مقـرر علـم الوراثـة

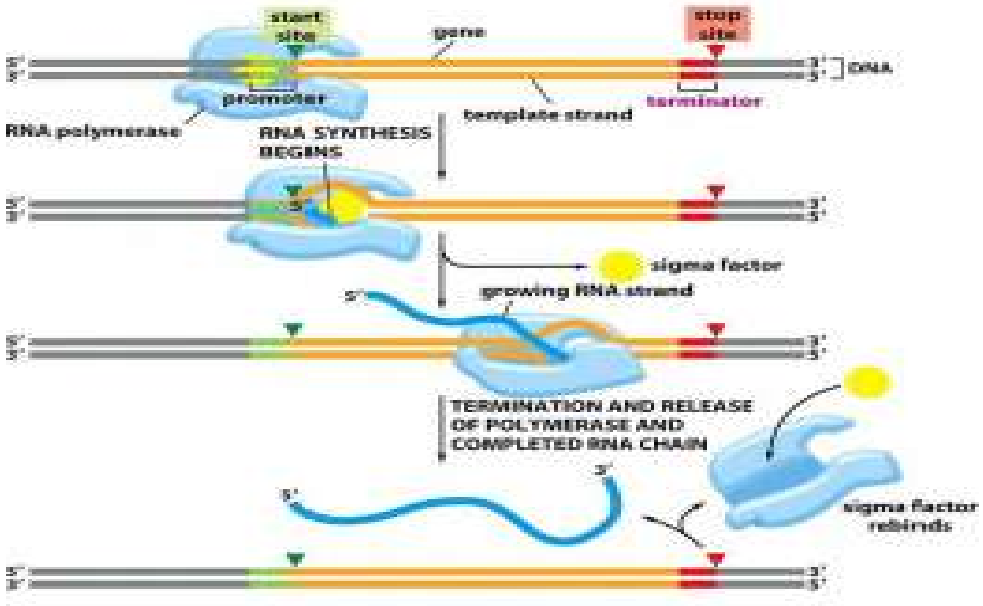
كلية طب الأسنان – جامعة قاسيون الخاصة

إعداد: د. لمى خضري

المحاضرة الخامسة

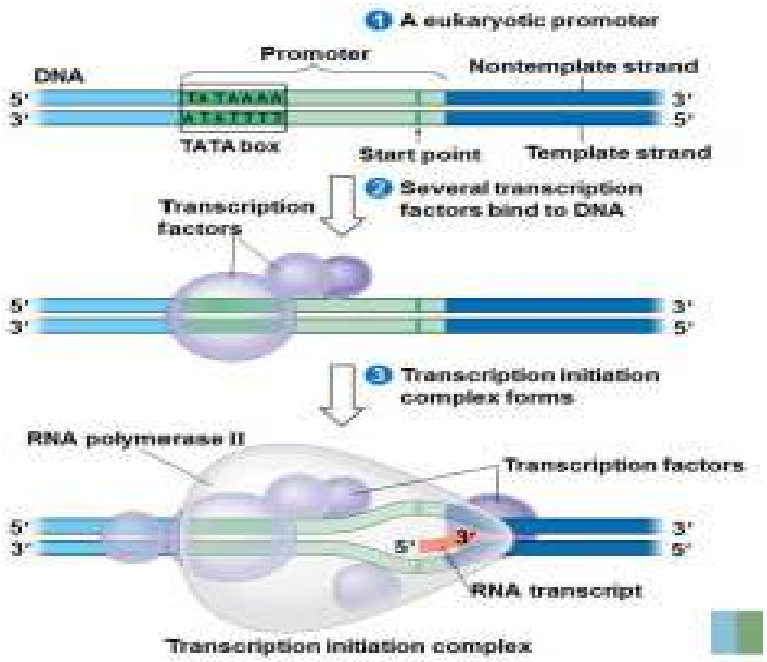
الانتساخ Transcription

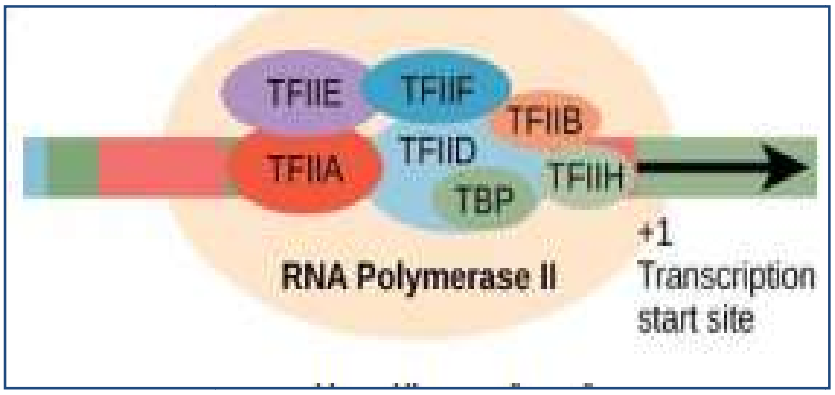
❖ مراحل الانتساخ:



1. مرحلة البدء : Initiation

- تشكل منطقة المحضض Promotor Region بداية جميع المورثات على الـ DNA ، والتي تتألف من تسلسلات من الأنين A والتيمين T تشكل ما يسمى بالـ (TATA Box)، كما تحوي على منطقة المحضض أول نكليويتد يتدخل في تركيب الـ mRNA ومن ثم التسلسل الببتيدي (أي يكون موقع بدء الانتساخ).
- ترتبط عوامل الانتساخ (العامة) بمنطقة المحضّض وخاصة الـ TATA box وتساهم في تشكيل معقد بدء الانتساخ.
- ثم يأتي الـ RNA Polymerase ليرتبط بالمحضض ويسهم في تشكيل المعقد ، كما يفك التواء حلزون الـ DNA.
- يتألف **معقد بدء الانتساخ Transcription Initiation Complex** من عوامل الانتساخ والـ RNA Polymerase المرتبطين بمنطقة المحضّض على سلسلة الـ DNA القالب.





بنية معقد بدء الانتساخ

❖ عوامل الانتساخ Transcription Factor:

هي البروتينات التي تساعد على ارتباط الـ RNA Polymerase مع المحضض Promoter، وتوجد مرتبطة مع منطقة المحضض.

❖ تشكيل معقد بدء الانتساخ Transcription Initiation Complex:

- يرتبط بداية العامل TFIID بالـ TATA box، ثم ينضم إليه العامل TFIIA، يليه العامل TFIIB.
- ومن ثمَّ العامل TFIIF والذي يمتلك فعالية مفكّكة لالتواء الـ DNA.
- يتشكل بذلك معقد يؤدي إلى جذب الـ RNA Polymerase II، وأخيراً يأتي العامل TFIIE وينضم لذلك المعقد.

ولكن كيف تعرف الخلية أين تبدأ انتساخ الـ DNA إلى RNA وأين تتوقف؟؟؟

- تعرف من أين تبدأ عن طريق المحضضات Promoters.
- وتعرف من أين تتوقف عن طريق أماكن إنهاء تسمى المُنهيات Terminators.

ملاحظة:

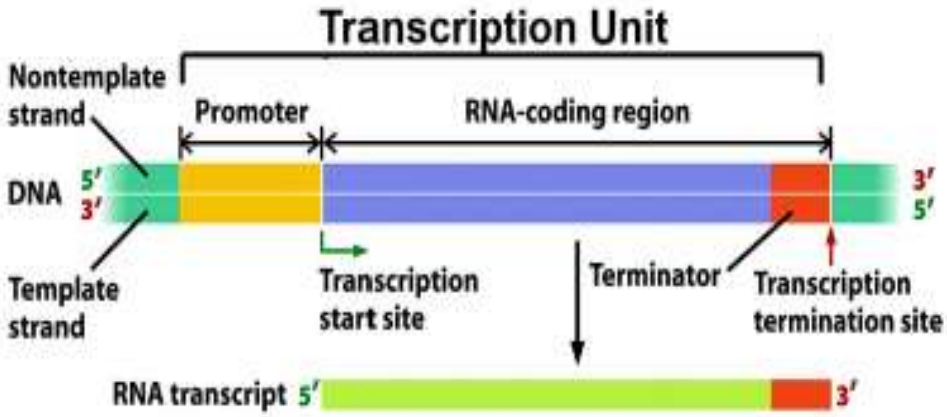
- **TFII** هي اختصار لـ **Transcription Factors II** أي عوامل الانتساخ المُفعّلة لأنزيمات الـ RNA Polymerase ، وهي عوامل انتساخ عامة.
- بروتين **TBP** هو اختصار لـ **Tata-Binding Protein** وهو أحد وحيدات العامل TFIID.

❖ بنية المورثة Anatomy of a gene:

1. التسلسلات المنظّمة للانتساخ Transcription Control Sequences (Regulatory Sequences) ترتبط بها عوامل الانتساخ التي تستطيع تفعيل أو تثبيط الانتساخ.
2. المحضِّض Promoter: وهي تسلسلات معينة من الـ DNA تعمل كإشارة لبدء الانتساخ، حيث يستدعي الـ RNA Polymerase ويُحدّد بداية المنطقة المُراد نسخها.
3. التسلسلات المُنهية (المُنهيات) Terminators: وهي تسلسلات من النكليوتيدات موجودة على المورثات ، مسؤولة عن إخبار الـ RNA Polymerase بالتوقف عن عملية الانتساخ، فهي مطلوبة لإنهاء الانتساخ وانفصال السلسلة الناتجة عن الانتساخ.

4. وحدة الانتساخ Transcription Unit: هي تسلسلات الـ DNA الممتدة من الـ Promoter إلى الـ Terminator ، وتسلسلاتها تقابل تسلسلات الـ mRNA المُنتسخ.

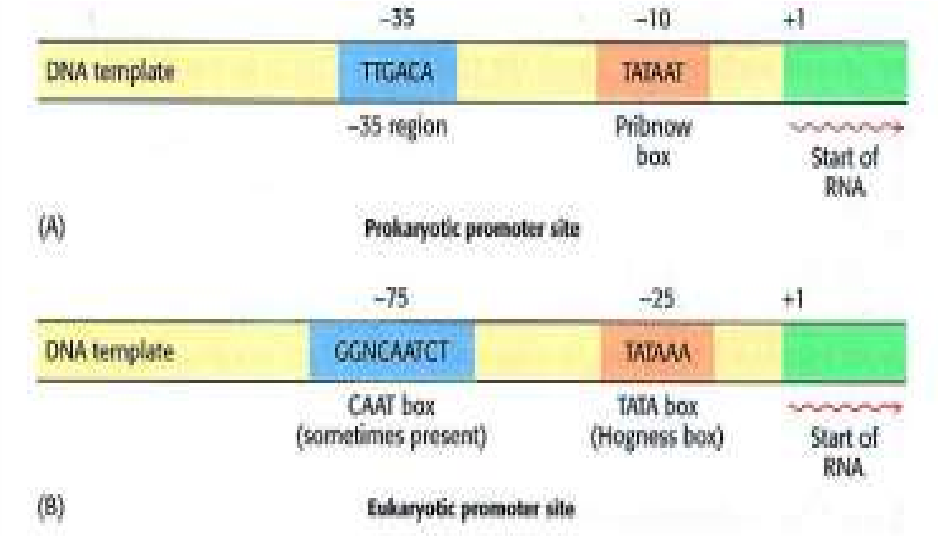
أما المنتسخ Transcript فهو سلسلة الـ RNA الناتجة عن الانتساخ.



❖ المحضّضات Promoters

هي المناطق من الـ DNA التي يرتبط بها الـ RNA Polymerase لبدء الانتساخ.

	طلائعيات النوى	حقيقيات النوى
موقع وجود المحضضات	قرب النهاية 5' للـ Operons[1].	قرب النهاية 5' للجينات. يتم التعرف عليه من قبل الـ RNA Polymerase.
التسلسلات التوافقية[2] Consensus sequences	Pribnow box: نقطة البدء فيها أساس بوريني Purine start point TATAAT(-10) TTGACA(-35)	للمورثات البنائية الأساسية GGGCGG - (Constitutive). للمورثات البنائية الاختيارية TATA - (Selective).

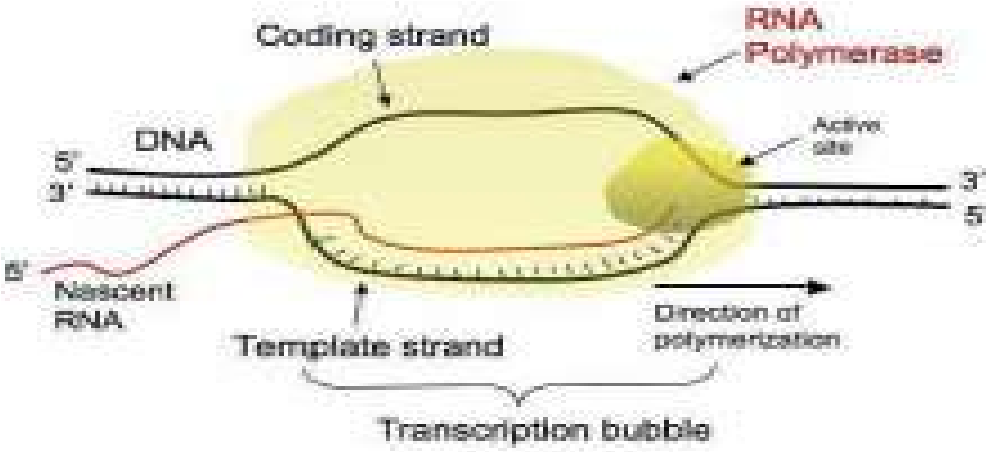


ملاحظة:

- **Operons** في بدائيات النوى ، تتوضع الجينات التي تتدخل في سبيل استقلابي معين في صف خطي واحد هو الـ Operon، ويمكن التحكم به بمحضّض واحد أو منطقة منظمة واحدة.
- التسلسلات التوافقية: تسلسلات مُصانة ثابتة في موقع معين على المورثة.

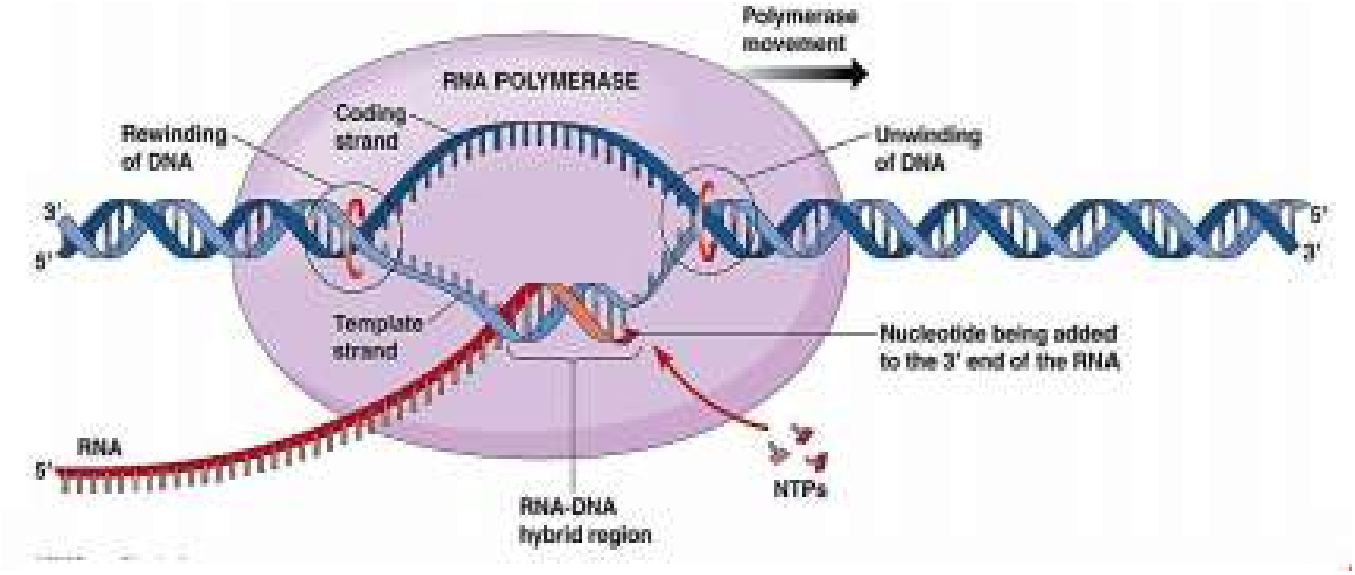
❖ فقاعة الانتساخ Transcription Bubble

- على غرار عملية التضاعف، يتشكل أثناء الانتساخ فقاعة انتساخ، إلا أنها تكون مؤقتة حيث تفتح وتغلق مباشرة بسبب **غياب أنزيمات SSBs** التي تمنع إغلاق الحلزون.
- تتكون الفقاعة من سلسلة الـ DNA القالب Template وسلسلة الـ DNA المرمّز Coding Strand.
- عند **التضاعف** يتم انتساخ سلسلتي الـ DNA ، أما عند **الانتساخ**، فقط سلسلة واحدة تُنتسخ.



2. مرحلة الاستطالة (البلمرة): Elongation

- يتم فيها اصطناع سلسلة الـ RNA باستخدام rNTPs (النكليوزيدات الريبية ثلاثية الفوسفات Ribonucleaside Triphosphate) كركائز Substrate.
- يتحرك جزيء الـ RNA Polymerase II على طول سلسلة الـ DNA القالب.
- تعتمد هذه المرحلة على تشكيل روابط تكافؤية (استرية) بين نكليوتيدات الـ RNA المتممة لنكليوتيدات الـ DNA في السلسلة القالب، وذلك عن طريق أنزيم RNA Polymerase II.
- تتم إضافة التكليوتيدات لسلسلة الـ RNA المتشكلة (أي استطالة السلسلة) بالاتجاه 3' → 5'.
- يشكّل جزيء الـ RNA الجديد (المنتسخ البدئي Primary transcript) جزيء RNA–DNA هجين قصير مع سلسلة الـ DNA القالب.



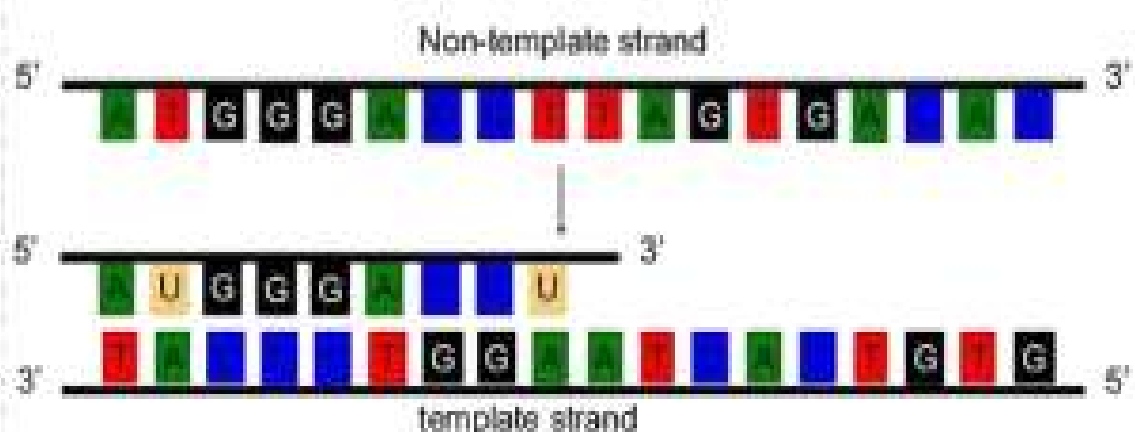
- يتم بناء شريط الرنا بحيث يتم مقابلة الأسس الآزوتية كالتالي:

A=U C≡G أي أن الأدنين يقابله اليوراسيل على الـ RNA وليس التيمين.

- **ملاحظة:**

بما أن النكليوتيدات التي تصطف لتشكيل الـ mRNA تكون متممة لنكليوتيدات السلسلة القالب، فإن تسلسل النكليوتيدات في الـ mRNA هو ذاته في السلسلة غير القالب (المتممة للسلسلة القالب) إلا أن اليوراسيل في الـ RNA يحل مكان التيمين في الـ DNA.

مثال: التسلسل AACTG على السلسلة غير القالب يقابله التسلسل AACUGعلى على الـ mRNA.



3. مرحلة الإنهاء: Termination

تتوقف عملية الانتساخ عند الوصول إلى إشارة الإنهاء.

Chain Termination

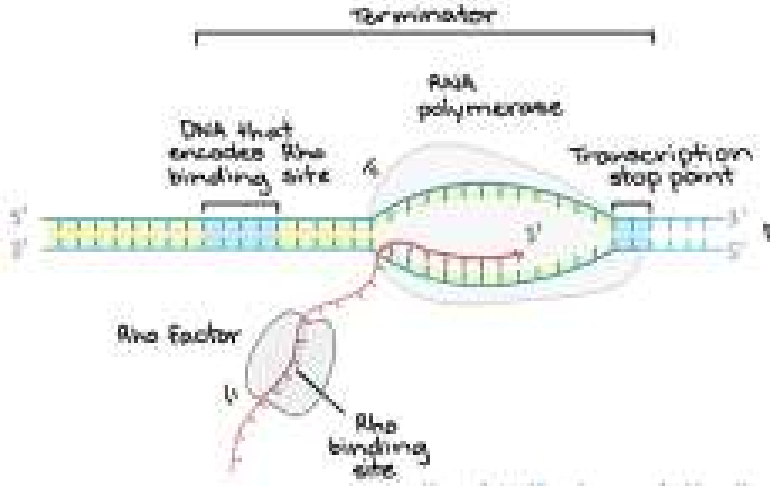
سوف يستمر تصنيع الـ RNA على طول السلسلة القالب، حتى يتلقى بوليميراز الرنا إشارة تأمره بالتوقف وذلك بحسب المورثة والبروتين المُراد صنعه، وتلافياً لحدوث طفرات.

هذه الآلية تسمى آلية إيقاف الانتساخ Termination.

وهناك آليتين لإيقاف الانتساخ:

1. معتمدة على بروتين RHO-: Termination RHO dependent

- ✓ RHO: بروتين حلقي سُداسي موجود في الجينات التي تعتمد على الـ RHO لإيقاف الانتساخ.
- ✓ وهو بروتين هيليكيز مُعتمد على الـ ATP لفصل الرنا المتشكل عن الدنا القالب وبوليميراز الرنا (المعقد RNA Polymerase- DNA- mRNA).
- ✓ يُجذب هذا البروتين إلى مواقع محددة غنية بالسيتوزين من الرنا المتشكل Rut sites (RHO utilization site).
- ✓ يتحرك على طول سلسلة الرنا الناتجة ويبحث عن فقاعة الانتساخ, فيحلها مطلقاً سلسلة الرنا بعيداً عن السلسلة القالب للدنا.
- ✓ حيث يقف بين سلسلة الدنا القالب وسلسلة الرنا المتشكل ويفصلهما عن بعضهما.



✓ يرتبط مع الـ ssRNA (الرنا أحادي الطاق) في موقع الخروج أو الانفصال.

يعمل الـ RHO على سلسلة الرنا الغير خاضعة لعملية الترجمة، فالبروتين لا يعمل بوجود ريبوزومات مرتبطة بسلسلة الرنا.

2. غير معتمدة على بروتين RHO– : Termination RHO independent

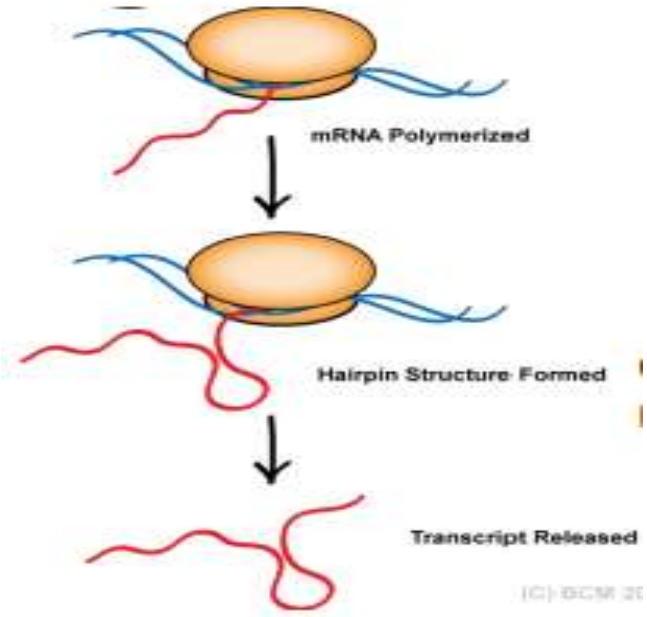
✓ وهي آلية معتمدة على تسلسل في نهاية المورثة تتوقف عنده عن الانتساخ.

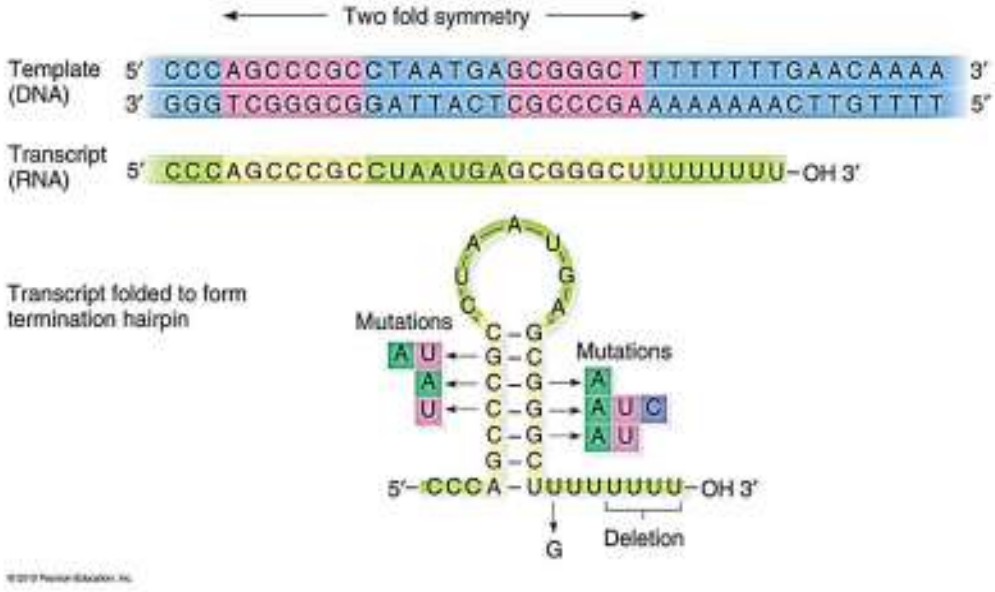
✓ تتألف هذه التسلسلات الانتهائية من:

1. تكرار مقلوب Inverted repeat من النكليوتيدات ، غنياً بالسيتوزين والغوانين (C و G)، وهو يشكل عروة ذات ذراع Stem–loop تسمى بالـ Hairpin في الـ RNA المنتسخ.
2. 6–8 نكليوتيدات من الأدنين على الـ DNA والتي تقابلها نكليوتيدات من اليوراسيل على الـ RNA المنتسخ.

– كيف تعمل هذه الآلية؟

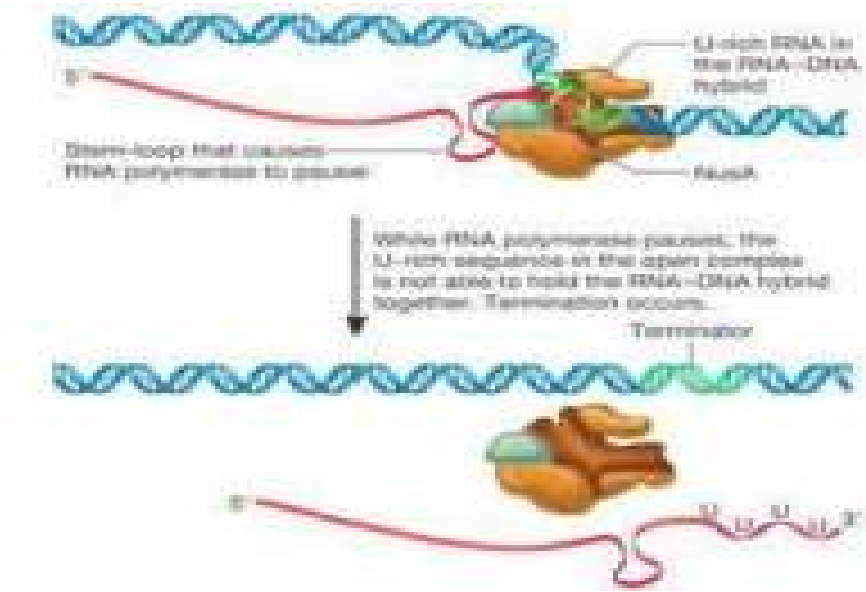
- عندما يصل الـ RNA Polymerase (RNAP) إلى موقع الإنهاء Termination Site فإنه يتوقف مؤقتاً.
- هذا التوقف يعطي شريط الـ RNA بعض الوقت لينطوي Fold مشكلاً روابط هيدروجينية بين نكليوتيدات سلسلة الـ mRNA نفسها (G–C Pairs) وتشكيل بنية الـ Hairpin.
- هذه الطية تعطل تآثرات هامة بين الـ RNA Polymerase (RNAP) وشريط الـ RNA المنتسخ.
- هذا يسمح لجزء الـ RNA الغني باليوراسيل (U–rich RNA) بالانفصال عن سلسلة الـ DNA القالب.
- وهكذا يكون معقد الانتساخ (RNAP و DNA و mRNA) قد تفكك والاستطالة انتهت.

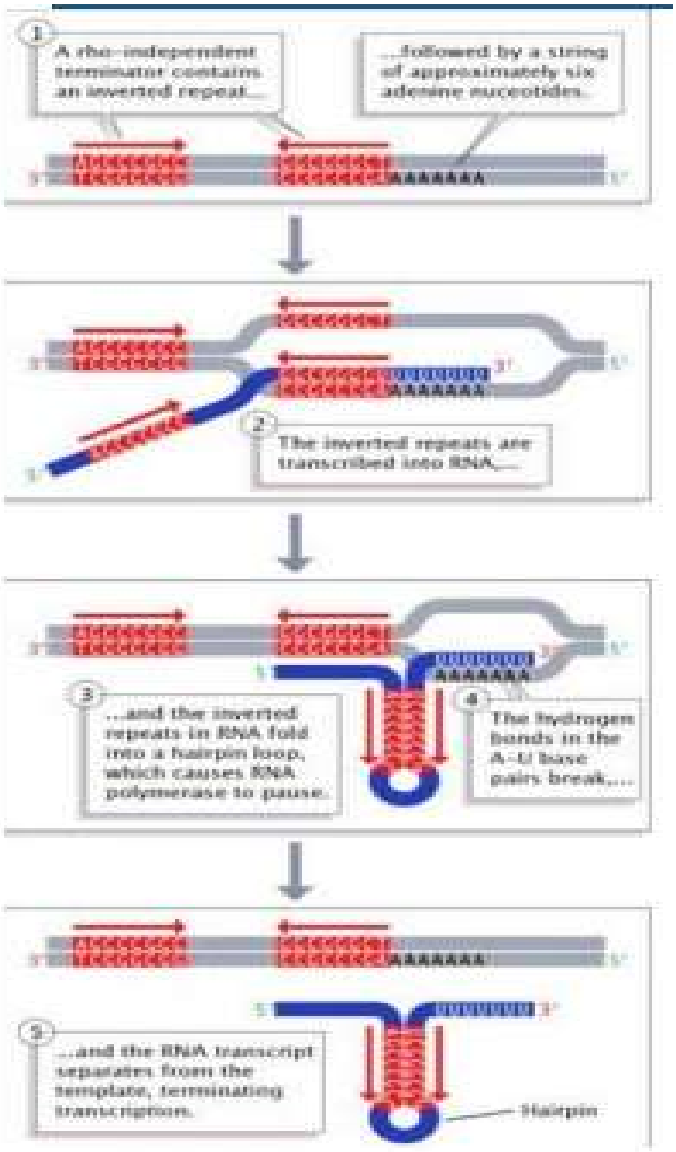




- طريقة أخرى لشرح هذه الآلية غير المعتمدة على RHO ؟

- يصل الـ RNAP إلى منطقة الإنهاء الحاوية لتكرار مقلوب من الـ C و G فيتم انتساخ هذا التكرار.
- بعد ذلك يقوم RNAP بانتساخ 6 نكليوتيدات من اليوراسيل مقابلة لنكليوتيدات الأدنين على قالب الـ DNA ، كما تتشكل بنية ملقط الشعر Hairpin في الـ RNA المنتسخ بسرعة نتيجة تشكّل روابط هيدروجينية بين أزواج الـ C و G.
- يصبح الـ RNA مرتبطاً بالـ DNA بروابط هيدروجينية **ضعيفة** بين الأدنين واليوراسيل (A=U) ، كما **يتوقف الـ RNAP عن الانتساخ بعد تشكيل العروة** (أي أن الروابط الوحيدة المتبقية بين الـ RNA والـ DNA هي روابط الأدنين– يوراسيل الهيدروجينية الضعيفة)، فينفصل الـ mRNA عن الـ RNAP.





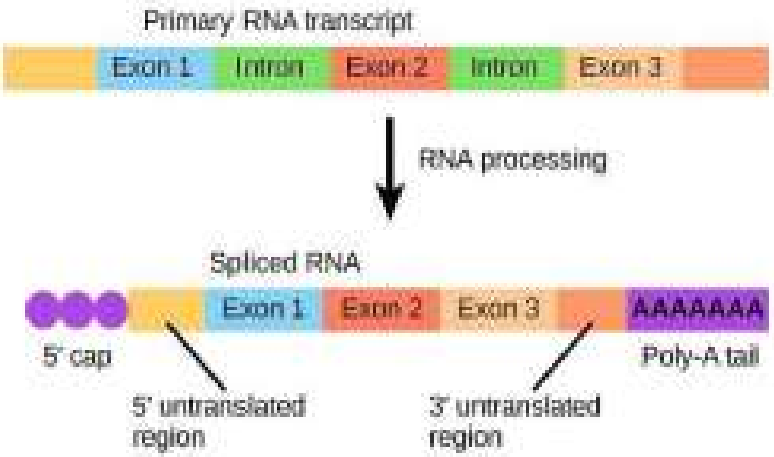
- النهاية المعتمدة على الـ RHO تحتاج إلى العامل البروتيني X.
- النهاية الغير معتمدة على الـ RHO لا تحتاج إلى عامل بروتيني بل تعتمد على تشكيل عروة بشكل (دبوس الشعر Hairpin loop) أو ما يُسمى بالعروة ذات الذراع Stem Loop.

❖ معالجة الرنا المرسال: mRNA Processing

- **عند طلائعيات النوى Prokaryotes:** يُنتسخ الـ RNA المرسال من سلسلة الـ DNA القالب، ويُستخدم مباشرة في عملية صنع البروتينات (أي لا تتم معالجة الـ mRNA المُنتسخ).
- **عند حقيقيات النوى Eukaryotes:** يجب أن يخضع المنتسخ البدئي لعملية معالجة ليعطي الرنا المرسال النهائي.

تشمل عملية المعالجة المراحل الآتية:

1. إزالة التسلسلات غير المرمّزة (الانترونات Introns).
2. وصل التسلسلات المرمّزة مع بعضها (الاكسونات Exons).
3. إضافة قبعة (قلنسوة) Cap من متيل الغوانوزين في النهاية 5'.
4. إضافة ذيل من جزيئات الأدينوزين (هو فعلياً عديد الأدنين) يُدعى بذيل عديد الأدينوزين عند النهاية 3'، حيث يتم تشكيل روابط تكافؤية بين الأدينوزين في ذيل عديد الأدينوزين ، والذي يطول أو يقصر (أي الذيل) من رسالة إلى أخرى.



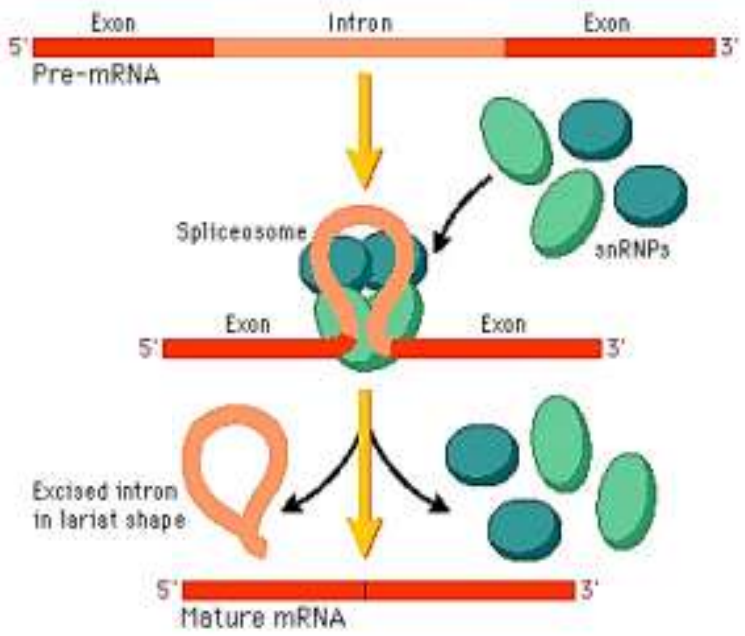
- **العوامل المسؤولة عن عملية المعالجة:**

1. أنزيمات القبعة Capping Enzymes: مسؤولة عن إضافة القبعة.
2. عوامل متعدد الأدينوزين Poly (A) Factors: مسؤولة عن إضافة الذيل وتدعى Poly (A) Polymerase.
3. عوامل التضفير Splicing Factors: مسؤولة عن إزالة الانترونات ووصل الاكسونات.

- **جسيم التضفير (الالتصاق): Spliceosome**

- هو مسؤول عن عملية لصق الاكسونات مع بعضها.
- ويدخل في تركيبه رنا نووي صغير Small nuclear RNA.
- تكون هذه الجسيمات قادرة على التعرف على أماكن الوصل بين الانترونات والاكسونات، وتتأثر مع هذه المواقع مؤدية إلى قطع الانترونات ووصل الاكسونات.

إن أي طفرة في مواقع الالتصاق يؤدي إلى العديد من الأمراض ، مثل التلاسيميا Thalassemia وسرطان الثدي Breast Cancer (BRCA1)، حيث أن أي تغير في أي أساس آزوتي يؤدي إلى هذه الطفرات.

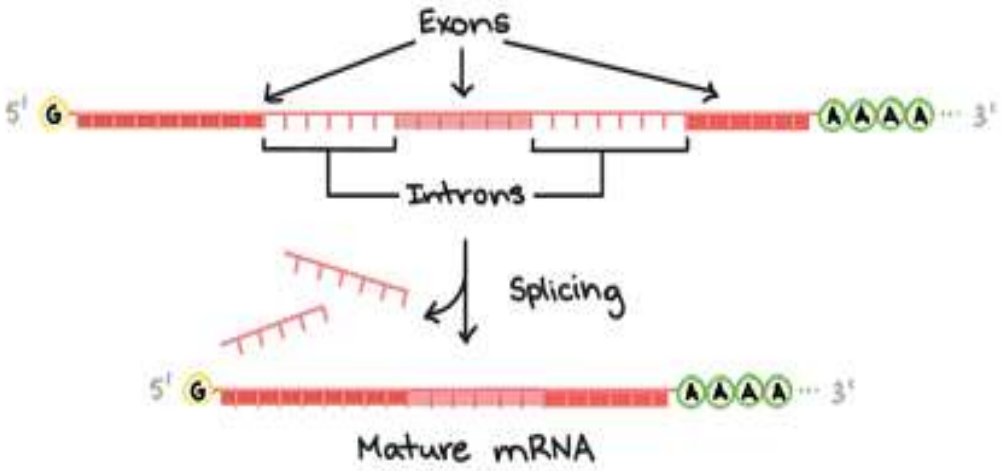


❖ آليات قطع الانترونات:

يتم استئصال الانترونات بآليات متعددة:

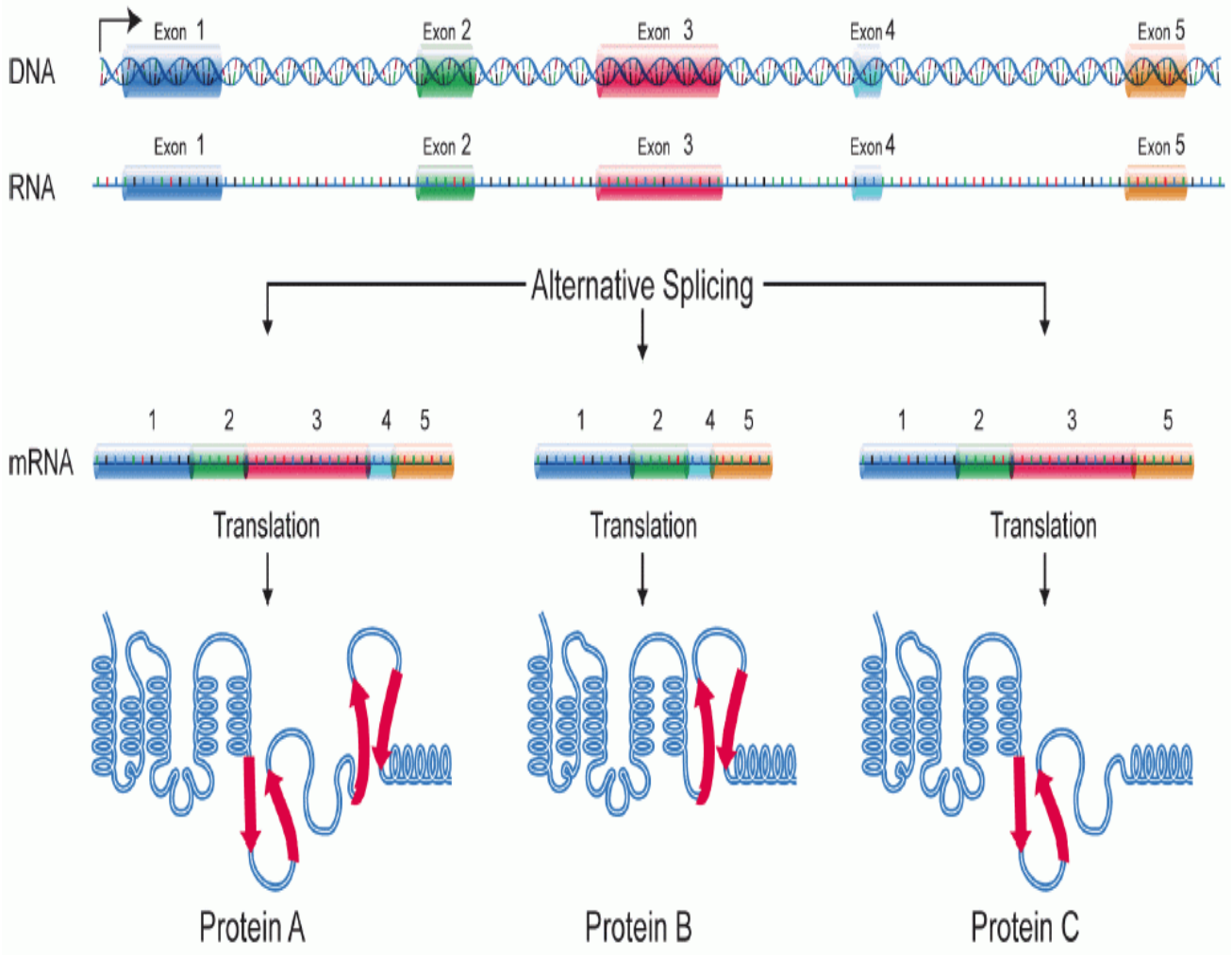
1. **Splicing Endonuclease**: أي التقطيع بواسطة النكلياز الداخلي، حيث تقوم بالقطع عند نهايتي الانترون.
الـ Endonucleases هي أنزيمات تفكك الروابط التكافؤية ضمن سلسلة عديدة النكليوتيدات ، وبالتالي تقوم بتفكيك الحموض النووية ويكون هذا القطع داخل السلسلة وليس على النهايات كما في حالة الـ Exonuclease.
2. **Splicing Ligase**: يقوم بربط نهايتي الرنا المرسال البدئي عند منطقة القطع لإنتاج الرنا المرسال النهائي (الناضج).

- عمليتا القطع والوصل متماكبتان تحدثان بنفس الوقت.
- وهذه العملية بحاجة لطاقة يحصل عليه جسيم التضفير من الـ ATP.
- تحدث عملية إضافة القبعة والذيل قبل عملية القطع.

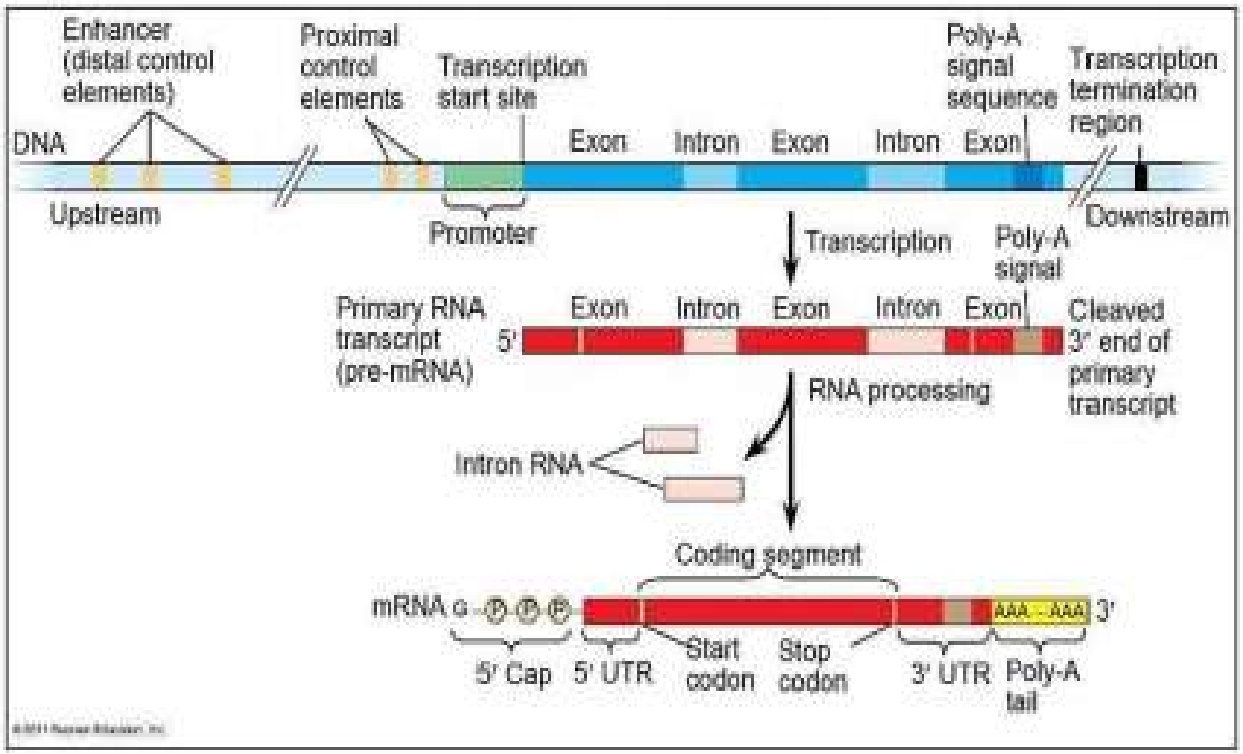


- بعد قطع الانترونات تتفكك الروابط التكافؤية بين النكليوتيدات وتبقى هذه النكليوتيدات حرة في النواة إلى أن يعاد استخدامها من جديد.
- **ملاحظة:** آلية التقطيع تعتمد على البنية ثلاثية الأبعاد للـ mRNA، وليس على تتابع النكليوتيدات.
- **ملاحظات:**

1. تتألف المورثة من تسلسلات مرمزة (اكسونات) وتسلسلات غير مرمزة (انترونات).
2. عندما يتم انتساخ الدنا DNA ، فإن المنتسخ البدئي الناتج يحوي كلا النوعين من التسلسلات.
3. وللحصول على mRNA قادر على اصطناع البروتينات المطلوبة كي تعبر المورثة عن نمطها الظاهري، يجب إزالة هذه التسلسلات غير المرمزة.
4. عندما تتم إزالة الانترونات، فإنه قد يتم إزالة الاكسونات المتوضعة فيما بينها فنحصل على تسلسل جديد آخر يختلف عن التسلسل الأصلي.
5. هذه الخاصية مهمة جداً حيث أن رسالة واحدة تعطي أكثر من تسلسل، وبالتالي أكثر من بروتين، تعرف هذه الآلية بالتضفير البديل Alternative Splicing.
6. إضافة إلى ذلك، فإن نهايات الـ RNA إذا بقيت حرة دون إضافة القبعة والذيل ، فسوف تتخرب وتتفكك بفعل العديد من الأنزيمات الموجودة في النواة (مثل أنزيمات النكلياز الخارجية Exonucleases).
7. الهدف من إضافة القبعة والذيل هو حماية الـ RNA المنتسخ من المورثة، حيث أن هذه النهايات ليست منسوخة من المورثة وبالتالي تخريبها لن يؤثر على عمل الـ RNA أو اصطناع البروتينات.



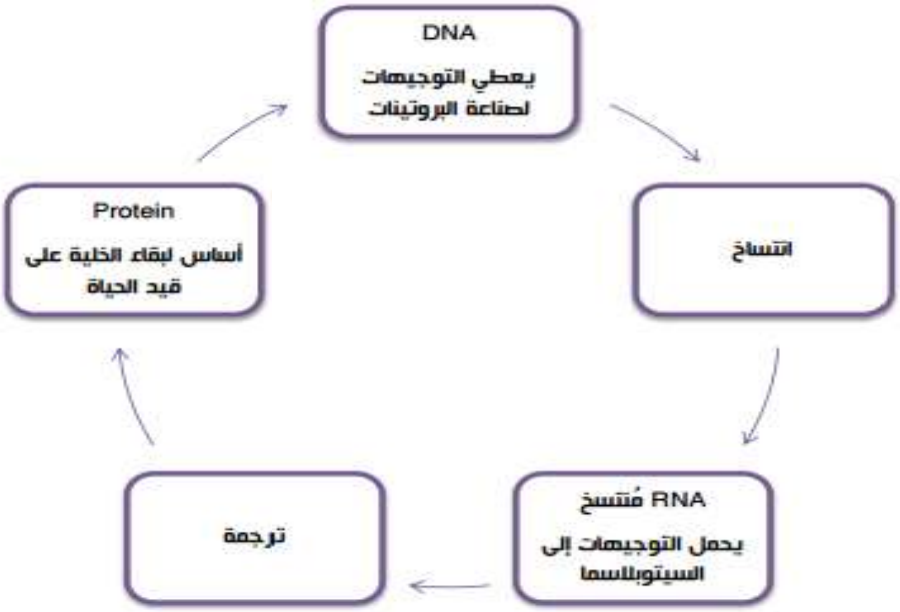
- إن 98.5% من الـ DNA البشري غير مرمّز، وبالتالي لا يفيد بالتعبير المورثي ولكن أهميته بالغة في مجال البصمة الوراثية.
- (Open Reading Frame (ORF): هو الجزء من المورثة الذي تتم قراءته لتشكيل البروتين، فهو عبارة عن تسلسلات النكليوتيدات الواقعة بين رامز بدء (على الـ RNA : AUG وعلى سلسلة الـ DNA القالب : TAC) ورامز إنهاء ، ولا يتخللها أي رامز إنهاء.



وفي النهاية:

- بعد انفصال سلسلة الرنا المتشكلة ومعالجتها، يخرج الرنا المرسال من النواة عبر أحد الثقوب النووية على الغشاء النووي لتصل إلى الهيولى.
- يلتقي الـ mRNA مع الريبوزومات من أجل عملية الترجمة وتصنيع البروتينات.
- يخرج بعدها البروتين المترجم من mRNA من الخلية إلى الدم ليصل إلى الهدف.

ملاحظة: يمكن أن تحدث بعض المعالجة لسلسلة الرنا المتشكلة أيضاً في الهيولى، ولكن في حالات نادرة.



وبإجراء مقارنة شاملة للفرق بين التضاعف والانتساخ:

الانتساخ	التضاعف
يتم نسخ منطقة محددة من الـDNA	يتم تضاعف كامل شريط الـDNA
يتم على طاق واحد هو الطاق القالب	يتم على الطاقين معاً أي كلا الطاقين يتضاعفان
لا توجد عملية تنقيح مما يؤدي لظهور طفرات	يوجد عملية تنقيح وبالتالي يمكن تلافي الطفرات
الأنزيم المستخدم هنا للانتساخ هو RNA بوليميريز ولا يحتاج بادئ primer	الأنزيم المستخدم هنا للتضاعف هو DNA بوليميريز وهو يحتاج إلى بادئ primer
يتم تفعيل هذه العملية عند الحاجة لنمط ظاهري معين حيث يتم التعبير عن مورثة محددة (كتفعيل المورثة المسؤولة عن إنتاج الأنسولين عند الحاجة إليه)	يتم تفعيل هذه العملية عند الحاجة لتجديد الخلايا و التكاثر