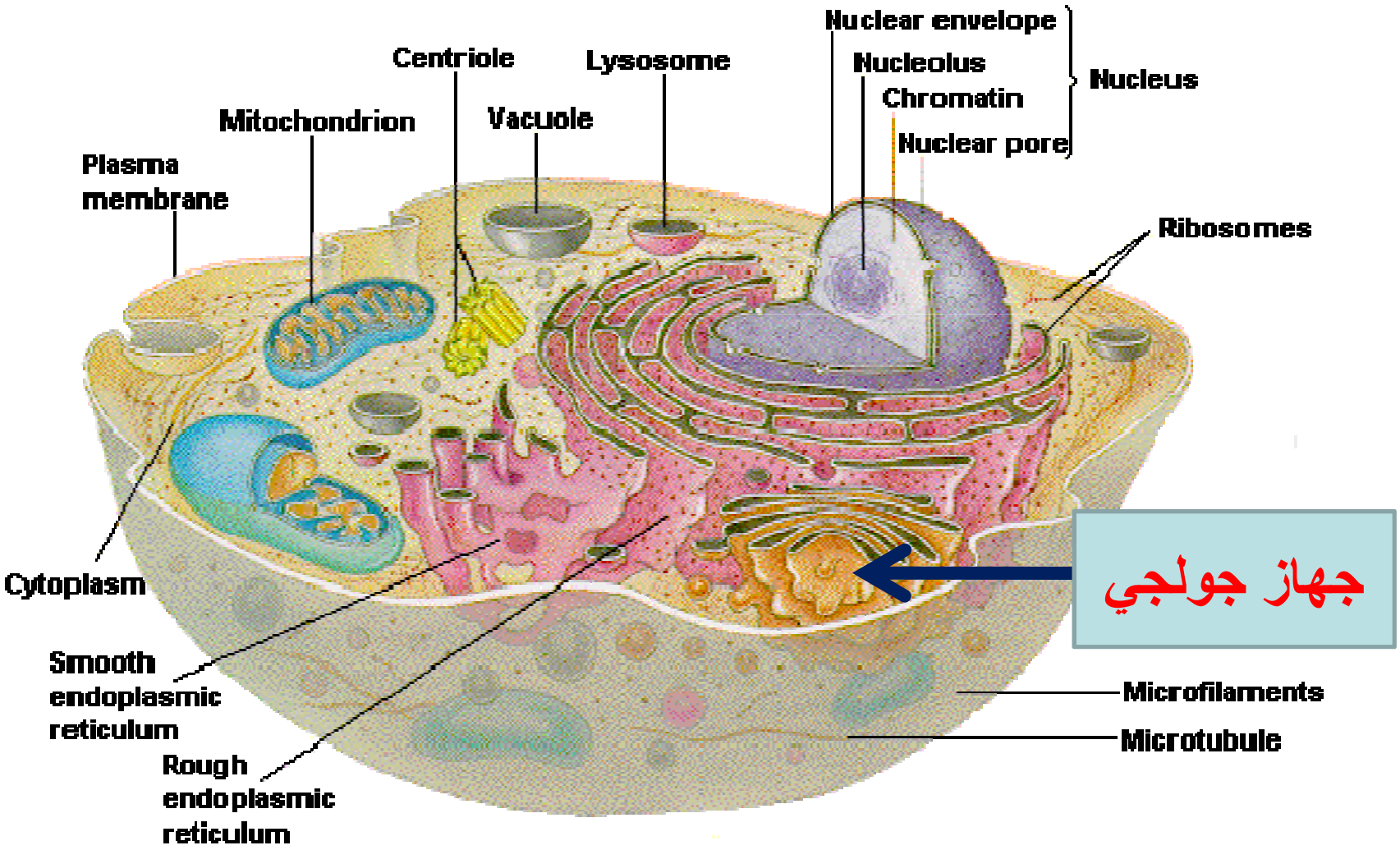


مكونات الخلية حقيقية النواة

٣- جهاز جولجي Golgi Apparatus

- في الخلايا حقيقية النواة جهاز مكون من حويصلات معقدة وأغشية هو جهاز جولجي.
- المواد الكيميائية المنتجة داخل الخلية (مثل البروتينات و الدهون التي تصنعها الشبكة الإندوبلازمية) والمراد تصديرها للخارج (خارج الخلية) فإنها تعالج داخل جهاز جولجي وتغلف ***بحويصلات غشائية مشتقة منه*** وفي النهاية تنصهر هذه الحويصلات مع الغشاء البلازمي لتنطلق محتوياتها إلى الخارج (Exocytosis) .

جهاز جولجي

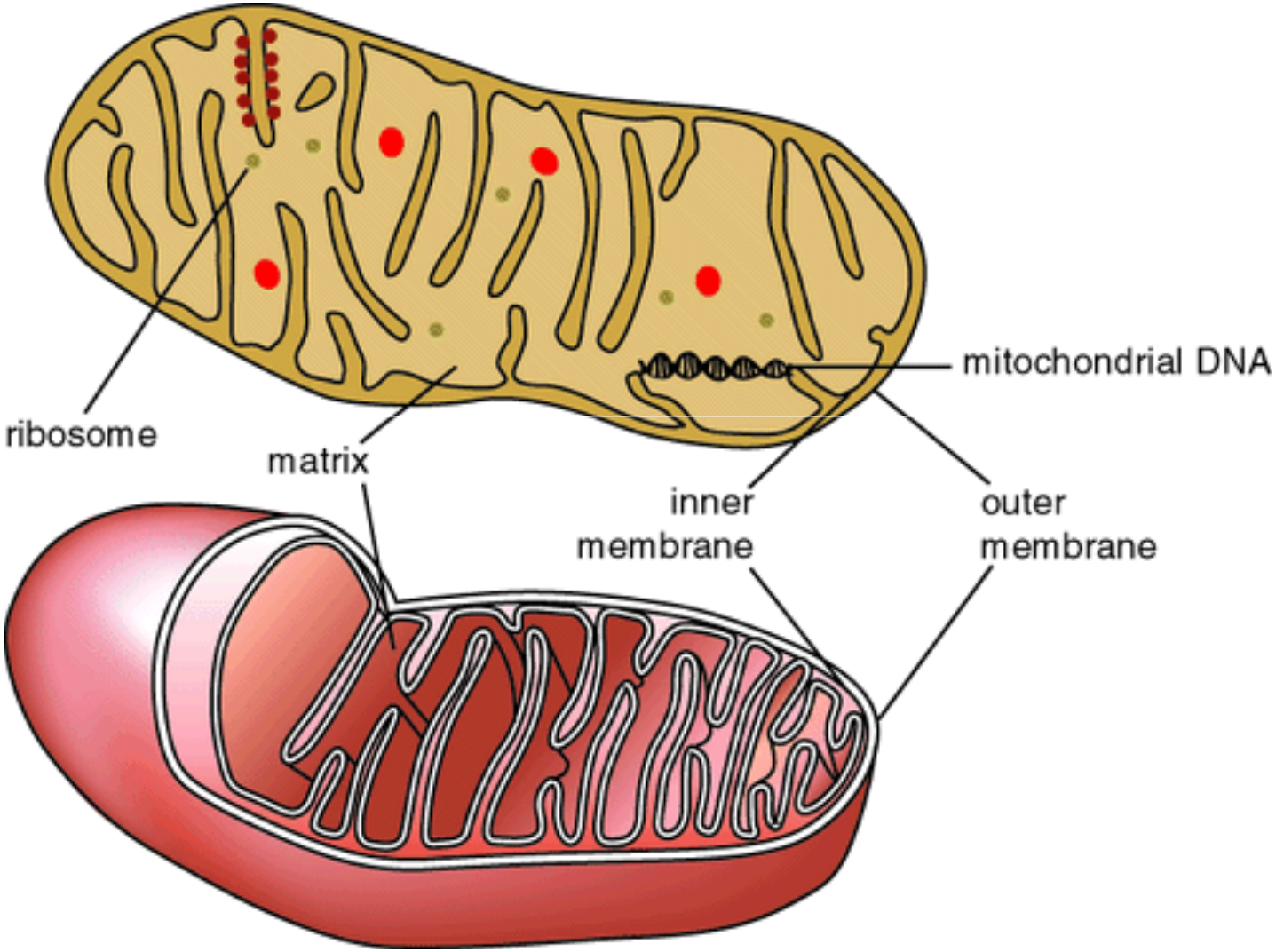

Nuclear envelope
Nucleolus
Chromatin
Nuclear pore
Nucleus
Centriole
Lysosome
Mitochondrion
Vacuole
Plasma membrane
Ribosomes
جهاز جولجي
Cytoplasm
Smooth endoplasmic reticulum
Rough endoplasmic reticulum
Microfilaments
Microtubule

مكونات الخلية حقيقية النواة

٤- الميتوكوندريا (الأجسام السبحية)
Mitochondria

- يتم في داخل الميتوكوندريا حدوث عمليات الأكسدة الخاصة بأيض الخلية والتي تعني بإنتاج الطاقة من المواد الغذائية المأخوذة من الطعام .
- قد تكون كروية أو مستطيلة أو ذات تراكيب خيطية متشعبة الشكل ولكنها دائماً تكون محاطة بغشاء مزدوج ينطوي الغشاء الداخلي ليكون تراكيب مميزة (ثنيات) تسمى **أعراف** (Cristae) .
- تحتوي الميتوكندريا على ريبوسومات و DNA .
- هناك خلايا حقيقية النواة (إيوكاريوتية) لا تحتوي على نواة أو ميتوكندريا هي خلايا الدم الحمراء (RBC).

الميتوكوندريا



مكونات الخلية حقيقية النواة

٥ - الصانعات الخضراء Chloroplasts

- ❑ توجد في خلايا النباتات وفي الطحالب الحقيقة النواة.
- ❑ لا توجد في الخلايا بدائية النواة.
- ❑ توجد فقط في الخلايا التي لها القدرة على التمثيل الضوئي .
- تسمى صانعات الخضراء (الكلوروبلاست) لأنها تحتوي على مادة خضراء تسمى **كلوروفيل** .
- ❑ مكونة من حويصلات غشائية ذات تركيب مميز .
- ❑ تشبه الميتوكندريا من حيث أنها تحوي DNA و ريبوسومات .
- ❑ ولكنها تختلف عن الميتوكوندريا في أنها ليست أماكن إنتاج طاقة وإنما أماكن استغلال (استهلاك) الطاقة لتصنيع الكربوهيدرات .

صانعات الخضراء

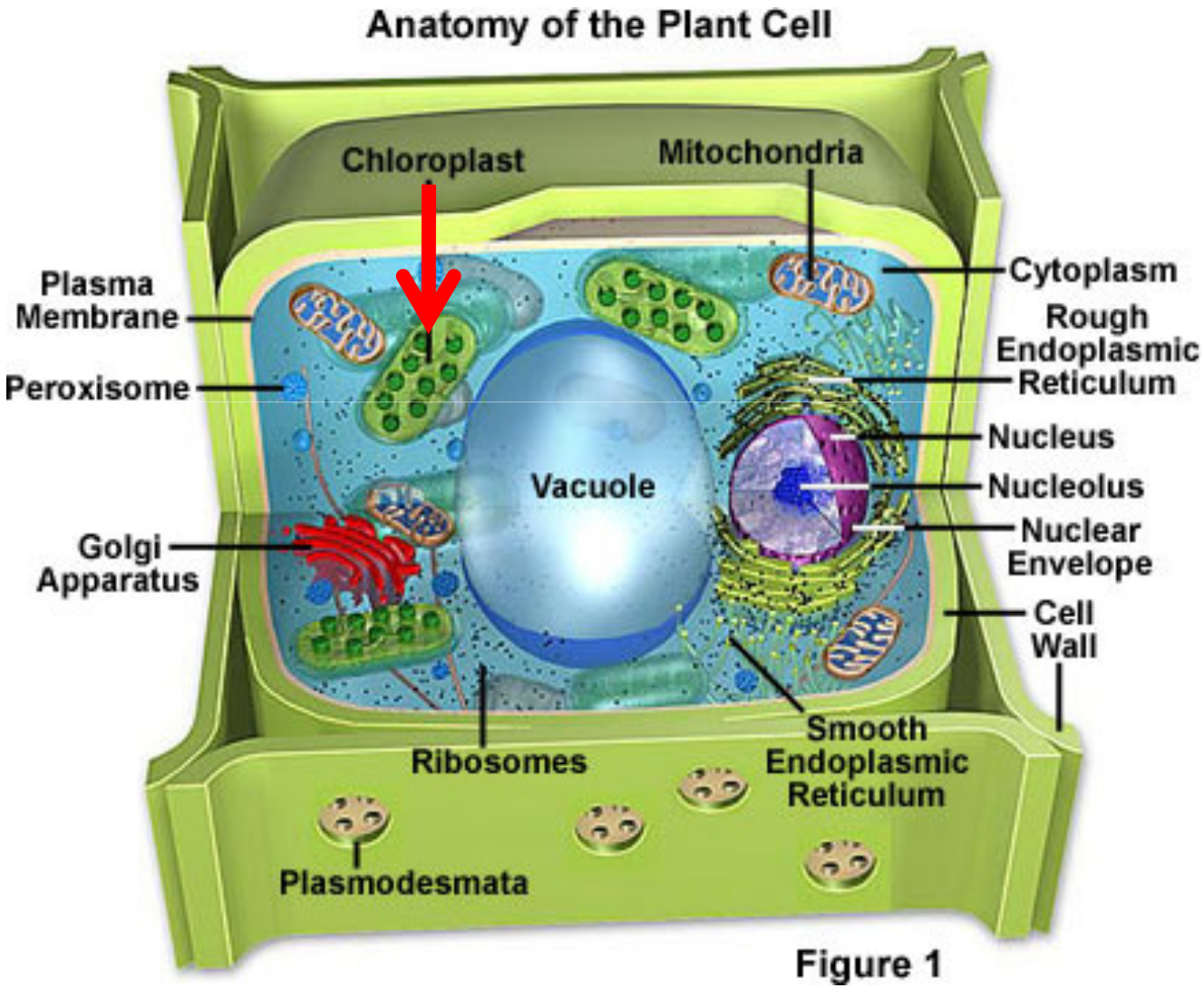
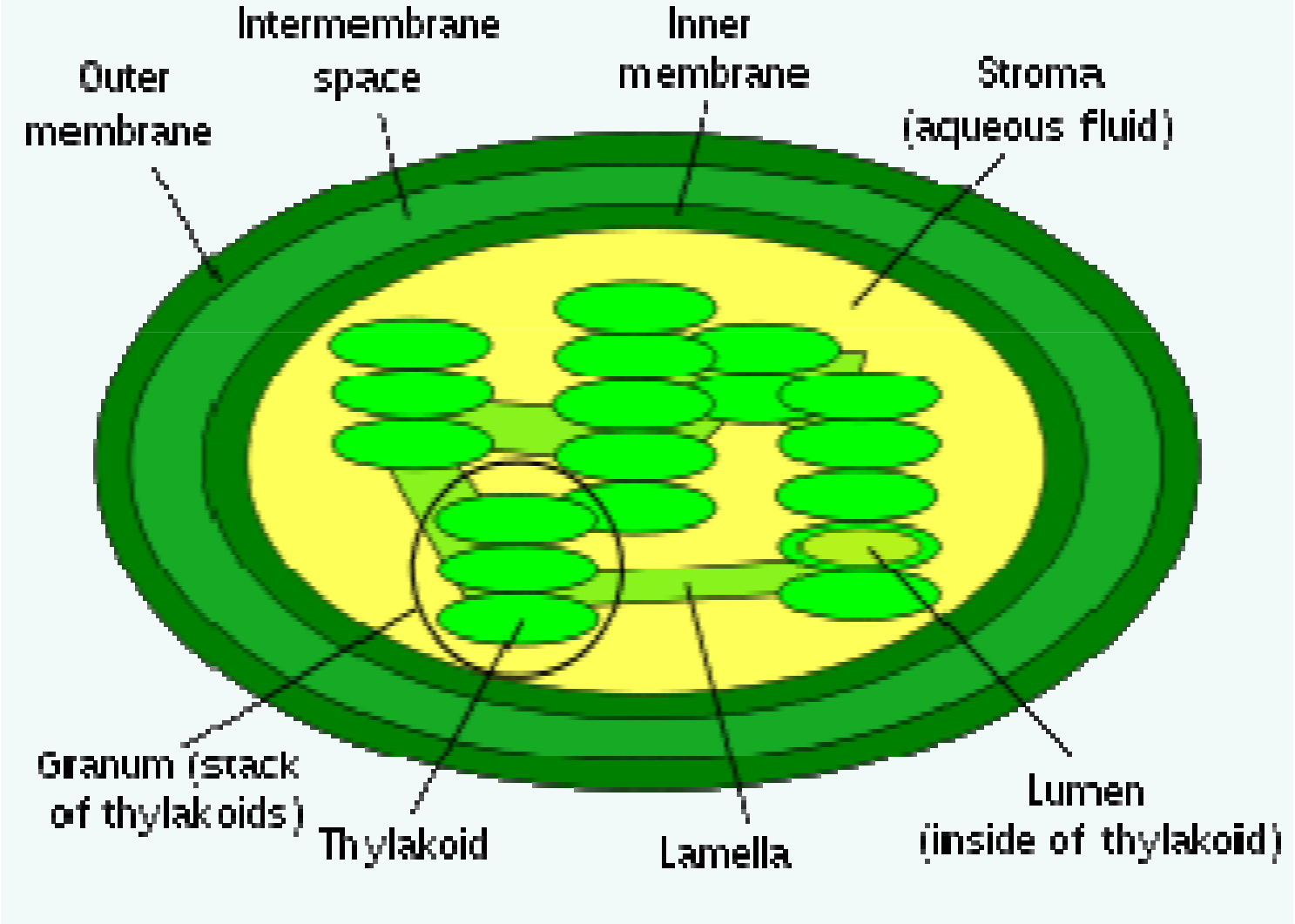


Figure 1

تركيب الكلوروبلاست



مكونات الخلية حقيقية النواة

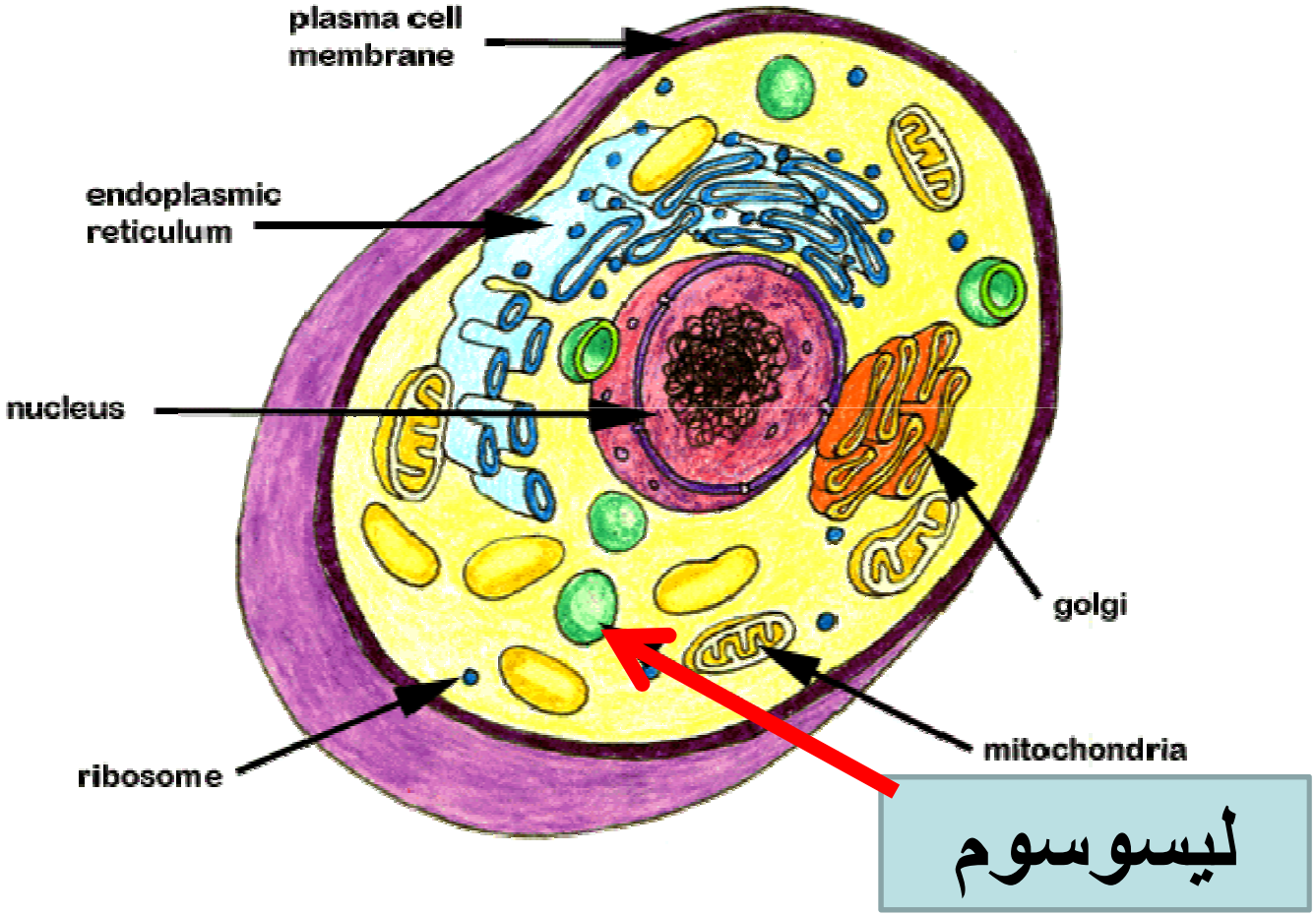
٦- اللايزوسوم (Lysosome):

- عبارة عن حويصلات مشتقة من جهاز جولجي، محاطة بغشاء و تحتوي على إنزيمات التحلل (Hydrolytic Enzymes) التي تساهم في:

١. هضم وتكسير المواد الداخلة إلى الخلية بواسطة البلعمة Phagocytosis أو Pinocytosis

٢. وأيضاً تساهم في هضم: ١) مكونات الخلية (العضيات الأخرى للخلية) و ٢) مخلفات الخلية بعد موتها .

مكونات الخلية حقيقية النواة



مكونات الخلية حقيقية النواة

٧- البيروكسيزوم (Peroxisome)

Microbody

- هي حويصلات محاطة بغشاء تحتوي على إنزيمات الأكسدة التي تقوم بنقل ذرات الهيدروجين من المركبات المختلفة و الموجودة داخل الخلية إلى الأكسجين فيتكون H_2O_2 (هيدروجين بروكسيد)، الذي بعد ذلك يتم تحطيمه إلى ماء وأكسجين بواسطة أنزيم الـCatalayse.
- فوق أكسيد الهيدروجين يتكون ويتحطم داخل البيروكسيزوم.

4

الفكرة المركزية للبيولوجي الجزيئي وعنصرها Central Dogma of Molecular Biology

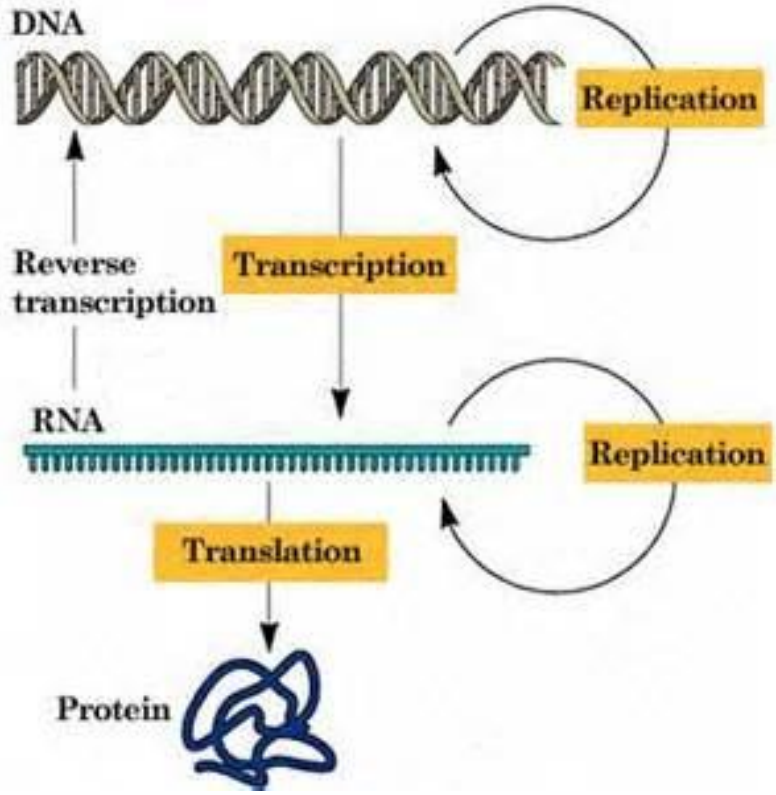
تعرف الـ Central dogma على أنها توضيح أو تفسير لانسياب المعلومات الوراثية خلال الأنظمة الحياتية وتشمل:

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

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

3- عملية صنع البروتين Translation.

ويمكن توضح الـ Central dogma بالمخطط التالي:



وسنتطرق إلى هذه العلميات بالتفصيل وأولها عملية تضاعف الحمض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين 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 .

أولا: تضاعف الحمض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين DNA replication في الكائنات حقيقية النواة

Replication of DNA in eukaryotic organisms

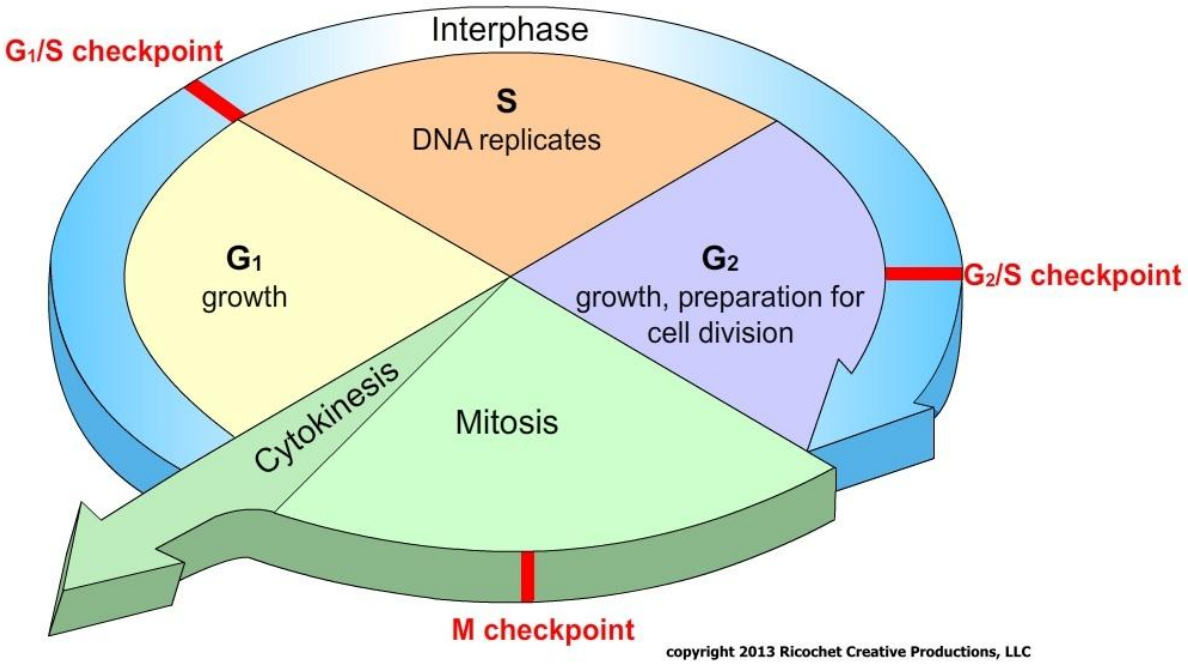
قبل البدء بالحديث عن هذه العملية يجب الإجابة على التساؤلات التالية:

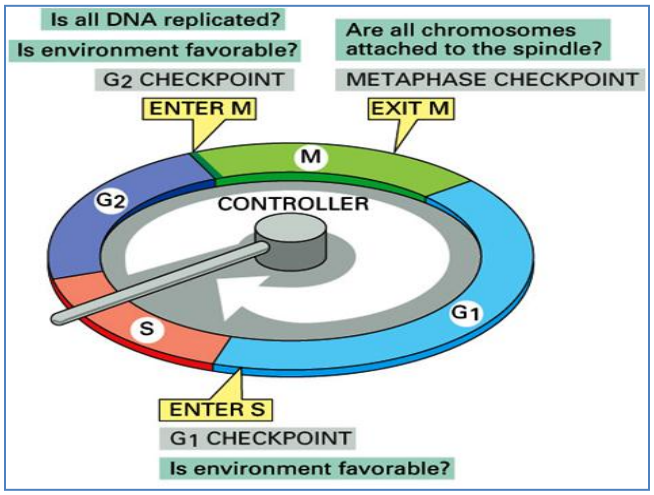
متى تحدث عملية التضاعف؟

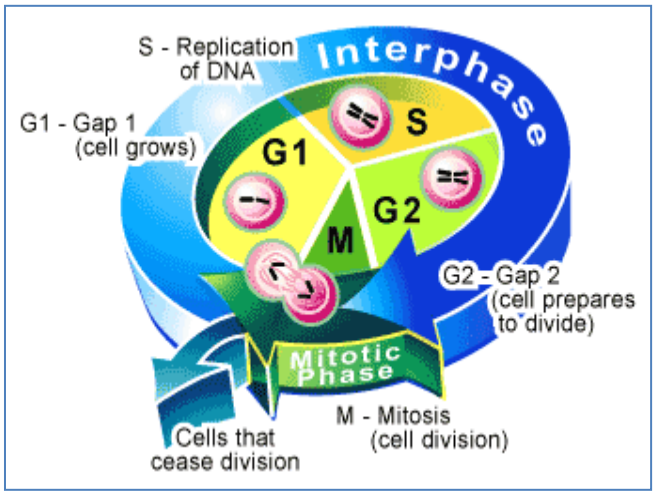
هل هي عملية عشوائية غير مسيطر عليها؟

أين تحدث هذه العملية؟

وللإجابة على هذه التساؤلات نقول: أن عملية التضاعف عملية منظمه تحدث بانتظام ودقة متناهية . 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 أدناه:





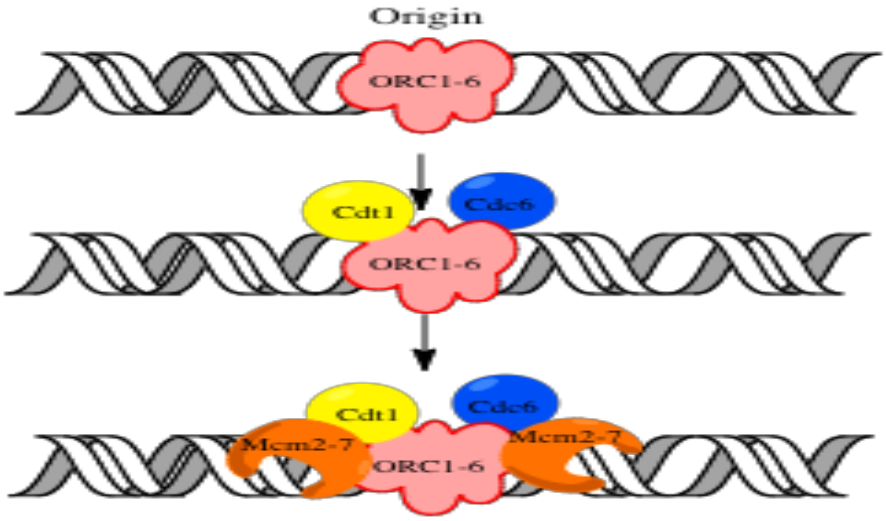


تحدث هذه العملية في النواة والمايتوكوندريا (في حقيقية النواة) وفي المنطقة النووية Nucleoid في بدائية النواة. ويمكن تلخيص خطوات عملية التضاعف بما يلي:

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

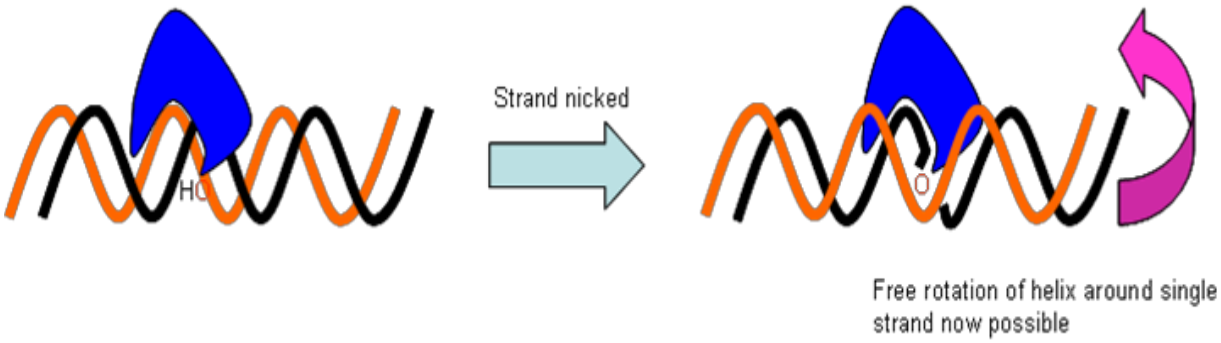
تسمى المنطقة التي يبدأ عندها التضاعف بـ Origin of Replication ويرمز لها في الكروموسوم بـ OriC أما في البلازميد فيرمز لها بـ OriT حيث تميز هذه المنطقة من قبل معقد البدء Origin of Replication Complex ويرمز له ORC حيث يتكون هذا المعقد في حقيقية النواة من ستة وحدات هي ORC1, ORC2, ORC3,ORC4, ORC5, ORC6 وبعد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

من الجدير بالذكر أن هنالك العديد من OriC في حقيقة النواة على العكس من بدائية النواة التي تحتوي على OriC واحد فقط. من مميزات هذه المنطقة أنها غنية بالأزواج القاعدية AT .



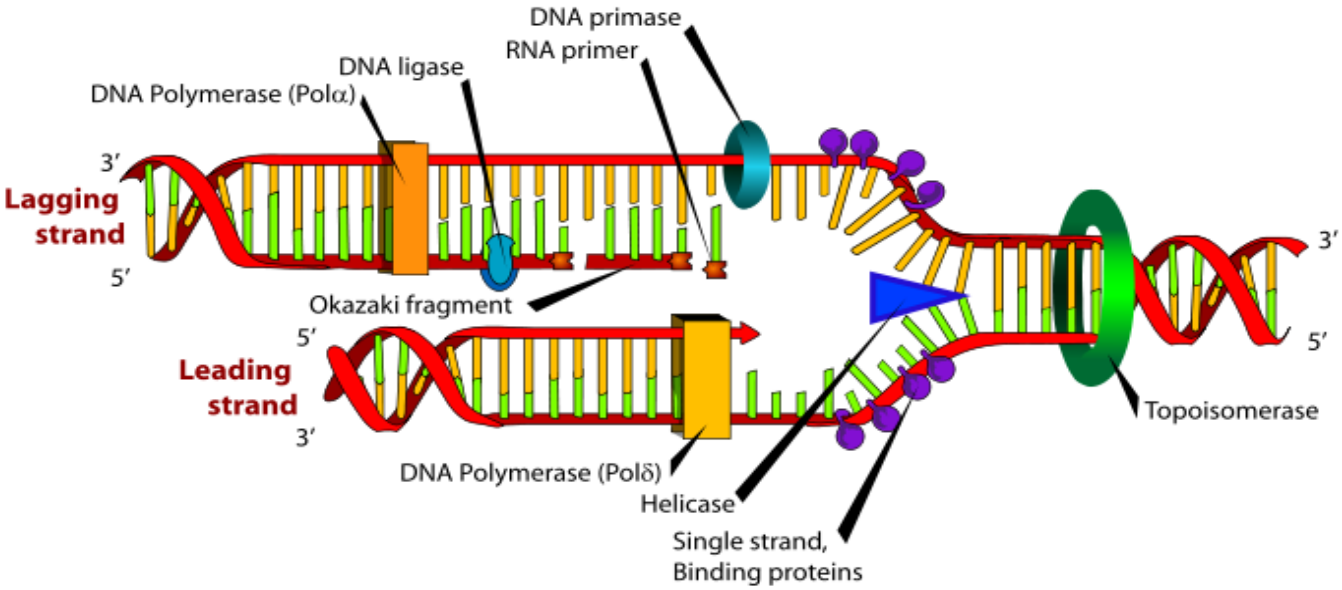
2- **عملية الإرخاء Relaxation**: حيث تتضمن هذه الخطوة فك الالتفاف الفائق Supercoiling من خلال أنزيم Topoisomerase وهنالك نوعين من هذا الإنزيم هما Topoisomerase I (الذي يقوم بقطع احد الشريطين ليدور حول الثاني ومن ثم أعادة لصق الشريط) والثاني هو II

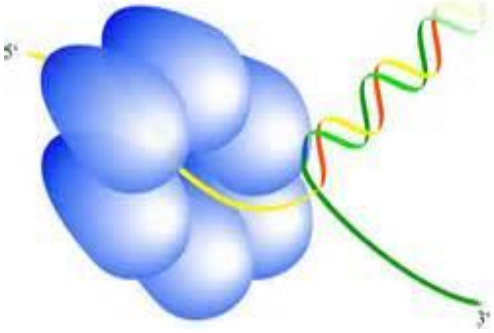
Topoisomerase(الذي يقوم بقطع الشريطين لتدور حول جزيئة الدنا المزدوجة الأخرى ومن ثم أعادة لصقهما). وهنالك نوعين لكل منهما Topoisomerase IA و Topoisomerase IB و Topoisomerase IIA و Topoisomerase IIB وفي السابق كان يعتقد ان Topoisomerase IA موجود في بدائية النواة ولذلك سمى بـ (Prokaryotic Topoisomerase) أما Topoisomerase IB فكان يعتقد انه موجود في حقيقة النواة ولذلك سمى بـ (Eukaryotic Topoisomerase) اما في الوقت الحاضر فوجد ان كلاهما موجود في حقيقية وبدائية النواة. يمتاز Topoisomerase IA بأنه قادر على إرخاء الالتفاف الفائق السالب فقط Negative supercoiling اما Topoisomerase IB فيكون قادرا على إرخاء الالتفاف الفائق الموجب فقط positive supercoiling. أما آلية عمل أنزيم التوبوايزوميريز فيمكن تلخيصها كلاتي: يقوم الأنزيم بعمل قطع في الدنا (احد الشريطين أو كلاهما) وبالتالي تحصل عملية الإرخاء Relaxation ثم يعد غلق Reseal الشريط أو الشريطين المقطوعين وهذا يؤدي إلى الحصول على الحلزون المزدوج الجاهز لعملية بدء التضاعف وكما موضح في الشكل الأتي :

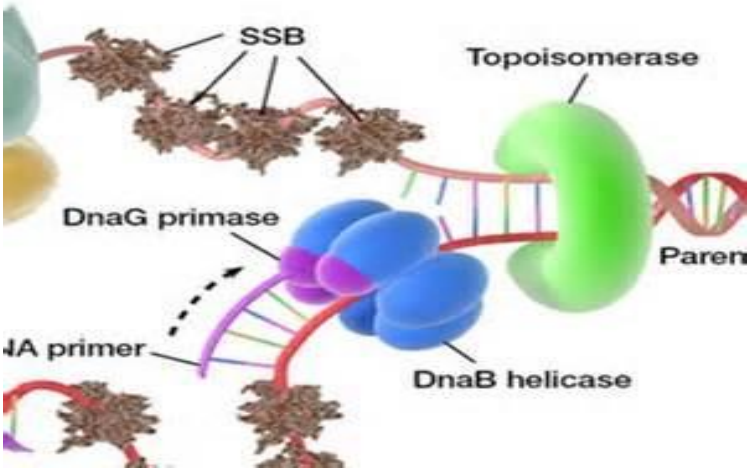


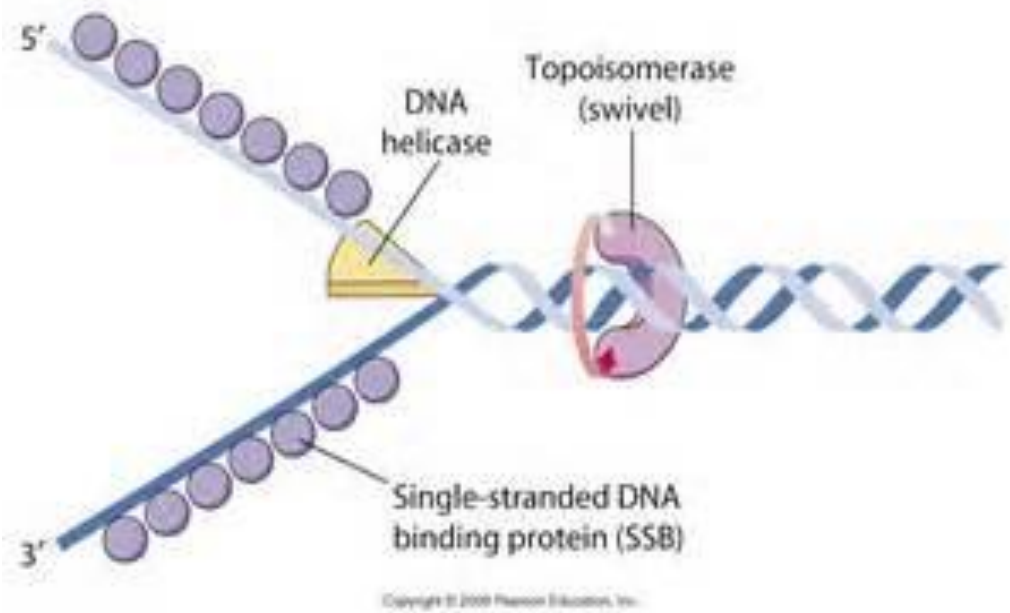
3- عملية فتح المزدوج Double Helix Denaturation وارتباط بروتين الشريط المنفرد Single Strand Binding Protein(SSBP) :

تحدث هذه العملية بكل من الاتجاهين لفتح المزدوج بواسطة أنزيم Helicase وتتزامن معها ارتباط SSBP للشريط المزدوج . أن الغاية من ارتباط الـ SSBP هو لمنع أعادة ارتباط الشريطين وتكوين الحلزون المزدوج وكبح عملية التضاعف أي أن عمل الـ SSBP هو لضمان استقرار الشريطين المنفصلين لحين بدء تصنيع الشريط المتمم لكل منهما. وتسمى هذه المنطقة المفتوحة والمهيأة إلى التضاعف بشوكة التضاعف Replication fork والتي تتجه بالاتجاهين . هنالك العديد من شوكة التضاعف تتكون في آن واحد في حقيقية النواة وشوكة تضاعف واحدة في بدائية النواة .


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


5′
3′

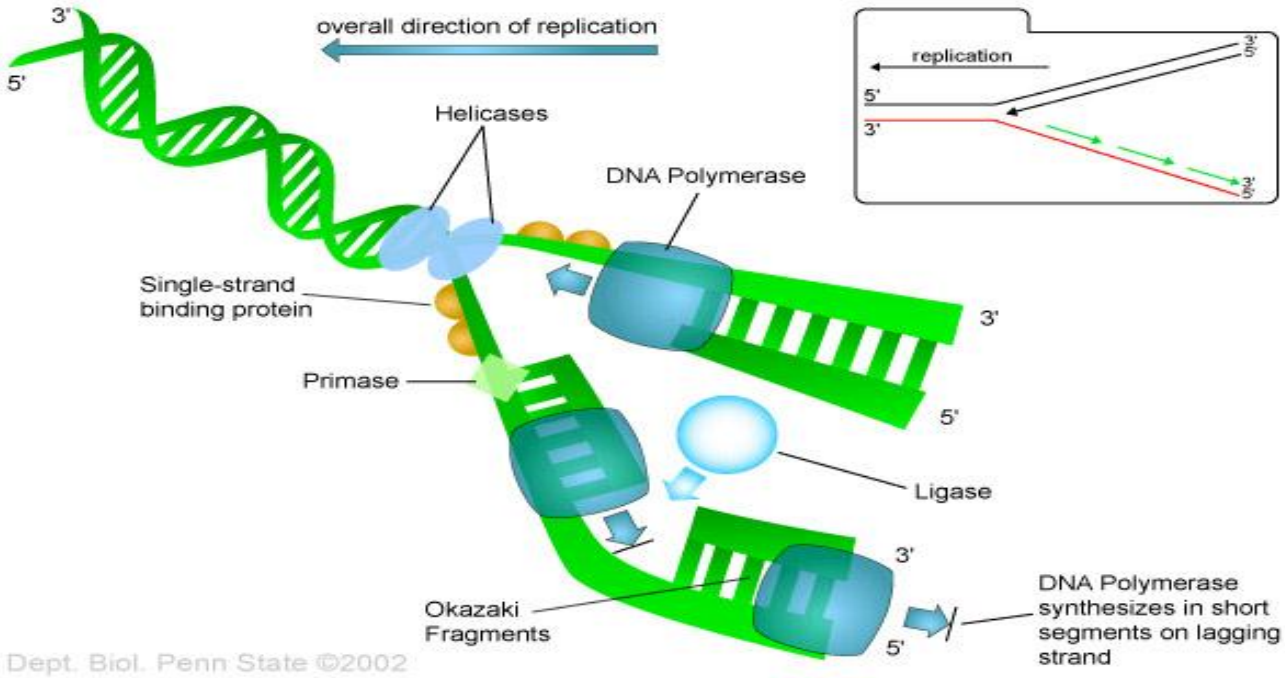

SSB
Topoisomerase
DnaG primase
Paren
NA primer
DnaB helicase


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

4- ارتباط البادئ Primer Binding:

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

لماذا يجب إزالة البادئ ؟



5- البلمرة وإطالة الشريط Polymerization and Strand Extension :

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

ما نوع النيوكليوتيده الحرة هل هي ثلاثية الفوسفات أم أحادية الفوسفات؟

ما نوع النيوكليوتيده المرتبطة هل هي ثلاثية الفوسفات أم أحادية الفوسفات؟

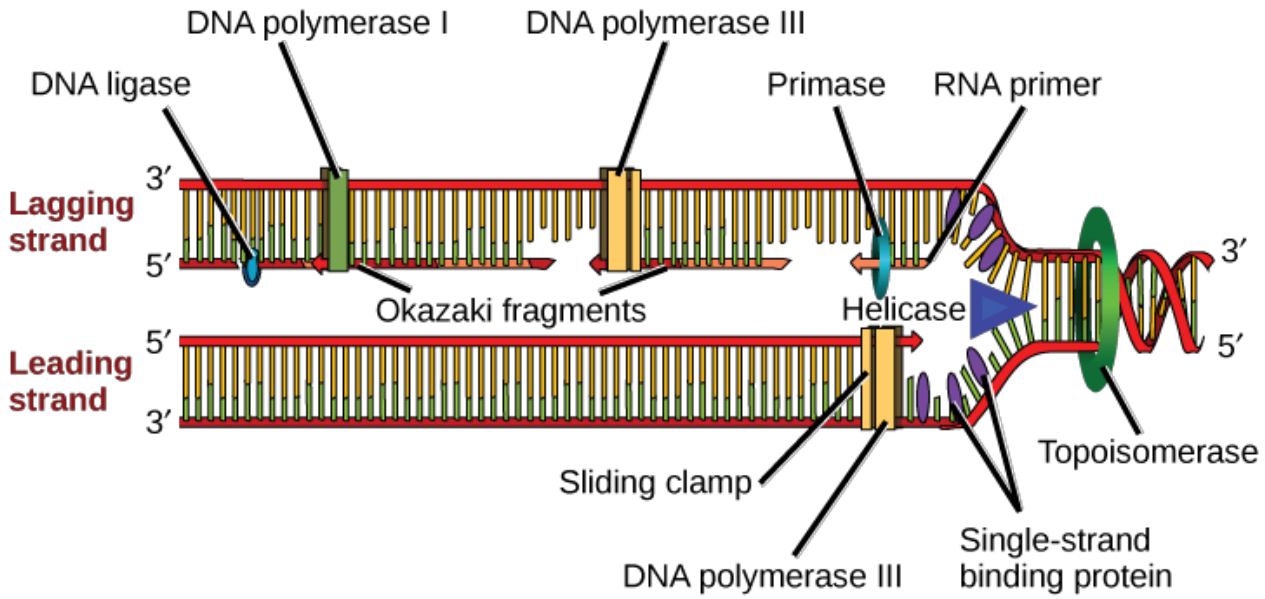
في الشريط الجديد الذي يكون الشريط القالب (الأصلي الأبوي) له بالاتجاه5'→3' يبنى هذا الشريط باستمرار ويحتاج إلى قطعة برايمر واحده فقط ويسمى بالشريط القائد Leading Strand أما الذي يكون بالعكس فانه يحتاج إلى عدة قطع من البرايمرات ويبنى بشكل منقطع غير مستمر ويسمى بالشريط المتأخر Lagging Strand وتسمى القطع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

في حقيقة النواة هنالك عدة أنواع من أنزيم بلمرة الدنا DNA polymerase كل منها ينجز مهمة خاصة وكما يلي:

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

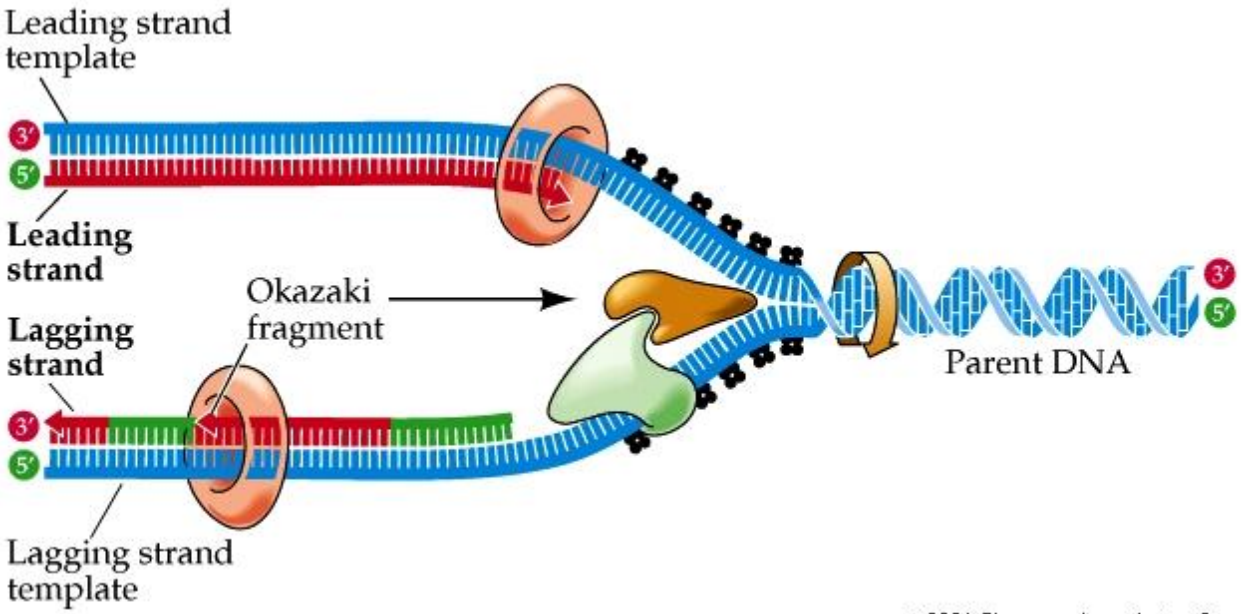
2- **بوليميريز أيبسلون Pol ε:** يعمل على أطالة الشريط المتقدم Leading بعد النيوكليوتيدات التي أضافها بوليميريز الفا (Pol α). ويقابله في بدائية النواة الأنزيم Pol III

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

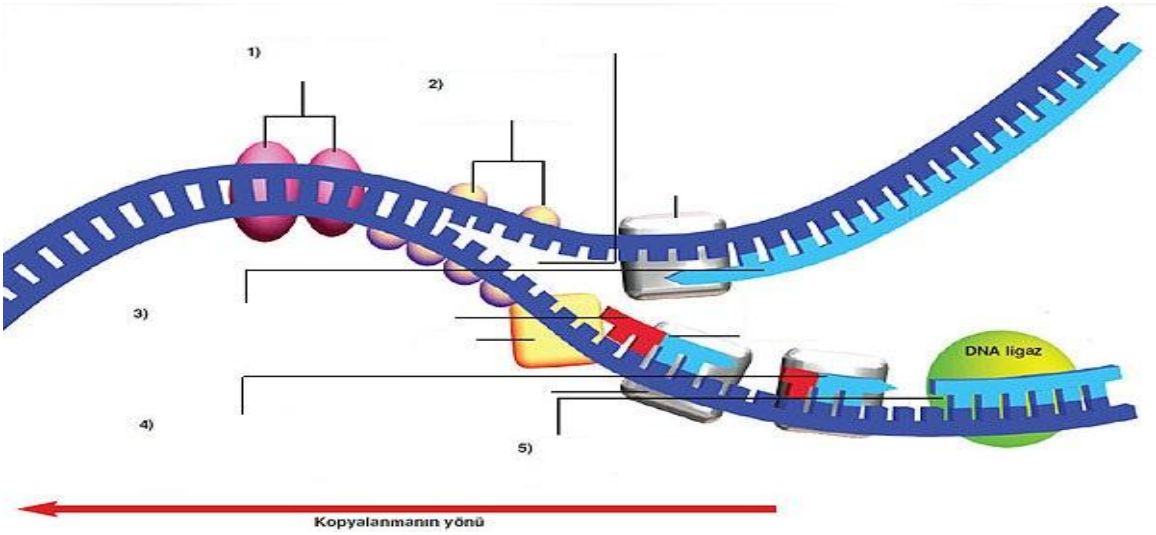


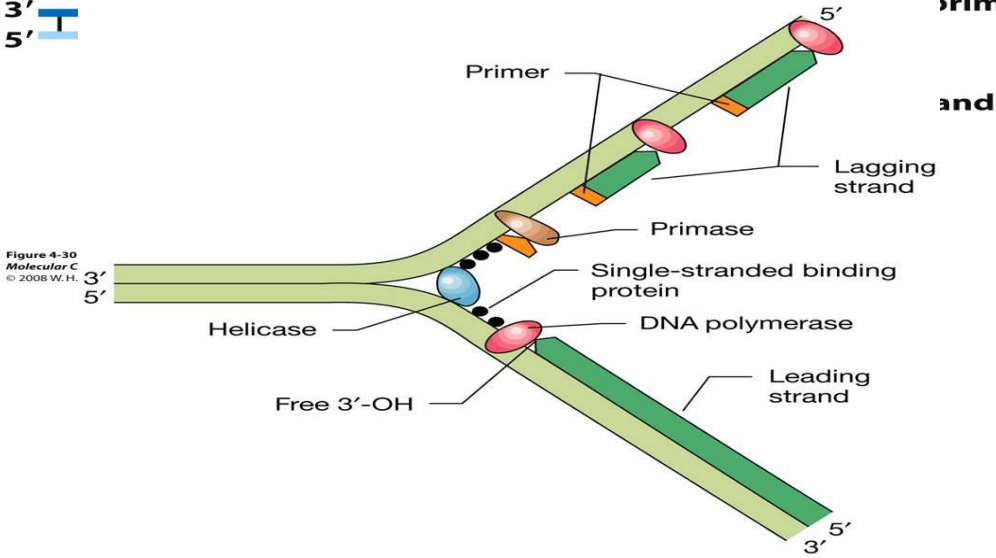
6- عملية إزالة البرايمر وغلق القطع Primer removing and Nick sealing :

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

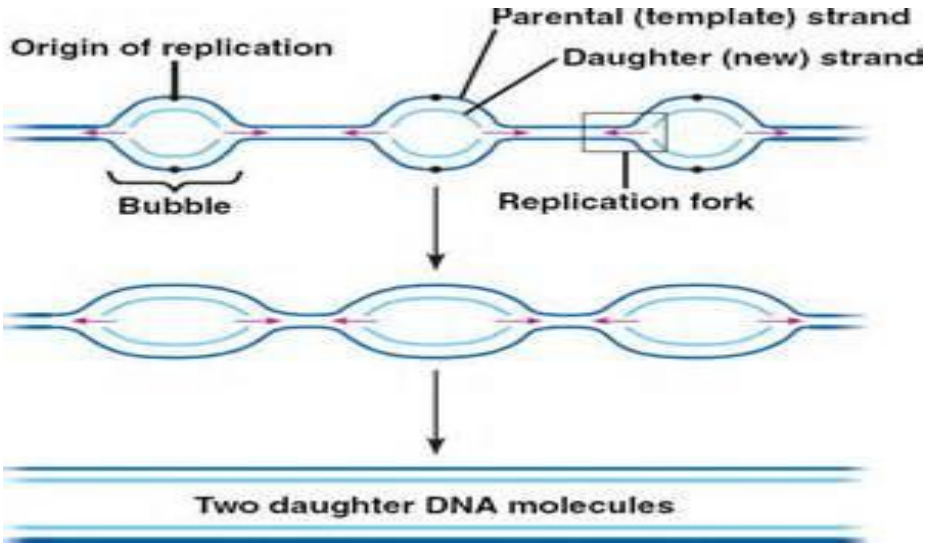


© 2001 Sinauer Associates, Inc.

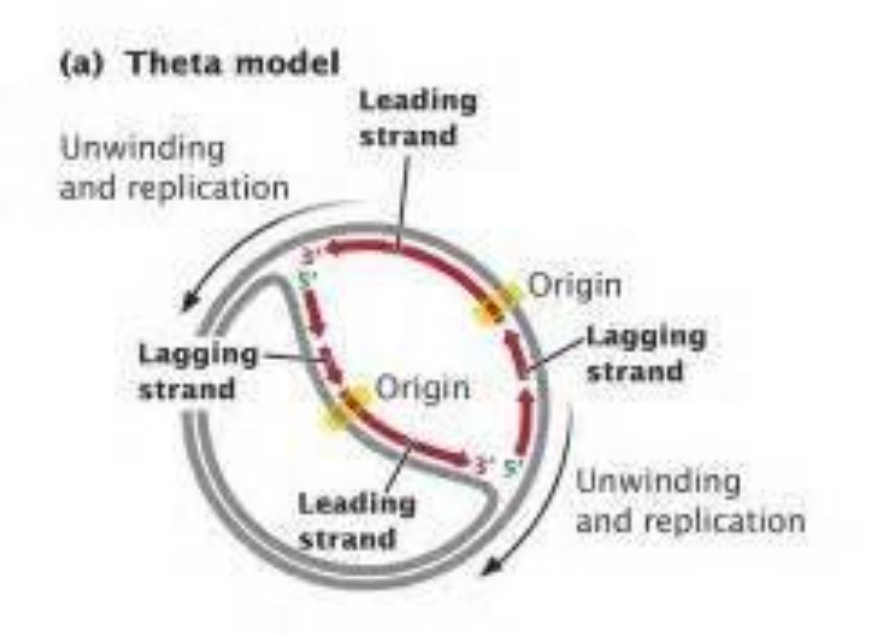




بما انه هنالك أكثر من شوكة للتضاعف على طول جزيئة الدنا DNA في حقيقية النواة لذلك سيتكون أشبه بالفقاعات Bubbles التي تقترب من بعضها البعض وتلتقي لتكوين جزيئة الدنا الجديدة. أما في بدائية النواة فهنالك شوكة تضاعف واحده ؟ تبدأ في مكان معين وتمتد على طول الدنا الكرموسومي الحلقي لتلتقي مرة أخرى .



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



7- عملية الإنهاء Termination:

تحدث هذه العملية عند مناطق تسمى مناطق الإنهاء وتحدث عملية إنهاء التضاعف نتيجة لارتباط بروتينات الإنهاء بهذه المناطق. من الجدير بالذكر أن 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 .

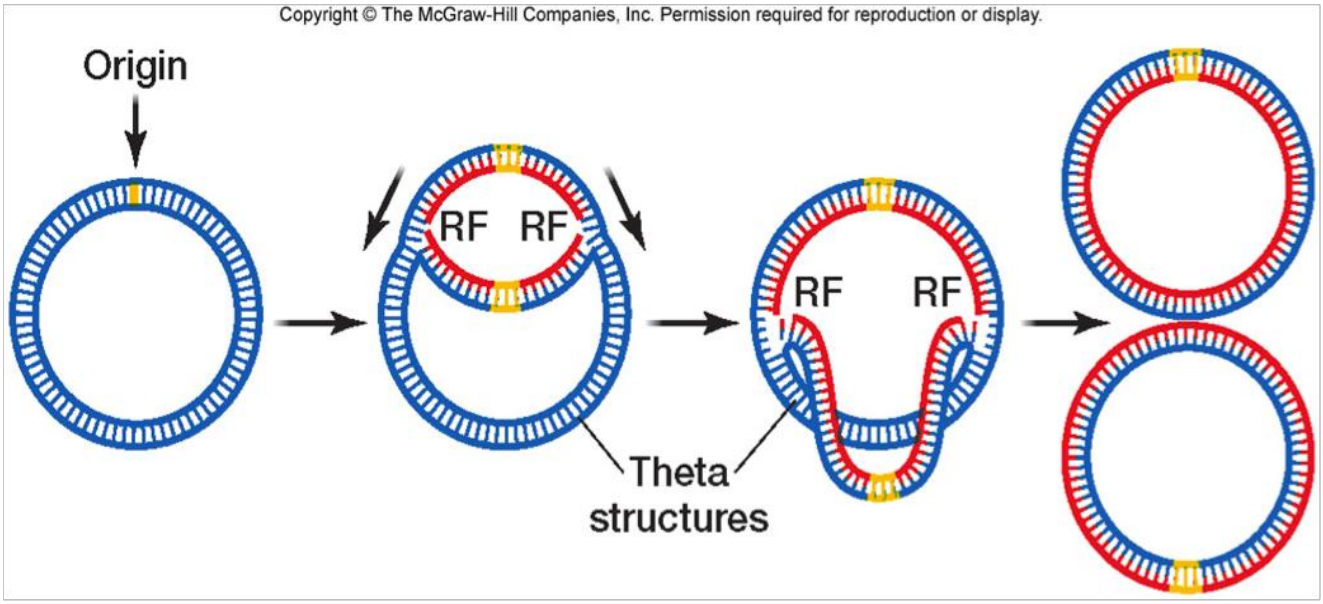
بالتالي يتبادر للذهن الأتي أذا كانت عملية التضاعف في بدائية النواة وحقيقية النواة متشابه تقريبا فأين يكمن الاختلاف ؟ في البداية لابد من التعرف على كيفية تضاعف الدنا في بدائية النواة.

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

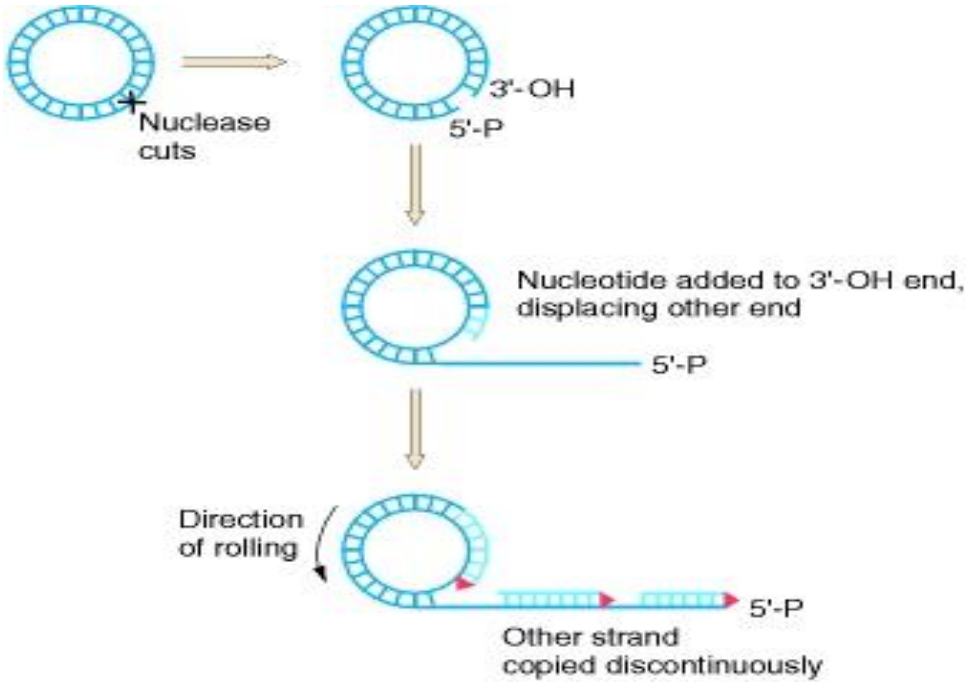
DNA replication in prokaryotic organisms

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

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



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



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

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

NOTES :

1 - **Replication** Duplication of DNA prior to cell division .

2 - **Template strand** Strand of DNA used as a guide for synthesizing a new strand by complementary base pairing .

3 - **Semi-conservative replication** Mode of DNA replication in which each daughter molecule gets one of the two original strands and one new complementary Strand .

4- **Replication fork** Region where the enzymes replicating a DNA molecule are bound to untwisted, single stranded DNA .

5 - **Replisome** Assemblage of proteins (including primase, DNA polymerase, helicase, SSB protein) that replicates DNA .

6 - **Bi- directional replication** Replication that proceeds in two directions from a common origin .

7 - **DNA gyrase** An enzyme that introduces negative supercoils into DNA, a member of the type II topoisomerase family .

8 - **Theta-replication** Mode of replication in which two replication forks go in opposite directions around a circular molecule of DNA .

9 - **Topoisomerase IV** A particular topoisomerase involved in DNA replication in bacteria .

10 - **DNA helicase** Enzyme that unwinds double helical DNA .

11 - **DNA polymerase** Enzyme that synthesizes DNA .

12 - **Polymerase** Enzyme that synthesizes nucleic acids .

13 - **Single strand binding protein (SSB protein)** A protein that keeps separated strands of DNA apart .

14 - **Lagging strand** The new strand of DNA which is synthesized in short pieces during replication and then joined later .

15 - **Leading strand** The new strand of DNA that is synthesized continuously during replication .

16 - **Primase** Enzyme that starts a new strand of DNA by making an RNA primer .

17 - **RNA polymerase** Enzyme that synthesizes RNA .

18 - **RNA primer** Short segment of RNA used to initiate synthesis of a new strand of DNA during replication .

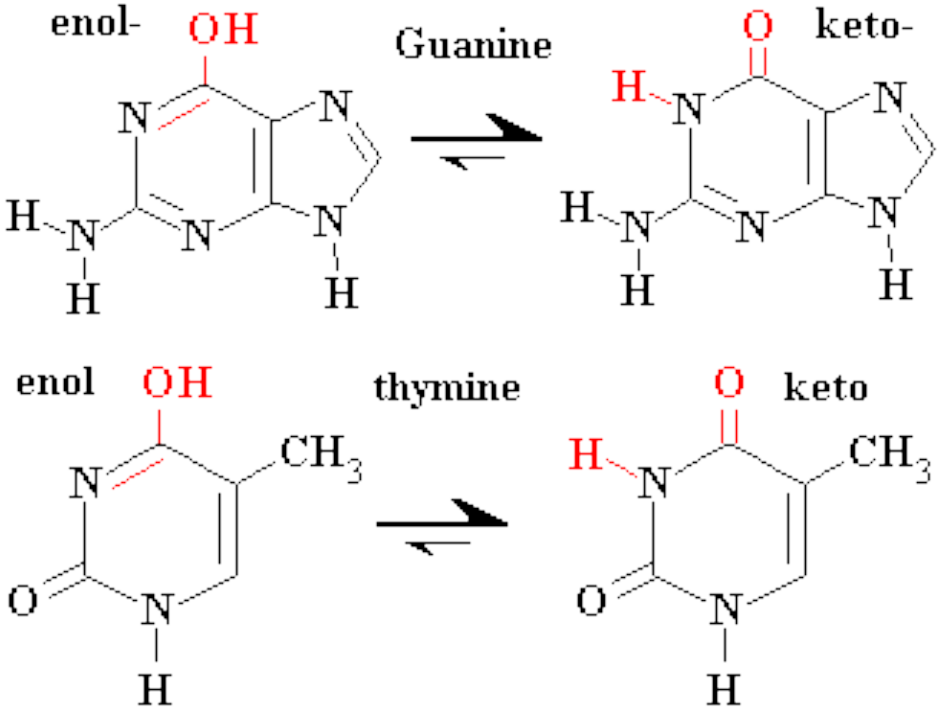
الطفرة الوراثية Genetic Mutation

تعرف الطفرة الوراثية على أنها التغير الحاصل في المادة الوراثية وتكون على مستوى الجين او الكروموسوم.

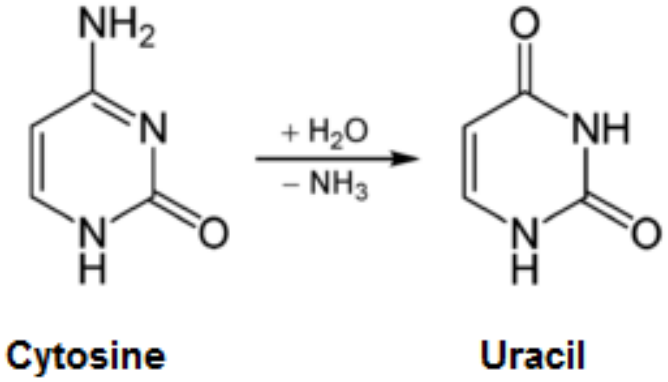
فعلى مستوى الجين تعرف الطفرة على أنها أي تغيير في القواعد النتروجينيه للدنا والتي بدورها تؤدي الى نتائج مؤذية (او في بعض الأحيان مفيدة)للصفة الوراثية. وتسمى العملية التي تؤدي الى حدوث الطفره ***بالتطفير Mutagenesis*** والتي تكون :

1- ***طبيعية Natural*** : بفعل العوامل المطفره في الطبيعة ومن اهم أسبابها او عواملها:

- الصنوانية Tautomerism: تغيير قاعدة عن طريق إعادة تموضع ذرة هيدروجين، وذلك بتعديل نمط ترابط الهيدروجين لتلك القاعدة، مما يؤدي لازدواج نوكليوتيدات خاطئ أثناء التضاعف وكما موضح في الشكل ادناه:



- نزع البيورينات Depurination: فقدان قاعدة بيورين لتشكيل موقع منزوع البورين(Apurinic Site (AP site والذي يحدث نتيجة لازالة قاعده بيورينيه اثناء عمليات اصلاح الدنا.
- نزع الأمينات Deamination: نزع مجموعة أمين والتي تؤدي لتبدل قاعدة عادية الى اخرى مثلا تبديل السايتوسين الى يوراسيل كما موضح ادناه:



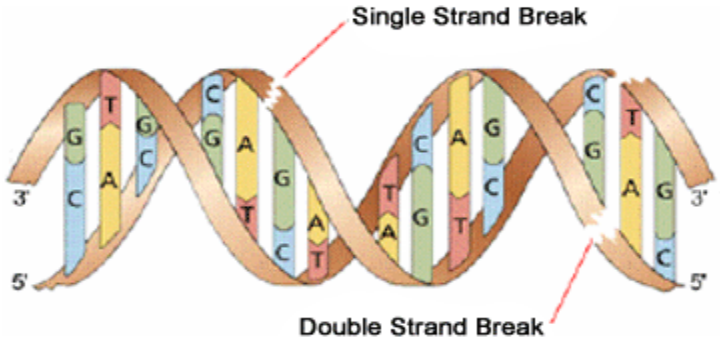
2- ***مستحثة Induced*** : والتي تحصل بشكل مقصود كما في بعض التجارب المختبرية التي تختبر القدرة التطفيرية لبعض المركبات او المؤثرات ومن العوامل التي تسبب الطفره المستحثة هي (تسمى العوامل المطفره بـ Mutagen) :

<u>اولا: العوامل الفيزياوية: وأهمها الأشعة والتي تنقسم الى:</u>

- **الأشعة المؤينة Ionizing Radiation** : وأهمها الأشعة السينية X-ray وأشعة كاما γ-ray حيث تعمل على عطب الدنا من خلال مايلي:

1- القطع في احد الشريطين Single Strand Breaks من خلال تحطيم الاصره بين السكر والقاعده النتروجينيه او الاصره ثنائية الفوسفات (Phosphodiaster bond) . ويتم ذلك من خلال تكوين الجذور الحره للاوكسجين.

2- القطع في كلا الشريطين Double Strand Breaks من خلال تحطيم الاصره بين السكر والقاعده النتروجينيه او الاصره ثنائية الفوسفات (Phosphodiaster bond) . . ويتم ذلك من خلال تكوين الجذور الحره للاوكسجين.



3- Base Damage:

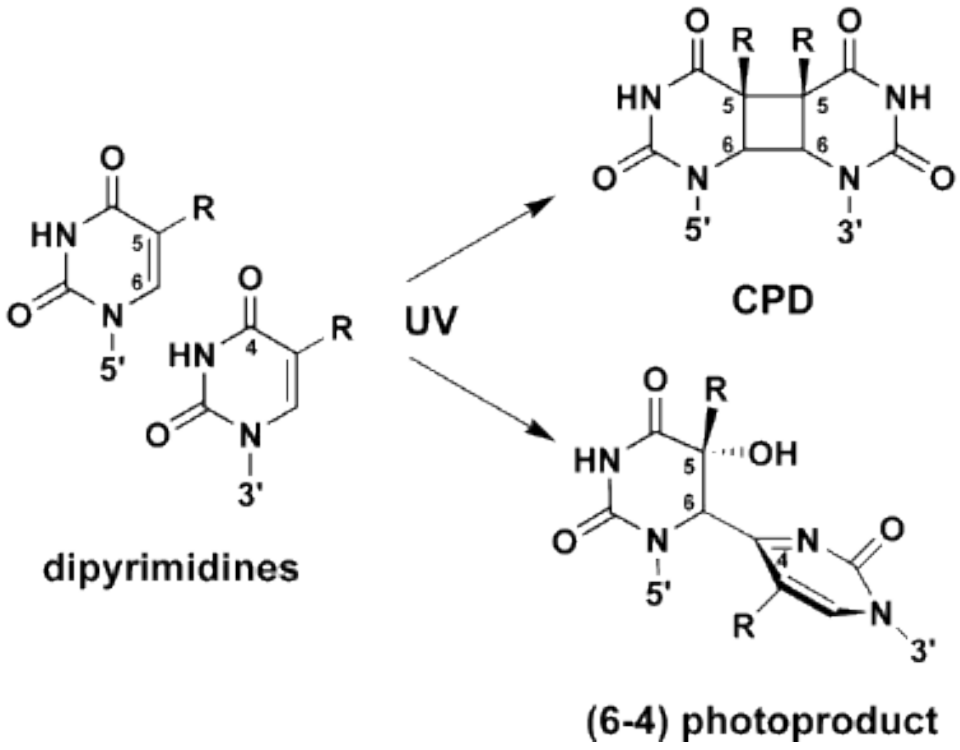
- **الأشعة الغير مؤينة non-ionizing Radiation: وأهمها الأشعة فوق البنفسجية UV-light** : حسب منظمة الغذاء والدواء الأمريكية ووكالة ناسا هنالك ثلاثة انواع من الأشعة :

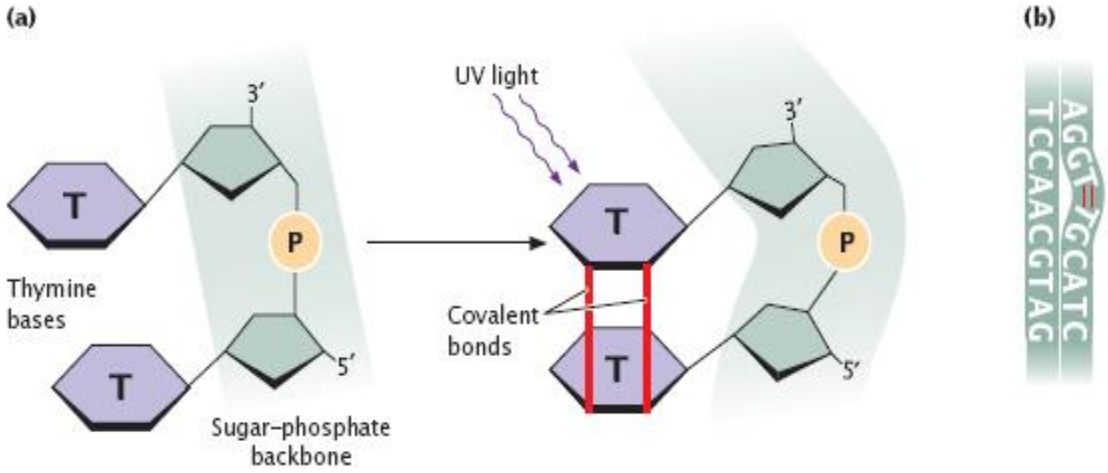
UV-A 400 nm - 320 nm
UV-B 320 nm - 290 nm
UV-C 290 nm - 100 nm

ان اخطر هذه الأنواع هي UV-B حيث تعمل على عطب الدنا من خلال :

1- تكوين مركبات ضوئية photoproducts حيث تمتص الفوتونات المتأتية من الـ UV-B من قبل الدنا وتؤدي الى حالة من عدم الاستقرار وإعادة ترتيب الالكترونات مكونة هذه المركبات الضوئية وأهمها:

Cyclobutane pyrimidine dimer (CPD) e.g. Thymine Dimer
6-4 pyrimidine –pyrimidone



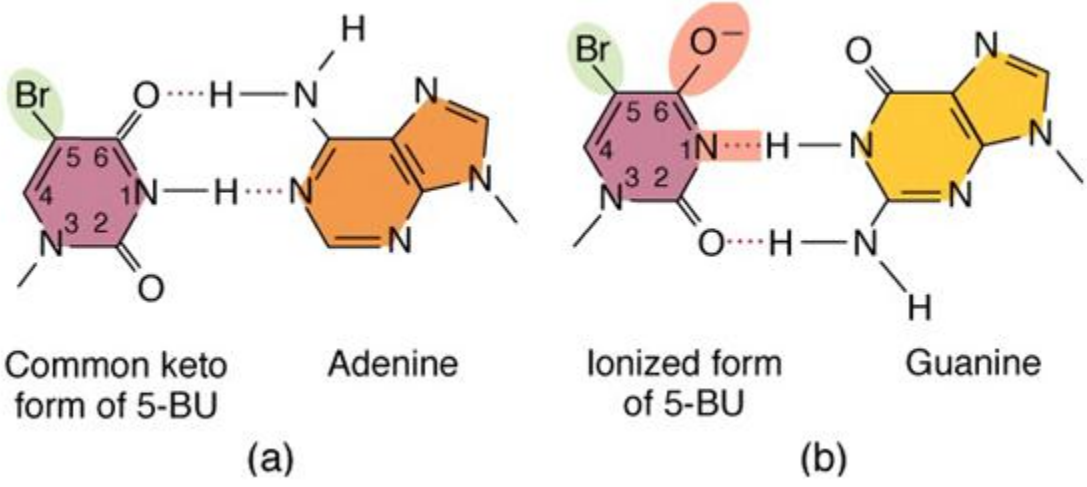


2- استبدال قاعدة منفره او زوج قاعدي single-base or Double-base substitutions كما في استبدال السايتوسين بالثايمين.

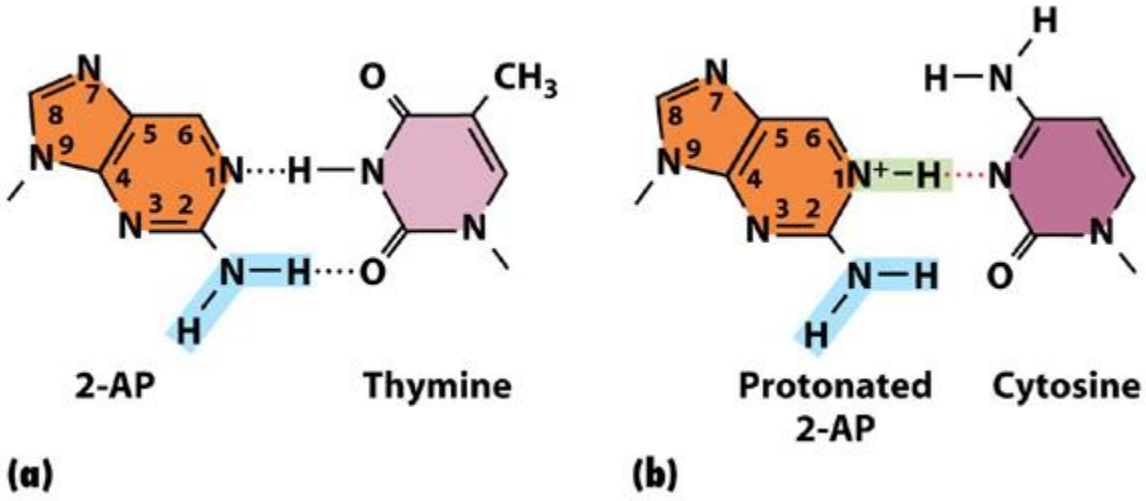
ثانيا: العوامل الكيمياوية: والتي تنقسم الى

1- مشابهات القواعد Base analogue mutagens : وهي مواد كيمياويه تشبه الى حد كبير القواعد النتروجينيه الاعتيادية(البيورينات والبرميدينات) وتمتاز بأنها ممكن ان ترتبط مع اكثر من نوع من القواعد النتروجينيه مسببة الطفره ومن هذه المواد:

- **5-بروموبوراسيل 5-BU :** لديه شكل كيتوني يشبه الثايمين وبذلك ممكن ان يرتبط مع الأدنين وشكل اينولي يشابه الستيتوسين يمكنه من الارتباط مع الكوانين.



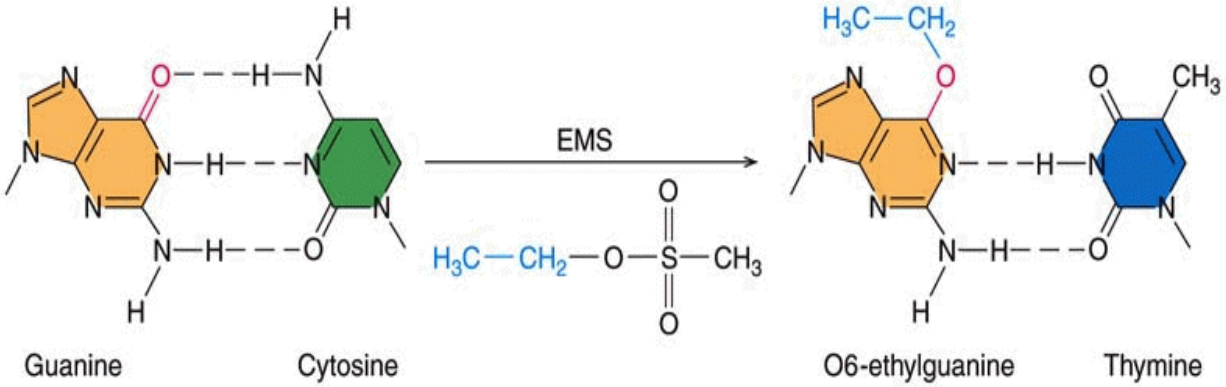
- **2-امينوبيورين 2-AP :** على العكس من **5-BU** لديه شكل كيتوني يشبه الادنين وبذلك ممكن ان يرتبط مع الثايمين وشكل اينولي يشابه الكوانين يمكنه من الارتباط مع السايتوسين.



2- عوامل الالكلةAlkylator : هذه العوامل تتفاعل مباشرتا مع القاعدة النتروجينية وتتسبب في تغييرها الى قاعدة اخرى مسببة خطا في الارتباط mispairing ومن هذه المواد:

Ethyl methane sulfonate (EMS)

حيث تعمل على تحويل الكوانين الى 6-اثيل كوانين (تشابه الادنين) والتي ترتبط بدورها مع الثايمين اي ان هذه الماده تحول الارتباط G:C الى A:T



Methyl methane sulfonate (MMS)

Diethylsulfate (DES)

Nitrosoguanidine (NTG, NG, MNNG)

Mastard gas

3- عوامل اخرى: وتشمل

- **الهيدروكسيل امين** الذي يحول مجموعه الامين في السايتوسين الى هيدروكسيل امين وبذلك يحول السايتوسين الى هيدروكسي يوراسيل الذي يرتبط بالادنين بدلا من الكوانين اي ان هذه الماده تحول الارتباط G:C الى A:T
- **حامض النتروز** الذي يعمل على سحب مجموعة الأمين من القواعد حيث يؤدي الى:

تحويل الادنين الى هايبوزانثين الذي يرتبط بالسايتوسين اي ان هذه الماده تحول الارتباط A:T الى G:C

تحويل السايتوسين الى اليوراسيل الذي يرتبط بالادنين اي ان هذه الماده تحول الارتباط G:C الى A:T

<u>ثالثا: العوامل البايولوجيه: والتي تنقسم الى:</u>

1- سلاسل الدمج IS (insertion sequence) التي يمكن ان تكون وحيدة أو مركبة تحتوي على مورثة أو عدة مورثات كتلك الخاصة بمقاومة المضادات الحيوية ومثالها IS10 و IS1.
2- العوامل المتوضعه (الترانسبوزون) Transposones : ومثالها Tn3.
3- العاثيات البكتيرية الاندماجية Lysogenic bacteriophage.

انواع الطفرات: تقسم الطفرات الى عدة انواع رئيسه والتي تضم بدورها انواع ثانوية وتقسم الى مايلي:

<u>اولا: حسب تأثيرها على الوظيفة: وتقسم الى</u>

- **طفرات فقدان الوظيفة**: هذه الطفرات تحدث عندما تصبح وظائف نواتج الجينات غير مكتملة أو معدومة. عندما يفقد الأليل وظيفته بالكامل ، فإن الطفرة التي تسببت في ذلك غالباً يطلق عليها طفرة عديمة الشكلamorphic وعادةً تكون الأنماط الظاهرية المرتبطة بهذه الطفرات <u>متنحية</u>.
- **طفرات كسب الوظيفة**: طفرات تغير النواتج الجينية بحيث تكسبها وظائف جديدة وشاذة. هذه الطفرات عادة تكون مرتبطة بأنماط ظاهرية <u>سائدة</u>. وهي غالباً تسمى طفرات جديدة الشكل أو جديدة البنية neomorphic.
- **طفرات سالبة سائدة**: تسمى أيضاً طفرات مضادة للشكل antimorphic، تؤدي لأن تعمل النواتج الجينية المعدلة بشكل مناهض للألائل برية النمط. هذه الطفرات عادة ما تنتج وظائف جزيئية معدلة (عادة تكون غير نشطة). والأنماط الظاهرية المقرونة بها تكون سائدة.

- **الطفرات المميتة**: تؤدي لموت الكائن الحي الحامل لهذه الطفرة.
- **الطفرات الرجعية**: طفرات نقطية تسترجع التسلسلات الأصلية، ومن ثم النمط الظاهري الأصلي.

ثانيا: حسب تأثيرها على الصلاحية:وتقسم الى

- **الطفرة الضارة**: هي طفرة تأثيراتها على النمط الظاهري تكون سلبية، وبذلك تحط من صلاحية الكائن الحي.
- **الطفرة النافعة**: هي طفرة تعزز صلاحية الكائن الحي، أو تدعم صفاته المرغوبة. وتأثيراتها على النمط الظاهري تكون إيجابية.
- **الطفرة المحايدة:** تُعَرَّف على أنها طفرة لا يترتب عليها تأثيرات ضارة أو نافعة. هذه الطفرات تحدث بمعدل ثابت.
- **الطفرة شبه المحايدة**: تُعَرَّف على أنها طفرة قد تكون مؤذية أو مفيدة بشكل طفيف، هذا ومع أنَّ معظم الطفرات شبه المحايدة تكون مؤذية قليلاً.

ثالثا: حسب تأثيرها على البنية التركيبية او تركيب البروتين الناتج: وتقسم الى

1- الطفره النقطية (Point mutation) : سميت بالنقطية لأنها تتضمن استبدال قاعدة نتروجينية واحده فقط وتسمى بالاستبدال المتكافئ (Transition substitution) اذا حدث استبدال لبيورين ببيورين او بايرميدين ببايرميدين (من نفس المجموعه) في حين تسمى بـالاستبدال الغير المتكافئ (Transversion substitution) اذا حدث استبدال لبيورين ببايرميدين والعكس صحيح (من مجاميع مختلفه) وكما موضح ادناه:

Wild type	5'-AAT CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3' 3'-TTA GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'
Mutant type (Transition)	5'-AAT CGT GAC CCT ACC TCC AAA-3' 3'-TTA GCA CTG GGA TGG AGG TTT-5'

Wild type

5'-AAT CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TTA GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

Mutant type
(Transversion)

5'-AAT CGT GCC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TTA GCA CGG GGA TGG AGG TTT-5'

وكنتيجه لهذه الطفره النقطية تكون واحده من الأنواع التالية:

✓ **الطفرات النقطية الغير متحسسة Non sense**: وتنتج عندما يحدث استبدال لقاعدة ضمن شفره تشفر الى واحده من شفرات ***الايقاف*** ومثالها:

Wild type DNA

5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

Transcription

Wild type mRNA 5'-AUG CGU GGC CCU ACC UCC AAA-3'

Translation

Wild type Protein Met Arg Gly Pro Thr Ser Lys

Wild type DNA

5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

Mutant type DNA
(Transversion)

5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC TAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG ATT-5'

Transcription

Mutant type mRNA 5'-AUG CGU GGC CCU ACC UCC UAA-3'

Translation

Mutant type Protein Met Arg Gly Pro Thr Ser STOP

✓ **الطفرات النقطية خاطئة التحسس Missense**: وتنتج عندما يحدث استبدال لقاعدة ضمن شفره تشفر الى ***حامض امينـي مختلف*** تماما عن الأصلي:

Wild type DNA 5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

Transcription

Wild type mRNA 5'-AUG CGU GGC CCU ACC UCC AAA-3'

Translation

Wild type Protein Met Arg Gly Pro Thr Ser Lys

Wild type DNA 5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

Mutant type DNA (Transversion) 5'-ATG CGT GGC CGT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GCA TGG AGG TTT-5'

Mutant type mRNA 5'-AUG CGU GGC CGU ACC UCC AAA-3'

Translation

Mutant type Protein

Met Arg Gly Arg Thr Ser Lys

✓ **الطفرات النقطية الصامتة Silent**: وتنتج عندما يحدث استبدال لقاعدة ضمن شفره تشفر الى ***نفس الحامض الاميني*** الأصلي:

Wild type DNA

5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

↓ Transcription

Wild type mRNA

5'-AUG CGU GGC CCU ACC UCC AAA-3'

↓ Translation

Wild type Protein

Met Arg Gly Pro Thr Ser Lys

Wild type DNA

5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

Mutant type DNA (Transition)

5'-ATG CGT GGC CCC ACC TCC TAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGG TGG AGG ATT-5'

↓ Transcription

Mutant type mRNA

5'-AUG CGU GGC CCC ACC UCC AAA-3'

↓ Translation

Mutant type Protein Met Arg Gly Pro Thr Ser Lys

2- طفرة إزاحة الإطار (Frameshift Mutation) : وتشمل الحذف Delete او الاضافة Insert لقاعدة نتروجينية او اكثر وسميت بهذا الاسم لأنها تغير في شكل كل التسلسلات التي تليها وكما موضح في المثال التالي:

THEBIGCATATETHERAT	لدينا الجملة
THE BIG CAT ATE THE RAT	بعد تقسيمها لثلاثيات تصبح كالتالي
THEIGCATATETHERAT	عند حذف حرف تصبح الجملة
THE IGC ATA TET HER AT	بعد تقسيمها لثلاثيات تصبح كالتالي

Wild type DNA 5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

↓ Transcription

Wild type mRNA 5'-AUG CGU GGC CCU ACC UCC AAA-3'

↓ Translation

Wild type Protein Met Arg Gly Pro Thr Ser Lys

↓ **Insert A**

Wild type DNA

5'-ATG CGT GGC CCT ACC TCC AAA-3'
3'-TAC GCA CCG GGA TGG AGG TTT-5'

Mutant type DNA
(Transition)

5'-ATG CG**A** TGG CCC CAC CTC CTA A-3'
3'-TAC GC**T** ACC GGG GTG GAG GAT T-5'

Transcription

Mutant type mRNA

5'-AUG CGA UGG CCC CAC CUC CUA A-3'

Translation

Mutant type Protein

Met Arg Trp Pro His Leu Leu

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:

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

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

الاستنساخ في حقيقية Eukaryote وبدائية النواة Prokaryote :

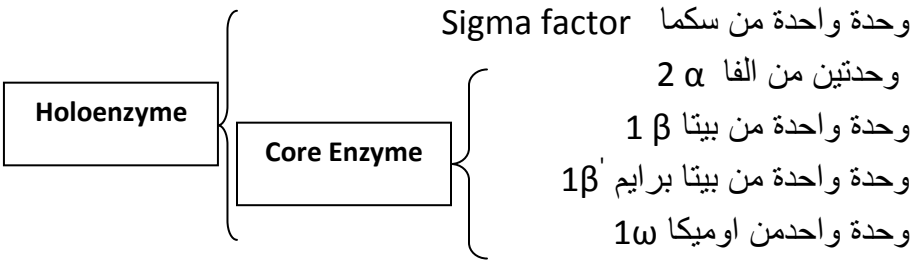
وتتضمن الأحداث التالية:

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

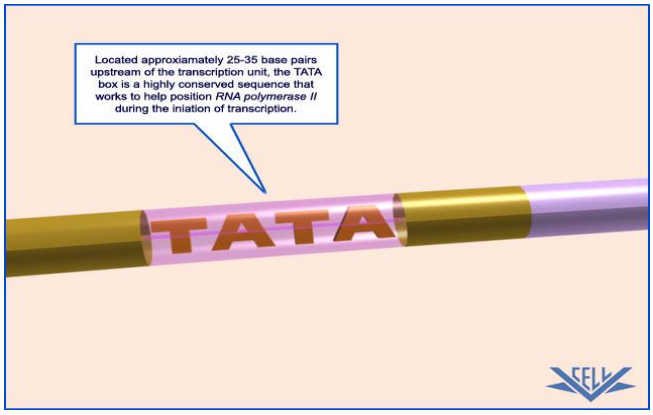
هنالك ثلاثة انواع من انزيم البلمره في حقيقية النواة وهي:

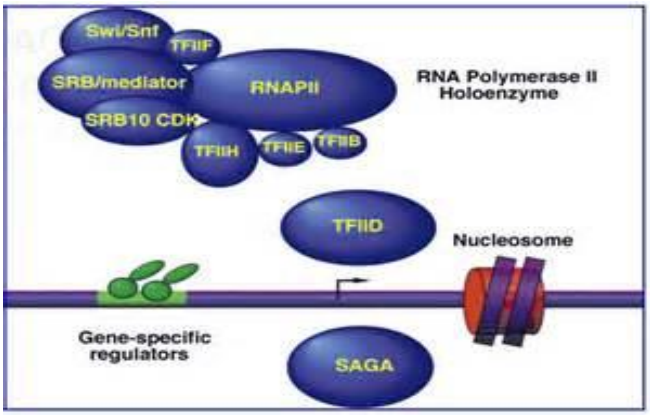
RNA Polymerase I ويستخدم لتصنيع الرنا الرايبوسومي rRNA
RNA Polymerase II ويستخدم لتصنيع الرنا المراسل mRNA
RNA Polymerase III ويستخدم لتصنيع الرنا الناقل tRNA

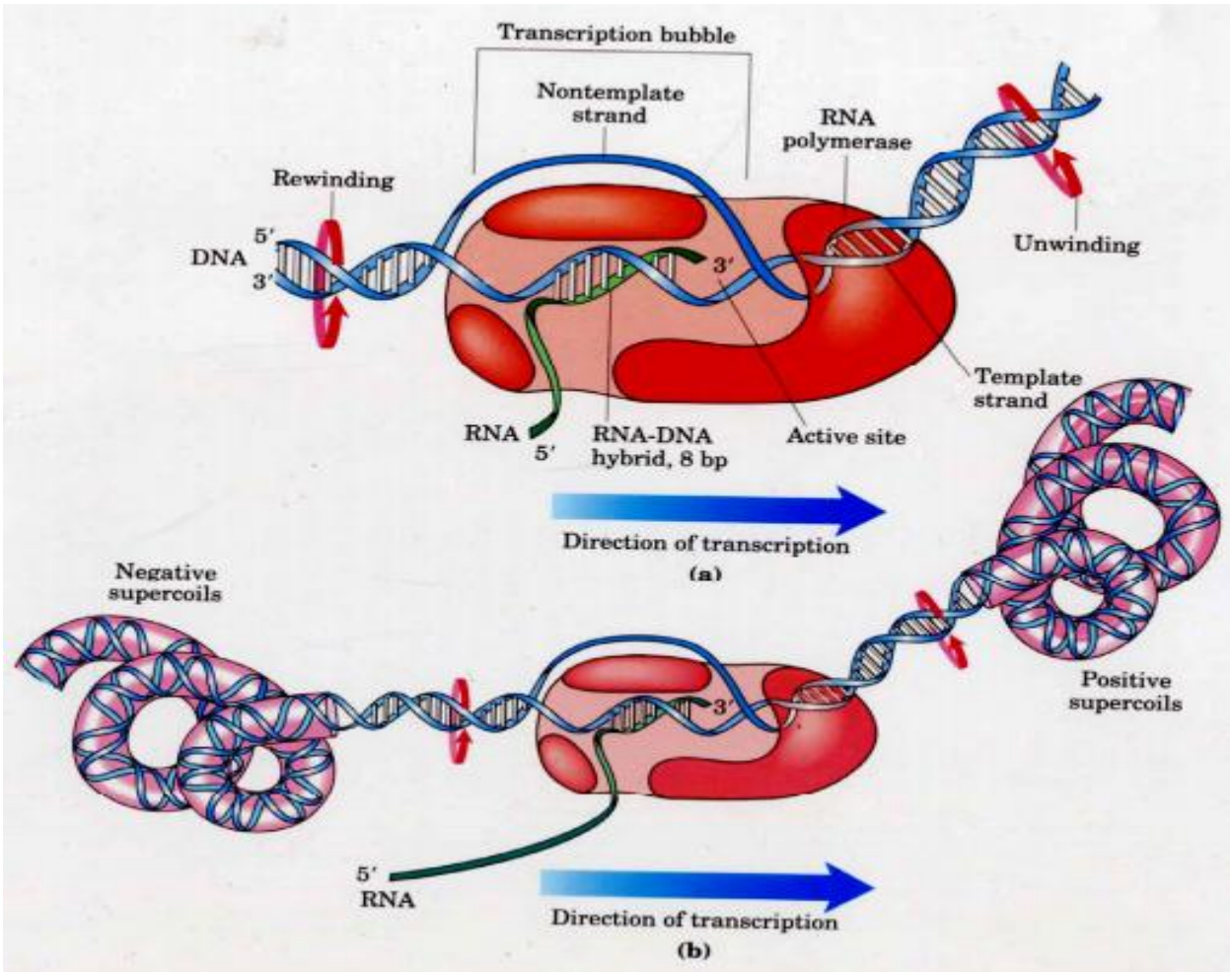
اما في بدائية النواة فهنالك نوع واحد مكون من عدة وحدات وهي:



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

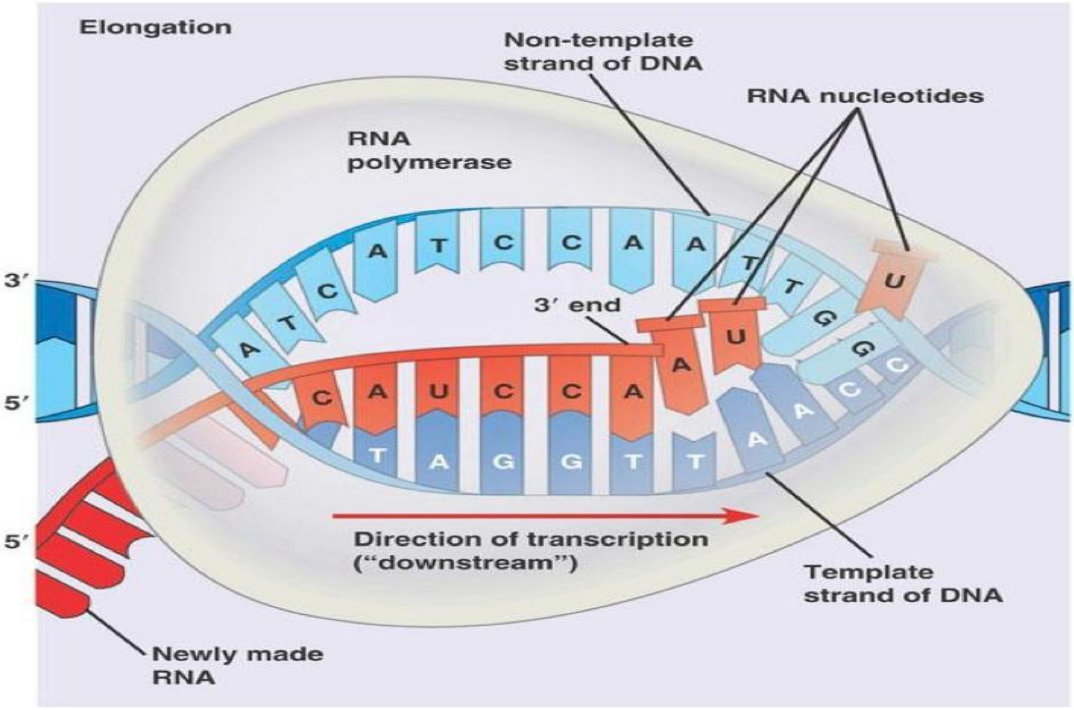




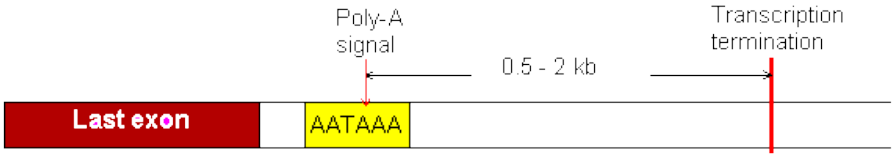


يستخدم شريط الدنا ذو الاتجاه'5→'3 لإنتاج شريط mRNA ذو الاتجاه '3→'5

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

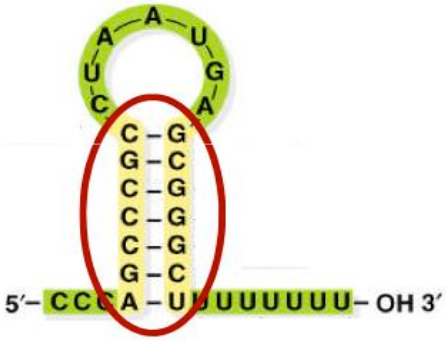


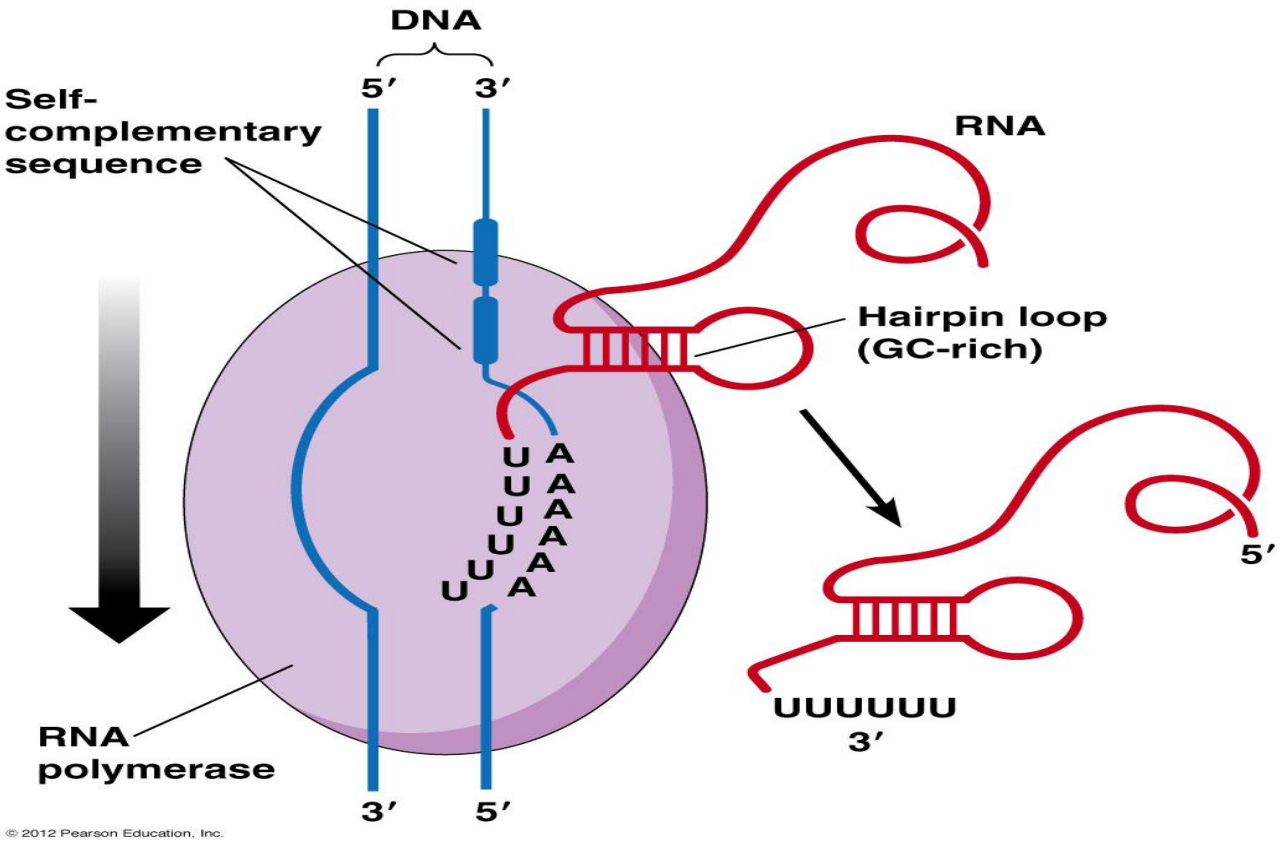
3- الإنهاء Termination : في حقيقية النواة يكون اما معتمد على بعض عوامل الانهاء التي تميز النهايه ذات المتعدد poly-A او غير معتمد ويتم بتكوين hairpin .



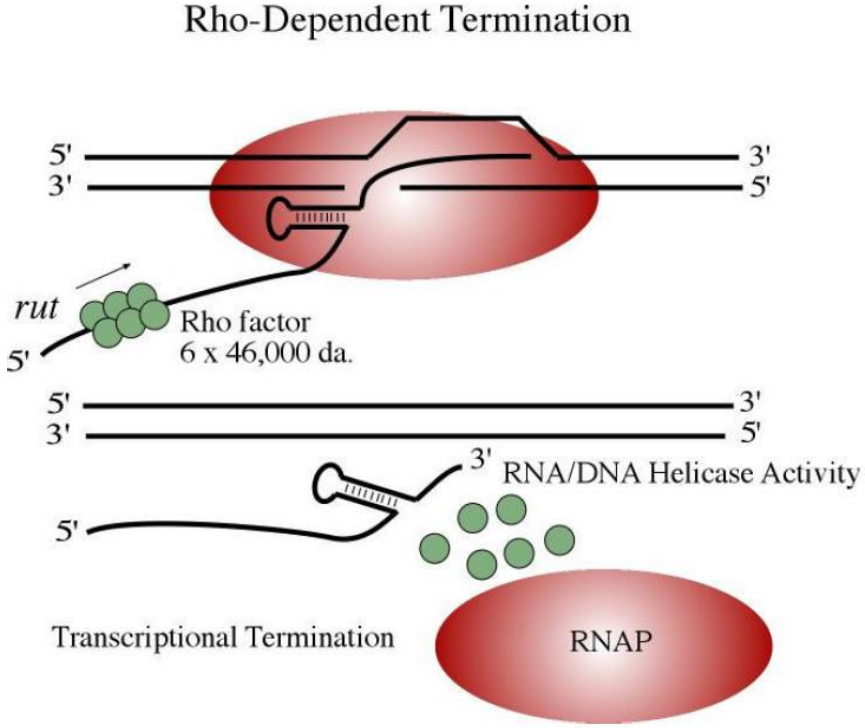
4- هنالك نوعين من عملية الانهاء في بدائية النواة وهي:

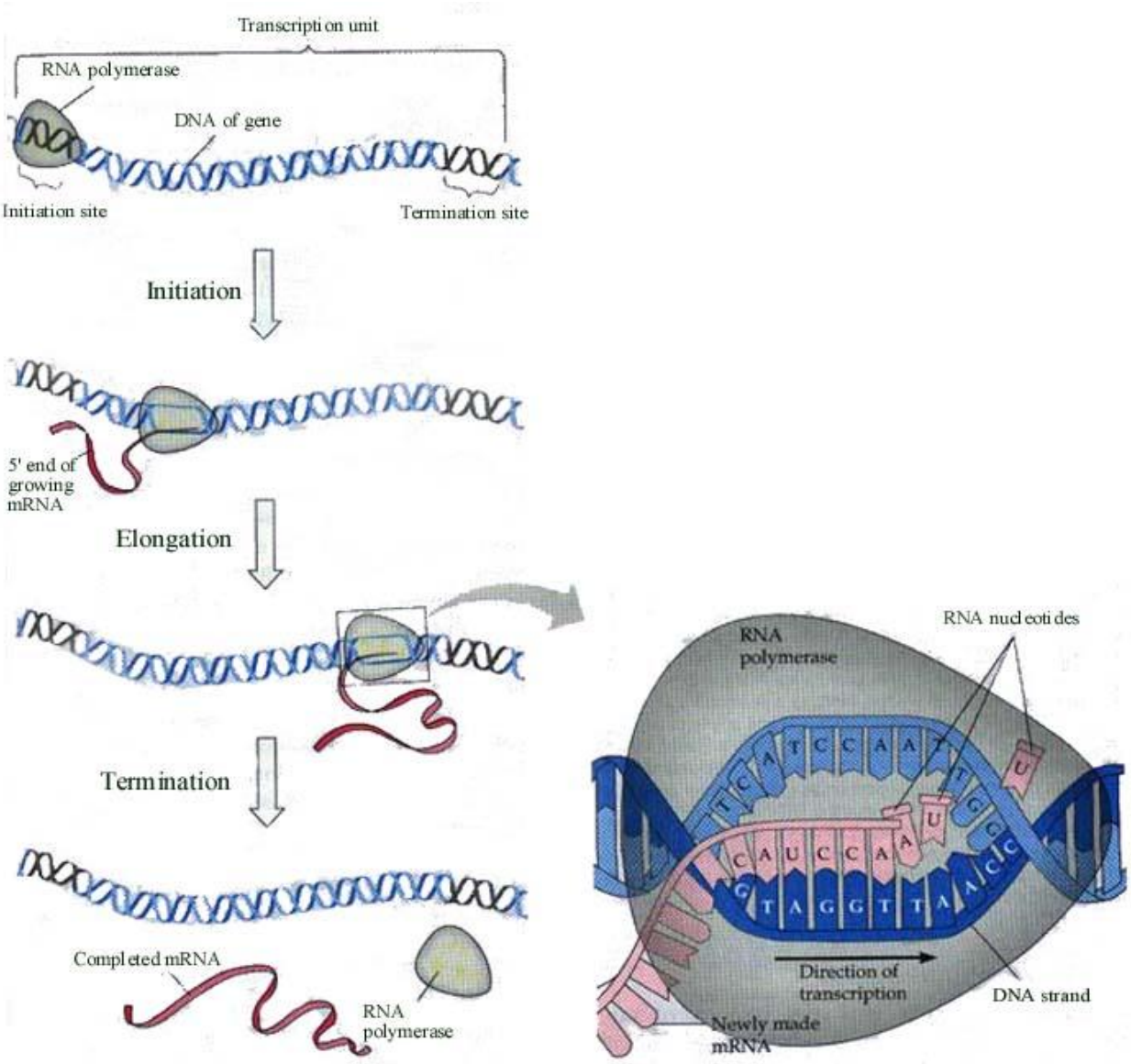
1-**Rho independent** : وتتم بتكوين G-C hairpin التي تعمل على انفصال شريط الرنا الجديد عن شريط الدنا القالب.





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





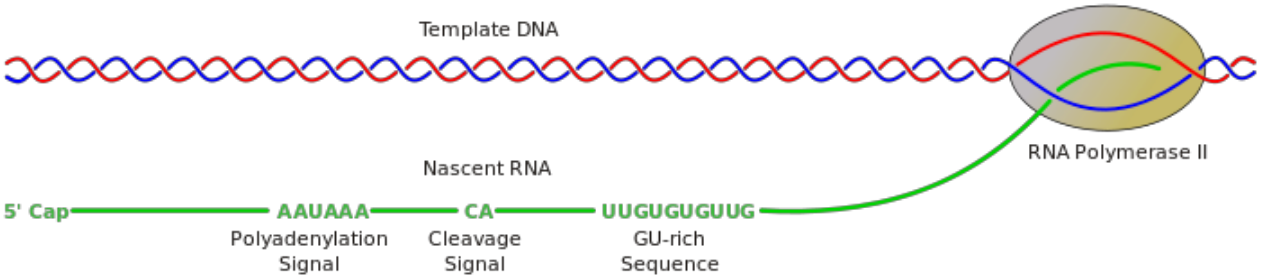
عمليات ما بعد الاستنساخ Post transcription processing :

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

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

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

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

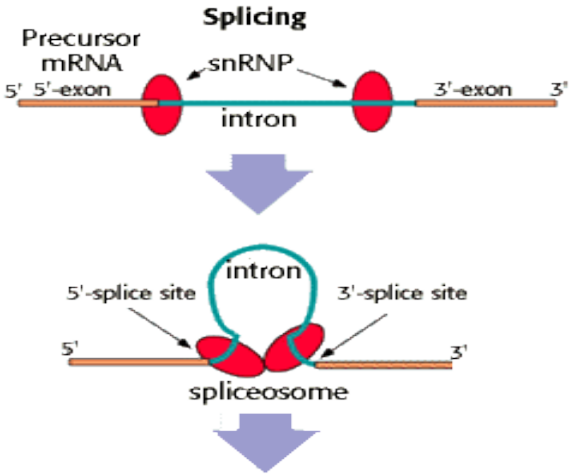


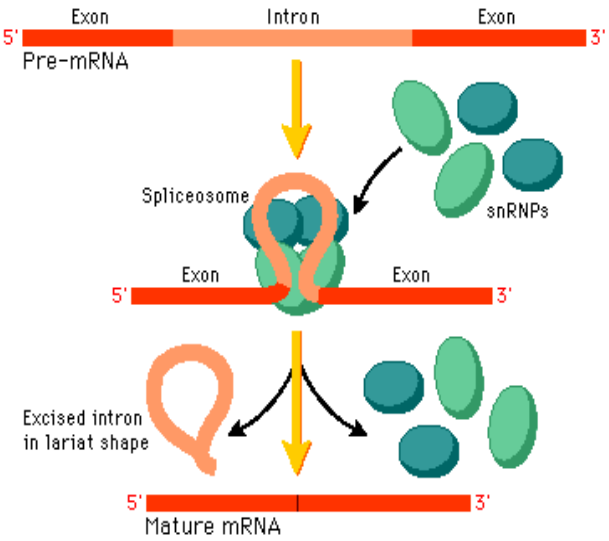
اما عملية الـ Splicing فتتضمن إزالة الانترونات introns و اعادة ربط الاكسونات Exons وتتم هذه العملية بواسطة مايسمى بـ Spliceosomes التي تتكون من بروتينات بالإضافة الى snRNA الذي يميز المنطقة التي يحدث عندها فصل الانترون.

يجدر الإشارة الى مايلي:

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

2- كل هذه العمليات تحدث في النواة.





Proteins and Peptides
البروتينات والببتيدات

البروتينات

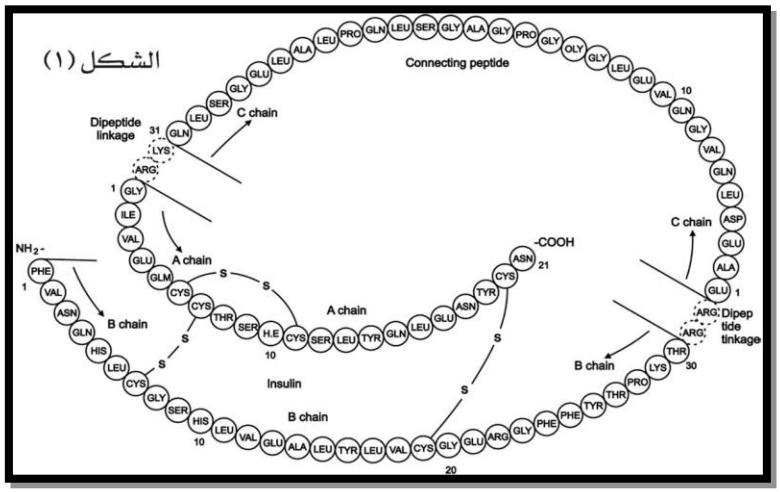
- عبارة عن مواد عضوية معقدة التركيب (بوليمرات Polymers)
- تتركب كيميائياً من الكربون(51٪)، أوكسجين (23٪)، نيتروجين (16٪) ،هيدروجين(7٪) ، كبريت ،(3٪) فسفور (1٪)
- تتشكل من وحدات من الأحماض الأمينية بتتابع معين.
- تحتوي على سلسلة ببتيدية واحدة والبعض على عدة سلاسل ببتيدية

تقسيم البروتينات

- تقسم البروتينات على أساس تكوين البروتين وذوبانيته إلى :

1- بروتينات بسيطة Simple Proteins

- وهي كل بروتين يعطي عند تميؤه(تحلله) أحماض أمينية فقط من خصائصها إنها تذوب في الماء
- أمثلة: البروتين الموجود في بياض البيض
- بروتين الالبيومين في الدم
- بروتين الكراتين الموجود في الشعر والأظافر
- الأنسولين وهو عبارة عن سلسلتين من الأحماض الأمينية تتألف السلسلة الأولى من 21 حامض أميني والأخرى من 30 حامض أميني ترتبط السلسلتين بروابط S-S وتسبب الالتواء.



2- البروتينات المقترنة Conjugated Proteins :

- وهى البروتينات التي تنتج عند تحللها أحماض أمينية و مكونات أخرى قد تكون عضوية أو غير عضوية

- **أمثلة :**

1- البروتينات النووية (nucleoprotein): وهى البروتينات المرتبطة بالأحماض النووية وموجودة في نواة الخلية والسيتوبلازم

2- البروتينات الفسفورية (phosphoprotein): وهى البروتينات المرتبطة بحمض الفسفوريك وتوجد في كازين اللبن

3- البروتينات الملونة Chromoprotein : وهى البروتينات المرتبطة بصبغات النبات مثل االبروتينات الكاروتينية والبروتينات الكلوروفيلية

4- بروتينات المتصلة Associated proteins بحلقة البورفورين في الدم .الهيموجلوبين

5- البروتينات الدهنية (Lipoprotein): وهى البروتينات المرتبطة بالأحماض الدهنية وتوجد فى الأغشية الحيوية

- 6-الكليكوبروتين Glycoprotein: بروتينات مرتبطة بالسكريات
-

3- بروتينات مشتقة Derived Proteins

هو كل بروتين ينتج من عمليات فصل الارتباط في البروتينات المقترنة أو التميؤ الجزئي للبروتينات البسيطة أو تغير الطبيعة الأساسية لأي بروتين في عملية الإفساد Denaturation حيث تخرج عن حالتها الطبيعية وتنتج بفعل إنزيمي أو كيميائي

تقسيم البروتينات حسب الصفات الطبيعية:

1- بروتينات ذات شكل كروي Globular Proteins

- تلتف السلسلة أو السلاسل الببتيدية لهذه البروتينات على بعضها بقوة لتكون جزيء ذو شكل كروي أو بيضاوي
- ولها أهمية وظيفية في نقل العناصر اللازمة لحياة الخلية مثل (الإنزيمات- الهيموكلوبين- الالبيومين في الدم)
- تذوب البروتينات الكروية بسهولة في الماء

2- بروتينات خيطية أوليفية FibrousProteins

- لها وظائف تركيبية مثل الكولاجين الموجود في الأنسجة الضامة
- الكيراتين الموجود في الشعر والريش والأظافر
- تعتبر البروتينات الليفية عديمة الذوبان في الماء

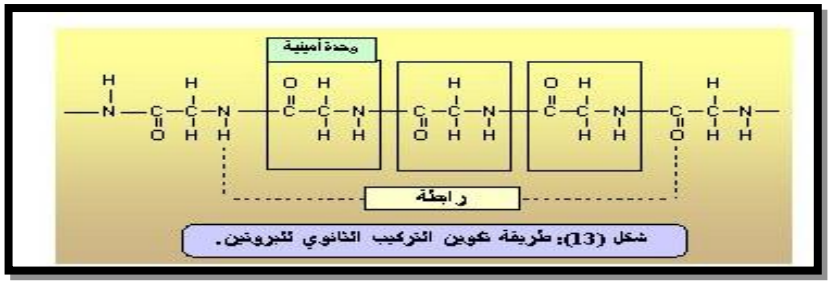
التركيب البنائي للبروتينات: ينقسم إلى أربعة أقسام

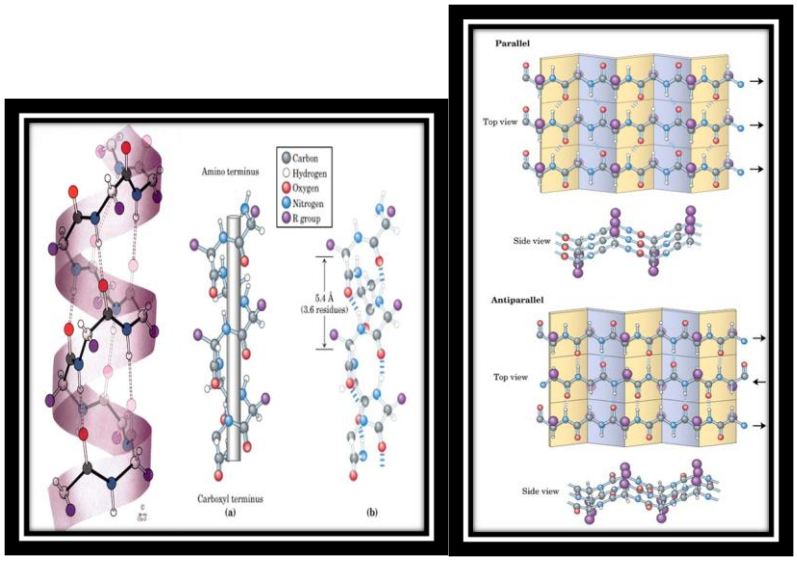
أولا: التركيب أو البناء الأولي primary structure

- هو عبارة عن بروتين تكون فيه الأحماض الأمينية مرتبطة مع بعضها البعض بواسطة روابط ببتيدية في ترتيب خطي
- لا توجد أي روابط أو قوى أخرى بين الأحماض الأمينية

ثانيا: التركيب أو البناء الثانوي Secondary structure

- تنتظم السلاسل الببتيدية فى شكل لولبى (Helical) أو في شكل صفائح مطوية Pleated (sheet) أو بشكل عشوائي (Random)
- ويساعد على تنظيم البروتينات بتلك الأشكال تكون روابط هيدروجينية بين ذرة الهيدروجين التابعة لمجموعة الأمين في أحد الأحماض الأمينية وذرة الأوكسجين التابعة لمجموعة الكربوكسيل التابعة لحامض أميني آخر (N-H ----- C=O) يبعد عن الأول بثلاث وحدات أمينية في السلسلة الببتيدية الواحدة أو تكون الرابطة الهيدروجينية بين سلسلتين ببتيدية تكرار الروابط الهيدروجينية بهذه الطريقة يعطى للجزيء شكلا حلزونيا.



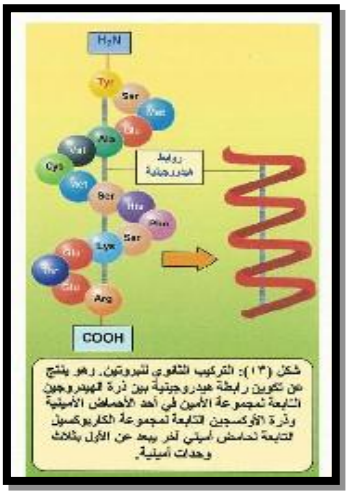


شكل الصفائح **شكل الحلزوني**

تلتف أجزاء السلسلة على هيئة لولب يميني كل دورة مؤلفة من 3,6 وحدة من الأحماض الأمينية وتبرز مجموعاتها الجانبية (R) حول محيط اللولب بعيدا عن المحور وفي هذا البناء الملتف تأخذ مجموعة N-Hو C=O اتجاهات محددة تتيح تكون رابطة هيدروجينية

يتخذ الشكل الحلزوني المظهر الليفي (Fiprous)مثل بروتين الكولاجين المكون للألياف البيضاء.

هذا النوع من البروتينات غير قابلة للذوبان في الماء مثل بروتينات الشعر والأظافر.

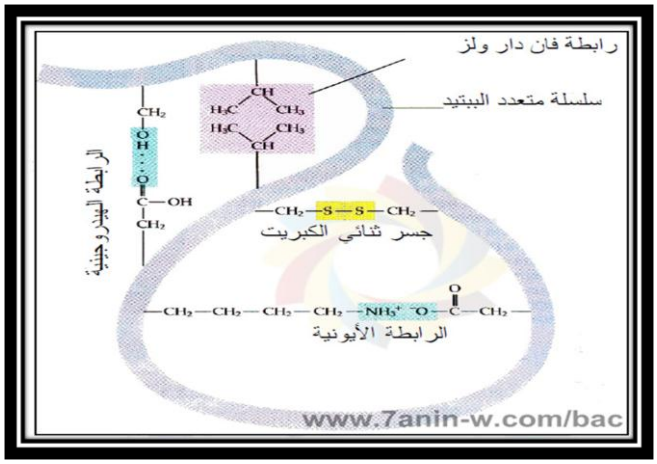


شكل (١٣): التركيب الثانوي للبروتين. وهو ينتج عن تكوين رابطة هيدروجينية بين ذرة الهيدروجين التابعة لمجموعة الأمين في أحد الأحماض الأمينية وذرة الأوكسجين التابعة لمجموعة الكاربوكسيل التابعة لحامض أميني آخر يبعد عن الأول بثلاث وحدات أمينية.

3-التركيب أو البناء الثالثي Tertiary structure

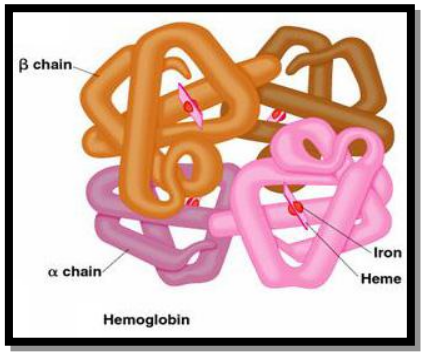
- تلتف السلاسل الببتيدية وتنطوي وتنثني حتى تصبح على شكل كروي مثل كرة صوف النسيج وذلك بفعل عدة عوامل وروابط:
- 1- الروابط الأيونية أو تكون الاملاح: بين مجموعة كربوكسيل حرة في أحد طرفي متعدد الببتيدات ومجموعة أمين حرة في
- الطرف الآخر المتعدد الببتيدات.
- 2- تكون رابطة ثنائي الكبريت(S-S):وهو ينشا من أكسدة وحدتين متقابلتين من الحامض الاميني السيستيين فيتكون ارتباط S-S
- 3- الفعل المتبادل بين المجموعات النافرة من الماء_حيث تتجمع قرب بعضها محاطة ببيئة مشابهه بطبيعتها فتدفن نفسها في طيات بالبروتين بعيدا عن الوسط المائي
- 4- الروابط الهيدروجينية: حيث تتكون بين المجموعات الجانبية للوحدات المشتركة في السلسلة بحيث تكون بارزة على السطح

شكل يوضح أنواع الروابط في البناء الثلاثي



4-التركيب أو البناء الرباعي Quaternary structure

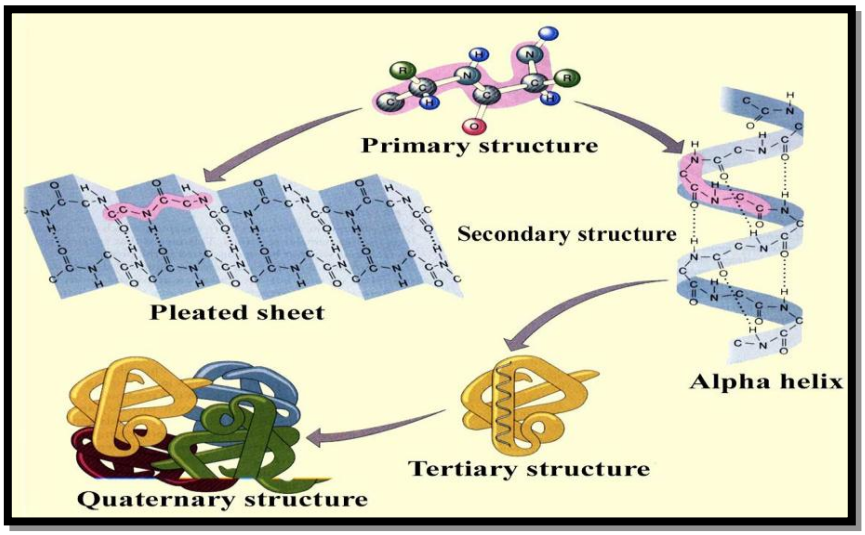
- هو ترابط مجموعات من الوحدات الثانوية للبروتين سواء كانت متشابهة أو غير متشابهة لتكون بوليمر صغير على هيئة حزمة
- وحيث أن معظم البروتينات في حالتها الطبيعية لا تكون منفردة بينما تكون في تجمع مع بروتين أو أكثر، ويتم الربط بالروابط الهيدروجينية والروابط الكارهة للماء
- مثل الهيموجلوبين فهو تجمع من أربع جزيئات من البروتين(كل جزيئين من نوع واحد) وجزيء من صنف أخر هو الهيم



- هرمون الأنسولين يتكون من سلسلتين مختلفتين من متعدد الببتيدات. يربطهما رابطتين من روابط ثنائي الكبريتيد.

- كل سلسلة تمر بالمستويات الثلاث الأولى في تركيبها وعندما تتحد يظهر التركيب الرباعي للبروتين. التركيب الرباعي يحدث نتيجة لروابط بين أكثر من سلسلة واحدة.
- ولهذه المستويات الأربعة من التراكيب دورا كبيرا فى تحديد الخواص التابعة للبروتين.
- اختلاف البروتينات في خواصها منشأه الاختلاف في هذه المستويات الأربع.

شكل يوضح التركيب البنائي للبروتينات



مسخ البروتين Denaturation

- تتوقف الوظيفة البيولوجية للبروتين على البناء الثلاثي بما فيه من انطواء وانثناء والتفاف، وهناك عوامل تمسخ هذا الترتيب ومنها:
- 1- التسخين والتعرض لدرجات حرارة عالية
- 2- إضافة حمض قوي أو قاعدة قوية (تغير$_{P}$H).
- 3- الضوء والأشعة فوق بنفسجية
- 4- أشعة X
- 5- تعرضه لتركيزات عالية من مركبات قطبية مثل اليوريا والكحول
- ويؤدي ذلك إلى إبطال الأفعال المتبادلة والارتباطات في السلسلة الببتيدية وتصبح سلاسل مفتوحة وأحيانا يكون الإفساد نهائي أي أن العملية غير عكسية حيث يفقد البروتين خواصه الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية ويضيع الشكل والتركيب الفراغي الخاص به.

أهم التغيرات التي تحدث للبروتين عند حدوث المسخ

1- نقص أو فقد الفاعلية البيولوجية الخاصة بالبروتين.
2- يغير شكل وحجم الجزيء.

3- تنقص فاعلية العديد من المجموعات الكيميائية الموجودة في الجزيء

The structures of biological polymers, both proteins and nucleic acids, are often divided into four levels of organization:

1. Primary structure is the order of the monomers; i.e., the sequence of the amino acids for a protein, or of the nucleotides in the case of DNA or RNA.

2. Secondary structure is the folding or coiling of the original polymer chains by means of hydrogen bonding. In the case of proteins, the hydrogen bonds are between the atoms of the polypeptide backbone.

3. Tertiary structure is the further folding that gives the final 3-D structure of a single polymer chain. In the case of proteins, this involves interactions between the R groups of the amino acids.

4. Quaternary structure is the assembly of several separate polymer chains

HYDROPHILIC AMINO ACIDS ARE :
ARGINEN , LYSINE , HISTIDINE , ASPARTIC ACID , GLUTAMIC ACID , ASPARAGINE , GLUTAMINE , SERINE , THERONINE , TYROSINE

HYDROPHOBIC AMINO ACIDS ARE :
ALANINE , ISOLUSINE , LEUSINE , VALINE , METHEONINE , SYSTIDINE , PHENYLALANINE , TRYPTOPHANE , PROLINE , GLYSINE

Hydrophilic Water-loving; readily dissolves in water .
hydrophobic Water-hating; repelled by water and dissolves in water only with great difficulty.

There are three types of Conjugated protein are :
Conjugated proteins are protein that are linked to molecules of other types .
for example : 1 – Nucleoproteins are complex of protein and nucleic acid .
2 – Lipoproteins are proteins with lipid attached .
3 – glycoprotein have carbohydrate components .

Proteins Serve Numerous Cellular Functions :

Proteins make up about 60% of the organic matter of living organisms . They are responsible for most of the metabolic reactions and many of the structural components of cells. Not surprisingly, there is colossal variety in the functional role of proteins. Nonetheless, proteins may be subdivided into several major categories:

1. Enzymes
2. Structural proteins
3. Binding proteins (transport, carrier, and storage proteins)
4. Mechanical proteins
5. Information processing proteins

Enzyme A protein that catalyzes a chemical reaction . **Structural protein** A protein that forms part of a cellular structure . **Binding protein** Protein whose role is to bind another molecule . **Mechanical protein** A Protein that uses chemical energy to perform physical work . **Carrier protein A** Protein that carries other molecules around the body or within the cell . **Transport protein** A Protein that transports another molecule across membranes or from one cell to another

التعبير الجيني في بدائية النواة

Gene Expression in Prokaryotes

الاختلاف في شكل الخلايا للكائن الواحد و التي تحتوي على نفس مجموعة الجينات وصورها المختلفة alleles أليلات يرجع إلى أن هذه الجينات تعبر عن نفسها في أوقات مختلفة ، بمعنى أن هناك تنظيم لعمل الجينات أما في حالة تشغيلها أو عدم تشغيلها في الخلايا المختلفة و في الأوقات المختلفة .

لذلك التعبير الجيني يتم تنظيمه أساساً على مستويات نسخ المادة الوراثية و بناء النسخة الجديدة من الـ mRNA و كذلك على مستويات الترجمة التي تتحكم في عملية الأيض metabolism للكائنات الحية .

ميكانيكية تنظيم الجينات في الكائنات البدائية النواة Prokaryotes قد درست بوضوح على العكس في الكائنات حقيقة النواة Eukaryotes .

من الأمثلة المهمة لتوضيح ميكانيكية تنظيم الجينات في الكائنات البدائية النواة هي الاستحثاث و التثبيط .

الاستحثاث و التثبيط في الكائنات البدائية النواة (البكتيريا)

Induction and Repression in Prokaryotes

.بعض النواتج الجينية تعتبر مكونات أساسية في الخلايا الحية مثل الإنزيمات التي تحفز عمليات الأيض و بعض البروتينات الريبوسومية ، هناك أنواع من البكتيريا (بكتيريا القولون) تستخدم الكربوهيدرات (مثل الكلوكوز – اللاكتوز – السكروز) كمصدر للطاقة .

عندما تنمو الخلايا في بيئة فيها سكر اللاكتوز كمصدر وحيد للكربون ينتج ثلاثة أنواع من الإنزيمات هي :

β - galactosidase (z)

β - galactoside permease (y)

β - galactoside transacetylase (a)

الإنزيم الأول : هو إنزيم يقسم اللاكتوز إلى كلوكوز و كالاكتوز .

الإنزيم الثاني : هو إنزيم يقوم بدفع وحدات الإنزيم الأول داخل الخلية .

الإنزيم الثالث : غير معروف له وظيفة محددة .

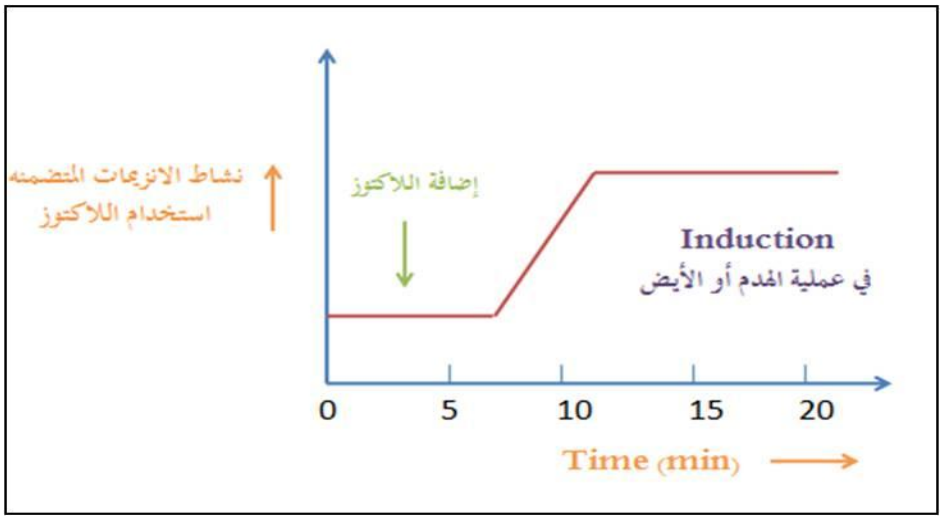
عندما تنمو البكتيريا في بيئة ليس فيها لاكتوز فإن أنتاج هذه الإنزيمات ليس له نفع .

Lactose $\xrightarrow{\beta\text{- galactosidase}}$ galactose + Glucose

وهذا يدل على أن عند نمو البكتيريا في بيئة فيها لاكتوز فإن هناك نظام جيني ينتج عنه الإنزيمات المطلوبة لهدم اللاكتوز أما في حالة عدم وجود اللاكتوز لا تنتج هذه الإنزيمات .

إن الجينات لها نظام on , off يتوقف على حاجة الخلية للمواد المستهلكة كمصدر للطاقة ، وجود اللاكتوز (أي مصدر كربوني) في بيئة نمو البكتيريا يسبب عنه ميكانيكية تنظيم جيني لإنتاج الإنزيمات اللازمة لهدم هذه المواد الكربوهيدراتية و تسمى هذه العملية بالاستحثاث Induction . و الجينات التي يتم تنظيم التعبير عنها تعرف بالجينات المستحثة Inducible genes و تسمى نواتج هذه الجينات بالإنزيمات المستحثة Inducible enzyme أما الكربوهيدرات (مواد الاستحثاث) تسمى Inducer .

يحدث الـ Induction في مرحلة النسخ حيث أن طريقة التنظيم بالاستحثاث تؤثر على معدل بناء الإنزيمات و ليس على نشاطها و تسمى هذه تنشيط الإنزيمات و الذي يعني ارتباط جزيئي صفر إلى أحد الأنزيمات يزيد من نشاطه و لكنه لا يؤثر على معدل إنشائه .

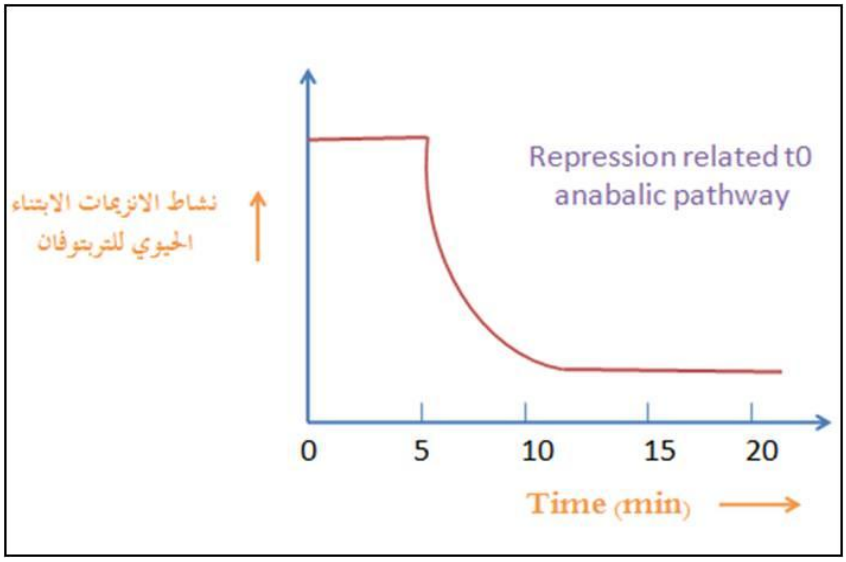


هناك نظام آخر يعبر به الجينات يعرف بالتثبيط Repression :

يوجد في بكتيريا القولون 5 جينات تشفر للإنزيمات التي تحتاجها لإنتاج التربتوفان Tryptophan (الحامض ألأميني) . لا بد أن يتم التعبير عن هذه الجينات الخمسة في خلايا بكتيريا نامية في بيئة خالية من التربتوفان و ذلك لكي تستطيع هذه الخلايا على توفير كميات مناسبة من هذا الحامض ألأميني لبناء البروتين ، وعندما تتواجد الخلايا في بيئة فيها تربتوفان فإن بناء الإنزيمات التي تدخل في الإبتناء الحيوي للتربتوفان يكون مضيفة للطاقة لأن هذه الخلايا تستطيع أن تأخذ التربتوفان من

البيئة و تسمى عملية إيقاف التعبير عن الجينات بعملية Repression و التي مرتبطة بعمليات البناء مثل بناء الحامض ألأميني Anabalic Pathway .

يحدث الكبت repression على مستوى النسخ حيث يؤدي الارتباط الذي يحدث بين الناتج النهائي بالأنزيم الأول في مسار الإبتناء الحيوي التي تثبط نشاط هذا الإنزيم .



ما لفرق بين Induction ، Repression ؟

	في الاستحثاث (مرتبط بعملية الهدم)	في الكبت (مرتبط بعملية البناء)
	يوضح عملية أنشاء الإنزيمات اللازمة لهدم اللاكتوز	يوضح عملية أنشاء الأنزيمات لبناء التربتوفان
في غياب اللاكتوز	تبني الخلايا الحية كمية ضئيلة من الإنزيمات المستهلكة للاكتوز	_____
في وجود اللاكتوز	يبدأ أنشاء الأنزيمات اللازمة لهدم اللاكتوز بمعنى أن الجينات Turned on	_____
في غياب التربتوفان	_____	تبني الخلايا الإنزيمات اللازمة لابتناء التربتوفان
في وجود التربتوفان	_____	تثبيط بناء الإنزيمات اللازمة لابتناء التربتوفان بمعنى أن الجينات Turned off

نموذج الأوبرون The Operon Model (Lac Operon) :

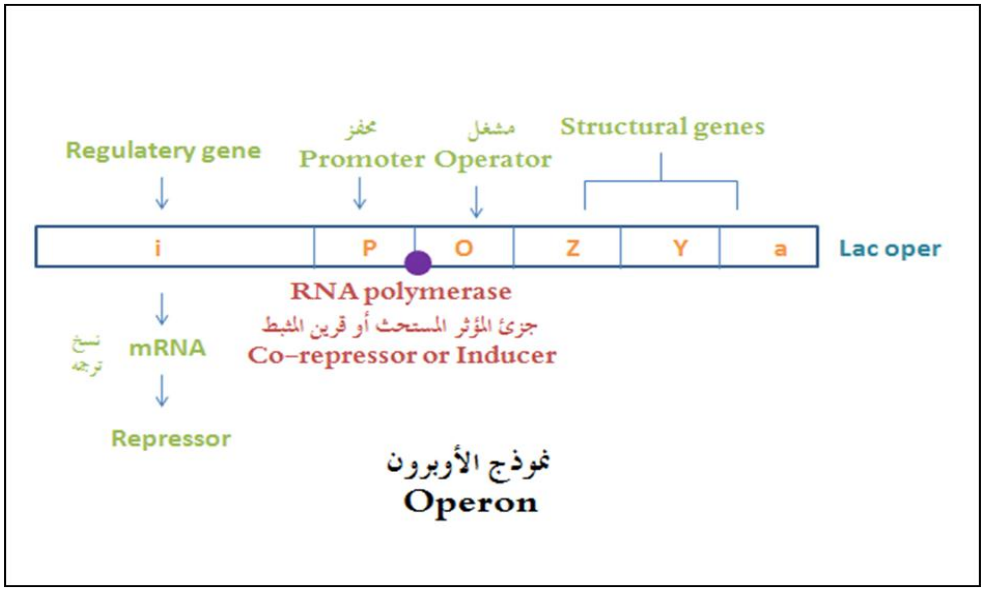
وصفت ميكانيكية الاستحثاث و التثبيط بعمل نموذج يعرف بالـ Operon الذي صمم على يد Jacab and Monod عام 1961 ، هذا النموذج يوضح تنظيم عمل الجينات التي تشفر للإنزيمات التي تحتاجها البكتيريا لتكسير اللاكتوز .

النموذج افترض الآتي :

نسخ جين واحد أو مجموعة مثلاً صفة من الجينات التركيبية (جينات تشفر لسلاسل عديد الببتيد) تحدث له تنظيم لعاملين أساسين هما :

1- الجين المنظم وهو يشفر تحت ظروف معينة لبروتين يسمى repressor .
2- المشغل (o) وهو يرتبط مع ناتج الجين المنظم (repressor) أو التتابع المشغل وهو تبع التتابع المشغل ملاصقاً للجينات التركيبية التي يشترك في تنظيم تعبيرها .

عندما يكون repressor مرتبطاً مع التتابع المشغل (o) فإن نسخ الجينات التركيبية لا يمكن أن يحدث و ذلك بسبب عدم ارتباط RNA poly مع المحفز (P) ، موقع ارتباط RNA poly الموجود ملاصق لـ (o) و أحياناً متداخل معه و تعرف هذه المجموعة بالأوبرون .



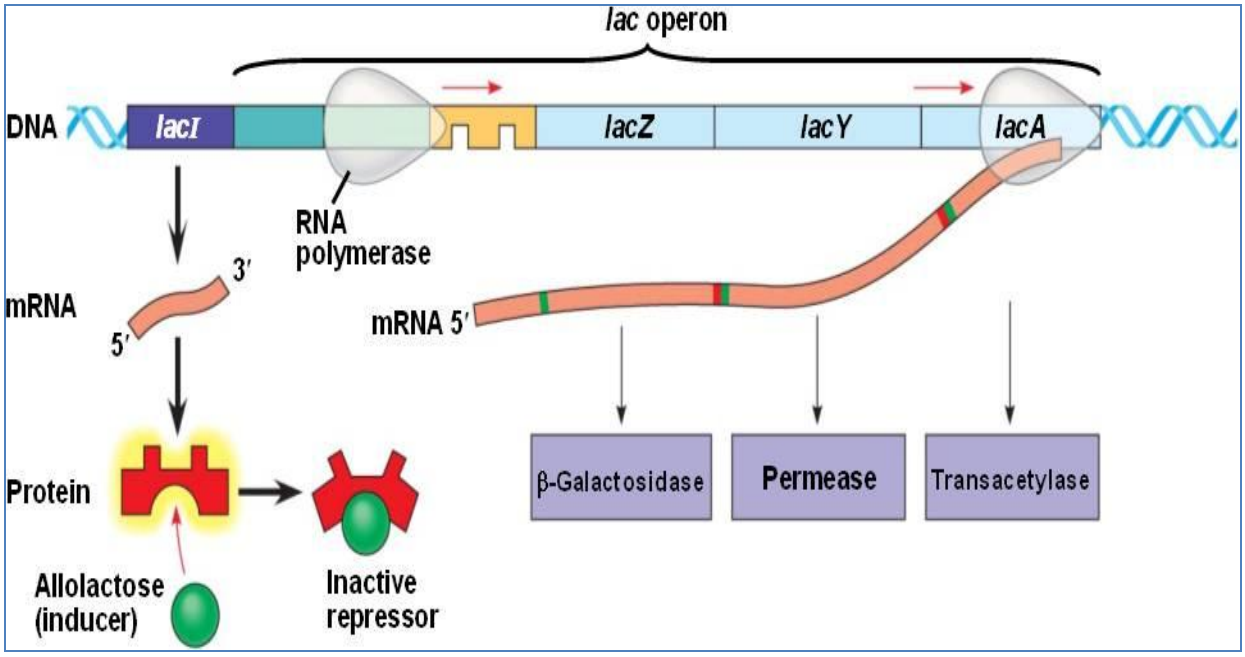
تعريف Operon :

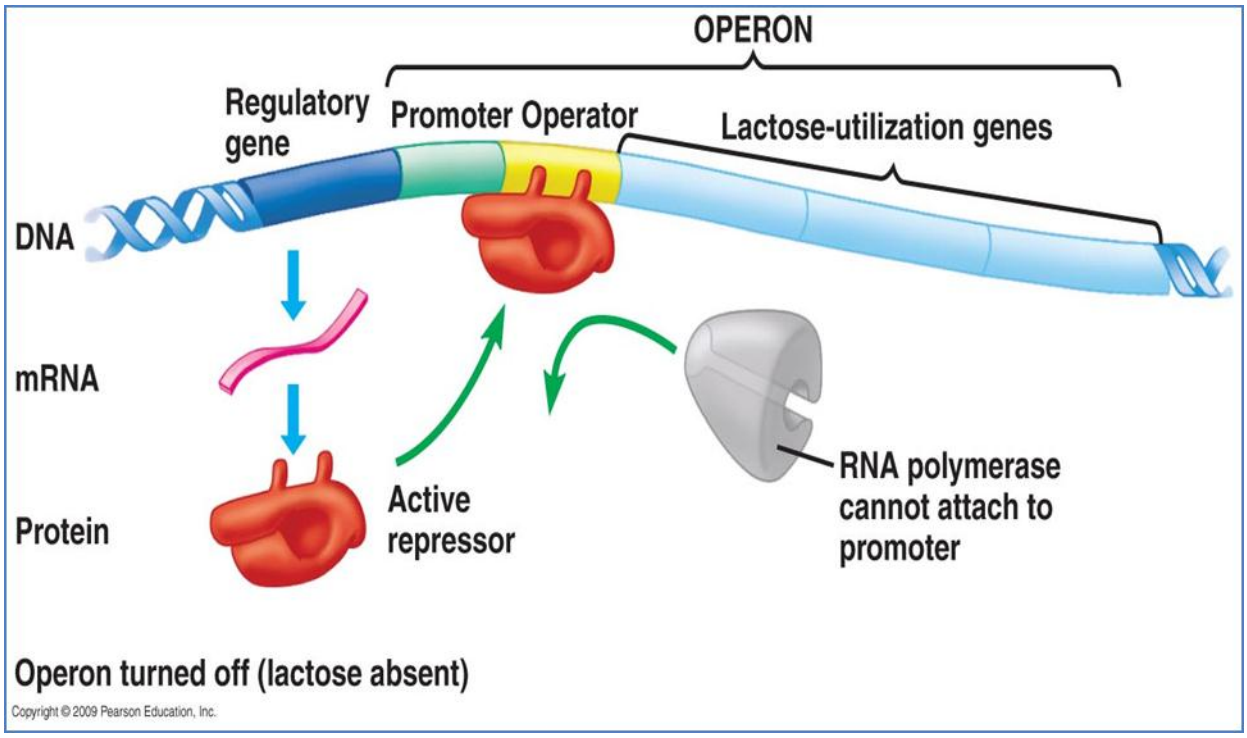
وحدة جينية لتشغيل الجينات اللازم لتكسير اللاكتوز

العناصر الرئيسية للأوبرون :

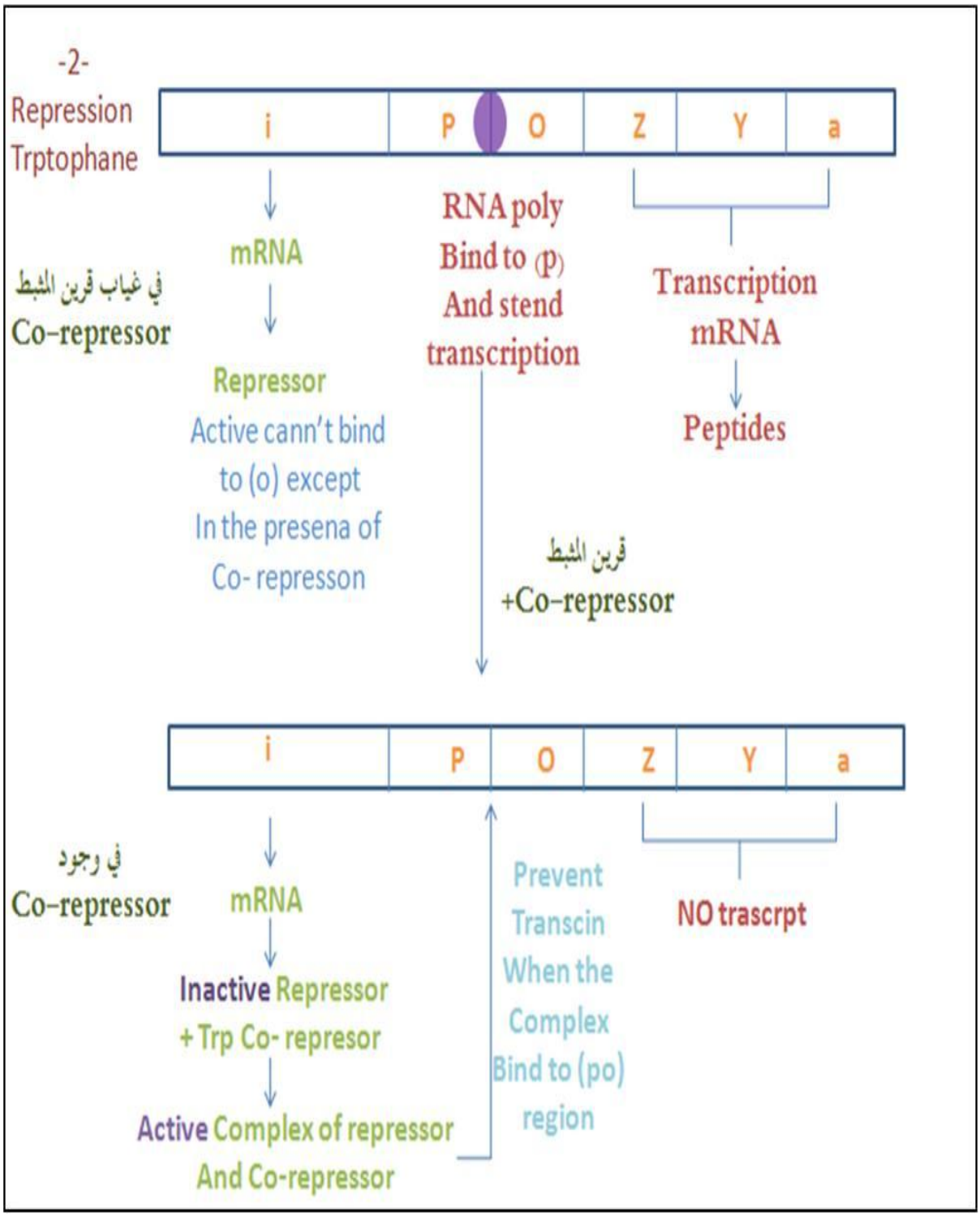
1- جينات تركيبية Structural genes .
2- المشغل Operator (وهو .Operator seq) (هو الموقع الذي يتحد فيه الـ repressor ناتج الجين المنظم)
3- المحفز Promoter (موقع ارتباط RNA polymerase) ويوجد ملاصقاً للـ operator أو متداخلاً معه .
4- الجين المنظم المستقل Regulator gene (i) : يقوم بالتحكم في أنتاج البروتين المثبط الذي ينتج عن تفاعله مع (o) إحداث تثبيط تناسق و منتظم لجميع الجينات التركيبية معاً و في نفس الوقت بمعنى أن يحدث توقف كمي في تعبير الجينات التركيبية .
5- Inducer المستحث وهو يسبب إعادة تنشيط أو إيقاف لتثبيط لجميع الجينات التركيبية معاً و في نفس الوقت و قد يسبب ذلك وجود طفرة تأسيسة (o^c) Constitutive .
6- يبدأ النسخ عند (p) حيث يرتبط RNA p,1 لهذه المنطقة لبدء النسخ .
7- يتم نسخ الأوبرون لوحدة نسخية كبيرة مكونه من جزئ RNA متعدد السستيرونات Polycistranic mRNA بحيث يشتمل على جميع مناطق الجينات التركيبية .
معاً بدلاً من أن يتم النسخ على مستوى كل جين تركيبي على حده إلا أنه عند الترجمة تتم ترجمة كل جين تركيبي مستقلاً إلى بروتين محدد .

الأوبرون : هو وحدة نسخ وراثية ذات تعبير متناسق وهي مجموعة من الجينات توجد في عدد كبير من البكتيريا وهي تشفر لعدد من البروتينات النوعية التي ترتبط ببعضها لعلاقات وطبقة محددة و يمكن أن يتحكم في تعبيرها مشغل واحد (o) و تكون هذه المجموعة من الجينات مرتبطة بشدة على الكرموسوم البكتيري .





Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.



يتوقف ارتباط repressor مع (o) و إيقاف النسخ للجينات التركيبية على وجود أما Inducer أو co-repressor (جزيئات مؤثرة) في البيئة مثل (lactose a. a)

الفرق بين Induction و repression هو قابلية الـ repressor سواء وحده أو اتحاده مع co- repreesor أو Indu بالارتباط مع (o).

1- في حالة Induction

- When repressor free – it will bind to (o) , So No transcription .
- When repress + Inducer . This complex will be inactive , so cannot bind to (o) , so will be transcript.

2- في حالة Repression

- Repress free – it can't bind to (o) , so will be transcription .
- Repressor + co-repressor (Trp.) will for on an active complex and will bind to (o) and prevent transcription.

Thus..

- when the product regulate gene (repressor) is prevent transcript this control called .

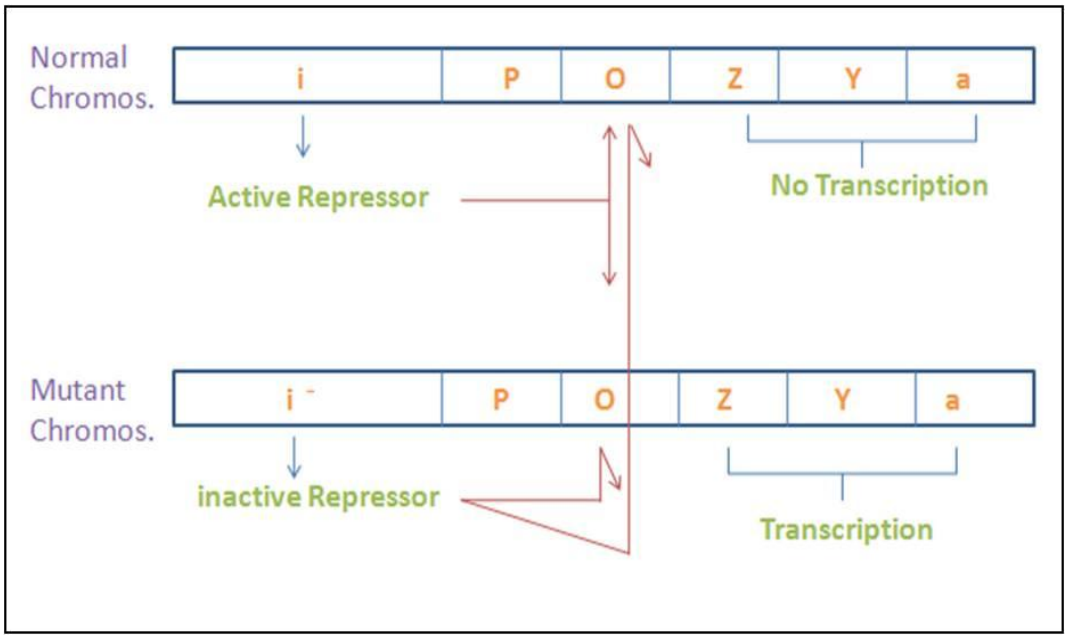
سالب التعبير الجيني -via control of gene expression .

- When the repressor allow the transcript . this called

موجبة التعبير الجيني + via control of gene expression.

Prove the gene control in lac operon by using mutation :

1- Mutation in regulatory gene (i) :
    - The mutation in i^- gene caused by deletion of one or two base .
    - The mutation cause an inactive repressor .



1- In 2n cell (with i^+ / i^-)

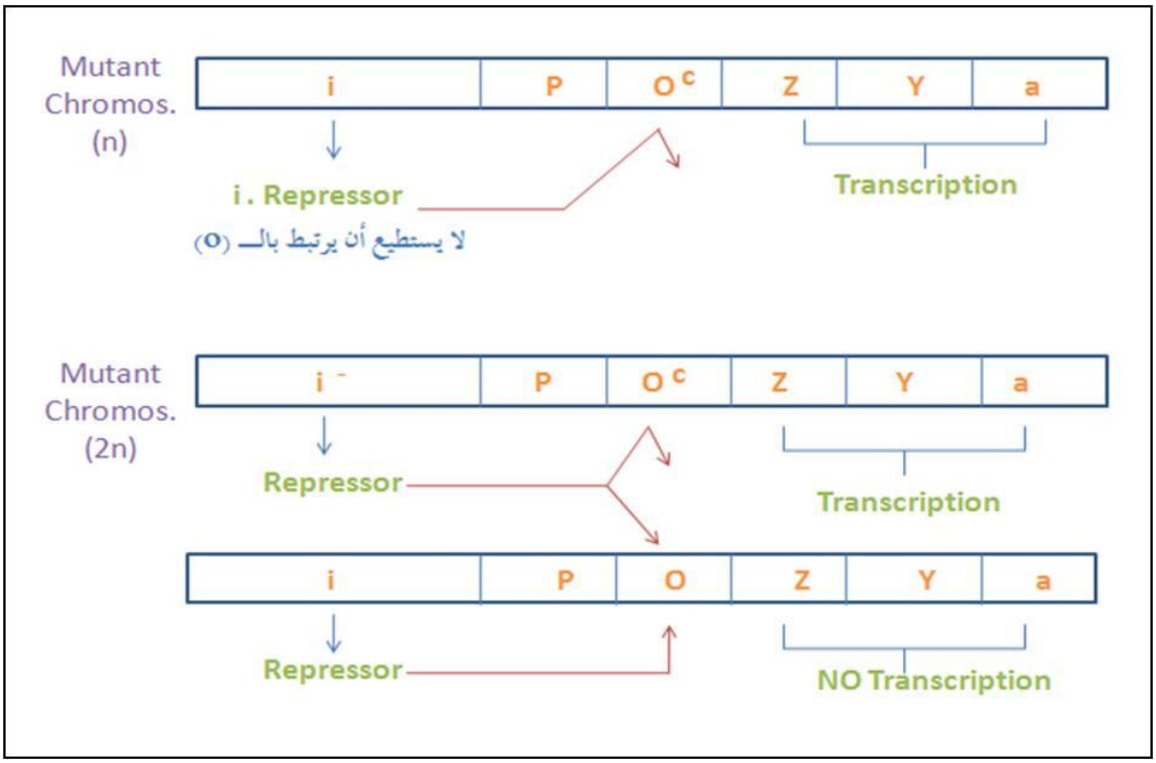
وجود active repress يكون سائد على inactive repressor و بذلك لا تتكون أي كمية من الإنزيمات في غياب lacto أو Inducer حيث أن وجود نسخة واحدة من active repress. يؤدي إلى أنتاج كمية كافية من repress للقيام بتنشيط (o) في الكروموسوم .

2- Mutation in (o) gene :

الطفرة في الجين (o) تفقد القدرة على التحكم في أنتاج الأنزيم الذي يستمر أنتاجه بصرف النظر عن وجود المستحث Inducer من عدمه ، سميت هذه الطفرات التأسيسية (o^c) tants operator-constitutive mutation .

وقد وجد أنها قد فقدت القدرة على الارتباط بالبروتين المثبط (repressor) بحيث لا يمكن وقف عملية النسخ في الوقت المناسب ، و يقارن ذلك في خلايا أحادية الكروموسوم n و ثنائية الكروموسوم 2n (o/o^c) في حالة الخلايا n : الطفرة التأسيسية o^c فعالة بحيث أنها منعت ارتباط الـ repressor بالـ (o) مما أدى إلى استمرار أنتاج الإنزيمات في غياب المستحث (inducer) (اللاكتوز)

في حالة الخلايا 2n : الطفرة التأسيسية (o/o^c) فقد وجد أن (المماثل للجين) الليل o^c كان سائد على o و جعلت الخلية الثنائية أن يستمر في أنتاج الإنزيمات الثلاثة للأوبرون بالرغم من غياب المستحث inducer .



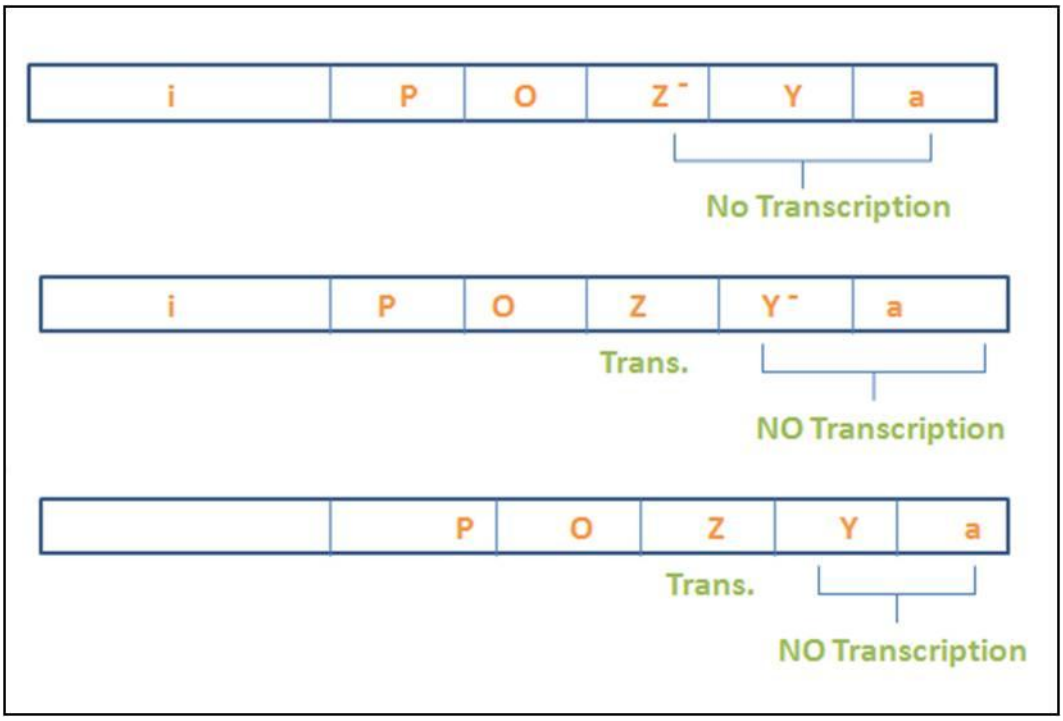
3- Mutation in Structure genes :

الطفرة في z : β - galactosides تسبب وقف أنتاج تعبير الجينان الآخران وهما Transacetylase a , permeas y

أما الطفرة في y : فإن التأثير المانع سيشمل الجين a في الخريطة الكروموسومية و لم تؤثر على الجين z فيستمر في أنتاج أنزيم β - galactosidase في نفس الوقت الذي يتوقف فيه أنتاج tranacelylase , permease .

أما الطفرة a تأثيرها على تعبير هذا الجين ، و الجين x فلا ينتج انزيم Transacelyase و يستمر الجين الآخر z في أنتاج الإنزيمات الخاصة به .

يطلق على هذا النوع من الطفرات باسم الطفرات القطبية Polar mutant حيث أنها ذات اتجاه محدود التأثير و يعتقد أنه كلما اقتربت الطفرة القطبية من (o) كلما زاد التأثير القطبي لهذه الطفرة بحيث يقل أو ينعدم أنتاج الجينات التالية مباشرة بها ، في حين يقل التأثير كلما كان موقع الطفرة القطبية بعيداً عن (o) و قد تم تفسير ذلك على أساس أن الجينات الثلاثة يتم نسخها في صورة جزئ واحد كبير من mRNA متعدد السيسترونات Polycistronic في الاتجاه القطبي 3´ ⟵ 5´



ميكانيكية تنظيم الجينات تتمثل في مجموعتين :

1- ميكانيكية فتح وغلق التعبير الجيني كاستجابة للظروف البيئية (مثل القيام بالعمليات الأيضية) .

2- ميكانيكية التعبير المتتالي لمجموعة الجينات مثل :

أ/ الإصابة بالفيروس الذي يتسبب في بداية التعبير عن الجينات مرة أخرى .

ب/ الهرمونات تؤثر على التعبير المتتابع لمجموعة الجينات .

ج/ دور الإصابة المنظمة في تمايز الخلايا .

التعبير الجيني في حقيقية النواة Gene expression in Eukaryotes

تكون عملية تنظيم التعبير الجيني في حقيقية النواة أكثر تعقيدا مما عليه في بدائية النواة وتشمل

1- تنظيم عملية بدأ الاستنساخ
2- المعالجة الاختيارية أو البديلة
3- تنظيم عملية بدأ الترجمة

1- تنظيم عملية بدأ الاستنساخ Regulation of the initiation of transcription

في حقيقية النواة هنالك عوامل استنساخ (transcription factors) تساهم في تكوين معقد البدء من خلال ارتباطها بالمثير والذي يسمح بارتباط أنزيم بلمرة الرنا RNA polymerase II، ولكن هناك عوامل استنساخ متخصصة (Specific transcription factors) لها ألقدره على الارتباط بتسلسلات منظمه على شريط الدنا تدعى Enhancer أو Silencer والتي تعمل على تحوير في تكوين معقد البدء وهكذا تنظم معدل الاستنساخ.

أ-عوامل الاستنساخ (Transcription factors)

وهي بروتينات ترتبط بتسلسلات منظمه على شريط الدنا (regulatory sequence)، بالاضافه إلى إمكانية ارتباطها بأنزيم بلمرة الرنا وبعوامل استنساخ أخرى . تملك على الأقل حقلين للارتباط binding domains احدهما يدعى "حقل الارتباط بالدنا DNA –binding domain" والأخر يدعى "حقل التنشيط Activator domain"

ب-تسلسلات Enhancer and Silencer

وهي تسلسلات معينه من القواعد النتروجينيه على شريط الدنا ترتبط بها عوامل الاستنساخ الخاصة والتي من خلالها يتم تنظيم عملية الاستنساخ . Enhancer تعمل على زيادة معدل الاستنساخ ويكون أما في أعلى 5\ آو أسفل 3\ المثير . أما تسلسل Silencer يعمل على تثبيط الاستنساخ

2- المعالجة الاختيارية لشريط mRNA

أن نسخة الرنا الرسولي الأولي primary mRNA في حقيقية النواة يعاني عدد من التحويرات لغرض تكوين شريط رنا رسولي ناضج . احد هذه التحويرات وجود القبعة cap على النهاية 5\ وكذلك وجود تسلسل AAUAAA كمؤشر على عملية الحذف الحاصلة على النهاية 3\ وإضافة القاعدة النتروجينيه الأدنين لتكوين poly adenosine tail.

أن المعالجة المتغيرة لتلك المؤشرات في تكوين أشرطة mRNA ناضجة يسمح بتكوين أشرطة mRNA مختلفة من نفس ألجين المنسوخ ومن ثم ترجمة تلك النسخ إلى بروتينات مختلفة ، مثال على ذلك الخلايا البينية stromal cell الواقعة بين جريبات الغدة الدرقية تحتوي على رنا رسولي يحمل معلومات وراثية تشفر لهرمون ال calcitonin المنظم لتركيز الكالسيوم في الدم وأيضا يحمل معلومات وراثية مشفره لل CGRP بروتين ينظم تكوين المستقبلات الحسيه . في الخلايا البينية تزال المعلومات الوراثية المشفرة لتلك المستقبلات وترجمته إلى هرمون الكالستونين ، في حين في الخلايا العصبية يتم إزالة المعلومات الوراثية المشفرة لهرمون الكالسيتونين وترجمته إلى CGRP

3- تنظيم عملية بدأ الترجمة Regulation of the initiation of translation

إلية ترجمة المعلومات الوراثية إلى بروتين تنظم من خلال السيطرة على عملية بدء الترجمة والمسؤول عنها بروتينات منظمه لها ألقدره على الارتباط بتسلسلات معينه على شريط mRNA مثال على ذلك بروتين يدعى IR- binding protein التي ترتبط بتسلسلات IR (5\) الموجودة على Ferretin mRNA وتمنع من تكوين بروتين ferretin ، أما في حالة ارتفاع تركيز الحديد يرتبط الحديد مع IR- binding protein ويغير من هيئته ويصبح غير قادر على الارتباط بتسلسل IR وبذلك يتم ترجمة الرنا الرسولي إلى بروتين Ferretin.

ويحدث التنظيم أيضا من خلال السيطرة على ثبوتية شريط mRNA وعدم تحلله مما يؤدي إلى زيادة معدل تصنيع البروتين ، فهناك تسلسلات موجودة بالقرب من النهاية 3\ تقلل من ثبوتيته ، وبالمقابل توجد بروتينات تعمل ضد تلك التسلسلات وبالتالي يزداد معدل صنع البروتين

Gene expression, to yield a functional protein, may be regulated at a number of different stages :

1 - *Transcription of the gene* to give the primary transcript

2 - *Processing of the primary transcript* to give mRNA

3 - *Stability of mRNA* to degradation

4 - *Translation of mRNA* to give polypeptide chains

5 - *Processing and assembly of polypeptide chains* and any necessary cofactors to give a functional protein

6 - *Control of activity* of an enzyme or other protein

7 - *Degradation of protein*

Transcription involves the following steps: access of transcription apparatus to DNA, recognition of promoter sequences, initiation of RNA synthesis, elongation of RNA and termination.

Positive and Negative regulation of gene expression :

In **positive regulation**, a gene is incapable of expression unless it receives a positive signal of some sort . In **negative regulation**, a gene is inherently active but is prevented from expressing itself unless certain inhibitory factors are removed. Some genes are regulated positively, others negatively, and still others by multiple regulators, including both types.

Regulation at the Level of Transcription Involves Several Steps :

1 - ***Access to coding DNA***: Coding DNA may be inaccessible under some circumstances. This is especially true of eukaryotes (see next chapter) where DNA is often condensed into **heterochromatin** while not being transcribed. In prokaryotes, access is a relatively minor issue.

2 - ***Recognition***: Obviously many regulatory proteins recognize binding sites on the DNA. Here we are referring to the recognition of the promoter by RNA polymerase itself. In eukaryotes, there are three different RNA polymerases that recognize and transcribe different categories of genes. In bacteria, there is a single RNA polymerase, but there are multiple different sigma factors.

3 - ***Initiation***: Even if recognition is successful, RNA polymerase may be unable to initiate RNA synthesis. In some cases, activator proteins that bind upstream of RNA polymerase may be needed. In other cases, a repressor that blocks movement of RNA polymerase prevents transcription.

4 - ***Elongation***: Once transcription has been initiated, it usually continues without interruption. Regulatory effects at the stage of elongation are uncommon. They may be subdivided into *slowing down of the elongation rate* and *premature termination*.

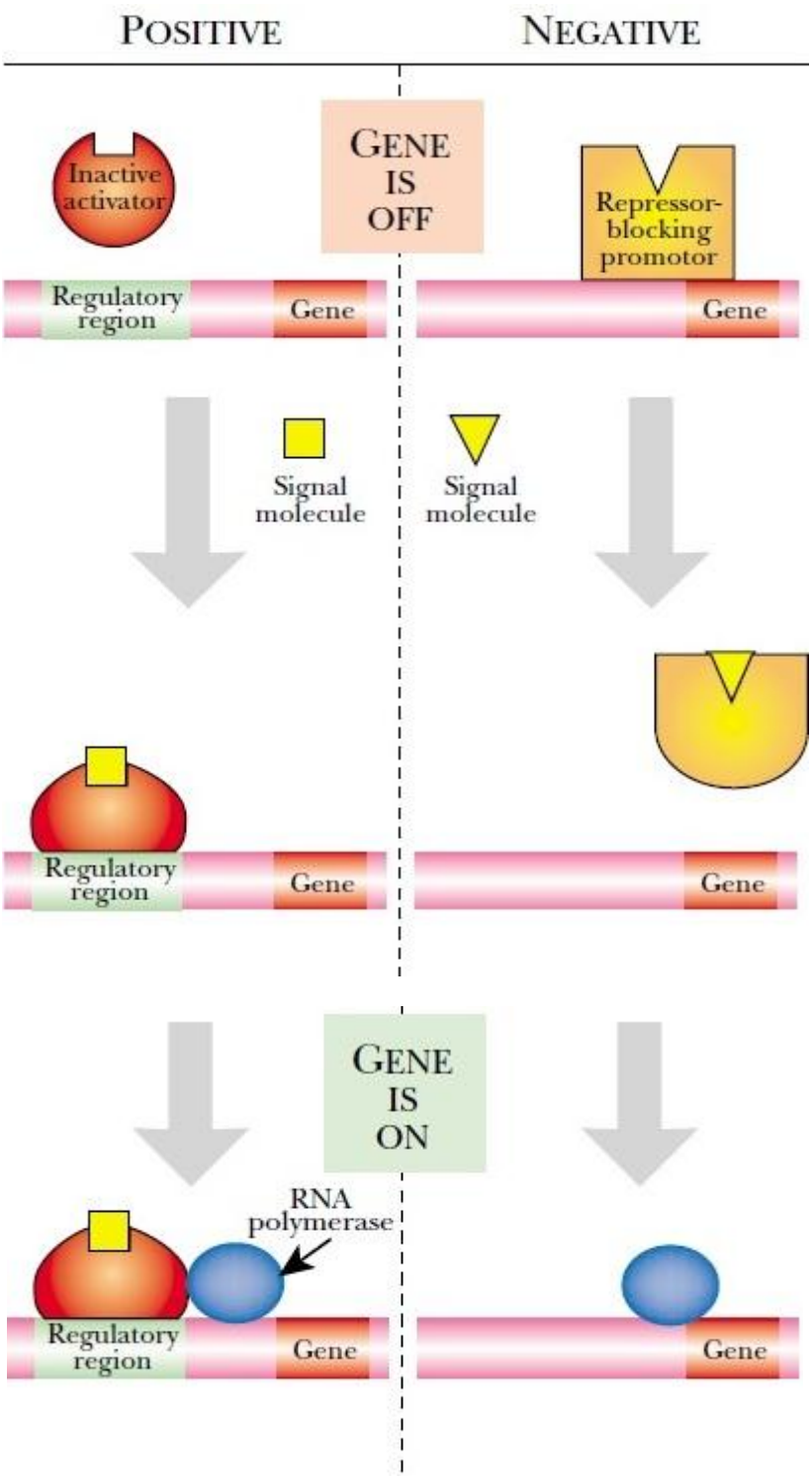
5 - ***Termination***: Normally, RNA polymerase stops at terminator sites. However, in a few rare cases, termination may be over-ridden by **anti-terminator proteins**. This allows for the expression of those genes downstream of the terminator and their regulation.

Activators and Repressors Participate in Positive and Negative Regulation :

Some promoters, both in lower and higher organisms function poorly or not at all in the absence of extra proteins known as gene activator proteins, or transcription factors. In addition, there is a class of gene regulator proteins known as *repressors* that act to turn genes off .

In **positive control**, an activator is required to turn a gene on, in response to a signal of some kind. In **negative control**, a gene is switched off by a repressor and is only expressed in the presence of a signal that removes the repressor from the gene. Positive and negative control may be exerted at the level of transcription or at later stages in gene expression. Furthermore, although most activators and repressors are proteins, cases are known in which regulation is due to regulatory RNA or even small molecules.

In both positive and negative control, a small **signal molecule**, the **inducer**, typically binds to the regulatory protein and induces gene expression. In the standard model of positive regulation, an inactive activator protein binds the signal molecule and is converted to its DNA-binding form, which then turns on the gene Similarly, in typical negative regulation, the DNA-binding form of a repressor protein is converted to its inactive form by binding the signal molecule.


POSITIVE
NEGATIVE
GENE IS OFF
Inactive activator
Repressor-blocking promotor
Regulatory region
Gene
Gene
Signal molecule
Signal molecule
Regulatory region
Gene
Gene
GENE IS ON
RNA polymerase
Regulatory region
Gene
Gene

Specific Transcription Factors Regulate Protein Encoding Genes

Typical specific transcription factors share four general properties:
1 - They respond to a stimulus which signals that one or more genes should be turned on.
2 - Unlike most proteins, transcription factors are capable of entering the nucleus where the genes reside.
3 - They recognize and bind to a specific sequence on the DNA.
4 - They also make contact with the transcription apparatus, either directly or indirectly.

NOTES :
1 - Heterochromatin A highly condensed form of chromatin that cannot be transcribed because it cannot be accessed by RNA polymerase **.**

2 - Negative regulation Control by a repressor that prevents expression of a gene unless it is somehow removed **.**

3 - Positive regulation Control by an activator that promotes gene expression when it binds **.**

4 - Anti-terminator protein Protein that allows transcription to continue through a transcription terminator **.**

5 - Inducer A signal molecule that turns on a gene by binding to a regulatory protein **.**

6 - Signal molecule A small molecule that triggers a regulatory response by binding to a regulatory protein .

7 - Specific regulation Regulation that applies to a single gene or operon or to a very small number of related genes **.**

8 - Operator The site on DNA where a repressor binds **.**

9 - Mediator A protein complex that transmits the signal from transcription factors to the RNA polymerase in eukaryotic cells.

10 - **Insulator** A DNA sequence that shields promoters from the action of enhancers and also prevents the spread of heterochromatin .

11 – **Insulator Binding Protein (IBP)** Protein that binds to insulator sequence and is necessary for the insulator to function .

12 - **Matrix Attachment Region (MAR)** Site on eukaryotic DNA that binds to proteins of the nuclear matrix or of the chromosomal scaffold—same as SAR sites .

13 - **Nuclear matrix** A mesh of filamentous proteins found on the inside of the nuclear membrane and used in anchoring DNA .

14 - **Scaffold Attachment Region (SAR)** Site on eukaryotic DNA that binds to proteins of the chromosomal scaffold or of the nuclear matrix—same as MAR sites .

15 - **CAAT box** A sequence often found in the upstream region of eukaryotic promoters and which binds transcription factors .

16 - **MyoD** A eukaryotic transcription factor that takes part in muscle cell differentiation .

17 - **Acetylation** Addition of an acetyl (CH3CO) group .

18 - **Histone Acetyl Transferase (HAT)** Enzyme that adds acetyl groups to histones .

19 - **Chromatin remodeling complex** A protein assembly that rearranges the histones of chromatin in order to allow transcription .

20 - **Housekeeping genes** Genes that are switched on all the time because they are needed for essential life functions .

تنظيم التعبير الجيني Regulation of gene expression

1-المقدمة

2-تنظيم عملية استنساخmRNA في بدائية النواة

أ- مفهوم المشغل

ب-مشغل نظام اللاكتوز lac operon

ج-التنظيم السالب لمشغل اللاكتوز

د-التنظيم الموجب لمشغل نظام اللاكتوز

ه-مشغل نظام التربتوفان

3-تنظيم التعبير الجيني في حقيقية النواة

1-المقدمة

تنظيم التعبير الجيني هو سمه أساسية في حفظ التكامل الوظيفي للخلية . وعملية التنظيم هذه تحدث بطرق مختلفة منها تنظيم موجب وأخر تنظيم سالب .

في بدائية النواة غالبا ما يحدث التنظيم عند بدء استنساخ mRNA. أما في حقيقية النواة استنساخ mRNA يكون أكثر تعقيدا وعليه توجد أكثر من ميكانيكيه لعملية التنظيم.

وبالرغم من ذلك تنظيم الاستنساخ في حقيقية وبدائية النواة يحدث من خلال ارتباط بروتينات مع تسلسل معين على شريط الدنا ينتج أما زيادة أو نقصان في معدل الاستنساخ.

وهنالك ميكانيكيه خاصة في حقيقية النواة وهو الاستنساخ المتخصص بنوع الخلايا وهذا يتحقق من خلال المعالجة الاختيارية أو البديلة (alternative (processing لشريط mRNA الأولي غير

الناضج وتكوين أشرطه مختلفة من الرنا الرسولي وبالتالي ترجمته إلى بروتينات مختلفة متعلقة بوظيفة تلك الخلية.

2-تنظيم عملية استنساخ mRNA في بدائية النواة

تحدث عملية تنظيم التعبير الجيني في البكتريا من خلال تنظيم عملية بدأ الاستنساخ ومثال على ذلك هو السيطرة الموجبة والسالبة لمشغل نظام اللاكتوز lac operon في بكتريا E.coli

أ- مفهوم المشغل (operon concept)

يوجد هذا النظام في بدائية النواة فقط ، وهو مجموعه من الجينات التركيبية (structural genes) بالإضافة إلى منطقة منظمه (regulator region) تنظم عمل تلك الجينات. الجينات التركيبية تشفر لبروتينات أو أنزيمات خاصة بوظيفة ايضيه معينه . يكون موقع المنطقة المنظمة في أعلى تلك الجينات($5'$) وتكون هي المسيطرة على عملية التعبير الجيني .

ب-مشغل نظام اللاكتوز lac operon

يتألف هذا النظام من ثلاث جينات تركيبيه وهي (Z,Y,A) هذه الجينات تشفر لمجموعه من الأنزيمات الضرورية في ايض اللاكتوز وهي حسب التسلسل (β-galactosidase, permease, transacetylase). في حين تشفر المنطقة المنظمة (i) لبروتين يدعى بالكابح repressor الذي بدوره يرتبط مع تسلسل معين من القواعد النتروجينيه على شريط الدنا والذي يدعى بالمدير operator والذي يكون موقعه مجاور للجينات التركيبية . أما أنزيم بلمرة الرنا RNA polymerase الذي يشرع في عملية الاستنساخ يرتبط بالمثير promoter.

ج-التنظيم السالب لمشغل اللاكتوز negative regulation of the lac operon

وهذا يتضمن حالتين : الحالة الأولى، في حالة غياب سكر اللاكتوز في الوسط ، يرتبط بروتين الكابح بالمدير operator ويمنع ارتباط أنزيم بلمرة الرنا بالمثير promoter لعمل شريط الرنا الرسولي . أما الحالة الثانية، هي وجود سكر اللاكتوز وفيه يتحول اللاكتوز إلى 1,6

allolactose الذي يرتبط بالكابح ويمنع ارتباطه بالمدير . حينها يتم استنساخ الجينات التركيبية بواسطة أنزيم بلمرة الرنا .

د-التنظيم الموجب لمشغل نظام اللاكتوز positive regulation of the lac operon

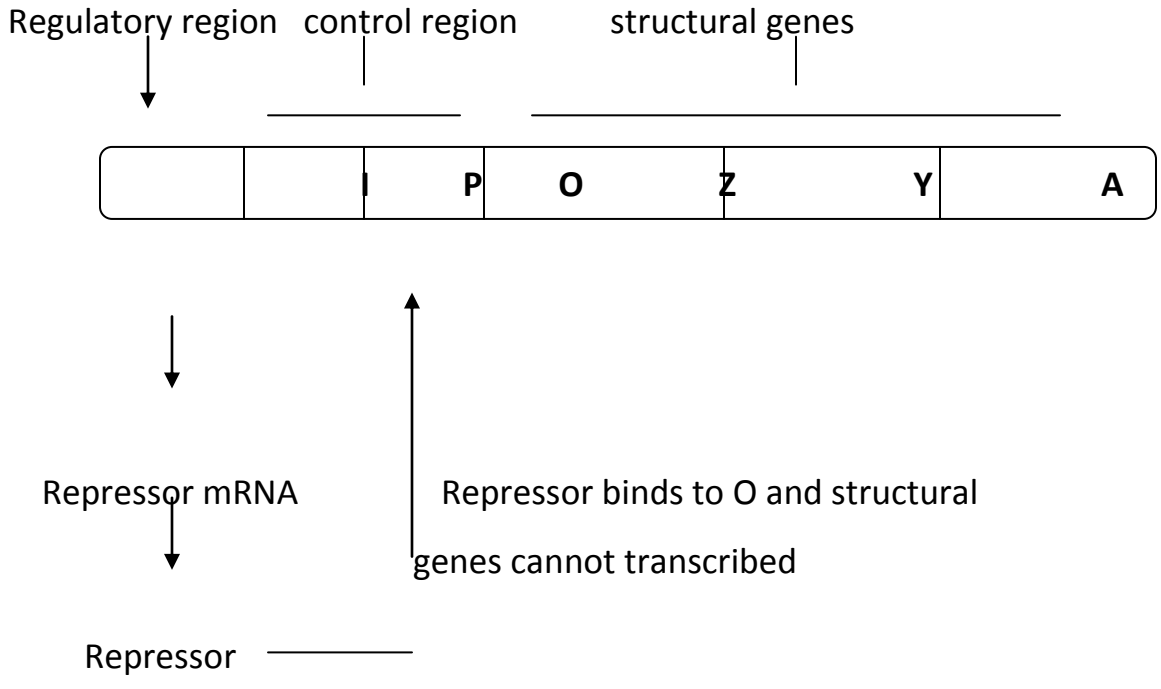
عندما يكون هنالك تركيز كافي من سكري اللاكتوز أو الكلوكوز في الوسط لا تكون هنالك حاجه لتشغيل النظام أما في حالة وجود تركيز واطئ من سكر الكلوكوز يتم تنشيط المشغل من خلال الميكانيكية التالية :

1-يرتبط cAMP مع بروتين يدعى CAP لتكوين معقد

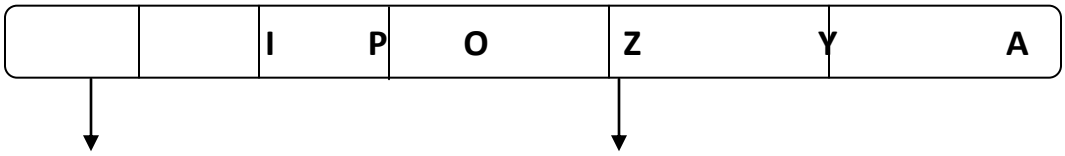
2- يرتبط المعقد أعلاه مع المثير promoter الذي يحفز أنزيم بلمرة الرنا على ا لارتباط بالمثير

3- استنساخ الجينات التركيبية بواسطة أنزيم بلمرة الرنا .

أ-غياب اللاكتوز



ب-وجود اللاكتوز



Repressor mRNA

β galactosidase,permease, transacetylase

polycistronic mRNA

Repressor + inducer ⟶ Complex

Repressor cannot bind to O, since it is bound to the inducer and so structural genes are transcribed

شكل 1- يبين السيطرة السالبة لمشغل اللاكتوز

ه - مشغل نظام التربتوفان Tryptophan operon

يحتوي اوبرون التربتوفان على خمس جينات تركيبيه تشترك هذه (Trp A, Trp B, Trp C, Trp D, TrpE) الجينات الخمس في أنتاج ثلاث أنزيمات تحول مركب ال chorismate إلى تربتوفان . يقع المثير في promoter أعلى الجينات التركيبية ، يقع ألجين repressor المشفر لبروتين الكابح Trp R التنظيمي التنظيمي على مسافة بعيده عن المدير . ويتم تنظيم التعبير الجيني في هذا المشغل من خلال الميكانيكية التالية : أولا في حالة غياب التربتوفان ، يكون الكابح غير فعال وبذلك يرتبط أنزيم بلمرة الرنا بموقع المثير مستنسخا الجينات التركيبة chorismate والتي يتم ترجمتها إلى إنزيمات تحول ال إلى تربتوفان . الحالة الثانية وهي وجود التربتوفان في الوسط ، عندها يرتبط التربتوفان بالكابح وينشطه وبذلك وبذلك يتوقف الاستنساخ operatorيرتبط بالمدير

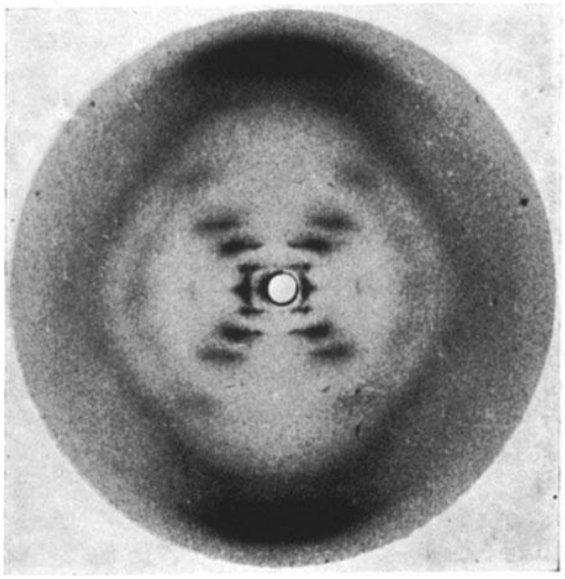
تركيب وخصائص الأحماض النووية structure and characterization of nucleic acids

أولا: تركيب الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين DNA

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

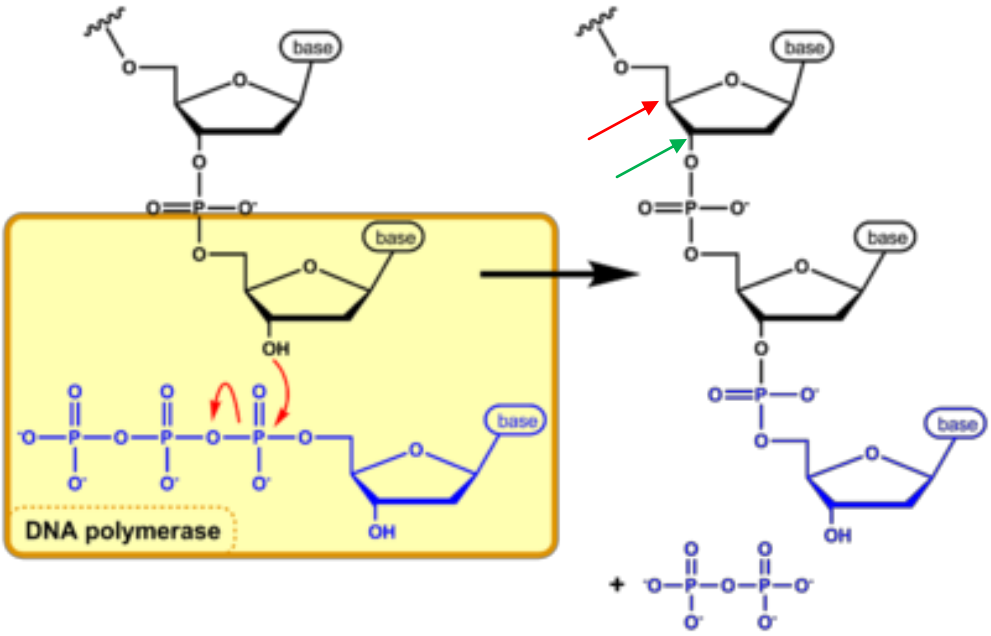
يتركب الـDNA من النيوكليوتيدات ويكون ثنائي الشريط Double Strand ويسمى dsDNA (ماعدا بعض الفيروسات يكون في بعض الأحيان بشكل شريط منفرد Single strand ويسمى ssDNA) ومن مميزات جزيئة DNA :

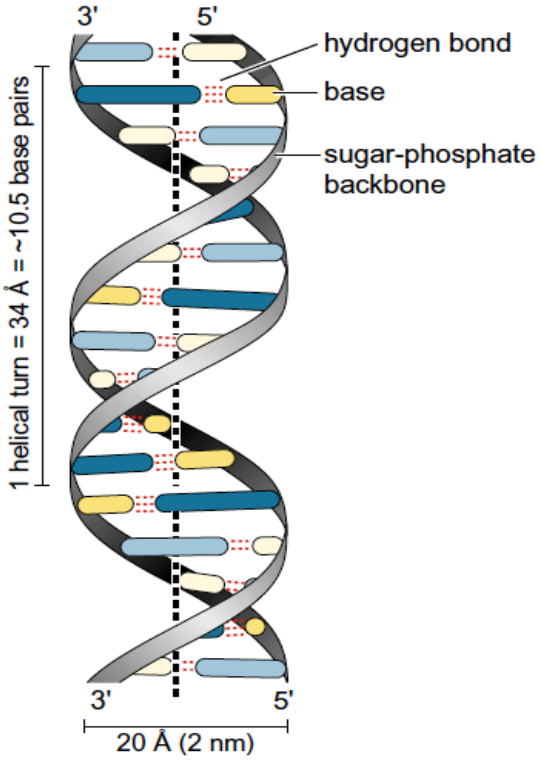
1- Double helix : إن أول من اكتشف تركيب الDNA بشكل Double helixهما العالمين واتسن وكرك عام 1953 (James Watson and Francis Crick) واللذين حصلا فيما بعد على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1962 لأجل هذا الاكتشاف . تم الحصول على هذه النتائج من خلال التجارب التي أجريت على DNA باستخدام الأشعة السينية حيث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



تجربة انحراف الأشعة السينية التي أجريت من قبل روزلاند فرانكلين

2- 5'-3' direction : ويقصد ب ان شريط DNA يبنى بالاتجاه '3-'5 حيث تمثل '5 موقع ذرة الكاربون لسكر الرايبوز منقوص الأوكسجين التي ترتبط بها مجموعة الفوسفات بينما **'3** موقع ذرة الكاربون لسكر الرايبوز منقوص الاوكسجين التي تضاف عندها نيوكليوتيده جديدة وهذا يعني أن DNA يبنى بالاتجاه **'5-'3؟**





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

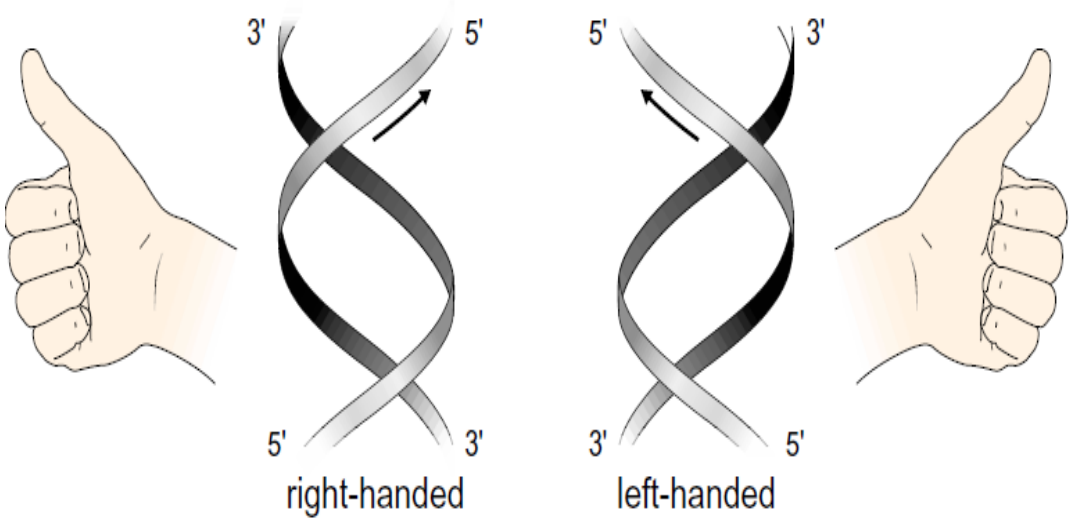
4- قطر جزيئة DNA هو 20 انكستروم في حين أن اللفة الواحدة طولها 34 انكستروم

5- تتكون اللفة الواحدة من DNA من 10 زوج قاعدي وبذلك يكون طول القاعدة الواحدة أو الزوج القاعدي حوالي 3.4 انكستروم .

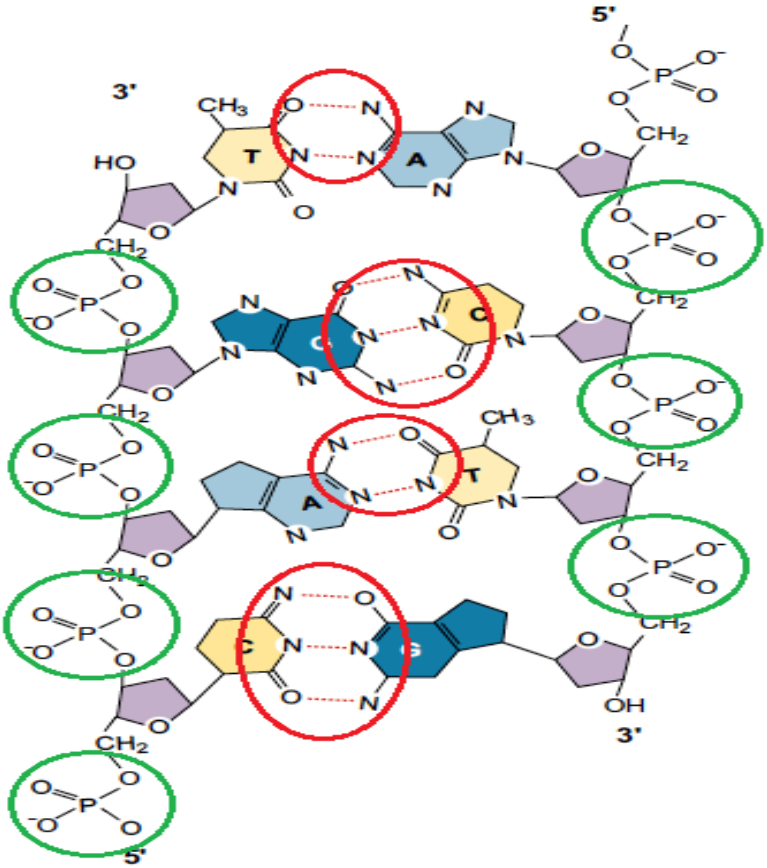
6- وزن الزوج القاعدي هو 660 دالتون

7- يكون اتجاه اللفة أما لليمين وتسمى right handed كما في جريئة الدنا نوع A-form

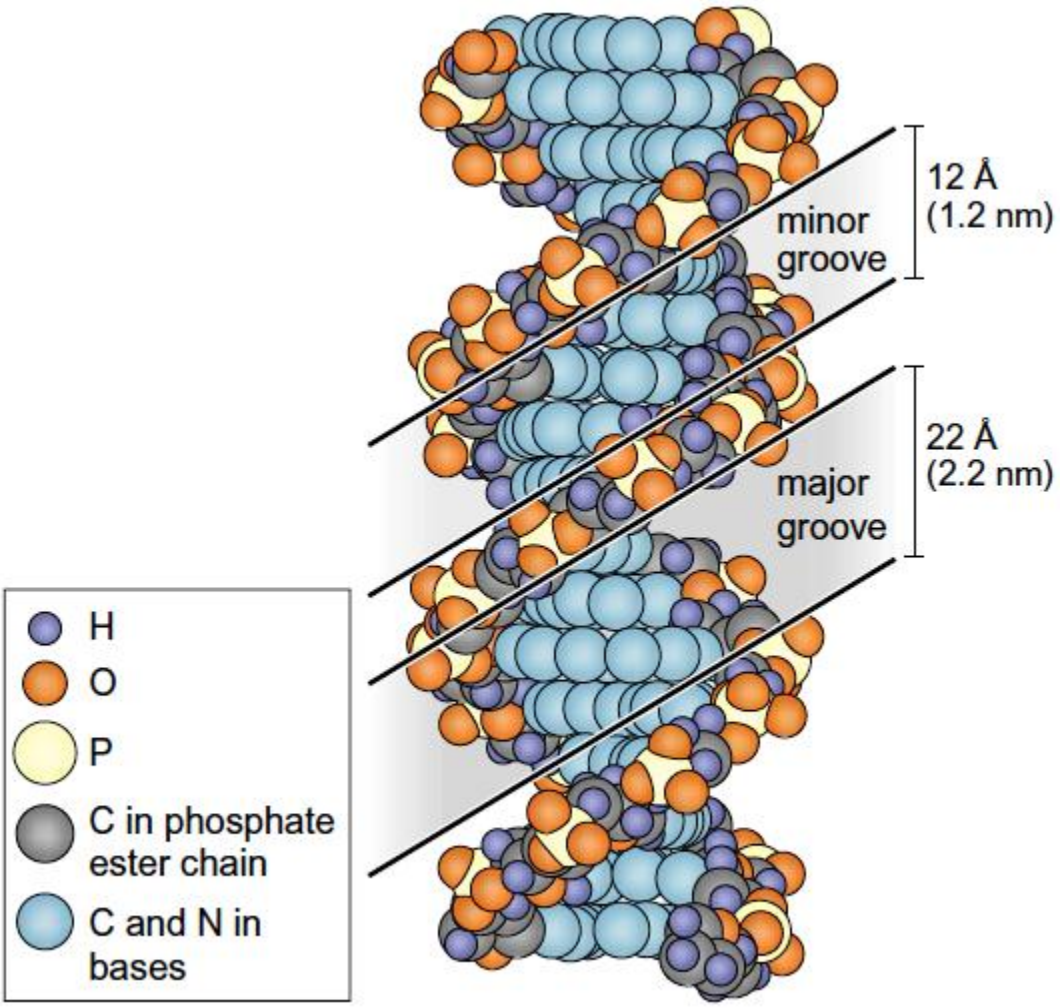
DNA وB-form DNA أو لليسار وتسمى left handed كما في جريئة الدنا نوع Z-form DNA.



8- Inter and intra strand bonds: هنالك نوعين من الأواصر في جزيئة DNA المزدوجة وهي الآصرة الهيدروجينية مابين نيوكليوتيدات شريطي DNA والآصرة ثنائية الفوسفات التساهميه التي تربط بين نيوكليوتيدات الشريط الواحد وكما موضح أدناه:



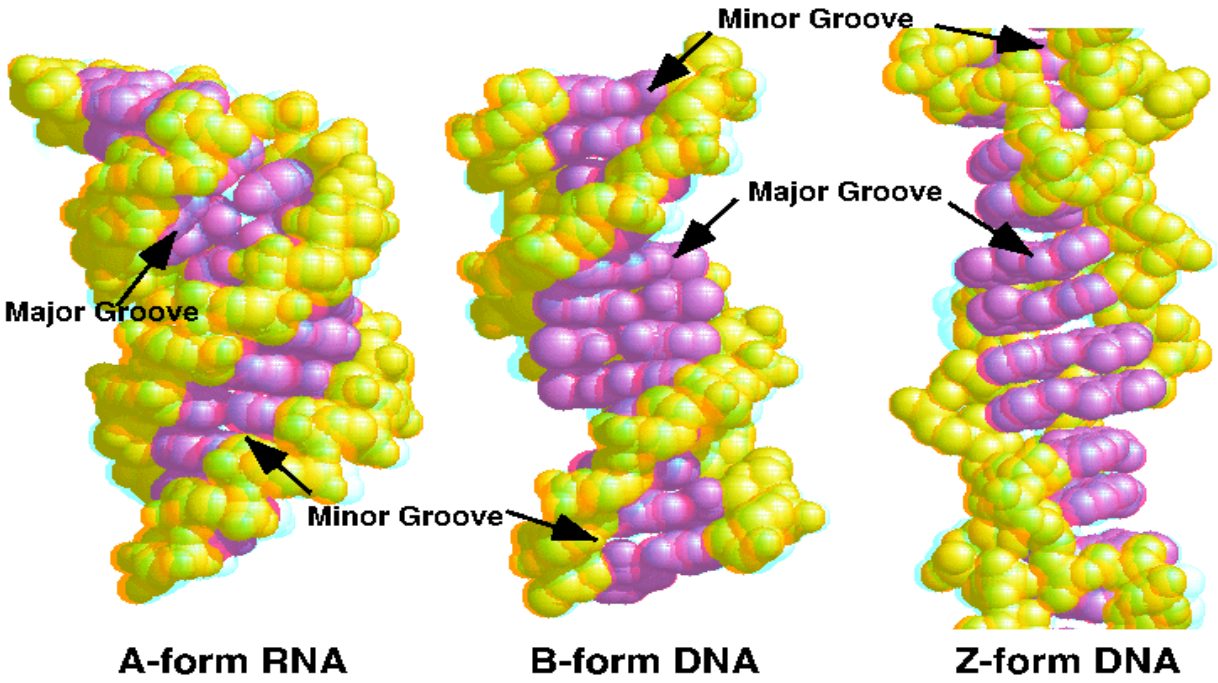
9- الأخدود الأساسي Major groove والأخدود الثانوي Minor groove : تتكون هذه الأخاديد نتيجة للشكل المزدوج المتضاد Anti parallel double helix لجزئية الدنا وللتركيب الفراغي للقواعد النتروجينية. وتكون هذه الأخاديد غير متساوية بالحجم. أن كل زوج قاعدي يلتوي أو ينحرف عن مسار الزوج القاعدي الذي يسبقه بحوالي 36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



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

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

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



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

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

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

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

ثانيا: تركيب الحامض النووي الرايبوزي RNA

يشابه في تركيبه للـDNA مع بعض الاستثناءات وكما يلي:

1- يكون مفرد الشريط 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.
2- يحتوي في تركيبه على الرايبوز بدلا من الرايبوز منقوص الأوكسجين.
3- لا يحتوي في تركيبه على القاعدة النايتروجينيه الثايمين thymine بل يحتوي بدلا عنها على اليوراسيل Uracil .
4- هنالك عدة أنواع من الـ RNA تختلف في وظائفها البيولوجية وهي:

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

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

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

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

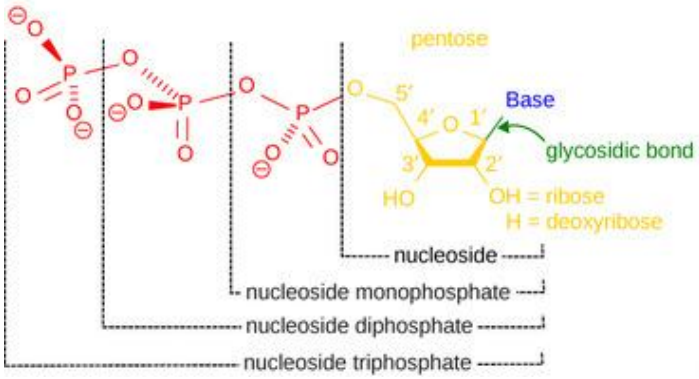
exRNA= Extracellular RNA (also known as exosomal RNA) found in boby fluid like blood, saliva, breast milk, urine, semen, menstrual blood, and vaginal fluid (**syntrophy**)

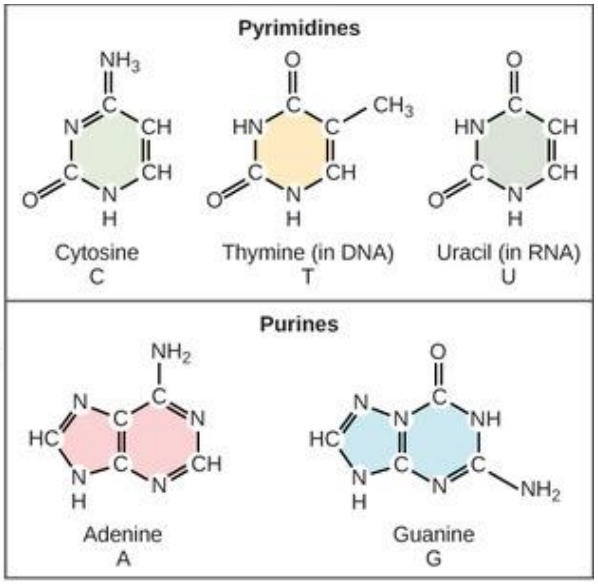
piRNA= Piwi-interacting RNA (gene silencing)

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)


pentose
Base
glycosidic bond
HO
OH = ribose
H = deoxyribose
nucleoside
nucleoside monophosphate
nucleoside diphosphate
nucleoside triphosphate


Pyrimidines
Cytosine
C
Thymine (in DNA)
T
Uracil (in RNA)
U
Purines
Adenine
A
Guanine
G

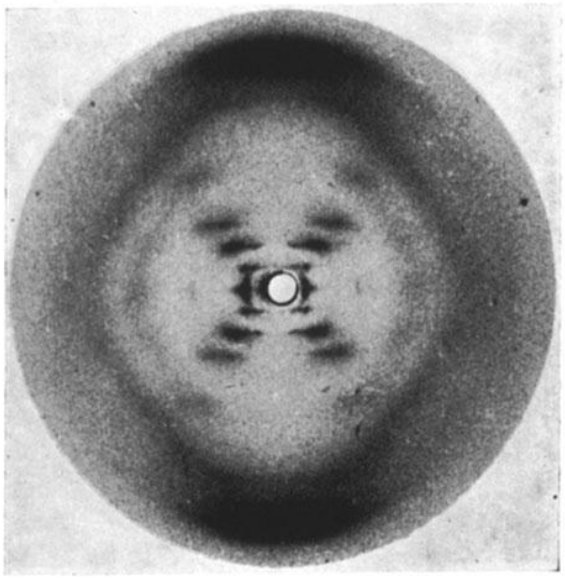
تركيب وخصائص الأحماض النووية structure and characterization of nucleic acids

أولا: تركيب الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين DNA

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

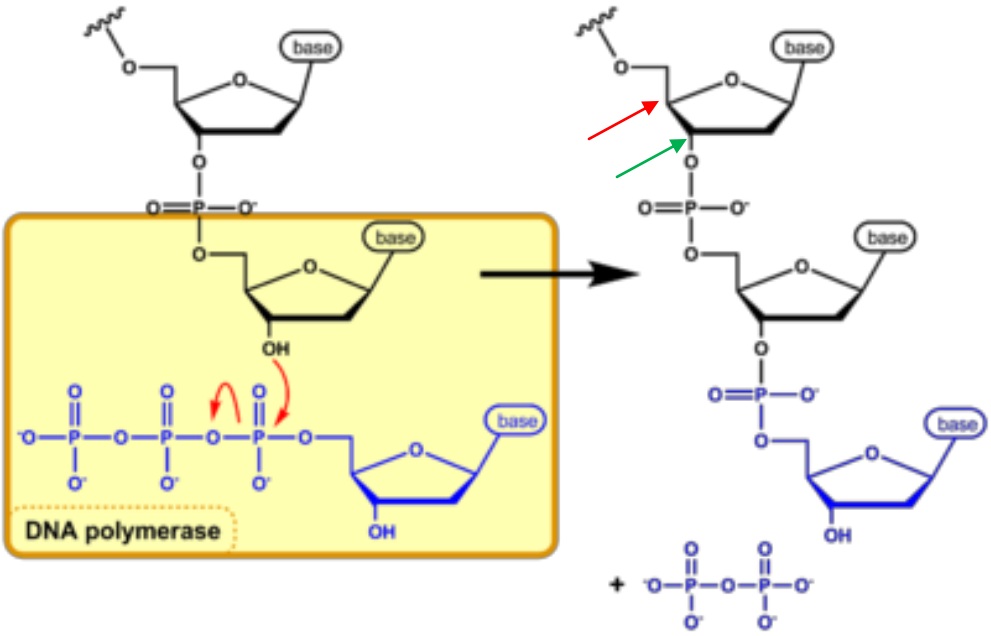
يتركب الـDNA من النيوكليوتيدات ويكون ثنائي الشريط Double Strand ويسمى dsDNA (ماعدا بعض الفيروسات يكون في بعض الأحيان بشكل شريط منفرد Single strand ويسمى ssDNA) ومن مميزات جزيئة DNA :

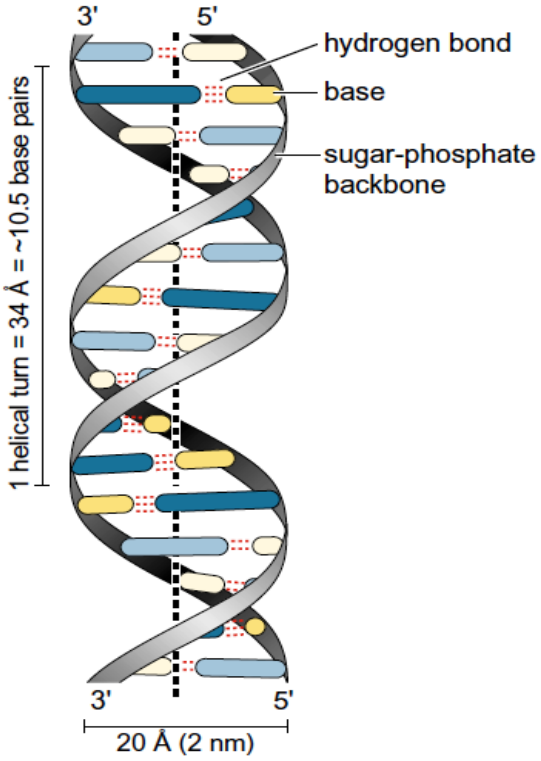
1- Double helix : إن أول من اكتشف تركيب الDNA بشكل Double helixهما العالمين واتسن وكرك عام 1953 (James Watson and Francis Crick) واللذين حصلا فيما بعد على جائزة نوبل في الطب والفسلجة عام 1962 لأجل هذا الاكتشاف . تم الحصول على هذه النتائج من خلال التجارب التي أجريت على DNA باستخدام الأشعة السينية حيث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



تجربة انحراف الأشعة السينية التي أجريت من قبل روزلاند فرانكلين

2- 5'-3' direction : ويقصد ب ان شريط DNA يبنى بالاتجاه '3-'5 حيث تمثل '5 موقع ذرة الكاربون لسكر الرايبوز منقوص الأوكسجين التي ترتبط بها مجموعة الفوسفات بينما **'3** موقع ذرة الكاربون لسكر الرايبوز منقوص الاوكسجين التي تضاف عندها نيوكليوتيده جديدة وهذا يعني أن DNA يبنى بالاتجاه **'5-'3؟**





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

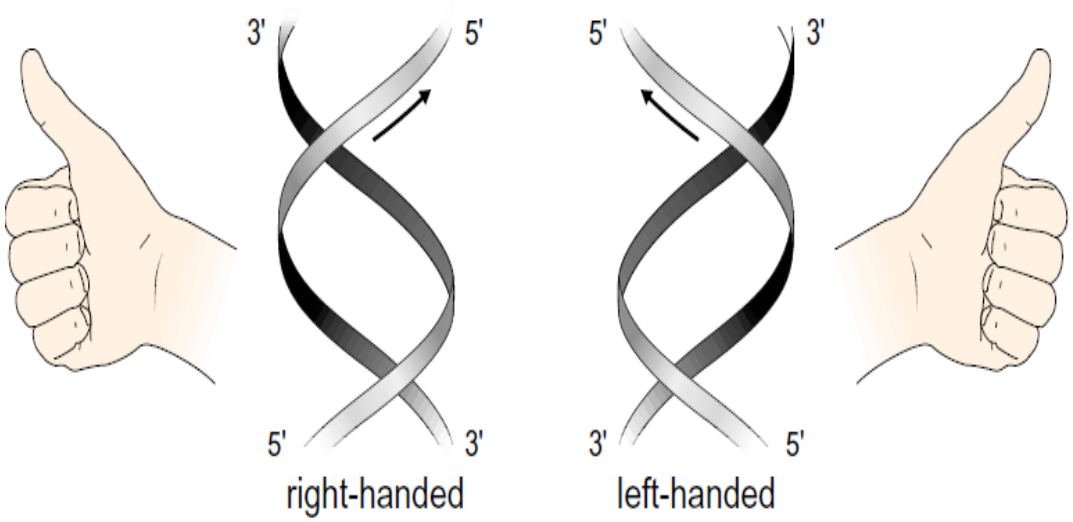
4- قطر جزيئة DNA هو 20 انكستروم في حين أن اللفة الواحدة طولها 34 انكستروم

5- تتكون اللفة الواحدة من DNA من 10 زوج قاعدي وبذلك يكون طول القاعدة الواحدة أو الزوج القاعدي حوالي 3.4 انكستروم .

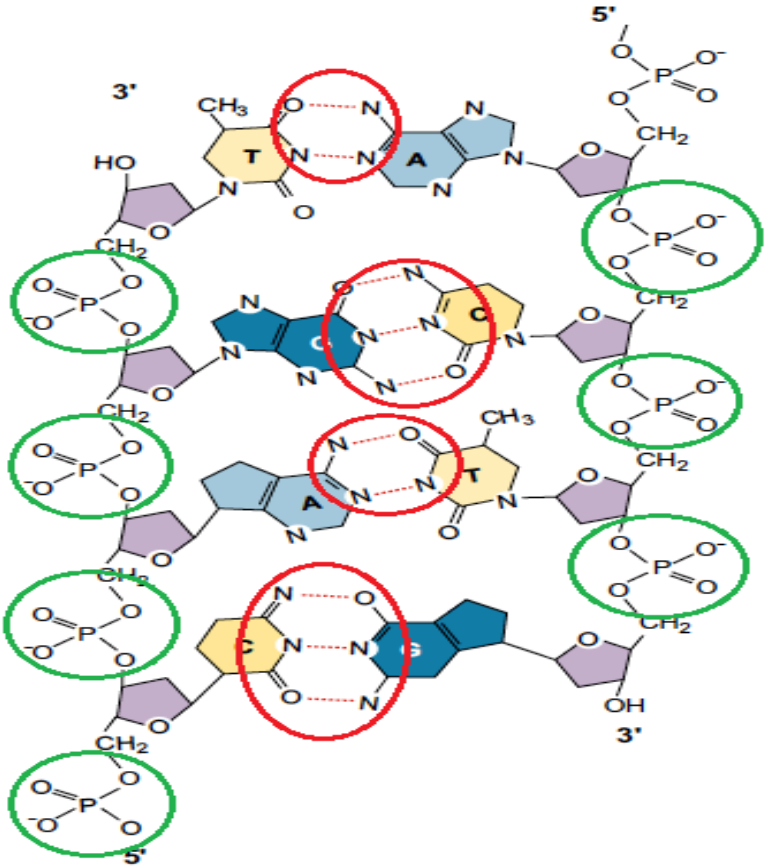
6- وزن الزوج القاعدي هو 660 دالتون

7- يكون اتجاه اللفة أما لليمين وتسمى right handed كما في جريئة الدنا نوع A-form

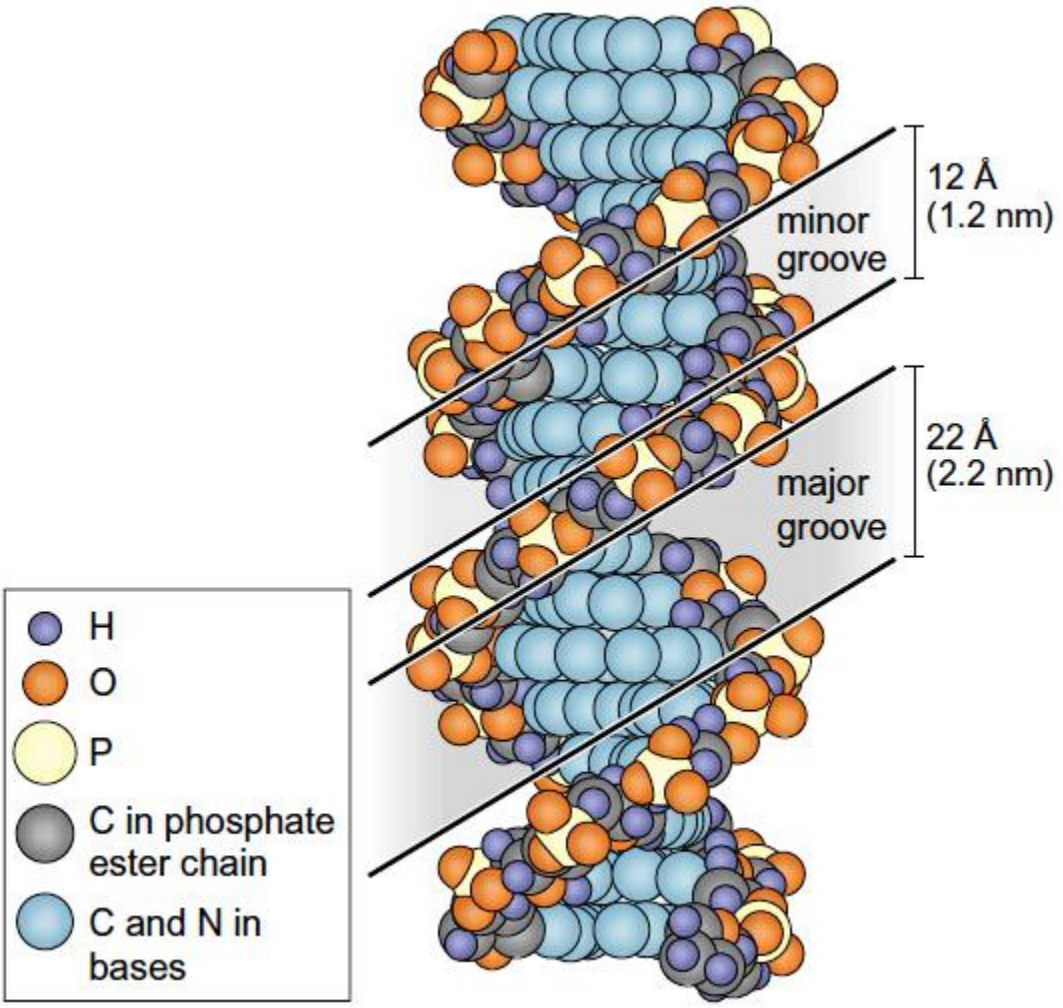
DNA وB-form DNA أو لليسار وتسمى left handed كما في جريئة الدنا نوع Z-form DNA.



8- Inter and intra strand bonds: هنالك نوعين من الأواصر في جزيئة DNA المزدوجة وهي الآصرة الهيدروجينية مابين نيوكليوتيدات شريطي DNA والآصرة ثنائية الفوسفات التساهميه التي تربط بين نيوكليوتيدات الشريط الواحد وكما موضح أدناه:



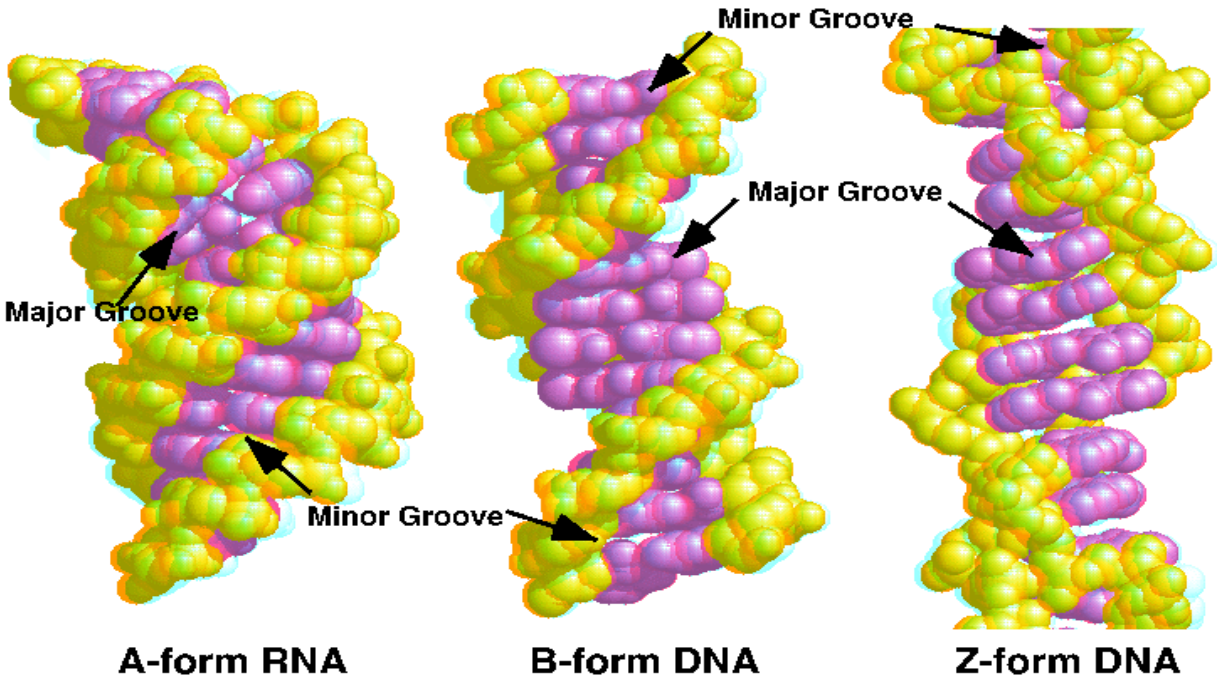
9- الأخدود الأساسي Major groove والأخدود الثانوي Minor groove : تتكون هذه الأخاديد نتيجة للشكل المزدوج المتضاد Anti parallel double helix لجزئية الدنا وللتركيب الفراغي للقواعد النتروجينية. وتكون هذه الأخاديد غير متساوية بالحجم. أن كل زوج قاعدي يلتوي أو ينحرف عن مسار الزوج القاعدي الذي يسبقه بحوالي 36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



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

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

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



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

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

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

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

ثانيا: تركيب الحامض النووي الرايبوزي RNA

يشابه في تركيبه للـDNA مع بعض الاستثناءات وكما يلي:

1- يكون مفرد الشريط 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.
2- يحتوي في تركيبه على الرايبوز بدلا من الرايبوز منقوص الأوكسجين.
3- لا يحتوي في تركيبه على القاعدة النايتروجينيه الثايمين thymine بل يحتوي بدلا عنها على اليوراسيل Uracil .
4- هنالك عدة أنواع من الـ RNA تختلف في وظائفها البيولوجية وهي:

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

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

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

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

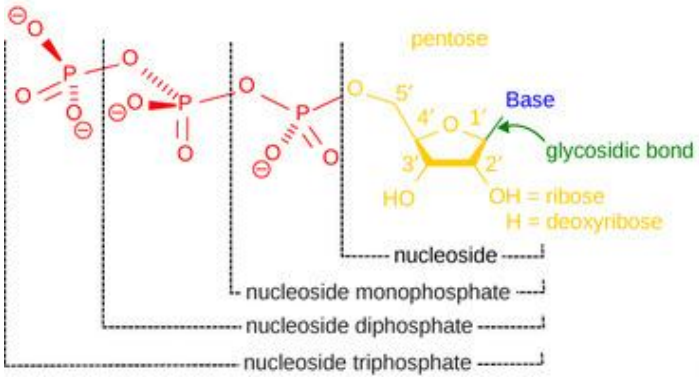
exRNA= Extracellular RNA (also known as exosomal RNA) found in boby fluid like blood, saliva, breast milk, urine, semen, menstrual blood, and vaginal fluid (**syntrophy**)

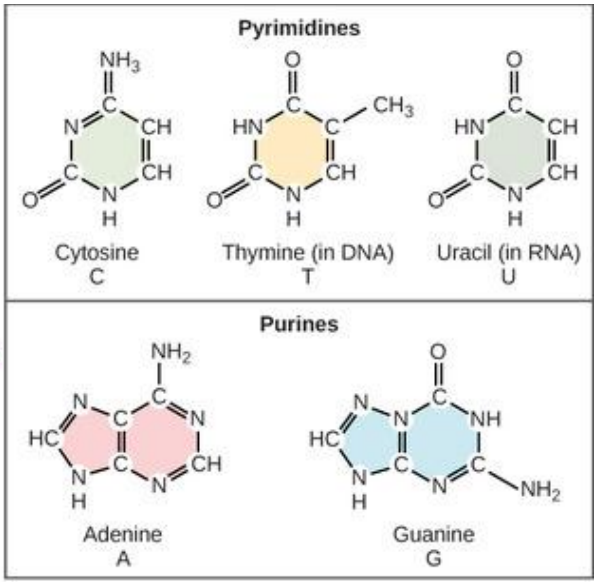
piRNA= Piwi-interacting RNA (gene silencing)

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)


pentose
Base
glycosidic bond
HO
OH = ribose
H = deoxyribose
nucleoside
nucleoside monophosphate
nucleoside diphosphate
nucleoside triphosphate


Pyrimidines
Cytosine
C
Thymine (in DNA)
T
Uracil (in RNA)
U
Purines
Adenine
A
Guanine
G

تعبئة الأحماض النووية Nucleic Acid Packaging

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

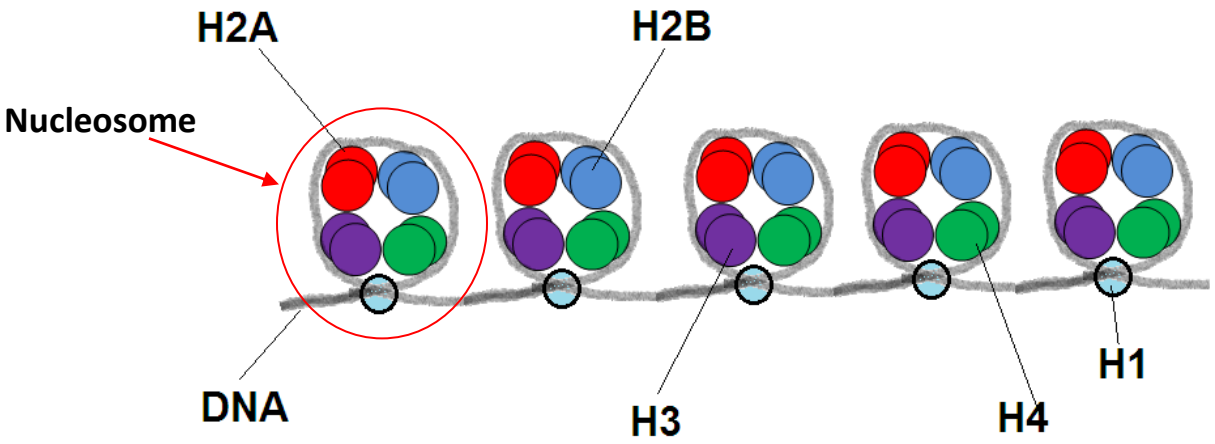
تركيب الكرموسوم البشري Human Chromosome Structure :

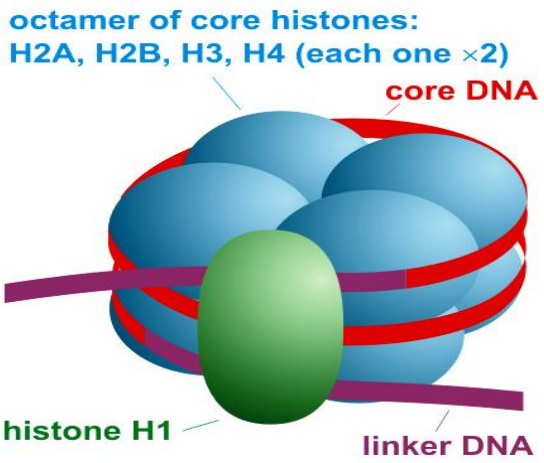
يتألف الكرموسوم من ذراعين وقطعه مركزيه. الذراع القصير Short arm ويسمى ب p arm والذراع الطويل Long arm ويسمى ب q arm وتسمى القطعة المركزية ب Centromere . كيميائيا يتركب الكرموسوم من حامض نووي منقوص الأوكسجين DNA وبروتين الهستون Histon. بالنسبة إلى تركيب الـDNA تطرقنا له بإسهاب في المحاضرة السابقة اما 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؟

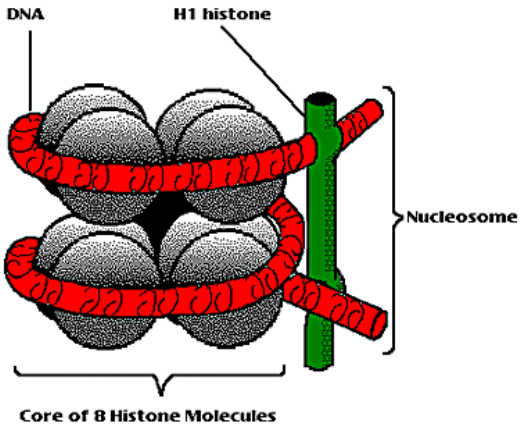
أولا: تعبئة الدنا DNA في كروموسوم حقيقية النواة Eukaryote DNA packing

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

1- 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 10 نانوميتر و تكون بشكل حبات او خرزات المسبحة على جزيئة الدنا وكما موضح بالشكل ادناه:

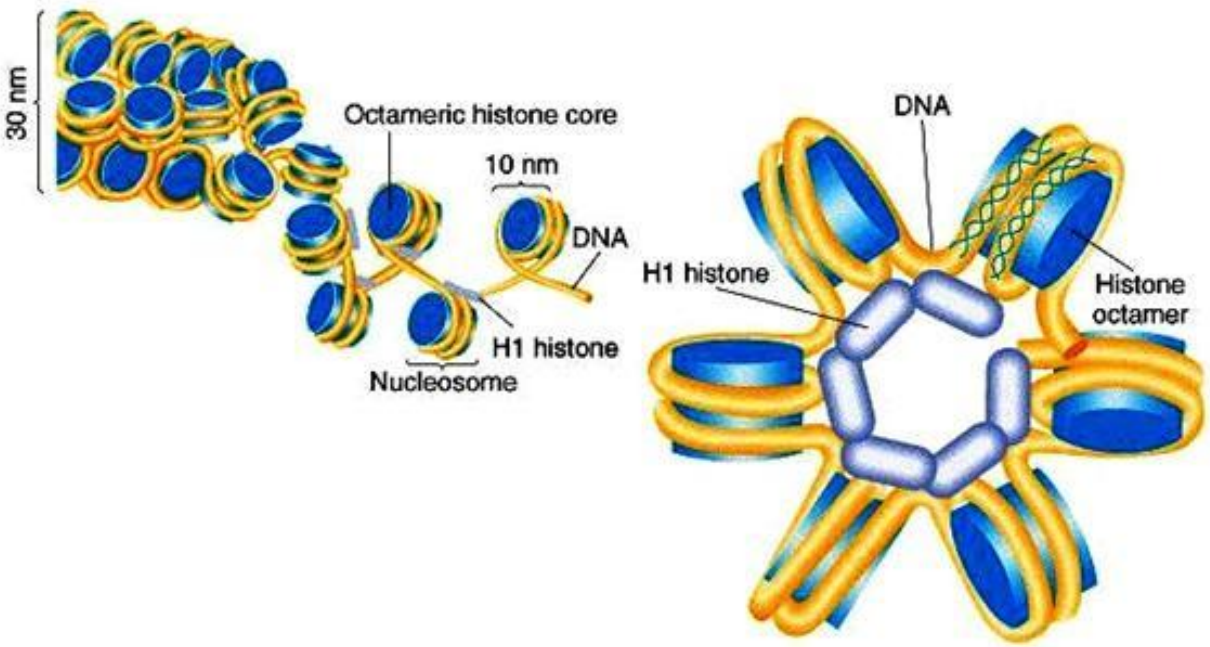






Nucleosome

2- تتجمع كل ستة نيوكليوسوم لتشكل شكل اسطواني يسمى بـSolenoid 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

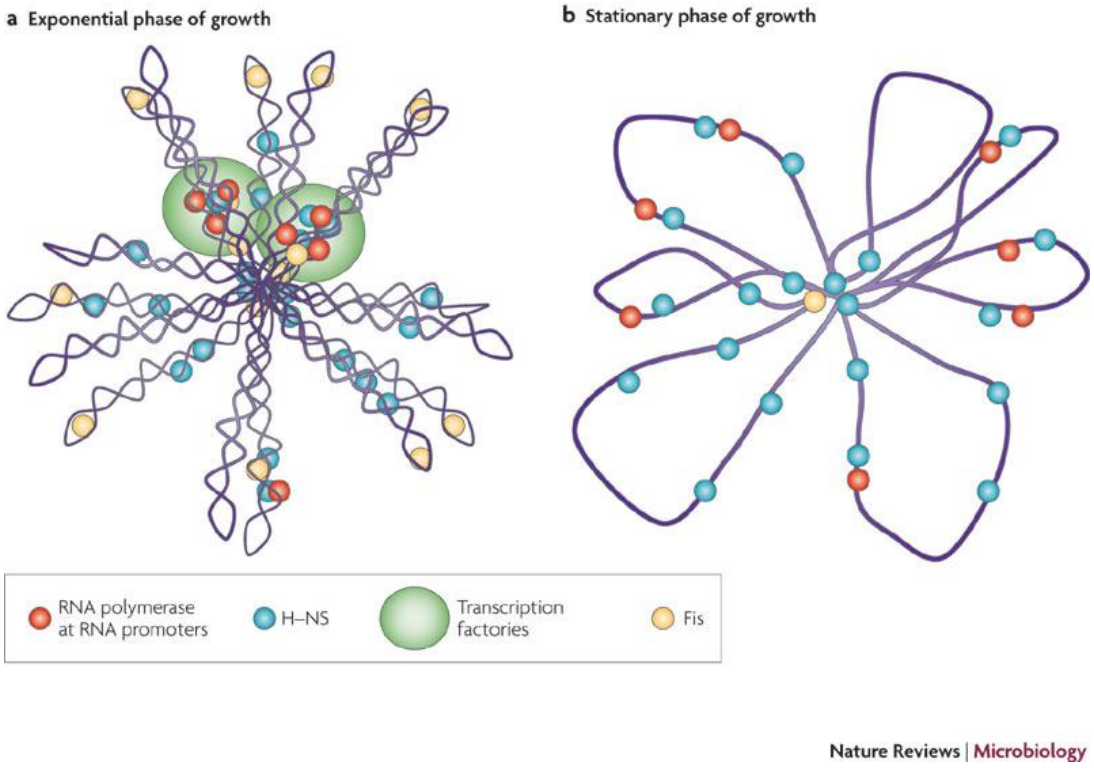
من الجدير بالذكر ان طبيعة المادة الوراثية في الكائنات بدائية النواة اقل تعقيدا مما في حقيقية النواة وفيما يخص تعبئة الدنا في بدائية النواة فانه يحصل لكن بدرجه اقل من التعقيد مما في حقيقة النواة حيث تتم

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 :

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

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



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

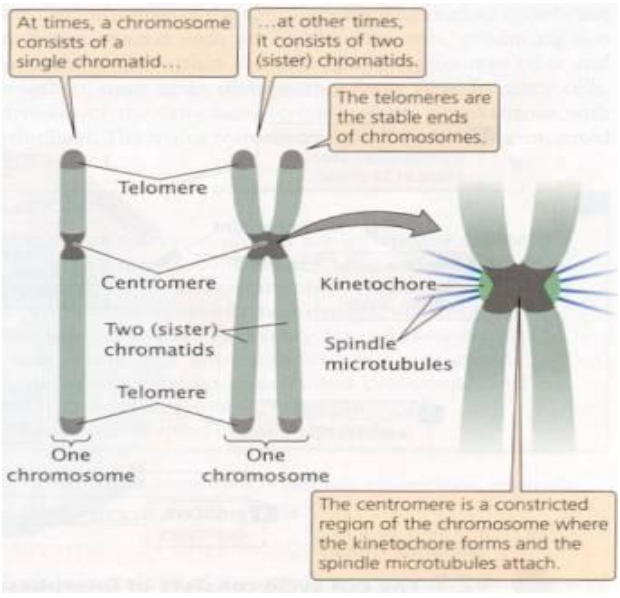
Prokaryotic Chromosomes	Eukaryotic Chromosomes
1-Many prokaryotes contain a single circular chromosome. 2-Prokaryotic chromosomes are condensed in the nucleoid via DNA supercoiling and the binding of various architectural proteins.	1-Eukaryotes contain multiple linear chromosomes. 2-Eukaryotic chromosomes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

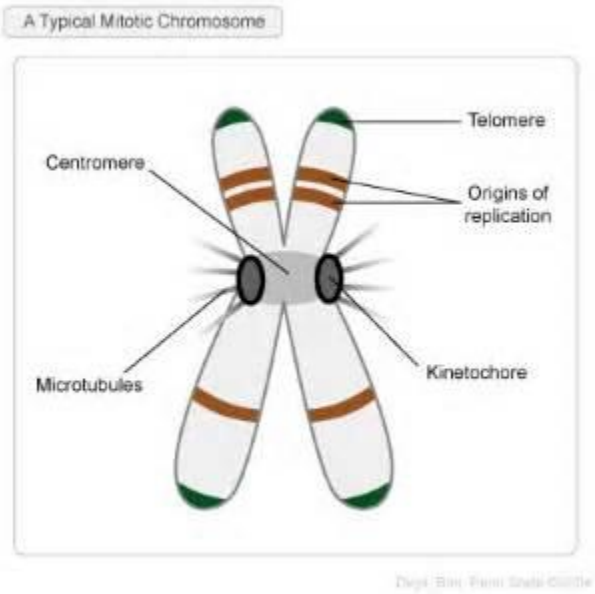
3-Because prokaryotic DNA can interact with the cytoplasm, transcription and translation occur simultaneously. 4-Most prokaryotes contain only one copy of each gene (i.e., they are haploid). 5-Nonessential prokaryotic genes are commonly encoded on extrachromosomal plasmids. 6-Prokaryotic genomes are efficient and compact, containing little repetitive DNA.	3-In eukaryotes, transcription occurs in the nucleus, and translation occurs in the cytoplasm. 4-Most eukaryotes contain two copies of each gene (i.e., they are diploid). 5-Some eukaryotic genomes are organized into operons, but most are not. 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 1857 و 1864. تمتاز الكائنات حقيقية النواة بامتلاكها نسختين لكل جين وتسمى بالأليل Allele أي ان لكل جين أليليين احدهما يؤخذ من الأب والأخر من الأم وهذه بطبيعتها تكون اما سائدة Dominant ويرمز له بالحرف الكبير او متنحية Recessive ويرمز له بالحرف الصغير بالتالي تسمى جينات حقيقية النواة ب Diploid ويرمز له 2N. تكون الجينات محموله على الكرموسوم وبالنسبة للإنسان فهنالك 23 زوج كرموسومي (منها 22 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 ما تسمى 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:

1- منطقة المحفز Promoter:

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

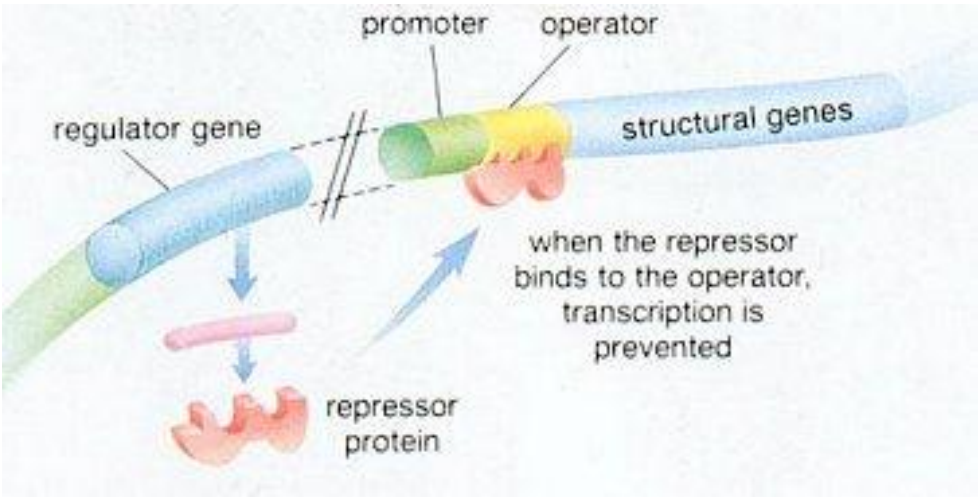
تحتوي منطقة المحفز على تسلسل يسمى ب TATA box وهو التسلسل الذي يرتبط عنده معقد انزيم RNA polymerase II لبدء استنساخ الدنا لتكوين الـ mRNA .

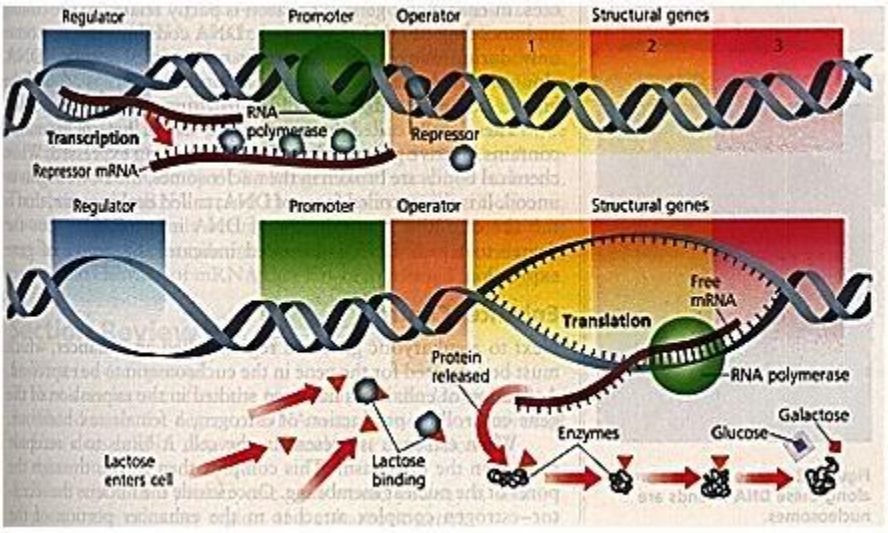
2- منطقة المشغل Operator:

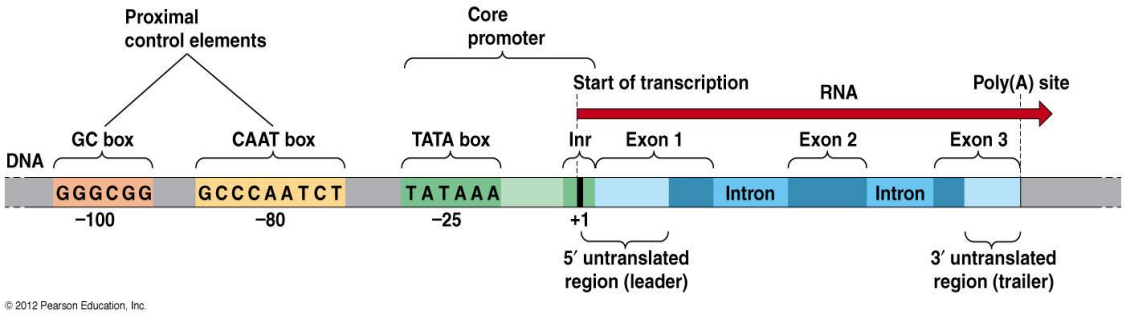
وهي المنطقة التي يرتبط عندها مثبت عملية الاستنساخ Repressor .

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

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





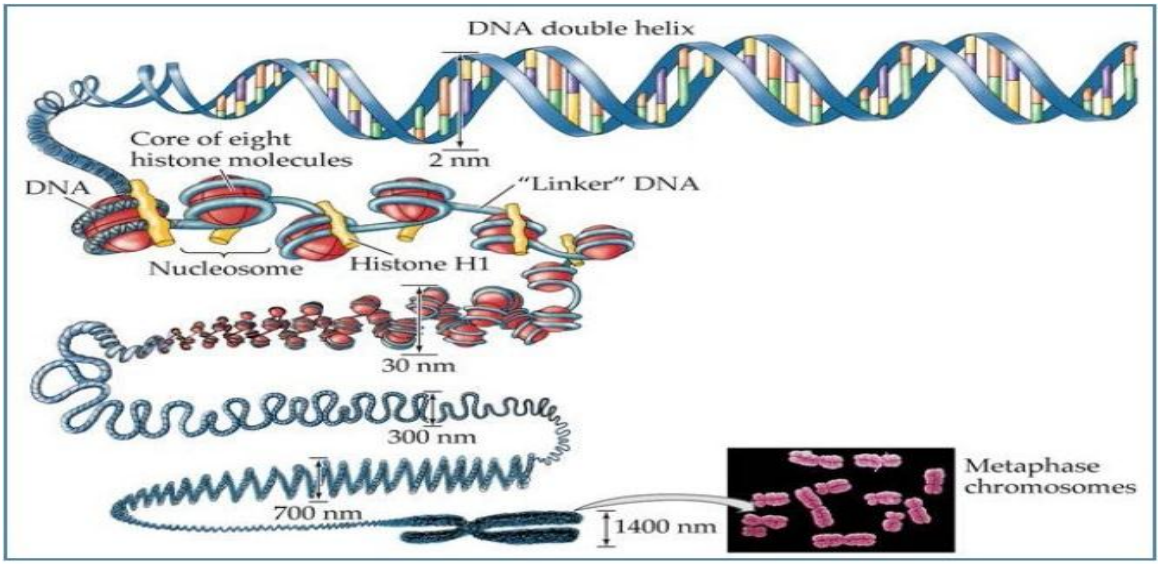


ثالثا: تركيب الموروثه في بدائية النواة Prokaryote Gene Structure :

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:

1- لايحتوي على الانترون Intron

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



آليات أصلاحDNA المتضرر Mechanisms of DNA repair damaged

من أحدى أهم صفات المادة الوراثية هي انها تخزن المعلومات الوراثيه وتضاعفه وتظهرها بشكل امن الى الاجيال الاحقه ولكن مسألة اظهار المعلومات وخزنها بشكل امن ونقله الى الاجيال الاحقه مسأله نسبيه اذ انه قد تحدث اخطاء في احدى مراحل التضاعف:

1- قبل التضاعف

2- اثناء التضاعف

3- بعد التضاعف

هذا وقد يحدث تغير في تركيب الدنا اثناء التعرض للمواد الكيمياويه او العوامل الفيزياويه مما قد يودي الى ضرر يثبط التضاعف او الاستنساخ وربما يؤدي لحصول طفره. ولاجل الحفاظ على تكميلية الماده الوراثيه طورت الاحياء المجهريه اليات اصلاح الدنا المتضرر.

مصادر الضرر Sources damage

أ- عوامل داخليه نتيجه للفعاليات الحيويه للخليه وتشمل

1- اكسدة القواعد النتروجينيه لجزيئة الدنا، مثال 8- oxoguanine

2- الالكله alkylation ويتم فيها اضافة مجموعة المثيل ،مثال 7- methyl guanine

3- تحلل القواعد النتروجينيه ، مثل ازالة مجموعة الامين للقاعده النتروجينيه

4- فقدان التزاوج بين القواعد النتروجينيه mismatch

ب- عوامل خارجيه وتشمل

1- الاشعه فوق البنفسجيه UV light

2- UV-A light تؤدي الى تكوين الجذور الحره، وبذلك يحدث ضرر غير مباشر

3- الاشعه الايونيه ionizing radiation

4- العرقله الحراريه temperature disruption . دائما تؤدي الى حذف القواعد البورينيه من شريط الدنا وتكوين AP sites

5- المواد الكيماويه الصناعيه

آليات أصلاح الدنا المتضرر Mechanisms of DNA repair damaged

1-العكس المباشر للتفاعل الكيمياوي Direct reversal for chemical reaction

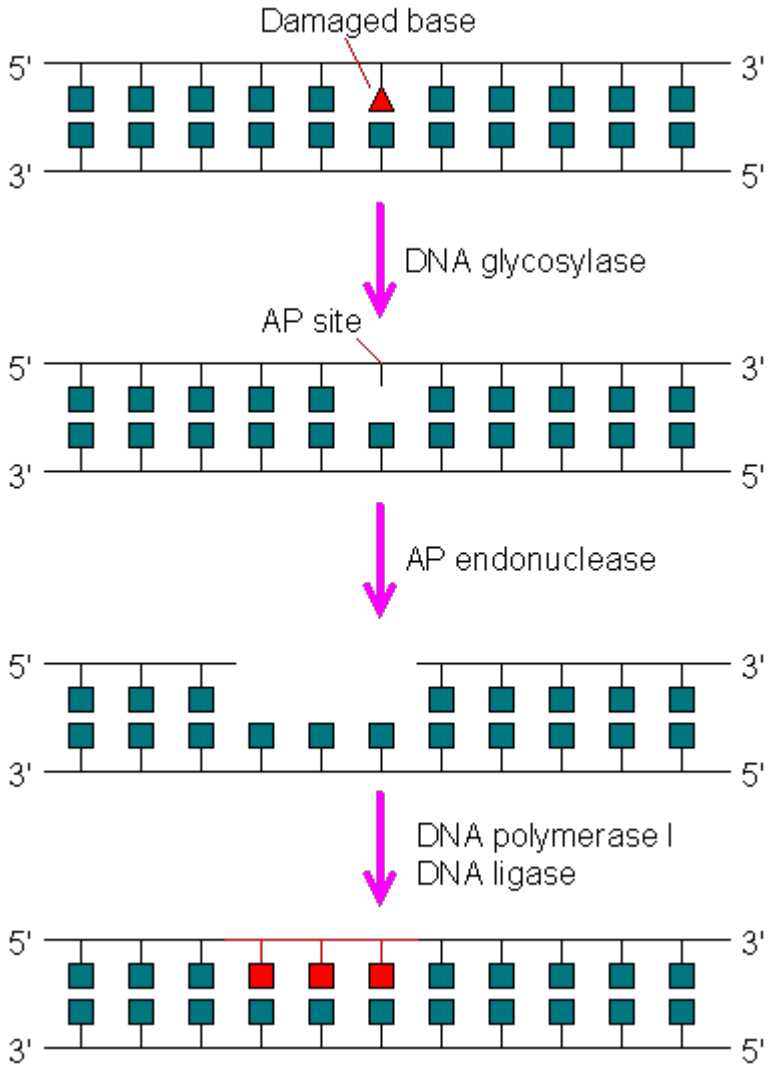
يكون هذا النوع من الاصلاح متخصص بنوع الضرر من دون تاثير على هيكلية بناء شريط الدنا . اذ يمكن اصلاح ثنائيات الثايمين الناتجه بفعل الاشعه فوق البنفسجيه بواسطة ميكانيكيه تدعى التنشيط الضوئي photo reactivation ، تعمل على العكس المباشر للضرر من خلال فعالية أنزيم يدعى photolyase الذي يتنشط بفعل الطاقة الممتصة على طول موجي 300- 500 نانوميتر ، بعدها يقوم بإزالة الضرر .

2-حذف القواعد النتروجينيه المتضرره excision of the damaged bases

وفيها يتم حذف القواعد النتروجينيه التي سبق وان تعرضت للالكله او ازالة مجموعة الامين بواسطة انزيم متخصص بنوع القاعده النتروجينيه يدعى DNA glcosylase ، مما يؤدي الى تكوين apurinic site او apyrmidinic site (APsite) . يتم تمميز AP site بواسطة انزيم يعرف بالAP endonuclease الذي يزيل مجموعة الفوسفات والسكر الخماسي لبقايا النيوكليوتيده المحذوفه من شريط الدنا ، بالاضافه الى حذف بعض النيوكليوتيدات المجاوره ، مما يؤدي الى تكوين فسحه cap التي يتم ملأها بفعل DNA polymerase I مع انزيم ligase

جدول : تخصص أنواع أنزيمات الكلايكوسيليز بنوع القاعدة النتروجينية المتضررة

Glycosylase	Base(s) recognized
Ura-DNA glycosylase	Uracil
Hmu-DNA glycosylase	Hydroxymethyl uracil
5-mC-DNA glycosylase	5-methylcytosine
FaPy-DNA glycosylase	Formamidopyrimidines 8 hydroxyguanine
5,6-HT--DNA glycosylase (endonuclease III)	5,6 hydrated thymines



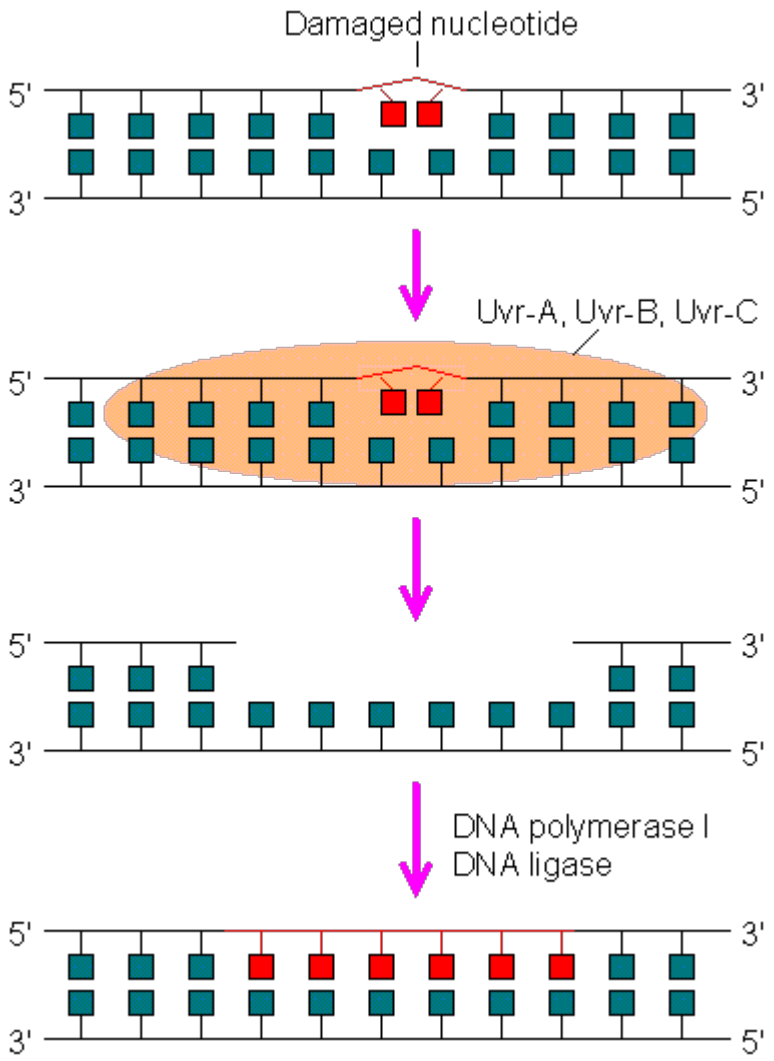
شكل يوضح إلية أصلاح الدنا بحذف القاعدة النتروجينية المتضررة

3- حذف النيوكليوتيدات المتضرره excision of the damaged nucleotides

وفيها يتم ازالة قطعه قصيره من النيوكليوتيدات بضمنها منطقة الضرر lesion على سبيل المثال اصلاح ثنائيات الثايمين thymine dimmer . في بكتريا E.coli توجد هنالك ثلاث جينات Uvr A,B,C تشفر لبروتينات Uvr A,B,C ، هذه البروتينات تعمل ك exonuclease اذ تعمل على حذف النيوكليوتيدات المتضررة ، مما يؤدي إلى تكوين فسحه يتم ملأها بفعل أنزيم DNA

polymerase مع وجود أنزيم اللايكيز الذي يعمل على ربط القطعة المضافة بجزئ الدنا. في الخمائر هنالك بروتينات تدعى RADxx تعمل عمل بروتينات Uvr.

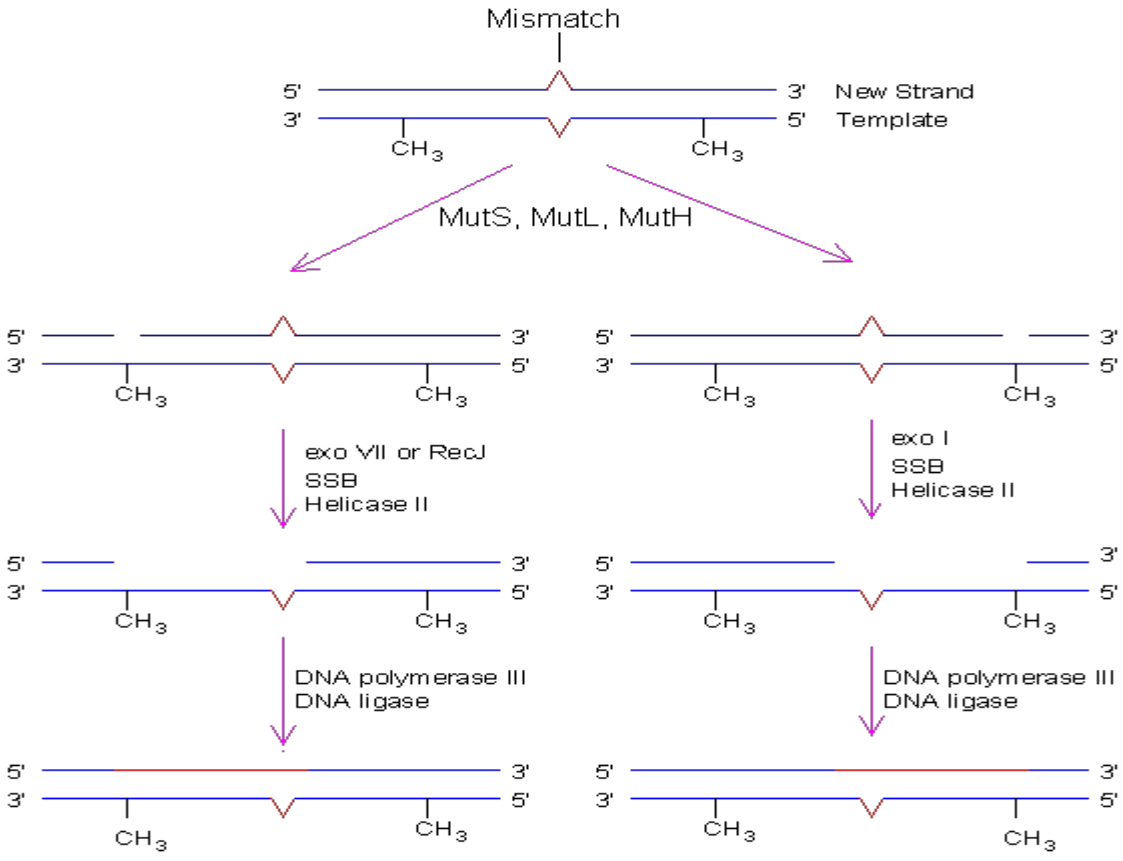
بروتين Uvr B يقوم بحذف 7 نيوكليوتيدات اعلى (5) الضرر ، في حين يقوم بروتين Uvr C بحذف 4 نيوكليوتيدات اسفل الضرر (3)



شكل يوضح آلية أصلاح الدنا بحذف النيوكليوتيدات المتضرره

4- اصلاح فقد التزاوج بين القواعد النتروجينية DNA mismatch repair

يقوم هذا النظام باصلاح الضرر الناجم من خطأ القراءه التصحيحيه proof reading system اثناء تضاعف الدنا . تعتمد هذه الميكانيكيه على اساس التمييز بين شريط الدنا الاصلي عن شريط الدنا البنوي وذلك من خلال وجود methylated adenine في تسلسل GATC في اعلى شريط الدنا (5) الاصلي ، في حين شريط الدنا المتكون الجديد(البنوي) لا يحتوي على methylated adenine . في بكتريا E.coli اضافة مجموعة المثيل تتم بفعل انزيم يدعى Dam methylase . يحتاج هذا النظام الى عدد من البروتينات : Mut S, Mut L, Mut H ، حيث يقوم mut S بالارتباط بموقع النيوكليوتيده الخطأ ، ثم يرتبط بعد ذلك mut L الذي يحفز mut H على الارتباط بـGATC الذي يقوم بشق شريط الدنا الجديد من موقع الارتباط . ان المسافه الواقعه بين النيوكليوتيده الخطأ والشق يزال بفعل انزيم exonuclease ، ثم بعد ذلك تملا الفسحه بواسطة بلمرة الدنا مع وجود انزيم الايكيز. في حقيقيات النواة ، مثل الخمائر لوحظ وجود بروتينات مشابهه لتلك الموجوده في البكتريا وتدعى MSH1---MSH5 .

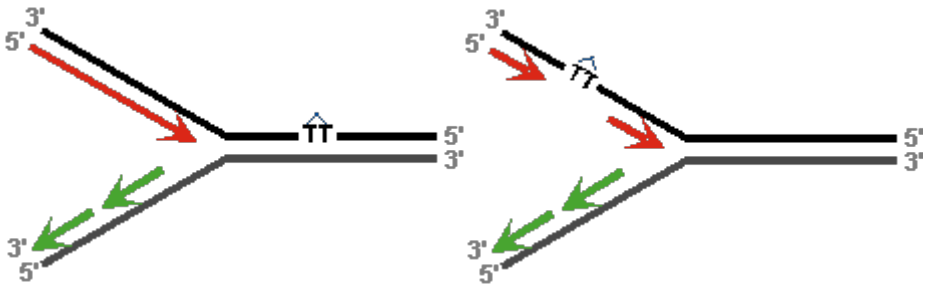


شكل يوضح آلية أصلاح الضرر الناتج من عدم تزاوج القواعد النتروجينة

5-أصلاح الضرر ما بعد التضاعف post replication repair

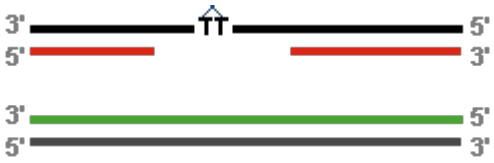
تعتمد هذه الاليه مبدأ اعادة التشكيل الوراثي المتجانس homologous genetic recombination لتحل قطعة الدنا المتكامله او الصحيحه محل قطعة الدنا المتضرره . عند تضاعف جزيئة الدنا الحاويه على ثنائية الثايمين thymine dimmer (lesion) يقوم انزيم بلمرة الدنا بأستئناف عمله اسفل منطقة الضرر فيكون هنالك فسحه في شريط الدنا الجديد مقابل ثنائية الثايمين، وفي الدوره الثانيه من تضاعف الدنا تتكون جزيئتين دنا ، احدهما متكامله والاخرى حاويه على منطقه غير متزاوجه مع القواعد النتروجينيه في منطقة الضرر. ان عملية الاصلاح تتضمن تكوين تلاقيات هولياداي Holliday junctions، الذي يقوم بعملية اعادة التشكيل بين جزيئ الدنا وفيه تستبدل المنطقه غير المتزاوجه unpairing region في جزيئة الدنا المتضرره بتسلسل مماثل من النيوكليوتيدات لشريط الدنا الاصلي من الجزيئه الثانيه. وهكذا يتم الحصول على جزيئتين دنا احدهما حاويه على ثنائية الثايمين وشريط مصحح وراثيا و الجزيئه الاخرى حاويه على فسحه يتم ملأها بواسطة انزيم بلمرة الدنا وانزيم الايكيز

Now also suppose that this molecule is being replicated. **DNA polymerase II** will be unable to correctly copy the thymine dimmer. Rather than stall at this point, it may simply skip over the problem .

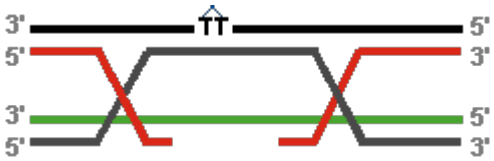


It is now believed that **DNA polymerase II** (**PolII**) reinitiates DNA synthesis downstream of lesions such as thymine dimmers.

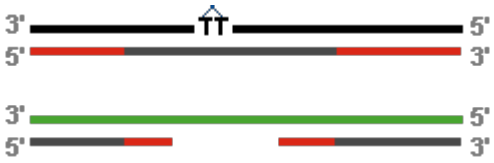
Now, we are left with two daughter molecules, one of which is complete and one of which has an unpaired region containing a thymine dimmer.



This cannot be repaired by the usual repair systems. However, the exposed ssDNA can be bound by the **RecA** protein which can then catalyse strand exchange with the correctly synthesized daughter molecule.



This intermediate contains two **Holliday junctions** which can be cleaved (resolved) by the Ruv proteins to give .



One daughter molecule still contains the thymine dimmer but the opposite strand has the correct genetic sequence. The other daughter now contains a gap but this gap can be repaired correctly by the usual repair systems

Proteins Involved in DNA Replication in *E. coli*

Protein	Gene	Function
DnaA	*dnaA*	Initiation of chromosome division; binds to the origin of replication
Helicase	*dnaB*	Unwinds the double helix
DnaC	*dnaC*	Loading of DNA helicase
SSB	*ssb*	Single strand binding protein
Primase	*dnaG*	Synthesis of RNA primers
RNase H	*rnhA*	Partial removal of RNA primers
Pol I	*polA*	Polymerase I; fills gaps between Okazaki fragments
Polymerase III	-	DNA polymerase III holoenzyme
α	*dnaE*	strand elongation
ε	*dnaQ*	kinetic proof-reading
θ	*holE*	unknown; part of core enzyme
β	*dnaN*	sliding clamp
τ	*dnaX*	dimerization of core enzyme
γ	*dnaX*	loading of sliding clamp
δ	*holA*	loading of sliding clamp
δ	*holB*	loading of sliding clamp
χ	*holC*	loading of sliding clamp
ψ	*holD*	loading of sliding clamp
DNA Ligase	*lig*	Seals nicks in lagging strand
DNA Gyrase	-	Introduces negative supercoils
α	*gyrA*	Makes and seals double strand breaks in DNA
β	*gyrB*	ATP-using subunit
Topoisomerase IV	-	Decatenation
A	*parC*	Makes and seals double strand breaks in DNA
B	*parE*	ATP-using subunit

NOTES:

1 - **Core enzyme** The part of DNA or RNA polymerase that synthesizes new DNA or RNA (i.e. lacking the recognition and/or attachment subunits) .

2 - **Kinetic proofreading** Proofreading of DNA that occurs during the process of DNA synthesis .

3 - **Sliding clamp** Subunit of DNA polymerase that encircles the DNA, thereby holding the core enzyme onto the DNA .

4 - **Mismatch** Wrong pairing of two bases in a double helix of DNA .

5 - **Mismatch repair** DNA repair system which recognizes and corrects wrongly paired bases .

6 - **Okazaki fragments** The short pieces of DNA that make up the lagging strand .

7 - **PriA** Protein of the primosome that helps primase bind .

8 - **Primase** Enzyme that starts a new strand of DNA by making an RNA primer .

9 - **Primosome** Cluster of proteins (including PriA and primase) that synthesizes a new RNA primer during DNA replication .

10 - **Gap** A break in a strand of DNA or RNA where bases are missing .

11 - **Nick** A break in the backbone of a DNA or RNA molecule (but where no bases are missing) .

12 - **Ribonuclease H (RNase H)** Enzyme that degrades the RNA strand of DNA:RNA hybrid double helixes. In bacteria it removes the major portion of RNA primers used to initiate DNA synthesis.

13 - **DnaA protein** Protein that binds to the origin of bacterial chromosomes and helps initiate replication .

14 - **Initiation complex (for replication)** Assemblage of proteins that binds to the origin and initiates replication of DNA .

15 - **Nick translation** The removal of a short stretch of DNA or RNA, starting from a nick, and its replacement by newly made DNA .

16 - **Origin of replication** Site on a DNA molecule where replication begins

17 - **Replicon** Molecule of DNA or RNA that contains an origin of replication and can self-replicate .

18 - **Exonuclease** Enzyme that cleaves nucleic acid molecules at the end and usually removes just a single nucleotide .

19 - **Cytokinesis** Cell division .

20 - **DNA polymerase** α Enzyme that makes short segment of initiator DNA during replication of animal chromosomes .

21 - **DNA polymerase** d Enzyme that makes most of the DNA when animal chromosomes are replicated .

22 - **Initiator DNA (iDNA)** Short segment of DNA made just after the RNA primer during replication of animal chromosomes .

23 - **PCNA protein** The sliding clamp for the DNA polymerase of eukaryotic cells (PCNA = proliferating cell nuclear antigen)

24 - **Replication factor C (RFC)** Eukaryotic protein that binds to initiator DNA and loads DNA polymerase δ plus its sliding clamp onto the DNA .

25 - **DNA polymerase** δ Enzyme that makes most of the DNA when animal chromosomes are replicated .

8

الشفرة الوراثية وعملية صنع البروتين Genetic Code and protein synthesis

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

تمتاز الشفرة الوراثية بما يلي:

1- **التخصص Specificity** : وتعني أن الشفرة الوراثية التي تشفر لحامض أميني معين لا يمكن أن تشفر لحامض أخر فعلى سبيل المثال الشفرة الوراثية UUU تشفر للحامض الاميني فنيل الأنين لكنها لا يمكن أن شفر لأي حامض أخر .
2- **العمومية Universality** : وتعني أن الشفرة الوراثية تكون متشابه عند كل الأحياء حقيقية وبدائية النواة مع بعض الاستثناءات أي أن 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 لا تشفر 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 لأي حامض الاميني (Stop codon) .

3- **الوفرة أو الترهل Redundancy :** وتعني ان الحامض الاميني ممكن ان تشفر له أكثر 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

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

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 Ribosome structure in eukaryotic and prokaryotic organisms

بصوره عامه يتكون الرايبوسوم من وحدتين هم الصغيرة Small subunit و الكبيرة Large subunit وهذه الوحدات تتكون من بروتينات وأحماض نوويه رايبوسوميه rRNA وتختلف في حقيقة النواة عما في بدائية النواة وكما موضح بالشكل أدناه:

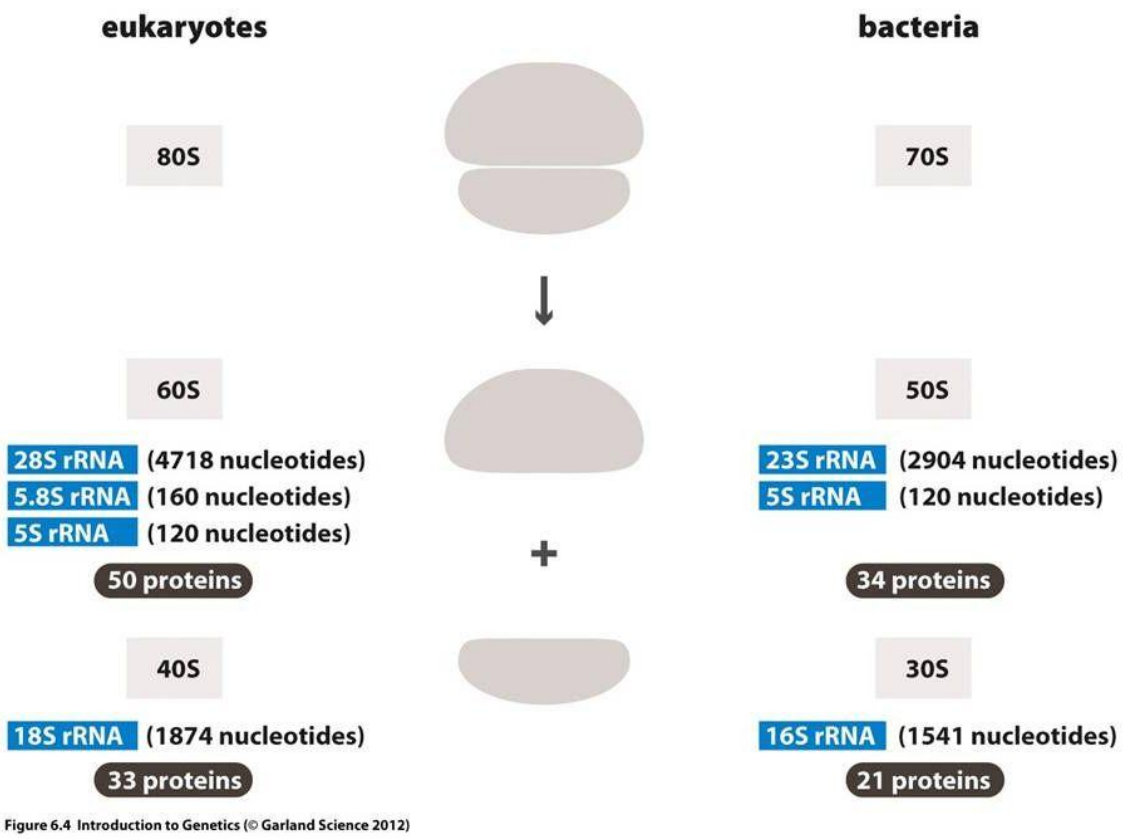


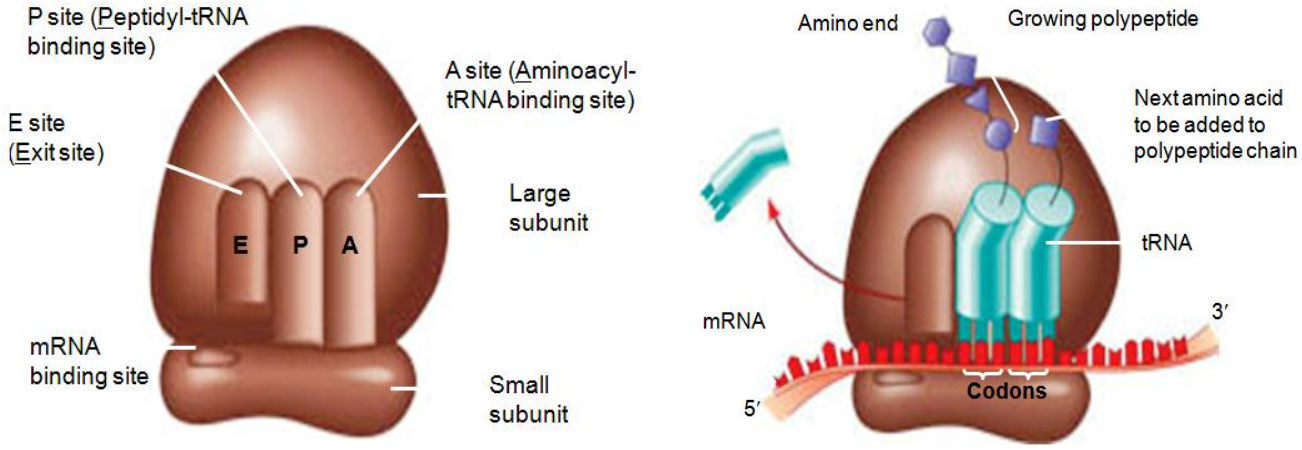
Figure 6.4 Introduction to Genetics (© Garland Science 2012)

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 الأحماض الامينية التي سبقته.وكما مبين أدناه

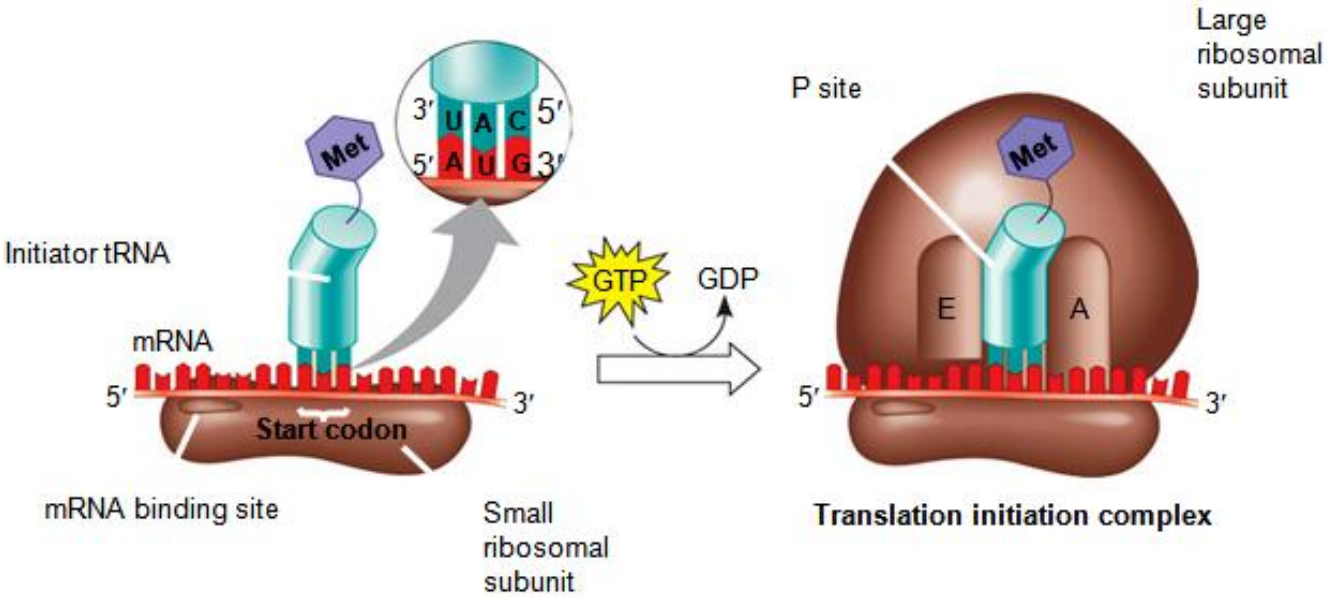
(A site) Aminoacyl-tRNA Binding site الموقع الذي يتموضع به tRNA المحمل بالحامض الاميني الجديد المنفرد. وكما مبين ادناه



عملية صنع البروتين Protein Synthesis (Translation) :

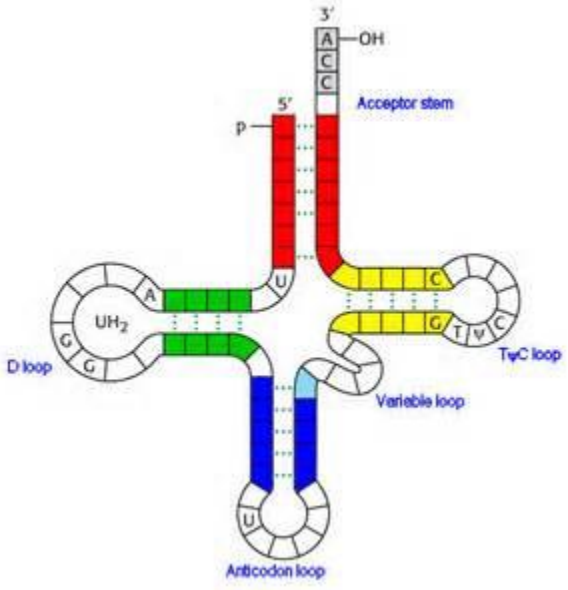
تحدث هذه العملية في منطقة السايتوبلازم في كل من حقيقية وبدائية النواة وتكتمل على ثلاث مراحل وكما يلي:

1- 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 الأحماض اللاحقة). بعد ذلك ترتبط الوحدة الكبيرة لتكوين معقد البدء ومن الجدير بالذكر انه هنالك بروتينات تساعد حدوث هذه العملية وتسمى مجتمعة بـ Initiation Factors (IF) وكما موضح بالشكل ادناه:

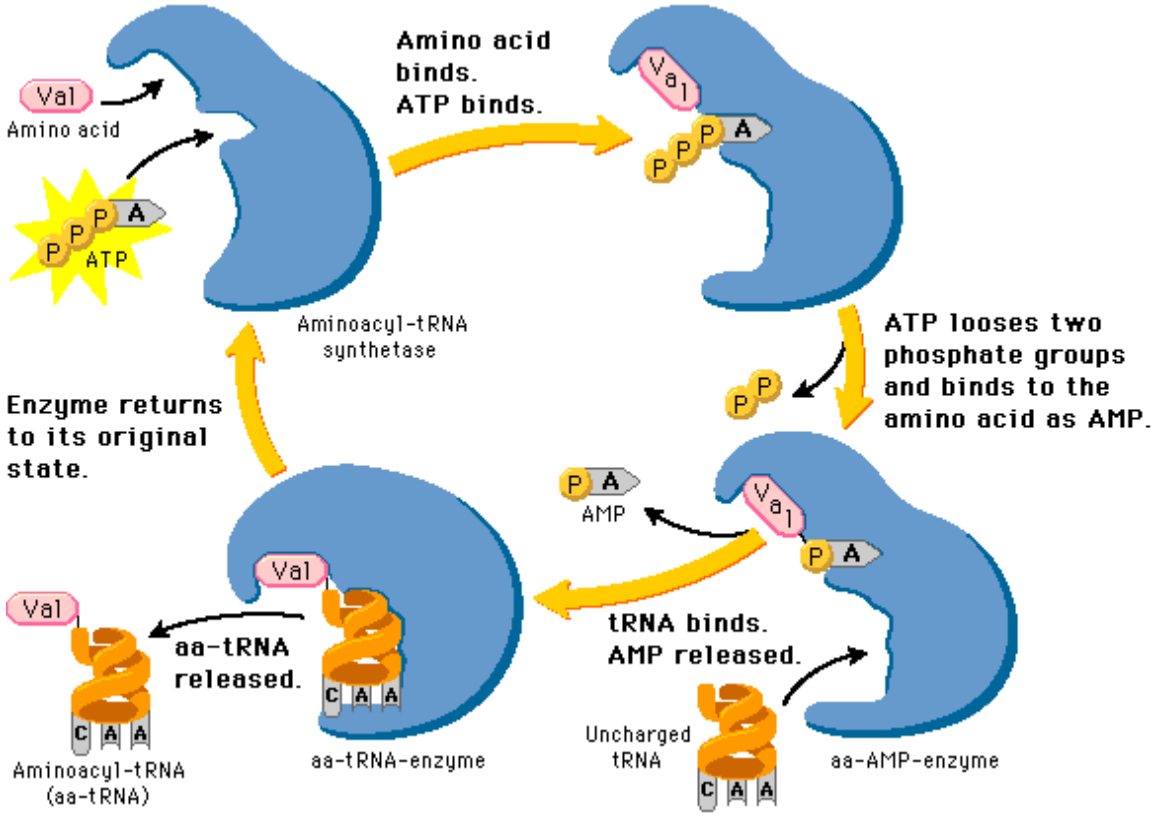


كيف يتم تحميل الحامض الاميني على الـ tRNA ؟

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:

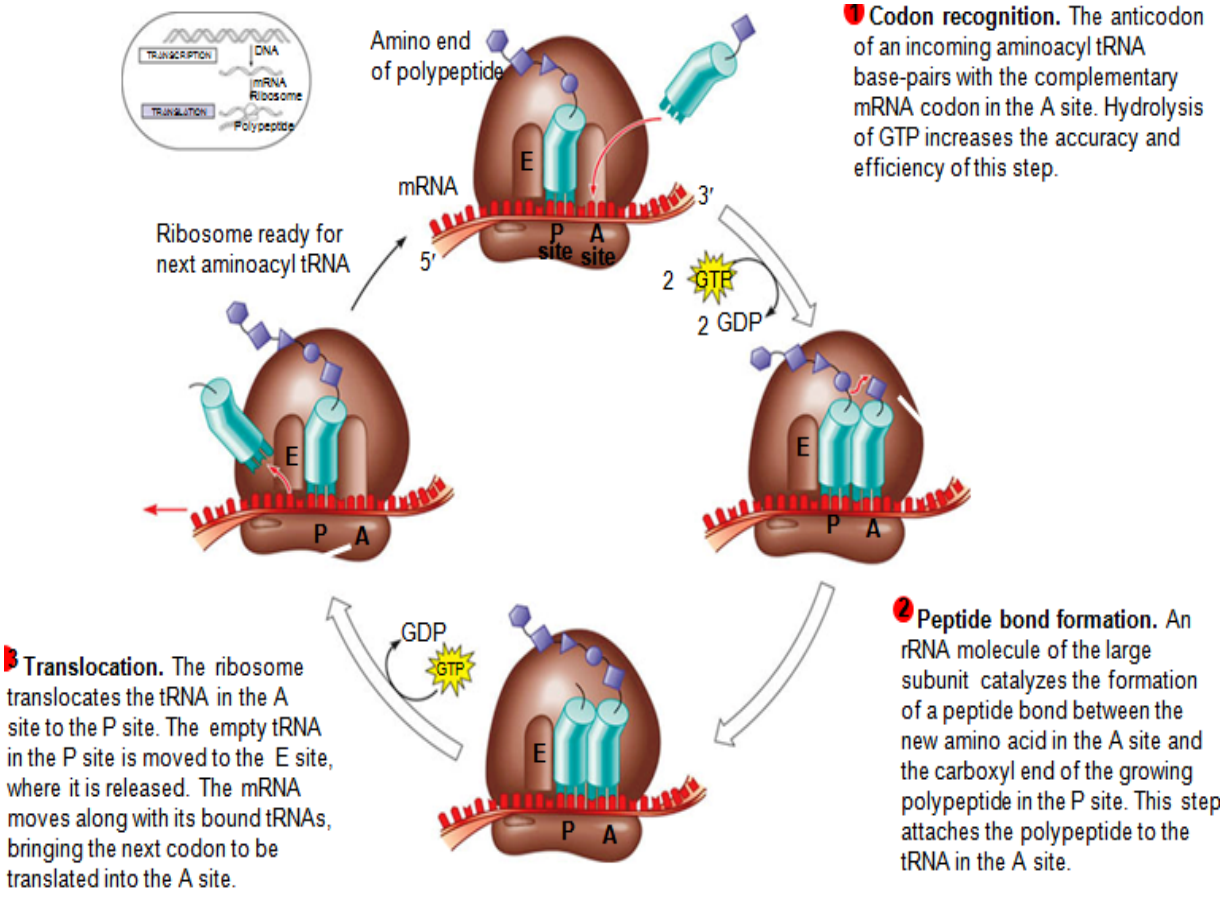


يتم تحميل الـ tRNA بالحامض الاميني بواسطة الأنزيم aminoacyl-tRNA synthetase وكما مبين بالشكل ادناه:

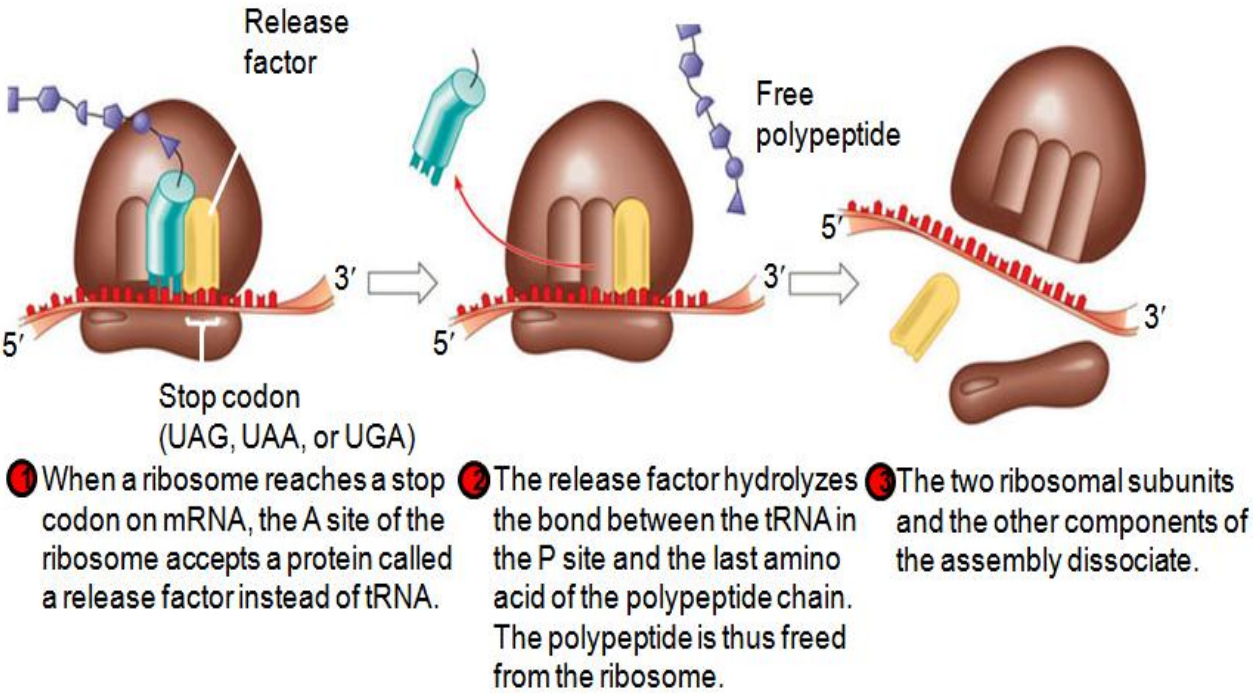


2- مرحلة الإطالة Elongation : بعد تموضع الـtRNA الثاني في الموقع A سوف تبدا عملية ربط الحامض الاميني السابق (الأول) بالحامض الاميني اللاحق (الثاني) من خلال تكوين أصره ببتيديه بينهما وبالتالي يكون الـ tRNA الثاني محمل بالحامض الاميني الأول

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:



3- 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
1	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)
4	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)
5	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
6	عدد المناطق المشفره في Coding region of mRNA	واحده لكل mRNA يسمى monocistronic mRNA	متعدده ولذلك يسمى Polycistronic mRNA

Notes :

1 - **Transcription** Process by which information from DNA is converted into its RNA equivalent .

2 - **Cistron** Segment of DNA (or RNA) that encodes a single polypeptide chain .

3 - **Housekeeping genes** Genes that are switched on all the time because they are needed for essential life functions.

4 - **Open reading frame (ORF)** Sequence of bases (either in DNA or RNA) that can be translated (at least in theory) to give a protein .

5 - **Structural gene** Sequence of DNA (or RNA) that codes for a protein or for an untranslated RNA molecule .

6 - **Monocistronic mRNA** mRNA carrying the information of a single cistron, that is a coding sequence for only a single protein .

7 - **Operon** A cluster of prokaryotic genes that are transcribed together to give a single mRNA (i.e. polycistronic mRNA) .

8 - **Polycistronic mRNA** mRNA carrying the information of multiple cistrons, that is coding sequences for several proteins .

9 - **Promoter** Region of DNA in front of a gene that binds RNA polymerase and so promotes gene expression .

10 - **Core enzyme** Bacterial RNA polymerase without the sigma (recognition) subunit .

11 - **Pribnow box** Region of bacterial promoter 10 bases back from the start of transcription that is recognized by RNA polymerase .

12 - **sigma subunit** Subunit of bacterial RNA polymerase that recognizes and binds to the promoter sequence .

13 - **Transcription bubble** Region where DNA double helix is temporarily opened up so allowing transcription to occur .

14 - **Terminator** DNA sequence at end of a gene that tells RNA polymerase to stop transcribing .

15 - **Rho protein** Protein factor needed for successful termination at certain transcriptional terminators .

16 - **Rho-dependent terminator** Transcriptional terminator that depends on Rho protein .

17 - **Rho-independent terminator** Transcriptional terminator that does not need Rho protein .

19 - **Activator protein** Protein that switches a gene on .

20 – **Constitutive gene** Gene that is expressed all the time .

21 - **Transcription factor** Protein that regulates gene expression by binding to DNA in the control region of the gene .

22 - **Nucleolar organizer** Chromosomal region associated with the nucleolus; actually a cluster of rRNA genes .

23 - **RNA polymerase I** Eukaryotic RNA polymerase that transcribes the genes for the large ribosomal RNAs .

24 - **RNA polymerase II** Eukaryotic RNA polymerase that transcribes the genes encoding proteins .

25 - **RNA polymerase III** Eukaryotic RNA polymerase that transcribes the genes for 5S ribosomal RNA and transfer RNA .

26 - **Enhancer** Regulatory sequence outside, and often far away from, the promoter region that binds transcription factors .

27 - **Initiator box** Sequence at the start of transcription of a eukaryotic gene .

28 - **TATA box** Binding site for a transcription factor that guides RNA polymerase II to the promoter in eukaryotes .