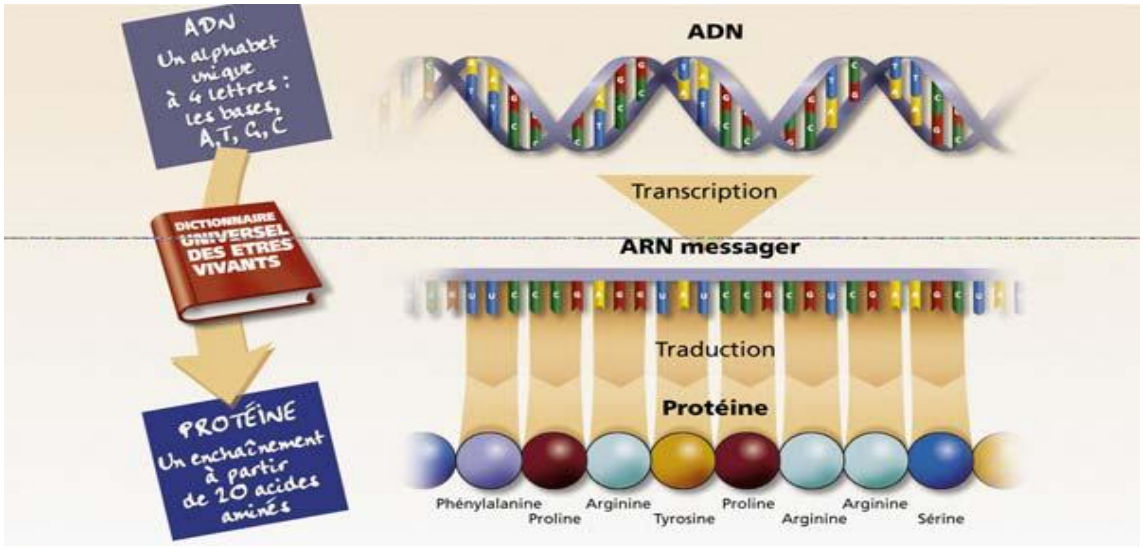
الجمهوريــة الجزائريــة الديمقراطيـة الشعبيــة
وزارة التعليـــم العـــالي والبحث العلمي
جامعة الإخوة منتوري

كليـــة علوم الطبيعية والحياة
قسم البيولوجيا وعلم البيئة النباتية

محاضرات في مادة البيولوجيا الجزئية و الخلوية BMC

الـ سـ نة الثالثة ل.م.د. تخصص بيولوجيا و فيزيولوجيا النبات BPV



الأستاذة: شايب غنية

السنة الدراسية 2019- 2020

محتويات المحاضرات

I . الفصل الأول.....1
1. مقدمة عامة..... 1
2. التعريف البيولوجيا الجزيئية 4
3. أهم وسائل البيولوجية الجزيئية.....6
4 .الخلية و الجزيئات الكبرى 6
II. الفصل الثاني: تركيب ووظائف البروتينات Structure et fonctions des Protéines.....10
1. مقدمة.....10
2. تعريف البروتينات 11
3. تقسيم البروتينات.....14
1.3. حسب الذوبان.....14
2.3. حسب شكل الجزيئات 14
3.3. حسب التركيب الكميائي.....15
4. أنواع البروتينات 15
1.4.البروتين البسيط 15
1.1.4.البروتينات الخيطية أو التركيبية.....15
2.1.4.البروتينات الكروية أو الديناميكية.....16
2.4 .البروتين المرتبط البروتينات المرتبطة Protéines conjugués.....17
1.2.4 البروتينات النووية Protéines nucléaires 17
2.2.4. البروتينات الملونة .Chromoprotéines 17

3.2.4.البروتينات الفوسفاتية Phosphoprotéines 17

4.2.4. البروتينات الكربوهيدراتية Glycoprotéines 17

5.2.4. البروتينات الدهنية Lipoprotéines..... 18

5. حجم الجزيء البروتيني..... 18

6. الأحماض الأمنية..... 18

1.6.الأحماض الأمنية غير القطبية..... 19

2.6. الأحماض الأمنية القطبية ذات الشحنات المتعادلة..... 19

3.6.الأحماض الأمنية الموجبة الشحنة..... 19

4.6.الأحماض الأمنية السالبة الشحنة..... 19

7.الأحماض الأمنية النادرة..... 20

8.الأحماض الأمنية غير بروتينية..... 21

9. التراكيب المختلفة للبروتينات..... 22

1.9. التركيب الأولي Structure Primaire 22

2.9. التركيب الثانوي Structure Secondaire 23

1.2.9.التركيب الحلزوني..... 23

2.2.9.التركيب بيتاβ..... 25

3.9.التركيب الثالثي Structure tertiaire 26

4.9. التركيب الرباعي .Structure Quaternaire 28

10. البروتينات الفوق الجزئية 30

11. الهدرجة Dénaturation 30

12. الوظائف المختلفة للبروتين..... 31

13. التماثل التتابعي في السلاسل البيبتدية..... 34

III . الفصل الثالث : الأحماض النووية Acides nucléiques 35
1.مقدمة 35
2.الأدلة على أن ADN هو المادة الوراثية 35
1.2. التحول الوراثي Transformation génétique 36
2.2.الإستنقال الوراثي(النقل الفاجي) Transduction génétique 37
3.2. ثبات كمية ADN في الكروموزومات 39
3.الدور الأساسي للأحماض النووية في العمليات الأيضية 40
4.اكتشاف وفصل الأحماض النووية 41
5.أنواع الأحماض النووية 43
6.الأوزان الجزيئية لأحماض النووية 45
7.الكميات التي يحتويها الكائن الحي من الأحماض النووية وأماكن وجودها 46
8. وظائف الأحماض النووية 47
IV.الفصل الرابع :التركيب الكيمائي للأحماض النووية 48
1. تعريف الاحماض النووية 48
2. النيوكليوتيدات les nucléotides 48
3. عديد النيوكليوتيدات ADN 52
4. الشكل الحلزوني 54
4.اقتران أو اتحاد القواعد المكملة Appariement des bases complémentaire 56
5 .تركيب ARN 58
6. مقارنة بين تركيب الاحماض النووية 59
V.الفصل الخامس : تركيب الجين .Structure des gènes 63
1.تعريف الجين 63
2. عائلة الجنيات: les familles des gènes 64
3. تعبير الجينات Expression des gènes 66
4. تركيب الجين 67
1.4. المؤسسات الجينية les promoteurs des génes: أو المحركات الجينية 67

Exon.2.4 السلاسل الدالة.....68

Intron.3.4 السلاسل غير الدالة..... 68

5. الجينات الكاذبة Pseudogènes 69

VI.الفصل السادس: نسخ الجينات Transcription des gènes 70

1.النسخ عند بدائية النواة: Transcription chez les procaryotes 71

1.1.الابتداء: Initiation 71

2.1. الاستطالة Elongation 73

3.1.الإنتهاء: Terminaison 74

2.النسخ عند حقيقية النواة Transcription chez les eucaryotes 75

1. إنزيم ARN Polymérase 75

1.1. ARN Polymérase II.....75

2.1. ARN Polymérase I.....76

3.1. ARN Polymerase III.....77

2. أحماض ARN المنسوخة 77

1.2. الناقل ARN Transfert(ARN) t 77

2.2. الريبوزومي(ARN) ARN Ribosomaux R.....81

3.2. الرسول(ARN) ARN messagers m 84

3. عمليةEpissage لطلائع ARN عند حقيقية النواة.....84

VII.الفصل السابع : تخليق البروتين Synthèse des protéines 89

1. الشفرة الوراثية :..code génétique 89

1.1. تعريف الشفرة الوراثية.....89

2.1. خصائص الشفرة الوراثية.....90

3.1. عالمية الشفرة Universalité du code 91

2. الترجمة Traduction 95

1.2. دور ARNt في الترجمة 95

2.2. التعرف على الشفرات 96

3.2. مراحل الترجمة 96

1.3.2. مرحلة الابتداء 96
2.3.2. مرحلة الاستطالة ... .98
3.3.2. مرحلة الانتهاء 99
3. تعديلات ما بعد الترجمة 101
VIII. الفصل الثامن: تنظيم التعبير الجيني Régulation de l'expression des gènes 102
1. تنظيم التعبير الجيني عند بدائية النواة 102

1.1 . تنظيم جنيات البكتريا 102
2.1. Opéron lac 103
3.1.تثبيط الهدم Répression catabolique 104
4.1.Opéron tryp.....105
5.1. عملية الاختزال Atténuation 105

6.1.التنظيم يتدخل عوامل سيحما المتناوبة 107
2. تنظيم التعبير الجينيي عند حقيقة النواة 107

1.2. تنظيم النسخ 107

2.2.عوامل النسخ 108
IX. بعض مصطلحات الهندسة الوراثية 110
المراجع 114

يتنـــاول المرجع مجموعة المحاضرات المقدمة في مـــــادة بيولوجيا الجزيئية والخلـــــوية (BMC) Biologie Cellulaire et Moléculaire الموجهة لطلبة ل. م. د. السنة الثالثة تخصص بيولوجيا وفيزيولوجيا النبات Biologie et Physiologie Végétale (BPV) للسداسي الخامس.

تتمركز محاور المحاضرات حول ثمانية فصول يشمل الفصل الأول: تعريف البيولوجيا الجزئية والخلوية ، ذكر أهم وسائل الهندسة الوراثية وتعريف الخلية والجزيئات الكبرى.

يليه الفصل الثاني بدراسة تركيب ووظائف البروتينات ثم دراسة تاريخ اكتشاف وفصل الأحماض النووية الحمض النووي الريبي ARN و الحمض النووي الريبي المنقوص الأوكسجين ADN ، يليه فصل يدرس التركيب الجزيئي للأحماض النووية مع تبيان تركيب ووظيفة الجينات ، ثم فصل يشمل نسخ و تعبير الجينات بالنسبة لأنواع الحمض النووي الريبي الثلاث: الناقل ،الريبوزومي والرسول عند كل من الخلايا بدائية النواة وحقيقة النواة. ثم تطرقنا فيما بعد إلى فصل تخليق البروتين بما يشمل من تعريف الشفرة الوراثية، خصائص الشفرة ومراحل الترجمة.

ثم فصل لشرح مراقبة تنظيم نسخ الجينات عند كل من الخلايا بدائية النواة وحقيقة النواة.

وفي الأخير يختم المقرر ببعض المصطلحات الخاصة بالهندسة الوراثية باعتبارها امتداد كليا للبيولوجيا الجزئية والخلوية، لتكون تمهيدا للطلبة السنة الثالثة لدراسة الجزء الثاني من مادة فيزيولوجيا الإجهاد والتكنولوجيا الحيوية للسداسي السادس ومادة التكنولوجيا الحيوية النباتية لطلبة السنة أولى ماستر تخصص القواعد البيولوجية و الإنتاج النباتي سابقا و تخصصي التنوع الحيوي و فيزيولوجيا النبات و تخصص بيولوجيا و فيزيولوجيا التكاثرحاليا.

قدمت المحاضرات بصورة مبسطة تتماشى مع تخصص طلبة النبات للاستفادة منها في المواد الأخرى المتعلقة بالتخصص.

أستاذة المادة

شايب غنية

الفصل الأول : تعاريف

1. المقدمة

لقد تكهن الإنسان منذ عرف كيف يزرع النباتات أو كيف يربي الحيوانات، بأن كل بيضة ملقحة تحتوي على خطة غير مرئية أو تصميم معين لنمو وتمايز الكائن. وقد نشأ علم الوراثة حول فكرة وجود عناصر غير مرئية محتوية على المعلومات الوراثية، والتي سميت فيما بعد باسم الجينات ، وأن هذه العناصر تنتقل إلى كل من الخليتين البنتين عند انقسام الخلية.

إلا أنه قبل أن يتم الانقسام ، لابد أن يكون في مقدور الخلية الأم تكوين نسخة من جيناتها حتى تعطى مجموعة كاملة من هذه الجينات إلى كل خلية بنت. إذ أن الجينات في الحيوان المنوي أو البويضة تنقل الصفات الوراثية من جيل إلى الجيل التالي . فعند إعلان قوانين مندل Mendel للوراثة، تم تصحيح الفكرة السائدة عن العوامل الوراثية من نظرية الدمج إلى نظرية العوامل المستقلة المتميزة و التي تظل فيها الجينات محتفظة بكينونتها و استقلالها من جيل إلى جيل. وقد أدى ذلك إلى الاعتقاد بأن هذه العوامل الوراثية المسؤولة عن الصفات البيولوجية المختلفة لابد أن تكون مركبة من نظم من الذرات التي لابد أن تخضع لقوانين الكيمياء و الفيزياء أو بمعنى أخر لابد من أن هذه الجينات تتكون من جزيئات معينة موجودة في الخلية الحية.

في البداية لم يمكن تحديد أو حتى تخيل طبيعة هذه الجزيئات التي يمكنها أن تخزن في الخلية ويكون بمقدورها إدارة الأنشطة المختلفة للكائن أثناء نموه و تمايزه و في نفس الوقت يكون باستطاعتها أن تتضاعف أو تتكرر بطريقة دقيقة و صحيحة و بصفة مستمرة تقريبا.

فبعد إعلان نظرية الكروموزومات للوراثة في بداية القرن العشرين، أصبح من الواضح أن الكروموزومات هي الحاملة للمعلومات الوراثية و لكن تبين في المرحلة المبكرة أنها مكونة من مركبات عديدة تشمل البروتينات و الأحماض النووية و خاصة بالحمض النووي المنقوص الأوكسجين ADN.

وقد تركز البحث على التعرف على أنواع من البروتينات الخاصة نظرا لأنها تحتوي بين جزيئاتها على قدر واسع من الاختلافات الكيماوية و البيولوجية، مما يؤهلها للقيام بمهمة المادة الوراثية ، في حين اعتبرت الأحماض النووية غير صالحة لهذه المهمة لافتقارها إلى التباين الكيماوي الواسع بين جزيئاتها. وأنه بالتالي من المستبعد وجود وظيفة وراثية لجزيء ADN و أن كل مهمته أن يعمل كإطار لتدعيم البنية الأساسية للكروموزومات.

ظلت المحاولات مركزة في هذا الاتجاه إلى أن وصلت إلى طريق مسدود حيث ثبت أنه لا يوجد أي نوع من بروتينات الخلية يمكن أن تتوفر فيه شروط المادة الوراثية و هي:

- أن يحتوي على جميع المعلومات الوراثية المطلوبة لإدارة وتنظيم الأنشطة الأيضية في الخلية.
- له القدرة على التضاعف بانتظام وبدقة بحيث يمكن انتقال المعلومات و توريثها للخلايا البنات بطريقة مضبوطة.
- له القدرة على الطفور بنسب منخفضة جدا بحيث تحدث تغييرات وراثية يمكن توريثها إلى النسل .

و من هنا تحول الانتباه بعد جهود من البحوث و الدراسات إلى ADN على اعتباره هو بالفعل المادة الوراثية في معظم الخلايا الحية عدا القليل من الفيروسات يكون الحمض النووي الريبي ARN هو المادة الوراثية بها.

و يمكن تلخيص الأدلة على أن ADN هو المادة الوراثية في الأتي:

- التحول الوراثي
- الاستنقال الوراثي
- ثبات كمية ADN في الكروموزومات.

و الجدول رقم 1 يمثل أهم الإنجازات في مجال البيولوجيا الجزيئية.

الجدول رقم 1 : أهم الإنجازات في مجال البيولوجيا الجزيئية(1869–1989)

السنة	الباحث	الإنجاز
1869	Miesher	عزل مادة ADN لأول مرة واسماها نيوكلين Nuclein
1844	Avery et al.	أثبتوا أن ADN هو المادة الوراثية بتجارب التحول الوراثي في بكتريا القولون
1949	Charagaff	أثبات العلاقة بين كمية القواعد النتروجينية في جزيئي ADN (C=G,A= T)
1952	Hershey	أثبات أن ADN هو المادة الوراثية في تجارب الإستنقال الوراثي: انتقال بالفاج
1953	Watson § Crick	إعلان نموذج الحلزون المزدوج لتركيب جزيئ ADN
1957	Kornberg	اكتشاف إنزيم بلمرة ADN Polymerase ADN
1961	Marmur§ Doty	إكتشاف خاصية إعادة الاتحاد Renaturation في جزئ ADN أ المدنتر Denatured مما فتح المجال لعملية التهجين بين جزيئات الأحماض النووية

أعطى أول دليل على وجود إنزيمات القطع المحددة ADN Restriction endonucleases . مما أدى بعد ذلك إلى تنقيتها واستخدامها في دراسة تتابع ADN	Arber Nathan § Smith	1962
فك الشفرة الوراثية Code Génétique	Nirenberg, Ochoa § khorana	1966
اكتشاف إنزيم اللحام ADN ligase الذي يستخدم في وصل شظايا ADN ببعضها	Gellert	1967
اكتشاف إنزيم النسخ العكسي Reverse Transcriptase الذي أدى فيما بعد إلى الحصول على جينات تركيبية (c ADN) Synthétique gènes	Temin, Mizutani §Baltimore	1970
تطور تقنيات كلونة ADN Clonage ADN	Beng, Cohen,Boyer	-1972 1973
استنباط طرق سريعة لدراسة تتابع القواعد في جزيءADN	Maxam,Gilbert , Sanger§Barrell	-1972 1973
إنتاج فئران محولة وراثيا Transgénique	Palmiter§ Brinster	-1975 1977
انتج دروسوفلا محولا وراثيا	Spardling	-1981 1982
اثبتا أن ADN يمتلك خواص إنزيمية	Cech§Altman	1983
اختير كمنسق عام لمشروع الجيبنوم البشري	Watson	1988
اللجنة الاستشارية للمعهد القومي للصحة لبحوث ADN المعاد صياغته توافق لأول مرة على تجربة نقل جين بشري	NIH	1989
استطاع العالمان ومعاوناهما أن يكلونوا – جين التليف الحويصلي– وهو الجين الذي يؤدي أليله الطافر إلى موت طفل من كل 2000 طفل في الولايات المتحدة الإمريكية– مرض الطفولة المميت–	Collins § Tsui	1989
وضع الخريطة الجينية للإنسان Carte Complete du Génome humaine Séquençage de masse génome humaine……		. . . . 2003 . . . . . 2013.

2. تعريف البيولوجيا الجزيئية

كلمة بيولوجيا جزيئية تعنى البيولوجيا الجزيئية للجينات فهي تهتم بدراسة ب:

- بنية الجينـــات Etude de la structure des gènes
- تعبير الجينات Expression des gènes
- ومراقبة تعبير الجينات Contrôle de l’ expression des gènes

فهي تعتمد على دراسة التعامل مع جزيئات ADN و ARNm. تسعى الجهود في معظم مخابر البيولوجيا الجزيئية على بناء و تشكيل جزيئات حقيقية من ADN مما يطلق عليه مصطلح الهندسة الوراثية Le génie génétique .

و قد أطلق هذا المصطلح من طرف العلماء كما أطلق من قبل على الهندسة المعمارية Architecture وهندسة البناء Génie Civil بمعنى فن البناء أو هندسة ميكانكية Génie mécanique ، ولكنه عند البيولوجيين يعني نوع أخر من البناء.

فلفظ الهندسة الوراثية أو Génie génétique باللغة الإنجلزية: Genetic Engineering أو DNA Technology Recombinant أو تكنولوجيا اتحاد ADN جديد فهو يمثل التطبيق التكنولوجي أو التقني لمعارف البيولوجيا الجزيئية. يرجع أساس التجارب الأولى إلى السنوات 1972 تقريبا مع الكيمائي Berger المتحصل على جائزة نوبل 1980.

يمكن أن نستعمل تقنيات البيولوجيا الجزيئية لدراسة تركيب و تعبير الجين أو جزء من الجين كما يمكن أن تستعمل في الصناعة لتشكيل وصناعة البروتينات الأساسية للإنسان عن طريق خلايا بكتيريا *E.coli*. كما يمكن أن تستعمل في البيولوجيا السريرية Biologie clinique لتشخيص بعض الأمراض. وأخيرا يؤمل كثيرا في العلاج الجيني la Thérapie génique بالحمض النووي المنقوص الأوكسجين ADN أوAcide Désoxyribo Nucléique

ما هي بناءات الحمض النووي الريبي المنقوص الأوكسجين Construction ADN التي تم تحضيرها في مخابر البيولوجيا الجزئية؟

يتعلق الأمر بالحصول على نسخ مطابقة من ADN مخلق أو ADN هجين مخبريا ADN hybride باتحاد خيطين ADN ينتميان إلى فئتين أو صنفين مختلفين مثلا: قطعة ADN بشرية للدراسة تزرع على قطعة ADN فيروسي أو بلاسميد بكتيريا Plasmide de bactérie.

مع الملاحظة أنه لا يمكن زرع ADN الدراسة مباشرة على كروموزوم بكتري لأن خيط ADN البكتيريا *E.coli* طويل جدا وجد معقد لا يصلح للدراسة والاستعمال.

تسمى كلمة ADN Vecteur أو الشعاع الذي أدرجت فيه الدراسة.فال ADN المندرج أو ADN inséré أو ADN الخارجي (ADN exogène) أوADN الغريب (ADN étranger)

يحضر ADN المعاد تشكيله ADN recombinant أولا بهدف إجراء ما يسمى ب Clonage الذي سواء يكون مصحوبا بتخليق بروتين أولا.

فتهتم البيولوجيا الجزئية بدراسة الأسس العلمية والتقنيات الحديثة التي تبحث في هذا العلم بدءا من تركيب جزيء ADN وتناسخه وتركيب وتناسخ ARN.

ثم شرح الأساس الجزئي للطفور وطرق إصلاح الأخطاء الطفرية ويلي ذلك البناء الحيوي للبروتين وطرق تنظيم بناء البروتين مع الأخذ في الاعتبار إبراز الفروق بين ما يحدث على مستوى الكائنات الدقيقة (غير مميزة للنواة) أو بدائية النواة مقارنة بالكائنات الراقية (مميزة للنواة) أو حقيقية النواة.

ثم نتكلم عن طرق وأسس الهندسة الوراثية وأهم التقنيات المستخدمة فيها نظرا لما في هذا المجال من أهمية كبيرة في علم الزراعة .

3. أهم وسائل البيولوجية الجزيئية Outils de Biologie Moléculaire

من بين أهم الوسائل المستعملة في علم البيولوجيا الجزيئية:

- الإنزيمات ARN Polymérase
- الأشعة Vecteurs
- البكتريوفاج Bactériophage
- البلاسميد Plasmides
- الخلايا المضيفة Cellules Hôtes
- القطع النيوكلوتيدية Sondes nucléotidiques

4. الخلية و الجزيئات الكبرى Cellule et macromolécules

تعتبر الخلية الوحدة الأساسية لكل كائن، فهي أصغر جزء في أي كائن حي. شوهدت أول الخلايا لأول مرة قبل 300 سنة، قبل بقليل من اكتشاف المجاهير الأولى، ففي بداية القرن التاسع عشر أمكن التوصل إلى أن أي كائن يتكون من خلايا. والتي تعتبر الوحدات التركيبية الصغيرة جدا و التي يصعب مشاهدتها بالعين المجردة.

تعتبر البكتريا أصغر الخلايا و أكثرها بساطة، فجدارها الخلوي يحيط بطبقة غشائية تسمى الغشاء الستوبلازمي المتكون خاصة من أحماض دسمة و الذي بدوره يحيط و يحفظ منطقة غير متشكلة و التي يوجد بداخله ADN .

يسمح الغشاء البلازمي (الحاجز النصف نفوذا) بمرور إلا الجزيئات المغذية والأيونات ويمنع الوسط الخلوي من الاستجابة للسكب أو السيلان للوسط الخارجي. يعتبر تكامل الغشاء ضروريا لحياة الخلية، فأي خلل صغير في هذا الحاجز يمكن أن يصلح كأي ثقب في عجلة مطاطية.

في داخل كل الخلايا وعلى غرار البكتيريا يوجد جسم دائري محدود بغشاء ومحاط بالستوبلازم يسمى نواة الخلية والتي تحتوي على ADN على شكل عصي Bâtonnet تسمى الصبغيات أو الكروموزومات Chromosomes فإذا كانت الخلية تحتوي على نواة تسمى خلية حقيقية النواة Cellule Eucaryote. فالطحالب الزرقاء والبكتيريا التي لا تحتوي على نواة تسمى خلايا بدائية النواة Cellule Procaryote.

فالخلايا عبارة عن مصانع مصغرة قادرة على التضاعف وتشكيل ملايين الجزيئات المختلفة مرة واحدة. حيث قدر لكل خلية التضاعف و الانقسام لإعطاء الحياة لخليتين بنتين و التي بدورها تكون قادرة على التضاعف و إنتاج كمية من الجزيئات.

تمتلك كل خلية مصنع كيمائي جد مصطنع للقيام بوظائفها، فأبسط خلية تمتلك 2500 جزيئة مختلفة ، فبذلك تعتبر الخلايا مصانع مصغرة قادرة على تصنيع و تجميع عناصر الجزيئات البسيطة كالجلوكوز Glucose و ثاني أكسيد الكربون CO_2. يسمح تحويل هذه العناصر من طرف الخلية إلى الحصول على كل المركبات الضرورية للسير الحسن لوظائفها.

يتطلب نمو وتضاعف الخلايا مصدر طاقة خارجي يضمن سير التفاعلات الكيمائية للخلية في اتجاه البناء Biosynthèse أو التخليق الحيوي. و يتحكم في عمل الخلية نفس قوانين الترموديناميك التي تتحكم في طاقة الذرة عند الفيزيائيين و الجزيئات عند الكيمائيين.

يكون مصدر الطاقة عند أغلبية الخلايا من تحلل أو هدم Dégradation الجزيئات الغذائية، لكن بعض الخلايا قادرة على التخليق الضوئي أو البناء الضوئي باستعمال الطاقة الضوئية L'énergie lumineuse.

يمكن تقسيم جزيئات الخلية إلى قسمين: الجزيئات الصغيرة والجزيئات الكبرى. يضم القسم الأول الجزيئات الصغيرة : السكريات، الأحماض الأمنية و الأحماض الدهنية. فقد أمكن تمييز على الأقل 750 جزئية صغيرة مختلفة في أغلب الخلايا. أم القسم الثاني فهو يتكون من الجزيئات الكبرى: البروتينات والأحماض النووية مشكلة القسم الأكبر، فهي جزيئات عديدة مشكلة من تجمع في سلاسل طويلة لجزيئات صغيرة فمثلا تتشكل البروتينات من مجموعة من الأحماض الأمنية فهذه الجزيئات العديدة المواقع polymère تتشكل من عدد من تحت الوحدات، أحادية الموقع Monomère وهي في غالبية الأحيان أكبر بمئات أو ملايين المرات من الجزيئات الصغيرة التي تكونها.

وتتشكل هذه الأخيرة من عدد محدد من الذرات مابين 10 إلى 15 ذرة مرتبة بطريقة محددة و متقنة. ففي معظم البكتيريا يكون عدد الجزيئات الكبرى أكبر من مختلف الجزيئات الصغيرة للخلية. فأحسن تقدير لحد الان أنه يوجد أكثر من 2000 نوع مختلف من الجزيئات الكبرى . و ذلك بتغيير إلا عدد وحجم الجزيئات المختلفة مما يظهر أن أبسط جزيئة كبرى تكون معقدة من وجهة نظر البنية الكيمائية والتي تكمن في التعقيد الملازم لجزيئاتها الفردية أقل منه في طبيعة التفاعلات الكيمائية التي تحول الجزيء الخلوي من شكل إلى أخر.

فأكثرها أهمية تلك التي تسمح ب:

1 -هدم Dégradation الجزيئات الغذائية إلى وحدات أساسية والتي يمكن فيما بعد أن تجمع في مركبات حيوية.
2 -تخزين الطاقة نتيجة هدم و تحلل الجزيئات الغذائية أو الممتصة من الضوء داخل الجزيئات التي تحول فيما بعد إلى زيادة طاقة مما يسمح بالسير الحسن للتفاعلات الكيميائية.
3 -تخليق الجزيئات الصغيرة الأساسية لتركيب الجزيئات الكبرى.
4 -تجميع هذه الجزيئات أحادية الموقع Monomère إلى جزيئات كبرى Macromolécule.

الإنزيمات وسائط خلوية محفزة خاصة Catalyseur تسمح بتحديد نوعية التفاعلات الكيمائية الحادثة في الخلية. كل جزيئه من هذه الجزيئات المختلفة أو الإنزيمات قادرة على التدخل في مجال واسع من التفاعلات الكيمائية مع العديد من جزيئات الخلية.

تمثل الإنزيمات عائلة من العوامل التابعة أو المرتبطة بالنظام الخلوي ، فالإنزيم ككل محفز أو وسيط لا يحطم أو يحلل أثناء التفاعل الكيميائي بل إن أي إنزيم معطى يمكن أن يستعمل لملايين المرات في

ثانية واحدة لتفاعل معطى. تكون أغلبية الإنزيمات نوعية ولا تحفز إلا نوع واحد من التفاعلات الكيميائية وبالعكس فإن أغلبية التفاعلات الكيميائية داخل الخلية تحفز بإنزيم نوعي واحد.

فقد اعتبرت الطبيعة الكيميائية للإنزيم لغز حيث اعتبره العديد من العلماء أنه ينتمي إلى قسم من الجزيئات البيولوجية فحتى سنة 1935 أمكن التعرف على الطبيعة البروتينة للإنزيمات. فالإنزيم يعمل إذا على فرصة التقاء جزيئيتين وبالتالي حدوث التفاعل الكيميائي بينهما.

غالبا تتدخل بعض ذرات الإنزيمات مباشرة في التفاعل بتشكيل روابط كيمائية مؤقتة مع مختلف المواد الداخلة في التفاعل –مادة تفاعل الإنزيم– لتشكيل وسائط تفاعلية غير مستقرة وكثيرا ما تكون كواشف.

فقد أمكن التعرف على تركيب البروتينات منذ معرفة الطبيعة البروتينة للإنزيمات في عام 1905 أوضح الألماني Emil Fisher أن الإنزيمات عبارة عن جزيئات مكثفة Polymériques مكونة من وحدات أساسية هي الأحماض الأمنية المرتبطة ببعضها البعض بروابط بيبتدية لتشكل سلاسل طويلة من عديد البيبتيدات الخطية.

في سنة 1940 كان عدد الأحماض الأمنية المحدد غير معروفا لكنه أمكن معرفة واكتشاف أن كل سلسلة بيبتدية مكونة من 20 حمض أميني مختلف. أين تختلف النسب من بروتين إلى أخر. فالفرضية تقول أن كل عديد بيبتيد يمكن أن يتشكل من سلسلة وحيدة من الأحماض الأمنية.

أثبتت هذه النظرية لأول مرة سنة 1951 عندما شكل العالم Sanger سلسلة من الأحماض الأمنية مشكلة من سلسلتين من عديد الببتيد هي Insuline.

تتشكل أغلبية البروتينات من سلسلة واحدة من عديد البيبتيد لكنه يوجد العديد منها المشكلة من تجميع السلاسل المختلفة والمحتوية على العديد من الأحماض الأمنية المختلفة.

فالهيموغلبين Hemoglobine ناقل أوكسيجيني يتشكل من أربع سلاسل. توجد سلسلتين A و B والتي تختلف بسلسلة الأحماض الأمينية وكل واحدة توجد على نسختين. يمثل سمك عديد البيبتيد عامل اختلاف فيما بينها.

يمكن أن يتباين عدد الأحماض الأمنية من 5 إلى 4000 حمض أميني في البروتين مع أن أغلبية البروتينات عبارة عن إنزيمات فالكثير منها يمكن أن يكون له دورا تركيبيا.فهي تدخل مثلا في تركيب بنية الأغشية البلازمية والنووية.

تساهم بروتينات Collagène في توضع النسيج الضام مابين خلوي Tissu conjonctif intercellulaire في حين يضمن بتدخل بروتين Actine في Myosine وظيفة النسيج العضلي و يتبث بروتين Calmoduline

أيونات الكالسيوم وينظم نشاط بعض الإنزيمات وقد توجد بروتينات أخرى تتفاعل خارج الخلية مثل Insuline هو عبارة عن هرمون ومثل الأجسام المضادة Anticorps التي تتدخل في الاستجابة المناعية للفرد.

الفصل الثاني : تركيب ووظائف البروتينات

Structure et fonctions des Protéines

1. مـقدمة

معظم مكونات الحياة هي جزيئات كبيرة يتراوح وزنها الجزيئي بين 10.000 و عدة ملايين والسبب في ذلك يعود إلى التكامل في التركيب والقوة للكائن الحي. بعض المواد مثل الكولاجين ، الغضروف، العظم و السليلوز تكون ألياف متداخلة تستمد قوتها من الأحجام الكبيرة للجزيئات الداخلة في التركيب.

الجزيئات الكبيرة هي عبارة عن بولميرات تصنع من عدد كبير من الجزيئات الصغيرة مونمرات مرتبطة بنهايات بعضها بعضا. مثلا السليلوز يتكون من عدد كبير من جزيئات سكر الجلوكوز المرتبطة مع بعضها بروابط عند نهايتها , أما الكولاجين فيتكون من روابط نهائية و روابط جانبية تكون جسور بين الجزيئات المجاورة وتزيد من القوة التركيبية للجزيء .زيادة عدد الوحدات البنائية في البوليمير يزيد من طاقته في خزن المعلومات حيث أن هذه الوحدات يمكن أن ترتبط بتراتيب وتباديل مختلفة مثل الأحرف الموجودة في لغتنا المكتوبة العادية.

Monomère ⟹ ∑ Monomères ⟹ Polymères

$$\text{Cellulose} = \sum \text{Glucose}$$

في الخلايا الحية سلاسل الأحماض النووية الطويلة تخزن وتنقل المعلومات الوراثية فمثلا أن تركيب الأحماض النووية يحدد ما إذا كانت عيوننا ستكون بنية أو زرقاء و إذا كان النبات قصيرا أو طويلا و بذور البازلاء مجعدة أو ملساء.

سلاسل الأحماض النووية مصنوعة من أربعة من الوحدات البنائية وبما أنها تتألف من عدة ملايين من هذه الوحدات البنائية في كل جزيء فإن مقدرتها على تخزين المعلومات هائلة حيث تستطيع أن تحمل كل المعلومات اللازمة التي تقوم بها الخلية الحية وهي لا تعد ولا تحصى.

توجد في البروتينات عشرين حمض أميني معروف , كل واحد له مجموعة مختلفة أو سلسلة جانبية ملتصقة مع ذرة الكربون التي في المركز , لهذا فهي تتميز بخواص كيماوية مختلفة ، وكل حامض أميني يحتوي على مجموعة أمين (الصفة القاعدية) و مجموعة كربوكسيل (الصفة الحامضية) قليل من البروتينات تحتوي على أشكال مختلفة لهذه الأحماض العشرين.

2. تعريف البروتينات Protéines

يعتبر البروتين من أكثر الجزيئات شيوعا داخل الخلية مكونا ما يقارب 50 % أو أكثر من الوزن الجاف . يمثل المكون الأساسي في تركيبها ويتدخل في معظم وظائفها المختلفة.

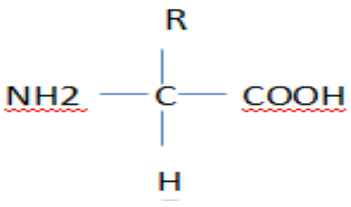
تقسم البروتينات داخل الخلية إلى قسمين بروتينات بسيطة وبروتينات مرتبطة تعطي البروتينات البسيطة عند تحللها أحماض أمنية فقط أما البروتينات المرتبطة فإنها تعطي أحماض أمنية ومواد أخرى مثل: Phosphoproteines ، Lipoproteines، Glycoproteines كما تعطي أحماض أمنية عديدة مرتبطة بشوارد معدنية.

يتكون البروتين البسيط عند تحلله من مجموعة من العناصر: كربون C، أوكسجين O_2 ، هيدروجين H_2 ، نتروجين N و الكبريت S (C=50%, N = 16 %, O =23%, H = 7% , S =3%)

إذا حللت البروتينات تحليلا مائيا فإنها تمثل وحدات البناء الأساسي: أحماض أمنية حيث عرف لحد الآن 20 حمض أميني بينها روابط ببتدية. ففي Cytchrome عدد الروابط الببتدية من 150 إلى 155 رابطة في سلسلة واحدة . في حين في Mysine يصل عدد الروابط في كل سلسلة إلى 5000 حمض أميني.

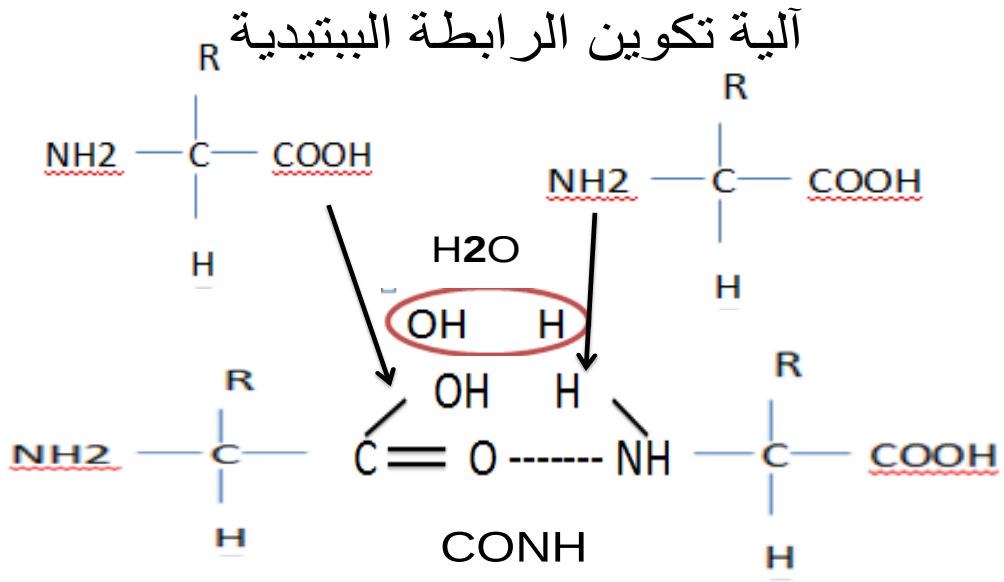
هناك العديد من أنواع البروتينات ولكل نوع منها وظيفته الحيوية الخاصة به بالإضافة إلى أن المعلومات الوراثية يعبر عنها بواسطة البروتينات وهناك علاقة قوية جدا بين الأحماض النووية ADN و ARN وتخليق البروتينات . كما يمكن للطفرة Mutation أن تؤثر على التركيب البنائي للبروتين.

تم عزل المئات من البروتينات في حالة نقية ومتبلورة كلها تحتوي على العناصر C ، H، N،O ومعظمها يحتوي على S . بعض البروتينات قد تحتوي على عناصر إضافية أخرى مثل P، Fe ، Cu^{++} Zu^{++} . الوزن الجزيئي للبروتينات عالي جدا وبواسطة التحليل المائي يتكون من عدد من المركبات العضوية والتي لها وزن جزيئي منخفض وهي الأحماض الأمنية وهي اللبنات البناء الأساسية للبروتين والتي تحتوي على المجموعة NH_2 , COOH من النوع α ولكنها تختلف عن بعضها في المجموعة التي يكون فيها الجذر (R) والتي قد تكون سلاسل جانبية.



الشكل رقم 1 : تركيب الحمض الأميني

عدد الأحماض الأمنية القياسية 20 حمض أميني توجد بوفرة في وحدات بناء البروتين حيث ترتبط هذه الأحماض مع بعضها لتكون سلاسل بيبتدية برروابط بيبتدية والتي ينتج عند تكوينها جزيئات الماء.



الشكل رقم 2 : تركيب الببتيد و ألية تكوين الرابطة الببتيدية

ويسمى هذا الجزء المرتبط عديد الببتيد polypeptide والذي قد يحتوي على المئات من وحدات الأحماض الأمنية. بعض البروتينات قد تحتوي على سلسلة بيبتدية واحدة أو أكثر، فالسلاسل البيبتدية ليست عشوائية في أطوالها حيث لكل سلسلة وزن جزيئي محدد وأيضا تركيب كيماوي وتتابع منظم للأحماض الأمنية.

Peptide =(AA)1+(AA) 2

Dipeptide = 2 AA

Tri peptide = 3 AA

Polypeptide = ∑ AA = Protéine

3. تقسيم البروتينات

تقسم البروتينات وفقا لعدة معايير إما وفق خاصية الذوبان أو التركيب الكميائي أو وفق لشكل الجزيئات المكونة لها

1.3. حسب الذوبان : تضم خمس أنواع هي :

- الألبومينات Albumines : ذائبة في الماء المقطر ، تترسب بإضافة أو كبريتات الأمنيوم $(NH4)_2\ SO_4$ مابين 70 إلى 100 % تشبع . يكون pH منخفضا فهي حامضية .
- الغلوبيلينات Globulines : غير ذائبة في الماء النقي لكنها ذائبة في المحاليل الملحية المخففة NaCl بتركيز 5 % تترسب بإضافة ملح الأمنيوم إلى50 % للتشبع غالبا ما تكون بروتينات سكرية Glycoprotéines أو بروتينات لبيدية Lipoprotéines .
- البروتمينات Protamines و Histones كما تسمى البيبتيدات ، ذائبة صغيرة الوزن ، قاعدية مثل أو Lysine و Arginine يكون pH مرتفعا.
- الغلوبينات Globines : ذائبة في الماء
- البرولامينات أو الغليتيلين و Prolamines و Glutélines: بروتينات نباتية غير ذائبة في الماء لكنها ذائبة في الأحماض والقواعد المخففة.

2.3 .حسب شكل الجزيئات: و تضم مجموعتين هما:

- البروتينات الخيطية Protéines fibreuses ou scléroprotéines : تطبيقيا تكون غير ذائبة مثل خيوط الحرير ، الجولاجين و الكراتين .
- البروتينات الكروية Protéines Globulaires ou sphéroprotéines : يكون شكلها عامة دائري أو بيضوي.

3.3. حسب التركيب الكيميائي : تقسم إلى نوعين

- **البروتين البسيط Holoproteines** : والذي ينتج عند تحلله مائيا أحماض أمنية فقط وليس هناك مواد عضوية أو غير عضوية بصفة رئيسية.
- **البروتين المرتبط أو غير المتجانس Hétéroprotéines** : وهذا النوع عند تحلله ينتج أحماض أمنية ومواد عضوية أو غير عضوية وذلك مثل Glycoprotéine, phosphoprotéine lipoprotéine

4. أنواع البروتينات

1.4. البروتينات البسيطة Holoproteines

تكون البروتينات سلاسل طويلة ومشدودة من الأحماض الأمينية التي قد تلتف حول نفسها بطريقة خاصة. تصنف البروتينات إلى مجموعتين حسب مقدار الثني في سلسلة عديد الببتيد إلى:

- ✓ البروتينات الخيطية أو التركيبية Protéines Structurales
- ✓ البروتينات الكروية أو الديناميكية Protéines dynamiques

1.1.4.البروتينات الخيطية أو التركيبية Protéines Structurales

تبقى جزيئات البروتينات الخيطية محدودة ولا تنثني على نفسها وجميع الأحماض الأمينية الموجودة في السلسلة هي مكشوفة وتشتمل على عدد كبير من المجاميع الجانبية التي لا تحمل شحنات ولا تكون مستقطبة. هذه المجموعات تدعى مجموعات لا تحب الماء Hydrophobique لأنها لا ترتبط بالماء ولا تذوب في الماء أو المحاليل.

ترتبط هذه السلاسل الطويلة فيما بينها بطرق مختلفة لتكون رقائق أو خيوط ذات قوة كبيرة , ولهذا فان البروتينات الخيطية تلعب دورا مهما بين البروتينات التي تدخل في تركيب كثير من أجزاء الكائنات الحية.

فمثلا الكولاجين , البروتين الرئيسي في التراكيب الهيكلية مثل المفاصل و الأربطة والغضروف والعظم كلها جميعا بروتينات خيطية.

الكراتين Kératine الموجود في عدد كبير من الأنسجة التي تحمي الحيوانات مثل المخالب والجلد والشعر، شرنقة دودة القز تتركب من بروتين خيطي.

2.1.4.البروتينات الكروية أو الديناميكية Protéines dynamiques

هي البروتينات التي تلتف فيها السلاسل على نفسها لتكون طبقة متراصة وبشكل ملتف كروي. هذه البروتينات بشكل عام ذائبة في الماء ومحاليله عندما تكون مرتبة بحيث تكون الأجزاء المشحونة أو المستقطبة متجهة إلى الخارج حيث يمكنها أن تتداخل مع الوسط المائي المحيط أما المجموعات التي لا تحب الماء فهي تشغل السطح الداخلي و الثنيات الداخلية للجزيء.

البروتينات الكروية مهمة جدا للعمليات الحيوية , فان معظم الأنزيمات وبروتينات الدم مثل الهيموجلوبين تنتمي إلى هذه المجموعة و كذلك الهرمونات التي هي من أصل بروتين أو جليكوبروتين مثل هرمون الأنسولين الذي لا يستطيع اختراق الغشاء البلازمي.

2.4. البروتينات المرتبطة Hétéroprotéines ou Protéines conjugués

تتكون هذه البروتينات من اتحاد البروتين بمركبات أخرى غير بروتينية وتسمى حسب المجموعة المرتبطة بها مثل :

1.2.4. البروتينات النووية Protéines nucléaires : تعتبر من أهم المركبات التي تدخل في تركيب النواة لجميع الكائنات الحية وتتكون من اتحاد بروتين بسيط مع حامض نووي والبروتين في هذه المجموعة من الهستون أو البروتامين.

2.2.4. البروتينات الملونة Chromoprotéines: هذه البروتينات ترتبط مع مركبات ملونة مثل الهيموجلوبين في الدم حيث يرتبط البروتين مع عنصر الحديد (Fe^{+2}) , و كذلك الكلوروفيل الأخضر حيث يرتبط البروتين مع عنصر المغنيسيوم (Mg^{+2}) و قد لا تحتوي المجموعة على عنصر مثل البروتينات المرتبطة مع صبغة الميلانين في الشعر.

3.2.4. البروتينات الفوسفاتية Phosphoprotéines: هذه البروتينات ترتبط مع مجموعة الفوسفات و من أهمهما الكازين Caséine الموجود في الحليب والفيتلين Vitelline الموجود في صفار البيض , و تعتبر هذه المركبات مصدر للفوسفات في الجسم.

4.2.4 البروتينات الكربوهيدراتية Glycoprotéines: وهي مركبات بروتينية مرتبطة مع السكريات و جزء الكربوهيدرات يتكون من سلاسل قصيرة متفرعة ، وتلعب دورا هاما في الخلية مثل بعض الإنزيمات و الهرمونات و الأجسام المضادة.

5.2.4. البروتينات الدهنية Lipoprotéines: و تتكون نتيجة لاتحاد البروتين مع الدهون وتوجد في الأغشية الخلوية وبلازما الدم وصفار البيض.

5. حجم الجزيء البروتيني

أمكن بالطريقة الفيزيائية تقدير الوزن الجزيئي حيت يتراوح مابين 5 آلاف إلى 10^6 أو أكثر عادة ما يحتوي البروتين الذي وزنه الجزيئي من 2 أو أكثر من السلاسل البيبتدية.

تتكون كل واحدة من هذه السلاسل من 10 إلى 300 حمض أميني. فمثلا السلاسل الفردية لإنزيم Ribonuclease و Cyt C والتي تعرف بالبروتينات الصغيرة (من 150 – 155 حمض أمينيAA) بينما بعض البروتينات تحتوي على سلاسل طويلة مثل Albumine من 350 AA و Myosine من 18 ألف AA.

6. الأحماض الأمنية القياسية

تعتبر الأحماض الأمنية هي اللبنات أو الحروف الأبجدية في بناء البروتين وهي التي تعطي العديد من الخواص الهامة. أول حمض أميني عزل سنة 1920 من الجلاتين Gélatine وكان هو Glycérine وأخر حمض أميني هو Thyronine والذي عزل سنة 1935.

بالإضافة إلى 20 حمض أميني القياسي يوجد عد أخر من الأحماض الأمنية التي لها وظائف متعددة في الخلية. وقد عرف الكثير عن التركيب البنائي , التخليق, الخواص الضوئية والتفاعلات الكيميائية للأحماض الأمنية وعرف حديثا الدور الكامل في وظائف وبناء وتخليق البروتينات.

فكل 20 أحماض أمنية القياسية توجد في الحالة α وكلها تكون مجموعة COOH حرة ومجموعة NH_2 حرة على ذرة كربون ماعدا البرولين Proline. تختلف الأحماض الأمنية عن بعضها في تركيب السلسلة الجانبية التي تسمى الجذر.

هناك طرق متعددة لتقسيم الأحماض الأمنية على أساس المجموعة R والتقسيم الأكثر أهمية على أساس القطبية حيث تقسم إلى 4 مجاميع رئيسية:

1 -مجموعة غير قطبية

2 -قطبية متعادلة

3 -موجبة الشحنة (قاعدية)

4 -سالبة الشحنة (حامضية)

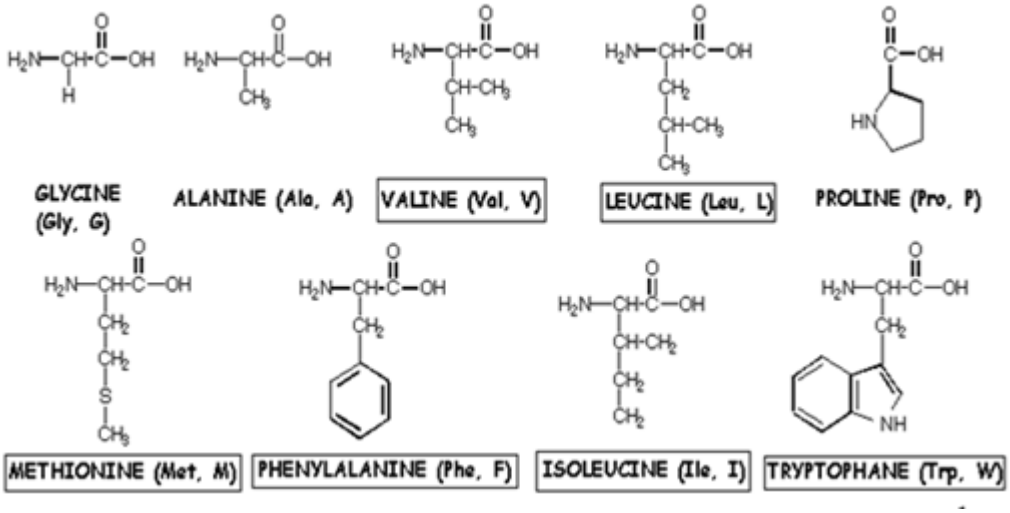
هذه الطريقة في التقسيم تظهر قرابة في الشفرة الوراثية للأحماض الأمنية وتتميز هذه الأحماض بثلاثة حروف كعلامة مميزة أو بحرف واحد وذلك لتسهيل وتفهم تتابع الأحماض الأمنية في البروتينات.

1.6.الأحماض الأمنية غير القطبية: وتحتوي على 9 أحماض أمنية تضم 5 ألفاتية وحمضان يحتويان على حلقات عطرية وحمض يحتوي على الكبريت . هذه المجموعة أقل ذوبانا في الماء. وتمثل الأحماض الأمنية Ala, Val, Leu, Tle, Gly, Pro, Phe, Tryp, Met (متأنية من $P^H = 6 -7$).

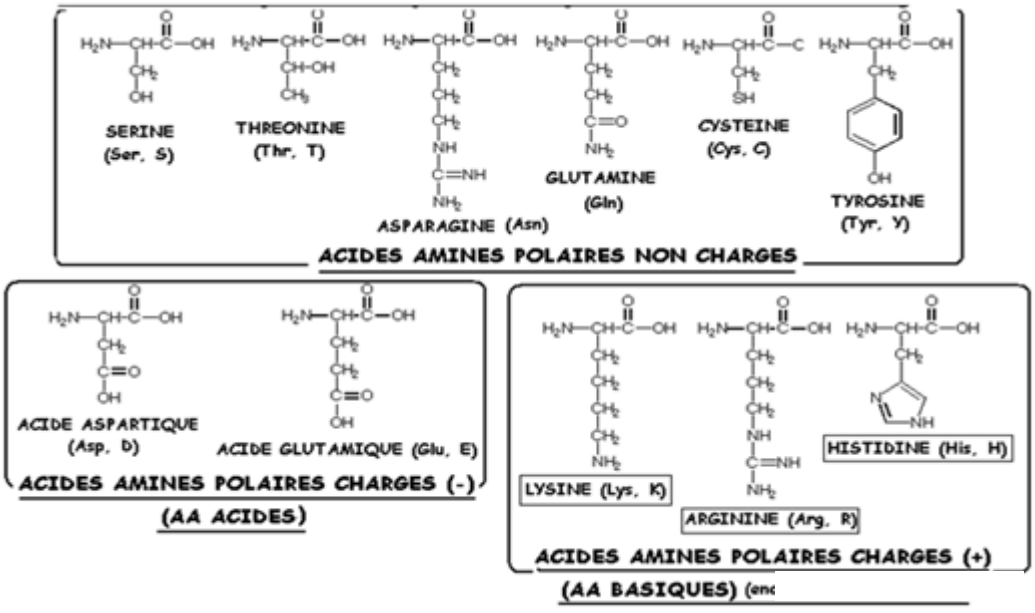
2.6. الأحماض الأمنية القطبية ذات الشحنات المتعادلة: وهي الأكثر ذوبانا في الماء وتكون رابطة هيدروجينية مع الماء, الحمض ألأميني Cystéine في هذه المجموعة يرتبط مع حمض Cyst آخر عن طريق مجموعة SH مكون رابطة كبريتية في البروتين. و تمثل الأحماض الأمنية , Ser, Cys Ther Tyr, Asn, Gln

3.6. الأحماض الأمنية الموجبة الشحنة: وهي تحمل شحنات موجبة وتظهر ميلا للقاعدة البسيطة و تمثل الأحماض الأمنية ,His, Arg, Lys

4.6. الأحماض الأمنية السالبة الشحنة: ولكل واحدة من هذه الأحماض الأمنية مجموعة COOH ثابتة وهي تحمل شحنة سالبة عند $P^H = 6.7$ و تمثل الأحماض الأمنية Glutamic (Glu), Aspartic (Asp)



الشكل رقم 3: الأحماض الأمنية غير القطبية Apolaires



الشكل رقم 4: الأحماض الأمنية القطبية polaires

7. الأحماض الأمنية النادرة

يوجد بعض الأحماض الأمنية النادرة بالإضافة إلى 20 حمض أميني القياسية الشائعة وعزلت بالتحلل المائي للبروتين فقط لوحظ تواجد Desmosine و Isodesmosine في البروتين الليفي كما وجد أيضا في Collagène الأحماض الأمنية Proproline و Prolysine هذه الأحماض الأمنية توجد بصورة محدودة في بعض أنواع البروتينات وهي عبارة عن تحورات إنزيمية من الأحماض الأمنية القياسية ليست لها شفرة وراثية.

Elastine ==➔Desmosine + Isodesmosine

Collagene ==➔ Prolysine + Proproline

هناك كذلك أحماض أمنية تسمى غير البروتينية المتواجدة في البروتين تكون في الوضع L أو α أما الأحماض الأمنية من نوع D مثل D-alanine , D-Glutamine تتواجد في يرقات وعذرات الحشرات وفي جدار البكتيريا . كذلك هي أحماض أمنية ليس لها شفرة وراثية. فالوضع لا يدخل في بناء البروتينات إنما له وظيفة أخرى.

8. الأحماض الأمنية غير بروتينية

هناك أكثر من 105 حمض أميني أخر تتواجد حرة او مرتبطة ولكن ليست في بروتينات ولكن تتواجد في المشابهات α,β,σ وهي عبارة عن مركبات وسطية في عمليات الأيض مثل المركب β-alanine حيث أنه أساسي في بناء فيتامين Pentothonique كذلك D. Alanine, D .Glutamique توجد في جدار البكتيريا وفي يرقات وعذرات الحشرات. وكذلك توجد كل من Homoproline, Homocysteine ليست لها شفرة وراثية .

9. التراكيب المختلفة للبروتينات

تسخدم عادة اصطلاحات خاصة لتعريف مستويات البروتين البنائي و التي قسمت من خلالها البروتينات إلى أربعة مستويات من التركيب :

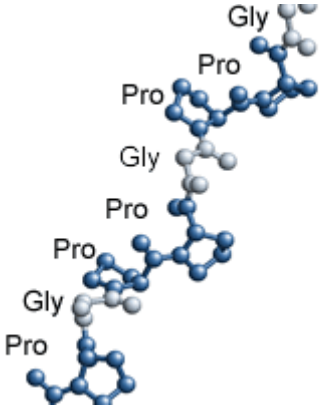
1.9. التركيب الأولي Structure Primaire

وتكون السلسة البيبتدية فيها أحماض أمنية متتابعة باستمرار تكثر بها الروابط البيبتدية الكبريتية.و التركيب الأولي هو تتابع الأحماض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد لبروتين معين ويحدد نوع وعدد الأحماض الأمينية وتسلسلها في تركيب البروتين . وهو مهم في اكتشاف بعض الأمراض الوراثية مثل فقرالدم المنجلي , فان المصاب بفقر الدم المنجلي يكون الـ فالـ ين Val الحمض الاميني رقم 6 في السلسلة , أما في السليم يكون حمضGlu الجلوتاميك الحمض الأميني رقم 6 في السلسلة.

تتكون سلسلة عديد الببتيد بواسطة الرابطة الببتيدية التي تتكون بين ذرة الكربون α في مجموعة الكربوكسيل COOH لأحد الأحماض الأمينية وذرة النيتروجين α لمجموعة الأمين في الحمض الأميني المجاور ونزع جزيء ماء H_2O .

من خواص الرابطة الببتيدية (Co-NH) أن الذرات الستة في الرابطة يجب أن تقع في مستوى واحد حتى لا يحصل دوران حول الربطة الببتيدية .

إن الدوران حول الروابط التي تصل بين ذرة الكربون في الطرف الحامضي مع ذرة النيتروجين في الطرف القاعدي يمكن أن يحصل. و لكنه مرتبط مع حجم و شكل العناصر التي تقع في السلسلة, فالمسافة بين الذرات ذات مجال محدود للدوران حتى لا تقترب الذرات كثيرا بعضها من بعض وهذا يعني أن السلسلة يمكن أن تنحني أو تنثني إلى حدود معينة.

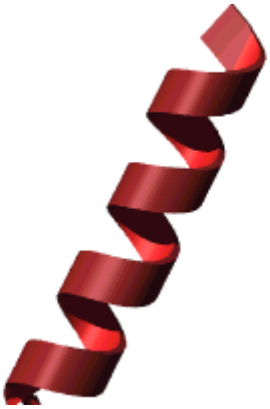


الشكل رقم 5 : التركيب الأولي للبروتين

2.9. التركيب الثانوي Structure Secondaire

- ✓ **الشكل الحلزون α helice**

ويتم بانتظام في فراغ السلسة الببتدية على طول واحد حيث تكون السلاسل الببتدية لها امتدادات خارجية تأخذ الشكل الحلزوني الذي يمثله التفاف هذة السلاسل مع بعضها ويكون هذا الشكل إما منفردا أو مجموعة من السلاسل الطويلة ملتفة بشكل حلزوني بما يشبه الحبل. حيث تتصل سلسلة عديد الببتيد فيما بينها في أماكن محددة معطية شكلا خاصا للبروتين يكون أكثر ثباتا ويكون الإرتباط بواسطة الروابط الهيدروجينية أو التساهمية أو تجاذب قوي مثل بروتين الصوف والشعر والحرير.



الشكل رقم 6 : التركيب الثانوي للبروتين (α helice)

عديد الببتيد الحلزوني يوجد في كثير من البروتينات الليفية والكروية ويكون اتجاه الحلزون يميني الاتجاه حيث الدوران في اتجاه عقارب الساعة حول محور الحلزون أو يساري الاتجاه وهو عكس عقارب الساعة.

هذا التركيب الحلزوني يكون غير ثابت لان الروابط الببتيدية تربط الأحماض الأمينية مع بعضها فقط , لذا تتكون روابط إضافية هيدروجينية تربط أجزاء الحلزون مع بعضها وتساهم في ثباتها واستقرارها.

تتكون الروابط الهيدروجينية ما بين ذرة الأكسجين α في مجموعة الكربوكسيل COOH وذرة الهيدروجين الفا في مجموعة الأمين NH_2 لتعطي التركيب اللولبي α-helix المتوفر في معظم البروتينات.

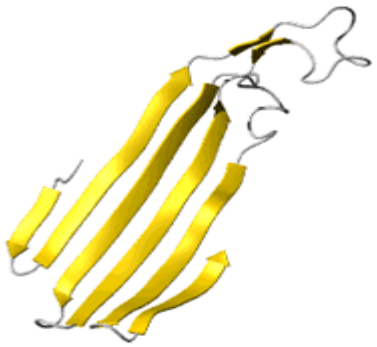
في هذا التركيب تكون مجموعات R في الاتجاه الخارجي بعيدا عن محور الحلزون ويوجد هذا التركيب في الكولاجين حيث ترتبط ثلاثة خيوط لولبية من نوع الفا , كل منها يساري الاتجاه و التي تلتف حول بعضها لتكون حلزون كبير يميني الاتجاه.

- ✓ **التركيب بيتاβ**

هناك أيضا تركيب آخر منتشر في البروتينات هو الشكل بيتا β-conformation وفيه عديد الببتيد يمتد ليكون صفائح متوازية ترتبط مع بعضها جانبيا على شكل متعرج وليس حلزوني. ثبات هذا التركيب يتكون أيضا بواسطة الروابط الهيدروجينية التي تختلف عن الروابط الهيدروجينية الموجودة في التركيب اللولبي

سلاسل عديد الببتيد في هذا التركيب تكون مرتبة بشكل متوازي بجانب بعضها البعض وتتكون الروابط الهيدروجينية ما بين مجموعة الكربوكسيل الفا في سلسلة ومجموعة الأمين الفا في السلسلة المجاورة.

التركيب**β** أما يتكون من أجزاء من نفس السلسلة أو من سلاسل مختلفة ويعرف بصحيفة **β** المثنية أين



الشكل رقم 7 : التركيب الثانوي للبروتين(التركيب بيتاβ)

تشارك جميع الروابط الببتيدية في تكوين الروابط الهيدروجينية سلسلة عديد الببتيد عادة تتميز بالقطبية على طرفيها حيث تنتهي في احد طرفيها بمجموعة كربوكسيل حرة ومجموعة أمين حرة في الطرف الأخر . تعرف هذه النهايات بالنهاية الأمينية (N) والنهاية الكربوكسيلية (C)

لو كانت قطبية سلاسل عديد الببتيد المتجاورة متساوية فعندئذ تعرف بأنها متوازية , ولو كانت ذات قطبية متعاكسة فتعرف حينئذ بأنها غير متوازية مثل ألياف الحرير.

التركيب الغير متوازي لصفائح **β** يظهر أيضا في البروتينات الكروية مثل إنزيم Superoxide dismutase الموجود في خلايا الدم الحمراء.

مزيج من صفائح **β** المتوازية و التركيب اللولبي وجد في بعض الإنزيمات الخاصة بتحلل الكربوهيدرات.

3.9. التركيب الثالثي Structure tertiaire

ويرجع التركيب الثلاثي لإنشاء أو التفاف السلاسل الببتدية في أشكال كروية لتكوين تركيب مقفل أو مدمج بإحكام بحيث يأخذ شكل كرويا.

إن الطبيعة الكيماوية وكذلك الحجم وشكل مكونات الحامض الاميني داخل عديد الببتيد في السلسلة تؤثر على شكل البروتين في الفراغ , فقوى الجذب الداخلية بين الحوامض الأمينية في مواضع مختلفة على السلسلة تؤدي إلى تكوين الثنيات الموجودة في البروتينات الكروية. وبما أن هناك عشرين مجموعة R- groupes أو أكثر في أحماض أمينيه مختلفة فهناك أنواع مختلفة من القوى الداخلية ذات قوى الجذب المختلفة بين هذه المجموعات.

إن تكوين الروابط المشاركة مهم جدا في تركيب البروتينات الكبيرة مثل ما يحدث بين مركبي السيستين (Cysteine) مكونا جسرا من ذرتي كبريت -S-S- , أما القوى الأخرى فهي الروابط

الهيدروجينية بين الأيونات المتجاورة ذات الشحنة المضادة وقوى كهربائية ضعيفة تعمل بين أطراف السلسلة المستقطبة وروابط ضعيفة بين الأجزاء التي لا تحب الماء.

الشكل رقم 8 : التركيب الثالثي للبروتين

البروتينات الكروية هي جزيئات ناعمة يجب أن تعامل بحرص فدرجات الحرارة العالية تحطم الروابط غير المشاركة والتي تعطي للبروتينات شكلا ثابتا في الفراغ مثل المايوجلوبين الذي يتميز بان وزنه الجزيئي 17000 ويتبلور بصورة سهلة . فتعرض البروتينات لدرجات حرارة عالية يفقدها طبيعتها الخاصة (Denaturation) ويتسبب في تغيير خواص البروتين الفيزيائية وفقدان نشاطه الحيوي.

إن تخثر المادة الزلالية في البيض عند طبخها مثلا ناتج عن فقدان الزلال لطبيعته والزلال هو المكون الأساسي للمادة البروتينية البيضاء.

يعتبر التركيب اللولبي (α-helix) مكون مهم في البروتينات الكروية . فعندما توجد سلسلة طويلة ومستقيمة من عديد الببتيد في بروتين كروي كبير فان هذه الأجزاء تكون ملولبة على شكل لولب α والبروتين الكروي المثالي يتكون من عدة أجزاء من لولب α مشدودة ومقطوعة في مناطق حيث

تنحني أو تنثني بطريقة غير منتظمة فتسبب ثني السلسلة على نفسها بطريقة تظهرها ذات ثلاث أبعاد في الفراغ.

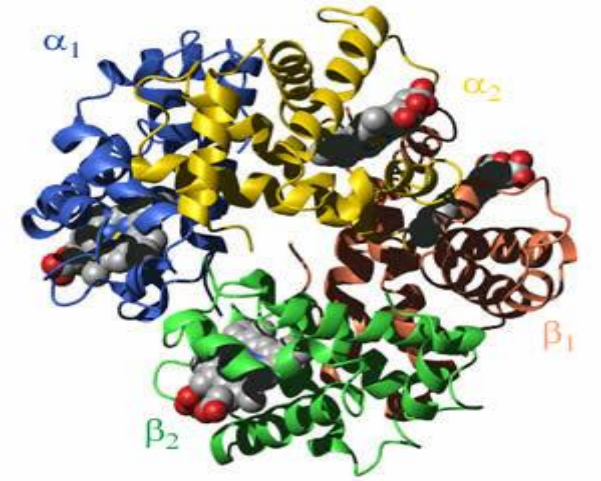
4.9. التركيب الرباعي Structure Quaternaire

ينتج التركيب الرباعي من تجمع وحدات البروتين مع بعضها البعض بواسطة رابطة ثنائي الكبريتيد , وينتج هذا التركيب من اتحاد الوحدات الملتفة في مجاميع ثابتة نسبيا (التركيب الثلاثي)، حيث ترتبط العديد من السلاسل فيما بينها لتؤدي إلى تكوين جزيء نشيط حيويا , فمثلا الهيموجلوبين يظهر هذا النوع من التركيب . ففي هذا البروتين يوجد سلسلتان α متطابقتان تتكون كل منها من 141 حامضا أمينيا و سلسلتان β متطابقتان تتكون كل منها من 146حامضا أمينيا. كل سلسلة تحتوي على مجموعة هيم (hème) وهو جزيء غير بروتيني ولكنه عضوي يحتوي على ذرة من الحديد, وهي الجزء الذي يحمل الأكسجين في هذا المركب. ترتبط السلاسل الأربعة مع بعضها بطريقة محددة حتى يستطيع الهيموجلوبين أن يقوم بوظيفته الأساسية وهي نقل الأكسجين.

نفس الروابط الموجودة في التركيب الثلاثي هي التي تساعد على استقرار التركيب الرباعي وهي روابط أيونية – روابط هيدروجينية – روابط غير محبة للماء وروابط كبريتية.

كل بروتين له ترتيب معين للأحماض الأمينية التي تحدد له شكلا فريدا في الفراغ. إن طرفي السلسلة للعشرين حامضا أمينيا تحتوي على مجموعة واسعة ومختلفة من المجاميع الوظيفية والتي يمكن أن

ترتبط فيما بينها بطرق مختلفة لتزودنا بمئات من المراكز المختلفة التي تعمل كعوامل مساعدة أو مناطق وظيفية. فمثلا مركز جزيء المضاد الحيوي الذي يسمح بالتفاعل مع الفيروس ليوقف نشاطه.

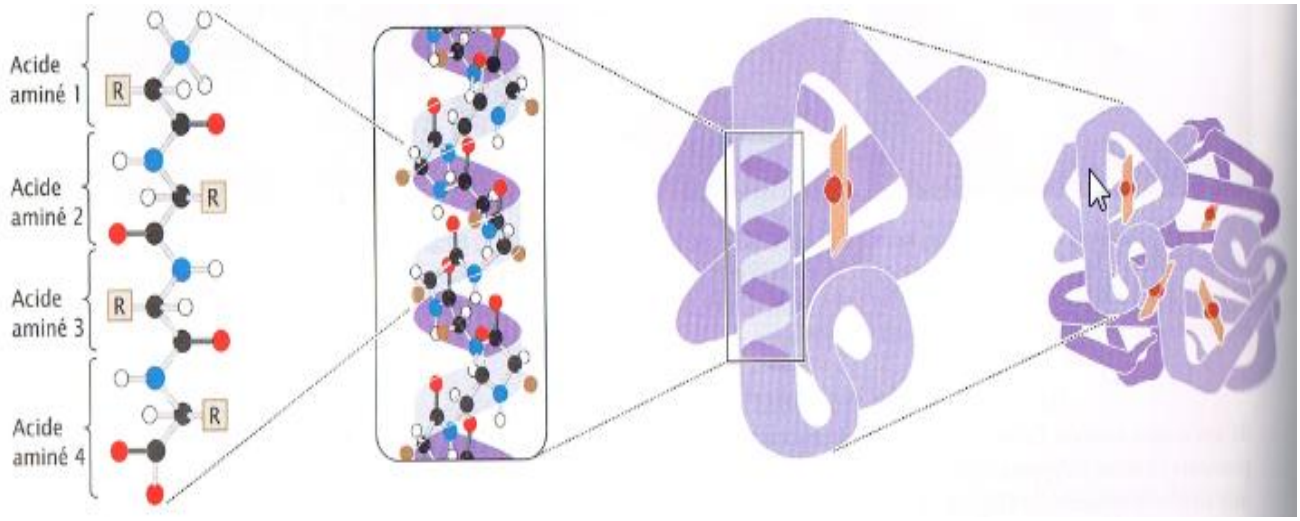


الشكل رقم 9 : التركيب الرباعي للبروتين

هناك أيضا بروتينات ترتبط مع ايونات معادن أو مركبات عضوية محددة تلعب دورا رئيسيا بحد ذاتها مثل الهيموجلوبين وكذلك إنزيم Carboxypeptidase وهو بروتين يساعد في الهضم والذي يحتاج إلى ذرة زنك Ze داخل تركيبه المعقد حتى يصبح نشيطا من الناحية البيولوجية الحيوية.

و الشكل رقم 10 بوضح تطور تركيب البروتبن من التركيب الأولي إلي التركيب الرياعي.

التركيب الرباعي التركيب الثالثي التركيب الثانوي



الشكل رقم 10: التراكيب الأربعة للبروتين

10. البروتينات الفوق الجزئية

أحيانا تتراكب جزيئات البروتين مع بعضها البعض – تتواجد في صورة مركب والتي يمكن أن تفصل متجانسة ونأخذ مثال عن هذه الجزيئات الفوقية مثل إنزيم Fatty acide synthétase الذي يحتوي على جزيء واحد مكون من 7 إنزيمات مختلفة وهذه الإنزيمات مطلوبة لبناء الأحماض الدهنية وتفصل هذه الجزيئات من خلايا الخمائر في شكل متجانس بحيث يبدو كل جزيء وحدة واحدة لكنه في الحقيقة 7 وحدات إنزيمية. كذلك الفيروسات هي عبارة عن معقد من البروتينات والأحماض النووية قد تحتوي على لبيد أو معدن أوزانها الجزيئية كبيرة قد تصل إلى 50 مليون وقد تحتوي على 2200 سلسلة ببيتدية. فكل هذه الأوزان تشكل جزيء كبير وتعمل كجزء واحد فهي تتصرف كأنها تركيب بنائي واحد لها وزن جزيء محدد حيث ترتبط جزيئاتها بشدة وتبدو كأنها ملتصقة.

11. الهدرجة أو فقد الطبيعة البروتينية Dénaturation

لمعظم البروتينات نشاط حيوي في مجال محدود من الحرارة و الPH. فعند تعريض البروتين الذائب لدرجة حرارة كبيرة و P^H منخفض أو عالي جدا لوقت قصير , تحدث للبروتين تحولات فيزيائية تعرف بالهدرجة.

تؤدي معظم التأثيرات المرئية إلى تناقص في الذوبان وينتج عن ذلك تكسر في الروابط التعاونية – الكبريتية– وتكسر في الهيكل البنائي لسلسلة عديد الببتيدات يتم التباعد والانفراد في هذه السلسلة نتيجة المعاملة الحرارية أو التغيير في درجة الحموضة لكن التركيب البنائي الأولي يبقى سليما لكنه يفقد الصفات الحيوية له ومثال ذلك الإنزيمات إذا ما عرضت على حرارة مرتفعة فإنها تفقد قدرتها التحفيزية وتسبب عملية الهدرجة فقد الطبيعة البروتينية فقد التركيب الملتف لبناء السلسلة ويحدث بها عدت التواءات يكون نتيجة لذلك إن يفقد البروتين التركيب المتتابع من الأحماض الأمنية والتي تم بها وقد حدث في حالات عديدة أن البروتين غير الملتف أو غير المنطوي يرجع ذاتيا إلى النشاط الحيوي الأصلي بطريقة تسمى Renaturation

لو أن البروتين الذي حدثت به عملية Dénaturation عبارة عن إنزيم فإن التفاعلات التحفيزية التي يقوم بها الإنزيم تعود مرة أخرى ويجب أن نلاحظ أن إعادة البروتين إلى الحالة الأصلية لا تعمل على إيجاد أي نشاط حيوي جديد لا يوجد في البروتين الأصلي. هذه الحقائق تدل على أن تتابع الأحماض الآمنية في سلاسل عديد الببتيدات تحتوي على معلومات ضرورية للتطابق الإلتوائي لسلسة ببيتدية, وهذا التطابق يتوقف عليه النشاط الحيوي له.

12. الوظائف المختلفة للبروتين

تلعب البروتينات أكثر من دور مهم في علم الحياة فهي تشارك في معظم الوظائف الحيوية . فالإنزيمات التي تدخل كعوامل مساعدة في جميع التفاعلات الكيماوية في الأنسجة الحية هي بروتينات , كذلك الهرمونات التي تنظم العمليات الحيوية في كثير من الكائنات الحية.

أيضا الوحدات التركيبية كالكولاجين الذي يعمل كنسيج رابط وكذلك الهيموجلوبين الذي يحمل الأكسجين في الدم عبارة عن بروتينات. وتدخل البروتينات في عمليات انقباض العضلات والمستقبلات الحسية وفي عمليات النقل النشط من والى الخلايا وفي التفاعلات الدفاعية مثل إفراز السموم وتخثر الدم وتكوين المواد الوقائية ضد البكتيريا والجراثيم والفيروسات الممرضة.

تعمل البروتينات كإنزيمات أو عوامل مساعدة حيوية تدخل في التفاعلات الكيموحيوية المعروفة وغير المعروفة في الأنظمة الحيوية وكل تفاعل يحتاج إلى عامل مساعد مختلف.

الإنزيم هو جزيء بروتيني له تركيب فريد , فالإنزيم الذي يعمل كعامل مساعد في تفاعل معين داخل كائن حي يختلف عن الإنزيم الذي يعمل كعامل مساعد لنفس التفاعل في كائن حي أخر.

هذا الاختلاف يلقي بعض الضوء على العلاقة التطورية بين هذين الكائنين , فالبروتينات الموجودة في الإنسان والقرد بينهما تشابه اكبر من تلك الموجودة في الإنسان والخيول.

و من تم يمكن تحديد الوظائف المختلفة التي تقوم بها عدة أشكال من البروتين وتقسم حسب الوظيفة التي يؤذيها إلى الأقسام التالية:

- التحفيز: وتقوم به إنزيمات عديدة المعروف منها 200 إنزيم .
- تخزين الأحماض الأمنية كغذاء للجنين النامي في الحيوان والنبات مثال ذلك: Albumine و Caséine.

- القدرة على الارتباط ونقل أشكال معينة من المواد بواسطة الدم مثل .Hémoglobine ينقل الأوكسجين من الرئة إلى الأنسجة المختلفة أو المستقبلات الغشائية.
- الحركة والانقباض مثل Myosine و Actine وهما عنصران مهمان من البروتين يدخلان في نظم الارتباط عند العضلات الهيكلية . فالActine بروتين خيطي طويل يتكون من عدد من السلاسل البيبتدية تنظم فيما يشبه العقدة أما Myosine فيكون في شكل طويل يشبه العصي يحتوي على سلسلتين بيبتديتين تلتف حلزونيا حول بعضها في العضلات. تنظم هذه البروتينات في شكل متوازي وتنزلق طوليا عند الانقباض.
- وظائف الحماية: Fibrinogène منع الفقد المتزايد من الدماء بإحداث الجلطة الدموية والذي يسمح بعملية تخثر الدم بتشكيل الصفائح الدموية التي تمنع النزيف.
- وكذلك البروتينات المناعية مثل الأجسام المضادة **Ig M** و **Ig G** هي التي ترتبط مع البروتينات الغريبة, وتمنع دخول مثل هذه المواد.
- السموم/: وهي مواد فائقة السمية للحيوانات الراقية وهي تمثل مجموعة أخرى من البروتينات مثل Risine مستخلص من بذور الخروع وسموم الدفتيريا.
- الهرمونات وهي نوع آخر من البروتينات تعمل مثلا على تنظيم النمو مثل هرمونات النمو أو تنظيم كمية ال Glucose في الدم كما هو الحال عند هرمون.Insuline
- البروتينات كعناصر بنائية:
  - ✓ في جدران الخلايا وفي أغشيتها.
  - ✓ زلال المفاصل الذي يسبب انزلاق وتشحيم المفاصل
  - ✓ العناكب وديدان الحرير تفرز سائلا سميكا من البروتين يتصلب بسرعة إلى خيوط غير ذائبة يسمى .Fibrine

- ✓ بعض الأسماك التي تعيش في المياه الباردة تحتوي على بروتينات مانعة للتجمد في المياه القطبية.
- ✓ بعض أنواع الفواكه تحتوي على بروتين ذو طعم سكري

وفي النهاية

فإن كل البروتينات سواء الحيوية أو ذات التأثير السام تبنى كلها من 20 حمض أميني كما أن التشكل ذو البنية الثلاثية الأبعاد يعطى لكل شكل أو نوع من البروتين النشاط الحيوي له أو التركيب.

13. التماثل التتابعي في السلاسل البيبتدية

تم حساب العدد الكلي لأنواع بروتين مختلفة في كل الكائنات من 10^8 إلى 10^{12} هذا العدد الضخم من تتابع خاص بالأحماض الأمنية والذي يمكن تشكله من 20 حمض أميني قياسي.

فمن الوجهة الرياضية البحتة فإن ثنائي الببتيد التي بها 2 من الأحماض الأمنية المختلفة تكون متشابهة من البيبتدات AB أو BA .

في البيبتدات الثلاثية المتكونة من 3 أحماض أمنية هناك احتمال لتكون 6 سلاسل.

في الرباعية 24 نوع وفي 20 حمض أميني فإن العدد الاحتمالي $2x\ 10^{12}$ وهذا فقط في السلاسل البيبتدية البسيطة حيث يكون الوزن الجزيء 2600 وحيث يتواجد الحمض الأميني مرة واحدة لكن إذا تكرر الحمض الآميني داخل السلسلة البسيطة وإذا كان البروتين يحتوي على أكثر من سلسلة فإن الاحتمالات تكون في أنواع بروتينية عديدة تقترب من 10^{300} أي وجود أعداد ضخمة من البروتين متكونة من 20 حمض أميني القياسية .

الفصل الثالث : الأحماض النووية Acides nucléiques

1. المقدمة

البروتينات هي جزيئات كبيرة تحتوي المعلومات أو تخزنها , وهذه المعلومات تكون مترجمة في أحماضها ا لأمينية المرتبة بشكل خاص يحدد شكلها في الفراغ و أهميتها الحيوية التي تقوم بها.

في حين الأحماض النووية هي المسؤولة عن إرسال المعلومات اللازمة لوضع الأحماض الأمينية بهذا الترتيب من النواة إلى السيتوبلازم وهي عبارة عن مركبات حامضية موجودة في النواة.

يعتبر ADN هو بالفعل المادة الوراثية في معظم الخلايا الحية عدا قليل من الفيروسات يكون ARN هو المادة الوراثية لها.و ذلك لكونه يمتاز بالخصائص الآتية:

1 –يحتوي على جميع المعلومات الوراثية المطلوبة لإرادة وتنظيم الأنشطة الأيضية في الخلية.

2 –له القدرة على التضاعف بانتظام وبدقة بحيث انتقال المعلومات وتوريثها للخلايا البنيوية بطريقة مضبوطة.

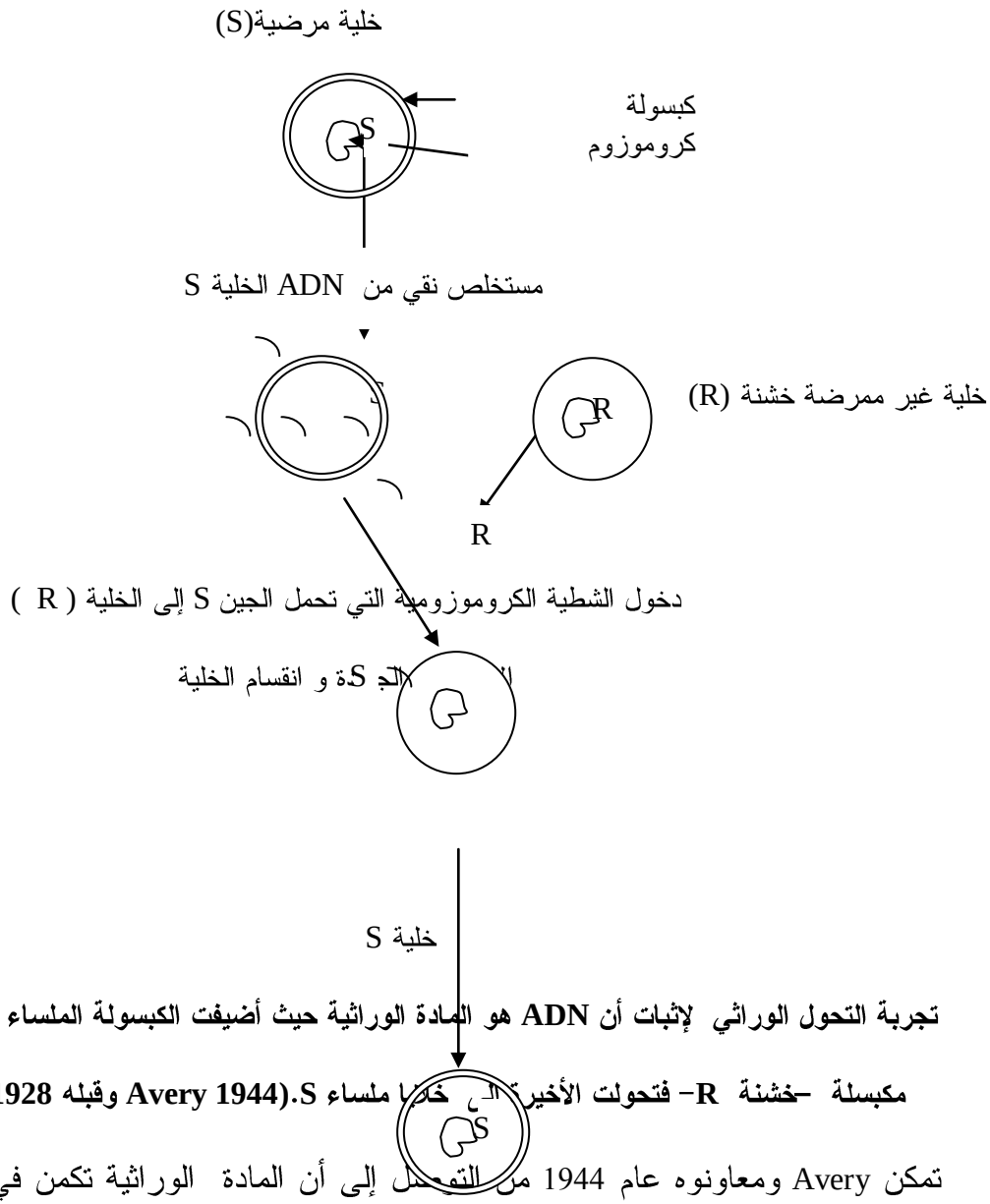
3 –له القدرة على الطفور بنسب منخفضة جدا بحيث تحدث تغيرات وراثية يمكن توريثها إلى النسل

2. الأدلة على أن ADN هو المادة الوراثية

يمكن تلخيص الأدلة على أن ADN هو المادة الوراثية في الأتي في التجارب الثلاث الآتية :

التحول الوراثي ، الإستنقال الوراثي و ثبات كمية ADN في الكروموزومات.

1.2. التحول الوراثي Transformation génétique



تجربة التحول الوراثي لإثبات أن ADN هو المادة الوراثية حيث أضيفت الكبسولة الملساء إلى خلية من سلالة غير مكبسلة –خشنة R– فتحولت الأخيرة الى خلايا ملساء S.(Avery 1944 وقبله Fred Griffith,1928).

تمكن Avery ومعاونوه عام 1944 من التوصل إلى أن المادة الوراثية تكمن في ADN الخلية وليس في بروتيناتها وذلك بعد قيامهم بتجربة رائدة للتحول الوراثي بين سلالتين من البكتريا المسببة للالتهاب الرئوي في الإنسان من نوع Pneumococcus حيث كانت السلالة الأولى وتسمى S-type لها القدرة على تكوين حافظة أو كبسولة من عديدات السكاكيرpolysaccharides حولها مما يقيها من أجهزة الدفاع في الحيوان المصاب ويمكنها من إحداث الإصابة بالمرض وقد أعطت الاسم Smooth (S) لأن مستعمراتها النامية على البيئة الصلبة تعطي مظهر أملسا أما السلالة الأخرى المستخدمة فهي السلالة

R-type وهي طافرة تفتقر إلى الإنزيم المسؤول عن بناء سكريات الكبسولة مما يجعل مظهر المستعمرة على البيئة الصلبة خشنا Rough(R) وهذه السلالة تكون غير مرضية لعدم قدرتها على مقاومة الجهاز المناعي بالجسم نظرا لعدم وجود الكبسولة الوراثية حولها.

عندما أضافAvery مستخلصا نقيا من ADN لسلالة S بعد التخلص من البروتينات و ARN إنزيميا إلى مزرعة من السلالة R أمكنه الحصول على بعض الخلايا من نوع S.

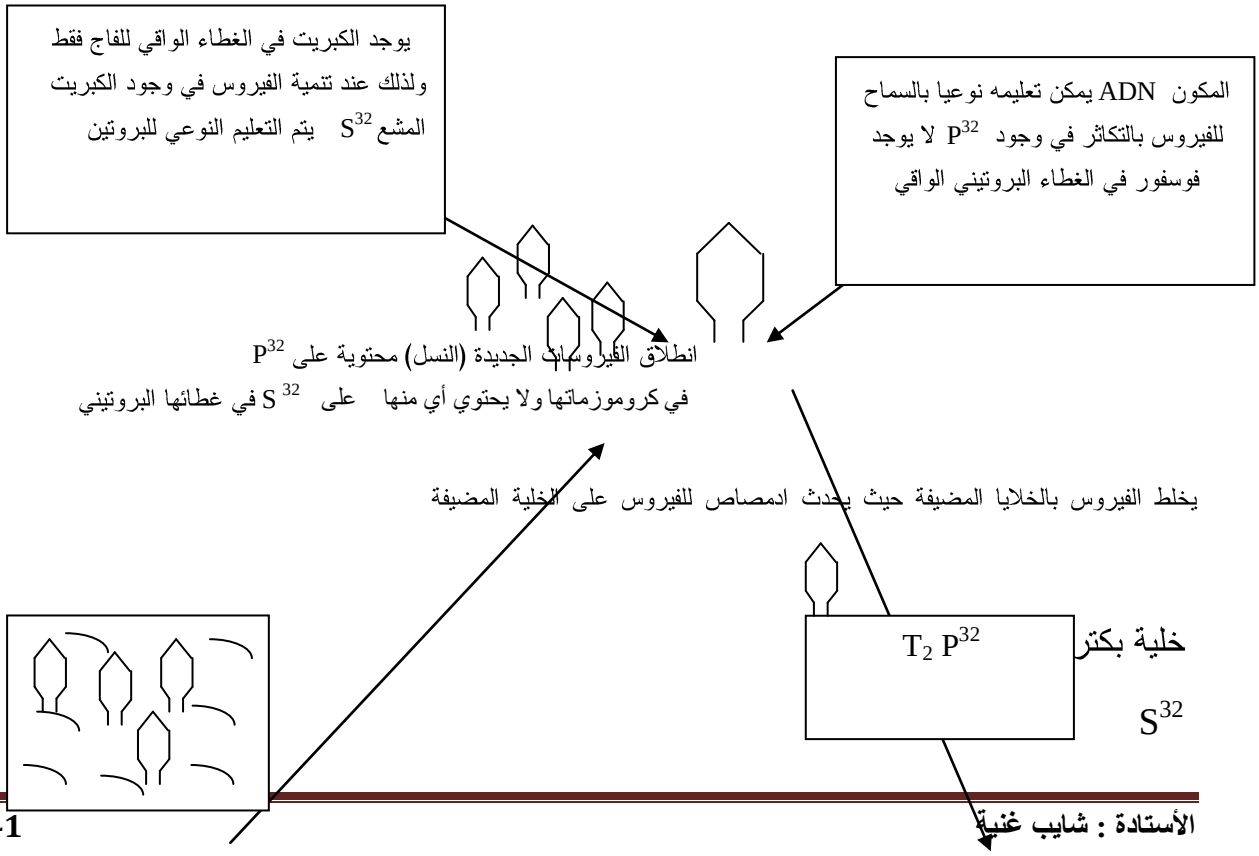
من جهة أخرى فقدت السلالة S القدرة على تحويل السلالة R تماما عندما تم تكسير ADN بالمعاملة بإنزيم DNAse أي أن جزيء ADN هو المسؤول عن عملية التحول الوراثي وكان هذا أول دليل عملي على أن ADN هو مادة وراثية.

2.2.الإستنقال الوراثي(النقل الفاجي) Transduction génétique

حيث قام Hershey و Chase عام 1952 بعدوى بكتيريا القولون *E.coli* بالفاج T_2 بعد تعليم بروتونات الغطاء المحيط بالفاج بالكبريت المشع S^{32} في حين تم تعليم جزيء ADN الداخلي بالفسفور المشع p^{32} ومن المعروف أن الفاج يقوم بحقن محتوياته الداخلية فقط (ADN) إلى داخل الخلية البكترية في حين يبقى الغطاء المغلف له معلقا خارج الخلية المحقونة ويمكن التخلص منه بالرج بحرص في خلاط.

تبين أن معظم الفوسفور المشع(وبالتالي ADN الفاج) قد دخل إلى الخلية البكترية في حين لم تظهر أثار للكبريت المشع إلا النادر جدا والتي وجدت معلقة بالجدار الخارجي للخلية البكترية. وقد وجد أن جميع النسل الناتج من الفاج بعد تكاثره داخل الخلية البكترية والذي خرج بعد تحلل الخلية البكترية وانفجارها يحتوي على p^{32} فوسفور مشع مصدره بالطبع ADN الفاج الأصلي و لا يحتوي أي نسل

من الفاج على أي أثر من S^{32} مما يدل على أن بروتين الفاج لم يكن له أي دور في انتقال المادة الوراثية إلى النسل في حين أن ADN هو المادة الوراثية.



الهز بشدة في خلاط

تضاعف كروموزم الفيروس ADN
في غياب الغطاء البروتيني الأصلي

الشبح البروتيني معلم ب S^{32}

اثبات أن ADN للفاج T_2 هو الذي يحمل المعلومات الوراثية و أن الغطاء البروتيني يستخدم فقط كغطاء واقي ولا يحمل أي معلومات وراثية Hershey et Chase , 1952

3.2. ثبات كمية ADN في الكروموزومات

بينت الدراسات السيتيولوجية Cytologiques و السيتوكمياوية Cytochimiques في الكائنات مميزة النواة أن ADN يوجد في النواة فقط (فيما عدا ADN الميتوكوندريا والكلوروبلاست) بالإضافة إلى ذلك فقد ثبت أن كمية ADN في الخلية الثنائية العدد الكروموزومي cellule diploïde يكون ثابتا دائما للكائن الواحد ويساوي ضعف الكمية الموجودة في الخلية الجاميطية الأحادية Haploïde.

بالإضافة إلى ذلك فإن ADN وبعكس البروتينات وغيرها من الجزيئات الأخرى في الخلية يكون ثابتا أيضيا بمعنى أنه لا تجري له عملية بناء ثم هدم بسرعة ولكن بمجرد أن يتم بناؤه في الخلية فإن ADN يضل فيها محتفظا بخواصه طالما أن الخلية تنمو نموا طبيعيا .

3. الدور الأساسي للأحماض النووية في العمليات الأيضية

هناك خاصيتان جوهريتان شائعتان في جميع الكائنات الحية هما:

1 -القدرة على إعادة إنتاج نفس النوع أو باصطلاحات حديثة القدرة على تخزين وتوضيح ونقل المعلومات الوراثية Transmission, expression, stockage.

2 -القدرة على إحداث التغيير الوراثي (Mutation) أو الطفور .

وتعتمد هذه الخصائص على الصفات الكيميائية لقسم من المواد يعرف بالأحماض النووية والتي توجد في جميع الخلايا الحية بالإضافة إلى الفيروسات والبكتيريا وفي الحقيقة فإن الأحماض النووية تكون المادة الأساسية للجينات (المورثات) كما أنها الأداة التي تعمل بها الجينات.

تحتوي هذه الأحماض النووية في تركيبها مثل المكعبي, الحلزوني و المتناظر في الفيروسات على مخططات أو تصميمات النمو العادي أو التطور العادي لكل كائن حي.

ومن الممكن أن تؤدي التغييرات في تركيباتها إلى ما يعرف بالتغير الوراثي أو الطفرة Mutation وبالتالي إلى مجموعة احتمالات: إلى التطور Evolution، إلى المرض(maladie) Diases, أو إلى الشيخوخة sénescence(Vieillissement).

وبالتالي فإن معرفة الخواص الكيمائية و الطبيعية للأحماض النووية هي بكل تأكيد أساسية ليس فقط لدراسة الصفات الوراثية Hérédité قبل التكاثر. بل أيضا لدراسة العمليات الخلوية والعضوية الأساسية قبل التكاثر Reproduction والانقسام الخلوي واحد واختلاف تمايز الأنسجة، بما فيها الأورام الخبيثة والأمراض الأخرى وحتى عملية التطور نفسها.

فالفيروسات هي عوامل ممرضة غير خلوية متطفلة كلية وهي أصغر الوحدات البيولوجية على الإطلاق والتي تحمل المعلومات الضرورية لتضاعفها Réplication واستنساخها لذلك أوضحت دراسة تركيبها وميكانيكية تضاعفها والطريقة التي تغير بها الخلايا المصابة ذات أهمية بالغة. وتسبب الفيروسات الأمراض المعدية في الحيوان و النبات والبكتيريا. وتحتوي الفيروسات إما على الحامض النووي ADN أو ARN مرتبط بالبروتين أو البروتين الدهني حيث يكون الحامض النووي في القلب ويحاط بوحدات البروتين والتي تسمى capsomers والتي تتجمع مكونة capside التي قد تحاط بغطاء يسمى enveloppe

4. اكتشاف و فصل الأحماض النووية

لقد كان Miescher أول من فصل الحامض النووي من الخلايا الصديدية وذلك بهضمها بحامض HCl مخفف لمدة أسابيع ثم رج المخلوط مع الأثير في قمع فصل حيث تنفصل في أسفل القمع طبقة صلبة ثقيلة وتتكون في غالبها من مادة نووية نقية ولقد وجد Miescher أنه يمكن الحصول على هذه المادة بطريقة أفضل بهضم الخلايا الصديدية بواسطة عصارة معدية صناعية يحيث لا تهضم المادة النووية نفسها ولقد اعتبر الناتج بأنه المكون لنواة الخلية وأطلق عليه اسم nucléine ولقد كانت خصائص nucléine جديرة بالملاحظة إذا كانت له خواص حامضية قوية أكثر من البروتين ويكون ذائبا في القلويات المخفضة ولا يذوب في الأحماض المخفضة أو الماء أو المذيبات العضوية ويحتوي على كمية عالية نسبيا من الفوسفور.

وسرعان ما أكد Hoppe-seyler ومساعدوه ملاحظات Miescher كما اثبتوا وجود nucléine في خلايا الخميرة وخلايا الكريات الحمراء في الطيور وفي الأنسجة الأخرى المختلفة.

ولقد درس Mischer في آخر عمل له المادة النووية لحوت السلمون اليافع حيث كانت بكميات وفيرة ووجد أنها تتكون من ملح النيوكلين الحامضي ومادة قاعدية أخرى حيث أطلق عليها اسم protéine وهي تختلف تماما عن البروتينات المعروفة آنذاك.

لقد كان التركيب الأساسي للنيوكلين nucléine الذي حصل عليه Mischer من حوت السالمون قريبا جدا من الأحماض النووية المحضرة حديثا. كما أكدت دراساته بأنه حامض عديد يحتوي الفوسفور ذو وزن جزيء مرتفع وغير قابل للفصل غشائيا ولقد حدده على أنه نوع جديد لمادة بيولوجية غير بروتينية توجد في كل أنواع الخلايا الحية, وقد أطلق عليها Altman سنة 1889 اصطلاحا اسم الأحماض النووية Acides nucléiques واستحدث طرقا عامة لفصل الأحماض النووية من مصادر

عديدة, كما أوضح وجود نوعين رئيسين تعرف الآن باسم الحمض النووي الريبي ARN والحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين ADN .

ARN = Acide Ribo Nucléique

ADN= Acide DeoxyriboNucléique

لقد بدأت الأبحاث الحديثة على تركيبات الأحماض النووية بتطورطرق تخليق nucléosides ، nucléotides و Poly nucléotides من طرف Todd و مدرسته ثم من طرف G.Khorana و في النهاية بدراسات X-rays و الدراسات الكيموفيزيائية للتركيبات الثلاثية و الرباعية لأحماض النووية وتفسيرها الناجح من طرف Grick ، Watson و Wilkins وأخرون .

و لقد سجل كل من Charagaff و Davidson تاريخ الإكتشافات المبكرة في مجال الأحماض النووية.

5. **أنواع الأحماض النووية:** هناك نوعان من الأحماض النووية هما:

1 – **الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين(ADN) Acide DeoxyriboNucléique** :

ويوجد بشكل رئيسي داخل النواة

2– **الحمض النووي الريبي (ARN) Acide Ribo Nucléique** : ويوجد بشكل أساسي في السيتوبلازم

كلا الحمضين يحملان في تركيبهما المعلومات اللازمة لتحديد ترتيب الأحماض الأمينية في البروتين

ويعتبر ADN هو مخزن المعلومات الوراثية لأنه يحتوي على الجينات المحمولة على الكروموسومات داخل نواة الخلية. جميع المعلومات الوراثية تكون مخزنة في ADN وجزء بسيط فقط منها يفصح عنه حيث يتم نقله من ADN إلى ARN ومنه ينقل إلى السيتوبلازم ليشارك في صنع البروتين.

تتكون الأحماض النووية من سلاسل طويلة من وحدات متكررة من النيوكليوتيدات .تحمل المعلومات الوراثية على بعض أجزاء الكروموسومات (جينات) والجين مؤلف من عدد من النيوكليوتيدات ويخزن الجين المعلومات المطلوبة للنمو Développement وتكاثر الخلية Reproduction حيث يحمل شفرات Codes من المعلومات اللازمة لبناء بروتين محدد أو مجموعة من البروتينات المتشابهة.

6.الأوزان الجزيئية لأحماض النووية

الأحماض النووية مركبات ذات وزن جزئي مرتفع وتخلف قيم أوزانها الجزيئية اختلافات كبيرة تبعا للنوع والوظيفة أو تقاس بوحدة زوج قاعدة Paire Base.

1.6.الحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين(Acide DeoxyriboNucléique (ADN

ويتميز بالوزن الجزئي الأكبر تتراوح قيم أوزانه الجزيئية للأنواع المفصولة من الفيروسات من 10.000 إلى 100.000.000 والقيم التالية للأوزان الجزئية لحمض ADN من بعض المصادر

المصدر	الوزن الجزيئ
فيروس طاعون الطيور	200.000.000 أو $2 .10^8$
فيروس الجدري	160.000.000

باكتريوفاج	120.000.000 إلى 15.000.000

ويختلف الوزن الجزئي لمستخلص ADN تبعا لطريقة فصله فيتراوح الوزن الجزئي ل ADN المفصول من غدة التيموس من 6 إلى 36 مليون ومتوسط القيمة يكون مضاعفات الرقم 6 مليون ويصل في بعض الأحيان إلى أقل قيمة 500.000 مما يدعو لافتراض أن جزيء ADN يتكون من تحت وحدات لكل منها وزن جزئي 500.000 ويعتقد أن أقل وزن جزئي ADN يكفل له أداء وظائفه البيولوجية في حدود من 20–30 مليون والخلية البكترية يعتقد 100 مليون (مليار) في بكتيريا القولون.

2.6. الحمض النووي الريبي Acide Ribo Nucléique (ARN)

حمض ARN له أوزان جزئية لا تصل لضخامة ADN وتقسم أحماض ARN حسب أوزانها الجزيئية إلى مجموعتين:

أ – أحماض ARN منخفضة الوزن الجزيئي ويتراوح من عدة ألاف إلى عدة ملايين وتمثل غالبا ARNt الحمض النووي الناقل.

ب– أحماض ARN مرتفعة الوزن الجزيئي ويتراوح من عدة مئات الآلاف إلى عدة ملايين وبخصوص المجموعة أ فعند فصل مخلوط محتويات الخلية ينفصل إلى جزئيتين جزء طافي أو ذائب ويحتوي على أحماض ARN منخفضة الوزن الجزيئي, لذا يطلق عليها اسم ARN soluble أو ARN_S وجزء راسب يشمل على ثلاثة أنواع :

1-حمض ARN ribosomiale ويرمز له بالرمز r (ARN) ويوجد في الريبوزومات وجزيئاتها وتنقسم إلى نوعين الأول له وزن جزيء من 500 إلى 600 ألف والثاني من 1 مليون إلى 1.2 مليون.

2-حمض ARN messager: ويرمز له بالرمز m (ARN)كما يسمى الحمض النووي الإعلامي أو الرسول ويعمل كمصنع(كقالب) للتخليق الحيوي للبروتين ويتراوح وزنه الجزئي من 30 ألف إلى 4 مليون تبعا لمصدره.

3- حمض ARN الفيروسي: وهو أحد مكونات الجزيئات الفيروسية ويتراوح وزنه الجزيئي من 1 إلى 2 مليون وفي عدد محدود من الفيروسات الضخمة من 10- 15 مليون .

7.الكميات التي يحتويها الكائن الحي من الأحماض النووية وأماكن وجودها

- **ADN**: تتميز أحماض ADN بثبات كميتها في خلايا نفس الكائن الحي بصورة كبيرة وتمثل القيم التالية كمية ADN في الأنسجة المختلفة للفأر مقدرة بالبيكوغرام / خلية ($pg = 10^{-12}$ g)

النسيج	الكمية	النسيج	الكمية
الكبد	**9.1**	**الكلى**	**6.5**
البنكرياس	**7.1**	**القلب**	**6.3**
الأمعاء الدقيقة	**7.4**	**الغدة التيموسية**	**7.2**
الرئتان	**6.5**		

كما تختلف كمية الADN اختلافات كبيرة في خلايا الكائنات المختلفة كما توضحه القيم التالية: (pg/ cell)

الكائن	الكمية	الكائن	الكمية
الإنسان	6.8	الخميرة	0.05
التمساح	5.0	بيكتريا E-coli	0.014
الدجاج	2.3	فيروس الجدري	4^{-10} x 2.7

يوجد الحمض النووي ADN بصفة أساسية في أنويه الخلايا وفي الميتاكوندريا وفي البلاسيدات الخضراء وقد اتضح أن ADN في أنويه الخلايا يختلف عما في الميتاكوندريا والبلاسيدات الخضراء.

- **ARN**

لا يتميز ARN في الخلايا بالثبات وحتى التشابه ولقد وجد أن كمية ARN في خلايا الأنسجة التي تصنع بروتين الكبد على سبيل المثال تزيد عدة مرات عن كمية ADN بها.

ففي كبد الفأر تكون كمية ARN = 4 أضعاف ADN في حين تقل كمية ARN بكميات ضئيلة عن ADN ففي رئة وأمعاء الفأر يقل ARN بمقدار مرتين عن ADN.

وبخصوص نسبة الأنواع المختلفة من ARN وجد أن 80- 85% منه تكون من النوع r(ARN), 10 % من النوع s(ARN) و 2-3 % من النوع .m(ARN) فالأول يتركز في الريبوزومات والثاني في البلازما الشفافة والثالث في النواة وبصفة ثانوية في السيتوبلازم.

8. وظائف الأحماض النووية

1- كفالة التخليق الحيوي المتخصص للجزيئات الكبيرة بما فيها الأجسام البروتينية التي تمثل الأساس المادي للعمليات الحيوية.

2- نقل الصفات من الخلايا الأم إلى الخلايا الجديدة.

3- بعض الوحدات البنائية لهذه الأحماض والمعروفة باسم Nucléoside لها دور أساسي في التفاعلات الإنزيمية حيث يعمل الكثير منها كمرافق إنزيمي Coenzyme.

الفصل الرابع : التركيب الكيمائي للأحماض النووية

Structure chimiques des acides nucléiques

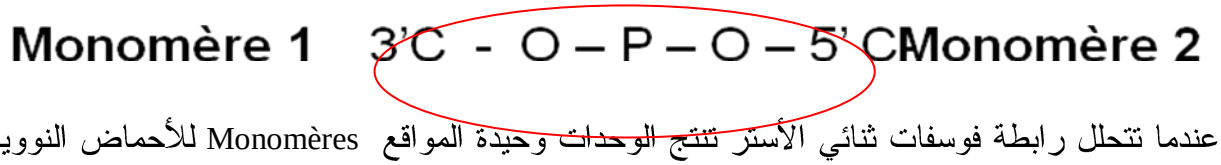
1. تعريف الأحماض النووية

الأحماض النووية (ADN, ARN) هي بوليمرات Polymères تتكون من الثلاث مركبات التالية: قواعد نتيروجينية، سكريات وحامض الفسفوريك. $_{n}$ (bases, sucre, phosphate).

base +Sucre + Phosphate = Monomère

(base +Sucre + Phosphate) n = Polymère

حيث n رقم ضخم أو عدد ضخم, وتكون الرابطة بين وحدات البولمير هي رابطة liaison phosphodiester



وعندما تتحلل رابطة فوسفات ثنائي الأستر تنتج الوحدات وحيدة المواقع Monomères للأحماض النووية وهذه الوحدات تسمى Nucléotide النيكليوتيدة.

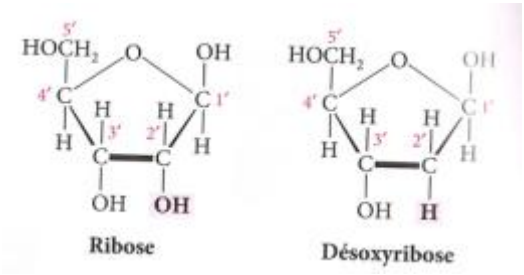
2. النيوكليوتيدات les nucléotides

تعتمد قدرة ADN على نقل المعلومة الوراثية الأساسية لإنتاج خاصية مرتبطة بجزيئات ADN .

فالـــADN هو جزيء عديد المواقع Polymères أي سلسلة طويلة من مواقع أحادية الموقع Monomères تسمى Nucléotide إذن فالـــADN عبارة عن مجموعة من ثلاث أقسام: سكر, تركيب حلقي يسمى قاعدة base ومجموعة فوسفات (P).

السكر الموجود في الـــ ADN هو سكر خماسي Pentose يسمى 2'desoxyribose أي سكر خماسي منقوص الأوكسجين لأن مجموعة OH الموجودة على ذرة الكربون رقم 2 للسكر الخماسي تعوض بذرة الهيدروجين (الشكل رقم 1) ترقم ذرات كربون السكر من 1' إلى 5' نضيف ' لتميزها عن ذرات

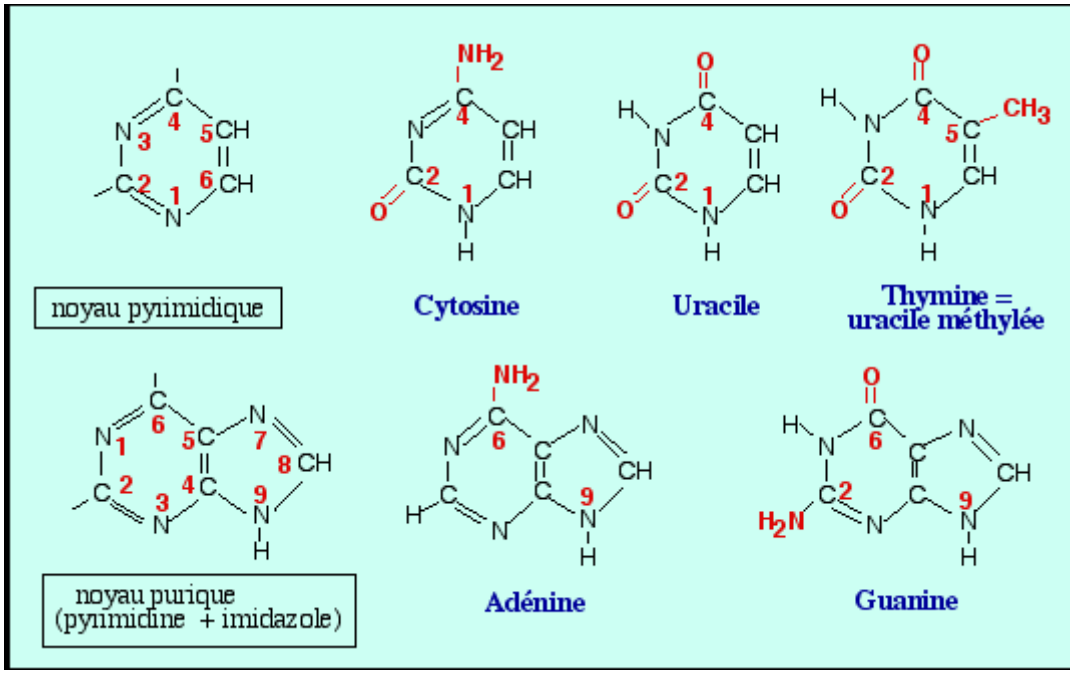
الكربون للقاعدة (base). يعتبر الترقيم مهم جدا لأنه يسمح بمعرفة أين يتم ربط السكر ببقية مكونات النيوكليوتيدة.



الشكل 1: تركيب السكر الخماسي و السكر الخماسي منقوص الأوكسجين

تحتوي كل Nucléotide على 4 قواعد هي: Adénine (A) , Guanine (G), Thymine (T) , Cytosine (C)

وهي عبارة عن مركبات معقدة تحتوي على تراكيب حلقية من الكربون و الأزوت يحتوي Adénine و Guanine على حلقتين غير متجانستين Hétérocycles وتسمى قواعد بيورينية Bases puriques ويحتوي Cytosine و Thymine على حلقة وحيدة وتسمى قواعد بيريمدينية Bases pyrimidiques . ترتبط القواعد بالسكر برابطة مشكلة بين الكربون 1' للسكر والأزوت رقم 9 للقواعد البيورية Bases puriques أو الأزوت رقم 1 للقواعد البريميدية Bases pyrimidiques (الشكل رقم 2) .



الشكل رقم 2 : قواعد الأزوتية الداخلة في تركيب الأحماض النووية

فاجتماع السكر والقاعدة يسمى نيكليوزيدة Nucléoside.(الشكل رقم 3)

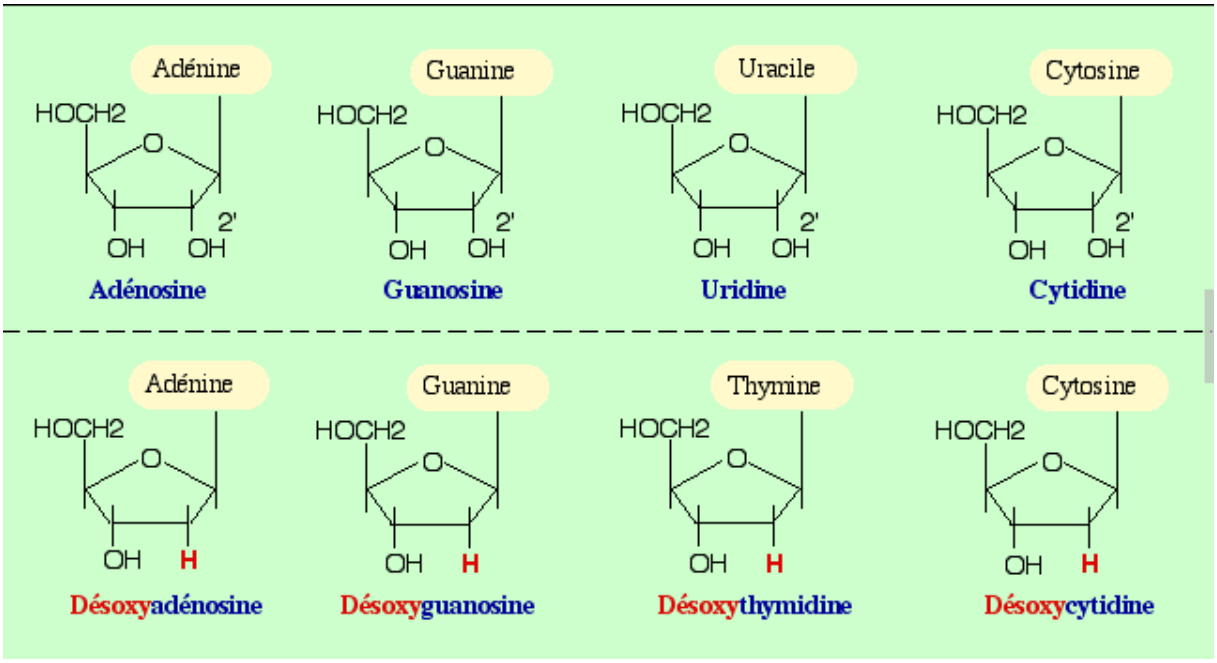
Base +Sucre = Nucléoside

تحتوي النيكليوتيدات على مجاميع الفوسفات PO_4 المرتبطة بالكربون 5' للسكر تسمى النيوكليوزيدة Nucléoside نيوكليوتيدة Nucléotide (الشكل رقم 4)

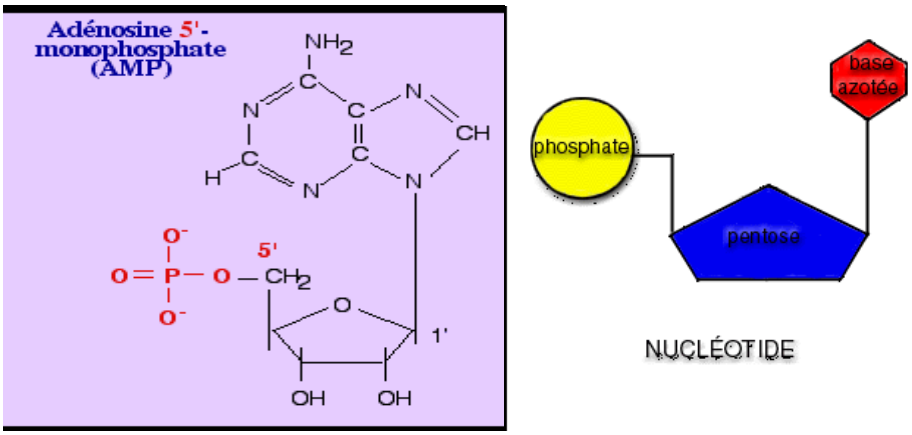
Base +Sucre + Phosphate = Nucléotide

Nucléoside + Phosphate = Nucléotide

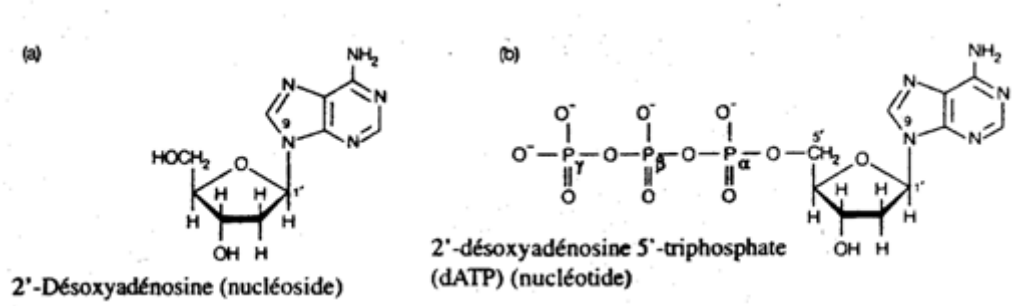
عندما ترتبط بمجموع أو اثنين أو ثلاث مجاميع فوسفات. ترقم الفوسفات ب α، β و δ أين تكون α ملتصقة مباشرة بالسكر(الشكل رقم 5) .



الشكل رقم 3 :تركيب النيكليوزيدة Nucléoside



الشكل رقم 4: تشكل النيكليوتيدة Nucléotide



الشكل رقم 5 : تشكل a -النيوكلوزيدة - b نيوكليوتيدة

تصادف داخل الخلايا نيكلوتيدات في حالة حرة وهي التي تلعب فيها النيوكليتدات Nucléotides دورا مهما كنواقل للطاقة المستعملة للتفاعلات الإنزيمية أو تبلمر على شكل ADN أو ARN .

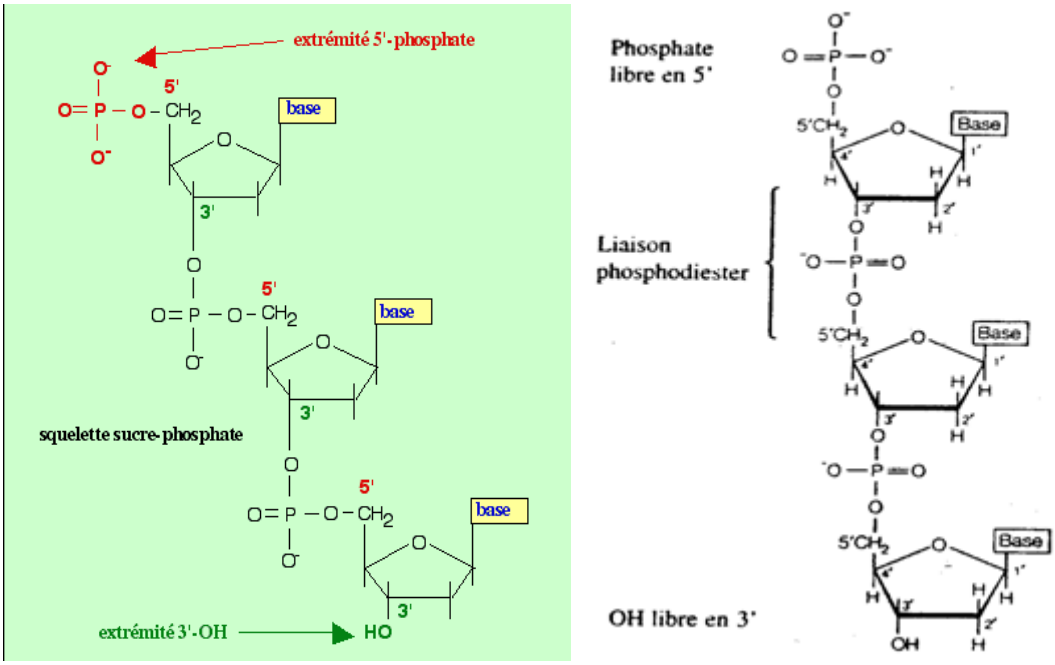
3.عديد النيوكليوتيدات ADN

ترتبط النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات Nucléotides Triphosphate لتشكيل عديد النيوكليوتيدات poly nucléotide. تستعمل أربع نيوكليوتيدات لبناء جزيئات ADN

* 2' desoxy adenosine 5 triphosphate d ATP ou A
* 2' desoxy thymine 5 triphosphate d TTP ou T
* 2' desoxy cytosine 5 triphosphote d CTP ou C
- 2 desoxy guanine 5 triphosphate d GTP ou G

يفقد أو يتلاشى الفوسفات β و δ عند عملية البلمرة Polymerisation وترتبط الوحدات النيوكليوتيد بالفوسفات المتبقيα.

يشكل الفوسفات '5 لنيوكليوتيدة رابطة مع الكربون 3' للنيوكليوتيدة التالية. يؤدي التفاعل إلى حذف مجموعة OH على مستوى ذرة الكربون 3' وتسمى الرابطة phosphodiester 5'–'3 رابطة فوسفات ثنائية الأستر (C – O – P) الشكل رقم 6.



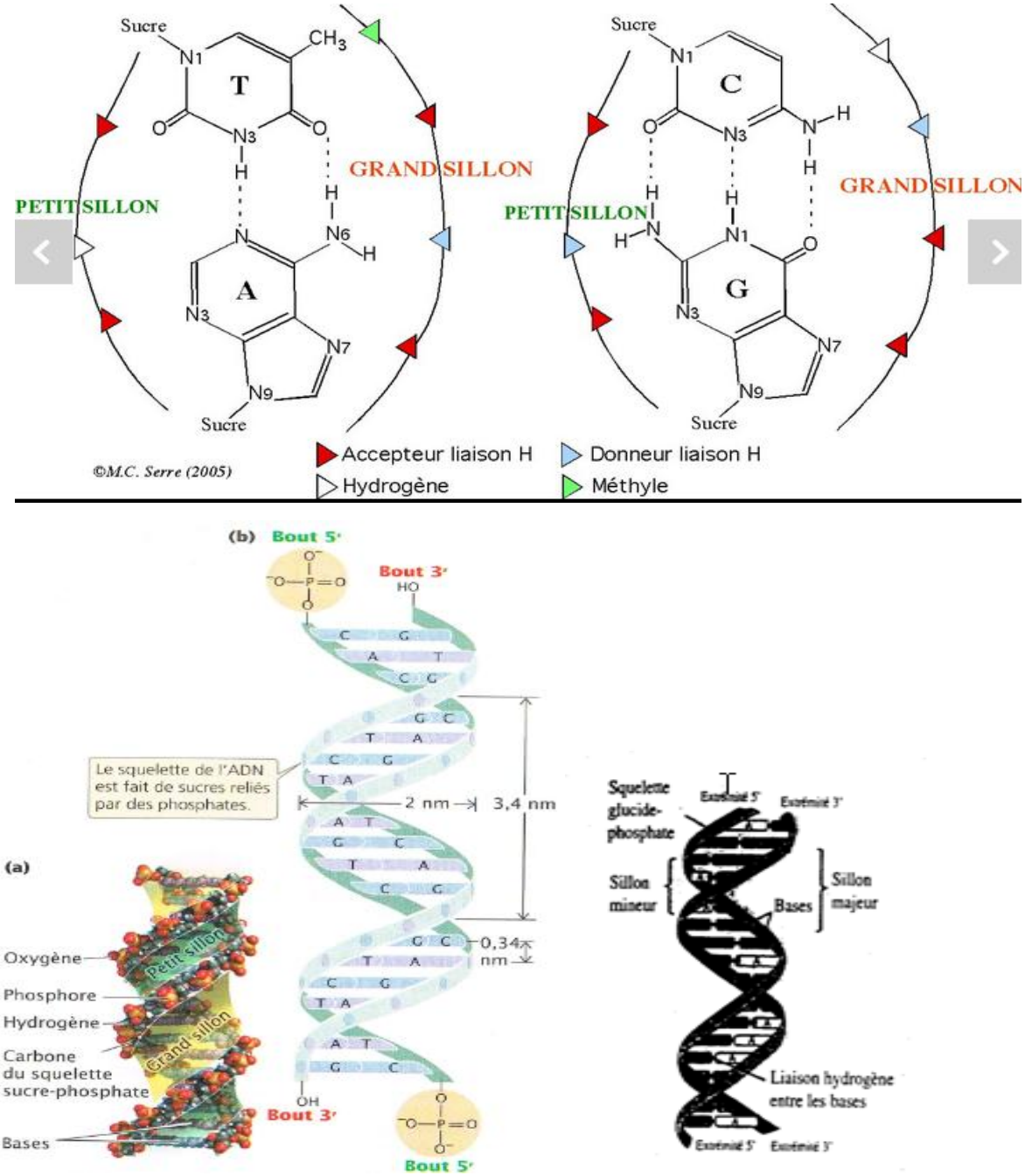
الشكل رقم 6: تشكل روابط الفوسفات ثنائية الأستر الرابطة بين النكليوتيدات

تمتلك السلسلة عديدة النيوكليوتيدات polynucléotidique ‘5 ثلاثي فوسفات حرفي في نهاية تسمى نهاية ‘5 ومجموعة ‘3 هيدروكسيل حرة في النهاية الأخرى وتسمى النهاية ‘3. وبذلك يكون ل ADN قطبية, ويمكن أن نتكلم عن ’3 ← ’5 أو ‘ 5 ← '3 وهذه النهاية هي سلسلة القواعد عديدة النيوكليتيدات التي تشفر المعلومة الوراثية واتفاقا نكتب دائما هذه السلسلة في الاتجاه ’3 ← ’5 الاتجاه الذي من خلاله تنسخ إنزيمات البلمرة جزيئات ADN.

يمكن أن يكون عديد النيوكليوتيد طويل جدا بدون تحديد واضح لعدد النيوكليوتيدات وبدون ضبط أو تحديد لعدد السلاسل. فالعدد الأقصى لسلاسل القواعد الممكنة لعديد النيوكليوتيد يساوي 4^n حيث n يمثل عدد النيوكليوتيدات وبالتالي نتحصل على عدد كبير. فمثلا عديد النيوكليوتيدات ل 6 قواعد يمكن أن يترتب وفقا للعدد $4^6 = 4096$ سلسلة مميزة.

4. الشكل الحلزون المزدوج

تترتب جزيئات ADN داخل تركيبة جوهرية ومتميزة تعرف باسم الحلزون المزدوج (الشكل رقم7).



الشكل رقم 7: شكل الحلزون المزدوج

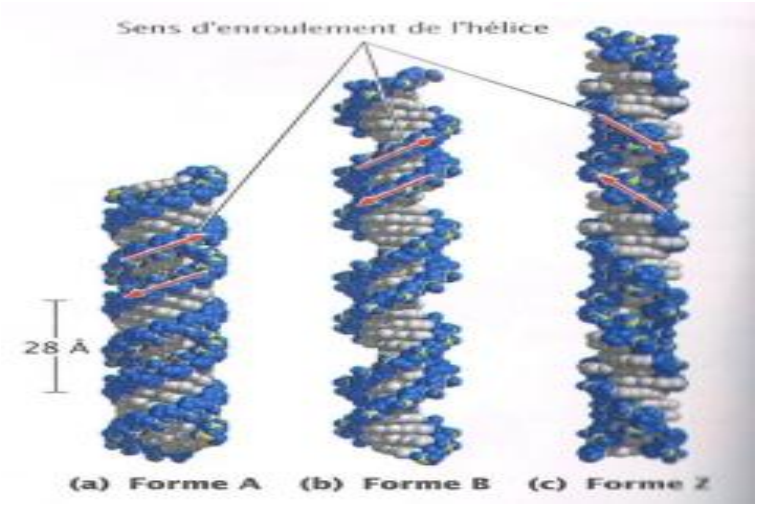
تم معرفة تركيب ADN سنة 1953 في Cambridage من طرف Grick و Watsonعلى أساس صورة الانكسار لأشعة X المأخوذة من طرف Franklin و Wilkins.

يتشكل ADN من سلسلتين عديدة النيوكليوتيدات ملتفة الواحدة على الأخرى لتشكيل الحلزون المزدوج.

فجزء السكر والفوسفات يشكل العمود الفقري لADN ويقع في نهاية الحلزون بينما القواعد الأزوتية جزيئات قاعدية (مستوية) تتواجد في وسط الحلزون متوضعة ومتكدسة البعض فوق البعض الأخر مثل توضع الصحون.

يمثل الحلزون المزدوج دورة كل 10 أزواج قاعدة تقريبا (10 paires de base) تكون لفة الحلزون 34 A° والمسافة المتوسطة بين قاعدتين تساوي تقريبا 34 A° ويبلغ قطر الحلزون 20 A°. فللحلزون المزدوج تركيبة متضادة anti parallèle يعني أن السلسلتين المشاركتين تكونان متضادتين في الاتجاه فيكون أحد الذراعين موجه في الاتجاه عن '3→ '5 والذراع الثاني في الاتجاه '5 → '3 . فعديد النيوكليوتيد المتضاد الاتجاه هو الوحيد القادر على اعتماد تركيب ثابت. والحلزون المزدوج غير منتظم تماما. حيث يمكن أن نميز عند ملاحظتة من الخارج شقا أعظميا sillon majeur وشقا أدنى sillon mineur . فهذه العناصر غير المنتظمة تكون مهمة لخط ADN على مستوى التداخل مع البروتينات وحتى على مستوى تضاعفه Replication وتعبير المعلومة الوراثية Expression de l'information génétique.

يكون الحلزون المزدوج يميني التركيب (dextre) حيث إذا اعتبرناه سلم حلزوني فإن السكر والفوسفات يتوضعان على اليمين ولكن بتغير ظروف التبلور Cristallisation يمكن الحصول على عدد كبير من أشكال الـــADN المختلفة. فالشكل المتواجد بصورة غالبة داخل الخلايا هو ADN_B ويوجد شكل أخر يسمى ADN_A يمثل تركيبة أكثر كثافة. كما توجد أشكال أخرى هي (C, D, E et Z) والتي نتحصل عليها إذا كان الحلزون يساري sénestre. وأمكن حديثا التعريف ببعض المناطق الكروموزومية أين يمكن لADN تبني الشكل غير القياسي مثل الشكل Z (الشكل رقم8).

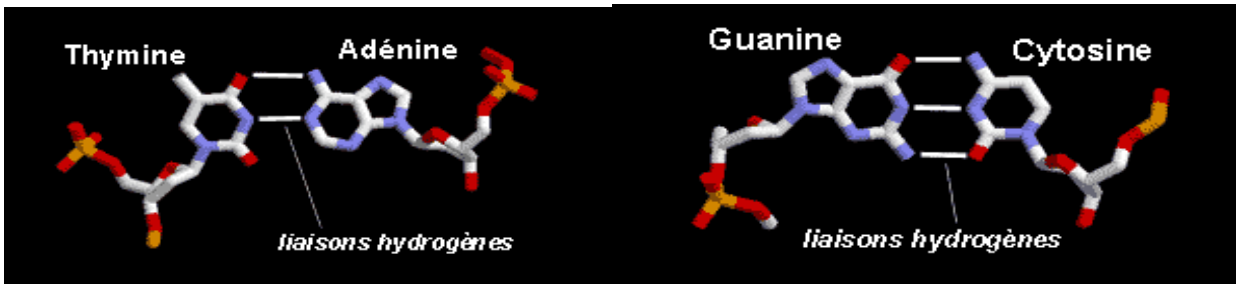


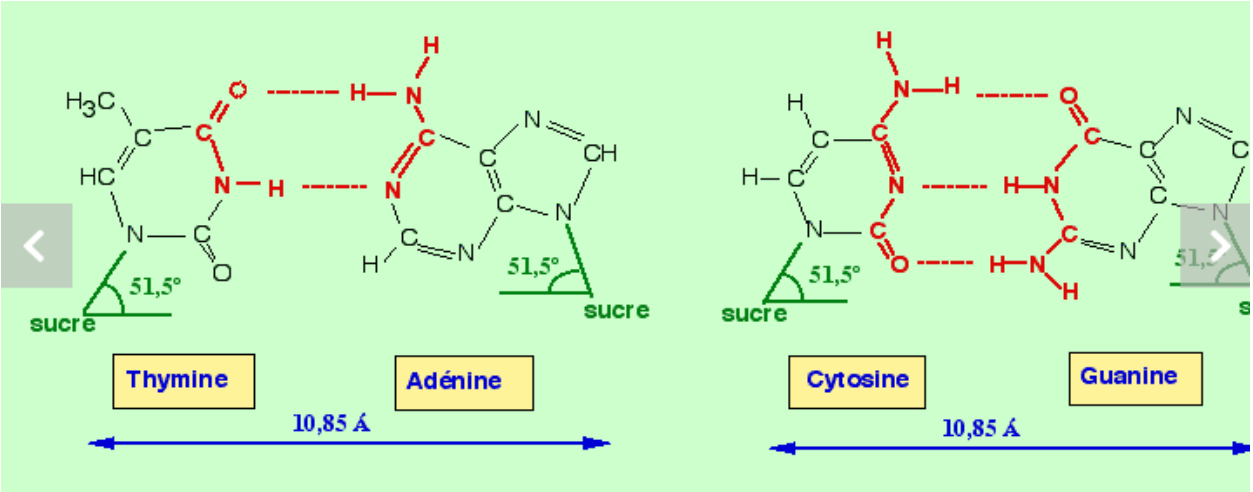
الشكل رقم 8 : اتجاه تحلزن خيط ADN

5. اقتران أو اتحاد القواعد المكملة Appariement des bases complémentaire

تتعرض قواعد السلسلتين عديدة النيوكليوتيدات إلى تداخل متبادل. فالفراغ بين عديد النيوكليوتيدات يسمح في كل مرة أن تتفاعل قاعدة بيورية Purique ذات دورين مع قاعدة بيريمدية pyrimidique ذات دورة واحدة حيث يتفاعل دائما Adénine مع Thymine و Guanine مع Cytosine.

ترتبط القواعد بروابط هيدروجينية Liaisons hydrogènes ضعيفة الطاقة تساعد على ثباتية الحلزون المزدوج. توجد ثلاث روابط بين C و G ورابطتين بين T و A وتكون الروابط بين C و G أكثر صلابة من الروابط بين T و A. تعرف ظاهرة تشكل أزواج Paires ما بين القواعد لخيطي ADN باسم اقتران أو تزاوج القواعد المكملة Appariements des bases complémentaire(الشكل رقم9).





الشكل رقم 9 : اقتران القواعد الأزوتية بروابط هيدروجينية

يمكن للروابط الأزوتية أن ترتبط مثنى مثنى بروابط هيدروجينية. وتكون روابط سلسلتي خيطي ADN بنفس الاتجاه الثنائي biunivoque بمعنى أن سلسلة أحد الخطين تحدد وتسمح بالتنبأ بسلسلة الخيط الثاني ولذلك تسمى سلسلة كلا خيطي الحلزون المزدوج بالمكملة مما يدل كذلك على أن خيط واحد يكون كاف لتكرار الخيط الثاني وفي هذه الحالة توجد آلية حية لحفظ ونقل المعلومة الوراثية لخلايا النبات بعد الانقسام الخلوي.

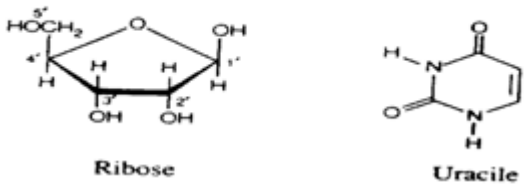
كذلك يعتبر اتحاد القواعد المكملة مهم جدا لتعبير المعلومة الوراثية ولتحديد الطريقة التي يتم بها نسخ سلاسل ADN إلى ARN_m ثم ترجمتها إلى بروتين .

تعمل القواعد الهيدروجينية بين زوج القواعد المكملة لخيطي ADN على ثباتية الحلزون المزدوج. يمكن أن تهدم هذه الروابط بالحرارة أو بعض المحاليل الكيمائية فأي هدم يؤدي إلى فصل خيطي الحلزون المزدوج وجزيئة ADN يسمى فقد الطبيعة dénaturation.

توجد داخل الخلايا إنزيمات قادرة على الفصل الموضعي لخيطي الحلزون المزدوج بهدف نسخ ADN أو تعبير المعلومة الوراثية Expression de l'information génétique.

6. تركيب ARN

يقترب تركيب ARN من ADN مع وجود بعض الفروق, ففي ARN يعوض Ribose مكان 2' desoxyribose عند ADN ويعوض Tymine بقاعدة أخرى مكملة ل Adénine تسمى Uracile (U) (الشكل رقم 10).



الشكل رقم 10 : تركيب كل من Uracile وRibose

بالإضافة إلى ذلك فإن جزيئات ARN تكون عبارة عن خيوط بسيطة ولا تشكل حلزون مزدوج لكن على الأقل مناطق لنفس ARN يمكن أن تقترن أو تتحد مما يؤدي إلى مناطق قصيرة مزدوجة الخيط.

و للحمض النووي ARN أنواع مختلفة تشارك في العديد من الأنشطة الخلوية مثل:

1- الرسول ARN Messager (ARNm) ويقوم بحمل المعلومات من ADN إلى الريبوزومات حيث يستخدم كقالب لصناعة البروتين.

2- الرايبوزومي ARN ribosomal (ARNr) ويشارك في تكوين البروتين

3- الناقل ARN transfer (ARNt) وينقل مضاد الشفرات الخاصة بالأحماض الأمينة

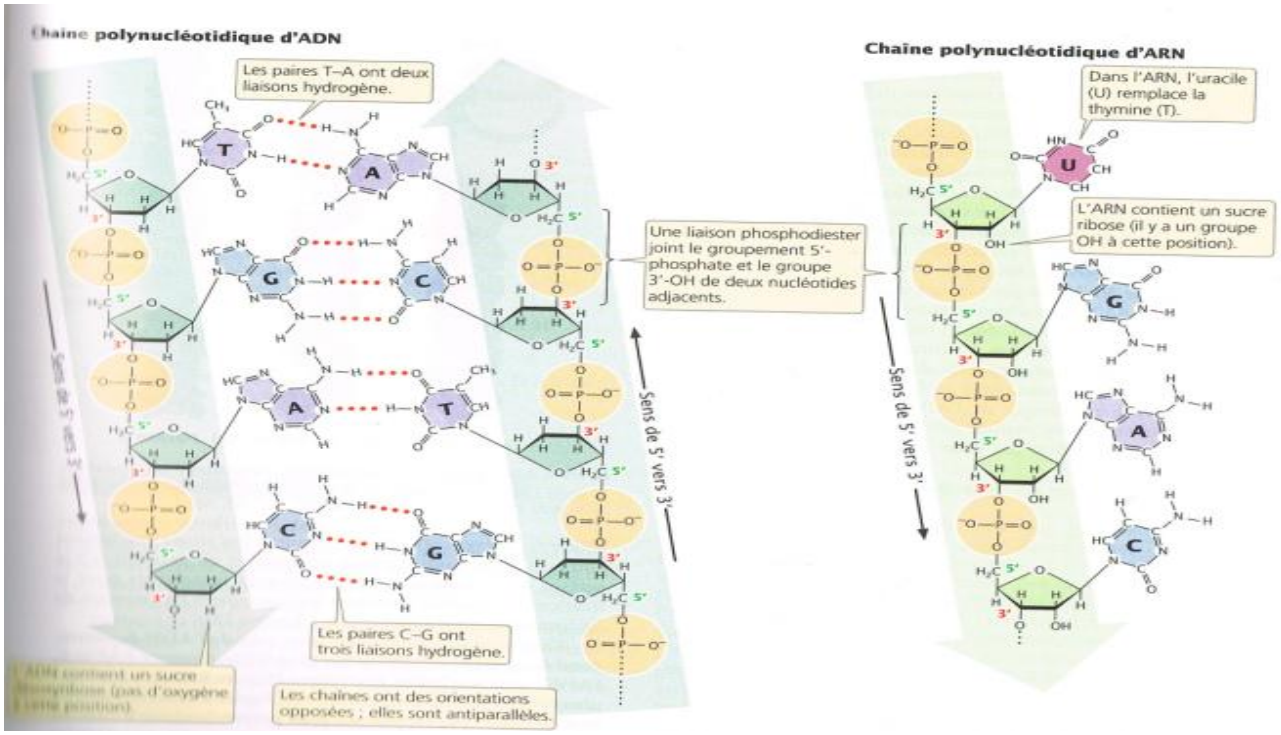
و أنواع أخرى من ARN تساهم في تكوين البروتين ونقل الأنواع الثلاثة السابقة من ARNs . بالإضافة لدور ARN في صناعة البروتين ونقل المعلومات فهو قادر أيضا على تحطيم عدد من التفاعلات الكيماوية في الخلية.

7. مقارنة بين تركيب الأحماض النووية

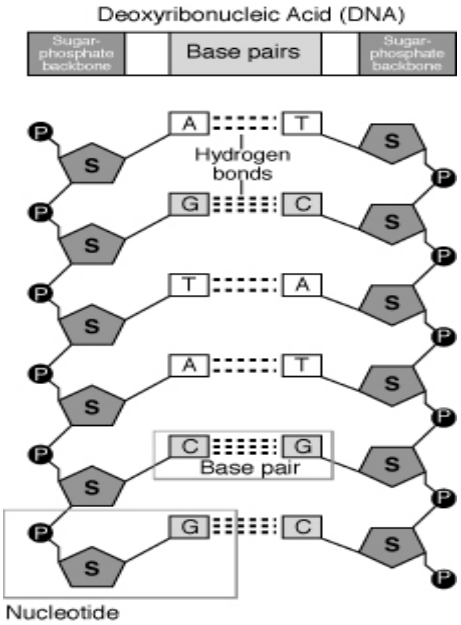
يوضح الجدول رقم 1 و الشكل رقم 11 أهم الفروق بين تركيب ADN و ARN و الشكل رقم 12 يوضح تركيب جزيئة ADN ، في حين يبين الشكل رقم 13 التركيب ثلاثي الأبعاد لجزيئ ADN و الشكل رقم 14 مخطط لمختلف التراكيب الثانوية لARN .

الجدول رقم 1:1 مقارنة بين تركيب الأحماض النووية

COMPOSITION DES ACIDES NUCLEIQUES		
Groupes	Molécules	
	ADN	ARN
Oses ou sucres = S	Désoxyribose	Ribose
Bases azotées = B	Adénine Cytosine Guanine Thymine	Adénine Cytosine Guanine Uracile
Phosphates acides = P	Présents	Présents



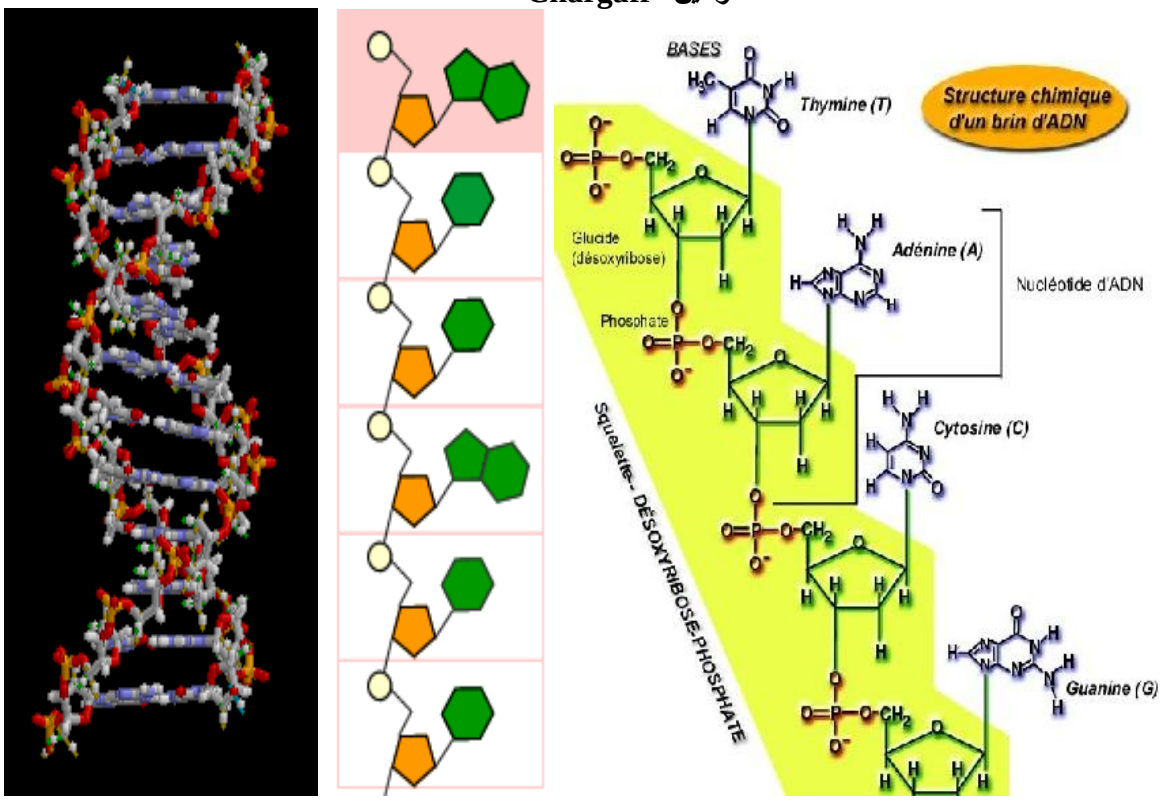
الشكل رقم 11 : مقارنة بين تركيب الأحماض النووية



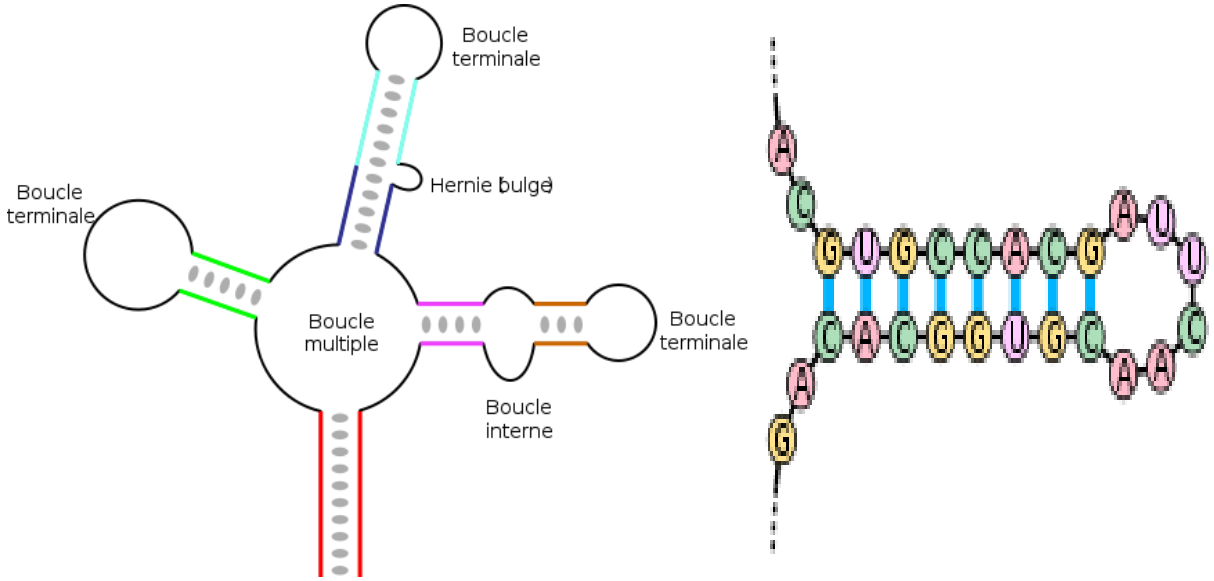
الشكل رقم 12 : تركيب جزيئة ADN في الأسفل يسارا نيوكليوتيدة

$$\frac{A+G}{T+C}=1 \qquad \frac{A}{T}=\frac{G}{C}=1$$

قوانين Chargaff

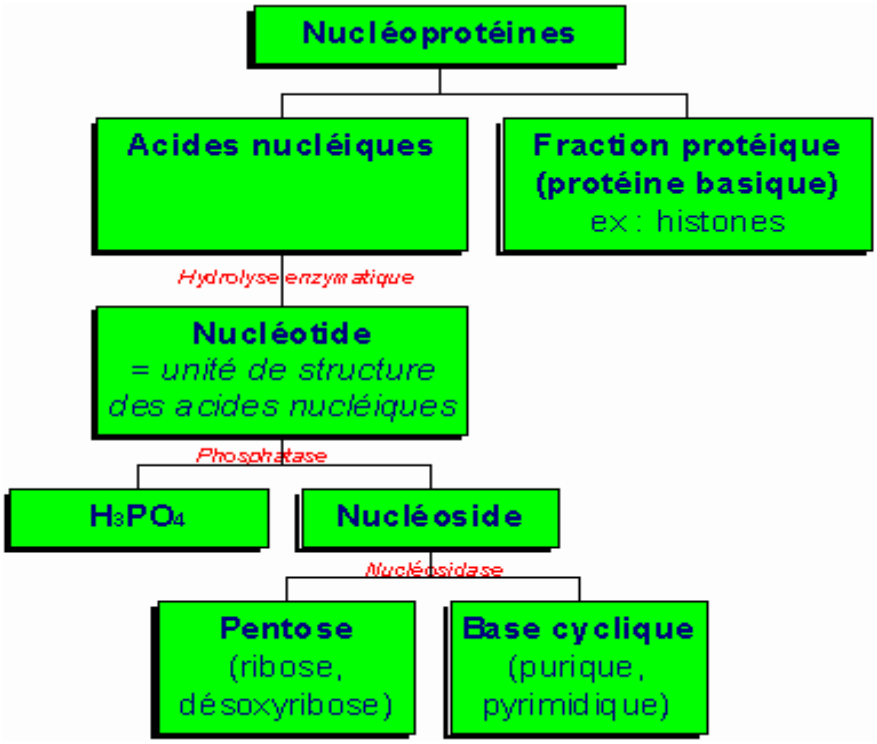


الشكل رقم 13 : التركيب ثلاثي الأبعاد لجزيئ ADN



الشكل رقم :14 مخطط لمختلف التراكيب الثانوية ل ARN

6.البنية التحليلية للأحماض النووية



الشكل 15: البنية التحليلية للأحماض النووية

الفصل الخامس : تركيب الجين Structure du gène

1. **تعريف الجين** : الجين عبارة عن وحدة معلوماتية تتمثل في قطعة ADN أي سلسلة قواعد تشفر سلسلة أحماض أمنية لعديد ببتيد ما .

تشمل قطعة ADN العديد من الجنيات وكل واحد منها يمتلك المعلومات الضرورية لتخليق عديد ببتيد .

تمتلك الجنيات أحجام متباينة فهي تتباين من 100 زوج قاعدة إلى العديد من ملايين زوج قاعدة Paire de Base (Pb). فعند الكائنات الراقية تمثل الجنيات مجموعة جد طويلة من جزيئات ADN تسمى الصبغيات أو الكروموزومات Chromosomes.

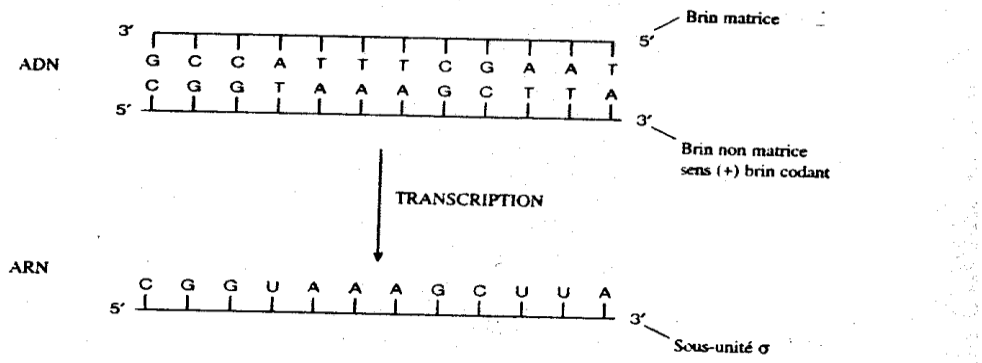
أمكن حساب من 50.000 إلى 100.000 جين عند الإنسان مرتبة في 23 كروموزوم ، تكون الجنيات منتشرة لأنها متفرقة عن بعضها بواسطة سلاسل تسمى ADN inter génique والتي تظهر غير حاملة للمعلومة الضرورية لتخليق عديد الببتيد و يكون ADN ما بين الجنيات أو ما يسمى ADN inter génique طويل جدا، فعند الإنسان تمثل الجنيات 30% من ADN الكلي.

يحمل خيط واحد من ADN المعلومة البيولوجية ويسمى الخيط القالب brin matrice لأنه يستعمل لإنتاج جزيئة ARN لسلسلة أخرى مكملة .

يسمى الخيط الثاني لADN ب brin non matrice أو الخيط غير القالب ، يمكن لكلا خيطي الحلزون المزدوج أن تتفاعل كخيط قالب brin matrice فيمكن لجينان لا على التعين أن يشفرا على خيوط مختلفة .

كما يمكن أن نتكلم بصفة مكافئة عن الخيط الشافر brin codant أو إتجاه (sens) و عن الخيط غير الشافر brin non codant أو ضد الاتجاه matrice , antisens (الشكل رقم 1).

يمتلك ADN قدرة تخزين هائلة ، فمن أجل جزيئة ADN طويلة من أجل n قاعدة يكون عدد الترتيبات المختلفة للأربع قواعد هي 4^n. فنلاحظ أنه من أجل الجزيئات الصغيرة من ADN ، يكون هذا العدد من السلاسل مميزا وكبير جدا ، لكن تطبيقيا توجد حدود لأنه لا يمكن لكل السلاسل الناتجة أن تحمل المعلومة الممكنة رغم قدرة التخزين الهائلة لADN .



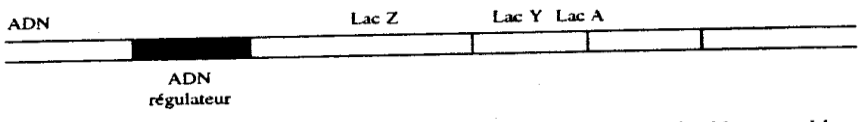
الشكل رقم 1: خيطي ADN(القالب brin matrice و غير القالب brin non matrice)

2. عائلة الجنيات: les familles des gènes

تتوضع أغلبية الجنيات بشكل عشوائي على طول الكروموزومات ، رغم أن البعض منها مرتب في مجموعات تسمى clusters .

يمكن أن نصادف نوعين من المجاميع les opérons والعائلة المتعددة الجنيات famille multi génique فال opérons مجموعات من جنيات بكترية ، فهي تشمل جنيات منتظمة بصفة مرتبة وتشفر بروتينات لوظائف معينة وكمثال تاريخي بحث ومهم هو opérons lactose لبكتريا القانون *E .coli* الذي يحتوي على ثلاث جنيات تشفر للإنزيمات الضرورية للبناء lactose عند البكتريا ، لأن اللاكتوز هو مصدر طاقة ضرورية والإنزيمات تشفر بواسطة .opérons lact

يسمح التجمع الجيني لنفس opérons بالنشاط أو التوقف المتزامن مما يسمح بالتسيير الفعال للمصادر الغذائية للبكتريا(الشكل رقم 2).

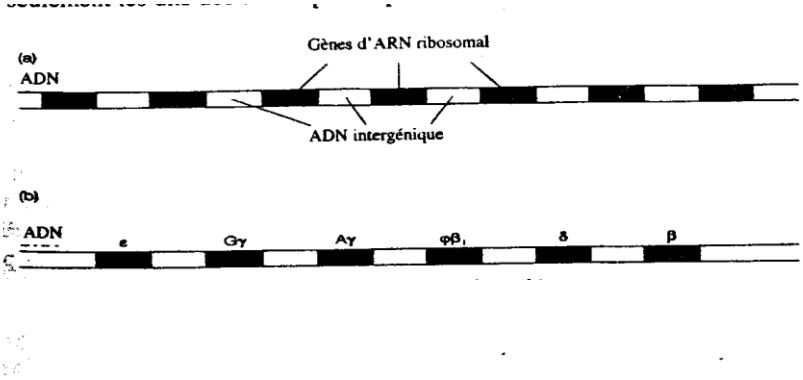


الشكل رقم 2: opéron Lac ثلاث جينات (Lac Z, Y et A) مرتبة ومنظمة معا

أما عند الكائنات الأكثر رقيا لا يوجد ما يعرف باسم opérons ولكن بعض الجينات تتجمع داخل عائلة تسمى عائلات عديدة الجينات familles multigéniques فعلى عكس ال opéron , تكون هذه الجينات متشابهة تقريبا أو تماما لكنها غير مرتبة بانتظام.

يمكن تمييز نوعين من عائلات الجينات العديدة فمنها البسيطة ومنها المركبة. فعند العائلة الجينية المتعددة البسيطة famille multigénique simple تكون كل الجينات متماثلة ، فمثلا الجين الذي يشفر ل ARNt 5S يوجد على 2000 نسخة داخل الجينوم الإنساني مما يعكس طلب خلوي مهم لنواتج هذا الجين (الشكل 3a) ، في حين تحتوي عائلة الجينات العديدة المركبة famille multigénique complexe على جينات لا تكون متشابهة جدا (الشكل 3b) ولكنها ليست طبق الأصل و نأخذ كمثال عائلة جينات Globines والتي تشفر لسلسة من عديد الببتيد.(α , β, σ, δ)Globine والتي يختلف بعضها عن البعض الأخر في عدد صغير من الأحماض الأمنية.

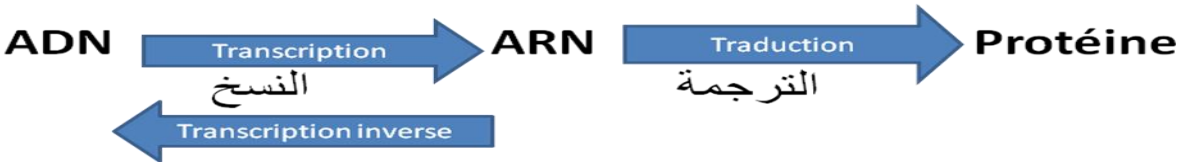
فالGlobine عبارة عن عديد ببتيد , يترتب مع مرافق cofacteur يسمى Hème أو حديد في شكل معقدات ذات أشكال بالغة أو جنينية (Hémoglobine) والذي هو جزيئة تسمح بنقل الأوكسجين داخل الدم.



الشكل رقم 3:عائلة متعددة الجينات بسيطة a و مركبة b.

3. تعبير الجينات Expression des gènes

تكمن المعلومة البيولوجية لجزيئة ADN في سلسلة قواعدها, فتعبير الجينات هو التحول أو المعالجة التي تجعل هذه المعلومة جاهزة للخلية. يوصف استعمال المعلومة ب Dogme centrale أو الركن المركزي وقد تلفظ بهذا اللفظ لأول مرة Grick, الذي فرض أن المعلومة تنقل من ADN إلى ARN ومن ARN إلى البروتين(الشكل رقم 4).



الشكل رقم 4: الركن المركزي

أثناء التعبير الجيني , تنقل جزيئة ADN معلوماتها بتوجيه تخليق جزيئة ARN كسلسلة مكملة تعرف هذه العملية بالنسخ أو التناسخ Transcription، بعدها توجه جزيئة ARN تخليق عديد الببتيد أين تحدد سلسلة الأحماض الأمنية سلسلة القواعد الأزوتية ل ADN ففي هذه الحالة تسمى العملية بالترجمة Traduction. تحدد سلسلة الأحماض الأمنية التركيب الثلاثي الأبعاد للبروتين والذي بدوره يحدد وظيفته.

يعتمد الركن المركزي Dogme centrale على نقل المعلومة في اتجاه واحد ، في حين نجد استثناء

ADN ⟶ ARN ⟶ Protéine

لهذه القاعدة مع الفيروسات العكسية rétrovirus التي تملك إنزيم Transcriptase inverse أو retro transcriptase القادر على تخليق نسخة ADN من قطعة ARN.

يعتمد نشاط الخلايا وبالأحرى نشاط الكائنات الحية على النشاط المرتب للعديد من البروتينات المختلفة فالمعلومة البيولوجية الموجودة داخل الجينات تتفاعل كمجموعة من الإرشادات لتخليق البروتينات في المنطقة المحددة وفي الوقت المحدد.

4. تركيب الجين

1.4. المؤسسات الجينية les promoteurs des génes: أو المحركات الجينية أو البادئات

يكون التعبير عن المعلومة الوراثية الموجودة داخل الجينات منظما بشكل كبير جدا, فكل الجينات المتواجدة داخل ADN خلية لا تكون كلها معبرة ، فبعض الجينات المختلفة تكون نشيطة حسب نوعية النمط الخلوي.

تحدد مجموعة الجينات النشيطة خصائص الخلية ووظيفتها داخلها ، فمثلا كثير من الجينات النشيطة داخل الخلية المرستمية تكون مختلفة عن الجينات النشيطة داخل الخلايا الكلونشيمية.

ينظم التعبير الجيني بواسطة قطعة من سلسلة ADN المتواجدة كبداية للسلسلة المشفرة أو الدالة séquence codante تسمى Promoteur أو محرك أو مؤسس أو بادئ .

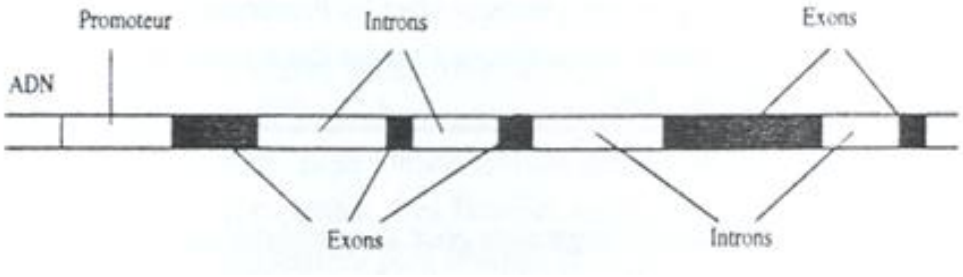
تسمح كل من السلاسل المحفوظة من ADN خلال التطور ل Promoteur والتي تعرف من طرف ARN polymérase و التي تثبت عليه و مجموعة البروتينات المتجمعة تسمى بعوامل النســـــــــــــــخ (Facteurs de transcription) بنسخ الجين إلى ARN ، وبالتالي يحدد تعبير الجين داخل الخلية بسلسلة Promoteur وبقابليته على تثبيث ARN polymérase وعوامل النسخ.

2.4. Exon السلاسل المشفرة أو السلاسل الدالة

تقسم المعلومة المشفرة أو الدالة عند الكائنات الراقية لمتتالية من قطع سلسلة ADN تسمى Exons.

3.4.Intron السلاسل غير امشفرة أو السلاسل غير الدالة

تفصل Exons بسلاسل لا تشمل أي معلومة ضرورية تسمى Introns أو السلاسل غير المشفرة أو غير الدالة (الشكل رقم 5).



Exon: السلاسل المشفرة = السلاسل الدالة،Intron : السلاسل غير المشفرة = السلاسل غير الدالة

Promoteur: قطعة محركة أو مؤسسة أو بادئة.

الشكل رقم 5: تركيب الجين

يتباين عدد Introns (السلسلة غير الدالة) من 0 إلى 50 قطعة عند بعض الجينات يتباين كذلك طول كل من Introns وExons . لكن تكون Introns عادة أطول وتمثل أغلبية الجينات.

فقبل أن تحول أو تعبر المعلومة الوراثية الموجودة داخل الجين إلى بروتين تنزع كل القطع غير الدالة Introns من جزيئة ARN بواسطة عملية تسمى Epissage بمعنى أن القطع الدالة Exons والمعلومة الوراثية تكونان مستمرتان. فوجود السلاسل غير الدالة Introns خاصية تميز بها الكائنات الراقية لكنها تنعدم عادة عند البكتيريا.

5. الجينات الكاذبة Pseudo gènes

تشبه مجموعة من الجينات بعضها البعض، لكن عند معايرة سلسلتها نلاحظ بها أخطاء تمنعها من احتواء المعلومة البيولوجية الضرورية، ففي هذه الحالة نتكلم عن الجينات الكاذبة Pseudo gènes.

يكون لهذه الجينات سلسلة من ADN تعرضت خلال تطورها لأخطاء أو طفرات أو بمعنى آخر أن المعلومة البيولوجية التي تحتويها هذه الجينات أتلفت لدرجة أنها لم تعد قادرة على توجيه عملية تخليق البروتين.

إذن فالتغيرات الحادثة في السلسلة البدائية خلال عملية التطور تسبب فقد المعلومة البيولوجية والتي تتبع بتغيرات سريعة تمكن سلسلة الجينات الكاذبة من تشويه معنوي لمفهوم الجين.

وكمثال للجينات الكاذبة عند عائلة الجينات المتعددة هي جينات Globines (F. multigénique (complexe des globines.

الفصل السادس : نسخ الجينات Transcription des gènes

عملية النسخ هي أول عملية للتعبير الجيني وهي تضع في البداية، تخليق ARN بواسطة إنزيم ARN polymerse

انطلاقا من خيط ADN القالب brin matrice . فال ADN المخلق من الخيط القالب له نفس سلسلة الخيط غير القالب (brin sens, codant) . يتم تخليق ARN ببلمرة النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات في الإتجاه 3' ← 5' و الاتجاه المعاكس للخيط القالب 5' ← 3' . (الشكل رقم 1).

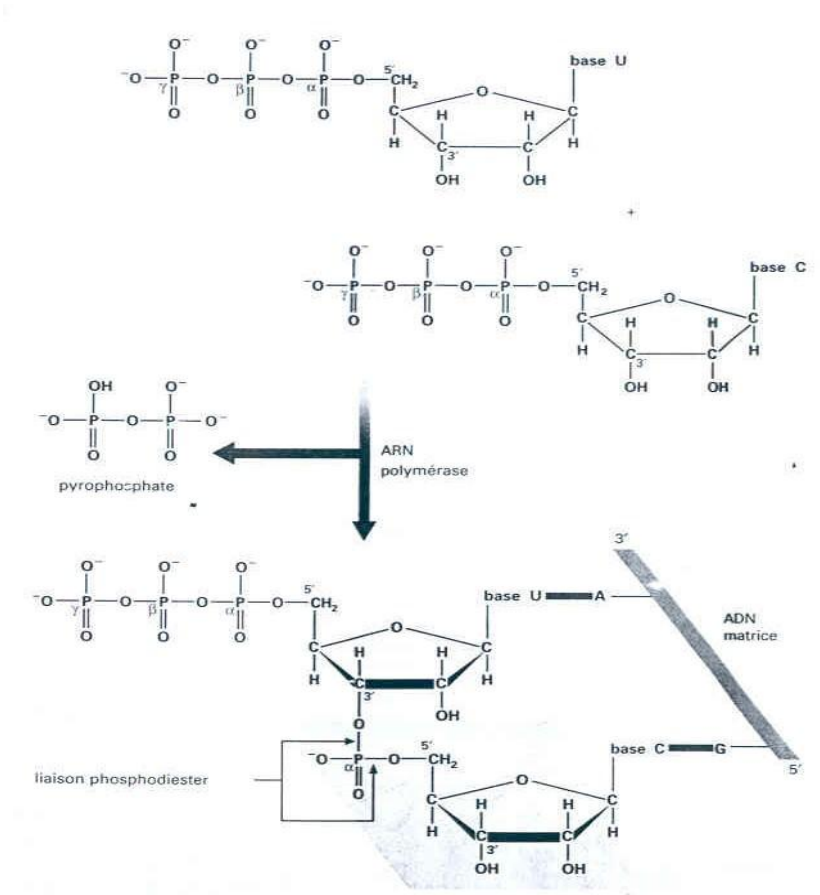
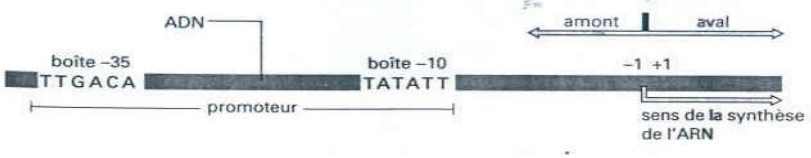
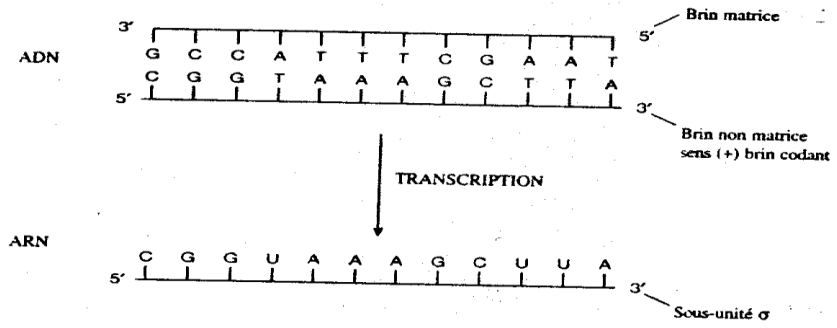


Figure 6.2 Synthèse d'un brin d'ARN.





الشكل رقم 1: a - ترقيم قطعة ADN، b-خيطي ADN(القالب brin matrice و غير القالب brin non

1. النسخ عند بدائية النواة:Transcription chez les procaryotes

يمكن تقسيم النسخ أو التناسخ عند بدائيات النواة إلى ثلاث مراحل:

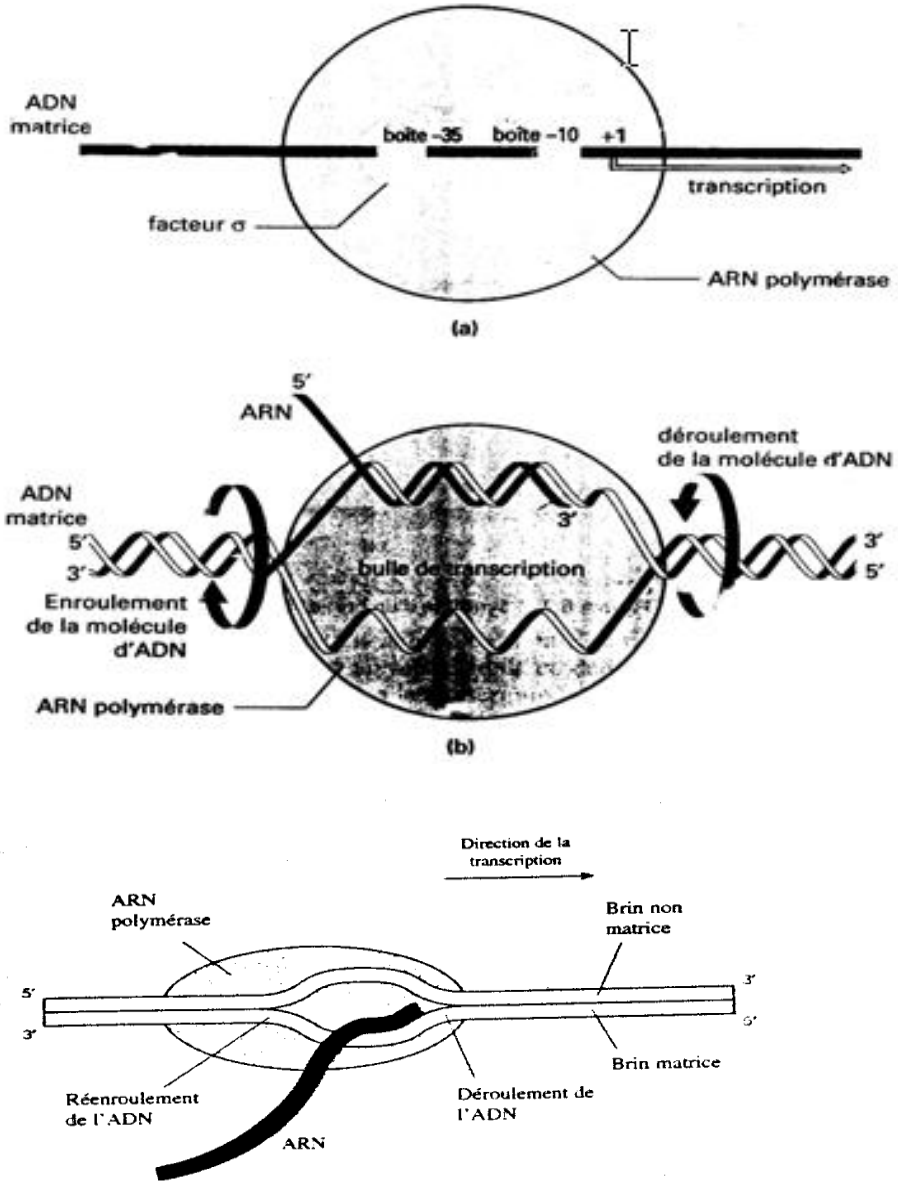
الابتداء أو البداية Initiation، الاستطالة Elongation و النهاية Terminaison.

يخلق ARN بواسطة إنزيم وحيد يسمى ARN Polymérase و الذي يحتوي على العديد من الوحدات عديدة -الببتيد.

فعند *E.coli* يحتوي ARN Polymérase على 5 تحت وحدات ($2\alpha, \beta, \beta, \sigma$) ، فتحت الوحدة σ ممكن أن تنفصل عن بقية تحت وحدات الإنزيم مشكلة الإنزيم المركزي.

1.1. الابتداء: Initiation

تبدأ عملية النسخ في مستوى المؤسس Promoteur. عند *E.coli* يتعرف الإنزيم ARN Polymérase على وحدات السلسلة المسماة العلبة 10- والعلبة 35- وتحت الوحدة σ المرتبطة بالعلبة 35- (الشكل رقم 2).

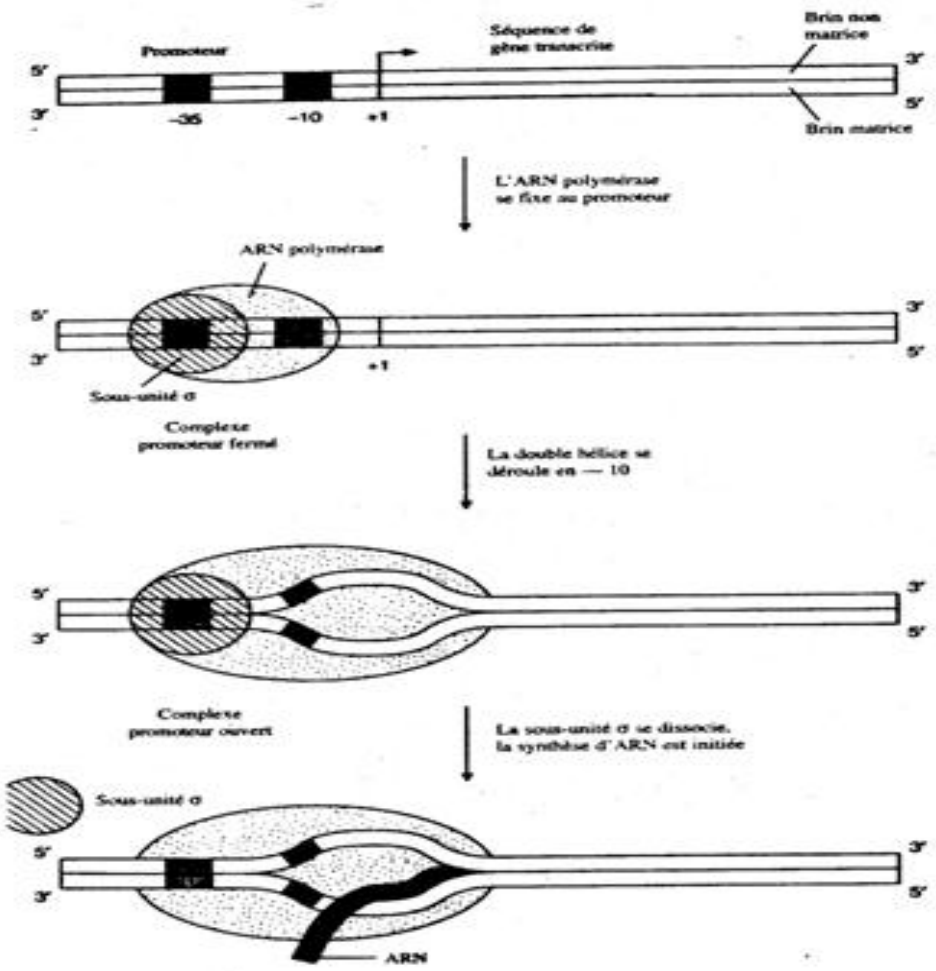


الشكل رقم 2: عملية ابتداء النسخ عند بدائية النواة

يتشكل مبدئيا معقد مغلق يسمى Complexe promoteur fermé . ثم يتفكك فيما بعد الحلزون المزدوج في مستوى العلبة 10– لتشكيل معقد مفتوح يسمى Complexe promoteur ouvert فتنفصل تحت الوحدة σ وتبدأ عملية النسخ.

2.1. الاستطالة Elongation

يضيف ARN Polymérase نيونيكليوتيدات في النهاية '3 للجزيئة ARN باتجاه الترتيب النوعي للخيط القالب . يتحرك الإنزيم على طول خيط ARN بإذابة الروابط الهدروجينية بين القواعد بإحداث فلق أو تصدع مما يسبب بسط الحلزون المزدوج (الشكل رقم 3).



الشكل رقم 3: مرحلة الاستطالة ، ثاني مرحلة للنسخ

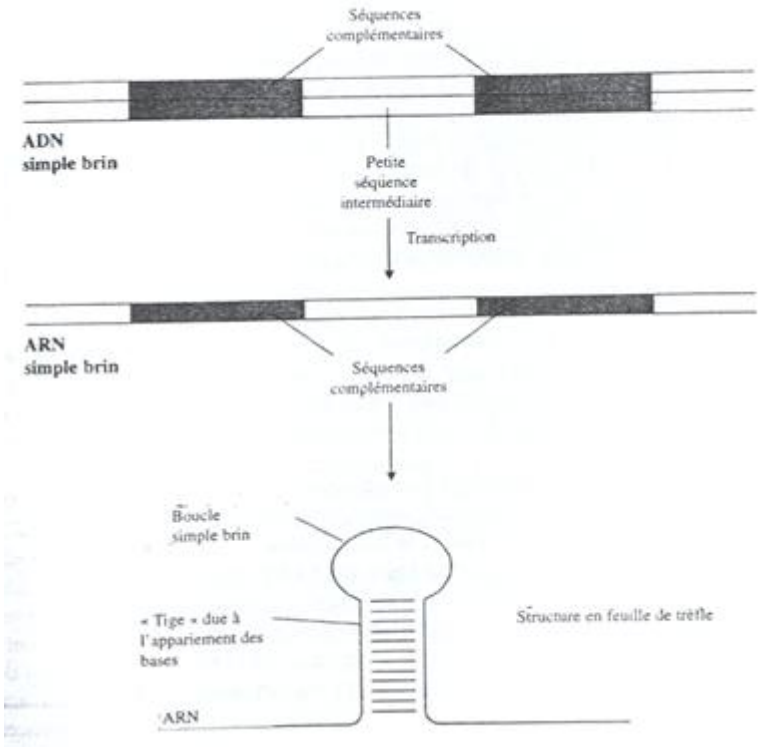
ولتجنب الضغط على الحلزون المزدوج في زمن معطي ، تفكك قطعة صغيرة مكونة من 12 إلى 17 قاعدة مبدئيا ، يمكن ARN المخلق أن يتحد مع الخيط القالب ، تم يفصل فيما بعد ، مما يسمح بإعادة تشكل الحلزون المزدوج .

3.1. الإنتهاء: Terminaison

يمكن للسلاسل المقروءة على كلا الاتجاهين أن تتبني تراكيب ماسك الشعر Epingles des cheveux وأن تتفاعل كإشارات لإنهاء عملية النسخ.

يفترض أن يقوم إنزيم ARN Polymérase بفترة راحة والتي تنسب إلى ضعف زوج القاعدة A - U و التي تحرض على عملية انفصال المنسوخ أو ARN Transcrit . تغيب السلسلة A في بعض الحالات وتعوض بآلية أخرى تسمى البروتين Rho(ρ) والذي يقوم بتهديم الاتحادات الموجودة بين قواعد ARN و ADN القالب .

تتوافق عملية انتهاء النسخ بتحرر الناتج المنسوخ Transcrit وتحرر الإنزيم المركزي والذي يمكنه الإتحاد مع تحت الوحدة σ لبداية دورة نسخه جديدة (الشكل رقم 4) .



الشكل رقم 4: تشكيل تراكيب ماسك الشعر ل ARN

II.النسخ عند حقيقية النواة Transcription chez les eucaryotes

تتم عملية النسخ عند حقيقية النواة كما عند بدائية النواة، إلا أن عملية الابتداء تكون جد معقدة و عملية الانتهاء لا تتطلب الشكل ماسك الشعر.

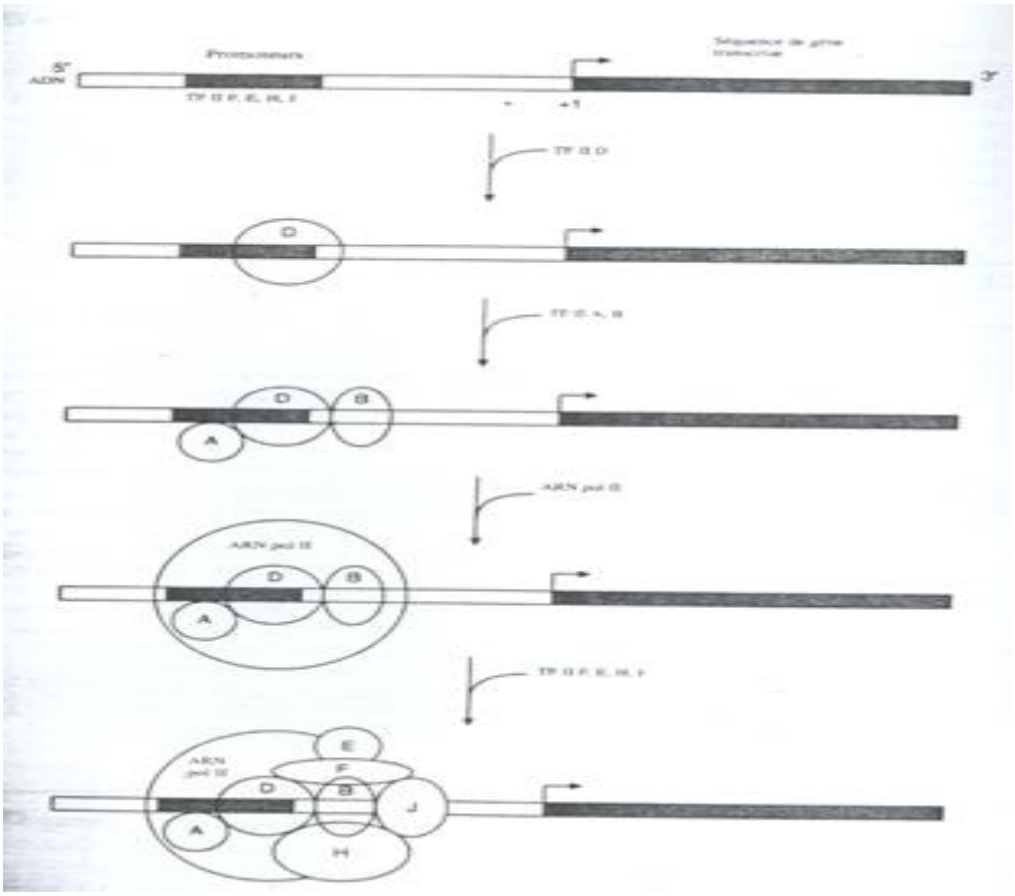
1. إنزيم ARN Polymérase : وتتم عملية النسخ بتدخل ثلاث إنزيمات ARN Polymérase I, II, III ، حيث كل إنزيم ينسخ بعض أنواع الجين بصفة مختلفة نوعا ما.

1.1. الأنزيم ARN Polymérase II

ينسخ هذا الإنزيم الجنيات التي تشفر البروتينات ، السلاسل المؤسسة لهذه الجنيات تحتوي على نموذج يسمى TATA box وهو عبارة عند 25 زوج قاعدة موجود قبل موقع بداية النسخ أين يثبت الإنزيم .

ارتباط ARN Polymérase مع العلبة TATA يتطلب سلسلة من عوامل النسخ (TFII , A, B, C ;.....) والتي تثبت على خيط ADN حول العملية TATA حيث تشكل أرضية لتثبيت ARN Polymérase.

تثبت عوامل النسخ في ترتيب معين TFIID ثم TFIIA ف TFIIB ثم يثبت الإنزيم الذي يكون متبوعا ب TFIIF, E, H, J. لتعطي في النهاية معقد وظيفي قادر على بداية عملية النسخ (الشكل رقم 5).



الشكل رقم 5: تثبيت ARN Polymérase II و عوامل النسخ للمؤسس Promoteur جين لبدائية النواة

الجينات التي تمتلك العلبة TATA يمكنها الحصول على عنصر بادئ أخر, فبعض الجينات تمتلك العلبة CAT والتي تتفاعل كمراكز تثبيت Sites de fixation لعوامل نسخ أخرى والتي تؤثر على وتيرة الابتداء أثناء عملية الترجمة. توجد عناصر أخرى تسمى منشطات Activateur أو مثبطات Répresseurs يمكن أن تؤثر أيضا على معدل النسخ. فالإشارات التي توقف النسخ لازالت غير واضحة.

2.1. الأنزيم ARN Polymérase I

يعمل هذا الإنزيم على نسخ ARN الريبوزومي (ARN)r 5.8S ,28S ,18S. يحتوي المؤسس Promoteur على عنصرين أساسين للنسخ ، عنصر مركزي يغطي مركز الابتداء وسلسلة مراقبة فيما بعد في الموقع 100-.

إشارات الانتهاء طويلة من 18 زوج قاعدة وتوجد نسبيا بعد 600 قاعدة في نهاية الجين.

3.1. الأنزيم ARN Polymerase III

يخلق هذا الإنزيم الجينات القصيرة المشفرة ل ARN الناقل و (ARN)r 5S. المؤسسات في هذه الحالة, تقع داخل المنطقة المشفرة والتي نطلق عليها اسم المناطق الداخلية (ICR).

يمتلك (ARN)t عنصرين مهمين هما العلبة A والعلبة B. في حين تخليق (ARN)r 5S) يتطلب سلسلة تسمى C. تعتبر العلبة A مهمة جدا, حيث تنتهي عملية النسخ على مستوى السلسلة Poly A.

2. أحماض ARN المنسوخة

تحتوي الخلايا على ثلاثة أنواع من ARN : ARN الناقل (ARN) t، ARN الريبوزوميr (ARN) و ARN الرسول (ARN) m كلها تنسخ من ARN.

(ARN)t و (ARN) r تنتمي إلى الآلية الخلوية Machineuse cellulaire لتخليق البروتين في حين يلعب (ARN) m دور القالب لتخليق البروتين خلال عملية الترجمة .

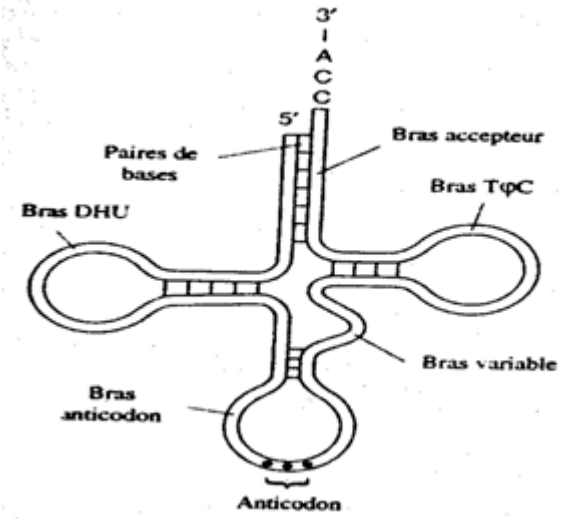
1.2 . الناقل ARN Transfert (ARN)t

(ARN)t عبارة عن جزيئات صغيرة تعمل على تجميع الأحماض الأمنية في إطار تخليق البروتين بإتباع ترتيب معين لسلسلة ARN الرسول .

تحتوي الخلية الواحدة على العديد من (ARN)t وكل واحد يرتبط مع حمض أمين خاص وكل (ARN)t ناقل يعرف شفرة داخل (ARN) m مما يسمح بوضع الحمض الأمين مكانه داخل سلسلة عديد الببتيد المتشكل حسب ما تمليه سلسلة (ARN) m.

تحتوي جزيئات ARN الناقل ما بين 74 إلى 95 نيوكليوتيدة ، تحدث اتحادات بين بعض القواعد المكملة مما يعطي شكل ورقة البريسم (Trèfle).

تتميز ورقة البرسيم بالعديد من تراكيب ماسك الشعر تسمى أذرع. يمكن تمييز(الشكل رقم 6):

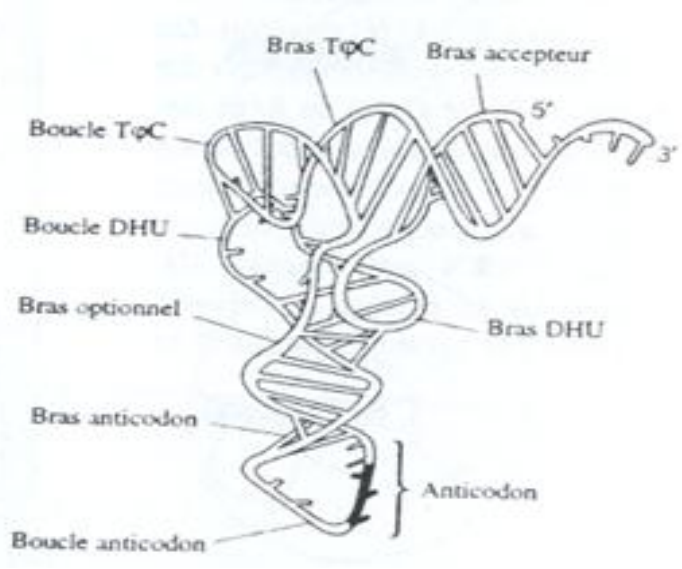


الشكل رقم 6: تركيب ورقة البرسيم ل ARN الناقل

- ✓ ذراع مستقبل Bras accepteur: يتشكل من اتحاد قواعد واقعة في النهاية 5 و3 لل (ARN)t الناقل .

السلسلة CCA تقع في أخر النهاية 3 وهي غير متحدة وتمثل نقطة الاتصال مع الحمض الأميني

- ✓ الذراع D ou DHU له تركيب ماسك الشعر والذي يحتوي على dihydro-uracile ونيوكليوتيدة بيريميدية غير اعتيادية.
- ✓ الذراع Anti codon وهو المسؤول عن معرفة و ربط Anti codon ب (ARN)m
- ✓ الذراع المسمى اختياري optionnel أو المتغير variable يمكن أن يتكون من 2 إلى 3 نيوكليوتيدات فقط (ARN)t من الدرجة الأولى أو أكثر ويكون طويلا يتكون من 13 إلى 21 نيوكليوتيدة إلى 5 زوج قاعدة متحدة في شكل تركيب ماسك الشعر (ARN)t من الدرجة الثانية).
- ✓ الذراع TQC والذي يحتوي على السلسلة TQC وهو عبارة عن نيوكليوتيدة معدلة تعرف ب pseudo uracyle(الشكل رقم 7).



الشكل رقم 7: التركيب الثلاثي ل ARN الناقل

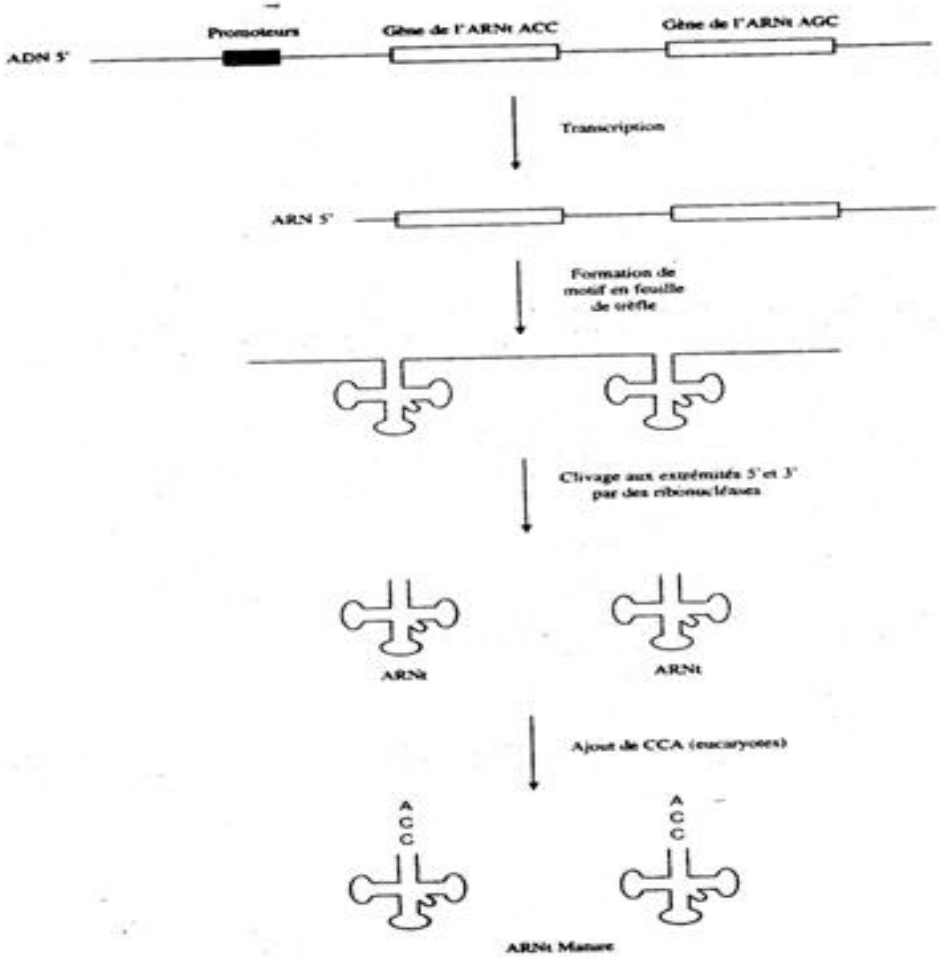
يخلق (ARN)t بواسطة الإنزيم ARN polymerase III انطلاقا من جينات (ARN)t. توجد هذه الجينات في نسخ كثيرة من الجينوم وخاصة عند حقيقية النواة Eucaryotes مما يعكس الأهمية الخلوية ل (ARN)t .

مبدئيا, تنتج (ARN)t على شكل جزيئات طلائع ARN الناقل Pré- (ARN)t والتي تحول فيما بعد (ARN)t.

يمكن للعديد من جينات (ARN)t أن تنسخ معا على شكل وحدة Pré- (ARN)t والتي تكسر وتشق بإنزيم Ribonucléase إلى (ARN)t يتميز بنهايته 5' و3'.

أما عند بدائية النواة Procaryotes، يتم هذا التحول في سلسلة مرتبة من المراحل بواسطة إنزيمات Ribonuleases (RNAse P . RNAse D). يوجد RNAse P عند كل من بدائية وحقيقية النواة. تختلف (ARN)t لحقيقة النواة عن تظريتها في بدائية النواة بوجود داخل المنسوخ الأولى Intron صغير جدا (قطعة سلسلة غير الدالة) والتي تنزع أثناء النضج .

توجد السلسلة CCA في النهاية 3‘ لكل (ARN)t وهي المنطقة التي يثبت فيها الحمض الأميني . لا توجد السلسلة CCA عند حقيقية النواة في ADN جنيات (ARN)t لكنها تضاف فيما بعد بإنزيم ARN t nucléotidyl transférase (الشكل رقم 8).



الشكل رقم 8: نسخ و نضج جزيئات ARN الناقل

أما عند بدائية النواة فإن القطعة CCA توجد داخل السلسلة الدالة séquence codante ولكن تنزع أحيانا بإنزيم RNAseD ثم تعوض ب : nucliotidyl transférase .

تضم أو تحتوي (ARN)t على نيوكليوتيدات غي طبيعية والتي تنتج بعد نسخها ببعض التعديلات الكيميائية وأشهرها .

- Metylation : مثلا 7 Methylguanosine $\xrightarrow{+CH3}$ Guanine
- إعادة ترتيب القواعد: Réarrangements des bases
- تشبع الرابطة المزدوجة Saturation des liaisons doublés
- إزالة مجموعة الأمين désamination
- استبدال بمجموعة كبريت substitution par du sulfure
- إضافة أكبر مجموعة كيميائية Addition de plus gros groupement chimique

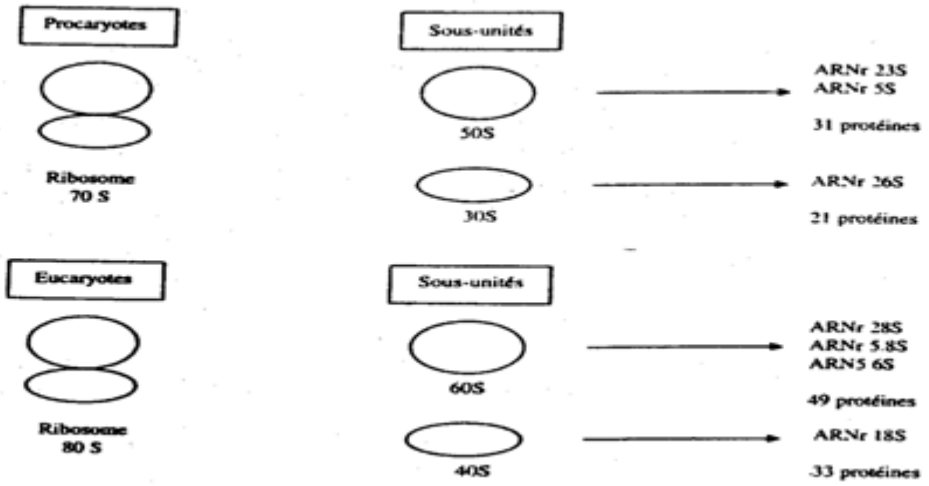
ولقد أمكن وصف 50 تعديل على هذه المجاميع ، وكل تعديل يتحكم فيه إنزيم معين وغالبا يجهل دور هذه التعديلات ، لكن في هذه الحالات ،تستدعي بعض الوظائف استحضار هذه التعديلات على مستوى الينوكليوتيدات في حلقة مضاد الشفرة Anticodon.

2.2 .r (ARN) الريبوزومي ARN Ribosomaux

الريبوزومات هي تراكيب جزيئية كبيرة مكونة من ARN الريبوموزمي r (ARN) و الريبوزومات ، نجدها بكميات كبيرة داخل الستوبلازم وهي تلعب دورا مركزيا في ترجمة m (ARN) الرسول إلى بروتينات .

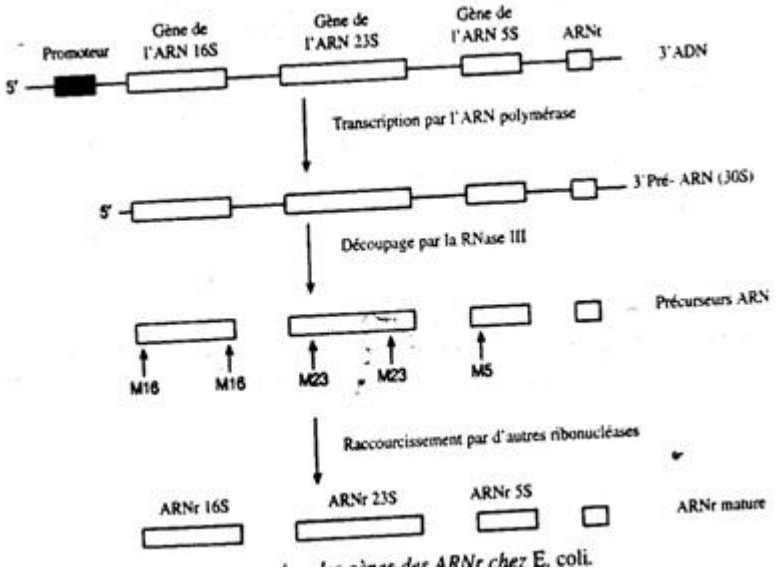
تمتلك الريبوزوميات تحت وحدات صغيرة وكبيرة ويمكن التعبير عن خاصيتها بوحدة الترسب أو التجزء segmentation (unité Svedberg).

تتمثل ربيوزومات بدائية النواة في 70S مع تحت وحدات 50S و 30S وهي تحتوي على ثلاثة أحماض ريبية ريبوزومية (ARN r (23S ,16S ,5S ، أما الريبوزومات حقيقية النواة فهي 80S ولها تحت وحدات 60S و40S وتحتوي على 4 أحماض ريبية ربيوزومية (ARN r (28S, 18S, 5.8S et 5S الشكل رقم 9).



الشكل رقم 9: تركيب الريبوزومات النموذجية لبدائية و حقيقية النواة

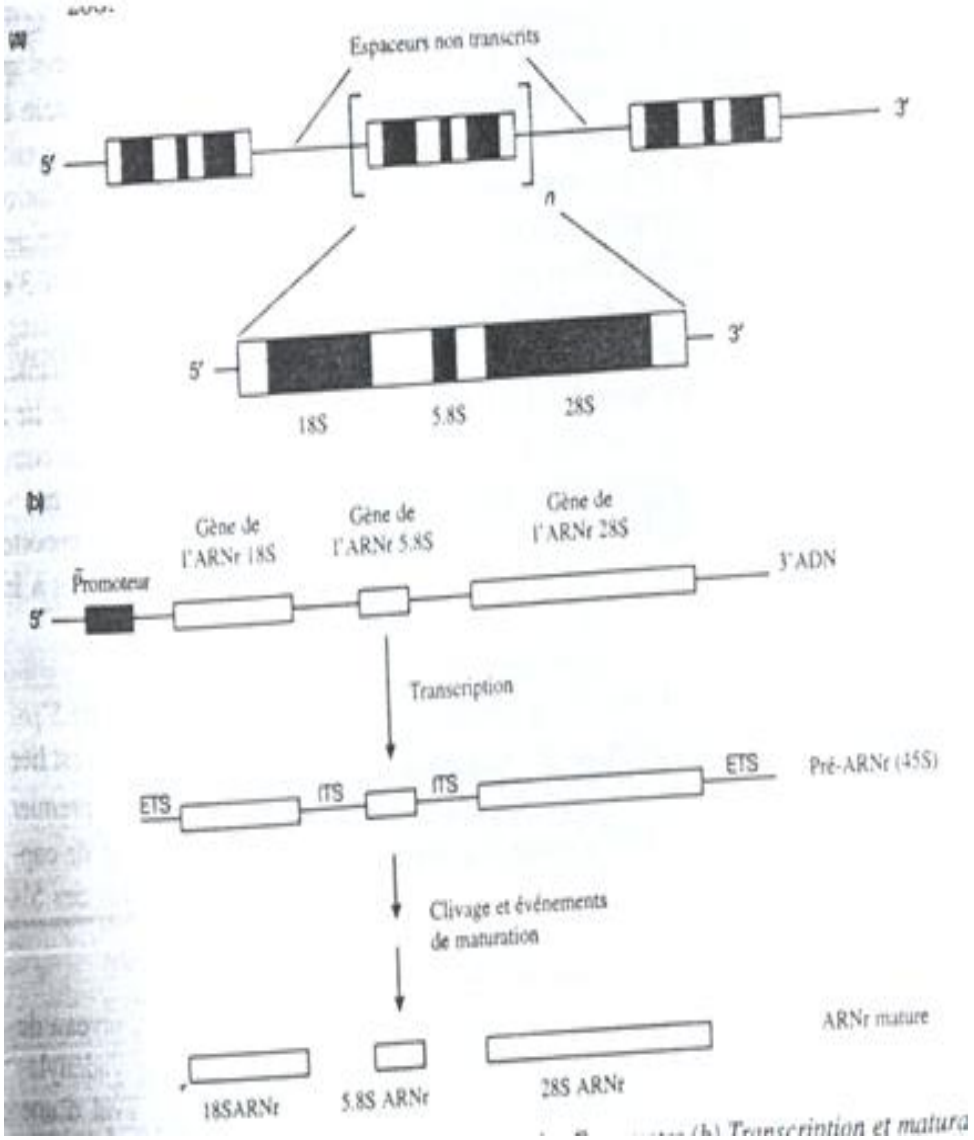
تنسخ r(ARN) الثلاث عند *E.coli* على شكل جين وحيد, يتواجد على سبع نسخ داخل الجينوم. ينتج Transcrit وحيد هو(30S) ARNr والذي يجزء ليعطي بقية r(ARN) الناضجة و هي (5S ARNr , ,23S, 16S)(الشكل رقم 10).



الشكل رقم 10: نسخ و نضج جينات ARN عند *E.coli*

أما عند حقيقية النواة فإن الجين ينسخ منفردا ويكون في شكل نسخ عديدة مرتبة في متتالية مجموعة جينات تسمى (Clusters). وتنسخ هذه الجينات داخل النوية بواسطة إنزيم ARN Polymerase I . يختلق أولا -Pré ARNr 45S المنفرد والذي يعطي بعد عملية النضج عند تجزئه بقية الجينات ,28S) ARNr

18S et 5.8S) (الشكل رقم 11). أما ARNr 5S فإنه ينسخ منفصلا انطلاقا من الجينات المعزولة بواسطة ARN Polymerase III.



الشكل رقم 11: a تركيب جينات ARN عند حقيقية النواة، b نسخ و نضج جينات ARN عند بدائية النواة

ARN messagers – الرسول (ARN)m.3.2

تعتبر الأحماض النووية الرسول (ARN)m قالب لتخليق البروتينات فهي تنتج داخل النووية بعملية نسخ الجينات الدالة Exon للبروتينات بواسطة إنزيم ARN Polymérase II. يشفر ARNm على شكل

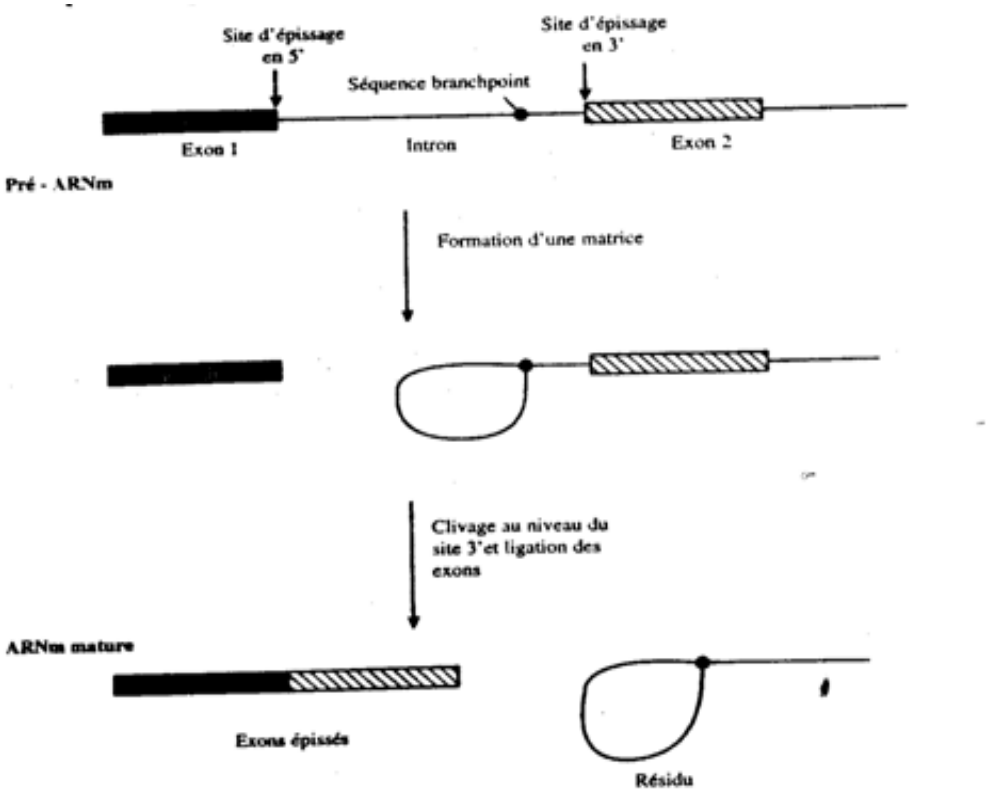
طلائع ARN الرسول Pré-ARNm الذي يحتوي على السلاسل غير الحاملة للمعلومات الوراثية المكملة Intron complémentaire التي يزال فيها بعد/ أثناء عملية Epissage.

تعدل النهاية 5 بزيادة ما يسمى coiffe في حين تكون النهاية 3 تكون بـــPolyadénylation .

يمثل ARN المنسوخ ARN Transcrit بإنزيم ARN Polymérase II داخل النوية مجموعة من الجينات المعروفة باسم ARN hétérogène nucléaire ويرمز له بالرمز (ARNhn).

3. عملية Epissage

توافق عملية Epissage حذف السلاسل غير الدالة Intron الموجودة في Pré-ARNm. (الشكل رقم 12).



الشكل رقم 12:عمليةEpissage لطلائع ARN عند حقيقية النواة

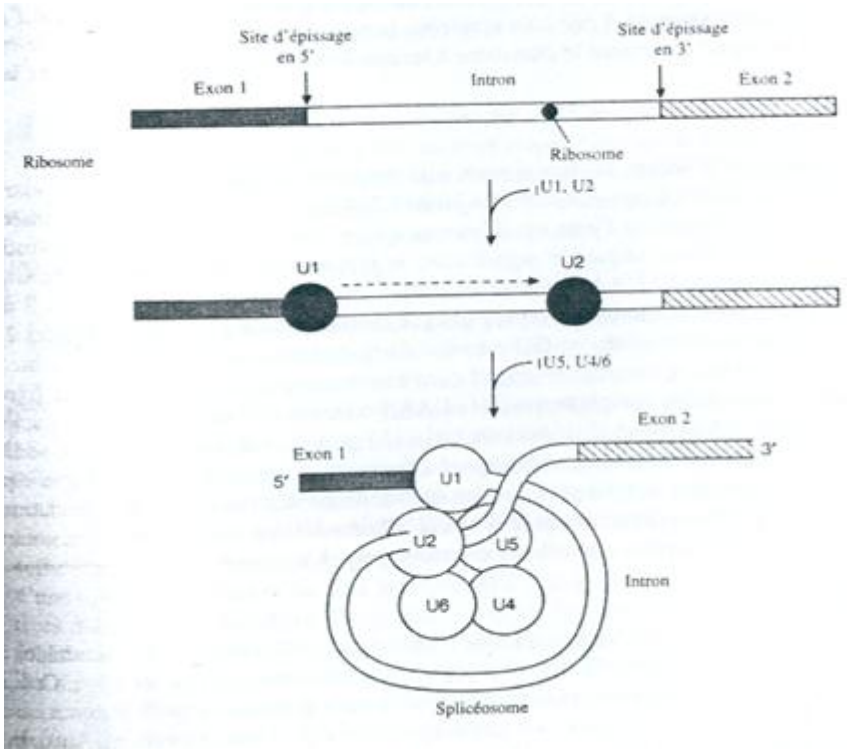
تظهر السلاسل GT و AT في نهايات Intron وتمثل أطول السلاسل التي تتماشى مع إشارات Epissage في المواقع 5و3 . كما نجد في نفس Intron سلسلة أخرى تسمى سلسلة الوصل أو الاتصال Séquence de branchement.

نبدأ عملية Epissage بتجزئة وكسر clivage المناطق غير الدالة Intron في نهاية S واتصاله بسلسلة الوصل. يحرر فيما بعد Introns بفصله في النهاية 3 وتوضع Exons المناطق الدالة جنبا إلى جنب ثم تلصق كميائيا.

يحفز Epissage بواسطة جزيئات صغيرة تسمى Ribonucléoprotéines nucléaire أو البروتينات الريبية النووية ويرمز لها بالرمز (snRNP) وهي: U_1, U_2, U_4, U_5, U_6.

U_1 ترتبط في موقع Epissage النهاية 5 ، U_2 ترتبط بسلسلة الوصل. في حين تشكل U_5 وU_6 /U_4 معقد يسمى Splicéosome مع U_1 وU_2 .

يعمل Splicéosome على صيانة ARNm في وضعية ملائمة لعملية Epissage ويشارك في النشاطات الإنزيمية الضرورية لنزع وفصل Intron وعلى ربط Exon.(الشكل رقم13).



الشكل رقم 13 : تشكل معقد Splicéosome

يعدل ARNm لحقيقية النواة Eucaryotes في النهاية 5 بإضافة نيكليوتيدة معدلة هي 7– Metlylguanosine . والتي ترتبط بالرابطة ثلاثية الفوسفات '5 5 غير العادية للنيوكليوتيدة الأولى لARNm .

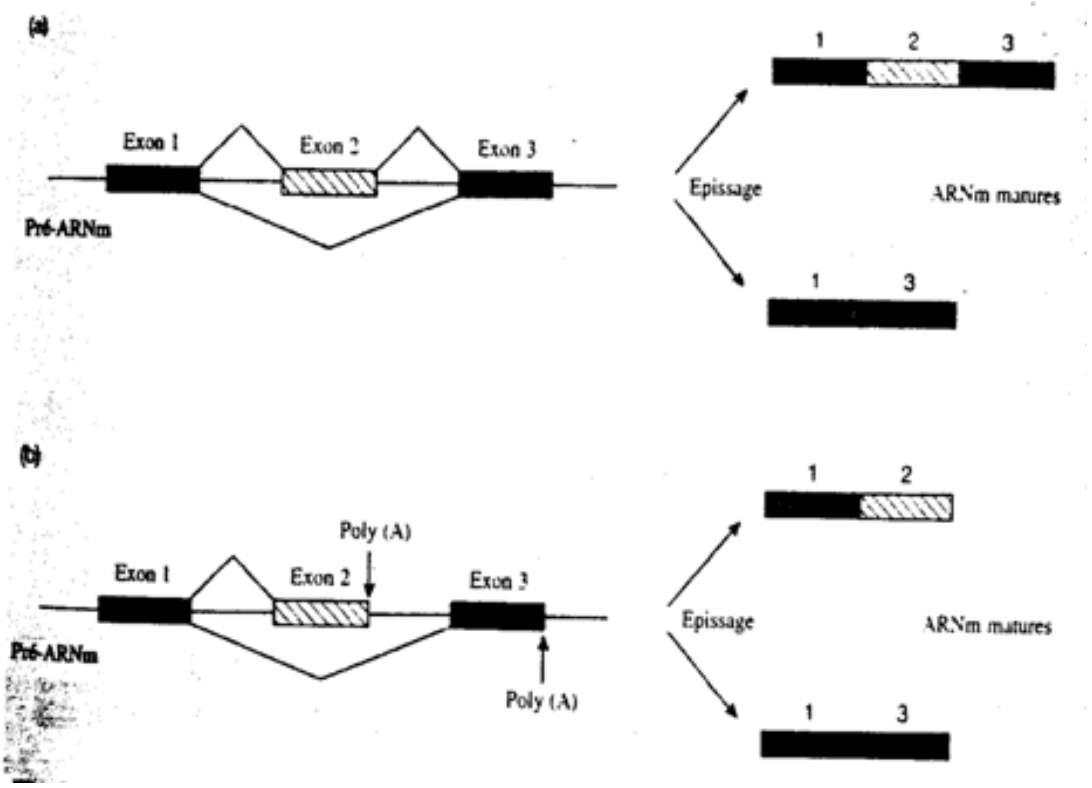
يطلق على هذا التعديل اسم (capping) coiffe أو قلنسوة وهي تعمل على حفظ ARNm ضد التحلل Dégradation بإنزيمات 5' exonucléases .

كما تعدل كذلك أغلبية ARNm لحقيقية النواة على مستوى النهاية '3 بإضافة ذيل Poly A وتسمى العملية Polyadenylation.

يجزء Pré-ARNm بعد 20 قاعدة تقريبا لسلسلة Polyadenylation ، '5 AAUAAAA 3' ، يضيف انزيم Poly A- polymerase متتالية من بواقي Adénine.

ويعتقد أن إضافة سلسلة من Adénine (Polyadenylation) تسمح بحفظ النهاية '3 من التحلل بإنزيمات خارج نووية Exonucléases.

تكون ARNm ثابتة بالمقارنة مع ARNt وهذا مما يسمح للخلية بتنظيم المستويات البروتينية بالتحكم في نسبة تخليق الجينات. تتميز ARNm لبدائية النواة بفترة حياة متوسطة أقصر من ARNm لحقيقية النواة. تؤدي بعض الاختلافات في المناطق المضمومة Epissés إلى إنتاج ARNm يحمل سلاسل مختلفة، مما يسمح إلىPré-ARNm الوحيد إلى إنتاج صنف من البروتينات فالمناطق المنزوعة Introns يمكن أن تتابين وفقا لضمها أو طردها ل Exons واحد أو العديد منه(الشكل رقم 14).



الشكل رقم 14: Epissage المتناوب لطلائع ARN m ، a - إزالة السلسلة الدالة Exon ، b - استعمال مختلف مراكز Polyadenylation

كما تؤدي أيضا إشارات (Polyadenylation) المتناوب إلى إنتاج العديد من ARNm . يمكن أن تلتف سلاسل ARNm بإضافة ARN والتي تسبب تحول في السلاسل بعملية الضم, الحذف, الاستبدال أو الانقلاب للقواعد الأزوتية (Edition, Insertion , delétion et substitution de bases) .

الفصل السابع :تخليق البروتين Synthése des protéines
الترجمة Traduction

1. الشفرة الوراثية :code génétique

1.1. تعريف الشفرة الوراثية :code génétique

تتمركز المعلومة الوراثية التي تحتاجها العضوية لضمان إنتاجها داخل سلسلة ADN وتشفر داخل سلسلة قواعد ADN وترتب في سلسلة من الجينات .

يستعمل مصطلح التعبير الجيني Expressions des gènes لوصف العملية التي تقوم بها الجينات لفك الشفرة وتخليق البروتينات التي تضمن الوظائف المختلفة داخل الخلايا.

تنقل المعلومة من ADN إلى ARN بواسطة تخليق جزيئة ARN، التي تمثل سلسلة قواعد مكملة لسلسلة ADN المستعملة كقالب Matrice.

يوجه بعد ذلك ARN لتخليق عديد البيبتيد أين تكون سلسلة الأحماض الأمنية مكملة لسلسلة القواعد الأزوتية.

ترتب خيطيا كل سلسلة قواعد ADN لسلسة أحماض أمنية أو عديد البيبتيد المشفر بمعنى أن ترتيب القواعد المقروءة في الاتجاه 3' ←5 يشير إلى ترتيب الأحماض الأمنية المقروءة من مجموعة الأمين النهائية إلى مجموعة الكربوكسيل النهائية.

تبين الشفرة الوراثية إمكانية تحول سلسلة القواعد الأزوتية إلى سلسلة أحماض أمنية خلال عملية تخليق البروتين.

2.1. خصائص الشفرة الوراثية

تقسم سلسلة الجين إلى وحدة متتالية مكونة من ثلاث قواعد، و تسمى كل وحدة منفصلة مكونة من ثلاث قواعد باسم الشفرة أو codon وتشير إلى حمض أميني خاص أو معين.

يمكن للأربع قواعد الأزوتية للحمض النووي ADN أوARN أن تتحد لتكون 64 شفرة (64 codon= 4^3) والتي تعطي 20 حمض أميني التي نجدها في تركيب البروتينات (الشكل رقم 1 و 2).

يكون عدد الشفرات أكبر من عدد الأحماض الأمنية المشفرة فكل الأحماض الأمنية ماعدا Méthionine و Tryptophane تشفر بالعديد من الشفرات. تسمى هذه الخاصية ب dégénérescence أو redondance أي حشو الشفرة الوراثية أو تعدد الرمز. تسمى الشفرات التي تعطى نفس الحمض الأميني مرادفات synonymes ولها ميل للتشابه مثل الشفرات ACU, ACC, ACA, ACG تمثل الحمض الأميني Thréonine. يكمن الاختلاف بين الشفرات المتشابهة في القاعدة رقم 3 والتي تسمى الموقع الطافي Position flottante.

يقلل تعدد رمز الشفرة من تأثير الطفرات بحيث أن تلف سلسلة القواعد لا ينعكس بالضرورة على سلسلة الأحماض الأمنية المشفرة. فمن بين 64 شفرة المعروفة 61 فقط تشفر أحماض أمنية، في حين الثلاث شفرات المتبقية: UAA, UGA ,UAG لا تشفر أحماض أمنية بل تتفاعل كإشارات توقف لعملية تخليق البروتين Stop كما يمكن أن تسمى شفرات النهاية أو شفرات التوقف codons de terminaison ou codons d'arrêt .

الشفرة AUG تمثل شفرة الحمض الأميني Méthionine وهي الشفرة التي يبدأ بها تخليق البروتين وتسمى شفرة البداية codon d'initiation أو codon Start فكل عديد بيبتيد مخلق يبدأ بالحمض الأميني Méthionine ولكن في بعض الأحيان يزال أو يحذف الحمض الآميني Méthionine لاحقا.

انطلاقا من سلسلة قواعد لا على التعيين وتبعا للقاعدة المختارة لبداية التشفير يمكن قراءة ثلاثة مجاميع من الشفرات. فكل مجموعة من الشفرات تسمى مرحلة قراءة. فشفرة البداية codon d'initiation هي التي تحدد مرحلة القراءة للسلسة التي تشفر البروتين أما مرحلتي القراءة الأخريتين فلهما الميل لضمان شفرات التوقف أو الانتهاء code stop ولكنها لا تستعمل لتخليق البروتين.

تسمى المجموعة المستمرة من الشفرات المحدودة بشفرة ابتداء codon d'initiation في البداية وشفرة انتهاء code de terminaison في النهاية بمرحلة قراءة مفتوحة(Open Reading Frame (ORF.

في إطار برامج التسلسل الجينومي، يجري البحث على إصلاح مراحل القراءة المفتوحة لتحديد سلاسل ADN التي تشفر للبروتينات.

3.1. عالمية الشفرة Universalité du code

تتميز الشفرة الوراثية مبدئيا بصفة عالمية، يعني أن كل الكائنات الحية تستعمل نفس التوافق بين الشفرات و الأحماض الأمنية، لكن وجد حاليا بعض الاختلافات في الشفرة الوراثية لكنه نادر جدا.فمثلا عند البكتريا يوجد جينوم صغير من ADN يحتوي على 20 جين تقريبا ، أين يمكن ملاحظة بعض الانحرافات بالنسبة للشفرة الوراثية القياسية. فمعظم التغييرات تندرج بالنسبة للشفرة البادئ Start و الشفرة النهاية Stop .

فمثلا الثلاثية UGA التي تعتبر شفرة توقف فإنها تشفر للحمض الأميني Tryptophane داخل الميتوكوندريا . في حين الشفرة AGG و AGA التي تشفر للحمض الأميني Arginine هي عبارة عن شفرات Stop و الشفرة UAA التي تشفر عادة للحمض الأميني Isoleucine تشفر داخل الميتاكوندريا للحمض الأميني Méthionine .

تعتبر هذه التغيرات إيجابية لأن الميتاكوندريا تمثل نظاما مغلقا. كما أمكن وجود بعض التغيرات خارج الميتاكوندريا .فعند الكائنات أحادية الخلية . الشفرتان UAG و AUA التي تمثل شفرات توقف أو نهاية عند الكائنات الراقية تشفر للحمض الأميني Glutamique عند بعض Protozoaires .

Première position (extrémité 5')	Deuxième position				Troisième position (extrémité 3')
	U	C	A	G	
U	Phe UUU	Ser UCU	Tyr UAU	Cys UGU	U
	Phe UUC	Ser UCC	Tyr UAC	Cys UGC	C
	Leu UUA	Ser UCA	Stop UAA	Stop UGA	A
	Leu UUG	Ser UCG	Stop UAG	Trp UGG	G
C	Leu CUU	Pro CCU	His CAU	Arg CGU	U
	Leu CUC	Pro CCC	His CAC	Arg CGC	C
	Leu CUA	Pro CCA	Gln CAA	Arg CGA	A
	Leu CUG	Pro CCG	Gln CAG	Arg CGG	G
A	Ile AUU	Thr ACU	Asn AAU	Ser AGU	U
	Ile AUC	Thr ACC	Asn AAC	Ser AGC	C
	Ile AUA	Thr ACA	Lys AAA	Arg AGA	A
	Met AUG	Thr ACG	Lys AAG	Arg AGG	G
G	Val GUU	Ala GCU	Asp GAU	Gly GGU	U
	Val GUC	Ala GCC	Asp GAC	Gly GGC	C
	Val GUA	Ala GCA	Glu GAA	Gly GGA	A
	Val GUG	Ala GCG	Glu GAG	Gly GGG	G

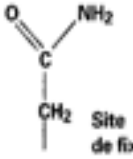
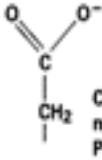
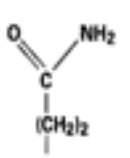
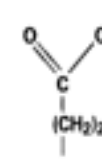
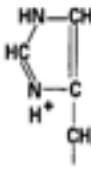
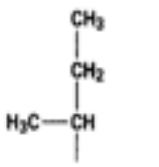
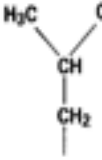
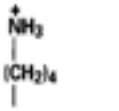
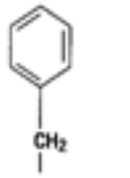
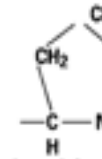
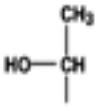
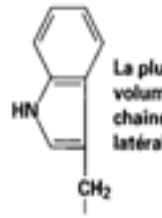
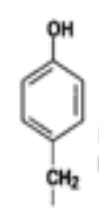
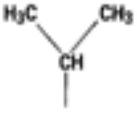
Phase de lecture 1. 5' – AUG ACU AAG AGA UCC GG –3'
Met Thr Lys Arg Ser

Phase de lecture 2. 5' – A UGA CUA AGA GAU CCG G –3
Stop Leu Arg Asp Pro

Phase de lecture 3. 5' – AU GAC UAA GAG AUC CGG –3'
Asp Stop Glu Ile Arg

UAG, UGA, UAA = Stop ; AUG = Methionine

الشكل رقم 1: الشفرة الوراثية

alanine (Ala) A	asparagine (Asn) N	aspartate (Asp) D	arginine (Arg) R
GCU GCC GCA GCG	 AAU AAG Site de fixation des oses	 GAU GAC Chargée négativement. Peut être phosphorylée	CGU CGC CGA CGG AGA AGG Chargée positivement
cystéine (Cys) C	**glutamine (Gln) Q**	**glutamate (Glu) E**	**glycine (Gly) G**
UGU UGC Environ 10 % sont déprotonées et donc chargées négativement. Forme des liaisons disulfure.	 CAA CAG	 GAA GAG Chargée négativement. Peut être phosphorylée	GGU GGC GGA GGG La plus petite chaine latérale
histidine (His) H	**isoleucine (Ile) I**	**leucine (Leu) L**	**lysine (Lys) K**
 CAU CAC Environ 50 % sont protonées. Le pK est de 7,0 Peut être phosphorylée	 AUU AUC AUA	 UUA UUG CUU CUC CUA CUG	 AAA AAG Chargée positivement
méthionine (Met) M	**phénylalanine (Phe) F**	**proline (Pro) P**	**sérine (Ser) S**
AUG	 UUU UUC	 CCU CCC CCA CCG Introduit une plicature dans la chaine polypeptidique	AGU AGC UCU UCC UCA UCG
thréonine (Thr) T	**tryptophane (Trp) W**	**tyrosine (Tyr) Y**	**valine (Val) V**
 ACU ACC ACG ACA Peut être phosphorylée. Site de fixation des oses	 UGG La plus volumineuse chaine latérale	 UAU UAC Peut être phosphorylée	 GUU GUC GUG GUA
	UGA Codon de terminaison	UAA Codon de terminaison UAG	

الشكل رقم 2: الشفرة الوراثية و السلاسل الجانبية للأحماض الأمنية الموافقة مع خصائصها النوعية.

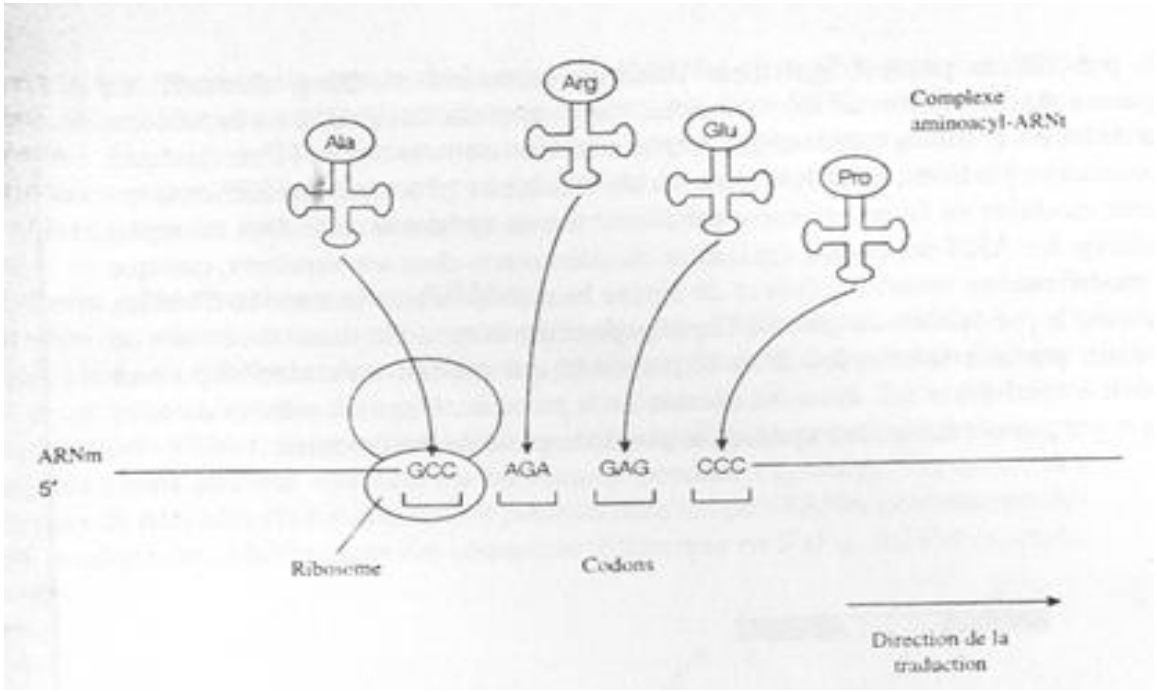
2. الترجمة Traduction

1.2. دور ARNt في الترجمة

تقوم ARNt الناقلة بحمل الأحماض الأمنية الضرورية لتخليق البروتين على مستوى الريبوزوم بإتباع الترتيب المثبت من طرف قطعة ARNm .

يمكن لكل حمض أميني أن يرتبط بواحد أو العديد من نواقل ARNt (ما يسمى Isoaccepteurs والتي تتعرف على الإرشادات النوعية لكل حمض أميني(الشكل رقم 3) .

ترتبط الأحماض الأمنية بصورة مشتركة Covalente بواسطة عملية aminoacylation في نهاية الذراع المستقبل ل ARNt بمساعدة إنزيمات تسمى aminoacyl-ARNt synthétase .



الشكل رقم 3: دور ARNt في عملية الترجمة

2.2. التعرف على الشفرات Reconnaissance des codons

التعرف على الشفرات هو التزاوج بين القواعد المكملة للشفرة ARNm ومضاد الشفرة Anticodon الموافق على ARNt الذي يضمن توضع الأحماض الأمنية في ترتيب جيد أثناء التخليق البروتيني .

فالشفرة الوراثية انحلالية dégénéré بمعنى أن أغلبية الأحماض الأمنية يمكن أن تشفر بأكثر من شفرة .

يمكن لكل ARNt أن يتعرف على أكثر من شفرة خاصة، بحمضه الأميني لأن القاعدة في النهاية '5 لمضاد الشفرة Anticodon يمكن أن يثبت مختلف القواعد للنهاية '3 للشفرة وبالتالي نتكلم عن الطفو .Flottement.

3.2. مراحل الترجمة

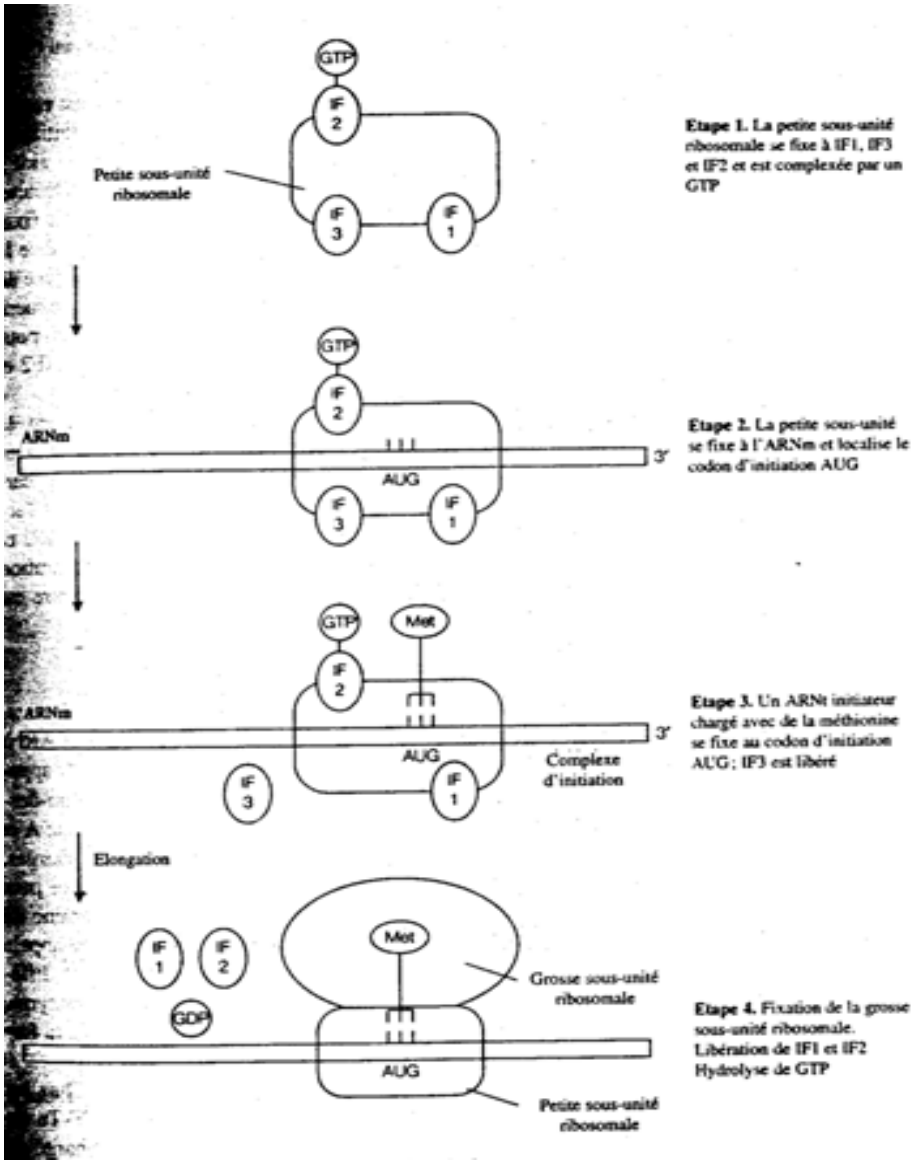
تقترب الترجمة عند كل من بدائية و حقيقية النواة و تمر بثلاث مراحل هي الإبتداء Initiation، الإستطالة Elongation والنهاية Terminaison . تتضمن كل مرحلة مجموعة من البروتينات المساعدة .Protéines auxiliaires

تمون الطاقة اللازمة للترجمة من تحلل ATP (Adénosine triphosphate) و GTP .(Guanosine triphosphate)

1.3.2. مرحلة الابتداء

تبدأ عملية الترجمة بتثبيت تحت الوحدة الريبوزومية الصغيرة لARNm على مستوى القطعة Shine-Dalgamo(5'AGGAGGU3') عند بدائية النواة و على مستوى القلنسوة في النهاية '5 عند حقيقية النواة. بعد ذلك تهاجر الوحدة en aval حتى تتعرف على شفرة البداية AUG و ARNt المبتدأ للحمض الأميني مثيونين ARNt initiateur Methionine (Met-ARNt) و الذي يربط لتشكيل معقد الابتداء. أما عند بدائية النواة فإن (Met-ARNt) يعدل بإضافة مجموعة Amine إلى مجاميع

Formyl(aldéhyde – CHO) فنتحصل على مايسمى $ARNt^{fmet}$. ترقم عوامل الابتداء ب IF2, IF1 و IF3 عند البكتريا. تعمل IF1 وIF3 على إعاقة تحت الوحدة الريبوزومية الكبيرة على التثبت قبل أن تبدأ عملية الابتداء. في حين يعمل IF2 على نقل(Met-ARNt) إلى مركب الابتداء. أما عند حقيقية النواة فإنه تتدخل على الأقل تسعة عوامل للابتداء. فالعاملان eIF1 وeIF2 لهما نفس الوظائف كما عند العاملين IF1 و IF2 فالعديد من العوامل تتكلف بفقد التركيبة الثانوية ل ARNm(الشكل رقم 4).

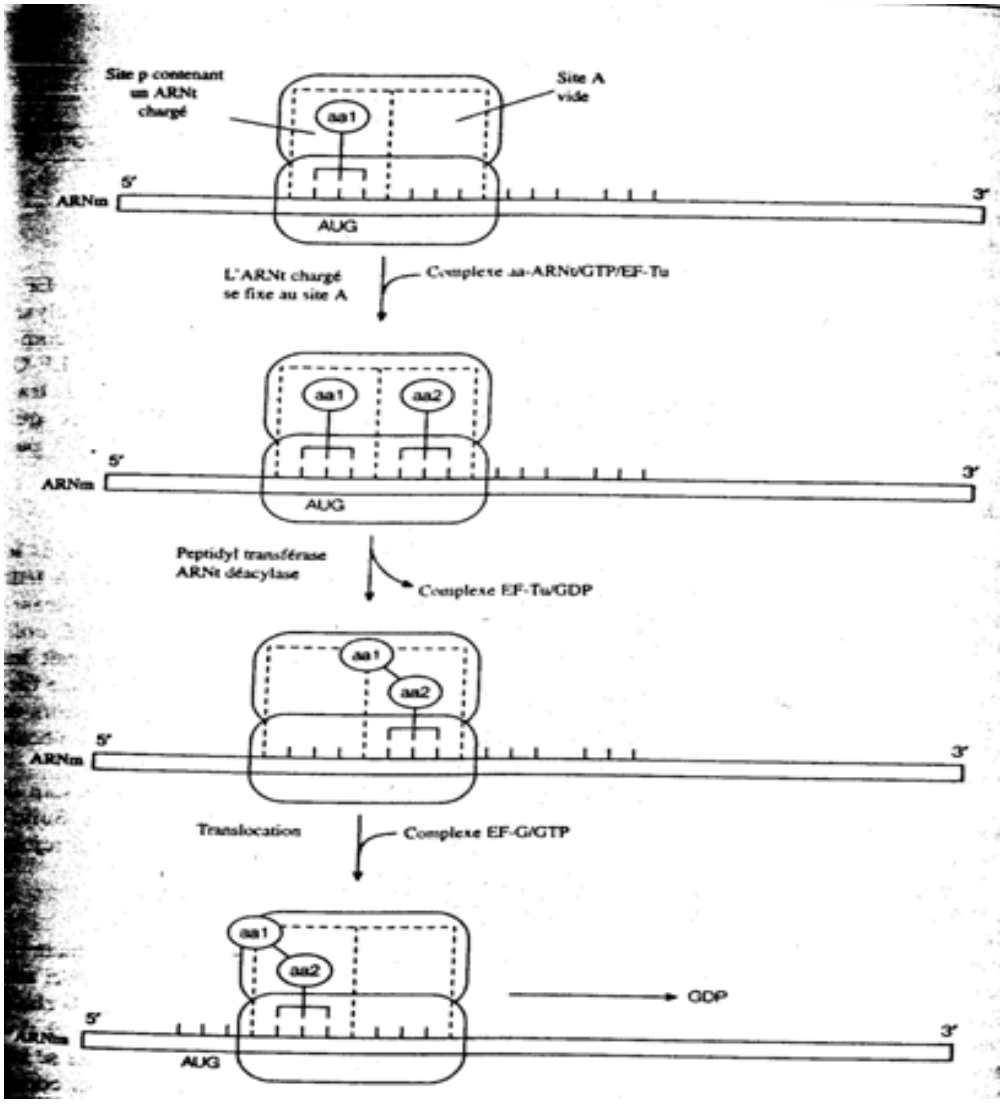


الشكل رقم 4: مرحلة الابتداء عند بكتريا القولون

2.3.2. مرحلة الاستطالة

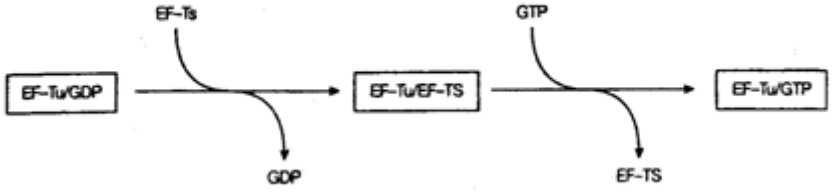
بعد الابتداء، ترتبط تحت الوحدة الريبوزومية الكبيرة بمعقد الابتداء مما يظهر المواقع A و P .فالموقع A يشغل من طرف Met-ARNt يدخل aaARN t ثان في الموقع A و يشكل الإنزيم peptidytransferase رابطة ببتدية بين الحمضين الأمنيين .

يعمل إنزيم ARN t déaylase على قطع الرابطة بين الحمض الأميني Met و ناقله ARN t و تترك الرابطة الببتدية مع ARNt الثاني (الشكل رقم 5).



الشكل رقم 5: مرحلة الاستطالة عند بكتريا القولون

يسمى عامل الاستطالة عند بدائية النواة ب EF-Tu الذي يتجمع عند دخول ARN t داخل الموقع A. يتحللGTP و يتحررEF-Tu مرتبط بGDP . يعملET-Ts على تجديد EF-Tu (الشكل رقم 6).



الشكل رقم 6: إعادة تشكل المعقد EF-Tu/GTP

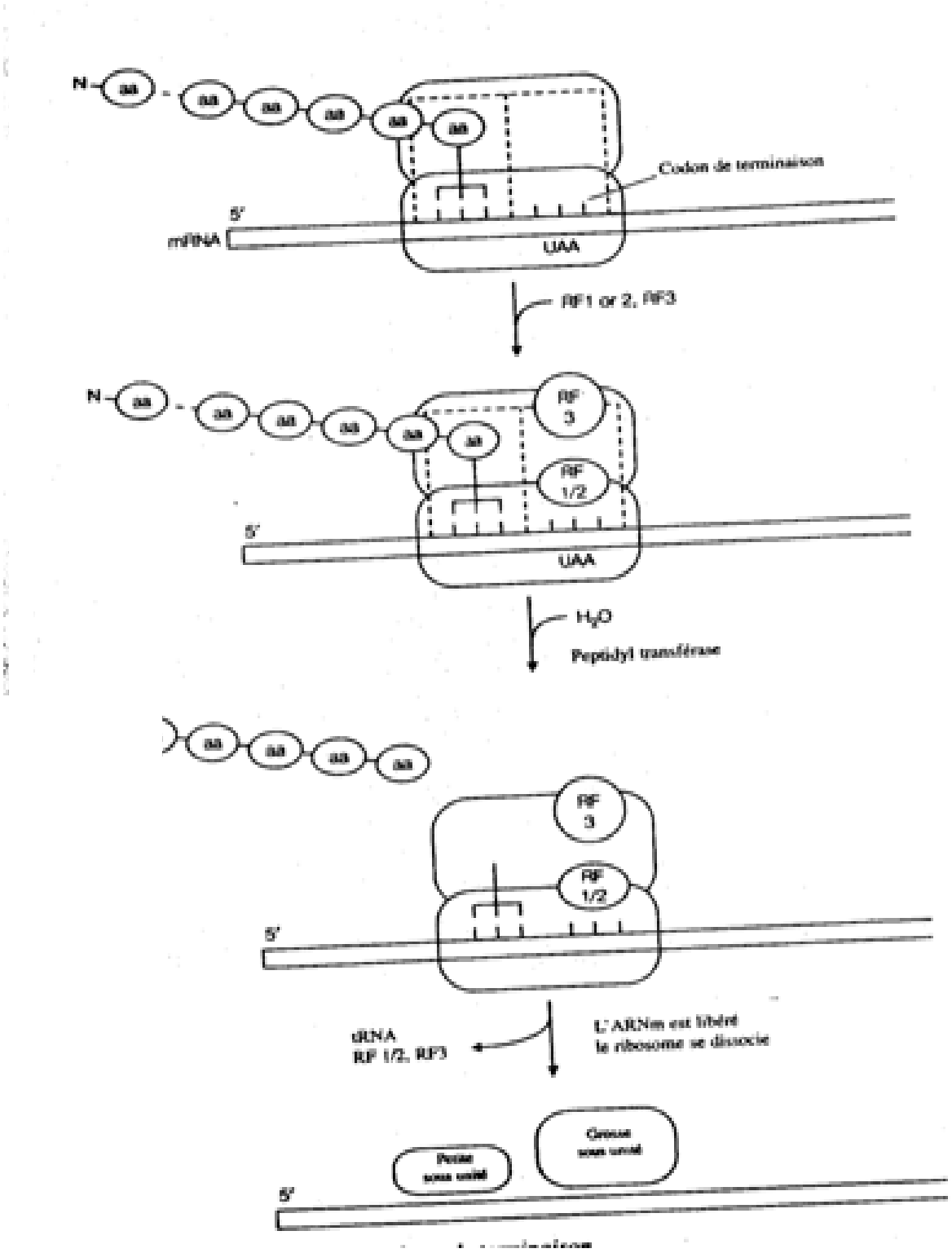
أما عند حقيقية النواة ، يلعب العامل eEF1 دورا مماثلا ل EF-Tu.
بعد تشكل الرابطة الببتدية ينتقل الريبوزوم إلى الشفرة التالية ، فيرتبط ثنائي الببتيد مع ARN t التالي و ينتقل إلى الموقعP أين يتم إبعاد ARN t البادئ .يدخل الموقع A ARN t ثالث محمل و تعاد دورة الاستطالة.

عند بدائية النواة ، يتم الاستنقال translocation بمساعدة EF- G و يتطلب تحللGTP . أما عند حقيقية النواة فإن لeEF2 دور مشابه.

يمكن أن يترجم ARNm بواسطة العديد من من الريبوزومات في نفس الوقت و يشكل تركيبة تعرف ب Polysome.

3.3.2. مرحلة الانتهاء

تنتهى مرحلة الترجمة عند تدخل شفرة الانتهاء في الموقع A حيث تتدخل عوامل التحرر في الموقع A و تحث على تحرير عديد الببتيد. عند E.coli تكون العوامل RF1 RF2 ,و RF3 مسؤولة على الانتهاء.أما عند حقيقية النواة ،يتوضع بروتين وحيد لعملية الانتهاء يسمى eRF . وفي النهاية عند انتهاء عملية الترجمة ، ينفصل الريبوزوم ويتحرر (الشكل رقم 7).



الشكل رقم 7:مرحلة الانتهاء عند بكتريا القولون

تعديلات ما بعد الترجمة

بعد عملية الترجمة يمكن لسلاسل عديد الببتيد أن تتلقى مختلف التعديلات بإضافة مجاميع كيميائية للسلاسل الجانبية لN و لC للأحماض الأمنية أو بكسر تحلل البروتين Clivage protéolytique. وقد تكون بعض التعديلات ضرورية لاكتساب نشاط وظيفي تام.

الفصل الثامن : تنظيم التعبير الجيني
Régulation de l'expression des gènes

1. تنظيم التعبير الجيني عند بدائية النواة

تقوم البكتريا بتنظيم جيناتها بصفة أن لا تنتج إلا ما تحتاج إليه مما يسمح لها بالتأقلم مع التغيرات المحيطة . يمكنها أولويا أن تغير كمية نواتج الجنيات يتغير نسبة النسخ .عمليا، فإن التغيرات الحادثة في التخليق هي التي تراقب كمية الناتج الوراثي. يمكن لعدة عوامل أن تعمل على تباين معدل التخليق:

- ✓ معدل نسخ الجين
- ✓ زمن تجديد ARN m
- ✓ و معدل الترجمة

وفي كل هذه الآليات من الأجدر معرفة طريقة تنظيم النسخ .

1.1. تنظيم جنيات البكتريا

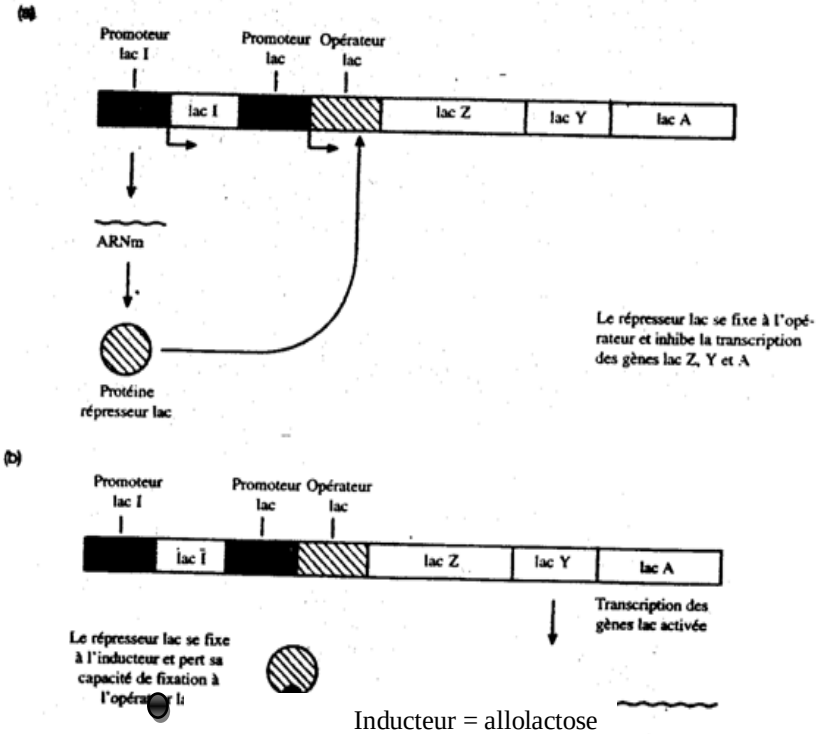
ترتب معظم جنيات البكتريا على شكل opéron والتي تنظم بصفة مرتبة وتشفر للبروتينات ذات وظائف متقاربة فال opéron inductible المحثة أو الحاثة مثل opéron lac التي تشفر للإنزيمات المندرجة في السلسلة الأيضية والتي تحث بواسطة مادة تفاعل هذه السلاسل.

أما opérons المثبطة opérons répressible مثل opéron tryp فإنها تشفر للأنزيمات المندرجة في سلسلة التخليق الحيوي ويكون تنظيمها بالناتج النهائي للسلسلة أو بواسطة عملية التخفيف atténuation.

Opéron lac .2.1

يضم هذا opéron ثلاث جنيات (lac Z, Y, A) والتي تشفر للإنزيمات التي تحتاجها بكتريا *E.coli* لميتابوليزم سكر اللاكتوز Lactose . تنسخ هذه الجنيات من طرف مؤسس وحيد promoteur unique ويكون تنظيمه محثا بواسطة lactose .

يثبت allolactose للمثبط répresseur lac في وجود اللاكتوز Lactose مما يعيق تثبيت المحول opérateur lac ويسمح لل opéron بأن ينسخ .أما عندما يتم استعمال كل سكر lactose الموجود في الوسط يعود المثبط répresseur lac قادرا على الارتباط ب opéron lac وتتوقف عملية النسخ (الشكل رقم1).



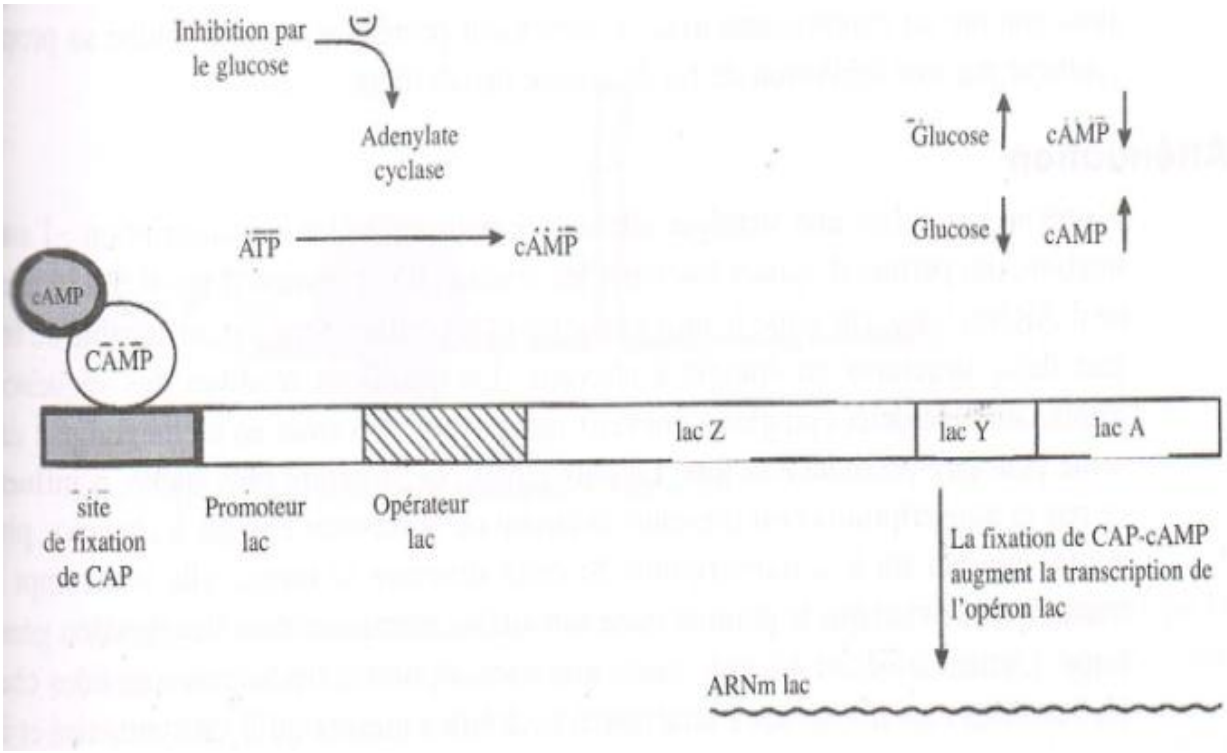
الشكل رقم 1: تنظيم opéron lac في غياب (a) أو وجود (b) المحثinducteur

3.1. تثبيط الهدم Répression catabolique

و هي الآلية التي تسمح لبكتريا *E.coli* بمنع opéron lac في وجود سكر الجلوكوز Glucose حيث يثبت بروتين CAP على AMPc وينبه النسخ عند opéron lac بتثبيته مسبقا على المؤسس lac.

. adényl cyclase أو adénylate cyclase ينظم تركيز بواسطة الجلوكوز، الذي يقوم بتثبيط ينخفض تركيز AMPc في وجود سكر الجلوكوز Glucose مما يمنع البروتين CAP بالارتباط بالمؤسس Promoteur lac وينسخ opéron قليلا . لكن عندما ينخفض Glucose في الوسط فإن تركيز AMPc يرتفع وتثبت CAP على Promoteur lac وينبه نسخ opéron.

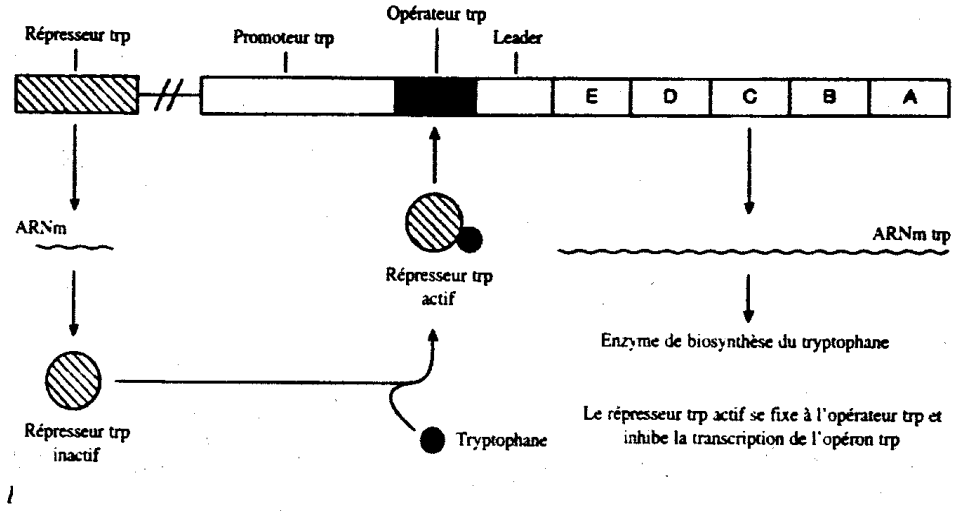
تضمن عملية تثبط الهدم أنه إذا وجد كل من الجلوكوز و اللاكتوز في الوسط فإن الجلوكوز هو الأول الذي يستعمل(الشكل رقم 2) .



الشكل رقم 2: تثبيط الهدم ل opéron lac

Opéron tryp .4.1

يضم هذا opéron 5 جنيات منسوخة بواسطة مؤسس وحيد والتي تشفر الإنزيمات الضرورية لتخليق tryptophane يثبت المثبط tryp répresseur على المحول tryp في وجود tryptophane ويمنع إذن نسخ opéron . في غياب tryp لا يتدخل المثبط tryp répresseur في التثبيت وبالتالي يتم نسخ opéron (الشكل رقم 3).



الشكل رقم 3 :opéron tryp

.5. 1 عملية الاختزال Atténuation

تسمح هذه الآلية من التنظيم بتعديل نهائي لتعبير opéron tryp . يمكن لسلاسل ADN الواقعة بين المؤسس وأول حين ل opéron tryp أن تكون قادرة على تشكيل تركيبه كبيرة من ماسك الشعر والتي لا يكون لها تأثير على عملية النسخ وقد تكون صغيرة جدا والتي تنهي العملية. فتحتوي منطقة صغيرة شافرة في البداية en amont على شفرات tryp . فعندما تسمح تراكيز tryp يمكن لـARN polymerase أن ينسخ المنطقة والتي تكون متبوعة بسرعة بالريبوزوم الذي يمنع تشكل حلقة كبيرة ويسمح بتشكيل الحلقة الصغيرة التي تحث على عملية الانتهاء. أما عندما لا يتوفر tryp كاف ، فإن الريبوزوم يتجمد في مكانه

،في حين يتقدم ARN polymerase و تتشكل الحلقة الكبيرة وتثبط الحلقة الصغيرة وتتم عملية نسخ opéron (الشكل رقم 4).

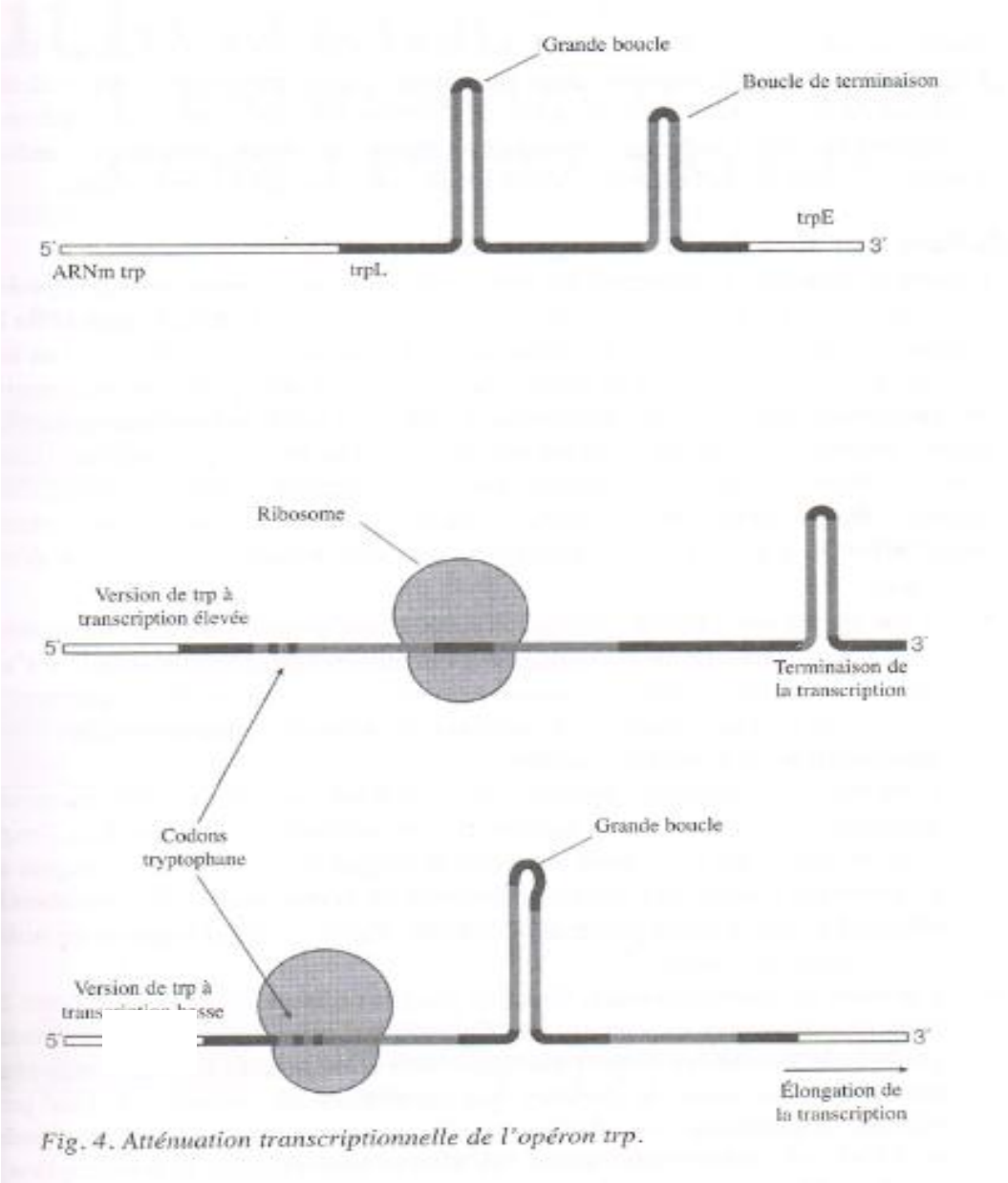


Fig. 4. Atténuation transcriptionnelle de l'opéron trp.

الشكل رقم 4: التخفيف النسخي للopéron tryp

6.1.التنظيم يتدخل عوامل سيحما المتناوبة

تستعمل هذه الآلية التعديل بصفة عظمى تنظيم جين ما كاستجابة للتغيرات المحيطة. فالعوامل المتناوبة تفسد خاصية ARN polymerase البكتري بحيث يمكنه التعرف على مختلف promoteurs. تنشط العوامل المتناوبة عملية نسخ جينات بكتريا *E.coli* كاستجابة لصدمة حرارية و عند *Bacillus subtilis* خلال عملية التجرثم .تخلق البكتريوفاج عوامل تنشط عملية نسخ الجينات الفاجية gènes phagiques.

2. تنظيم التعبير الجينيي عند حقيقة النواة

1.2. تنظيم النسخ

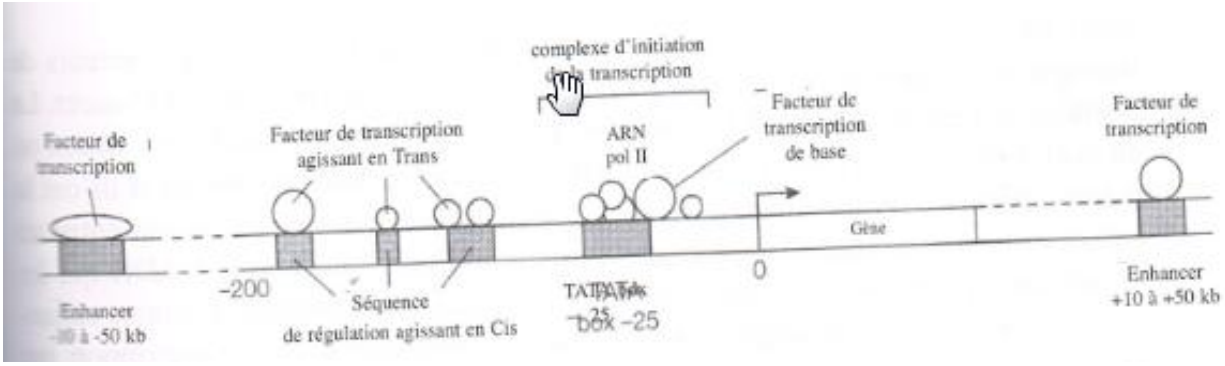
تخضع جنيات حقيقية النواة لطرق تنظيم جد معقدة فالخلايا تعبر عن 15% فقط من مجموعة جيناتها تقريبا. وتعبر أنماط خلوية مختلفة عن جينات مختلفة.

يحدد مخطط التعبير الجيني خصائص خلية ما ودورها داخل العضوية الحادثة في مخطط التعبير الجيني.

توجه التغيرات في مخطط التعبير الجيني التمايز الخلوي، فالمخططات غير العادية للتعبير تكون مجتمعة لتطوير أورام .

تنظم الكائنات حقيقية النواة تعبير جيناتها خاصة بتغير معدل نسخها فالتدخلات بين ARN polymerase II وعوامل النسخ القاعدية تؤدي إلى تشكيل معقد ابتداء النسخ (TIC) على مستوى العلبة TATA (TATAbox).

في حين عوامل نسخ أخرى تعمل على تعديل معدل ابتداء النسخ بتثبيت قطع مؤسسة بالتأثير على ثباتية معقد الابتداء النسخ TIC (الشكل رقم5) .



الشكل رقم 5: تنظيم النسخ عند جينات حقيقية النواة

2.2. عوامل النسخ

تمتلك مؤسسات النسخ العديد من مراكز التثبيث لمختلف عوامل النسخ وكل واحد منها يؤثر على عملية النسخ ويعتمد الأثر الإجمالي للنسخ على مجموع هذه العوامل المثبتة. و لهذه العوامل تركيبه مقياسيه مزودة بميادين التثبيت ل ADN ، dimérisation، transactivation للنماذج التركيبية الخاصة.

تحتوي ميادين التشبث ل ADN ثلاثة نماذج:

- Hélice- coude -hélice
- Doigt de zinc
- Basiques

والتي نصادفها بالإتحاد مع ميادين Dimérisation

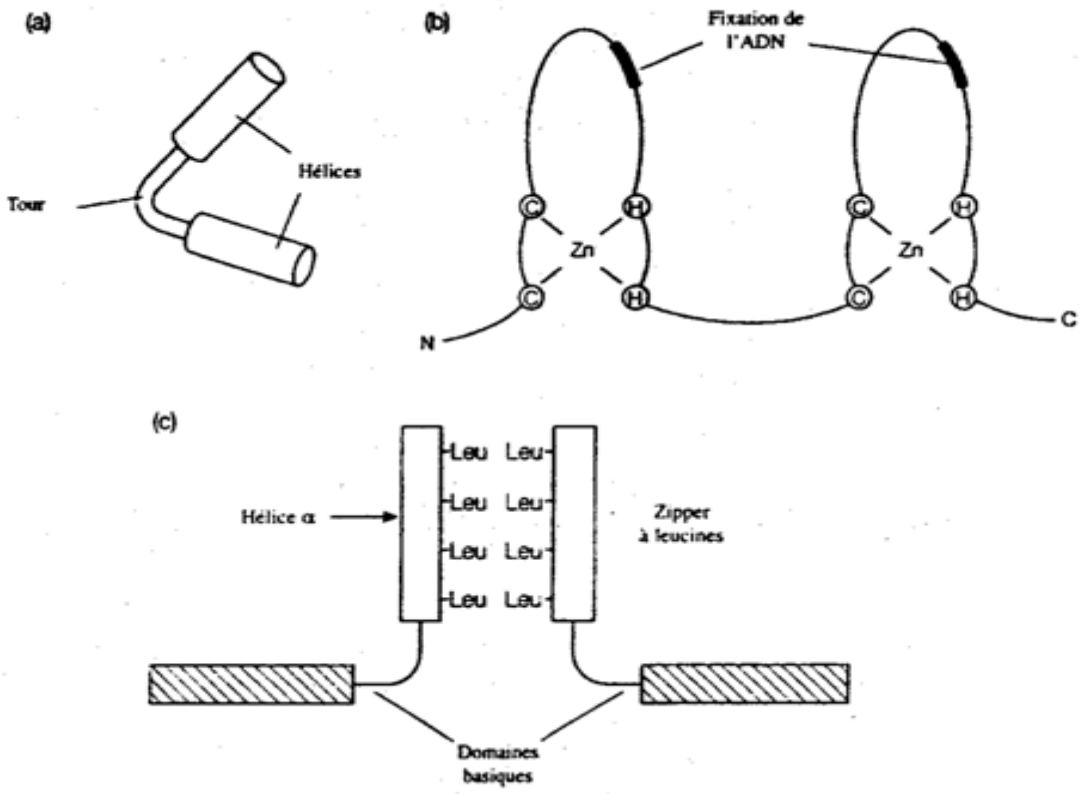
وتحتوي هذه الأخيرة على نموذجين:

- Zippers (fermetures éclair) à leucines
- Hélice-boucle-hélice

تسمح dimérisation بتشكل متجانس ومختلط ثنائي الوحدتين Homo-hétérodiméres و التي تخلق عوامل النسخ ذات الوظائف المختلفة .

أما ميادين transactivation فهي لا تتطلب نماذج معروفة لكنها غنية غالبا بالأحماض الأمنية ذات الخاصية الحامضة glutamine أو proline تتداخل ميادين transactivation على الأرجح مع صنف من

بروتينات معقد ابتداء النسخ TIC وفي مختلف مراحل النسخ. كما يمكن لعوامل النسخ أيضا أن تمنع عملية النسخ سواء بآليات مباشرة أو غير مباشرة (الشكل رقم6).



الشكل رقم 6: النماذج المتواجدة في عوامل النسخ

بعض مصطلحات الهندسة الوراثية

شهد منتصف السبعينات ميلاد الهندسة الوراثية génie génétique أو تقنية الجين technologie du gène و إليكم بعض مصطلحات الهندسة الوراثية.

- **البلازميد: Plasmide :** جزيئة ARN حلزونية الشكل خارج الجين Extra génomique أو خارج الكروموزوم Extra chromosome لها قطر 2 µm والتي نجدها في سيتوبلازم بعض أصناف الخميرة أو الفطريات يستعمل هذا النوع من البلازميد كشعاع متحد عند الخميرة Vecteur recombinant . فبلازميد التضاعف Plasmide d'amplifiable هو بلازميد قادر على التضاعف في حين يتوقف تضاعف الخلية المستهدفة العائلة Cellule Hôte كما يسمى Palsmide recombinant أو Plasmide de chimère
- **شعاع: Vecteur –** أو يسمى شعاع النسخ Vecteur de clonage يمثل جزيئة ADN أو بلازميد أو فاج أو كوزميد(Plasmide – Phage- Cosmide) قادر على الاتحاد بقطعة ADN خارجية آتية من خلية أخرى أو من كائن آخر والتي تسمح لهذه القطعة بتحويل الخلية العائلة و التضاعف داخل هذه الخلية وهو مايسمى بنسخ الجين. ونقول Vecteur أو Vecteur de clonage.

- **شعاع التعبير:** Vecteur d'expression شعاع حامل لمنطقة تسمح بإدخال قطعة شافرة لجين بين الإشارات الضرورية لتعبير هذا الشعاع بمعنى إنتاج ARNm ثم البروتين.
- **الشعاع المتنقل:** Vecteur navette شعاع قادر على التضاعف داخل الكائنات المختلفة –الخلايا العائلة cellule Hôtes بواسطة أصول التضاعف الخاصة ونقصد هنا مثلا البلازميدات القادرة على التضاعف داخل البكتيريا والخميرة.

- **البكتروفاج:** Bacteriophage –الفاج– عبارة عن فيروس يصيب البكتريا (الخلايا العائلة).يتكون البكتروفاج من جزيئة ADN تسمى ADN الفاجي يكون محاط بغشاء بروتيني حامي هو المحفظة capside مزودة بنظام تثبيت (ألياف Candales) . يسمح هذا النظام بادمصاص الفاج على مستقبلات سطح

البكتيريا وحقن ADN الفاجي داخل سيتوبلازم الخلية العائلة. تطبق البكتروفاج في ظواهر الترجمة Transduction البكترية كما يمكن أن يستعمل كشعاع ADN في الهندسة الوراثية.

- **الكوزميد : Cosmide** وهي مجموعة من الناقلات يمكنها أن تستقبل شظايا أطول من ADN وهي تجمع بين أفضل مميزات البلازميد و الفاج معا . الكوزميد عبارة عن بلازميد يحتوي على تتابع ADN المسمى (Cos sites) المطلوبة لتعبئة ADN لامبدا في حبيبة الفاج , تنمو هذه الناقلات في صورة بلازميد في البكتيريا. يمكن للكوزميد أن يستوعب قطع ADN بطول من 35 إلى 50 كيلو قاعدة.
- **بنك ADN أو مكتبة ADN** : هو مجموع النسخ أو نماذج خلايا معدلة وراثيا (بكتيريا ، خميرة أو فاج متحد) يحتوي البنك أو المكتبة على قطع جنينية (ADN g) من ADN المكمل ADN complémentaire Banque d'ADN complémentaire(ADNc) = Banque d'ADN génomique(ADNg)

Banque des gènes = génothèques

=مكتبة ADN المكمل = بنك الجينات أو مكتبة الجينات ويمكن أن تتكون المكتبة من بلازميد أو فاج . و البنك الجينومي Banque génomique هو قطع ADN المنسوخة والتي يمكن أن تعطي مجموع الجينوم.

- **جين التعبير Gene d'expression :** هو مجموع الجينات المنسوخة داخل الخلايا العائلة أين يمكنها التعبير وإعطاء ARNm والبروتينات.

- **المتحد Recombinant :** يطلق هذا المصطلح عن جزيئة حمض نووي (ADN أو ARN) التي تحمل قطعة خارجية (قطع ADN أوARN) والتي تأتي من مصدر مختلف والتي تدرج أو تدمج داخل هذه الجزيئة من الحمض النووي. كما يمكن أن تعني كروموزوم بعد ظاهرة العبور crossing-over والذي يحمل الأليلات المتحدة المختلفة عن الأليلات الأبوية. كما يمكن أن يعني الشعاع المستعمل في الهندسة الوراثية (فاج أو بلاسميد) الذي يحمل الجين المهم أو الجين المنقول Transgéne.

- **séquençages**: تحديد الترتيب الخطي لوحدات القواعد (نيكليوتيدات أو أحماض أمنية) المكونة لتراكيب أولية لجزيئة كبرى macromolécule (حمض نووي أو بروتين).

- **القطع النيوكليوتيدية: sondes nucleiques**قطع نيوكليوتيدية معلمة بمركب مشع (اشعاع مفلور أو إنزيم) والذي يشمل للكشف عن القطع المكملة بتقنية التهجين technique d'hybridation.

- **Sondes oligonucliotiques**: قطع صغيرة منADN أو ARN والتي تعلم بجزيئة للتعارف سواء كانت انزيم , مادة مفلورة ومشعة . تستعمل هذه القطعة بخصائصها للتهجين بطريقة نوعية لحمض نووي والذي يحمل قطعة نيوكليوتيدية والتي تكون مكملة له.

النقل الجيني أو التحول الجيني transgénese وهي تجربة تسمح بإدخال جين غريب أو حذف جين داخل كائن عديد الخلايا أو كائن دقيق أو خلية.و نطلق مصطلح مخلق جينيا Transgénique عن عضوية أو خلية أين يتم إدخال ADN غريب يعني الجين المحول أو الجين ذو الأهمية Transgénèse ou gène d'intérêt . والكائن المخلق وراثيا وهو الكائن المعدل وراثيا OGM Organisme génétiquement modifié. يمكن أن يكون مخلق في جميع خلاياه ويكون 10 % OGM ويمكن أن يكون معدل في بعض خلاياه يسمى OGM mosaïque.

- **الجينوم génome**: هو كل الكائنات المحمولة على فيروس أو خلية أو كائن دقيق أو كائن. عند الكائن الراقي يتكون الجينوم من مجموع الجينات المحمولة على الجاميطات الأحادية.

ADNc أو ADN المكمل أو ADN النسخة ADN complémentaire وهو ADN مشكل بطريقة اصطناعية انطلاقا من ARN .و بصفة عامة ARNm الموافق للبروتين المهم والذي يزيد انتاجه بتقنية ADN المتحدADN ADN recombinant .

ونستعمل إنزيم transcriptase inverse للحصول على ADNc ويسمىmonocaténaire أو simplex يعني أحادي أو بسيط انطلاقا من ARN ثم ARN polymérase للحصول علىADN البكتيري duplex.

- الكلونة **clonage و المنسوخأو** الكلون **Clone** : سلالة من الخلايا أو العضيات المتماثلة المتحصل عليها من نفس فرد البداية. تكون النسخ متشابهة وراثيا ف المنسوخ الجزيء clone moléculaire

يمثل كذلك جين متحد géne recombiné داخل جزيئة ADN شعاع (بلازميد أو فاج) والذي ينتج أثناء تضاعف هذا الشعاع المتحدVecteur recombinant داخل الخلية العائل.

تمنياتي لكم بالتوفيق

أستاذة المادة : شايب غنية

المراجع

1. Abderrahman Maftah et Raymond julien .**1999**. Biologie Moléculaire .Dunod Paris, . 2éme édition .**ISBN : 210- 0042602.**
2. Bernard Swynghedauw .2000. Biologie et génétique moléculaire. Aide mémoire .Dunod Paris, 2éme édition. **ISBN : 210 005068 0.**
3. Fathi Mohamed Abdel Taoub . **1993**. Biologie Moléculaire. Edition Académique Egypt . Version arabe**.**
4. Jean-Charles Cailliez et Kathye Verreman . **2004**. Dictionnaire de Biologie Cellulaire et Moléculaire .Collection PCEM. Ellipses édition Marketing S.A. **ISBN : 27298-2136-8**.
5. Raymond Cunin. **2012** . L' essentiel en génétique 1ére édition DeBoeck**. ISBN : 978-2-8041-71138-4.**
6. Stephen R.Bolsover ; Jeremy S.Hyams ;Elizabeth A. Shephard; Hugh A. White et Claudia G. Wiedemann. **2006**. Biologie Cellulaire et Moléculaire. Dunod Paris, 2éme édition. **ISBN : 210 049310 8 x.**
7. Patrick Pernas ;Roger Besancon ; Emmanuel Brochot ; Thierry Masse ; Eric Julian et Stephane Marcand. **1997**.Biologie Cellulaire et Moléculaire. Collection PCEM.Ellipses édition Marketing S.A , 1997 .**ISBN :27298-4755-3.**
8. Watson Gilman witkowski et Zoller .**1994** . ADN Recombinant 2 éme édition DeBoeck . ISBN : 2-8041-1597-6
9. Winter P.C., Hickey G.I. et . Fletcher H.L. **2006**. L essentiel en Génétique. Berti Edition **ISBN : 978-2-911808-14-2.**

Crédits : 4

Coefficient : 2

Objectifs de l'enseignement

Connaitre :

- La structure d'un gène.
- LES mécanismes moléculaires impliqués dans la mise en place du complexe d'initiation et les étapes d'élongation et de terminaison.
- La maturation des pré-ARN réplication et réparation de l'ADN.
- Les notions de base sur les mécanismes de contrôle et de régulation de l'expression génique.

Contenu de la matière :

- Cellule et macromolécule
- Structure de la protéine
- Propriétés des acides nucléaires
- Structure des chromosomes et gènes
- Réplication
- Altération
- Répartition et recombinaison
- Manipulation du gène
- Vecteur de clonage
- Banque et dépistage des gènes
- Transpiration chez les procaryotes et eucaryotes
- Régulation de la transcription chez les proto et eucaryotes
- Traitement de l'ARN et RNP
- Code génétique de l'ARN_T
- Synthèse des protéines
- Bactériophages et virus eucaryotes

Mode d'évaluation : (type d'évaluation et pondération)

Travail personnel, contrôle continu et examen final

Références bibliographiques *(Livres et polycopiés, sites internet, etc)* :