اسم المحاضرة : التعبير الجيني- الاستنساخ

رقم المحاضرة : السادسة

المصادر :

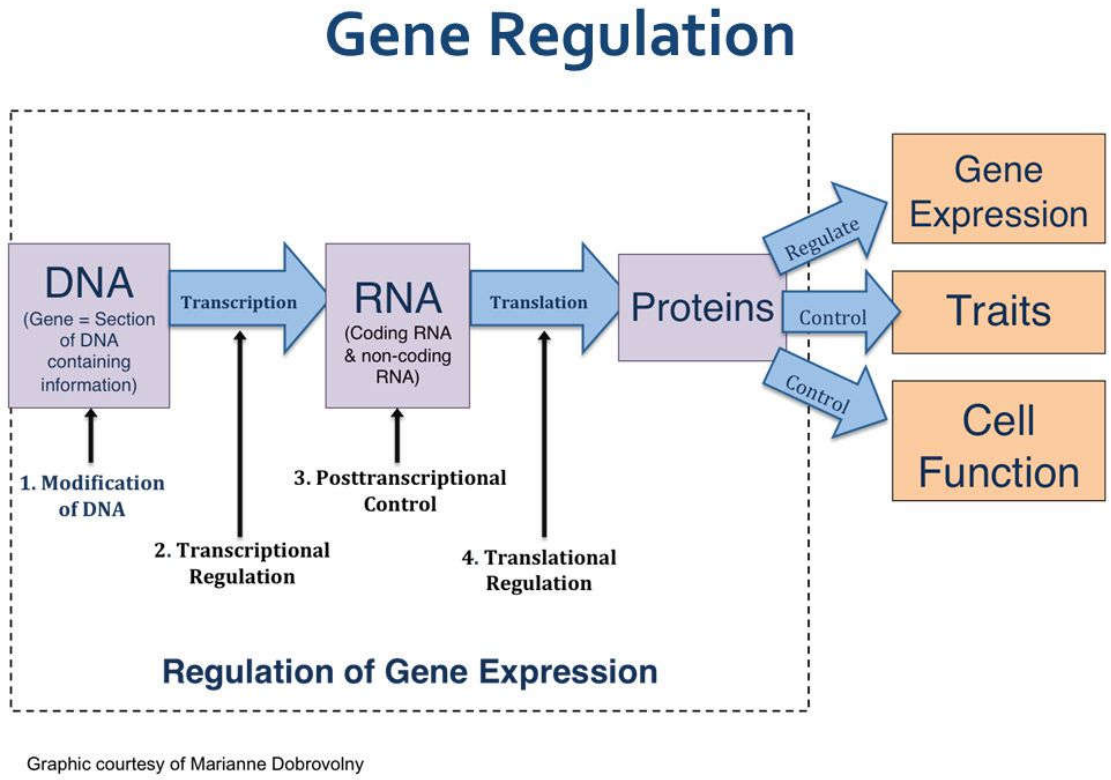
1- **Watson, J.D.; Baker, T.A,; Bell, S.P.; Gann, A. (2004). Molecular Biology of the Gene. 5th Ed. Pearson edution.**
2- **Clark, D. (2006). Molecular Biology Understanding the Genetic Revolution. Elsevier Inc.**
3- **Santos, D.M. (2011). Genetic Engineering, Recent Developments in application. Apple Academic press.**

٤-عماش، هدى صالح مهدي.(١٩٩٤). مبادئ علم الحياة الجزيئي. كلية العلوم . جامعة بغداد.

٥-البكري ، غالب حمزة.(١٩٩٠). مبادئ الهندسة الوراثية. جامعة البصرة.

التعبير الجيني Gene Expression

هي عملية تحويل المعلومات الوراثية المخزونة في الجين على شكل تتابعات من النيوكليوتيدات الى بروتين فعال ذو صفات محددة من خلال عمليتي الاستنساخ Transcription والترجمة Translation. تستنسخ المعلومات الوراثية في الدنا الى mRNA بواسطة انزيم RNA Polymerase وتتم ترجمة المعلومات من شريط mRNA الى بروتين بواسطة الريبوسومات. كما تشمل هذه العملية عددا من عمليات التحوير على البروتين الناتج عن الترجمة وذلك لاعطائه شكله النهائي الفعال.



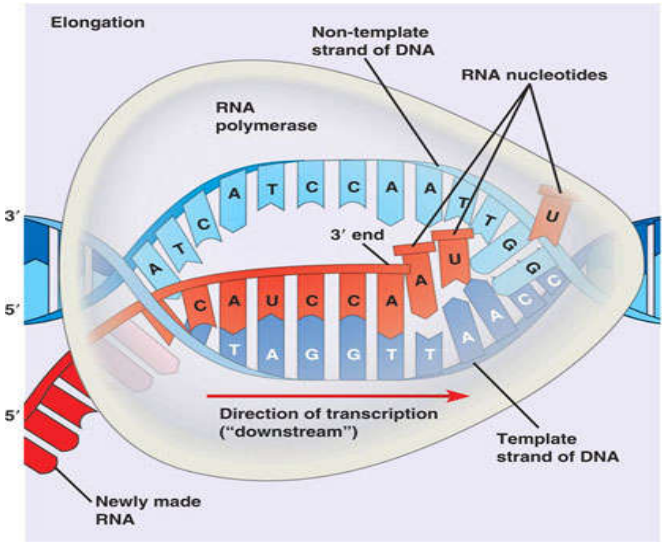
Graphic courtesy of Marianne Dobrovolny

الاستنساخ Transcription

وهو عملية سماح الجينات بتحويل شريط الدنا الى شريط mRNA مع بقاء الجينات على الكروموسوم من دون تغير لتؤمن عملية تكرارها وانتقالها الى الجيل الثاني . حيث يتباعد خيطي الدنا في بداية عميلة الاستنساخ حيث يستخدم احد شريطي الدنا كقالب ويقوم انزيم RNA Polymerase باستنساخ الجين البنائي الى شريط منفرد من mRNA في عملية مشابهة لعملية تكرار الدنا وذلك من خلال اضافته للنيوكليوتيدات إلى خيط mRNA المتكون

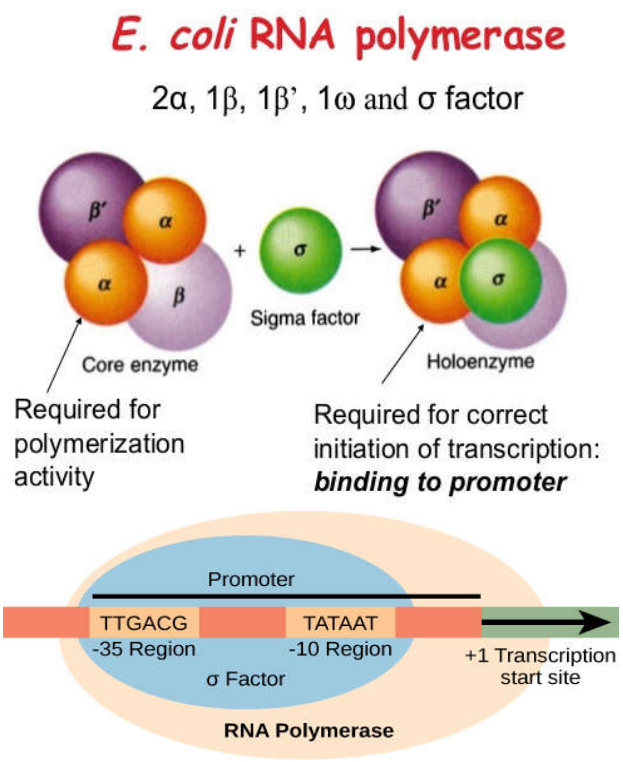
مستخدما احد خيطي الحلزون قالبا للتخليق وحسب قاعدة الازدواج القاعدي ولكن الاختلاف يكون باضافة اليوراسيل بدولا من الثايمين مقابل كل ادنين في قالب الدنا

تتم عملية الاستنساخ الدنا في شريط **mRNA** باتجاه **5** ←——— **3'** . شريط الدنا الذي يتم يكون حامل للشفرة الوراثية هو الشريط الحساس **sense strand** والخيط المقابل يسمى بـ **anti sense strand**. الذي يكون قالبا للشريط الحساس. ويتم الاستنساخ بمعدل (٤٠-٥٠) نيوكليوتيدة في الثانية الواحدة وتنتهي عملية الاستنساخ عند وصول إنزيم RNA Polymerase الى منطقة الفاصل او نهاية الجين . تتشابه عملية تكوين **mRNA** وعملية تكرار الدنا مع وجود بعض الفروقات بينهما.



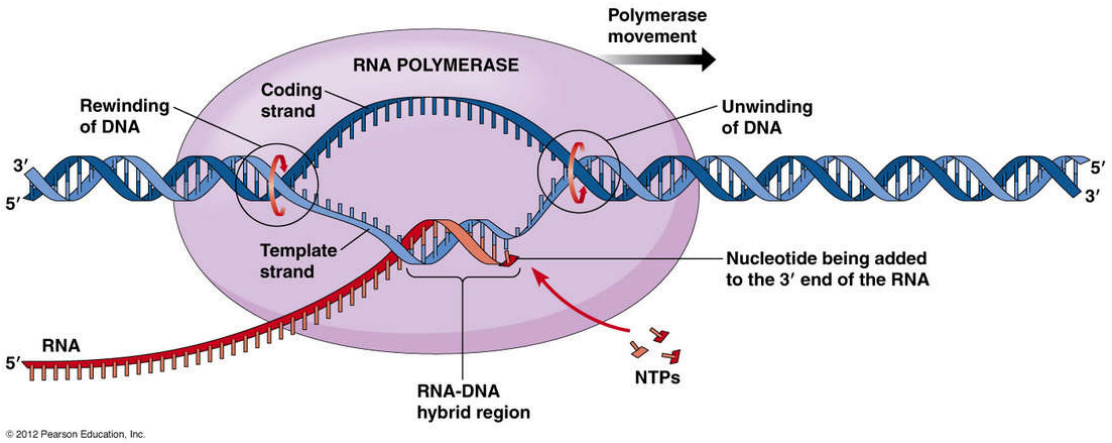
تكون جزيئة انزيم **RNA polymerase** معقدة التركيب، وتكون صيغته الفعالة بشكل يسمى بـ **Holoenzyme** وتحتوي على خمس سلاسل ببتيدية هي : بيتا **β** وبيتاَ **β'** وسلسلتين الفا **2 α** وسكما **σ** و اوميغا **Ω** . تتجمع مع بعضها باواصر ثانوية ، ويكون وزنه الجزيئي ٤٥٠ الف دالتون. تتم عملية الاستنساخ بتعرف إنزيم بوليميريز الرنا بالتعرف على تعاقب معين هو الـ **promoter** والجزء الذي يقوم بالتعرف على البوروموتر الصحيح هو الجزئية سيكما اذ بغيابه يتم التعرف على تعاقب غير صحيح من الدنا ويكون ارتباط الانزيم بالدنا ضعيف مما يؤدي الى عدم استنساخ الجين بشكل صحيح. يبدأ اتحاد إنزيم بوليميريز الرنا بالحلزون المزدوج من منطقة -٣٥ ويبدا الانزيم بفتح شريط الدنا من منطقة -١٠ ويبدا عملية الاستنساخ من منطقة (+١) . يغطي ارتباط انزيم بلمرة الرنا ٦٠ زوج قاعدي من شريط **DNA** ويكون حجم المنطقة التي

يكون فيها شريطي الدنا متباعدين عن بعضهما (شريط منفرد) تبلغ ١٧ زوج قاعدي اللازمة لاتمام عملية الاستنساخ وتسمى هذه المنطقة ببالون الاستنساخ **Transcription Bubble** ، ومما يساعد على الانفتاح ان منطقة ـ١٠ تكون غنية بالقواعد **AT** .

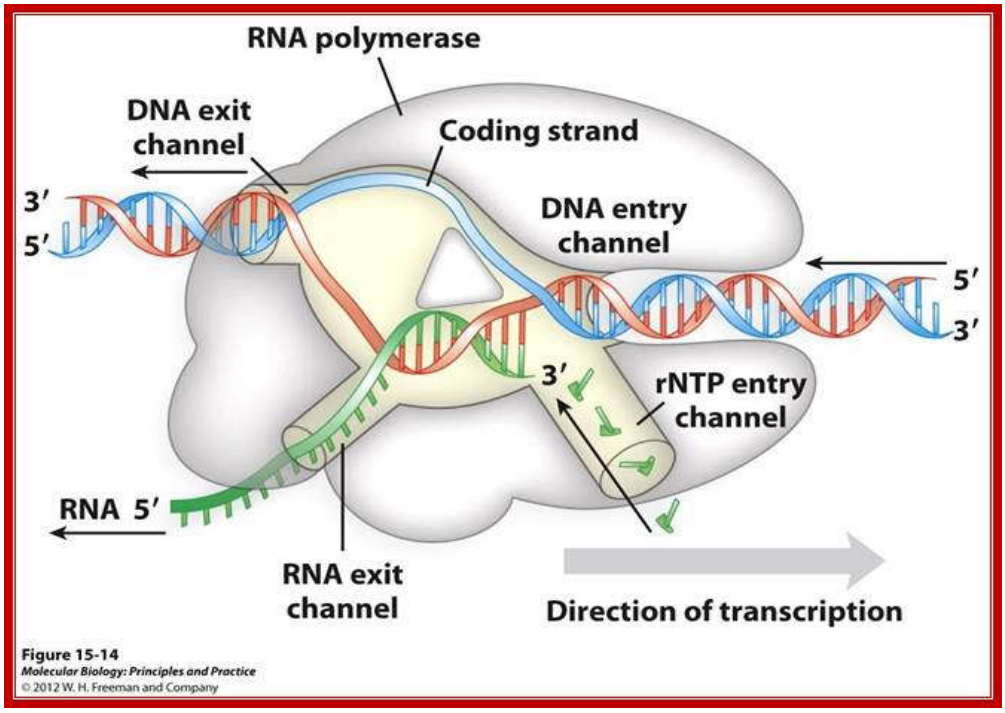


يستطيع انزيم بلمرة الرنا من اضافة النيوكليوتيدات الاولى إلى القالب بدون استخدام او الحاجة إلى البوادئ حيث يقوم باضافة اول نيوكليوتيدين وربطهما بالاصرة الفوسفاتية ثنائية الايستر **phosphodiester bond** . بعدها اول ٩ نيوكليوتيدات تتم اضافتها إلى شريط **mRNA** تتم بدون ان يتحرك الانزيم على قالب الدنا وعندها سوف يتكون معقد يطلق عليه **Ternary complex** (شريط الدنا القالب و انزيم بلمرة الرنا وشريط **mRNA**) تنتهي عندها مرحلة بداية الاستنساخ.

تبدا بعدها مرحلة الاستطالة عندها تبدا سلسلة الـ **mRNA** بالاستطالة وذلك باضافة القواعد النيتروجينية إلى السلسلة اعتمادا على قالب الدنا، ينفصل الجزء سكما من الانزيم تاركا الانزيم بدونه ويسمى الانزيم في هذه الحالة بـ **core enzyme** و تكون جزيئة سكما حرة وبامكانها البحث عن انزيم بلمرة رنا اخر للاتحاد معه وتحويله من **core enzyme** إلى **Holoenzyme** للبدء بعملية استنساخ جديدة.



يستمر انزيم بلمرة الرنا بحركته على قالب الدنا بعد انفصال جزيئة سكما عنه، مسببا بانفتاح الحرزون المزدوج واستطالة شريط **mRNA** ، يتحد الانزيم بهذه الحالة مع بروتين اخر يسمى **Nus A protein** ويبقى متحدا معه طيلة فترة تكوين شريط **mRNA** لزيادة ارتباط انزيم **RNA polymerase** مع القالب والتعرف على الفاصل لانهاء عملية الاستنساخ. وكلما انتهى الانزيم من منطقة معينة فان هذه المنطقة تعود فتلتف خلفه معيدة شكل الحلزون المزدوج الاصلي لها . بحيث تبقى المنطقة المفتوحة بمقدار ١٧ قاعدة فقط .



يستمر انزيم بلمرة الرنا بعملية استطالة شريط **mRNA** إلى ان يصل إلى منطقة تتابع الانتهاء **terminator sequence** (اشارة الانتهاء **stop signal**) في نهاية الجين البنائي الذي يتم استنساخه. تكون معظم تتابعات الانتهاء على شريط **mRNA** غنية بال **G** و **C** التي تتكامل

مع بعضها لتكوين تركيب انشوطة الدبوس **Hairpin** في نهاية شريط الرنا الرسول ، يلي هذا التركيب تتابع من اربع قواعد يوراسيل او اكثر . يعمل تركيب انشوطة الدبوس وتتابع **U** على ايقاف عمل انزيم بلمرة الرنا لكونه لا يستطيع استطالة السلسلة ويشمل كذلك انفصال الانزيم عن بروتين **Nus A** من ثم انفصاله عن شريط الدنا القالب.

قد تتطلب عملية انفصال انزيم بلمرة الرنا عن شريط الدنا القالب في بعض الحالات وجود بروتين يسمى عامل **Rho** (**ρ factor**) وهو بروتين مؤلف من ٦ وحدات ثانوية والذي يساهم في عملية انهاء عملية الاستنساخ عن طريق الارتباط مع شريط الرنا الرسول المستنسخ ويعمل على فك ارتباط انزيم البلمرة عن شريط الدنا باستخدام جزيئة **ATP** .

تسمى العملية التي تحتاج العامل **Rho** بـ **Rho dependent** اما عملية انهاء الاستنساخ التي لا تحتاج إلى العامل **Rho** بـٌ **Rho independent** .

الاستنساخ في الكائنات حقيقية النواة

يحدث الاستنساخ في الخلايا حقيقة النواة بطريقة مشابهة لما يحدث في بدائية النواة الا نا الاختلاف يكمن في طبيعة جزيئة الدنا وان اهناك اكثر من نوع من انزيمات بلمرة الرنا في الخلايا حقيقة النواة .

تحوي الخلايا حقيقة النواة على ثلاث انواع من انزيمات بلمرة الرنا وهي :-

١- **RNA polymerase 1** : يشكل ٥٠ – ٧٠ % من **RNA** الخلية ويساهم في استنساخ **rRNA** الرئيسية (**28S , 18 S , 5.8 S**).
٢- **RNA polymerase 2** : يساهم هذا الانزيم في استنساخ **mRNA** .
٣- **RNA polymerase 3** : يساهم هذا الانزيم في استنساخ **5 S rRNA** و **tRNA** . ويشكل ١٠ % من رنا الخلية.

وجد العلماء ان ترتيب الجينات في الكائنات حقيقة النواة يختلف عن ترتيب الجينات في الكائنات بدائية النواة .حيث يتكون الدنا في حقيقة النواة من مناطق تسمى **Intron** ومناطق اخرى تسمى **Exon** .حيث تكون الاوكسونات هي التتابعات التي تحمل الصفات الوراثية والتي تشفر لانتاج البروتينات اما الانترونات فهي عبارة مقاطع جينية لاتحمل اي صفة وراثية . تختلف اعداد

واطوال الاوكسونات من نوع الى نوع اخر وفي خلايا النوع الواحد وخلايا الانسجة المختلفة في نفس الكائن الحي .

ويتم الاستنساخ الجين بصورة كاملة اثناء عملية الاستنساخ الى شريط **mRNA** يسمى **Primary mRNA** بعدها يتم استئصال قطع الانترونات من شريط الـ **mRNA** بعملية تسمى **Splicing** وحذفها من شريط **RNA** بعدها يتم لصق قطع **mRNA** المتبقية لتكون شريط ال **mRNA** الناضج **mature mRNA** ، ليخرج بعدها هذا الشريط الى السايتوبلازم لإكمال عملية التعبير الجيني وانتاج البروتين بعملية الترجمة .