(المحاضرة الثانية)

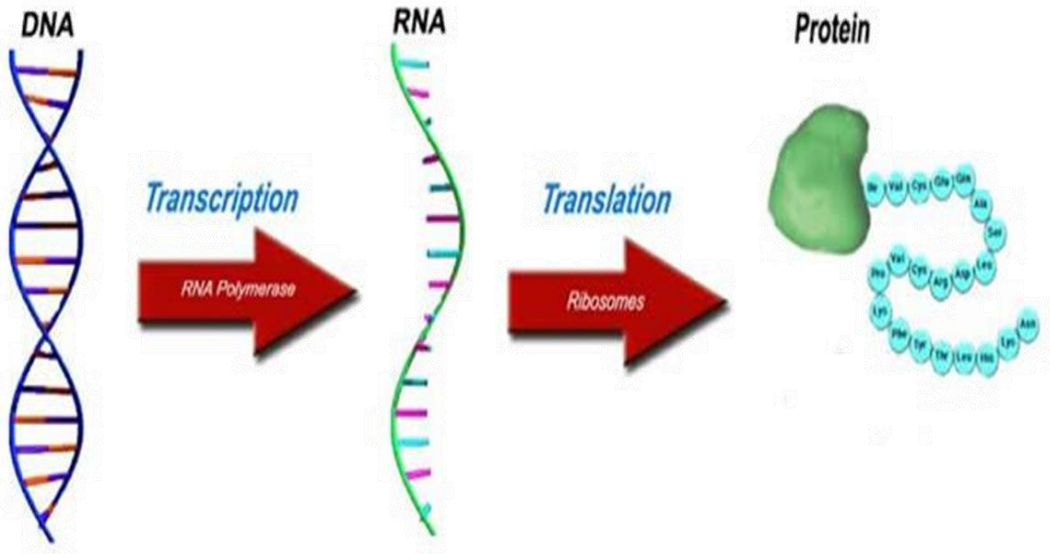
الاستنساخ والترجمة

الاستنساخ والترجمة

وهو المبدأ الذي يرتكز عليه علم الأحياء الجزيئي وتتضمنعملية بناء البروتين من خلال خطوتي الاستنساخ والترجمة والتي من خلالها يتم تعبير المعلومات الموجودة في الDNA وكما موضح فيما يلي:

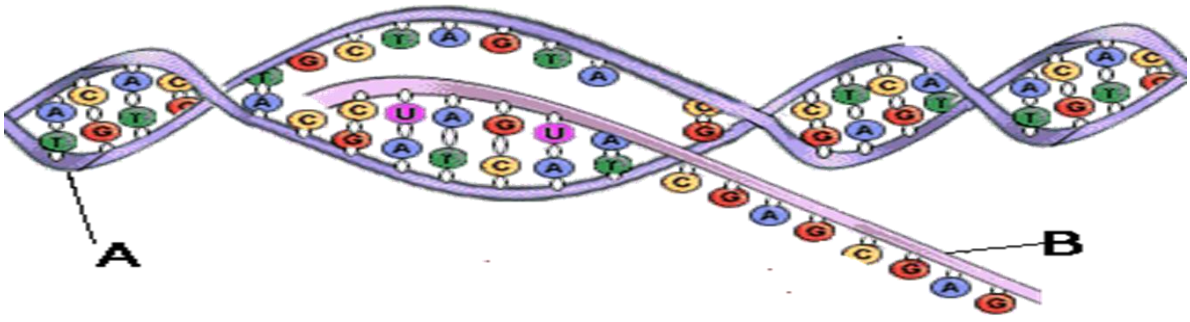
1-النسخ: Transcription وهذه العلمية تستلزم تكوين جزئ الmRNA لجين معين باستخدام - template DNA كقالب

2-الترجمة (Translation) وهي عبارة عن استخدام المعلومات الوراثية في الـ RNAالمتكون (المنسوخ) لبناء البروتين.



الاستنساخ Transcription النسخ : هي عملية نقل المعلومات الوراثية من الـ DNA الخاص بجين معين في النواة إلى mRNA وفقا لقانون تزاوج القواعد، حيث يبنى جزئ RNA الخاص بجين معين من DNA كما في المثال التاليDNA: GCG TAG CTG ATC

mRNA: CGC AUC GAC UAG



• يتكون RNA من سلسلة مفردة بعكس DNA وتعتبر سلاسل RNA قصيرة جدا مقارنة بجزئ DNA ، جزئ • حيث تمثل كل سلسلة من RNA تتابعات خاصة بجين واحد فقط في حقيقة النواة Eukaryote ، أو بمجموعة جينات تربطها علاقة وظيفية مشتركة سلالسل وذلك في بدائية النواة Prokaryote فمن المعروف وجود ثلاثة انواع من RNA • وهي الرسول mRNA والريبوسومي rRNA والناقل tRNA ويقوم كل منهم بدور محدد في عملية الترجمة وبناء البروتين.

بناء جزئ RNA على قالب الـ DNA

تم إكتشاف الأنزيم المسؤول عن بناء جزئ RNA وهو أنزيم بلمرة الـ RNA Polymerase RNA والذي يعمل على ربط الريبونيوكليوتيدات ببعضها من خلال تكوين رابطة' 5' 3 فوسفو داي استر بينها وهذ ا الأنزيم لا يمكن أن يعمل إلا في وجود قالب من الـ DNA في صورة سلسلة مفردة ـ

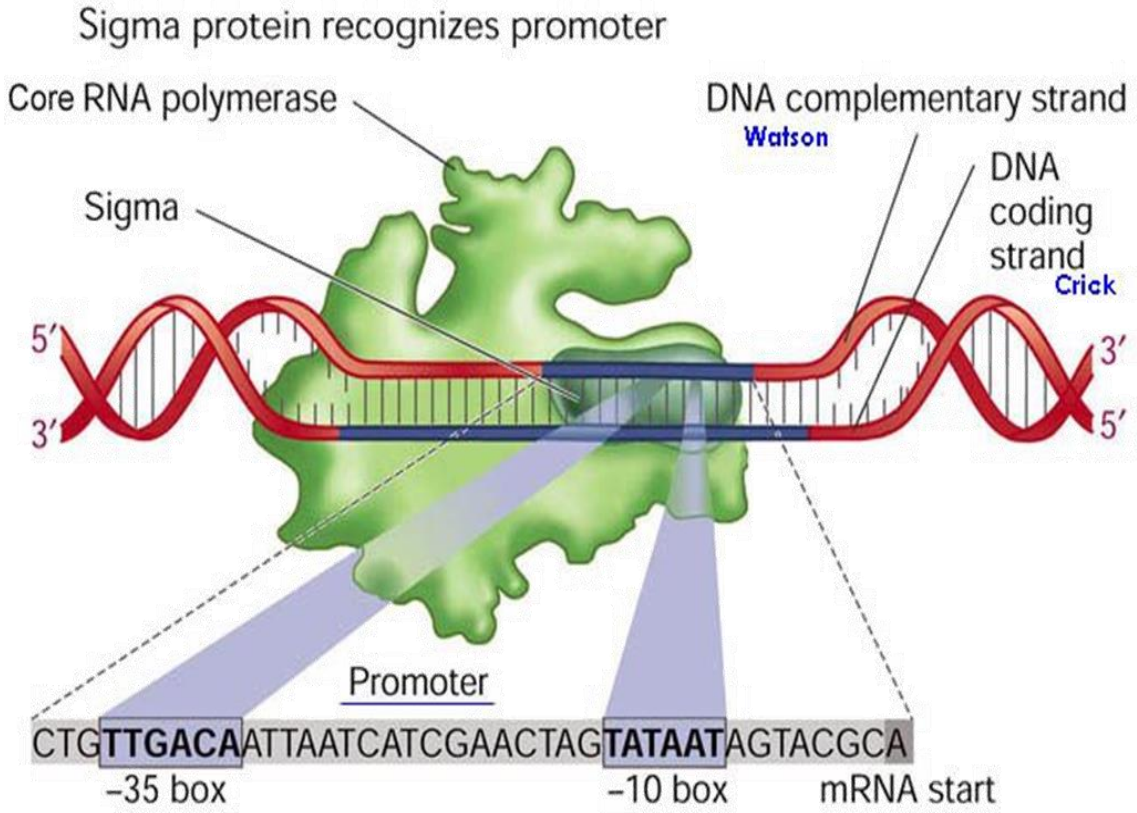
ويتم اختيار سلسلة واحدة دائما من الـ DNA للعمل كقالب للبناء •

يكون اتجاه البناء دائما 3’→5’

لا يتطلب انزيم بناء RNA وجود بادئ

دور البروموترpromoter في عملية النسخ

تبدأ عملية النسخ عندما يتحد انزيم بلمرة الـ RNA بالـ DNAفي موقع يطلق عليه البروموتر promoter site وهو تتابعات نيوكليوتيدية تسبق الجين ، والبروموتر يكون حر اً فقط عندما تكون الخلية بحاجة للجين وعندما لا تحتاج الخلية للجين فإن منطقة البروموتر تكون مرتبطة ببروتينات معينة تمنع عملية النسخ، وهذه إحدى آليلات التحكم في تعبير الجين.



دور البروموتر promoter في عملية الاستنساخ

يحتوي البروموتر على تتابعات نيوكليوتيدية ثابتة ومحفوظة لكل الكائنات مثل:

1- تتابعTATAAT التي تقع على بعد 10نيوكليوتيدات قبل بداية الجين - 10

2- تتابع TTGACA التي تقع على بعد 35نيوكليوتيدة قبل بداية الجين -35

يتعرف انزيم بناء الـ RNA على هذه التتابعات ويرتبط بها لتبدأ عملية النسخ

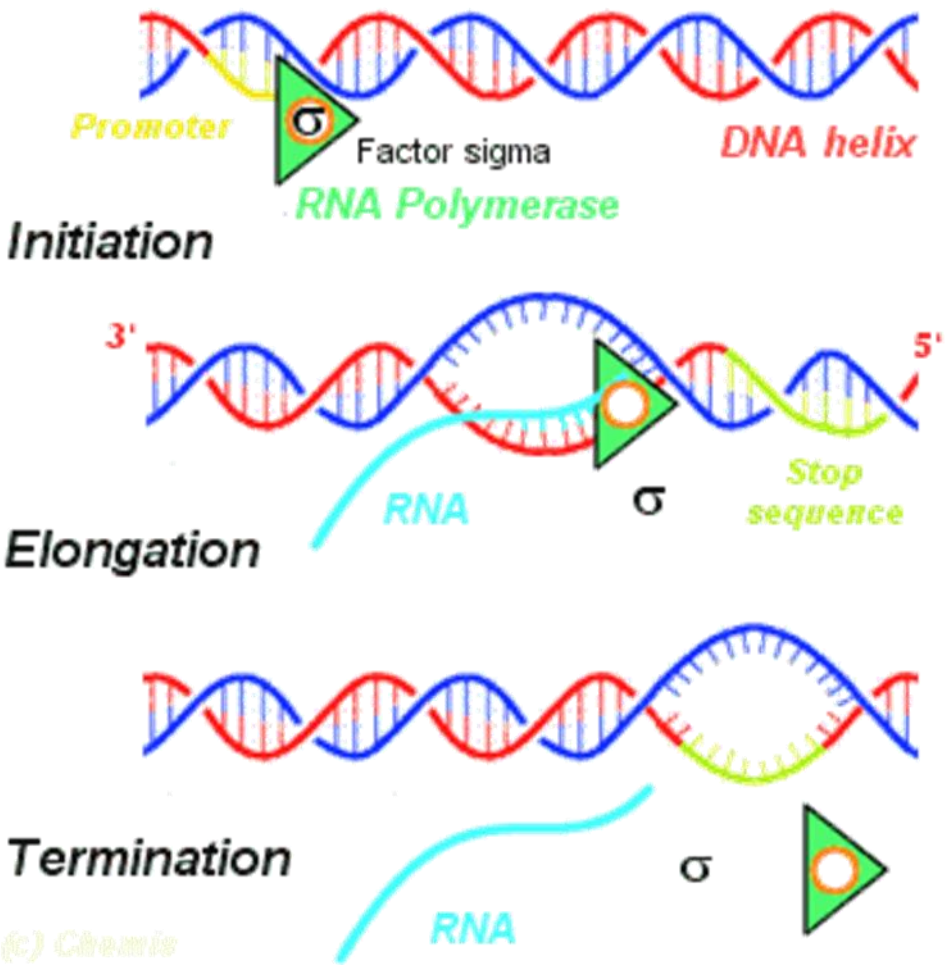
مقارنة بين منطقة البروموتر في عدة جينات

يتطلب النسخ وجود كل من :

1- الريبونيوكليوتيدات الأربع AوU وC وG

2-أنزيم بناء الـ RNA RNA polymerease

3- خيط DNA مفرد السلسلة وتكون منطقة البروموتر حرة وقابلة للارتباط مع انزيم البلمرة



مراحل عملية النسخ:

1-الإبتداء Initiation 2 الاستطالةElongation

3-الانـهاءTermination

مراحل عملية النسخ – :Transcription

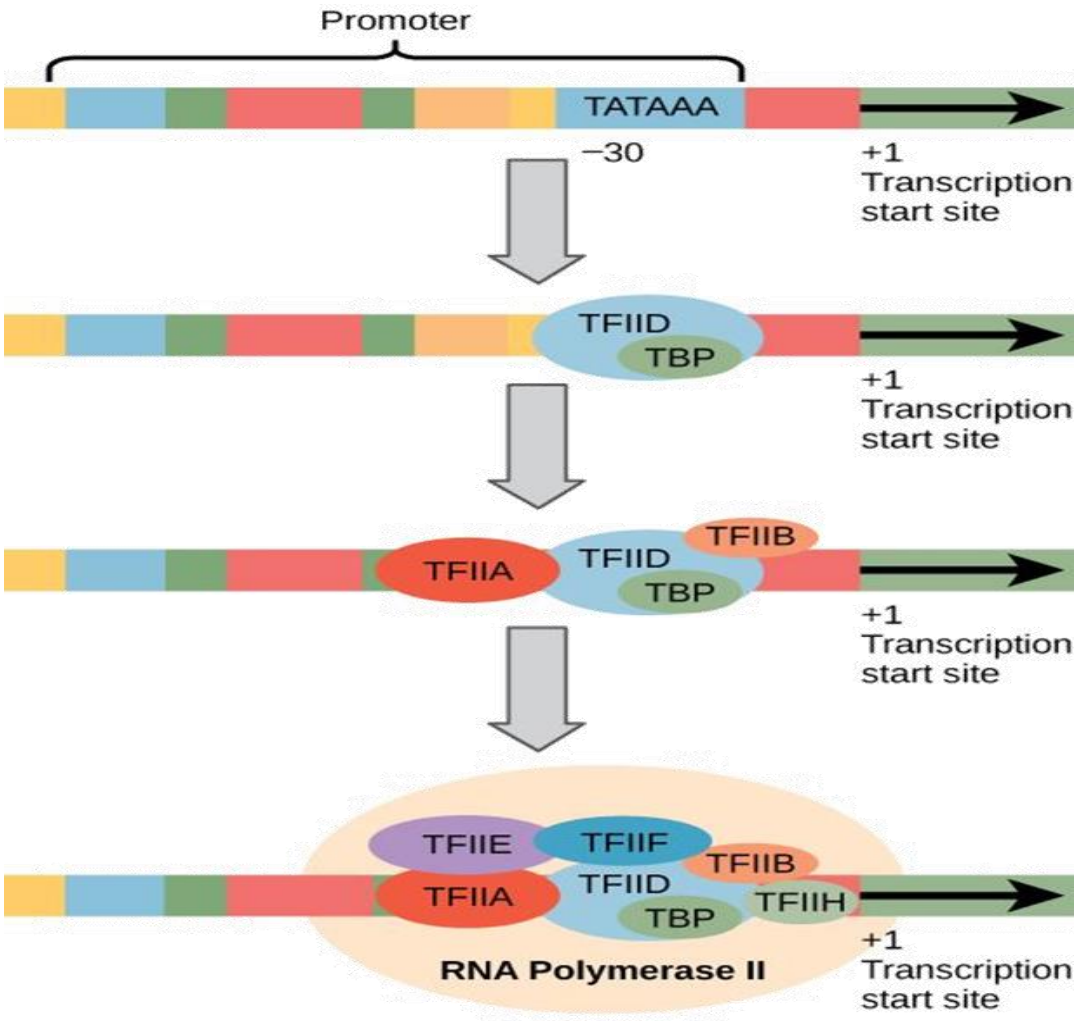
1-الإبتداء Initiation -يتعرف انزيم بناء الـ عملية النسخ بالبروموتر على تتابعات البروموتر ويرتبط بها لتبدأ– RNA RNA عملية النسخ

2- تتدخل عدة بروتينات في تسهيل ارتباط انزيم بناء الـRNA بالبروموتر تسمى عوامل النسخTranscription factors

3- بعيد عملية الاتصال بالبروموتور promoter site فإن انزيم RNA polymerase، يبدأ ببناء mRNA بإضافة النيوكليوتيدات الحرة ابتداًء من النيوكليوتيدة الأولى في الجين رقم1.

Transcription Factorعوامل النسخ

عوامل النسخ: هي بروتينات ترتبط بتتابعات محددة على البروموتر تنظم نسخ الجين ، من من خلال التنشيط (تعزيز ارتباط انزيم RNA polymerase بمنطقة البروموتر) او الكبح (منع انزيم RNA polymeraseمن الارتباط بمنطقة البروموتر) بحيث تمنع او تسمح بنسخ الجين.



2-الاستطالة Elongation

بعيد عملية الاتصال بالبروموتر promoter site فإن انزيم RNA polymerase يبدأ ببناء mRNA بإضافة النيوكليوتيدات الحرة منتقلا على طول خيط الـDNA القالب حتى يصل إلى مكان النهاية termination site .

3-الانهاء termination

عندما يصل انزيم بناء RNA إلى مكان النهاية فإنه يتعرف على تتابعات معينة تشير لنهاية الجين، يتوقف حينها عن إضافة النيوكليوتيدات وينفصل

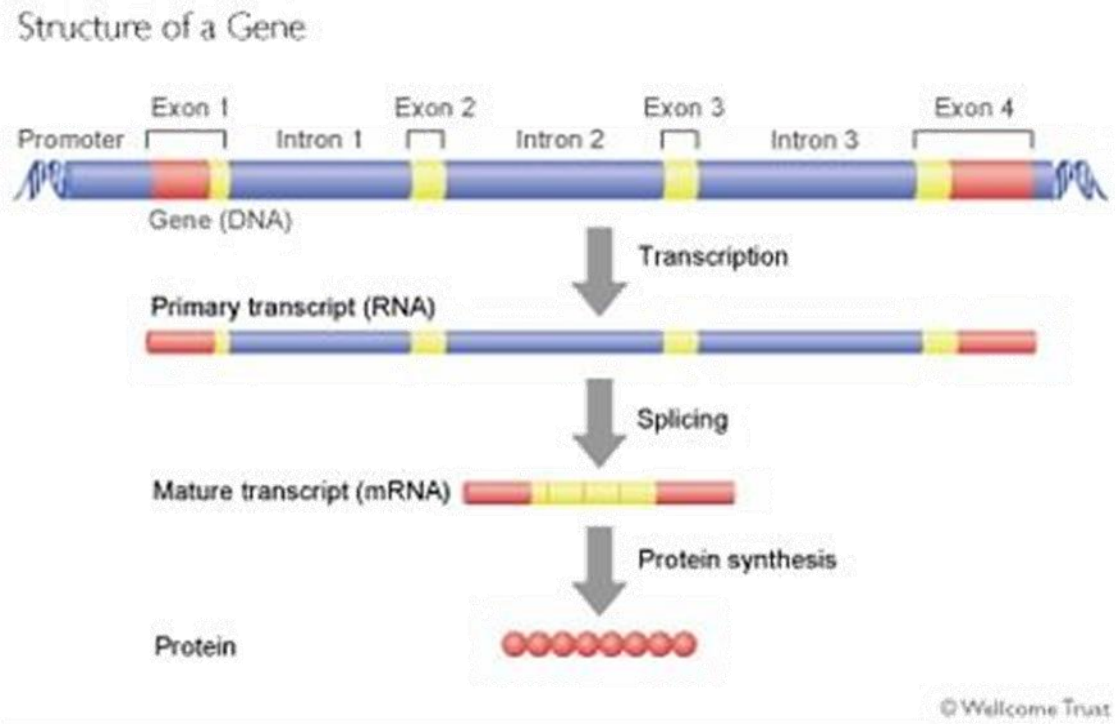
عن الـ DNA كاملاً وذلك لأن الروابط الهيدروجينية بين خيطي الـDNA ، أكثر ثباتا عن الروابط الهيدروجينية بين كل من RNAو DNA .

تتابعات نهاية الجين معروفة لدى أغلب الكائنات وتسمى كودونات الانتهاء وهي أحد التتابعات الثلاثة : TAA, TAG, TGA •

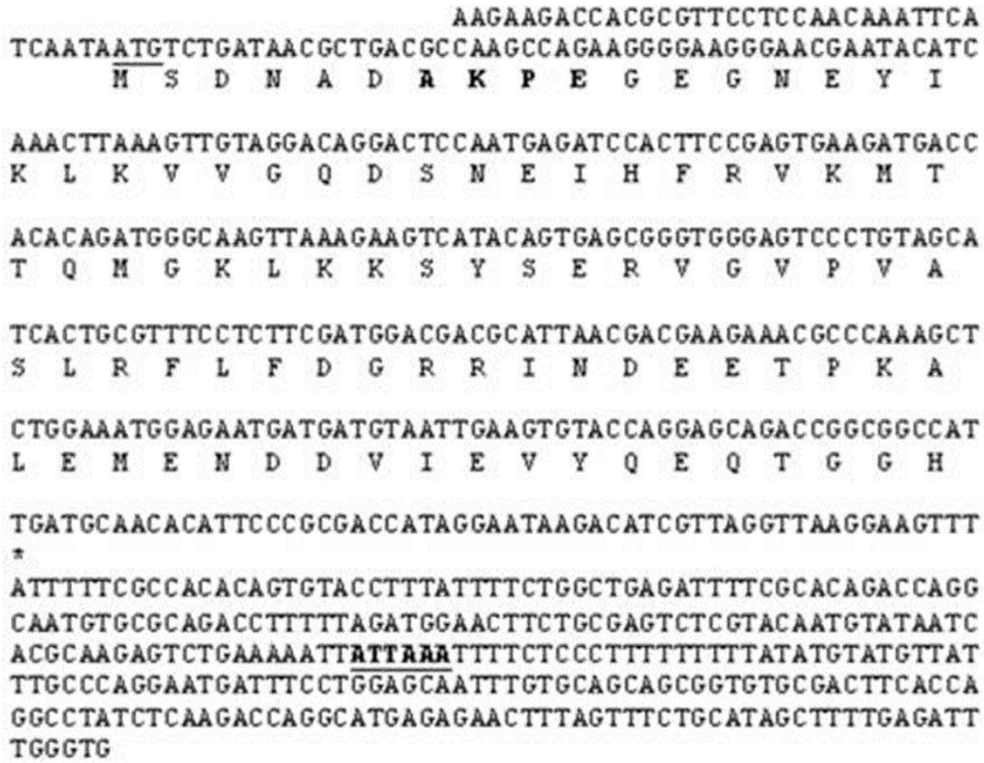
تركيب الجين في حقيقية النواة

1-منطقة البروموتر Promoter وتوجد قبل بداية الجين من الطرف5

2-يتركب الجين من مناطق مشفرة تسمى الاكسونات Exons تتخللها مناطق غير مشفرة تسمى الإنترونات Introns ويبدأ الجين وينتهي دائما بمنطقة إكسون

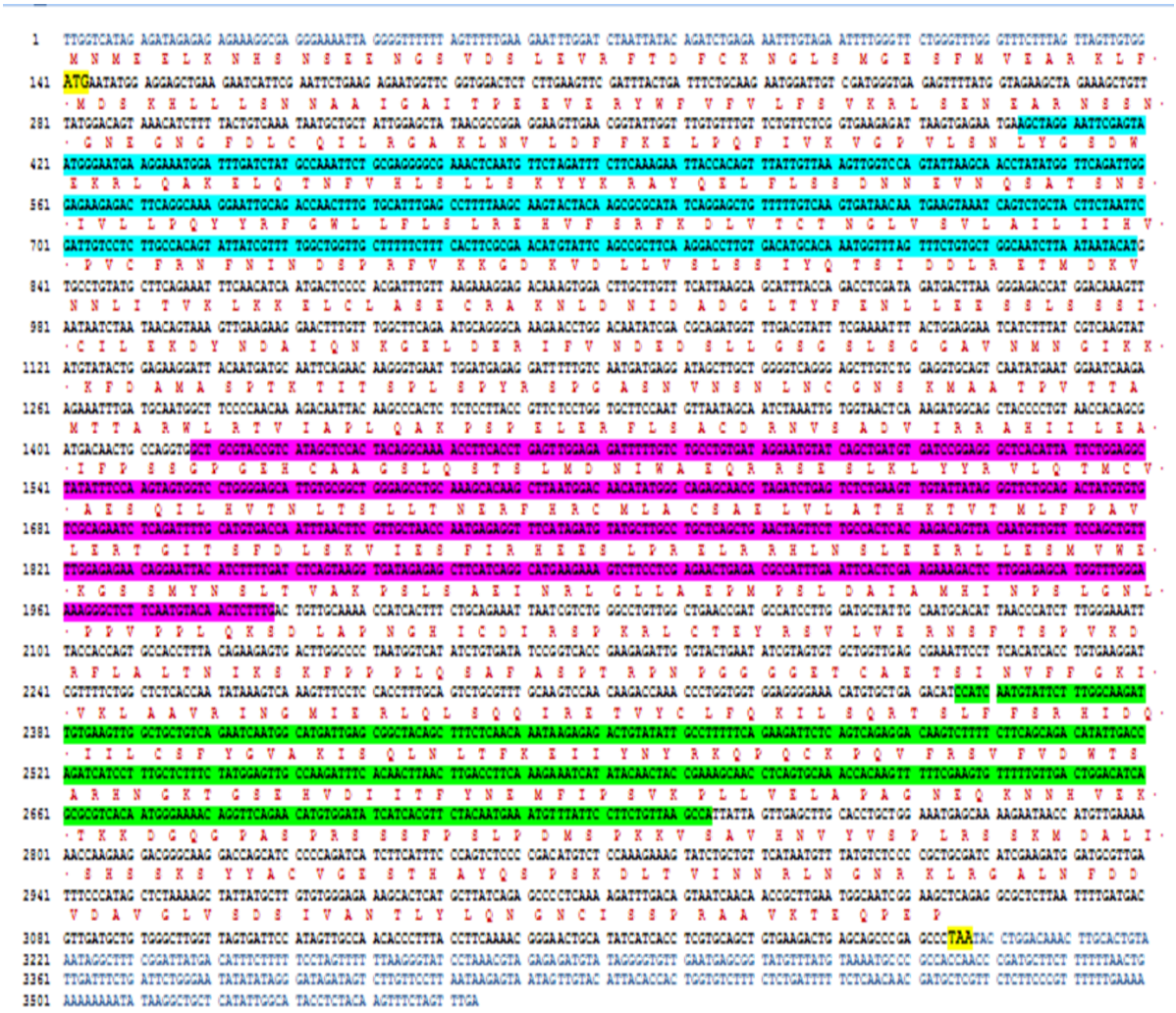


3-اول ثلاث نيوكليوتيدات في الجين تركيب الجين تسمى كودون الابتداء ودائما تكون ATG .



4-اخر ثلاث نيوكليوتيدات في الجين تسمى كودون الإيقاف ودائما تكون أحد ثلاثة تتابعات TAG, TAA, TGA •

تركيب الجين في حقيقية النواة



عملية النسخ DNA إلى جزئ mRNAداخل النواة

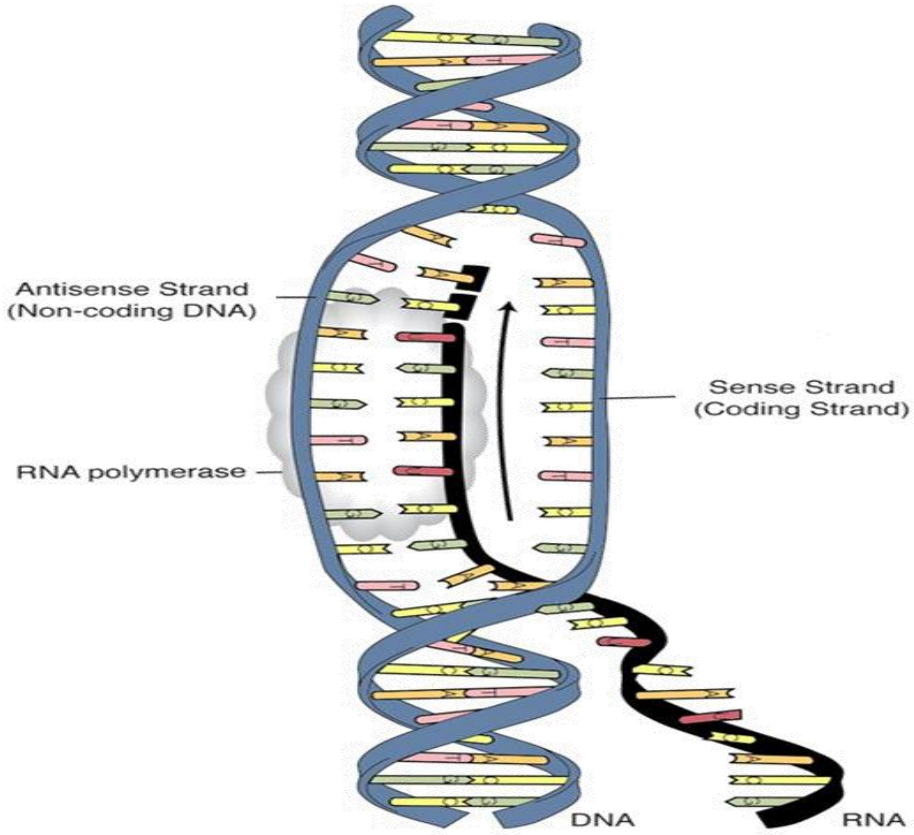
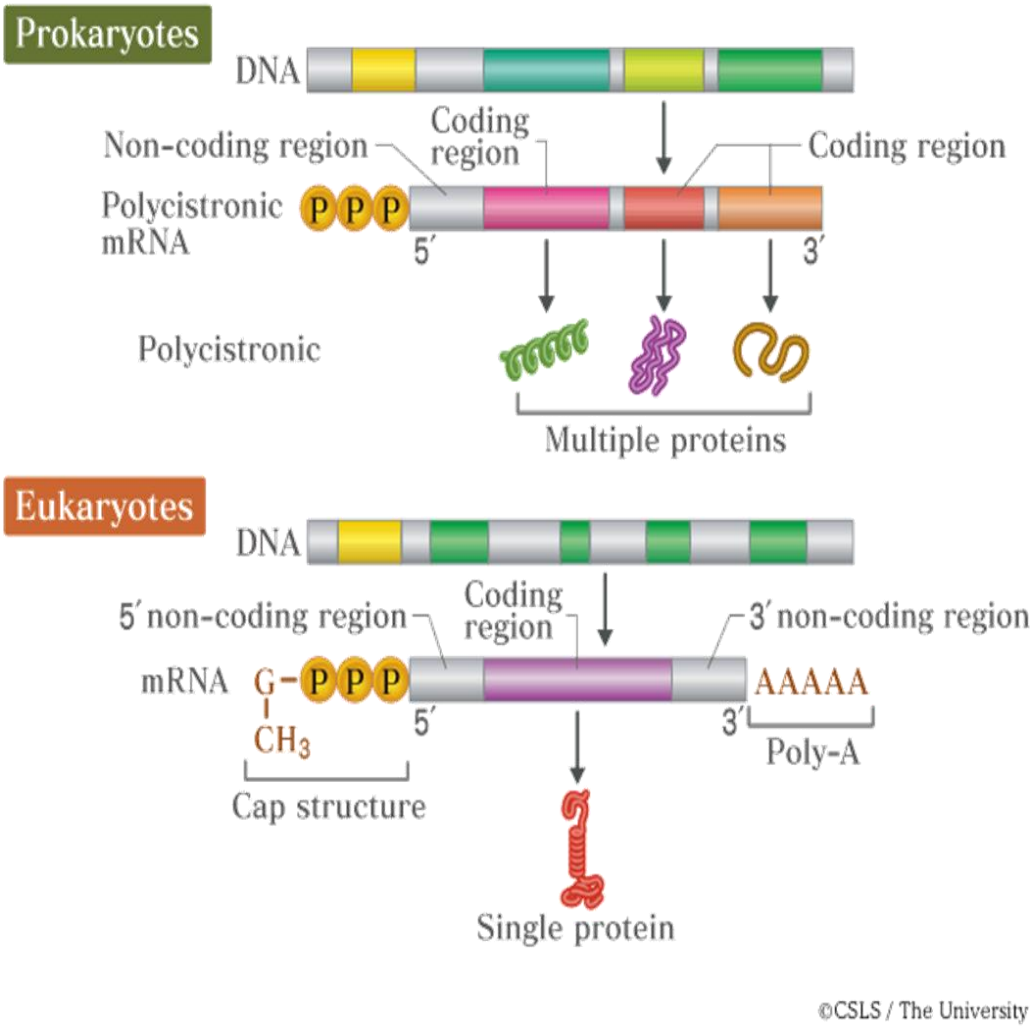


Image adapted from: National Human Genome Research Institute. Talking Glossary of Genetic Terms. Available at: www.genome.gov/Pages/Hyperion//DIR/VIP/Glossary/Illustration/antisense.shtml.

الفرق بين mRNA في بدائية النواة وحقيقية النواة

بدائية النواة Prokaryotes
1-يشفر mRNA الواحد لعدة بروتينات
2-لا يحتوي مناطق غير مشفرة Introns
حقيقة النواة Eukaryotes
1-يشفر mRNA لبروتين واحد فقط
2- يحتوي مناطق تتابعات غير مشفرة Introns وأخرى مشفرة Exons



تجهيز ال mRNA في حقيقية النواة (RNA Processing)

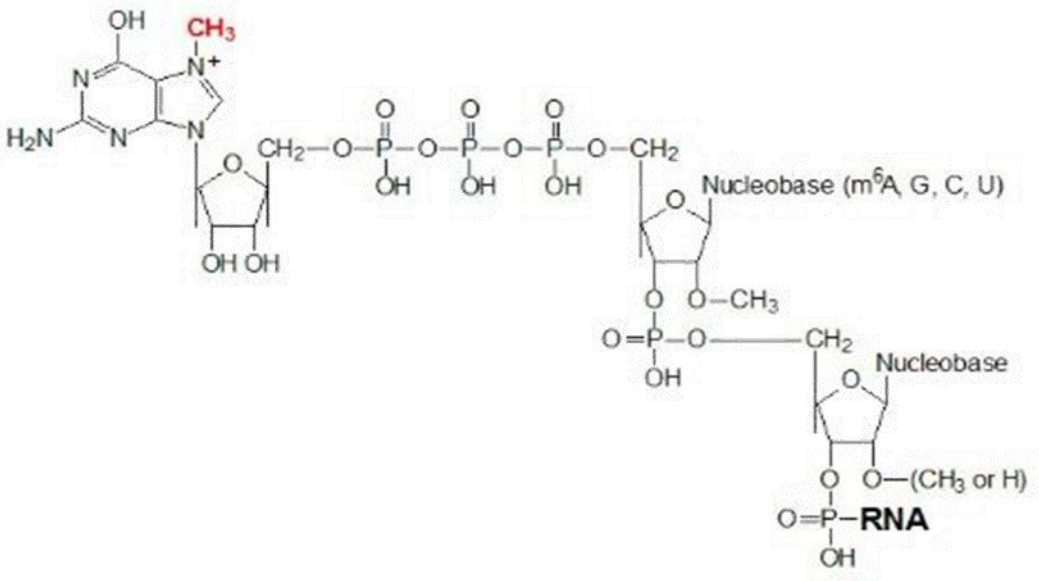
يمرmRNAبعدة تعديلات حتى يصبح جاهزاً للترجمة ويخرج من النواة ومن أهم هذه التعديلات:

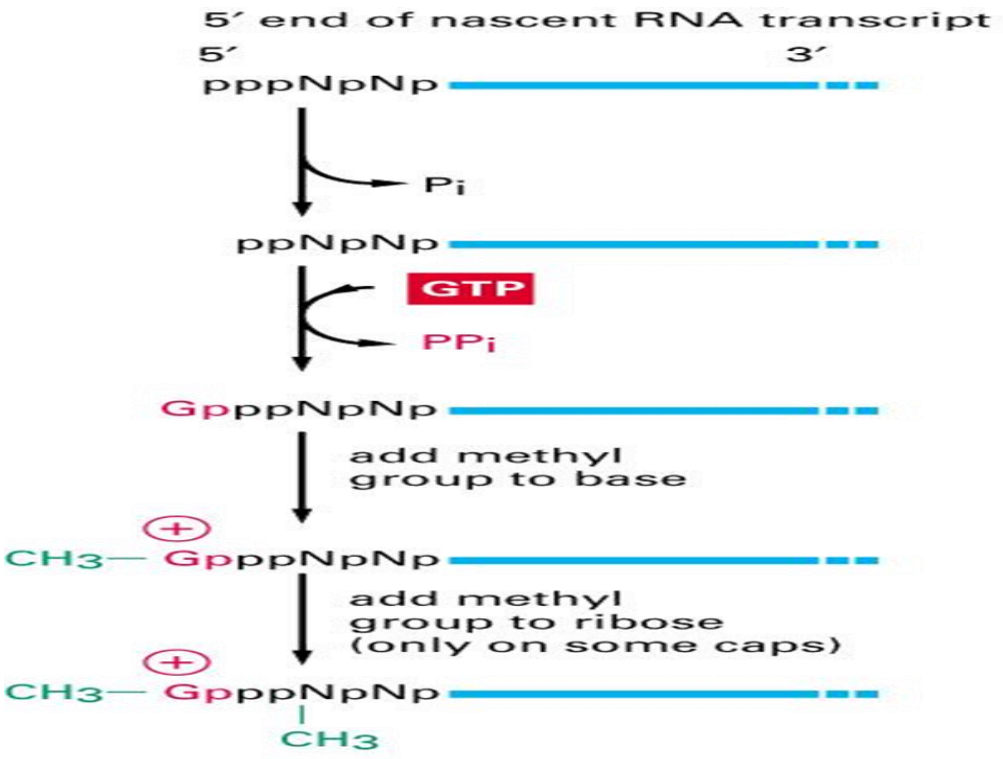
1-إزالة التتابعات غير المشفرة introns.

تزال المناطق غير المشفرة (الأنترونات)عن طريق قطع أطرافها التي تتميز بتتابعات معينة ثم يعاد التحام المناطق المشفرة (الإكسونات)في عملية تسمى الظفر أو Splicing

2-إضافة الكاب على الطرف 5 لـ mRNA

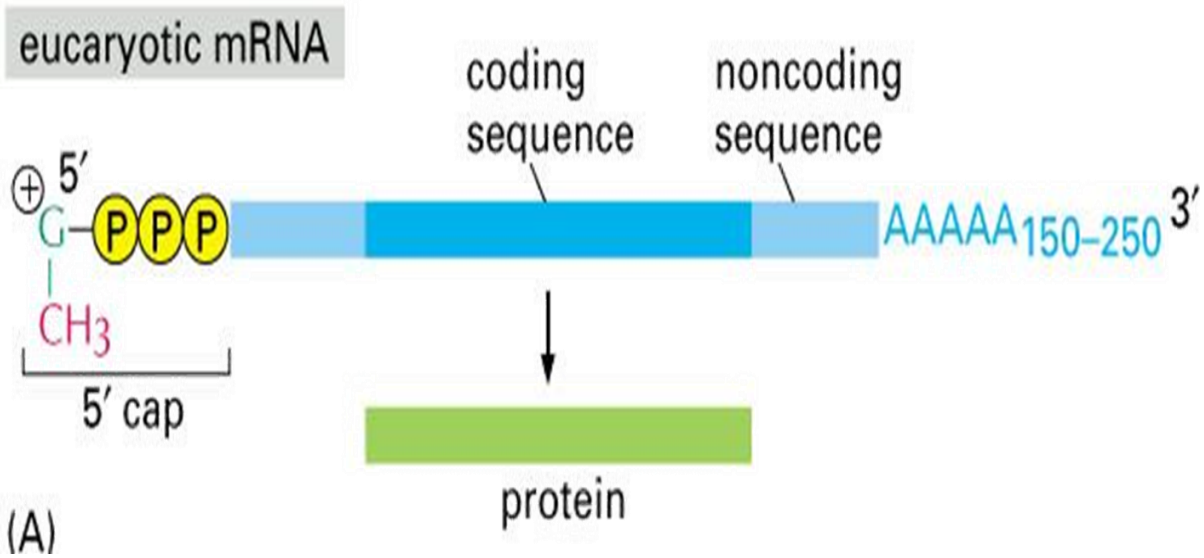
الكاب عبارة عن نيوكليوتيدة الجوانين ثلاثية الفوسفات مضافاً لها مجوعة ميثيل CH 3 تضاف للطرف5 من mRNA أثناء تجهيز RNA الأولي

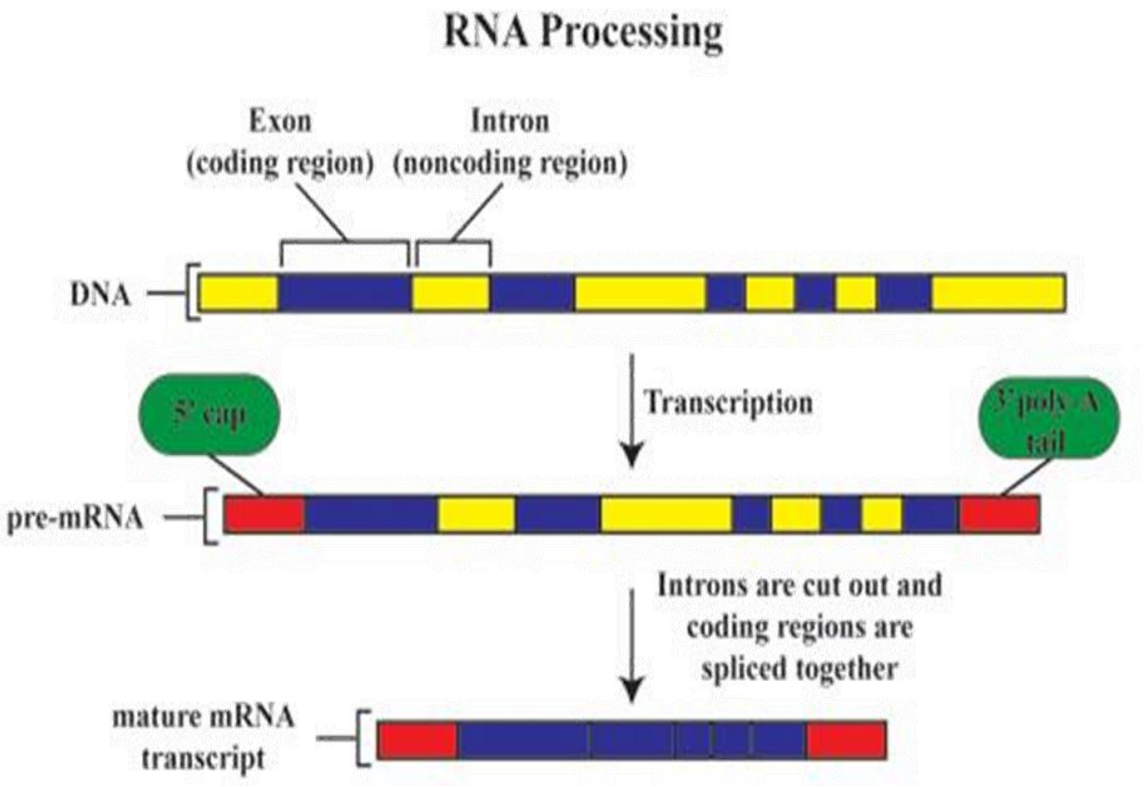




3- أضافة ذيل عديد الادنين للطرف 3 لـ mRNA

يضاف للطرف3 منmRNA عدد غير محدد من نيوكليوتيدات الادنين اثناء تجهيز mRNA يسمى ذيل عديد الأدنين Poly A tail





خطوات عملية النسخTranscription steps

1-تنفصل سلسلتي الـ DNA المزدوجة إلى سلاسل مفردة في منطقة الجين المطلوب نسخه.

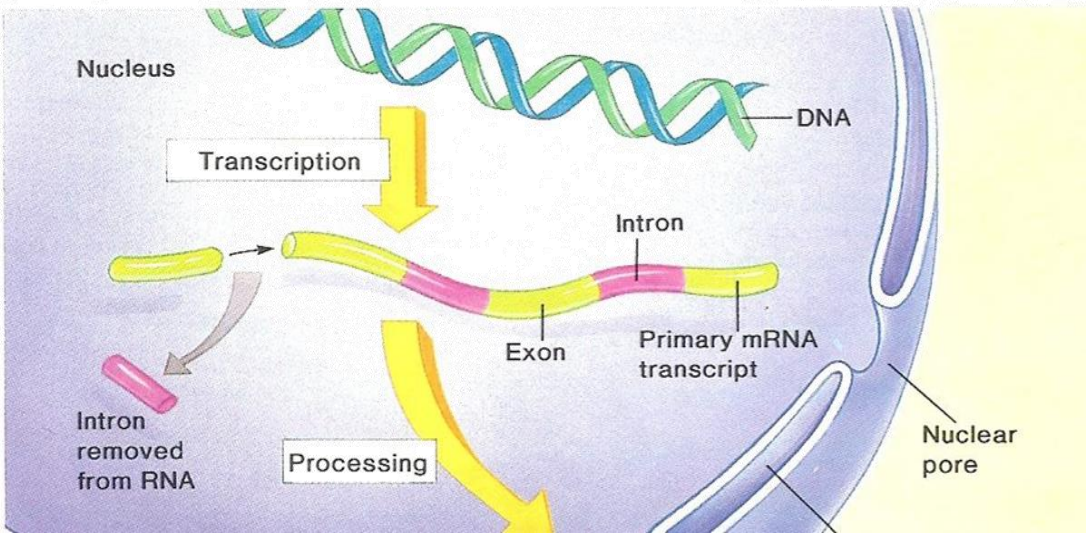
2- يرتبط أنزيم بلمرة الـ RNA بمنطقة البروموترعلى الـ DNA ويستقر عند أول نيوكليوتيدة في الجين

3- يبتدئ الإنزيم بإضافة الريبونيوكليوتيدات المكملة لتتابع النيوكليوتيدات في جزئ الـ DNAطبقاً لقاعدة تزاوج القواعد ويربط مابينها بروابط 3' , 5' فوسفو داي استر متجهاً في اتجاه البناء 3←5 ومكوناً بذلكجزئ RNA الرسول(mRNA) .

4-- عندما يصل الإنزيم إلى آخر نيوكليوتيدة في الجين يتوقف البناء عند تتابعات خاصة تسمى منطقة الإنهاء termination site وينفصل عن جزئ الـDNA

5-mRNA الناتج من عملية النسخ يسمىmRNA الأولي - Pre mRNA ويدخل بعد ذلك في عملية تجهيز وتحضير للترجمة تسمى RNA processing

6- يترك mRNA الناضج mature mRNA النواة ويخرج إلى السايتوبلازم متجهاً إلى الريبوسوم حيث تتم هناك عملية الترجمة .



سؤال/ فيما يلي أوجد mRNA الناتج من DNA

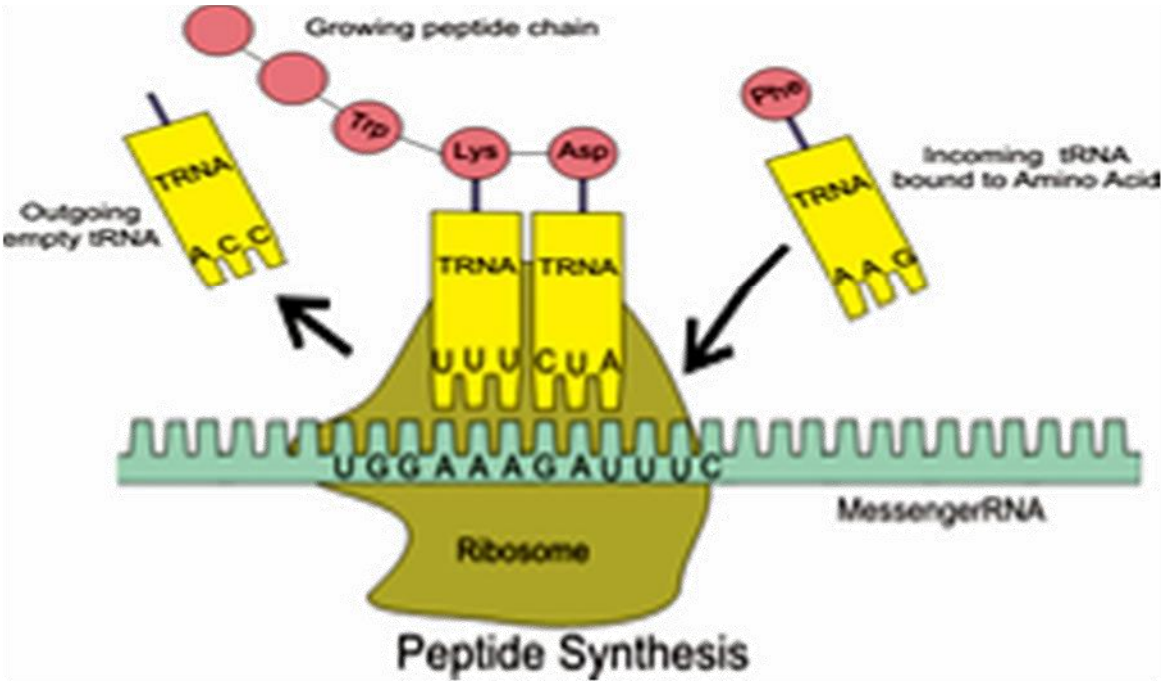
5' TCA AGT CTG AGC AGC 3' DNA

3' AGU UCA GAC UCG UCG 5' mRNA

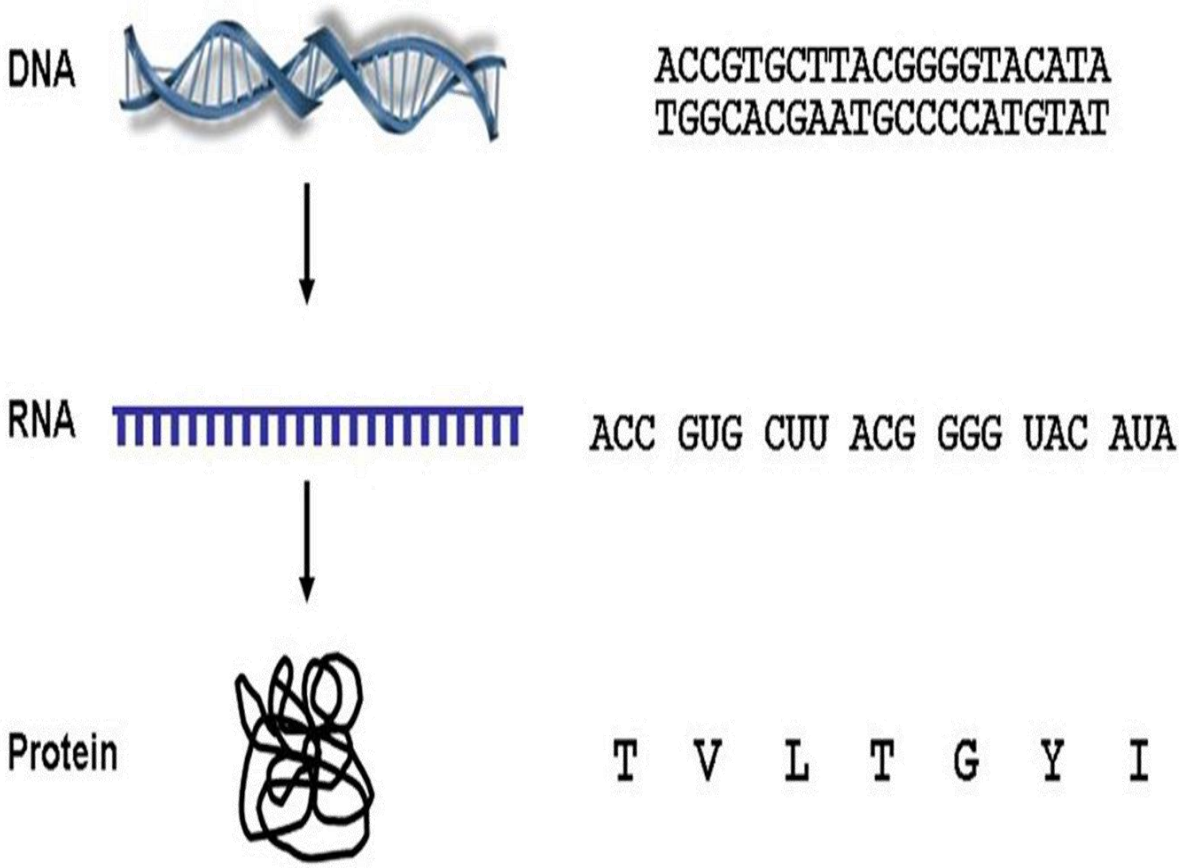
الشفرة الوراثية وبناء البروتين

Genetic code and Protein Synthesis

ثبت أن تتابع القواعد في جزئDNA هو الذي يحدد تتباع الأحماض الأمينية في البروتين، الذي يمثل الناتج النهائي لتعبير الجين وتوجد أربعة أنواع من القواعد النيتروجينية فقط في جزئ ال DNA • وهي التي تحدد الأحماض الأمينية العشرين في البروتين ، لذا كان من الضروري أن يكون هناك توافيق وتباديل لهذه القواعد الاربع لكي يتسنى لها أن تفي بالتشفير لتلك الأحماض الأمينية وفي الحقيقة فإن بناء البروتين يحتاج إلى اكثر من عشرين شفرة إذا أخذنا في الاعتبار كودونات الابتداء والايقاف.



يسمى تتابع القواعد في جزئ mRNA المقابل لحامض اميني معين بالكودون Codon لهذا الحامض الأميني في حين تسمى تتابعات إشارة البدء بكودونات الابتداء start Codeوتتابعات إشارات الإنهاء بكودون الايقاف stop code ويطلق على مجموع هذه الكودونات الشفرة الوراثية Genetic code.



الشفرة الثلاثية Triplet code

أجريت دراسات عديدة لمعرفة حقيقة الشفرة الوراثية وتم التوصل • لأدلة تثبت ثلاثية الشفرة أي أن لكل حامض أميني في البروتين كودون مكون من ثلاث قواعد، حيث تعطي جميع الاحتمالات لترتيب القواعد الأربع في شفرة ثلاثية 64 كودون كالتالي: $4^3 = 64$ • وبالفعل تم استنباط 61كودون محدد لأحماض أمينية نوعية، في حين أن الكودونات الثلاث الباقية تشفر لإنهاء او وقف بناء سلسلة البروتين.

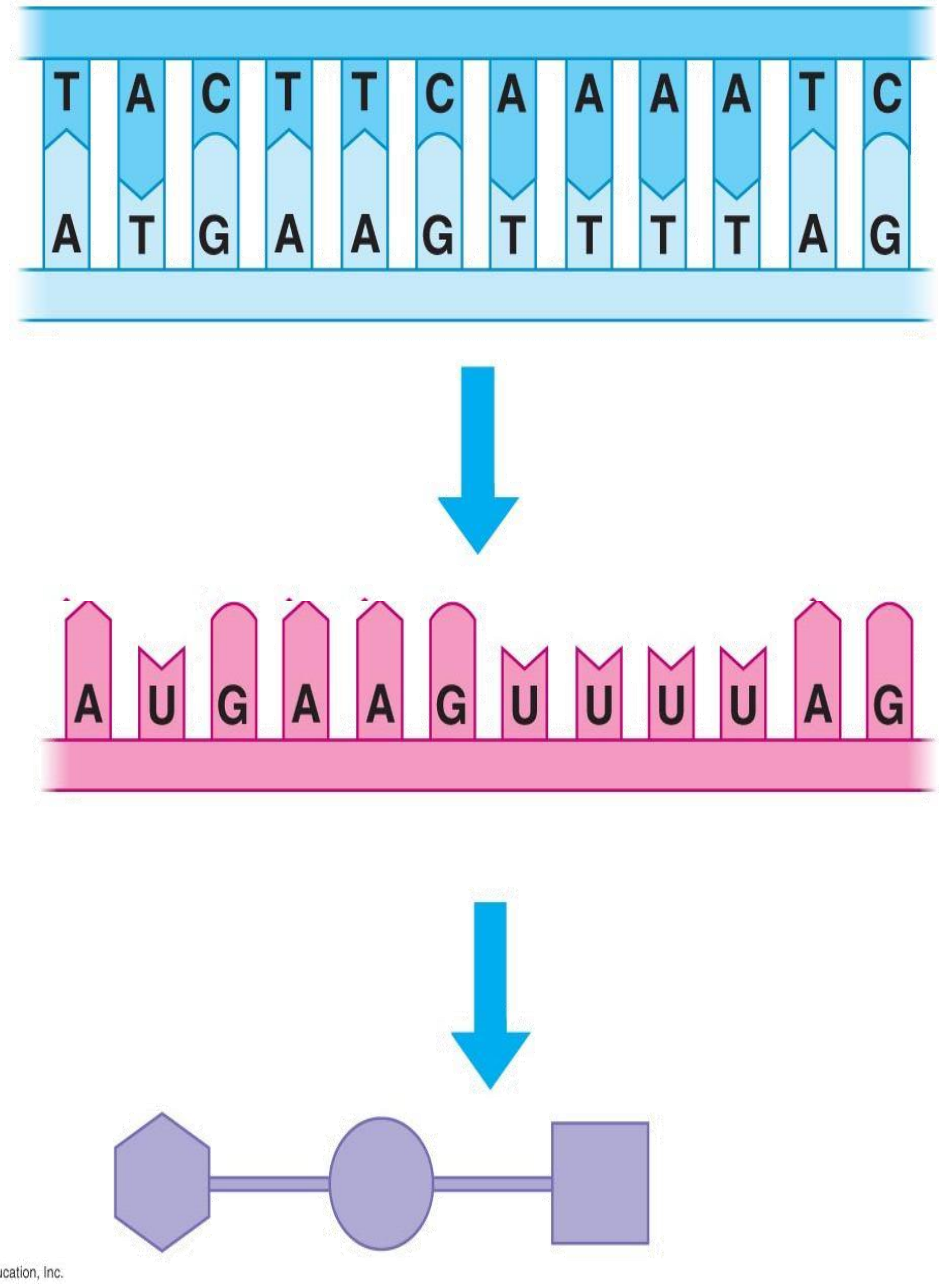
الخواص الرئيسية للشفرة الوراثية

1- الشفرة الوراثية ثلاثية: أي أن ثلاثة نيوكليوتيدات متتالية تختصص بحامض أميني واحد

2-الشفرة الوراثية تقرأ بصورة مستمرة بلا فواصل او تداخل

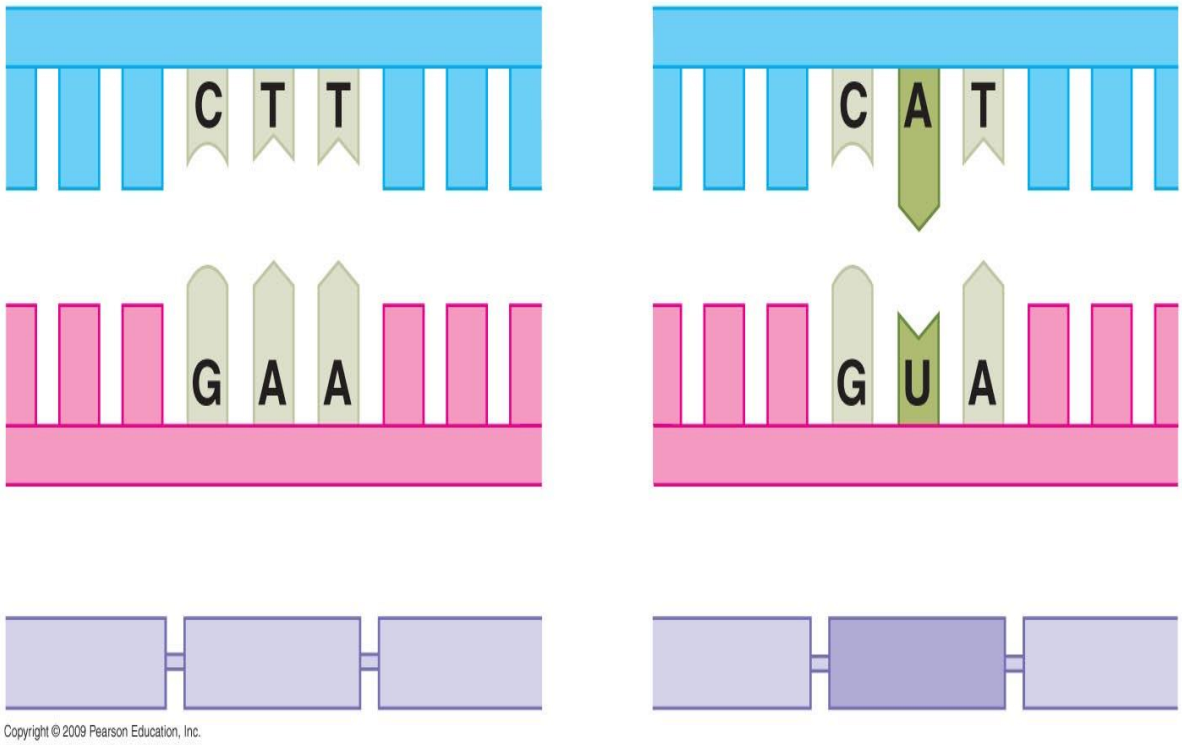
3 - الشفرة ترادفية المعنى (يوجد أكثر من كودون ثلاثي للحامض الأميني الواحد)

4-تختص 61كودون بالعشرين حامض أميني المعروفة



Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.

5- يشفر الكودونAUG للميثايونين وتعطي إشارة البدء لعملية النسخ إشارة بينما تعطي الكودونات UGA, UAA, UAG انهاء عملية الترجمة.



Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.

هناك ثلاثة أنواع من الحمض النووي الريبوزي RNA وهي

1- الحمض النووي الريبوزي الناقل (t RNA) •
2- الحمض النووي الريبوزي الرسول (m RNA)
3- الحمض النووي الريبوزي الرايبوسومي(r RNA)

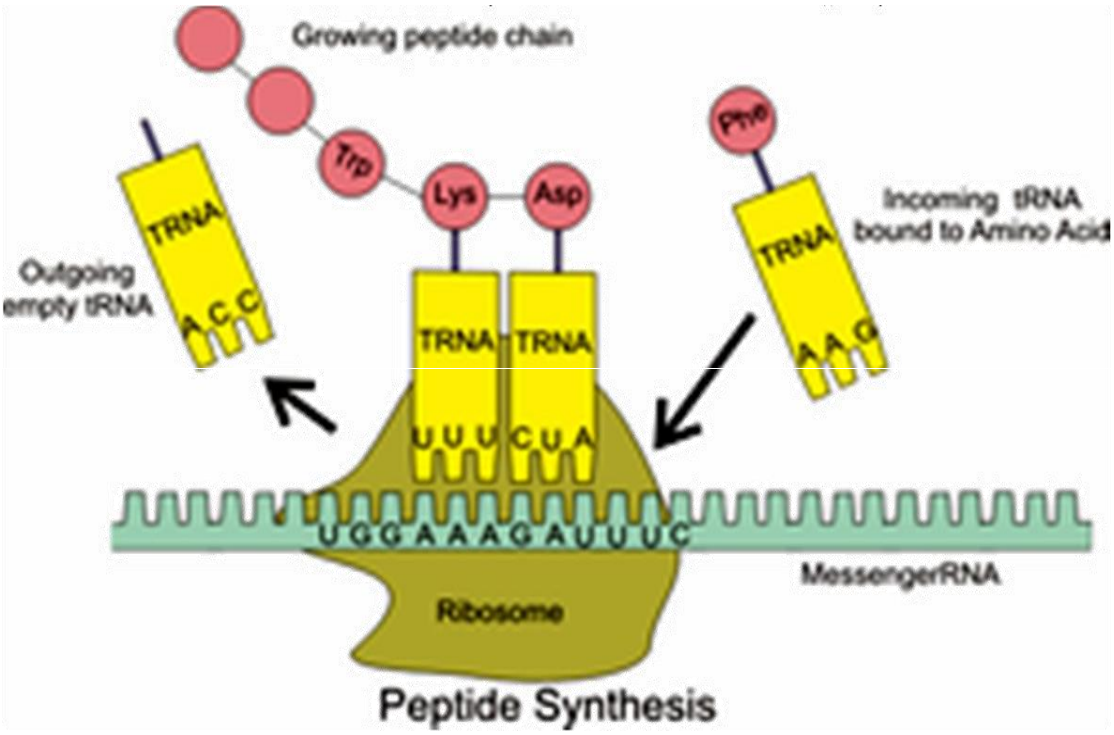
1- mRNA الرسول يقوم بنقل الشفرة الوراثية من) DNA (الجينات)في النواة إلى الرايبوسومات ليتم تصنيع البروتينات المختلفة داخل السيتوبلازم

2- tRNA الناقل :يقوم بنقل الأحماض الامينية في السيتوبلازم الى الرايبوسومات لاستخدامها في عملية بناء البروتينات.

rRNA-3، الرايبوسومي :يدخل في تركيب الرايبوسومات ويعمل على التعرف على tRNA & mRNA ليسهل ارتباطهما بالريبوسوم أثناء بناء البروتين

الترجمةTranslation

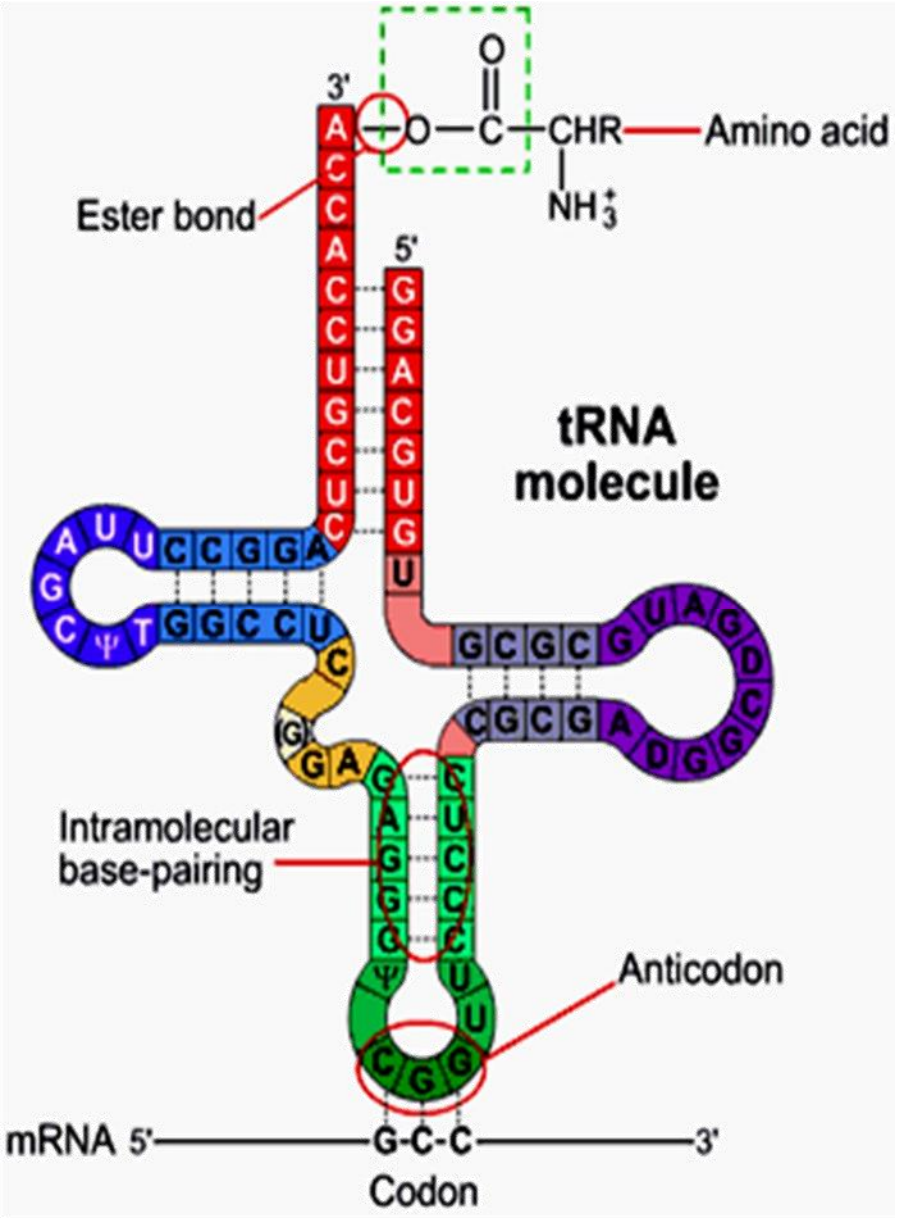
, تقوم الأنواع الثلاثة من الـ RNA وهي mRNA وrRNA وtRNA بالدور الرئيسي في عملية الترجمة Translation أي بناء البروتين حيث يستخدم mRNA كقالب أثناء الترجمة، في حين يعمل tRNA بدور الوسيط بين mRNA والأحماض الأمينية الحرة في الخلية في حين يقوم rRNA بدور مهم في تركيب الريبوسوم وارتباطه بـmRNA



الناقل RNA الحمض النووي tRNA

تحتوي الخلية على عدد كبير من tRNA وهي جزيئات صغيرة الحجم يسمح تركيبها بالارتباط بالأحماض الأمينية ونقلها إلى الريبوسوم ويوجد موقعين متخصصين على طرفي كل جزيء tRNA يتعرف أحدهما على الحمض

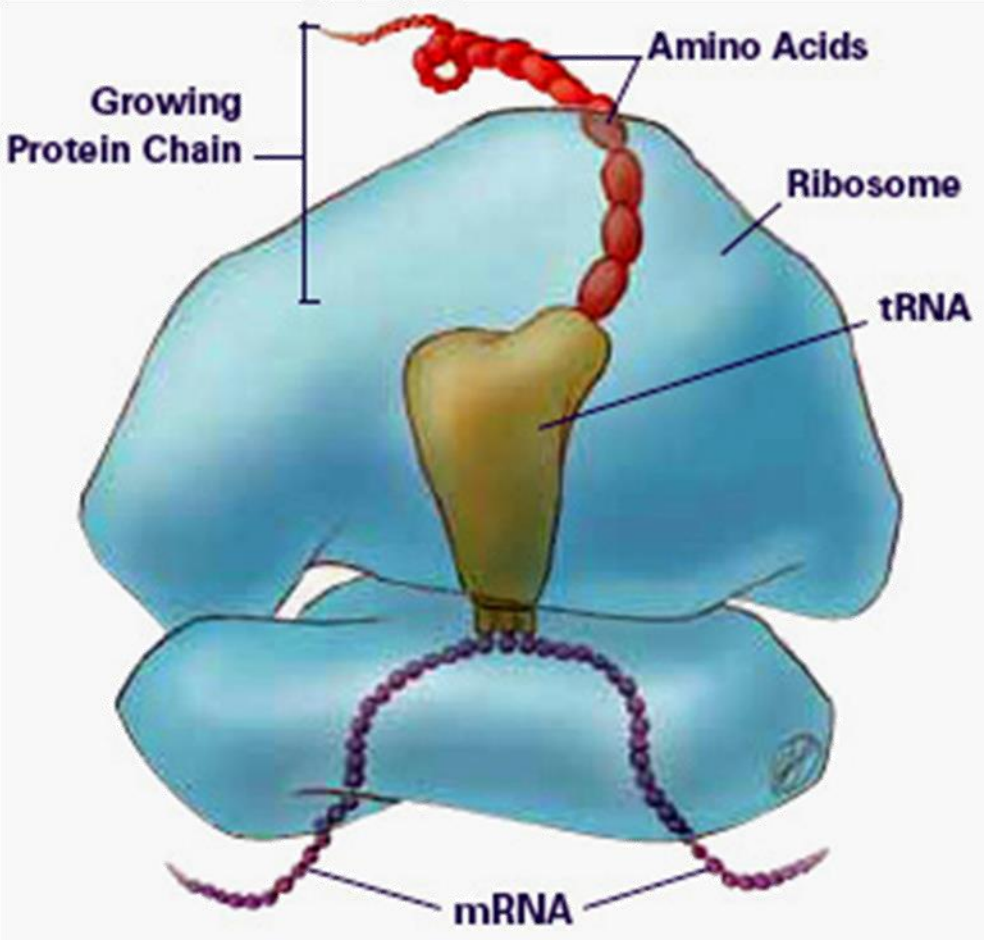
الأميني ويرتبط به، في حين يحتوي الموقع الآخر في طرفه الآخر على مضاد الكودون ويقوم بالتعرف على الكودون في جزئ mRNA .



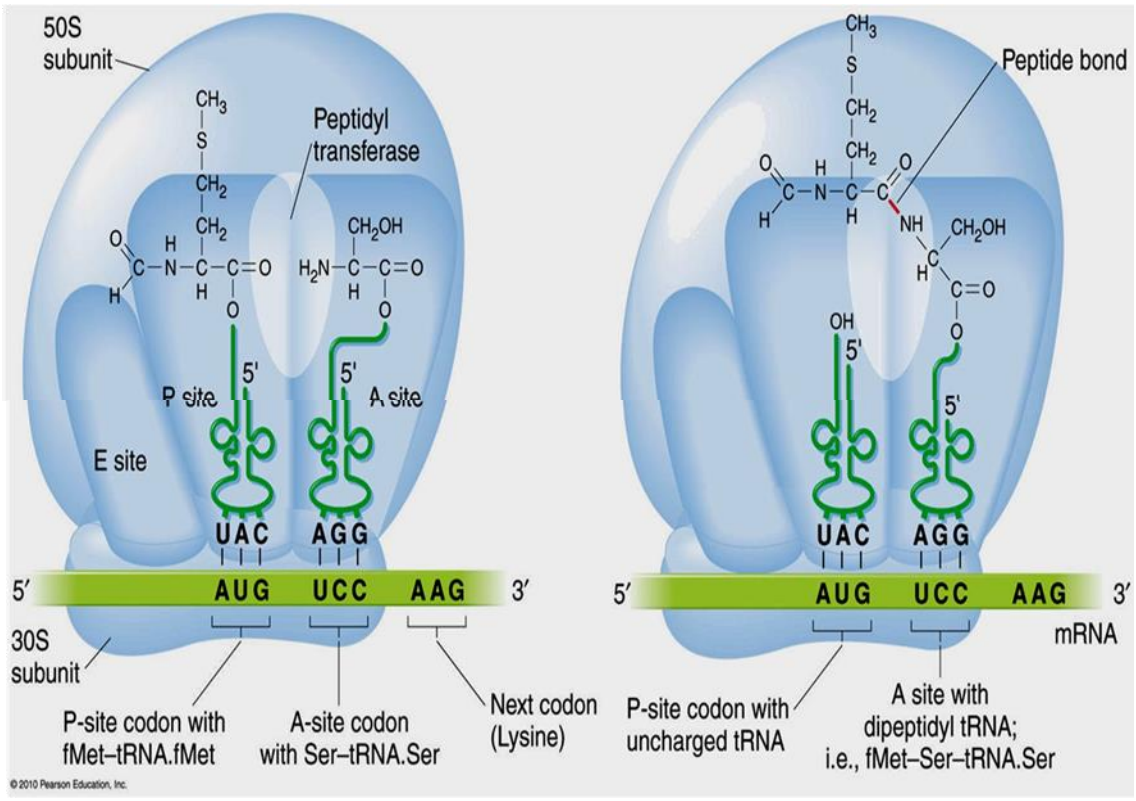
يؤدي التزاوج الصحيح بين الكودون على m RNA ومضاد الكودون على tRNA إلى ترتيب الأحماض الأمينية طبق اً لترتيب الكودونات على جزئ mRNA

دور الريبوسومات في تكوين الروابط الببتيدية

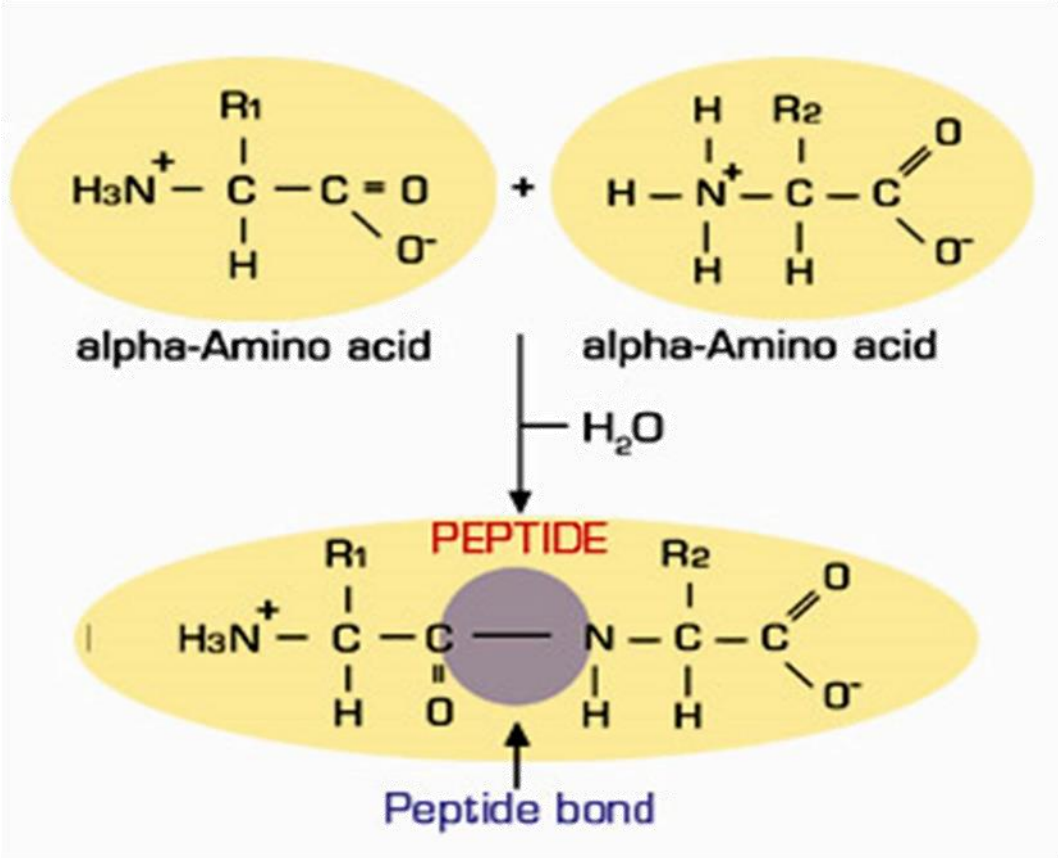
تتكون الريبوسومات من معقدات كبيرة الحجم نسبيا من rRNAوالبروتينات. ويتكون كل ريبوسوم من تحت وحدة كبيرة وتحت وحدة صغيرة، ترتبطان ببعضهما فقط عند بدء اشتراك الريبوسوم في عملية الترجمة.

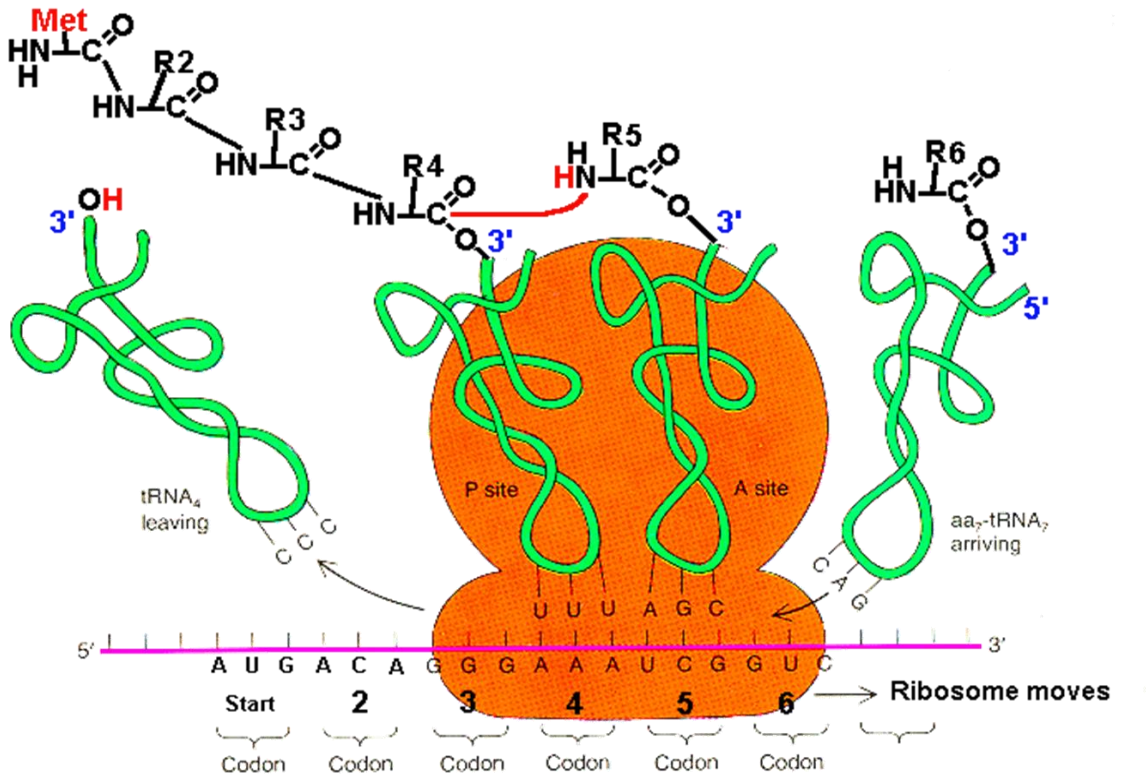


تقوم تحت الوحدة الصغيرة بالربط بين rRNA و tRNA في حين تقوم ، تحت الوحدة الكبيرة بالمساعدة في تكوين الرابطة الببتيدية بين الأحماض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد.



ترتبط مجموعة الكربوكسيل COOH- في النهاية النامية لسلسلة عديد الببتيد بمجموعة الأمين NH2-للحامض الأميني المضاف لتكون الرابطة الببتيدية بين الأحماض الأمينية في السلسلة.





Modified from Griffiths et al., AN INTRODUCTION TO GENETIC ANALYSIS, 6th Ed., W.H. Freeman & Co., 1996.

مراحل الترجمة

الخطوة الأولى بداية الترجمة (Initiation of Translation) • تبدأ الترجمة عندما ترتبط تحت الوحدة الصغيرة من الريبوسوم مع كودون الإبتداء AUG علىالـm-RNA حيث يتعرف tRNA (الحامل مضاد الكودون UAC)على كودون الإبتداء، حاملاً حمض أميني يسمى فورمايل ميثونين formylmethionine ويسمى هذا المعقد مجتمعاً بمعقد البدء

مراحل الترجمة

الخطوة الأولىInitiation of Translation

الخطوة الثانية الاستطالة Elongation of Translation:

- **بعد تكوين معقد البدء يعقب ذلك ارتباط tRNAs بما تحمله من الأحماض الأمينية المتوافقة لترتبط مع m RNA على الريبوسوم.**

بعد ذلك فإن tRNA الحامل للفورمايل ميثيونين يرتبط على موقع في الريبوسوم يسمى موقع P ويرتبط tRNA الذي يحمل الحمض الأميني التالي مع الريبوسوم و m RNAفي موقع يسمى موقع A .

يدخل tRNA جديد حاملا معه حمض أميني آخر ليتعرف على الكودون الموجود على mRNA ليرتبط به. حيث ترتبط الأحماض الأمينية السابقة بالحمض الأميني الجديد بروابط ببتيدية، ويتحرك الريبوسوم على طول m- RNAليسمح بدخول tRNA جديده وترتبط الأحماض الأمينية ببعضها البعض لتكوين البروتين.

الخطوة الثالثة نهاية الترجمةTermination of translation

عندما يصل الريبوسوم إلى أحد كودونات الأنتهاء الثلاثة , UAA , UAG UGA : ينتهي بناء البروتين وهي لا تشفر لأي من الأحماض الأمينية لذلك يتوقف عندها بناء •

سؤال/

حول القطع التالية من mRNA - 1 إلى ما يكافئها من أحماض أمينية :

أ-5 ' GAA AUC GCA GUU UAC 3'

ثيرونين- فالين -ألانين - ايزوليوسين- جلوتاميك

سؤال/

حول القطع التالية من mRNA إلى ما يكافئها من عديد الببتيدات :

5 'UUU UCG AGA UGU CAA 3 '
جلوتامين _سيستين _ارجنين _سيرين _فينيل الانين

سؤال:

إذا كانت الشفرات المرادفة للأحماض الأمينية كالتالي
Gluجلوتاميك= GAA - GAG

Hisهستيدين= CAU - CAC

Proبرولانين = CCU - CCC – CCA – CCG

فيما يأتي أي mRNA يمثل شفرة البروتين المكون من تتابع الأحماض الأمينية التالي جلوتاميك – هيستيدين –:برولانين

GAC CAC CAG-1

GAA CAU CAG-2

GAA CAC CCG-3

GAA CAG CAG-4

الاجابة: GAA CAC CCG-3

سؤال:

اذا كانت لديك سلسلة ال التالية:

- إذا كانت لديك سلسلة الDNA التالية:

3'TGC TAT GCG TTT 5 '

أ- ماهي سلسلة mRNA الناتجة؟

ب-ماهي مضادات الكودونات على جزيء ال tRNA ؟

الجواب: أ- 5'ACG AUA CGC AAA 3 '

ب-UGC , UAU , GCG , UUU