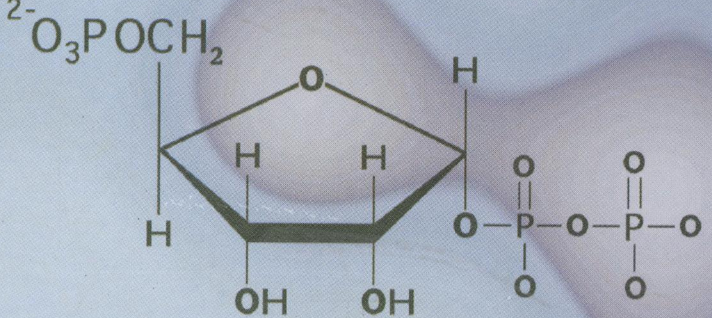
المجلد الثاني

أسس
الكيمياء الحيوية

دكتور

عبد المنعم محمد الأعسر



المكتبة الأكاديمية

أســـس
الكيمياء الحيوية

Principles of Biochemistry

المجلد الثانى

دكتور
عبد المنعم محمد الأعسر
دكتوراه فى الفيزياء الحيوية
جامعة كاليفورنيا - أمريكا
أستاذ الكيمياء الحيويه
كلية الزراعة - جامعة عين شمس

الناشر
المكتبة الاكاديمية
شركة مساهمة مصرية
٢٠١٢

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

حقوق النشر

الطبعة الثانية ٢٠١٢م - ١٤٣٣هـ

حقوق الطبع والنشر © جميع الحقوق محفوظة للناشر :

المكتبـــة الأكاديميـــة

شركة مساهمة مصرية

رأس المال المصدر والمدفوع ١٨,٢٨٥,٠٠٠ جنيه مصرى

١٢١ شارع التحرير - الدقى - الجيزة

القاهرة - جمهورية مصر العربية

تليفون : ٣٧٤٨٥٢٨٢ - ٣٣٣٦٨٢٨٨ (٢٠٢)

فاكس : ٣٧٤٩١٨٩٠ (٢٠٢)

لا يجوز استنساخ أى جزء من هذا الكتاب بأى طريقـة كانت إلا بعد الحصول على تصريح كتابى من الناشر .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis

https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid

07807137614

إهـــــداء

إلى زوجتي سلـــوى ناجـــي يرحمها اللـه
والدتي يرحمها اللـه
والدي يرحمه اللـه

إلى احبائي في اللـه عبـاس العـوضـي
أحمـد الوصيـف
محمـــود ناجـي
عبد المنعـم عرفـه
علـــي مظـهـــر
علي زين العابدين
عبد العليم متولي
محمـــد شتلـــة
بدر عبد الوهـاب
فتحي عبد النعيـم
مصطفـي حلمي
صفـوت حسـن
سـعـيـد جـبـر

إلى أساتذتي سعـــد الحنـــاوي يرحمه الله
Lloyd L.Ingraham

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مقدمـــة

تتضمن الكيمياء الحيوية دراسة التركيب النوعى والكمى للمادة الحية وتحولاتها على المستوى الجزيئ. وعلى هذا المستوى من الدراسة فإنه يمكن تصور الكائنات الحية كأنظمه كيميائية مُركّبه والتى تحتوى على كل المعلومات اللازمة للنمو والتميُّز والتكاثر على حساب الطاقة والمواد الخام المتاحة فى البيئة.

وبالرغم من الاختلاف الكبير لصور الكائنات الحية كما يظهر فى التباين الكبير بين بكتريا القولون والإنسان، فإن الكائنات الحية تُظهر سمات مشتركة من ناحية التركيب الكيميائى. وبالإضافة إلى التماثل فى المحتوى الجزيئى، فإن الكائنات الحية المختلفة تُظهر أيضا درجة عالية من التماثل فى عمليات الحياة الأساسية وتنظيمها.

فى الوقت الحاضر تُوفر سبل الكيمياء الحيوية الدعامات لكل العلوم البيولوجية الأساسية وتعتبر هى اللغة المنطقية المستخدمة فى مثل هذه المجالات المتنوعة مثل علم البيئة والطب الاكلينيكى والزراعة. وفى الواقع أصبحت الحدود غير واضحة بين الكيمياء الحيوية والكثير من بقية العلوم البيولوجية. وبناء على ذلك فقد كان اعداد هذه الكتاب ليس فقط ليشمل عرضا للحقائق الأساسية لمواضيع الكيمياء الحيوية، ولكن ليشمل أيضا فى كثير من المواضع دراسة مقارنة للكيمياء الحيوية للكائنات المختلفة (الحيوان والنبات والكائنات المجهرية). كما روعى فى الكتاب أيضا أن يشمل الرموز البيولوجية العديدة والحقائق التى ظهرت فى السنين الأخيرة.

تنقسم محتويات كتاب أسس الكيمياء الحيوية إلى أربعة أجزاء هى: (١) الجزيئات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البيولوجية (٢) الأيض الهدمى وتوليد الطاقة البيوكيمائية (٣) البناء الحيوى للجزئيات البيولوجية (٤) التعبير الجزيئى ونقل المعلومات الوراثية.

يبدء الجزء الأول بفصل عن الأساس الجزيئى لتركيب ووظيفة الخلية ويمكن اعتباره مسح عام للمركبات التى تدخل فى تركيب الخلية، وأنواع الخلايا وتركيبها العام. أما الفصل الثانى فيتعلق بالماء وخواصه الكيميائية والفيزيائية. ثم تعالج الفصول التالية كيمياء الكربوهيدرات والليبيدات والأحماض النووية والبروتينات. وينتهى هذا الجزء بفصل عن الانزيمات ودورها فى عملية الحفز البيولوجى، وفصل عن المرفقات الانزيمية والفيتامينات.

الجزء الثانى يتعلق بالطاقة البيولوجية ومسارات توليدها فى الخلايا. فبعد أن يبدء هذا الجزء بمقدمة عن أسس الحركة الحرارية وملخص عن الجوانب العامة للأيض، يستمر فى مناقشة الانحلال السُكّرى ودورة حمض الستريك ونقل الالكترونات والفسفره المصاحبة للأكسدة. ثم فصلين عن اكسده الأحماض الدهنية وتفكيك الأحماض الأمينية، ثم ينتهى هذا الجزء بفصل عن البناء الضوئى فى النباتات.

الجزء الثالث يشتمل على أربعة فصول خاصة ببناء الجزئيات البيولوجية المختلفة : الكربوهيدرات والليبيدات والأحماض الأمينية والنيوكليوتيدات.

أما الجزء الرابع والأخير فيتضمن الموضوعات الخاصة بالوراثة الجزيئية. ونظرا للتطور السريع فى هذا المجال فقد روعى فى فصوله أن تشتمل على التطورات الحديثة (حتى عام ١٩٩٠) فى المواضيع المعروضة.

ولقد حاولت جاهدا فى هذا الكتاب أن يكون مبسطا وشاملا ومحتويا على معظم مواضيع الكيمياء الحيوية ذات الأهمية لمعظم المتخصصين فى مجال البيولوجى. كما استخدمت أيضا المصطلحات اللغوية الأكثر شيوعا، ووضعت المصطلح الانجليزى أمام المصطلح العربى فى كثير من الحالات، خاصة تلك المصطلحات التى لم يتم الاتفاق عليها والتى كانت ترجمتها اجتهاداً من المؤلف.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وأخيرا فإننى أرحب بأى مقترحات أو ملاحظات من الأخوة الزملاء أو من الطلبة على السواء، والله الموفق.

١٩٩٦

عبد المنعم محمد الأعسر

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

شكر وتقدير

يشكر المؤلف كل من ساهم فى مراجعة كل أو جزء من هذا الكتاب. ويخص بالشكر الأستاذ الدكتور سعد الحناوى (يرحمه الله) أستاذ الكيمياء الحيوية ووكيل الكلية السابق ـ كلية الزراعية جامعة عين شمس، الأستاذ الدكتور على زين العابدين على أستاذ ورئيس قسم الوراثة ـ كلية الزراعة ـ جامعة عين شمس، الأستاذ الدكتور مصطفى حلمى مصطفى استاذ فسيولوجيا أمراض النبات ـ كلية الزراعة ـ جامعة عين شمس، الدكتور صفوت حسن على مدرس الكيمياء الحيوية ـ كلية الزراعية جامعة عين شمس، الاستاذ الدكتور محمود المرزبانى استاذ الكيمياء الحيوية والعقاقير بالمعهد القومى للاورام ـ جامعة القاهرة، الاستاذ الدكتور أحمد الوصيف طاره استاذ الكيمياء الخيوية بكلية العلوم ـ جامعة المنصورة، الدكتور سمير خوجه استاذ الكيمياء الحيوية بكلية العلوم ـ جامعة الملك عبد العزيز ـ المملكة السعودية، الاستاذ الدكتور فتحى محمد عبد النعيم استاذ الكيمياء الحيوية بكلية الزراعة ـ جامعة عين شمس. كما يشكر المؤلف الاستاذ محمود على ناجى لقيامه مشكوراً بالمراجعة اللغوية للكتاب، والاستاذ هانى سرور المعيد بالقسم لمراجعة الاشكال والرموز.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المحتويـــات

المجلد الأول

الجزء الأول : الجزيئات البيولوجية : التركيب والوظيفة البيولوجية

فصـــل ١ ـ الأساس الجزيئي لتركيب ووظيفة الخلية
٢ ـ المـاء
٣ ـ الكربوهيدرات
٤ ـ الليبيدات
٥ ـ الأحماض النووية وعناصرها
٦ ـ البروتينات
٧ ـ الإنزيمات
٨ ـ الفيتامينات والمرافقات الإنزيمية

الجزء الثانى : الأيض الهدمى وتوليد الطاقة البيوكيميائية

فصـــل ٩ ـ الطاقة البيولوجية للخلية
١٠ ـ الأيض : الجوانب العامة
١١ ـ الانحلال السُكّرِى
١٢ ـ دورة حمض الستريك
١٣ ـ الفسفرة المصاحبة للأكسدة
١٤ ـ مسار فوسفات البنتوز
١٥ ـ اكسدة الأحماض الدهنية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١٦ ـ انحلال الأحماض الأمينية
١٧ ـ البناء الضوئـــى
ملحقات
إجابة التمارين

المجلد الثانى

الجزء الثالث : البناء الحيوى للجزيئات البيولوجية

فصـــل ١٨ ـ البناء الحيوى للكربوهيدرات ٣١
١٩ ـ البناء الحيوى لللبيبدات ٥٧
٢٠ ـ البناء الحيوى للأحماض الأمينية والهيم ٨٧
٢١ ـ البناء الحيوى للنيوكليوتيدات ١١٥

الجزء الرابع : التعبيـر الجزيئـى ونقـل المعلومات الوراثيـة

فصـــل ٢٢ ـ حمض دى أوكسى ريبونيوكلييك وتركيب المادة الوراثية
٢٣ ـ تكرر حمض دى أوكسى ريبونيوكلييك ١٧٧
٢٤ ـ النسخ بناء RNA على DNA القالب ٢١٥
٢٥ ـ البناء الحيوى للبروتين ٢٥١
٢٦ ـ تنظيم التعبير الجينى ٢٩٧

ملحقات

إجابة التمارين

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

قائمة الموضوعات

مقدمة ٧
شكر وتقدير ١١

الجزء الثالث: البناء الحيوى للجزيئات البيولوجية

فصل ١٨ : البناء الحيوى للكربوهيدرات ١٩
الجلوكوز يمكن أن يبنى من مواد أولية غير كربوهيدراتية
الجلوكونيو جنيس ليست المسار الانعكاسى للانحلال السُكرى ٢٢
ستة روابط فوسفات غنية بالطاقة تُستهلك فى تكوين الجلوكوز من البيروفات ٢٤
الجلوكونيو جنسيس والانحلال السُكرى يتم تنظيمها بصورة متبادلة ٢٥
المركبات الوسيطة فى دورة حمض الستريك ومعظم الأحماض الأمينية تمثل مواد بادئة لبناء الجلوكوز ٢٥
اللاكتات التى تتكون بواسطة العضلات المنقبضة تتحول إلى جلوكوز بواسطة الكبد ٢٦
الجلوكو نيوجسيس من العمليات النشطة فى الحيونات المجترة ٢٨
دورات المواد الخاضعة تستخدم فى تكبير الإشارات الأيضية وتوليد الحرارة ٢٩
البناء الحيوى للجلايكوجين يتم بمسار مختلف عن مسار تفككه ٣٢
اليوريدين ثنائى الفوسفات جلوكوز هو صورة منشطة للجلوكوز ٣٢
إنزيم بناء الجلايكوجين يحفز نقل الجلوكوز من UDP جلوكوز إلى سلسلة الجلايكوجين النامية ٣٣
أحد إنزيمات التفرّع يُكوِّن الرابطة الجلايكوسيدن α(١←٦) ٣٤

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الإنزيمات المشتركة فى بناء وتفكك الجلايكوجين يتم تنظيمها بطريقة عكسية ٣٥
بعض الأمراض الوراثية فى أيض الجلايكوجين أمكن التعرف عليها ٣٧
البناء الحيوى لسكر اللاكتوز ٣٨
المراجع ٤٠
تمارين ٤٢
فصل ١٩ : البناء الحيوى للبيبدات ٤٥
بناء الأحماض الدهنية يتم بمسار مختلف عن مسار تفككها ٤٥
تكوين مالونايل مرافق إنزيمى هو الخطوة الأولى فى مسار بناء الأحماض الدهنية ٤٧
النظام الإنزيمى لبناء الأحماض الدهنية يحتوى على ستة إنزيمات والبروتين الحامل للأسايل ٤٨
دورة الإستطالة فى بناء الحمض الدهنى تشتمل على ستة تفاعلات ٤٩
المعادلة الكلية لبناء الحمض الدهنى ٥٣
السترات تحمل مجموعات الأسيتايل من المنيوكوندريا إلى السيتوسول لبناء الأحماض الدهنية ٥٤
مصادر العامل المختزل NADPH المستخدم فى بناء الأحماض الدهنية ٥٥
استطالة البالميتات وإنشاء الروابط المزدوجة يتم بأنظمة إنزيمية مساعدة ٥٦
تنظيم بناء الأحماض الدهنية ٥٧
حمض الفوسفاتيدك مركب وسيط فى بناء ثلاثى أسايل الجليسرولات والفوسفوجليسريدات ٥٨
سايتدين ثنائى الفوسفات ثنائى أسايل الجليسرول هو المركب الوسيط النشط فى البناء الجديد للفوسفوجليسريدات ٥٩
فوسفاتيديل إيثانول أمين وفوسفاتيدل كولين يمكن أن تتكون من فوسفاتيديل سيرين ٦١

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الفوسفوجليسريدات تبنى أيضاً بمسار الاسترداد ٦١
البناء الحيوى للسيراميد: الوحدة التركيبية الأساسية فى الاسفنجولسيبيدات ٦٢
مرض Tay - sachs : خلل وراثى فى تفكك الجانجلوسيد ٦٤
البناء الحيوى للكولسترول والأسترويدات الأخرى يبدأ بأسيتايل مرافق إنزيمى A ٦٥
أيسوبنتينايل بيروفوسفات مادة بادئة لعدد كبير من الجزيئات البيولوجية الذاتية فى الدهون ٦٨
المراجع ٧٠
تمارين ٧٢
فصل ٢٠ : البناء الحيوى للأحماض الأمينية والهيم ٧٥
بعض الكائنات المجهرية تحول النيتروجين الجزيئى إلى أمونيا فى عملية تثبيت النتروجين ٧٥
النباتات وكائنات التربة تُحول النترات إلى أمونيا ٧٨
الحيوانات الراقية تستخدم الأمونيا الناتجة من عمليات الهدم ٧٨
الأمونيا تثبت فى الأحماض الأمينية عن طريق الجلوتامات والجلوتامين ٧٩
الهيكل الكربونى للأحماض الأمينية يستمد من المركبات الوسيطة فى دورة حمض الستريك ومركبات الأيض الوسيطة الأخرى ٨٠
البناء الحيوى لبعض الأحماض الأمينية غير الأساسية: ألانين واسبارتات واسباراجين يتم مباشرة بتفاعل نقل مجموعة الأمين ٨١
التيروزين يصنع من الحمض الأمين الأساسى فينايل الألنين ٨٣
جلوتامات هو المادة البادئة لجوتامين وبرولين ٨٣
سيرين يبنى من ٣ـ فوسفوجليسرات ٨٤
سيرين هى المادة البادئة لجليسين ٨٤

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى للسستئين يتم بعدة مسارات ٨٥
البناء الحيوى للأحماض الأمينة الأساسية يتم بمسارات معقدة ٧٨
فينايل ألانين وتيروزين وتربتوفان تبنى بمسار عام يشمل شيكمات وكوريسمات كمركبات وسيطة ٨٧
الهستيدين يبنى من الادينوزين ثلاثى الفوسفات وفوسفوريبوزيل بيروفوسفات والجلوتامين ٩٢
البناء الحيوى للأحماض الأمينية ينظم بالتثبيط بالتغذية المرتدة وبتغيير تركيز الانزيمات ٩٢
البورفوينات تبنى من جليسين وسكنايل مرافق إنزيمى A ٩٤
البورفوينات تتراكم فى الأنسجة وسوائل الجسم نتيجة لبعض الأمراض الوراثية فى أيض البورفورينات ٩٦
بليروبن هو المركب الوسيط فى إنحلال الهيم ٩٧
المراجع ٩٨
تمارين ١٠٠
فصل ٢١ : البناء الحيوي للنيوكليوتيدات ١٠٢
حلقة البيورين تبنى من الأحماض الأمينية ومشتقات رباعى هيدروفولات وثانى أكسيد الكربون ١٠٤
٥- فوسفوريبوزيل -١ بيروفوسفات هو مصدر وحدة فوسفات الريبوز فى النيوكليوتيدات ١٠٥
البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيورين يبدأ بالريبوز ٥- فوسفات الذى يبنى عليه حلقة البيورين ١٠٥
الأدينوزين أحادى الفوسفات (AMP) والجوانوزين أحادى الفوسفات يتكونا من الأينوسين أحادى الفوسفات (IMP) ١٠٨
قواعد البيورين الناتجة من عمليات الهدم يعاد استخدامها ثانية فى بناء النيوكليوتيدات ١١٠

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيورين ينظم بالتثبيط بالتغذية المرتدة ١١١
حلقة البيريميدين تبين من الإسبارتات وكارباميل فوسفات ١١٢
الأوروتات تتحصل على ريبوز فوسفات من فوسفور ريبوزيل بيروفوسفات ١١٣
البناء الحيوى للنيوكليوتيدات ثنائية وثلاثية الفوسفات ١١٤
سايتدين ثلاثى الفوسفات (CTP) يتكون من يوريدين ثلاثى الفوسفات بتفاعل أمينه (إدخال مجموعة أمين) ١١٥
البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيريميدين ينظم بالتثبيط بالتغذية المرتدة ١١٥
دى أوكسى ريبونيوكليوتيدات تتكون باختزال الريبونيوكليوتيدات ثنائية الفوسفات ١١٧
دى أوكسى ثيميديلات يتكون بميثله دى أوكس يوريديلات ١١٩
بعض مثبطات البناء الحيوى لدى أوكس ثايميديلات تستخدم كعقاقير مضادة للسرطان ١١٩
البيورينات تتفكك إلى حمض اليوريك فى الإنسان ١٢١
البيورينات تتفكك إلى مدى أبعد من حمض اليوريك فى بعض الكائنات ١٢٣
الانتاج الزائد لحمض اليوريك (اليورات) يسبب مرض النقرس فى الإنسان ١٢٤
تمارين ١٢٩

الجزء الرابع: التعبير الجزيئى ونقل المعلومات الوراثية

فصل ٢٢ : حمض دى أوكسى ريبونيوكليك

التركيب والوظيفة الوراثية

حمض دى أوكسى ريبونيوكليك هو الجزىء الحامل للمعلومات الوراثية ١٣٦

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

حمض دى أوكسى ريبونيوكليك هو الجزىء الحامل للمعلومات الوراثية فى بعض الفيروسات	١٣٦
نموذج الحلزون المزدوج لحمض دى أوكسى ريبونيوكليك	١٣٧
حمض دى أوكسى ريبونيوكليك جزىء عملاق وطويل	١٣٨
بعض جزيئات DNA تكون حلقية	١٣٩
جزيئات DNA الحلقية يمكن أن تتواجد فى صور ذات التفاف مفرط (فائق)	١٤٠
الكروموسوم عبارة عن جزىء DNA مُفرد (أحادى)	١٤١
DNA فى الخلايا مميزة النواة يرتبط بقوة ببروتين قاعدى يُدعى هستون	١٤٣
النيوكليوسومات هى الوحدات المتكررة فى الكروماتين	١٤٤
النيوكليوسوم هو المرحلة الأولى فى تكاثف DNA	١٤٦
الخلايا مميزة النواة تحتوى أيضاً على DNA سيتوبلازمى	١٤٧
بعض البكتريا تحتوى على DNA أيضاً فى صورة بلازميد وعناصر وراثية متحركة أخرى	١٤٩
الجين عبارة عن جزىء من DNA الذى يشفر لسلسلة عديد الببتيد أو RNA	١٥٠
يوجد عدد كبير من الجينات فى الكروموسوم الواحد	١٥١
حجم الجين	١٥٢
DNA البكتيرى يحتوى على نمط معين من القواعد المميثلة التى تقوم بحمايته من إنزيمات النيوكلينر	١٥٢
DNA فى الخلايا مميزة النواة يحتوى على بعض الأجزاء الساكنة وعلى تتابعات تتكرر عدد كبير من المرات	١٥٤
عدد كبير من جينات الخلايا مميزة النواة يتخللها أجزاء غير مترجمة تُعرف بالانترونات	١٥٦

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

إنزيمات restriction endonuclease ساهمت بدوركبير في تحديد
تتابع القواعد في جزيئات DNA ١٥٧
المراجع ١٦١
تمارين ١٦٣
فصل ٢٣ : تكرر حمض دى أوكس ريبونيوكليك ١٦٥
سلسلتى DNA يعملا كقالب (مصبغ) فى عملية تكرر DNA ١٦٦
تكرر DNA يتم بطريقة نصف محافظة ١٦٧
البناء الإنزيمى لجزىء DNA: اكتشاف إنزيم بلمرة DNA ١٧٠
إنزيم بلمرة DNA يأخذ التعلميات من القالب ١٧٢
بكتريا القولون تحتوى أيضاً على اثنين من إنزيمات بلمرة DNA
الأخرى ١٧٣
إنزيم البلمرة الثالث عبارة عن تجمع من سبع وحدات عديد ببتيد ١٧٥
تكرر DNA فى بكتريا القولون ١٧٦
عملية التكرر تبدأ عند مواضع محددة تعرف بأصول التكرر ١٧٦
DNA الحلقى يتكرر فى اتجاهين ١٧٧
أحد خيطى DNA تبنى بطريقة غير مستمرة ١٧٩
عملية التكرر تحتاج أولاً إلى فصل فيزيائى لسلسلة DNA ١٨١
البناء الحيوى لـDNA يحتاج إلى RNA بادىء ١٨٣
إنزيم DNA Ligase يربط اجزاء DNA ١٨٥
بعض البروتينات الخاصة الأخرى تمنع تشابك (التواء) DNA ١٨٧
الأحداث الجزئية لتكرر DNA فى بكتريا القولون ١٨٩
إنزيمات بلمرة DNA تصحح الأخطاء فى DNA ١٨٩
الأضرار التى تحدث فى DNA يتم إصلاحها بصورة مستمرة ١٩٢
تكررDNA فى الخلايا مميزة النواة يماثل من الناحية الأساسية تكرار
DNA فى الخلايا أولية النواة ١٩٥

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

DNA فى الخلايا مميزة النواه يتكرر فى اتجاهين عند عد كبير من
المواضع ١٩٥
الخلايا مميزة النواه تحتوى على ثلاثة أنواع من إنزيمات بلمرة DNA ١٩٧
المراجع ١٩٩
تمارين ٢٠١
فصل ٢٤ : النسخ: بناء RNA على DNA القالب ٢٠٣
RNA الرسول هو حامل المعلومات الوسيط فى بناء البروتين ٢٠٤
دراسات التهجين أوضحت أن القواعد فى RNA تكون متتامة مع
القواعد فى DNA المصيغ (القالب). ٢٠٥
جزيئات RNA الريبوسومية وجزيئات RNA الناقلة تبنى أيضاً
على DNA القالب ٢٠٧
كل جزيئات RNA فى الخلايا أولية النواة تبنى بواسطة نوع واحد
من انزيمات بلمرة RNA (RNA بوليمريز) ٢٠٨
إنزيم بلمرة RNA من بكتريا القولون يتألف من وحدات فرعية ٢٠٩
عملية النسخ تتم فى ثلاثة مراحل: البدء ـ الإستطالة ـ الإنهاء ٢١٠
إنزيم بلمرة RNA يميز تتابع بدء خاص على DNA القالب يعرف
بموضع بدء الحفر ٢١٠
الوحدة الفرعية سجما (σ) تمكن إنزيم بلمرة RNA من التعرف
على تتابع بدء الحفر ٢١٢
البروتينات المنظمة تؤثر على بدء النسخ بالارتباط بالقوب أو خلال
موضع بدء الحفر. ٢١٣
الوحدة الفرعية سجما (σ) تتفصل من الإنزيم بعد تكوين رابطة
الفوسفات ثنائية الإستر الأولى حيث يقوم قلب الإنزيم بعملية
الإستطالة ٢١٣

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البروتين nusA يرتبط بقلب إنزيم بلمرة RNA أثناء الإستطالة والإنهاء ٢١٤
DNA القالب يحتوى على إشارات إيقاف تنهى عملية النسخ ٢١٥
أحد خيطى DNA فقط يعمل كقالب لبناء RNA فى كل جين ٢١٧
ثلاثة أنواع مختلفة من إنزيمات بلمرة RNA تقوم ببناء جزيئات RNA فى مميزة النواة ٢١٨
عدد كبير من جزيئات RNA تعدل كيميائياً بعد النسخ ٢١٩
جزيئات mRNA التى تتكون بواسطة إنزيم البلمرة II فى الخلايا مميزة النواه يتم تعديلها عند كلا الطرفين ٢٢٢
المناطق غير المشفرة (الانترونات) فى النسخ الأصلية لجزيئات RNA الرسول يتم إزالتها إنزيمياً. ٢٢٤
إنزيمات الوصل المتراكب تزيل الانترونات من نسخ RNA الأصلية ٢٢٦
DNA يتم نسخه من جزيئات RNA الفيروسية بالنسخ العكسى (المضاد) ٢٢٦
بعض جزيئات RNA الفيروسية تتضاعف بواسطة إنزيم بلمرة RNA المُوجَّه من RNA ٢٢٩
عملية النسخ (بناء RNA) تثبط بواسطة بعض المضادات الحيوية ٢٣٠
تحديد تتابع القواعد فى RNA ٢٣١
المراجع ٢٣٣
التمارين ٢٣٣
فصل ٢٥ : البناء الحيوى للبروتين ٢٣٩
الكودون عبارة عن تتابع محدد من ثلاث قواعد ٢٤٠
البناء الحيوى للبروتين يتم فى خمس خطوات رئيسية ٢٤٢
جزيئات tRNA ضرورية لتنشيط الأحماض الأمينية وتحديد تتابعها فى سلسلة عديد الببتيد ٢٤٣

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تنشيط الأحماض الأمينية يتم بارتباطها بجزيئات RNA الناقلة بواسطة انزيمات Synthetases متخصصه ـــــــــ ٢٤٥
التعرف على الكودون يتم بواسطة الشفرة المضادة وليس بالحمض الأميني النشط ـــــــــ ٢٤٧
الريبوسومات هي العضيات التي يبنى عليها البروتين ـــــــــ ٢٤٨
عملية البدء تحدد هيكل القراءه لبناء البروتين ـــــــــ ٢٥٠
استطالة سلسلة عديد الببتيد تتم بالإضافة المتكررة لأمينو أسايل ـ tRNA ـــــــــ ٢٥٢
إنهاء بناء سلسلة عديد الببتيد يحتاج إلى إشارة خاصة ـــــــــ ٢٥٤
عدد من الريبوسومات قد تقوم بترجمة جزيء mRNA فردى ـــــــــ ٢٥٦
عدد كبير من البروتينات يتم تعديلها بعد الترجمة ـــــــــ ٢٥٦
البناء الحيوى للبروتين يثبط بواسطة عدد كبير من المضادات الحيوية ٢٥٨
الطفرات الوراثية تنتج من التغير في تركيب المادة الوراثية ـــــــــ ٢٥٨
الريبوسومات المرتبطة بالشبكة الإندوبلازمية تبنى بروتينات الغشاء والبروتينات المفرزة خارج الخلية ـــــــــ ٢٦٢
الخلايا مميزة النواه تحتوى على نوع واحد من الريبوسومات ـــــــــ ٢٦٤
تتابعات الإشارة تمكن البروتينات المفرزة من عبور غشاء الشبكة الأندوبلازمية ـــــــــ ٢٦٤
جسيمات إشارة التعارف تعمل كمنظمات سلبية لترجمة البروتينات المفرزة ـــــــــ ٢٦٧
البروتينات المتكونة على الشبكة الإندوبلازمية الخشنة توجه إلى مواضع تواجدها خلال جهاز جولجي ـــــــــ ٢٦٨
البروتينات الخلوية تهدم وتستبدل ببروتينات حديثة التكوين ٢٦٩
تفكك البروتينات والتحكم في مستوى الإنزيمات ٢٧٠

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

التفكيك الإنتقائى للبروتينات غير الطبيعية ٢٧٢
الخلايا مميزة النواه تحتوى على اثنين من أنظمة تفكك البروتين ٢٧٣
الليسوسومات تفكك البروتينات بطريقة غير انتقائية ٢٧٤
النظام الستيوسولى المعتمد على ATP يفكك البروتينات بطريقة انتقائية ٢٧٥
المراجع ٢٧٩
التمارين ٢٨١
فصل ٢٦ : تنظيم التعبير الچينى ٢٨١
كروموسوم بكتريا القولون ٢٨٦
بعض إنزيمات البكتريا يتم استحثاث بناءها ٢٨٧
نظرية الأوبرون ٢٨٨
الأدينوزين أحادى الفوسفات الحلقى يستحث نسخ عدد من الأوبرونات القابلة للإستحثاث الأيضى الهدمى : ٢٨٩
الصور المختلفة لنفس البروتين تنشط وتثبط النسخ لاوبرون الأرابيوز ٢٩٢
الخلايا أولية النواه لها القدرة أيضاً على إيقاف بناء البروتينات ٢٩٣
نظام معقد الكابح ـ المشغِّل يمثل العنصر الأول للتحكم فى نسخ أبرون التربتوفان ٢٩٤
بناء التربتوفان ينظم أيضاً بواسطة الإبطاء «التوهين» ٢٩٥
التوهين ينجز بواسطة ترجمة القائد ٢٦٩
تنظيم التعبير الجينى فى الكائنات مميزة النواه ٢٩٧
ميكانيكات تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النواه يختلف عن أولية النواه ٢٩٩
تكاثف DNA غير النشط فى الهيتروكروماتين ٢٩٩
بعض جينات مميزة النواه يتم تضخيمها : تضخم الجين ٣٠١
جينات معينة يمكن تنشيطها لعملية النسخ : التنشيط الجينى الإنتقائى ٣٠٣

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الحساسية لإنزيمات النيوكلييز تميز مناطق الكروماتين النشطة ٣٠٥
نشاط الجين يرتبط أيضاً بالميثلة المنخفضة لـ DNA ٣٠٦
بدء النسخ يتم بوساطة عوامل خلوية متخصصة التى تعمل على مواضع تقدم الحفز والمعززات ٣٠٧
التحكم الموجب للتعبير الجينى بواسطة الهورمونات الإسترويدية: تأثير المعزز وثبات DNA الرسول. ٣٠٨
التحكم فى الترجمة فى مميزة النواه ٣١٠
التحكم فى الترجمة: بناء الهيوجلوبين بواسطة الهيم. ٣١١
المراجع ٣١٥
التمارين ٣٢٥

ملحق (أ)

الثوابت الفيزيائية وتحويل الوحدات ٣٢٧

ملحق (ب)

الأعداد الذرية وأوزان العناصر ٣١٩

ملحق (جـ)

قيم الـ PK لبعض الأحماض ٣٢١

ملحق (د)

أطوال الروابط القياسية ٣٢٣
إجابة التمارين ٣٢٥

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الجــزء الثالث

البناء الحيوى للجزيئات البيولوجية

Biosynthesis of Biomolecules

* البناء الحيوى للكربوهيدرات
* البناء الحيوى لليبيدات
* البناء الحيوى للأحماض الأمينية
* البناء الحيوى للنيوكليوتيدات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

سوف ننتقل الآن من دراسة أيض الخلية الخاص بتوليد الطاقة إلى الأيض البنائى الخاص ببناء الجزيئات البيولوجية. فقد أوضحنا فى الفصول السابقة تفكك جزيئات الوقود: الكربوهيدرات والأحماض الدهنية والأحماض الأمينية فى مسارات الهدم لتوليد الطاقة فى صورة ATP وNADPH. الأيض البنائى من ناحية أخرى يقوم بتحويل المواد الأولية البسيطة المستمدة من البيئة أو الناتجة من عمليات الأيض الهدمى إلى الوحدات البنائية للجزيئات الكبيرة، والطاقة اللازمة لهذا التحول تستمد من ATP وNADPH. ثم تقوم تفاعلات الأيض التالية بربط الوحدات البنائية مع بعضها لتكوين الجزيئات البيولوجية الكبيرة. وتتم عمليات البناء والهدم فى نفس الوقت فى ظروف حركية مستقرة بحيث تتوازن عمليات الأيض المنتجه للطاقة مع عمليات البناء لعناصر الخلية.

هناك بعض الإختلافات الأساسية بين عمليات الهدم وعمليات البناء التى يجب الإشارة إليها: أولا أن مسار البناء لأحد الجزيئات ليس مماثلا كلية لمسار تفككه. فالمساران المتضادان قد يشتركان فى تفاعل أو اكثر ولكن هناك على الأقل خطوة إنزيميه مختلفة فى المسارين، وثانيا تنظم مسارات البناء بإنزيمات غير وضعية (الوستيريه) مختلفة عن إنزيمات مسار الهدم المقابل. وثالثا فإن مسارات البناء تحتاج إلى طاقة والتى تستمد من تحلل ATP بينما مسارات الهدم تكون منتجة للطاقة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى للكربوهيدرات

Biosynthesis of Carbohydrates

يعالج هذا الفصل موضوع البناء الحيوى للمواد الكربوهيدراتية المختلفة. عرضنا فى الفصل السابق البناء الحيوى للجلوكوز من ثانى أكسيد الكربون والماء فى عملية البناء الضوئى فى النباتات الخضراء، وكذلك البناء الحيوى للمواد الكربوهيدراتية النباتية المهمة: السكروز والنشا والسليلوز. كذلك نجد أن الحيوانات لها القدره أيضا على بناء الجلوكوز ولكن من مواد أولية بسيطة غير كربوهيدراتيه مثل البيروفات. ويعتبر البناء الحيوى للجلوكوز فى الحيوانات الراقية ضرورياً بصوره مطلقه وذلك لأن بعض الأنسجه خاصة المخ وخلايا الدم الحمراء تعتمد بدرجة كبيرة على الجلوكوز كجزئ وقود. تبنى أيضا المواد الكربوهيدراتية الأخرى من مواد أولية بسيطة التى تتحول أولا إلى جلوكوز، وأهم هذه المواد هى الجلايكوجين الذى يخزن فى الكبد والعضلات، واللاكتوز الذى يبنى فى الغدة الثديه mommary gland. ويعتبر تكوين الجلوكوز من البروبيونات من العمليات النشطه فى الحيوانات المجتره مثل الأبقار، فالبروبيونات وهى الناتج الرئيسى لعملية التخمر فى المعدة الأولى تمتص بواسطة الحيوانات المجترة حيث يتم تحويلها إلى الجلوكوز والمواد الكربوهيدراتية الأخرى.

الجلوكوز يمكن أن يُبنى من مواد أولية غير كربوهيدراتية

سوف نبدأ دراستنا لبناء المواد الكربوهيدراتية ببناء الجلوكوز من مواد أولية غير

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

كربوهيدراتيه وهى العملية التى يطلق عليها تكوين سكر جديد أو الجلوكونيوجنسيس gluconeogenesis. يعتبر هذا المسار الأيضى على درجة كبيرة من الأهمية للحيوانات الراقية وذلك لأن بعض الأنسجة خاصة المخ تعتمد على الجلوكوز كجزئ وقود رئيسى، فيحتاج المخ فى الشخص البالغ إلى حوالى ١٢٠ جرام جلوكوز يوميا والتى تمثل معظم كميه الجلوكوز التى يحتاجها الجسم (١٦٠ جرام). ونظراً لأن كميه الجلوكوز المخزنة فى صورة جلايكوجين (حوالى ١٩٠ جرام) تكفى لإمداد الجسم لمده يوم واحدة تقريبا، فإنه اثناء الصيام أو التجويع لفترة طويلة يكون من الضرورى تكوين الجلوكوز من مصادر غير كربوهيدراتية. ويعتبر تكوين الجلوكوز من مصادر غير كربوهيدراتية مهما أيضا اثناء المجهود العضلى المكثف.

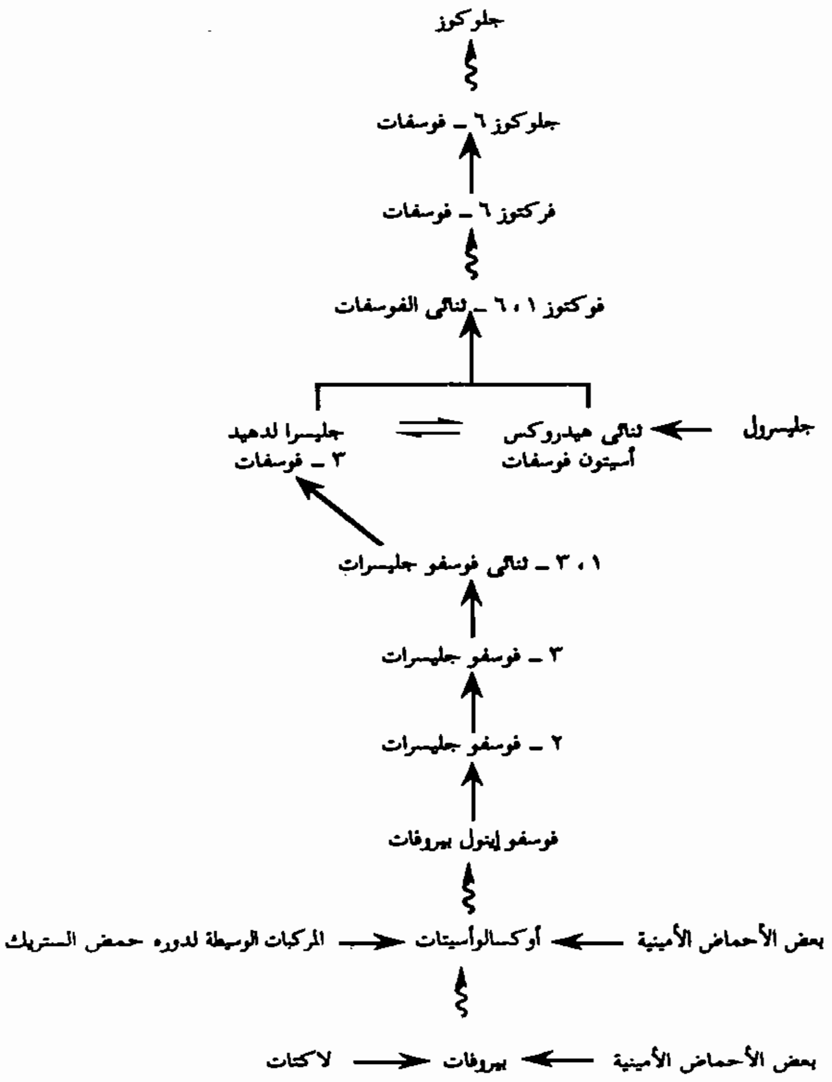
أهم المواد الأولية غير الكربوهيدراتية المستخدمة فى تكوين الجلوكوز هى اللاكتات والأحماض الأمينية والجليسرول والمركبات الوسيطه فى دوره حمض الستريك. فنجد أن اللاكتات تتكون فى العضلات الهيكلية النشطه عندما يكون معدّل الانحلال السُّكَّرى أكبر من معدّل دورة حمض الستريك وسلسلة التنفس. بينما تشتق الأحماض الأمنية من بروتين المادة الغذائية أو من تفكك البروتينات فى العضلات أثناء الصيام. أما تحلل ثلاثى أسايل الجليسرول فى الخلايا الدهنية ينتج الجليسرول والأحماض الدهنية. ويعتبر الجليسرول ماده بادئة للجلوكوز، بينما لا تتحول الأحماض الدهنية إلى جلوكوز فى الحيوانات لأسباب ذكرت من قبل.

النباتات أيضا لها القدرة على بناء الجلوكوز من مصادر غير كربوهيدراتية مثل الأحماض الأمينية والأحماض الدهنية خاصة فى البذور أثناء فترة الإنبات.

يقوم مسار الجلوكونيوجنسيس بتحويل البيروفات إلى جلوكوز، وتعتبر البيروفات والأوكسالوأسيتات وثنائى هيدروكسى أسيتون فوسفات مواضع دخول المواد المختلفة التى يمكن أن تتحول إلى جلوكوز (شكل ١٨ ـ ١)

الموضع الرئيسى لمسار الجلوكونيوجنسيس فى الحيوانات هو الكبد، ولكنه يتم أيضا فى قشرة الكلية cortex of kidney، مع ذلك فإن الكمية التى تتكون فيها تبلغ عشر الكميه

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ١٨ ـ ١

مسار الجلوكونيوجنسيس ـ التفاعلات المميزة لهذا المسار معلمه بالأسهم (~) التفاعلات الأخرى مماثلة لتلك المشتركه فى مسار الإنحلال السكّرى. توجد إنزيمات الجلوكونيوجنسيس فى السيتوسول ما عدا إنزيم Pyrurate carboxylase (فى الميتوكونوريا) وإنزيم glulose 6 - phosphatase (يوجد مرتبطا بالشبكة الإندوبلازمية endo-plasmic reticulum).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المتكونة فى الكبد، ونسبة صغيرة من الجلوكونيو جنسيس تتم أيضا فى المخ والعضلات الهيكلية وعضلات القلب. الجلوكونيو جنسيس فى النباتات تتم أساساً فى البذور أثناء فترة الإنبات حيث تتحول الأحماض الأمينية والدهون إلى جلوكوز ثم إلى سكروز الذى ينتقل إلى الأجزاء المختلفة ليستخدم فى توليد الطاقة وبناء الخلايا الجديدة.

الجلوكونيوجنيس ليست المسار الإنعكاسى للإنحلال السُكَّرى

فى الانحلال السُكَّرى يتحول الجلوكوز إلى البيروفات، فى الجلوكونيوجنسيس من ناحية أخرى تتحول البيروفات إلى الجلوكوز، ومع ذلك فإن الجلوكونيو جنسيس ليست مسار إنعكاسى للانحلال السُكَّرى. فتكوين الجلوكوز من البيروفات يحتاج إلى مسار مختلف وذلك لان الاتزان فى الأنحلال السُكَّرى يكون فى إتجاه تكوين البيروفات. فالتغير فى الطاقه الحره لتكوين البيروفات من الجلوكوز يبلغ ـ ٢٠ كيلو سعر/ مول تحت الظروف الخلوية. ونجد أن معظم الانخفاض فى الطاقة الحرة فى مسار الإنحلال السُكَّرى يتم فى ثلاثة خطوات غير إنعكاسية تحفز بواسطة إنزيمات pyruvate kinase و phosphofructokinase و hexokinase

$$\text{Glucose + ATP} \xrightarrow{\text{hexokinase}} \text{glucose 6-phosphate + ADP}$$

$$\text{Fructose 6-phosphate + ATP} \xrightarrow{\text{phosphofructokinase}} \text{fructose 1,6 - diphosphate + ADP}$$

$$\text{Phosphoenolpyruvate + ADP} \xrightarrow{\text{Pyruvate kinase}} \text{Pyruvate + ATP}$$

هذه التفاعلات غير الانعكاسية الثلاثة فى مسار الانحلال السُكَّرى لا يمكن تشغيلها فى الجلوكونيوجنسيس، لذلك يجب عبور هذه الخطوات الثلاثة فى الجلوكونيو جنسيس والذى يتم بواسطة الخطوات الجديده التالية:

١ ـ يتكون فوسفو اينول بيروفات من البيروفات بإثنين من التفاعلات المتعاقبة، فى التفاعل الأول يتم كربكسلة البيروفات إلى الأوكسالوأسيتات باستخدام طاقة ATP. ثم تزال بعد ذلك مجموعة الكربوكسيل من أوكسالو أسيتات لينتج فوسفو إينول بيروفات

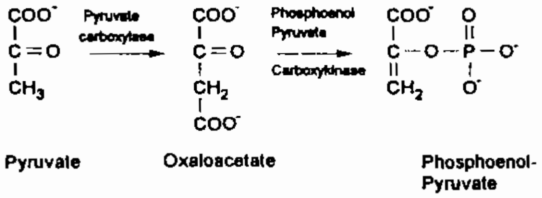
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

باستخدام رابطة فوسفات أخرى غنية بالطاقة. يتم التفاعل الأول فى الميتوكوندريا بينما التفاعل الثانى يتم فى السيتو سول.

$$Pyruvate + CO_2 + ATP + H_2O \rightleftharpoons Oxaloacetate + ADP + Pi + 2H^+$$

$$Oxaloacetate + GTP \rightleftharpoons phosphoenolpruvate + GDP + CO_2$$

يُحفز التفاعل الأول بانزيم Pyruvate Carboxylase والثانى بواسطه انزيم phos- phoenolpyruvate carboxykinase .



ومجموع هذين التفاعلين هو:

$$Pyruvate + ATP + GTP + H_2O \rightleftharpoons phosphoenolpyruvate + ADP + GDP + P_i + 2H^+$$

الطاقة الحرة لتكوين فوسفو إينول بيروفات من البيروفات بهذا المسار تساوى + ٢, كيلو سعر/ مول، بالمقارنة بـ + ٧,٥ كيلو سعر/ مول للتفاعل الذى يحفز بانزيمpyruvate Kinase.

الأوكسالو أسيتات لا تستطيع بذاتها عبور الغشاء الداخلى للميتوكوندريا إلى السيتوسول، وللتغلب على هذه المشكلة فإن الأوكسالواسيتات تتحول إلى المالات التى تعبر غشاء الميتوكوندريا إلى السيتوسول حيث تتاكسد هناك إلى الأوكسالواسيتات ومن ثم تتحول الى فوسفواينول بيروفات.

أوكسالوأسيتات ⟵ مالات ⟵‖⟵ مالات ⟵ أوكسالواسيتات

الميتوكوندريا — سيتوسول

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢ ـ يتكون فركتوز ٦ـ فوسفات من فركتوز ١،٦ـ ثنائى الفوسفات بتحلل رابطه استر الفوسفات على ذره الكربون الأولى، ويحفز هذا التفاعل إنزيم-fructose 1,6 - di-phosphatase .

$$\text{Fructose 1,6 - diphosphate} + H_2O \longrightarrow \text{Fructose 6 - phosphate} + Pi$$

٣ ـ يتكون الجلوكوز من جلوكوز ٦ ـ فوسفات بتفاعل يُحفز بإنزيم- glucose 6 phosphatase .

$$\text{Glucose 6-phosphate} + H_2O \longrightarrow \text{glucose} + Pi$$

سته روابط فوسفات غنية بالطاقة تُستهلك فى تكوين الجلوكوز من البيوفات

المعادلة الإجمالية لتكوين الجلوكوز من البيروفات هى:

$$2\ \text{Pyruvate} + 4\ ATP + 2\ GTP + 2\ NADH + 2\ H_2O \longrightarrow$$

$$\text{Glucose} + 4\ ADP + 2\ GDP + 6\ P_i + 2\ NAD^+$$

$$\Delta G^{o\prime} = -9\ \text{Kcal/ mol}$$

بالمقارنه فإن المعادلة الاجماليه للمسار العكسى للانحلال السُّكَّرِى هى:

$$2\ \text{Pyruvate} + 2\ ATP + 2\ NADH + 2\ H_2O \longrightarrow$$

$$\text{Glucose} + 2\ ADP + 2P_i + 2\ NAD^+$$

$$\Delta G^{o\prime} = +20\ \text{Kcal/ mol}$$

لاحظ استهلاك سته روابط فوسفات غنية بالطاقة فى تكوين الجلوكوز بمسار الجلوكونيو جنسيس، بينما يتولد جزئيين ATP من تحول الجلوكوز إلى بيروفات فى مسار الإنحلال السُّكَّرِى. وعلى ذلك فإن مسار الجلوكونيو جنسيس يستهلك أربعة روابط فوسفات إضافية غنية بالطاقة بالمقارنة بالمسار العكسى للانحلال السُّكَّرِى. هذه الروابط الإضافية تكون ضرورية لتحول العملية الغير ممكنه من ناحية الطاقة (المسار العكسى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

للانحلال السكرى، $\Delta G^{\circ\prime}$ = + ٢٠ كيلو سعرا/ مول) إلى عملية ممكنة (الجلوكونيو جنسيس $\Delta G^{\circ\prime}$ = − ٩ كيلو سعرا/ مول).

الجلوكونيو جنسيس والانحلال السُكَّرى يتم تنظيمهما بصوره متبادلة

يوجد تناسق فى تنظيم مسار الجلوكونيو جنسيس والانحلال السُكَّرى بحيث يكون أحداهما غير نشط عندم يكون المسار الآخر نشطاً. فإذا تم تشغيل المسارين فى نفس الوقت فإن النتيجة النهائيه هو إنحلال أربعة روابط فوسفات غنية بالطاقة (جزيئان ATP وجزيئان GTP) لكل دورة تفاعل دون أى عائد أيضى. فكل من الجلوكونيو جنسيس والانحلال السُكَّرى عمليات يصاحبها إنفراد طاقة ولذلك فليس هناك حاجز حركى حرارى لهذين المسارين. بدلا من ذلك فإنه يتم تنظيم المسارين عن طريق التحكم فى نشاط بعض الانزيمات فى المسارين بطريقة عكسية والذى يضمن عدم تنشيط أو تثبيط المسارين فى نفس الوقت. مثال ذلك AMP ينشط انزيم phosphofructokinase بينما يُثبط إنزيم fructose 1,6 - diphosphatase. السترات من ناحيه أخرى لها تأثير عكسى على هذين الانزيمين. ولذلك فإن فسفره الفركتوز ٦ ــ فوسفات وهى الخطوة المحددة لمعدَّل الأنحلال السُكَّرى تزداد عندما تكون شحنه الطاقة فى الخلية منخفضة، وعكس ذلك هو تحلل فركتوز ١ ،٦ ــ ثنائى الفوسفات وتنشيط الجلوكونيو جنسيس عند ارتفاع شحنه الطاقة فى الخليه. يتم أيضا تنظيم نشاط الانزيمين pyruvate kinase و pyruvate carboxylase بطريقة عكسية. فينشط إنزيم pyruvate kinase بواسطة فركتوز ١ ،٦ ــ ثنائى الفوسفات بينما يثبط بواسطة ADP. انزيم pyruvate carboxylase من ناحيه أخرى يُنشَّط بواسطة أسيتايل مرافق انزيمى A ويثبط بواسطة ADP.

المركبات الوسيطة فى دوره حمض الستريك ومعظم الأحماض الأمينية تمثل مواد بادئة لبناء الجلوكوز

بالإضافة إلى البيروفات التى تتحول إلى جلوكوز بمسار الجلوكونيو جنسيس فإن المركبات الوسيطه فى دوره حمض الستريك يمكن ان تتحول أيضا إلى جلوكوز. وكل هذه المركبات تتأكسد أولا بتفاعلات دوره حمض الستريك إلى أوكسالوأسيتات الذى يتحول

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

إلى فوسفوإينول بيروفات (شكل ١٨ ـ ١). مع ذلك فإن ثلاثة ذرات كربون فقط فى كل من هذه المركبات الوسيطة يمكن ان تتحول الى جلوكوز.

والجدير بالذكر أن أسيتايل ـ CoA لا يمثل مادة بادئه لتكوين الجلوكوز فى الحيوانات حيث أن أسيتايل ـ CoA لا يمكن ان يتحول الى البيروفات. ولذلك فإنه تحت الظروف الطبيعية لا يكون هناك تحول نهائى للاحماض الدهنية ذات العدد الزوجى من ذرات الكربون إلى جلوكوز حيث ان مثل هذه الأحماض الدهنية تُنتج فقط أسيتايل ـ CoA عند اكسدتها.

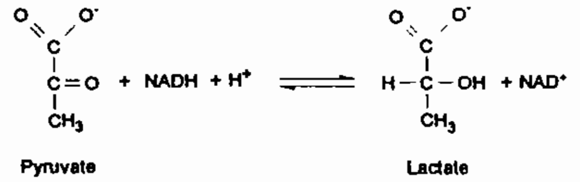
كما اوضحنا فى فصل ١٦ فإن بعض أو كل ذرات الكربون لعدد كبير من الأحماض الأمينية تتحول فى النهاية إمّا الى بيروفات أو بعض المركبات الوسيطة فى دورة حمض الستريك. ومثل هذه الأحماض الأمينية يمكن أن تتحول بذلك إلى جلوكوز ثم إلى جلايكوجين ويطلق عليها الأحماض الأمينية الجلوكوجينية glucogenic amino acids. ومن الأمثلة الواضحة لذلك هو ألآنين وجلوتامات وأسبارتات التى تتحول بتفاعل نزع مجموعة الأمينو إلى بيروفات و α ـ كيتوجلوتارات وأسبارتات على التوالى. وهذه المواد الثلاثة يمكن أن تتحول إلى فوسفو إينول بيروفات بواسطة التفاعلات السابق ذكرها.

اللاكتات التى تتكون بواسطة العضلات المنقبضة تتحول إلى جلوكوز بواسطة الكبد

اللاكتات التى تتكون بواسطة العضلات الهيكلية النشطة تُعتبر من المواد الأولية الأساسية للجلوكونيوجنسيس. فتحت ظروف الإنقباض المكثف للعضلات الهيكلية يكون معدّل تكوين البيروفات من الانحلال السُكّرى أكبر من معدّل أكسدة البيروفات فى دورة حمض الستريك لعدم توفر الأكسجين بكميات مناسبة. والنتيجة الأيضية لذلك هو أن معدّل تكوين NADH من الانحلال السُكّرى فى العضلات النشطه يكون اكبر من معدّل أكسدته بسلسلة التنفس. إستمرار الإنحلال السُكّرى من ناحية أخرى يعتمد على توفر NAD^+ لأكسدة جليسرالدهيد ٣ـ فوسفات، ويتم توليد NAD^+ تحت

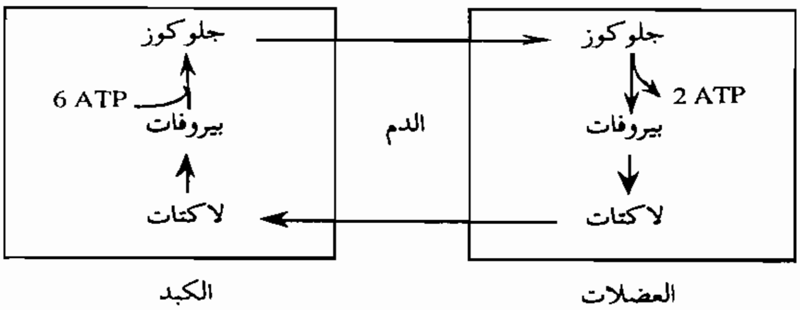
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

هذه الظروف بواسطة إنزيم lactate dehydrogenase الذى يؤكسد NADH إلى NAD^+ فى تفاعل اختزال البيروفات إلى اللاكتات.



تُمثّل اللاكتات نهاية مسدودة فى الأيض، ولذلك يجب تحويلها ثانية إلى البيروفات قبل تمثيلها. فالغرض الوحيد من إختزال البيروفات إلى اللاكتات هو توليد NAD^+ اللازم لإستمرار الإنحلال السُكّرى فى العضلات الهيكلية النشطة.

تنفذ اللاكتات من العضلات الهيكلية النشطة إلى الدم الذى يحملها إلى الكبد، وهناك تتأكسد اللاكتات إلى بيروفات فى سيتوسول خلايا الكبد الذى يحتوى على نسبة منخفضة من $NADH / NAD^+$. تتحول البيروفات بعد ذلك إلى جلوكوز فى الكبد بمسار الجلوكونيوجنسيس، ثم يُحمل الجلوكوز الناتج بواسطة الدم إلى العضلات الهيكلية. وهذه الدورة التى تعرف بدورة كورى Cori Cycle (شكل ١٨ ـ ٢) تعمل بذلك على نقل جزء من الأحمال الأيضية من العضلات إلى الكبد.



شكل ١٨ ـ ٢

دورة كورى. اللاكتات المتكونة بواسطة العضلات الهيكلية النشطة تتحول إلى جكوز فى الكبد

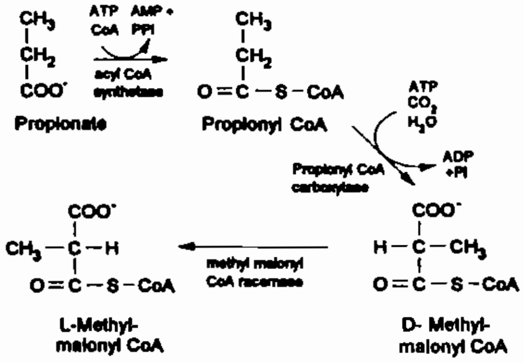
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الجلوكونيوجنسيس من العمليات النشطة فى الحيوانات المجترة:

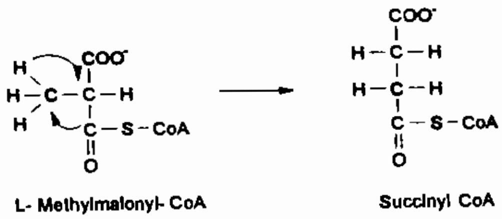
يعتبر تكوين الجلوكوز من حمض البروبيونيك (البروبيونات propionate) بمسار الجلوكونيوجنسيس من العمليات النشطة فى الحيوانات المجترة ruminant animals. ففى الحيوانات المجترة (مثل الأبقار) يتعرض الغذاء النباتى لتخمر بكتيرى فى المعدة الأولى ru-men حيث تتعاون أنواع مختلفة من البكتريا فى تفكيك المكونات النباتية المختلفة خاصة السليلوز الذى لا يتحلل بإنزيمات الهضم التى تفرز بالحيوانات. فتقوم بكتريا المعدة الأولى بتفكيك الروابط الجليكوسيدية β (١ ←٤) فى جزيئات السليلوز وتكوين الجلوكوز الحر، ثم تستمر البكتريا أيضا فى تخمر كل الجلوكوز الناتج تقريبا وتكوين أسيتات ولاكتات وبروبيونات وبيوترات ونواتج أخرى. كيف يمكن إذاً للأبقار الحصول على الجلوكوز وهو ضرورى ليس فقط كجزئ وقود للمخ ولكن أيضا كمادة بادئة لبناء سكر اللاكتوز أثناء فترة إضرار اللبن.

الإجابة على هذا السؤال تتلخص فى إعتماد الحيوانات المجترة على مسار الجلوكونيوجنسيس الذى يتم بمعدل كبير فى كبد هذه الحيوانات. فاللاكتات الناتجة من عملية التخمر فى المعدة الأولى تمتص وتحمل بواسطة الدم إلى الكبد حيث تتحول إلى الجلوكوز بنفس المسار الذى شرح من قبل. والبروبيونات وهى الناتج الثانى لعملية التخمر تمتص وتنقل إلى الكبد حيث يتم أيضا تحويلها إلى جلوكوز بمسار يوجد فى الحيوانات المجترة والحيوانات غير المجترة. فى هذا المسار تتحول البروبيونات أولا إلى بروبيونايل مرافق إنزيمى - A (propionyl CoA) بواسطة إنزيم acyl CoA synthetase. وفى الخطوة التالية تدخل مجموعة كربوكسيل فى بروبيونايل مرافق إنزيمى - A ويتكون D - ميثايل مالونايل مرافق إنزيمى A (D-methylmalonyl CoA).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



D - ميثايل مالونايل مرافق انزيمى A يتحول فى الخطوة التالية إلى المتشكّل L - ميثايل مالونايل مرافق إنزيمى A. وأخيرا فإن L - ميثايل مالونايل مرافق إنزيمى A يتحول إلى سكسنايل مرافق إنزيمى A بهجرة المجموعة (-C-S-CoA) إلى مجموعة الميثايل وتبادلها مع ذرة هيدروجين. يحفز هذا التفاعل إنزيم methylmalonyl CoA mutase الذى يستخدم فيتامين ب١٢ كمرافق إنزيمى.



سكسنايل مرافق إنزيمى A يمكن أن يتحول إلى جلوكوز بتحوله أولاً إلى أوكسالوأسيتات ثم فوسفوإينول بيروفات.

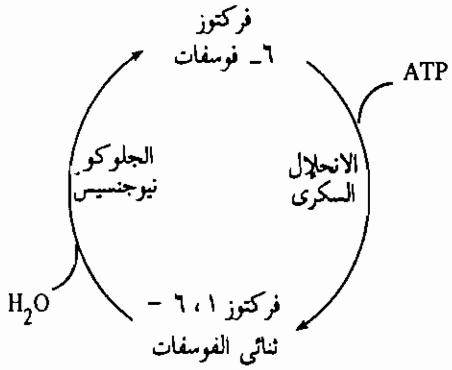
سكسنايل مرافق إنزيمى A ← أوكسالواسيتات ← فوسفوانيول بيروفات ← جلووز

دورات المواد الخاضعة تستخدم فى تكبير الإشارات الأيضية وتوليد الحرارة

زوج التفاعلات الممثل بفسفرة فركتوز ٦ ـ فوسفات إلى فركتوز ١، ٦ ـ ثنائى

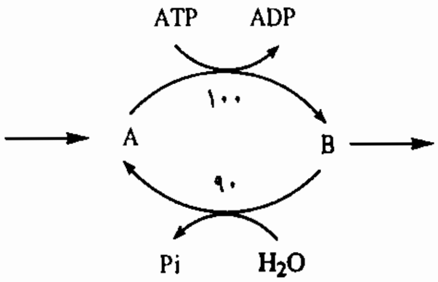
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الفوسفات وتحلله ثانية إلى فركتوز ٦ ـ فوسفات يُعرف بدورة المواد الخاضعة substrate cycle. وكما ذكرنا من قبل، فإن تنشيط التفاعلين لا يتم فى نفس الوقت فى معظم الخلايا نتيجة للتنظيم الألوستيرى المتضاد. مع ذلك فقد دلت التجارب التى استخدم فيها مركبات معلمة بالنظائر حدوث فسفرة للفركتوز ٦ ـ فوسفات أثناء الجلوكونيوجنسيس. وتتم هذه الدورة أيضا فى أزواج التفاعلات غير الإنعكاسية الأخرى ولكن بمعدّل أقل.

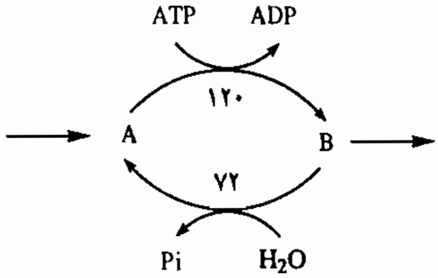


ولقد اعتقد فى بادئ الأمر أن هذه الدورات تمثل تحكم أيضى غير تام، ولذلك أطلق عليها سابقا دورة غير ذى جدوى futile cycle. إلا أنه اتضح فيما بعد أن دورات المواد الخاضعة لها أهمية بيولوجية كبيرة. وأحد المهام المقترحة لدورات المواد الخاضعة هو قيامها بتكبير الإشارات الأيضية metabolic signals. فإذا افترضنا أن معدّل تحول المادة A إلى المادة B يساوى ١٠٠ ومعدل تحول A إلى B يساوى ٩٠ فإن التدفق النهائى يساوى ١٠ فى إتجاه تكوين B. وإذا افترضنا الآن أن أحد المؤثرات الألوستيريه يزيد معدّل A ← B بمقدار ٢٠٪ ليصبح ١٢٠، ويخفض معدّل B ← A بمقدار ٢٠٪ ليصبح ٧٢، فإن التدفق النهائى يكون ٤٨ (١٢٠ ـ ٧٢ = ٤٨)، وعلى ذلك فإن التغير فى معدّل التفاعلين المتضادين بمقدار ٢٠٪ يؤدى إلى زياده التدفق النهائى بمقدار ٤٨٠٪ (٤٨ ÷ ١٠ × ١٠٠ = ٤٨٠٪). وهذا التكبير يتم بتحلل ATP (شكل ١٨ ـ ٣).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



التدفق النهائى للمركب B = ١٠



التدفق النهائى للمركب B = ٤٨

شكل ١٨ ـ ٣

أحد الأمثلة لدورة المادة الخاضعة التى تُشغّل بمعدّلين مختلفين.فالتغير الصغير فى معدل التفاعلين المتضادين يؤدى إلى تغير كبير فى التدفق النهائى للناتج B .

الدور البيولوجى الآخر لدورات المواد الخاضعة هو توليد الحرارة بتحلل ATP . وأحد الأمثلة لهذه الدورات يوجد فى بعض الحشرات مثل النحلة الطنانة bumble bee . فلا يمكن لهذه الحشرة من الطيران فى الطقس البارد إلا إذا إرتفعت درجة حرارة عضلاتها إلى حوالى ٣٠ °م، والذى يتم بدورة المواد الخاضعة للفركتوز ٦ ـ فوسفات والفركتوز ١ ، ٦ ثنائى الفوسفات مع توليد الحرارة من تحلل ATP . ويعتقد أيضا أن دورة توليد الحرارة تتم فى بعض أنواع الحيوانات التى تدخل فى سبات شتوى عندما تكون درجة حرارة أجسامها أقل من الطبيعى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

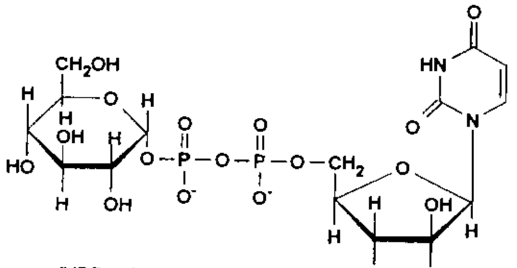
البناء الحيوى للجلايكوجين يتم بمسار مختلف عن مسار تفككه

يُمثِّل الجلايكوجين glycogen الصورة التى يتم بها خزن الجلوكوز فى الحيوانات. والجلايكوجين عبارة عن مبلْمر polymer كبير متفرع يحتوى على وحدات متكررة من الجلوكوز التى ترتبط ببعضها فى الأصل بالروابط الجلايكوسيدية α (١←٤)، بينما توجد الروابط الجلايكوسيدية α (١←٦) بين وحدات الجلوكوز فقط فى مناطق التفرع. يتم بناء الجلايكوجين فى الحيوانات تقريبا فى معظم الأنسجة ولكنه يكون سائد فى الكبد والعضلات الهيكلية.

ولقد أوضح لويس ليلور Luis Leloir ومساعده فى عام ١٩٥٧ أن بناء الجلايكوجين يتم بمسار مختلف عن مسار تفككه. فالمادة المانحة لوحدات الجلوكوز هى يوريدين ثنائى الفوسفات ـ جلوكوز uridine diphosphate glucose(UDP-glucose) وليس جلوكوز ١ـ فوسفات، فتفاعل البناء ليس عكس تفاعل التفكك.

البناء: $(glycogen)_n + UDP\text{-}glucose \rightarrow (glycogen)_{n+1} + UDP$

التفكك: $(glycogen)_{n+1} + P_i \rightarrow (glycogen)_n + glucose\ 1\text{-}phosphate$



(UDP - glucose)

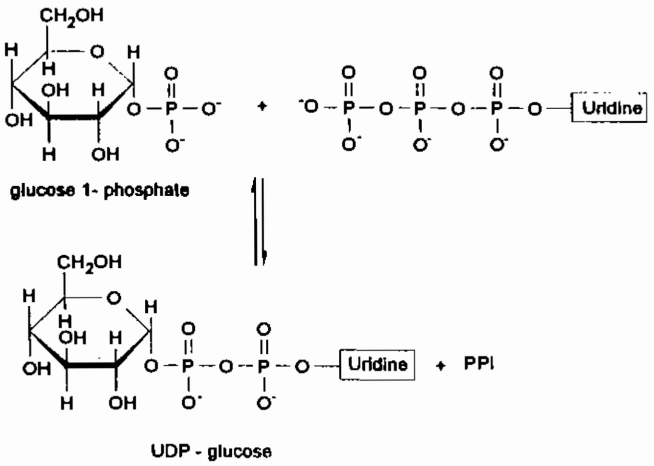
اليوريدين ثنائى الفوسفات ـ جلوكوز هو صورة منشطة للجلوكوز

يُمثِّل UDP ـ جلوكوز ـ وهو المركب المانح لوحدة الجلوكوز فى البناء الحيوى للجلايكوجين ـ صورة منشطة للجلوكوز، مثل ATP وأسيتايل مرافق إنزيمى ـ A التى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تُمثل صور مُنشّطة للفوسفات والأسيتات على التوالى. فتنشّط ذرة الكربون الأولى فى وحدة الجلوكوز فى UDP ـ جلوكوز نتيجة لأسترة مجموعة الهيدروكسيل فيها مع وحدة ثنائى الفوسفات فى UDP.

يُبنى UDP ـ جلوكوز من جلوكوز ١ ـ فوسفات واليوريدين ثلاثى الفوسفات uridine triphosphat (UTP) فى تفاعل يُحفز بإنزيم UDP-glucose Pyrophosphorylase. والبيروفوسفات المتحررة من هذا التفاعل تشتق من مجموعتى الفوسفات الطرفيه فى UTP.



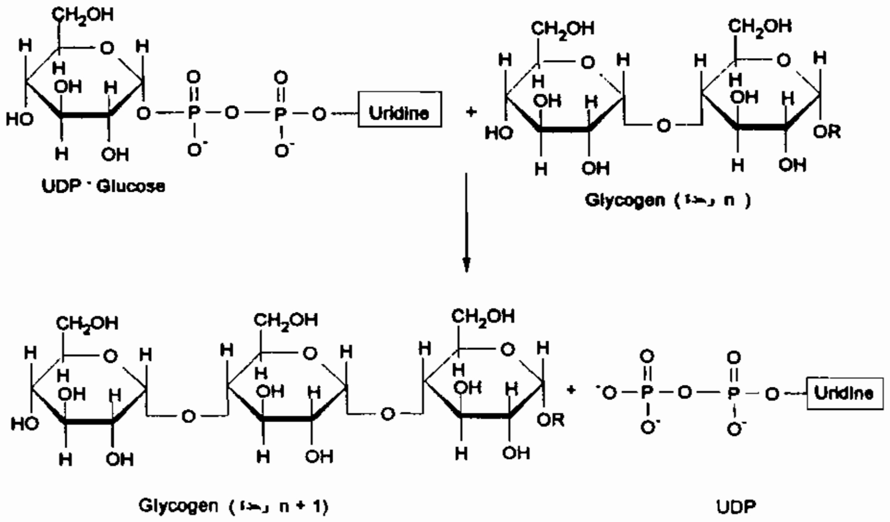
بالرغم من أن هذا التفاعل انعكاسى فإنه يُدفع إلى تكوين UDP ـ جلوكوز بتحلل البيروفوسفات بواسطة إنزيم pyroophosphatase. وتفاعل تكوين UDP ـ جلوكوز يمثل سمات متكررة فى مسارات الأيض، الذى يتضمن أولا تحلل البيروفوسفات فى دفع عدد كبير من تفاعلات البناء، والثانى دور المشتقات السكرية للنيوكليوسيدات ثنائية الفوسفات كمانحات لوحدات السكر فى البناء الحيوى للسكريات الثنائية وعديدات السكر.

إنزيم بناء الجلايكوجين يحفز نقل الجلوكوز من UDP - جلوكوز إلى سلسلة الجلايكوجين النامية

UDP ـ جلوكـوز هو المانح المباشر لوحـدات الجلوكوز فى البنـــاء الحيوى

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

للجلايكوجين. فيقوم إنزيم بناء الجلايكوجين glycogen synthetase بنقل وحدة الجلوكوز من UDP ـ جلوكوز إلى الطرف غير المختزل لسلسلة الجلايكوجين النامية. وفى هذا التفاعل تتكون رابطة جلايوسيدية α (١←٤) بين ذرة الكربون الأولى فى الجلوكوز القادم وذرة الكربون الرابعة لوحدة الجلوكوز الطرفى فى سلسلة الجلايكوجين النامية (شكل ١٨ ـ ٤). يحتاج إنزيم glycogen synthetase إلى سلسلة بادئة primer من عديد الجلوكوز تحتوى على الأقل على أربع وحدات جلوكوز التى تتكون بإنزيم بناء آخر.



شكل ١٨ ـ ٤

استطالة سلسلة الجلايكوجين بواسطة إنزيم glycogen synthetase. تُنقل وحدة الجلوكوز من UDP ـ جلوكوز إلى الطرف غير المختزل لسلسلة الجلايكوجين النامية.

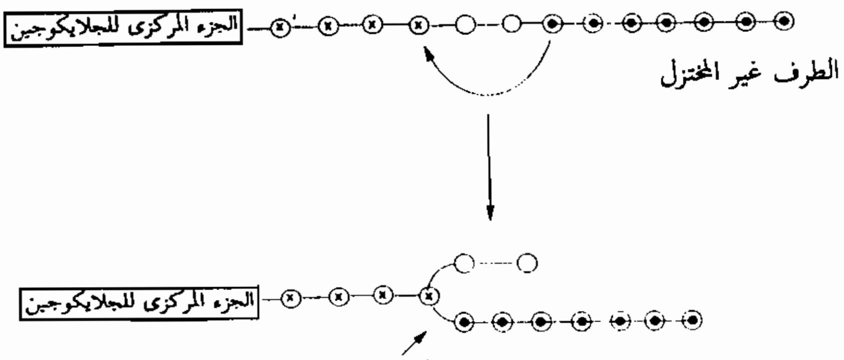
أحد إنزيمات التفرُّع يكوِّن الرابطة الجلايكوسيدية α (١←٦)

يحفز إنزيم glycogen synthetase فقط تكوين الرابطة الجلايوسيدية α (١←٤)، لذلك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يحتاج بناء الجلايكوجين إلى إنزيم آخر لتكوين الروابط الجلايكوسيدية α (١←٦) والتى تجعل الجلايكوجين جزيئاً متفرعاً. ويعتبر التفرع مهماً لأنه يزيد ذوبانية الجلايكوجين، بالإضافة إلى ذلك فإن ينشئ عدداً كبيراً من النهايات غير المختزلة التى تمثل مواضع تأثير إنزيمى glycogen phosphorylase و glycogen synthetase. وعلى ذلك فإن التفرع يزيد معدل بناء الجلايكوجين وتفككه.

يقوم إنزيم تفرُّع الجلايكوجين glycogen - branching enzyme بنقل مجموعة من ستة أو سبعة جزيئات جلوكوز من الطرف غير المختزل من أحد أفرع جزئ الجلايكوجين الذى يحتوى على الأقل على ١١ وحدة جلوكوز إلى ذرة الكربون السادسة لأحد وحدات الجلوكوز فى نفس الفرع أو فرع آخر وبذلك تنشأ نقطة تفرع جديدة (شكل ١٨ ـ ٥).



شكل ١٨ ـ ٥

تكوين فرع جديد بواسطة إنزيم التفرع أثناء بناء الجلايكوجين

الإنزيمات المشتركة فى بناء وتفكك الجلايكوجين يتم تنظيمها بطريقة عكسية

أوضحنا سالفا أن تنظيم تفكك الجلايكوجين يتم بواسطة التعديل التساهمى لإنزيم التحلل الفوسفورى للجلايكوجين glycogen phosphorylase. فإنزيم phosphory-

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

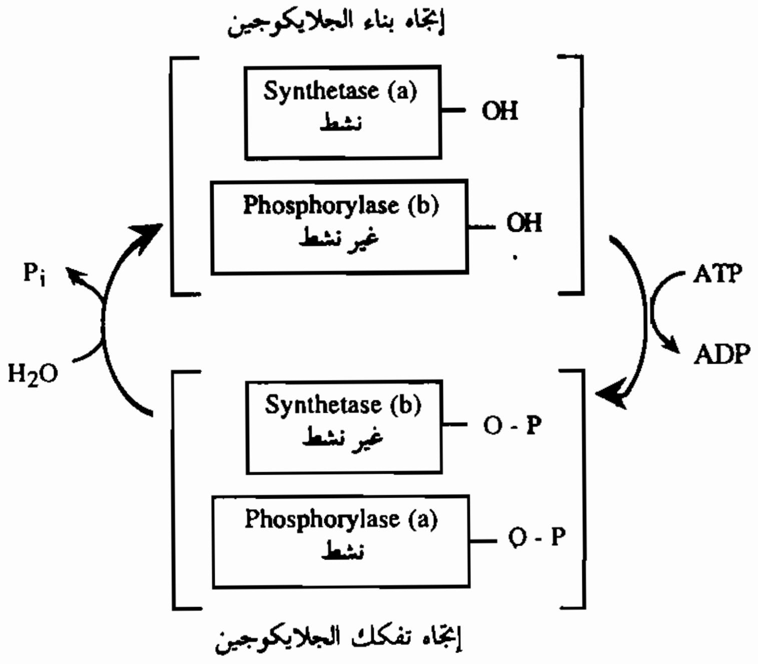
lase (b) وهو الصوره غير الفعّالة للإنزيم يتحول إلى الصورة الفعّالة phosphorylase (a) بفسفرة الحمض الأمينى سيرين فى الإنزيم، ويتم هذا التحول بواسطة إنزيم phosphor-ylase Kinase. من ناحية أخرى يتحول phosphorylase (a) النشط إلى الصورة غير النشطة Phosphorylase (b) بواسطة phosphorylase phosphatase الذى ينشط بواسطة cAMP.

يوجد أيضا إنزيم glycogen synthetase فى صورة مُفسفرة وصورة غير مُفسفرة ولكنه ينُظّم بطريقة عكسية لتنظيم إنزيم glycogen phosphorylase. فالصورة المفسفرة وهى glycogen synthe tase (a) تكون نشطة، وتتحول إلى الصورة غير النشطة glyco-gen synthetase (b) بإزالة مجموعة الفوسفات بواسطة protein kinase.

إنزيم glycogen phosphorylase وإنزيم glcogen synthetase ينظمان إذن بطريقةعكسية، فعندما ينشط أحدهما يثبط الآخر (شكل ١٨ ـ ٦). ويظهر من ذلك أن هذين الإنزيمين لا يكونان نشيطين سوياً فى نفس الوقت.

التوازن بين بناء وتفكك الجلايكوجين فى الكبد يتم تنظيمه باثنين من الهورمونات هما الإدرينالين adrenaline الذى يفرز من لب الكظر adrenal medulla وهرمون الجلوكاجون glucagon الذى يفرز بواسطة البنكرياس Pancreas. ويعمل هذان الهورمونان على تنظيم نسبة الصورة النشطة إلى الصورة غير النشطة للإنزيمان، فيُشجع هورمون الإدرينالين تفكك الجلايكوجين فى الكبد والعضلات وذلك بزيادة نسبة phos-phorylase (a) إلى phosphorylase (b) ولكنه يخفض فى نفس الوقت نسبة synthetase (a) إلى synthetase (b). وبالرغم من أن هورمون الجلوكاجون له نفس التأثير النهائى إلاّ أن تأثيره يتم بمسار مختلف.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (١٨ ـ ٦)

التنظيم العكسى للإنزيمات glycogen synthetase و glycogen phosphorylase بواسطة عملية الفسفرة وإزالة الفسفرة. فتؤدى عملية الفسفرة إلى تثبيط الإنزيم الأول وتنشيط الإنزيم الثانى. إزالة الفسفرة من ناحية أخرى تؤدى إلى تنشيط الإنزيم الأول وتثبيط الإنزيم الثانى.

بعض الأمراض الوراثية فى أيض الجلايكوجين أمكن التعرُّف عليها

أمكن التعرف على بعض الأمراض الوراثية فى أيض الجلايكوجين التى تنتج عن نقص فى أحد الإنزيمات المشتركة فى مسار بناء أو تفكك الجلايكوجين. أولى هذه الأمراض هو النوع الأول (type I) اكتشف عام ١٩٢٩ بواسطة Von Gierke ، وفى هذا المرض تكون بطن المصابين متضخمة نتيجة لكبر حجم الكبد، بالإضافة إلى ذلك فإن مستوى الجلوكوز فى الدم لا يرتفع بالحقن بهورمون الجلوكاجون. ولقد أمكن الكشف عن نقص إنزيم glucose 6-phosphatase فى كبد هؤلاء المرضى. فالخلل فى هذا الإنزيم

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يؤدى إلى نقص سكر الدم hypoglycemia نتيجة لعدم تكوين الجلوكوز من جلوكوز ٦ ـ فوسفات، وهذا السكر المفسفر لا يترك الكبد لعدم نفاذه من غشاء البلازما. والنتيجة النهائية لذلك هو وجود الجلايكوجين فى الكبد بكمية كبيرة وكذلك زيادة معدّل الإنحلال السُكّرِى مع زيادة مستوى اللاكتات والبيروفات فى الدم.

ومعروف فى الوقت الحاضر أكثر من أثنى عشر مرض وراثى مرتبطة ببناء أو تفكك الجلايكوجين، كل منها يرجع إلى نقص إنزيم محدد فى مسار التفكك أو البناء (جدول ١٨ ـ ١).

جدول ١٨ ـ ١

أمراض أيض الجلايكوجين

الإنزيم الناقص	Type
Glucose 6-phosphatase	I
α (1 ← 4) glucosidase	II
Debranching enzyme	III
Branching enzyme	IV
Muscle phosphorylase	V
Liver phosphorylase	VI
Muscle phosphoFructokinase	VII
Liver phosphorylase Kinase	VIII

البناء الحيوى لسكر اللاكتوز

تحتوى معظم أنسجة الفقاريات على إنزيم galactosyltransferase، الذى يحفز نقل سكر الجلاكتوز إلى N - أسيتايل جلوكوز أمين N-acetylglucose amine.

UDP-galactose + N - acetylglucose amin →

UDP + galactosyl - N - acetylglucose amine

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويمثل هذا التفاعل أحد خطوات البناء الحيوى للجزء الكربوهيدراتى فى الجلايكوبروتينات glycoproteins، إلا أن الجالاكتوز يُمثل أيضا مادة بادئه فى بناء سكر اللاكتوز فى الغدة الثديية المفرزة للبن. فى هذه الغدة يشترك أيضا إنزيم galactos-ytransferase فى بناء سكر اللاكتوز بطريقة غير عادية، فعند بدء إفراز اللبن يتغير تخصص هذا الإنزيم فى الغدة الثديية حيث يقوم بنقل سكر الجالاكتوز المرتبط باليوريدين ثنائى الفوسفات (UDP) إلى الجلوكوز لتكوين اللاكتوز.

UDP-galactose + glucose → UDP + lactose

وهذا الإنزيم الجديد يُدعى lactose synthase.

ويتم التغير فى تخصص إنزيم galactosyltransferase بارتباطه ببروتين الفالاكتو البيومين α - lactoalbumin وتكوين المتراكب lactoalbamin - galactosyltransfe-rase أى lactose synthase. وبروتين الفالاكتوالبيومين الذى يعتبر محوّر إنزيمى en-zyme modifier يتكون فى الغدة الثديية تحت تأثير الهورمونات المُستحثة لإضرار اللبن.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

Bent, H. A.: Energy and Exercise," J. Chem. Ed., Vol. 55, nos. 7 - 12, July - December (1978)

Coon, E. E., P. K. Stumpf, G. Breuning, and R. H. Doi: Outlines of Biochemistry, (5th ed.), John Wiley os sons, New York, 1987.

Cunningham, E. B.: Biochemistry: Mechanisms of Metabolism, McGraw-Hill, New York, 1978.

Dickens, F., P. J. Randle, and W. J. Whelan (eds.): Carbohydrate Metabolism and Its Disorders. Vols. I and II, Academic, New York, 1973.

Fletterick, R. J., and N. B., Madsen: The Structure and Related Functions of Phosphorylase a. Ann. Rev. Biochem. 49: 31 - 61 (1980).

Hanson, R. W., and M. A. Mehlman (Eds.): Gluconeogensis Its Rogulation in Mammalian Species. New York, Wiley, 1976.

Hers. H. G.: The Control of Glycogen Metabolism in the Liver. Ann. Rev. Biochem. 45: 167 - 190 (1976).

Howell,R. R.: "The Glycogen Storage Diseases," in J. B. Stanbury, I. B. Wyngaarden. and D. S. Frederickson (eds.), The Metabolic Basis of Inherited disease, 4th ed., McGraw-Hill, New York, 1978.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Katz, J., and R. Rognstad: "Futile Cycles in the Metabolism of Glucose," Curr. Top. Cell Regul., 10: 238 - 287 (1976).

Lehninger, A. L.: Principles of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

Metzler, A.: Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells, Academic Press, New York, 1977.

Newsholme, E. A., and B. Crabtree: Substrate Cycles in Metabolic Regulation and in Heat Generation. Biochem. Soc. symp 41: 61 - 109, 1976.

Newsholme, E. A., and C. Start: Regulation in Metabolism, Wiely, New York, 1973.

Strayer, L.: Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

stumpf, P. K., and E. E. Conn (eds.): The Biochemistry of Plants, Vol. 4, Academic Press, New York, 1981.

Wood, W. B., J. H. Wilson, R. M. benbow, and L. E. Hood: Biochemistry: A Problems Approach, Benjamin, Mcnlo Park, Calif, 1974.

Zubay, G. (Coord. author): Biochemistry, Addison-Wesley, Reading, Mass., 1983.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تماريـــن

١ـ أجب عن الجمل التالية بصح أو خطأ ـ وإذا كانت خطأ إشرح لماذا؟

(أ) عمليات البناء الحيوى تنتج ATP و NADPH.

(ب) عندما ينتج PP_i فى تفاعل بناء فى الخلية فإنه يتحلل إلى 2 Pi وبذلك يُنتج ٦ كيلو سعر / مول إضافية.

(جـ) مسار الهدم والبناء لبعض الأيضات يكون متماثل. إتجاه التدفق فى هذه المسارات ينظم ببساطة بواسطة الإمداد أو الإحتياج عند أى من نهايتى المسار.

(د) فى عديد من مسارات البناء فإن الخطوة الأخيرة تُحفز بواسطة إنزيم مُنظم الذى يُثبط بواسطة ناتج تفاعله وهو الناتج النهائى للمسار.

(هـ) المؤثر التنظيمى cAMP له تأثير عكسى على تفكك وبناء الجلايكوجين.

(و) المواد البادئة لبناء الكربوهيدرات فى الخلايا الحيوانية يمكن أن تكون البيروفات، أسيتايل -CoA أو أى من المركبات الوسيطة فى دوره حمض الستريك.

٢ ـ أكتب المعادلة الإجمالية لتكوين الجلوكوز من أسيتايل -CoA فى الخلية البكتيرية التى تحتوى على إنزيمات دوره الجلايكسلات glyoxalate cycle.

٣ ـ هل من الممكن الحصول على تكوين نهائى للجلوكوز من البيروفات إذا تم تثبيط كل من دوره حمض الستريك والفسفرة المصاحبة للأكسدة بصورة تامة.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٤ ـ مستخلص كبدى له القدرة على القيام بتفاعلات الأيض الطبيعية حُضن فى تجربتين منفصلتين مع أحد المادتين البادئين التاليين المعلمان بالكربون ١٤

1- ^{14}C- Pyruvate ^{14}C- Biocarbonate

تتبع مسار كل مادة بادئة خلال الجلوكونيوجنسيس. وضّح موضع ^{14}C فى كل المركبات الوسيطة وفى الناتج النهائى (الجلوكوز).

٥ ـ ما هو تأثير زيادة تركيز ATP و AMP على النشاط الحفزى لإنزيمى fructose diphosphatase و phosphofructokinase ؟ ما هى النتيجة المنطقية لتأثير ATP و AMP على التدفق النسبى للأيضات خلال مسار الجلوكونيوجنسيس والإنحلال السُكرى؟

٦ ـ وضح بالتفاعلات الإنزيمية المعروفة أى من المواد التالية تعتبر مواد جلوكوجينية glu-cogenic

(أ) $^{-}ooC - CH_2 - CH_2 - Coo^{-}$ سكسنات

(ب) $CH_2OH - CHOH - CH_2OH$ جليسرول

(جـ) $CH_3 - \overset{O}{\overset{\|}{C}} - S - CoA$ أسيتايل - CoA

(د) $CH_3 - CH_2 - CH_2 - Coo^{-}$ بيوترات

٧ ـ أكتب المعادلة المتزنة لتكوين الجلايكوجين مِن الجالاكتوز.

٨ ـ أكتب المعادلة المتزنة لتكوين الجلوكوز من الفركتوز فى الكبد.

٩ ـ حضنت عينة من الجلايكوجين المستخلصة من مريض بأحد أمراض الكبد مع الأرثوفوسفات، إنزيم phosphorylase، إنزيم transferase و debranching en-

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

zyme. وجد أن نسبة جلوكوز ١ ـ فوسفات إلى الجلوكوز المتكون فى هذا المخلوط تكون ١٠٠. ما هو نوع الخلل الإنزيمى الأكثر احتمالا فى هذا المريض؟

١٠ ـ أعطى تفسيراً لزيادة كمية الجلايكوجين فى مرض أيض الجلايكوجين النوع I (Von Gierkess disease).

١١ ـ عندما يقوم الشخص الطبيعى بمجهود عضلى مكثف يحدث إرتفاع سريع فى مستوى اللاكتات فى الدم وبعد نهاية المجهود العضلى يحدث إنخفاض بطئ فى مستوى اللاكتات.

(أ) ما هو سبب الإرتفاع السريع فى اللاكتات؟

(ب) ما هو سبب الإنخفاض فى مستوى اللاكتات بعد الإنتهاء من المجهود العضلى؟ لماذا يكون الإنخفاض فى مستوى اللاكتات أكثر بطئا عن الإرتفاع فى مستواها؟

(جـ) لماذا لا يكون مستوى اللاكتات صفر أثناء حالة الإسترخاء؟

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى لليبيدات

Biosynthesis of Lipids

يعتبر البناء الحيوى لثلاثى أسايل الجليسرولات من عمليات الأيض النشطة فى الحيوانات والنباتات ذات البذور الزيتية لمقدرتها على تخزين ثلاثى أسايل الجليسرولات بكميات كبيرة. فالإنسان مثلا له قدرة محدودة فى تخزين الجلايكوجين بينما يستطيع تخزين كمية كبيرة من ثلاثى أسايل جليسرول التى تُمثِّل مخْزون لطاقة الأيض. الفوسفوجليسريدات والأسفنجوليبيدات والكولستيرول وهى مكونات أساسية للأغشية البيولوجية تُبنى بصورة مستمرة بواسطة الحيوانات لدخول هذه الأغشية فى تحول أيضى metabolic turnover، ففترة نصف حياة الليبيدات الفوسفورية فى أغشية خلايا كبد الفأر أقل من ثلاثة أيام.

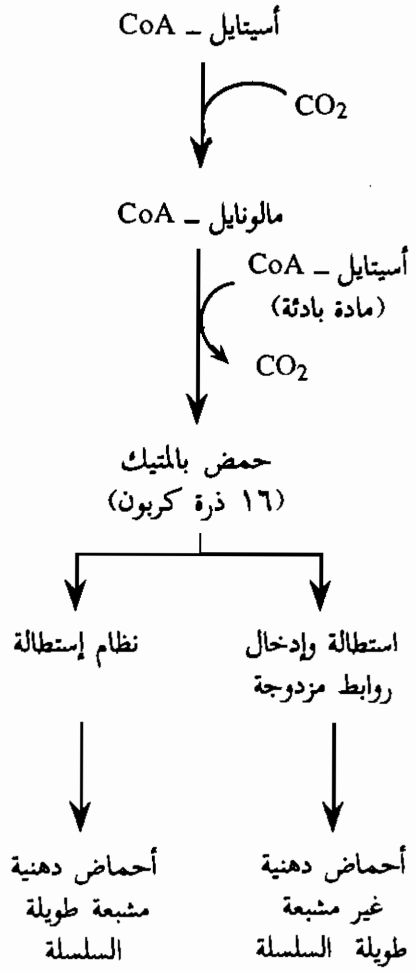
سنبدأ هذا الفصل بشرح البناء الحيوى للأحماض الدهنية، وهى الوحدات البنائية الأساسية فى ثلاثى أسايل الجليسرولات والليبيدات القطبية، ثم ننتقل بعد ذلك إلى البناء الحيوى لثلاثى أسايل جليسرول والليبيدات الفوسفورية والكولستيرول.

بناء الأحماض الدهنية يتم بمسار مختلف عن مسار تفككها

بالرغم من أنه ظل يُعتقد لفترة طويلة أن بناء الأحماض الدهنية طويلة السلسلة يتم بمسار إنعكاسى لتفاعلات تفككها بالأكسدة بيتا، إلا أنه معروف فى الوقت الحالى أن بناء

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الأحماض الدهنية يتم بمسار مختلف. وأهم خصائص مسار بناء الأحماض الدهنية (شكل ١٩ ـ ١) هى:



شكل (١٩ - ١)

مسار بناء الأحماض الدهنية

١ ـ بناء الأحماض الدهنية يتم فى السيتوسول بينما تفككها يتم فى الميتوكوندريا.

٢ ـ المركبات الوسيطة فى مسار بناء الأحماض الدهنية تكون مرتبطة بمجموعة السلفهيدريل فى البروتين الحامل للأسايل acyl carrier protein (ACP)، بينما تكون المركبات الوسيطة فى مسار التفكك مرتبطة بالمرافق الإنزيمى A (CoA).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣ ـ عدد كبير من الإنزيمات التى تحفز بناء الأحماض الدهنية فى الكائنات الراقية توجد فى هيئة متراكب إنزيمى يدعى fatty acid synthetase ، بالمقارنة فإن إنزيمات التفكك لا تظهر فى صورة متجمعة أو متراكبة.

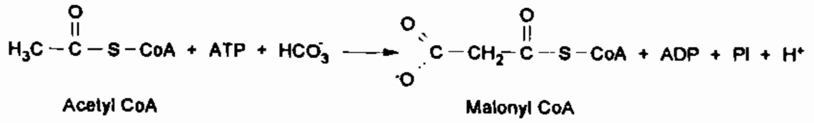
٤ ـ تستطيل سلسلة الحمض الدهنى النامى بالإضافة المتعاقبة لواحدات ثنائية الكربون التى تشتق من أسيتايل مرافق إنزيمى A. مع ذلك فإن المركب النشط المانح للوحدات ثنائية الكربون فى خطوات الإستطالة هو مالونايل ـ ACP ، حيث يدفع تحرر CO_2 التفاعل فى إتجاه البناء.

٥ ـ العامل المختزل فى بناء الأحماض الدهنية هو NADPH الذى يتكون من مسار فوسفات البنتوز أو من NADH.

٦ ـ الإستطالة التى تتم بواسطة fattyacid synthetase complex تقف عن حد تكوين حمض البالمتيك palmetic acid (١٦ ذره كربون) ، والإستطاله الإضافية أو إنشاء الروابط المزدوجة يتم بواسطة أنظمة إنزيمية أخرى.

تكوين مالونايل مرافق إنزيمى A هو الخطوة الأولى فى مسار بناء الأحماض الدهنية

بالرغم من أن مالونايل مرافق إنزيمى A (malonyl CoA) هو المادة البادئة المباشرة لمعظم الوحدات ثنائية الكربون التى تدخل فى بناء الأحماض الدهنية، فإنه يتكون من أسيتايل مرافق إنزيمى A (acetyl CoA) فى السيتوسول. وعلى ذلك فإن بناء الأحماض الدهنية يبدأ بإدخال مجموعة الكربوكسيل فى أسيتايل مرافق إنزيمى A وتكوين مالونايل مرافق إنزيمى A.



مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يحفز هذا التفاعل إنزيم acetyl CoA carboxylase الذى يحتوى على البيوتين bi-otin كمجموعة تعويضية. ويماثل هذا التفاعل تفاعل كربكسلة البيروفات فى أنه يتم فى خطوتين، فى الخطوة الأولى ترتبط مجموعة الكربوكسيل مع البيوتين المرتبط بالإنزيم بإستخدام طاقة ATP، ثم تنتقل فى الخطوة التالية مجموعة الكربوكسيل المنشطة من هذا المركب الوسيط إلى أسيتايل مرافق إنزيمى A ويتكون مالونايل مرافق إنزيمى A.

$$\text{Enzyme - biotin} + \text{ATP} + HCO_3^- \rightleftharpoons \text{enzyme - biotin} \sim CO_2 + \text{ADP} + P_i$$

$$\text{Enzyme - biotin} \sim CO_2 + \text{acetyl CoA} \longrightarrow \text{malonyl CoA} + \text{enzyme - biotin}$$

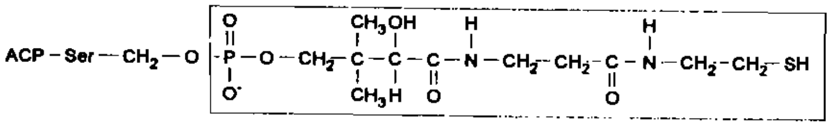
يوجد إنزيم acetyl CoA carboxylase فى الكائنات مميزة النواة فى صورة نشطة وصورة غير نشطة، والتحول الإنعكاسى بين هاتين الصورتين يمثل طريقة فعالة للتحكم فى نشاط الإنزيم. فتعمل السترات كمنشط أللوستيرى حيث تغير موضع الإتزان للإنزيم فى إتجاه الصورة النشطة. بالمقارنة فإن بالميتايل مرافق إنزيمى A (Palmityl CoA) وهو الناتج النهائى لمسار البناء يثبط تفاعل تكوين مالونايل مرافق إنزيمى A.

النظام الإنزيمى لبناء الأحماض الدهنية يحتوى على ستة إنزيمات والبروتين الحامل للأسايل

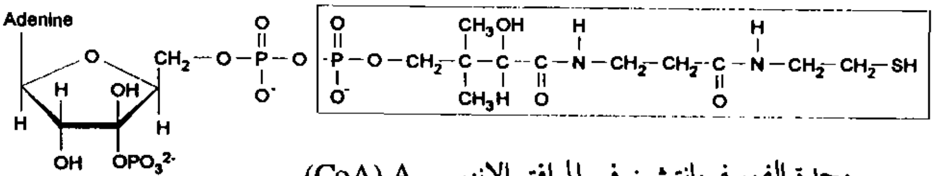
الإنزيمات التى تشتمل فى بناء الأحماض الدهنية المشبعة طويلة السلسلة من أسيتايل مرافق إنزيمى A ومالونايل مرافق إنزيمى A و NADPH تدعى نظام بناء الأحماض الدهنية fatty acid synthetase system. ويحتوى هذا النظام الإنزيمى على ستة إنزيمات والبروتين الحامل للأسايل. وكل الخلايا الحية من E. Coli إلى خلايا الكائنات الراقية يبدو أنها تبنى الأحماض الدهنية بنفس التفاعلات. مع ذلك فإن هناك إختلاف فى تركيب وتنظيم الإنزيمات التى تحفز هذه التفاعلات، ففى الكائنات الراقية توجد هذه الإنزيمات فى صورة متراكب إنزيمى multienzyme complex، بالمقارنة فإن هذه الإنزيمات فى البكتريا لا توجد فى صورة متراكب إنزيمى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البروتين الحامل للأسايل (ACP) بروتين صغير ثابت تجاه الحراره ويحتوى على ٤ ـ فوسفوبانتيثين 4 - phosphopantetheine كمجموعة تعويضية (شكل ١٩ ـ ٢). وفى الحيوانات الراقية يوجد البروتين الحامل للأسايل فى مركز المتراكب الإنزيمى، والدور الذى يقوم به البروتين الحامل للأسايل فى بناء الأحماض الدهنية يماثل الدور الذى يقوم به المرافق الإنزيمى A فى أكسدة الأحماض الدهنية. فترتبط مجموعات الأسايل الوسيطة عن طريق مجموعة (SH-) فى البروتين الحامل للأسايل أثناء تفاعلات البناء، بينما فى أكسدة الأحماض الدهنية ترتبط مجموعات الأسايل الوسيطة بالمرافق الإنزيمى A.



وحدة الفوسفوبانتيثين فى البروتين الحامل للأسايل (ACP)



وحدة الفوسفوبانتيثين فى المرافق الإنزيمى A (CoA)

شكل (١٩ ـ ٢)

مجموعة فوسفوبانتيثين هى الوحدة المنشطة فى ACP و CoA

دورة الاستطالة فى بناء الحمض الدهنى تشتمل على ستة تفاعلات

لقد ساعد فصل العناصر الإنزيمية لنظام بناء الأحماض الدهنية فى البكتريا فى معرفة خطوات بناء الأحماض الدهنية (جدول ١٩ ـ ١). ومن الثابت أن التفاعلات المشتملة فى بناء الأحماض الدهنية فى الكائنات الراقية يماثل بدرجة كبيرة تلك الموجودة فى البكتريا.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

transacylase يمكن أن ينقل مجموعات أسايل أخرى خلاف مجموعة الأسيتايل ولكن ربما بمعدّل أقل.

فى الخطوة التالية يتفاعل أسيتايل - ACP مع مالونايل - ACP ويتكون أسيتو أسيتايل - ACP ، يحفز تفاعل التكثيف هذا إنزيم acyl-malonyl - ACP condensing enzyme.

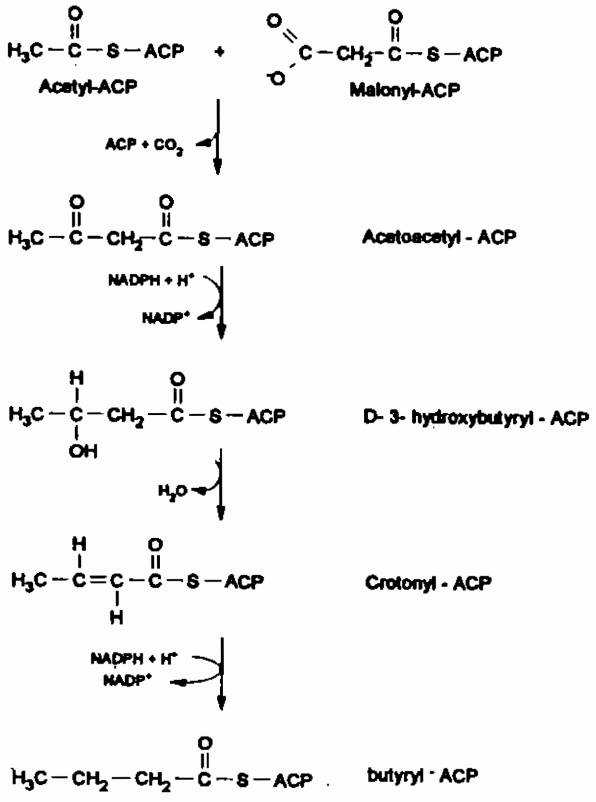
Acetyl - ACP + malonyl - ACP ⟶
acetoacetyl - ACP + ACP + CO_2

وفى هذا التفاعل تتكون وحدة رباعية الكربون من وحدة ثنائية الكربون ووحدة ثلاثية الكربون مع تحرير ثانى أكسيد الكربون. والآن نتساءل، لماذا لا يتم التفاعل بين وحدتين ثنائية الكربون؟. الإجابة على ذلك تكمن فى أن الإتزان فى بناء أسيتوأسيتايل - ACP يكون غير مناسب عند تكوينه من جزيئين أسيتايل - ACP ، بالمقارنة فإن الإتزان يكون مناسباً لتكوين أسيتوأسيتايل - ACP إذا استخدم مالونايل - ACP كأحد مواد التفاعل لأن إزالة مجموعة الكربوكسيل يشارك جوهرياً فى خفض الطاقة الحرة للتفاعل. وفى الحقيقة فإن ATP يشارك بطريق غير مباشر فى دفع تفاعل التكاثف، فيستخدم ATP فى تكوين مركب غنى بالطاقة فى تفاعل إدخال مجموعة الكربوكسيل فى أسيتايل - ACP وتكوين مالونايل - ACP. والطاقة الحرة المخزنة فى مالونايل - ACP فى تفاعل الكربكسلة تتحرر بإزالة مجموعة الكربوكسيل فى تفاعل تكوين أسيتوأسيتايل - ACP. وبالرغم من أهمية أيون البيكربونات فى بناء الأحماض الدهنية فإن ذرة كربون أيون البيكربونات لا تظهر فى الناتج النهائى، ولكن تشتق كل ذرات الكربون فى الأحماض الدهنية التى تحتوى على عدد زوجى من ذرات الكربون من أسيتايل - CoA.

الخطوات الثلاثة التالية فى بناء الأحماض الدهنية تقوم بإختزال مجموعة الكربونيل إلى مجموعة ميثيلين (- CH_2 -) (شكل ١٩ ـ ٣). تبدأ هذه التفاعلات بإختزال أسيتوأسيتايل - ACP إلى D ـ ٣ ـ هيدروكسى بيوترايل - ACP. ويختلف هذا التفاعل عن التفاعل المقابل فى مسار تفكك الأحماض الدهنية فى نقطتين: (١) المتشكّل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الإيبمارى D - وليس L - هو ناتج التفاعل، (٢) NADPH هو العامل المختزل بينما NAD^+ هو العامل المؤكسد فى مسار التفكك.



شكل ١٩ ـ ٣

سلسلة التفاعلات المشتملة فى بناء الأحماض الدهنية: تكثيف وإختزال وإزالة جزئ ماء، وإختزال. المركبات الوسيطة الموضحة هنا تنتج من الدورة الأولى لعملية البناء.

فى الخطوة التالية يُزال جزئ ماء من D ـ ٣ ـ هيدروكس بيوترايل - ACP ويتكون كروتونايل - ACP الذى يحتوى على رابطة مزدوجة فى الوضع المخالف trans. أما الخطوة الأخيرة فى الدورة تشمل إختزال كروتونايل - ACP إلى بيوترايل - ACP،

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والعامل المختزل فى هذا التفاعل هو NADPH بينما FAD هو العامل المؤكسد فى التفاعل المقابل فى مسار التفكك. وبذلك فإن التفاعلات الثلاثة الأخيرة تقوم بتحول أسيتو أسيتايل - ACP إلى بيوترايل - ACP وهو ناتج دورة الإستطالة الأولى.

فى الدورة الثانية لبناء الأحماض الدهنية يتكثف بيوترايل - ACP مع مالونايل - ACP ويتكون بيتا - كيتو أسايل - ACP (β-ketoacyl - ACP) الذى يحتوى على ستة ذرات كربون، ويقابل هذا التفاعل التفاعل الأول فـى الدورة الأولـى. الإختزال ثم إزالة جزئ ماء ثم إختزال آخر تحول بيتا - كيتو أسايل - ACP إلى أسايل - ACP (acyl - ACP) يحتوى على ستة ذرات كربون الذى يدخل فى دورة إستطالة جديدة. وتستمر دورات الإستطالة حتى يتكون أسايل - ACP تحتوى مجموعة الأسايل فيه على ١٦ ذرة كربون، وهذا الناتج لا يمثل مادة خاضعة لإنزيم التكثيف ولكنه يتحلل ليكون حمض البالمتيك Palmetic acid والبروتين الحامل للأسايل ACP .

المعادلة الكلية لبناء الحمض الدهنى

المعادلة الإجمالية لبناء حمض البالمتيك هى:

$$\text{Acetyl CoA} + 7\text{ malonyl CoA} + 14\text{ NADPH} + 7\text{ H}^+ \rightarrow$$
$$\text{Palmitate} + 7\text{ CO}_2 + 14\text{ NADP}^+ + 8\text{ CoA} + 6\text{ H}_2\text{O}$$

ومعادلة تكوين مالونايل - ACP المستخدم فى التفاعل السابق هى:

$$7\text{ Acetyl CoA} + 7\text{ CO}_2 + 7\text{ ATP} \rightarrow$$
$$7\text{ malonyl CoA} + 7\text{ ADP} + 7\text{ P}_i + 7\text{ H}^+$$

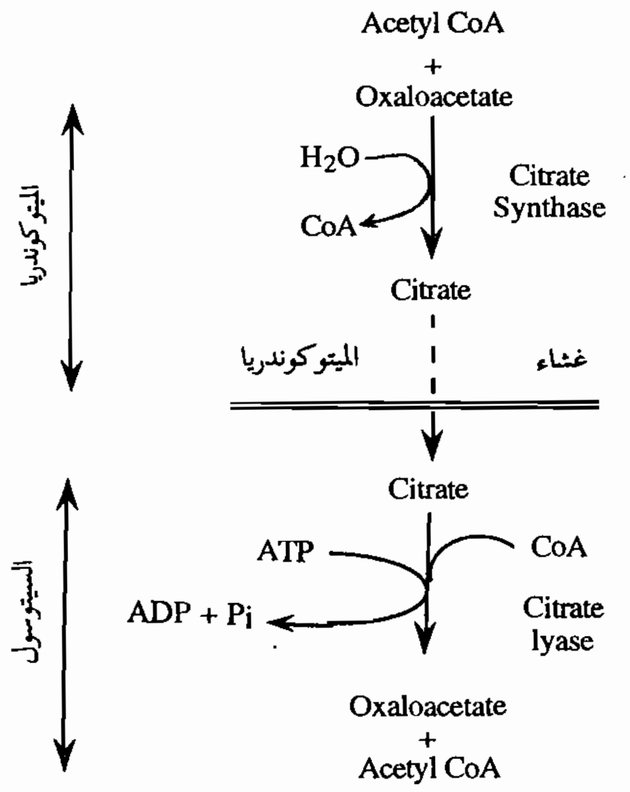
وعلى ذلك فإنه يمكن التعبير عن بناء البالميتات بالمعادلة التالية:

$$8\text{ Acetyl CoA} + 7\text{ ATP} + 14\text{ NADPH} \rightarrow$$
$$\text{palmitate} + 14\text{ NADP}^+ + 8\text{ CoA} + 6\text{ H}_2\text{O} + 7\text{ ADP} + 7\text{ P}_i$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

السترات تحمل مجموعات الأسيتايل من الميتوكوندريا إلى السيتوسول لبناء الأحماض الدهنية

يحتاج بناء البالميتات إلى ٨ جزيئات أسيتايل - CoA و ١٤ جزئ NADPH و ٧ جزيئات ATP. بناء الأحماض الدهنية يتم فى السيتوسول بينما أسيتايل - CoA يتكون من البيروفات فى الميتوكوندريا، لذلك يكون من الضرورى نقل أسيتايل - CoA من الميتوكوندريا إلى السيتوسول لبناء الأحماض الدهنية. ولما كان غشاء الميتوكوندريا غير منفذ لأسيتايل - CoA، لذلك تقوم السترات بنقل مجموعة الأسيتايل عبر غشاء الميتوكوندريا الداخلى إلى السيتوسول (شكل ١٩ ـ ٤). تتكون السترات فى مادة



شكل ١٩ ـ ٤

نقل أسيتايل -CoA من الميتوكوندريا إلى السيتوسول.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الأساس للميتوكوندريا بتكثيف أسيتايل - CoA مع أوكسالوأسيتات تحت حفز إنزيم Ci-trate Synthase ثم تنفذ عبر غشاء الميتوكوندريا إلى السيتوسول حيث تتفكك بواسطة إنزيم Citrate lyase

$$\text{Citrate} + \text{ATP} + \text{CoA} \rightarrow \text{acetyl CoA} + \text{ADP} + P_i + \text{oxaloacetate}$$

وعلى ذلك فإن أسيتايل - CoA والأوكسالوأسيتات يُنقلان من الميتوكوندريا إلى السيتوسول على حساب طاقة ATP.

مصادر العامل المختزل NADPH المستخدم فى بناء الأحماض الدهنية

العامل المختزل NADPH المستخدم فى الخطوات المشتملة على عملية إختزال فى مسار بناء الأحماض الدهنية ينشأ من مصدرين: المصدر الأول من تفاعل إزالة مجموعة الكربوكسيل بالأكسدة من المالات. فالأكسالو أسيتات التى تتكون من نقل مجموعة الأسيتايل إلى السيتوسول يجب أن تعود إلى الميتوكوندريا، وبما أن غشاء الميتوكوندريا الداخلى غير منفذ للأوكسالو أسيتات، لذلك تُختزل الأوكسالو أسيتات إلى المالات بإستخدام NADH، يحفز هذا التفاعل إنزيم malate dehydrogenase.

$$\text{Oxaloacetate} + \text{NADH} + H^+ \rightleftharpoons \text{malate} + \text{NAD}^+$$

فى الخطوة الثانية تُزال مجموعة الكربوكسيل بالأكسدة من المالات بواسطة إنزيم NADP^+ - linked malate enzyme.

$$\text{Malate} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{Pyruvate} + CO_2 + \text{NADPH}$$

والبيروفات الناتجة من هذا التفاعل تعبر غشاء الميتوكوندريا حيث تتحول إلى الأوكسالو أسيتات تحت حفز إنزيم pyruvate carboxylase.

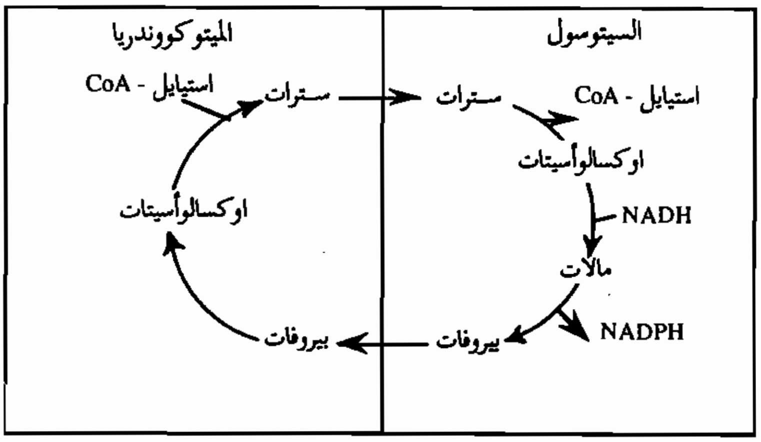
$$\text{Pyruvate} + CO_2 + \text{ATP} + H_2O \rightarrow \text{oxaloacetate} + \text{ADP} + P_i + 2\,H^+$$

ومجموع هذه التفاعلات الثلاث هو:

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$$NADP^+ + NADH + ATP + H_2O \rightarrow$$
$$NADPH + NAD^+ + ADP + P_i + H^+$$

وعلى ذلك فإنه يتولد جزئ NADPH بانتقال جزئ أسيتايل - CoA من الميتوكوندريا إلى السيتوسول (شكل ١٩ ــ ٥)، أى يتكون ثمانية جزيئات NADPH بانتقال ثمانية جزيئات NADPH أسيتايل - CoA إلى السيتوسول لبناء البالميتات. أما جزيئات NADPH الستة الباقية اللازمة لبناء البالميتات تنشأ من مسار فوسفات البنتوز.



شكل ١٩ ـ ٥

نقل أسيتايل -CoA من الميتوكوندريا إلى السيتوسول يصاحبه تحول NADH إلى NADPH .

استطالة البالميتات وإنشاء الروابط المزدوجة يتم بأنظمة إنزيمية مساعدة

الناتج النهائى لنظام بناء الأحماض الدهنية fatty acid synthetase هو حمض البالمتيك. فى الكائنات مميزة النواه تتكون الأحماض الدهنية الأطول من حمض البالمتيك بواسطة نظام إنزيمى يرتبط بالشبكة الاندوبلازمية endoplasmic reticulum (يعرف أيضا بالنظام الميكروسومى microsomal sysem). وتتم الإستطالة بهذا النظام بإضافة وحدات ثنائية الكربون فى صورة مالونايل - CoA إلى النهاية الكربوكسيلية للأحماض الدهنية المشبعة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وغير المشبعة. ويقوم النظام الميكروسومى أيضا بإدخال الروابط المزدوجة فى أسايل - CoA طويلة السلسلة. مثال ذلك تحول استياريل - CoA (Stearoyl CoA) إلى اوليل - CoA (oleoyl CoA) يتم بإدخال رابطة مزدوجة فى الوضع المضاهى بين ذرة الكربون التاسعة والعاشرة ($Cis\ \Delta^9$) بواسطة إنزيم fatty acyl CoA oxygenase الذى يستخدم NADPH (أو NADH) والأكسجين الجزيئى.

$$\text{Stearoyl CoA} + \text{NADPH} + H^+ + O_2 \rightarrow \text{oleoyl CoA} + \text{NADP}^+ + 2\,H_2O$$

ويمكن تكوين عدد كبير من الأحماض الدهنية غير المشبعة من حمض الأوليك Ole-ic acid بتعاون تفاعلات الإستطالة وإدخال الروابط المزدوجة. مثال ذلك يمكن إطالة حمض الأوليك إلى حمض دهنى يحتوى على عشرين ذرة كربون ورابطة مزدوجة فى الوضع المضاهى بين ذرة الكربون ١١ و ١٢ ($20{:}1\ Cis\ \Delta^{11}$) بإضافة وحدة ذات ذرتين كربون. والبديل عن ذلك هو إدخال رابطة مزدوجة فى حمض الأوليك وتكوين حمض اللينوليك linoleic acid.

تفتقر الثدييات إلى الإنزيمات التى تقوم بإدخال الروابط المزدوجة فيما وراء ذرة الكربون التاسعة فى سلسلة الحمض الدهنى، وعلى ذلك فإن الثدييات لا تستطيع بناء حمض اللينوليك linoleic acid وحمض اللينولينيك linolenic acid والتى تدعى بالأحماض الدهنية الأساسية essential fatty acids. والاصطلاح أساسى يعنى ضرورة وجود هذه الأحماض فى غذاء الثدييات لإنها غير قادرة على بنائها ذاتيا فى أجسامها.

تنظيم بناء الأحماض الدهنية

يكون بناء الأحماض الدهنية نشطاً عند زيادة مستوى الكربوهيدرات وإنخفاض مستوى الأحماض الدهنية، فتركيز السترات فى السيتوسول هى أهم عوامل تنظيم بناء الأحماض الدهنية. فعند زيادة مستوى السترات فى الميتوكوندريا فإنها تنتقل إلى السيتوسول حيث تُمثّل إشارة إلى إمتلاء دورة حمض الستريك بجزيئات الوقود، وأن أسيتايل - CoA الزائد يجب تحويله إلى دهون. فالسترات التى تعمل كمؤثر موجب لإنزيم acetyl CoA car-

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

boxylase عند إرتباطها بالإنزيم تزيد من نشاطه وبذلك يزيد معّدل تحول أسيتايل CoA - إلى مالونايل - CoA. من ناحية أخرى فإنه عند زيادة مستوى بالميتويل - CoA وهو الناتج النهائى لسلسلة البناء بواسطة fatty acid synthetase فإنه يعمل كمثبط اللوستيرى أو مؤثر سلبى لإنزيم Acetyl CoA Carboxylase. بالميتويل - CoA يثبط أيضا إنتاج NADPH بواسطة إنزيم glucose 6-phosphate dehydrogenase الذى يحفز أولى تفاعلات مسار فوسفات البنتوز، والنتيجة النهائية هو خفض مستوى NADPH ومعّدل بناء الأحماض الدهنية.

حمض الفوسفاتيديك مركب وسيط فى بناء ثلاثى أسايل الجليسرولات والفوسفوجليسريدات

يُمثّل حمض الفوسفاتيديك phosphotidic acid (ثنائى أسايل جليسرول ٣ ـ فوسفات diacylglycerol 3-phosphate) مركب وسيط عام فى بناء ثلاثى أسايل جليسرولات triacylglycerols والفوسفوجليسريدات phosphoglycerides. ونقطة البداية فى بناء حمض الفوسفاتيديك هى جليسرول ٣ ـ فوسفات الذى يتكون أساساً من ثنائى هيدروكسى أسيتون فوسفات بواسطة إنزيم glycerol phosphate dehydrogenase.

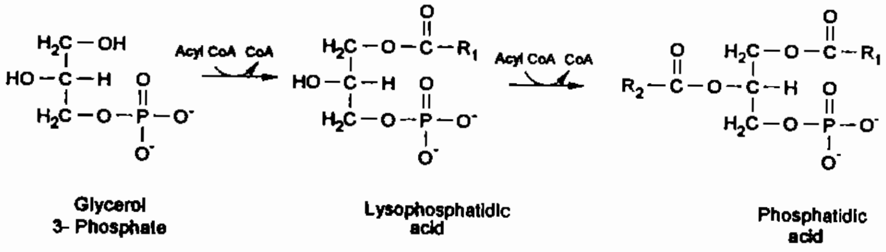
$$\text{Dihydroxyaceton phosphate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{L-glycerol 3-phosphate} + \text{NAD}^+$$

يمكن أن يتكون جليسرول ٣ ـ فوسفات أيضا بفسفرة الجليسرول تحت حفز إنزيم glycerol kinase.

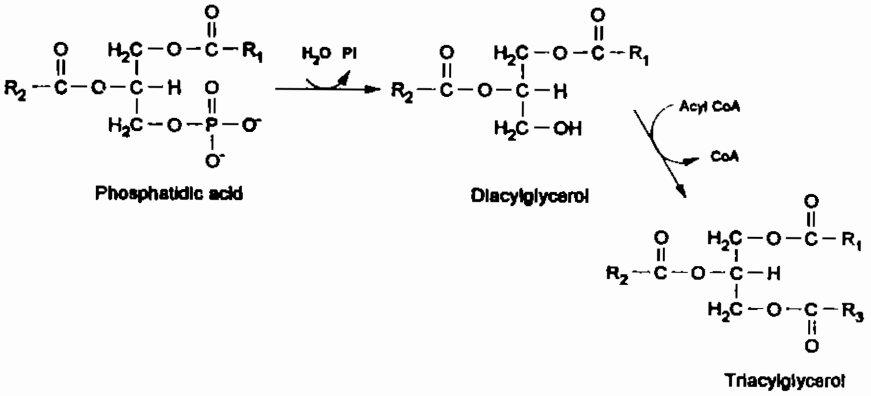
$$\text{Glycerol} + \text{ATP} \rightarrow \text{glycerol 3-phosphate} + \text{ADP}$$

يبدأ تكوين حمض الفوسفاتيديك بأسيلة acylation جليسرول ٣ ـ فوسفات بواسطة أسايل - CoA وتكوين حمض ليسوفوسفاتيديك lysophosphatidic acid الذى يتحول إلى حمض الفوسفاتيديك بتفاعل أسيلة آخر مع جزئ ثانى من أسايل - CoA. ويحفز تفاعلات الأسيلة إنزيم glycerophosphate acyl transferase.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



تتشعب مسارات البناء عند حمض الفوسفاتيديك، ففى مسار بناء ثلاثى أسايل الجليسرولات يتميه حمض الفوسفاتيديك بواسطة إنزيم فوسفاتيز Phosphatase متخصص ليُعطى ثنائى أسايل الجليسرول diacylglycerol . ثم يتم أسيلة هذا المركب الوسيط إلى ثلاثى أسايل الجليسرول فى تفاعل يحفز بإنزيم diglyceride acyl transferase .

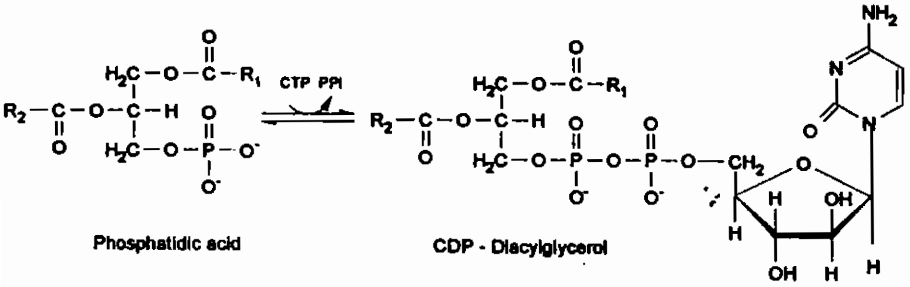


سايتدين ثنائى الفوسفات ـ ثنائى أسايل الجليسرول هو المركب الوسيط النشط فى البناء الجديد للفوسفوجليسريدات

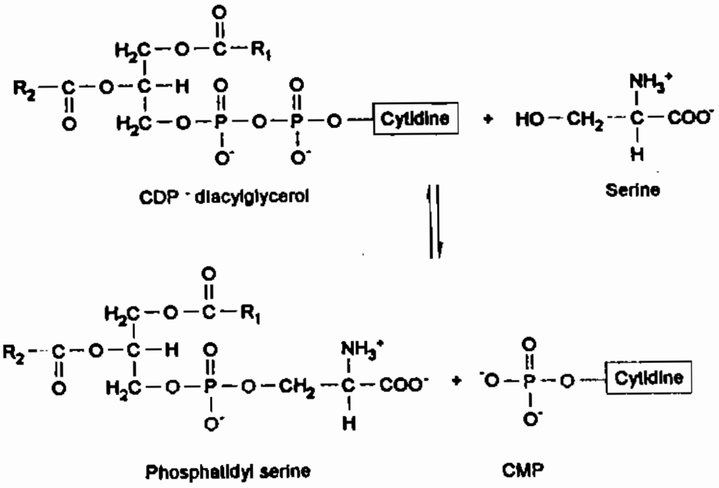
توجد عدة مسارات مختلفة لبناء الفوسفوجليسريدات. فمسار البناء الجديد de novo pathway يبدأ بتكوين سايتدين ثنائى الفوسفات ـ ثنائى أسايل جليسرول ـ cytidine diphosphate diacylglycerol (CDP - diacylglycerol) من حمض الفوسفاتيديك والسايتدين ثلاثى الفوسفات cytidine triphosphate (CTP)، تحت حفز إنزيم phos-

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

phatidate cytidyl transferase، ويدفع التفاعل للأمام بتحلل البيروفوسفات (PPi) إلى الفوسفات (Pi).



وحدة الفوسفاتيديل المنشطة تتفاعل فى الخطوة التالية مع مجموعة الهيدروكسيل فى السيرين ويتكون فوسفاتيديل سيرين phosphatidyl serine والسايتدين أحادى الفوسفات (CMP)، يحفز هذا التفاعل إنزيم phosphatidylserine Synthase.

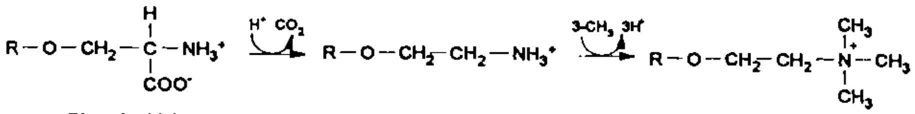


مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويتضح من ذلك أن الدور الذى تقوم به نيوكليوتيدات السايتدين فى بناء الفوسفوجليسريدات يماثل الدور التى تقوم به نيوكليوتيدات اليوريدين فى بناء الجلايكوجين.

فوسفاتيديل إيثانول أمين وفوسفاتيديل كولين يمكن أن تتكون من فوسفاتيديل سيرين

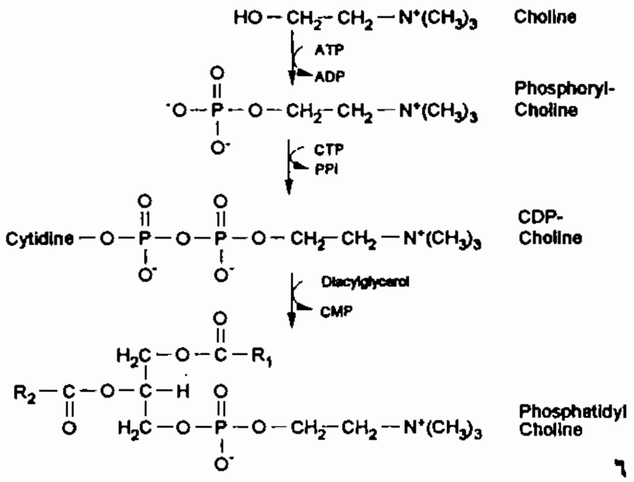
يمكن تكوين فوسفاتيديل إيثانول أمين phosphatidyl ethanolamine وفوسفاتيديل كولين phosphatidyl choline من فوسفاتيديل سيرين. فإزالة مجموعة الكربوكسيل من فوسفاتيديل سيرين بأحد إنزيمات فوسفات البيرويدوكسال ينتج فوسفاتيديل إيثانول أمين. وإدخال ثلاثة مجموعات ميثايل على ذرة النيتروجين لفوسفاتيديل إيثانول أمين بتفاعلات ميثْلة methylation يُكّوِنْ فوسفاتيديل كولين. والمركب المانح لمجموعة الميثايل فى هذا التفاعل هو S ـ أدينوسايل ـ ميثايونين S-adenosylmethionine.



الفوسفوجليسريدات تُبنى أيضا بمسار الإسترداد

يمكن أن يبنى فوسفاتيديل كولين بمسار يستخدم الكولين كمادة بادئة ولذلك يُطلق على هذه التفاعلات بمسار الإسترداد salvago pathway (أى استرداد الكولين الناتج من عمليات الهدم) (شكل ١٩ ـ ٦). فى الخطوة الأولى يُفسفر الكولين بواسطة ATP ويتحول إلى فوسفوريل كولين phosphorylcholine الذى يتفاعل مع سايتدين ثلاثى الفوسفات (CTP) ويكّوِن سايتدين ثنائى الفوسفات ـ كولين CDP-choline. وتُنقل وحدة فوسفوريل كولين بعد ذلك من سايتدين ثنائى الفوسفات كولين إلى ثنائى أسايل جليسرول ويتكون فوسفاتيديل كولين. يمكن أن يبنى فوسفاتيديل إيثانول أمين أيضا من إيثانول أمين بتفاعلات مماثلة لتلك المشتملة فى بناء فوسفاتيديل كولين.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

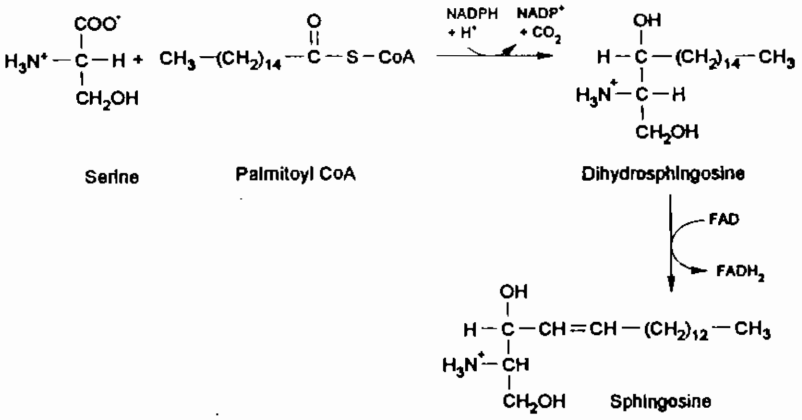


شكل ١٩ - ٦

بناء فوسفاتيديل كولين بمسار الاسترداد

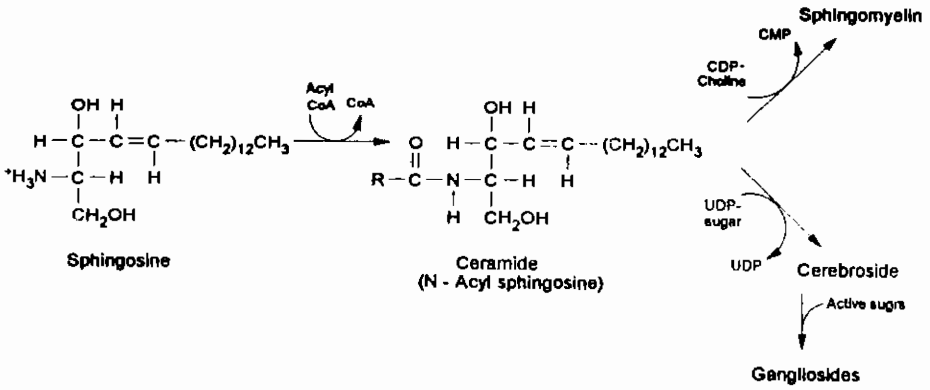
البناء الحيوى للسيراميد: الوحدة التركيبية الأساسية فى الأسفنجوليبيدات

ننتقل الآن من الفوسفوجليسريدات إلى الأسفنجوليبيدات وهى العنصر الثانى الذى يدخل فى تركيب الأغشية البيولوجية. الوحدة البنائية الأساسية فى الأسفنجوليبيدات هى الأسفنجوزين sphingosine، وهو أمين أليفاتى طويل السلسلة. يبنى الأسفنجوزين بتكثيف سيرين مع بالميتويل CoA- (palmitoyl CoA) وتكوين داى هيدروسفنجوزين dihydrosphingosine الذى يتأكسد بأحد أنزيمات الفلافوبروتين إلى سفنجوزين.



مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

توجد مجموعة الأمينو فى الأسفنجوزين مرتبطة بمجموعة أسايل فى جميع الأسفنجوليبيدات (شكل ١٩_٧). فتتفاعل سلسلة طويلة من أسايل CoA (acyl CoA) مع مجموعة الأمينو فى الأسفنجوزين ليتكون سيراميد ceramide (N - أسايل سفنجوزين). يتم أيضا استبدال على مجموعة الهيدروكسيل الطرفية فى الأسفنجوليبيدات، ففى الأسفنجوميلين sphingomyelin تكون المجموعة المستبدلة فوسفوريل كولين الذى يشتق من كولين - CDP. وفى سيروبروسيد Cerebroside ترتبط مجموعة الهيدروكسيل الطرفية بالجلوكوز أو الجالاكتوز، ومشتق اليوريدين ثنائى الفوسفات للسكر (UDP - جلوكوز و UDP - جالاكتوز) هو مصدر وحدة السكر فى السيروبروسيد. فى الجانجلوسيد ganglioside ترتبط اليجوسكريد بالسيراميد بواسطة الإضافة المتعاقبة لوحدات السكر وكذلك سكر أمينى. وتحتوى وحدة الأليجوسكريد فى الجانجلوسيد على الأقل على سكر حمضى الذى يكون حمض N - أسيتايل نيورامينك N-acetylneuraminic acid أو N - جلايكوليل نيورامنيك N-glycolylneuramininc. وهذه السكريات الحمضية تعرف بحمض السياليك sialic acid.



شكل ١٩ ـ ٧

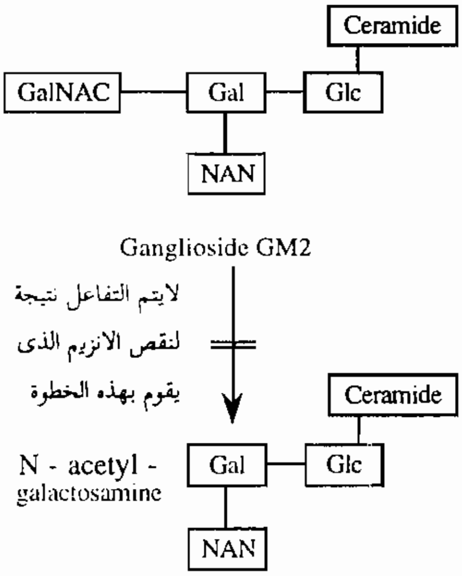
سيراميد هو المادة البادئة للأسفنجوليبيدات: سفنجوميلينات، سيريروسيد وجانجلوسيد

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

مرض Tay-Sachs : خلل وراثى فى تفكك الجانجلوسيد

توجد الجانجلوسيدات بتركيز مرتفع فى الجهاز العصبى خاصة فى المادة الرمادية gray matter حيث تُشكل ٦٪ من الليبيدات الكلية. وتبنى الجانجلوسيدات وتتفكك بصورة مستمرة بالإزالة المتعاقبة لوحدات السكر الطرفية بواسطة إنزيمات متخصصة فى تحلل الروابط الجلايكوسيدية. ويتم تفكك الجانجلوسيدات داخل الليسوسومات lysosomes وهى عُضيّات تحتوى على أنواع عديدة من إنزيمات التفكك وتكون مسئولة عن الهدم المنظّم للمكونات الخلوية.

توجد بعض الأخطاء الوراثية فى تفكك الجانجلوسيدات التى يكون لها عواقب صحية خطيرة. فمرض Tay-Sachs الذى يصيب الأطفال فى السنة الأولى يكون مصحوبا بضعف عام وتخلف فى النمو وصعوبة فى تناول الطعام ثم يتبع ذلك عمى بعد عدة أشهر. وينشأ هذا المرض من تراكم الجانجلوسيد فى المخ والجهاز العصبى بصورة عامة نتيجة لنقص الإنزيم الذى يزيل وحدة N - أسيتايل - جالاكتوز أمين الطرفية (شكل ١٩ ــ ٨).



شكل ١٩ ـ ٨

فى مرض Tay-sachs تتراكم الجانجلوسيد نتيجة لنقص انزيم β - N - acetylhexosaminidase الذى يزيل وحدة - N أسيتايل جالاكتوزامين الطرفية.

الاختصارات المستخدمة :

GalNAC = أسيتايل جالاكتوزأمين

Gal = جالاكتوز

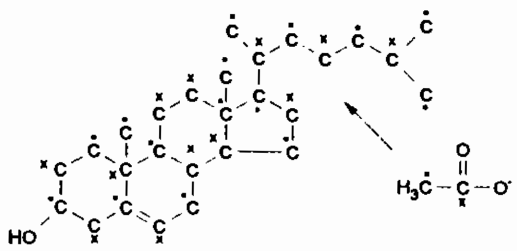
Glc = جلوكوز

NAN = حمض N- أسيتايل نيورامينيك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى للكولسترول والأسترويدات الأخرى يبدأ بأسيتايل مرافق إنزيمى A

لا يُمثّل الكولسترول cholesterol فقط أحد المكونات المهمة فى أغشية الخلايا مميزة النواه وليبوبروتينات البلازما، ولكنه أيضا مادة بادئة لعدد كبير من الأسترويدات steroids المهمة مثل أحماض المرارة والهورمونات الأسترويدية. يُبنى الكولسترول من أسيتايل مرافق إنزيمى A ولكن بطريقة مختلفة عن بناء الأحماض الدهنية طويلة السلسلة. ولقد تم التوصل إلى مسار بناء الكولسترول من التجارب التى أُستخدم فيها الأسيتات المعلّمة بالكربون ١٤ فى مجموعة الكربوكسيل أو مجموعة الميثايل حيث أمكن التعرُّف على مصدر ذرات الكربون فى الكولسترول (شكل ١٩ ـ ٩).



شكل ١٩ ـ ٩

مصدر ذرات الكربون فى الكولسترول والذى تم التوصل إليه باستخدام الأسيتات المعلمة بالكربون ١٤.

والدراسات المستفيضة التى أُجريت بعد ذلك أوضحت أن البناء الحيوى للكولسترول يتم بعدد كبير من التفاعلات الإنزيمية التى يمكن تقسيمها إلى ثلاثة مراحل:

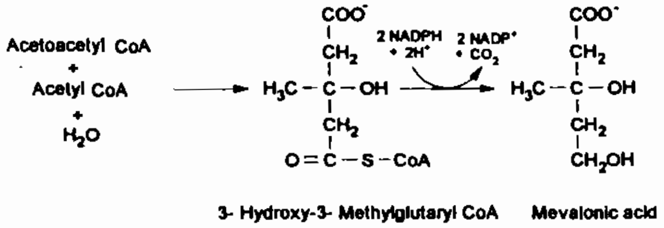
١ ـ تكوين حمضى ميڤالونيك mevalonic acid.

٢ ـ تحويل حمض ميڤالونيك إلى سكوالين squalene.

٣ ـ تحويل سكوالين إلى لانوسترول lanosterol ثم إلى كولسترول.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ففى المرحلة الأولى لبناء الكولسترول يتحول ثلاثة جزيئات أسيتايل مرافق إنزيمى A إلى حمض ميڤالونيك فى ثلاث خطوات إنزيمية. فى الخطوة الأولى يتفاعل جزيئين من أسيتايل مرافق إنزيمى A ليتكون أسيتو أسيتايل مرافق إنزيمى A، يحفز هذا التفاعل إنزيم Thiolase. فى الخطوة التالية يتفاعل أسيتو أسيتايل مرافق إنزيمى A مع جزئ أسيتايل مرافق إنزيمى A آخر تحت حفز إنزيم synthetase ويتكون ٣ ـ هيدروكس ٣ ـ ميثايل جلوتاريل CoA (3-hydroxy - 3-methylglutaryl CoA) الذى يختزل بواسطة hy-droxymethylglutaryl CoA reductase ليعطى حمض ميـڤالونيك (شكل ١٩ ـ ١٠).



شكل ١٩ ـ ١٠

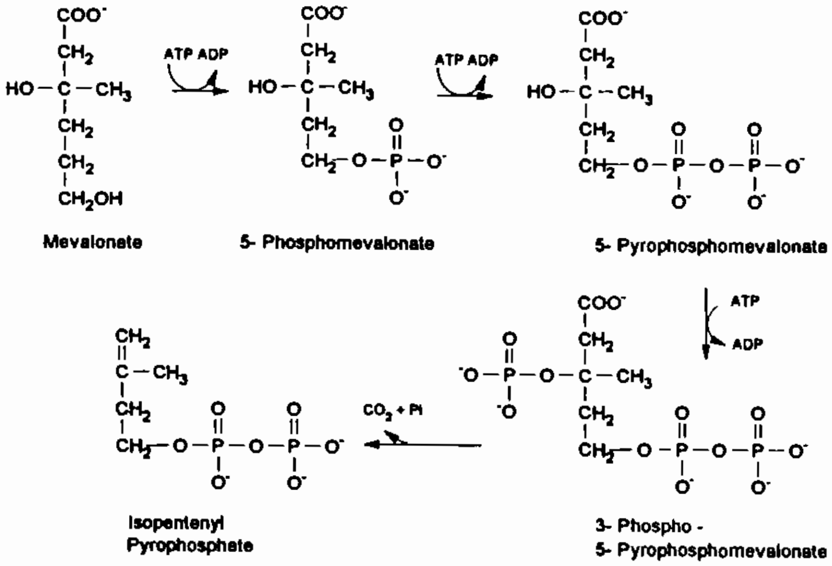
تكوين حمض ميڤالونيك من أسيتايل -CoA .

فى المرحلة الثانية يتحول حمض ميڤالونيك إلى ٣ ـ فوسفو ـ ٥ ـ بيروفوسفـو ميڤالونـات 3-phospho - 5 - pyrophosphomevalonate بواسطـة ثلاث خطـوات فسفـرة متعاقبـة. هذا المـركب الوسيـط يفقـد CO_2 وفـوسفـات ويتحـول إلـى ٣ ـ أيسـوبنتينـايل بيروفـوسفات 3-isopentenyl pyrophosphate (شكـل ٩ ـ ١١).

يتكون سكوالين squalene (C_{30}) من إرتباط ست وحدات أيسوبنتينايل بيروفوسفات بسلسلة التفاعلات التالية:

$$C_5 \rightarrow C_{10} \rightarrow C_{15} \rightarrow C_{30}$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



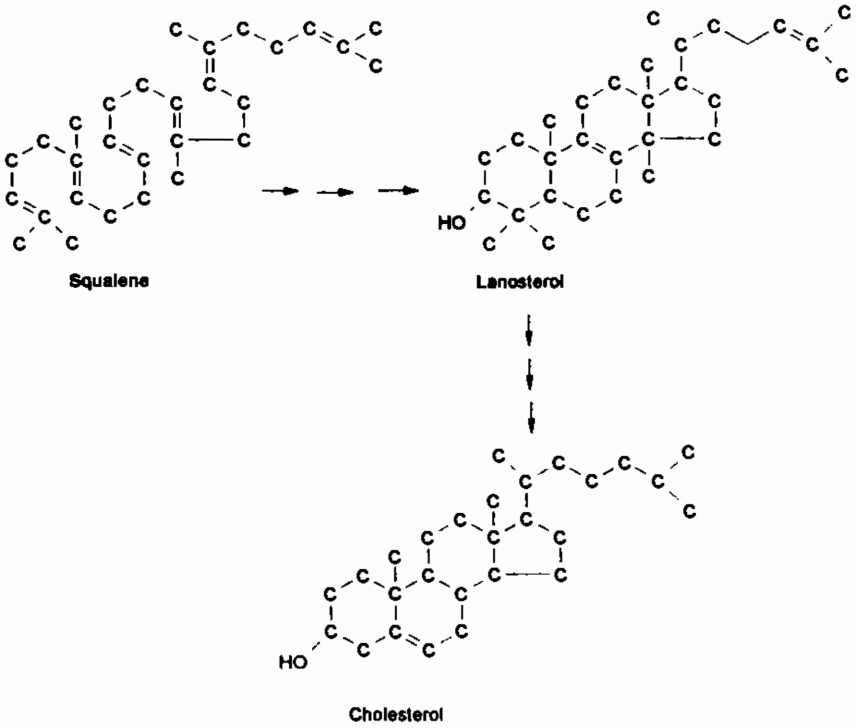
شكل ١٩ ـ ١١

تكوين أيسوبنتينايل بيروفوسفات Isopentenyl Pyrophosphate من ميڤالونات Mevalonate (حمض الميڤالونيك)

فى المرحلة الثالثة من تفاعلات بناء الكولسترول فإن سكوالين يدخل فى سلسلة تفاعلات إنزيمية معقدة يتحول فيها التركيب المفتوح للسكوالين إلى تركيب حلقى هو لانوسترول lanosterol. وأخيرا يتحول لانوسترول بمجموعة من التفاعلات إلى الكولسترول (شكل ١٩ ـ ١٢).

يعتبر تنظيم البناء الحيوى للكولسترول أيضا من العمليات المعقدة. والخطوة المحددة لمعدّل البناء هى تفاعل تكوين حمض ميڤالونيك، فالإنزيم الذى يحفز هذه الخطوة الإنعكاسية وهو 3-hydroxy - 3 - methyl - glutaryl CoA reductase يمثل أهم مواضع التحكم فى مسا البناء الحيوى للكولسترول. فيثبط هذا الإنزيم

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ١٩ ـ ١٢

تكوين الكولسترول من سكوالين

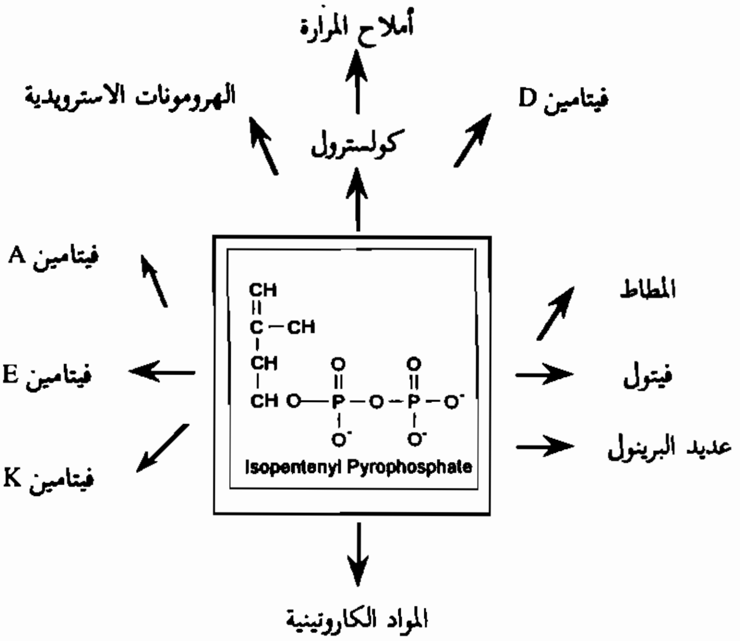
بالكولستـرول وهو الناتج النهائى للمسار، كما يُثبط أيضا بالكولسترول الممتص من المصادر الغذائية. يوجد الكولسترول فى كل الكائنات مميزة النواه ولكنه لا يوجد فى معظم الكائنات أولية النواه.

أيسوبنتينايل بيروفوسفات مادة بادئة لعدد كبير من الجزيئات البيولوجية الذائبة فى الدهون

أيسوبنتينايل بيروفوسفات الذى يُشتق من أسيتايل مرافق إنزيمى A يُمثّل المادة البادئة النشطة فى البناء الحيوى لعدد كبير من الجزيئات البيولوجية المهمة التى تحتوى على وحدات الأيسوبرين isoprene (شكل ١٩ ـ ١٣). وتشمل هذه الجزيئات فيتامينـات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

A و K و D و E والمواد الكاروتينيه carotenoids والمطاط وعدد كبير من الزيوت العطرية essential oils.



شكل ١٩ ـ ١٣

أيسوبنتينايل بيروفوسفات هو المادة البادئة لعدد كبير من الجزيئات البيولوجية التى تحتوى على وحدات متكرره من الأيسوبرين.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

المراجـــع

Bloch, K. S.: The Biological Synthesis of Cholesterol, "Science, 150: 19 - 28 (1965).

Bloch, K., and d. Vance: Control Mechanisms in the Synthesis of Saturated Fatty Acids. Ann. Rev. biochem. 46: 263 - 298 (1977).

Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Breuning, and R. H. doi: Outlines of Biochenustry (5 th ed.), John Wiley & sons, New York, 1987.

Cunnigham, E. B.: Biochemistry: Mechanism of Metabolism, "McGraw-Hill, New York, 1978.

Dietschy, J. M., A. M. Gotto, Jr., and J. a. Ontko (eds.): Disturbances in Lipid and Lipoprotein Metabolism, American Physiological Society, 1978.

Gatt, S., and Y. Barenholz : Enzymes of Complex Lipid Metabolism, Ann. Rev. Biochem., 42: 61 - 85 (1973).

Jeffcoat, R.: The Biosynthesis of Unsaturated Fatty Acids and Its Control in Mammalian Liver, Essay Biochem., 15 : 1 - 36 (1979).

Lan, M. D., J. Moss, and S. E. Polakis: Acetyl coenzyme A Carboxylase, Curr. Top. Cell Regul. 8 : 139 - 187 (1974).

Lehninger, A. L.: Principle of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

Lynen, F.: Enzyme Systems for Fatty Acid Synthesis, Biochem. Soc. Symp. 35: 5 - 26 (1972).

McMurray, W. C., and W. C. Magee: Phospholipid Metabolism, Ann. Rev. Biochem. 41: 129 - 160 (1972).

Metzler, A.: Biochemistry: The Chemical Reaction of Living Cells, academic Press, New York, 1977.

Snyder, F., (ed.): Lipid Metabolism in Mammals, Vols 1 and 2, Plenum, New York, 1977.

Stanburry, J. B., J. B. Wyngaarden and D. S. Fredrickson (eds.): The Metabolic Basis of Inherited disease (4th ed.), McGraw Hill, New York, 1978.

Strayer, L.: Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

Vagelos, P. R.: Acyl Group Transfer (Acyl Carrier Protein) In Boyer, P. d., (ed.), The Enzymes (3rd ed.) Vol. 8, PP. 155 - 199 (1973).

Volpe, J. J, and P. R. Vagelos: Mechanism and Regulation of Biosynthesis of Saturated Fatty Acids. Physiol. Rev. 56: 339 - 417 (1976).

Wakil, S. J., and E. M. Barnes, Jr.: Fatty Acid Metabolism. Compr. Biochem. 185: 57 - 104 (1971).

Wood, W. B., J. H. Wilson, R. M. Benbow, and L. E. Hood: biochemisry: A Problems Approach, Benjamin, Menio Park, Calif., 1974.

Zubay, G. (Coord. autho.): Biochemistry, Addison - Wesley - Reading - Mass., 1983.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

تمارين

١ ـ قارن بين أكسدة الأحماض الدهنية وتكوينها من الأوجه التالية

(أ) موضع العملية

(ب) حامل الأسايل

(جـ) العوامل المؤكسدة والعوامل المختزلة

(د) الهيئة الفراغية للمركبات الوسيطة

(هـ) إتجاه البناء أو التفكك

(و) تنظيم النظام الإنزيمى

٢ ـ لكل من الأحماض الدهنية غير المشبعة التالية وضح ما إذا كانت المادة البادئة فى الحيوانات هى بالميتوأوليات palmitoleate ، أوليات Oleate ، لينولات linoleate أو لينولينات linolenate .

(أ) $18 : 1\ Cis\ \Delta^{11}$

(ب) $18 : 3\ Cis\ \Delta^{6}, \Delta^{9}, \Delta^{19}$

(جـ) $20 : 2\ Cis\ \Delta^{11}, \Delta^{14}$

(د) $20 : 3\ Cis\ \Delta^{5}, \Delta^{8}, \Delta^{11}$

(هـ) $20 : 1\ Cis\ \Delta^{13}$

(و) $22 : 6\ Cis\ \Delta^{4}, \Delta^{7}, \Delta^{10}, \Delta^{13}, \Delta^{16}, \Delta^{19}$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣ ـ ما هو الدور المتخصص لثانى أكسيد الكربون فى البناء الحيوى للأحماض الدهنية؟ إذا حضن مستخلص ذائب للكبد مع $^{14}CO_2$ والعناصر الضرورية الأخرى المطلوبة للبناء الحيوى للأحماض الدهنية فهل تحتوى البالميتات الناتجة على ^{14}C. فسر ذلك.

٤ ـ من معلوماتك عن البناء الحيوى للأحماض الدهنية أعطى تفسيرا للمشاهدات التجريبيةالتالية.

(أ) إضافة أسيتايل -CoA معلم بصورة متجانسة بـ ^{14}C إلى مستخلص كبدى ذائب ينتج بالميتات معلمة بصورة متجانسة بـ ^{14}C.

(ب) مع ذلك فإن إضافة كميات صغيرة من أسيتايل -CoA المعلم بـ ^{14}C إلى مستخلص كبدى ذائب فى وجود زيادة من مالونايل -CoA ينتج بالميتات معلمه بـ ^{14}C فقط فى ذرة الكربون ١٥ و ١٦.

٥ ـ اكتب المعادلة الكلية لبناء حمض البالمتيك فى كبد الفأر بداية من أسيتايل -CoA الميتوكوندورى و NADPH السيتوسولى و ATP و CO_2.

٦ ـ إذا حَضّر مستحضر يحتوى على كل الإنزيمات والعوامل المساعدة الضرورية لتكوين الحمض الدهنى من أسيتايل -CoA ومالونايل -CoA المضافة

(أ) إذا إضيف أسيتايل -CoA معلم بالديوتيريم (CD_3 - CO - SCOA) وكمية زائدة من مالونايل -CoA غير المعلم كمواد خاضعة. ما عدد ذرات الديوتيريم التى تندمج فى كل جزئ بالميتات؟ ما هو موضح هذه الذرات فى الجزئى؟ فسر ذلك.

(ب) إذا إضيف أسيتايل -CoA غير المعلم ومالونايل -CoA المعلم بالديوتيريم (^{-}OOC - CD_2 - CO - SCOA) كمواد خاضعة فما هو عدد ذرات الديوتيريم التى اندمجت فى كل جزئ بالميتات؟ ما هو موضع هذه الذرات فى الجزئ؟ فسر ذلك.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٧ ـ أكتب المعادلة المتزنه لتكوين ثلاثى آسايل جليسرول بدءًا بالجليسرول والأحماض الدهنية.

٨ ـ أكتب المعادلة المتزنه لتكوين فوسفاتيديل سيرين بمسار البناء الجديد بدءًا بالسيرين والجليسرول والأحماض الدهنية.

٩ ـ ما هى المادة المتفاعلة النشطة فى عمليات البناء الحيوى التالية.

(أ) فوسفاتيديل سيرين من سيرين.

(ب) فوسفاتيديل إيثانول أمين من إيثانول أمين

(جـ) سيراميد من سفنجوزين

(د) سفنجوميلين من سيراميد

(هـ) سيربروسيد من سيراميد

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى للأحماض الأمينية والهيم

Biosynthesis of Amino Acids And Heme

بالرغم من أهمية الأحماض الأمينية لكل الكائنات والذى يرجع أساساً إلى كونها الوحدات البنائية للبروتينات، فإن الكائنات الحية تتباين فى قدرتها على بناء الأحماض الأمينية وفى صورة النتروجين المستخدم. ورغم إختلاف الكائنات الحية فى استخدامها لصورة النتروجين فإن النتروجين المختزل إلى مستوى الأمونيا هو الذى يدخل مباشرة فى المركبات العضوية.

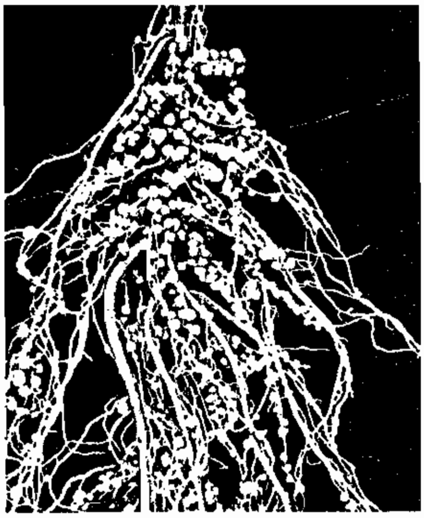
فبعض الكائناتت الدقيقة (المجهرية) لها القدرة على تحويل النتروجين الجزيئى (N_2) إلى أمونيا (NH_3) ثم إلى صورة عضوية خاصة فى الأحماض الأمينية فى العملية التى يطلق عليها تثبيت النتروجين. أما النباتات الراقية يمكن أن تكوّن كل الأحماض الأمينية اللازمة لبناء البروتين باستخدام النترات (NO_3) أو النتريت (NO_2) أو الأمونيا كمصدر للنتروجين. الحيوانات من ناحية أخرى تستخدم الأمونيا الناتجة من عمليات الهدم للمركبات النتروجينية فى تكوين الأحماض الأمينية غير الأساسية أى الأحماض الأمينية التى تستطيع الحيوانات بنائها ذاتيا.

بعض الكائنات المجهرية تُحول النتروجين الجزيئى إلى أمونيا فى عملية تثبيت النتروجين

معظم النتروجين الموجود فى المحيط الحيوى يوجد فى صورة نتروجين جزيئى الذى يُمثِّل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٨٠٪ من غازات الغلاف الجوى، من ناحية أخرى فإن ذرات النتروجين فى الأحماض الأمينية والجزيئات البيولوجية الأخرى تشتق من أيونات الأمونيوم (NH_4^+). الكائنات الحية الراقية ليس لها القدرة على تحويل النتروجين الجزيئى إلى صورة عضوية، ولكن هذا التحول والذى يدعى تثبيت النتروجين nitrogen fixation يتم بواسطة بعض أنواع البكتريا والطحالب الخضراء المزرقة. بعض أنواع الكائنات المثبته للنتروجين مثل بكتريا الجذور العصوية rhizobium تعيش بصورة تكافلية مع النباتات البقولية حيث تغزو جذور هذه النباتات وتكون عقد جذرية صغيرة يتم فيها تثبيت النتروجين (شكل ٢٠ ــ ١).



شكل ٢٠ ـ ١

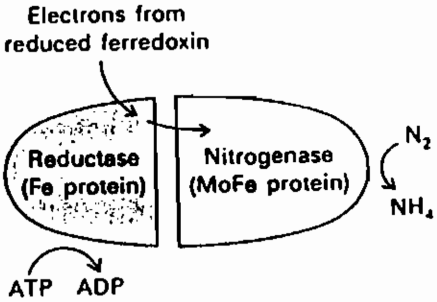
العقد الجذرية فى جذر فول الصويا هى موضع تثبيت النتروجين بواسطة بكتريا Rhi-zobium.

طاقة الرابطة $N \equiv N$ تساوى ٢٢٥ كيلو سعر / مول، فهى مقاومة جداً للمهاجمة الكيميائية، لذلك فإنه يجرى تحويل N_2 إلى NH_3 فى مصانع السماد على درجة حرارة ٥٠٠ْم وضغط يساوى ٣٠٠ ضغط جوى فى وجود الحديد كعامل حفاز.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$$N_2 + 3\,H_2 \rightleftharpoons 2\,NH_3$$

يتوقع من ذلك أن يتم التثبيت البيولوجى للنتروجين بواسطة نظام إنزيمى مركّب. وفى الحقيقة فإن نظام متراكب النيتروجنيز nitrogenase complex الذى يقوم بهذا التحوّل يحتوى على نوعين من البروتينات، أحدهما وهو reductase يمد الكترونات لها قوة اختزال مرتفعة، والآخر nitrogenase يستخدم هذه الألكترونات فى إختزال N_2 إلى NH_3 (شكل ٢٠ ـ ٢). وكلا العنصرين فى المتراكب الإنزيمى عبارة عن بروتين حديد ـ كبريت iron-sulfur (Fe.S) protein، كما يحتوى عنصر النيتروجنيز أيضا على ذرة أو ذرتين مولبدنيم molybdenum، ولذلك فإن عنصر النيتروجنيز يعتبر بروتين مولبدنيم ـ حديد molybdenum - iron (Mo - Fe) protein.



شكل ٢٠ ـ ٢

مخطط بيانى لمتراكب النيتروجنيز Nitrogenase Complex الذى يقوم بتثبيت النتروجين.

يحتاج تحول N_2 إلى NH^+4 بواسطة متراكب النيتروجنيز إلى ATP وعامل مختزل قوى. ففى معظم الكائنات المجهرية المثبتة للنتروجين يكون الفيريدوكسين المختزل هو مصدر الإلكترونات ذات جهد الإختزال المرتفع. والمعادلة الكلية لإختزال النتروجين الجزيئى بمتراكب النيتروجنيز تكون بالصورة التالية.

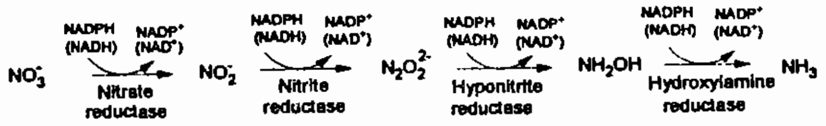
$$N_2 + 6e^- + 12\,ATP + 12\,H_2O \longrightarrow 2\,NH4^+ + 12\,ADP + 12\,Pi + 4\,H^+$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ونظرا لإرتفاع تكلفة التحوُّل الكيميائى للنتروجين إلى أمونيا بالطرق الصناعية فإن الإتجاه فى الوقت الحاضر هو زيادة التثبيت البيولوجى للنتروجين. وأحد هذه الإتجاهات هو إدخال جينات متراكب النيترجنيز فى النباتات غير البقولية مثل الحبوب. والمشكلة التى يجب التغلب عليها فى هذه الحالة هو حماية متراكب النيتروجنيز من الأكسجين الذى يُثبِّط الإنزيم بدرجة كبيرة. فالنباتات البقولية تحافظ على مستوى منخفض من الأكسجين الحر فى العقد الجذرية بربط الأكسجين بمركب ليجهيموجلوبين leghe-moglobin.

النباتات وكائنات التربة تُحول النترات إلى أمونيا

نظرا لأن أيون النترات (NO^-_3) هو صورة النتروجين السائدة فى التربة، فإن النباتات وبكتريا التربة والفطريات قد هُيأت لإستخدام النترات كمصدر للنتروجين، حيث تقوم هذه الكائنات أولا بتحويل النترات إلى أمونيا التى يمكن إدخالها فى المركبات العضوية. ويتم تحول النترات إلى أمونيا فى هذه الكائنات بسلسلة من تفاعلات الإختزال الإنزيمية التى تستخدم أحد نيوكليوتيدات النيكوتيناميد (NADPH أو NADH) كمصدر للألكترونات (شكل ٢٠ ــ ٣). وهناك من الأدلة التجريبية ما يشير إلى أن الإنزيمات التى تحفز خطوات الإختزال هى فلافوبروتينات التى تستخدم أيونات المعادن كعوامل مساعدة.



شكل ٢٠ ـ ٣

خطوات إختزال النترات فى النباتات وكائنات التربة.

الحيوانات الراقية تستخدم الأمونيا الناتجة من عمليات الهدم

نظرا لأن الصورة المختزلة للنتروجين المتاحة فى البيئة محدودة نسبيا، فإن الحيوانات تكون إقتصادية فى إستخدامها الأيّضى للصورة المختزلة للنتروجين. فالأمونيا التى تنتج من

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

عمليات هدم الأحماض الأمينية تُسترد خلال بعض المركبات العضوية، وعند دخول النتروجين فى هذه المركبات يمكن نقله إلى مركبات أخرى. فبعض المركبات مثل حمض الجلوتاميك وحمض الأسبارتيك وجلوتامين وأسباراجين وكارباميل فوسفات تكون نشطة فى استقبال النتروجين الناتج من عمليات الهدم ونقله إلى المركبات العضوية الأخرى. وهذه المركبات تمثل الوعاء النتروجينى nitrogen Pool فى الأنظمة الحية.

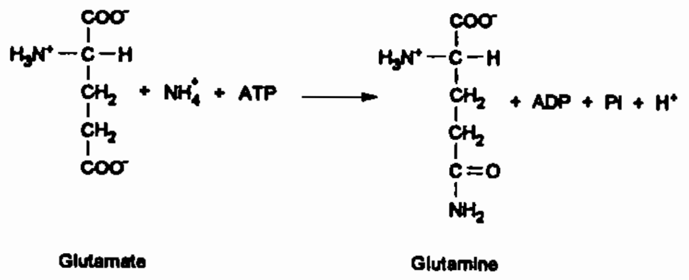
الأمونيا تُثبت فى الأحماض الأمينية عن طريق الجلوتامات والجلوتامين

يبدأ بناء الأحماض الأمينية بادماج NH_4^+ فى α -كيتوجلوتارات وجلوتامات ليتكوّن جلوتامات وجلوتامين على التوالى. ويلعب الجلوتامات والجلوتامين دوراً أساسياً فى بناء الأحماض الأمينية الأخرى، فمجموعة الأمينو ألفا (α) لمعظم الأحماض الأمينية تُستمد من مجموعة الأمينو ألفا فى الجلوتامات بتفاعل نقل مجموعة الأمين transamination. الجلوتامين من ناحية أخرى يشارك بذرة النتروجين الطرفية فى بناء عدد كبير من المركبات النتروجينية.

تُبنى الجلوتامات من NH_4^+ والفاكيتوجلوتارات تحت حفز إنزيم glutamate dehy-drogenase الذى يوجد فى مادة الأساس للميتوكوندريا.

$$NH_4^+ + \alpha\text{ - Ketoglutarate} + NADPH + H^+ \rightleftharpoons \text{L-Glutamate} + NADP^+ + H_2O$$

ويتم تكوين الجلوتامين بادماج أيون الأمونيوم فى الجلوتامات تحت حفز إنزيم gluta-mine synthetase، ويدفع هذا التفاعل للأمام باستخدام طاقة تحلل ATP.



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

يوجد إنزيمى glutamate dehydrogenase و glutamine synthetase فى جميع الكائنات الحية. ومعظم الكائنات غير مميزة النواه تحتوى أيضا على إنزيم glutamate synthase الذى يحفز الأمينة الإختزالية reductive amination لألفا كيتوجلوتارات الذى يتحول إلى جلوتامات. ويستخدم الجلوتامين فى هذا التفاعل كمانح للنتروجين وبذلك يتكون جزئين جلوتامات.

$$\alpha\text{ - Ketoglutarate + Glutamine + NADPH + H}^{+} \longrightarrow \text{2 Glutamate + NADP}^{+}$$

ولقد أُكتشف هذا الإنزيم أيضا فى كلوروبلاست النباتات والذى يستخدم الفيريدوكسين المختزل كعامل مختزل بدلا من NADPH.

الهيكل الكربونى للأحماض الأمينية يُستمد من المركبات الوسيطة فى دورة حمض الستريك ومركبات الأيض الوسيطة الأخرى

حتى هذه المرحلة قمنا بشرح عملية تحول النتروجين والنترات إلى أيون الأمونيوم وإدماج أيون الأمونيوم فى الجلوتامات والجلوتامين. بعض الكائنات مثل النباتات وبكتريا القولون تستطيع بناء جميع الأحماض الأمينية العشرين. بالمقارنة فإن الإنسان يستطيع بناء عشرة أحماض أمينية فقط، وهذه الأحماض الأمينية العشرة تدعى بالأحماض الأمينية غير الأساسية nonessential (جدول ٢٠ ـ ١)، حيث يمكن للإنسان بنائها من الأمونيا ومصادر كربونية مختلفة. أما الأحماض الأمينية العشرة الأخرى فتعرف بالأحماض الأمينية الأساسية essential، لأن الإنسان لا يستطيع بنائها ويجب أن يتحصل عليها من المصادر الغذائية. والنقص فى واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية الأساسية يؤدى إلى ميزان نتروجينى سالب، فى هذه الحالة فإن كمية البروتين التى تهدم تكون أكبر من كمية البروتين التى تُبنى وبالتالى تكون كمية النتروجين المفرزة أكبر من كمية النتروجين المتناولة فى الغذاء.

بالرغم من التباين فى مسارات البناء الحيوى للأحماض الأمينية فإنها تشترك فى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جدول ٢٠ ـ ١

الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية بالنسبة للإنسان

الأحماض الأمينية غير الأساسية	الأحماض الأمينية الأساسية
جلوتامات	أيسوليوسين
جلوتامين	ليوسين
برولين	لايسين
أسبارتات	مثيونين
أسباراجين	فينايل الآنين
الآنين	ثريونين
جليسين	تربتوفان
سيرين	ڤالين
تيروزين	أرجنين
ستستاين	هستدين

سمات عامة. فيستمد الهيكل الكربونى للأحماض الأمينية من المركبات الوسيطة للإنحلال السُكرى، ومسار فوسفات البنتوز ودورة حمض الستريك. بالإضافة إلى ذلك فإن مسارات البناء تبدأ فقط من ستة من هذه المركبات الوسيطة (شكل ٢٠ ـ ٤).

البناء الحيوى لبعض الأحماض الأمينية غير الأساسية: ألآنين وأسبارتات وأسباراجين يتم مباشرة بتفاعل نقل مجموعة الأمين

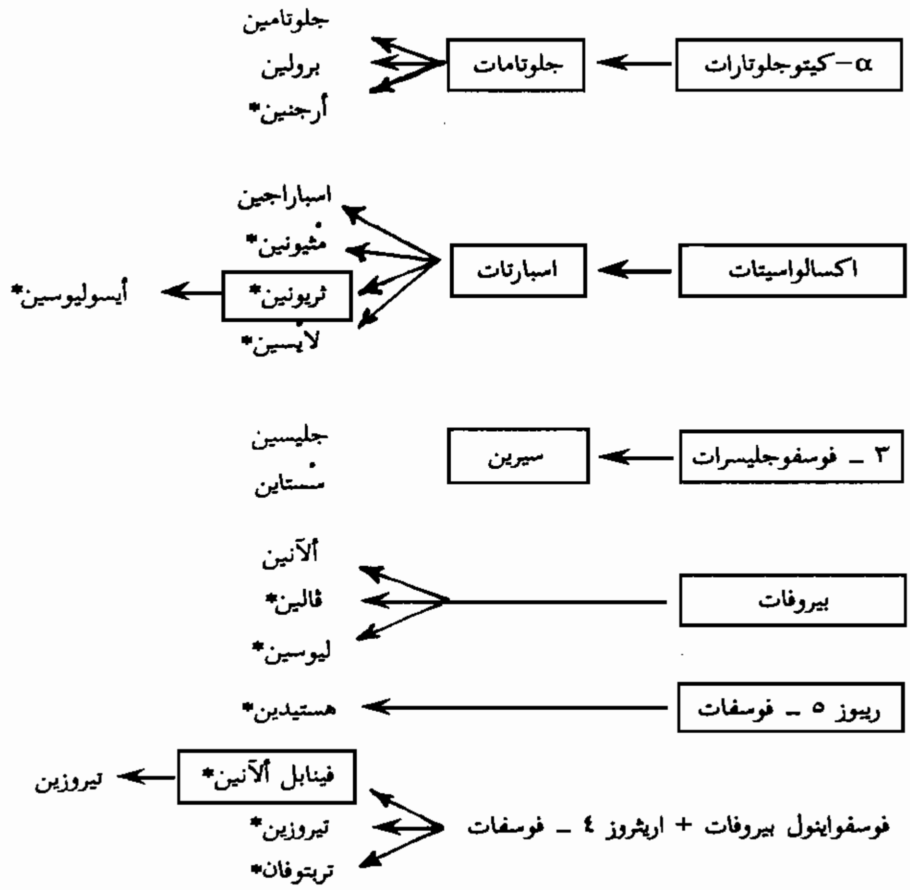
فى معظم الكائنات الحية يُشتق ألآنين وأسبارتات من البيروفات والأُكسالوأسيتات على التوالى بواسطة تفاعل نقل مجموعة الأمينو من الجلوتامات فى وجود فوسفات البيريدوكسال كعامل مساعد.

$$\text{Glutamate + Pyruvate} \rightleftharpoons \alpha\text{ - Ketoglutarate + alanine}$$

$$\text{Glutamate + Oxaloocetate} \rightleftharpoons \alpha\text{ - Ketoglutarate + aspartate}$$

فى عدد كبير من البكتريا يُبنى الأسباراجين من الأسبارتات بتفاعل أمينة (إدخال مجموعة أمين) amination بواسطة إنزيم asparagin synthetase.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٠ ـ ٤

مسارات البناء الحيوى للأحماض الأمينية مقسمة إلى ستة مجموعات بناء على المادة البادئة. الأحماض الأمينية الأساسية مميزة بالعلامة*.

$$\text{Aspartate} + NH_4^+ + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{asparagine} + \text{ADP} + P_i + H^+$$

فى الثدييات والنباتات مع ذلك فإن مصدر النتروجين فى بناء الأسباراجين هو الجلوتامين وليس NH_4^+.

$$\text{Glutamine} + \text{aspartate} + \text{ATP} + H_2O \longrightarrow \text{Glutamate} + \text{asparagine} + \text{AMP} + PP_i$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

التيروزين يُصنّع من الحمض الأمينى الأساسى فينايل ألآنين

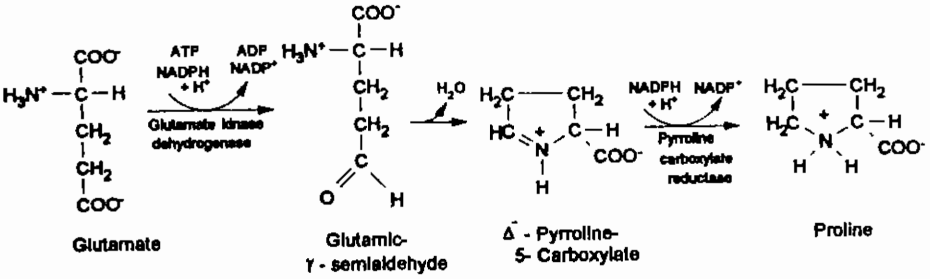
التيروزين وهو أحد الأحماض الأمينية غير الأساسية يُبنى فى الثدييات بخطوة واحدة بإدخال مجموعة هيدروكسيل فى الفينايل ألآنين (حمض أمينى أساسى).

$$\text{Phenylalanine} + O_2 + \text{NADPH} + H^+ \longrightarrow \text{tyrosine} + \text{NADP}^+ + H_2O$$

يحفز هذا التفاعل إنزيم phenylalanine hydroxylase.

جلوتامات هو المادة البادئة لجلوتامين وبرولين

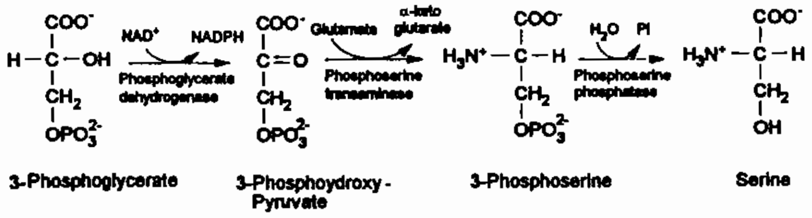
سبق أن نوقش تكوين الجلوتامات بالأمينة الإختزالية لألفا كيتوجلوتارات، وكذلك تحول الجلوتامات إلى جلوتامين. تُعتبر الجلوتامات أيضا المادة البادئة للحمض غير الأساسى برولين Proline. فى الخطوة الأولى تختزل مجموعة الكربوكسيل جاما فى الجلوتامات بواسطة NADPH فى وجود ATP إلى مجموعة الدهيد. والمركب الناتج وهو جلوتاميك سيمى الدهيد glutamic γ - Semialdehyde يفقد جزئ ماء تلقائيا ويتحول إلى مركب حلقى هو Δ^1 ـ بيرولين ـ٥ كاربوكسيلات Δ^1 - pyrroline - 5 - carboxylate الذى يختزل بواسطة NADPH ويتحول إلى برولين.



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

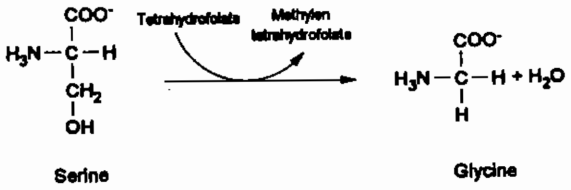
سيرين يبنى من ٣ - فوسفوجليسرات

يُبنى سيرين Serine من ٣ ـ فوسفوجليسرات 3 - phosphoglycerate وهو أحد المركبات الوسيطة فى الإنحلال السُكَّرى. تشمل الخطوة الأولى أكسدة ٣ـ فوسفوجليسرات إلى ٣ ـ فوسفوهيدروكسى بيروفات 3 - phosphohydroxy Pyruvate. ثم تنقل مجموعة أمين بعد ذلك إلى هذا الحمض الكيتونى بتفاعل نقل مجموعة الأمين من الجلوتامات ويتكون ٣ ـ فوسفوسيرين 3 - phosphoserine الذى يتميه ليعطى السيرين.



سيرين هو المادة البادئة لجليسين

يُبنى الحمض الأمينى غيرِ الأساسى جليسين glycine من السيرين فى خطوة تفاعل واحدة. ففى هذا التحول تنقل ذرة الكربون بيتا فى السيرين إلى رباعى هيدروفولات tetrahydrofolate وهو مرافق إنزيمى حامل لوحدات أحادية الكربون.



يحفز هذا التفاعل إنزيم serine transhydroxymethylase وهو أحد إنزيمات فوسفات البيرويدوكسال.

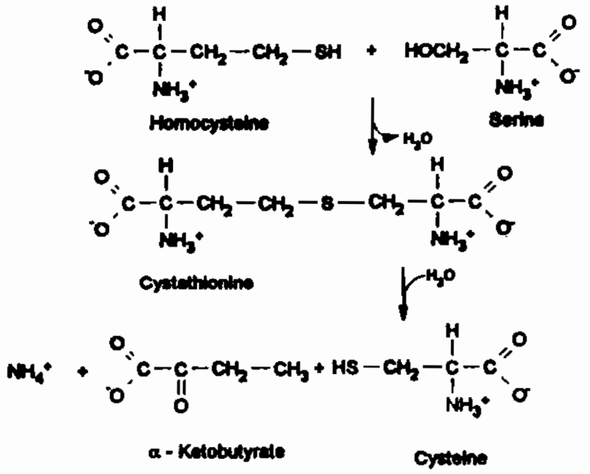
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

فى كبد الفقاريات يمكن أن يبنى الجليسين أيضا من ثانى أكسيد الكربون والأمونيا وميثلين رباعى هيدروفولات methlenetetrahydrofolate تحت حفز انزيم glycine synthase .

$CO_2 + NH_4^+ + NADH + H^+ +$ methylenetetrahydrofolate ⟶
Glycine + NAD^+ + tetrahydrofolate

البناء الحيوى للسستئين يتم بعدة مسارات

توجد عدة مسارات لبناء الحمض الأمينى سستئين Cysteine التى تعتمد على نوع الكائن الحى. ففى الثدييات يبنى سستئين من سيرين وهوموسستئين homcysteine. فيتكاثف سيرين وهوموسستئين ليكونا سستاثيونين cystathionine (شكل ٢٠ ـ ٥)



شكل ٢٠ ـ ٥

البناء الحيوى للسستئين

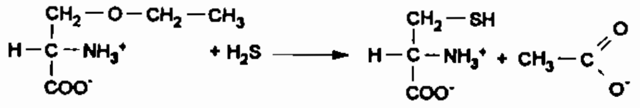
يحفز هذا التفاعل إنزيم cystathionine synthetase وهو أيضا أحد إنزيمات فوسفات البيريدوكسال. فى الخطوة الثانية يقوم إنزيم cystathionase بإزالة مجموعة الأمينو من

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

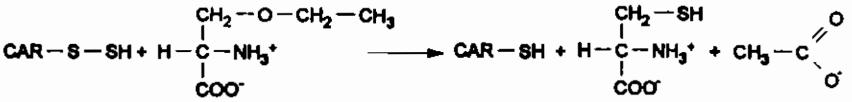
سستاثيونين وتفكيكه مائيا ليعطى سستئين والفاكيتوبيوترات α - ketobutyrate والمعادلة الإجمالية لهذا التحول هى:

Homocysteine + Seine → Cysteine + α-ketobuterate + NH_4^+

فى الكائنات المجهرية والنباتات الراقية يُبنى سستئين بمسارين فى المسار الأول يُبنى سستئين من o- أسيتايل سيرين o-acetyl serine (الصورة النشطة للسيرين) وكبريتيد الهيدروجين (H_2S) عندما يُمثل المركب الأخير مصدر الكبريت لهذه الكائنات.



وفى حالة ما تُمثل الكبريتات صورة الكبريت المتاحة لهذه الكائنات فإنه يتم إختزالها إلى الكبريتيد قبل إدماجها فى المركبات العضوية. وهذا التحول الذى يقتصر فقط على الكائنات المجهرية والنباتات الراقية يُشبه إختزال النترات إلى الأمونيا. فاختزال الكبريتات فى عدة خطوات يؤدى فى النهاية إلى تحوُّلها إلى مجموعة (-SH) التى تكون مرتبطة بأحد الحوامل البروتينية (CAR - S - SH) التى لم يعرف طبيعتها التركيبية بعد. ويتم تكوين السستئين فى هذه الحالة من تفاعل هذا المركب (CAR - S - SH) الذى يعمل كمانح لمجموعة (-SH) مع o- أسيتايل سيرين.



وبهذا نكون قد أكملنا البناء الحيوى للأحماض الأمينية غير الأساسية.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى للأحماض الأمينية الأساسية يتم بمسارات معقدة

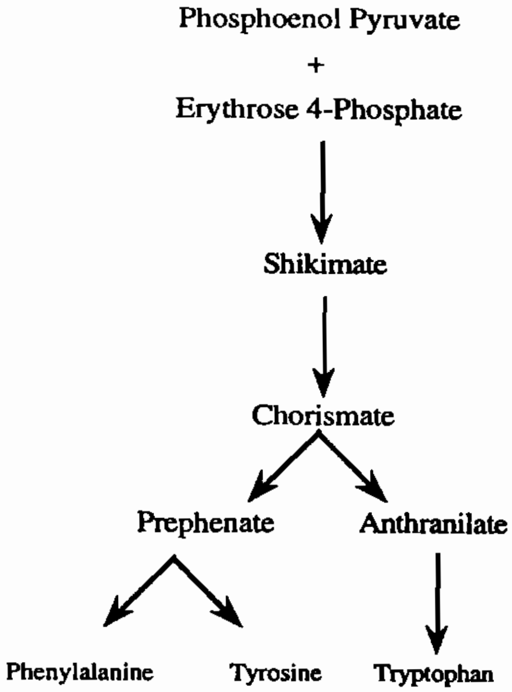
تنتقل الآن إلى البناء الحيوى للأحماض الأمينية الأساسية الذى يتم فى الكائنات الجهرية والنباتات بمسارات طويلة معقدة بالنسبة لمسارات بناء الأحماض الأمينية غير الأساسية. أكثر مسارات بناء الأحماض الأمينية الأساسية تعقيداً هى تلك التى تؤدى إلى تكوين الأحماض الأمينية فينايل ألآنين وتيروزين وتربتوفان وهستدين التى تحتوى على حلقة عطرية أو حلقة غير متجانسة.

أربعة من الأحماض الأمينية الأساسية للحيوانات تُبنى بواسطة النباتات والكائنات الجهرية من الأحماض الأمينية غير الأساسية. فالثريونين ومثيونين ولايسين تُبنى من الأسبارتات، بينما أرجنين يبنى من الجلوتامات. أما أيسوليوسين يتكون فى البكتريا من الحمضى الأمينى الأساسى ثريونين. وسوف نشرح فى الجزء التالى إثنين من مسارات بناء الأحماض الأمينية الأساسية إحداهما خاص ببناء الأحماض الأمينية العطرية والآخر خاص ببناء الهستيدين.

فينايل ألآنين وتيروزين وتربتوفان تُبنى بمسار عام يشمل شيكمات وكوريسمات كمركبات وسيطة

تُبنى الأحماض الأمينية العطرية فينايل ألآنين وتيروزين وتربتوفان بمسار عام يشمل إنشاء حلقة عطرية. وهذا المسار الذى يشار إليه احيانا بمسار الشيكيمات shikimate pathway (شكل ٢٠ ـ ٦) يُعتقد أنه متشابه فى كل من البكتريا والنباتات. تشمل الخطوة الأولى فى مسار البناء تكثيف فوسفوإينول بيروفات phosphoenolpyruvate (أحد المركبات الوسيطة فى الإنحلال السُكّرى) مع ارثيروز ٤ ـ فوسفات erythrose 4-phosphate (أحد المركبات الوسيطة فى مسار فوسفات البنتوز)، والسكر سباعى الكربون الناتج يفقد مجموعة فوسفات ثم تقفل السلسلة ويتكون ٥ ـ ديهيدروكوينات 5-dehydroquinate. إزالة جزئ ماء بعد ذلك يؤدى إلى تكوين ٥ـ ديهيروشيكيمات 5-

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



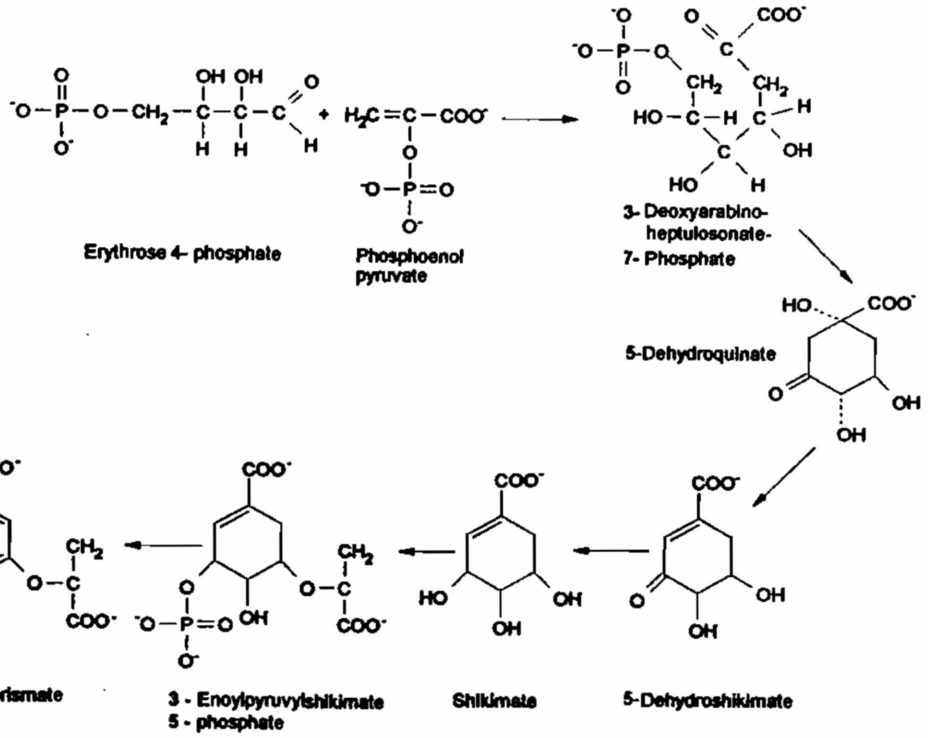
شكل ٢٠ ـ ٦

مسار الشيكيمات لبناء الأحماض الأمينية العطرية فى بكتريا القولون (E. Coli).

dehydroshikimate الذى يُختزل بواسطة NADPH إلى شيكيمات shikimate (شكل ٢٠ ـ ٧). تكثيف جزئ فوسفواينول بيروفات آخر مع شيكيمات يُنتج مركب وسيط الذى يفقد مجموعة الفوسفات ويتحول إلى كوريسمات chorismate.

يتفرع مسار البناء عند الكوريسمات إلى مسارين أحدهما خاص ببناء فينايل ألآنين وتيروزين والآخر خاص ببناء تربتوفان. ففى المسار الأول تتحول الكوريسمات بواسطة إنزيم mutase إلى بريفينات prephenate وهو المادة البادئة للحلقة العطرية لفينايل ألآنين وتيروزين (شكل ٢٠ ـ ٨). فإزالة مجموعة كربوكسيل وجزئ ماء من بريفينات ينتج فينايل بيروفات phenylpyruvate، أما البديل عن ذلك هو إزالة مجموعة الكربوكسيل من بريفينات وتكوين ٤ـ هيدروكسى فينايل بيروفات 4-hydroxyphenylpyruvate، ثم أن نقل مجموعة الأمينو من الجلوتامات لكل من هذين الحمضين يؤدى إلى تكوين

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

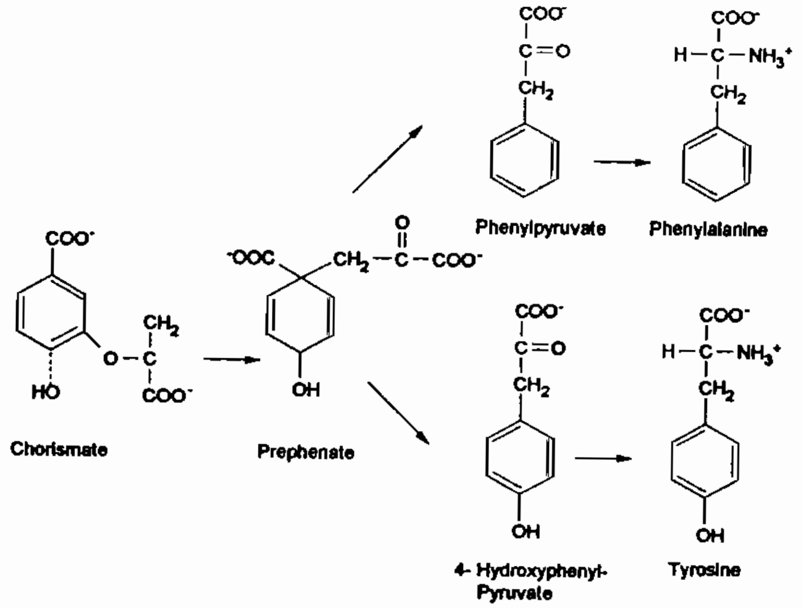


شكل ٢٠ ـ ٧

البناء الحيوى لكوريسمات وهو أحد المركبات الوسيطة فى عملية البناء الحيوى للأحماض الأمينية فينايل ألآنين وتيروزين وتريبتوفان.

فينايل ألآنين phenylalnine وتيروزين tyrosine على التوالى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

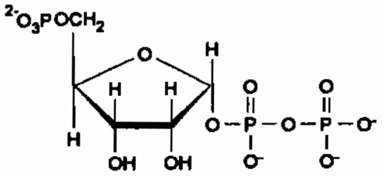


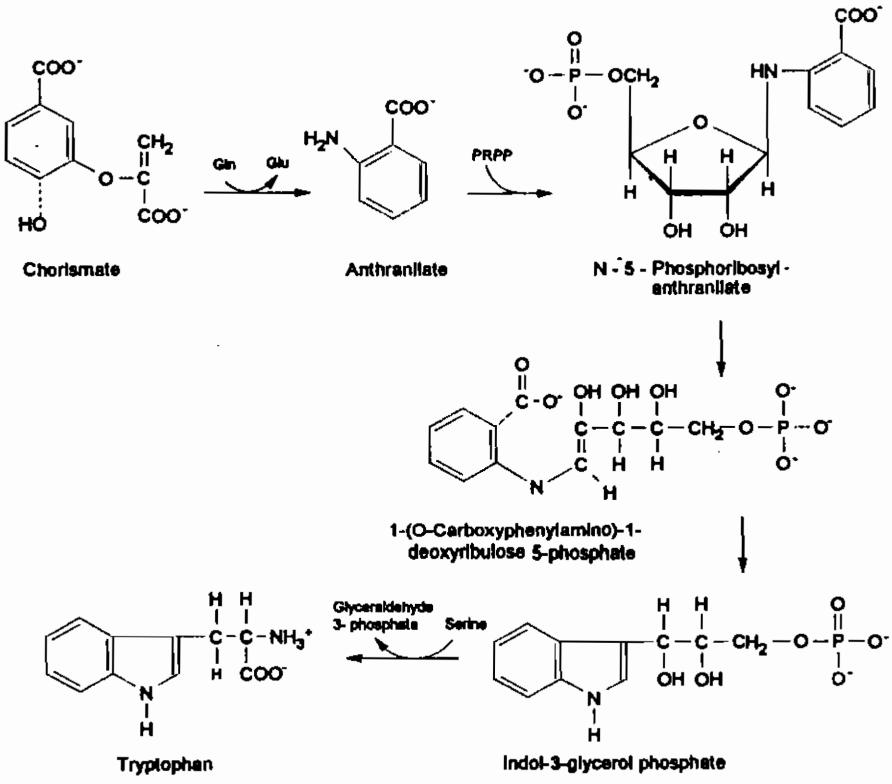
شكل ٢٠ - ٨

البناء الحيوى لفينايل ألآنين وتيروزين من الكوريسمات

المسار الآخر الذى يبدأ بالأنثرانيلات anthranilate يؤدى إلى بناء تربتوفان. فى الخطوة الأولى تتحصل الكوريسمات على مجموعة أمينو من السلسلة الجانبية للجلوتامين وتتحول إلى انثرانيلات anthranilate. ثم تتكثف انثرانيلات فى الخطوة التالية مع فوسفوريبوزيل بيروفوسفات phosphoribosyl pyrophosphate (PRPP) وهو الصورة النشطة لريبوزفوسفات. فى هذا التفاعل ترتبط ذرة الكربون الأولى فى ريبوز ٥ ـ فوسفات مع ذرة النتروجين فى الأنثرانيلات ويدفع التفاعل بتميه البيروفوسفات. ثم يحدث تعديل داخلى فى وحدة الريبوز فى فوسفوريبوزيل انثرانيلات phosphoribosyl anthranilate الناتجة من التفاعل السابق (شكل ٢٠ ـ ٩) ويتكون ١ ـ (أرثو ـ كاربوكسى فينايل أمينو) ـ ١ ـ دى أوكسى ريبلوز ٥ ـ فوسفات 1-(o-Carboxyphenylamino) - 1-deoxyribulose 5-phosphate. ثم يزال جزئ ماء وجزئ ثانى أكسيد الكربون من هذا المركب الوسيط ويتكون إندول ٣ ـ جليسرول فوسفات indol - 3 -glycerol phosphate، الذى يتفاعل مع السيرين ويكون تربتوفان. يحفز التفاعل الأخير إنزيم tryptophan synthetase.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com





شكل ٢٠ - ٩

البناء الحيوى للتريتوفان من الكوريسمات

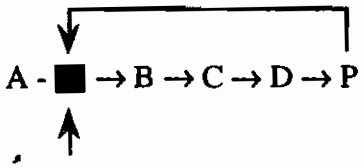
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الهستيدين يُبنى من الأدينوزين ثلاثى الفوسفات وفوسفوريبوزيل بيروفوسفات والجلوتامين

يظهر أن البناء الحيوى للهستيدين فى النباتات والبكتريا متشابه ويشتمل على تفاعلات معقدة (شكل ٢٠ ـ ١٠). تبدأ سلسلة تفاعلات بناء الهستيدين بتكثيف أدينوزين ثلاثى الفوسفات (ATP) مع فوسفوريبوزيل بيروفوسفات (PRPP) حيث ترتبط ذرة النتروجين الأولى (N_1) فى حلقة البيورين مع ذرة الكربون الأولى (C_1) لوحدة الريبوز فى PRPP. ومن الثابت أن خمس ذرات كربون فى الهستيدين تشتق من PRPP، بينما وحدة الأدنين فى ATP هى مصدر لذرة نتروجين وذرة كربون لحلقة الإيميدازول فى الهستيدين، أما ذرة النتروجين الأخرى فى حلقة الإيميدازول تُشتق من السلسلة الطرفية فى الجلوتامين.

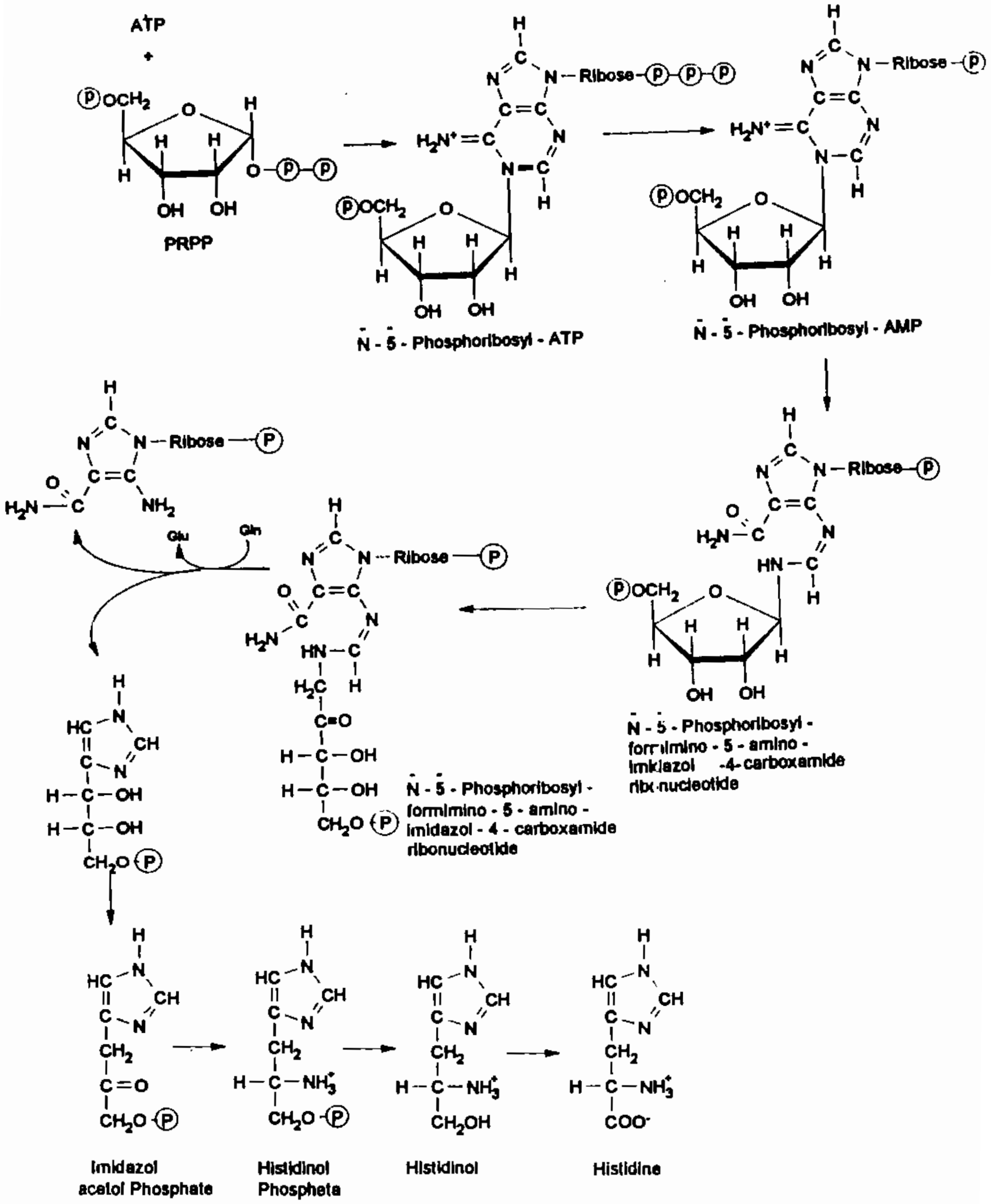
البناء الحيوى للأحماض الأمينية يُنظَّم بالتثبيط بالتغذية المرتدة وبتغيير تركيز الإنزيمات

يعتمد معدَّل البناء الحيوى للأحماض الأمينية أساساً على كمية الإنزيمات المشتركة فى مسارات البناء وعلى نشاط هذه الإنزيمات. فالتفاعل الإنعكاسى الأول فى مسار البناء عادة ما يُمثِّل أهم مواضع التنظيم، فالناتج النهائى لمسار البناء (P) غالبا ما يثبط الإنزيم الذى يحفز الخطوة الأولى (A → B) فى المسار. وهذا النوع من التحكُّم الذى يطلق عليه التثبيط بكيفية التغذية المرتدة feedback inhibition ضرورى للمحافظة على الوحدات البنائية وطاقة الأيض.



هذا الإنزيم يُثبط
بواسطة الناتج النهائى
(P) لسلسلة التفاعل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

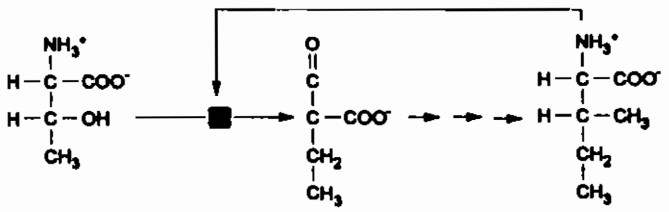


شكل ٢٠ ـ ١٠

مسار البناء الحيوى للهستيدين فى بكتريا القولون والنباتات. (P) تشير إلى مجموعة فوسفوريل.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وأول مثال أكتشف للتنظيم بهذه الطريقة هو تنظيم بناء الأيسوليوسين فى بكتريا القولون، فقد وجد أن أيسوليوسين يثبط إنزيم threonine dehydratase وهو الإنزيم الذى يحفز التفاعل الأول فى مسار بناء أيسوليوسين.



وبطريقة مماثلة يُثبط التربتوفان المتراكب الإنزيمى الذى يحفز الخطوة الأولى والثانية فى مسار تحول الكوريسمات إلى تربتوفان.

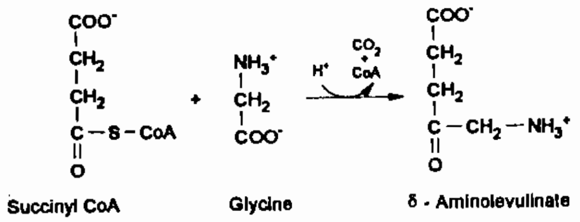
أما الطريقة الأخرى لتنظيم معدّل بناء الأحماض الأمينية يكون عن طريق التحكم فى تركيز الإنزيمات المشاركة فى مسار البناء. فعند توفّر أحد الأحماض الأمينية للخلية بكمية كافية فإنه يعمل على خفض تركيز معظم الإنزيمات المشتركة فى عملية البناء وذلك بخفض نشاط الجينات المُوجّهة لبناء هذه الإنزيمات، وتعرف هذه الطريقة بوقف (كبح) البناء Repression . ويعتبر نظام بناء الهستيدين أكثر نظم البناء دراسة، فقد وجد أن إضافة الهستيدين إلى بيئة نمو بكتريا Salmonella typhimurin يوقف بناء الإنزيمات العشرة المشتركة فى مسار بناء الهستيدين.

البورفورينات تُبنى من جليسين وسكسنايل مرافق إنزيمى A

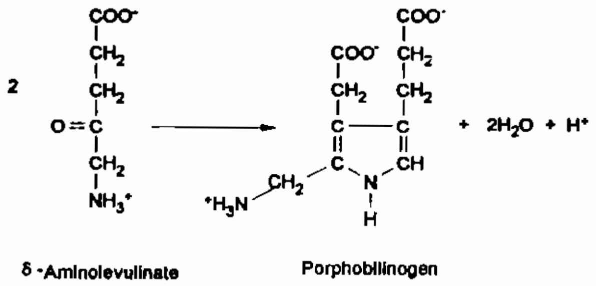
بالإضافة إلى دور الأحماض الأمينية كوحدات بنائية للبروتينات فإنها تمثل أيضا مواد أولية لعدد كبير من الجزيئات البيولوجية التى تشمل بعض الهورمونات والفيتامينات والمرافقات الإنزيمية والبورفورينات وغيرها. وسنقتصر دراستنا فى هذا الجزء على البناء الحيوى للبورفورينات porphyrins نظرا لأهميتها فى بروتينات الهيم مثل الهيموجلوبين والسيتوكرومات وكذلك صبغة الكلوروفيل التى تشترك فى عملية البناء الضوئى.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

يُعتبر جليسين المادة الأولية الأساسية فى بناء البورفورينات. فتشمل الخطوة الأولى فى بناء البورفورين تكثيف جليسين وسكسنايل - مرافق إنزيمى A وتكوين دلتا أمينولفيليناتات δ - aminolevulinate.

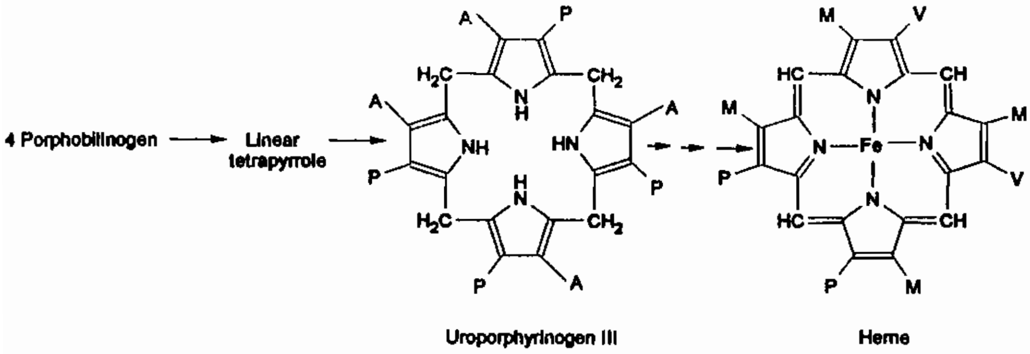


يحفز هذا التفاعل إنزيم δ - aminolevulinate synthetase الذى يُمثّل موضع التنظيم الأساسى فى بناء البورفورينات. وفى الخطوة التالية يتكثف جزيئين دلتا أمينولفيلينات ويتكون بورفوبيلينوجين porphobilinogen تحت حفز إنزيم δ - aminolevulinate de-hydrase.



يتكاثف أربعة جزيئات بورفوبيلينوجين من الرأس إلى الذيل ويتكون تترابيرول خطى linear tetrapyrrole الذى يتحول وهو مازال مرتبطا بالإنزيم إلى مركب حلقى هو يوروبورفيرجين - ٣ (uroporphyrinogen III). أما التفاعلات التالية تُغير السلاسل الجانبية ودرجة عدم التشبع فى يوروبورفيرينوجين - ٣ وتكوّن الهيم أو الكلوروفيل أو فيتامين B_{12} شكل (٢٠ - ١١).

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل ٢٠ - ١١

مسار بناء الهيم. الإختصارات أسيتات A = ، M = ميثايل، P = بروبيونايل و V = فينايل

البورفورينات تتراكم فى الأنسجة وسوائل الجسم نتيجة لبعض الأمراض الوراثية فى أيض البورفورينات

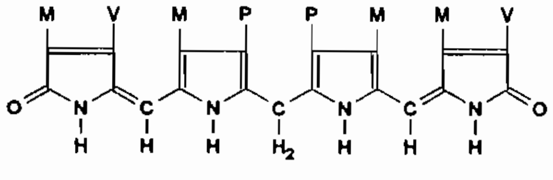
الخلل الوراثى فى بعض الإنزيمات المشتركة فى البناء الحيوى للبورفورينات يؤدى إلى تراكم بعض المركبات الوسيطة فى مسار البناء فى خلايا الدم الحمراء وسوائل الجسم وفى الكبد، وتعرف هذه الحالة بأمراض البورفيريا porphyria. أحد هذه الأمراض يدعى congenital erythropoietic porphyria يؤثر أساساً على خلايا الدم الحمراء وينتج عن نقص إنزيم uroporphyrinogen - III cosynthetase. وفى هذا المرض يتراكم يوروبورفيرينوجين - ١ ويفرز فى البول ويعطيه اللون الأحمر المميز، ويصاحب هذا المرض تلألؤ الأسنان بالأشعة فوق البنفسجية وزيادة غير طبيعية فى حساسية الجلد لضوء الشمس.

أما مرض acut intermintten porphyria وهو مرض آخر، يؤثر على الكبد وينتج عن نقص فى نشاط إنزيم uroporphyrinogen synthetase ولذلك يتراكم دلتا أمينو- لفيلينات ويورفوبيلينوجين فى الكبد مع إفراز كمية كبيرة من هذه المواد فى البول. ويورث هذا المرض كصفة جسدية سائدة autosomal dominant وأعراضه آلام فى البطن وإضطراب عصبى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بليروبن هو المركب الوسيط فى إنحلال الهيم

فترة حياة كرات الدم الحمراء فى الشخص السليم تكون حوالى ١٢٠ يوم حيث تُزال الخلايا القديمة من الدورة الدموية وتنحل فى الطحال، فالجزء البروتينى يتفكك إلى محتوياته من الأحماض الأمينية، بينما تتفكك مجموعة الهيم لتعطى أيونات الحديد Fe^{3+} وبليروبن bilirubin وهو أحد مشتقات تترابيرول الخطى (شكل ٢٠ ـ ١٢). يرتبط بليروبن بألبيومن السيرم وينقل إلى الكبد حيث يتحول إلى صورة ذائبة بإرتباطه بوحدتين من الحمض السُكَّرِى جلوكورونات ويفرز فى السائل المرارى.



شكل ٢٠ ـ ١٢

بليروبين أحد صبغات السائل المرارى الاختصارات M = ميثايل، P = بروبيونايل، V = فينايل

وبليروبن هى الصبغة المسئولة عن إصفرار الجلد ومقلة العين فى مرض اليرقان jau-dice الذى ينتج عن تلف فى وظائف الكبد، ولذا فإن تقدير تركيز بليروبن فى الدم يعتبر من الوسائل المفيدة فى تشخيص مرض اليرقان وأمراض الكبد الأخرى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجـــع

Bender, D. A.: Amino Acid Metabolism, Wiley, New York. 1975.

Brill, W. J.: Biological Nitrogen Fixation, Sci. Am., 236 : 68 - 81 March (1977).

Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Bruening, and R. H. Doi: Outlines of Biochemistry (5 th ed.) John Wiley & Sons, New York, 1987.

Cunnigham, E. B.: Biochemisry: Mechanisms of Metabolism, McGraw-Hill, New York, 1978.

Delwiche, C. C.: The Nitrogen Cycle, Sci. Am., 223 : 136 - 147, September (1977)

Granick, S., and S. J. Beale: "Hemes, Chlorophyll, and Related Compunds: Biosynthesis and Metabolic Regulation," Adv. Enzymol., 40 : 33 - 203 (1978).

Lehninger, A. L.: Principles of Biochemisry, Worth, New York, 1982.

Meister, A.: Biochemistry of Amino Acids, 2nd ed., Academic, New York, 1965.

Metzler, A.: Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells, Academic Press, New York, 1977.

Mortenson, L. E., and R. N. Thorneley: Structure and Function of Nitro-

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

genase," Ann. Rev. Biochem., 48 : 387 - 418 (1979).

Nyhan, W. L. (ed.): Heritable Disorders of amino Acid Metabolism, Wiley, New York, 1974.

Smith, K. M., (ed.): Porphyrins and Metalloporphyrins, Elsevier, 1976.

Strayer, L.: Biochemistry 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

Umbarger, H. E.: Amino Acid Biosynthesis and Its Regulation,: Ann. Rev. Biochem., 47 : 533 - 606 (1978).

Zubay, G. (Coord. author): Biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass., 1983.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تمارين

١ ـ أجب عن الجمل التالية بصح أو خطأ ـ وإذا كانت خطأ إشرح ذلك.

(أ) المواد البادئة فى بناء الأحماض الأمينية العطرية هى مواد وسيطة فى مسار الإنحلال السُكَّرِى ودورة حمض الستريك.

(ب) بالرغم من أن الحمض الأمينى فينايل ألآنين يعتبر من الأحماض الأمينية الأساسية للإنسان فإن الحمض الأمينى تيروزين ليس كذلك لأن الإنسان يمكن أن يبنى التيروزين من فينايل ألآنين.

(جـ) NO_3 تمثل المصدر النتروجينى الأساسى للنباتات لعدم قدرة النباتات على استخدام أمونيا التربة.

(د) البكتريا المثبتة للنتروجين يمكن أن تنتج الأمونيا من N_2 , H^+ ومستقبل إلكترونى غير عضوى وكذلك من N_2 و H_2.

٢ ـ (أ) أى من الأحماض الأمينية العشرين يمكن أن تتكون مباشرة من المركبات الوسيطة فى مسار الإنحلال السُكَّرِى ودورة حمض الستريك فى خطوة واحدة.

(ب) أكتب هذه المعادلات مستخدما الجلوتامات كمانح للنتروجين فى تفاعل نقل مجموعة الأمينو.

٣ ـ إختزال N_2 بواسطة H_2 لتكوين NH_3 فى تفاعل النيتروجنيز nitrogenase يحتاج إلى ٤ جزيئات ATP لكل زوج ألكترون منقول

(أ) هل هذا العدد من جزيئات ATP المطلوبة فى هذا التفاعل متوقعة (E_o`)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

لتفاعل نصف الخلية ١/٢ N_2 + ٣ H^+ / NH_3 = ـ ٣٤ وفولت).

(ب) كيف تستخدم هذه الطاقة وكيف تزدوج فى النظام.

(جـ) وضح كيف يمكن التحقق من دور ATP فى تثبيت النتروجين.

٤ ـ أكتب المعادلة المتزنة لتخليق الحمض الأمينى ألآنين من الجلوكوز.

٥ ـ ما هو مشتق الفولات folate المتفاعل فى كل من التحولات التالية

(أ) جليسين ← سيرين

(ب) هستيدين ← جلوتامات

(جـ) هوموسستثين ← مثيونين

٦ ـ فى التفاعل الذى يحفز بإنزيم glutamine Synthetase تنقل ذرة أكسجين من السلسلة الطرفية للجلوتامات إلى الأرثوفوسفات كما إتضح من الدراسات التى استخدم فيها ^{18}O . اقترح تفسير لهذه النتائج.

٧ ـ فى الأشخاص العاديين فإن التيروزين يعتبر من الأحماض الأمينية غير الأساسية، بينما فى مرض النقص الوراثى لإنزيم Phenylalanin hydroxylase فإن المرضى يحتاجون إلى التيروزين فى غذائهم لحدوث النمو الطبيعى. إشرح ذلك.

٨ ـ أحد الكائنات الدقيقة الطافرة (١) تحتاج إلى إثنين من الأحماض الأمينية B و C لنموها وطافر آخر (٢) يحتاج فقط إلى الحمض الأمينى B. إثنين من الطافرات (٣) و (٤) يحتاجان فقط إلى الحمض الأمينى C. الطافر ٣ يحدث فيه تجمع للأيضه D التى تدعم نمو الطافر (٤) ولكن لا تدعم نمو الطافر (١) أو (٢). الطافر (٤) يحدث فيه تجمع للأيضه A التى وحدها تدعم نمو الطافر (١)

(أ) إرسم مخطط بيانى لمسار البنـاء الذى يربـط بين المركبـات A و B و C و D موضحا الخطوة التى يتم عندها الإعاقة فى كل طافر.

(ب) ما هى الخطوة الأكثر إحتمالا للتثبيط بواسطة المركب C.

٩ ـ ما هى المركبات الوسيطة فى سريان النتروجين من N_2 إلى الهيم.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?

user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis

https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid

07807137614

فصل ٢١

البناء الحيوى للنيوكليوتيدات

Biosynthesis of Nucleotides

يتعلق هذا الفصل بالبناء الحيوى للنيوكليوتيدات nucleotides ومسارات تفككها، فكل الكائنات الحية ماعدا بعض أنواع البكتريا لها القدرة على بناء النيوكليوتيدات. ويعتبر البناء الحيوى للنيوكليوتيدات من العمليات الأساسية لكل الخلايا والذى يرجع إلى عدم مقدرة الخلايا على استخلاص النيوكليوتيدات من الوسط المحيط من ناحية، وإشتراك هذه المركبات فى معظم العمليات الحيوية من ناحية أخرى.

١ ـ فالنيوكليوتيدات تُمثّل المواد الأولية النشطة فى بناء DNA و RNA.

٢ ـ تُمثل مشتقات النيوكليوتيدات مركبات وسيطة نشطة فى عدد كبير من مسارات البناء مثل UDP ـ جلوكوز وهو المركب النشط فى بناء الجلايكوجين.

٣ ـ الأدينوزين ثلاثى الفوسفات ATP وهو أحد نيوكليوتيدات الأدنين يعمل كحامل عام لطاقة الأيض فى الأنظمة الحية.

٤ ـ تُشكّل نيوكليوتيدات الأدنين عناصر تركيبية فى ثلاثة مرافقات إنزيمية ألا وهى NAD^+ و FAD و CoA.

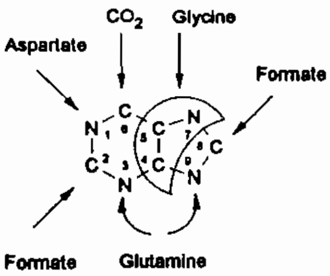
٥ ـ تعمل بعض النيوكليوتيدات أيضا كمنظّمات أيضية، فالادينوزين أحادى الفوسفات الحلقى cyclic AMP يعمل كمؤثر وسيط فى مسار فعل بعض الهورمونات.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

كذلك فإن التعديل التساهمى الذى يتم بواسطة ATP يغير نشاط بعض الإنزيمات وعلى سبيل المثال فسفرة إنزيم glycogen synthetase.

حلقة البيورين تُبنى من الأحماض الأمينية ومشتقات رباعى هيدروفولات وثانى أكسيد الكربون

نيوكليوتيدات البيورين purine nucleotides الأساسية التى تدخل فى بناء الأحماض النووية تشمل أدينوزين ٥َ ـ أحادى الفوسفات (AMP) أو حمض الأدنيليك وجوانوزين ٥َـ أحادى الفوسفات (GMP) أو حمض الجوانيليك اللذان يحتويان على قاعدة أدنين (A) وجوانين (G) على التوالى. ولقد أوضحت التجارب التى غُذّيت فيها حيوانات التجارب على أيضات مختلفة تحتوى على كربون ونتروجين مُعلّم أن ذرات حلقة البيورين تُشتق من خمس مركبات مختلفة (شكل ٢١ ـ ١)، فتشتق ذرات الكربون أرقام ٤ و ٥ وذرة النتروجين ٧ من جليسين، وذرة النتروجين رقم ١ تُشتق من الأسبارتات، أما ذرتى النتروجين أرقام ٣ و ٩ يُشتقّان من مجموعة الأميد للجلوتامين. ذرتى الكربون ٢ و ٨ يشتقان من الفورمات المُنشطة فى رباعى هيدروفولات، بينما ثانى أكسيد الكربون هو مصدر ذرة الكربون رقم ٦.



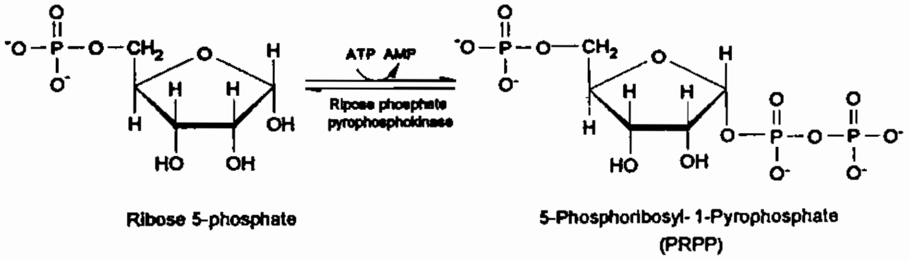
شكل ٢١ ـ ١

مصدر ذرات الكربون والنتروجين فى حلقة البيورين Purine

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥- فوسفوريبوزيل ١- بيروفوسفات هو مصدر وحدة فوسفات الريبوز فى النيوكليوتيدات

تُشتق وحدة فوسفات الريبوز التى تدخل فى تركيب نيوكليوتيدات البيورين والبيريميدين من ٥- فوسفوريبوزيل ١- بيروفوسفات 5-Phosphoribosyl - 1 - pyrophosphate (PRPP) وهو مركب وسيط أيضا فى البناء الحيوى للهستيدين والتربتوفان. يُبنى ٥ - فوسفوريبوزيل بيروفوسفات من ATP وريبوز ٥ - فوسفات الذى يتكون من مسار فوسفات البنتوز. وإنزيم kinase الذى يحفز هذا التفاعل يختلف عن إنزيمات Kinase الأخرى فى أنه ينقل مجموعة بيروفوسفات وليس مجموعة فوسفات من ATP إلى ذرة الكربون الأولى فى ريبوز ٥ - فوسفات.



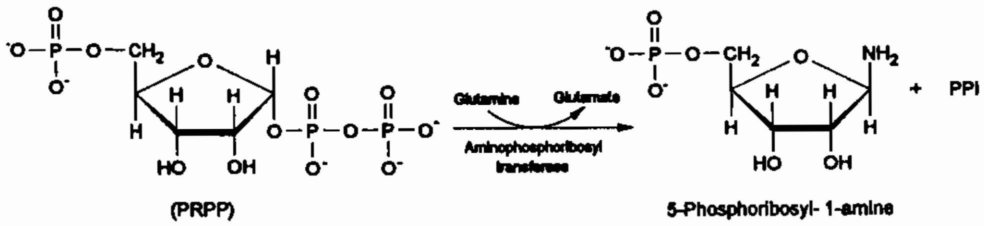
البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيورين يبدأ بالريبوز ٥َ- فوسفات الذى يُبنى عليه حلقة البيورين

يبدأ البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيورين بالريبوز ٥ - فوسفات الذى يُبنى عليه حلقة البيورين فى عشر خطوات. والناتج الأولى لمسار البناء الذى يحتوى على حلقة بيورين كاملة هو إينوسين - ٥َ - أحادى الفوسفات (IMP) أو حمض الاينوسينيك inosinic acid الذى يتحول بعد ذلك إلى AMP أو GMP.

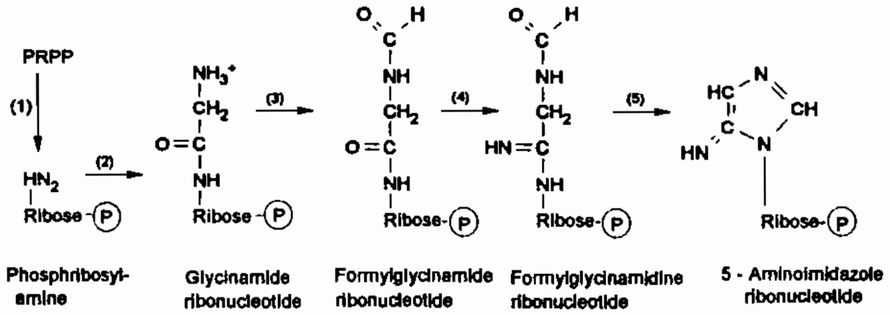
الخطوة الأُولى فى البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيورين هو تكوين ٥ - فوسفوريبوزيل - ١ - أمين 5-phosphoribosyl - 1 - amine من تفاعل PRPP مع الجلوتامين، فى هذا التفاعل يتم إستبدال مجموعة البيرفوسفات على ذرة الكربون الأُولى فى PRPP

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بمجموعة الأمينو في الجلوتامين، وتكون الرابطة الجلايكوسيدية C - N الناتجة في الهيئة الفراغية بيتا (β). يدفع هذا التفاعل إلى الأمام بتميؤ البيروفوسفات.



في الخطوة التالية يرتبط جليسين مع فوسفوريبوزيل أمين ويتكون جليسيناميد ريبونيوكليوتيد glycinamide ribonucleotide (شكل ٢١ ـ ٢). يستهلك جزئ ATP في هذا التفاعل لتكوين رابطة الأميد بين مجموعة الكربوكسيل في الجليسين ومجموعة الأمينو في فوسفوريبوزيل أمين. وترتبط مجموعة الأمينو ألفا الطرفية من وحدة الجليسين مع مجموعة الفورمالدهيد المشتقة من ميثيلين رباعى هيدروفولات ويتكون



شكل ٢١ ـ ٢

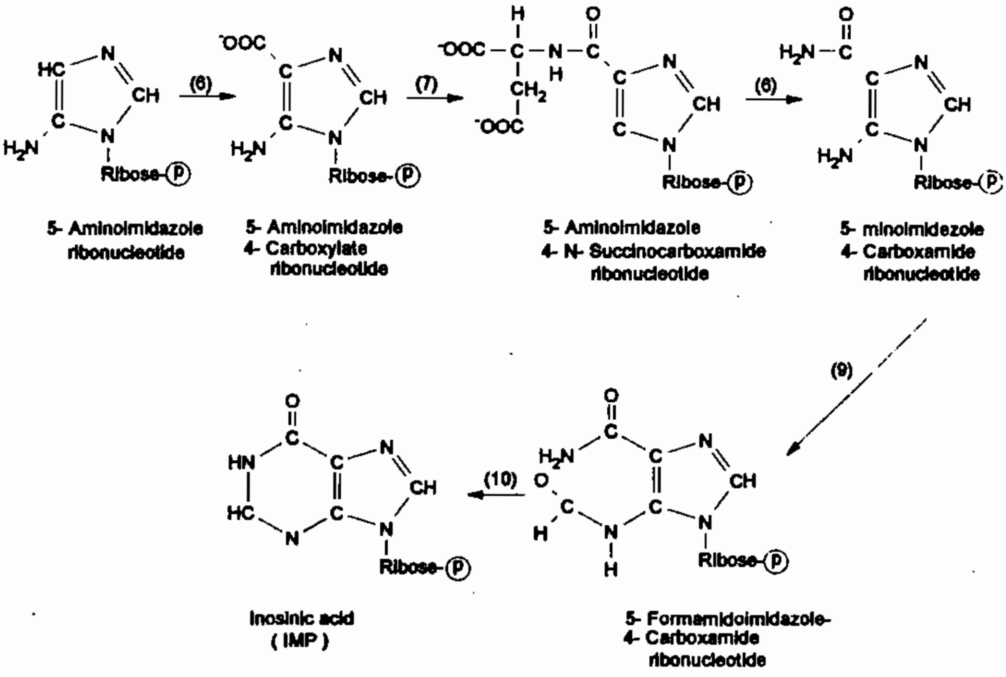
المرحلة الأولى في البناء الحيوى للبيورين: تكوين ٥ ـ أمينو إيميدازول ريبونيوكليوتيد من PRPP. تشمل هذه المرحلة التفاعلات التالية (١) إستبدال البيروفوسفات بمجموعة أمينو من السلسلة الجانبية للجلوتامين (٢) إضافة جليسين (٣) إضافة مجموعة فورميل (٤) نقل ذرة نتروجين من الجلوتامين و (٥) إزالة جزئ ماء مع تكوين تركيب حلقى.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ألفا - N - فورميل جليسيناميد ريبور نيوكليوتيد α - N - formylglycinamide ribonu-cleotide. ثم تتحول مجموعة الكيتون فى هذا المركب إلى مجموعة أميدين، وتستمد ذرة النتروجين فى هذا التفاعل من السلسلة الجانبية للجلوتامين فى تفاعل يستخدم طاقة ATP. فورميل جليسيناميدين ريبونيوكليوتيد وهو ناتج التفاعل السابق يتحول بإزالة جزئ ماء إلى ٥ ـ أمينو إيميدازول ريبونيوكليوتيد 5-amino - imidozol ribonucleotide الذى يحتوى على الحقة الخماسية لهيكل البيورين.

الطور التالى فى بناء هيكل البيورين يشتمل على تكوين الحلقة السداسية (شكل ٢١ ـ ٣). يحتوى أمينو إيميدازول ريبونيوكليوتيد على ثلاث ذرات من الذرات الستة اللازمة لإنشاء الحلقة السداسية بينما تشتق الثلاث ذرات الباقية من ثانى أكسيد الكربون والإسبارتات وفورميل رباعى هيدروفولات. فيشتمل التفاعل الأول فى هذا الطور على كربكسلة أمينو إيميدازول ريبونيوكليوتيد الذى يتحول إلى ٥ ـ أمينو ـ إيميدازول ـ ٤ ـ كربوكسيلات ريبونيوكليوتيد 5-aminoimidazol - 4 - carboxylate ribonucleo-tide. وفى الخطوة التالية تتفاعل مجموعة الكربوكسيل فى هذا المركب مع مجموعة الأمينو فى الأسبارتات ويتكون ٥ ـ أمينو إيميدازول ٤ ـ N ـ سكسينو كربوكساميد ريبونيوكليوتيد 5 - aminoimidozole -4 - N-succinocarboxamide ribonucleo-tide. ويستخدم جزئ ATP فى تكوين رابطة الأميد فى هذا التفاعل. فى الخطوة التالية يتفكك المركب الوسيط الناتج من التفاعل السابق حيث ينفرد الهيكل الكربونى للأسبارتات فى صورة فيومارات ويتكون ٥ ـ أمينو إيميدازول ـ ٤ ـ كربوكساميد ريبونيوكليوتيد 5-aminoimidazole - 4 - carboxamide ribonucleotide. والذرة الأخيرة فى حلقة البيورين تستمد من N^{10} - فورميل رباعى هيدروفولات N^{10}-Formyl tetrahydrofolate، والمركب الناتج وهو ٥ ـ فورما ميدو إيميدازول ـ ٤ ـ كربوكساميد ريبونيوكليوتيد 5-Fromamido imidazol 4-carboxamide ribonucleotide يتحول إلى الصورة الحلقية بإزالة جزئ ماء ويتكون إينوسين ٥ ـ أحادى الفوسفات inosine 5-monophosphate (IMP) الذى يحتوى على حلقة بيورين كاملة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢١ ـ ٣

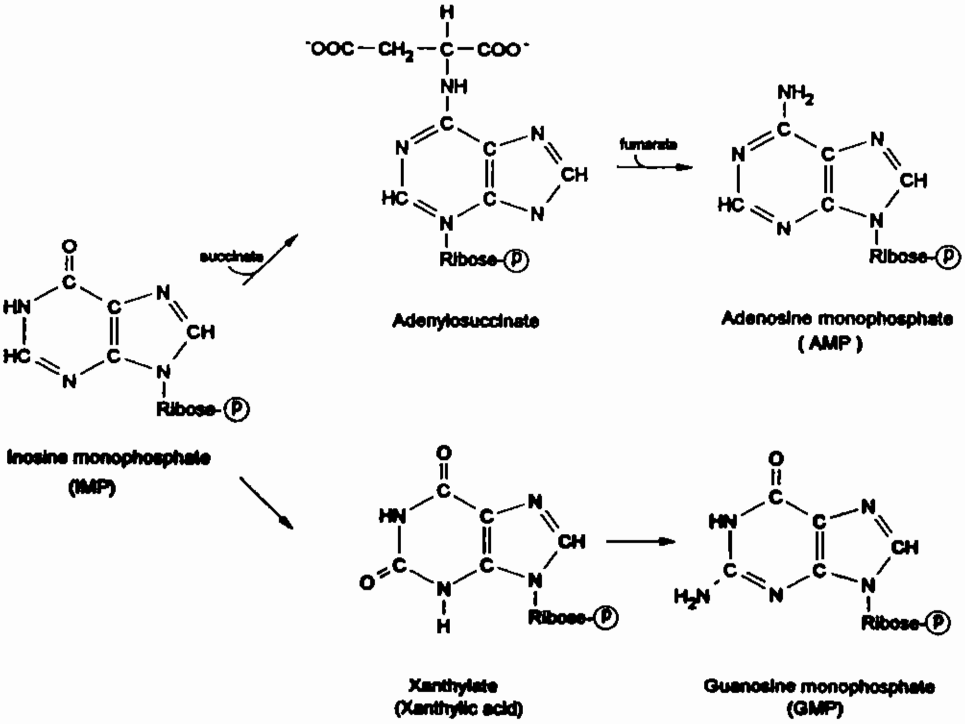
المرحلة الثانية فى البناء الحيوى للبيورين: تكوين إينوسين ٥ ـ أحادى الفوسفات من ٥ ـ أمينو إيميدازول ريبونيوكليوتيد. هذه التفاعلات تشمل (٦) كربكسلة، (٧) إضافة إسبارتات، (٨) إزالة فيومارات، (٩) إضافة مجموعة فورميل و (١٠) إزالة جزئ ماء وتكوين الحلقة السادسية

الأدينوزين أحادى الفوسفات (AMP) والجوانوزين أحادى الفوسفات (GMP) يتكونا من الأينوسين أحادى الفوسفات (IMP)

الإينوسين أحادى الفوسفات وهو الناتج الأول لمسار بناء قواعد البيورين يعتبر المادة البادئة لكل من الأدينوزين أحادى الفوسفات (AMP) والجوانوزين أحادى الفوسفات (GMP) (شكل ٢١ ـ ٤). يتكوّن الأدينوزين أحادى الفوسفات من الإينوسين أحادى الفوسفات باستبدال الأكسجين على ذرة الكربون السادسة بمجموعة أمينو، والذى يتم بإضافة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الأسبارتات وتكوين أدنيلوسكسينات adenylosuccinate ثم إزالة الفيومارات وتكوين أدينوزين أحادى الفوسفات adenosine monophosphate (AMP) أو حمض الأدنيليك. وتستخدم طاقة GTP فى تكوين أدنيلوسكسينات من الإينوسين أحادى الفوسفات والأسبارتات.



شكل ٢١ ـ ٤

تكوين AMP و GMP من IMP

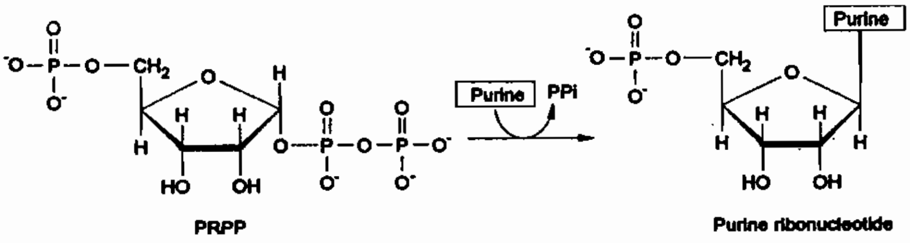
يتكون الجوانوزين أحادى الفوسفات من الإينوسين أحادى الفوسفات فى خطوتين. فى الخطوة الأولى يتأكسد الإينوسين أحادى الفوسفات إلى الزانثيلات xanthylate تحت حفز إنزيم dehydrogenase فى وجود NAD^+ كمستقبل للهيدروجين. وفى الخطوة التالية تنقل مجموعة الأمينو من السلسلة الجانبية للجلوتامين إلى الزانثيلات ويتكون حمض الجوانيليك guanylic acid أو الجوانورين أحادى الفوسفات guanosine mon-

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ophosphate (GMP). ويُستهلك فى التفاعل الأخير رابطتان غنيتان بالطاقة حيث يتحلل جزئ ATP إلى AMP وبيروفوسفات ثم تتحلل البيروفوسفات إلى أرثوفوسفات.

قواعد النيورين الناتجة من عمليات الهدم يُعاد استخدامها ثانية فى بناء النيوكليوتيدات

قواعد البيورين الحرة التى تنتج من تفكك الأحماض النووية والنيوكليوتيدات يمكن إعادة استخدامها ثانية فى بناء النيوكليوتيدات بتفاعل الإسترداد salvage reaction. فى هذا التفاعل تُنقل وحدة ريبوز فوسفات من ٥ - فوسفوريبوزيل - ١ - بيروفوسفات (PRPP) إلى البيورين ويتكون ريبونيوكليوتيد البيورين المقابل purine ribonucleotide.



يوجد إثنين من الإنزيمات ذوات تخصص مختلف. الأول Adenine Phosphoriposyl transferase يحفز تكوين حمض الأدنيليك.

$$\text{Adenine} + \text{PRPP} \rightarrow \text{AMP} + \text{PPi}$$

بينما إنزيم hypoxanthine - guanine phosphoribosyl transferase يحفز تكوين حمض الجوانيليك وحمض الإينوسينيك.

$$\text{Guanine} + \text{PRPP} \rightarrow \text{GMP} + \text{PP}_i$$

$$\text{Hypoxanthine} + \text{PRPP} \rightarrow \text{IMP} + \text{PP}_i$$

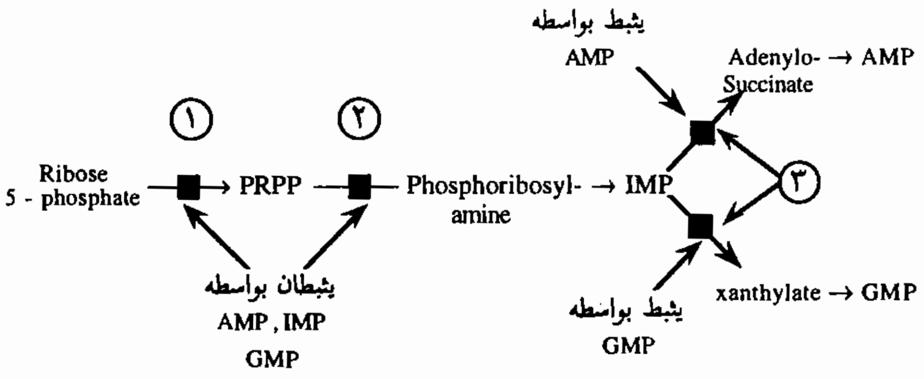
وتفاعل الإسترداد ليس بسيطاً فقط ولكنه أيضا يستهلك طاقة أقل.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيورين يُنظم بالتثبيط بالتغذية المرتدة

يتم التحكم فى معدّل بناء نيوكليوتيدات البيورين بالتثبيط بالتغذيه المرتده عند ثلاثة مواضع (شكل ٢١ ـ ٥):

١ ـ التثبيط بالتغذيه المرتده لإنزيم 5-phosphoribosyl-1- pyrophosphate synthetase بواسطة نيوكليوتيدات البيورين ينظّم مستوى PRPP. فيثبطُ هذا الإنزيم بواسطة AMP و GMP و IMP.



شكل ٢١ ـ ٥

التحكم فى معدّل بناء نيوكليوتيدات البيورين

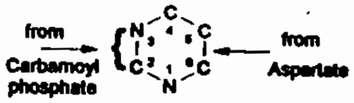
٢ ـ تحول PRPP إلى فوسفوريبوزيل أمين يمثل نقطة التحكم الأساسية فى البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيورين. فالإنزيم الذى يحفز هذا التحول وهو glutamine PRPP aminotransferase يثبط بواسطة ريبونيوكليوتيدات البيورين المختلفة.

٣ ـ يقوم AMP بتثبيط خطوة تحول IMP إلى أدنيلوسكسينات، وبالمثل يثبط GMP خطوة تحول IMP إلى الزانثيلات، فهذه التفاعلات تُمثّل نقط التفرّع من IMP إلى AMP و GMP.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

حلقة البيريميدين تُبنى من الإسبارتات وكارباميل فوسفات

تشمل نيوكليوتيدات البيريميدين الأساسية سايتيدين ٥َ ـ أحادى الفوسفات cytidine 5´-monophosphate (CMP) أو حمض السايتديليك ويوريدين ٥َ ـ أحادى الفوسفات uridine 5´-monophosphate (UMP) أو حمض اليوريديليك اللذان يحتويان على قواعد البيريميدين pyrimidines سايتوسين Cytosine ويوراسيل Uracil على التوالى. فى البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيريميدين يتم أولاً بناء حلقة البيريميدين التى ترتبط بالريبوز ٥ ـ فوسفات لتكوّن نيوكليوتيدات البيريميدين. ٥َ ـ فوسفوريبوزيل ـ ١ ـ بيروفوسفات هو أيضا مصدر الريبوز فوسفات. والمواد الأولية لحلقة البيريميدين تشمل الأسبارتات aspartate وكارباميل فوسفات carbomyl phosphate (شكل ٢١ ـ ٦).



شكل ٢١ - ٦

مصدر الذرات فى حلقة البيريميدين: ذرة الكربون رقم ٢ وذرة النتروجين رقم ٣ يُشتقا من كارباميل فوسفات، بقية الذرات تشتق من الأسبارتات.

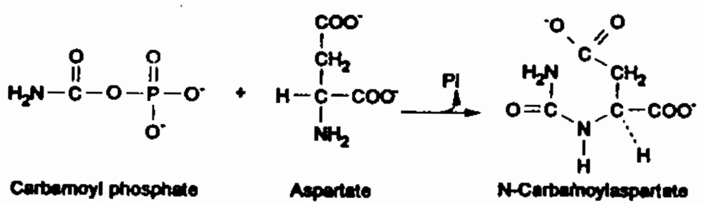
يبدأ البناء الحيوى للبيريميدينات بتكوين كارباميل فوسفات وهو أيضا أحد المركبات الوسيطة فى دورة اليوريا. ويختلف كارباميل فوسفات المستخدم فى بناء البيريميدينات فى أنه يتكون فى السيتوسول بينما ذلك المستخدم فى دورة اليوريا يتكون فى الميتوكوندريا. والإختلاف الآخر هو أن الجلوتامين وليس NH_4^+ هو مصدر النتروجين فى بناء كارباميل فوسفات فى السيتوسول الذى يحفز أيضا بإنزيم مختلفة عن ذلك الموجود فى الميتوكوندريا.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

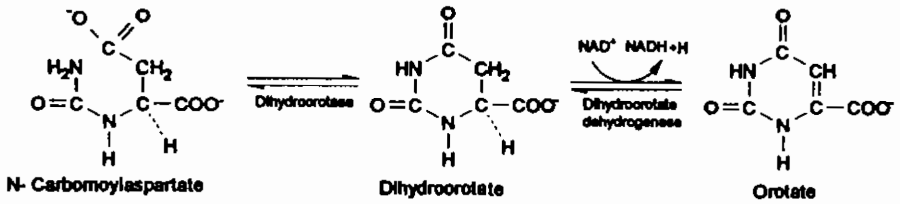
Glutamine + 2 ATP + HCO^-_3 ⟶

Carbamoyl phosphate + 2 ADP + P_i + glutamate

الخطوة التالية فى البناء الحيوى للبيريميدينات تشمل تكوين N- كارباميل اسبارتات N-carbamoylaspartate من الإسبارتات وكارباميل فوسفات فى تفاعل يحفز بإنزيم aspartate transcarbomoylase.



وفى الخطوة التالية يُزال جزئ ماء من كارباميل أسبارتات ويتكون داى هيدروأوروتات dihydroorotate الذى يحوى على حلقة بيريميدين، وهذا المركب يتحول بالأكسدة إلى أوروتات orotate .

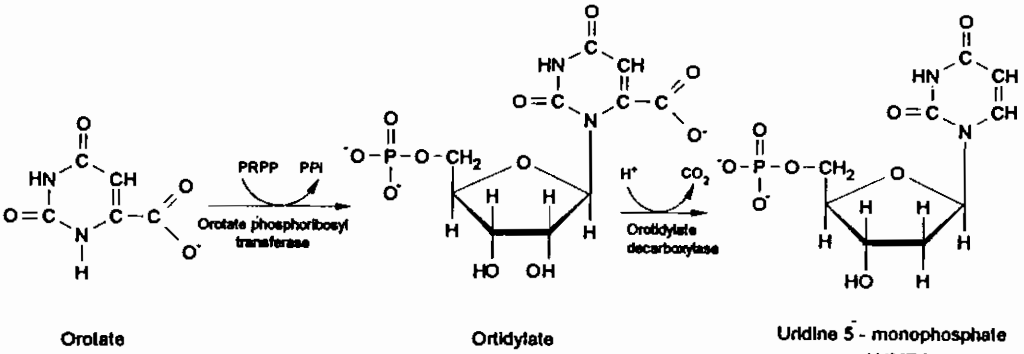


الأوروتات تتحصل على ريبوزفوسفات من فوسفوريبوزيل بيروفوسفات

الخطوة التالية فى البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيريميدين تشمل حصول أوروتات (قاعدة بيريميدين حرة) على وحدة ريبوزفوسفات من ٥ - فوسفو ريبوزيل - ١ - بيروفوسفات (PRPP) وتكوين أورتيديلات ortidylate (بيريميدين نيوكليوتيد). وهذا

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

التفاعل الذى يُحفز بإنزيم ortidylate pyrophosphorylase يُدفع إلى الأمام بتحلل البيروفوسفات. ثم تنزع مجموعة الكربوكسيل من أورتيديلات ويتكون يوريدين ٥َ - أحادى الفوسفات أو اليوريديلات uridylate وهو نيوكليوتيد البيريميدين الأساسى.



البناء الحيوى للنيوكليوسيدات ثنائية وثلاثية الفوسفات

صورة النيوكليوتيدات النشطة التى تدخل فى البناء الحيوى وفى تحولات الطاقة هى النيوكليوسيدات ثنائية وثلاثية الفوسفات. وتتحول النيوكليوسيدات أحادية الفوسفات إلى النيوكليوسيدات ثنائية الفوسفات بواسطة إنزيمات nucleoside monophosphate ki-nase التى تستخدم ATP كمانح لمجموعة الفوسفات، مثال ذلك فسفرة اليوريدين أحادى الفوسفات (UMP) بواسطة إنزيم UMP Kinase.

$$UMP + ATP \rightleftharpoons UDP + ADP$$

ونيوكليوسيدات الأدنين AMP و ADP و ATP تتحول داخليا بواسطة إنزيم Adenylate Kinase، وثابت الإتزان لهذا التفاعل يقترب من الواحد.

$$AMP + ATP \rightleftharpoons ADP + ADP$$

أما التحولات الداخلية بين النيوكليوسيدات ثنائية الفوسفات والنيوكليوسيدات ثلاثية

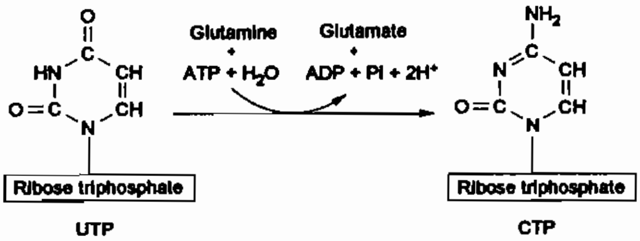
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الفوسفات فتتم تحت حفز إنزيم nucleoside diphosphate kinase ، مثال ذلك.

$$UDP + ATP \rightleftharpoons UTP + ADP$$

سايتيدين ثلاثى الفوسفات (CTP) يتكون من يوريدين ثلاثى الفوسفات UTP بتفاعل أمينه (ادخال مجموعة أمين)

سايتيدين ثلاثى الفوسفات CTP وهو نيوكليوتيد البيريميدين الآخر يتكون من اليوريدين ثلاثى الفوسفات UTP بتفاعل أمينة amination، حيث تستبدل ذرة الأكسجين على ذرة الكربون رقم ٤ بمجموعة أمينو. وفى الثدييات تشتق مجموعة الأمينو من السلسلة الطرفية للجلوتامين بينما تستخدم NH_4^+ كمصدر لمجموعة الأمينو فى بكتريا القولون، وفى كلا التفاعلين يستخدم جزئ ATP لدفع التفاعل.

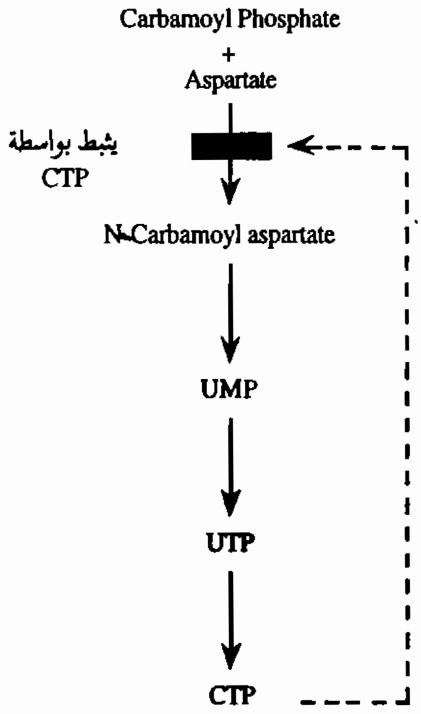


البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيريميدين يُنظم بالتثبيط بالتغذية المرتدة

يتم تنظيم معدّل بناء نيوكليوتيدات البيريميدين خلال إنزيم aspartate transcarba-moylase (ATCase) الذى يحفز تكوين كارباميل أسبارتات من كارباميل فوسفات والأسبارتات (شكل ٢١ ـ ٧). فيثبط هذا الإنزيم بواسطة CTP وهو الناتج النهائى لسلسلة البناء. ويقوم CTP بتثبيط الإنزيم بخفض قابليته للمواد الخاضعة دون تأثير على السرعة القصوى (V_{max}) للإنزيم. ومدى الثبيط الذى يتم بواسطة CTP الذى قد يصل إلى ٩٠٪ يعتمد على تركيز المادة الخاضعة. بالمقارنة فإن ATP ينشط إنزيم ATCase

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

حيث يُؤدى إلى زيادة قابلية الإنزيم للمواد الخاضعة دون تغيير للسرعة القصوى. بالإضافة إلى ذلك فإن ATP و CTP يتنافسان على المركز التنظيمى فى الإنزيم، فيتم إحلال ATP بـ CTP من المركز التنظيمى عند إرتفاع مستوى ATP.



شكل ٢١ ـ ٧

تنظيم البناء الحيوى لنيوكليوتيدات البيريميدين

ترجع الأهمية البيولوجية لتنشيط إنزيم ATCase بواسطة ATP إلى أمرين. الأول أنه يعمل على تساوى معدّل تكوين نيوكليوتيدات البيورين والبيريميدين، فتكوين كميات متساوية من هذين النوعين من النيوكليوتيدات يكون ضرورياً لبناء الأحماض النووية. وثانيا فإن التنشيط بواسطة ATP يُمثّل إشارة إلى توفُّره كمادة خاضة لبعض تفاعلات البناء لقواعد البيريميدين مثل بناء كارباميل فوسفات وفسفرة UMP وتحوله إلى UTP.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

دى أوكسى ريبونيوكليوتيد تتكون بإختزال الريبونيوكليوتيدات ثنائية الفوسفات

ننتقل الآن إلى بناء دى أوكسى ريبونيوكليوتيدات deoxyribonucleotides وهى الوحدات البنائية لـ DNA. تتكون دى أوكسي ريبونيوكليوتيدات بإختزال الريبونيوكليوتيدات ribonucleotides المقابلة حيث تستبدل مجموعة الهيدروكسيل على ذرة الكربون الثانية فى وحدة الريبوز بذرة هيدروجين. وفى الثدييات وبكتريا القولون تمثل الريبونيوكليوسيدات ثنائية الفوسفات مادة التفاعل وبذلك يمكن التعبير عن التفاعل الكلى لهذا التحول كالآتى:

$$\text{Ribonucleoside diphosphate} + \text{NADPH} + H^+ \longrightarrow \text{deoxyribonucleoside diphosphate} + \text{NADP}^+ + H_2O$$

مثال ذلك إختزال أدينوزين ثنائى الفوسفات (ADP) إلى ٢َ- دى أوكسى أدينوزين ثنائى الفوسفات (dADP)، وإختزال جوانوزين ثناءى الفوسفات (GDP) إلى ٢َ- دى أوكسى جوانوزين ثنائى الفوسفات (dGDP).

$$\text{ADP} + \text{NADPH} + H^+ \rightarrow \text{dADP} + \text{NADP}^+ + H_2O$$

$$\text{GDP} + \text{NADPH} + H^+ \rightarrow \text{dGDP} + \text{NADP}^+ + H_2O$$

إختزال وحدة الريبوز إلى ٢ ـ دى أوكسى ريبوز لا يتم بإنتقال الهيدروجين من NADPH مباشرة إلى وحدة الريبوز، ولكن يتم الإنتقال خلال مركب وسيط وهو بروتين يدعى ثيوريدوكسين thioredoxin الذى يحتوى على مجموعتين سلفهيدريل (-SH) تقوم بحمل ذرات الهيدروجين من NADPH إلى الريبونيوكليوسيدات ثنائية الفوسفات. فتختزل أولاً الصورة المؤكسدة للثيوريدوكسين بواسطة NADPH بإنزيم thioredoxin reductase.

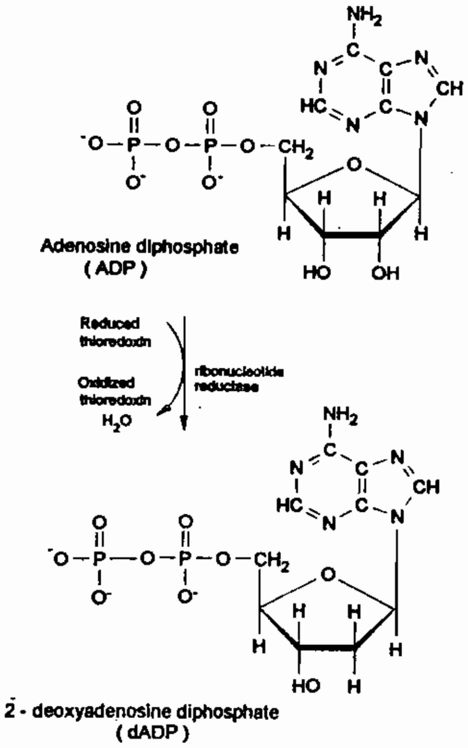
$$\text{Thioredoxin}\begin{matrix} S \\ | \\ S \end{matrix} + \text{NADPH} + H^+ \rightarrow \text{thioredoxin}\begin{matrix} SH \\ \\ SH \end{matrix} + \text{NADP}^+$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ثم تُستخدم الصورة المختزلة للثيوريدوكسين فى إختزال الريبونيوكليوسيدات ثنائية الفوسفات ribonucleoside diphosphate إلى دى أوكسى ريبونيوكليوسيدات ثنائية الفوسفات deoxyribonucleoside diphosphate تحت حفز إنزيم ribonucleotide reductase (شكل ٢١ ـ ٨).

$$\text{Ribonucleoside diphosphate} + \text{thioredoxin}\begin{matrix}\diagup SH\\ \diagdown SH\end{matrix} \longrightarrow$$

$$\text{deoxyribonucleoside diphosphate} + \text{thioredoxin}\begin{matrix}\diagup S\\ |\\ \diagdown S\end{matrix} + H_2O$$



شكل ٢١ ـ ٨

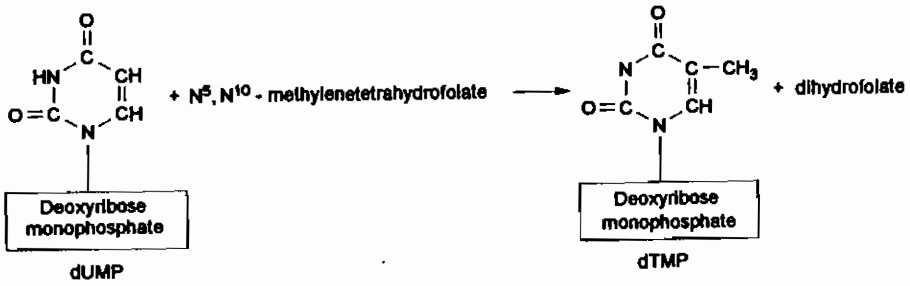
تحويل ADP إلى dADP. النيوكليوسيدات ثنائية الفوسفات الأخرى تتحول إلى صورة دى أوكسى بنفس الطريقة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

دى أوكسى ثيميديلات يتكون بمثيلة دى أوكسى يوريديلات

يحتوى DNA على دى أوكسى ثايميدين أحادى الفوسفات dTMP (دى أوكسى ثايميديلات) بدلا من يوريدين أحادى الفوسفات UMP الذى يوجد فى RNA.

ويتكون دى أوكسى ثايميدين أحادى الفوسفات dTMP بميثلة methylation دى أوكسى يوريدين أحادى الفوسفات dUMP تحت حفز إنزيم thymidylate synthetase. N^{5}-N^{10}- ميثيلين رباعى هيدروفولات N^{5}, N^{10} - methylenetetra hydrofolate هو مانح مجموعة الميثايل الذى يتحول فى هذا التفاعل إلى ثنائى هيدروفولات dihydrofolate.



راجع أن نقل ذرة الكربون الواحدة يتم على مستوى رباعى هيدروفولات وليس على مستوى ثنائى هيدروفولات، ولذلك يجب توليد رباعى هيدروفولات من ثنائى هيدروفولات. ويتم ذلك بواسطة إنزيم dihydrofolate reductase فى وجود NADPH كعامل مختزل.

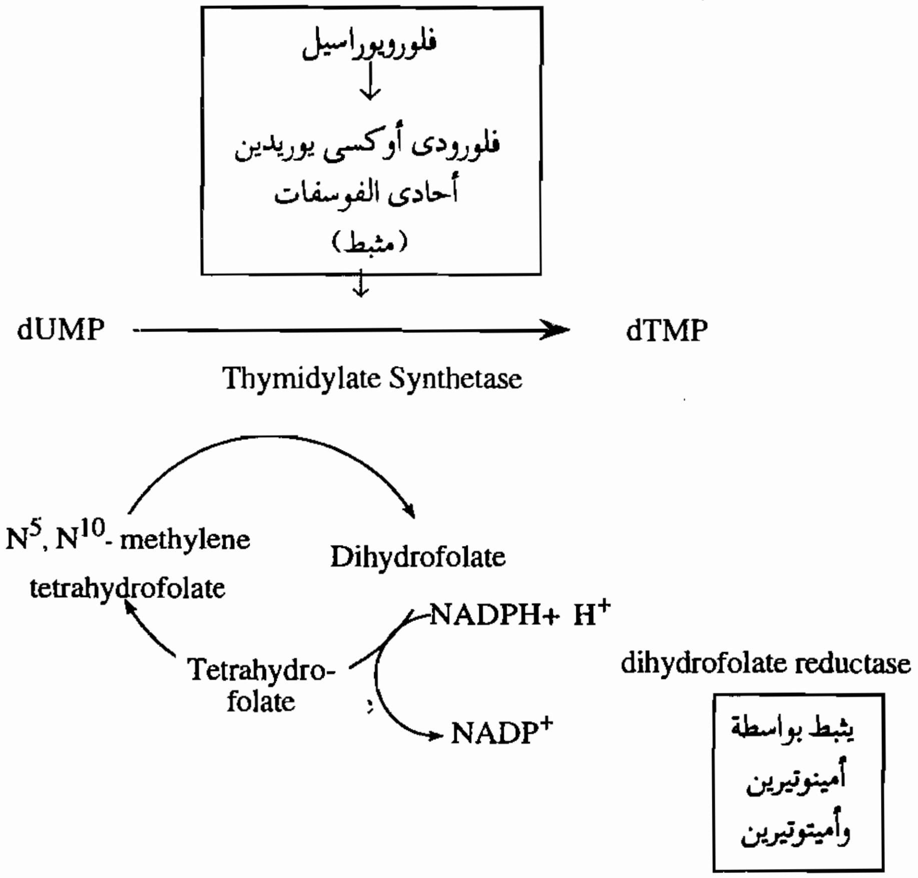
$$\text{Dihydrofolate} + \text{NADPH} + H^{+} \rightarrow \text{tetrahydrofolate} + \text{NADP}^{+}$$

بعض مثبطات البناء الحيوى لـ دى أوكسى ثايميديلات تُستخدم كعقاقير مضادة للسرطان

الإنقسام السريع فى الخلايا السرطانية يحتاج إلى إمداد سريع ومتواصل من دى أوكسى ثايميديلات dTMP لبناء DNA. وإمكان تثبيط تكوين دى أوكسى ثايميديلات فى هذه الخلايا كان له دور كبير فى العلاج الكيميائى للسرطان (شكل ٢١ ـ ٩). إنزيمات thymidylate synthetase و dihydrofolate reductase هى الإنزيمات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المستهدفة فى هذا المجال. فلوروبوراسيل fluorouracil وهو أحد العقاقير المضادة للسرطان يتحول فى الخلايا إلى فلورو دى أكسى يوريديلات Fluorodeoxyuridylate (F-dUMP)، وهذا المركب الذى يماثل فى تركيبه دى أوكسى يوريديلات deoxyuridylate (dUMP) يقوم بتثبيط إنزيم thymidylate synthetase تثبيطاً غير عكسياً بارتباطه بالمركز النشط للإنزيم بدلا من المادة الخاضعة dUMP.



شكل ٢١ ـ ٩

إنزيمى thymidylate synthetase و dihydoufolate reductase هى الإنزيمات المستهدفة فى العلاج الكيميائى للسرطان يقوم فلورودى أوكسى يوريدين أحادى الفوسفات يتثبط تفاعل ميثله dUMP. أمينوتيرين وأميتوتيرين وهى مناظرات لثنائى هيدروفولات تمنع توليد رباعى هيدروفولات.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

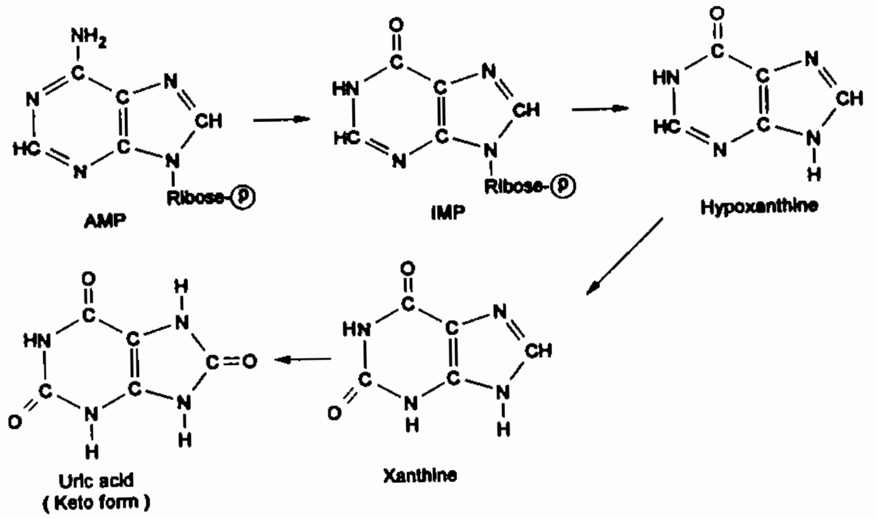
ويمكن أيضا وقف تكوين دى أوكسى ثايميديلات بتثبيط توليد رباعى هيدروفولات (شكل ٢١ ـ ٩). فبعض المركبات المناظرة لثنائى هيدروفولات مثل أمينوتيرين ami- nopterin وأميثوتيرين amethopterin تعتبر مثبطات تنافسية لإنزيم dihydrofolate re- ductase . ويعتبر مركب أمينو تيرين عقاراً مفيداً فى علاج سرطان الدم الحاد acute leukemia وسرطان المشيمة choriocarcinoma .

البيورينات تتفكك إلى حمض اليوريك فى الإنسان

تدخل نيوكليوتيدات الخلية فى تحول أيضى مستمر، حيث تتفكك إلى القواعد الحرة التى قد تستخدم فى تكوين نيوكليوتيدات جديدة، أو قد تتحول القواعد إلى صورة ذائبة يمكن إفرازها خارج جسم الإنسان. يبدأ هدم النيوكليوتيدات بتميؤها إلى النيوكليوسيدات المقابلة بواسطة إنزيمات nucleotidase ، ويلى ذلك تميؤ فوسفورى للنيوكليوسيدات إلى القواعد الحرة وريبوز ١ـ فوسفات (أودى أوكسى ريبوز ١ـ فوسفات) بواسطة إنزيمات nucleoside phosphorylases . وريبوز ١ـ فوسفات الناتج من تفكك النيوكليوتيدات يتحول إلى المتشكّل المقابل ريبوز ٥ـ فوسفات الذى يدخل فى بناء فوسفوريبوزيل بيروفوسفات PRPP . كما أن بعض القواعد الناتجة من تفكك البيورينات قد يعاد إستخدامها فى بناء نيوكليوتيدات جديدة بمسار الإسترداد.

يشتمل مسار تفكك الأدينوزين أحادى الفوسفات AMP (شكل ٢١ ـ ١٠) على تفاعلات إضافية، فتزال مجموعة الأمينو أولاً من AMP تحت حفز إنزيم adenylate deaminase ويتكون إينوسين أحادى الفوسفات IMP . والتفاعلات التالية التى تؤدى إلى تكوين قاعدة الهيبوزانثين hypoxanthine الحرة تتبع النمط العام السابق ذكره. فى الخطوة التالية يقوم إنزيم xanthine oxidase وهو أحد بروتينات الفلافين التى تحتوى على مولبدنيم وحديد بأكسدة الهيبوزانثين إلى زانثين xanthine ثم إلى حمض اليوريك uric acid . والأكسجين الجزيئى الذى يستخدم كعامل مؤكسد فى كلا التفاعلين يختزل إلى H_2O_2 الذى يتفكك بدوره إلى H_2O و O_2 بواسطة إنزيم catalase .

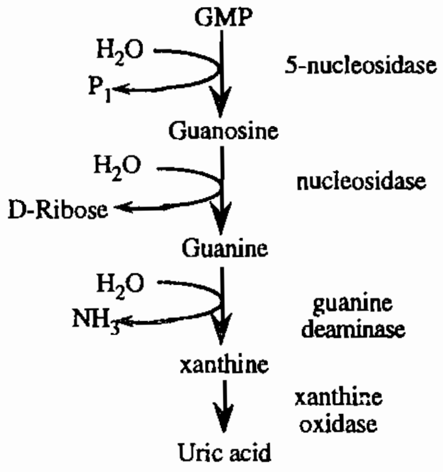
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢١ - ١٠

تفكك الأدينوزين أحادى الفوسفات AMP إلى حمض اليوريك

الأيض الهدمى للجوانوزين أحادى الفوسفات GMP ينتج أيضا حمض اليوريك (شكل ٢١ ــ ١١). ففى الخطوة الأولى يتميؤ GMP إلى النيوكليوسيد المقابل وهو



شكل ٢١ - ١١

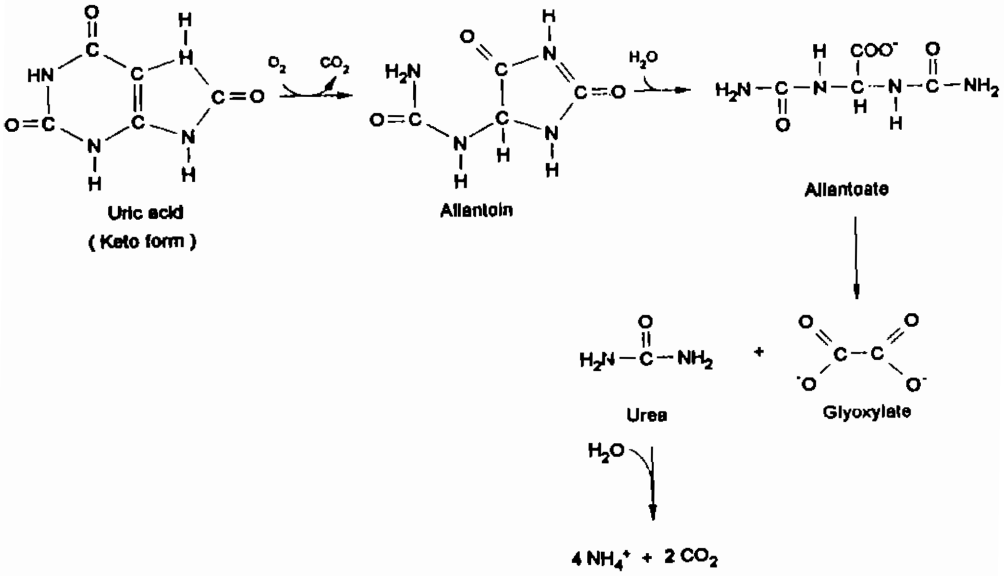
مسار تفكك الجوانوزين أحادى الفوسفات إلى حمض اليوريك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جوانوزين الذى يتفكك إلى الجوانين الحر. يتحول أيضا الجوانين إلى الزانثين بإزالة مجموعة الأمين، ثم يتحول الزانثين إلى حمض اليوريك تحت حفز إنزيم xanthine oxidase. ويمثل حمض اليوريك الناتج النهائى لهدم البيورينات فى رتبة الرئيسيات primates التى تشمل الإنسان، حيث يفرز حمض اليوريك فى البول.

البيورينات تتفكك إلى مدى أبعد من حمض اليوريك فى بعض الكائنات

تفكك البيورينات يستمر إلى مدى أبعد من حمض اليوريك فى بعض الكائنات (شكل ٢١ ـ ١٢). فالثدييات الأخرى غير رتبة الرئيسيات تفرز ألّلونتوين allantoin الذى يتكون من أكسدة حمض اليوريك.



شكل (٢١ ـ ١٢)

تفكيك البيورات إلى NH_4^+ و CO_2 . هذه التفاعلات تحفز بواسطة (١) Uricase، (٢) Allantoinase، (٣) Allantoicase و (٤) Urease

أما طائفة الأسماك كاملة العظام تفرز ألونتوات allantoate الذى يتكون من تميؤ

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

اللونتوين. تفكك البيورينات يستمر أكثر من ذلك فى البرمائيات ومعظم الأسماك، فيتفكك الونتوات إلى يوريا والجلايكسيلات glyoxylate. وأخيرا فإن بعض اللافقاريات البحرية تحلل اليوريا إلى NH_4^+ و CO_2.

الإنتاج الزائد لحمض اليوريك (اليورات) يسبب مرض النقرس فى الإنسان

النقرس مرض يؤثر على المفاصل ويؤدى إلى التهابها، والخصائص المميزة للنقرس هو زيادة مستوى حمض اليوريك فى الدم. ويرجع التهاب المفاصل إلى ترسيب بللورات من يورات الصوديوم فيها، ويمكن أن تنشأ أمراض الكلية أيضا نتيجة لترسيب بللورات يورات الصوديوم فى هذا العضو.

والأسباب البيوكيميائية فى معظم حالات النقرس لم تحدد بعد، ويظهر أن النقرس هو تعبير عن أخطاء وراثية فى الأيض التى تؤدى إلى زيادة فى إنتاج حمض اليوريك (اليورات). ويرجع المرض فى بعض الأشخاص إلى نقص جزئى فى إنزيم hypoxan-thine-guanine phosphoribosyl transferase الذى يقوم ببناء IMP و GMP بمسار الإسترداد.

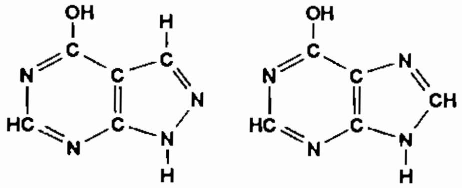
Hypoxanthine + PRPP —| |→ IMP + PPi

(أو Guanine)   (أو GMP)

فالنقص فى هذا الإنزيم يؤدى إلى إنخفاض تكوين GMP و IMP بمسار الإسترداد وزيادة مستوى PRPP الذى يؤدى إلى زيادة ملحوظة فى بناء البيورينات بالمسار الجديد. وقد يشاهد فى بعض مرضى النقرس زيادة ملحوظة فى مستوى إنزيم phosphoribosyl phyrophosphate synthetase حيث يفتقد الإنزيم فى هذه الحالة إلى خاصية التحكم الألوستيرى، ويؤدى ذلك إلى زيادة فى إنتاج PRPP الذى يُعجِّل بدوره من البناء الجديد للبيورينات.

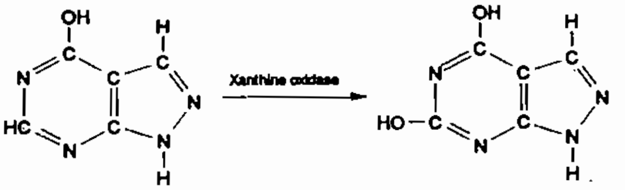
يُستخدم مركب ألوبيورينول allopurinol وهو أحد مشابهات الهيبوزانثين فى معالجة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



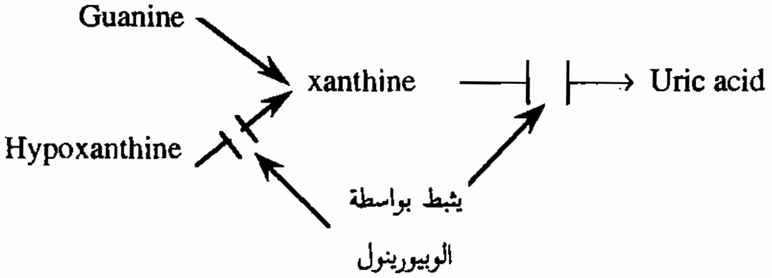
Allopurinol Hypoxanthine

مرض النقرس. فهذا المركب يعمل أولاً كمادة خاضعة لإنزيم xanthine oxidase ثم يتحول إلى مثبط لهذا الإنزيم. فيقوم الإنزيم بتحويل الوبيورينول إلى المشتق الهيدروكسيلى ألوزانثين alloxanthine الذى يظل مرتبطا بالمركز النشط للإنزيم. وذرة المولبدينم فى إنزيم xanthine oxidase تحتفظ بحالة الأكسدة + ٤ نتيجة لإرتباطها بألوزانثين بدلا من رجوعها إلى حالة الأكسدة + ٦ التى تحدث فى دورة الحفز العادية للإنزيم. والتثبيط بألوبيورينول هو مثال للتثبيط الذاتى sulcide inhibition، حيث يقوم الإنزيم بتحويل مركب معين إلى مثبط فعّال يقوم مباشرة بتثبيط الإنزيم.



Allopurinol Alloxanthine

وينخفض تكوين حمض اليوريك من الهيبوزانثين والزانثين مباشرة بعد تعاطى ألوبيورينول.



مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويكون نتيجة لذلك إرتفاع مستوى الهيبوزانثين والزانثين فى السيرم بعد تعاطى الوبيورينول، بينما ينخفض مستوى اليورات ويزال تبعا لذلك حصوات حمض اليوريك. ويعتمد الفعل التثبيطى للألوبيورينول على تفاعله مع PRPP لتكوين الريبونيوكليوتيد، فمستوى PRPP وهى المادة الخاضعة المحددة لمعدّل بناء البيوريتات بمسار البناء الجديد ينخفض لإستخدامه فى عملية البناء بمسار الإسترداد، وبذلك ينخفض معدّل تكوين البيورينات بصورة عامة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

Benkovic, S. J.: On the Mechanism of Action of Folate and Biopterin - Requring Enzymes. Ann. Rev. Biochem. 49 : 227 - 251 (1980).

Blakley, R. L.: The Biochemistry of Folic Acid and Related Pterdines, North - Holland, 1969.

Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Breuning, and R. H. Doi: Outlines of Biochemistry, (5 th ed.), John Wiley & Sons, New York, 1987.

Elliott, K., and d. W. Fitzsimons (eds.): Purine and Pyrimidine Metabolism. Ciba Foundation Symposium, 48 (1977).

Henderson, J. F., and A. R. P. Paterson: Nucleotide Metabolism: An Introduction. Academic Press, 1977.

Jones M. E.: Pyrimidine Nucleotide Biosynthesis in Animals: Genes, Enzymes and Regulation of UMP Biosynthesis. Ann. Rev. Biochem. 49 : 253 - 279 (1980).

Kelley, W. N., and I. M. Weiner (eds.): Uric Acid. Springer Verlage, 1978.

Lehninger, A. L.: Principles of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

Murray, A. W.: "The biological Significance of Purine Salvage," Ann. Rev. Biochem., 50 : 811 - 826 (1972).

Metzler, A.: Biochemistry: The Chemical Reactions of Living Cells, Academic Press, New York, 1977.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Stanbury, J. B., J. B. Wyngaarden and D. S. fredrickson, (eds.) The Metabolic Basis of Inherited Diseases (4th ed.) McGraw-Hill, 1978.

strayer, L.: Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San francisco, 1981.

Thelander, L., and P. Reichard: Reductiion of Ribonucleotides. Ann. Rev. Biochem. 48 : 133 - 158 (1979).

Zubay, G. (Coord. author): Biochemistry, Addison - Wesley. Reading, Mass., 1983.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تمارين

١ ـ أكتب المعادلة الموزونة لتكوين PRPP من الجلوكوز خلال فرع الأكسدة لمسار فوسفات البنتوز.

٢ ـ أكتب المعادلة الموزونة لتكوين الأروتات من الجلوتامين، CO_2 والأسبارتات.

٣ ـ ماهو المتفاعل المنشّط فى البناء الحيوى للمركبات التالية:

(أ) Phosphoribosylamine

(ب) Carbamoylaspartete

(جـ) Orotidylate من Orotate

(د) Nicotinate ribonucleotide

(هـ) Phosphoribosyl anthranilate

٤ ـ أكتب المعادلة الموزونة لتكوين dTMP من dUMP التى تزدوج مع تحول سيرين إلى جليسين.

٥ ـ ماهو المركب الوسيط فى البناء الحيوى للبيورينات الذى سوف يتراكم فى الطافرات البكتيرية التى لا تستطيع تخليق:

(أ) N^5, N^{10} - methenyl FH_4

(ب) Glycine

(جـ) Aspartate

(د) Glutamin

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٦ ـ وضح الموضع (أو المواضع) فى حلقة البيورين الذى يصبح معلما بالنظير أثناء عملية البناء فى الخلايا التى تتعرض إلى:

(أ) ^{15}N - Aspartate

(ب) ^{14}C - Glycine (معلم فى مجموعة الكربوكسيل)

(جـ) ^{14}C - Serine (معلم فى مجموعة هيدروكسى ميثايل)

٧ ـ حدد الموضع (أو المواضع) فى حلقة البيريميدين لـ UMP الذى يصبح معلما بالنظير أثناء عملية البناء فى الخلايا التى تتعرض إلى:

(أ) ^{14}C - Succinate (معلمة فى كل ذرات الكربون)

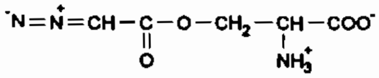
(ب) ^{15}N - Aspartate

(جـ) ^{3}H - Oxaloacetate (معلمة فى كل ذرات الهيدروجين)

٨ ـ أشرح باختصار كيف يتأثر تكوين كل من دى أوكسى ريبونيوكليوسيد ثلاثى الفوسفات الأربعة بتثبيط إنزيم Dihydrofolate reductase.

٩ ـ كم عدد جزيئات الجلوكوز التى يجب أن تتخمر لا هوائيا بواسطة بكتريا القولون لتوفير روابط الفوسفات الغنية بالطاقة الضرورية لتخليق ٢ جزئ CTP من CO_2 و NH_3 وأسبارتات وريبوز ٥ ـ فوسفات.

١٠ ـ يُثبط إنزيم amidotransferase بواسطة المضاد الحيوى (O-diazoacetyl- L- serine) azaserine الذى يماثل الجلوتامين.

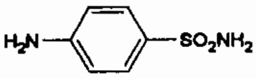


ما هى المركبات الوسيطة فى مسار بناء البيورين التى تتراكم فى الخلايا المعاملة بـ azaserine

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١١ ـ ما هى تفاعلات البناء الأساسية التى تستخدم PRPP.

١٢ ـ يثبط النمو البكتيرى بواسطة سلفانيلاميد sulfanilamide وعقاقير السلفا المشابهة



Sulfanilamide

حيث يحدث تراكم لـ 5-aminoimidazol - 4 - carboxamide ribonucleotide. هذا التثبط يعكس (يرتد) بإضافة P-aminobenzoate

اقترح ميكانيكية للتأثير التثبيطى للسلفانيلاميد.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الجــزء الرابع

التعبير الجزيئى ونقل المعلومات الوراثية

Molecular Expression and Transmission of Genetic Information

* حمض دى أوكسى ريبونيوكلييك وتركيب المادة الوراثية
* تكرر حمض دى أوكسى ريبونيوكلييك
* نسخ حمض دى أوكسى ريبونيوكلييك
* البناء الحيوى للبروتين
* تنظيم التعبير الجينى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

إن كفاءة الكائنات الحية فى الوصول إلى درجة عالية من التنظيم والمحافظة على خصائص النوع تنشأ من المعلومات الوراثية المخزنة فى المادة الوراثية والتى تحدد نوع ونمط العمليات البيولوچية فيها. وفى هذا الجزء الأخير من الكتاب سنتعرض لبعض الأسئلة الأساسية المتعلقة بترابط المعلومات الوراثية وتطور الكائنات الحية وهى (١) ما هى الطبيعة الجزيئية للمادة الوراثية؟ (٢) كيف يتم نقل المعلومات الوراثية بهذه الدرجة من الدقة من جيل لآخر؟ (٣) كيف تترجم المعلومات الوراثية فى النهاية فى صورة تتابع محدد للأحماض الأمينية فى جزيئات البروتين؟.

كان لنموذج الحلزون المزدوج لحمض دى أوكسى ريبونيوكليك DNA الذى اقترحه واطسون وكريك عام ١٩٥٣ دوراً كبيراً ليس فقط فى معرفة التركيب المنتظم الذى يتميز به DNA ولكن أيضا فى تفسير ميكانيكية استنساخ جزيئات DNA. ولقد أدى هذا بدوره إلى اقتراح نظرية المبدأ الرئيسى central dogma للوراثة الجزيئية التى تفترض ثلاثة عمليات رئيسية فى النقل والتعبير عن المعلومات الوراثية. العملية الأولى هى التكرر replication التى تشمل نسخ جزئ DNA وتكوين جزيئات DNA جديدة يكون فيها تتابع النيوكليوتيدات متماثل تماما لتلك الموجودة فى جزئ DNA الأصلى. والعملية الثانية هى النسخ transcription، وهى العملية التى يعاد فيها نسخ جزء من الرسائل الوراثية فى DNA فى صورة حمض ريبونيوكليك RNA. أما العملية الثالثة فهى الترجمة translation التى يتم فيها ترجمة الرسائل الوراثية الموجودة فى RNA بواسطة الريبوسومات إلى جزيئات بروتين.

المبدأ الرئيسى للوراثة الجزيئية والذى يوضح سريان المعلومات الوراثية خلال العمليات الأساسية: التكرار والنسخ والترجمة. وسنرى فيما بعد أنه تم تعديل المبدأ الرئيسى ليشمل عمليات وراثية أخرى مثل النسخ المضاد **reverse transcription**

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

حمض دى أوكسى ريبونيوكليك : التركيب والوظيفة الوراثية

Deoxyribonucleic Acid: Structure And Genetic Role

قبل أن نبدأ دراستنا لحمض دى أوكسى ريبونيوكليك DNA وهو الجزئ الحامل للمعلومات الوراثية يكون من المفيد معرفة طبيعة المعلومات. فالمعلومات بصورة عامة تُعنى التنظيم أو الترتيب order وهى عكس الإنتروبى entropy الذى يُعبر عن العشوائية أو عدم التنظيم. وأحيانا يطلق على المعلومات بالإنتروبى السالب negative entropy ، لذلك فإن المعلومات ترتبط بالطاقة، وفى الحقيقة أنه يُمكن تقدير المعلومات كميا وربطها بوحدات الإنتروبى والطاقة.

المعلومات الوراثية هى تتابع خطى للقواعد النتروجينية فى جزئ DNA، بينما تعمل وحدات دى أوكسى ريبوز والفوسفات كهيكل لربط هذه القواعد. وبالرغم من أن DNA هو عادة الصورة التى تُخزّن فيها المعلومات الوراثية التى تنتقل من الخلية الأصل (الأبوية) إلى الخلايا الجديدة (البنوية) بعملية التكرار، فإنه معروف الآن أن حمض ريبونيوكليك RNA هو الصورة التى تُخزّن فيها المعلومات الوراثية فى بعض الفيروسات. هذه المعلومات الوراثية توفر اللبنات المطلوبة لإنجاز البناء الدقيق لمجموعة البروتينات المميزة للخلية والتى تحدد بدورها شكل وتنظيم وعمل الخلية.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

حمض دى أوكسى ريبونيوكلبيك هو الجزئ الحامل للمعلومات الوراثية

بالرغم من اكتشاف DNA فى أنوية الخلايا منذ زمن بعيد يرجع إلى عام ١٨٦٩ ، فلم يُعرف أنه الجزئ الحامل للمعلومات الوراثية إلاَّ عام ١٩٤٤ . فقد كان يعتقد حتى هذا التاريخ أن البروتينات النووية هى الحاملة للمعلومات الوراثية بينما يقوم DNA بدور ثانوى، إلا أنه فى ذلك العام أثبت الباحث الأمريكى آفرى Avery وزملائه أن DNA وليس البروتين هو الجزئ الحامل للمعلومات الوراثية. فعندما قامت هذه المجموعة من الباحثين بإضافة DNA المستخلص من السلالة المعدية للبكتريا المسببة للإلتهاب الرئوى pneumo-cocci إلى السلالة غير المعدية من هذه البكتريا وجدوا أن الأخيرة تتحول إلى السلالة المعدية ويكون هذا التحول وراثيا، بمعنى أن الأجيال التالية تكون معدية. وقد استنتج آفرى وزملائه أن DNA المستخلص من السلالة المعدية هو الذى يحمل الرسائل الوراثية إلى السلالة غير المعدية حيث يندمج مع DNA للسلالة غير المعدية ويحولها إلى سلالة معدية.

أمكن أيضا التوصل إلى دليل قاطع بأن DNA هو المادة الحاملة للمعلومات الوراثية من دراسة الفيروس البكتيرى T_2 الذى يهاجم بكتريا القولون. فيتكون الفيروس البكتيرى T_2 من جزئ DNA محاط بغلاف بروتينى، وعندما إستخدم هيرشى Hershey وتشاس Chase (١٩٥٢) الفيروس T_2 يحتوى على DNA معلم بالفوسفور ٣٢ المشع (^{32}P)، وجدوا أن DNA لجسيمات الفيروس وليس الغطاء البروتينى هو الذى يدخل الخلية البكتيرية ويولد المعلومات الوراثية اللازمة لتكاثر الفيروس.

ومن هذه التجارب المهمة والتجارب الكثيرة التى تلتها فقد أصبح من المؤكد فى الوقت الحاضر أن DNA هو الجزئ الحامل للمعلومات الوراثية فى الخلايا الحية.

حمض ريبونيوكلبيك هو الجزئ الحامل للمعلومات الوراثية فى بعض الفيروسات

يعتبر DNA هو المادة الحاملة للمعلومات الوراثية فى جميع الخلايا أولية النواة Prokar-yotic والخلايا مميزة النواة Eukaryotic. أما فى الفيروسات من ناحية أخرى تكون المادة الحاملة للمعلومات الوراثية إما DNA أو RNA. ففيروس تبرقش أوراق التبغ tobacco

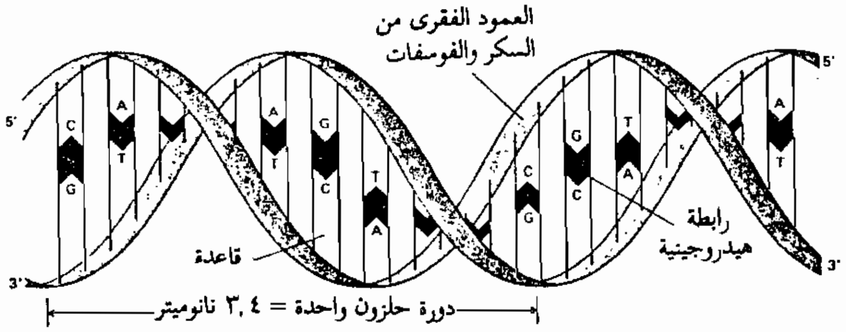
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

mosaic virus الذى يصيب أوراق التبغ هو أحد الفيروسات التى تحتوى على RNA، فيتألف هذا الفيروس من جزئ فردى RNA محاطاً بغلاف من البروتين، ويمكن فصل الجزء البروتينى عن RNA بالمعاملة بالفينول. ولقد وجد أن RNA المفصول من الفيروس معدى لنبات التبغ بينما البروتين الفيروسى ليس كذلك. كما أن التجارب المختلفة التى حضر فيها هجن لجسيمات الفيروس من سلالات مختلفة أوضحت أيضا أن التخصص الوراثى للفيروسات يكمن فى RNA.

نموذج الحلزون المزدوج لحمض دى أوكسى ريبونيوكلييك

قام العالمان واطسون Watson وكريك Crick عام ١٩٥٣ بتحليل صورة الأشعة السينية لألياف DNA، حيث توصلا إلى أن DNA يتألف من خيطين من سلاسل عديد النيوكليوتيد يلتفان حول بعضهما ليكونا ما يُسمى بالحلزون المزدوج double helix (شكل ٢٢ – ١). وأهم خصائص هذا النموذج نلخصها فيما يلى:

١ ـ تلتف سلسلتان من عديد النيوكليوتيد حول بعضهما بصورة حلزونية حول محور عام وتسير السلسلتان فى اتجاهين متضاديين.



شكل ٢٢ – ١
مخطط بيانى لنموذج الحلزون المزدوج الذى اقترحه واطسون وكريك لـ DNA

٢ ـ تبرز قواعد البيورين والبيريميدين نحو داخل الحلزون بينما تكون وحدات الفوسفات ودى أوكسى ريبوز إلى الخارج ويكون مستوى القواعد عموديا على محور الحلزون.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣ ـ قطر الحلزون يساوى ٢٠ أنجستروم وتكون القواعد مفصولة عن بعضها بمسافة ٣,٤ أنجستروم على طول محور الحلزون، وترتبط ببعضها بزاوية دوران تساوى ٣٦ درجة، ولذلك فإن دورة الحلزون تتكرر كل ١٠ قواعد على كل سلسلة.

٤ ـ يتم التماسك بين السلسلتين بواسطة الروابط الهيدروچينية بين أزواج القواعد المتقابلة فى السلسلتين، بحيث يزدوج الأدنين (A) فى أحد السلسلتين دائما مع الثايمين (T) فى السلسلة الأخرى، بينما يزدوج الجوانين (G) فى أحد السلسلتين دائما مع السايتوسين (C) فى السلسلة الأخرى.

٥ ـ التتابع المحدد للقواعد هو الحامل للمعلومات الوراثية.

وأهم خصائص نموذج الحلزون المزدوج لـ DNA هو التخصص فى إزدواج القواعد، فقد إستنتج واسطون وكريك أن الأدنين يجب أن يزدوج مع الثايمين، والجوانين مع السايتوسين.

حمض دى أوكسى ريبونيوكلييك جزئ عملاق وطويل

أهم خصائص جزيئات DNA الموجودة طبيعيا فى الخلايا الحية هو أوزانها الجزيئية الكبيرة وكذلك أطوالها الكبيرة جداً. فقد أوضحت الدراسات الأولية أن الوزن الجزيئى لـ DNA قد يبلغ عشرة مليون أو أقل والذى يكافئ ١٥,٠٠٠ زوج من القواعد. إلا أنه باستحداث طرف فصل جديدة لجزيئات DNA الطبيعية اتضح أن أوزانها الجزيئية أكبر من ذلك بكثير. فمن المعروف فى الوقت الحاضر أن جزيئات DNA الطبيعية مثل تلك الموجودة فى بكتريا القولون كبيرة جداً بحيث لا يمكن فصلها فى صورة سليمة وذلك لسهولة تكسُّرها أثناء عملية الفصل.

أوضحت الدراسات أيضا أن جزيئات DNA المختلفة تتباين فى أطوالها، إلا أنها تتسم بصورة عامة بأطوالها الكبيرة بالمقارنة بالجزيئات البيولوچية الأخرى. فعلى سبيل المثال تحتوى خلية بكتريا القولون على جزئ DNA وحيد فى هيئة حلزون مزدوج حلقى يتألف من أربعة ملايين من أزواج القواعد وتبلغ كتلته ٢,٦ × ١٠^{١٦} كيلو دالتون

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وطول الجزئ يساوى ١٣,٦ × ١٠^٦ انجستروم. ويوضح جدول (٢٢ - ١) أبعاد بعض جزيئات DNA فى الكائنات المختلفة.

جدولة ٢٢ - ١

أحجام بعض جزيئات DNA

الكائن	أزواج القواعد (بالألف، أو كيلو قاعدة)	طول الجزئ (ميكروميتر)
الفيروسات		
SV40	٥,١	١,٧
λ Phage	٤٨,٦	١٧
T_2 phage	١٦٦	٥٦
البكتريا		
الميكوبلازما	٧٦٠	٢٦٠
بكتريا القولون	٤٠٠٠	١٣٦٠
الكائنات مميزة النواء		
الخميرة	١٣٥٠٠	٤٦٠٠
الدروسوفيلا	١٦٥٠٠٠	٥٦٠٠٠
الإنسان	٢٩٠٠٠٠٠	٩٩٠٠٠٠

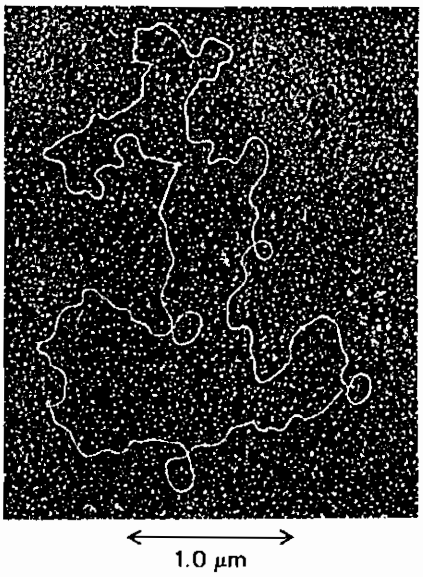
كيلو قاعدة Kilobase (kb) وحدة طول تساوى ألف زوج من القواعد فى جزئ الحمض النووى الحلزون المزدوج (أو ألف قاعدة فى الجزئ أحادى الخيط). واحد كيلو قاعدة لجزئ DNA الحلزون المزدوج لها طول يساوى ٣٤, ميكروميتر وكتله حوالى ٦٦٠ كيلو دالتون.

ويجدر الإشارة أن أصغر جزيئات DNA أطول بكثير من أى من جزيئات البروتينات. فجزئ DNA لفيروس SV40 كمثال يحتوى على ٥١٠٠ زوج من القواعد وطوله يساوى ١,٧ ميكروميتر (١٧٠٠٠ أنجستروم)، بينما بروتين الكولاجين وهو من أطول البروتينات يبلغ طوله ٣٠٠٠ أنجستروم.

بعض جزيئات DNA تكون حلقية

أوضحت صور المجهر الإلكترونى أن جزيئات DNA الطبيعية فى عدد من الكائنات تكون فى صورة حلقية (شكل ٢٢ - ٢). مثال ذلك تحتوى بكتريا القولون على جزئ واحد

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٢ - ٢

صورة بالمجهر الإلكترونى لـ DNA الحلقى فى الفيروس لامبدا (λ) المحلل للبكتريا λ bacteriophage .

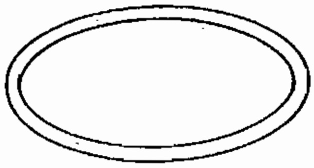
DNA حلزون فى هيئة دائرة مغلقة. ويشير الإصطلاح دائرى إلى إتصال طرفى سلسلة DNA وليس لهيئته الهندسية، فمن الثابت أن جزيئات DNA سواء الخيطية أو الحلقية توجد فى الخلايا الحية فى صورة مدمجة، فالملاحظ أن طول محيط DNA الحلقى فى بكتريا القولون أطول ألف مرة من قطر خلية البكتريا ذاتها. بالإضافة إلى ذلك فإن جزيئات DNA لبعض الفيروسات مثل الفيروس لامبدا (λ) المحلل للبكتريا λ bacteriophage تتحول بين الصورة الخيطية والصورة الحلقية، فتوجد الصورة الخيطية داخل جسيمات الفيروس بينما توجد الصورة الحلقية داخل خلايا العائل.

جزيئات DNA الحلقية يمكن أن تتواجد فى صور ذات التفاف مفرط (فائق)

جزيئات DNA الحلقية المفصولة بعناية فى صورتها الطبيعية من الفيروسات والبكتريا

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والميتوكوندريا وجدت فى صورة ذات التفاف مفرط (فائق) supertwisted (شكل ٢٢ - ٣)، بمعنى أن محور الحلزون المزدوج نفسه يلتف ليكوّن حلزون مفرط الإلتفاف. أما جزئ DNA غير الملتف حول نفسه من ناحية أخرى يعرف بالصورة المسترخاة relaxed form.



(أ) الصورة المسترخاة لـ DNA.

(ب) الصورة ذات الإلتفاف المفرط لـ DNA.

شكل ٢٢ - ٣

مخطط بيانى لـ (أ) DNA فى الحالة المسترخاة (ب) DNA فى الحالة ذات الإلتفاف المفرط.

ويبدو أن الصورة ذات الإلتفاف المفرط لها أهمية بيولوجية لسببين: الأول أن الصورة ذات الإلتفاف المفرط يكون لها شكل مدمج عن الصورة المسترخاة، وبذلك فإن الصورة الملتفة قد يكون لها دور فى تعبئة DNA. وثانيا أن DNA الحلقى الملتف قد يغير درجة انفكاك الحلزون المزدوج وبالتالى يؤثر على تفاعله مع الجزيئات الأخرى.

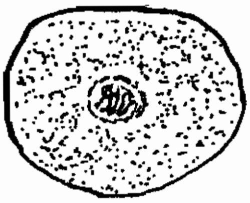
الكروموسوم عبارة عن جزئ DNA مفرد (أحادى)

يستخدم الإصطلاح كروموسوم chromosome للإشارة إلى الأحماض النووية المخزّنة للمعلومات الوراثية فى الفيروسات وفى الخلايا أولية النواه والخلايا مميزة النواه. لكن كلمة كروموسوم والتى معناها الجسم الملون قد إستخدمت فى بادئ الأمر للإشارة إلى الأجسام الى تقبل الصبغ بشدة فى أنوية خلايا الكائنات مميزة النواه والتى يمكن مشاهدتها بالمجهر الضوئى بعد صبغ الخلية بأحد الصبغات. ويمكن فقط مشاهدة كروموسومات الخلايا

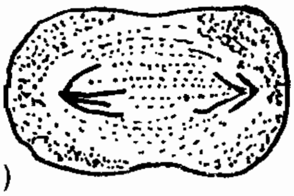
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مميزة النواه والتى تظهر كأجسام مُمدَّدة فى النواه قبل الإنقسام الميتوزى للخلايا الجسمية مباشرة وأثناء المراحل المختلفة لهذا الإنقسام (شكل ٢٢ – ٤). أمَّا فى المرحلة البينية بين الإنقسامات فإن الكروموسومات تكون طويلة جداً وملتفة حول بعضها وتُكوِّن تجمعاً غير منتظم ولا يمكن تمييزها وتبدو ككتلة من الخيوط داخل النواه.

(أ)



(ب)



شكل ٢٢ ـ ٤

المادة الكروموسومية (الكروماتين) تكون منتشرة بصورة عشوائية فى المرحلة البينية بين الإنقسامات (أ)، بينما عندما تُجهِّز الخلية نفسها للإنقسام أو أثناء الإنقسام فإن الكروماتين ينتظم فى صورة كروموسومات واضحة (ب).

كروموسوم الخلايا أولية النواه عبارة عن جزئ DNA مُفْرد (أحادى). فتحتوى بكتريا القولون مثلا على كروموسوم واحد عبارة عن جزئ DNA فردى حلقى وكبير. لكن هل كروموسوم الخلايا مميزة النواه عبارة عن جزئ DNA فردى؟. كان من الصعب الإجابة على هذا السؤال المهم لفترة قريبة نظرا لتعرُّض جزيئات DNA الكبيرة للتكسر أثناء عملية الفصل. ولكن باستخدام طرق التصوير الإشعاعى الذاتى autoradiography فى تقدير حجم جزيئات DNA فى المخلوط دون فصله أوضحت أن الكروموسوم فى الخلايا مميزة النواه عبارة عن جزئ DNA فردى فى هيئة حلزون مزدوج.

تحتوى الخلايا مميزة النواه على معلومات وراثية أكبر بكثير من الخلايا أولية النواه وبالتالى فإن عدد الكروموسومات فيها يكون أكبر، فخلايا الإنسان مثلا تحتوى على ٤٦ كروموسوماً بينما بكتريا القولون تحتوى على كروموسوم واحد (جدول ٢٢ ـ ٢). إلا أن عدد الكروموسومات لا يعكس درجة التطور، فالدجاج به ٧٨ كروموسوم بينما الإنسان به ٤٦ كروموسوم.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جدول ٢٢ - ٢

عدد الكرومسومات الطبيعية فى الأنواع المختلفة من الكائنات الحية

الكائن	عدد الكروموسومات
الكائنات أولية النواه	
البكتريا	١
الكائنات مميزة النواه	
دورسوفيلا ميلانوجاستر	٨
نحل العسل	١٦
الأذرة	٢٠
الضفدعة	٢٦
الفأر	٤٢
الأرنب	٤٤
الإنسان	٤٦
الدجاج	٧٨

DNA فى الخلايا مميزة النواه يرتبط بقوة ببروتين قاعدى يُدعى هستون

يوجد إختلاف أساسى بين DNA فى الخلايا أولية النواه والخلايا مميزة النواه. فبينما يوجد DNA فى النوع الأول من الخلايا فى صورة غير مرتبطة مع الهستونات (ربما يكون مرتبط مع أنواع مشابهة للهستونات ولكن ذلك لم يتأكد بصورة قاطعة)، فإن DNA فى أنويه الخلايا مميزة النواه يوجد مرتبطا بالهستونات histones، وهى مجموعة من البروتينات القاعدية الصغيرة. وفى الحقيقة تُشكل الهستونات حوالى ٥٠٪ من كتلة كروموسومات الأنوية بينما النصف الآخر عبارة عن DNA. ويُعرف معقد الهستون مع DNA للمادة الكروموسومية بالكروماتين chromatin الذى يكون فى صورة ألياف دقيقة. ويمكن فصل الهستونات من DNA بمعاملة الكروماتين بالأملاح أو الأحماض المخففة، وعند تفريد الهستونات بكروماتوجرافى التبادل الأيونى وجد أنها تحتوى على خمسة أنواع يطلق عليها H1 , H2A , H2B , H3 , H4 يتراوح وزنها الجزيئى بين ١١ ألف إلى ٢١

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ألف (جدول ٢٢ ـ ٣). وأهم خصائص الهستونات هو محتواها المرتفع من المجموعات الجانبية الموجبة نتيجة لوجود الحمض الأمينى لايسين أو أرجنين.

جدول ٢٢ - ٣

أنواع الهستونات وأوزانها الجزيئية

الهستون	الوزن الجزيئى	لايسين ٪	أرجنين ٪
H1	٢١٠٠٠	٢٩	١,٥
H2A	١٤٥٠٠	١١	٩,٥
H2B	١٣,٧٠٠	١٦	٦,٥
H3	١٥,٣٠٠	١٠	١٣,٥
H4	١١,٣٠٠	١١	١٤

يمكن أن توجد الهستونات فى صور مختلفة وذلك لأنه يمكن تغيير المجموعات الطرفية لبعض الأحماض الأمينية فى الهستونات إنزيميا بواسطة عمليات ميثلة أو فسفرة أو أسيلة. وهذه التفاعلات التى قد تؤدى إلى تعديل الشحنة وكفاءة الروابط الهيدروجينية وكذلك تعديل هيئة الهستونات قد يكون لها دوراً مهماً فى تنظيم تكرر ونسخ DNA.

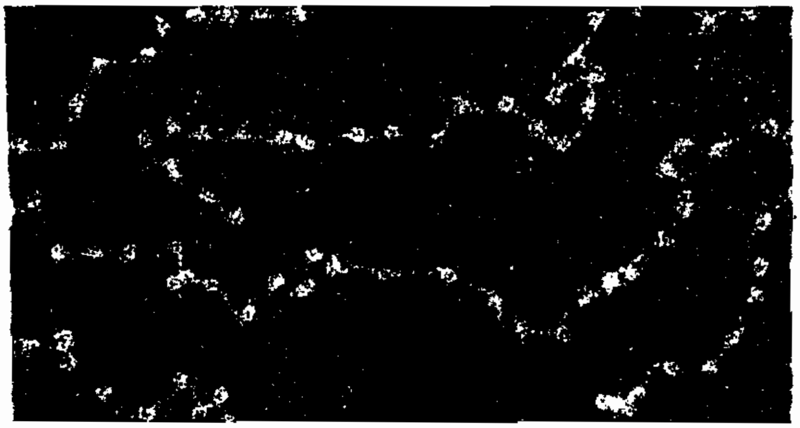
النيوكليوسومات هى الواحدات المتكرره فى الكروماتين

كيف ترتبط الهستونات مع DNA لتكوّن ألياف الكروماتين؟. فى عام ١٩٧٤ اقترح Roger Kornberg بناء على عدة أدله أن الكروماتين يتألف من وحدات متكرره كل منها يحتوى على ٢٠٠ زوج قاعدة من DNA (يتراوح العدد ما بين ١٥٠ إلى ٢٠٠ زوج قاعدة الذى يعتمد على نوع الكائن ونوع النسيج) ووحدتين من كل من الهسونات H2A , H2B , H3 ,H4. ومعظم الـ ٢٠٠ زوج قاعدة (١٤٦) يلتف من الخارج حول هذه الهستونات التى تشكّل قلب النيوكليوسوم nucleosome core، أما بقية القواعد التى تعرف بالوصلة DNA linker فتربط النيوكليوسومات المتجاوره وتشارك فى مرونة سلسلة النيوكليوسومات. ويختلف طول هذه الوصلات ما بين ٢٠ إلى ١٢٠ زوج قاعده، ويكون كل منها مرتبط بجزئ من الهستون H1.

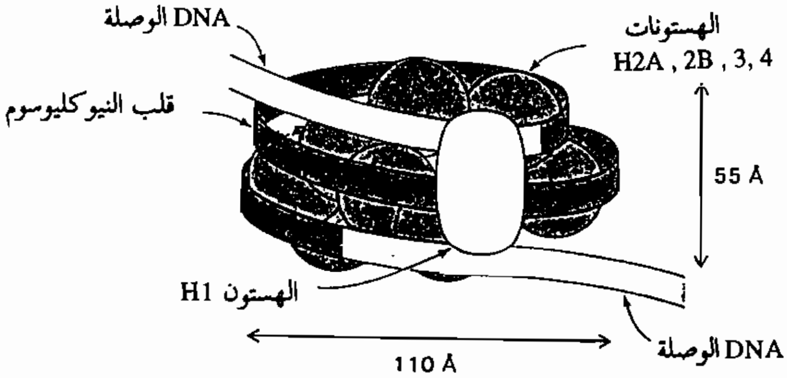
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وتمت بللوره قلب النيوكليوسوم ودراسته بالمجهر الالكترونى وطريقة انحراف أشعة اكس، حيث اتضح أن قلب النيوكليوسوم عبارة عن جسيمات مسطحه أبعادها ١١٠ × ١١٠ × ٥٥ انجستروم (A°) ويتألف من طبقتين. والـ ١٤٦ زوج قاعده فى DNA تلتف من الخارج حول قلب النيوكليوسوم لتكون حوالى ١$\frac{٣}{٤}$ دورة من الحلزون الفائق يسارى الإلتفاف left-handed superhelix (شكل ٢٢ – ٥). كما أوضحت

(أ)



(ب)



شكل ٢٢ ـ ٥

(أ) صورة بالمجهر الالكترونى للكروماتين موضحا فيه الجسيمات التى تشبه الكريات (النيوكليوسوم)

(ب) مخطط بيانى يوضح تركيب النيوكليوسوم. الحلزون المزدوج يلتف حول جزيئات الهستون الثمانية (جزيئين من كل من H4 , H3 , H2B , H2A) . أما الهستون H1 يرتبط من الخارج بـ DNA الوصله Linker DNA .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الدراسات التى أجريت على النيوكليوسومات من كائنات مختلفة أن تركيب قلب النيوكليوسومات يكون ثابت، بينما يتركز الإختلاف بين النيوكليوسومات فى التباين فى طول الوصلات التى تتراوح بين ٢٠ إلى ١٢٠ زوج قاعده.

وبالإضافة إلى الهستونات فإن الكروماتين يحتوى على كمية مساوية تقريبا من البروتينات الأخرى (معظمها بروتينات حامضية) التى ترتبط بدرجة ما مع نظام النيو ـ كليوسوم المتكرر. وهذه البروتينات الكروموسومية غير الهستونية تكون متنوعه وتشمل إنزيمات بلمره DNA وإنزيمات بلمره RNA بالإضافة إلى البروتينات المُنظِّمة. ونظرا لأن البروتينات الكروموسومية غير الهستونية لا تشترك فى التركيب الأساسى للكرومانين فإن درجة انتشارها وتماثلها يختلف من نوع إلى آخر من الخلايا.

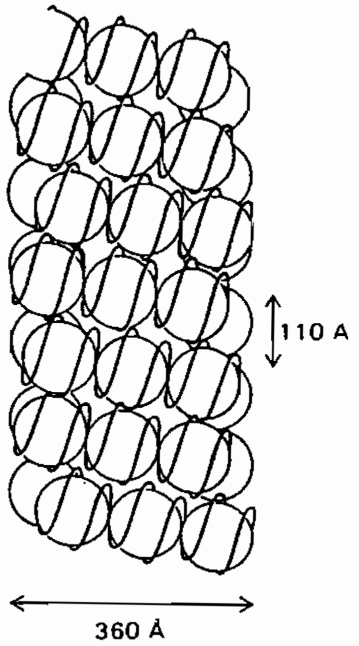
النيوكليوسوم هو المرحلة الأولى فى تكاثف DNA

إن إلتفاف DNA حول قلب (لب) النيوكليوسوم يشارك فى تعبئه DNA وذلك بخفض امتداده الخطى. فقطع DNA المحتوية على ٢٠٠ زوج قاعدة فى الصورة الممتدة يكون طولها فى المحلول حوالى ٦٨٠ انجستروم. بالمقارنة فإن هذه الكمية من DNA تتواجد فى النيوكليوسوم الذى يبلغ قطره ١٠٠ انجستروم، وعلى ذلك فإن نسبة التعبئة (درجة التكاثف degree of condensation) للنيوكليوسوم تكون حوالى ٧. كيف يمكن مقارنة هذه القيمة مع درجة تكاثف DNA فى الكروموسومات؟.

إن كروموسومات الإنسان فى الطور الاستوائى metaphase التى تكون عاليه التكاثف تحتوى على ٥,٣ × ١٠^٩ زوج قاعده التى تقابل طول خطى مقداره ١٨٠ سم. وهذه الكمية من DNA تكون مُعبَّأه فى ٤٦ كروموسوم اسطوانى الذى يكون طولها حوالى ٢٠٠ ميكروميتر (μm). وعلى ذلك فإن نسبة التعبئة لـ DNA فى كروموسومات الطور الاستوائى تكون حوالى ١٠^٤. من ناحية أخرى فإن DNA فى أنويه الطور البينى inter-phase يكون أكثر تشتتا (تفرقا) ويحتوى على نسبة تعبئة تساوى ١٠^٢ إلى ١٠^٣. ويتضح من ذلك أن النيوكليوسوم هو الخطوة الأولى فى إدماج DNA.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ما هو مستوى التنظيم التالى لـ DNA؟. أحد الاقتراحات هو نموذج الملف اللولبى solenoidal model (شكل ٢٢ ـ ٦) وفيه تنتظم النيوكليوسومات بذاتها فى نظام حلزونى فى الكروماتين الذى يكون قطره ٣٦٠ انجستروم (A°)، وتكون نسبة التعبئة فيه حوالى ٤٠. ولف مثل هذه الملفات اللولبية فى صورة حلقات يوفر تكاثف إضافى. ويعتقد أن سلسلة من البروتينات غير الهستونية تشارك فى ثبات التركيبات العالية للكروموسومات.



شكل ٢٢ ـ ٦

نموذج الملف اللولبى المقترح للكروماتين

الخلايا مميزة النواة تحتوى أيضا على DNA سيتوبلازمى

بالإضافة إلى DNA الذى يوجد فى أنويه الخلايا مميزة النواة، فإن كمية صغيرة جداً من DNA الذى يختلف عن DNA النووى فى محتواه من القواعد يوجد فى السيتوبلازم وذلك أساساً فى الميتوكوندريا، كما تحتوى أيضا كلوروبلاست خلايا البناء الضوئى على كمية صغيرة من DNA. وعادة يوجد أقل من ١,٪ من DNA الخلوى الكلى فى هذه

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

العضيات فى الخلايا الجسمية غير المنقسمة، ولكن فى الخلايا الملقحة والمنقسمة حيث توجد الميتوكوندريا بكميات كبيرة ترتفع كمية DNA السيتوبلازمى. ويعتبر جزئ DNA فى الميتوكوندريا صغير جداً بالمقارنة بجزئ DNA النووى فيبلغ وزنه الجزيئى ١٠ مليون فقط فى الخلايا الحيوانية ويوجد فى صورة حلزون مزدوج حلقى، أما جزئ DNA فى الكلوروبلاست من ناحية أخرى أكبر من DNA فى الميتوكوندريا بحوالى عشرة مرات، كما أن DNA فى الميتوكوندريا أو الكلوروبلاست لا يوجد مرتبطا مع الهستونات.

DNA الميتوكوندرى (mDNA) يشفر لجزيئات RNA الناقلة الميتوكوندرية ولجزيئات RNA الريبوسومية ولعدد من برتينات الميتوكوندريا. فنجد على سبيل المثال أن DNA فى ميتوكوندريا الخميرة يُشفِّر لعشرة أنواع من البروتينات، وجزيئين RNA ريبوسومية وستة وعشرين نوعاً من جزيئات RNA الناقلة. ومع أن حوالى ٩٥٪ من بروتينات الميتوكوندريا تشفر بواسطة DNA النووى فإن المشاركة الوراثية لـ DNA الميتوكونديرى تعتبر على قدر كبير من الأهمية. مثال ذلك أن ثلاثة وحدات من الوحدات السبعة المكونة لإنزيم cytochrome oxidase، وثلاثة وحدات من الوحدات العشرة المكونة لإنزيم ATPase الموجودان فى الغشاء الداخلى للميتوكندريا يشفرا بواسطة DNA الميتوكونديرى. إن وجود جينومات منفصلة فى الخلية يعتبر من أحد المبهمات فى وراثة الخلية ـ إذ كيف يتزامن تكرر DNA الميتوكونديرى مع تكرر DNA فى النواة ومع إنقسام الخلية؟. وكيف يدخل البروتين المتكون فى السيتوسول إلى الميتوكوندريا ويرتبط مع نواتج الجينات الميتوكوندرية؟. والأهم من ذلك لماذا تحتوى الميتوكوندريا فى الأصل على جينات خاصة بها؟. إن الإجابة على هذه الأسئلة لم تعرف بعد.

جينوم **Genome** يشير إلى المحتوى الوراثى للخلية أو الفيروس، وفى الخلايا مميزة النواه أحيانا ما يشير إلى مجموعة كروموسومية واحدة كاملة أحادية العدد الكروموسومى **(Haploid)**.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تدخل الميتوكوندريا ،الكلوروبلاست، فى عملية إنقسام أثناء إنقسام الخلية حيث يتضاعف DNA فيهما، وعلى ذلك فإن كل خلية من الخليتين البنويتين الناتجتين من الإنقسام تحتوى تقريبا على نفس العدد من الميتوكوندريا والكلوروبلاست وبالتالى نفس الكمية تقريبا من DNA السيتوبلازمى.

بعض البكتريا تحتوى على DNA إضافى فى صورة بلازميد وعناصر وراثية متحركة أخرى

سبق أن ذكرنا فى هذا الفصل أن المادة الوراثية فى البكتريا مُمثّلة فى كروموسوم فردى عبارة عن DNA حلقى وكبير والذى يتواجد فى المنطقة النووية. مع ذلك فإن معظم أنواع البكتريا تحتوى أيضا على واحد أو أكثر من جزيئات DNA الحلقية الصغيرة التى تكون حرة الحركة فى السيتوبلازم، لذلك فإنها تدعى العناصر الوراثية المتحركة mobile genetic elements ، أو العناصر اللاكروموسومية extrachromosomal elements ، أو الكروموسومات الصغيرة.

تعتبر البلازميدات أهم أقسام العناصر الوراثية المتحركة التى تحتوى على عدد قليل من الجينات بالمقارنة بالكروموسوم البكتيرى الذى يحتوى على آلاف من الجينات، إلا أن بعض أنواع البكتريا تحتوى على بلازميدات كبيرة نسبيا. تحمل البلازميدات جينات خاصة بتثبيط المضادات الحيوية (جينات أو عوامل المقاومة resistance genes) ، وتمثيل المنتجات الطبيعية وإنتاج المواد السامة، لذلك فإن البلازميدات تعتبر كروموسومات مساعدة أو ثانوية accessory chromosomes. ويمكن للبلازميدات التكرر (التضاعف) ذاتيا بصورة مستقلة عن الكروموسوم البكتيرى. فتحتوى خلية البكتريا كمثال على حوالى ٢٠ نسخة من الكروموسومات الصغيرة ونسخة واحدة أو اثنين من الكروموسومات البكتيرية (الكبيرة) .

والبلازميدات التى تحمل جينات أو عوامل المقاومة تمنح خلايا بكتريا العائل (الخلايا المحتوية على هذا النوع من البلازميد) مقاومة للمضادات الحيوية مثل تتراسيكلين tetra-cycline والاستربتوميسين streptomycin . وهذه الخلايا البكتيرية التى توجد فى جسم

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الإنسان نتيجة للعدوى لا تموت بالمعاملة بالمضادات الحيوية التى تحدث الموت فقط للخلايا البكتيرية الحساسة للمضادات الحيوية. ويمكن للبلازميدات الانتقال من الخلية المقاومة إلى الخلية الحساسة لنفس النوع أو نوع آخر من البكتريا بعملية التزاوج وتحولها إلى خلايا مقاومة.

وفى الآونة الأخيرة ظهرت أهمية تطبيقية خاصة للبلازميدات ألا وهى إمكان عزلها من خلايا البكتريا وربطها مع جينات جديدة ثم إدخالها مرة ثانية إلى خلية العائل الطبيعية. ومثل هذا البلازميد المحور يمكن أن يتكرر وينسخ ثم يجعل خلية العائل تكون البروتينات التى تشفر بهذا الجين الدخيل. ومثل هذه الإتحادات الوراثية الجديدة genetic recombination تبشر بمستقبل فريد فى إنتاج البروتينات المرغوبة بكميات كبيرة.

الجين عباره عن جزء من DNA الذى يشفر لسلسلة عديد الببتيد أو RNA

دعنا الآن ننتقل إلى الوحدات الوظيفية فى جزيئات DNA وهى الجينات genes. يُعرَّف الجين فى الوقت الحاضر بأنه جزء من DNA مسئول عن توجيه بناء سلسلة عديد ببتيد واحدة. وإلى وقت قريب كان التعريف المتفق عليه هو أن الجينٍ جزء من DNA مسئول عن توجيه بناء انزيم واحد (جين واحد ـ انزيم واحد)، ثم عُدِّلت هذه النظرية لتأخذ الصورة العامة جين واحد ـ بروتين واحد وذلك لأن بعض الجينات تُوجه بناء البروتينات التى ليست إنزيمات.

عدد كبير من البروتينات تتكوَّن من أكثر من سلسلة عديد ببتيد واحد، وفى بعض هذه البروتينات تكون سلاسل عديد الببتيد فى البروتين متماثلة، وفى هذه الحالة يُوجه بناء جميع سلاسل عديد الببتيد فى البروتين بواسطة نفس الجين. أما بعض البروتينات الأخرى تحتوى على نوعين أو أكثر من سلاسل عديد الببتيد المختلفة الذى يحتوى كل منها على تتابع خاص من الأحماض الأمينة. فى هذه الحالة فإن كل نوع من سلاسل عديد الببتيد يوجه بواسطة جين خاص، ويتم تجميع سلاسل عديد الببتيد بعد بنائها لتكوين البروتين. لذلك فإن العلاقة جين واحد ـ بروتين واحد تم تعديلها لتأخذ الصوره جين واحد ـ عديد ببتيد واحد one gene - one polypeptide.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع ذلك فإنه لا يتم التعبير عن كل الجينات فى صورة سلاسل عديد اللببتيد، فبعض الجينات تُشفِّر أى توجِّه بناء أنواع مختلفة من جزيئات RNA الناقلة، والبعض الآخر تُشفِّر لأنواع مختلفة من جزيئات RNA الريبوسومية. ويطلق على الجينات التى تُشفِّر للبروتينات وجزيئات RNA بالجينات التركيبة structural genes فتحدد هذه الجينات تركيب نواتج الجينات وهى البروتينات أو RNA. تحتوى جزيئات DNA أيضا على أجزاء أخرى التى تقوم بوظائف تنظيمية، فيعمل بعضها كإشارات تحدد مواضع بدء ونهاية الجينات التركيبية، والبعض الآخر يشارك فى تحريك تضاعف الجينات التركيبية وإيقافها. وعلى ذلك فإن الكروموسومات تحتوى على جينات تركيبية وأجزاء تنظيمية regulatory sequences أو جينات تنظيمية regulatory genes. ومجموع الجينات فى الخلية أو الفيروس تعرف بالجينوم genome.

يوجد عدد كبير من الجينات فى الكروموسوم الواحد

نظرا لأن كل جين تركيبى يُوجِّه بناء سلسلة عدد ببتيد واحدة فإنه من الناحية النظرية يمكن تقدير عدد الجينات فى الكروموسوم الواحد من عدد سلاسل عديد الببتيد التى تشفر بهذا الكروموسوم. ومن الواضح أنه يمكن تحديد عدد الجينات فى الكروموسوم بالتقريب فى حالة الكائنات التى تحتوى على كروموسوم واحد، بينما يصبح ذلك أكثر تعقيداً فى خلايا الكائنات عديدة الكروموسوم. ففى حالة بكتريا القولون التى تحتوى على كروموسوم واحد يقدر عدد الجينات فيها بحوالى ثلاثة آلاف وربما يصل إلى خمسة آلاف. فعند فصل بروتينات خلايا بكتريا القولون باستخدام التفريد الكهربى فى إتجاهين أمكن فصل ١١٠٠ سلسلة عديد ببتيد مختلفة. ولكن من المعتقد أن ذلك أقل تقدير حيث أن هذه الطريقة ليست بالكفاءة لفصل جميع سلاسل عديد الببتيد، كما أنها ليست حساسة بدرجة كبيرة فى الكشف عن عديدات الببتيد التى توجد بكمية صغيرة جداً فى خلية البكتريا.

ومن المعتقد أن عدد الجينات فى كروموسوم الخلايا مميزة النواه أكبر بكثير من عدد الجينات فى كروموسوم بكتريا القولون، فالوزن الجزيئى لـ DNA (وبالتالى عدد

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

النيوكليوتيدات) فى كروموسوم الخلايا مميزة النواه أكبر بكثير من الوزن الجزيئى لـ DNA فى كروموسوم بكتريا القولون. بالإضافة إلى ذلك فإن عدد سلاسل عديد الببتيد فى الخلايا مميزة النواه يفوق بكثير عددها فى بكتريا القولون.

حجم الجين

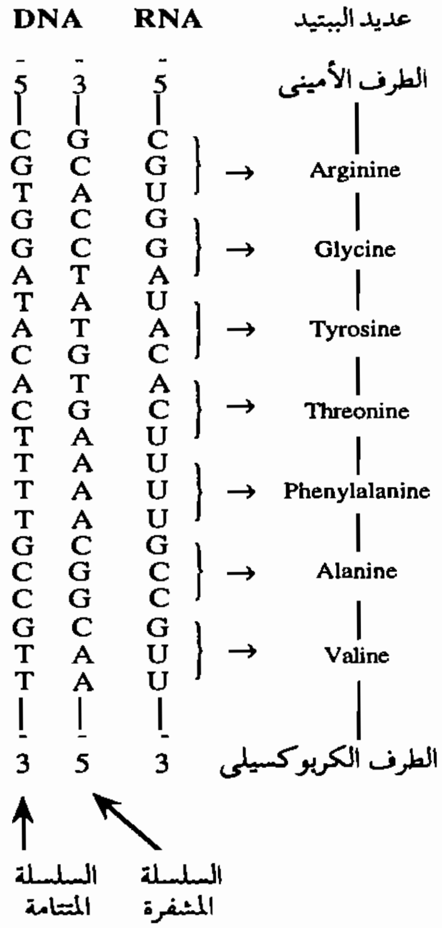
يمكن بالتقريب معرفة حجم الجينات التركيبية أى التى تُوجِّه بناء عديد الببتيد أو RNA المختلفة بطريقة غير مباشرة. فمن المعروف فى الوقت الحاضر أن كل حمض أمينى فى سلسلة عديد الببتيد يتحدَّد موضعه فى السلسلة بواسطة ثلاث قواعد متتابعة فى جزئ DNA والتى تُعرف بالشفرة الوراثية (أو الكودون) genetic code، والتى تُمثِّل العلاقة المتوازية بين تتابع القواعد فى DNA (أو RNA المنسوخ منه) وتتابع الأحماض الأمينية فى البروتين. ونظرا لعدم وجود تتابعات فاصلة بين الشفرات الوراثية فى الخلايا أولية النواة فإن الشفرات الثلاثية فى جزئ DNA تنتظم تعاقبيا والتى تقابل تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد المشفَّر منها (شكل ٢٢ ـ ٧). ولأن سلسلة عديد الببتيد تحتوى بين ٥٠ إلى ٢٠٠٠ حمض أمينى فى تتابع محدد، فإن الجين المسئول عن توجيه بناء سلاسل عديد الببتيد يحتوى على الأقل من ١٥٠ إلى ٦٠٠٠ وحدة نيوكليوتيد. وبكلمات أخرى فإن حجم الجينات يتراوح ما بين ١٥٠ إلى ٦٠٠٠ وحدة نيوكليوتيد.

الجينات التى تُوجِّه بناء جزيئات RNA الناقلة تكون أصغر بكثير من الجينات المسئولة عن توجيه بناء سلاسل عديد الببتيد وذلك لأن كل نيوكليوتيد فى RNA يُشفَّر بواسطة وحدة نيوكليوتيد أحادية فى DNA.

DNA البكتيرى يحتوى على نمط معين من القواعد المميثلة التى تقوم بحمايته من إنزيمات النيوكلينر

بالإضافة إلى القواعد الأساسية الأربعة أدنين وجوانين وسايتوسين وثايمين التى توجد فى جزيئات DNA، فإن DNA البكتيرى يحتوى أيضا علـى بعـض المشتقـات الميثيلية لهذه القواعد. ولقد إتضحت الأهمية البيولوجية لهذه القواعد المميثلة من الدراسات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٢ ـ ٧

الاستقامه (التوازى) collinarity بين تتابع النيوكليوتيدات فى DNA و RNA الرسول وتتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد. الوحدات الثلاثية من النيوكليوتيدات التى تمثل الشفرات الوراثية تحدد تتابع الأحماض الأمينية فى البروتينات خلال المركب الوسيط RNA الرسول الذى يحتوى على ثلاثيات من النيوكليوتيدات (كودونات codons) متتامة مع المصيغ (القالب templete)

الوراثية والبيوكيميائية على البكتريا. فكل نوع من البكتريا يحتوى على نمط مميَّز للقواعد المميثلة فى DNA الخاص بها والذى يُميزه عن DNA فى أنواع البكتريا الأُخرى. وعند

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

دخول DNA من أحد الأنواع الأخرى إلى الخلية البكتيرية الحية فإنه سوف يُميِّز على أنه جزئ دخيل وذلك لإفتقاره نمط الميْثلة المميز لـ DNA للخلية البكتيرية. فى هذه الحالة يقوم إنزيم nuclease البكتيرى بتفكيك كل من خيطى DNA الدخيل فى المواضع التى تفتقد نمط الميثلة المشابه لجزيئات DNA البكتيرى.

يوجد اثنين من الإنزيمات التى تتكامل فى تخصصها وتقوم بحماية DNA لأى من أنواع البكتريا هما (١) modification methylase و (٢) restriction endonucle-ase. فالإنزيم الأول يكون مسئول عن إنتاج نمط ميْثلة مُميِّز فى DNA فى خلايا العائل، حيث تظل مجموعات الميثايل مرتبطة بـ DNA طول فترة حياة الخلية، الإنزيم الثانى من ناحية أخرى يقوم بتفكيك خيطى DNA الدخيل الذى لا يحتوى على مجموعات ميثايل بنفس نمط DNA لخلية العائل.

ولقد تم اكتشاف أكثر من ١٥٠ إنزيم restriction endonuclease فى أنواع البكتريا المختلفة، وبعض أنواع البكتريا تحتوى على أكثر من مجموعة من إنزيمات mod-ification methylase و restriction endonuclease. بعض جزيئات DNA للفيروسات البكتيرية مع ذلك تحتوى على أنواع مختلفة من القواعد المحوَّرة التى تُمكنها من الهرب من المهاجمة بإنزيمات restriction endonucleose.

DNA فى الخلايا مميزة النواه يحتوى على بعض الأجزاء الساكنة وعلى تتابعات تتكرر عدد كبير من المرات

عادة ما تحتوى الخلايا أولية النواه على نسخة واحدة من DNA فى كل خلية، وفى جميع الحالات تقريبا فإن جزئ DNA يحتوى على نسخة واحدة من أى جين. وبصرف النظر عن الجينات المُنظِّمة وبعض أجزاء DNA التى تُمثل إشارات لبدأ وإنهاء التعبير الجينى فإن جزءاً صغيراً جداً من DNA يكوون ساكنا أو غير مترجم.

من ناحية أخرى نجد أن التنظيم التركيبى والوظيفى لجزيئات DNA فى الخلايا مميزة النواه يكون على درجة كبيرة من التعقيد. فيحتوى جزئ DNA فى هذه الخلايا على أجزاء ساكنة أى لا تترجم تحتوى على تتابع من وحدات النيوكليوتيد التى قد تتكرر فى بعض الأنواع إلى أكثر من مليون مرة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ولقد أمكن الحصول على نسبة التتابعات المتكررة فى DNA وذلك من الدراسات الحركية لمعدّل (سرعة) إعادة الإلتحام لخيطى DNA المفردة الناتجة من الدنترة الحرارية thermal denaturation لـ DNA المزدوج بعد تجزئته إلى أجزاء صغيرة. ففى هذا النوع من التجارب يُجزأ DNA أولا إلى أجزاء صغيرة ثم تغير طبيعته (يدنتر) برفع درجة حرارة المحلول إلى درجة أعلى من درجة إنصهار DNA، ثم يبرد هذا المحلول الذى يحتوى على DNA أحادى الخيط إلى درجة تقل ٢٥° م عن درجة الإنصهار، وهى الدرجة المثلى لإعادة التحام السلاسل المتتامة لتكوين DNA الحلزون المزدوج. وحيث أن عملية إعادة الالتحام تتم بالتصادم العشوائى بين السلاسل الفردية فإن سرعة إعادة الالتحام فى مستحضرات DNA المتساوية التركيز يعتمد على تركيز السلاسل الفردية المتتامة. لذلك نجد أن DNA المحتوى على تتابعات متكررة يكون إعادة التحامه أسرع من DNA الذى لا يحتوى على مثل هذه التكرارات. وبصورة عامة فإن سرعة إعادة الالتحام تعتمد على عدد التتابعات المتكررة.

ولقد أظهرت تجارب إعادة الإلتحام أن ١٠ ٪ من DNA الفأر يحتوى على أكثر من مليون نسخة من تتابع متكرر يحتوى على حوالى ٣٣٠ زوج من القواعد والذى يسمى الأجزاء عالية التكرار highly repetitive segments، وحوالى ٢٠ ٪ تحتوى على تتابعات خاصة تتكرر على الأقل ١٠٠٠ مره وتسمى الأجزاء متوسطة التكرار moderately repetitive. أما الـ ٧٠٪ الأخرى فى DNA الفأر فتحتوى على أجزاء غير متكررة بالإضافة إلى أجزاء قد تتكرر عدد قليل من المرات. ويسمى الحمض النووى DNA المحتوى على مثل هذه التتابعات عالية التكرار بـ DNA المتكرر repetitive DNA أو DNA التابع satellite DNA.

كل الكائنات مميزة النواه التى درست حتى الآن فيما عدا الخميرة وجد أنها تحتوى على DNA المتكرر، هذا بالمقارنة بالكائنات غير مميزة النواه التى لا تحتوى على DNA المتكرر. ولقد وجد أن نسبة التتابعات عالية التكرار ومتوسطة التكرار وأحادية التكرار تختلف من نوع لآخر فى الكائنات مميزة النواه.

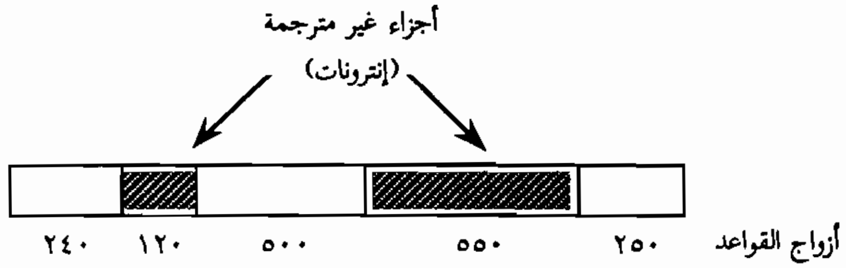
ولا يعرف على وجه التحديد الدور الذى تقوم به الأجزاء عالية التكرار، إلا أن وجود

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

هذه الأجزاء فى منطقة السنترومير فى الكروموسوم يقترح اشتراك هذه الأجزاء فى ترتيب (تراص) الكروموسومات أثناء الإنقسام الميوزى والإنقسام الميتوزى.

عدد كبير من جينات الخلايا مميزة النواه يتخللها أجزاء غير مترجمة تُعرف بالانترونات

يحتوى عدد كبير إن لم يكن معظم جينات الخلايا مميزة النواه على خصائص تركيبية غير عادية، فتتابع القواعد فى هذه الجينات يتخللها أجزاء من DNA التى لا تُشفِّر للأحماض الأمينية فى عديد الببتيد الناتج. وهذه الأجزاء غير المترجمة تخل بالعلاقة الخطية المتوازية بين تتابع القواعد فى الجين وتتابع الأحماض الأمينية فى عديد الببتيد. هذه الأجزاء غير المترجمة فى الجين يطلق عليها إنترونات introns، بينما لأجزاء المُشفِّرة فى الجين تدعى الإكسونات exons. وأحد الأمثلة لذلك هو الجين المُشفِّر للسلسلة بيتا (β) فى الهيموجلوبين الذى يحتوى على إثنين من الأجزاء غير المترجمة أحدهما يحتوى على ٥٥٠ زوج من القواعد والآخر يحتوى على ١٢٠ زوج من القواعد. وعلى ذلك فإن الجين يتجزأ إلى ثلاثة أجزاء مُشفِّرة.



جين السلسلة بيتا فى الهيموجلوبين

وفيما عدا بعض الاستثناءات، فإن جميع جينات الخلايا مميزة النواه التى اختبرت حتى الآن وجدت أنها تحتوى على انترونات التى تختلف فى العدد والموضع والطول بالنسبة لطول الجين الكلى.

ووظيفة الانترونات ليست واضحة بصورة تامة، وهى أحد النقاط التى تضاربت فيها الآراء. أحد هذه الأراء هو أن الأنترونات تمثل إشارات تنظيمية خاصة، أما الرأى الآخر

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فيقترح أن الإنترونات تمثل قواطع تفصل الجين إلى وحدات صغيرة (جينيات صغيرة) التى تتحد لتكونٌ جينات جديدة أثناء تطور النوع - وبغض النظر عن وظيفة الإنترونات فإنها تمثل أحد المشاكل الرئيسية فى تفهم نسخ الجينات.

أمكن تحديد تتابع القواعد فى بعض جزيئات DNA

تمكن سانجر Sanger فى عام ١٩٧٧ لأول مرة من تحديد تتابع القواعد فى كل جزئ DNA للفيروس البكتيرى ϕ X 174 الذى يحتوى على خمسة آلاف قاعدة. وهذا النجاح غير العادى قد فتح الباب أمام عديد من الباحثين لتحديد تتابع القواعد فى الأحماض النووية الأخرى، فقد أمكن بعد ذلك التاريخ من تحديد تتابع القواعد فى عدد من الجينات المختلفة. ومن الواضح فى الوقت الحالى أنه يمكن من ناحية المبدأ تحديد تتابع القواعد فى أى جزئ DNA.

كان هناك ثلاثة تطورات أساسية شاركت بنجاح فى تحديد تتابع القواعد فى جزيئات DNA. الأول إكتشاف إنزيمات restriction endonucleases التى تفكك DNA عند عدد محدود من المواضع، والثانى تحسين طرق التفريد الكهربى لفصل أجزاء DNA، أما التطور الثالث هو إدخال تقنية DNA Cloning التى مكنت من تحضير كميات كبيرة نسبيا من الجينات النقية.

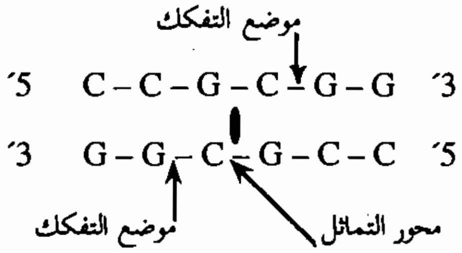
إنزيمات Restriction endonuclease ساهمت بدور كبير فى تحديد تتابع القواعد فى جزيئات DNA

إنزيمات r. endonuclease تستطيع أن تُميّز تتابع خاص من القواعد فى DNA فى الحلزون المزدوج وتفكك كلا الخيطين فى الحلزون عند هذا التتابع. وتعتبر هذه الإنزيمات أداة لا غنى عنها فى تحليل تركيب الكرومرسوم وتحديد تتابع القواعد فى جزئيات DNA الكبيرة وفى فصل الجينات وفى تكوين جزيئات DNA جديدة عن طريق الإتحادات الوراثية.

وتوجد إنزيمات r. endonuclease فى أنواع مختلفة من أولية الأنوية (غير مميزة النوى) ووظيفتها الأساسية كما ذكرناه سابقا هو تفكيك جزيئات DNA الغريبة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(الدخلية)، بينما جزيئات DNA الخاصة بالعائل لا تتفكك لأن المواضع التى يتم عندها التفكك تكون مميثلة. والنقطة الجديرة بالملاحظة هو أن عدد كبيرة من إنزيمات r. en-donuclease تُميِّز تتابع خاص من أربعة إلى ستة أزواج من القواعد حيث تحلل رابطة الفوسفات ثنائية الإستر فى هذه المنطقة. أضف إلى ذلك أن التتابع فى مناطق التفكك يحتوى على محور تماثل ثنائى الدوران twofold rotational symmetry، وبمعنى آخر أن تتابع ازواج القواعد يكون Polindrome. مثال ذلك نجد أن التتابع الذى يميز بواسطه الأنزيم المستخلص من Streptomyces achromogenes هو :



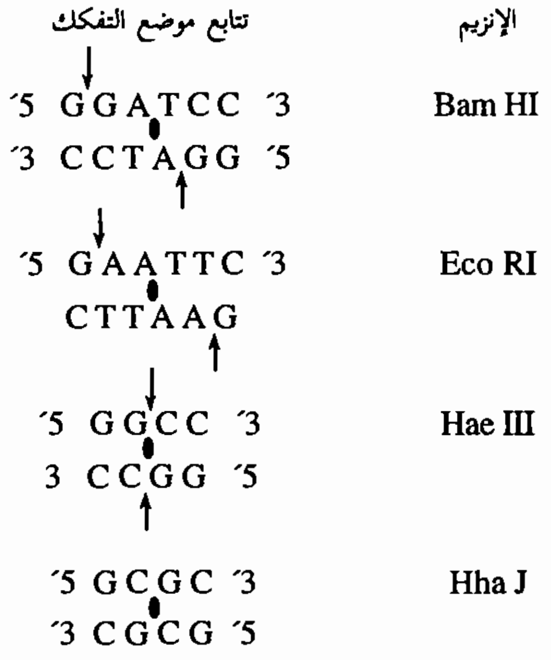
Polindrome
كلمة أو جملة يكون قراءتها من اليمين إلى الشمال مماثل لقراءتها من الشمال إلى اليمين.
مثال ذلك: رادار

وتخصُّص عدد من هذه الإنزيمات موضَّح فى شكل (٢٢ ـ ٨). واسم هذه الانزيمات يتألف من رمز مختصر من ثلاثة حروف مشتق من إسم العائل، مثال ذلك Eco يشير إلى إنزيم E. coli، Hin يشير إلى إنزيم Haemophilus influenzae. ثم يتبع ذلك بلقب السلاله ورقم لاتينى يحدد ترتيب اكتشاف الانزيم فى الكائن.

تستخدم إنزيمات r. endonuclease فى تفكيك DNA إلى شظايا (قطع) صغيرة التى يمكن تحليلها بسهولة عن الجزئ الأصلى. مثال ذلك أن DNA لـ Simian Vi-rus 40 (SV 40) يتفكك عند موضع واحد بواسطة إنزيم Eco RI، وعند أربع مواضع

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بواسطة Hpa، وعند أحدى عشر موضع بواسطة Hind. وقطعDNA الناتجة من تأثير أحد هذه الإنزيمات يمكن تفكيكها إلى قطع أصغر بأحد إنزيماتr. endonuclease الأخرى. ويمكن فصل هذه القطع بواسطة إلكتروفوريسيس الجيل حيث يمكن تحديد تتابع القواعد فى كل منها، ومن تداخل تتابع القواعد فى هذه القطع يمكن الوصول إلى تتابع القواعد DNA فى الأصلى.



شكل ٢٢ ـ ٨

تخصص بعض إنزيمات restiction endonuclase. موضع التفكك فى خيطى DNA مُوضَّح بسهم.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجـــع

Ayala, F., and J. Kiger: Modern Genetics, Benjamin - Cummings, Menlo Park, Calif., 1980.

Barrel B. G., and B. F. C. Clark: Handbook of Nucleic Acid Sequences, Joynson - Bruvvers, Oxford, 1974.

Bauer, W. R.: Structure and Reactions of Closed Duplex DNA. Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 7 : 287 - 313 (1978).

Bauer, W. R., F. H. C. Crick, and J. H. White, "Supercoiled DNA," Sci. Am., 243 : 118 - 133 July (1980).

Bloomfield, V. A., D. M. Crothers, and I. Tinoco, Ir.: Physical Chemistry of Nucleic Acids, Harper & Row, 1974.

Cantor, C. R., and P. R. Schimmell: Biophysical Chemistry, Part 1: The Conformation of Biological Mocromolecules, Freeman, San Francisco, 1980.

Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Bruening and R. H. Doi: Outlines of Biochemistry (5 th ed.), John Wiley & Son, 1987.

Davidson, E. H., and R. J. Britten: "Possible Role of Repetitive Sequences," Science, 204: 1052 - 1059 (1979).

Davidson, J. N. : The Biochemistry of the Nucleic Acids, Academic Press, 1977.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

Dupraw, E. J.: DNA and Chromosome, Holt, New York, 1970.

Kornberg, R. D., and A. Klug: "The Nucleosomes," Sci. Am., 244 : 52 - 78, February (1981).

Lehninger, A. L.: Principle of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

Strayer, L.: Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San francisco, 1981.

Zubay, G. (Coord. author): biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass., 1983.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تماريـــن

١ ـ اكتب التتابع المتمم (باستخدام الرمز ٥َ ← ٣َ القياسى) لـ DNAالحلزون المزدوج الذى يكون فيه أحد الخيوط محتوى على أحد التتابعات التالية:

(أ) GATCAA

(ب) TCGAAC

(حـ) ACGCGT

(د) TACCAT

٢ ـ محتوى أحد خيوط DNA الحلزون المزدوج (بوحدات الكسر المولى) هو:

[A] = ,٣، [G] = ,٢٤

(أ) ماذا يمكن أن تقول عن [T] و [C] فى نفس الخيط .

(ب) ماذا يمكن أن تقول عن [A] و [G] و [T] و [C] فى الخيط المتمم.

٣ ـ DNA لأحد طافرات bacteriophage λ له طول محيطى يساوى ١٥ ميكروميتر بدلا من ١٧ ميكروميتر التى تمثل طول النوع غير الطافر. كم عدد أزواج القواعد المفقودة من هذا الطافر.

٤ ـ أحسب الوزن بالجرامات لجزئ DNA حلزون مزدوج طوله ٢٠٠,٠٠ ميل (تساوى المسافة بين الأرض والقمـر). وزن DNA الحلزون المزدوج يساوى ١× ١٠^-١٨ جرام لكل ١٠٠٠ زوج من القواعد وكل زوج من القواعد يمتد ,٣٤ نانوميتر. للمقارنه لاحظ أن جسم الإنسان يحتوى على ,٥ جرام DNA.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥ ـ ما هو العدد الأدنى من أزواج النيوكليوتيدات فى جين إنزيم Pancreatic ribonu-clease (يحتوى الإنزيم على ١٢٤ حمض أمينى). لماذا يتوقع أن يكون عدد أزواج النيوكليو تيدات اكبر من اجابتك؟

٦ ـ DNA للفيروس البكتيرى M13 يحتوى على القواعد الأربعة بالنسب التالية A = ٢٣٪، T = ٣٦٪، G =٢١٪ و C = ٢٠٪. ماذا تشير هذه المعلومات عن DNA.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فصل ٢٣

تكرر حمض دى اوكسى ريبونيوكلييك

Replicotion of DNA

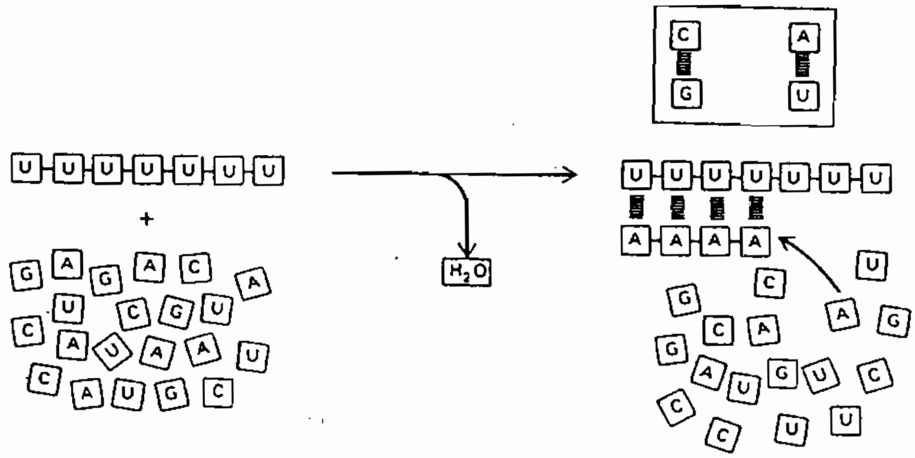
ناقشنا فى الفصل السابق الخصائص التركيبية لجزئ DNA وطبيعة الجينات والكروموسومات. وفى هذا الفصل سنوضح ميكانيكية تكرر (تناسخ) DNA لتكوين جزيئات DNA جديدة. فمن المعروف أنه قبل انقسام الخلية الحية مباشرة إلى خليتين فإنه يتم تكرر DNA فى الخلية الأصل (الأبوية) بحيث تحتوى كل من الخليتين الجديدتين (البنويتين) على DNA نسخة طبق الأصل لـ DNA فى الخلية الأبوية، وبذلك فإن الخليتين الجديدتين يحملان نفس صفات الخلية الأبوية. ومن ثم يتبين لنا أن تكرر DNA قبل انقسام الخلية يمثل الكيفيه التى تنتقل بها المعلومات الوراثية من جيل إلى الجيل التالى.

تعتبر الإنزيمات والبروتينات الأخرى التى تشترك فى تكرر جزئ DNA من أكثر العوامل الحفازة البيولوجية تميزاً، ليس فقط لمقدرتهم على بناء جزئ DNAضخم من وحدات بنائية صغيرة وهى النيوكليوتيدات، ولكن لأن ذلك يتضمن أيضا نقل المعلومات الوراثية من جزئ DNA الأصل إلى جزئ DNA الجديد بدقة متناهية. بالإضافة إلى ذلك فإن هذه الإنزيمات تقوم بوظيفة ميكانيكية وذلك بفك شريطى DNA المزدوج قبل عملية التكرر.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

سلسلتى DNA يعملا كقالب (مُصيغ) فى عملية تكرر DNA

فى تكرر DNA يحدد كل من خيطى DNA تتابع النيوكليوتيدات فى خيطى DNA الجديد، فكلا خيطى DNA الأصل يعملا كقالب (مُصيغ) template فى بناء خيوط DNA الجديدة. وتُعرف الصياغة tempIing، والتى تمثل أحد الأركان الهامه فى نقل المعلومات الوراثية فى الأنظمة الحية، بأنها العملية التى ينسخ فيها تتابع القواعد لـ DNA (أو جزء منه) بواسطه إذدواج القواعد المتمم (A مع T أو G مع C)وهذا يتطلب عملية تعارف بين النيوكلوتيدات فى DNA الأصل والنيوكليوتيدات الحرة المكونة للخيوط الجديدة (شكل ٢٣ ـ ١). ولكن من الضرورى تفهم لماذا تحتاج عملية التكرر (وكذلك النسخ والترجمة) إلى قالب (مصيغ) ؟.



شكل ٢٣ ـ ١

الإرتباط التفضيلى يحدث بين ازواج النيوكليوتيدات (C مع G و A مع T) بواسطة روابط كيمائية ضعيفة (أعلى). وهذا الإذدواج يُمكّن أحد النيوكليوتيدات أن تعمل كقالب (مصيغ) فى بناء خيط جديد (اليمين).

فى البناء الحيوى للجزيئات الكبيرة غير الحاملة للمعلومات مثل الجلايكوجين الذى يحتوى فقط على نوع واحد من الوحدات البنائية وهو D ـ جلوكوز، فإن تماثل ونقاوة الناتج النهائى يتحدد بواسطة المركز النشط لإنزيم جلايكوجين سنثتيز glycogen

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

synthetase. فالركز النشط فى هذا الإنزيم يمكن أن يستقبل فقط UDP ـ جلوكوز والنهاية المختزلة لسلسلة الجلايكوجين النامية. ومن حيث المبدأ فإنه يمكن إعتبار المركز النشط لهذا الإنزيم (أو الإنزيمات الأخرى) بأنه قالب حيث أن هناك تطابقاً بين المواد الخاضعة والمركز النشط للإنزيم.

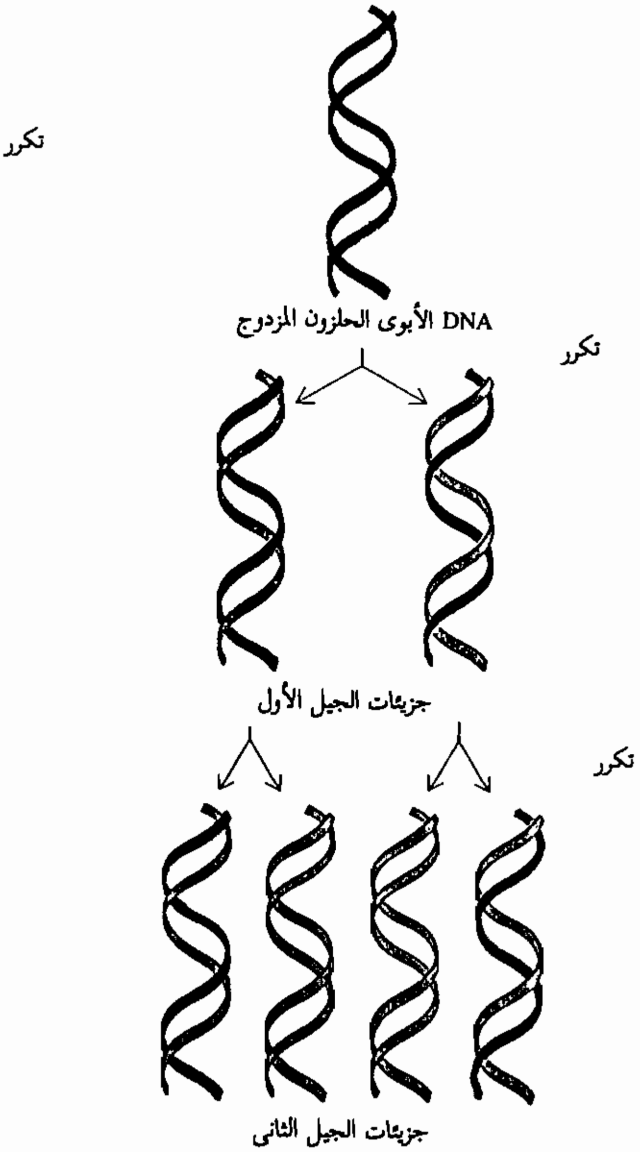
تختلف الصورة عن ذلك فى حالة بناء DNA أو RNA أو عديد الببتيد، فجزئ DNA مثلا قد يحتوى على عدة ملايين من وحدات النيوكليوتيدات المختلفة التى توجد فى تتابع خاص بحيث لا يمكن للمركز النشط فى الإنزيم بمفرده من تحديد التتابع الكلى للنيوكليوتيدات فى الجزئ، لذلك فإنه من الضرورى فى هذه الحالة استخدام DNA كقالب لتحديد التتابع فى جزئ DNA الجديد.

تكرر DNA يتم بطريقة نصف محافظة

أدى نموذج الحلزون المزدوج الذى اقترحه واطسون وكريك لجزئ DNA إلى كيفية مقبولة لتكرر (أو تناسخ) DNA، فافترضا هذان العالمان أن كل من خيطى DNA الأبوى يعملان كقالب فى عملية التكرر حيث يُبنى على كل خيط سلسلة DNA جديدة، وهذا يتطلب انفكاك ولو جزئى للحلزون المزدوج الأبوى. وبهذه الطريقة فإنه يتكون جزيئيين DNA متماثلين تماما لجزئ DNA الأبوى كل منهما يحتوى على خيط مشتق من DNA الأبوى بينما الخيط الأخرى يكون حديث التكوين. وهذه الطريقة فى تكرر DNA التى يتم فيها توزيع ذرات DNA الأبوى مناصفة بين جزيئى DNA الناتجان من التكرر يطلق عليها الطريقة نصف المحافظة semiconservative للتكرر (شكل ٢٣ ـ ٢). هذا بالمقارنة مع نماذج أخرى اقترحت لعملية التكرر، منها الطريقة المحافظة conservative حيث ينسخ خيطى DNA الأبوى دون انفصالهما وبذلك يكون أحد الجزيئين الناتجين من التكرر جديد تماماً أما الجزئ الآخر فيكون قديماً أى الجزئ الأبوى.

أبدت الأدلة التجريبية الكيفية نصف المحافظة فى تكرر DNA، وأهم هذه الأدلة التجربة التى أجراها ميسلون Messelson وستال Stahl (١٩٥٨). فقد قاما بتنمية

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

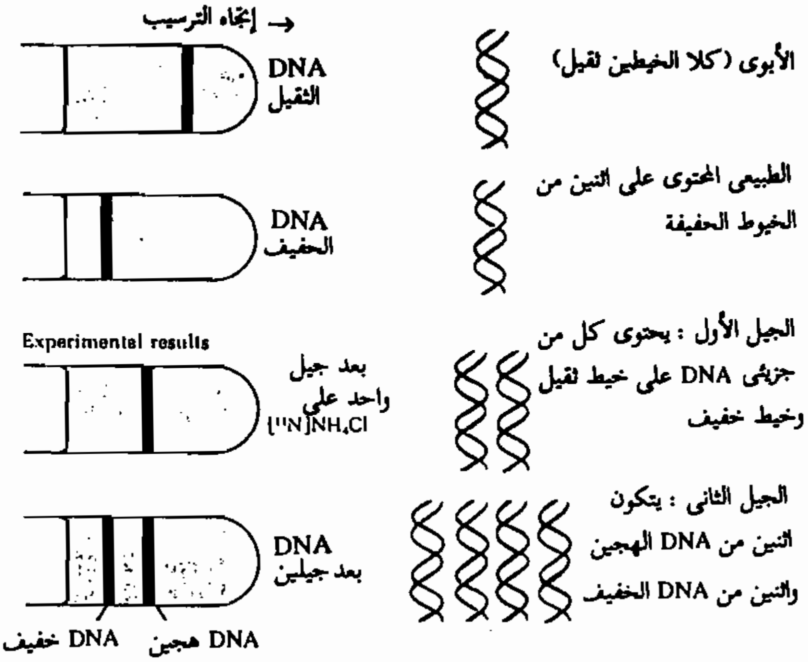


شكل ٢٣ ـ ٢

مخطط بيانى يُوضح تكرر DNA بالطريقة نصف المحافظة. خيوط DNA الأبوى موضحة باللون الداكن بينما خيوط DNA حديثة التكوين موضحة باللون الفاتح. فى كل دورة تكرر فإن خيطى DNA يعملا كقالب لتكوين خيوط DNA المتممة حديثة التكوين.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بكتريا القولون فى بيئة تحتوى على $^{15}NH_4Cl$ كمصدر وحيد للنتروجين لعدة أجيال وبذلك تكون جميع ذرات النتروجين فى جزئ DNA من النظير الثقيل للنتروجين ^{15}N، وتكون كثافة DNA المحتوى على ^{15}N أكبر من كثافة DNA المحتوى على ^{14}N .



شكل ٢٣ - ٣

نتائج تجربة ميسلون وستال. DNA - الثقيل (^{15}N DNA) يصل إلى حالة الإتزان فى موقع قريب من قاع إنبوبة الطرد المركزى عن DNA الطبيعى (^{14}N DNA) فى متدرج كلوريد السيزيوم. أما DNA الهجين أى الذى يحتوى على سلسلة ^{15}N DNA وسلسلة ^{14}N DNA يكون فى موضع وسط بين DNA الثقيل و DNA الخفيف.

الاختبارات التى أجريت على DNA فى الجيل الأول والثانى أوضحت أن تكرر DNA يتم بالطريقة نصف المحافظة.

نقلت خلايا بكتريا القولون بعد ذلك إلى بيئة تحتوى على $^{14}NH_4Cl$ ثم سمح لهذه

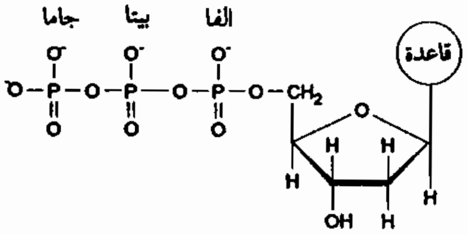
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

لخلايا بالنمو لجيل واحد. وعندما فصل DNA من هذه الخلايا وقدرت كثافته بطريقة الطرد المركزى فى متدرج من كلوريد السيزيوم(C_sCl) ظهرت طبقة واحدة كثافتها بين DNA الطبيعى (يحتوى على ^{14}N) و DNA الثقيل (يحتوى على ^{15}N)، وهذه هى النتيجة المتوقعة إذا كان DNA مؤلف من خيط جديد (يحتوى على ^{14}N) وخيط أبوى (يحتوى على ^{15}N) (شكل ٢٣ ـ ٣).

وعندما سمح للخلايا بالنمو للجيل الثانى فى البيئة التى تحتوى على ^{14}N فإن DNA المفصول أظهر طبقتين أحدهما له كثافه مماثلة لـ DNA الطبيعى (^{14}N DNA) والآخر له كثافة مماثلة لـ DNA الهجين ($^{15}N, ^{14}N$ DNA). ولقد استنتج العالمان من هذه النتائج أن DNA الجديد يحتوى على خيط من الأصل وخيط جديد والتى تتفق مع نظرية واطسون وكريك.

البناء الإنزيمى لجزئ DNA: إكتشاف إنزيم بلمرة DNA

بعد أو أوضحنا الخصائص العامة لتكرر DNA، دعنا الآن ننتقل إلى الأحداث الإنزيمية الجزيئية المشتملة فى تكرر DNA. ترجع معلوماتنا عن البناء الإنزيمى المعملى لجزئ DNA إلى أبحاث كورنبرج ومجموعته بجامعه استانفورد التى بدأت عام ١٩٥٦ على بكتريا القولون. فعندما حضن مستخلص خلايا بكتريا القولون مع مخلوط من الـ دى أوكس نيوكليوسيدات ثلاثية الفوسفات التى تحتوى على نظير الفوسفور ٣٢ (^{32}P) فى الموضع الفا (α) (شكل ٢٣ ـ ٤) وجد أنه تتكون كمية صغيرة جداً منDNA الجديد الذى يحتوى على فوسفور ٣٢ فى مجموعة الفوسفات. وبعد عشر سنوات من الأبحاث المتواصلة فى معمل كورنبرج أمكن فصل الإنزيم الذى يحفز هذا التفاعل فى



شكل ٢٣ ـ ٤

دى أوكسى ريبونيوكليوسيد ثلاثى الفوسفات الذى يحتوى على فوسفور مشع (^{32}P) فى الموضع الفا (α).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

صورة متجانسة والذى سمى إنزيم بلْمرة DNA (DNA polymerase). ويطلق على هذا الإنزيم الآن إنزيم بلْمرة DNA الأول DNA Polymerase I، حيث أمكن بعد ذلك فصل إنزيمات بلمرة أخرى.

وإنزيم بلْمرة DNA الأول يحفز إضافة وحدات دى اوكسى ريبونيوكليوتيد خطوة خطوة إلى سلسلة DNA.

$$(dNMP)_n + d\,NTP \rightleftharpoons (d\,NMP)_{n+1} + PPi$$

(DNA يحتوى على n وحدة دى أوكسى ريبو نيوكليوتيد) ⇌ (DNA يحتوى على (n+1) وحدة دى أوكسى ريبو نيوكليوتيد)

حيث dNMP و dNTP يشيران إلى دى أوكسى ريبونيوكليوسيد ٥َ ـ أحادى الفوسفات و ٥َ ـ ثلاثى الفوسفات على التوالى. ويحتاج إنزيم بلْمرة DNA إلى العناصر التالية لبناء سلسلة DNA:

١ ـ الأنواع الأربعة من دى أوكسى ريبونيوكليوسيد ٥َـ ثلاثى الفوسفات، وهى دى أوكسى أدينوزين ثلاثى الفوسفات (dATP)، دى أوكسى جوانوزين ثلاثى الفوسفات (dGTP)، دى أوكسى ثايميدين ثلاثى الفوسفات (dTTP)، ودى أوكسى سايتوزين ثلاثى الفوسفات (dCTP). وسوف يستخدم الرمز المختصر dNTP للإشارة إلى جميع دى أوكسى نيوكليوسيدات ثلاثية الفوسفات. أيونات المغنسيوم ضرورية أيضا لهذا التفاعل.

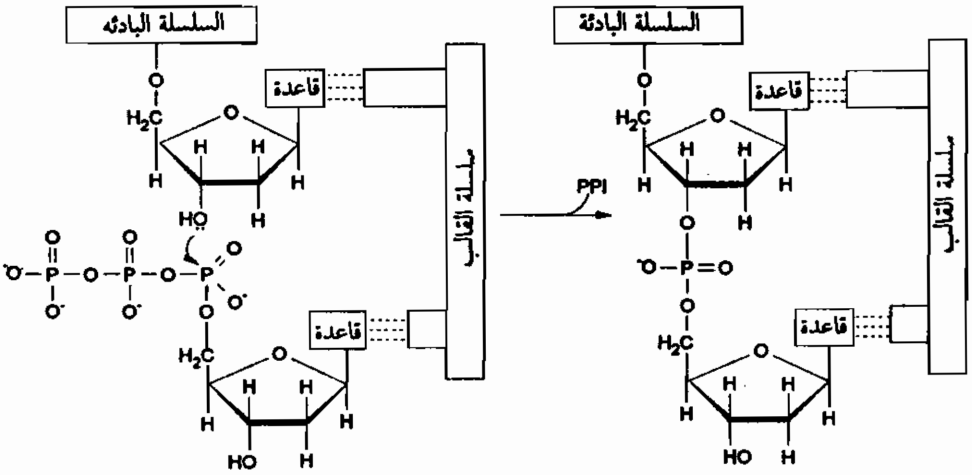
٢ ـ يجب وجود سلسلة من DNA (أو RNA) تكون فيها مجموعة الهيدروكسيل الثالثة (3´-OH) حرة، فتعمل هذه السلسلة كبادئ primer يضاف اليها وحدات دى أوكسى ريبونيوكليوتيد.

٣ ـ من الضرورى تواجد DNA قالب الذى يمكن أن يكون سلسلة فردية أو حلزوناً مزدوجاً، إلاّ أن الهيئة المزدوجة تكون نشطة فقط عندما يكون خيطى الحلزون المزدوج منفكّة فى موضع أو اكثر.

وتفاعل استطالة السلسلة الذى يُحفز بإنزيم بلْمرة DNA يتم بالمهاجمة النيوكليوفيلية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بمجموعة الهيدروكسيل الثالثة (3-OH´) فى السلسلة البادئة على مجموعة الفوسفات ألفا فى دى أوكسى ريبونيوكليوسيد ثلاثى الفوسفات الجديد. وبذلك تتكون رابطة فوسفات ثنائية الإستر مع انفراد البيروفوسفات (شكل ٢٣ ـ ٥). أما التحلل اللاحق للبيروفوسفات يدفع تفاعل البلْمرة إلى الامام. واستطالة سلسلة DNA تسير فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ.



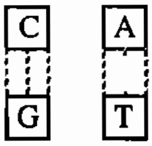
شكل ٢٣ ـ ٥

تفاعل إستطالة السلسلة الذى يُحفز بإنزيم بلمرة DNA.

إنزيم بلمرة DNA يأخذ التعليمات من القالب

يحفز إنزيم بلْمرة DNA تكوين رابطه الفوسفات ثنائية الإستر فقط إذا كانت القاعدة فى النيوكليوتيد القادم (الجديد) متتامة مع القاعدة المقابلة فى سلسلة القالب. فاحتمال تكوين الرابطة التساهمية يكون ضعيفاً جداً إلا اذا كوّنت القاعدة القادمة إزدواج من نوع واطسون وكريك مع القاعدة المقابلة على سلسلة القالب. وعلى ذلك فإن إنزيم بلمرة DNA عبارة عن إنزيم مُوجَّه بالقالب templet - directed enzym، وفى الحقيقة إنه أول إنزيم من هذا النوع تم اكتشافه.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



الإرتباط المفضل الذى يتم بين زوجين من النيوكليوتيد (A مع T و G مع C) بواسطة الروابط الهيدروجينية الضعيفة ـ يطلق على هذا النوع من الإرتباط بارتباط واطسون وكريك حيث قد أقترح أول مرة بواسطة هذين العالمين.

وهناك عدة أدلّة تجريبية والتى تشير إلى أن انزيم بلمرة DNA يأخذ تعليماته من القالب وهى:

١ ـ بناء كمية محسوسة من DNA تتم فقط عند وجود النيوكليو سيدات ثلاثية الفوسفات الأربعة و DNA قالب.

٢ ـ إنزيم بلْمرة DNA يمكن أن يقوم بإدماج بعض القواعد المشابهة. فعلى سبيل المثال يمكن لليوراسيل أو ٥ ـ برومو ـ يوراسيل أن تندمج فى موضع الثايمين.

٣ ـ يعتمد محتوى القواعد فى DNA المتكون حديثا على طبيعة القالب وليس على الكميات النسبية للنيوكليوتيدات. أضف إلى ذلك أن DNA الناتج يحتوى على نفس محتوى القواعد فى DNA القالب الحلزون المزدوج.

بكتريا القولون تحتوى أيضا على أثنين من إنزيمات بلْمرة DNA الأخرى

بعد مرور ١٥ عاما من اكتشاف إنزيم بلْمرة DNA الأول فى بكتريا القولون أُكتُشف فى هذه البكتريا اثنين من إنزيمات البلْمرة الأخرى الذى اطلق عليهما إنزيم البلمرة الثانى DNA Polymerase II وإنزيم البلمرة الثالث DNA polymerase III. وهذين الإنزيمين يشبهان إنزيم البلمرة الأول فى الأوجه التالية (جدول ٢٣ ـ ١):

١ ـ كل منهما يحفز البناء الموجّه من القالب لجزئ DNA من دى اوكسى ريبونيوكليوسيد ثلاثية الفوسفات.

٢ ـ كل منهما يحتاج إلى بادئ تكون فيه مجموعة الهيدروكسيل الثالثة (3´ - OH) حرة.

٣ ـ البناء الحيوى لسلاسل DNA تكون فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جدول ٢٣ - ١

خواص إنزيمات البلمرة I و II و III من بكتريا القولون

	Pol I	Pol II	Pol III
البلمرة: ٥َ ← ٣َ	+	+	+
التفكك الطرفى: ٣َ ← ٥َ	+	+	+
التفكك الطرفى: ٥َ ← ٣َ	+	–	+
بناء البوليمر الجديد	+	–	–
الوزن الجزيئى (كيلو دالتون)	١٠٩	١٢٠	١٤٠
عدد الجزيئات فى الخلية	٤٠٠		١٠ ـ ٢٠
رقم التحول*	١٠	٠,٥	١٥٠

* عدد النيوكليوتيدات المبلرة عند ٣٧°م / ثانية/ لكل جزئ من الإنزيم

+ و – يشيران إلى وجود أو غياب الخاصية المدونة على التوالى

وتختلف هذه الإنزيمات فى تفضيلها لهيئة القالب، فإنزيمى البلمرة الثانى والثالث يفضلان DNA مزدوج السلاسل الذى يحتوى على فجوه صغيرة، بالمقارنة فإن السلاسل الفردية القريبة من المناطق مزدوجة السلاسل تكون هى القالب المفضل للبوليمريز الأول. ويختلف أيضا المعدّل الحفزى لهذه الإنزيمات خارج الخلايا، فيضاف ١٠ نيوكليوتيدات فى الثانية بواسطة إنزيم البلمرة الأول و ٠,٥ نيوكليوتيد فى الثانية بواسطة إنزيم البلمرة الثانى، بينما يضاف ١٥٠ نيوكليوتيد فى الثانية بواسطة إنزيم البلمرة الثالث. كذلك نجد أن انزيم البلمرة الأول والثالث لهما أيضا ثلاثة أنشطة انزيمية. فبالإضافة إلى نشاط البلمرة، فإن هذين الإنزيمين لهما القدرة على تفكيكDNA تصاعديا مـن طرف مجموعة الهيدروكسيل الثالثة الحرة، (3´ → 5´ exonuclease) أو من طرف مجموعة الهيدروكسيل الخامسة الحرة (5´ → 3´ exonuclease).

وهنا نتساءل ـ ما هو الدور الذى تقوم به هذه الانزيمات داخل الخلايا؟. وكما

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

سنرى بعد قليل أن متراكب إنزيمى يحتوى على إنزيم البلمرة الثالث يكون مسئولاً عن بناء معظم أجزاء DNA الجديدة، إنزيم البلمرة الأول من ناحية أخرى يزيل الجزء البادئ ويملأ الفجوات، أما الدور الذى يقوم به إنزيم البلمرة الثانى فليس معروفاً حتى الآن.

إنزيم البلمرة الثالث عبارة عن تجمع من سبع وحدات عديد بيتيد

يعمل إنزيم البلمرة الثالث (DNA Polymerase III (Pol III داخل الخلايا كجزء من متراكب إنزيمى مؤلف من وحدات فرعية عديدة هوPol III holoenzyme الذى يتألف على الأقل من سبعة أنواع من عديد الببتيد (جدول ٢٣ ـ ٢). أحد هذه

جدول ٢٣ ـ ٢

مكونات DNA Polymerase III Holoenzyme

الوحدة الفرعية	الكتلة (كيلو دالتون)
الفا (α)	١٣٠
إبسلون (ε)	٢٧,٥
ثيتا (θ)	١٠
تاو (τ)	٧١
جاما (γ)	٥٢
دلتا (δ)	٣٢
بيتا (β)	٤٠,٦

الوحدات الفرعية α و ε و θ هى مكونات Pol III

الوحدات الفا (α) تقوم بنشاط التفكك الطرفى ٥َ ← ٣َ (5´- →3´ exonuclease) بالاضافة إلى وظيفة البلمرة، بينما عديد الببتيد ابسلون (ε) يقوم بوظيفة التفكك الطرفى ٣َ ← ٥َ (3´→ 5´ exonuclease). وواحد أو اكثر من عديد الببتيد الباقية ترتبط بجزئ ATP اللازم لـ Pol III لبدء البناء على نهايه RNA البادئ، أما وظيفة وحدات عديد الببتيد الباقية فليست معروفة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تكرر DNA فى بكتريا القولون

أوضحت الدراسات البيوكيميائية والوراثية الحديثة أن عملية تكرر DNA فى بكتريا القولون يحتاج بالاضافة إلى إنزيمات البلمرة إلى أكثر من خمسة عشر إنزيما وبروتينا أخرى. فعملية التكرر تتم فى عدد كبيرة من الخطوات المتتالية التى تشمل التعرُّف على منشأ بدأ التكرر وفك الحلزون المزدوج وفصل سلاسل القالب بعيداً عن بعضها والبدأ فى بناء السلاسل الجديدة واستطالة السلاسل الجديدة وازدواج السلال مع بعضها ووقف البناء. وكل هذه العمليات السابقة تتم بمعدَّل كبير، كما تتم عملية التكرر بدقة متناهية. ويطلق على المتراكب الذى يحتوى على جميع الإنزيمات والعوامل المساعدة التى تشترك فى عملية بناء DNA جديد بنظام تكرر DNA (DNA replicase system) أو ربليسوم replisome. والآن دعنا نوضح خطوات تكرر DNA فى بكتريا القولون بشئ من التفصيل.

عملية التكرر تبدأ عند مواضع محددة تعرف بأصول التكرر

هل يبدأ تكرر DNA من أى مكان فى الكروموسوم أو أن هناك مواضع محددة تبدأ عندها عملية التكرر؟. فنجد أن تكرر DNA عملية على درجة كبيرة من الدقة وعلى ذلك فإن بدأ التكرر من مواضع محددة هى الأكثر إحتمالاً. ففى البكتريا وعديد من الفيروسات التى تنمو فى الخلايا مميزة النوى وجد أن عملية التكرر تبدأ من موضع محدد فى جزئ DNA يطلق عليه منشأ أو أصل التكررreplication origin. ومنشأ التكرر فى بكتريا القولون عبارة عن تتابع خاص من ٢٤٥ زوج من القواعد تعرف بالموضع oriC. وهذا التتابع يحتوى على منطقة من تسعة أزواج من القواعد التى تتكرر أربع مرات والتى يمكن أن ترتبط ببروتين خاص يدعى dna Aفى حاله بكتريا القولون، ويمثِّل معقد البروتين مع هذه القطعة من DNA إشارة بدء التكرر. ولكن كيف يقوم بروتينdna A بوظيفته فإنه غير معروف، لكن أحد الإحتمالات هو أنه ربما ينشئ موضع يكون مناسباً لتجميع الوحدات الفرعية السبعة لـ DNA Pol III لتكوين holoenzyme النشط.

تحتوى جزيئات DNA فى الخلايا مميزة النواة كما سيتضح فيما بعد على عدد كبير

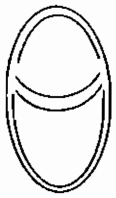
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

من مواضع أصول التكرر التى يبدأ عندها عملية التكرر فى نفس الوقت وذلك لضمان إتمام عملية التكرر فى وقت مناسب نظراً لكبر حجم هذه الجزيئات.

DNA الحلقى يتكرر فى اتجاهين

أوضحنا فى الفصل السابق أن جزئ DNA البكتيرى وعدد كبير من جزيئات DNA الفيروسية عبارة عن حلزون مزدوج حلقى. والسؤال الآن هو كيف يتم تكررDNA الحلقى؟. فهل ينشطر جزئ DNA الحلقى أولا ليكوّن جزئ خطى قبل عملية التكرر، أم تتم عملية التكرر وهو فى الصورة الحلقية؟. للإجابة على هذا السؤال قام جون كارنز John Cairns عام ١٩٦٣ بأحد التجارب المهمه مستخدما فيها طريقة التصوير الإشعاعى الذاتى autoradiography التى أوضحت أن DNA فى بكتريا القولون يتكرر وهو فى الصورة الحلقية المغلقة.

فعندما نميت بكتريا القولون فى بيئة تحتوى على الثايميين المعلم بالنظير المشع للهيدروجين (التريتيوم ^3H) ثم فصلت جزئيات DNA بعناية ثم نشرت على شريحة فوتوغرافية حساسة للجسيمات بيتا ـ التى يتكون عليها أثر من حبيبات الفضة للأجزاء المشعة ـ وجدا أن DNA المفصول آثناء عملية التكرر يظهر فيه عقدة (حلقة) إضافية نشطة اشعاعياً، حيث يظهر الجزئ فى صورة الحرف اللاتينى ثيتا (θ) (شكل ٢٣ ـ ٦). وهذا التركيب ثيتا يوضح أن جزئ DNA يحافظ على هيئته الحلقية أثناء عملية التكرر.

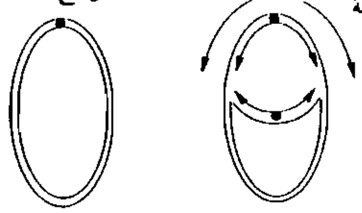


شكل ٢٣ ـ ٦
مخطط بيانى لكروموسوم بكتريا القولون أثناء علية التكرر. الخيوط الحلقية المتصلة تعبر عن DNA الأبوى بينما الخيوط غير الحلقية تمثل الخيوط المبتنية حديثا.

أُعتقد فى بادئ الأمر أن عمليه التكرر تبدأ من نقطة ثابتة فى DNA الأبوى وتتحرك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فى اتجاه واحد حول جزئ DNA، لكن التجارب التى أُجريت حديثا على كروموسوم بكتريا القولون أوضحت أن عمليه التكرر تبدأ من نقطة واحدة ولكن تتحرك فى اتجاهين متضادين فى نفس الوقت وبنفس السرعة إلى أن يتقابلا. وبلكمات أخرى فإن هناك شعبتى تناسخ تبدءان من نفس النقطة ولكن تتحرك إحداهما فى اتجاه حركة عقرب الساعة، بينما الأخرى تتحرك فى اتجاه مضاد لحركة عقرب الساعة حول الكروموسوم الحلقى (شكل ٢٣ ـ ٧). وبتقابل شعبتى التناسخ وانتهاد عملية التكرر ينفصل المزدوجان الحلقيان الجديدان الكاملان الذى يحتوى كل منهما على خيط قديم وخيط جديد.



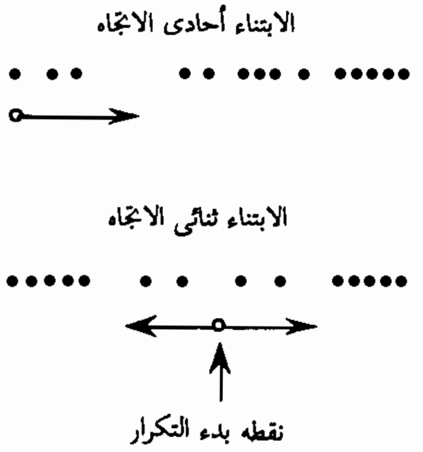
شكل ٢٣ ـ ٧

مخطط بيانى للتكرر ثنائى الإتجاه. تبدأ شعبتى التناسخ من نقطة منشأ واحدة ولكن أحدهما يتحرك فى إتجاه حركة عقرب الساعة أما الشعبة الأخرى تتحرك فى الإتجاه المضاد.

ولقد تم التحقق من ميكانيكة التكرار ثنائى الاتجاه فى كروموسوم بكتريا القولون باستخدام طريقة التصوير الإشعاعى الذاتى. فنميت بكتريا القولون فى بداية تكرر الكروموسوم فى وسط يحتوى على ثايْمين يحتوى على كمية متوسطة من التريتيوم المشع، وبعد عدة دقائق من التحضين نقلت البكتريا إلى وسط يحتوى على ثايمين يحتوى على مستوى عالى من التريتيوم المشع. ولقد استخدم مستويين من النشاط الإشعاعى فى هذه التجربة للحصول على نوعين من أثر حبيبات الفضة فى شريحة التصوير الإشعاعى الذاتى، أحدهما أثر منخفض الكثافة يقابل أجزاء DNA التى تتكون فى البداية والثانى أثر عالى الكثافة يقابل أجزاء DNA التى تتكون مؤخرا. فإذا كانت عملية التكرر أحادية الاتجاه unidrectional فإن الحبيبات منخفضة الكثافة تتواجد عند

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أحد الأطراف بينما الحبيبات عالية الكثافة تكون عند الطرف الآخر. من ناحية أخرى إذا كان التكرار ثنائى الاتجاه bidirectional فإن وسط الأثر يكون منخفض الكثافة (شكل ٢٣ ـ ٨). والذى تم الحصول عليه فى هذه التجربة هو الأثر من النوع الأخير الذى كانت فيه الحبيبات الكثيفة فى كلا الطرفين بينما الحبيبات المنخفضة الكثافة كانت فى الوسط والذى يشير إلى أن تكرر كروموسوم بكتريا القولون يكون ثنائى الاتجاه. والعنصر الوراثى مثل الكروموسوم البكتيرى الذى يشكل وحدة مستقلة لتكرر DNA والذى يكون قادر على التكرار تحت تحكمه الذاتى يسمى الريبلكون replicon.



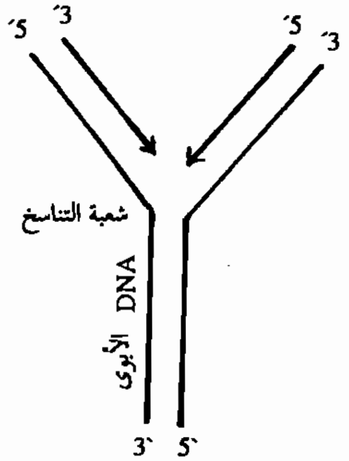
شكل ٢٣ ـ ٨
نماذج التصوير الإشعاعى الذاتى المتوقعة للتكرار أحادى الاتجاه والتكرار ثنائى الاتجاه عندما تنقل البكتريا من وسط يحتوى على ثايمين متوسط الإشعاع إلى وسط يحتوى على ثايمين عالى الإشعاع.

أحد خيطى DNA تُبنى بطريقة غير مستمرة

من المعروف أن خيطى DNA الأبوى عند شعبة التناسخ يعملان كقالب لبناء DNA الجديد. لكنه من المعروف أيضاً أن خيطى DNA الأبوى متضاديين فى الإتجاه وهذا يتطلب أن يكون بناء أحد الخيطين فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ وفى الإتجاه ٣َ ← ٥َ للخيط

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الآخر (شكل ٢٣ ـ٩). مع ذلك فإن جميع إنزيمات بلمرة DNA المعروفة تبنى DNA فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ وليس فى الاتجاه ٣َ ← ٥َ. كيف يظهر إذن أن أحد خيطى DNA البنوى باستخدام طرق الفصل الضعيفة كما لو أنه ينمو فى الاتجاه ٣َ ← ٥َ.



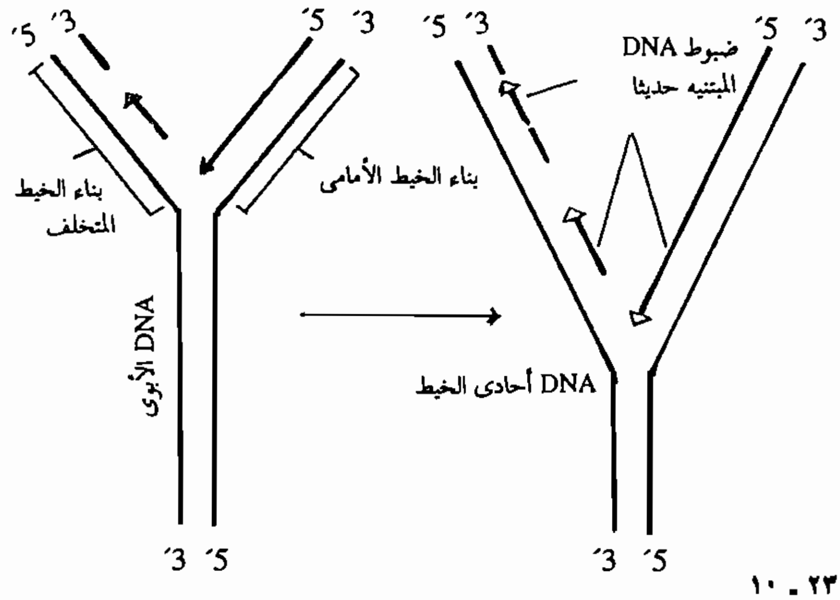
شكل ٢٣ ـ ٩

إستخدام طرق الفصل الضعيفة أظهرت أن إتجاه بناء DNA يكون فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ لأحد الخيطين الجديدين وفى الاتجاه ٣َ ← ٥َ للخيط الآخر. لكن فى الحقيقة فإن كلا الخيطين يبنى فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ كما هو واضح فى شكل (٢٣ ـ ١٠)

استطاع اليابانى ريجى أوكازاكى Reiji Okazaki من الإجابة على هذا السؤال فى أواخر الستينات عندما لاحظ أن نسبة كبيرة من خيوط DNA المتكونة حديثا توجد فى صورة أجزاء صغيرة. وهذه الوحدات تحتوى على حوالى ألف من النيوكليوتيدات (تُعرف بأجزاء أوكازاكى Okazaki fragments) وتظهر بجوار شعبة التناسخ. ولقد فُسّرت هـذه النتائـج على أساس أن عملية التكرار تتم فـى الاتجاه ٥َ ← ٣َ لكل من الخيطين الجديدن. فتتم عملية البناء لأحد الخيطين بصورة مستمرة بينما الخيط الجديد الآخر يُبنى بصورة غير مستمرة أى تتم عملية البناء فى صورة أجزاء التى ترتبط مع بعضها بعد ذلك بواسطة إنزيم DNA ligase بتقدم عملية التناسخ (شكل ٢٣ ـ ١٠). والخيط الذى يُبنى بصورة مستمرة يُعرف بالخيط الأمامى (القيادى) leading strand، بينما ذلك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الذى يُبنى بصورة غير مستمرة فيعرف بالخيط المتخلف (المتباطئ) lagging strand حيث يتخلف بناؤه عن الخيط الأمامى. وهذا الاختلاف فى معدّل النمو بين الخيط الأمامى والخيط المتخلف ينشأ عنه قطاع صغير من DNA الأبوى وحيد السلسلة عند شوكة التناسخ.



شكل ٢٣ ـ ١٠

مخطط بيانى لشعبة التناسخ. كل من خيطى DNA يبنى فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ. الخيط الأمامى يُبنى بصورة مستمرة بينما الخيط المتخلف يبنى فى صورة أجزاء صغيرة (أجزاء اكازاكى) التى ترتبط ببعضها تساهميا بتقدم عملية التناسخ.

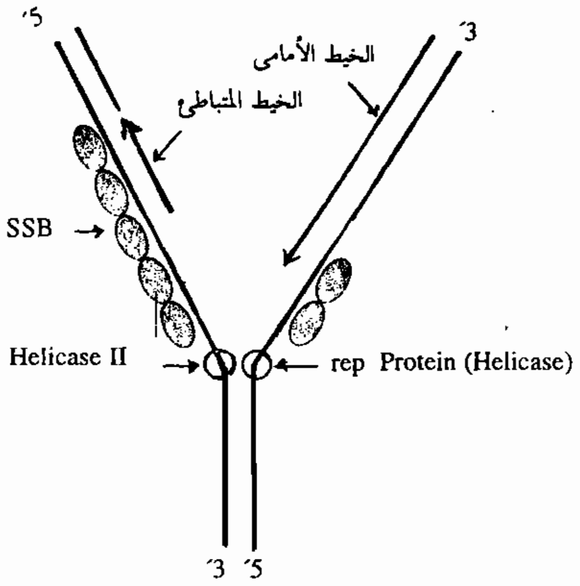
عملية التكرر تحتاج أولاً إلى فصل فيزيائى لسلسلتى DNA

أوضحنا أن عملية التكرر تبدأ عند موضع محدد فى جزى DNA البكتيرى وعند عديد من المواضع فى جزيئات DNA فى الخلايا مميزة النواه. كما أوضحنا أيضا أن DNA يوجد فى هيئة حلزون مزدوج حيث يلتف خيطى DNA حول بعضهما ويتماسكا بواسطة الروابط الهيدروجينية بين القواعد المتقابلة فى الخيطين. ويتضح من ذلك أنه يجب أولا فصل خيطى DNA الأبوى على الأقل فى قطاعات صغيرة يحتوى كل منها

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

على أصل من أصول بدء التكرر حتى يمكن لإنزيمات البلمرة من قراءة تتابع القواعد على خيطى القالب.

أوضحت الدراسات الحديثة أن الحلزون المزدوج الأبوى فى بكتريا القولون يفتح عند شعبة التناسخ بواسطة اثنين من البروتينات التى تعرف بـ helicase الذى يستخدم كل منهما طاقة تحلل جزيئات ATP لفصل زوج من القواعد. الأول rep protein (أو helicase) يرتبط بالخيط الذى يُوجّه بناء الخيط الأمامى ويتحرك فى الاتجاه ٣َ ← ٥َ، والبروتين الآخر helicase II يرتبط بالقالب الذى يُوجّه بناء الخيط المتخلف ويتحرك فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ (شكل ٢٣ ـ ١١). وكل من الخيطين المفصولين فى DNA الأبوى تتفاعل بعد ذلك مع عدة جزيئات من بروتين الربط لـ DNA فردى الخيط



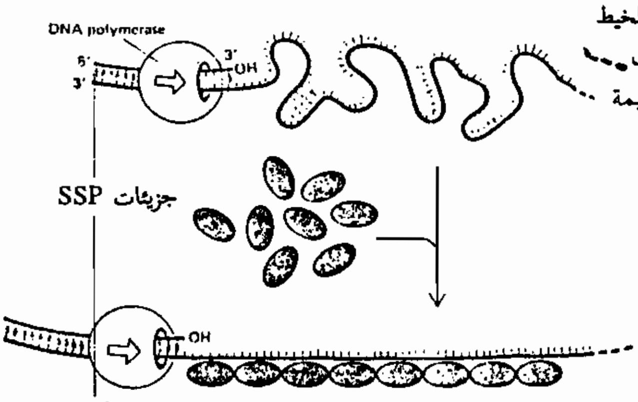
شكل ٢٣ ـ ١١

يُعتقد أن DNA الحلزون المزدوج يفتح فى مقدمه شوكه التناسخ بمعدّل سريع بالتأثير المشترك لانزيم DNA helicase وبروتين الربط للخيط الفردى لـ DNA (SSB). الـ rep protein يتحرك على قالب الخيط الأمامى فى الاتجاه ٣َ ← ٥َ، بينما helicase II يتحرك على قالب الخيط المتباطئ فى الاتجاه٣َ ← ٥َ.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(SSB) Single Strand DNA - Binding Protein (يعرف أيضا بالبروتين المفكك helix ` destablizng). والدور الذى يقوم به بروتين الربط هو تثبيت الخيوط الفردية المتكونة بواسطة إنزيمhelicase بحيث تتمكن هذه المناطق المنفكة من العمل كقالب (شكل ٢٣ ـ ١١).

وبروتين الربط يرتبط فقط بالخيوط الفردية ولا يرتبط مباشرة بأجزاء DNA فى هيئة الحلزون المزدوج، إلا أنه يُقلقل DNA الحلزون المزدوج بإرتباطه بالأجزاء أُحادية الخيط. والدور الذى يقوم به هو فرد هيكل الخيوط الفردية وجعل القواعد فيها متاحه للإزدواج مع القواعد القادمة (شكل ٢٣ ـ ١٢).



شكل ٢٣ ـ ١٢

توضيح تأثير بروتين الربط (SSB) على هيئه الخيط الفردى لـ DNA. فتتجمع جزيئات هذا البروتين فى هيئة عنقودية طويلة التى تقوم بفرد الخيط والتى تساعد عملية البناء للخيط الجديد.

البناء الحيوى لـ DNA يحتاج إلى RNA بادئ

السؤال الذى يطرح نفسه الآن هو كيف يبدأ البناء الحيوى لجزئ DNA ؟. فكما ذكرنا سابقا فإن إنزيمات بلمرة DNA تحتاج إلى بادئ primer تكون فيه مجموعة الهيدروكسيل الثالثة (3- OH´) حرة وذلك لبدء تفاعلات البلمرة فى بناء DNA. فما

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

هو البادئ إذن فى بناء الخيوط الجديدة؟. المعلومات الأولى عن طبيعة البادئ استمدت من مشاهدة أن أجزاء أوكازاكى ترتبط من الطرف ٥َ بسلسلة قصيرة من RNA تحتوى على ١ ـ ١٠ نيوكليوتيد والتى تكون متتامة مع DNA القالب. هذه النتائج أدت إلى الاقتراح بأن RNA هو البادئ لبناء DNA. ولقد اتضح فيما بعد أن الإنزيم الذى يبنى قطع RNA البادئ فى أجزاء اوكازاكى هو إنزيم RNA Primase. وانزيم Primase فى بكتريا القولون عبارة عن سلسلة عديد ببتيد فردية وزنها الجزيئى ٦٠ كيلو دالتون، ولا يكون هذا الانزيم فعّالا بذاته إلاّ إذا ارتبط مع سته أو سبع سلاسل عديد ببتيد أخرى ليكوّن تجمع يُعرف بـ Primosome. وهذا المعقد البروتينى يتحرك فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ على قالب الخيط المتخلف ليكوّن أجزاء من RNA التى تعمل كبادئ لأجزاء أوكازاكى.

بدء بناء الخيط الأمامى يتم خارج الخلية (فى أنبوبه الاختبار) فى وجود RNA Polymerase أو Primase، إلاّ أنه يُستحث بدرجة كبيره عند تواجد كلا الانزيمين. لذلك يعتقد ان هذين الانزيمين يعملا متعاونين داخل الخلية لبدء بناء الخيط الأمامى.

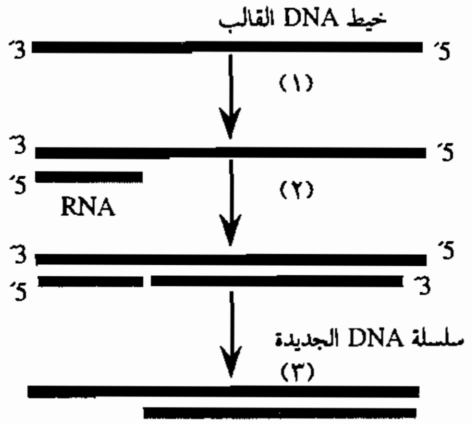
ويبدو من ذلك أن تكرر DNA فى بكتريا القولون يتم بالصورة التالية (شكل ٢٣ ـ ١٣):

١ ـ يقوم إنزيم Primase فى حالة الخيط المتخلف (أو إنزيم Primase + إنزيم RNA Polymerase فى حالة الخيط الأمامى)ببناء سلسلة قصيرة من RNA (١٠ نيوكليوتيدات) التى تكون متتامة مع خيط DNA القالب. وهذه الإنزيمات بالمقارنة بإنزيم DNA Polymerase لا تحتاج إلى بادئ لبدء تفاعل البلمرة.

٢ ـ مجموعة الهيدروكسيل الثالثة (3´-OH) فى وحدة الريبونيوكليوتيد الطرفية فى سلسلة RNA تعمل كبادئ لبناء خيط DNA جديد بواسطة DNA Polymerase holoenzyme. ومعظم DNA الجديد يبنى بواسطة هذا المتراكب الإنزيمى.

٣ ـ تفصل سلسلة RNA البادئ من الجزء المهجن RNA - DNA بواسطه إنزيم بلمرة DNA الأول DNA Polymerase I.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٣ ـ ١٣

بدء البناء الحيوى لجزئ DNA

(١) يقوم إنزيم Primase ببناء سلسلة قصيرة من RNA تكون متتامة مع خيط DNA القالب.

(٢) سلسلة RNA المتكونه تعمل كبادئ لبناء سلسلة DNA جديدة.

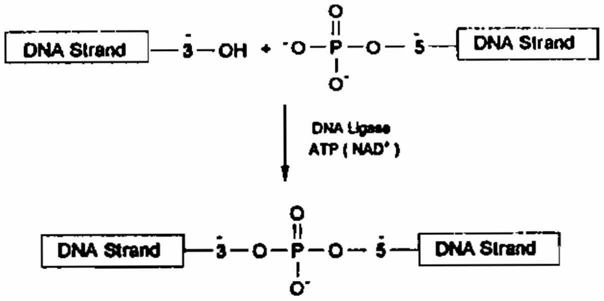
(٣) فصل سلسلة RNA التى تترك فجوة تملأ بعد ذلك بواسطة إنزيم البلمرة الأول.

٤ ـ إزالة سلاسل RNA تترك فجوات بين أجزاء DNA، وتملأ هذه الفجوات بواسطة إنزيم البلمرة الأول الذى يكون مناسباً لبناء DNA استجابة للتعليمات الموجهة من القالب أحادى الخيط.

انزيم DNA Ligase يربط أجزاء DNA

يقوم إنزيم البلمرة الأول كما أوضحنا سالفا ببناء DNA فى مواضع RNA البادئ الذى يزال من أجزاء اوكازاكى ولكنه لا يستطيع ربط سلسلتى DNA بين هذه الأجزاء. لذلك يقوم إنزيم آخر وهو DNA ligase بربط أجزاء أوكازاكى وكذلك غلقDNA الحلقى بعد تكوين الخيط الأمامى. فيحفز إنزيم DNA ligase تكوين رابطة فوسفات ثنائية الإستر بين سلسلتى DNA (شكل ٢٣ ـ ١٤). ويحتاج هذا الإنزيم إلى مجموعة OH حرة عند الطرف ٣َ لأحد سلسلتى DNA ومجموعة فوسفات عند الطرف ٥َ للسلسلة الأخرى. كما يحتاج تكوين رابطة الفوسفات ثنائية الإستر بين هاتين

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل ٢٣ ـ ١٤

انزيم DNA ligase يحفز ارتباط سلسلتى DNA اللتان يُكوِّنان جزءاً من جزئ حلزون مزدوج.

المجموعتين إلى طاقة التى تستمد من NAD^+ فى حالة بكتريا القولون والبكتريا الأخرى، بينما فى الخلايا الحيوانية والفيروسات البكتيرية فإن التفاعل يدفع بواسطة ATP.

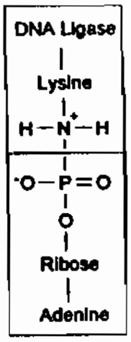
وأحد الخصائص الأخرى لإنزيم DNA ligase أنه لا يستطيع ربط جزيئين من DNA فردى الخيط، ولكن يجب أن تكون سلسلتى DNA اللذان يرتبطا بواسطة الإنزيم جزءاً من DNA الحلزون المزدوج. ومعنى ذلك أن إنزيم DNA ligase يغلق الكسور الموجودة فى العمود الفقرى لـ DNA الحلزون المزدوج. وهذه العملية تعتبر أساسية للبناء الطبيعى لـ DNA ولإصلاح DNA التالف وكذلك فى ربط سلاسل DNA فى الاتحادات الوراثية الجديدة.

والتفاعل الذى يُحفز بإنزيم DNA ligase يتم فى ثلاثة خطوات:

١ ـ يتفاعل ATP (أو NAD^+) معDNA ligase ليتكوَّن معقد من الإنزيم و AMP، حيث يكون ارتباط AMP بالإنزيم عن طريق مجموعة الأمينو إبسلون للحمض الأمينى لايسين فى الإنزيم خلال رابطة فوسفواميد Phosphoamide (شكل ٢٣ ـ ١٥).

٢ ـ فى الخطوة التالية تنقل مجموعة AMP من الإنزيم إلى مجموعة الفوسفات فى الطرف ٥ لـ DNA، وبذلك تنشط مجموعة الفوسفات.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل ٢٣ ـ ١٥
المركب الوسيط (إنزيم ـ AMP) .

٣ ـ والخطوة الأخيرة هى مهاجمة نيوكلوفيلية بواسطة مجموعة OH - ´3 على مجموعة الفوسفات المنشطة وتكوين رابطة الفوسفات ثنائية الإستر وانفراد AMP .

E + ATP (NAD^+أو) ⇌ E - AMP + PPi (NMN)

E - AMP +Ⓟ- ´5 - DNA ⇌ E + AMP -Ⓟ- ´5 - DNA

DNA -´3 - OH + AMP -Ⓟ-´5 - DNA ⇌

DNA -´3 - O -Ⓟ- ´5 - DNA + AMP

DNA ´3 - OH +Ⓟ- ´5 - DNA + ATP (NAD أو) ⇌

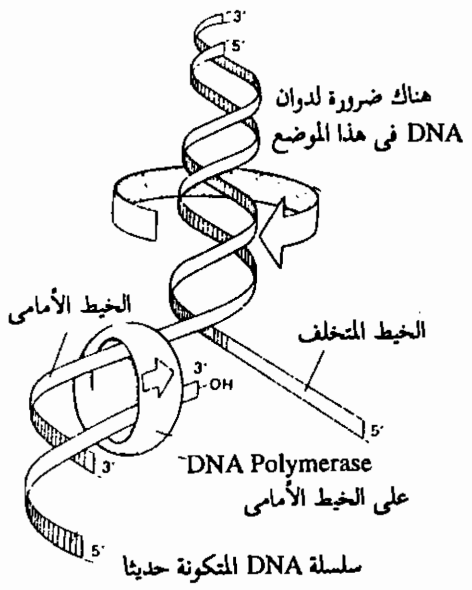
DNA -´3 - O -Ⓟ-´5 -DNA + AMP (NMN أو) + ppi

شكل ٢٣ ـ ١٦
ميكانيكية التفاعل الذى يُحفز بواسطة إنزيم DNA ligase .

بعض البروتينات الخاصة الأخرى تمنع تشابك (التواء) DNA

سوف نناقش الآن أحد المشاكل الهندسية المصاحبة لتكرر DNA ألا وهى لف DNA أثناء عملية التكرر. فتكوين عشرة أزواج من القواعد عند شعبة التناسخ أثناء عملية التكرر يتطلب دوران DNA الأبوى دورة كاملة حول محوره (شكل ٢٣ ـ ١٧)، وإلاَّ ستنشأ حلزنة زائدة (التواء) فى DNA الأبوى أمام شوكة التناسخ. وعلى ذلك فإنه بتحرك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



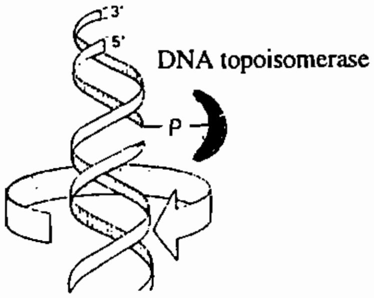
شكل ٢٣ ـ ١٧
توضيح لمشكلة الالتواء التى تحدث أثناء تكرر. فبتحرك شوكة التناسخ بمعدل ٥٠٠ نيوكليوتيد فى الثانية فإن الحلزون الأبوى يجب أن يدور بمعدل ٥٠ دورة فى الثانية.

شوكة التناسخ فإن جزء الكروموسوم الموجود أمامها يجب أن يدور بسرعة وهى عملية تتطلب إضافة كمية كبيرة من الطاقة فى حالة الكروموسومات الطويلة. ويعتقد أن أحد أنواع البروتينات التى تُعرف بإنزيم التشكُّل المكانى لـ DNA (DNA topoisomerase) (فى الكائنات غير مميزة النواه يعرف هذا البروتين بإنزيم اللف أو الدوران DNA gyrase) يحل هذه المشكلة عن طريق تكوين وصلة متروّاحة Swivel تسمح بدوران الحلزون المزدوج الأبوى أمام شوكة التناسخ.

ويمكن النظر إلى DNA topoisomerase على أنه نيوكليز عكس-reversible nu-clease الذى يقوم أولا بتفكيك مؤقت لأحد خيطى DNA ثم يرتبط تساهميا بالنهاية المنفكّة. والموضع المنفك مؤقتا بواسطة DNA topoisomerase يسمح لـ DNA الحلزون من الدوران على أى من جانبى الكسر حول رابطة الفوسفات ثنائية الإستر،

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وبذلك يُزيل أى إجهاد متراكم نتيجة للالتواء (شكل ٢٣ ـ ١٨). ونظرا لأن الإرتباط بين البروتين و DNA ذو طاقة مرتفعة نسبيا فإن تفاعل التفكك يكون عكسيا وبذلك يُغلق الجزء المكسور بمجرد انفصال البروتين.



شكل ٢٣ ـ ١٨

رسم بيانى لتفاعل DNA topoisomerase الذى يقوم بفك أحد خيطى DNA وبذلك يسمح بدوران DNA الأبوى أمام شوكة التناسخ.

الأحداث الجزيئية لتكرر DNA فى بكتريا القولون

المعلومات المتاحة فى الوقت الحاضر للأحداث الجزيئية لتكرر DNA فى بكتريا القولون يمكن تلخيصها فى شكل (٢٣ ـ ١٩) وجدول (٢٣ ـ ٣). والخصائص المميزة لهذه العملية هو اشتراك عدد كبير من البروتينات، فقد أوضح التحليل الوراثى والبيوكيميائى اشتراك ١٥ نوعاً من البروتينات على الأقل فى تكرر DNA. وهنا نتساءل ـ لماذا تكون عملية تكرر DNA على درجة كبيرة من التعقيد؟. من الواضح أن التعقيد فى نظام التكرر. ربما يكون ضرورياً لضمان درجة مرتفعة من الدقة فى عملية التكرر.

إنزيمات بلمرة DNA تصحح الأخطاء فى DNA

أوضحت الدراسات الوراثية أن تكرر DNA فى بكتريا القولون يتم بخطأ لا يتجاوز نيوكليوتيد واحد لكل 10^{9} ـ 10^{10} نيوكليوتيد. ونظرا لأنه يوجد حوالى $4,5 \times 10^{6}$ زوج من القواعد فى كروموسوم بكتريا القولون فإنه من المتوقع دخول نيوكليوتيد واحد

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جدول ٢٣ ـ ٣

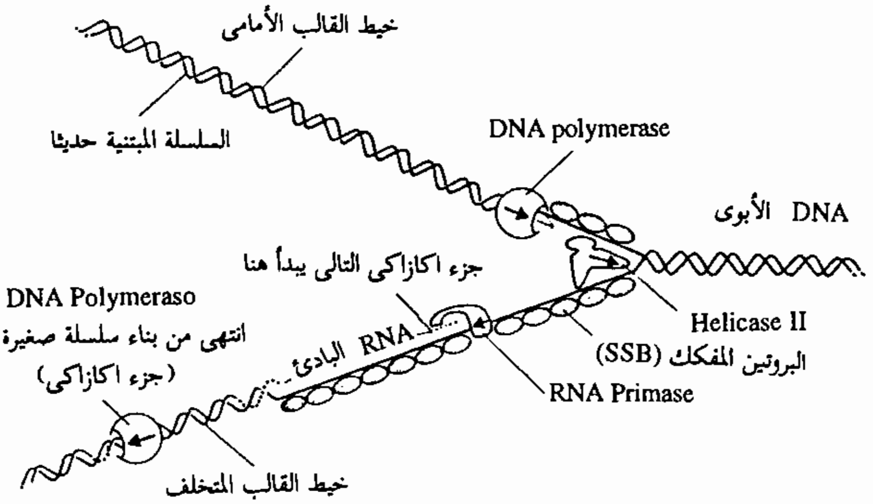
البروتينات التى تشترك فى تكرر DNA فى بكتريا القولون

البروتين	الوظيفة
helicase	يُفكّك DNA الحلزون
SSB	يُثبّت المناطق أحادية الخيط
DNA topoisomerase (DNA gyrase)	يسمح بدوران DNA الحلزون فى مقدمة شوكة التناسخ لإزالة الإجهاد الناتج عن الدوران
Primosome (Primase)	يبنى RNA البادئ
DNA Polymerase III holoenzyme	يبنى سلسلة DNA الجديدة على خيط القالب
DNA Polymerase I	يزيل البادئ ويملأ الفراغات
DNA ligase	يربط أطراف أجزاء DNA فى الخيط المتخلف
Dna A	يرتبط بموضع أصل التكرر

بطريق الخطأ لكل ١٠٠٠٠ خلية تدخل فى إنقسام واحد. ولقد اعتقد فى بادئ الأمر أن الدرجة المرتفعة من الدقة فى تناسخ المعلومات الوراثية يرجع أساساً إلى إزدواج القواعد بين سلسلة القالب والسلسلة المتكونة حديثا، إلا أن الدراسات الحديثة أوضحت أنه إذا إقتصرت دقة عملية التناسخ على إزدواج القواعد فقط فإن تكرار الخطأ يكون أكبر من ذلك بكثير، حيث يبلغ الإندماج الخاطئ نيوكليوتيد واحد لكل $١٠^{٤}$ ـ $١٠^{٥}$ نيوكليوتيد.

ولقد أوضحت الأبحاث التالية أن الدقة فى تكرر DNA ربما ترجع إلى الوظائف الإضافية لإنزيمات بلمرة DNA. فقد أشرنا من قبل أن إنزيمات البلمرة الأولى والثانية لها القدرة على إزالة وحدات النيوكليوتيد من الطرف ٣َ فى إتجاه مضاد لإتجاه عملها

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



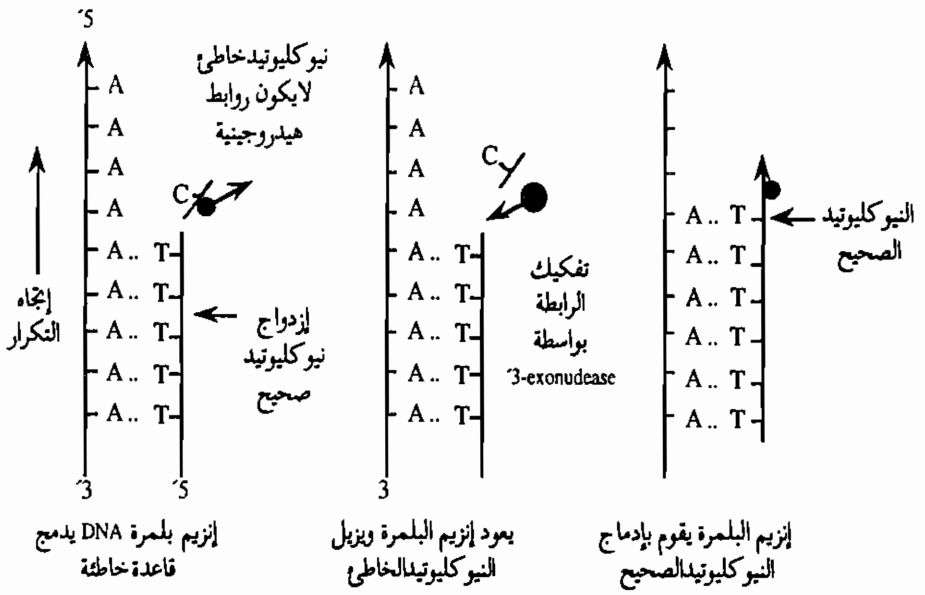
شكل ١٣ ـ ١٩

رسم تخطيطى للأحداث الإنزيمية عند شعبة التناسخ فى بكتريا القولون.

كإنزيمات بلمرة. وهذه الوظيفة الإضافية تُمثّل وسيلة لتصحيح الأخطاء فى سلاسل DNA الجديدة. فإذا إدمجت أحد القواعد الخاطئة بواسطة إنزيم البلمرة، فإن للإنزيم القدرة على كشف فشلها فى تكوين الإندماج الصحيح مع القاعدة المقابلة فى القالب. وبذلك يعود الإنزيم ويزيل النيوكليوتيد الخاطئ من الطرف ٣َ للسلسلة، ثم يعود الإنزيم بعد ذلك ليضيف القاعدة الصحيحة فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ الطبيعى، وعلى ذلك فإنه يتم فحص كل نيوكليوتيد مضاف بتحرك شعبة التناسخ عبر خيط القالب (شكل ٢٣ ـ ٢٠).

ولقد اوضحت الدراسات التركيبية أن انزيم البلمرة يحتوى على شق cleft موجب الشحنة قطره ٢٠ انجستوم الذى يرتبط به DNA . ومن المحتمل أن يحدث غلق لهذا الشق بعد ارتباط DNA وبذلك فإن DNA يُمكن ان ينزلق فقط إلى الامام أو الخلف خلال الشق. وعلى ذلك فإن DNA المحتوِى على أحد القواعد الخاطئة التى لا تستطيع الازدواج مع القاعدة المقابلة يكون له هيئة مشوّهة التى لا تسمح له بالانزلاق بسهولة خلال الشق. وعندما يحدث ذلك فإن DNA المشوّة ربما يتحرك إلى الخلف حيث يقترب من مركز نشاط 3´-5 exonuclease فى الانزيم الذى يزيل القاعدة المدمجة الخاطئة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٣ ـ ٢٠

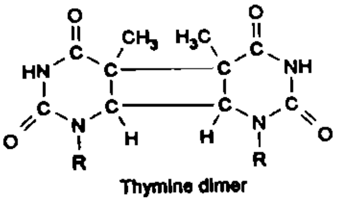
تصحيح الإندماج الخاطئ للنيوكليوتيد بواسطة نشاط 3` - exonuclease لإنزيم بلمرة DNA.

الأضرار التى تحدث فى DNA يتم إصلاحها بصورة مستمرة

تحدث أضرار متنوعة لجزيئات DNA بواسطة عوامل كيميائية وفيزيائية مختلفة، لذلك فإن الخلايا تحتوى على ميكانيكيات لإصلاح مثل هذه الأضرار. وتشمل هذه الأضرار تغيرات فى القواعد أو فقدها، تفكك رابطة الفوسفات ثنائية الإستر، والإرتباط المستعرض بين خيطى DNA. وتنتج هذه الأضرار بواسطة الإشعاع المؤين (أشعة إكس وأشعة جاما والأشعة الكونية)، والأشعة فوق البنفسجية، وبواسطة عديد من الكيماويات. وكثير من هذه الأضرار يمكن إصلاحها وذلك لأن المعلومات الوراثية مخزنة فى كلا خيطى الحلزون المزدوج، ولذلك فإن المعلومات التى تفقد من أحد الخيوط تسترجع بواسطة الخيط الآخر.

أحد ميكانيكيات الإصلاح المعروفة جيداً هو إزالة أو استئصال ثنائيات البيريميدين Pyrimidin dimer (شكل ٢٣ ـ ٢١) التى تتكون بتعرض DNA للأشعة فوق البنفسجية. فتحت هذه الظروف ترتبط قواعد البيريمدين (خاصة الثايمين) المتجاورة على

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



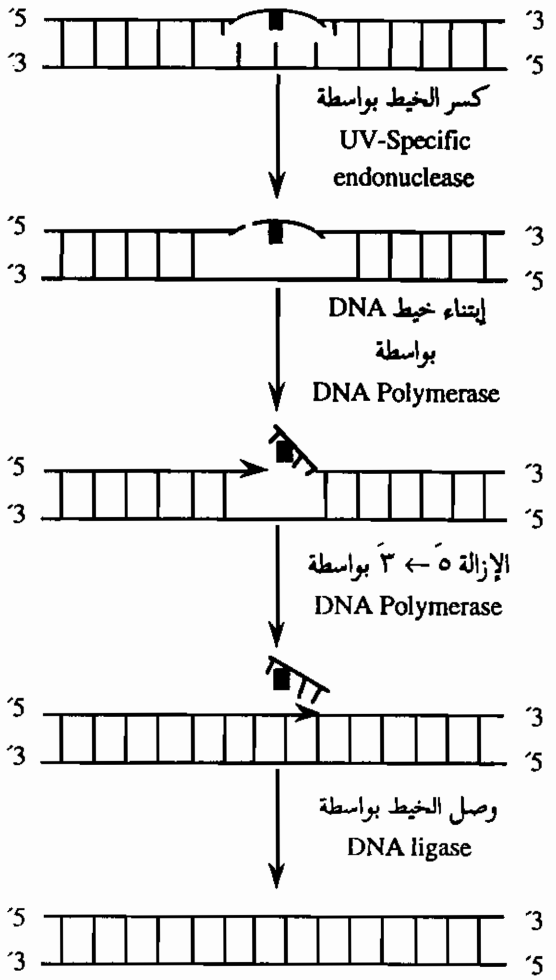
شكل ٢٣ ـ ٢١

تركيب ثنائى الثايمين thymine dimer

خيط DNA فردى إرتباطها تساهميا مكوّنة ثنائيات البيريميدين. ومثل هذه الثنائيات لا تكون مناسبة لتشكيل الحلزون المزدوج فى هذه المنطقة، لذلك تحدث إعاقة (قفل) لعملية التكرر والتعبير الجينى ما لم يزال هذا التلف. وتتضمن ميكانيكية الإصلاح الإستئصالى إزالة ثنائيات البيريميدين من جزئ DNA وابتناء قطعة بديلة من DNA بواسطة أربعة من الأنشطة الإنزيمية (شكل ٢٣ ـ ٢٢). الأول UV-Specific endo-nuclease يتعرف على المنطقة التالفة (المشوهة) ويقوم بكسر رابطة الفوسفات ثنائية الإستر فى خيط DNA التالف بالقرب من ثنائيات البيريميدين عادة من الجانب ٥َ. ثم تزاح القطعة المحتوية على الثنائى فى الخيط التالف بعيداً عن خيط DNA الآخر (السليم) لتسمح لإنزيم البلمرة الأول DNA Polymerase I (أو نوع مماثل من إنزيمات البلمرة) بإبتناء قطعة جديدة فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ. بعد ذلك تُزال منطقة ثنائى البيريميدين بواسطة النشاط الإنزيمى ٥َ ← ٣َ إكسونيوكليز 3´ → 5´ exonuclease activity لإنزيم بلمرة DNA. وأخيراً فإن القطعة المبتنية حديثا من DNA والجزء الأصلى لسلسة DNA يتم ربطهما بواسطة إنزيم DNA ligase. أما نظام الإصلاح البديل عن ذلك هو أن ثنائى البيريميدين يمكن أن يرجع إلى حالته الطبيعية بواسطة تفاعل ضوئى كيميائى Photo-chemical reaction، فتحتوى كل الخلايا تقريبا على إنزيم منشط ضوئيا Photoacti-vating enzyme الذى يُميّز الثنائيات ويشطرها إلى قواعدها الأصلية عند إمتصاصه للضوء الأزرق.

مرض جفاف الجلد الملون Xeroderma Pigmentosum هو أحد الأمراض الوراثية الذى يورث كصفة جسمية متنحيّة وينتج عن خلل فى إنزيم الـ Endonuclease الذى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٣ ـ ٢٢

إصلاح منطقة DNA التى تحتوى على ثنائى الثايمين.

يشطر خيط DNA بالقرب من ثنائى البيريميدين. ويكون نتيجة لذلك عدم إمكان إصلاح التلف الذى يحدث فى DNA نتيجة للتعرض للأشعة فوق البنفسجية. ويظهر جلد الأفراد المصابة بهذا المرض حساسية شديدة لضوء الشمس والأشعة فوق البنفسجية، كما يصبح الجلد جاف مع ضمور فى الأدمة Dermis وتقرن Keratoses فى الجلد وظهور سرطان الجلد فى أماكن متفرقة. وعادة ما يموت هؤلاء المرضى قبل سن الثلاثين

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

نتيجة للنمو الثانوى لأورام الجلد الخبيثة. والنتائج الإكلينيكية الحادة لهذا الإنزيم المعيوب توضح الأهمية الخطيرة لعمليات إصلاح DNA.

تكرر DNA فى الخلايا مميزة النواه يماثل من الناحية الأساسية تكرار DNA فى الخلايا أولية النواه

معظم المعلومات الموضحة فى شكل (٢٣ ـ ١٩) وجدول (٢٣ ـ ٣) تم الحصول عليها فى أواخر السبعينات عندما أمكن تكرر DNA خارج الخلايا باستخدام متراكبات الأنظمة الإنزيمية النقية المفصولة من البكتريا والفيروسات البكتيرية. والتطور الذى تم فى تفهُّم عمل هذه الأنظمة كان نتيجة لتوفر طفرات تختلف فى نشاط الجينات (آى تكررها) وبذلك أمكن فصل وتنقية الإنزيمات المقابلة.

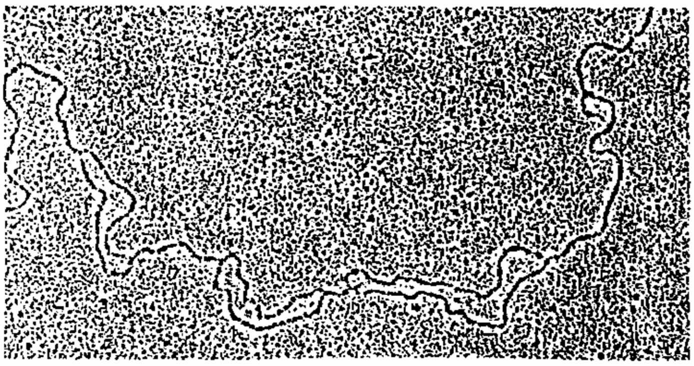
ونظرا لصعوبة الحصول على طفرات فى الكائنات مميزة النواة، فإنه لم يتم حتى الآن دراسة التفاصيل الإنزيمية لتكرر DNA فى هذه الكائنات. مع ذلك فإن المخطط العام للتكرر والذى يشمل الشكل الهندسى لشوكة التناسخ واستخدام RNA بادئ يظهر أنها تماثل تلك الموجودة فى الكائنات أولية النواة. الاختلاف الأساسى يرجع إلى أن عملية التكرر فى الخلايا مميزة النواة لا تتم على DNA الحر (غير المرتبط) ولكن تتم على الكروماتين الذى يكون فيه DNA مرتبط بقوة بالهستونات. وكما أوضحنا فى فصل ٢٢ أن هذه الهستونات تكوِّن ما يُشبه المتراكبات القرصية التى يلتف حولها DNA والتى تنشئ تركيبات متكررة تعرف بالنيوكليوسومات. ويتوقع من ذلك أن تكرر DNA فى الخلايا مميزة النواة يشتمل على عدة تغيرات هندسية قبل تعرضه لجهاز التناسخ الإنزيمى.

DNA فى الخلايا مميزة النواة يتكرر فى اتجاهين عند عدد كبير من المواضع

من الواضح أن تكرر DNA فى الخلايا مميزة النواة الذى ينتظم فى صورة نيوكليوسومات فى ألياف الكروماتين يكون أكثر تعقيداً من تكرر الكروموسومات البكتيرية. إلا أن جزئ DNA فى الخلايا مميزة النواة كجزيئات DNA البكتيرية يتكرر بالطريقة نصف المحافظة. بالإضافة إلى ذلك فإن الدراسات التى استخدم فيها المجهر الإلكترونى والتصوير الإشعاعى الذاتى autoradiography أوضحت أن DNA فى الخلايا مميزة النواة يتكرر فى إتجاهين

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فى عدد كبير من المواضع. وبدء التكرر فى عدد كبير من المواضع يكون ضرورياً نظراً للطول الكبير لجزئ DNA فى الخلايا مميزة النواة. مثال ذلك أن أكبر كروموسومات حشرة الدروسوفيلا يبلغ طوله ٢,١ سم أو ٦٢٠٠٠ كيلو قاعدة، وحيث أن شعبة التناسخ فى الدروسوفيلا تتحرك بمعدّل ٢,٦ كيلو قاعدة / دقيقة (هذا بالمقارنة بـ ١٦ كيلو قاعدة / دقيقة فى بكتريا القولون)، فإن تكرر هذا الكروموسوم فى الدروسوفيلا يستغرق أكثر من ١٦ يوم إذا بدأت عملية التكرر من موضع واحد. لكن زمن التكرر الحقيقى الذى يقل عن ثلاثة دقائق يُنجز بتعاون أكثر من ستة آلاف شعبة تناسخ. فيظهر فى جزئ DNA المفصول من نواة الدروسوفيلا أثناء التكرر سلسلة من مناطق التكرر المنظومة التى تشبه العين "eye Form" (شكل ٢٣ ـ ٢٣)، فعند كل نقطة تكرر ينشأ

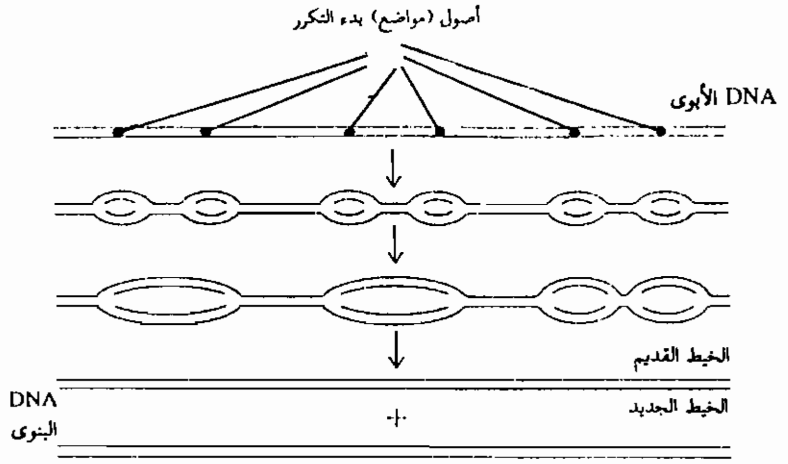


شكل ٢٣ ـ ٢٣

صورة مجهرية لـ DNA الكروموسومى المتكرر المفصول من أنوية حشرة الدروسوفيلا. القطع الذى تشبه العين تمثل مناطق التكرر الجديدة.

شعبتى تناسخ اللذان يتحركان فى إتجاهين متضادين فى نفس الوقت (شكل ٢٣ ـ ٢٤). وبهذه الطريقة فإن التكرر الكلى للكروموسوم فى الخلايا مميزة النواة يتم فى وقت قصير أقل من الوقت اللازم لتكرر الكروموسوم البكتيرى. والجزء من DNA الذى ينتهى من أحد أصول التكرر يدعى أيضا بالريبليكون replicon أو وحدة التكرر replication unit. ونظراً لأن الخلايا مميزة النوى تحتوى على أكثر من كروموسوم فيجب أن تتم عملية التكر لهذه الكروموسومات فى نفس الوقت، ولذلك تظهر آلاف من شعب التناسخ أثناء عملية التكرر فى نواة الخلية.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٣ ـ ٢٤

رسم تخطيطى لتكرر كروموسوم الخلايا مميزة النوى. التكرر ثنائى الإتجاه يبدأ من عدد كبير من المواضع فى نفس الوقت والذى يستمر حتى تتكون الخيوط الجديدة.

الخلايا مميزة النواة تحتوى على ثلاثة أنواع من إنزيمات بلمرة DNA

تحتوى الخلايا مميزة النوى على الأقل على ثلاثة أنواع من إنزيمات بلمرة DNA (DNA polymerase) (جدول ٢٣ ـ ٤). إنزيم البلمرة ألفا (α) يلعب الدور الأساسى فى تكرر الكروموسوم، بينما الإنزيم (β) يشارك فى إصلاح DNA، أما

جدول ٢٣ ـ ٤

إنزيمات بلمرة DNA (DNA Polymerases) فى الخلايا مميزة النواة

النوع	مكان تواجده	الدور الأساسى
الفا (α)	النواة	تكرر DNA النووى
بيتا (β)	النواة	إصلاح DNA النووى
جاما (γ)	الميتوكوندريا	تكرر DNA الميتوكونديرى

الإنزيم جاما (γ) يكون مسئول عن تكرر DNA فى الميتوكوندريا. وهذه الإنزيمات مثل إنزيمات الخلايا غير مميزة النواة تستخدم النيوكليوسيدات ثلاثية الفوسفات كمركبات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بادئة نشطة، وتقوم بالإستطالة المُوجَّهة بالقالب على البادئ فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ. من ناحية أخرى نجد أن إنزيمات بلمرة DNA فى الخلايا مميزة النواه ليس لها نشاط نيوكلييز nuclease، ويبدو من ذلك أن اصلاح الأخطاء أثناء تكرر DNA ينجز بواسطة إنزيمات نيوكلييز التى تكون مرتبطة بإنزيمات البلمرة فى صورة متراكبات إنزيمية.

ولقد تم حديثا إكتشاف إنزيم نووى أخر دلتا (δ) الذى يختلف عن الإنزيم (α) فى أنه يحتوى على نشاط التفكك الطرفى ٣َ ← ٥َ (5´ exonuclease → 3´)، كما أنه يستطيع تكرر الطول الكلى للقالب، بينما الإنزيم (α) يكون متوسط (يضيف حوالى ١٠٠ نيوكليوتيد)، ولذلك فإن هناك إعتقاد أن الإنزيم (α) يبنى الخيط المتخلف (أجزاء أوكازاكى) بينما الإنزيم دلتا (δ) يبنى الخيط الأمامى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجــع

Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J. D. Watson: Molecular Biology of the Cell, 2nd ed., Garland Publishing Inc., New York, 1989

Alberts, B., and R. Sternglanz: Recent Excitement in the DNA Replication Problem, "Nature, 269: 655 - 661 (1977).

Bollum, F. J.: Mammalian DNA Polymerases in Progress. in W. E. cohn (ed.), Nucleic Acid Research and Molecular Biology Vol 15, Academic Press, New York. 1975.

Cold spring Harber Laboratory: Replication and Recombination. Cold Spring Harber Symposia of Quantitative Biology, Vol. 43, 1979.

Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Bruening, and R. H. Doi: Outlines of Biochemistry (5 th ed.), John Wiley & Sons, 1987.

Davidson, J. N.: The Biochemistry of the Nucleic Acids, Academic Press, 1977.

Friedberg, E. C.: DNA Repair, Freeman, San Francisco, 1985.

Kornberg, A.: DNA Replication, Freeman, San Francisco, 1980.

Lehman, I. R.: "DNALigase: Structure, Mechanism, Function," Science, 186: 790 - 779 (1974).

Lehninger, A. L.: Principle of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

Strayer, L.: Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

Wickner, S. H.: DNA Replication Proteins of Escherichia Coli, Ann. Rev. Biochem. 47: 1163 - 1193 (1978).

Zubay, G. (Coord. author): Biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass., 1983.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تمارين

١ ـ أجب عن الجمل التالية بصح أو خطأ ـ وإذا كانت خطأ اشرح لماذا؟

(أ) تكرر كل الأحماض النووية يوجه بواسطة الإزدواج المتمم للقواعد.

(ب) بعد دورة تكرر واحد لجزئ DNA فإن بعض جزيئات DNA البنوية لا تحتوى على المادة الأبوية.

(جـ) كروموسوم بكتريا القولون يتألف من عدة تحت وحدات تكرر مستقلة.

(د) التكرر فى إتجاه واحد لجزئ DNA المزدوج الحلقى يحتاج إلى عدة وصلات متراوحه Swivels Points لإزالة الإلتواء. مع ذلك فإذا كان التكرر ثنائى الإتجاه فإن ذلك لا يحتاج إلى الوصلات المتراوح لأن الإلتواء الذى يحدث فى أحد الإتجاهات يزال بالإلتواء المضاد عند شوكة التناسخ.

(هـ) من الناحية النظرية فإن الطافر الذى يكون معيوب فى إنزيم DNA Ligase لا يكون قادراً على تكرر الكروموسوم ولا على إصلاح DNA.

٢ ـ ما هى النتيجة التى كان من الممكن أن يتحصل عليها العالمان Meselson و Stahl إذا كان تكرر DNA يتم بطريقة محافظة. حدد التوزيع المتوقع لجزيئات DNA بعد جيل واحد وجيلين من التكرر المحافظ لـ DNA.

٣ ـ فى تجربة جون كيرنز John Cairns

(أ) لماذا استخدم الثايميدين النشط إشعاعيا لتتبع طريقة تكرر DNA.

(ب) هل يكون استخدام الأدينوزين أو الجوانوزين النشط إشعاعيا متكافئ الفائدة لإستخدام الثايميدين.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(جـ) وضح المسار الإنزيمى الذى يتم بواسطته إدماج الثايميدين النشط إشعاعياً فى DNA لبكتريا القولون.

٤ ـ (أ) من المعلومات المعروضة فى هذا الفصل، أذكر الوقت الذى يُستغرق فى تكرر كروموسوم بكتريا القولون على ٣٧ْ م إذا بدأت شوكتى التناسخ من نقطة الأصل.

(ب) تحت ظروف خاصة فإن خلايا بكتريا القولون يمكن أن تنمو وتنقسم فى ٢٠ دقيقة. هل يمكن أن تُعطى اقتراحا لكيفية حدوث ذلك.

٥ ـ ما هو عدد دورات فك الإلتواء (الإلتفاف) التى يجب أن تتم فى كروموسوم بكتريا القولون أثناء تكرره؟

٦ ـ (أ) إحسب الوقت اللازم لتناسخ جين ريبونيوكلييز ribonuclease (١٠٤ زوج قاعدة) فى بكتريا القولون إذا كانت شوكة التناسخ تتحرك بمعدّل ٧٥٠ زوج قاعدة فى الدقيقة.

(ب) شوكة التناسخ فى خلية الإنسان تتحرك بمعدل (١/١٠) تلك فى بكتريا القولون. ما هى المعلومات الإضافية التى تحتاجها لحساب المعدل الأدنى للتكرر فى جين الإنسان لبروتين يحتوى على ١٠٤ حمض أمينى.

٧ ـ أكتب تتابع القواعد لقطعة من DNA يتم تكررها بواسطة DNA Polymerase من DNA القالب الذى يحتوى على التتابع التالى :

(´5) AGCTTGCAACGTTGCATTAG (´3)

٨ ـ إرتباط سلسلتى DNA بواسطة ,DNA ligases الذى يدفع بواسطة NAD^+ أو ATP يعتمد على نوع الكائن. افترض أن أحد إنزيمات DNA ligase الجديدة تحتاج إلى مصدر طاقة مختلف. إقترح بديل مناسب لـ NAD^+ أو ATP لهذا التفاعل.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

النسخ : بناء RNA على DNA القالب

Transcription: Synthesis of RNA on DNA Templete

أوضحنا فى الفصل السابق كيف تنتقل المعلومات الوراثية من جيل إلى الجيل التالى بتكرر DNA أثناء إنقسام الخلية. والآن سننتقل إلى موضوع التعبير عن المعلومات الوراثية. فالجينات أو المُورِّثات فى DNA تحقق وظائفها عن طريق تحديد أنواع البروتينات التى تُصنّع بواسطة الخلايا، مع ذلك فإن DNA ليس هو المُصيغ المباشر لبناء البروتين ولكن يقوم قسم خاص من جزيئات RNA كوسيط فى نقل المعلومات الوراثية من DNA إلى البروتين. ومن الثابت الآن أن سريان المعلومات الوراثية فى الخلية العادية بناءاً على المبدأ الرئيسى central dogma يكون بالصورة التالية:

$$\text{DNA} \xrightarrow{\text{نسخ}} \text{RNA} \xrightarrow{\text{ترجمة}} \text{protein}$$

فى هذا الفصل سنقدم بعض الأدلة التى تُؤكّد أن جزيئات RNA الرسول (mRNA) هى الحاملات الوسيطة للمعلومات بين DNA والبروتين، بينما جزيئات RNA الأخرى والتى تشمل RNA الريبوسومية (rRNA) و RNA الناقلة (tRNA) تمثل عناصر فى جهاز بناء البروتين. ثم سنوضح بعد ذلك كيف تُبنى جزيئات RNA بعملية النسخ transcription وفقاً لتعليمات DNA المصيغ (القالب). ثم يلى عملية النسخ عملية ترجمة translation التى تحدد فيها جزيئات RNA الرسول نظام تتابع الأحماض الأمينية فى سلاسل عديد الببتيد للبروتين كما سنوضحها فى الفصل التالى.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

يوجد اختلاف أساسى بين تكرر DNA ونسخة. ففى عملية التكرر يتم نسخ الكروموسوم بأكمله لينتج DNA جديد مماثل لـ DNA الأصل، لكن فى عملية النسخ فليس من الضرورى نسخ كل جزيئات DNA فى الخلية، لكن عادة يتم نسخ جين واحد أو مجموعة جينات. وعلى ذلك فإن عملية النسخ تكون عملية انتقائية لجزء من DNA تحدد ببداية ونهاية الجزء المراد نسخه.

RNA الرسول هو حامل المعلومات الوسيط فى بناء البروتين

إن فكرة إشتراك أحد أنواع جزيئات RNA فى حمل الرسائل الوراثية من DNA إلى نظام بناء البروتين قد نشأت من ملاحظة أن DNA فى الخلايا مميزة النواه يقتصر وجوده تقريبا على النواة بينما بناء البروتين يتم على الريبوسومات فى السيتوبلازم. وعلى ذلك فإن الرسائل الوراثية يجب أن تحمل بواسطة أحد أنواع الجزيئات الكبيرة من النواة إلى السيتوبلازم، ولقد اقترح أن RNA يقوم بهذه المهمة لأنه يوجد فى كل من النواة والسيتوبلازم. كما لوحظ أيضا أن بدأ بناء البروتين يكون مصحوبا بإرتفاع مستوى السيتوبلازم من RNA. إلا أن الدليل الحاسم على توسيط RNA فى ابتناء البروتين هى تلك الدراسات التى أجريت على خلايا بكتريا القولون المصابة بالفيروس T_2. فقد وجد أن الإندفاع فى بناء بروتين الفيروس فى خلايا البكتريا يكون مصحوبا بإبتناء جزء صغير من جزيئات RNA ذات فترة نصف عمر قصيرة، كما أن محتوى جزيئات RNA هذه من النيوكليوتيدات يكون مماثل لنيوكليوتيدات DNA الفيروسى وليس DNA الخاص بالعائل (البكتريا). هذه الحقائق بالإضافة إلى دلائل أخرى قد حدت بكريك أن يقترح أن RNA يقوم بحمل المعلومات الوراثية من DNA فى النواة إلى موضع بناء البروتين فى السيتوبلازم. وبعد عام ١٩٦١ أطلق فرانسوا جاكوب Franscois Jacob وجاك مونو Jaques Monod إسم RNA الرسول messenger RNA (mRNA) على جزيئات RNA التى تقوم بحمل المعلومات الوراثية من DNA إلى الريبوسوم فى الخلية، حيث تعمل كمصيغ لبناء سلاسل عديد الببتيد. ويوجد فى الخلية الواحدة مئات من جزيئات RNA الرسول كل منها يشفر لواحد أو أكثر من سلاسل عديد الببتيد.

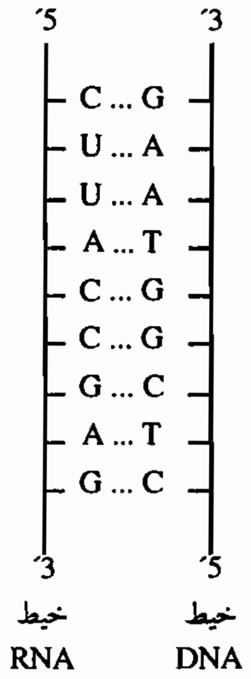
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جزيئات mRNA جزيئات وحيدة السلسلة تختلف أطوالها بدرجة كبيرة. ففى الخلايا أولية النواة قد يُشفّر جزئ mRNA لسلسلة فردية أو لسلسلتين أو أكثر من سلاسل عديد الببتيد. وفى حالة ما يحمل mRNA شفرات لسلسلة واحدة من عديد الببتيد يُدعى بأحادى التوريث monogenic أو monocistronic أمّا إذا كان يحمل شفرات لسلسلتين أو أكثر من عديد الببتيد فيُعرف فى هذه الحالة بعديد التوريث Polygenic أو Polycistronic، وغالبا ما تكون سلاسل عديد الببتيد هذه مرتبطة وظيفيا مثل الإنزيمات التى تشترك فى نفس السلسلة الأيضية. ويلاحظ أن الحد الأدنى لطول جزئ mRNA يتحدد بطول سلسلة عديد الببتيد التى يقوم بتوجيه بنائها، مثال ذلك أن سلسلة عديد الببتيد التى تحتوى على ١٠٠ حمض أمينى تحتاج إلى mRNA يحتوى على الأقل على ٣٠٠ نيوكليوتيد حيث أن كل حمض أمينى يتحدد موضعه فى السلسلة بواسطة شفرة من ثلاثة قواعد.

دراسات التهجين أوضحت أن القواعد فى mRNA تكون متتامة مع القواعد فى DNA المصيغ (القالب)

إذا أخذنا فى الإعتبار أن mRNA هو الحامل الوسيط للمعلومات الوراثية من DNA إلى البروتين فإن ذلك يستدعى أن يكون تتابع القواعد فى mRNA متتام مع تتابع القواعد فى DNA الذى يعمل مصيغ (قالب) فى إبتناء mRNA. ولإثبات هذه الفرضية استخدام Sol Spiegelman (١٩٦١) اختبار التهجين hybridization test. فمن المعروف أن تسخين DNA الحلزون المزدوج إلى درجة حرارة أعلي من درجة حرارة إنصهاره يُؤدى إلى تكوين الخيوط الفردية، وإذا بُرّد المخلوط ببطئ فإنه يُعاد التحام الخيوط الفردية لتكوّن الحلزون المزدوج. ولقد وجد أن جزيئات الحلزون المزدوج تتكون فقط من الخيوط الفردية التى تكون متتامة فى قواعدها. وهذه المشاهدات تقترح أن هجين الحلزون المزدوج DNA - RNA يُمكن أن يتكون فقط من خيط فردى DNA و RNA إذا كان تتابع القواعد فيهما متتامة (شكل ٢٤ ـ ١). وحيث أنه بعد إصابة بكتريا القولون بالفيروس T_2 فإن DNA الفيروسى (T_2 DNA) يعمل كقالب فى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٤ ـ ١
الهجين RNA - DNA يُمكن أن يتكون فقط إذا كان خيط RNA و DNA يحتويان على تتابع قواعد متتام.

تكوين RNA المتكون بعد العدوى، فقد أُجرى اختبار التهجين بين T_2 DNA و RNA المتكوّن بعد العدوى بالنظام التالى:

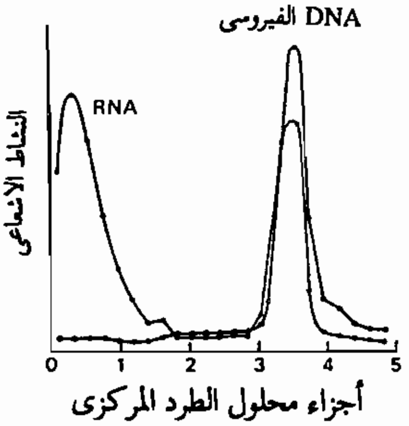
١ ـ RNA المتكون بعد عدوى بكتريا القولون بالفيروس T_2 (T_2mRNA) عُلّم بواسطة ^{32}P. حُضّر أيضا T_2DNA المُعلّم بـ ^3H باستخدام تجربة منفصلة.

٢ ـ سُخّن مخلوط من T_2mRNA و T_2DNA إلى ١٠٠° م لتفكيك DNA الحلزون المزدوج إلى خيوط فردية. وهذا المحلول الذى يحتوى على خيوط فردية من RNA و DNA ترك ليبرد ببطء إلى درجة حرارة الغرفة.

٣ ـ تم تحليل المخلوط المبرّد بواسطة الطرد المركزى فى متدرج الكثافة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وقد تم الحصول على ثلاثة حزم (شكل ٢٤ ـ ٢). الحزمة الكثيفة عبارة عن RNA وحيد الخيط، والحزمة الثانية تحتوى على DNA الحلزون المزدوج والحزمة الثالثة تحتوى على جزيئات الحلزون المزدوج الهجين RNA - DNA. وعلى ذلك فإن T_2mRNA يكوّن هجين مع T_2 DNA. بالمقارنة فإن T_2mRNA لا يكوّن هجين مع DNA البكتيرى. وهذه التجربة وتجارب مماثلة توضح أن تتابع القواعد فى mRNA يكون متتام مع DNA الذى يعمل كقالب فى ابتناء mRNA.



شكل ٢٤ ـ ٢

توزيع النشاط الإشعاعى (^{3}H , ^{32}P) فى متدرج الكثافة لكلوريد السيزيوم يوضح أن معظم RNA المتكونة بعد العدوى يرتبط مع T_2 DNA.

جزيئات RNA الريبوسومية وجزيئات RNA الناقلة تُبنى أيضا على DNA القالب

استخدم بعد ذلك اختبار التهجين لتحديد ما إذا كان جزيئات RNA الريبوسومية (rRNA) وجزيئات RNA الناقلة (tRNA) تبنى على DNA القالب أم لا. ولهذا الغرض علّمت جزيئات RNA من بكتريا القولون بواسطة ^{32}P وأضيفت إلى DNA غير المعلّم من بكتريا القولون وسخّن هذا المخلوط ثم برد ببطئ. وأظهرت نتائج هذه التجربة تكوين الهجن RNA - DNA مع كل من rRNA (5S r RNA , 16S rRNA , 23S rRNA) و tRNA والذى يشير أن التتابعات المتتامة لهذه الـ RNA موجودة فى جينوم بكتريا القولون.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

كل جزيئات RNA فى الخلايا أولية النواه تُبنى بواسطة نوع واحد من إنزيمات بلمرة RNA (RNA بوليمريز)

إن فكرة وجود RNA كوسيط لنقل المعلومات الوراثية من DNA إلى البروتين حفزت البحث عن إنزيم يبنى RNA بناء على تعليمات DNA المصيغ. وفى عام ١٩٦٠ تمكّن كل من Hurwitz و Weiss من اكتشاف هذا الإنزيم الذى أطلق عليه إنزيم بلمرة RNA (RNA Polymerase) . ولقد تمت دراسة إنزيم بلمرة RNA فى الخلايا أولية النواة حيث وجد أن نوع واحد من إنزيمات RNA Polymerase يحفز بناء كل جزيئات RNA (tRNA , rRNA , mRNA). ولقد وجد أن الإنزيم المستخلص من بكتريا القولون يحتاج إلى العناصر التالية لإبتناء RNA:

١ ـ **قالب:** القالب المفضّل هو DNA الحلزون المزدوج، مع ذلك فإن الخيط الفردى لـ DNA يمكن أن يعمل أيضا كقالب.

٢ ـ **وحدات بنائية نشطة:** يحتاج بناء RNA إلى الريبونيوكليوسيدات ثلاثية الفوسفات الأربعة: ATP و GTP و UTP و CTP.

٣ ـ **أيون ثنائى التكافؤ:** مثل Mg^{2+} أو Mn^{2+}، إلا أن أيون Mg^{2+} هو الذى يستخدم فى الخلايا.

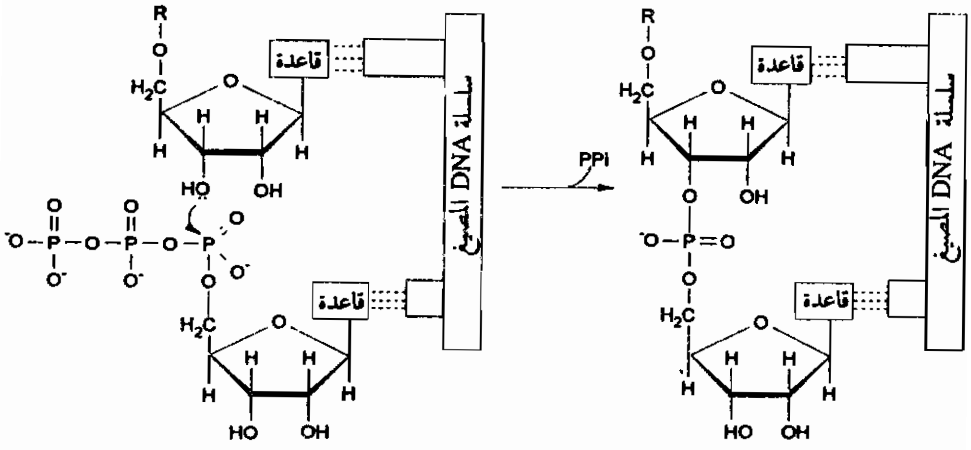
يحفز إنزيم بلمرة RNA بدء واستطالة سلسلة RNA والتفاعل الذى يحفز بهذا الإنزيم هو:

$$(RNA)_n + \text{ribonucleoside triphosphate} \rightleftharpoons (RNA)_{n+1} + PP_i$$

ويماثل البناء الحيوى لجزئ RNA بناء DNA فى عديد من الأوجه (شكل ٢٤ ـ ٣): (١) البناء يكون فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ، (٢) يظهر أيضا أن ميكانيكية التفاعل متشابهة. من ناحية أخرى فإن بناء RNA يختلف عن بناء DNA فى بعض الأوجه الأخرى، فإنزيم بلمرة RNA لايحتاج إلى بادئ، كذلك فإن DNA القالب يُحفظ

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بصورة كاملة فى بناء RNA بينما يكون نصف محافظ فى بناء DNA، وثالثا فإنه يبدو أن إنزيم بلمرة RNA ليس له أى نشاط تفكيكى (nuclease) لسلسلة RNA.



شكل ٢٤ ـ ٣
ميكانيكية تفاعل إستطالة سلسلة RNA الذى يحفز بإنزيم بلمرة RNA

إنزيم بلمرة RNA من بكتريا القولون يتألف من وحدات فرعية

إنزيم بلمرة RNA (RNA polymerase) المستخلص من بكتريا القولون إنزيم مُعقّد التركيب حيث تبلغ كتلته ٥٠٠ كيلو دالتون ويتكون من وحدات فرعية (جدول ٢٤ ـ ١). والمعقّد الإنزيمى الذى له التركيب $\alpha_2\,\beta\beta'\delta$ من الوحدات الفرعية يُدعى الإنزيم الكامل holoenzyme. وكما سنرى بعد قليل أن الوحدة الفرعية سجما (σ) يُمكن أن تنفصل من الإنزيم بعد بدء بناء RNA مباشرة، والإنزيم بدون الوحدة الفرعية سيجما ($\alpha_2\,\beta\beta'$) يُدعى قلب الإنزيم core anzyme. ويعتقد أن الوحدة الفرعية β' تشارك فى الإرتباط بـ DNA القالب، والوحدة الفرعية β تشارك فى إرتباط الريبونيوكليوسيد ثلاثى الفوسفات، والوحدة α تكون ضرورية لربط الوحدات الفرعية. أما الوحدة سجما (σ) تشترك فى التعرُّف والإرتباط بموضع بدء النسخ، ولذلك يُشار إليها أحيانا بعامل البدأ أو العامل الإستهلالى initiation factor.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جدول ٢٤ ـ ١

الوحدات الفرعية فى RNA Polymerase من بكتريا القولون

الوحدة الفرعية	العدد	الكتلة (كيلودالتوان)
α	٢	٤٠
β	١	١٥٥
β`	١	١٦٥
σ	١	٩٥

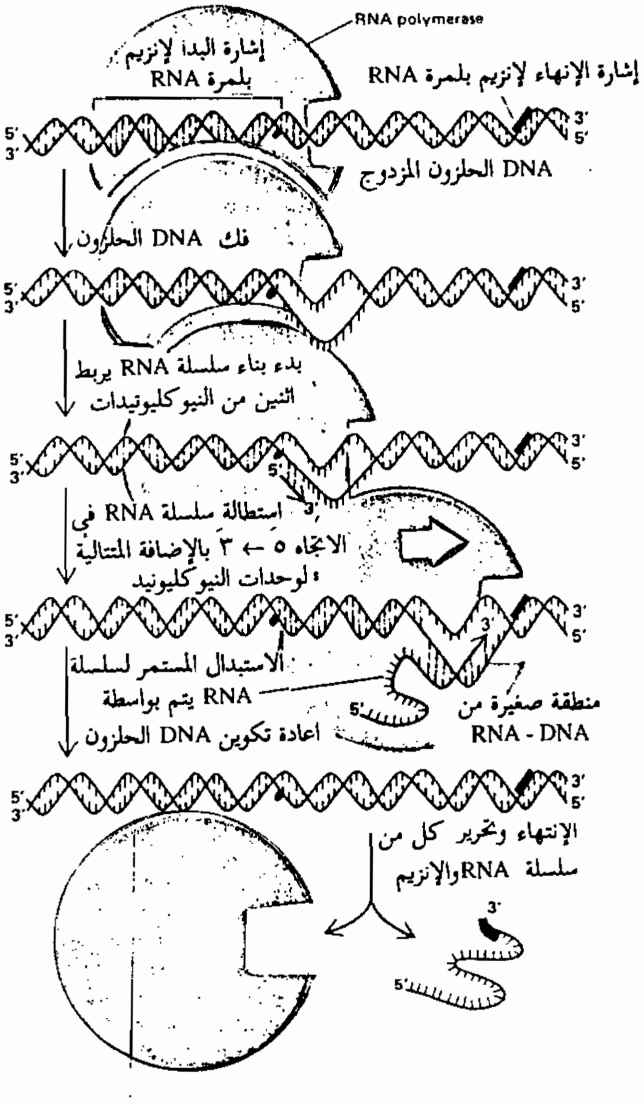
عملية النسخ تتم فى ثلاثة مراحل: البدء ـ الإستطالة ـ والإنهاء

يقوم إنزيم بلمرة RNA بنسخ منطقة وراثية مختارة على DNA التى تشمل التتابع المشفّر بـ RNA. وتحدد بداية ونهاية هذه المنطقة بواسطة تتابعات خاصة التى تمثل إشارات البدأ والإنهاء. وتتم عملية النسخ فى ثلاثة مراحل هى البدء initiation والإستطالة elon-agation والإنهاء termination (شكل ٢٤ ـ ٤). كما تتم عملية النسخ على أحد خيطى DNA فقط، والذى يحدد أى من الخيطين سينسخ هو إشارة البدء. وأثناء عملية النسخ يتكون RNA على خيط DNA القالب وبذلك يتكون الهجين DNA - RNA، وعند انتهاء عملية النسخ ينفصل RNA من خيط DNA القالب بالوصول إلى إشارة الإنهاء. والآن دعنا نأخذ هذه الخطوات بشئ من التفصيل.

إنزيم بلمرة RNA يميز تتابع بدء خاص على DNA القالب يُعرف بموضع بدء الحفز

تبدأ عملية النسخ بإرتباط إنزيم بلمرة RNA بتتابع خاص على DNA يُعرف بموضع تقدم أو بدأ الحفز Promoter. فما هى الخصائص التركيبية لموضع بدء الحفز؟. من الواضح أن موضع بدء الحفز يجب أن يحتوى على تتابع من القواعد الذى يُعطى DNA شكل خاص فى هذا الموضع والذى يكون مناسب للإرتباط بإزيم بلمرة RNA كما يحدث فى حالة إرتباط الإنزيم بالمادة الخاضعة. والدراسات المقارنة التى أجريت على أكثر

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٤ ـ ٤

مخطط بيانى لخطوات نسخ DNA. إنزيم بلمرة RNA يبدأ عملية البناء عند إشارة بدء خاصة ثم ينهى عملية البناء عند إشارة خاصة، حيث يتم عندها إنفصال الإنزيم وسلسلة RNA المتكوّنة من خيط DNA القالب.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

من ١٠٠ موضع لبدأ الحفز أوضحت أن هذا الموضع يتألف من حوالى ٤٠ زوج من القواعد، ويحتوى على اثنين من التتابعات الشائعة، أحدهما يحتوى على ٦ أزواج قواعد ويقع على بعد ١٠ أزواج من القواعد من موضع بدأ بناء RNA ويعرف بالتتابع ـ١٠، والآخر يبعد بـ ٣٥ زوج من القواعد من موضع بدأ بناء RNA ويعرف بالتتابع ـ ٣٥ (شكل ٢٤ ـ ٥). ولقد وجد أن عدد قليل من مواضع بدء الحفز تكون التتابعات ـ ١٠ وـ ٣٥ متماثلة، لكن معظم مواضع بدء الحفز تختلف عن بعضها فى نيوكليوتيد أو أكثر.

الأبرون	المنطقة (ـ٣٥) المنطقة (ـ١٠) موضع بدء النسخ (+١)
lac	ACCCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGG
lacI	CCATCGAATGGCGCAAAACCTTTCGCGGTATGGCATGATAGCGCCCGGAAGAGAGTC
galP2	ATTTATTCCATGTCACACTTTTCGCATCTTTGTTATGCTATGGTTATTTCATACCAT
araBAD	GGATCCTACCTGACGCTTTTTATCGCAACTCTCTACTGTTTCTCCATACCCGTTTTT
araC	GCCGTGATTATAGACACTTTTGTTACGCGTTTTTGTCATGGCTTTGGTCCCGCTTTG
trp	AAATGAGCTGTTGACAATTAATCATCGAACTAGTTAACTAGTACGCAAGTTCACGTA
bioA	TTCCAAAACGTGTTTTTTGTTGTTAATTCGGTGTAGACTTGTAAACCTAAATCTTTT
bioB	CATAATCGACTTGTAAACCAAATTGAAAAGATTTAGGTTTACAAGTCTACACCGAAT
tRNA^{Tyr}	CAACGTAACACTTTACAGCGGCGCGTCATTTGATATGATGCGCCCCGCTTCCCGATA
rrnD1	CAAAAAAATACTTGTGCAAAAAATTGGGATCCCTATAATGCGCCTCCGTTGAGACGA
rrnE1	CAATTTTTCTATTGCGGCCTGCGGAGAACTCCCTATAATGCGCCTCCATCGACACGG
rrnA1	AAAATAAATGCTTGACTCTGTAGCGGGAAGGCGTATTATGCACACCCCGCGCCGCTG

شكل ٢٤ ـ ٥

تتابعات موضع بدء الحفز Promoter لبعض الجينات المختارة فى بكتريا القولون

وهناك من الأدلة القوية ما يشير إلى أن التتابعات ـ ١٠ وـ ٣٥ هى المناطق المهمة فى موضع الحفز. فقد وجد أن معظم الطفرات التى تهدم وظيفة موضع بدأ الحفز تغير النيوكليوتيدات فى هذه المناطق. وثانيا أن إنزيم بلمرة RNA المرتبط بموضع بدء الحفز يحمى التتابعات ـ ١٠ وـ ٣٥ من الهضم بواسطة إنزيمات تفكك DNA (DNase).

الوحدة الفرعية سجما (σ) تُمكّن إنزيم بلمرة RNA من التعرُّف على تتابع بدء الحفز

عند غياب الوحدة سجما (σ) فإن قلب إنزيم بلمرة RNA ($\alpha_2\beta\beta'$) يقوم بعملية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?

user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis

https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid

07807137614

النسخ ولكن بصورة عشوائية على كلا خيطى DNA. ولكن عند إضافة الوحدة الفرعية سجما (σ) إلى قلب الإنزيم فإن الإنزيم الكامل ($\alpha_2 \beta\beta`\sigma$) holoenzyme يقوم بعملية النسخ من الموضع الصحيح لبدء النسخ والذى يشير إلى أن الوحدة الفرعية سجما تُمكّن الإنزيم من التعرُّف والإرتباط المتخصص بإشارة بدء الحفز Promoter.

والوحدة الفرعية سجما (σ) تُشارك فى البدء المتخصص وذلك بخفض جاذبية إنزيم بلمرة RNA إلى المناطق العامة فى DNA (فيما عدا منطقة بدء الحفز) بعامل يساوى ١ × ١٠^{٤}. بالإضافة إلى ذلك فإن الوحدة سجما (σ) تُمكّن إنزيم بلمرة RNA من التعرُّف على تتابع موضع بدء الحفز. كذلك فإن الوحدة الفرعية سجما (σ) تُشارك أيضا فى فتح الحلزون المزدوج لمسافة دورة واحدة تقريبا وذلك لتجهيز جزء من أحد خيطى DNA الذى سيعمل كقالب (مصيغ) للقواعد القادمة. ويبدأ الإنزيم بعد الإرتباط بموضع بدء الحفز بتكوين رابطة الفوسفات ثنائية الإستر الأولى.

البروتينات المنظّمة تُؤثر على بدء النسخ بالإرتباط بالقرب أو خلال موضع بدء الحفز

غالبا ما يكون مُعدّل النسخ لجين ما غير ثابت، ولكنه يتغير تبعا لإحتياج الخلية تحت ظروف النمو المختلفة، ومثل هذا الجين يقال عنه إنه جين تحت تحكُّم تنظيمى. ففى بكتريا القولون فإن تنظيم النسخ غالبا ما يتم بواسطة بروتينات متخصصة والتى بارتباطها بالقرب من أو خلال موضع بدأ الحفز تزيد أو تخفض معدّل النسخ. وهذه البروتينات التى تشمل بروتينات الكبح repressor تمنع ارتباط إنزيم بلمرة RNA بموضع بدء الحفز وبذلك تثبط النسخ. أمّا المنشّطات activators فترتبط مع إنزيم بلمرة RNA وتستحث نشاطه. وسوف نتعرض لهذا الموضوع بالتفصيل فى فصل ٢٦.

الوحدة الفرعية سجما (σ) تنفصل من الإنزيم بعد تكوين رابطة الفوسفات ثنائية الإستر الأولى حيث يقوم قلب الإنزيم بعملية الإستطالة

تنفصل الوحدة الفرعية سجما (σ) من الإنزيم الكامل RNA Polymerase Holoen-zyme بعد بدء بناء سلسلة RNA الجديدة وبذلك يمكن لها من الإرتباط بقلب إنزيم

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بلمرة آخر. ويبدو من ذلك أن دور الإنزيم الكامل هو التعرُّف على موضع بدء الحفز والبدء فى بناء سلسلة RNA بينما تكون وظيفة قلب الإنزيم هو إستطالة سلسلة RNA. فيقوم قلب الإنزيم ($\alpha_2 \beta\beta`$) بإستطالة سلسلة RNA النامية وذلك بإضافة وحدة ريبونيوكليوتيد خطوة خطوة إلى السلسلة النامية وذلك فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ إلى أن يقابل إشارة إنهاء البناء. ويتحرك قلب إنزيم بلمرة RNA عبر خيط DNA القالب فى الإتجاه ٣ ← ٥َ وذلك لأن خيط القالب يكون مضاد الاتجاه لخيط RNA المبتنى حديثا. كما يقوم جزئ فردى من إنزيم بلمرة RNA ببناء كل سلسلة RNA.

ويجب الإشارة هنا أن إنزيم بلمرة RNA يفتقد إلى نشاط التفكك nuclease activ-ity. ولذلك فإنه بالمقارنة بإنزيم بلمرة DNA لا يستطيع إصلاح الإندماج الخاطئ للريبونيوكليوتيدات، وبالتالى فإن دقة النسخ تكون أقل من التكرر. فمعدَّل الخطأ فى بناء RNA تكون فى حدود خطأ لكل ١٠^{٤} أو ١٠^{٥} نيوكليوتيد مضاف، وهى بذلك تكون أكبر بمقدار ١٠^{٥} مرة عن بناء DNA. ويمكن للخلية من تحمُّل هذا المعدَّل الكبير من الأخطاء وذلك لأن الخلية تبنى عدد كبير من نسخ RNA لكل جين.

ولقد وجد أن سلاسل RNA تبدأ عادة بـ PPPA أو PPPG. فلقد وجد أن الطرف ٥َ لسلسلة RNA المبتنية حديثا عادة ما تحتوى على مجموعات الفوسفات الثلاثية. ومعظم سلاسل RNA فى الخلايا لا تحتوى على مجموعات الفوسفات الثلاثية والذى يرجع إلى تفكيك النسخ الأولية لـ RNA داخل الخلايا بواسطة إنزيمات النيوكلييز.

البروتين Nus A يرتبط بقلب إنزيم بلمرة RNA أثناء الإستطالة والإنهاء

تم إكتشاف عامل يسمى البروتين Nus A منذ عدة سنوات ويعتقد أن له دور فى عملية النسخ. وقد إتضح أن البروتين Nus A يرتبط بجزئ بلمرة RNA الذى يبنى سلسلة RNA بمجرد انفصال الوحدة الفرعية سجما (σ). وبعد إنتهاء عملية ا لنسخ وتحرير الإنزيم فإن الوحدة الفرعية سجما (σ) تحل محل البروتين Nus A فى الإنزيم وذلك لجاذبيتها الكبيرة للإرتباط بقلب الإنزيم الحر.

ومن الصعب فى الوقت الحاضر تحديد دور خاص للبروتين Nus A فى عملية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

النسخ. ولكن الدراسات البيوكيميائية التى أُجريت خارج الخلايا (فى أنبوبة الإختبار) أوضحت أن للبروتين Nus A تأثير واضح على معدّل بناء RNA وعلى إنهاء بناء RNA والذى يتم بواسطة إنزيم بلمرة RNA.

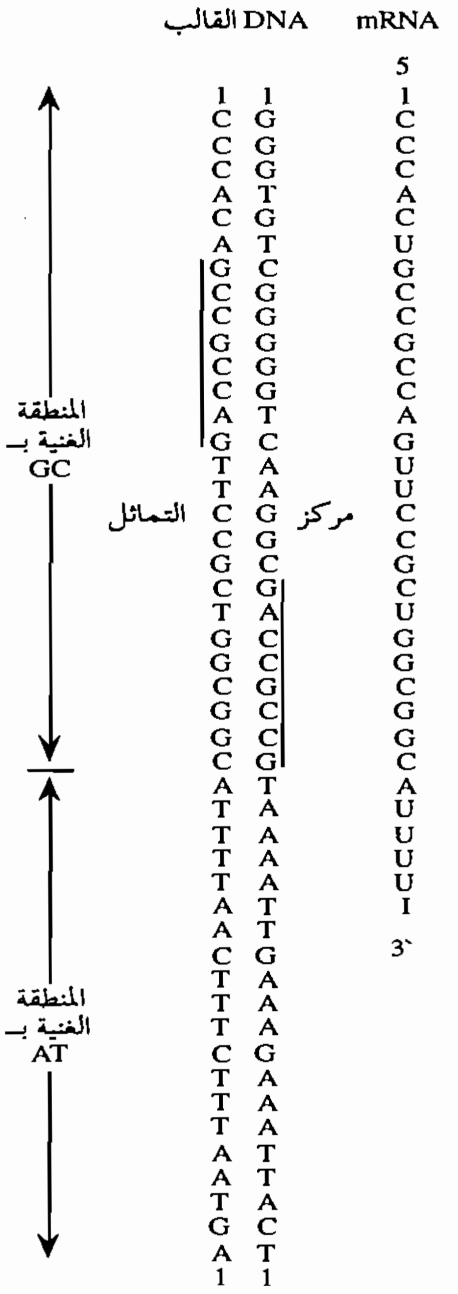
DNA القالب يحتوى على إشارات إيقاف تنهى عملية النسخ

يستمر إنزيم بلمرة RNA فى إضافة وحدات الريبونيوكليوتيد إلى سلسلة RNA النامية إلى أن يقابل موضع خاص على DNA القالب ذات تتابع خاص من القواعد يُعرف بإشارة الإنهاء termination signal، والتى يتم عندها إيقاف إضافة وحدات ريبونيوكليوتيد جديدة إلى سلسلة RNA ثم تحرير كل من الإنزيم وسلسلة RNA المبتنية حديثا من DNA القالب. وقد تتم عملية الإنهاء بدون أى عوامل مساعدة إضافية غير إشارة الإنهاء، إلا أنه فى بعض المواضع قد يساعد بروتين خاص (البروتين رو (ρ) Rho) فى إنهاء عملية النسخ، حيث يشارك هذا البروتين فى تحرير الإنزيم وسلسلة RNA من DNA القالب عند إشارة الإنهاء.

وتحليل تتابع القواعد فى إشارات الإنهاء التى لا تحتاج إلى البروتين رو (ρ) أوضحت وجود منطقة غنية بالإزدوج GC قبل موضع الإنهاء يليها منطقة غنية بالإزدواج AT. وأهم خصائص تتابع الإنهاء هو وجود محور تماثل دوران ثنائى twofold Symmetry للمنطقة الغنية بـ GC (شكل ٢٤ ـ ٦). وعلى ذلك فإن نسخة RNA لهذه المنطقة تكون متتامة ذاتيا حيث تزدوج القواعد فيها لتكوّن تركيب يشبه دبوس الشعر hairpin structure (شكل ٢٤ ـ ٧). بالإضافة إلى ذلك فإن سلسلة RNA المبتنية حديثا تنتهى بعدّة قواعد يوراسيل التى تُشفّر بواسطة المنطقة الغنية بأزواج القواعد AT فى DNA. وأحد هذين التركيبين أو كلاهما يُشارك فى تحرير إنزيم بلمرة RNA عند وصوله إلى هذه الإشارة.

أما إشارات الإنهاء التى تعتمد على وجود البروتين رو (ρ) لا تحتوى على تتابع عديد الأدنين pol (A)، وبذلك لا يحتوى RNA المتكون على تتابع عديد اليوراسيل pol (U)، كما أن معظمها لا يستطيع تكوين تركيب دبوس الشعر. كيف يمكن إذن للبروتين رو

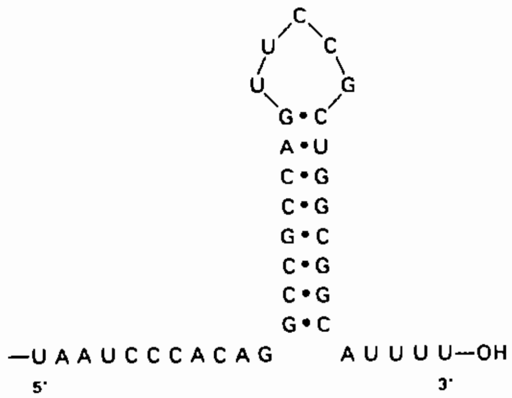
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٤ ـ ٦

تتابع DNA المقابل للطرف ٣ لـ mRNA الخاص بالتريتوفان من بكتريا القولون.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٤ ـ ٧

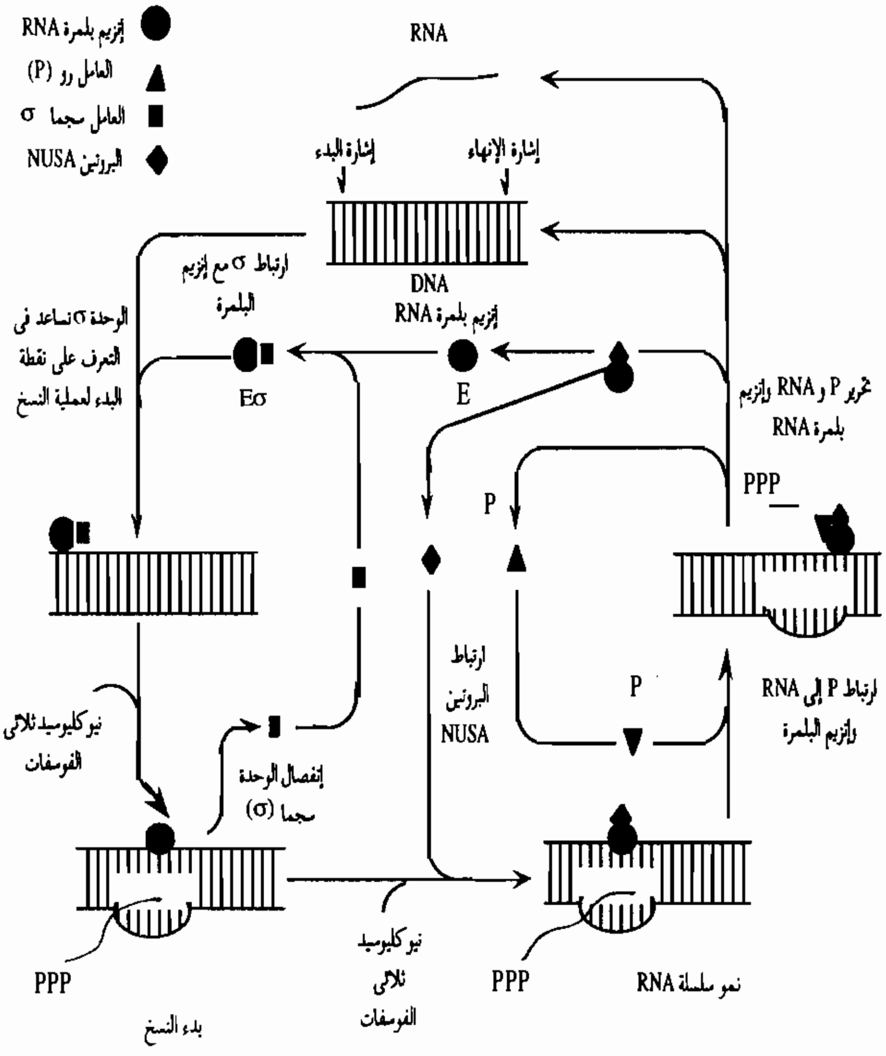
تتابع القواعد للطرف ٣َ لنسخة mRNA لأوبرون التربتوفان من بكتريا القولون الذى يوضح تركيب دبوس الشعر.

(ρ) من إنهاء بناء سلسلة RNA عند بعض إشارات الإنهاء؟. أحد الإقتراحات أن البروتين رو (ρ) يرتبط بسلسلة RNA ويتحرك فى إتجاه إنزيم بلمرة RNA الذى وصل إلى إشارة الإنهاء، وبذلك فإن البروتين رو (ρ) يحل محل إنزيم بلمرة RNA من النهاية ٣َ لسلسلة RNA . ويُمكن بذلك تلخيص الأحداث الجزيئية المشتملة فى عملية النسخ فى شكل (٢٤ ـ ٨).

أحد خيطى DNA فقط يعمل كقالب لبناء RNA فى كل جين

من الناحية الأساسية فإن خيطى DNA لجين ما يُمكن أن يُنسخا إلى نوعين مختلفين من جزيئات mRNA كل منهما ينتج من استخدام أحد خيطى DNA كقالب. ولكن حيث أن الدراسات الوراثية توضح أن كل جين يشفّر لبروتين واحد فإنه من الثابت أن أحد خيطى DNA فقط يستخدم كقالب فى بناء RNA. ولكن أى من الخيطين سيتم نسخه فإن ذلك سوف يختلف من جين إلى آخر. ومن المعتقد أن الذى يحدد أى من خيطى DNA سوف ينسخ هو إشارة البدأ أو الحفز فى DNA، فتوضع هذه الاشارة بحيث توجّه انزيم بلمرة RNA فى إتجاه معين عبر منطقة وراثية ما على DNA وهذا يحدد تلقائيا أى من الخيطين سيتم نسخه (شكل ٢٤ ـ ٩).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



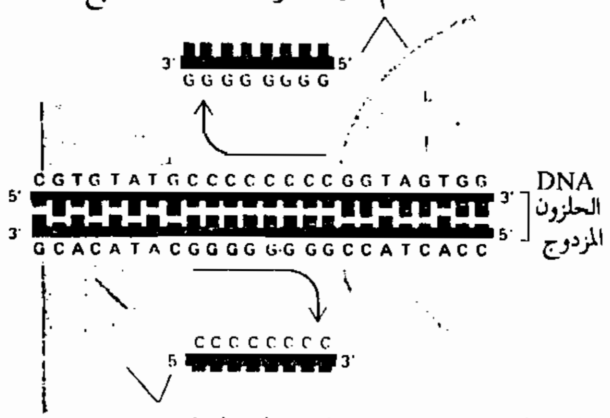
شكل ٢٤ ـ ٨

الخطوات المشتملة فى بناء RNA على DNA القالب.

ثلاثة أنواع مختلفة من إنزيمات بلمرة RNA تقوم ببناء جزيئات RNA فى مميزة النواه

بالرغم من أن الأساس العام لنسخ DNA فى الخلايا مميزة النواة يُماثل ذلك فى الخلايا

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل ٢٤ ـ ٩

نظرا لأن خيطى DNA اللذان يعملان كقالب يجب أن يُنسخا فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ فإن إتجاه حركة إنزيم بلمرة RNA هو الذى سيحدد أى من خيطى DNA يعمل كقالب فى بناء RNA. وإتجاه حركة إنزيم بلمرة RNA يتحدد بدوره بواسطة إشارة البدأ على DNA.

أولية النواة، إلا أن جهاز النسخ يكون أكثر تعقيداً فى النوع الأول من الخلايا عن النوع الثانى. فبينما يتم بناء الأنواع الثلاثة من جزيئات RNA أى mRNA و tRNA و rRNA فى الخلايا أولية النواة بواسطة نوع واحد من إنزيمات بلمرة RNA، نجد أن الخلايا مميزة النواة تحتوى على ثلاثة أنواع من إنزيمات بلمرة RNA التى يرمز إليها بالرمز I و II و III، حيث يقوم كل منها بنسخ مجموعة جينات معينة (جدول ٢٤ ـ ٢). من بين هذه الإنزيمات الثلاثة فإن إنزيم البلمرة II فقط يقوم بنسخ الجينات التى تترجم إلى بروتين. وكما هو متوقَّع فإن هذه الإنزيمات الثلاثة تميز إشارات بدأ مختلفة على DNA.

عدد كبير من جزيئات RNA تُعدَّل كيميائيا بعد النسخ

جزيئات RNA التى تنتج بواسطة إنزيمات بلمرة RNA يُطلق عليها النسخ (المنسوخات)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جدول ٢٤ - ٢

نواتج حفز إنزيمات بلمرة RNA فى الخلايا مميزة النواة

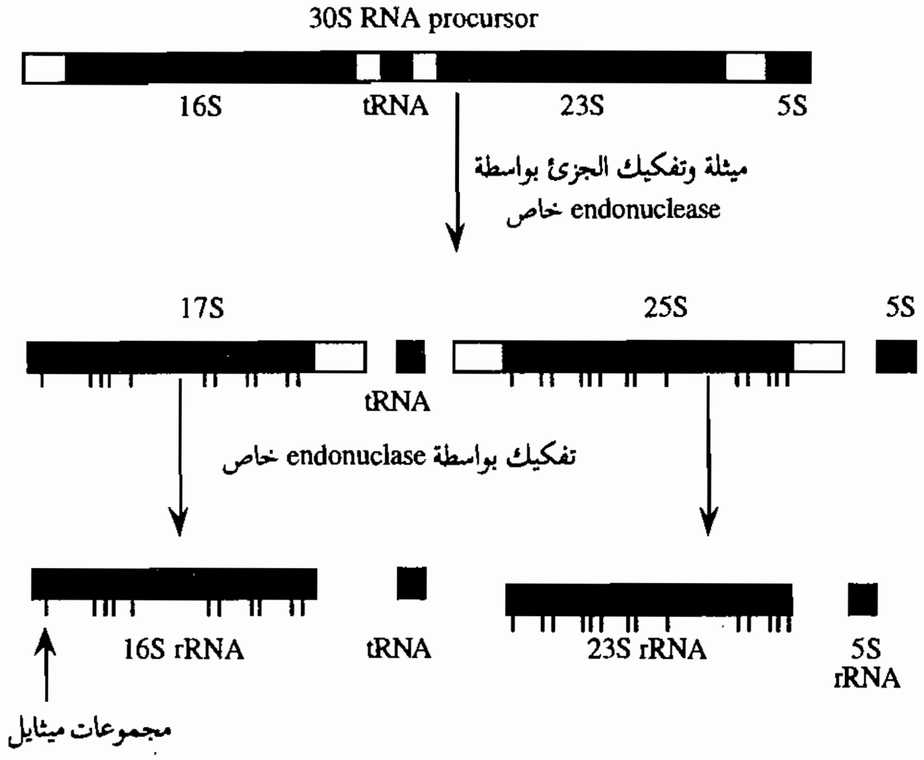
الإنزيم	ناتج الحفز *
RNA Polymerase I	5.8S 18S 28S rRNA
RNA Polymerase II	mRNA
RNA Polymerase III	tRNA, 5S rRNA

* S هى وحدة سفدبرج.
وهى وحدة معامل الترسيب للجزيئات البيولوجية فى مجال الطرد المركزى فائق السرعة. ووحدة S = ١٠^{-١٣} ثانيه.

الأصلية Primary transcripts، وهذه النسخ الأصلية عادة ما يحدث لها تحورات إنزيمية إضافية قبل أن تصبح نشطة وظيفيا. فجزيئات RNA الريبوسومية فى كل الخلايا مميزة النواة والخلايا أولية النواة تنشأ من جزيئات RNA أكبر. ففى الخلايا مميزة النواة نجد أن جزيئات RNA الريبوسومية التى معامل ترسيبها ١٦ (16S) و ٢٣ (23S) تُشتق من جزئ RNA طويل ذو معامل ترسيب ٣٠ (30S). فهذا الجزئ الكبير يحدث له عملية ميثلة عند قواعد محددة ثم يتفكك ليُعطى جزيئات RNA وسيطة لها معامل ترسيب 17S و 25S والتى تُزال أجزاء من أطرافها بواسطة إنزيمات النيوكلييز لتُعطى جزيئات RNA الريبوسومية التى معامل ترسيبها 16S و 23S (شكل ٢٤ ـ ١٠). أما RNA الريبوسومى الذى له معامل ترسيب 5S (5S rRNA) فينتج من النهاية ٣َ للجزئ الأصلى (30S).

فى الخلايا مميزة النواة تنشأ جزيئات RNA الريبوسومية ذات معامل ترسيب 18S و 28S من جزيئات RNA أكبر معامل ترسيبها (45S) وذلك عبر سلسلة من الخطوات التى تشمل إدخال مجاميع ميثايل فى الغالب على مجموعات الهيدروكسيل ٢َ فى وحدة الريبوز فى حوالى ١٠٠ وحدة نيوكليوتيد من بين ١٤٠٠٠ وحدة نيوكليوتيد فى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٤ ـ ١٠

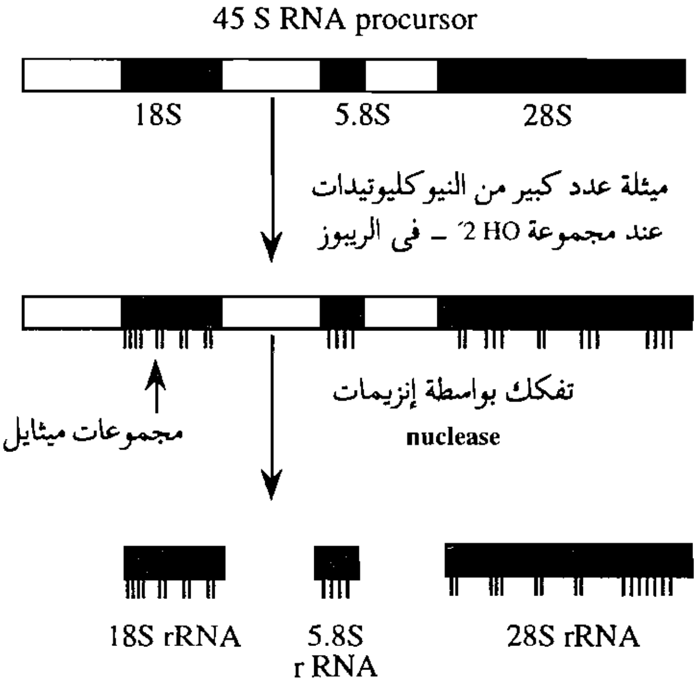
معالجة نسخة RNA الريبوسومية فى الخلايا أولية النواة. فجزيئات 16S rRNA و 23S rRNA تشتق من النسخة الأصلية 30S RNA بواسطة إنزيمات nuclease. وقبل عملية التفكك تحدث عملية ميثلة لبعض القواعد فى جزئ RNA (الخطوط القصيرة). يتكون أيضا جزئ tRNA من منتصف جزئ 30S RNA.

الجزئ. يتبع عملية الميثلة سلسلة من التفكك الإنزيمى التى تؤدى إلى تكوين 18S rRNA و 28S rRNA و 5.8S rRNA (شكل ٢٤ ـ ١١).

جزيئات RNA الناقلة تنشأ أيضاً من جزيئات RNA أكبر وذلك بالإزالة الإنزيمية لبعض وحدات النيوكيوتيدات الذائدة من الطرف ٥َ أو ٣َ. بالإضافة إلى ذلك فإن نسخ RNA الناقلة الأصلية تدخل أيضا فى نوعين مختلفين من العمليات. الأولى إضافة ثلاثة نيوكيوتيدات إلى الطرف ٣َ فى بعض جزيئات RNA، مثال ذلك إدخال الثلاثية CCA

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

إلى النهاية ٣َ فى جزيئات RNA الناقلة التى لاتحتوى أصلاً على التتابع الطرفى. وثانياً فإن بعض القواعد فى جزيئات RNA الناقلة تعدل بواسطة الميثلة والبعض بإزالة مجموعة الأمين والبعض الآخر بالإختزال.



شكل ٢٤ - ١١

معالجة نسخة RNA الريبوسومية من الخلايا مميزة النواة. عملية الميثلة التى تتم فى الخطوة الأولى تتم على مجموعة الهيدروكسيل ٢َ - فى وحدة الريبوز.

جزيئات mRNA التى تتكون بواسطة إنزيم البلمرة II فى الخلايا مميزة النواة يتم تعديلها عند كلا الطرفين

هناك بعض الإختلافات الأساسية بين جزيئات mRNA فى الخلايا مميزة النواة والخلايا أولية النواة فى كل من التركيب والوظيفة:

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١ ـ جزيئات RNA التى تتكون مباشرة بواسطة إنزيم RNA Polymerase II أى النسخ الأصلية عادة مايحدث لها عدة تحورات قبل أن تنتقل من النواة إلى السيتوسول، فعمليتا النسخ والترجمة تكونا منفصلتان فى الوقت والمكان فى الخلايا مميزة النواة بينما تزدوج هاتان العمليتان فى الخلايا أولية النواة.

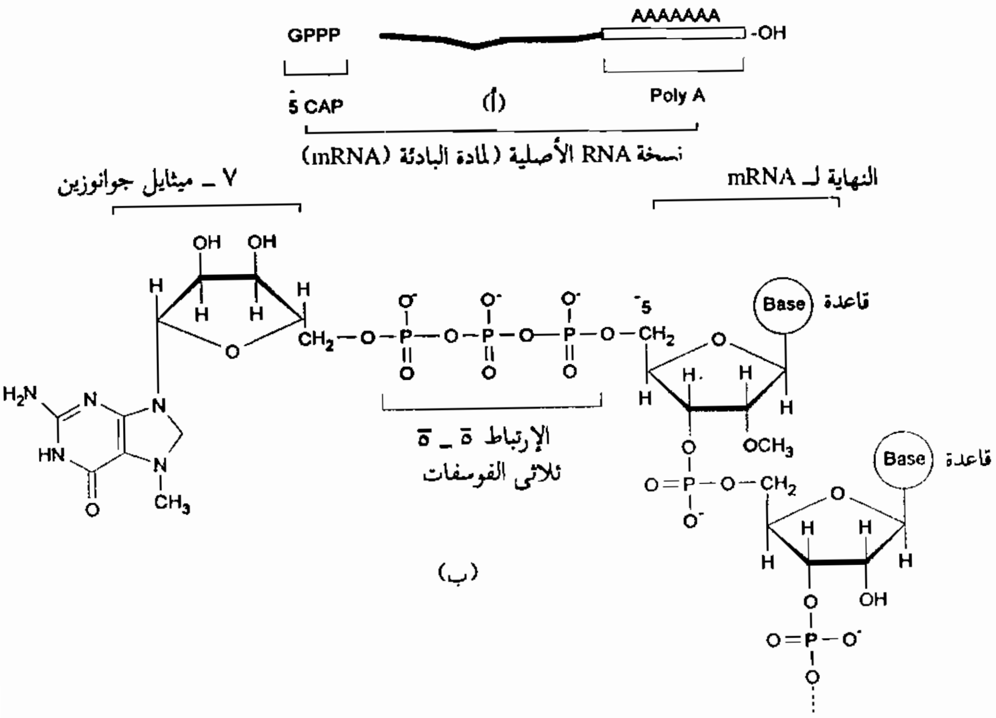
٢ ـ يتراوح حجم النسخ الأصلية فى الخلايا مميزة النواة بين ٢ ـ٢٠ كليو قاعدة، ولذلك يشار إليها بأحماض RNA النووية غير المتجانسة heterogeneous nuclear RNA (hn RNA) نظراً لتباين أوزانها الجزيئية. وهذه الجزئيات عاده ما تكون أطول عدّة مرات من جزيئات RNA الرسول المشتقة منها. وليس من المعروف ما إذا كان لجزيئات RNA النووية غير المتجانسة أى دور آخر غير كونها المادة البادئة لجزيئات RNA الرسول.

٣ ـ جزيئات RNA الرسول فى الخلايا مميزة النواة تكون أحادية الوظيفة monocistron-ic، أى أن كل منها يعمل كقالب لسلسة عديد ببتيد فردية. بالمقارنة فإن عدداً كبيراً من جزيئات RNA الرسول فى الخلايا أولية النواة تكون عديدة الوظيفة pol-ycistronic، أى أن جزئ RNA الرسول يعمل كمصيغ لإثنين أو ثلاثة من سلاسل عديد الببتيد.

٤ ـ جزيئات RNA الرسول فى الخلايا مميزة النواة تحتوى على نيوكليوتيد محوّر عند الطرف ٥َ يعرف بالقمة أو القلنسوة Cap. فيندمج ٧ـ ميثايل جوانوزين بالطرف ٥َ في جزئ RNA الرسول بالإرتباط ٥َ ـ ٥َ ثلاثى الفوسفات (شكل ٢٤ ـ ١٢). ويعتقد أن وظيفة هذا النيوكليوتيد المعدّل ٧ـ ميثايل جوانوزين ثلاثى الفوسفات GPPP هو المشاركة فى ثبات جزيئات mRNA بحماية الطرف ٥َ من إنزيمات الفوسفاتيز والنيوكلييز. بالإضافة إلى ذلك فإنها تشارك فى ارتباط mRNA بالريبوسوم لبدء الترجمة.

٥ ـ معظم جزيئات mRNA فى الخلايا مميزة النواة تحتوى في الطرف ٣َ على ما يقرب من ١٠٠ إلى ٢٠٠ وحدة أدنين متتالية Poly A. ويعتقد أن هذا التعاقب من وحدات الأدنين يشارك فى ثبات mRNA ولكنه ليس مهماً لعملية الترجمة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٤ ـ ١٢

(أ) نسخة RNA التى تتكون بواسطة RNA Polymerase II يتم تعديلها عند الطرف ٥َ بإضافة ٧ـ ميثايل جوانوزين ثلاثى الفوسفات GPPP وإضافة عديد الأدنين Poly A عند الطرف ٣َ.

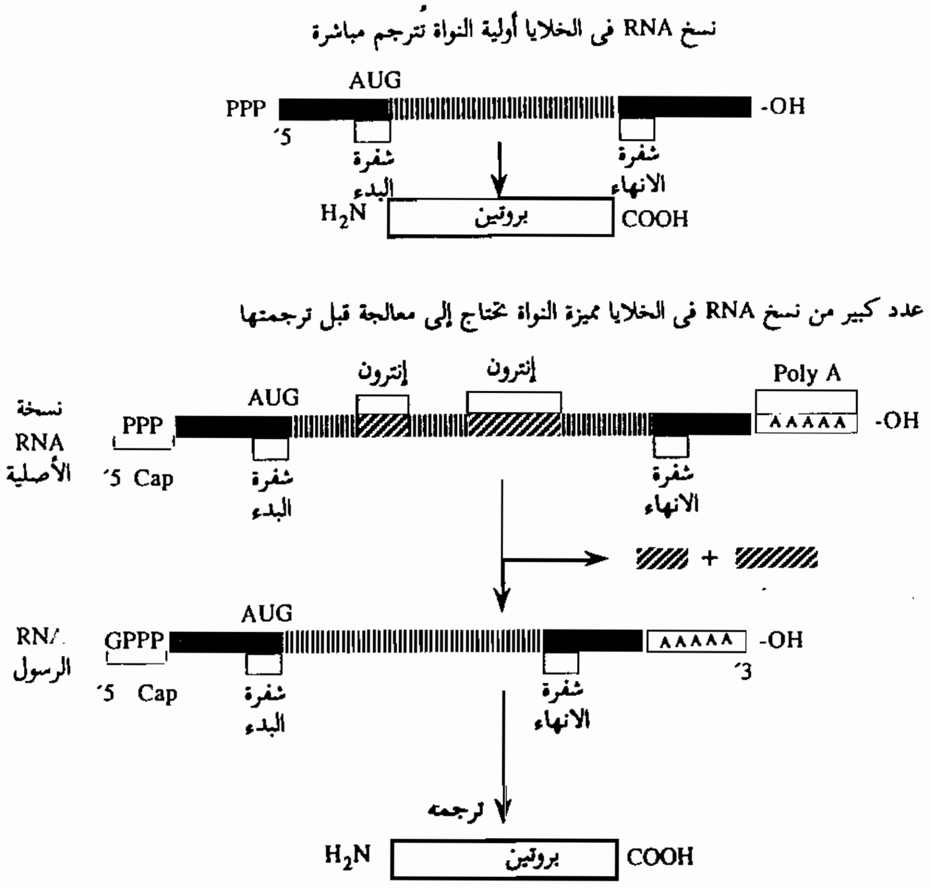
(ب) تركيب القمة ٥َ (5́ - Cap) التى توجد عند الطرف ٥َ فى جزيئات mRNA فى الخلايا مميزة النواه.

المناطق غير المشفَّره (الإنترونات) فى النسخ الأصلية لجزيئات RNA الرسول يتم إزالتها إنزيميا

جزيئات RNA النووية غير المتجانسة هى المادة البادئة لجزيئات RNA الرسول فى الخلايا مميزة النواة. وهذه الجزيئات عادة ما تكون أطول عـدة مـرات من جزيئات RNA الرسول التى تشتـق منهـا. راجـع فى أن الجينات تحتـوى على أجزاء غير مترجمة يطلـق عليها

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

إنترونات introns بينما الأجزاء المشفَّرة فى الجين تدعى بالإكسونات exons، والإنترونات عادة تكون أطول بكثير من الأكسونات. وبأكتشاف الإنترونات فى DNA ظهرت عدة تساؤلات حول ما إذا كانت هذه الإنترونات تنسخ مع الإكسونات لتعطى النسخ الأُصلية لـ RNA (تمثل المادة البادئة لجزيئات RNA الرسول) والتى تكون القواعد فيها ذات علاقة متوازية مع القواعد فى الإكسونات والإنترونات فى DNA، أو أن إنزيم بلمرة RNA ينسخ فقط الإكسونات دون الإنترونات.



شكل ٢٤ ـ ١٣

مقارنة بين نسخ RNA الرسول فى الخلايا أولية النواة والخلايا مميزة النواة. نسخ RNA الرسول فى الخلايا مميزة النواة هى التى تحتوى على إنترونات التى يجب أن تُزال قبل عملية الترجمة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أوضحت الدراسات الوراثية أن إنزيم بلمرة RNA فى الخلايا مميزة النواة ينسخ كل من الإوكسونات والإنترونات بالتتابع الذى توجد عليه فى الجينات لتكوّن النسخ الأصلية لـ RNA التى تحتوى على مجموعة من الأجزاء غير المشفرة التي تكون متتامة مع النيوكليوتيدات فى الإنترونات المقابلة. وهذه الإنترونات يجب أن تزال من كل نسخ RNA حتى يمكن تحويل كل نسخة إلى جزئ RNA رسول الذى يشفّر للبروتين (شكل ٢٤ ــ ١٣). من ناحية أخرى فإن جزيئات RNA الرسول فى الخلايا أولية النواة لا تحتوى على إنترونات ولذلك يتم ترجمتها مباشرة (شكل ٢٤ ــ ١٣).

إنزيمات الوصل المتراكب تزيل الإنترونات من نسخ RNA الأصلية

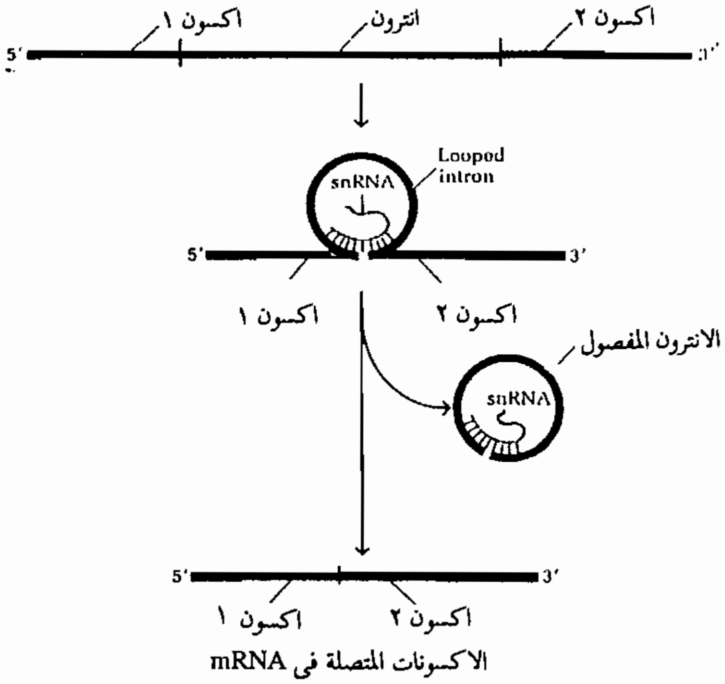
هناك عدة أدلّه تجريبية تشير إلى أن معالجة نسخ mRNA لإزالة الإنترونات غير المترجمة تتم بطريقة لاتنفصل فيها الإكسونات (الأجزاء المترجمة) فيزيائيا عن بعضها. فالإكسونات المتتابعة يتم وصلها ببعض بواسطة إنزيمات الوصل المتراكب Splicing en-zymes التى يتعاون معها نوع آخر من جزيئات RNA التى توجد فى النواة يطلق عليها جزيئات RNA النووية الصغيرة Small nuclear RNAs (Sn RNAs). وهذه الجزيئات الصغيرة والتى تحتوى على حوالى ١٠٠وحدة نيوكليوتيد لها تتابع قواعد متتام مع القواعد فى نهايتى كل إنترون. فإزدواج القواعد بين Sn RNA ونهاية الإنترون الذى يأخذ شكل حلقى يدفع الأكسونات المتتالية فى الوضع المناسب للوصل الإنزيمى للإكسونات وإزالة الإنترون الفاصل (شكل ٢٤ ــ ١٤).

وبعد إزالة جميع الإنترونات بهذه الطريقة والتى تُكمّل معالجة نسخ mRNA الأصلية فإن جزيئات mRNA الناتجة تترك النواة إلى السيتوبلازم. أما أجزاء الإنترونات المفصولة من النسخ الأصلية من ناحية أخرى يتم هدمها بواسطة إنزيمات النيوكلييز nucleases.

DNA يتم نسخه من جزيئات RNA الفيروسية بالنسخ العكسى (المضاد)

بعض فيروسات RNA المسببة للسرطان فى الأنسجة الحيوانية مثل فيروس Rous Sarco-ma Virus المسبب للسرطان فى الطيور تحتوى على إنزيمات بلمرة DNA التى توجّه

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

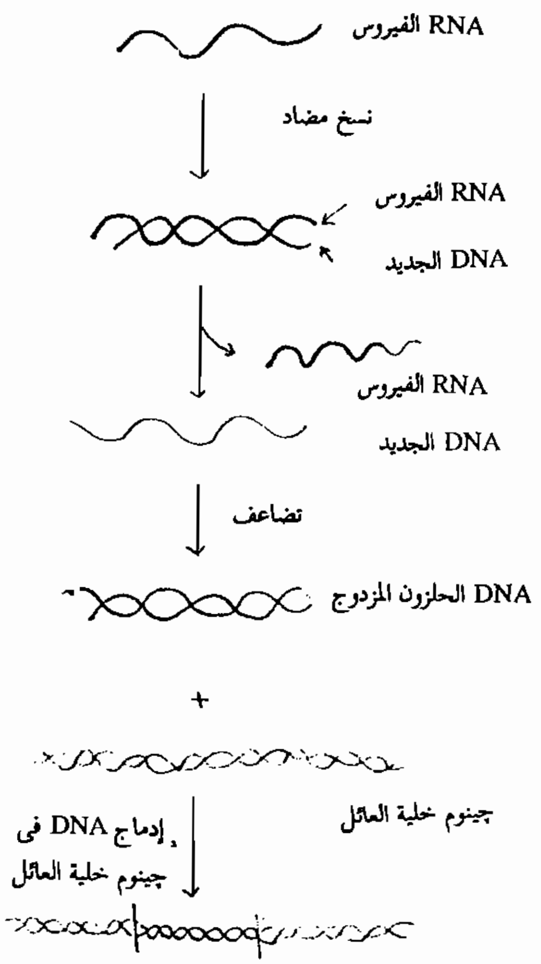


شكل ٢٤ـ ١٤
رسم تخطيطى يُوضح كيف تشارك إنزيمات الوصل المتراكب وجزيئات RNA النووية الصغيرة فى إزالة الإنترون من نسخة RNA الأصلية البادئة.

بواسطة RNA ويُطلق عليها عادة reverse transcriptase. فبعد دخول الفيروس إلى خلايا العائل فإن إنزيم البلمرة الفيروسى يحفز البناء الإنزيمى لسلسلة DNA التى تكون متتامة مع سلسلة RNA الفيروسية ويتكون هجين RNA-DNA. ثم تنفصل سلسلة DNA المتكوّنة ويُبنى عليها سلسلة متتامه أخرى من DNA. وبتكوين DNA الذى يحتوى على جينات مسببة للسرطان فإنه يندمج فى جينوم خلايا العائل، وهذه الجينات ربما تظل ساكنة ولايتم ترجمتها لعدة أجيال (شكل ٢٤ ـ ١٥). ولكن تحت ظروف خاصة فإنه يتم تنشيط الجينات الفيروسية التى تعمل على تضاعف الفيروس. وتحت ظروف أخرى فإن هذه الجينات قد تعمل على تحوُّل الخلية العادية إلى خلية سرطانية.

وإنزيمات reverse transcriptase التى توجد فى فيروسات RNA المسببة للأورام

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٤ ـ ١٥

بناء DNA من RNA المصيغ بواسطة النسخ العكسى وإدماج DNA فى جينوم خلايا العائل.

تُثْبت أن سريان المعلومات الوارثية قد يكون عكسياً من RNA إلى DNA، كما أنها توضح ميكانيكية إدماج الجينات السرطانية التى تحمل فى صورة RNA فى خلايا العائل.

وهناك من الأدلّة المتزايده ما يشير إلى أن DNA لعدد كبير من أنواع الحيوانات يحتوى على جينات التى نشأت فى الأصل من RNA الفيروسية حتى لو لم تتعرض هذه الحيوانات بذاتها إلى هذه الفيروسات. وهذه المشاهدات قد أدّت إلى افتراض أن

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جينات بعض RNA الفيروسية قد إدمجت فى كروموسومات أسلاف هذه الحيوانات وانتقلت بذلك من جيل إلى الجيل التالى بواسطة تكرر DNA الخلوى بما فى ذلك جينات السرطان Cancer genes (أو الإنكوجينات oncogenes) التى ادخلت فى الأصل فى صورة RNA فيروسى. وأحد النظريات لمنشأ السرطان هو أن كروموسوماتنا تحتوى على جينات سرطان ساكنة، وأن هذه الجينات السرطانية (الإنكوجينات onco-genes) عاده لايتم نسخها، ولكن عند تنشيطها بتعريض الجينوم للعوامل المسرطنة Car-cinogenic agents فإنه يتم نسخ الإنكوجينات وترجمتها لتعطى نواتج جينيّة تحوّل خلية الإنسان العادية إلى خلايا خبيثة malignant cells. ويعتقد أن ذلك يتم عن طريق تداخل هذه الجينات السرطانية فى ميكانيكية تنظيم التعبير الجينى للجينات التى تتحكم فى معدّل انقسام الخلايا.

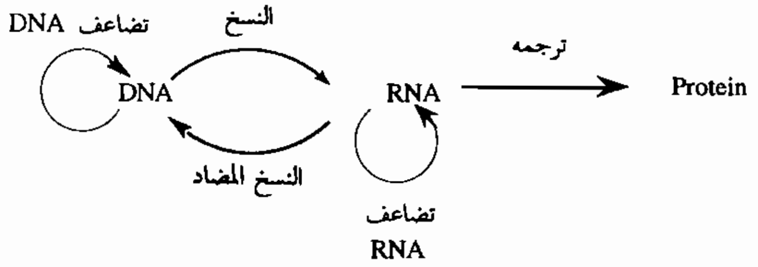
بعض جزيئات RNA الفيروسية تتضاعف بواسطة إنزيم بلمرة RNA الموجّه من RNA

بعض الفيروسات المحللة لبكتريا القولون E. coli bocteriophages يكون الكروموسوم فيها عبارة عن RNA بدلا من DNA. وجزيئات RNA فى هذه الفيروسات والتى تعمل كـ m RNA لبناء البروتينات الفيروسية تتضاعف فى خلايا العائل تحت حفز إنزيم RNA replicase، وهو عبارة عن إنزيم بلمرة RNA مُوجّه من RNA. وهذه الإنزيمات لا توجد عادة فى خلايا بكتريا القولون العائل ولكنها تتكون استجابة لـ RNA الفيروسى.

تكوين سلسلة RNA جديدة بهذا الإنزيم يتم فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ ويحتاج الإنزيم إلى RNA كقالب لكنه لا يعمل مع DNA، فالإنزيم لايُماثل إنزيم بلمرة RNA أو DNA فى أنه يكون متخصص للقالب. وعلى ذلك فإن إنزيم RNA replicase يستخدم فقط RNA الفيروسى كقالب وبذلك لايتم تضاعف RNA لخلايا العائل.

النسخ المضاد (العكسى) وتضاعف RNA يستدعى أن يُعدّل المبدأ الرئيسى Central dogma للوراثه الجزيئية ليأخذ الصوره الموضحة فى شكل (٢٤ ـ ١٦).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٤ ـ ١٦

امتداد المبدأ الرئيسى للوراثة الجزيئية ليشمل النسخ المضاد وتضاعف RNA .

كان لإكتشاف إنزيمى reverse transcriptase و RNA replicase أثر كبير فى تطور مجالات الهندسة الوراثية التى تتضمن إضافة أو إزالة أو تغيير فعل إنزيمى (جين) ما داخل الخلية. ففى كثير من الأحيان يكون من السهل الحصول على الرسالة الوراثية (جين) المرغوبة فى صورة RNA بدلا من DNA الذى يصعب فصله وتنقيه من الجينوم. ويمكن تكوين نسخ عديدة من الرسالة الوراثية فى mRNA باستخدام إنزيم RNA replicase، ثم تحوّل الرسالة الوراثية من mRNA إلى DNA (جين) بواسطة إنزيم reverse transcriptase. يتم بعد ذلك إدخال الجين (DNA) وإدماجة فى جينوم البكتريا حيث يتم نسخه وترجمته للحصول على ناتج الجين (بروتين).

عملية النسخ (بناء RNA) تُثبّط بواسطة بعض المضادات الحيوية

تم تمييز عدد كبير من مثبطات تخليق RNA التى ثبت أهميتها فى التعرُّف على ميكانيكية النسخ وفى فصل سلالات طافرة التى تكون إنزيماتها مقاومة للتثبيط. ومن هذه المثبطات المضاد الحيوى ريفاميسين rifamycin والمضاد الحيوى شبه الإصطناعى ريفامبسين rifampicin اللذان يثبطان بناء RNA فى أولية النواة وليس مميزة النواة. فيتداخل ريفامبسين مع تكوين رابطة الفوسفات ثنائيه الإستر الأولى فى سلسلة RNA. من ناحية أخرى نجد أن هذا المضاد الحيوى لا يمنع ارتباط إنزيم RNA polymarase

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع DNA القالب، كما أن إستطالة سلسلة RNA لاتتأثر بهذا المثبط. وهذه الدرجة العالية من الإنتقائية فى تثبيط بناء RNA يجعل ريفامبسين أداة تجريبية مفيدة. مثال ذلك أنه يمكن إستخدام هذا المضاد الحيوى فى تثبيط بدء بناء سلاسل RNA جديدة دون التأثير على نسخ السلاسل التى بدأت فى مرحلة الإستطالة. ويبدو أن موضع تأثير ريفامبسين هو الوحدة بيتا (β) فى إنزيم بلمرة RNA.

المضاد الحيوى أكتينوميسين ـ د (actinomycin D) يثبط عملية النسخ بطريقة مختلفة. فيرتبط اكتينوميسين ـ د بقوة مع DNA الحلزون المزدوج وبذلك يمنع DNA من العمل كقالب فعّال فى بناء RNA. ولقد أوضحت الدراسات الطيفية والهيدروديناميكية أن حلقة الفينوأكسازون Phenoxazon ring فى الاكتينوميسين تنزلق بين أزواج القواعد المتجاورة فى DNA محدثة تشوّه فى DNA الذى يمنع حركة إنزيم بلمرة RNA عبر القالب. وهذا النوع من الإرتباط يطلق عليه الإقحام intercalation، ولهذا يستخدم أكتينوميسين ـ د كمثبط لبناء RNA فى كل من الخلايا مميزة النواة وأولية النواة.

المثبط المميز لعملية النسخ فى مميزة النواة هو ألفا أمانيتين α - amanitin، وهو المادة السامة الأساسية فى فطر عيش الغراب السام Amanita phalloids. وهذه المادة السامة تثبط إنزيم RNA Polymerase II فى مميزة النواة ولكنها لاتؤثر على إنزيم RNA Poly-merase I أو إنزيمات بلمرة RNA فى البكتريا أو الميتوكوندريا أو الكلوروبلاست.

مركب Cordycepin (٣ ـ دى أوكسى أدينوزين) فى صورته المفسفرة الثلاثية يعتبر أحد مشابهات القواعد ويثبط معظم إنزيمات RNA Polymerase، حيث يندمج فى سلسلة RNA النامية ولكنه يسبب إنهاء الإستطالة حيث أنه لايحتوى على مجموعة الهيدروكسيل الثالثة اللازمة لتكوين رابطة الفوسفات ثنائية الإستر التالية.

تحديد تتابع القواعد فى RNA

يُمكن فى الوقت الحالى تحديد تتابع القواعد فى جزيئات RNA وذلك بإستخدام إنزيمات endonucleases و exonucleases وتقنية إلكتروفوريسيس الجيل. فتعلّم أولا

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

النهايات ٥َ و ٣َ فى سلسلة RNA بمجموعات نشطة إشعاعيا. ثم تهضم السلسلة المعلّمة جزئيا لتنتج مجموعة من الأجزاء الصغيرة. ويمكن إجراء عملية التحلل الجزئى الإنتقائية إنزيميا بواسطة إنزيمات النيوكلييز المتخصصة (جدول ٢٤ ـ ٣).

جدول ٢٤ ـ ٣

الإنزيمات المستخدمة فى تحديد تتابع القواعد فى RNA (X و Y و Z و N تعبر عن أى من القواعد الأربعة)

الإنزيم	النوع	موضع الإنشطار	الناتج
Ribonuclease T_1	Endo; and exonuclease	- XpGpYpZ -	- XpGp + YpZ -
Pancreatic ribonuclease	Endo; and exonuclease	- XpUpYpZ -	- XpUp + YpZ -
		- XpCpYpZ -	- XpCp + YpZ -
Ribonuclease U_2	Endo-, and exonuclease	- XpGpYpZ -	- XpGp + YpZ -
		- XpApYpZ -	- XpAp + YpZ -
Ribonuclease 1	Endo-, and exonuclease	- XpNpYpZ -	- XpNp + YpZ-
(From P. Polycephalum)	N = A, G, U	- YpZp	- YpZ + P_i
Alkaline phosphatase (From E.Coli)	Phosphatase	PxpY -	XpY + P_i
Bovin-Spleen phosphodiestrase	Exonuclease	XpYpZ	Xp + YpZ
Snake-Venom Phosphodiestrase	Exonculease	- XpYpZ	- XpY + pZ
Polynucleotide Kinase	Kinase	ATP + XpYp -	PXpYp - + ADP

والأجزاء الناتجة يمكن فصلها بواسطة إلكتروفوريسيس الجيل، وتتابع القواعد فى سلسلة RNA يمكن قراءتها مباشرة بواسطة التصوير الإشعاعى الذاتى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجــع

Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Reberts, and I. D. Watson: Moleculor Biology of the Cell, 2nd ed., Garland Publishing Inc., New York, 1989.

Adhya, S., and M. Gottesman: "Control of Transcription Termination", Ann. Rev. Biochem. 47: 967 - 996 (1978).

Altman, S.: Biosynthesis of tRNA. In Altman, S., (ed.) Tranfer RNA. PP 48 - 77. MIT Press, 1978

Brenner, S., F. Jacob, and M. Meselson: An Unstable Intermediate Carrying Information From Genes to Ribosomes for Protein Synthesis. Nature, 190 : 576 - 581 (1961).

Burgess, R. R., A. A. Travers, J. J. Dunn, and E. K. Bautz: Factor Stimulating Transcription by RNA Polymerase. Nature, 221 : 43 - 46 (1969).

Chamberlin, M., J. : The Selectivity of Transcription. Ann Rev. Biochem. 43 : 721 - 776 (1974).

Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Bruening, and R. H. Doi: Outlines of Biochemistry (5 th ed.), John Wiley & Sons, 1987.

Lehninger, A. L.: Principles of Biochemistry, Worth, New York, 1982

Losick, R., and M. Chamberlin (eds.): RNA Polymerase. Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1976.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Miller, O. L., : The visualization of Genes in Action, Sci. Am. 228 : 34 - 42, March (1973).

Perry, R. P.: Processing of RNA. Ann. Rev. Biochem., 45 : 605 - 630, 1976.

Strayer, L.: Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

Temin, H.: "RNA - Directed DNA Synthesis," Sci. Am., 226 : 24 - 33, January (1972).

Travers, A.: RNA Polymerase Specificity and the Control of Growth, Nature, 263: 641 - 646, (1976).

Zubay, G. (coord. author): Biochemistry, Addison - Wesley, Reading Mass., 1983.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تماريــــن

١ـ قارن بين DNA Polymerase I و RNA Polymerase فى بكتريا القولون من الجوانب التالية:

(أ) تركيب تحت الوحدات

(ب) المواد البادئة المنشطة.

(جـ) إتجاه إستطالة السلسلة

(د) أنشطة Nuclease

(هـ) المحافظة على القالب

(و) الإحتياج إلى بادئ Primer

(ز) طاقة تفاعل الإستطالة

٢ ـ تم نسخ أحد خيوط جزئ DNA بصورة كاملة إلى mRNA بواسطة RNA Polymerase . وكانت نسبة القواعد فى خيط DNA القالب هى G = ٢٤,١ ٪ ، C = ١٨,٥ ٪، A = ٢٤,٦ ٪ و T = ٣٢,٨ ٪. لذلك فإن نسبة القواعد فى جزئ RNA المتكون حديثا تكون:

(أ) G = ٢٤,١ ٪، C = ١٨,٥ ٪، A = ٢٤,٦ ٪ و U = ٣٢,٨ ٪

(ب) G = ٢٤,٦ ٪، C = ٢٤,١ ٪، A = ١٨,٥ ٪ و U = ٣٢,٨ ٪

(جـ) G = ١٨,٥ ٪، C = ٢٤,١ ٪، A = ٣٢,٨ ٪ و U = ٢٤,٦ ٪

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(د) G = ٣٢,٨٪، C = ٢٤,٦٪، A = ١٨,٥٪ و U = ٢٤,١٪

(هـ) لا أحد من هذه النسب

٣ ـ أحد خيوط جزئ DNA يحتوى على ١٠^{٥} قاعدة بنسب القواعد التالية A = ٢١٪، G = ٢٩٪، C = ٢٩٪ و T = ٢١٪ تم تكروه لينتج خيط متمم. DNA المزدوج الناتج استخدم كقالب بواسطة RNA Polymerase الذى نسخ الخيط الجديد فى DNA المزدوج لينتج خيط RNA يحتوى على نفس العدد من القواعد

(أ) حدد نسب القواعد فى RNA المتكون

(ب) إفترض أن RNA Polymerase يقف نشاطه بعد أن يقوم بنسخ ٢٠٠٠ قاعدة فقط من خيط DNA الجديد. ما هى نسب القواعد فى RNA القصير الجديد.

٤ ـ أكتب تتابع القواعد فى جزئ mRNA الذى يُشيَّد من خيط DNA القالب الذى يحتوى على التتابع التالى:

´5 - ATCGTACCGTTA - ´3

٥ ـ جزئ RNA يتحلل مائيا بسهولة بواسطة القواعد بينما DNA ليس كذلك. كيف تفسر ذلك.

٦ ـ كيف يمكن لمركب Cordycepin (´3 - deoxyadenosine) إيقاف تخليق RNA؟

٧ ـ جزئ DNA سوف يهجن مع جزيئات mRNA المنسوخة منه. كيف تفسر أن ٥٠٪ على الأكثر من DNA الكلى لبكتريا القولون يمكن أن يهجن مع كل جزيئات mRNA لبكتريا القولون.

٨ ـ ما هى النواتج المتوقعة من الهضم الجزئى للأليجونيوكليوتيد التالى:

´5 - PGCAGUACUGUC - ´3

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بواسطة كل من الإنزيمات التالية:

(أ) Pancreatic ribonuclease

(ب) Ribonuclease T_1

(جـ) Ribonuclease U_2

(د) Physarum ribonuclease I

٩ ـ التحلل المائى المكثف لأحد الأليجونيوكليوتيدات بواسطة إنزيم Pancreatic ribo-nuclease ينتج Cp، 2Up، AGCp و GAAUp. التحلل المائى لنفس الأليجونيوكليوتيد بواسطة إنزيم ribonuclease T_1 يعطى AAUp، UAGp و CCUGp. ما هو تتابع الأليجونيوكليوتيد.

١٠ ـ إنزيمات DNA Polymerase لها القدرة على كشف وتصحيح الأخطاء فى سلاسل DNA الجديدة. من ناحية أخرى فإن إنزيمات RNA Polymerase ليس لها هذه الكفاءة. هل يمكن أن تُعطى تفسير بيولوجى مناسب لهذا الإختلاف الدقيق؟

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فصل ٢٥

البناء الحيوى للبروتين

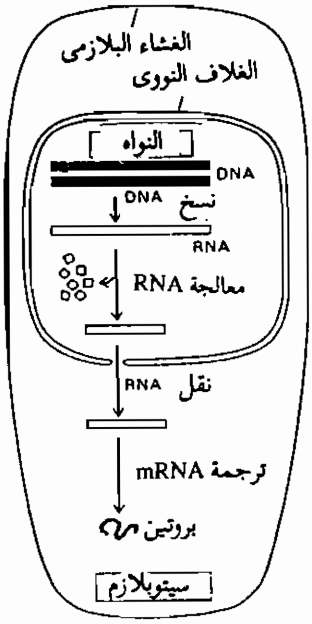
Biosynthesis of Protein

أوضحنا فى الفصل السابق كيف تُنسخ المعلومات الوراثية من جزئ DNA إلى جزئ mRNA وهو الحامل الوسيط للمعلومات بين الجين وسلسلة عديد الببتيد المقابلة. وفى هذا الفصل سنوضح ترجمة المعلومات الوراثية المتضمنة فى تتابع النيوكليوتيدات فى mRNA إلى تتابع للأحماض الأمينية فى البروتين. يبدأ البناء الحيوى للبروتين بنسخ جينات معينة فى صورة mRNA وينتهى بتجميع الأحماض الأمينية فى نواتج نشطة للجينات وهى البروتينات (شكل ٢٥ ـ ١). وهذا التفاعل الكلى والذى يشمل إعادة صياغة تتابع النيوكليوتيدات فى الأحماض النووية فى صورة تتابع للأحماض الأمينية فى البروتينات يدعى بالترجمة translation. والعلاقة المتناظرة بين تتابع القواعد فى DNA (أو mRNA المنسوخ منه) وتتابع الأحماض الأمينية فى البروتين يطلق عليها الشفرة الوارثية genetic code. فالمعلومات الوراثية الموجودة على الجين تنتظم فى ثلاثيات كل منها يتألف من ثلاثة قواعد تُعرف بالكودون Codon أو شفرة ثلاثية الذى يحدد كل منها موضع حمض أمينى واحد فى سلسلة عديد الببتيد.

يتم البناء الحيوى للبروتين فى كل الأنظمة الحية على عُضيّات (جسيمات) خلوية تُعرف بالريبوسومات ribosomes. وتعمل الريبوسومات على قراءة القواعد فى mRNA، وفى أثناء هذه العملية فإن الريبوسومات ترتبط وتتحرك عبر سلسلة mRNA. وعادة ما

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يشترك عدد من الريبوسومات فى قراءة القواعد فى جزئ mRNA واحد فى نفس الوقت والتركيب الناتج يعرف بالبوليسوم Polysome.



شكل ٢٥ ـ ١

رسم تخطيط لعملية بناء البروتين (DNA → RNA → Protein) فى الخلايا مميزة النواه.

الكودون عبارة عن تتابع محدد من ثلاث قواعد

إن العلاقة التى تحكم ترجمة تتابع النيوكليوتيدات (القواعد) فى الجين إلى تتابع للأحماض الأمينية فى البروتين تعرف بالشفرة الوراثية genetic code. ولقد أوضحت التجارب الوراثية أن تتابع القواعد فى جزئ mRNA الذى يعمل كمركب وسيط فى نقل المعلومات الوراثية تقرأ فى ترتيب متسلسل فى مجموعات من ثلاث قواعد، وكل ثلاثية من القواعد والتى تعرف بالكودون Codon تحدد حمض أمينى واحد. ونظر لأن جزئ mRNA عبارة عن بوليمر خطى من أربع قواعد مختلفة، فإن هناك متسع لتكوين ٤^٣=٦٤ شفرة ثلاثية (كودون) مختلفة. ولقد أمكن التعرُّف على تتابع القواعد فى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الأربعة وستون كودون (شكل ٢٥ ـ ٢)، كما أمكن أثبات أنَّ واحد وستون كودون تستخدم فى تحديد الأحماض الأمينية بينما الثلاثة كودونات الأخرى تُستخدم كإشارة إنهاء بناء سلسلة عديد الببتيد. ونظراً لأنه يوجد عشرين حمضاً أمينياً فإن كل منهم يتحدد بعدة كودونات، ومعنى ذلك أن الشفرة تكون متكررة. وباستثناء التربتوفان

الموضع الأول الطرف ٥َ	الموضع الثانى U	C	A	G	الموضع الثالث الطرف ٣َ
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Stop	Stop	A
	Leu	Ser	Stop	TrP	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

شكل ٢٥ ـ ٢

الشفرة الوراثية. مجموعات من ثلاثة قواعد فى mRNA (كودونات) تُترجم إلى أحماض أمينية أثناء بناء البروتين. مثال ذلك أن الكودون GUG تترجم إلى فالين بينما الكودون GAG تترجم إلى حمض جلوتاميك.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والمثيونين الذى يحدد كل منهما بثلاثية واحدة، فإن الثمانية عشر حمض أمينى الأخرى تحدد بإثنين أو أكثر من الثلاثيات وهذا ما يعرف بترادف (أو تحلل) الشفرة الوراثية de-genaracy of the genetic code . والكودونات التى تحدد نفسى الحمض الأمينى تعرف بالمترادفات Synonyms .

فى معظم الحالات عندما يكون للحمض الأمينى أكثر من كودون يكون الإختلاف بين هذه الكودونات فى القاعدة الثالثة فقط، مثال ذلك أن الألآنين يحدد بواسطة الثلاثيات GCU و GCC و GCA و GCG. ويظهر من ذلك أن القاعدة الأولى والثانية التى تشترك فى الكودونات الأربعة هما اللّتان تحددان تخصص الشفرة أمّا القاعدة الثالثة تكون أقل تخصصاً.

وأحد الخصائص العامة للشفرات أنها متماثلة فى جميع الأنواع التى أُختبرت والتى تشمل الإنسان وبكتريا القولون ونبات الدخان والبرمائيات وغيرهم من الكائنات. ومن الأمور المتفق عليها الآن أن الشفرة الوراثية عامة Universal بين جميع الكائنات.

البناء الحيوى للبروتين يتم فى خمس خطوات رئيسية

دعنا الآن نُوضّح عملية البناء الحيوى للبروتين بصورة عامة قبل أن نناقش خطواتها بشئ من التفصيل. من المعروف فى الوقت الحالى أن البناء الحيوى للبروتين يتم فى خمس خطوات رئيسية، ويحتاج إلى معاونة عدد كبير من الجزيئات. ورغم أن البناء الحيوى للبروتين متماثل من الناحية الأساسية فى الخلايا مميزة النواة والخلايا أولية النواة فإن هناك بعض الإختلافات فى التفاصيل.

يُبنى البروتين فى إتجاه مجموعة الأمينو إلى مجموعة الكربوكسيل بالإضافة المتتالية للأحماض الأمينية إلى النهايه الكربوكسيلية لسلسلة عديد الببتيد النامية. وتشمل الخطوة الأولى فى بناء البروتين تنشيط الأحماض الأمينية وذلك بإرتباط كل حمض أمينى بأحد جزيئات RNA الناقلة (tRNA) على حساب طاقة ATP وتكوين أمينو أسايل tRNA وهو الصورة النشطة للحمض الأمينى. ومن المعروف أنه يوجد على الأقل نوع واحد من جزيئات tRNA لكل حمض أمينى. أمّا الخطوات التالية فى بناء البروتين تشمل البدء

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والإستطالة والإنهاء. فتؤدى مرحلة البدء إلى إرتباط جزئ tRNA (المرتبط بالحمض الأمينى البادئ) مع إشارة على جزئ mRNA هى الموضع P (Peptidyl site) على الريبوسوم والذى يمثل واحد من موضعى الإرتباط لجزئ tRNA. أما مرحلة الإستطالة فتبدأ بإرتباط أحد جزيئات أمينو أسايل tRNA مع موضع الارتباط الآخر على الريبوسوم والذى يعرف بالموضع A (aminoacyl Site). ثم تتكون بعد ذلك رابطة ببتيدية بين مجموعة الأمينو فى أمينو أسايل - tRNA القادم ومجموعة الكربوكسيل فى الحمض الأمينى البادئ. ينتقل الببتيد الثنائى - tRNA من الموضع A إلى الموضع P حيث تنفرد جزيئات tRNA الأخرى من الريبوسوم. ثم يرتبط بعد ذلك جزئ أمينوأسايل - tRNA آخر فى الموضع A ليبدأ دورة إستطالة أخرى. ويتم إكتمال بناء سلسلة عديد الببتيد عند قراءة إشارة الإيقاف (الإنهاء) على جزئ mRNA بواسطة بروتين عامل الإنفصال والذى يؤدى إلى فصل سلسلة عديد الببتيد من الريبوسوم. وأخيراً فإنه لتكوين الهيئة البيولوجية النشطة فإن سلسلة عديد الببتيد تنطوى لتأخذ الشكل المجسم ثلاثى الأبعاد. بالإضافة إلى ذلك فإن سلسلة عديد الببتيد قد تُعدّل إنزيمياً قبل عملية الطى لإزالة الأحماض الأمينية البادئة، كما قد يتم إدخال مجموعات فوسفات أو ميثايل أو كربوكسيل فى بعض الأحماض الأمينية لسلسلة عديد الببتيد.

جزيئات tRNA ضرورية لتنشيط الأحماض الأمينية وتحديد تتابعها فى سلسلة عديد الببتيد

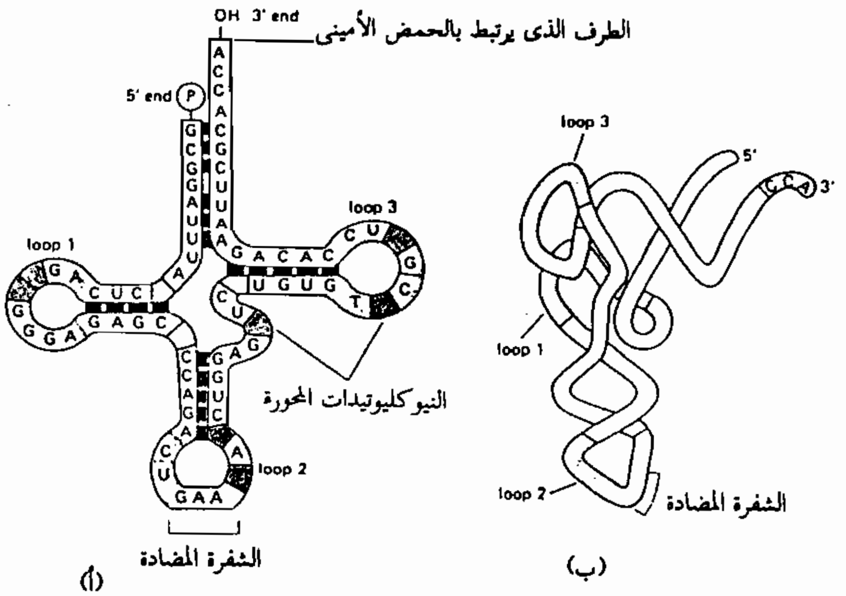
تعتبر جزيئات RNA الناقلة (tRNA) العوامل الأساسية فى بناء البروتين التى ترتبط بها الأحماض الأمينية قبل دخولها فى عملية البلمرة. فإرتباط الأحماض الأمينية عن طريق مجموعتها الكربوكسيلية بجزيئات tRNA يُنشّطها ويحوّلها إلى صورة مرتفعة فى الطاقة التى تُكوّن الروابط الببتيدية تلقائياً. وعملية التنشيط هذه تكون ضرورية لبناء البروتين حيث أن تكوين الرابطة الببتيدية بين الأحماض الأمينية الحرة لاتكون مناسبة من الناحية الثرماديناميكية.

إرتباط الأحماض الأمينية مع جزيئات tRNA ليس مهماً فقط لتنشيط مجموعاتها

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الكربوكسيلية اللازمة لتكوين الروابط الببتيدية، ولكن أيضاً لأن الأحماض الأمينية بذاتها ليس لها القدرة على تمييز الكودونات على mRNA. فتحمل الأحماض الأمينية إلى الريبوسوم بواسطة جزيئات tRNA متخصصة التى يمكن لها التعُّرف على وتمييز الكودونات على جزئ mRNA، وبذلك فإن جزيئات tRNA تعمل كوصيلات مهايئة adaptor.

ولتفهُّم كيفية عمل جزيئات tRNA كوصيلات مُهايئة فى ترجمة تتابع القواعد فى الأحماض النووية إلى تتابع للأحماض الأمينية فى البروتين يكون من الضرورى توضيح تركيب جزيئات tRNA. فقد أدت دراسة تتابع القواعد فى عدد من جزيئات tRNA وكذلك نتائج دراسة الأشعة السينية إلى إستنتاج أن جميع جزيئات tRNA لها الخواص التركيبية التالية (شكل ٢٥ ـ ٣):



شكل ٢٥ ـ ٣

تركيب جزئ tRNA (أ) مخطط عام للتركيب موضحا فيه مناطق إزدواج القواعد فى الجزئ. (ب) التركيب المجسم ثلاثى الأبعاد كما أوضحته دراسة إنحراف الأشعة السينية.

١ ـ جزئ tRNA عبارة عن سلسلة فردية تحتوى مابين ٧٣ و ٩٣ وحدة ريبونيوكليوتيد.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢ ـ تحتوى جزيئات tRNA على عدد من القواعد غير العادية (المحوّرة) التى تتراوح بين ٧ إلى ١٥ لكل جزئ. وعدد كبير من هذه القواعد عبارة عن مشتقات ميثيلية methylated derivatives للقواعد الأساسية والتى تتكوّن بالتعديل الإنزيمى لنسخ tRNA الأصلية. والدور الحقيقى لهذه القواعد المحوّرة غير مؤكد، لكن أحد الإحتمالات هو أن عملية الميثلة تمنع إزدواج القواعد وبالتالى تؤدى إلى وجود نتوءات ضرورية لبعض التفاعلات الأخرى. أيضاً فإن عملية الميثلة تضفى خصائص هيدرفوبية لبعض مناطق جزيئات tRNA التى قد تكون مهمة فى تفاعلاتها مع الإنزيمات والبروتينات الريبوسومية.

٣ ـ الطرف ٥َ لجزيئات tRNA تكون مفسفرة وعادة تكون فوسفات الجوانين.

٤ ـ تتابع القواعد فى الطرف ٣َ لجزيئات tRNA يكون سايتوزين ـ سايتوزين ـ أدنين (CCA)، حيث يرتبط الحمض الأمينى المنشّط بمجموعة الهيدروكسيل الثالثة فى وحدة الريبوز للأدينوزين الطرفى.

٥ ـ نصف القواعد تقريبا فى جزيئات tRNA تكون فى حالة ازدواج مُكوِّنة مناطق من الحلزون المزدوج، بينما تكون خمس مجموعات من القواعد غير مزدوجة مُكوِّنة خمسة أزرع أو حلقات Loop. وإثنان من هذه الأزرع تشارك فى عملية المهايئة وهى زراع الإرتباط بالحمض الأمينى وزراع الشفرة المضادة.

٦ ـ الشفرة المضادة أو الكودون المضاد anticodon عبارة عن تتابع معين من ثلاث قواعد التى تكون متتامة مع قواعد الشفرة الثلاثية المقابلة على جزئ mRNA، وكل جزئ tRNA يحتوى على شفرة مضادة مميزة. ويوجد لكل حمض أمينى مابين جزئ إلى أربعة جزيئات tRNA يمكن لها الإرتباط بهذا الحمض الأمينى.

تنشيط الأحماض الأمينية يتم بارتباطها بجزيئات RNA الناقلة بواسطة إنزيمات Synthetases متخصصة

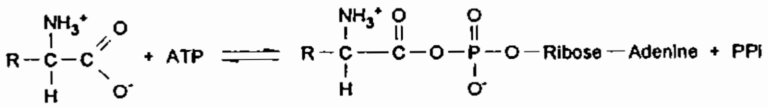
يبدأ البناء الحيوى للبروتين بتنشيط الأحماض الأمينية بارتباطها مع جزيئات tRNA المقابلة بواسطة مجموعة خاصة من الإنزيمات تعرف بـ aminoacyl - tRNA - Syn-

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

thetases كل منها يقوم بربط أحد الأحماض الأمينية مع جزئ tRNA المقابل. فتوجد إنزيمات Synthetases مختلفة كل منها خاص بأحد الأحماض الأمينية: أحدهما يربط الجليسين مع $tRNA^{Gly}$، الآخر يربط الآنين مع $tRNA^{Ala}$ وهكذا. والتفاعل الكلى لتنشيط الأحماض الأمينية الذى يحفز بهذة الإنزيمات هو:

$$\text{Amino acid} + \text{ATP} + \text{tRNA} \rightleftharpoons \text{aminoacyl - tRNA} + \text{AMP} + \text{PP}_i$$

ويتم هذا التفاعل فى خطوتين، فى الخطوة الأولى يتكون أمينو أسايل أدنيلات aminoa-cyladenylate بتفاعل الحمض الأمينى مع ATP.



aminoacyladenylate
(aminoacyl - AMP)

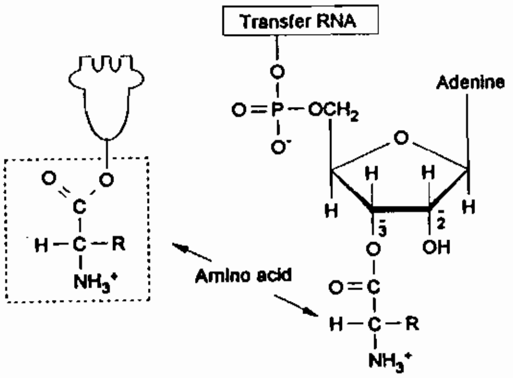
فى الخطوة الثانية تُنقل مجموعة أمينو أسايل من أمينو أسايل أدنيلات إلى جزئ tRNA ويتكون أمينو أسايل ـ tRNA وهو المركب النشط فى بناء البروتين.

$$\text{aminoacyl - AMP} + \text{tRNA} \rightleftharpoons \text{aminoacyl - tRNA} + \text{AMP}$$

ويكون انتقال مجموعة أمينوأسايل فى هذا التفاعل إمّا إلى الموضع ٢َ أو ٣َ فى وحدة ريبوز الأدنيلات الطرفية لجزئ tRNA (شكل ٢٥ ـ ٤)، مع ذلك فإن مجموعة الأسايل المنشّطة يُمكن أن تنتقل بسرعة بين مجموعة الهيدروكسيل ٢َ و ٣َ.

إنزيمات aminoacyl- tRNA synthetase على درجة كبيره من التخصص بالنسبة للحمض الأمينى المُنشّط وفى tRNA المستقبل. ومن الثابت أن تخصص هذه الإنزيمات يُمثّل درجة كبيرة من الأهمية للإندماج الصحيح للأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد. فأى إرتباط خاطئ لحمض أمينى مع tRNA لتكوين أمينو أسايل - tRNA غير مناسب يُؤدى إلى إندماج خاطئ للحمض الأمينى فى سلسلة عديد الببتيد لأن الإندماج الصحيح يتحدد بالشفرة المضادة على tRNA وليس بالحمض الأمينى المنشط.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



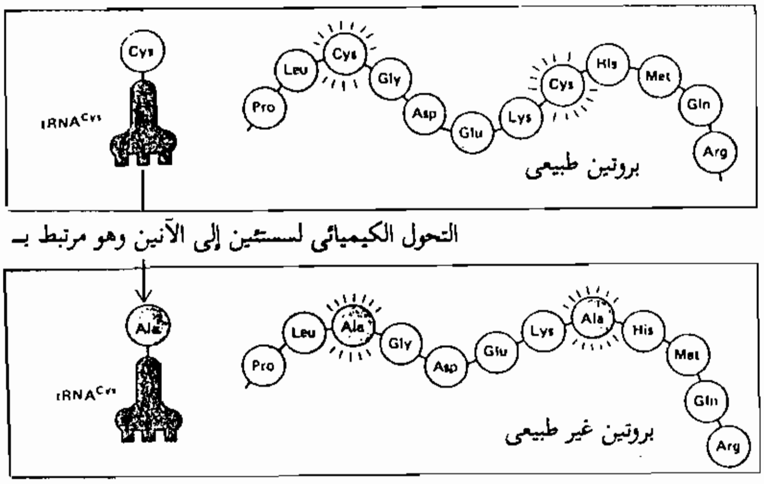
شكل ٢٥ ـ ٤

تركيب أمينو أسايل - tRNA . مجموعة الكربوكسيل فى الحمض الأمينى تُكوّن رابطة استر مع الريبوز (إما مع الأكسجين ٢َ أو ٣َ فى الريبوز). (أ) التركيب العام. (ب) رسم تخطيطى.

التعرُّف على الكودون يتم بواسطة الشفرة المضادة وليس بالحمض الأمينى المُنشّط

لقد أوضحنا من قبل أن الشفرة المضادة على tRNA هى موضع التعرُّف للكودون على mRNA، وأن عملية التعرُّف تتم بازدواج القواعد بين الكودون والشفرة المضادة. فهل يلعب الحمض الأمينى المرتبط بجزئ tRNA أى دور فى عملية التعرُّف؟. لقد تم الإجابة على هذا السؤال من خلال التجربة التى تم فيها تحويل أحد الأحماض الأمينية المرتبط بجزئ tRNA المتخصص بوسيلة كيميائية إلى حمض أمينى آخر (سستئين ← ألآنين). وعندما حضّن هجين أمينو أسايل ـ tRNA الناتج (الذى يحتوى على ألآنين ولكنه مرتبط بـ t RNA الخاص بالسستئين) مع نظام بناء بروتين خالى من الخلايا وجد أن سلسلة عديد الببتيد المتكوّنة تحتوى على ألآنين فى مواضع السستئين (شكل ٢٥ ـ ٥). وبكلمات أخرى فإن ألآنين قد أُدمج فى سلسلة عديد الببتيد على أنه سستئين وذلك لأنه مرتبط بجزئ tRNA الخاص بالسستئين. ويتضح من ذلك أن التعرُّف على الكودون لايعتمد على الحمض الأمينى المرتبط بجزئ tRNA.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٥ ـ ٥

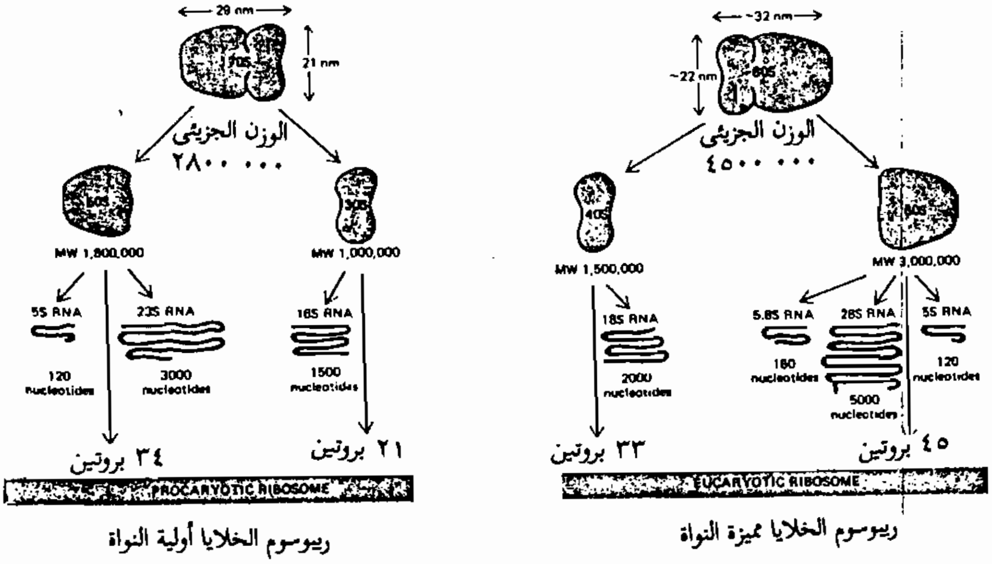
أحد التجارب التى توضح أن tRNA وحده وليس الحمض الأمينى المرتبط به هو الذى يتعرّف على الموضع (الكودون) التى يوضع فيها كل حمض أمينى أثناء بناء البروتين.

الريبوسومات هى العضيّات التى يُبنى عليها البروتين

بعد أن أوضحنا المرحلة الأولى فى البناء الحيوى للبروتين وهى تنشيط الأحماض الأمينية بإرتباطها بجزيئات tRNA، ننتقل الآن إلى المراحل التالية وميكانيكية البناء. فهذه العملية المعقدة تتم على الريبوسومات ribosomes التى يمكن اعتبارها جهاز بناء البروتين. وتتشابه ريبوسومات الخلايا مميزة النواة والخلايا أولية النواه من ناحية التصميم والوظيفة، فكل منها يتألف من وحدة كبيرة ووحدة صغيرة. والوحدة الصغيرة فى ريبوسوم الخلايا مميزة النواة لها معامل ترسيب يساوى ٣٠ وحدة سفدبيرج (30S) وتحتوى على جزئ RNA ريبوسومى (rRNA) و٣٣ نوعاً مختلفاً من البروتينات الريبوسومية، بينما الوحدة الكبيرة التى معامل ترسيبها يساوى ٦٠ وحدة سفدبيرج (60S) تحتوى على ثلاثة أنواع من جزيئات rRNA مرتبطة بأكثر من ٤٠ نوعاً من البروتينات الريبوسومية. من ناحيه أخرى نجد أن ريبوسومات خلايا أولية النواة تكون أصغر فى الحجم وتحتوى على عناصر

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أقل (شكل ٢٥ ـ ٦). تحتوى خلية بكتريا القولون على حوالى ١٥٠٠ ريبوسوم والتى تُمثّل ربع الوزن الجاف للخلية.

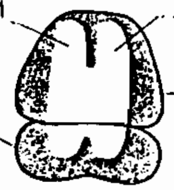


شكل ٢٥ ـ ٦

مقارنة لتركيب ريبوسومات الخلايا مميزة النواة والخلايا أولية النواة. بالرغم من الإختلاف فى التركيب فإن الوظيفة متماثلة.

يحتوى الريبوسوم على موضعى إرتباط مختلفين يمكن لجزيئات tRNA من الإرتباط بهما: أحد الموضعين يحمل جزئ tRNA الذى يرتبط طبيعيا بالنهاية النامية لسلسلة عديد الببتيد ويطلق عليه Peptidyl - tRNA binding Site أو الموضع P، أمّا الموضع الآخر يحمل جزئ tRNA القادم المرتبط بالحمض الأمينى ويطلق عليه aminoacyl - tRNA binding Site أو الموضع A (شكل ٢٥ ـ ٧).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٥ - ٧

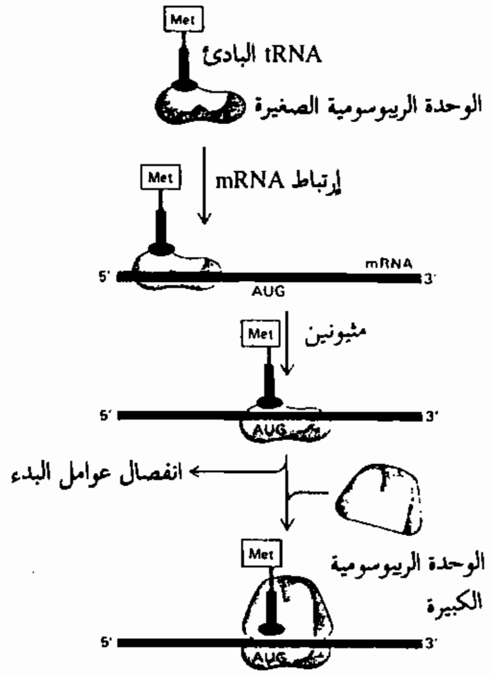
رسم تخطيطى لموضعى الإرتباط A و P على الريبوسوم.

عمليه البدء تحدد هيكل القراءة لبناء البروتين

يحتوى جزئ mRNA على الكودونات التى تحدد تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد، والذى يحدد نقطة بدء قراءة الكودونات على mRNA هو تعشيق الريبوسوم مع mRNA وتكوين متراكب البدء initiation complex. هذا المتراكب يتجمع عند الموضع الصحيح على mRNA الذى يبدأ عنده بناء سلسلة عديد الببتيد.

تعتبر عملية البدء من العمليات المعقدة والتى تشتمل على عدة خطوات تُحفز بواسطة ثلاثة بروتينات يُطلق عليها عوامل البدء initiation Factors (IF) يرمز إليها بـ IF-1 و IF-2 و IF-3. ونظراً لتعقيدها فإن تفاصيل عملية البدء مازال غير مؤكَّد، مع ذلك فإنه من الواضح أن تكوين متراكب البدء يتم فى ثلاثة خطوات. فى الخطوة الأولى ترتبط الوحدة الريبوسومية الصغيرة مع العامل البادئ الثالث IF-3 الذى يمنع الوحدة الريبوسومية الصغيرة والكبيرة من الإتحاد ثانية. يتبع ذلك ارتباط mRNA مع الوحدة الريبوسومية الصغيرة بطريقه تسمح بإرتباط الكودون البادئ فى mRNA (وهو 5´, AUG, 3´) مع موضع خاص على هذه الوحدة (شكل ٢٥ ــ ٨). يُوجه الكودون البادئ AUG إلي الموضع الصحيح فى الوحدة الريبوسومية الصغيرة بواسطة إشارة خاصة فى mRNA توجد على الجانب ٥ للكودون AUG. هذه الإشارة تحتوى أساساً على تتابع من ٦ إلى ٨ من قواعد الأدنين والجوانين التى يتم التعرف عليها بواسطة ازدواج متمم من القواعد فى RNA الريبوسومى فى الوحدة الريبوسومية الصغيرة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٥ ـ ٨

طور البدء فى بناء البروتين فى الخلايا مميزة النواة. نفس العمليات تتم أيضا فى الخلايا أولية النواة فيما عدا أن الحمض الأمينى البادئ المرتبط بـ t RNA هو N ـ فورميل ميثونين.

فى الخطوة الثانية فإن جزئ $tRNA_F$ بادئ خاص مرتبط بالمثيونين فى الخلايا مميزة النواة (أو بـ N ـ فورميل مثيونين فى الخلايا أولية الأنوية) يُحمّل عل الكودون البادئ AUG. وتفاعل التحميل هذا يُحفز بواسطة عامل البدء IF-1 و IF-2. ونظراً لوجود كودون واحد AUG للمثيونين التى تُشفّر لكل من المثْيونين البادئ وذلك الذى يوجد فى الأجزاء الداخلية لسلسلة عديد الببتيد فإن الذى يُحدد أى من الكودونات AUG تستخدم ككودون بادئ هو إشارة البدء على الجانب ٥َ للكودون AUG.

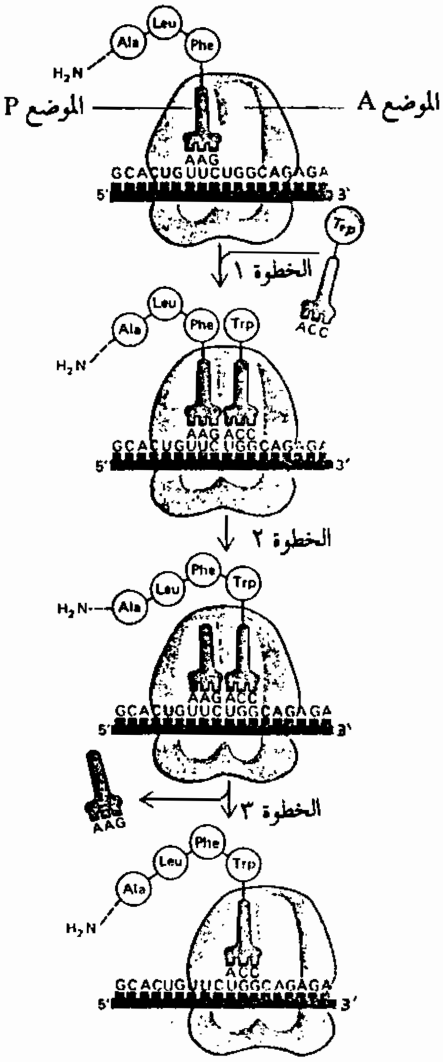
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فى الخطوة الثالثة ترتبط الوحدة الريبوسومية الكبيرة مع هذا المتراكب وتتحرر فى نفس الوقت عوامل البدء IF-1 و IF-2 و IF-3 من الريبوسوم. وينتج عن ذلك تكوين الريبوسوم الكامل الفعّال الذى يحتوى على mRNA ومثيونين ـ $tRNA_F$ الذى يحتل الموضع P على الريبوسوم، أمّا الموضع A على الريبوسوم يكون غير مشغول ولكنه فى مرحلة الاستطالة يستقبل جزيئات أمينو أسايل ـ tRNA التالية.

إستطالة سلسلة عديد الببتيد تتم بالإضافة المتكررة لأمينو أسايل ـ tRNA

أن عملية استطالة سلسلة عديد الببتيد على الريبوسوم يُمكن إعتبارها عملية دورية تتم فى ثلاثة خطوات (شكل ٢٥ ـ ٩)؛ (١) إرتباط أمينو أسايل ـ tRNA (التعرف على الكودون) (٢) تكوين الرابطة الببتيدية (٣) الإنتقال. وعدد هذه الدورات يكون مساوياً لعدد الأحماض الأمينية التى تضاف إلى السلسلة. وتبدأ الدورة بإدخال أحد أمينوأسايل ـ tRNA فى الموضع A المجاور للموضع P المرتبط بـ مثيونين ـ tRNA. والذى يحدد نوع أمينوأسايل ـ tRNA القادم هو الكودون فى mRNA الموجودة فى الموضع A. ويشارك فى هذه الخطوة جزئ GTP وإثنين من البروتينات تُعرف بعوامل الإستطالة elongation factors تأخذ الرمز المختصر EF - Tu و EF - Ts. ويتكون بذلك معقد يحتل فيه أمينو أسايل ـ tRNA الموضع A، بينما يحتل مثيونين ـ tRNA الموضع P. فى الخطوة الثانية فإن مجموعة الكربوكسيل الطرفيه تنفك من tRNA الموجود فى الموضع P وتكوّن رابطة ببتيدية مع الحمض الأمينى المرتبط بجزئ tRNA على الموضع A (شكل ٢٥ ـ ١٠). يحفز هذا التفاعل إنزيم Peptidyl transferase وهو أحد الإنزيمات التى توجد مرتبطة بالريبوسوم. ونتيجه لهذا التفاعل فإنه يتكون ثنائى ببتيديل ـ tRNA على الموضع A ويظل tRNA البادئ مرتبطا بالموضع P. وفى الخطوة الثالثة من دورة الإستطالة فإن الريبوسوم يتحرك عبر mRNA فى اتجاه الطرف ٣َ بمسافة تقدر بكودون واحد (ثلاثة قواعد)، ويكون نتيجة لذلك انتقال ثنائى ببتيديل ـ tRNA من الموضع A إلى الموضع P وفى نفس الوقت يتحرر tRNA الموجود فى الموضع P ويتم خروجه إلى السيتوسول، وبذلك يصبح الكودون الثالث فى mRNA متمركز فى الموضع A والكودون الثانى فى الموضع P. وهذه الخطوة تحتاج إلى طاقة وتتم بواسطة سلسلة من التغيرات فى الهيئة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

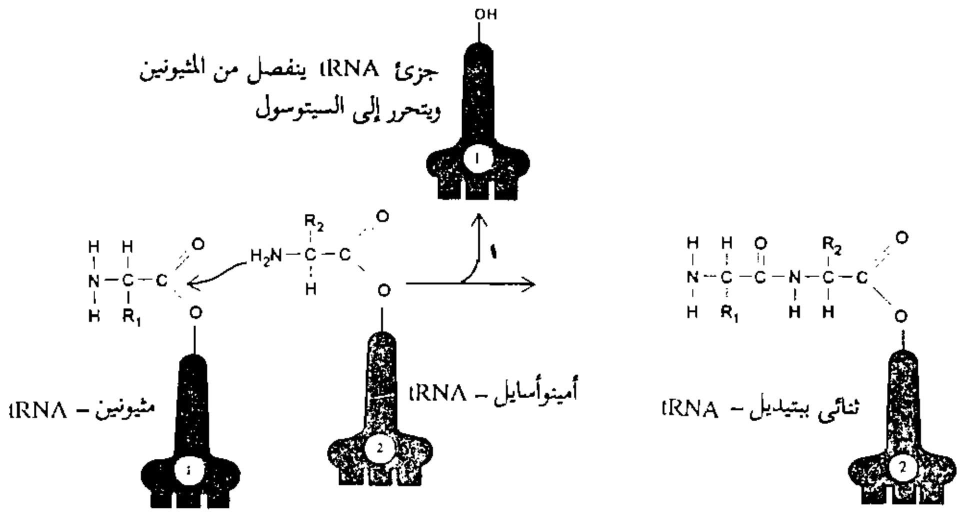


شكل ٢٥ ـ ٩

طور الإستطالة فى بناء البروتين على الريبوسوم. الثلاثة خطوات فى الدورة تتكرر عدّة مرات بعدد الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الفراغية التى تحدث فى أحد البروتينات الريبوسومية بمساعدة تحلل جزئ GTP المرتبط بالبروتين. وبإنتهاء الخطوة الثالثة فإن الموضع A الخالى يكون جاهزاً لإستقبال جزئ tRNA المرتبط بالحمض الأمينى التالى والذى يبدأ دورة جديدة.



شكل ٢٥ ـ ١٠

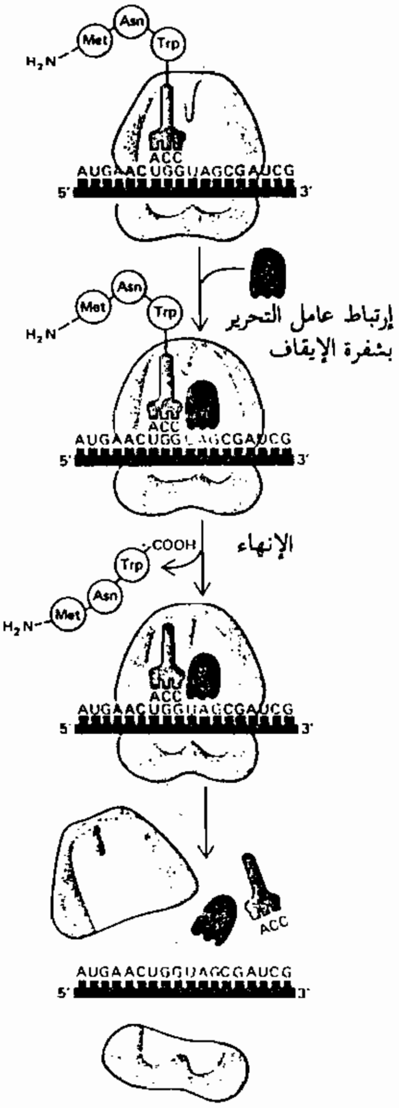
تكوين الرابطة الببتيدية الأولى. تُنقل مجموعة المثيونيل إلى مجموعة الأمينو فى أمينوأسايل ـ tRNA التالى ويتكون ثنائى ببتيديل ـ tRNA الذى يحتل الموقع A.

إنهاء بناء سلسلة عديد الببتيد يحتاج إلى إشارة خاصة

تُوجد ثلاث كودونات فى جزئ mRNA تُعرف بكودونات الإيقاف stop codons والتى تنهى عملية الترجمة أى بناء سلسلة عديد الببتيد. وهذه الكودونات الثلاثة UAA و UAG و UGA لا تُشفِّر لأى من الأحماض الأمينية، فالخلايا العادية لاتحتوى على جزيئات tRNA تحمل شفرات مضادة متممة لكودونات الإنهاء.

أحد البروتينات الذى يُطلق عليه عامل التحرير release factor يمكن أن يرتبط مباشرة بأى من كودونات الإيقاف التى تصل إلى الموضع A فى الريبوسوم. هذا الإرتباط

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٥ ـ ١١

الطور النهائى فى بناء البروتين. إرتباط عامل التحرير بكودون الإيقاف ينهى عملية الترجمة. تنفصل سلسلة عديد الببتيد ويتفكك الريبوسوم إلى الوحدتين 50S و 30S.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يخل بنشاط إنزيم Peptidyl transferase المجاور حيث يجعل الإنزيم يحفز إضافة جزئ ماء بدلا من مجموعة الأمينو الحرة إلى الحمض الأمينى لببتيديل - tRNA. ونتيجة لذلك فإن مجموعة الكربوكسيل الطرفية لسلسلة عديد الببتيد النامية تتحرر من إرتباطها بجـزئ t RNA. ونظراً لأن هذا هو الإرتباط الوحيد الذى يربط بين سلسلة عديد الببتيد النامية للريبوسوم فإن سلسلة عديد الببتيد (البروتين) تتحرر إلى سيتوبلازم الخلية (شكل ٢٥ ـ ١١).

عدد من الريبوسومات قد تقوم بترجمة جزئ mRNA فردى

قد يقوم عدد كبير من الريبوسومات بترجمة جزئ mRNA فردى فى نفس الوقت وذلك فى حالة إحتياج الخلية لبناء سلسلة عديد الببتيد بمعدّل كبير. ومجموعة الريبوسومات التى ترتبط بجزئ mRNA تُسمى عديد الريبوسوم أو بولى سوم Poly-some. وتعمل الريبوسومات فى هذه الوحدة بطريقة منفصلة فكل منها يبنى سلسلة كاملة من عديد الببتيد (شكل ٢٥ ـ ١٢). وأعلى كثافة للريبوسومات على جزئ mRNA يكون حوالى ريبوسوم لكل ثمانى وحدات نيوكليوتيد، والريبوسومات القريبة من الطرف ٥َ لجزئ mRNA تكون قد كوّنت جزء صغير من سلسلة عديد الببتيد بينما تلك القريبة من الطرف ٣َ تكون قد انتهت تقريباً من بناء السلسلة.

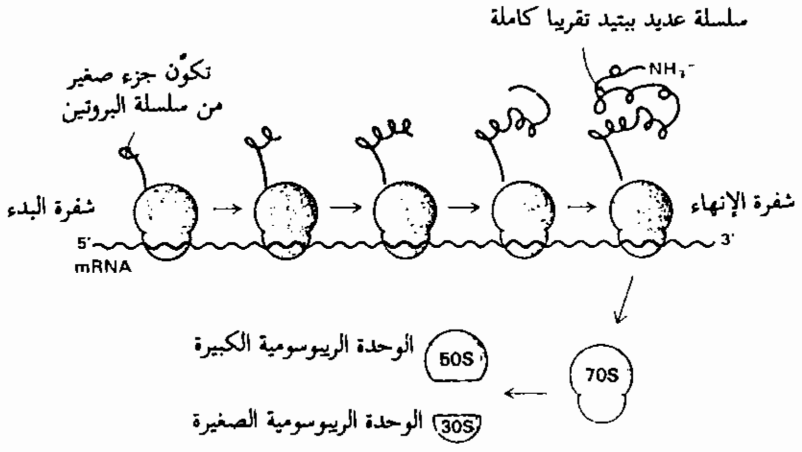
عدد كبير من البروتينات يتم تعديلها بعد الترجمة

عد كبير من عديد الببتيد التى تتكوّن بعملية الترجمة لجزئ mRNA لاتُمثّل الناتج النهائى أو الصورة الفعّالة للبروتين، فسلسلة عديد الببتيد ربما تُعدّل بعدة طرق مختلفة بعد إنفصالها من الريبوسوم والتى تشمل:

١ ـ تُزال مجموعة الفورميل المرتبط بالمثيونين الطرفى فى بروتينات البكتريا والكائنات أولية النواة الأخرى بإنزيم deformylase، كما قد يزال أيضاً واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية فى الطرف الأمينى بواسطة إنزيمات aminopeptidase.

٢ ـ يُمكن أن تتكوّن الرابطة ثنائية الكبريتيد disulfide bond بأكسدة إثنين من الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٥ ـ ١٢

رسم تخطيطى لعديد الريبوسوم (بولى سوم). تتحرك الريبوسومات عبر mRNA فى الإتجاه ٥َ ← ٣َ حيث يقوم كل منها ببناء سلسلة عديد ببتيد كاملة.

٣ ـ يُمكن أن تتحور المجموعات الجانبية لبعض الأحماض الأمينية فى سلسلة عديد الببتيد، مثال ذلك إدخال مجموعات الهيدروكسيل على برولين ولايْسين فى الكولاّجين. كما تتكون الجلايكوبروتينات بإرتباط السكريات مع السلاسل الجانبية للإسباراجين وسيرين وثريونين. كذلك يتم فسفرة بعض البروتينات، كما يتم إضافة المجموعات التعويضية لبعض الإنزيمات قبل إنطواء سلسلة عديد الببتيد وتحوُّلها إلى الهيئة المجسمة ثلاثية الأبعاد.

٤ ـ من المحتمل أن تنفك سلسلة عديد الببتيد فى موضع أو أكثر، مثال ذلك تحول ناشئ الأنسولين Proinsuline إلى أنسولين.

٥ ـ فى بعض المراحل أثناء أو بعد عملية الترجمة تتحول سلسلة عديد الببتيد للبروتينات الكرّية globular proteins تلقائياً إلى الهيئة المجسمة ثلاثية الأبعاد النشطة بيولوجياً.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء الحيوى للبروتين يثبط بواسطة عدد كبير من المضادات الحيوية

نظراً لما للبناء الحيوى للبروتين من دور رئيسى فى عمليات الأيض جميعها، ولما تتميز به هذه العمليات من درجة تعقيد كبيره، فليس من الغريب أن نجد أن عدداً كبيراً من المضادات الحيوية تقوم بتثبيط عملية الترجمة (بناء البروتين). بالإضافة إلى ذلك فنظراً لإختلاف الريبوسومات البكتيرية من الناحية التركيبية عن الريبوسومات السيتوبلازمية فى الخلايا مميزة النواة فإن عديد من المضادات الحيوية تثبط بناء البروتين فى البكتريا دون التأثير على بناء البروتين فى الخلايا مميزة النواة. لذلك تستخدم المضادات الحيوية كعقاقير مضادة للبكتريا وغيرها من الكائنات أولية النواة.

أمكن التعرف على عدد كبير من المضادات الحيوية المُثبِّطة لبناء البروتين، كما أمكن أيضاً التعرُّف على ميكانيكية (آليـة) التثبيط لهذه المضادات الحيوية (جدول ٢٥ ـ ١).

جدول ٢٥ ـ ١

بعض المضادات الحيوية المثبطة لبناء البروتين فى الكائنات أولية النواة

المضادالحيوى	فعل المضاد الحيوى
ستربتوميسين (Streptomycin)	يثبط عملية البدأ كما يحدث قراءة خاطئة للكودونات فى mRNA.
تتراسيكلين (Tetracycline)	يثبط إرتباط أمينو أسايل ـ tRNA بالموضع A فى الريبوسوم.
كلورأمفينيكول (Chloramphenicol)	يثبط نشاط إنزيم Peptidyl transferase فى الريبوسوم.
إريثروميسين (Erythromycin)	يثبط حركة الريبوسومات على mRNA.

الطفرات الوراثية تنتج من التغير فى تركيب المادة الوراثية

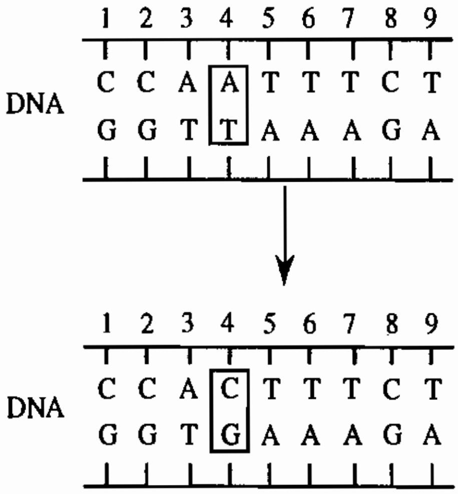
أوضحنا فى فصل ٢٢ أن المعلومات الوراثية الممثلة فى تتابع أزواج القواعد فى جزئ

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

DNA يحافظ عليها بعملية التكرر ونظام تصحيح الأخطاء. مع ذلك فإن بعض الأخطاء فى إدماج القواعد وبعض التغيرات فى جزيئات DNA التى تحدث بواسطة العوامل البيئية قد تمر بدون إصلاح وتؤدى إلى تغير دائم فى جينات وكروموسومات الكائن الحى. فى هذه الحالة فإن الخلايا البنوية سوف تختلف عن الخلايا الأبوية فى تتابع القواعد فى DNA أو فى كمية DNA. وهذه التغيرات فى المادة الوراثية تعرف بالطفرات mutation.

يوجد نوعان من الطفرات: طفرات الجينات (الطفرات الجينية) gen mutations تؤثر على واحد أو عدد قليل من النيوكليوتيدات خلال الجين. أمّا النوع الثانى وهو الطفوات الكروموسومية chromosomal mutations فتؤثر على تركيب أو عدد الكروموسومات فى الخلية. ولو أنه غالباً ما يقتصر إستخدام مصطلح طفرة على التغيرات الجينية.

تشتمل طفرات الجينات أيضاً على نوعين من الطفرات هما طفرات الإستبدال لزوج من القواعد base-pair substitution وطفرات تغير إطار القراءة frameshift mutation. ويحدث النوع الأول نتيجة لإستبدال زوج من القواعد بزوج آخر غير صحيح (شكل ٢٥ ـ ١٣)، أو بإستبدال عدة أزواج من القواعد. ويحتوى أيضا الإستبدال الفردى لزوج

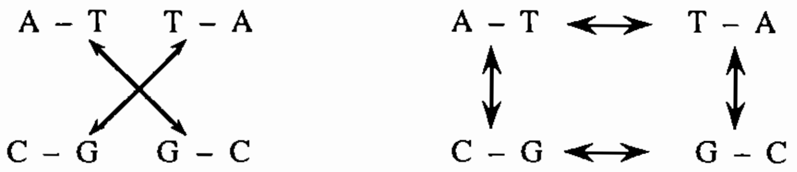


شكل ٢٥ ـ ١٣

طفرات الإستبدال لزوج من القواعد. زوج القواعد AT (رقم ٤) يتحول إلى CG.

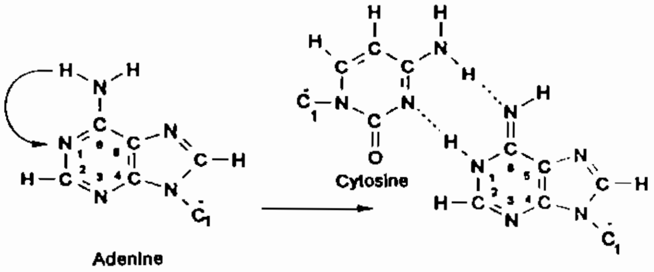
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

من القواعد على نوعين: الأول هو الإستبدال المتكافئ (الإنتقالى) transition، ويتم فيه استبدال أحد البيوريات ببيورين آخر أو أحد البيربميدينات ببريميدين آخر. أمَّا النوع الثانى وهو الإستبدال غير المتكافئ (المستعرض) transversion يتم فيه إستبدال بيورين ببريميدين أو بيريميدين ببيورين.



الاستبدال المتكافئ　　　　الاستبدال غير المتكافئ

والإستبدال المكتافئ يمكن أن يحدث تلقائياً كما إقترح واطسون وكريك. فقد لاحظا أن ذرات الهيدروجين فى القواعد يُمكن أن تُغير مواضعها فى نفس القاعدة مكونة صور مترددة tautomeric Forms الذى يكون إحتمال تكوينها صغير جداً. وهذه الصور المترددة النادرة يمكن أن تكوّن أزواج قواعد غير A-T , G-C، مثال ذلك أن صورة الإيمينو المترددة imino tautomer للأدنين يمكن أن تزدوج مع السايتُوزين (شكل ٢٥ ـ ١٤).

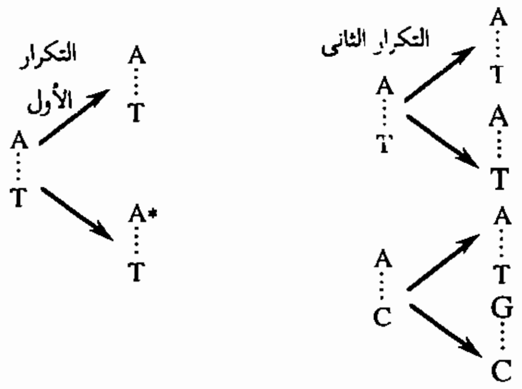


شكل ٢٥ ـ ١٤

الصورة المترددة النادرة للأدنين تزدوج مع السايتُوزين بدلا من الثايمين. وهذه الصورة المترددة سوف تتكون بانتقال بروتون من مجموعة الأمينو المرتبطة بذرة الكربون السادسة إلى ذرة النتروجين رقم واحد (N_1).

وفى الدورة التالية للتكرر فإن الأدنين فى الصورة المترددة الطبيعية سوف يزدوج مع الثايمين، بينما السايتوسين سوف يزدوج مع الجوانين. وعلى ذلك فإن أحد جزيئات DNA البنوية سوف يحتوى على زوج القواعد G - C بدلاً من زوج القواعد A - T (شكل ٢٥ ـ ١٥).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٥ ـ ١٥

إزدواج الصورة المترددة النادرة للأدنين (A*) مع الساتيوسين يؤدى إلى تكوين زوج القاعدة G-C فى الجيل التالى.

وطفرات استبدال زوج من القواعد سوف تؤدى إلى تغير كودون فى الجين التى تحدث فيه، وهذا بدوره قد يؤدى إلى إستبدال حمض أمينى واحد بحمض أمينى آخر فى سلسلة عديد الببتيد التى تشفِّر بهذا الجين. وإستبدال حمض أمينى بآخر غالبا لاينتج عنه تغير ملموس فى الخواص البيولوجية للبروتين، ومثل هذه الطفرات يطلق عليها الطفرات الصامتة silent mutations. فى بعض الحالات الأخرى مع ذلك قد يكون للحمض الأمينى المستبدل تأثيراً كبيراً بحيث يصبح البروتين غير نشط بيولوجياً، ومثل هذه الفطرات غالبا ما تكون مميتة lethal للخلية.

طفرات تغير إطار القراءة تنتج من إضافة addition أو حذف deletion زوج أو أكثر من النيوكليوتيدات فى الجين (شكل ٢٥ ـ ١٦). والنتيجة الطبيعية لهذا النوع من الطفرات هو تغير إطار قراءة الكودونات من موضع الإضافة أو الحذف وبذلك فإن سلسلة عديد الببتيد الناتجة تحتوى على تتابع صحيح للأحماض الأمينية حتى موضع الطفرة، ولكنها تحتوى على تتابع مختلف كلية للأحماض الأمينية بعد هذا الموضع. وفى مثل هذا النوع من الطفرة غالبا ماينتج بروتين طافر يختلف بدرجة كبيرة فى محتواه من الأحماض الأمينية عن البروتين الطبيعى، ويكون البروتين الطافر فى هذه الحالة غير نشط بيولوجياً.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

DNA الطبيعى

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C	C	A	A	T	T	T	C	T	G
G	G	T	T	A	A	A	G	A	C

إدماج زوج من النيوكليوتيدات

1	2	3	4	5	´5	6	7	8	9	10
C	C	A	A	T	G	T	T	C	T	G
G	G	T	T	A	C	A	A	G	A	C

إزالة عدة نيوكليوتيدات

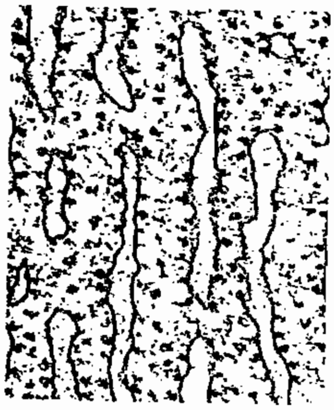
1	2	3	8	9	10
C	C	A	C	T	G
G	G	T	G	A	C

شكل ٢٥ ـ ١٦
طفرات تغيير إطار القراءة التى تنتج من إضافة أو حذف زوج أو أكثر من النيوكليوتيدات فى الجين.

الريبوسومات المرتبطة بالشبكة الإندوبلازمية تبنى بروتينات الغشاء والبروتينات المفرزة خارج الخلية

فى الخلايا مميزة النواة تتواجد بعض الريبوسومات فى صورة حرة فى السائل الخلوى cy-tosol، بينما البعض الآخر يكون مرتبط بنظام غشائى يعرف بالشبكة الأندوبلازمية en-doplasmic reticulum (ER). والجزء من الشبكة الإندوبلازمية المرتبط بالريبوسومات يعرف بالشبكة الإندوبلازمية الخشنه rough ER نظراً لمظهرها المحبب (شكل ٢٥ ـ ١٧)، بالمقارنة بالشبكة الإندوبلازمية الملساء smooth ER التى تكون مجردة من

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٥ ـ ١٧

صورة بالمجهز الإلكترونى للشبكة الإندوبلازمية الخشنة.

الريبوسومات. ومن الثابت أن كل البروتينات المفرزة خارج الخلية المعروفة تبنى بواسطة الريبوسومات المرتبطة بالشبكة الإندوبلازمية. والريبوسومات المرتبطة بهذا النظام الغشائى تبنى أيضاً عدداً كثيراً من بروتينات الغشاء البلازمى وأغشية بعض العضيّات مثل الليسوسومات lysosomes. والشبكة الإندوبلازمية الخشنة بعكس الشبكة الإندوبلازمية الملساء تحتوى على إثنين من البروتينات الغشائية يطلق عليها ريبوفورينات ribophorins اللذان يتفاعلا بصورة متخصصة مع الوحدة الريبوسومية الكبيرة.

ولقد أدى إكتشاف الشبكة الإندوبلازمية الخشنة ودورها فى بناء بروتينات الغشاء والبروتينات المفرزة خارج الخلية إلى ظهور ثلاثة أسئلة تتعلق بابتناء ومسار البروتينات التى تتكون بواسطة الريبوسومات المرتبطة بالشبكة الإندوبلازمية، ألا وهى:

١ ـ هل هناك صنفين من الريبوسومات ـ أحدهما حر فى السائل الخلوى والآخر مرتبط بغشاء الشبكة الإندوبلازمية ـ أو أن كل الريبوسومات فعلياً صنف واحد؟. وإذا كان هناك صنف أو نوع واحد من الريبوسومات، فما الذى يحدد ما إذا كان ريبوسوم ما يتواجد فى صورة حرة أو مرتبط بالشبكة الإندوبلازمية الخشنة؟.

٢ ـ كيف يُمكن لسلسلة عديد الببتيد المبتنية حديثاً الناشئة من الريبوسومات المرتبطة أن

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تعبر حاجز النفاذية (الغشاء) للشبكة الإندوبلازمية الخشنة؟. مثال ذلك أن البروتنيات المفرزة مثل مُولِّدات الإنزيمات (زيموجينات) البنكرياسية قد وجدت داخل تجويف الشبكة الإندوبلازمية بعد ابتنائها مباشرة.

٣ ـ ما الذى يحدد المستقر الأخير لأماكن وجود البروتينات التى تُبنى بواسطة الريبوسومات المرتبطة؟. فبعض البروتينات تصدر إلى خارج الخلية والبعض الآخر يُوجَّه إلى داخل الخلية. كما أن بعض البروتينات التى تبنى بواسطة الشبكة الإندوبلازمية الخشنة تدخل فى بناء الأغشية البلازمية والأغشية داخل الخلية حيث تُمثل جزءاً متكاملاً فى بنية الغشاء.

الخلايا مميزة النواة تحتوى على نوع واحد من الريبوسومات

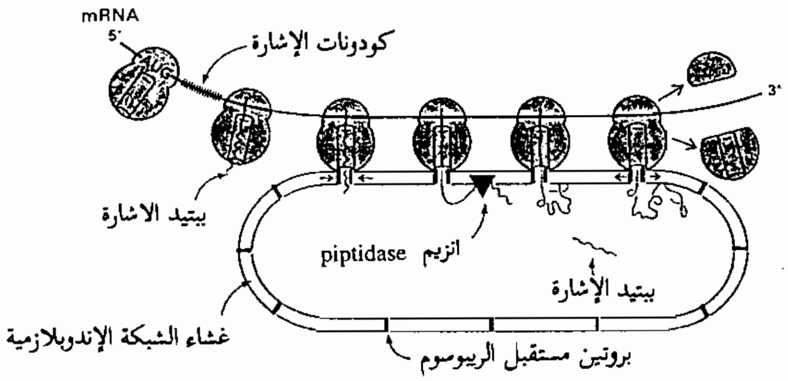
أمكن الإجابة على السؤال الأول من الدراسات التى أجريت على أنشطة بناء البروتينات بواسطة الريبوسومات فى الأنظمة الخالية من الخلايا cell-free systems. فقد تم فصل الريبوسومات الحرة من السائل الخلوى ثم أضيفت إلى أغشية الشبكة الإندوبلازمية الخشنة التى جُرِّدت من ريبوسوماتها. وهذا النظام المشكل من جديد وجد أن له القدرة على بناء البروتينات المفرزة عندما أُمدَّ بجزيئات mRNA المناسبة والعوامل الذائبة الأخرى. وبطريقة مماثلة وجد أيضاً أن الريبوسومات المفصولة من الشبكة الإندوبلازمية الخشنة تكون نشطة تماماً فى بناء البروتينات التى تحرر إلى السائل الخلوى. بالإضافة إلى ذلك فإنه لم يكتشف أية إختلافات تركيبية بين الريبوسومات الحرة والريبوسومات المعزولة من الشبكة الإندوبلازمية الخشنة. ويتضح من ذلك أن الريبوسومات المرتبطة والريبوسومات الحرة هى حقيقة نوع واحد، وأن الذى يحدد ما إذا كان ريبوسوم ما يكون حراً أو مرتبطاً بالشبكة الإندوبلازمية يعتمد على نوع البروتين الذى تقوم ببنائه.

تتابعات الإشارة تُمكِّن البروتينات المفرزة من عبور غشاء الشبكة الإندوبلازمية

السؤال الآن ـ ماهى العلامة التى توجد على البروتين المبنى حديثاً التى تحدد ما إذا كان الريبوسوم المُشيِّد لهذا البروتين يكون حراً فى السائل الخلوى أو مرتبطاً بالشبكة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الإندوبلازمية الخشنة. فى عام ١٩٧٠ إقترح كل من David Sabatini و Gunter Blobel أن علامة أو إشارة الربط عبارة عن تتابع من الأحماض الأمينية يقع بالقرب من الطرف الأمينى لسلسلة عديد الببتيد المبتنية حديثاً. ونظرية الإشارة signal hypothesis هذه (شكل ٢٥ ـ ١٨) دُعِّمت بعد ذلك بالنتائج التى تحصّل عليها كل من Cesar



شكل ٢٥ ـ ١٨

نظرية الإشارة لبناء بروتينات الغشاء والبروتينات المفرزة. فى هذا النموذج فإن تتابع الإشارة الذى يوجد فى الطرف الأمينى لسلسلة عديد الببتيد المبتنية حديثا يربط الريبوسوم بغشاء الشبكة الإندوبلازمية. ثم بعد ذلك يُستوصل تتابع الإشارة بواسطة إنزيم Peptidase الذى يوجد فى جانب تجويف الشبكة الإندوبلازمية.

Milstein و George Brownlee، فقد وجدا أن سلسلة الإيمينوجلوبين التى تُبنى خارج الخلية بواسطة الريبوسومات الحرة تحتوى على تتابع إضافى من عشرين حمضاً أمينياً فى جانب الطرف الأمينى، بينما لاتوجد فى البروتين المبنى فى الخلية. ثم وجد بعد ذلك أن كل البروتينات المفرزة الأساسية من البنكرياس تحتوى على تتابع إضافى فى الطرف الإمينى من حوالى ٢٠ حمض أمينى عند بنائها خارج الخلية بواسطة الريبوسومات الحرة. ومعروف فى الوقت الحاضر تتابع الإشارة لعدد كبير من البروتينات المفرزة، وطول هذا التتابع يتراوح مابين ١٥ إلى ٣٠ حمض أمينى الذى يكون أغلبها من الأُحماض

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الأمينية غير القطبية. ويمكن تلخيص العناصر الأساسية فى نظرية الإشارة (شكل ٢٥ ـ ١٨) فى النقاط التالية:

١ ـ جزيئات mRNA التى تُشفّر للبروتينات المفرزة خارج الخلية أو بروتينات الغشاء تحتوى على تتابع معين من الكودونات يلى مباشرة كودونات البدء يطلق عليها كودونات الإشارة signal codons.

٢ ـ ترجمة جزيئات mRNA تبدأ بواسطة ريبوسومات حرة (غير مرتبطة بغشاء الشبكة الإندوبلازمية) التى تبنى أولا تتابع الإشارة للأحماض الأمينية المقابلة لكودونات الإشارة.

٣ ـ نشوء تتابع الإشارة من الريبوسوم تستحث إرتباط الريبوسوم بغشاء الشبكة الإندوبلازمية وكذلك تكوين ثقب عبر الغشاء يحيط بتتابع الإشارة.

٤ ـ وبإستمرار الترجمة فإن سلسلة عديد الببتيد الناتجة تدفع خلال الثقب إلى تجويف الشبكة الإندوبلازمية الخشنة، بينما يتم إزالة تتابع الإشارة بواسطة إنزيم peptidase قبل إنتهاء الترجمة.

٥ ـ إنتهاء الترجمة يؤدى إلى تحرير البروتين فى تجويف الشبكة الإندوبلازمية الخشنة وغلق الثقب وإنفصال وحدات الريبوسوم من mRNA وبالتالى من الغشاء.

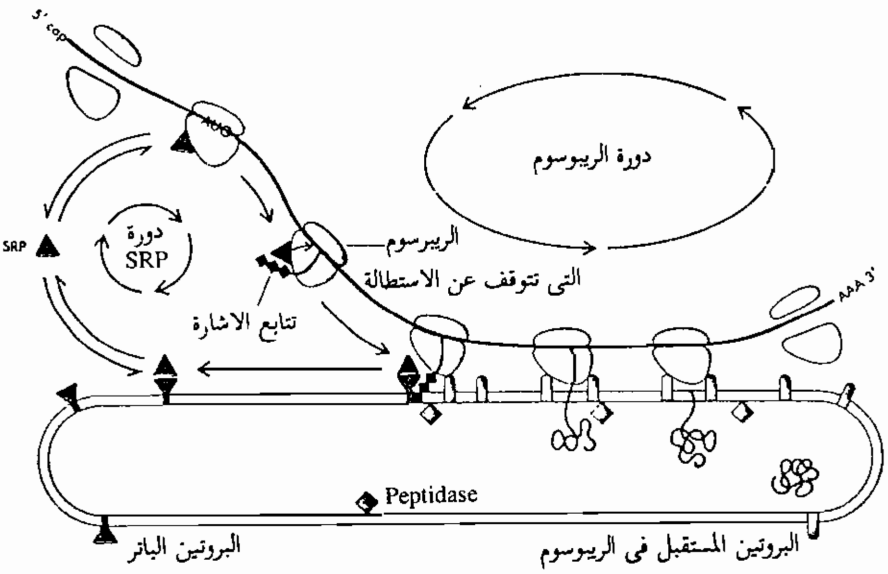
والسمة المميزة لميكانيكية نظرية الإشارة هو أن نقل سلسلة عديد الببتيد عبر غشاء الشبكة الإندوبلازمية يكون مزدوج مع عملية الترجمة. من ناحية أخرى نجد أن بعض البروتينات يمكن أن تعبر غشاء الشبكة الإندوبلازمية بعد إنتهاء بنائها. مثال ذلك أن معظم بروتينات الميتوكوندريا والكوروبلاست تُشفّر بواسطة الجينات النووية وتبنى بواسطة الريبوسومات الحرة. وهذه البروتينات تتحرر إلى السائل الخلوى ثم تعبر بعد ذلك غشاء الشبكة الإندوبلازمية، ومعنى ذلك أن نقل هذه البروتينات يكون بعد الترجمة وليس أثناء الترجمة. ومما هو مثير للإنتباه أن بروتينات الميتوكوندريا والكوروبلاست مثل البروتينات المفرزة تحتوى على تتابع من الأحماض الأمينية فى الطرف الأمينى الذى يزال بعد عبورها غشاء الشبكة الإندوبلازمية.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جسيمات إشارة التعارف تعمل كمنظِّمات سلبية لترجمة البروتينات المفرزة

تم فى الآونة الأخيرة اكتشاف معقد من RNA ـ بروتين الذى يلعب دوراً مهماً فى تنظيم ترجمة البروتنيات المفرزة وضمان تعارفها مع غشاء الشبكة الإندوبلازمية. ولقد سمى هذا المعقد بجسيم إشارة التعارف (signal recognition particle (SRP نظراً لإرتباطة المتخصص مع تتابع الإشارة للبروتينات المفرزة حديثة التكوين. يتألف SRP من RNA (حوالى ٣٠٠ نيوكليوتيد) وستة بروتينات مختلفة تتراوح أوزانها مابين ٩ إلى ٧٢ كيلو دالتون.

والسمة المميزة لطريقة عمل SRP هو قدرتها على الإرتباط مع الريبوسومات ووقف بناء البروتين (شكل ٢٥ ـ ١٩). ويتم وقف الترجمة ليس عند البدء، ولكن عندما



شكل ٢٥ ـ ١٩

وظيفة جسيم إشارة التعارف (SRP) والبروتين الباتر فى نقل البروتينات عبر الشبكة الإندوبلازمية.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يكون طول سلسلة عديد الببتيد المتولدة حوالى ٧٠ حمض أمينى. ولايقوم SRP بوقف الترجمة لكل جزيئات mRNA ولكنه يعمل بصورة متخصصة مع تلك التى تُشفّر للبروتينات المفرزة. ويمكن عكس وقف الترجمة فقط عندما يتلامس SRP مع البروتين الباتر docking protein (٧٢ كيلو دالتون) وهو أحد بروتينات الشبكة الإندوبلازمية المتكاملة. ثم بعد ذلك ينتشر SPR بعيداً لبدء نقل سلسلة عديد ببتيد جديدة.

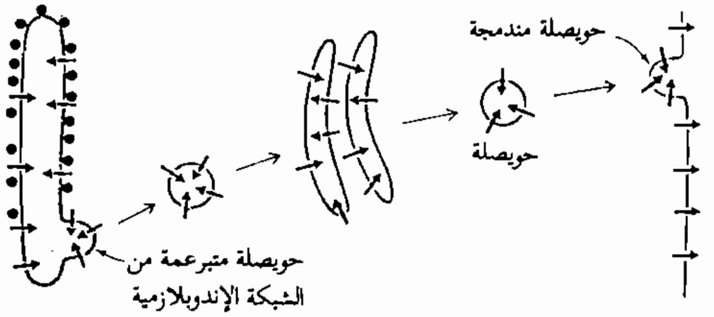
إن نشاط SRP كمنظم سلبى للترجمة له دلالة بيولوجية مهمة. فعدد كبير من البروتينات المصدّرة بواسطة خلايا الثدييات هى إنزيمات مفككة (مثل إنزيمات nuclease و protease)، والوجود العرضى لهذه الإنزيمات فى السيتوبلازم يحدث دمار (تحطيم) للخلية التى تكوّنها. وبوقف الترجمة لهذه الإنزيمات فى منتصف الطريق، فإن SRP يضمن عدم إتمام الترجمة إلا بعد أن يصبح الغشاء الصحيح (الذى يتم خلاله عبور البروتين) متاحاً.

البروتينات المتكونة على الشبكة الإندوبلازمية الخشنة تُوجّه إلى مواضع تواجدها خلال جهاز جولجى

يبنى على الشبكة الإندوبلازمية الخشنة أنواع مختلفة من البروتينات التى تشمل البروتينات التى تدخل فى تركيب الأغشية والبروتينات التى تؤدى وظائفها خارج الخلية مثل بعض الإنزيمات وبروتينات بلازما الدم وبعض الهورمونات البروتينية والأجسام المضادة. وعدد كبير من هذه البروتينات يتم تحويلها إلى جلايكوبروتينات glycoproteins بإرتباطها بوحدات كربوهيدراتية فى تجويف الشبكة الإندوبلازمية الخشنة. وفى معظم الحالات يتم هذا التحوّل بإرتباط أليجوسكّريد مع السلسلة الطرفية للإسباراجين فى البروتين، وفى حالات قليلة يكون إرتباط الأليجوسكّريد مع البروتين عن طريق السيرين والثريونين. تنقل البروتينات بعد ذلك من تجويف الشبكة الإندوبلازمية إلى جهاز جولجى golgi apparatus بواسطة حويصلات Vesicles تحتوى على البروتين بداخلها والتى تندمج مع جهاز جولجى (شكل ٢٥ ـ ٢٠). وهذه الحويصلات تنقل أيضاً بروتينات الغشاء إلى الغشاء البلازمى وإلى الليسومات lysosomes وإلى الأماكن الخلوية المختلفة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بالإضافة إلى ذلك فإن هذه الحويصلات تحمل البروتينات والليبيدات من الغشاء البلازمى إلى الأغشية الداخلية. وعلى ذلك فإن الحويصلات تلعب الدور الأساسى فى نقل البروتينات من موضع خلوى إلى موضع خلوى آخر. وفى جهاز جولجى يتم أيضاً تكملة معالجة الجلايكوبروتينات بإضافة وحدات سكر إضافية، ثم تُصنَّف البروتينات فى جهاز جولجى وتُرسل إلى مواضعها النهائية. ولكن كيف تُصنَّف البروتينات فى جهاز جولجى وتُوجَّه إلى مواضعها المناسبة؟ فإن الإجابة غير معروفة فى الوقت الحالى.



شكل ٣٥ ـ ٢٠

نقل بروتينات الغشاء البلازمى والبروتينات المغرزة من الشبكة الإندوبلازمية إلى الغشاء البلازمى.

البروتينات الخلوية تُهدم وتستبدل ببروتينات حديثة التكوين

إن الجزيئات الخلوية تكون خاضعة بصورة مستمرة للتجديد. مثال ذلك تتفكك البروتينات بصورة مستمرة إلى وحداتها البنائية من الأحماض الأمينية وتستبدل ببروتينات حديثة التكوين. فنجد أن فترة نصف عمر بروتينات كبد الفأر تكون حوالى يوم واحد، ولبروتينات المخ والعضلات تكون ٣ و ٦ أيام على التوالى،بينما فتره نصف عمر بعض الإنزيمات تكون ساعة أو ساعتين. وفى البكتريا وجد أن البروتينات المُنظِّمة تتفكك بصورة تامة خلال عدة دقائق من بنائها.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والنظرة الأولى قد توحى أن التفكك المستمر لبروتينات الخلية يُمثّل عملية تبديد عالية، إلا أن التفكير المنطقى يستدعى أن تمد هذه العملية الكائن بميزة إنتقائية واضحة. ومن الثابت فى الوقت الحاضر أن تجديد البروتينات الخلوية هى عملية على درجة كبيرة من الأهمية، وذلك لأنها: (١) تُنظّم مستوى الإنزيمات فى الخلية (٢) تحمى الكائن من تراكم البروتينات غير الطبيعية (٣) تتحكم فى كتلة الأنسجة و (٤) رفع كفاءة الكائن على التأقلم مع ظروف التغذية الفقيرة.

والدليل الأول عن الحالة الحركية (الديناميكية) لمكونات الخلية ظهر فى أوائل الأربعينات عندما استخدمت الأحماض الأمينية المعلمة بالنظائر المشعة بواسطة Schoen-heimer و Borsook. إلا أن أهميه هذه الظاهره لم تتضح بصورة كاملة إلا فى السبعينات بعد أن تجمعت معلومات كافية عن المسارت الأيضية وميكانيكية تنظيم هذه العملية.

تفكك البروتينات والتحكم فى مستوى الإنزيمات

تُزال البروتينات الخلوية الطبيعية بمعدّل يعتمد على تماثل جزيئاتها. كما يُزال بروتين ما بحركيات الرتبة الأولى First order kinetics، والذى يشير أن إختيار الجزيئات التى تهدم يتم بصورة عشوائية وليس إعتماداً على عمرها. ومعدّل التفكك بحركيات الرتبة الأولى يُميز بفترة نصف العمر half - life ($t_{1/2}$) وهى عبارة عن الوقت اللازم لتفكك ٥٠٪ من جزيئات المادة. وفترة نصف العمر للإنزيمات المختلفة فى الأنسجة تختلف إختلافا جوهريا كما هو موضح بجدول (٢٥ ـ ٢). والشئ الملفت للنظر أن الإنزيمات سريعة التفكك هى تلك التى تتواجد فى مواضع التحكم الأيضى المهمة، بينما الإنزيمات التى يكون معدّل تفككها بطئ يكون لها نشاط أيضى ثابت تحت الظروف الفسيولوجية المختلفة.

مستوى بروتين ما فى الخلية يتحدد بالتوازن بين معدّل بنائه ومعدّل إنحلاله، لذلك فإن الإختلافات الضمنية فى معدّلات التفكك للبروتينات المختلفة قد تكون أحد الوسائل المهمة فى تنظيم مستوى الإنزيمات. فالمعدّل العالى للتفكك يُشارك مع إنخفاض معدّل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البناء فى الإسراع من خفض تركيز الإنزيم، من ناحية أخرى فإن تركيز الإنزيمات التى لها فترة نصف حياة صغيرة يمكن أن يرتفع إلى مستوى جديد عندما يزيد معدّل بنائه.

جدول ٢٥ ـ ٢
فترة نصف الحياة لبعض إنزيمات كبد الفأر

الإنزيم	فترة نصف الحياة (ساعة)
الإنزيمات سريعة التفكك	
Ornithin decarboxylase	,٢
RNA Polymerase I	١,٣
Tyrosine aminotronsferase	٢
Serine hydratase	٤
Phosphoenol Pyruvate Carboxylase	٥
الإنزيمات بطيئة التفكك	
Aldolase	١١٨
Cytochrom b	١٣٠
Lactic dehydrogenase (isoenzyme 5)	١٤٤
Cytochrom C	١٥٠
β - Glucoronidase	٢٤٠

ولقد أمكن ملاحظة تغيرات فى فترة نصف العمر لبعض الإنزيمات تحت الظروف الفسيولوجية المختلفة. ففى عدد من الحالات لوحظ إنخفاض معدّل التفكك للإنزيم عند تواجد العامل المساعد Cofactor أو المادة الخاضعة. فإنخفاض التفكك بذاته قد يؤدى إلى زيادة مستوى الإنزيم حتى فى غياب أى تغير فى معدّل بنائه. مثال ذلك وجد أن فترة نصف العمر لإنزيم tryptophan oxygenase تطول فى وجود المادة الخاضعة وهى التربتوفان والعامل المساعد الهيم. وهناك من الأمثلة العديدة التى تم إكتشافها حيث تعمل المواد الخاضعة والعوامل المساعدة على تثبيت البروتين تجاه التفكك الخلوى. ومن الناحية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الفسيولوجية فإن هذا التأثير يضمن تركيز مرتفع من الإنزيم عند تواجد المادة الخاضعة بكمية كبيرة. ولقد تم إكتشاف ظاهرة أخرى لإنزيم glytamine synthase حيث وجد أن الناتج النهائى للتفاعل وهو الجلوتامين يزيد من معدّل تفكك الإنزيم ويخفض تركيزه، وفى هذه الحالة فإن الجلوتامين يثبط معدّل تكوينه الذاتى. وبالرغم من أن تعميم هذا النوع من التحكم مازال غير واضح، إلا أنه ربما يمثّل ميكانيكية مفيدة فى تنظيم مستوى الإنزيمات.

وهناك من الأدلّة العديدة فى الوقت الحالى ما يشير إلى أن الإختلافات فى درجة ثبات البروتينات المختلفة يتحدد بدرجة كبيرة بإختلافها فى هيئتها البنائية conformation. كما أن فحص عدد كبير من البروتينات السيتوبلازمية المعروف أن لها فترة نصف عمر طويلة أوضحت احتواء هذه البروتينات على تتابع ثبات (إستقرار) stablizing sequence من المثيونين ـ سيرين ـ ألآنين ـ ثريونين ـ ڤالين ـ جليسين (أو سستئين) عند الطرف الأمينى. مع ذلك فإن هناك دلالة واضحة على أن تتابعات أو إشارات أخرى معقدة تكون مهمة فى إنتقاء البروتين الذى سيتفكك.

التفكيك الإنتقائى للبروتينات غير الطبيعية

أحد الوظائف الأساسية لتفكك البروتينات الخلوية فى خلايا الحيوانات والبكتريا هو حماية الكائن من تراكم البروتينات الخلوية ذوات الهيئة البنائية غير الطبيعية. وهذه العملية تُمثّل بذلك نوع من نظام الوقاية (التصحاح) sanitation system الخلوى التى تمنع تراكم عديد الببتيد المتغيرة (المدنترة denatured) جزئيا التى تكون ضارة للكائن. ويعتبر هذا النظام الوقائى مهماً بصورة خاصة فى الكائنات عديدة الخلايا مثل الإنسان التى تنقسم خلاياها بمعدّل بطئ أو لاتنقسم على الإطلاق وبذلك لايحدث تخفيف لتركيز هذه الببتيدات المتغيرة بواسطة إنقسام الخلية.

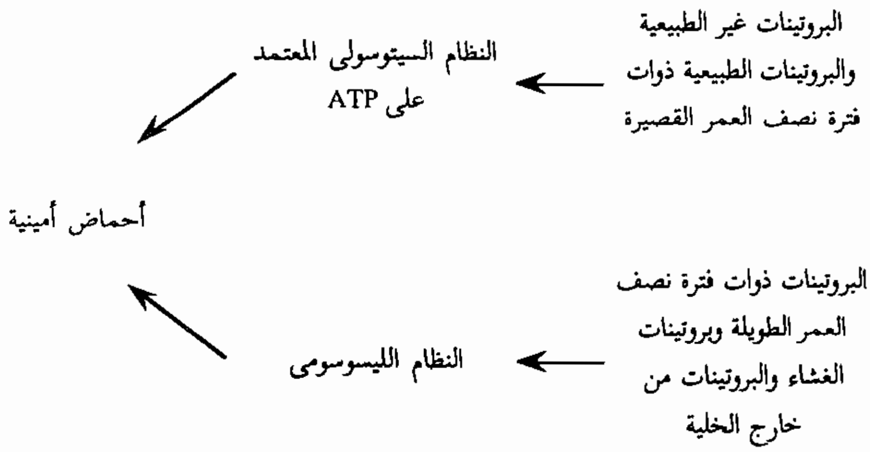
كل من الخلايا البكتيرية والحيوانية تفكك أيضا البروتينات ذوات التركيبات المتغيرة التى تنشأ كنتيجة لبعض الطفرات. مثال ذلك أن الهيموجلوبين الذى يحتوى على مشابه الڤالين (α ـ أمينو ـ β ـ كلوروبيوترات) فى مواضع الڤالين تكون فترة نصف عمره فى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الخلايا الشبكية reticulocyte حوالى ١٠ دقائق، بينما الهيموجلوبين الطبيعى يبقى فترة عمره التى تبلغ ١٢٠ يوم. نجد أيضا فى بكتريا القولون أن إنزيم β-galoctosidase الذى يفتقد إلى جزء من السلسلة الببتيدية من الطرف الأمينى نتيجة للطفرة nonsense mutation يتفكك بفترة نصف عمر تبلغ عدة دقائق بينما الإنزيم الطبيعى يكون ثابتا فى هذه الخلايا.

الخلايا مميزة النواة تحتوى على اثنين من أنظمة تفكك البروتين

تحتوى الخلايا مميزة النواة على نظامين لتفكك البروتين: النظام الليسوسومى lysosomal system ويقتصر وجوده على الخلايا مميزة النواة ويقوم بتفكك البروتينات ذوات فترة نصف العمر الطويلة وبروتينات الغشاء والبروتينات من خارج الخلية. أما النظام الثانى وهو النظام السيتوسولى المعتمد على ATP (ATP - dependent cytosolically system) فيوجد فى كل من الخلايا مميزة النواة وخلايا البكتريا ويقوم بتفكك البروتينات الطبيعية ذوات فترة نصف العمر القصيرة والبروتينات غير الطبيعية (شكل ٢٥ ـ ٢١).



شكل ٢٥ ـ ٢١

مسارات تفكك البروتين فى خلايا الثدييات.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الليسومات تفكك البروتينات بطريقة غير انتقائية

الليسوسومات lysosomes عبارة عن عضيّات فجوية محاطة بغشاء وتحتوى بداخلها على حوالى ٥٠ إنزيم من الإنزيمات التى تقوم بعملية التفكك المائى لأنواع مختلفة من الجزيئات الخلوية الكبيرة، من بينها أنواع مختلفة من إنزيمات تفكك البروتينات المعروفة بإسم كاسيبسين cathepsins. وتحافظ الليسوسومات على رقم هيدروجينى حامضى (حوالى ٥) بداخلها والذى يُمثّل الرقم الهيدروجينى الأمثل لمحتوياتها الإنزيمية. وتحوُّل الرقم الهيدروجينى الأمثل للإنزيمات الليسوسومية إلى الجانب الحامضى ربما يعمل على حماية الخلية من التسرُّب العرضى لهذه الإنزيمات الذى يُثبط نشاطها خارج الليسوسوم حيث يكون الرقم الهيدروجينى السائد فى السائل الخلوى (السيتوسول) حوالى ٦,٨.

تقوم الليسوسومات بتفكك المكونات الخلوية مثل البروتينات بإندماجها مع أجزاء صغيرة من السيتوبلازم أو بقايا العضيّات الأخرى المراد هضمها مكوّنة ما يُعرف بالفجوات ذاتية الإلتهام autophagic vacuole، حيث يتم هضم أو تفكيك البروتينات بواسطة إنزيمات الليسوسوم. وتقوم الليسوسومات بطريقة مشابهة أيضا بتفكك البروتينات ذات المصدر الخارجى التى تدخل الخلايا عن طريق البلعمة الداخلية endocytosis.

ولقد أمكن التعرُّف على دور الليسوسومات فى تفكك البروتينات الخلوية بإستخدام المثبطات الليسوسومية. مثال ذلك نجد أن المركبات القاعدية الضعيفة مثل كلوروكوين chloroquine والأمونيا تنفذ بسهولة إلى داخل الليسوسوم وترفع من قاعدية المحلول الليسوسومى الداخلى. وبمعاملة خلايا الثدييات بهذه المركبات وجد أنها تخفض المعدّل الإجمالى لتفكك البروتين. كما أن معاملة خلايا الثدييات ببعض المضادات الحيوية مثل أنتيبان antipain التى تثبط إنزيمات الكاسيبسين أعطت نفس التأثير. ولقد أظهر إستخدام هذه المثبطات أن تفكك البروتينات بواسطة الليسوسوم لايكون انتقائى. فهذه المثبطات لا تؤثر على تفكك الإنزيمات التى لها فترة نصف عمر قصيرة، كما أنها لا تؤثر على تفكك البروتينات الطبيعية، ولكنها تخفض بدرجة ملحوظة تفكك البروتين عندما يكون الأيض الهدمى هو السائد فى الخلايا مثل ظروف التجويع. ويبدو من ذلك أن النظام الليسوسومى يفكك البروتينات بطريقة غير إنتقائية، كما إنه من الثابت أيضا أن تفكك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البروتينات بهذا المسار يزداد فى بعض الحالات المرضية، لذلك فإن هناك إمكانية فى إستخدام المثبطات الليسوسومية كعقاقير فى عدد من أمراض الإنسان التى تكون مصحوبة بزيادة فى تفكك البروتين مثل مرض فقد العضلات muscle wastage.

النظام السيتوسولى المعتمد على ATP يفكك البروتينات بطريقة إنتقائية

كان هناك إعتقاد سائد حتى تاريخ قريب أن النظام الليسوسومى فى الخلايا الحيوانية هو النظام الوحيد أو على الأقل النظام الأولى لتفكك البروتينات الخلوية. إلا أن وجود بعض الخلايا (مثل خلايا الدم الحمراء وبكتريا القولون) التى لا تحتوى على ليسوسومات ومازال لها القدرة على تفكيك البروتينات غير الطبيعية دلَّل على وجود نظام تفكك آخر.

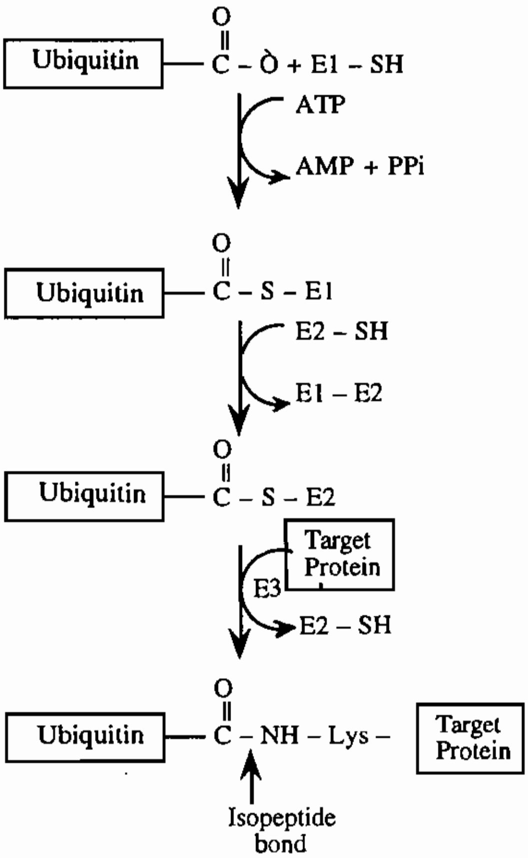
وفى أوائل السبعينات تمكن جولدبيرج Goldberg وزملاؤه من تحضير نظام خالى من الخلايا من بكتريا القولون ومن الخلايا الشبكية retlculocyte ومن الميتوكوندريا، وهذا النظام له القدرة على تفكيك البروتين إنتقائيا بصورة مماثلة للخلايا السليمة والذى أظهر إحتياجه إلى ATP. والدراسات التى أجريت بعد ذلك على الخلايا الشبكية أوضحت أن بروتين أبى كويتن ubiquitin الذى لم يكن معروف له وظيفة من قبل يكون ضرورياً لنظام التفكك المعتمد على ATP. ويتألف هذا البروتين من سلسلة عديد ببتيد فردية ويحتوى على ٧٦ حمض أمينى وأظهر تماثل بين الكائنات المختلفة مثل الإنسان والضفدع والدروسوفيلا، ويختلف فقط فى ثلاثة أحماض أمينية عن ذلك الموجود فى الخميرة.

والبروتينات التى تُنتقى للدخول فى عملية التفكك ترتبط تساهميا ببروتين أبى كويتن. وهذه العملية التى تماثل تنشيط الأحماض الأمينية تتم فى ثلاثة خطوات (شكل ٢٥ ـ ٢٢):

١ ـ فى تفاعل يحتاج إلى ATP، ترتبط مجموعة الكربوكسيل الطرفية فى أبى كويتن خلال رابطة استرثيول thioester bond مع الإنزيم المُنشِّط لأبى كويتن ubiquitin - activating enzyme (E1)، الذى يبلغ وزنه ١٠٥ كيلو دالتون ويحتوى على وحدتين فرعيتين متماثلتين.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢ ـ ينتقل أبى كويتن بعد ذلك إلى مجموعة السلفهيدريل لأحد البروتينات الصغيرة العديدة (يبلغ وزنها ٢٥ ـ ٧٠ كيلو دالتون) التى تسمى البروتينات الحاملة لأبى كويتن ubiquitin carrier proteins (E2's).



شكل ٢٥ ـ ٢

التفاعلات المتضمنة فى إرتباط أبى كويتن مع البروتين الذى سيتم تفككه. فى الخطوة الأولى ترتبط مجموعة الكربوكسيل الطرفية فى أبى كويتن خلال رابطة إسترثيول مع E1 فى تفاعل يُدفع بتحلل ATP. وأبى كويتن المنشّط ينقل فى الخطوة التالية إلى مجموعة السلفهيدريل فى E2، ثم يُنقل بعد ذلك فى تفاعل يُحفز بـ E3 إلى مجموعة الأمينو إبسلون (ε) فى الليسين على البروتين الذى سيتم تفككه، وبذلك يعلم البروتين الذى يتم تفككه بواسطة UCDEN.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣ ـ وأخيرا فإن إنزيم Ubiquitin - Protein ligase (E3) ينقل أبى كويتن المُنشَّط من E2 إلى مجموعة الأمينو إبسلون (ε) للحمض الأمينى ليسين فى البروتين المراد تفككه مُكوناً بذلك رابطة ببتيدية مشابهة isopeptide bond . ويبدو من ذلك أن E3 يلعب الدور الأساسى فى إنتقاء البروتين الذى سيتم تفككه. وعادة ما ترتبط عدة جزيئات أبى كويتن مع البروتين. والبروتين المرتبط بأبى كويتن يتم تفككه بعملية تعتمد على ATP بواسطة متراكب بروتينى يعرف بالإنزيم المفكك للبروتينات المزدوجة بأبى كويتن Ubiquitin - Conjugate degrading Enzyme (UCDEN)، وهذا الإنزيم المفكك للبروتينات يفكك فقط البروتينات المرتبطة مع أبى كويتن.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجـــع

Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and J. D. Watson: Molecular Biology of the Cell, 2nd ed., Garland Publishing Inc., New York, 1989.

Brimacombe, R., G. Stoffler, and H. G. Wittmann: Ribosome Structure. Ann. Rev. Biochem. 47: 217 - 249 (1978).

Brown, D. D.: "Gene Expression in Eukaryotes", Science, 211: 667 - 674 (1981).

Cold Spring Harbor Laboratory: Mechanisms of Protein Biosynthesis, (Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology, Vol. 34) 1969.

Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Bruening, and R. H. Doi: Outlines of Biochemistry (5 th ed.), John Wiley & Sons, 1987.

Crick, F. H. C.: "The Genetic Code III," Sci. Am., 215: 55 - 62, October (1966).

Gole, E. F., E. Cundiffe, P. E. Reynolds, M. H. Richmond, and M. H. Waring: The Molecular Basis of Antibiotic Action, 2nd ed., Wiley, 1981.

Kim, S. H.: Three - dimentional Structure of transfer RNA and Its Functional Implications. Advan. Enzymol., 46: 279 - 315 (1978).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Lake, J.: The Ribosome, "Sci. Am., 245: 84 - 97, August (1981).

Lehninger, A. L.: Principle of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

Lewin, B.: Gene Regulation II, 2nd ed., Wiley, New York, 1980.

Palade, G.: "Intracellular Aspects of the Process of Protein Synthesis," Science, 189: 347 - 357 (1975).

Schimmel, P. R.: Understanding the Recognition of Transfer RNAs by Aminoacyl Transfer RNA Synthetases," Adv. Enzymol., 49: 187 - 222 (1979).

Strayer, L.: Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

Wold, F.: In Vivo Chemical Modification of Proteins, Ann. Rev. Biochem., 50: 783 - 805 (1981).

Zubay, G. (Coord. author): Biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass., 1983.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تمارين

١ ـ أجب عن الجمل التاليه بصح أو خطأ ـ وإذا كانت خطأ إشرح لماذا؟

(أ) تخليق كل من mRNA والبروتين يشتمل على قوالب من عديد النيوكليوتيد.

(ب) تتابع الأحماض الأمينية فى البروتين تتحدد أثناء التخليق بالتفاعل المتمم بين الأحماض الأمينية وتتابع ثلاث نيوكليوتيدات (الكودون) فى mRNA القالب.

(جـ) الجسيمات الريبوسومية فى مميزة النوى تكون أكبر إلى حد ما وأكثر تعقيداً عن تلك فى أولية الأنوية.

(د) عند بدء سلسلة عديد ببتيد جديدة فإن F-Met-t RNA يرتبط بالموضع A على الريبوسوم.

(هـ) أثناء تخليق عديد الببتيد فإن الريبوسومات تتحرك عبر mRNA فى الأتجاه ٣َ ← ٥َ.

(و) تكوين كل رابطة ببتيدية على الريبوسوم تحتاج إلى رابطتين من روابط الفوسفات الغنية بالطاقة بالإضافة إلى تلك المستخدمة فى تنشيط الأحماض الأمينية.

٢ ـ كم عدد روابط الفوسفات الغنية بالطاقة التى تستهلك فى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(أ) إدماج نيوكليوتيدة واحدة فى mRNA النامى بدءاً من نيوكليوسيد أحادى الفوسفات.

(ب) إدماج حمض أمينى واحد فى سلسلة عديد الببتيد النامية بدءاً من الأحماض الأمينية الحرة.

٣ ـ حدد تتابعات الأحماض الأمينية فى الببتيد المتكون على الريبوسومات إستجابة للرسائل التالية. إفترض أن الشفرة المضادة (anticodon) الأولى تبدأ بالقاعدة الأولى على الشمال.

(أ) GGUCAGUGGCUCCUGAUU

(ب) UUGGAUGCGCCAUAAUUUGCU

(جـ) CAUGAUGCCUGUUGCUAC

٤ ـ الخيط المنسوخ من عينة من DNA الحلزون المزدوج يحتوى على التتابع التالى:

´5 - CTTAACACCCCTGACTTCGCGCCGTCG - ´3

(أ) ما هو التتابع فى mRNA الذى ينسخ من هذا الخيط ؟

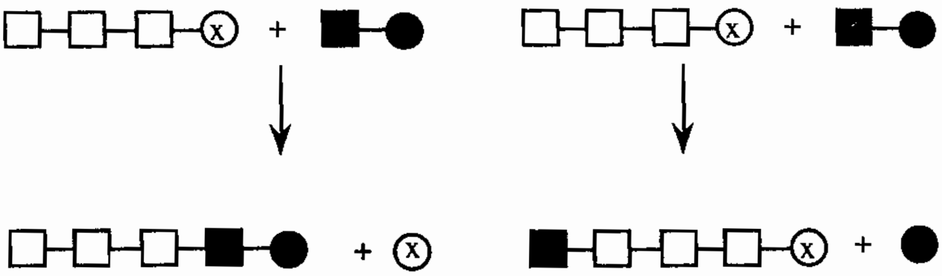
(ب) ما هو تتابع الأحماض الأمينية الذى يشفر بهذا التتابع بدءاً من النهاية ٥َ ؟

(جـ) إفترض أنه تم نسخ وترجمة الخيط الآخر فى هذه العينة من DNA. هل يكون تتابع الأحماض الأمينية الناتجة مماثل لتلك فى (ب) ؟ إشرح الأهمية البيولوجية للإجابة فى (ب) و (جـ).

٥ ـ كم عدد روابط الفوسفات الغنية بالطاقة التى تستهلك فى تخليق بروتين يحتوى على ٢٠٠ حمض أمينى بدءاً بالأحماض الأمينية الحرة.

٦ ـ يوجد ميكانيكيتين أساسيتين لإستطالة الجزيئات البيولوجية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



النوع الأول　　　　　　　　النوع الثانى

فى النوع الأول فإن المجموعة المنشطة (Ⓧ) تنفرد من السلسلة النامية. وفى النوع الثاني فإن المجموعة المنشطة تنفرد من الوحدة القادمة بإضافتها إلى السلسلة النامية. حدّد أى من الميكانيكتين تستخدم فى تخليق كل من المواد التالية

(أ) تخليق الجلايكوجين

(ب) تخليق الأحماض الدهنية

(جـ) تخليق DNA

(د) تخليق RNA

(هـ) تخليق البروتين

٧ ـ أحد نسخ mRNA لجين T_7 phage يحتوى على تتابع القواعد التالى:

5´ - AACUGCACGAGUAACACAAGAUGGCU - 3´

وضح تأثير الطفرة التى تغير القاعدة G (معلمة بالسهم) إلى القاعدة A

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تنظيم التعبير الجينى

Regulation of Gena Expression

لقد سبق أن رأينا أن التحكم فى نشاط عدد كبير من البروتينات يتم بواسطة ميكانيكيات مختلفة التى تشمل التنشيط بإزاله جزء من سلسلة البروتين، والتأثيرات غير الوضعية (الألوستيريه)، والتحورات التساهمية. بالإضافة إلى ذلك فإنه من الثابت أن الخلايا الحيه تحتوى على كيفيات مختلفه لتنظيم معدّل بناء البروتينات المختلفه بحيث تحتوى كل خليه على عدد النسخ المناسبة من كل بروتين اللازم لتنفيذ النشاط الأيضى بكفاءة وبصورة اقتصادية. فبكتريا القولون مثلا تحتوى على جينات لأكثر من ٢٠٠٠ نوع مختلف من البروتينات، إلاّ أنه لا يتم التعبير عن كل هذه الجينات فى نفس الوقت، كما لا يوجد نفس العدد من جزيئات البروتينات المختلفة التى تم تكوينها. بالإضافه إلى ذلك فإن كمية بعض أنواع هذه البروتينات يكون ثابتاً مثل إنزيمات الإنحلال السُكّرى، بينما البعض الآخر مثل انزيم β - galactosidase تختلف كميتة بدرجة كبيرة بتغير العناصر الغذائية فى البيئة.

نجد أيضا أن خلايا الكائن متعدد الخلايا كل منها يكون مميز بأنواع خاصة من البروتينات رغم أنها تحتوى على نفس الكروموسومات. فكل الخلايا فى الحيوانات الراقية تحتوى تقريبا على نفس الإنزيمات المشتركة فى مسارات الأيض المركزية، إلا أن الأنواع المختلفة من الخلايا مثل خلايا العضلات والمخ والكبد كل منها يتميز بتراكيب ووظائف بيولوجية خاصة التى تعتمد على وجود مجموعه خاصة من البروتينات. فكبد الثدييات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مثلا يحتوى على كل الإنزيمات المشتركة فى دورة اليوريا بينما لا توجد هذه الإنزيمات فى الأنسجة الاخرى.

ويتضح من هذا العرض أن هناك بعض الجينات تكون فعّالة والبعض الآخر يكون ساكن، كما أن الجينات الفعّالة تختلف فى معدّل نشاطها. والسؤال المطروح الآن ما هى الميكانيكيات التى تحكم نشاط الجينات أى التى تحكم معدّل بناء البروتينات؟. إن الدراسات العديدة التى أجريت على الكائنات غير مميزة النواة (خاصة بكتريا القولون) أوضحت أن نشاط الجينات فى هذه الكائنات يُنظم على مستوى النسخ وليس على مستوى الترجمة. وبالرغم من أن معلوماتنا قليلة فى الوقت الحاضر عن تنظيم التعبير الجينى فى الخلايا مميزة النواة، فإنه من الثابت أن هذا التنظيم يتم بطريقة مختلفة. وسنوضح فى الفقرات التالية تنظيم التعبير الجينى فى الكائنات غير مميزة النواة، ثم نتبعها بتنظيم التعبير الجينى فى الكائنات مميزة النواة.

كروموسوم بكتريا القولون

قبل البدء فى مناقشة ميكانيكيات التعبير الجينى فى بكتريا القولون يكون من المفيد إلقاء نظرة عامة على كروموسوم هذا الكائن. تحتوى بكتريا القولون على كروموسوم رئيسى فردى فى صورة DNA حلزون مزدوج حلقى يتألف من ٣ × ١٠^{٦} قاعدة التى تشفّر لأكثر من ٢٠٠٠ بروتين. ويتم تنظيم نشاط هذا النظام المعقد بحيث أنه تحت ظروف النمو النشطة فإن حوالى ٥٪ فقط من هذا الجينوم يكون نشط فى عملية النسخ، أما بقيه الجينات فقد تكون ساكنة أو تنسخ بمعدّل بطئ جداً. وعند تغيير ظروف النمو فإن بعض الجينات النشطة يتم إيقافها، بينما بعض الجينات غير النشطة يتم تشغيلها. ويتضح من ذلك أن بكتريا القولون تحتوى على الأقل على اثنين من الميكانيكيات التى تنظم نشاط الجينات: الميكانيكية الأولى هى الاستحثاث induction، ويتم فيها تشغيل بعض الجينات الساكنة وبناء البروتينات المقابلة.أما الميكانيكية الثانية فهى الكبح أو وقف البناء repression، ويتم خلالها ايقاف نشاط بعض الجينات ووقف بناء البروتينات المقابلة. وسنقوم فى الأجزاء التالية بشرح هاتين الميكانيكيتين.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

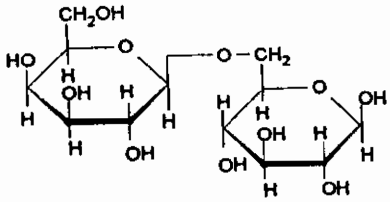
بعض إنزيمات البكتريا يتم استحثاث بنائها

الإنزيمات الأساسية (البنيوية) constitutive enzyme هى تلك التى توجد فى خلايا البكتريا بكميات ثابتة بغض النظر عن الحالة الأيضية للكائن. مثال ذلك الإنزيمات التى تشترك فى مسارات الأيض المركزية مثل إنزيمات الانحلال السُّكَّرى. الإنزيمات المُستحثَّة inducible enzuymes من ناحية أخرى هى تلك التى يختلف تركيزها فى الخلايا، فتوجد فى الخلايا البكتيرية بكميات صغيرة جداً ولكن يمكن أن يرتفع تركيزها ألف مرة أو اكثر عند وجود المواد الخاضعة لها فى البيئة. وتحت هذه الظروف فإن الإنزيمات المستحثَّة ربما تكون ضرورية لنقل المادة الخاضعة داخل الخلية أو تحويلها إلى أحد الأيضات التى يمكن أن تستخدم بواسطة الخلية.

يعتبر إنزيم β - galactosidase الذى يحلل اللاكتوز إلى جلوكوز وجالاكتوز أكثر الإنزيمات المستحثة دراسة. فعند تنمية بكتريا القولون على بيئة تحتوى على جلوكوز فإن كل خلية تحتوى تقريبا على عشرة جزيئات من إنزيمβ - galactosidase، ولكن عند نقل البكتريا إلى بيئة تحتوى على لاكتوز كمصدر وحيد للكربون والطاقة فإنه فى خلال دقيقة أو دقيقتين تقوم الخلايا ببناء إنزيم β - galactosidase بكميات كبيرة ويصبح عدد نسخ الإنزيم فى كل خلية حوالى ألف أو أكثر. ويقوم إنزيمβ - galactosidase المتكون بتحليل اللاكتوز إلى جلوكوز وجالاكتوز اللذان يمكن استخدامهما بواسطة الخلية كمصدر للطاقة والكربون. وعلى ذلك فإن إنزيم β - galactosidase يعتبر انزيم مُستحث inducible enzyme . ويتكون أيضا اثنين من البروتينات معβ - galactosidase هما galactoside Permease وthiogalactoside transacetylase، وبينما يقوم البروتين الأول بنقل اللاكتوز إلى داخل الخلية فإن الوظيفة البيولوجية للبروتين الثانى غير معروفة.

والمستحث الفسيولوجى هو حقيقة أللولاكتوز allolactose الذى يتكون من اللاكتوز. فاللاكتوز بذاته ليس عاملاً مستحثاً ولكنه يتحول إلى المشابه اللولاكتوز وهو العامل المستحث الحقيقى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



Allolactose

نظرية الأوبرون

أمكن توضيح العلاقة الجزيئية بين الاستحثاث الإنزيمى ووقف بناء الإنزيمات من الأبحاث التى أجراها فرانسوا جاكوب وجاك مونو عام ١٩٦١ . فقد أدت دراستهم على إنزيم β - galactosidase فى بكتريا القولون من اقتراح نظرية الأوبرون Operon hy- pothesis للتحكم الوراثى لبناء البروتين فى الخلايا أولية النواة عن طريق التحكم فى عملية النسخ. والعناصر الوراثية لهذا النموذج هى جين منظِّم (I) regulatory gene ، والتتابع المشغِّل (العامل) operator sequece (O) ، ومجموعة من الجينات التركيبية structural genes وهى ثلاثة جينات Z و Y و A فى حالة أوبرون اللاكتوز التى تمثل الجينات الخاصة بـ β - galactosidase و Permease و transacetylase على التوالى. بالإضافة إلى ذلك فإنه يوجد موضع آخر يسمى تتابع بدء الحفز Promoter site (P) الذى يرتبط به إنزيم بلمرة RNA (شكل ٢٦ ـ ١). فينتج الجين المنظِّم بروتين يُعرف بالكابح re- pressor (فى حالة أوبرون اللاكتوز يعرف lac repressor) الذى عند ارتباطه بالتتابع المشغل (O) فإنه يمنع نسخ الجينات التركيبة الثلاثة Z و Y و A نتيجة لإعاقته لدخول انزيم بلمرة RNA إلى موضع ارتباطه (الموضع P).

الجين المنظم	مواضع التحكم		الجينات التركيبيه		
I	P	O	Z	Y	A
	أوبرون اللاكتوز				

شكل ٢٦ ـ ١

خريطه اوبرون اللاكتوز فى بكتريا القولون وجينه المنُظّم

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

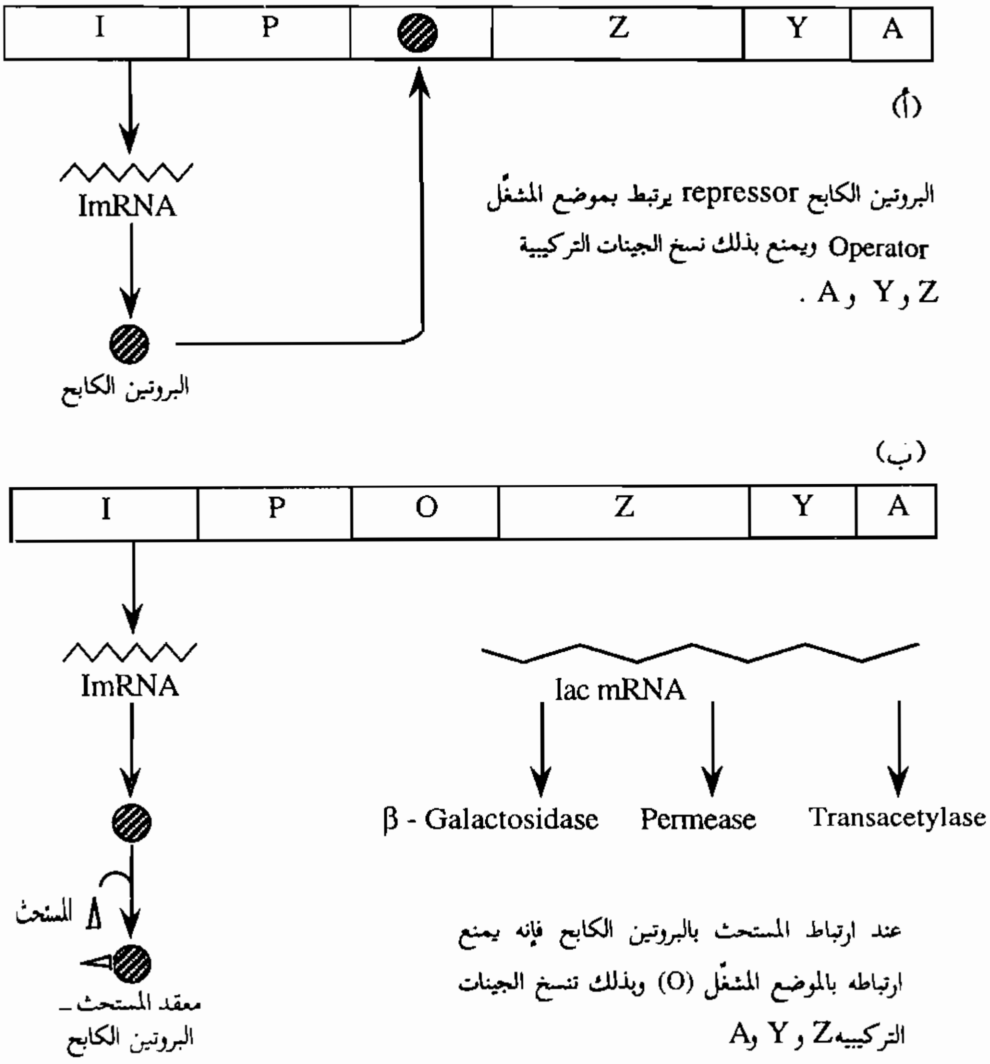
أما فى حالة وجود المستحث inducer مثل ألللولاكتوز فإنه يرتبط بموضع خاص على البروتين الكابح ويؤدى إلى تغيير فى هيئته الفراغية فتنخفض قوة ارتباطه بالتتابع المشغل (O)فينفصل منه ويبدء بذلك نسخ الجينات التركيبة الثلاثة Z و Y و A وتكوين جزئ mRNA (lac mRNA)فردى. ثم تنتقل جزيئات mRNA الناتجة من عملية النسخ إلى الريبوسومات حيث تعمل كقوالب لبناء الإنزيمات الثلاثة β - galactosidase و galac-toside Permease و galactoside acetylase، وبذلك يمكن للخلية من استخدام اللاكتوز كمصدر للطاقة والكربون (شكل ٢٦ ــ ٢). وفى الحقيقة فإن الجينات التركيبية الثلاثة تنسخ لتعطى جزئ mRNA فردى الذى يشفر بعد ذلك للبروتينات الثلاثة. وجزئ mRNA الذى يشفر لأكثر من بروتين كما هو فى حالة بروتينات اللاكتوز يطلق عليه النسخة عديدة التوريث Polycistronic transcript (أو Polygenic).

والدراسات البيوكيميائية التى أجريت على البروتين الكابح للاكتوز lac repressor أوضحت أنه يتألف من أربع وحدات فرعية متماثلة وزن كل منها ٣٧ كيلو دالتون وكل منها يحتوى على موضع ارتباط بالمستحث inducer. ويرتبط البروتين الكابح بقوة وسريعا بالمشغل (O) operator، فثابت التفكك لمعقد الكابح ـ المشغل يبلغ $١٠^{-١٣}$ مولر. وهذه الدرجة العالية من الجاذبية تكون ضرورية وذلك بسبب قله عدد جزيئات البروتين الكابح فى خلية بكتريا القولون من النوع البرى Wild type.

الأدينوزين أحادى الفوسفات الحلقى يستحث نسخ عدد من الأوبرونات القابلة للإستحثاث الأيضى الهدمى

بالرغم من الاعتقاد السائد فى بادئ الأمر أن أوبرون اللاكتوز يكون تحت التحكم السالب فقط بواسطة البروتين الكابح للاكتوز lac repressor، فإنه من الثابت الآن أنه حتى فى وجود المستحث الذى يعادل تأثير البروتين الكابح فإنه يوجد بروتين يعمل كوسيط للتحكم الموجب للاوبرون. ولقد تم اكتشاف هذا البروتين موجب التحكم أثناء دراسة كيفيه غلق بعض الأوبرونات بواسطة الجلوكوز (الأوبرونات الحساسة للجلوكوز) الذى يتحكم كل منها فى تفكيك سكر خاص (مثل اللاكتوز والجالاكتوز ولأرابينوز

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٦ ـ ٢

مخطط بيانى لأوبرون اللاكتوز فى:

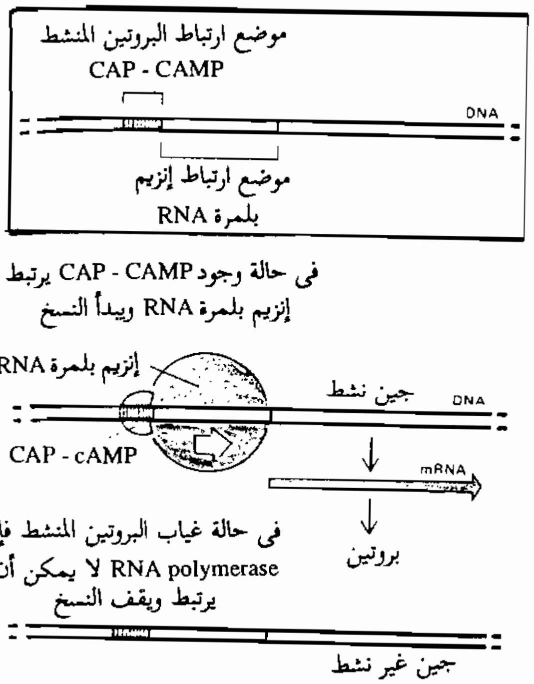
(أ) الحالة المثبطة (فى غياب المستحث) يرتبط البروتين الكابح مع موضع المشغّل (O) ويمنع عملية النسخ.

(ب) الحالة المستحثة (فى وجود المستحث) يرتبط المستحث (أللولاكتوز فى هذه الحالة) مع البروتين الكابح وينتج عن ذلك انفصال البروتين الكابح من DNA ويسمح لإنزيم بلمرة RNA من الإرتباط بموضع بدء الحفز (P) وبدء عملية النسخ.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والمالتوز). مثال ذلك أنه عند تنمية بكتريا القولون فى وجود كل من الجلوكوز واللاكتوز فإن البكتريا تستخدم الجلوكوز دون اللاكتوز، كما أن الخلايا لن تقوم ببناء بروتينات اللاكتوز. وعلى ذلك فإن خلايا البكتريا لها القدرة على الإحساس بوجود أو غياب الجلوكوز والذى يتم بميكانيكية مختلفة. ويطلق على الأساس الجزيئى للتأثير المثبط للجلوكوز بكبح الأيض الهدمى catabolic repression.

ففى غياب الجلوكوز يزداد تركيز الأدينوزين أحادى الفوسفات الحلقى cAMP الذى يرتبط بأحد البروتينات المنشطة Catabolite gene activator Protein (CAP)، ويتكون بذلك متراكب cAMP - CAP الذى يرتبط بدوره فى موضع على DNA مجاور لموضع ارتباط إنزيم بلمرة RNA (شكل ٢٦ ـ ٣). وإرتباط هذا المتراكب بجزئ



شكل ٢٦ ـ ٣

مخطط بيانى يوضح ميكانيكية تنظيم نسخ الجين بواسطة البروتين المنشط (CAP) فى حالة أوبرون اللاكتوز فى بكتريا القولون. فارتباط إنزيم بلمرة RNA يكون ضعيفا إلا إذا إرتبط البروتين المنشط بالموضع المجاور.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

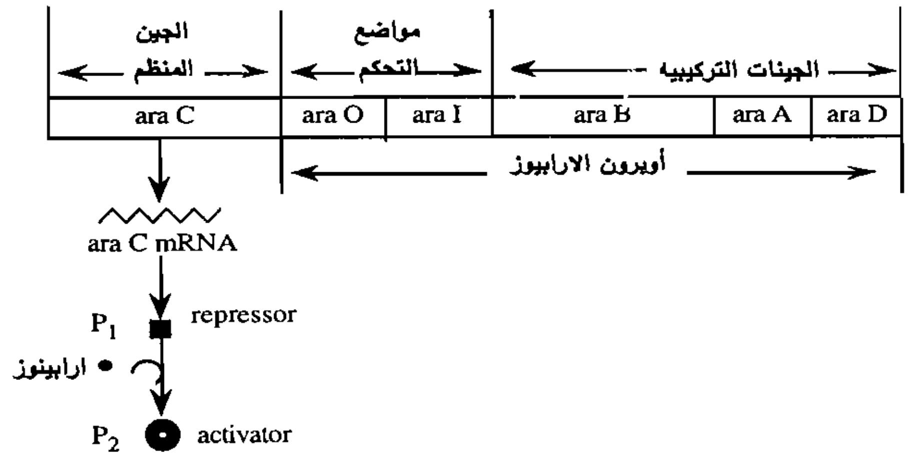
DNA يؤدى إلى نشوء مواضع تداخلات إضافية لإنزيم بلمرة RNA وبذلك يسهل إرتباطه DNA وبدء النسخ. من ناحية أخرى فعند توافر الجلوكوز بكمية كبيرة تكون كمية cAMP قليلة جداً ولا يتكون المتراكب CAP - cAMP، وتحت هذه الظروف فإن ارتباط إنزيم بلمرة RNA بجزئ DNA لا يكون قويا ولا تنسخ جينات اللاكتوز. والطريقة التى يتحكم بها الجلوكوز فى مستوى cAMP فى الخلية غير معروفة.

ويبدو أن المعقد **CAP - cAMP** يعمل بطريقة مماثلة مع الأوبرونات المستحثة الأخرى. وعلى ذلك فإنه يتم التحكم فى الأوبرونات المستحثة بميكانيكيات متكاملة التى تستخدم **cAMP** والمستحثات المتخصصة كجزيئات إشارة.

الصور المختلفة لنفس البروتين تُنشط وتثبط النسخ لأوبرون الأرابينوز

تستطيع البكتريا استخدام سكر الأرابينوز كجزئ وقود خلال تحويله إلى زيليولوز ٥ ـ فوسفات وهو أحد المركبات الوسيطة فى مسار فوسفات البنتوز (فصل ١٤) وذلك بالتأثير المتعاقب لإنزيمات arabinose isomerase و ribulokinase و-ribulose 5 - phos phate epimerase. وهذه الإنزيمات تُشفَّر بواسطة الجينات ara A و ara B و ara D على التوالي. وهذه الجينات التركيبية بالإضافة إلى موضع بدء الحفز Promotor (ara I) وكذلك المُشغّل Operator (ara O) تؤلف أوبرون الأرابينوز arabinose operon (شكل ٢٦ ـ ٤). وهذا الأوبرون يُنظم بواسطة ara C الذى يكون مجاور لموضع المُشغّل. وأوبرون الأرابينوز مثل أوبرون اللاكتوز يمكن أن يُنشط بواسطة معقد الـ CAP و cAMP. وناتج الجين المنظم ara C هو بروتين الذى يمكن أن يتواجد فى هيئتين بنائيتين مختلفتا الوظيفة يطلق عليهما P_1 و P_2. ففى غياب الأرابينوز فإن هذا البروتين يعمل كابح (P_1)، فيرتبط P_1 مع المشغل O الذى يمنع نسخ الأوبرون. من ناحية أخرى فإن الأرابينوز يزيل الهيئة P_1 من المُشغّل ويحول الإتزان إلى P_2، وهى الصورة المنشّطة. ثم ترتبط الصورة P_2 وكذلك المعقد CAP - cAMP مع موضع بدء الحفز Promotor الذى يُمكّن إنزيم بلمرة RNA من بدء النسخ. وعلى ذلك فإن نفس البروتين المنظم يُمكن أن يقوم بوظيفة التحكم الموجب (تنشيط النسخ) والتحكم السالب (تثبيط النسخ).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٦ ـ ٤

خريطة أوبرون الأرابينور وجينه المنظّم.

الخلايا أولية النواة لها القدرة أيضا على إيقاف بناء البروتينات

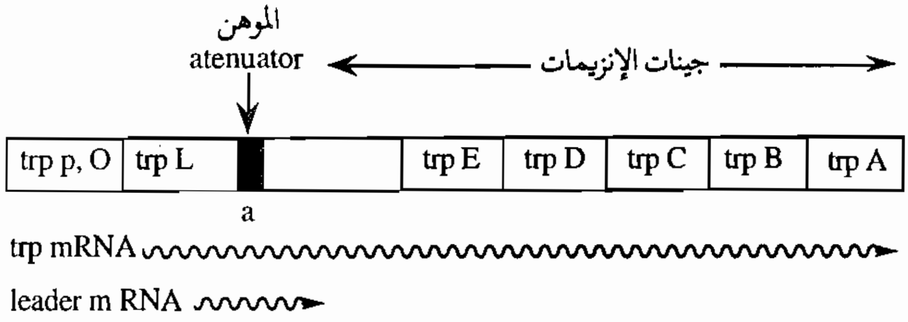
الكيفيه الأخرى لتنظيم بناء الإنزيمات فى البكتريا والتى يظهر أنها عكس المشاهد فى الاستحثاث الإنزيمى هو وقف (كبح) بناء الإنزيمات enzyme repession . فعند تنمية بكتريا القولون فى بيئة تحتوى على أملاح الأمونيوم كمصدر وحيد للنتروجين فإنها تقوم بتكوين جميع المركبات النتروجينية من$NH4^+$ والمصدر الكربونى. هذه الخلايا تحتوى بالطبع على جميع الأنظمة الإنزيمية اللازمة لبناء الأحماض الأمينية العشرين. إلا أنه إذا أضيف حمض أمينى واحد (هستيدين مثلا) إلى البيئة فإنه يوقف بناء مجموعة الإنزيمات المشاركة فى بناء الهستيدين من الأمونيا والمصدر الكربونى، بينما تظل الخلايا نشطة فى بناء الأنظمة الإنزيمية الأخرى التى تشارك فى تكوين الـ ١٩ حمض أمينى الأخرى. وإيقاف بناء الإنزيمات المسئولة عن تكوين الهستيدين نتيجة لإضافة الهستيدين إلى البيئية تعرف بوقف (كبح) بناء الإنزيماتenzyme repession. وتشمل معظم حالات وقف بناء الإنزيمات تلك الإنزيمات التى تشترك فى مسارات الأيض البنائى خاصة بناء الأحماض الأمينية. والكيفية المقترحة لوقت بناء الإنزيمات مماثلة لتلك المشتملة فى الاستحثاث فيما عدا أن المادة الكابحة التى يوجّه بنائها الجين المنظم لا تكون

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فعّالة إلا فى وجود الناتج النهائى لمسار البناء (الهسْتيدين مثلا) أو أحد مشتقاته، وبذلك يتم نسخ إنزيمات الأوبرون فى غياب الناتج النهائى ويقف النسخ فى وجوده. ويوجد أيضا عنصر تحكم آخر فى الأوبرون يعرف بالتباطؤ (التوهن) attenuation. دعنا الآن نأخذ أوبرون التربتوفان كمثال لتوضيح عناصر التحكم فى بناء الانزيمات.

نظام معقد الكابح ـ المشغّل يمثّل العنصر الأول للتحكم فى نسخ أوبرون التربتوفان

يحتوى أوبرون التربيتوفان trp operon (شكل ٢٦ ـ ٥) على خمسة جينات تركيبية تشفّر لخمسة من الإنزيمات التى تحوّل الكوريسمات إلى التربتوفان. وهذه الإنزيمات الخمسة تبنى بصورة متعاقبة ومتناسقة وبكميات مولارية متساوية وذلك بترجمة trp mRNA متعدد التوريث Polycistronic (الجينات التركيبية الخمسة تنسخ فى صورة جزئ mRNA فردى). وأهم السمات المميزة لهذا الأوبرون أن عملية الترجمة تبدء قبل انتهاء عملية النسخ. بالإضافة إلى ذلك فإن بكتريا القولون يمكن أن تغيّر من معدّل بناء هذه الإنزيمات فى مدى ٧٠٠ مره استجابه للتغير فى احتياجها للتربتوفان.



شكل ٢٦ ـ ٥

مخطط لأوبرون التربتوفان موضحا موضع بدء الحفر(p) Promotor، المشغّل operator (o)والموهّن attenuator وجينات التتابع القائد (L) leader sequence وإنزيمات مسار التربتوفان (E وD وC وB وA).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

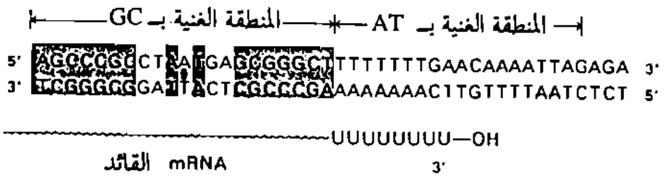
كيف يتم هذا التنظيم ؟. أحد مستويات التحكم يتم بواسطة ارتباط كابح خاص مع منطقة مُشغّل التربتوفان (O)، trp operator على DNA. فعند توفر التربتوفان فانه يرتبط مع كابح التربتوفان، ومعقد الكابح ـ تربتوفان يرتبط بقوة مع منطقة المُشغّل (O) ويمنع ارتباط إنزيم بلمرة RNA مع موضع بدء الحفر (P) Promotorولذلك يقف نسخ جينات التربتوفان. وكابح التربتوفان هو بروتين وزنه ٥٨ كيلو دالتون ويُشفّر بواسطةtrp R gene الذى يوجد بعيداً عن أوبرون التربتوفان. ولا يستطيع الكابح بمفرده من الارتباط بموضع المُشغّل ولكن الذى يستطيع ذلك هو معقد الكابح ـ التربتوفان، ولذلك فإن التربتوفان يعتبر مساعد الكابح corepressor .

بناء التربتوفان يُنظم أيضا بواسطة الإبطاء (التوهين)

اعتقد فى بادئ الأمر أن نظام الكابح ـ المُشغّل هو الميكانيكية الوحيدة لتنظيم بناء التربتوفان على مستوى النسخ فى بكتريا القولون. إلا أن اكتشاف طافرات بكتريا القولون الحاملة لا نتقاصات فى أوبرون التربتوفان فى المنطقة بين المُشغّل (O) وجين الإنزيم الأول (trp E) والتى أظهرت زيادة كبيرة فى انتاج trp mRNA تشير إلى وجود عنصر تحكم نسخ أضافى لأوبرون التربتوفان. ولقد أظهر تحليل التتابع اللاحق للطرف `O لـ trp mRNA وجود تتابع قائد (trp L) leader sequence من ١٦٢ نيوكليوتيدة قبل كودون البدء للإنزيم الأول (trp E). ثم اتضح بعد ذلك أن طفرة النقص التى تزيد مستوى trp mRNA تقع فى منطقه القائد فى حدود ٣٠ ـ ٦٠ نيوكليوتيدة قبل موضع بدء trp E. والمشاهدة المهمة الأخرى أنه عندما يكون مستوى التربتوفان منخفض فإنه ينتج نسخة trp mRNA الكاملة المحتوية على ٦٧٠ نيوكليوتيدة بما فيها تتابع القائد الكامل، بينما عندما يكون مستوى التربتوفان مرتفع تتكون نسخ قصيرة تحتوى فقط على الـ ١٣٠ نيوكليوتيدة الأولى من تتابع القائد. ولقد استنيج Yanofsky أن نسخ أوبرون التربتوفان يجب أن ينُظّم بواسطة موضع الإنهاء الذى يُطلق عليه المبطئ أو الموهن attenu-ator ويوجد بين المُشغّل Operator (O) وجين الإنزيم الأول trp E فى المسار. وهذا الموضع المنظّم يحتوى على تتابع غنى بـ GC متبوعا بتتابع غنى بـAT ، وكل من

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

هاتين المنطقتين فى المُوهِّن تحتوى على محور تماثل ثنائى (شكل ٢٦ ـ ٦). بالإضافة إلى ذلك فإن طرف المنسوخ القائد (leader mRNA) ينتهى بسلسلة من اليوراسيل (U).



شكل ٢٦ ـ ٦
تتابع القواعد فى موضع مُوهِّن التريبتوفان.

ويبدو أن منطقة المُشغِّل ومنطقة الموهِّن يتكاملا فى تنظيم نسخ جينات التربتوفان فى مدى أوسع من تركيزات التربتوفان عما هو منتظر من المُشغِّل بمفرده. فعندما يتوفر التربتوفان للخلية يتم وقف النسخ بارتباط معقد التربتوفان ـ الكابح مع المشغل. وبانخفاض مستوى التربتوفان فى الخلية يزال الكبح ويبدأ النسخ. مع ذلك فإنه ما أن يبدأ بناء جزئ trp mRNA فإنه لا ينمو آليا (أوتوماتيكيا) إلى الطول الكامل، ولكن بدلا من ذلك فإن معظم جزيئات trp mRNA يقف نموها حتى قبل أن يتم نسخ الجين الأولى إلى أن يتم التحقق عن طريق المُوهِّن أن كمية التربتوفان المتوفرة للخلية قليلة.

التوهين يُنجز بواسطة ترجمه القائد

كيف يمكن لموضع المُوهِّن فى أوبرون التربتوفان استشعار مستوى التربتوفان فى الخلية. يمكن تفهم ذلك من ملاحظة أن جزء من mRNA القائد يتم ترجمته، وكذلك وجود بواقى التربتوفان عند الموضعين ١٠ و١١ فى عديد الببتيد القائد الذى يتألف من ١٤ حمض أمينى (شكل ٢٦ ـ ٧) والذى له دلالة هامة. فعندما يكون التربتوفان متوافر للخلية تبنى سلسلة القائد الكاملة، أما اذا كان مستوى التربتوفان منخفض فإن الريبوسوم يتوقف عند الكودون UGG (الخاصة بالتربتوفان) نظرا لندرة tryptophanyl tRNA. والريبوسوم المتوقف يُغير بطريقة ما تركيب mRNAبحيث أن إنزيم بلمرة RNA ينسخ الأوبرون فيما وراء موضع المُوهِّن. والسمة المميزة لميكانيكية التحكم هذه هو ازدواج

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Met- Lys- Ala- Ile- Phe- Val- Leu -Lys- Gly- Trp- Trp- Arg- Thr- Ser- Stop
- AUG AAA GCA AUU UUC GUA CUG AAA GUU UGG UGG CGC ACU UCC UGA-

شكل ٢٦ ـ ٧

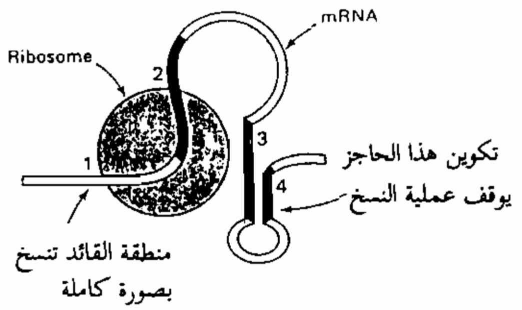
تتابع الأحماض الأمينية فى الببتيد القائد للتربتوفان وتتابع القواعد فى mRNA القائد المقابل.

عملية الترجمة مع عملية النسخ، فالريبوسوم الذى يترجم mRNA القائد للتربتوفان يعقب من الخلف جزئ إنزيم بلمرة mRNA الذى ينسخ DNA القالب. ولقد أوضحت الدراسات الحديثة أن الريبوسوم المتوقف عند الكودون UGG يُغيرّ البناء الثانوى لـ mRNA من تنظيم ازدواج قواعد يساند النسخ إلى إزدواج قواعد مختلف الذى يسمح لإنزيم بلمرة RNA من القراءة خلال موضع الموهن (شكل ٢٦ ـ ٨). ولقد بدأ فى الوقت الحاضر معرفة أن جزيئات الأحماض النووية مثلها مثل جزيئات البروتين يمكن أن تغير من هيئتها البنائية والذى يلعب دوراً تنظيميا مهماً.

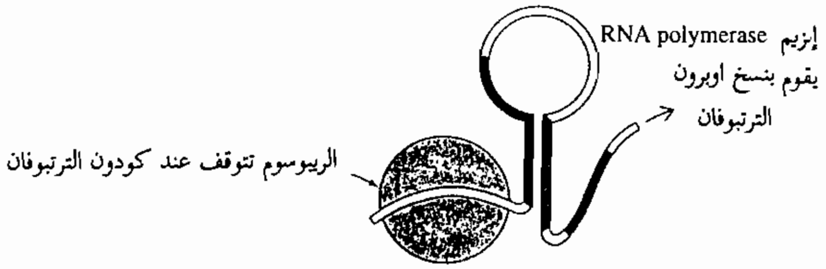
تنظيم التعبير الجينى فى الكائنات مميزة النواة

بعد أو أوضحنا فى الأجزاء السابقة الميكانيكيات المشاركة فى تنظيم التعبير الجينى فى الكائنات أولية النواة، ننتقل الآن إلى موضوع تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النواة والذى يبدو أنه مختلف فى تفاصيله عن النوع الأول. فاختلاف خلايا مميزة النواة عن خلايا أولية النواة فى كثير من الأوجه يتطلب عناصر إضافية عديدة لتنظيم نشاط جيناتها. فخلايا مميزة النواة تحتوى على معلومات وراثية أكبر بكثير عن خلايا أولية النواة، كما أن DNA فى مميزة النواة العليا يرتبط ببروتينات قاعدية تعرف بالهستونات، بينما DNA فى الكائنات الدنيا ليس كذلك. نجد أيضا أن جينومات مميزة النواة تحتوى على درجة عالية من التنظيم البنائى أكثر من جينومات أولية النواة. والاختلاف الرئيسى الآخر هو أن كروموسومات مميزة النواة محاطة بغشاء نووى، بينما هذا الغشاء والأغشية الداخلية الأخرى لا توجد فى أولية النواة. والنتيجة المهمة لذلك هو أن النسخ والترجمة تكونا منفصلتا فى المكان والزمان فى مميزة النواة، بينما تكونا هاتين العمليتين مزدوجتين فى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



(أ) مستوى عالى من الترتبوفان



(ب) مستوى منخفض من الترتبوفان

شكل ٢٦ ـ ٨

نموذج للتوهين فى أوبرون التريتوفان فى بكتريا القولون. عندما يكون مستوى التريتوفان مرتفع (أ) فإن منطقة القائد (القطعة ١) من trp mRNA تترجم بصورة كاملة. الجزء ٢ يتفاعل مع الريبوسوم والذى يُمكّن الأجزاء ٣ و ٤ من الإزدواج، وهذه المنطقة المزدوجة القواعد تعطى إشارة بطريقة ما لإنزيم بلمرة RNA من وقف النسخ. بالمقارنة فإنه عندما يكون مستوى التريتوفان منخفض (ب) فإن الأجزاء ٣ و ٤ لا يتم بينهما ازدواج لأن الريبوسوم يتوقف عند كودون التريتوفان فى الجزء ١، حيث يزدوج الجزء ٢ مع الجزء ٣ بدلا من سحبها إلى الريبوسوم وبذلك فإن الأجزاء ٣ و ٤ لا تستطيع الإزدواج. وبالتالى تستمر عملية النسخ.

أولية النواة. والأهم من ذلك أن خلايا الأنسجة المختلفة فى الكائن مميز النواة تقوم بوظائف متباينه والذى يتطلب بنائها لبروتينات مختلفة، ولذلك فإن خلايا الفقاريات تُبرمج لنسخ مجموعة معينة من الجينات. وبالرغم من أن معلوماتنا قليلة فى الوقت الحاضر عن تنظيم

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

التعبير الجينى فى مميزة النواة، إلا أن هذا المجال فى نمو سريع لأنه بالإمكان الآن عزل جينات مميزة النواة وإكثارها ومعرفة تتابع القواعد فيها فى أنظمة محددة جيداً.

ميكانيكيات تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النواة يختلف عن أولية النواة

يُعتقد أن نظم الأوبرونات غير هامة فى مميزة النواة العالية، هذا إذا كانت موجودة أصلا. فبينما تشير بعض الأدلّة على وجود الأوبرونات أو وحدات مشابهة لها فى مميزة النواة البسيطة مثل الفطريات، فإنه يبدو أن أنظمة الأوبرونات غير موجودة فى مميزة النواة الراقية. والمعلومات المتوفرة الآن تشير إلى أن تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النواة يتم بالدرجة الأولى على مستوى النسخ، إلا أن معالجه RNA ودرجة ثبات RNA الرسول وجد أنها تلعب أيضا دوراً فى تنظيم التعبير الجينى. وقد ثبت فى بعض الحالات أيضا أن تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النواة يتم على مستوى الترجمة، كما وجد أيضا أن معدّل تفكك البروتين يلعب دوراً مهما فى التحكم الدقيق فى مستوى نواتج الجين. مع ذلك فإنه نظرا لأن بناء RNA هو الخطوة الأولى فى التعبير الجينى، فإن التحكم فى معدّل بناء RNA ربما يكون له السيطرة على مستويات التنظيم الأخرى. وسوف نتعرض فى الأجزاء التالية للعناصر المشتملة فى تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النواة العالية.

تكاثف DNA غير النشط فى الهيتروكروماتين

لقد سبق أن أوضحنا أن DNA الكروموسومى فى مميزة النواة يرتبط مع الهستونات مكونا وحدات متكررة هى النيوكليوسومات، وهذه النيوكليوسومات تنتظم فى تركيبات أعلى مكونة ألياف الكروماتين. ويُمكن تمييز نوعين من الكروماتين فى الطور البينى inter-phase هما الهيتروكروماتين heterochromatin واليوكروماتين euchromatin. ويشير الهيتروكروماتين إلى مناطق الكروماتين شديده التكاثف التى تكون خاملة فى النسخ، بالمقارنة باليوكروماتين الذى يكون منتشر ونشط فى النسخ إلى RNA. يحتوى كل من الهيتروكروماتين واليوكروماتين تقريبا على نفس نسبه DNA إلى الهستون والذى يشير إلى أن DNA فى كلاهما يعبّأ فى نفس التركيب النيوكليوسومى الأساسى. لذلك فإن الأساس البيوكيميائى لاختلاف الهيتروكروماتين واليوكروماتين غير معروف، إلا أنه أثناء

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الانقسام الميتوزى فإن اليوكروماتين يتحول مؤقتا إلى صورة لا يمكن تمييزها عن الهيتروكروماتين.

والملاحظ أيضا أنه ليس فقط يكون الهيتروكروماتين غير نشط، ولكن يمكن للجينات أن تثبط بإعادة تنظيم كروموسومى الذى يتم فيه إدماج الجينات النشطة فى منطقة الهيتروكروماتين. وهذا يقترح وجود وسائل تحكُّم التى يمكن لها من فتح أو غلق وظيفة قطاع طويل من كروموسوم ما. ولقد تم توضيح ذلك فى حشرة الدروسوفيلا ولكنه يتم أيضا فى أنظمة الثدييات.

وأكثر الأمثلة توضيحا لذلك هى كروموسومات الجنس. ففى إناث الثدييات نجد أن أزواج الكروموسومات x المتناظرة تبدو مختلفين كلية، فأحدها يظهر فى صورة عالية التكاثف (الذى يشير أنه غير نشط)، بينما الآخر يكون ممتد وغير متكاثف (الذى يشير أنه نشط). وقد تم التأكد من ذلك بواسطة التحليل البيوكيميائى الذى أوضح أنه فى كل خلية أنثوية فإن الجينات التى توجد فقط على أحد الكروموسومين x تكون نشطة. وأكثر من ذلك فإن أى من الكروموسومين x يكون غير نشط فإنه يختلف من خلية إلى أخرى، وعلى ذلك فإن نسيج الأنثى يحتوى على اثنين من أنواع الخلايا المختلفة. ومرة أخرى فإن الأساس الجزيئى لهذه الظاهرة ما زال غير معروف، إلا أنه قد يرتبط بدرجة ميثلة DNA (كما سنوضحها فيما بعد). والنتيجة المهمة لتثبيط الكروموسوم x هى اقتراح وجود وسائل التى تغلق بصورة متخصصة تعبير أحد الكوموسومات بصورة كاملة، وأن هذا الغلق يرتبط بطريقة ما مع انتظام (تعبئه) DNA فى الكروماتين بصورة مكثّفة.

وبالرغم من أن الكروموسومات الأخرى فى مميزة النواة لا تظهر ظاهرة التأثير الكلى أو لا تأثير (كل الكروموسوم نشط أو غير نشط)، فإنها قد تحتوى على مناطق من الهيتروكروماتين الذى يعتمد طولها على عمر الكائن. مثال ذلك أن عدداً كبيراً من المناطق التى تكون فى صورة هيتروكروماتين فى المراحل الأخيرة من عمر الكائن تكون في صورة يوكروماتين فى المراحل الأولى من التطور، ومثل هذه المناطق ربما تحتوى على جينات برمجت لتكون فعالة فقط فى المراحل الأولى لتكوّن الجنين. من ناحية أخرى نجد أن DNA المجاور للسنترومير والذى يحتوى على تتابعات شديدة التكرر هو

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أحد الأمثلة للهيتروكروماتين الذى لا يُنسخ مطلقا، ولكنه ربما يلعب دوراً فى تركيب الكروموسوم والمحافظة عليه.

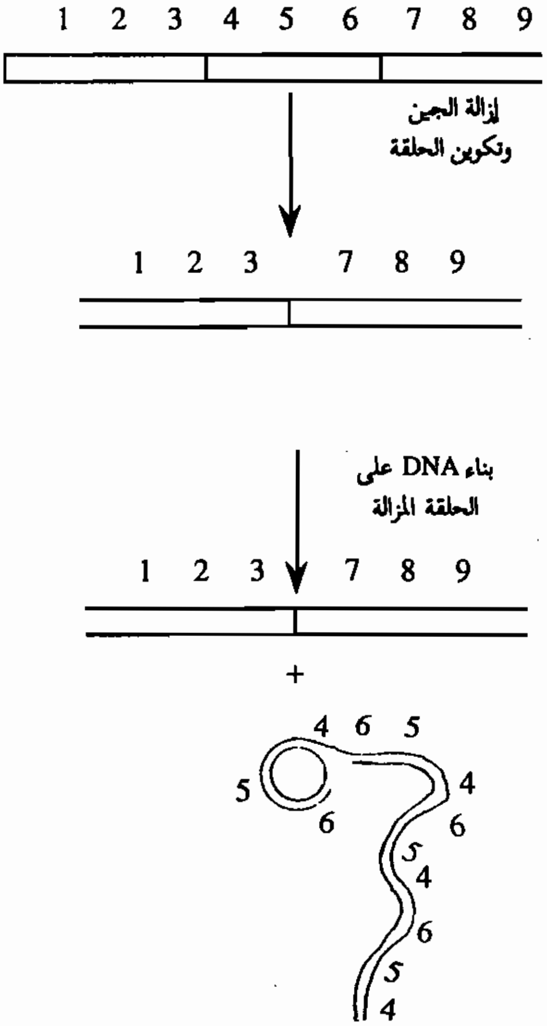
بعض جينات مميزة النواة يتم تضخيمها: تضخيم الجين

عدد كبير من بروتينات خلايا مميزة النواة تُشفّر بواسطة جينات أحادية النسخة single copy genes، أو بواسطة عدد قليل من النسخ الجينيّة. مع ذلك فإن خلايا مميزة النواة تحتوى على بعض الجينات التى تتواجد فى عدد كبير من النسخ، كما أن هذه الجينات يتم تضخيمها فى بعض مراحل دورة حياه الخلية لتعطى آلآف من نسخ الجين. مثال ذلك الجينات التى تُشفّر لجزيئات RNA الريبوسومية البادئة (45S rRNA) التى تتفكك وتعالج فى النواة لتعطى جزيئات RNA الريبوسومية28S rRNA و 18S rRNA و5.8S rRNA، التى توجد فى الريبوسومات الناضجة. أما جزيئات 5S rRNA، من ناحيه أخرى تُبنى فى مكان آخر فى النواة ثم تنتقل إلى النويّات وهى موضع بناء جزيئات RNA الريبوسومية الثلاثة الأخرى، حيث يحدث تجميع لهذه الجزيئات مع البروتينات الريبوسومية (حوالى ٧٠, إلى ٨٠ نوع من البروتين) وتتكون الريبوسومات.

والدراسات التى أُجريت على ضفدع Xenopus leavis أوضحت أن الخلية الجسميّة فيه تحتوى على حوالى ٥٠٠ نسخة من الجين المُشفّر لجزيئات RNA الريبوسومية البادئة (45S rRNA). أما أثناء تكوين البويضة ونضجها oogenesis فإنه يحدث تضخيم انتقائى للجينات المشفّرة لـ 45S rRNA حيث تتكرر هذه الجينات عدة آلآف من المرات (شكل ٢٦ ـ ٩) لتكوّن حوالى ٢ × ١٠٦ نسخة من الجين. و RNA المضخّم يوجد فى صورة حلقات خارج كروموسومية extrachromosomal circles وتكون الكروموسومات خلال هذه المرحلة طويلة التركيب وعلى شكل الفرشاة ومنها اعطيت إسم الكروموسومات الفرشائية lampbrus chromosomes (شكل ٢٦ ـ ١٠). وهذا التضخيم الانتقائى يُمكّن البويضة من تكوين حوالى ١٠١٢ ريبوسوم اللازمة لعملية البناء السريع للبروتين التى تحدث بعد عملية اخصاب البويضة ودخولها فى عملية انقسام سريع. وفى غياب تضخيم الجين فإن تكوين هذا العدد الكبير من الريبوسومات قد

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

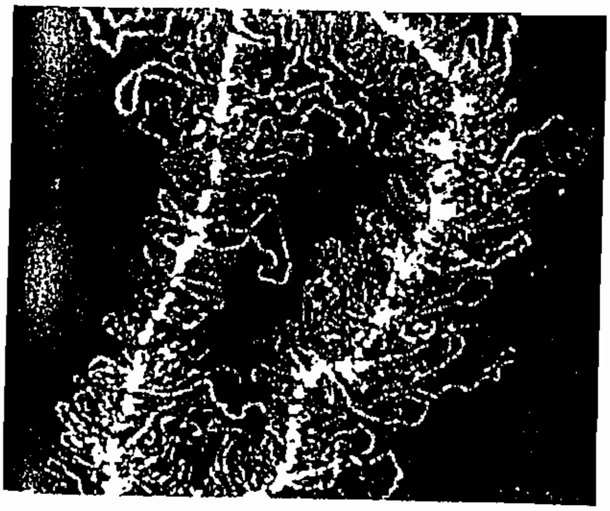
يستغرق عدة أجيال. وبناء على المفهوم الحالى فإن التضخيم الانتقائى لبعض الجينات قد يتم أثناء نمو النباتات والحيوانات الراقية.



شكل ٢٦ ـ ٩

رسم بيانى لكيفية تضخيم جينات RNA الريبوسومية فى بويضات البرمائيات (ضفدع xenopus leavis). يتكون الجين المضخم كجزئ DNA مفصول عن الكروموسوم.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل ٢٦ ـ ١٠

صورة فلوروسنسية للكروموسوم الفرشائى من نواة بويضة Notophthalmus Viridescens. الحلقات العديدة النشطة فى عملية النسخ على الكروموسوم تعطى الكروموسوم شكل الفرشاة.

جينات معينة يُمكن تنشيطها لعملية النسخ: التنشيط الجينى الإنتقائى

إن التحكم فى التعبير الجينى فى مميزة النواة يتم على مستوى النسخ كما يحدث فى أولية النواة. وأحد الأدلّة المباشرة على ذلك هو نتائج الدراسات التى أجريت على كروموسومات الحشرات أثناء التكوُّن (التطور). فتحتوى الغدد اللعابية لحشرة الدروسوفيلا على كروموسومات عملاقة giant chromosomes، وكل من هذه الكروموسومات العملاقة (التى تُعرف أيضا بالكروموسومات البوليتينية Polyten chromosomes) يتألّف من عدد كبير من الكروموسومات المتراصة جانبيا. وكل كروموسوم عملاق يحتوى على سلسلة مميزة من الحزم (كروموميرchromomer) التى يمكن مشاهدتها تحت المجهر الضوئى. وفى أثناء تطور اليرقة larva إلى العذراء فإن بعض هذه الحزم تكبر أو تُنفخ puffed وذلك لأن DNA فى هذه المناطق يتحول من الصورة المتكاثفة إلى صورة منتشرة (شكل ٢٦ ـ

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١١)، وتُمثل هذه الانتفاخات المناطق النشطة نسخيا. ولقد وجد أن تكوين الانتفاخات Puffing يُمكن أن يُستحث فى الغدد اللعابية المفصولة خارج الحشرة بواسطة الاكديسون ecdysone، وهو أحد الهرمونات الإسترويديه الحشرية. فتحدث انتفاخات لبعض مناطق معينه التى تنقبض فى تتابع زمنى، كما يصاحب ذلك تغيرات فى جزيئات mRNA المبتنية.

شكل ٢٦ ـ ١١

تكوين الانتفاخ Puff فى الكروموسوم البوليتينى أثناء التطور (التكوُّن). والسهم يشير إلى انتفاخ واضح فى كروموسوم حشرة الدروسوفيلا.

والنتائج التى يمكن استخلاصها من دراسة الكروموسومات البوليتينية العملاقة هو (١) حدوث تنشيط انتقائى لبعض الجينات فى مراحل معينة من حياة الحشرة (٢) هذا التنشيط يتم بالاستحثاث الهورمونى (٣) حدوث تغيرات مورفولوجية فى المنطقة التى يحدث فيها تنشيط للجين، فيزال تكاثف DNA ويتحول إلى حالة أكثر انتشاراً مكوِّنا انتفاخات مميزة.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الحساسية لإنزيمات النيوكلييز تُميِّز مناطق الكروماتين النشطة

إن التغيرات المورفولوجية المشاهدة فى الكروموسومات العملاقة للدروسوفيلا تُوضح أن الجينات النشطة (أو تلك التى لها إمكانية النشاط) تدخل كروماتيناتها فى تغيرات تركيبية كبيرة بالمقارنة بالمناطق الساكنة فى الكروموسوم. إن إزالة التكاثف فى منطقة ما من DNA لتكوين الانتفاخات غالبا ما يكون شرطاً ضرورياً ولكنه ليس كافيا للنسخ. أضف إلى ذلك أن صورتى الكروماتين التى يمكن تمييزهما فى خلايا الفقاريات لا يرتبطا مباشرة مع نشاط الجين. فبينما يظل الهيتروكروماتين متكاثف وغير نشط فى بناء RNA فى الطور البينى فإن بقية الـ DNA (اليوكروماتين) لا يكون كله نشط نسخيا، حيث أنه فى المتوسط يكون حوالى ٧٪ فقط من تتابعات الجينوم يتم نسخها إلى جزيئات RNA فى خلية مميزة النواة النموذجية. لذلك أجريت محاولات للبحث عن طرق أخرى للكشف عن التغيرات التى تحدث فى اليوكروماتين فى تلك المناطق التى تُعبِّر عن جينات معينة.

أحد المؤشرات المهمة للتغير فى تركيب الكروماتين فى مناطق الجينات النشطة هو الحساسية لإنزيم النيوكلييز (DNase). فقد أُثبتت الدراسات المتوالية زيادة حساسية الجينات النشطة للهضم بإنزيم DNase I، بينما الجينات غير النشطة ليست كذلك. بالإضافة إلى ذلك فقد وجد أن حساسية الجينات النشطة لـ DNase I يعتمد على وجود اثنين من البروتينات الكروموسومية غير الهستونية التى تعرف بالمجموعات عالية الحركة highyl mobility group (HMG) وهما HMG 14 و HMG 17 (ولقد سميا بذلك نظراً لحركيتهما العالية فى مجال كهربى فى جيل البولى اكريلاميد). فعند إزالة هذه البروتينات من الكروماتين النشط فإنه يفقد حساسيته تجاه إنزيم النيوكلييز، وعندما تضاف مرة أُخرى تسترد الحساسية.

ولقد وجد أنه عندما يعامل الكروماتين المحتوى على الجينات النشطة أو التى لها امكانية التنشيط بواسطة تركيزات منخفضة من DNase I فإنه يحدث تكسُّر لجزيئات DNA فى عدد من المواضع التى تمثل المواضع فائقة الحساسية hypersensitive sites. وهذه المواضع من DNA عادة ما توجد فى المقدمة، أى مجاورة لنهاية الجينات النشطة المقابلة للطرف ٥َ لـ RNA الرسول. وهذه المواضع فائقة الحساسية لإنزيم النيوكلييز

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

يبدو أنها تُمثّل النوافذ المفتوحة التى تسمح للبروتينات للدخول إلى تتابعات التحكم فى DNA، فهذه المناطق تكون خالية من النيوكليوسومات.

نشاط الجين يرتبط أيضا بالميثلة المنخفضة لـ DNA

فى معظم جينومات مميزة النواة الراقية بما فيها خلايا الثدييات فإن حوالى ٥٪ من قواعد السايتوسين (C) فى DNA تحوّر بواسطة عملية ميثلة methylation عند الموضع ٥ فى حلقة السايتوسين. وعملية الميثلة تحدث بالدرجة الأولى عند التتابع CpG لتنتج mCpG (حيث mC تمثل ٥ - ميثايل سايتوسين)، وتظهر متماثلة على كلا خيطى DNA (حيث أن النيوكليوتيد الثنائى CpG دائما يزدوج مع التتابع GpC فى الحلزون المزدوج المتضادالإتجاه).

ولقد اتضح فى السنوات الأخيرة أن التتابعان CpG فى المناطق المجاورة لعدد كبير من الجينات تكون منخفضة الميثلة فى الأنسجة التى يتم فيها تعبير الجين بالمقارنة بالأنسجة التى يكون فيها الجين غير نشط. وقد أمكن تقدير درجة الميثله فى منطقة جين ما باستخدام إنزيمات restriction endonuclease، حيث تبيّن أن غياب الميثلة فى الجين النشط لايكون كاملاً، فقد وجد أن مايقرب من ٣٠٪ من التتابعات CpG تكون مميثلة فى المناطق المنسوخة بالمقارنة بحوالى ٧٠٪ ميثلة لكل التتابعات CpG فى DNA فى الخلايا الحيوانية. وكما هو مشاهد فى حالة المناطق الحساسة للنيوكلييز، فإن الميثلة المنخفضة تُغطّى منطقة أكثر من الجزء المنسوخ لجين ما.

وبالرغم من أن ازالة الميثلة لاتكون مزدوجة مع بدء التعبير فى كل جين تم اختباره، فإن التماثل بينهما والمشاهد فى معظم الحالات يكون لافت للنظر. وهذا يطرح السؤال العام ما إذا كان التغير فى ميثلة DNA هو سبب أو نتيجة لتنشيط الجين؟. ويمكن للميثلة من تنظيم التعبير الجينى بطريقتين أساسيتين. الأولى هى أن إضافة مجموعة الميثايل على الموضع الخامس فى السايتوسين ربما يزيد (أو يخفض) التأثير المتبادل بين DNA والبروتينات الكابحة أو المنشّطة، إذْ أن مجموعة الميثايل فى السايتوسين تنتأ (تمتد) فى الأخدود الرئيسى للحلزون المزدوج حيث غالبا ما يتم التعارف المتخصص بين DNA

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والبروتين. والثانية حيث أن إضافة مجموعة الميثايل إلى السايتوسين تؤدى إلى ازدحام (حشد) جزيئى فى الأخدود الرئيسى فإن الميثلة تؤدى إلى تغيير اتزان الهيئة البنائية من الصورة B القياسية (نموذج الحلزون المزدوج لواطسون وكريك) إلى صورة أخرى (خاصة الصورة Z التى فيها يمكن للأخدود الرئيسى الكبير من إزالة بعض الإجهاد الفراغى الناتج عن وجود مجموعات الميثايل). وحيث أن البروتينات التى ترتبط بـ DNA تكون حساسة بصورة عامة للبناء الفراغى لسلسلة الفوسفات - السكر فى DNA بالإضافة إلى تتابع القواعد عند مواضع التعارف، فإن مثل هذه التغيرات فى الهيئة البنائية ربما تغير بدرجة كبيرة درجة ارتباط الكابحات (أو المنشطات) بـ DNA. مع ذلك فإن العلاقة الحقيقية بين مستوى الميثلة والتعبير الجينى ما زالت غير واضحة. وأكثر من ذلك فإنه ليس من الواضح كيفية الإزالة الإنتقائية للميثلة فى بعض المواضع عندما يكون مرغوب تنشيط الجين فى هذا الموضع. واللغز الأخير ظهر من ملاحظة أن بعض مميزة النواة (خاصة الحشرات) تنظم نشاط جيناتها بدرجة عالية من الدقة بدون ميثلة DNA على الإطلاق.

بدء النسخ يتم بوساطه عوامل خلوية متخصصة التى تعمل على مواضع تقدم الحفز والمعززات

إن خلايا مميزة النواة المتمايزة لها كفاءة عالية فى التعبير الانتقائى لجينات معينة. فمعدلات البناء لبروتين ما فى خليتين فى نفس الكائن ربما يختلف بعامل قد يصل إلى 10^9، بمعنى أن جينات مميزة النواة التى لا يتم التعبير عنها تكون مغلقة تماما. بالمقارنة فإن أنظمة خلايا أولية النواة القابلة للكبح مثل أوبرون اللاكتوز فى بكتريا القولون تظهر اختلاف فى معدل نسخها لا يتعدى ألف مرة.

وبالإضافة إلى ارتباط عملية النسخ بتركيب الكروماتين ومستوى الميثلة، فإن التحكم فى بدء النسخ يمثل أيضا أحد العناصر الرئيسية فى تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النواة. والدراسات الوراثية التى أجريت على جينات مميزة النواة لتحديد ما إذا كانت عمليات تنظيم النسخ هى ميكانيكيات موجبة أو سالبة التحكم، أوضحت أن معظم ميكانيكيات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

التحكم فى النسخ هى ميكانيكيات موجبة التى تشمل الارتباط الانتقائى لعوامل متخصصة بتتابعات التحكم فى DNA التى تنظم معدل بدء النسخ، وهذا حقيقى سواء نسخ الجين بواسطة إنزيم RNA Polymerase I أو II أو III.

ولقد ثبت أن تتابعات تقدم الحفز Promoter والمعزز enhancer تتوسط تعبير الجينات الخاصة بالخلية. والمعزز هو تتابع من القواعد يكون ضرورى للنشاط الكامل لموضع تقدم الحفز، ولكن يمكن أن يتواجد فى مواضع مختلفة واتجاه مختلف بالنسبة لموضع بدء الحفز.

ولقد اكتشفت تتابعات المعزز أولا فى فيروسات DNA المسببة للاورام مثل SV 40 و Polyoma، حيث وجد أن طفرة الانتقاصات فى منطقة المعزز (الذى يتألف من ٧٢ زوج قاعدة ويحتوى على تكرر مترادف) فى DNA لفيروس SV 40تخفض تعبير الجين المبكر بعامل أكبر من ١٠٠. ثم ثبت بعد ذلك وجود تتابع المعزز فى كثير من جينات الثدييات وجينات الفيروسات الأخرى. وأحد الأمثلة لتأثير المعزز هو فتح نسخ جين الإيمنيوجليوبين، أما المثال الآخر هو تأثير الهوروموينات الإسترويدية الذى سنناقشه بعد قليل. وأحد النماذج المقترحة لعمل المعزز هو أن التفاعل المتخصص لتتابع المعزز مع بروتين (أوبروتينات) خلوية خاصة ينشيء بناء ثلاثى الأبعاد من DNA يكون ذات جاذبية عالية لإنزيم بلمرة RNA.

التحكُم الموجب للتعبير الجينى بواسطة الهورمونات الإسترويدية: تأثير المعزّز وثبات DNA الرسول

تعتبر الهورمونات الإسترويدية steroid hormones عناصر مهمة فى التنظيم الفسيولوجى والتطور (التكوُن) للحيوانات. فعند معاملة الخلية المستهدفة بالهورمون الاسترويدى يستحث بناء جزيئات RNA جديدة عادة خلال عدة دقائق. مثال ذلك أن إعطاء هورمون β- estradiol (وهو أحد الهورمونات الجنسية الأنثوية) إلى الدجاج تجعل قناة البييضات oviduct تزيد مستوى mRNA المُشفر لبروتين أفالبيومين من ١٠ جزيئات إلى ٥٠,٠٠٠جزئ لكل خلية، بينما يزداد مستوى أفالبيومين من مستوى منخفض جداً

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يصعب الكشف عنه إلى مستوى يُمثّل الناتج الرئيسى للبروتينات المتكونة حديثا. والهورمونات الإسترويدية مع ذلك لا تعمل مباشرة بذاتها، ولكن بدلا من ذلك فإنها ترتبط مع بروتينات مستقبلة عالية التخصص (تعرف بمستقبلات الهورمون الإسترويدى Steroid hormone receptors) التى يوجد منها عدة آلاف من النسخ فى السائل الخلوى لكل خلية. ومعقد الهورمون ـ المستقبل ينتقل بعد ذلك إلى النواة حيث يتفاعل مع موضع جينومى خاص (المُعزز) لفتح نسخ جين (أوجينات) معينة، وفى بعض الأحيان تكبح عملية النسخ.

ويظهر من ذلك أن تأثير المستقبلات الهورمونية الإسترويدية كمُنظّمات مُوجبة (أو مُنشّطات) للنسخ تماثل تلك الخاصة بتنظيم النسخ بواسطة المعقد CAP - cAMP فى أولية النواة مثل بكتريا القولون، إلا أن أنظمة مميزة النواة تبدو أكثر تعقيداً. مثال ذلك أن أنواع مختلفة من الخلايا تحتوى على نفس المستقبل لهورمون إسترويدى معين، إلا أنها تبنى بروتينات مختلفة استجابة للهورمون. ويبدو من ذلك أن الجينات المستحثّة بواسطة هورمون استرويدى ما هى فقط التى تكون متاحة للتنشيط فى كل نوع من الخلايا المستجيبة لهذا الهورمون.

يشترك أيضا فى التنظيم بالهورمونات الإسترويدية ميكانيكيات تعمل على مستويات أخرى خلاف التعبير الجينى. وأهم هذه الميكانيكيات هو الثبات الانتقائى لمنسوخات RNA المستحدثة بالهورمون ضد التفكك السيتوبلازمى. مثال ذلك أنه فى كبد ضفدع xenopus تكون فترة نصف العمر لـ mRNA الخاص بالفيتيلوجنين Vitellogenin (فيتيلوجنين هو بروتين أولى لمح البيض) فى حدود ٣ أسابيع فى وجود الهورمون المستحث إستروجين estrogen، بينما تنخفض فترة نصف العمر إلى ١٦ ساعة عند سحب الإستروجين. ومرة أخرى يبدو أن الهورمون يعمل على ثبات mRNA خلال نوع من البروتينات المستقبلة التى تختلف عن البروتينات المستقبلة التى تنشط النسخ. ولقد شوهد أيضا الثبات الانتقائى لـ mRNA لعدد من الجينات الأخرى التى تنشط بواسطة الهورمونات الإسترويدية. بالإضافة إلى ذلك فإنه قد سجل حدوث تغير فى معالجة RNA بعد معاملة الخلايا المستهدفة بالهورمون. ونجد من ذلك أن الهورمونات الاسترويدية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ترفع مستوى أنواع معينة من جزيئات mRNA بواسطة معالجات متناسقة لكل من عمليات النسخ وعمليات ما بعد النسخ.

التحكم فى الترجمة فى مميزة النواة

إن أهمية التحكم على مستوى الترجمة فى مميزة النواة لم يكن معروضا للمناقشة لفترة طويلة. فالسؤال الذى كان مطروحاً آنذاك هو لماذا تبدد الطاقة فى بناء mRNA الذى قد لايستخدم بواسطة الخليه؟. فالتنظيم على مستوى الترجمة قد يكون ذو معنى فى البكتريا التى تتميز بجزيئات mRNA عديدة التوريث Polycistronic. فإذا كانت الخلية فى حاجة إلى أحد النواتج البروتينية بينما لا تحتاج إلى الآخر فإن لتحكم على مستوى الترجمة يكون مطلوبا. بالمقارنة فإن جزيئات mRNA فى مميزة النواة تكون أحادية التوريث monocistronic، بالإضافة إلى ذلك فإن بناء هذه الجزيئات يحتاج إلى خطوات عديدة بعضها يكون تحت التنظيم الخلوى. وقد يبدو من ذلك أن تنظيم الترجمة فى مميزة النواة يكون غير ضرورى. إلا أن الدراسات البيوكيمائية أوضحت أن التنظيم على مستوى الترجمة فى مميزة النواة يوفر طريقة سريعة للتحكم فى التعبير الجينى ويستخدم فى مدى واسع بواسطة الكائنات مميزة النواة الراقية.

فى بعض الحالات يتم تعديل مستوى الترجمة بواسطة تغيير لعناصر أساسية فى جهاز الترجمة الخلوى، ومثل هذه التغيرات تؤثر بالطبع على نشاط كل جزيئات mRNA فى الخلية. مثال ذلك أنه يبدو أن فسفرة البروتينات الريبوسومية (خاصة البروتين 6S فى الوحدة الريبوسومية 40S) تكون مرتبطة بمستوى البولى سوم العالى بعد استحثاث خلايا الثدييات بواسطة أنواع مختلفة من عوامل النمو. أو كما سنرى فى الجزء التالى فإن التحوُّر لعامل البدء فى الترجمة eIF - 2 هو الوسيلة المستخدمة بواسطة خلايا الدم الحمراء غير الناضجة reticulocytes لربط بناء بروتيناتها مع توافر الهيم (وهو المجموعة التعويضية المرتبطة فى الهيموجلوبين).

وهناك استراتيجيات أخرى تطبق لتغيير الترجمة لنوع واحد من جزيئات mRNA (أو مجموعة mRNA خلوية). وعدد كبير من هذه الميكانيكيات تعمل عند أو قبل خطوة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

البدء فى الترجمة. والميكانيكيات المشتملة قبل البدء هى التباين الكبير فى فترة نصف العمر لـ mRNA، وكذلك تغيير ثبات mRNA استجابة لبعض العوامل. والبديل عن ذلك هو أن mRNA قد يوجد فى حاله ثبات فى السيتوبلازم ولكنه يعزل بطريقة ما عن جهاز الترجمة. أضف إلى ذلك أن طور الإستطالة فى بناء البروتينات يمكن أن ينظّم بطريقة متخصصة كما اتضح من تأثير جسيمات إشارة التعارف signal recognition particles (SRP) على استطالة البروتينات المفرزة خارج الخلية وعلى ذلك فلم يعد هناك شك فى اشتراك التحكم فى الترجمة فى وظائف خلايا مميزة النواة. وكما ذكرنا فإن مثل هذه الميكانيكيات تعمل على عناصر مختلفة من جهاز الترجمة.

التحكم فى الترجمه لبناء الهيوجلوبين بواسطة الهيم

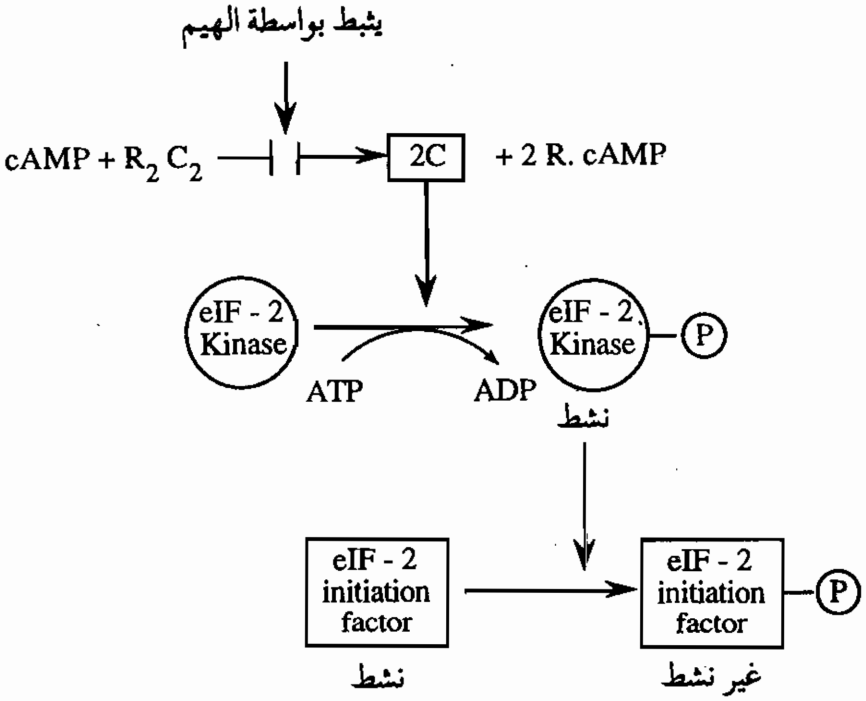
أحد الأمثلة للتنظيم على مستوى الترجمة يوجد فى خلايا الدم الحمراء غير الناضجة re-ticulocyte فى الثدييات. هذه الخلايا فقدت أنويتها ولكنها تحتفظ بمستوى عالى من mRNA الذى يشفّر أساساً لسلاسل الهيموجلوبين. وخلايا الدم الحمراء غير الناضجة تتميز بمعدّل عالى لبناء البروتين، لذلك فإن مستخلص هذه الخلايا كان النظام المفضل لدراسة عملية الترجمة. وفى الحقيقة فإن معظم معلوماتنا عن الميكانيكيات المشتملة فى بناء البروتين قد استمدت على الدراسات التى أجريت على مستخلص هذه الخلايا.

يقوم مستخلص خلايا الدم الحمراء ببناء سلاسل بروتين الهيموجلوبين بمعدّل عالى ولكنه ينخفض مالم يضاف الهيم (فى الخلية يتكون الهيم فى الميتوكوندريا التى لا تتواجد فى مستخلص الخلايا). ويحدث الانخفاض لأن النقص فى الهيم ينشّط أحد مثبطات بدء بناء البروتين الذى يطلق عليه المثبط المتحكم فى الهيم heme controlled inhibi-tor (HCI)، والذى ثبت أنه إنزيم كينيز Kinase متخصص. والهدف الذى يعمل عليه هذا الكينيز هو عامل البدء eIF - 2 فى الترجمة (eIF - 2 يقابل IF - 2 فى غير مميزة النواة) الذى يرتبط بـ GTP وينقل met - t RNA_f إلى الوحدة الريبوسومية الفرعية 40S. وتثبيط eIF-2 بواسطة الفسفرة يؤدى إلى توقف بناء البروتين.

كيف يمكن للهيم من تنظيم نشاط هذا الكينيز؟. تأثير الهيم على هذا الكينيز الذى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يعرف بـ eIF - 2 Kinase يتم بواسطة إنزيم كينيز آخر معتمد على AMP الحلقى (شكل ٢٦ ـ ١٢). فانزيم eIf - 2 Kinase الذى يُحوِّر عامل البدء eIF - 2 يوجد فى صورتين، صورة غير مفسفرة غير نشطة وصورة مفسفرة نشطة. وفسفرة -eIF - 2 Ki



شكل ٢٦ ـ ١٢
سلسلة الفسفرة التى تؤدى إلى تثبيط عامل بدء الحفز eIF - 2 فى مميزة النواة.

nase تُستحثُ بواسطة الكينيز المعتمد على AMP الحلقى الذى يتألف من اثنين من الوحدات المنظمة (R) واثنين من الوحدات الحافزة (C). إن المعقد R_2 C_2 غير النشط يتفكك بواسطة AMP الحلقى (cAMP) إلى الوحدتين C النشطة حفزيا والوحدتين R. ويقوم الهيم بوقف هذا التفكك وبذلك فإن إنزيمى الكينيز فى المسار لاتصبح مُنشطَّة وبالتالى فإن eIF - 2 لايفسفر ويظـل نشط فى بدأ بناء البروتين. وهذا النظـام من التحكم يماثل التحكم فى أيـض الجلايكوجـين، والتماثل الآخر هو أن التأثيـرات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المُنظِّمة لإنزيمات الكينيز هذه تُعكس بواسطة إنزيمات فوسفاتيز متخصصة phospha-tase. ويعتقد وجود إنزيمات كينيز أخرى التى تُنشّط بعوامل مختلفة، ولكن جميعها تمارس تأثيراتها التنظيمية على نفس العامل eIF - 2 اللازم لعملية بدء بناء سلسلة عديد الببتيد.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجــع

Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and I. D. Watson: Molecular Biology of the Cell, 2nd ed., Garland Publishing Inc., New York, 1989.

Berrman, W., and U. Clever: Chromosomal Puffs, Sci. Amer. 210 (4): 50 - 58 (1974).

Brown, D. D. : "Gene Expression in Eukaryotes", Science, 211: 667 - 674 (1981).

Conn, E. E., P. K. Stumpf, G. Bruening, and R. H. Doi: Outlines of Biochemistry, 5th ed., John Wiley & Sons, 1987.

Davidson, E. H., and R. J. Britten: Regulation of Gene Expression: Possible Role of Repetitive Sequences. Science 204: 1052 - 1059 (1979).

Dic'.son, R., J. Abelson, W. Branes, and W. Reznkikoff: Genetic Regulation: the lac Conrol Region, Science, 187: 27 - 35 (1975).

Lehninger, A. L.: Principle of Biochemistry, Worth, New York, 1982.

Lewin, b.: Gene Regulation II, 2nd ed., Wiley, New York, 1980.

Long, E. O., and I. B. dawid: Repeated Genes in Eucaryotes, Ann., Rev. Biochem., 49: 727 - 766 (1980).

Maniatis, T., and M. Ptashine: A DNA Operator - Repressor System, Sci. Am., 234 : 64 - 76, January (1979).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Miller, J. H., and W. S. Reznikoff (eds.): The Operon, Cold Spring Harbor Labratory, 1978.

Ptashne, M., and W. Gilbert: Genetic Repressors, Sci. Amer., 222 (6): 36 - 44 (1970).

Strayer, L.: Biochemistry, 2nd ed., Freeman, San Francisco, 1981.

Zubay, G. (coord. author): Biochemistry, Addison - Wesley, Reading, Mass., 1983.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ملحق (أ)

الثوابت الفيزيائية وتحويل الوحدات

الثوابت الفيزيائية

الثابت الفيزيائى	الرمز	القيمه
وحدة الكتلة الذرية (دالتون)	amu	1.661×10^{-24} g
عدد أفوجادرو	N	6.022×10^{23} mol^{-1}
ثابت بولتزمان	K	1.381×10^{-23} J deg^{-1}
		3.298×10^{-24} cal deg^{-1}
الكترون فولت	eV	1.602×10^{-19} J
		3.828×10^{-20} cal
ثابت فاراداى	F	9.649×10^{4} C mol^{-1}
		2.306×10^{4} cal $volt^{-1}$ eq^{-1}
كورى	Ci	3.70×10^{10} disintegrations sec^{-1}
ثابت الغاز	R	8.314 J mol^{-1} deg^{-1}
		1.987 cal mol^{-1} deg^{-1}
ثابت بلابك	h	6.626×10^{-34} J sec
		$1.5?4 \times 10^{-34}$ cal sec
سرعة الضوء فى الفراغ	c	2.998×10^{10} cm sec^{-1}

الاختصارات: C، كولومب; cal، سعر; Cm، سنتيمتر; deg، درجة كالفن; J، جول; mol، مول; Sec، ثانيه

الثوابت الرياضية

$\pi =$	3.14159
$e =$	2.71828
$\log_e x =$	$2.303 \log_{10} x$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

عوامل التحويل

الكمية الفيزيائية	المكافئ
الطول	1 cm = 10^{-2} m = 10 mm = 10^4 mm = 10^7 nm
	1 cm = 10^8 °A = 0.3937 inch
الكتلة	1 g = 10^{-3} kg = 10^3 mg = 10^6 mg
	1 g = 3.527 x 10^{-2} ounce (avoirdupoir)
الحجم	1 cm^3 = 10^{-6} m^3 = 10^3 mm^3
	1 ml = 1 cm^3 = 10^{-3} l = 10^3 ml
	1 cm^3 = 6.1 x 10^{-2} in^3 = 3,53 x 10^{-5} ft^3
الحرارة	K = °C + 273,15
	°C = 5/9 (°F - 32)
الطاقة	1 J = 10^3 erg = 0,239 cal = 1 watt sec
الضغط	1 torr =1 mm Hg (0 °C)
	= 1.333 x 10^2 newton/m^2
	= 1.333 x 10^2 pascal
	= 1.316 x 10^{-3} atmospheres

الاختصارات: m ، متر؛ mm ، ميللى متر؛ mm ، ميكرومتر؛ g ، جرام؛ k ، كالفن ، °C ؛ ومئوى؛ erg ، ارج؛ Hg ، زئبق

بوادئ المضاعفات والكسور القياسية

البادئة	الرمز	العامل
Kilo	k	10^3
hecto	h	10^2
deca	da	10^1
deci	d	10^{-1}
centi	c	10^{-2}
milli	m	10^{-3}
micro	m	10^{-6}
nano	n	10^{-9}
pico	p	10^{-12}

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ملحق (ب)

الاعداد الذريه وأوزان العناصر

العنصر	الرمز	العدد الذرى	الوزن الذرى
Actinium	Ac	89	227.03
Aluminum	Al	13	26.98
Americium	Am	95	243.06
Antimony	Sb	51	121.75
Argon	Ar	18	39.95
Arsenic	As	33	74.92
Astatine	At	85	210.99
Barium	Ba	56	137.34
Berkelium	Bk	97	247.07
Beryllium	Be	4	9.01
Bismuth	Bi	83	208.98
Boron	B	5	10.81
Bromine	Br	35	79.90
Cadmium	Cd	48	112.40
Calcium	Ca	20	40.08
Californium	Cf	98	249.07
Carbon	C	6	12.01
Cerium	Ce	58	140.12
Cesium	Cs	55	132.91
Chlorine	Cl	17	35.45
Chromium	Cr	24	52.00
Cobalt	Co	27	58.93
Copper	Cu	29	63.55
Curium	Cm	96	245.07
Dysprosium	Dy	66	162.50
Einsteinium	Es	99	254.09
Erbium	Er	68	167.26
Europium	Eu	63	151.96
Fermium	Fm	100	252.08
Fluorine	F	9	18.99
Francium	Fr	87	223.02
Gadolinium	Gd	64	157.25
Gallium	Ga	31	69.72
Germanium	Ge	32	72.59
Gold	Au	79	196.97
Hafnium	Hf	72	178.49
Helium	He	2	4.00
Holmium	Ho	67	164.93
Hydrogen	H	1	1.01
Indium	In	49	114.82
Iodine	I	53	126.90
Iridium	Ir	77	192.22
Iron	Fe	26	55.85
Khurchatovium	Kh	104	260
Krypton	Kr	36	83.80
Lanthanum	La	57	138.91
Lawrencium	Lr	103	256
Lead	Pb	82	207.20
Lithium	Li	3	6.94
Lutetium	Lu	71	174.97
Magnesium	Mg	12	24.31
Manganese	Mn	25	54.94

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

العنصر	الرمز	العدد الذرى	الوزن الذرى
Mendelevium	Md	101	255.09
Mercury	Hg	80	200.59
Molybdenum	Mo	42	95.94
Neodymium	Nd	60	144.24
Neon	Ne	10	20.18
Neptunium	Np	93	237.05
Nickel	Ni	28	58.71
Niobium	Nb	41	92.91
Nitrogen	N	7	14.01
Nobelium	No	102	255
Osmium	Os	76	190.20
Oxygen	O	8	16.00
Palladium	Pd	46	106.40
Phosphorus	P	15	30.97
Platinum	Pt	78	195.09
Plutonium	Pu	94	242.06
Polonium	Po	84	208.98
Potassium	K	19	39.10
Praseodymium	Pr	59	140.91
Promethium	Pm	61	145
Protactinium	Pa	91	231.04
Radium	Ra	88	226.03
Radon	Rn	86	222.02
Rhenium	Re	75	186.20
Rhodium	Rh	45	102.91
Rubidium	Rb	37	85.47
Ruthenium	Ru	44	101.07
Samarium	Sm	62	160.40
Scandium	Sc	21	44.96
Selenium	Se	34	78.96
Silicon	Si	14	28.09
Silver	Ag	47	107.87
Sodium	Na	11	22.99
Strontium	Sr	38	87.62
Sulfur	S	16	32.06
Tantalum	Ta	73	180.95
Technetium	Tc	43	98.91
Tellurium	Te	52	127.60
Terbium	Tb	65	158.93
Thallium	Tl	81	204.37
Thorium	Th	90	232.04
Thulium	Tm	69	168.93
Tin	Sn	50	118.69
Titanium	Ti	22	47.90
Tungsten	W	74	183.85
Uranium	U	92	238.03
Vandadium	V	23	50.94
Xenon	Xe	54	131.30
Ytterbium	Yb	70	173.04
Yttrium	Y	39	88.91
Zinc	Zn	30	65.37
Zirconium	Zr	40	91.22

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ملحق (حـ)

قيم الـ `pK لبعض الأحماض

الحمض		`pK (عند ٢٥ْ م)
حمض الأسيتيك		٤,٧٦
حمض أسيتواسيتيك		٣,٥٨
أيون الأمونيوم		٩,٢٥
حمض الاسكوربيك	$pK`_1$	٤,١٠
	$pK`_2$	١١,٧٩
حمض البنزويك		٤,٢٠
حمض n ـ بيوتريك		٤,٨١
حمض الكربونيك	$pK`_1$	٦,٣٥
	$pK`_2$	١٠,٣٣
حمض الستريك	$pK`_1$	٣,١٤
	$pK`_2$	٤,٧٧
	$pK`_3$	٦,٣٩
حمض الفورميك		٣,٧٥
جليسين	$pK`_1$	٢,٣٥
	$pK`_2$	٩,٧٨

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تابع ملحق (هـ)

قيم الـ `pK لبعض الأحماض

الحمض		`pK (عند ٢٥ْ م)
حمض اللاكتيك		٣,٨٦
حمض الماليك	$pK`_1$	١,٨٣
	$pK`_2$	٦,٠٧
حمض المااليك	$pK`_1$	٣,٤٠
	$pK`_2$	٥,١١
فينول		٩,٨٩
حمض الفوسفوريك	$pK`_1$	٢,١٢
	$pK`_2$	٧,٢١
	$pK`_3$	١٢,٦٧
	$pK`_4$	,٨٥
حمض البيروفوسفوريك	$pK`_1$	١,٤٩
	$pK`_2$	٥,٧٧
		٨,٢٢
حمض السكسينيك	$pK`_1$	٤,٢١
	$pK`_2$	٥,٦٤
الماء		١٤,٠

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ملحق (د)

اطوال الروابط القياسيه

الرابطه	التركيب	الطول (A°)
C - H	R_2CH_2	1.07
	Aromatic	1.08
	RCH_3	1.10
C - C	Hydrocarbon	1.54
	Aromatic	1.40
C = C	Ethylene	1.33
C ≡ C	Acetylene	1.20
C - N	RNH_2	1.47
	O = C - N	1.34
C - O	Alcohol	1.43
	Ester	1.36
C = O	Aldehyde	1.22
	Amide	1.24
C - S	R_2S	1.82
N - H	Amide	0.99
O - H	Alcohol	0.97
O - O	O_2	1.21
P - O	Ester	1.56
S - H	Thiol	1.33
S - S	Disulfide	2.05

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?
user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis

https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid

07807137614

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

إجابة التمارين

فصل ١٨

١ـ (أ) خطأ ـ البناء الحيوى يستهلك هذين المركبين.

(ب) صح.

(حـ) خطأ ـ مسارات الهدم ومسارات البناء تكون دائما مختلفة.

(د) خطأ ـ الإنزيم الأول المميز للمسار عادة ما يُثبط بالناتج النهائى للمسار.

(هـ) صح.

(و) خطأ ـ أسيتايل ـ CoA يمكن أن يستخدم كمادة بادئة فى تكوين الكربوهيدرات فقط فى النباتات والكائنات المجهرية التى تحتوى على إنزيمات دورة الجلايكسلات.

٢ـ $4Acetyl - CoA + 2\ NAD^{+} + 2FAD + 2ATP + 2GTP + 6H2O \rightarrow$

$glucose + 4CoASH + 2NADH + 2H^{+} + 2FADH_2 + 2ADP + 2GDP + 2Pi + 2CO_2$

٣ ـ تحويل ٢ جزئ من البيروفات إلى جزئ من الجلوكوز يحتاج إلى طاقة (4ATP + 2GTP) وقوة مختزلة (2 NADPH). هذه الطاقة والقوة المختزلة يتم الحصول عليها

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

خلال دورة حمض الستريك والفسفرة المصاحبة لأكسدة. تثبيط دوره حمض الستريك والفسفرة المصاحبة للأكسدة يؤدى إلى وقف تحوُّل البيروفات إلى جلوكوز لعدم توفر ATP و NADPH .

٤ ـ (أ) لايحدث أندماج أولى لـ C^{14} .

(ب) يظهر ^{14}C فى ذرة الكربون الثالثة والرابعة فى الجلوكوز.

٥ ـ إنزيم Phosphofructokinase : يُنشّط بواسطة AMP ويثبط بواسطة ATP، يُنظم الإنحلال السُّكّرى و إنزيم Fructose diphosphatase : يُنشّط بواسطة ATP ويُثبّط بواسطة AMP ، يُنظم الجلوكونيوجنسيس.

٦ ـ سكسنات وجليسرول مواد جلوكوجينية ; أسيتايل ـ CoA والبيوترات ليست مواد جلوكوجينة.

٧ ـ $\text{Galactose} + \text{ATP} + \text{UTP} + H_2O + (\text{glycogen})_n \rightarrow (\text{glycogen})_{n+1} + \text{ADP} + \text{UDP} + 2\text{Pi} + H^+$.

٨ ـ $\text{Fructose} + 2\text{ATP} + 2H_2O \quad \text{glucose} + 2\text{ADP} + 2\text{Pi}$

٩ ـ هناك نقص فى Branching enzyme .

١٠ـ يرتفع تركيز جلوكوز ٦ـ فوسفات فى مرض Van Gierke'e . وعلى ذلك فإن الصورة المفسفرة D لإنذيم glycogen synthetase تكون نشطة.

١١ـ (أ) الزيادة السريعة فى الإنحلال السُّكرى وبالتالى فإن الزيادة فى البيروفات و NADH تُؤدى إلى الزيادة فى الاكتات (ب) اللاكتات تتحول إلى جلوكوز (حـ) الإتزان فى تفاعل lactate dehydrogenase يكون فى صالح تكوين اللاكتات.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فصل ١٩

١ ـ (أ) الأكسدة تتم فى الميتوكوندريا وعملية البناء تتم فى السيتوسول.

(ب) CoA فى الأكسدة والبروتين الحامل للأسايل فى البناء.

(حـ) FAD و NAD^+ فى الأكسدة و NADPH فى البناء.

(د) المتشكّل الفراغى L لـ ٣ ـ هيدروكسى أسايل ـ CoA فى الأكسده، والمتشكّل الفراغى D فى عملية البناء.

(هـ) الكربوكسيل إلى الميثايل فى الأكسدة، والميثايل إلى الكربوكسيل فى البناء.

(و) إنزيمات البناء الحيوى فقط هى التى تنظم فى صورة متراكب إنزيمى multi-enzyme complex

٢ ـ (أ) بالميتو أوليات (ب) لينولات (حـ) لينولات (د) أوليات (هـ) أوليات (و) لينولينات

٣ ـ CO_2 مادة متفاعلة فى تفاعل acetyl - CoA carboxylase.

٤ ـ (أ) أسيتايل ـ CoA المعلم بـ ^{14}C يتحول إلى مالونايل ـ CoA المعلم بـ ^{14}C. هذه المواد البادئة تتحول إلى بالميتات معلمة بصورة متجانسة بـ ^{14}C .

(ب) الكمية القليلة من أسيتايل ـ CoA المعلمة بـ ^{14}C فى وجود زيادة كبيرة من المالونايل ـ CoA غير المعلم لايسمح لـ مالونايل ـ CoA فى الوعاء الأيضى أن يصبح معلما د ^{14}C. لذلك فإنه ينتج فقط البالميتات التى تحتوى على ^{14}C فى ذرة الكربون ١٥ و ١٦.

٥ ـ

$$8\text{Acetyl - CoA (mitochondrial)} + 15\ \text{ATP} + 14\ \text{NADPH} + 13\ \text{H}^+ + 2\ \text{H2O} \rightarrow \text{Palmitate} + 8\ \text{CoA - SH} + 15\ \text{ADP} + 15\ \text{Pi} + 14\ \text{NADP} +$$

٦ ـ (أ) ٣ ذرات ديوتيريم لكل جزئ بالميتات ـ كل الثلاثة ذرات ديوتيريم توجد على ذرة الكربون رقم ١٦ للبالميتات.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(ب) ٧ ذرات ديوتيريم لكل جزئ بالميتات.

$$CH_3 - CH_2 - (\underset{D}{\overset{H}{\overset{|}{C}}} - CH_2)_6 - \underset{D}{\overset{H}{\overset{|}{C}}} - COO^-$$

٧ ـ Glycerol + 4 ATP + 3 Fatty acids + 4 H_2O →

triacylglycerol + ADP + 3 AMP + 7 Pi + 4 H^+.

٨ ـ Glycerol + 3ATP + 2 Fatty acids + 2 H_2O + CTP + Serin →

Phosphatidyl Serine + CMP + ADP + 2AMP + 2AMP + 6Pi + $3H^+$

٩ ـ (أ) CDP ـ ثنائى أسايل جليسرول (ب) CDP ـ إيثانول أمين

(جـ) أسايل ـ CoA (د) CDP ـ كولين

(هـ) UDP ـ جلوكوز أو UDP ـ جالاكتوز

فصل ٢٠

١ ـ (أ) خطأ: المواد البادئة فى بناء الأحماض الأمينية تُشتق من مسار الإنحلال السكَّرى ومسار الفوسفوجلوكونات

(ب) صح.

(جـ) خطأ: No_3 هى المصدر الرئيسى للنتروجين فى التربة نظراً لإنتشار بكتريا النترتة nitrifying bacteria فى معظم أنواع التربة والتى تؤكسد أى أمونيا متاحة إلى نترات.

(د) صح.

٢ ـ (أ) آلانين، أسبارتيك وجلوتاميك

(ب) Alanine + α-ketoglutarate   Pyruvate + glutamate

Aspartate + α-ketoglutarate   Oxaloacetate + glutamate

glutamate + NAD^+ + H_2O α-ketoglutarate + NH^+_4 + NADH + H^+

٣ ـ (أ) حيث أن Eó لتفاعل نصف الخلية للهيدروجين يساوى ـ ٠,٤٢ فولت فإن

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$\Delta G^{\circ\prime}$ للتفاعل تساوى ـ ١١ كيلو سعر / مول. لذلك فإن الإحتياج لـ ATP فى هذا التفاعل غير متوقع.

(ب) عادة ما يزدوج ATP فى النظام خلال الإزدواج الكيميائى أو خلال الإزدواج الكيميائى الأسموذى أو خلال النقل النشط أما الإزدواج خلال النيتروجنيز من المحتمل أن يكون خلال إمداد جزء من طاقة التنشيط.

(جـ) الطرق التى يمكن استخدامها تشمل (١) إستخدام إنزيم نقى للبحث عن تفاعلات التبادل المعتمدة على المادة الخاضعة التى ربما تعطى دليل على المركبات الوسيطة ذات الطاقة العالية المشتقة من ATP (٢) تحديد ما إذا كانت نسبة ATP المستهلكة إلى إزواج الإلكترونات المنقولة تختلف بإختلاف مستقبل ومعطى الإلكترونات ذات الجهود المختلفة (٣) البحث عن التغيرات فى الإنزيم المعتمدة على ATP.

٤ ـ $\text{Glucose} + 2\ \text{ADP} + 2\ P_i + 2\ \text{NAD}^+ + 2\ \text{glutamate} \rightarrow$

$2\ \text{alanine} + 2\ \alpha\text{-ketoglutarate} + 2\ \text{ATP} + 2\ \text{NADH} + \text{H}^+$

٥ ـ (أ) تتراهيدروفولات

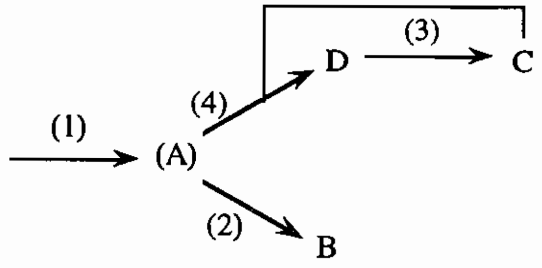
(ب) تتراهيدروفولات

(جـ) N^5 ـ ميثايل تترهيدروفولات

٦ ـ جاما ـ جلوتامايل فوسفات ربما يكون مركب وسيط فى التفاعل.

٧ ـ إذا حدث خلل فى إنزيم Phenylalanine hydroxylase فإنه يحدث غلق لمسار تخليق التيروزين ولذلك يجب الحصول على التيروزين من الغذاء.

٨ ـ (أ)



مسار بناء الأحماض الامينية B و C

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

(ب) الحمض الأُميني C من المحتمل أن يُثبط التحوُّل A → D

٩ – $N_2 \rightarrow NH^+4 \rightarrow$ glutamate $\rightarrow$ Serine $\rightarrow$ glucine

δ - aminolevulinate → Prophobilinogen → heme

فصل ٢١

١ ـ Glucose + 2 ATP + 2 $NADP^+$ + H_2O → PRPP + CO_2 + ADP
+ AMP + 2 NADPH + H^+

٢ ـ Glutamine + aspartate + CO_2 + 2 ATP + NAD^+ →
orotate + 2 ADP + 2 P_i + glutamate + NADH + H^+

٣ ـ [(أ) و (جـ) و (د) و (هـ)] PRPP، (ب) كارباmayل فوسفات

٤ ـ dUMP + serine + NADPH + H^+ → dTMP + $NADP^+$ + glucine

٥ ـ (أ) Glycinamide ribonucleotide

(ب) 5 - P - ribosylamine

(جـ) 5-Aminoimidozole - 4 - carboxylate ribonucleotide

(د) 5 - P - ribosyl - 1 - PP

٦ ـ (أ) N-1

(ب) C-4

(جـ) C-2 و C-8

٧ ـ (أ) C-4 و C-5 و C-6

(ب) N-1

(جـ) H على C-5

٨ ـ تثبيط إنزيم dihydrofolate reductase سوف يُوقف أساساً تكوين dTTP.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وحيث أن dTTP يعتبر مُنشِّط لإنزيمات nucleoside diphosphate reductase التى تُحوِّل ADP إلى dADP و GDP إلى dGDP فإن تثبيط dihydro folate reductase سوف يُثبط تكوين dATP و dGTP بصورة غير مباشرة. وإنتاج dATP و dGTP سوف ينخفض أكثر بنقص FH_4، حيث يمنع نقل وحدة ذرة الكربون اللازمة للتخليق الجديد للبيورينات. وتثبيط هذا الإنزيم لا يكون له تأثير محسوس على إنتاج dCTP.

٩ ـ خطوات تكوين CTP تشمل:

(1) $CO_2 + NH_3 + 2\ ATP \rightarrow$ carbomyl - P + 2 ADP + P_i

(2) Carbmyl - P + Asp $\rightarrow\rightarrow\rightarrow$ orotate + P_i

(3) ribose - 5 - P + ATP $\rightarrow$ 5 - P - ribosyl - 1 - PP + AMP

(4) Orotate + PRPP $\rightarrow\rightarrow$ UMP + PP_i

(5) $PP_i + H_2O \rightarrow 2\ P_i$

(6) UMP + 2 ATP $\rightarrow\rightarrow$ UTP + 2 ADP

(7) UTP + ATP + $NH_3 \rightarrow$ CTP + ADP + P

Net :

$CO_2 + 2NH_3$ + Asp + ribose-5-P + 6ATP $\rightarrow$ CTP + AMP + 5ADP + $5P_i$

إذن يستهلك ٧ روابط فوسفت غنية بالطاقة فى هذه العملية، مع ذلك فإن اثنين من هذه الروابط تحفظ فى كل جزئ CTP متكون. وحيث أن كل جزئ جلوكوز يتخمر ينتج ٢ جزئ ATP فإن الخلية يجب أن تخمر ٧ جزيئات جلوكوز لإنتاج ٢ جزئ CTP.

١٠ ـ PRPP و Formylglycinamide ribonucleotide.

١١ ـ PRPP هو المركب الوسيط النشط فى التخليق الحيوى لـ:

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(أ) Phosphoribosylamine فى ماسر البناء الجديد للبيورين.

(ب) نيوكليوتيدات البيورين من القواعد الحرة بمسار الإسترجاع.

(جـ) Orotidylate فى تكوين البيريميدات.

(د) Nicotinate ribonucleotide.

(هـ) Phosphoribosyl - ATP فى المسار المؤدى إلى الهستيدين.

(و) Phosphoribosyl - anthranilate فى المسار المؤدى إلى التربتوفان.

١٢ ـ هناك نقص فى N^{10} - Formyltetrahydrofolate. السلفانيلاميد تثبط تكوين الفولات بتأثيرها كمشابه لـ بارا أمينو بنزوات وهو أحد المواد البادئة فى بناء الفولات.

فصل ٢٢

١ ـ (أ) TTGATC (ب) GTTCGA (جـ) ACGCGT (د) ATGGTA

٢ ـ (أ) [T] + [C] = ٤٦,

(ب) [T] = ٣, ، [C] = ٢٤, ، [A] + [G] = ٤٦,

٣ ـ ٥,٨٨ × $١٠^{٣}$ زوج قاعدة.

٤ ـ ٩٤, ملليجرام.

٥ ـ ٣٧٢ زوج قاعدة. من المحتمل أن يكون الطول الحقيقى أكبر من ذلك بكثير وذلك لأن معظم جينات مميزة النواة تحتوى على إنترونات والتى قد تكون أطول من الإكسونات. معظم جينات مميزة النواة أيضاً تُشفِّر لتتابعات الإشارة أو المقدمة فى نواتج البروتين.

٦ ـ حيث أن نسب القواعد لاتشير إلى حدوث إزدواج A مع T و G مع C فإن M13 DNA هو خيط فردى.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فصل ٢٣

١ ـ (أ) صح.

(ب) خطأ ـ بعد دورة تكرر واحدة فإن كل جزيئات النسل تحتوى على ٥٠٪ من المادة الأبوية.

(جـ) خطأ ـ يتكرر الكروموسوم كوحدد فردية.

(د) خطأ ـ فك الإلتواء يحدث عند شوكتى التناسخ الناميتان.

(هـ) صح.

٢ ـ بعد جيل واحد فإن نصف الجزيئات تكون ^{15}N - ^{15}N والنصف الآخر- ^{14}N ^{14}N. بعد جيلين فإن ربع الجزيئات تكون ^{15}N - ^{15}N والثلاثة أرباع الأخرى تكون ^{14}N - ^{14}N. جزيئات الهجن ^{15}N - ^{14}N لايتوقع مشاهدتها فى التكرر بالطريقة المحافظة.

٣ ـ (أ) حيث أن الثايميدين يوجد فى DNA ولايوجد فى RNAs فإن DNA فقط يصبح معلم إشعاعياً وبذلك يمكن إجراء التجربة بدون تدخل من RNAs المعلمة.

(ب) لايكون الجوانوزين أو الأدينوزين مفيد فى إجراء التجربة حيث أن كل منهما يوجد فى DNA و RNAs.

(حـ) يتم فسفرة الثايميدين بواسطة ATP فى عدة خطوات:

Thymidine + ATP → thymidine ´5-phosphate + ADP

TMP + ATP → TDP + ADP

TDP + ATP → TTP + ADP

٤ ـ (أ) ٤٤ دقيقة.

(ب) أحد الإحتمالات أن كل كروموسوم فى بكتريا القولون يتكرر بواسطة أربع شوك تناسخ تبدأ من إثنين من أصول التناسخ.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥ ـ ٤٠٠,٠٠٠ دوره.

٦ ـ (أ) ٤٢ ,٢ ثانيه.

(ب) عدد أزواج القواعد فى الإنترونات وفى تتابعات إشارات البدأ والإنهاء.

٧ ـ (3) CTAATGCAACGTTGCAAGCT (5).

٨ ـ FAD، CoA، $NADP^+$.

فصل ٢٤

١ ـ (أ) إنزيم DNA Polymerase I يتألف من سلسلة واحدة، بينما إنزيم ـ RNA Polymerase يتألف من تحت واحدات لها التركيب $\alpha_2 \beta\beta_\delta$.

(ب) دى أوكسى ريبونيوكليوسيد ثلاثى الفوسفات مقابل ريبونيوكليوسيد ثلاثى الفوسفات

(جـ) ٥َ ← ٣َ لكل منهما.

(د) DNA Polymerase I له أنشطة نيوكلييز ٥َ ← ٣َ و ٣َ ← ٥َ بينما RNA Polymerase ليس له نشاط نيوكلييز.

(هـ) نصف محافظ لـ DNA Polymerase I ومحافظ لـ RNA Polymerase

(و) إنزيم DNA Polymerase I يحتاج إلى بادئ Primer بينما RNA Polymerase لا يحتاج لذلك.

(ز) تفاعل كل منهما يدفع بتحلل البيرفوسفات.

٢ ـ (جـ) G = ١٨,٥٪، C = ٢٤,١٪، A = ٣٢,٨٪، U = ٢٤,٦٪.

٣ ـ (أ) A = ٢١٪، U = ٢١٪، G = ٢٩٪، C = ٢٩٪.

(ب) قد تكون النسب مساوية أو غير مساوية لتكلك فى الجزء (أ)

٤ ـ 5'-UAAGGGUACGAU-3'

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥ ـ مجموعة OH على ذرة الكربون الثانية فى سكر الريبوز فى RNA تعمل كحافز داخل الجزئ. يتكون مركب وسيط حلقى ٢َ ـ ٣َ فى التحلل القاعدى لـ RNA.

٦ ـ مركب Cordycepin يوقف بناء RNA. سلسلة RNA التى تحتوى على Cordycepin لاتحتوى على مجموعة الهيدروكسيل على ذرة الكربون الثالثة فى السكر (3´-OH).

٧ ـ جزيئات RNA تنسخ فقط من أحد خيوط DNA المزدوج.

٨ ـ (أ) PGGp، AGUp، ACP، UP، GUP و C.

(ب) pGp، CAGp، UACUGp و UC.

(جـ) pGp، CAp، Gp، UAp، CUGp و UC.

(د) PGp، CAp، Gp، Up، Ap، CUp و C.

٩ ـ UAGCCUGAAUp.

١٠ ـ إن لم يتم تصحيح الخطأ فى قاعدة واحدة أثناء تكرر DNA فإن ذلك يجعل أحد الخلايا البنوية محتوية على كروموسوم طافر. من ناحية أخرى فإن الخطأ فى قاعدة واحدة بواسطة RNA Polymerase فى الخلية لايؤثر على الكروموسوم. وقد يؤدى فقط إلى تكوين بعض النسخ المعيوبة لأحد البروتينات. وحيث أن جزيئات mRNA تكون دورتها سريعة جداً فإن معظم نسخ هذا البروتين تكون طبيعية ونسل هذه الخلية بدوره يكون طبيعى.

فصل ٢٥

١ ـ (أ) صح.

(ب) خطأ ـ لاتظهر الأحماض الأمينية تفاعل متمم مع عديد النيوكليوتيد. تتابع الأحماض الأمينية يتحدد بالتفاعل المتمم بين mRNA و tRNAs التى تحمل الأحماض الأمينية.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(جـ) صح.

(د) خطأ $^{F-Met}$ F-Met-t-RNA الذى يُماثل Peptidyl tRNA يرتبط بالموضع P.

(هـ) خطأ ـ الريبوسومات تتحرك عبر mRNA فى الأتجاه ٥َ ← ٣َ.

(و) صح.

٢ ـ (أ) أربعة روابط فوسفات غنية بالطاقة.

(ب) أربعة روابط فوسفات غنية بالطاقة.

٣ ـ (أ) Gly-Gln-Ser-Leu-Leu-Ile.

(ب) Leu-Asp-Ala-Pro.

(جـ) His-Asp-Ala-Cys-Cys-Tyr.

٤ ـ (أ) 5´-CGACGGCGCGAAGUCAGGGGUGUUAAG-´3.

(ب) Arg-Arg-Arg-Glu-Val-Arg-Gly-Val-Lys.

(جـ) لايكون تتابع الأحماض الأمينية الناتجة مماثل لتلك فى (ب) وذلك لأن الخيطين المتممين والمتضاديين فى DNA الحلزون المزدوج لايكون لهما نفس تتابع القواعد فى الأتجاه ٥ ← ٣. ينسخ RNA فقط من خيط معين فى DNA المزدوج. وعلى ذلك فإن إنزيم RNA Polymerase يجب أن يُميز ويرتبط الخيط الصحيح.

٥ ـ حوالى ٧٩٩ رابطة فوسفات غنية بالطاقة تستهلك فى بناء البروتين ـ ٤٠٠ رابطة لتنشيط الـ ٢٠٠ حمض أمينى، رابطة للبدء و ٣٩٨ رابطة لتكوين ١٩٩ رابطة ببتيدية.

٦ ـ (ب و هـ) النوع الأول (أ، جـ، د) النوع الثانى.

٧ ـ التتابع GAGGU يكون متمم لتتابع الخمس قواعد عند نهاية 16S rRNA ويقع بعيداً بعدّة قواعد عن الجانب ٥ للشفرة المضادة (كودون) AUG. وعلى ذلك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فهذه المنطقة تمثل إشارة البدء بناء البروتين. إستبدال القاعدة G بـ A يضعف التأثير المتبادل بين هذا الـ mRNA و 16S rRNA وبذلك يلغى تأثيرها كإشارة بدء. وفى الحقيقة فإن هذه الطفرة تحدث إنخفاضاً كبيراً فى معدل بناء البروتين الذى يحدد بهذا mRNA.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

رقم الإيداع : ٥٥٧٤ / ١٩٩٦

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مطبعة إكتوبر الهندسية
تليفاكس: ٠٢/٢٨٢١٥٠٤٧ موبايل: ٠١٢٢٢٦٩٢٣٦٠

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com