

## المحاضره الاولى

### تنظيم التعبير الجيني Regulation of gene expression

#### 1-المقدمه

2-تنظيم عملية استنساخ mRNA في بدائية النواة

أ- مفهوم المشغل

ب-مشغل نظام الاكتور lac operon

ج-التنظيم السالب لمشغل الاكتور

د-التنظيم الموجب لمشغل نظام الاكتور

ه-مشغل نظام الترتوفان

3-تنظيم التعبير الجيني في حقيقية النواة

#### 1-المقدمه

تنظيم التعبير الجيني هو سمة اساسيه في حفظ التكامل الوظيفي للخليه . وعملية التنظيم هذه تحدث بطرق مختلفه منها تنظيم موجب و اخر تنظيم سالب .

في بدائية النواة غالبا مايحدث التنظيم عند بدء استنساخ mRNA. اما في حقيقية النواة استنساخ mRNA يكون اكثر تعقيدا و عليه توجد اكثر 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 اما زياده او نقصان في معدل الاستنساخ.

وهناك ميكانيكيه خاصه في حقيقية النواة وهو الاستنساخ المتخصص بنوع الخلايا وهذا يتحقق من خلال المعالجه الاختياريه او البديله ( alternative processing ) لشريط mRNA الاولي غير الناضج وتكوين اشطره مختلفه من الرنا الرسولي وبالتالي ترجمته الى بروتينات مختلفه متعلقه بوظيفة تلك الخليه.

#### 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 السيطره الموجبه والسالبه لمشغل نظام الاكتور lac operon في بكتريا E.coli

## أ- مفهوم المشغل (operon concept)

يوجد هذا النظام في في بدائية النواة فقط ، وهو مجموعه من الجينات التركيبية ( structural genes ) بالاضافه الى منطقة منظمه ( regulator region ) تنظم عمل تلك الجينات. الجينات التركيبية تشفر لبروتينات او انزيمات خاصه بوظيفه ايضيه معينه . يكون موقع المنطقه المنظمه في اعلى تلك الجينات(5) وتكون هي المسيطره على عملية التعبير الجيني .

## ب- مشغل نظام الاكتوز lac operon

يتألف هذا النظام من ثلاث جينات تركيبية وهي (Z,Y,A) هذه الجينات تشفر لمجموعه من الانزيمات الضرورية في ايض الاكتوز وهي حسب التسلسل (  $\beta$ -galactosidase, permease, transacetylase) في حين تشفر المنطقه المنظمه (i) لبروتين يدعى بالكابح repressor الذي بدوره يرتبط مع تسلسل معين من القواعد النروجينية على شريط الدنا والذي يدعى بالمدير operator والذي يكون موقعه مجاور للجينات التركيبية . اما انزيم بلمرة الرنا RNA polymerase الذي يشرع في عملية الاستنساخ يرتبط بالمشير promoter.

## ج- التنظيم السالب لمشغل الاكتوز negative regulation of the lac operon

وهذا يتضمن حالتين : الحاله الاولى، في حالة غياب سكر الاكتوز في الوسط ، يرتبط بروتين الكابح بالمدير operator ويمنع ارتباط انزيم بلمرة الرنا بالمشير promoter لعمل شريط الرنا الرسولي . اما الحاله الثانيه، هي وجود سكر الاكتوز وفيه يتحول الاكتوز الى 1,6 allolactose الذي يرتبط بالكابح ويمنع ارتباطه بالمدير . حينها يتم استنساخ الجينات التركيبية بواسطة انزيم بلمرة الرنا .

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

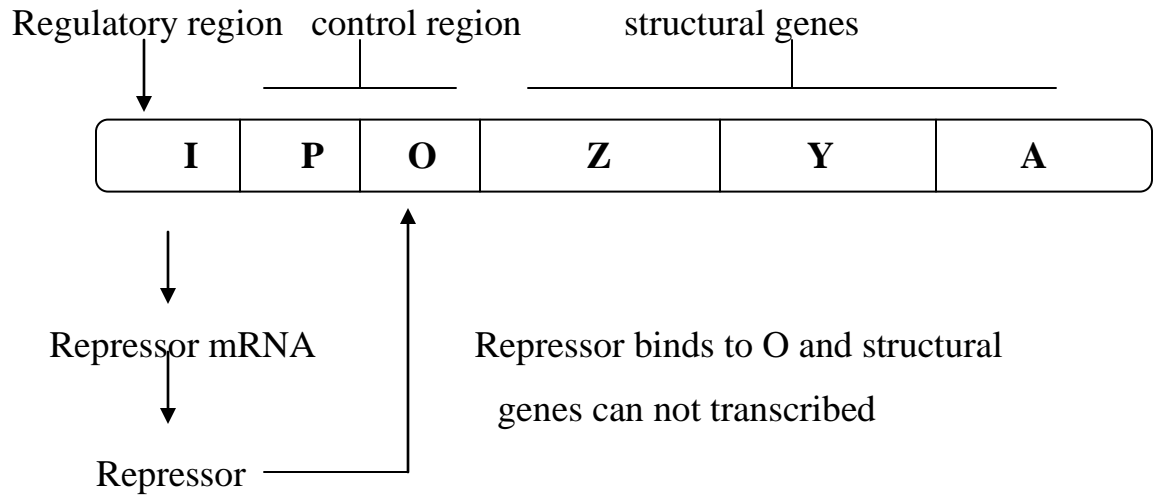
عندما يكون هنالك تركيزكافي من سكري الاكتوز او الكلوكوز في الوسط لا تكون هنالك حاجه لتشغيل النظام اما في حالة وجود تركيز واطئ من سكر الكلوكوز يتم تنشيط المشغل من خلال الميكانيكيه التاليه:

1-يرتبط cAMP مع بروتين يدعى CAP لتكوين معقد

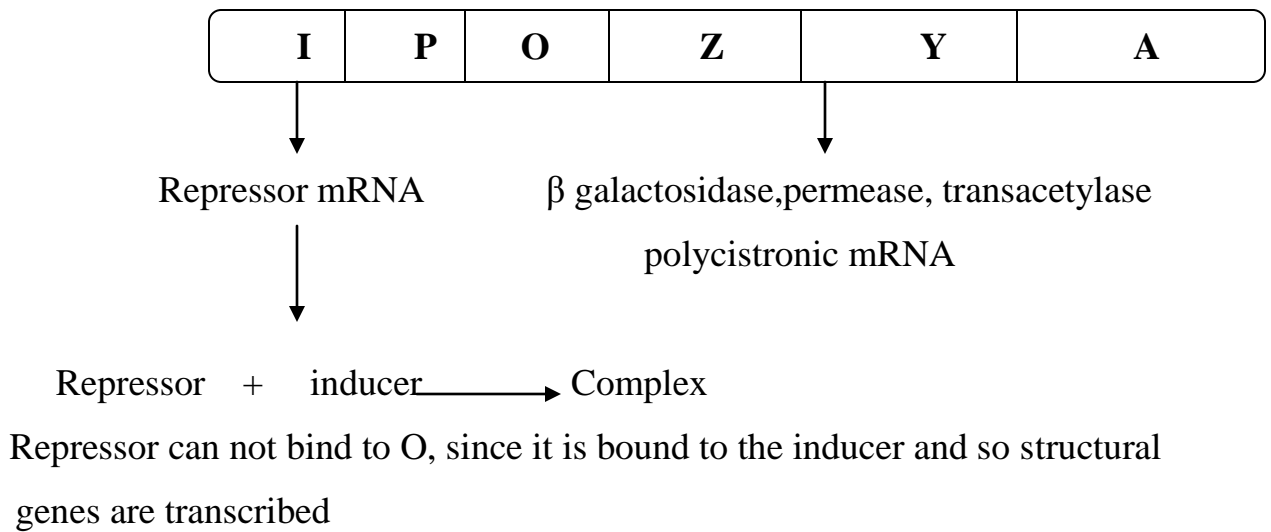
2- يرتبط المعقد اعلاه مع المشير promoter الذي يحفز انزيم بلمرة الرنا على الارتباط بالمشير

3- استنساخ الجينات التركيبية بواسطة انزيم بلمرة الرنا .

أ- غياب الاكتور



ب- وجود الاكتور



شكل 1- يبين السيطره السالبه لمشغل الاكتور

## ه - مشغل نظام التربتوفان Tryptophan operon

يحتوي اوبرون التربتوفان على خمس جينات تركيبية (Trp A, Trp B, Trp C, Trp D, TrpE) تشترك هذه الجينات الخمس في انتاج ثلاث انزيمات تحول مركب ال chorismate الى تربتوفان . يقع المثير في promoter اعلى التركيبية الجينات، يقع الجين التنظيمي Trp R المشفر لبروتين الكابح repressor على مسافة بعيدة عن المدير . ويتم تنظيم التعبير الجيني في هذا المشغل من خلال الميكانيكية التاليه : اولاً في حالة غياب التربتوفان ، يكون الكابح غير فعال وبذلك يرتبط انزيم بلمرة الرنا بموقع المثير مستنسخا الجينات التركيبية والتي يتم ترجمتها الى انزيمات تحول ال chorismate الى تربتوفان . الحاله الثانيه وهي وجود التربتوفان في الوسط ، عندها يرتبط التربتوفان بالكابح وينشطه وبذلك يرتبط بالالمدير operator وبذلك يتوقف الاستنساخ

### تنظيم عملية استنساخ mRNA في حقيقتة النواة

تكون عملية تنظيم التعبير الجيني في حقيقتة النواة اكثر تعقيدا مما عليه في بدائية النواة وتشمل

1- تنظيم عملية بدأ الاستنساخ

2- المعالجة الاختياريه او البديله

3- تنظيم عملية بدأ الترجمة

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

في حقيقتة النواة هنالك عوامل استنساخ (transcription factors) تساهم في تكوين معقد البدء من خلال ارتباطها بالمثير والذي يسمح بارتباط انزيم بلمرة الرنا RNA polymerase II ، ولكن هناك عوامل استنساخ متخصصه ( Specific transcription factors ) لها القدره على الارتباط بتسلسلات منظمه على شريط الدنا تدعى Enhancer او Silencer والتي تعمل على تحويل في تكوين معقد البدء وهكذا تنظم معدل الاستنساخ.

## أ-عوامل الاستنساخ (Transcription factors)

وهي بروتينات ترتبط بتسلسلات منظمه على شريط الدنا ( regulatory sequence )، بالإضافة الى امكانية ارتباطها بانزيم بلمرة الرنا وبمعايير استنساخ اخرى . تملك على الاقل حقلين للارتباط binding domains احدهما يدعى "حقل الارتباط بالدنا DNA – binding domain" والآخر يدعى "حقل التنشيط Activator domain"

## ب-تسلسلات Enhancer and Silencer

وهي تسلسلات معينه من القواعد النروجينية على شريط الدنا ترتبط بها عوامل الاستنساخ الخاصه والتي من خلالها يتم تنظيم عملية الاستنساخ . Enhancer تعمل على زيادة معدل الاستنساخ ويكون اما في اعلى 5' او اسفل 3' المثير . اما تسلسل Silencer يعمل على تثبيط الاستنساخ

## 2- المعالجه الاختياريه لشريط mRNA

ان نسخة الرنا الرسولي الاولي primary mRNA في حقيقيه النواة يعاني عدد من التحويلات لغرض تكوين شريط رنا رسولي ناضج . احد هذه التحويلات وجود القبعه cap على النهايه 5' وكذلك وجود تسلسل AAUAAA كمؤشر على عملية الحذف الحاصله على النهايه 3' واضافه القاعده النروجينية الادنين لتكوين poly adenosine tail.

ان المعالجه المتغيره لتلك المؤشرات في تكوين اشرة mRNA ناضجه يسمح بتكوين اشرة mRNA مختلفه من نفس الجين المنسوخ ومن ثم ترجمة تلك النسخ النسخ الى بروتينات مختلفه ، مثال على ذلك الخلايا البينييه stromal cell الواقعه بين جريبات الغده الدرقيه تحتوي على رنا رسولي يحمل معلومات وراثيه تشفر لهرمون ال calcitonin المنظم لتركيز الكالسيوم في الدم وايضا يحمل معلومات وراثيه مشفره لل CGRP بروتين ينظم تكوين المستقبلات الحسيه . في الخلايا البينييه تزال المعلومات الوراثيه المشفره لتلك المستقبلات وترجمته الى هرمون الكالستونين ، في حين في حين في الخلايا العصبيه يتم ازالة المعلومات الوراثيه المشفره لهرمون الكالستونين وترجمته الى CGRP

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

الاية ترجمة المعلومات الوراثة الى بروتين تنظم من خلال السيطره على عملية بدء الترجمة والمسؤول عنها بروتينات منظمه لها القدره على الارتباط بتسلسلات معينه على شريط mRNA مثال على ذلك بروتين يدعى IR- binding protein التي ترتبط بتسلسلات IR (5') الموجوده على Ferretin mRNA وتمنع من تكوين بروتين ferretin ، اما 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 الى بروتين Ferretin. ويحدث التنظيم ايضا من خلال السيطره على ثبوتية شريط mRNA وعدم تحلله مما يؤدي الى زيادة معدل تصنيع البروتين ، فهناك تسلسلات موجوده بالقرب من النهايه 3' تقلل من ثبوتيته ، وبالمقابل توجد بروتينات تعمل ضد تلك التسلسلات وبالتالي يزداد معدل صنع البروتين

## الطفرات الوراثيه Genetic mutation

يمكن تعريف الطفره الوراثيه بانها تغير في تسلسل او عدد النيوكليوتيدات في الحامض النووي الدنا يؤدي الى تكوين تسلسلات جديده من التسلسلات من النيوكليوتيدات فيينتقل اثارها بصفات معينه الى الابناء . ان اصغر وحده وراثيه قابله لاحداث طفره وراثيه يطلق عليها ميوتون muton والذي يمثل اصغر عدد من النيوكليوتيدات المتنقله والقادره على انتاج طفرات مظهرية . وان الميوتون يمكن ان يكون من الصغر لحد نيوكليتيده واحده ، تؤدي اغلب الطفرات الى اختلاف في عدد الكروموسومات او التغيرات في تركيب الكروموسوم الواحد وان هذه التغيرات ممكن ان تحدث بصوره تلقائيه او بصوره مستحثه من خلال المطفرات ( mutagens ) الاشعاع والمواد الكيمياويه . اذا كان التغير على مستوى الجين قد يؤدي الى تغير في صورته اي تحول الى حاله اخرى ، وقد يكون هذا التغير خطرا يؤدي وقف عمل الجين لعملية معينه كانتاج انزيم او هرمون ويصبح موقف النشاط او قد يقلل هذا التغير من انتاج الجين او قد يزيد هذا التغير من مقدرة الجين في انتاج نشاط معين. تقسم الطفرات الى:

1 - Small Scale mutation: كالتفرات التي تحدث في واحد او اكثر من النيوكليوتيدات ، وتشمل

أ- الطفرات النقطيه point mutation

ب: طفرات الازاحه frame shift mutation

2- large scale mutation وتشمل الطفرات الكروموسوميه

ويمكن تقسيم الطفرات على اساس تاثيراتها المظهرية الى:

1- الطفرات المميتة lethal mutation وهي التي تسبب موت الكائن الحي في اي مرحله من مراحل نموه

2- الطفرات الشكلية : وهي الطفرات التي تؤدي الى تغير في اللون او الشكل او الحجم

3- الطفرات الفسيولوجيه: تؤدي الى تغيرات في الوظيفة كالتغيرات في معدل نمو الفرد او في مقدرته على مقاومة ظروف بيئيه كالحراره والمنبهات الكيمياويه وغيرها

4- الطفرات الكيمياويه: تؤثر على قابلية الكائن الحي على انتاج ماده ابيضه مثل نيوكليوتيده اوسكر او حامض اميني

## 5- الطفرات الشرطية:

التي يظهر تأثيرها على الكائن في حالة وضع الكائن تحت ظروف نمو معينه كالطفرات الشرطية الحساسه للحراره التي تؤثر على نمو الكائن في درجة حراره معينه وليس غيرها كما يمكن تقسيم الطفرات على اساس سبب حدوثها :

1- الطفرات التلقائيه :وتسمى ايضا بالطفرات الذاتيه ، وهي التي تحدث عند عدم تعرض الكائن

لماده مطفره معروفه وقد يكون سبب حدوثها :-

أ- تعرض الكائن الحي للاشعاعات الموجوده في الطبيعه

ب- تفاعلات بايوكيمياويه تجري داخل الخليه

ج- حصول تبدلات طبيعيه في درجات الحراره

والطفرات التلقائيه على المستوى الجزيئي ربما تحدث بسبب:

أ- Tautomerism : وهو تغير يطرا على القاعده النتروجينيه نتيجة تغير في موقع ذرة الهيدروجين مما يؤدي الى تغير في نمط الاواصر الهيدروجينيه بين زوج القواعد اثناء التضاعف

ب- Depurination : فقدان قاعدة البيورين (الادنين او الكوانين) لتكوين AP site

apurinic site

ج- deamination :تغير في القاعده النتروجينيه بحيث تكون حاويه على مجموعه الكيتون بدل

مجموعه الامين على سبيل المثال تحول الادنين الى الهايپوزانثين والتي يمكن تصحيحها بواسطة ميكانيكية اصلاح الضرر في الدنا

د: Slipped strand mispairing : ويحدث مسخ في شريط الدنا الجديد من قالب الدنا المتضاعف

، ثم اعادة اصلاح من نقط مختلفه مما يؤدي الى اضافة او حذف بعض القواعد النتروجينيه.

## 2- الطفرات المستحدثه:

وهذه الطفرات تحدث نتيجة تعرض الكائن الى بعض المواد الكيمياويه او الفيزياويه

**الطفرات النقطيه point mutation** : وتحدث هذه الطفرات بسبب المواد الكيمياويه المطفره

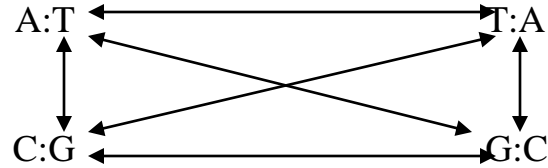
اوخلل في عملية التضاعف : وهو تغير بسيط في قاعده نتروجينيه واحده او عدد قليل منها ، ويكون

هذا التغير كاستبدال قاعده نتروجينيه باخرى . ويتم استبدال القواعد النتروجينيه اما بالانتقال

transition او بالتحويل transversion



والانتقالات عباره عن طفرات ناجمه من احلال البيورينات محل البيورينات الاخرى او بريميدينات محل بريميدينات اخرى ، وهذا النوع يكون اكثر شيوعا من التحول ويحدث بسبب التعرض لل nitrose cide او احلال مماثلات القواعد base analog . اما التحول فيكون اقل شيوعا ، وفيها يتم احلال البيورين بالبرميدين او العكس



شكل يمثل الاستبدال بين القواعد النتروجينية في الحلزونه المزدوجه لدينا : اضلاع المستطيل يمثل التحول ، واقطاره تمثل الانتقال

الطفرات النقطيه التي تحدث في منطقة تشفير البروتين تصنف الى ثلاث انواع بالاعتماد على تشفير الكودون الطافرالى:

- 1- الطفرات الصامته silent mutation وهي تشفر لنفس الحامض الاميني
- 2- الطفرات المفقوده missense mutation وهي تشفر لحامض اميني مختلف
- 3- الطفرات غير المحسوسه nonsense mutation وهي طفرات تؤدي الى تكوين شفرات الانهاء مما يؤدي الى تكوين بروتين مقطوع غير فعال

### طفرات الازاحه Frame shift mutation

في طفرات الازاحه يحدث اضافه او حذف لقاعده نتروجينية واحده او اكثر، وبما ان شريط الدنا المشفر للبروتين يتالف من الشفرات الوراثيه المؤلفه من ثلاث نيوكليوتيدات، مما يؤدي الى تغير في تسلسل القواعد النتروجينية الواقعه بين شفرة البدء وشفرة الانهاء وبذلك يحدث تغير في ناتج التعبير الجيني .

وتحدث الاضافه اما بسبب العناصر الطافره transposable elements او خطأ اثناء عملية التضاعف والاضافه في منطقة التشفير لذلك الجين يؤدي الى تغير في عملية تنضيج mRNA اذ تدعى بال splice site mutation ،ومن الممكن ان تكون عملية الاضافه انعكاسيه بازاله العناصر القافزه. اما عملية الحذف فتكون غير انعكاسيه

## العوامل المطفرة

### 1- العوامل الفيزيائية

### 2- المواد الكيميائية

#### العوامل الفيزيائية:

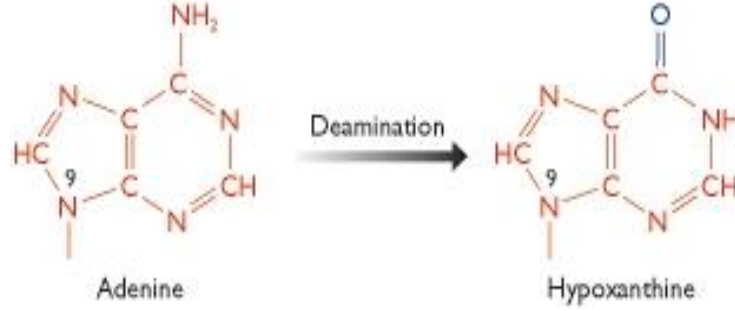
#### أ- الأشعة المؤينة Ionizing radiation

تؤثر الأشعة المؤينة على بعض جزيئات الدنا وتؤدي الى تغيير في بنائها الكيميائي ، لقد وجد ان معدل الطفرات المستحدثة تتناسب طرديا مع الاشعاع ومن هذه الاشعاعات الفا وبيتا وكاما في تأين بعض الجزيئات وتقاس بوحدات الراد و roentgen رونتجين وحدات جرعة الاشعاع . ان للأشعة المؤينة تأثير بايولوجي مباشر وغير مباشر ويقصد بالتأثير المباشر الضرر الذي يلحق بالجزيئات المهمة في الخلية الحيه والتي تتاين مباشرة او تصبح بحالة تهيج وقد تؤدي الى تلف جزيئات الحامض النووي ، اما التأثير غير المباشر يؤدي الى ضرر لجزيئات الخلية بفعل الجذور الحره مثل free radicals والتي تنشأ من تاين جزيئات الماء فهذا يؤدي الى نشوء ايونات وجزيئات مختلفه مثل  $H_2O_2$ ,  $H^*$ ,  $O_2^-$ ,  $OH^-$  والتي تتفاعل مع نواة الخلية والسايوتوبلازم وتؤدي الى تفكك الرابطة الكيميائية لذرات الكربون بسهولة فجرعه صغيره من الأشعة الايونيه تؤدي الى تغييرات كبيره في جزيئة الدنا او حصول ضرر بالغ في بنية الكروموسوم .

ب- الأشعة فوق البنفسجية: تعمل الأشعة على انتاج دايمرات الثايمين thymine dimmer المتجاوره لنفس الشريط وبالتالي لا تستطيع قواعد الثايمين على تكوين اواصر هيدروجينية مع الادنين وبالتالي يختل ترتيب او تنظيم الخيط الحلزوني

#### المواد الكيميائية:

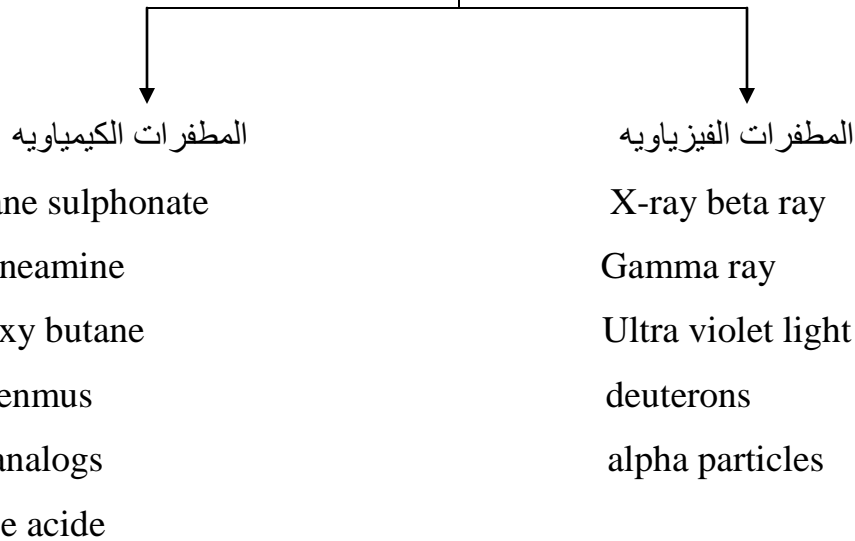
هناك العديد من المواد الكيميائية لها القدره على احداث طفرات وراثيه او تغييرات كروموسوميه ففي السنوات الاخيره تم اكتشاف تأثير العشرات من تلك المواد التي لها القدره على احداث تغييرات كروموسوميه اذا ماتعرضت لها الخلية او النسيج وبتراكيز محدد ولفتره معينه من الزمن. ان هذه الكيميائية مثل غاز الخردل وحامض النتروز  $HNO_2$  وهيدروكسيل الامين والعوامل الاكسيلية alkylating agent التي تتفاعل مع مناطق معينه من ماده الوراثة ضمن الكروموسوم مسببه بذلك تغيير في بنائه الوراثةي وتأثيرها يكون اخطر من الأشعة المؤينه حيث تؤدي الى تغييرات نوعيه وكميه في ماده الوراثةي تقود الى الطفرات الوراثةيه وذلك لقدرتها على النفاذ الى داخل النواة والتفاعل مع ماده الوراثةيه



شكل يوضح تأثير حامض النتروز في ازالة مجموعة الامين من القاعده النتروجينية الادنين

هنالك مواد كيميائية لها صيغته تركيبه تشبه بعض القواعد النتروجينية تدعى مشابهاً القواعد base analogs ان هذه المواد تختلف عن القواعد النتروجينية الاعتيادية كونها تستطيع ان تزيد من احتمال حصول اخطاء تزاوجيه في حالة توفرها في الخلية اثناء التضاعف قد تؤدي الى حصول تغيرات كروموسومية ومن اهم المشابهاً للقواعد هي 5-برومويوراسيل 5-bromodeoxyuracil (5BUdR) الذي يشبه الثايمين و 2-امينوبورين 2-aminopurine

### المطفرات



## الطفرات الكروموسومية Chromosomal mutations

هي تغيرات كبيرة تحصل في تركيب الكروموسوم وتشمل مايلي:

### 1-الطفرات النوعية (التركيبية) Qualitative (structural) aberration

تشمل التغيرات التي تطرا على الكروموسوم وتؤثر على مواقع الجينات وترتيبها على الكروموسوم

### 2-الطفرات الكمية(العدديه) Quantitative (numerical) aberration

التغيرات التي تطرا على العدد الكروموسومي او جزء من الكروموسوم الواحد اي انها تؤثر من الناحية الكمية وليس على موقع او الترتيب الجيني على الكروموسوم

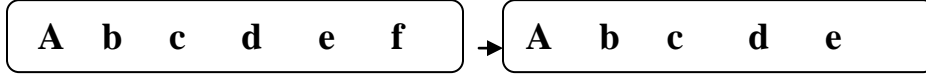
### التغيرات النوعية

يمكن ان تحدث تلقائيا او مستحثه بعوامل الحراره او بعض المواد الكيمياويه او الاشعاع . ان حدوث كسر قبل مرحلة بناء الدنا (S-phase) اي في مرحلة G تسبب حدوث كسر في الكروموسوم اما تلك الكسور التي تحدث بعد مرحلة (S-phase) اي بعدتضاعف ماده الوراثيه فانها تؤدي الى كسر في الكروماتيد وان هذا الكسر سوف يؤدي الى كسر في الكرويت غير ملتحمه فموسوم ولكنها في حال بق الكروموسوم عند حدوث دوره الانقساميه التاليه . ان مسانها تسبتوى تأثير التغيرات في الكروموسوم يعتمد على طبيعة القطعه المكشوره ففي حالة التحام القطع المكسوره لا يحدث اي تغير ملحوظ فانها تسبب تغيرات ملحوظه وكذلك الحال اذا ماالتحمت مع نهايات اخرى لنفس الكروموسوم او التحمت مع نهايات اخرى لكروموسوم اخر .

### التغيرات النوعية

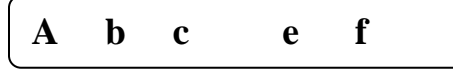
### 1-النقص او الاقتضاب Deletion or deficiency

تغير كروموسومي يحدث نتيجة فقدان قطعه من الكرزمزسزم اما تكون بينيه الموقع interstitial او طرفيه terminal ، والقطع المكسوره التي لاتلتحم او تكون فاقده للقطعه المركزيه تفقد في السايوبلازم مما يؤدي الى نقص بيني او طرفي. ينتج الاقتضاب البيني نتيجة لحصول كسري والتحام نهايتها مع البعض ، اما النهائي فيحدث نتيجة حصول كسر مفرد في طرف الكروموسوم . اما اذا كان الكسر صغيرا فلا يمك نتحسسه اما اذا كان النقص كبيرا فقد يؤدي الى ظهور شخص غير طبيعي



f

### Terminal deletion



d

### Interstitial deletion

النقص البيني في حالة التزاوج الكروموسومات المتماثلة في الانقسام الاختزالي فانه يؤدي الى تكوين بعروات النقص او لحذف deletion loops

### 3-الاضافه او التكرار Duplication or addition

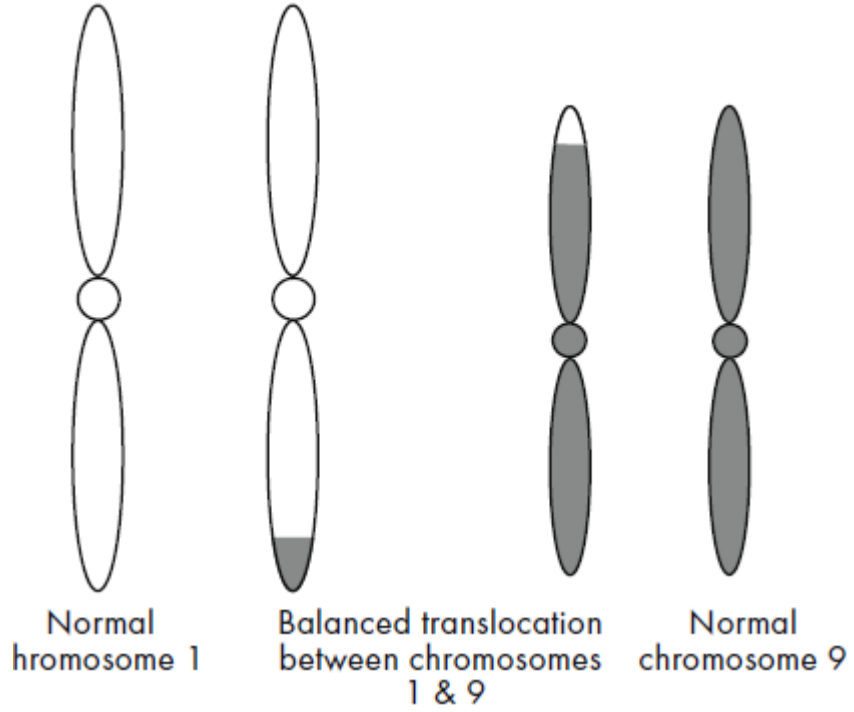
يحدث التضاعف عندما تتواجد او تتكرر قطعه كروموسوميه تابعه في تركيبها ورتبيها الجيني كروموسوم واحد مره او اكثر او الى وجود قطعه كروموسوميه مزاحه من كروموسوم الى كروموسوم غير مماثل مما يؤدي الى زياده الجينات في ذلك الكروموسوم ، وقد تشمل الاجزاء المضافه على القطعه المركزيه ولهذا تظهر كأنها كروموسوم اضافي ، تختلف الكروموسومات المضافه عن مثيلاتها بانبعاجها الى الخارج في الطور التمهيدي من الانقسام الاختزالي

### 4-الانتقال translocation

الانتقال هو عباره عن اعاده ترتيب مواقع الجينات على الكروموسومات غير المتماثله وتوجد نوعين من الانتقال :

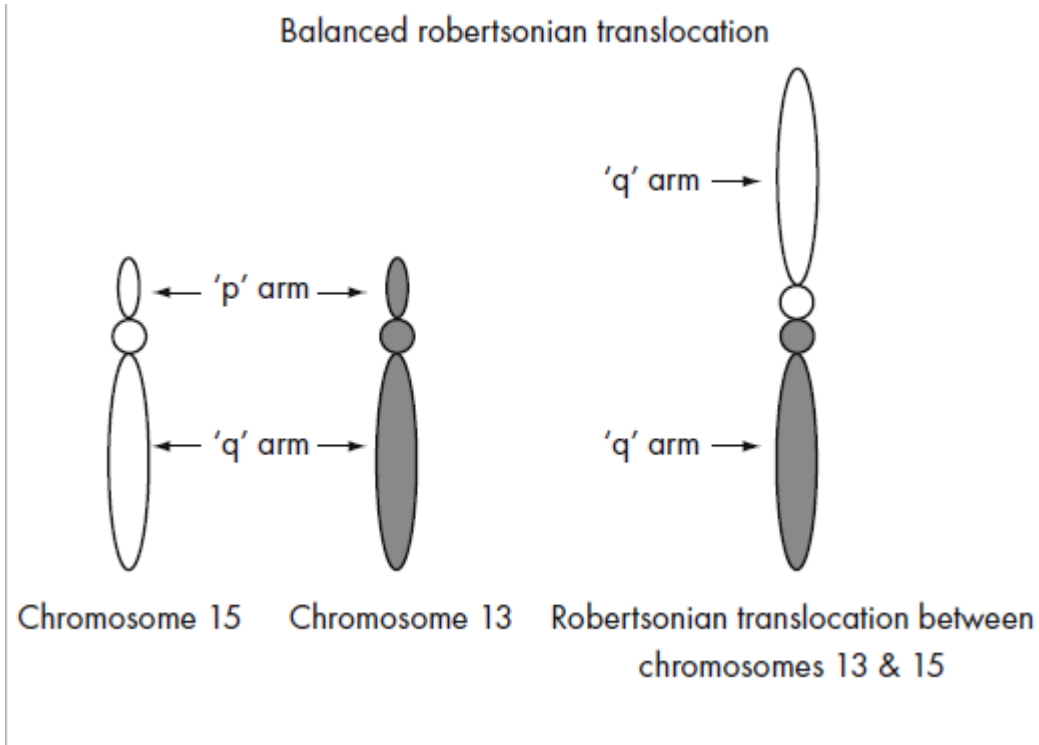
1-انتقال متبادل reciprocal translocation : يحدث تبادل للماده الوراثيه بين اي من الكروموسومات وتشمل القطع الكروموسوميه التي تكون غير محدد بال حجم ويدعى ايضا بالمتوازن balanced وفي هذا النوع من الانتقال لا يحدث اي تغيرات ملحوظه على الكروموسوم من فقدان او اكتساب للماده الوراثيه

### Reciprocal 'balanced' autosomal translocation



A person with this chromosome arrangement has a 'balanced translocation' with the equivalent of two chromosomes each of numbers 1 and 9.

1- Robersonian tanslocation : ويشمل تبادلات القطع الكروموسومية للكروموسومات acrocentric حيث يكون موقع القطعه المركزيه على حافة الكروموسوم مما يؤدي الى تكوين ذراع طويل وذراع قصير جدا والتبادل يكون بفقدان الاذرع القصيره للكروموسومين المتبادلين والتحام الاذرع الطويله فينتج عنه كروموسوم يحوي اذرع طويله اما يحتوي واحد او اثنان من القطع المركزيه. وهكذا يتم فقدان الجينات الموجوده على الذراع القصير



Robertsonian translocation between chromosomes 13 and 15, giving this individual the equivalent of two copies of chromosomes 13 and 15 re-arranged as one long chromosome.

- 4- الانقلاب Inversion : يحدث نتيجة لحصول كسر في موقع والتحامهما ثانيه بعد تدوير هذه القطعه بزوايه مقدارها 180 درجه والتي تؤدي الى تغيير في موقع بعض الجينات يقسم الى
- أ- الانقلاب المتضمن القطعه الكروموسومية pericentric inversion : عندما يحدث على مسافات تتساويه من القطعه المركزيه
- ب- الانقلاب غير المتضمن القطعه المركزيه paracentric inversion

## التغيرات الكمية

يكون العدد الكروموسومي ثابتا للنوع الواحد من الكائنات الحية حيث يعتمد هذا العدد في تحديد النوع والعلاقات الوراثية والتصنيفيه ضمن المجموعه يمثل العدد الكروموسومي الاساس (المحتوى الجيني Genome بالحرف 2n ) او ثنائي المجموعه الكروموسوميه diploid ، واثناء الانقسام الاختزالي ينصف العدد الكروموسومي الى النصف فان ناتج العمليه احادي المجموعه الكروموسوميه Haploid او n . ان التعدد الكروموسومي او التضاعف المجموعي polyploidy يحصل عندما تمثل المجموعه الكروموسوميه باكثر من مرتين 3n, 4n, 5n

التسميه	الهيئه الكروموسوميه
Tetraploidy	92,XXYY
Triploidy	69,XXY
Trisomy 21	47,XX,21
Trisomy 18	47,XY,18
Trisomy13	47,XX,13
Trisomy 16	47,XX,16
Klinefelter sydnrom	47,XXY
Trisomy,X	47,XXX
Turner s syndrome	45, X
Variant of Klinefelter syndrome	49,XXXXY

فائدة الكائنات احادية المجموعه الكروموسوميه من الناحيه الوراثيه والتضريبيه

- 1- امكانية تضاعف كروموسوماتها لاجنسيا باستخدام الكولجسين
- 2- تكوين البذور نتيجة الاخصاب الذاتي فيحصل تضاعف في عدد كروموسوماتها وبذلك نحصل على نباتات ثنائية المجموعه الكروموسوميه بعد المعامله بالكولجسين نحصل على رباعي المجموعه الكروموسوميه وتكون هذه المجموعه متماثله ومتجانسه في جميع جيناتها تجانسا تاما وتدعى Autopolyploidy



3- لمعرفة طبيعة المجموعه الكروموسوميه الاساسيه كالعدد الاساسي الحقيقي وكشف التكرارات بدراسة سلوكها اثناء الانقسام الخيطي الجسمي والاختزالي

### التعدد الكروموسومي polyploidy

تمتلك الحيوانات والنباتات في هذه الحاله اكثر من مجموعتين احاديتين من الكروموسومات في فرد ثنائي المجموعه وهذه تحصل اما من خلال

1- تضاعف جسمي somatic doubling : تحصل نتيجة تضاعف كروموسومات الخليه الجسميه وهذه تحصل اما

أ- بسبب اجتماع خليتين بنويتين دون انقسام السايوتوبلازم

ب- عدم انفصال الكروماتيدات الشقيقه

ج- تحفيز الخلايا عن طريق المعامله بالكولجسين او المواد الكيمياويه التي تمنع تكوين الياف المغزل والتي تمنع حركة الكروموسومات من منطقه استواء المغزل نحو القطبين

2- تضاعف مشيجي Gametic doubling : تنتج من تزاوج مشيجين لم تختزل كروموسوماتها في كليهما او احدهما ويكون حدوثها اكثر من النوع الاول وينشا من عدم حدوث انقسام اختزالي في مرحله تكوين الامشاج او نشوء امشاج من خلايا اميه حدث فيها تضاعف كروموسومي لسبب ما وكذلك من عدم انفصال الكروماتيدات الشقيقه عن بعضها في مرحله تكوين النطف

### تصنيف التغيرات الكروموسوميه العديده

1- التضاعف المجموعي الكامل او الحقيقي Euploidy

تبقى المجموعه الكروموسوميه في حاله توازن دون زياده او نقصان كروموسوم واحد او اكثر من المجموعه بعد تضاعفها

2- التضاعف المجموعي غير الكامل او غير الحقيقي Aneuploidy

وفيه يفقد التوازن للمجموعه الكروموسوميه بسبب زياده او نقصان لواحد او اكثر من الكروموسومات  $(2n+1)$

التضاعف المجموعي الحقيقي يضم

أ- التعدد المجموعي الذاتي Autopolyploidy : تتميز خلاياها باحتوائها على مجاميع

كروموسوميه متماثله ولكل كروموسوم اكثر من نظير واحد ويحدث نتيجة لفشل في الانقسام

الاختزالي او الخيطي او باستمال الكولجسين ، او قد تحتوي احد الامشاج على مجموعه

ثنائيه فاذا خصبت بنوع من الامشاج يحتوي على مجموعه احاديه ينتج بيضه مخصبه تحتوي على ثلاث مجاميع كروموسوميه triploidy .  
ب- التعدد المجموعي الخلطي Allopolyploidy: ناتجه من وجود مجاميع كروموسوميه مختلفه تابعه الى اجناس او انواع مختلفه وهذه الحاله شائعة الحدوث ف في النباتات بسبب حالة التهجين

التضاعف المجموعي غير الحقيقي: ويحدث تضاعف لجزء من المجموعه الكروموسوميه التابعه لفرد ثنائي المجموعه الكروموسوميه ويحدث بسبب:

أ- اخفاق انفصال الكروماتيدات لاحد الكروموسومات في الانقسام الاختزالي  
ب- عدم اقتران احد الكروموسومات في الطور التمهيدي الاول الذي ينشا عنه توزيع عشوائي لكروموسومين وبالتالي يذهب كلا الكروموسومين الشقيقين الى احد الاقطاب فيتكون مشيجان احدهما يمتلك كروموسوم اضافي والاخر ناقص الكروموسوم وعند اتحادهما بمشيج اعتيادي في الحاله الاولى يكون ثلاثي الكروموسوم trisomy والاخر يكون ناقص الكروموسوم احادي الكروموسوم monosomic

امثله على التغيرات في المجموعه الكروموسوميه

متلازمة داون (المنغوليا) Down s syndrome (mongolism) : تنتج هذه الحاله بسبب زيادة كروموسوم واحد في الزوج الحادي عشر(كروموسوم جسمي) والذي يصبح بثلاثة كروموسومات بدلا من الحاله الثنائيه والزيادة هذه ناشئه من عدم انفصال زوج الكروموسومات الجسميه رقم 21 انفصالا طبيعيا في احد الابوين اثناء الانقسام الاختزالي . يمكن تشخيص هذه الحاله عن طريق تحليل الهيئه الكروموسوميه karyotype . يتصيف المصاب بهذا المرض بالتخلف العقلي وقصر القامه وذا وجه متسع دائري وذا جبهه بارزه وانف مضغوط .

متلازمة تيرنر Turner s syndrome : تنتج هذه الحاله المرضيه من اتحاد بيضه خاليه من كروموسوم X فالطراز الوراثي هو X0 او 45,X والطراز المظهري لهذه المتلازمه هي انثى رغم وجود كروماتين الجنس او جسم بار Barr body ونادرا ماتصل الى مرحلة البلوغ الجنسي ، قصر القامه ، انتفاخ الرقبه والصدر العريض تخلف عقلي

اما في حالة اتحاد تلك البويضه مع بنطفه ذكرية تحمل كروموسوم Y فان البيوضه المخصبه تتطور الى ذكر طرازه الوراثي Y0 يفارق الحياة بعد فترة وجيزه .

## المحاضره الرابعه

### اليات اصلاح الدنا المتضرر

المقدمه: من احدى اهم صفات الماده الوراثيه هي انها تخزن المعلومات الوراثيه وتضاعفه وتظهرها بشكل امن الى الاجيال الاحقه ولكن مسأله اظهار المعلومات و تخزينها 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 الكيماويه او العوامل الفيزياويه مما قد يؤدي الى ضرر يثبط التضاعف او الاستنساخ وربما يؤدي لحصول طفرة. ولاجل الحفاظ على تكميلية الماده الوراثيه طورت الاحياء المجهرية اليات اصلاح الدنا المتضرر.

### مصادر الضرر

أ- عوامل داخلية نتيجته للفعاليات الحيويه للخليه وتشمل

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

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

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

4- فقدان التزاوج بين القواعد النتروجينية 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- العرقلة الحرارية temperature disruption . دائما تؤدي الى حذف القواعد البورينية

من شريط الدنا وتكوين AP sites

5- المواد الكيماوية الصناعيه

## اليات اصلاح الدنا المتضرر

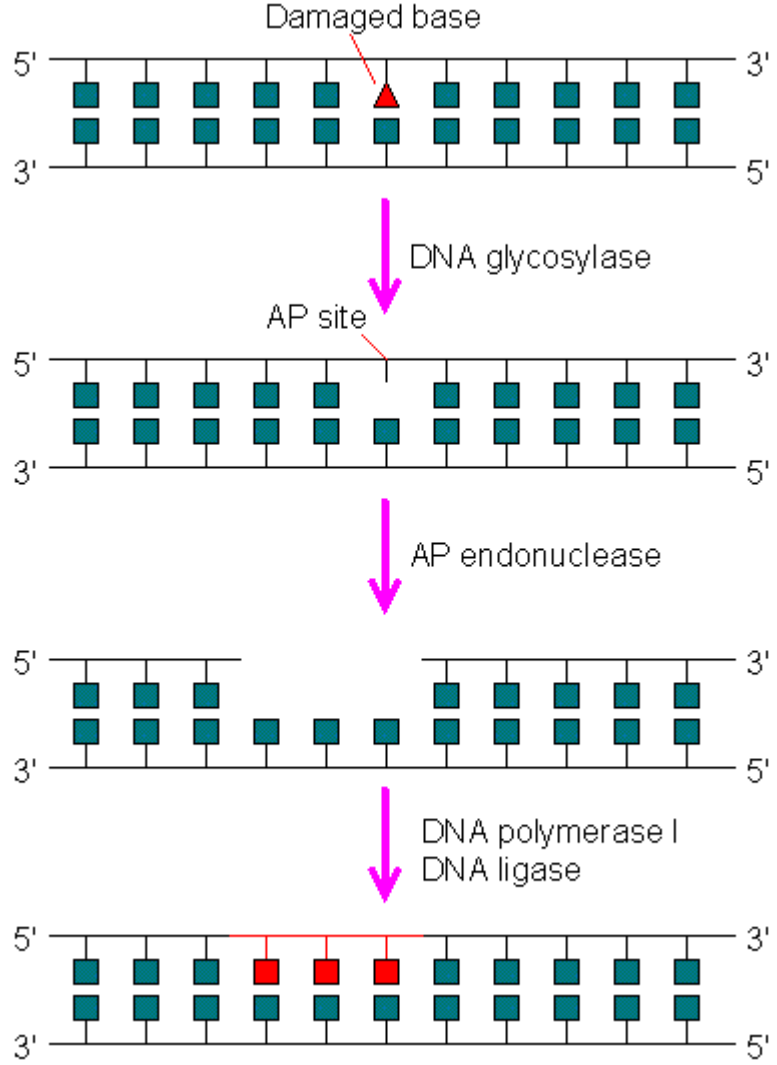
### 1-العكس المباشر للتفاعل الكيماوي Direct reversal for chemical reaction

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 photoreactivation ، تعمل على العكس المباشر للضرر من خلال فعاليه انزيم يدعى  
photolyase الذي يتنشط بفعل الطاقه الممتصه على طول موجي 300- 500 نانوميتر ، بعدها  
يقوم بازالة الضرر .

### 2-حذف القواعد النتروجينيه المتضرره excision of the damaged bases

وفيها يتم حذف القواعد النتروجينيه التي سبق وان تعرضت للاكله او ازالة مجموعه الامين بواسطة  
انزيم متخصص بنوع القاعده النتروجينيه يدعى DNA glycosylase ، مما يؤدي الى تكوين  
apurinic site او apyrimidinic site ( APsite) . يتم تمييز AP site بواسطة انزيم يعرف  
بال AP endonuclease الذي يزيل مجموعه 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 1-تخصص انواع انزيمات الكلايكوسيليز بنوع القاعده النتروجينيه المتضرره

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

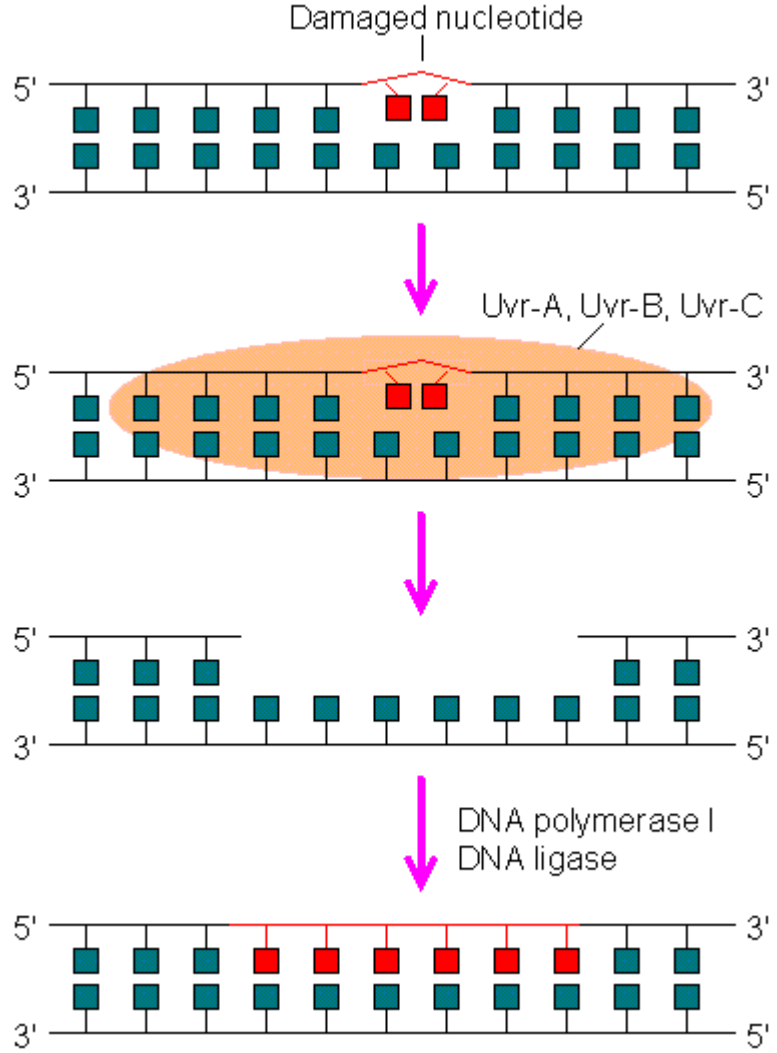


شكل 1- يوضح الية اصلاح الدنا بحذف القاعده النتروجينية المتضرره

### 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 dimer . في بكتريا E.coli توجد هنالك ثلاث جينات Uvr A,B,C تشفر لبروتينات Uvr A,B,C ، هذه البروتينات تعمل ك excinuclease اذ تعمل على حذف النيوكليوتيدات المتضرره ، مما يؤدي الى تكوين فسخه يتم ملاءها بفعل انزيم DNA polymerase مع وجود انزيم الايكيز الذي يعمل على ربط القطعه المضافه 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)

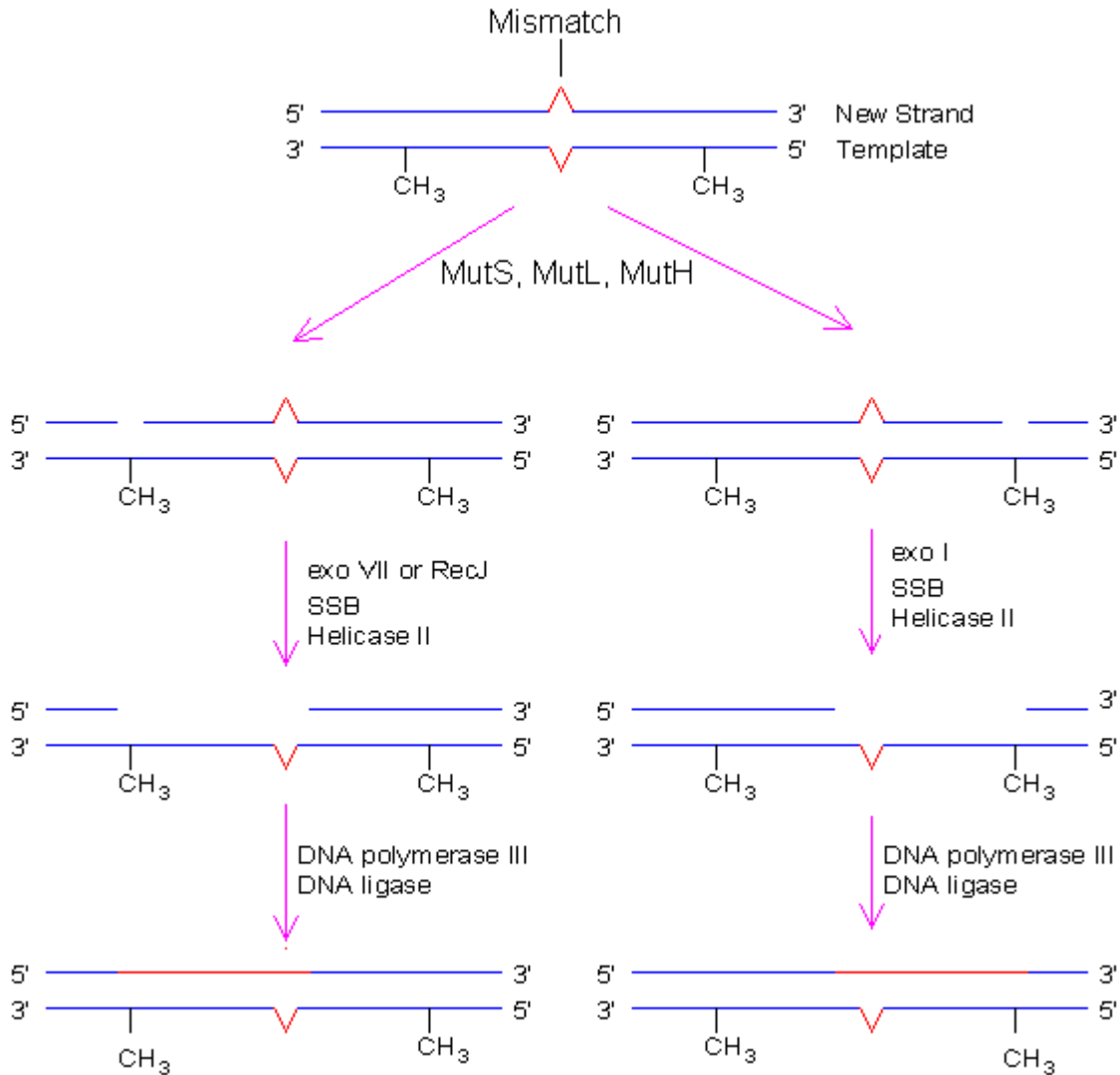


شكل 2- يوضح الية اصلاح الدنا بحذف النيوكليوتيدات المتضرره

#### 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 المثل 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 النيوكليوتيدة الخطأ ، ثم يرتبط بعد ذلك mut L الذي يحفز H على الارتباط بـ GATC الذي يقوم بشق شريط الدنا الجديد من موقع الارتباط . ان المسافه الواقعه بين النيوكليوتيدة الخطأ والشق يزال بفعل انزيم exonuclease ، ثم بعد ذلك تملأ الفسحه بواسطة بلمرة الدنا مع وجود انزيم الايكيز. في حقيقيات النواة ، مثل الخمائر لوحظ وجود بروتينات مشابهه لتلك الموجوده في البكتريا وتدعى MSH1---MSH5 .



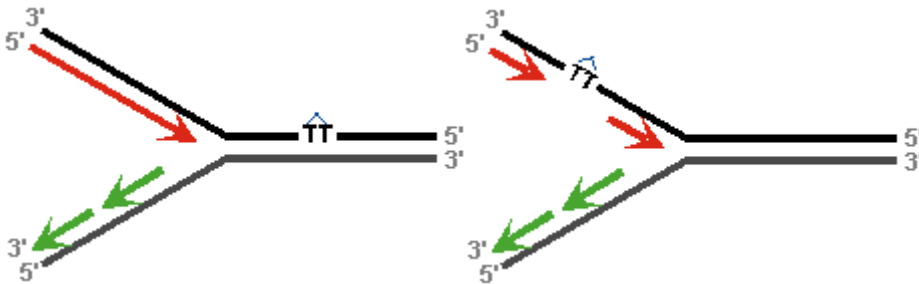
شكل 3- يوضح الية اصلاح الضرر الناتج من عدم توازن القواعد النتروجينية

## 5-اصلاح الضرر مابعد التضاعف postreplication repair

تعتمد هذه الالية مبدأ اعادة التشكيل الوراثي المتجانس homologous genetic recombination لتحل قطعة الدنا المتكامله او الصحيحه محل قطعة الدنا المتضرره . عند تضاعف جزيئة الدنا حاويه على ثنائية الثايمين thymine dimer (lesion) يقوم انزيم بلمرة الدنا بأستئناف عمله اسفل منطقة الضرر فيكون هنالك فسحة في شريط الدنا الجديد مقابل ثنائية الثايمين, وفي الدوره الثانيه من تضاعف الدنا تتكون جزيئين دنا ، احدهما متكامله والاخرى حاويه على منطقه غير متزاوجه مع القواعد النتروجينية في منطقه الضرر. ان عملية الاصلاح تتضمن تكوين تلافيات هوليداي 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 جزيئين دنا احدهما حاويه على ثنائية الثايمين وشريط مصحح وراثيا و الجزيئه الاخرى حاويه على فسحة يتم ملاءها بواسطة انزيم بلمرة الدنا وانزيم الايكيز



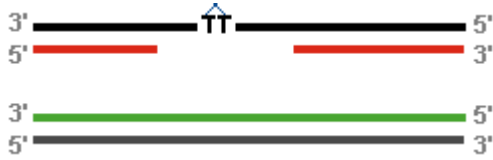
Now also suppose that this molecule is being replicated. **DNA polymerase II** will be unable to correctly copy the thymine dimer. Rather than stall at this point, it may simply skip over the problem:



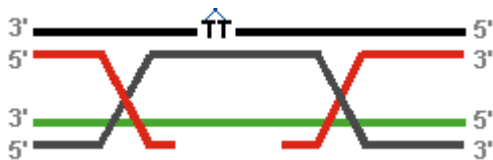
It is now believed that **DNA polymerase II (PolIII)** reinitiates DNA synthesis downstream of lesions such as thymine dimers.



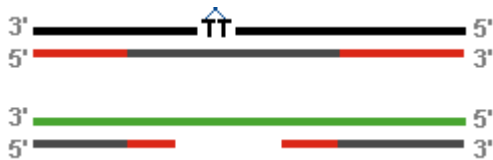
Now, we are left with two daughter molecules, one of which is complete and one of which has an unpaired region containing a thymine dimer:



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 synthesised 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 dimer 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

## الضرر والطفرات الوراثية DNA damage and genetic mutation

يختلف هذان المصطلحان جوهريا عن بعضهما بالرغم من ان كلاهما خلل في المادة الوراثية وتغير عن حاله الطبيعيه. والفروقات هي كالآتي :

Mutation	DNA damage
1- تغير في تسلسل القواعد النتروجينية او تغير في تركيب الجيني او المحتوى الوراثي	1- ضرر الدنا هو تغيرات فيزياويه مثل تغير في القاعده النتروجينية التي يمكن ازالتها عن طريق اليات الاصلاح
2- لايمكن تمييزها بواسطة الانزيمات حال وجود التغير في كلا الشريطين	2- يمكن تمييزها من خلال انزيمات نظام الاصلاح باستخدام المعلومات الوراثية الموجوده على شريط الدنا المتمم
3- تتكرر الطفرات بتضاعف الخليه ويمكن ان تسب تغيرات في وظيفة البروتين وليس بالضروره ان تؤدي الى موت الخليه	3- الضرر ممكن ان يؤدي الى موت الخليه اذا ما احتفظت الخليه بتلك التغيرات
4- يمكن فقد الخلايا الطافره اثناء تضاعفها او انها تنقسم لتكون نسائل خلويه طافره محدثه بذلك السرطان	4- عدم اصلاح الضرر في الخلايا بطيئة الانقسام او غير المنقسمه يكون تأثيرها تراكمي ، في حين عدم اصلاح الضرر في الخلايا سريعة الانقسام ربما يؤدي الى احداث الطفره

## The plasmids البلازميدات

**المقدمة:** البلازميد هو جزيئه دنا ثنائية الشريط double strands DNA molecules غالبا ماتكون حلقيه الشكل ، تتراوح احجامها من 1-1000 kbp ، وهي تمثل كوحده وراثيه خارج كروموسوميه ، تتواجد طبيعيا في البكتريا وفي بعض انواع الخمائر مثل Saccharomyces cerevisiae يتميز اللازميد بانه ذاتي التضاعف autonomous replication اي انه يتضاعف بشكل مستقل عن تضاعف الروموسوم البكتيري. لاتعتبر البلازميدات شكل من اشكال الحياة تشبه بذلك الفايروسات ولكنها تختلف عنها من ناحية انها لا تشفر لبروتينات احتواء الماده الوراثيه مثل protein coat ، مع انها تشفر لبعض البروتينات مثل الاهلاب الجنسيه sex pili

### الخصائص العامه للبلازميدات General characteristics of the plasmids

- 1-توجد البلازميدات باشكال مختلفه ، النوع السائد هو جزيئه دنا حلقيه الشكل واحيانا توجد بشكل خطي linear DNA molecule
- 2- البلازميدات هي جزيئات صغيرة الحجم تتراوح احجامها من 1-1000 kbp
- 3- على الرغم من انه يتضاعف بشكل مستقل عن تضاعف الروموسوم البكتيري autonomous replication الا انه يعتمد على انزيمات الخليه لانجاح عملية التضاعف والاستنساخ. ولكن عملية بدا التضاعف وتوزيع نسخ البلازميدات في الخليه البنويه يتم تنظيمها من خلال جينات البلازميدات
- 4- كل بلازميد يحتوي واحده على الاقل من منطقة اصل التضاعف origin of replication
- 5- اكثر البلازميدات تحتوي على جينات مسؤله عن ابراز الطراز المظهري الخاص بالكائن الحي ، مثل صفة مقاومه للمضادات الحيائيه
- 6- بعض الخلايا البكتيريه تحتوي على نسخة واحده او عدد قليل منها ، اثناء حدوث انقسام الخليه وتكوين الخلايا البنويه ، هنالك احتماليه انتاج خلايا بنويه فاقده لذلك النوع من البلازميد
- 7- بعض اللازميدات تشتمل ح addiction system او مايدعى postsegregation killing (psk) ونعني بها ان الخلايا البنويه الفاقده للبلازميد تعاني من الموت او اختزال في معدل النمو في حين تبقى الخلايا المحتفظه بنسخة البلازميد حيه
- 8- توجد عدة نسخ لكل نوع من البلازميد داخل الخليه الواحده تتراوح من نسخه واحده لعدة الاف من النسخ تحت ظروف خاصه

9-احتوائها على cloning site وهو منطقة الهضم بواسطة الانزيمات القاطعه المحدده التي عندها يتم اضافة القطعه الوراثيه المراد استنسالها

### انواع البلازميدات Types of plasmid

تختلف اسس تصنيف البلازميدات الى انواع مختلفه بالاعتماد على :

- 1- التوافق compatibility
- 2- الاندماج مع الكروموسوم البكتيري integration with bacterial chromosome
- 3- امكانية انتقاله الى الخليه البكتيرييه الاخرى ability to transfer to another bacteria
- 4- الوظيفه function

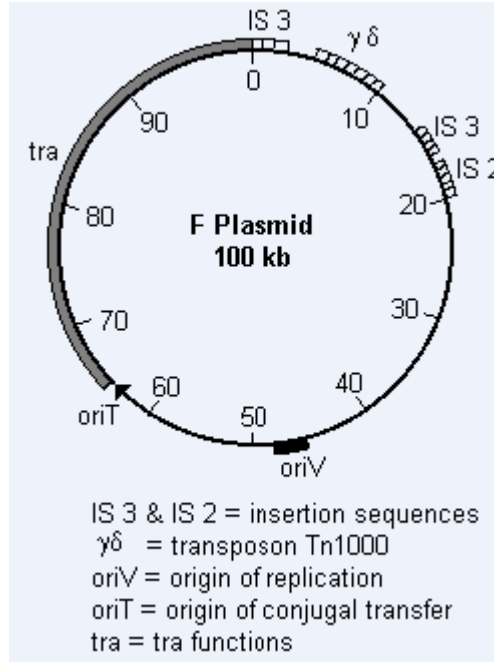
تدعى البلازميدات التي ترافق الخليه البكتيرييه حتى بعد تضاعفها وانتقالها الى الخلايا البنويه بالبلازميدات المتوافقه compatible plasmid في حين تدعى البلازميدات التي بالامكان فقدانها من الخليه البنويه اثناء الانقسام بالبلازميدات غير المتوافقه incompatible plasmid كذلك توجد البلازميدات بشكل حر في السايروبلازم غير مندمج مع الكروموسوم تدعى بالبلازميدات غير المندمجه nonintegrated plasmid او انه يكون متحد مع الكروموسوم البكتيري ويُدعى في هذه الحاله Episome

Episome : بعض البلازميدات لها القابليه على الاندماج مع البلازميدات الاخرى او مع الكروموسوم البكتيري وتدعى الحاله الاخيريه بال Episome وبعبارة اخرى اليبسوم هو بلازميد بكتيري او دنا فايروسي بامكانه الاندماج بالدنا الكروموسومي لخليه المضيف ، يتضاعف بتضاعف ماده الورااثيه الكروموسوميه ويصبح جزء من المحتوى الورااثي لتلك الخليه. يمكن اكتساب اليبسوم بواسطه الاصابه infection او بواسطه الاقتران البكتيري bacterial conjugation ومن الامثله على اليبسوم هو التسلسلات المنحشره (IS) insertion sequence والترانسبوزون Transposone ودنا الفايروسات التي بالامكان جينومها الاندماج مع كروموسوم الخليه المضيف ومن الاسس المعتمده في تصنيف البلازميدات هو امكانية انتقالها الى الخليه البكتيرييه الاخرى عن طريق الاقتران البكتيري . وتدعى البلازميدات المنقله الى الخليه المستلمه بالبلازميدات الاقترانيه conjugative plasmid وتكون هذه البلازميدات حاويه على Tra genes المسؤوله عن عمليه انتقال ماده الورااثيه البلازميديه ، اما البلازميدات غير الاقترانيه nonconjugative plasmid فهي غير قادره على الانتقال الى الخليه البكتيرييه المستلمه لانها لا تحتوي على المعلومات الورااثيه الازمه لانجاز عمليه الاقتران

وهناك بلازميدات تدعى Mobilizable plasmid ، وهي بلازميدات تكون حالة وسط بين الصنفين السابقين ، اذ تحتوي على بعض الجينات المتطلبه لعملية انتقاله الى الخليه الاخرى ، اذ تقوم بعملية التطفل على بلازميدات الاقتران وبذلك يمكن ان تنتقل الى الخليه المستلمه ويمكن ايضا تصنيف البلازميدات بالاعتماد على الوظيفه الى:

### 1- عامل الخصوبه fertility factor or F plasmid

وهو بلازميد ينظم عملية النقل الجنسي (الاقتران البكتيري) للماده الوراثيه بين الخلايا البكتيريه . يحتوي F plasmid على مجموعه من الجينات مسؤوله عن عملية التضاعف الذاتي ، وعن عملية تكوين الاهاب الجنسيه sex pili ، وعن عملية تكوين الجسور السايروبلازميه ، وايضا يحتوي على Tra genes المسؤوله عن عملية نقل البلازميد اثناء الاقتران البكتيري



شكل يمثل F plasmid

### 2- بلازميد مقاومة المضادات الحياتيه Resistant plasmid (R plasmid)

يحتوي هذا النوع من البلازميد على مجموعه من الجينات المسؤوله عن مقاومة البكتريا للمضادات الحياتيه او السموم البكتيريه . تتالف مثل هذه البلازميدات من منطقتين من الدنا احدهما تدعى عامل

نقل المقاومة resistant transfer factor وهي مسؤولة عن عملية نقل بلازميد المقاومة وعن عملية التضاعف، والمنطقة الأخرى تدعى محددات المقاومة (R- determinant) وهي جينات تشفر لمواد تعادل فعل المضادات الحيائية أو السموم البكتيرية . بلازميدات المقاومة هي من البلازميدات الاقترانية والتي تنقل من بكتريا الى اخرى بواسطة الاقتران البكتيري ، اذ انها تحتوي

على Tra genes

Col -plasmid -3

هذه البلازميدات تحتوي على جينات تشفر للسموم البكتيرية والتي تدعى بالبكتريوسين bacteriocin التي تعمل على قتل السلالات المختلفة لنفس الجنس البكتيري . تدعى السموم المفترزة من بكتريا *E coli* بال colicin ومن هذا جاءت التسميه ، والمفترزة من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بال pyocin . بعض Col plasmid هي بلازميدات اقترانية اذ يمكن انتقالها الى الخلية المستلمة اثناء عملية الاقتران مثل Col B وبعضها غير اقترانية مثل Col E

4-انزيمات التحلل او التفسخ Degradative plasmid

تحتوي هذه البلازميدات على جينات تجهز البكتريا مثل بكتريا *Peudomonas* بالانزيمات المتخصصة التي يمكن البكتريا من هضم بعض المشتقات النفطية والمركبات الهيدروكربون الاروماتية . Xyl-plasmid الذي يساهم في تحلل الزايلين Xylene و Toleune

5-بلازميدات الضراوه Virulence plasmid

بعض اجناس البكتريا مثل *Shigella flexneri* تمتلك عوامل ضراوه Invasin و Interotoxin محموله على البلازميد ، haemolysin لبكتريا *E.coli* . مثل هذه البلازميدات تدعى بلازميدات الضراوه

6- بلازميدات المتخفيه Cryptic plasmid

وهي البلازميدات التي لا تمتلك جينات وظيفيه functional genes وبالتالي فهي لا تساهم في ابراز الطراز المظهري phenotype للكائن الحي

7- بلازميدات المقاومة للعناصر الثقيله Heavy metal resistant plasmid

هذه البلازميدات تكسب البكتريا صفة المقاومة لبعض العناصر الثقيله مثل الزئبق والنيكل والرصاص مثال على بكتريا *P. florescens* ، *P.aeruginosa* ، *E.coli* .

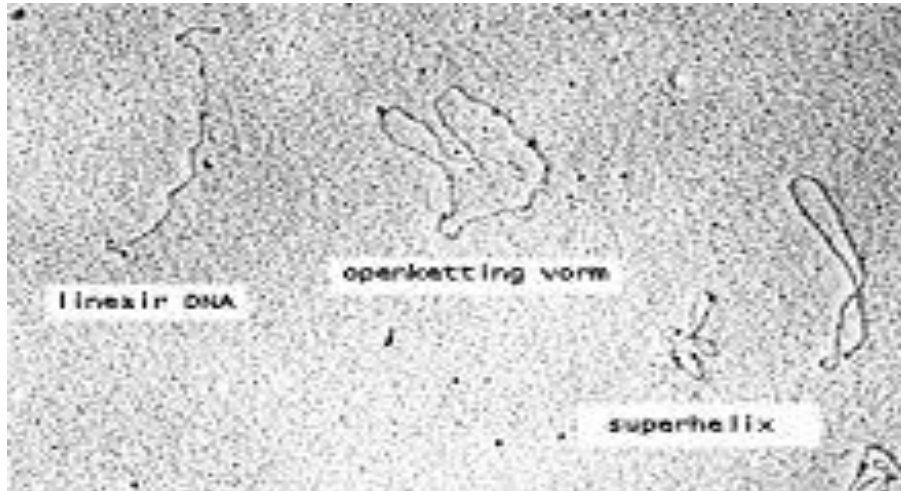
7- النواقل Vectors

تدعى البلازميدات المستخدمة في الهندسة الوراثية بالنواقل وتستخدم في عملية نقل الجينات من احد الكائنات الى الكائن الاخر وتكون على الاغلب حاوية على معلمات وراثيه genetic marker مثل المقاومه للمضادات الحيائيه التي يمكن انتقاءها مختبريا . مثل هذه البلازميدات تحتوي على منطقه تدعى cloning site وهي منطقه الهضم بواسطة النزيمات المحدده Restriction enzyme وبالتالي تسمح لقطعة الدنا المراد تنسيقها بالاندماج في منطقه القطع لذلك البلازميد ، ثم بعد ذلك يتم ادخال جزيئة الدنا البلازميدي في الخليه البكتيرييه بطريقة التحول الوراثي ، بعد ذلك يتم انتقاء البكتريا المتحوله عن طريق تنميتها على وسط حاوي على المضادات الحيائيه ،بعدها يتم استخلاص البلازميدات بطريقة التحلل القاعدي

### اشكال البلازميدات plasmid shapes

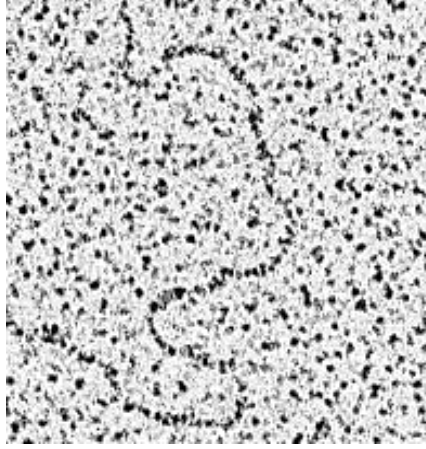
يتم التعرف على احجام قطع الدنا البلازميدي من خلال معاملة البلازميدات بانزيمات القطع المحدده او المقيد Restriction enzyme ومن ثم تحديد اوزانها من خلال عملية الترحيل الكهربائي بالمقارنه مع المعلمات الحجميه DNA size marker . وعلى الرغم من ذلك فان البلازميدات غير المعامله بانزيمات القطع يمكن تحديد اشكالها ايضا ، تظهر جزيئة البلازميد باحد خمسة اشكال مختلفه والتي تسلسلها بالاعتماد على سرعتها في هلام الكاروز من الابطأ الى السرعة

-1 Nicked open circular . وفيها تمتلك جزيئة الدنا شق في احد اشراطها DNA has one strand cut



2- جزيئة دنا خطيه linear DNA molecule وتكون لهذه الجزيئه نهايات حره ، كلا الشريطين مقطوعين

3- الشكل المستريح لجزيئة الدنا الحلقية Relaxed circular DNA molecule : جزيئة دنا كامله لاتمتلك نهايات حره



4- جزيئة دنا فائقة اللف Supercoiled DNA molecule تكون جزيئة الدنا كامله ونهاياتها غير حره مع امكانية التقاف الجزيئه على نفسها وتكوين الشكل ثلاثي الابعاد Tertiary structure





جزيئة دنا فائقة اللف الممسوخه Denatured supercoiled DNA molecules : تكون  
شبيهه بجزيئة دنا فائقة اللف مع وجود مناطق غير متزاوجه unpaired region

### تطبيقات البلازميدات البكتيرية

- 1- استخدامها في مختبرات الهندسه الوراثيه والتقنيات الحياتيه كناقل لبعض الجينات المراد استنسالها
- 2- تستخدم البلازميدات لتصنيع كميات كبيره من البروتينات ، في هذه الحاله يتم تنمية البكتريا الحاويه على البلازميد الحامل لجين يشفر لبروتين معين ( مثال الانسولين) باعداد كبيره
- 3- من خلال استخدام تقنيات الهندسه الوراثيه اصبح بالامكان جعل البكتريا قادره على تحليل المواد السامه وكوسيله ايضا لمعالجة فضلات المياه
- 4- يستخدم في العلاج الجيني gene therapy تستخدم البلازميدات كوسيله لادخال الجين الناقص والمسؤول عن الحاله المرضيه في جسم الانسان او الحيوان لمعالجة بعض الامراض

## الشفرات الوراثية Genetic code

**مقدمه:** ان المحتوى الوراثي للكائن الحي يدعى بالجينوم Genome وهو اما ان يكون DNA او RNA كما في حالة بعض الفايروسات . ان جزء المحتوى الوراثي (الجينوم ) والذي يشفر للبروتين يدعى بالجين ، وتتالف الجينات من مجموعه من وحدات ثلاثية النيوكليوتيدات Tri-nucleotide unit تدعى بالشفرات الوراثية

اذن يمكن تعريف الشفرات الوراثية، بانها مجموعه من القوانين يتم بواسطتها ترجمة المعلومات الوراثية المتواجده في الدنا او الرنا الى بروتين في الخلايا الحيه، وتتالف من تسلسلات ثلاثية النيوكليوتيدات تحدد نوع وتسلسل الاحماض الامينية في البروتين ،اذ ان كل شفره وراثيه تخصص بحامض اميني واحد مع وجود بعض الاستثناءات كما سنلاحظ لاحقا. ان الشفرات الوراثيه لاتمثل كل المحتوى الوراثي للكائن الحي ،اذ ان دنا جميع الكائنات الحيه تحتوي على تسلسلات منظمه Regulatory sequence بالاضافه الى مناطق وراثيه واقعه بين الجينات Inergenic segment

### خصائص الشفرات الوراثيه:

**1- Degeneracy الانحلايه :** وتعني ان اغلب الاحماض الامينية يمكن ان تشفر او تقدم باكثر من شفره وراثيه واحده على سبيل المثال الاحماض الامينية الارجنين Argenine وسيرين Serine وليوسين Leucine كل واحده من هذه الاحماض الامينية تشفر بواسطة ست شفرات وراثيه مترادفه Synonymous codon . هذه الشفرات على الرغم من امتلاكها الخصوصيه في تشفير نفس الحامض الاميني الا انها تختلف في احد النيوكليوتيدات وغالبا ماتكون تانويكليوتيده الثالثه من الشفرات . هذه المرونه في تسلسل الشفرات الوراثيه المترادفه ربما يقلل من اثر اخطاء التضاعف او تقلل الاضرار الناتجه من الطفرات الوراثيه.

**2- Non-Overlapping غير متداخله:** وتعني ان نيوكليوتيدات الشفره الوراثيه الواحده لاتتشارك في تكوين شفره وراثيه اخرى

**3- Ambiguity الالتباس :** وتعني ان الشفره الوراثيه يمكن ان تشفر لاكثر من حامض اميني واحد ، على سبيل المثال UUU codon غالبا ماتشفر للحامض الاميني الفنيل الانين Phenyalanine ، ولكن في بعض الظروف مثل وجود Streptomycin بالاضافه الى الفنيل الانين تشفر ايضا الالليوسين او الايزوليوسين او السيرين

#### 4- Commaless غير مفصوله : وفيها تكون الشفرات الوراثة متسلسله وغير مفصوله

5- Initiation codon شفرات البدء : شفرة AUG تدعى شفرة بدء السلسله ، اذ عندها تبدأ عملية الترجمة الببتايد من خلال تشفير اول حامض اميني في السلسله وهو الميثيونين.

6- Non-sense codons الشفرات غير المحسوسه (Stopping codons): وهي على ثلاثة انواع: UAA وتعرف Ocher وUAG وتعرف Amber وUGA وتعرف Opal وسميت بالشفرات غير المحسوسه لانها لاتشفر لاي حامض اميني وتعمل على انهاء عملة الترجمة الى البروتين

7- Universality الشمولية: وتعني بان نفس الشفرة تستخدم في جميع انواع الانظمة الحياتيه وقد اثبتت هذه الحقيقه من خلال عدد من التجارب على سبل المثال ، mRNA المنقى من Polio virus يتم ترجمته الى بروتين فايروسي بواسطة خلايا الانسان .

#### للاطلاع RNA codon table

		2nd base			
		U	C	A	G
U	UUU	(Phe/F) <a href="#">Phenylalanine</a>	UCU (Ser/S) <a href="#">Serine</a>	UAU (Tyr/Y) <a href="#">Tyrosine</a>	UGU (Cys/C) <a href="#">Cysteine</a>
	UUC	(Phe/F) Phenylalanine	UCC (Ser/S) Serine	UAC (Tyr/Y) Tyrosine	UGC (Cys/C) Cysteine
	UUA	(Leu/L) <a href="#">Leucine</a>	UCA (Ser/S) Serine	UAA Ochre <a href="#">(Stop)</a>	UGA Opal ( <i>Stop</i> )
	UUG	(Leu/L) Leucine	UCG (Ser/S) Serine	UAG Amber <a href="#">(Stop)</a>	UGG (Trp/W) <a href="#">Tryptophan</a>
C	CUU	(Leu/L) Leucine	CCU (Pro/P) <a href="#">Proline</a>	CAU (His/H) <a href="#">Histidine</a>	CGU (Arg/R) <a href="#">Arginine</a>
	CUC	(Leu/L) Leucine	CCC (Pro/P) Proline	CAC (His/H) Histidine	CGC (Arg/R) Arginine
	CUA	(Leu/L) Leucine	CCA (Pro/P) Proline	CAA (Gln/Q) <a href="#">Glutamine</a>	CGA (Arg/R) Arginine
	CUG	(Leu/L) Leucine	CCG (Pro/P) Proline	CAG (Gln/Q) Glutamine	CGG (Arg/R) Arginine
A	AUU	(Ile/I) <a href="#">Isoleucine</a>	ACU (Thr/T) <a href="#">Threonine</a>	AAU (Asn/N) <a href="#">Asparagine</a>	AGU (Ser/S) Serine
	AUC	(Ile/I) Isoleucine	ACC (Thr/T) Threonine	AAC (Asn/N) Asparagine	AGC (Ser/S) Serine
	AUA	(Ile/I)	ACA (Thr/T)	AAA (Lys/K)	AGA (Arg/R)

	Isoleucine		Threonine	<a href="#">Lysine</a>		Arginine
AUG	(Met/M) <a href="#">Methionine</a>	ACG	(Thr/T) Threonine	AAG (Lys/K) Lysine	AGG	(Arg/R) Arginine
GUU	(Val/V) <a href="#">Valine</a>	GCU	(Ala/A) <a href="#">Alanine</a>	(Asp/D) GAU <a href="#">Aspartic acid</a>	GGU	(Gly/G) <a href="#">Glycine</a>
GUC	(Val/V) Valine	GCC	(Ala/A) Alanine	(Asp/D) GAC Aspartic acid	GGC	(Gly/G) Glycine
<b>G</b>						
GUA	(Val/V) Valine	GCA	(Ala/A) Alanine	(Glu/E) GAA <a href="#">Glutamic acid</a>	GGA	(Gly/G) Glycine
GUG	(Val/V) Valine	GCG	(Ala/A) Alanine	(Glu/E) GAG Glutamic acid	GGG	(Gly/G) Glycine