**قسم : الوراثة والهندسة الوراثية برنامج: التكنولوجيا الحيوية الزراعية (وراثة)**

**المادة: : البيولوجيا الجزيئية التخلفات من الفرقة الثالثة**

 **الفصل الدراسى الأول 2016/2017 الزمن : ساعتان**

--------------------------------------------

**أجب عن الأسئلة الآتية :**

**السؤال الأول (20 درجه) :**

**(1): تكلم عن طرق تضاعف الحامض النووى DNA مستعينا بالرسم .**

**(2)::تكلم عن دور الترجمة فى عملية بناء البروتين .**

**السؤال الثاني (20 درجه): قارن بين اثنين فقط من النقاط التالية :**

 **(1): إنزيمات القطع- إنزيم اللصق.**

 **(2): الإصلاح الضوئي - الإصلاح الظلامى.**

 **(3): إنزيمات البلمرة - الإنزيمات المحورة .**

**السؤال الثالث (20 درجة ):**

**(1): اشرح مع الرسم تركيب وتنظيم عمل الجين موضحا وظائف كل نوع من أنواع الجينات .**

**(2): هناك طرق عديدة لنقل المادة الوراثية بين الكائنات المختلفة – تناول هذه الطرق باختصار مستعينا بالرسم.**

 **مع أطيب التمنيات بالتوفيق**

 **ا.د/ محمد سراج الدين**

قسم : الوراثة والهندسة الوراثية برنامج: التكنولوجيا الحيوية الزراعية (وراثة) المادة: : البيولوجيا الجزيئية تخلفات من الفرقة الثالثة

 الفصل الدراسى الاول : للعام الجامعي 2016/2017 الزمن : ساعتان

-------------------------------------------------------------------------------------------------------  **نموذج إجابة استرشادي غير ملزم**

**اجابة السؤال الأول :**

1. : **يتضاعف الحامض النووى بثلاثة طرق اساسية** :

 الطريقة المحافظة والشبة محافظة والتشتتية ,Conservative method , Semi conservative method and Dispersive method

الطريقة الأولى الناتج من هذا التضاعف يكون مماثل لتركيب الـ DNA الاصلى الطريقة الثانية يكون النصف مماثل والنصف الأخر جديد

وفى الطريقة التشتتية يكون الناتج مختلف تماما عن الطريقتين السابقتين \_ على الطالب شرح هذه الطرق مع التوضيح والرسم.

(2) **: دور الترجمة في عملية بناء البروتين** :

**DNA Translation الترجمة :**

 تتم ترجمة المعلومات الوراثية الموجودة علي جزيئ m-RNA في **الخطوات التالية:**

1- تنشيط الأحماض الامينية Amino acid activation و يتم تنشيط الأحماض الامينية بواسطة تفاعلها علي Adenosine triphosphate (ATP) و ذلك باتحاد مجموعة الكربوكسيل الموجودة في الحامض الاميني مع ATP فينتج عن ذلك تكوين Pyrophosphate + aminoacyl adenylate و يتم هذا التفاعل في وجود إنزيم متخصص يسمي Aminoacyl synthetase و الذي يظل مرتبطا مع المركب المتكون ثم يقوم هذا الإنزيم بنقل المركب إلي جزيئ t-RNA حيث يصل هذا المركب مع آخر نيوكليوتيدة في t-RNA و هي من النوع Adenylic acid و بذلك يتكون مركب Adenosine monophosphate aminoacyl-t-RNA (AMP) و كذلك الإنزيم. و يتم تنشيط الحامض الاميني عن طريق ارتباطه بجزئ ملئ بالطاقة قبل حدوث الارتباط بين الحامض الاميني و الادنين الموجود في النهاية 3- للـ t-RNA

و من هنا يتضح أن المكونات الأساسية اللازمة لصناعة البروتين في الخلية هي m-RNA , t-RNA , amino acids, ribosomes , and aminoacyl synthetases . و بذلك يبقي السؤال كيف تعمل هذه المكونات علي إنتاج سلاسل بولي ببتدية متخصصة Specific polypeptides إن كل حامض اميني له الإنزيم المنشط الخاص به و هناك بعض الأحماض الامينية يكون لكل منها أكثر من t-RNA حيث يكون لكل من هذه الأحماض أكثر من شفرة. و يلاحظ من التفاعل السابق أن الإنزيم المنشط هو المسئول عن ربط الحامض الاميني علي t-RNA الخاص به و لذلك يفترض وجود مكانين مختلفين علي الإنزيم للارتباط و هما: \* مكان يتعرف علي المجموعة الجانبية (R) للحامض الاميني.

 \* المكان الآخر يتعرف علي t-RNA الخاص بهذا الحامض الاميني.

و بالمثل فان جزئ t-RNA له مكانان للتعرف و الارتباط احدهما للإنزيم المنشط الخاص به و الآخر يسمي مقابل الشفرة Anticodon الموجود علي m-RNA و هذا المكان الأخير عبارة عن ترتيب لثلاث نيوكليوتيدات.

2 – الخطوة التالية بعد تكوين الأنواع المختلفة من Aminoacyl –t-RNA هي تخليق البروتين . و كما سبق القول فان m-RNA يتصل بالريبوسوم حيث يوجد بالريبوسوم موقعان احدهما يسمي موقع الأحماض الامينية Aminoacyl site (A) و في هذا الموقع من الريبوسوم يدخل فيه Aminoacyl-t-RNA بشرط أن يكون مقابل الشفرة لجزئ t-RNA مكمل للشفرة الموجودة علي m-RNA في هذا المكان أما الموقع الآخر فهو يسمي بالموقع (B) اى موقع السلسلة البولي ببتيدية و يتم تكوين السلسلة البولي ببتيدية **كالأتي**:

 ا- يرتبط Aminoacyl-t-RNA معين و ليكن Alanine-t-RNA بالموقع (A) بحيث يكون مقابل الشفرة Anticodon مكملا للكودون الموجود علي m-RNA .

 ب- ترتبط مجموعة الأمين للحامض الاميني الادينين علي مجموعة الكربوكسيل الموجودة في نهاية الحامض الاميني تيروسين علي جزئ (Tyr-t-RNA ) t-RNA و يتم هذا الارتباط في الموقع (B) بواسطة رابطة ببتيدية و يقوم إنزيم Peptide transferase بعمل هذه الرابطة.

جـ- بعد تكوين الرابطة الببتيدية يخرج Tyr-t-RNA الموجود في الموقع (B) ثم يتحرك الريبوسوم علي m-RNA بمقدار شفرة واحدة بحيث تكون السلسلة البولي ببتيدية في الموقع (B) متصلة بالـ Ala-t-RNA بينما الموقع (A) يكون خاليا حيث يتصل به Aminoacyl-t-RNA التالي حسب ترتيب الشفرات علي m-RNA و هو Methionine-t-RNA بحيث يكون مقابل الشفرة علي t-RNA مكملا للشفرة الموجودة علي m-RNA ثم يتصل الحامض الاميني مع آخر حامض اميني موجود في الموقع (B) .

 د- و هكذا تتوالي عملية السلسلة البولي ببتيدية و في كل مرة يضاف حامض اميني جديد للسلسلة. عندما تم عزل البروتين من خلايا *E .coli* و اختباره وجد فقط حوالي 45% منه به النهاية N-terminal methionine بينما معظمه كان به النهاية N-formyl methionine و لقد أوضحت التجارب التي أجراها كل من James Watson and Zinder في معاملهم أن Formyl groups يتم إزالتها من السلاسل البولي ببتيدية بعد عملية الترجمة.

هـ- كل خيط من m-RNA يرتبط بحوالي خمسة ريبوسومات أو أكثر و يتوقف ذلك علي حجم سلسلة m-RNA مكونا بذلك Polyribosomes و هذا يؤدي إلي أن الخيط الواحد من m-RNA يخلق أكثر من جزئ من البروتين في نفس الوقت مما يؤدي بذلك إلي زيادة كفاءة الخلية في صناعة البروتين حيث أن كل ريبوسوم علي m-RNA يكون سلسلة بولي ببتيدية بعكس لو كان ريبوسوم واحد متصل بالـ m-RNA .

 و بذلك فان دخول الأحماض الامينية الاخري للريبوسوم يتم بترتيب الشفرات علي جزئ m-RNA و الشكل السابق يوضح Polyribosome حيث يتصل m-RNA بأكثر من ريبوسوم مما يزيد بالتالي من كفاءة الخلية في تخليق البروتين.

**اجابة السؤال الثانى :**

**1 - انزيمات القطع Restriction Enzymes** تنتمي لمجموعة الاندونيوكليز  Endonuclase التي تتعرف على تتابعات خاصة موجودة فى DNA المزدوج الخيوط وتعزل أساساً من Prokarayotes .

و**تصنف الإنزيمات إلى ثلاث أنواع** هى:

**1) الطراز الأول**: هى عبارة عن إنزيمات لها تتابعات نيوكلتيدية متخصصة, ولكن كسر DNA يكون غير متخصص أى فى أماكن بعيدة عن التتابعات النيوكلتيدية مثل E.co.A E.Co.K

**2) الطراز الثانى:** يكون كسر DNA على مسافات بعيدة من هذه المواقع المتخصصة مثل Mbo1.

 وتحتاج هذه الإنزيمات (1,3) إلى ATP (Adenin Tri Phosphate) ليساعدها فى عملية الكسر, وتحتوى على تتابعات لم تحدث بها عملية methylation الميثلة فى مستخلص DNA.

 النوع الأول يكسر عشوائياً أما الثالث فيكسر فى مواقع متخصصة لكنها بعيدة عن التتابعات النيوكلتيدية.

**3) الطراز الثالث**: هى إنزيمات لها تتابعات نيوكلتيدية متخصصة ويكون كسر DNA فى حدود هذه التتابعات, إذن كسره غير عشوائى وتحتوى على نظام RS system restriction and modification.

 تم عزل العديد من إنزيمات النوع الثانى حوالى 1000إنزيم واغلبها يستخدم فى عملية Gene cloning , بعضها يكسر التتابعات النيوكلتيدية فى أربعة أزواج أو فى خمسة أزواج أو فى ستة أزواج , فمثلاً إنزيم E.co.RI و B am HI و hind III يكسر التتابعات السداسية.

**الفروق الأساسية بين أنواع الإنزيمات**

1. أماكن قطع DNA.
2. تركيب البروتين مختلف.

**3)** الظروف المثلى لإتمام تفاعل أو عمل هذه الإنزيمات.

**انزيم اللصق :** هو انزيم اللايجيز Ligase وله وظيفتان اصلاح الـ DNA والتصاق اجزاء الـ DNA المقطوعة ويعزل هذا الانزيم من البكتريوفاج السلالة T4.

**2 - الإصلاح الظلامى :**

 **Excision Repair** الاصلاح بالاستبعاد هى عمليات انزيمية متعددة الخطوة الاولى تسمى incision يتحكم فية ثلاث جينات UVR A B C وهى تشفر لثلاث تحت وحدات منفصلةلانزيم UVR ABC nuclease والذى يقوم بازالة الجزء التالف من الDNA عن طريق قطع السلسلة وهو لايحتاج الى طاقة لانة اصلاح ظلامى

**الإصلاح الضوئي** :

* **Mismatch Repair** ميكانيكية يتم فيها اصلاح ازواج القواعد التالفة (الغير متصلة) والتى تهرب من الإصلاح وذلك بواسطة النشاط التصحيحي للـ DNA polymerase

**2- أنزيمات بلمرة الـDNA : DNA Polymerase**

**ثلاثة أنواع هى:**

 **DNA Polymerase 1: يقوم بعملية البلمرة أو تحطيم الـDNA**

 **DNA Polymerase 11: يقوم بعملية الإصلاح بالاستبعاد**

 **والنوع الثالث DNA Polymerase 111 يقوم بعملية النسخ العكسي أو بناء DNA على قالب من الـRNA**

**الانزيمات المحورة** **DNA Modifying enzymes** :

 هي مجموعة إنزيمية يتم التحوير فيها عن طريق إضافة أو إزالة مجاميع كيميائية خاصة وهى ثلاثة أنواع, Alkaline phosphates وفية يتم إزالة مجموعة الفوسفات الموجودة على الطرف 5 ، kinase ويتم فيه إضافة مجموعة فوسفات على الطرف 5 ، transferase وفية يتم إضافة واحد أو أكثر من مجاميع Deoxy على الطرف3.

**إجابة السؤال الثالث:**

1. **:** **تركيب و تنظيم عمل الجين من** خلال ثلاث نظم جينية حيث ان الجينات العاملة او الفاعلة Regulator genes تتحكم فى فتح أو قفل عدد من الجينات التركيبية Structural genes والمسئولة عن انتاج انزيمات معينة تؤدى لتفاعلات بيوكيميائية فى سلسلة من التفاعلات ينتج عنها ظاهرة فسيولوجية معينة وذلك عن طريق الجينات المنظمة والتى تفرز مثبط لعمل الـOperator genes ويطلق على هذا المثبط القامع او الكابح وهو عبارة عن بروتينات تمنع الجين العامل من اتاحة الفرصة لعمل انزيم بلمرة ال RNA وبالتالى لايؤدى وظيفتة ويتم التثبيط بطريقتين اما عن طريق منع انزيم بلمرة RNA من نسخ الDNA او عن طريق مادة ذات وزن جزيئ منخفض فتمنع الكابح وبالتالى يصبح الجين الفعال حر فيترك الجينات التركيبية قادرة على العمل عن طريق انتاج انزيمات متخصصة عن طريق mRNA لتكوين البروتين ----على الطالب توضيح ذلك بالرسم.

تنظيم التعبير الجيني هو سمه أساسيه في حفظ التكامل الوظيفي للخليه . وعملية التنظيم هذه تحدث بطرق مختلفه منها تنظيم موجب واخر تنظيم سالب .

**في بدائية النواة**

غالبا ما يحدث التنظيم عند بدء استنساخ mRNA. اما في حقيقية النواة استنساخ mRNA يكون اكثر تعقيدا وعليه توجد أكثر من ميكانيكيه لعملية التنظيم.

وبالرغم من ذلك تنظيم الاستنساخ في حقيقية وبدائية النواة يحدث من خلال ارتباط بروتينات مع تسلسل معين على شريط الدنا ينتج اما زياده او نقصان في معدل الاستنساخ.

**وهنالك ميكانيكيه خاصه في حقيقية النواة**

 وهو الاستنساخ المتخصص بنوع الخلايا وهذا يتحقق من خلال المعالجه الاختياريه او البديله (alternative (processing لشريط mRNAالاولي غير الناضج وتكوين اشرطه مختلفه من الرنا الرسولي وبالتالي ترجمته الى بروتينات مختلفه متعلقه بوظيفة تلك الخليه.

**تنظيم عملية التعبير الجيني فى الكائنات غير حقيقية النواه Prokaryote**

**نظام الاكتوز lac operon**

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

**نظام التربتوفان Tryptophan operon**

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

1. طرق نقل الجينات :

 هناك طرق عديدة لنقل الجينات منها :

نقل الجينات عن طريق الاجروباكتريوم –نقل الجينات عن طريق الفيروسات – نقل الجينات باستعمال الكيماويات –النقل عن طريق التثقيب الكهربي Electroporation – النقل عن طريق قاذفة الجينات bombardment .

على الطالب تناول كل طريقة من هذه الطرق بشي من التفصيل موضحا أفضلية اختيار هذه الطريقة –كيفية استخدامها وهل هناك محاذير من استخدام هذه الطرق .......الخ .

 **مع خالص الأمنيات**

 **أ.د/ محمد سراج الدين عبد الصبور**

 **أستاذ الوراثة كلية الزراعة بمشتهر جامعة بنها**