

# Medical Genetics

## علم الوراثة الطبي

### الفصل الخامس

## TRANSCRIPTION

### انتساخ الـ DNA

جامعة دمشق

طلاب العلوم الصحية-الفصل الثاني

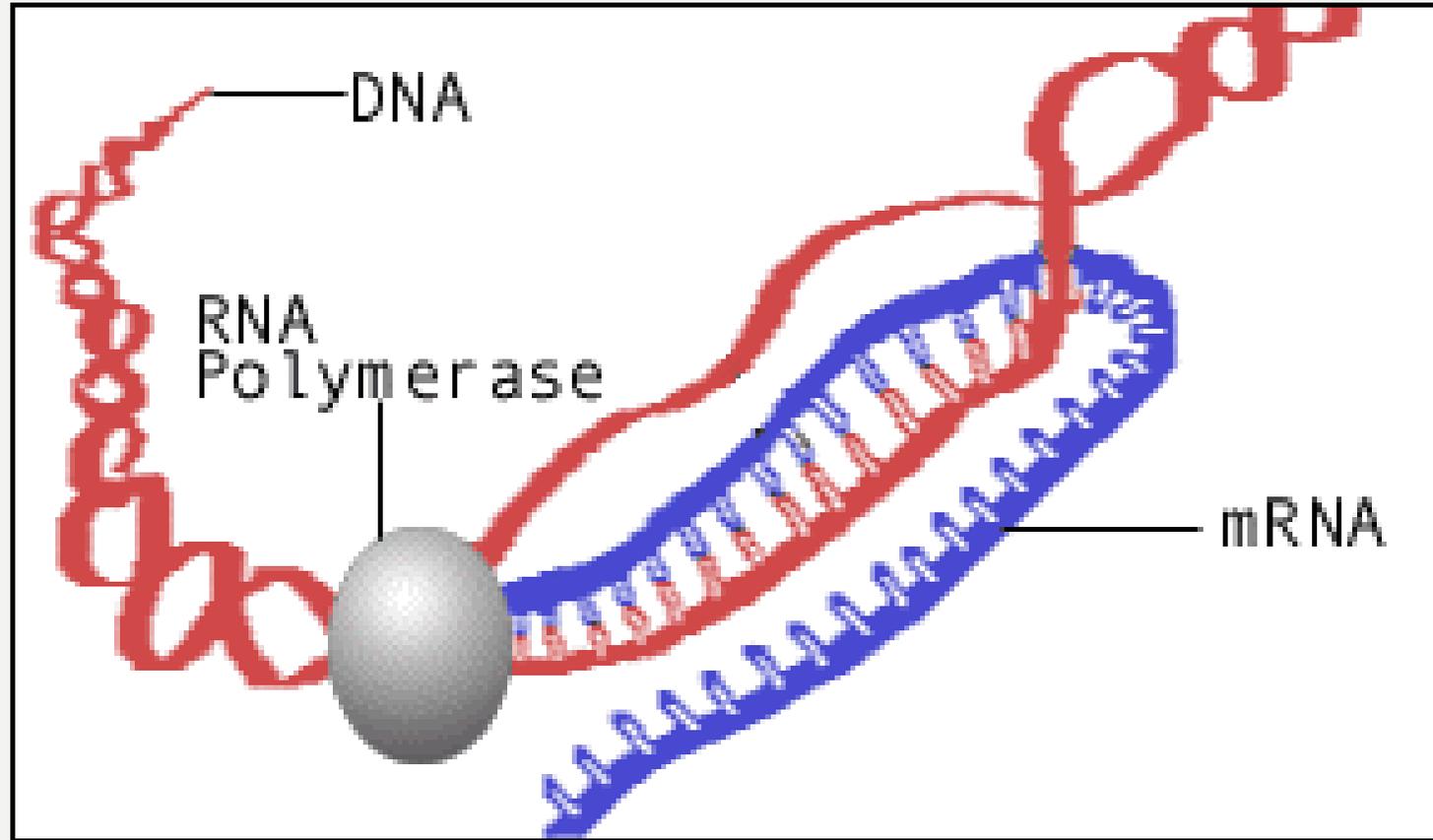
د. سامر الزعبي

2021/06/10

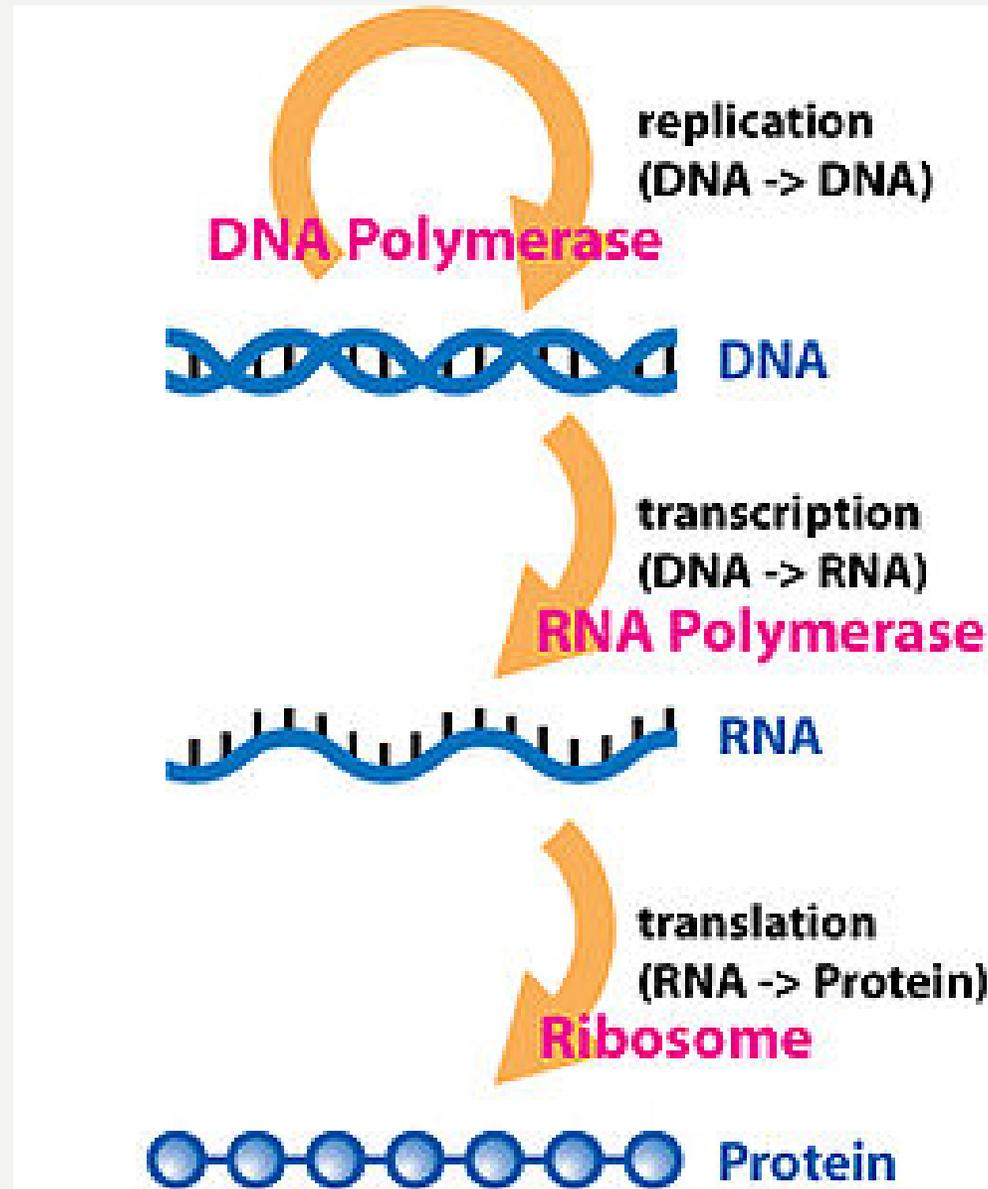


# Transcription الانتساخ

(انتساخ الـ DNA)



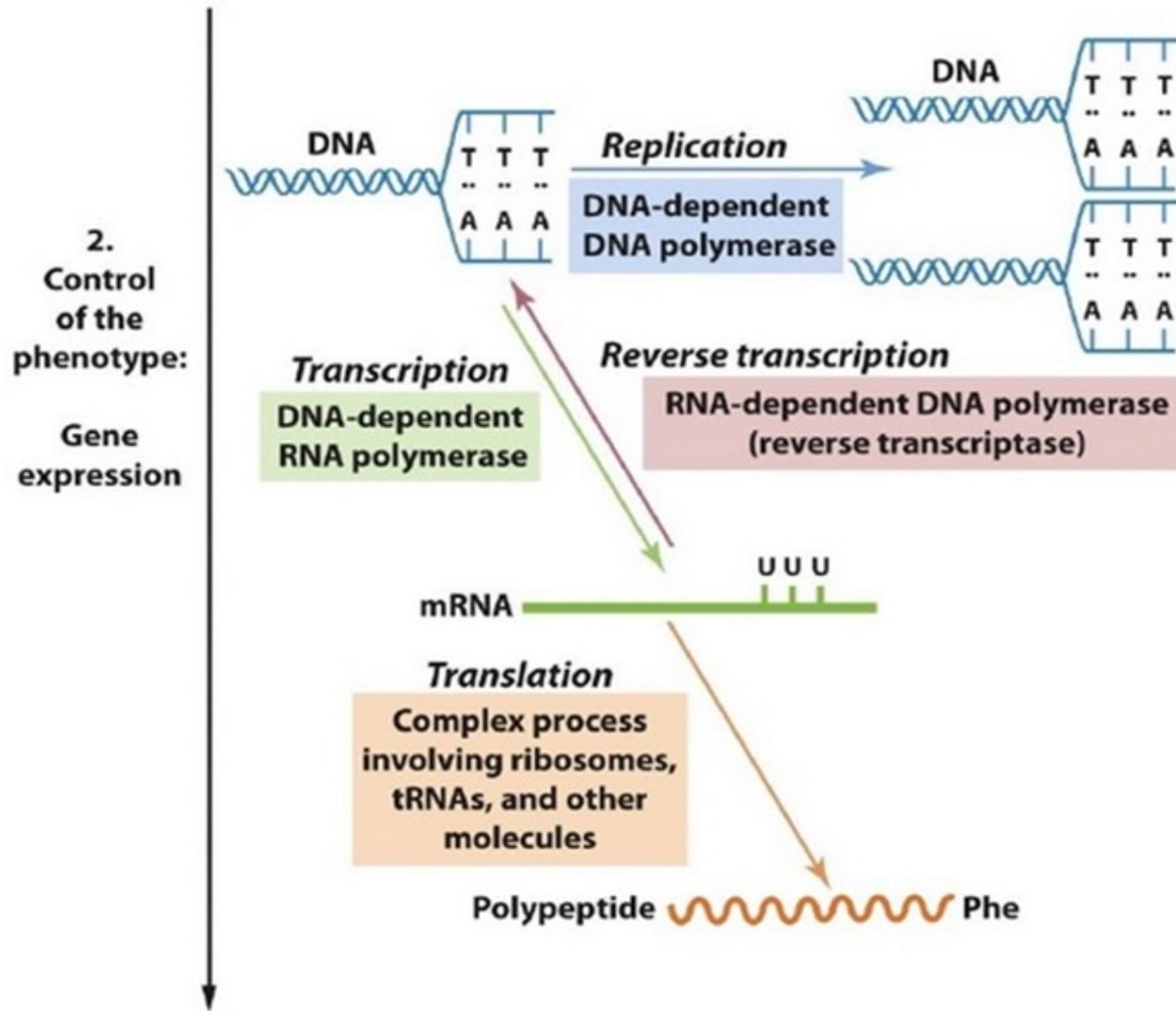
# The central dogma

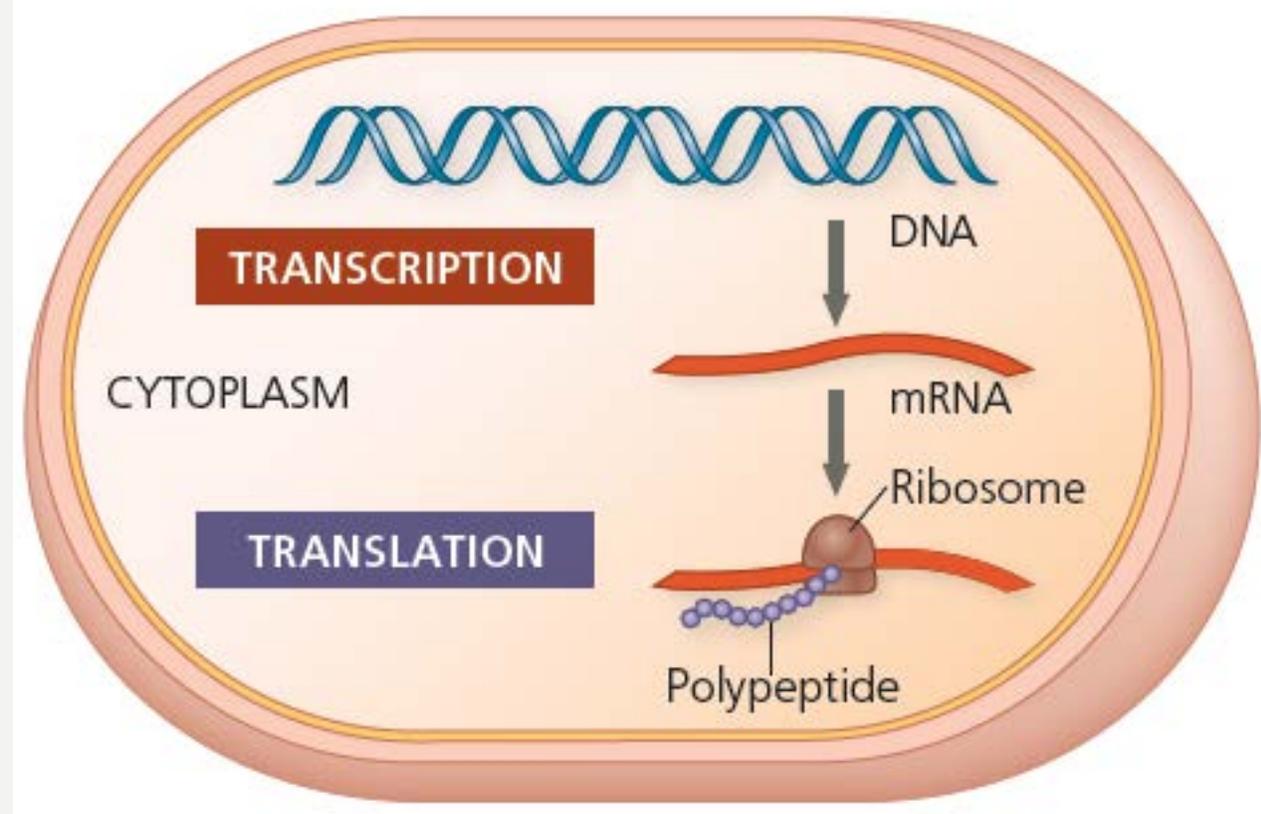
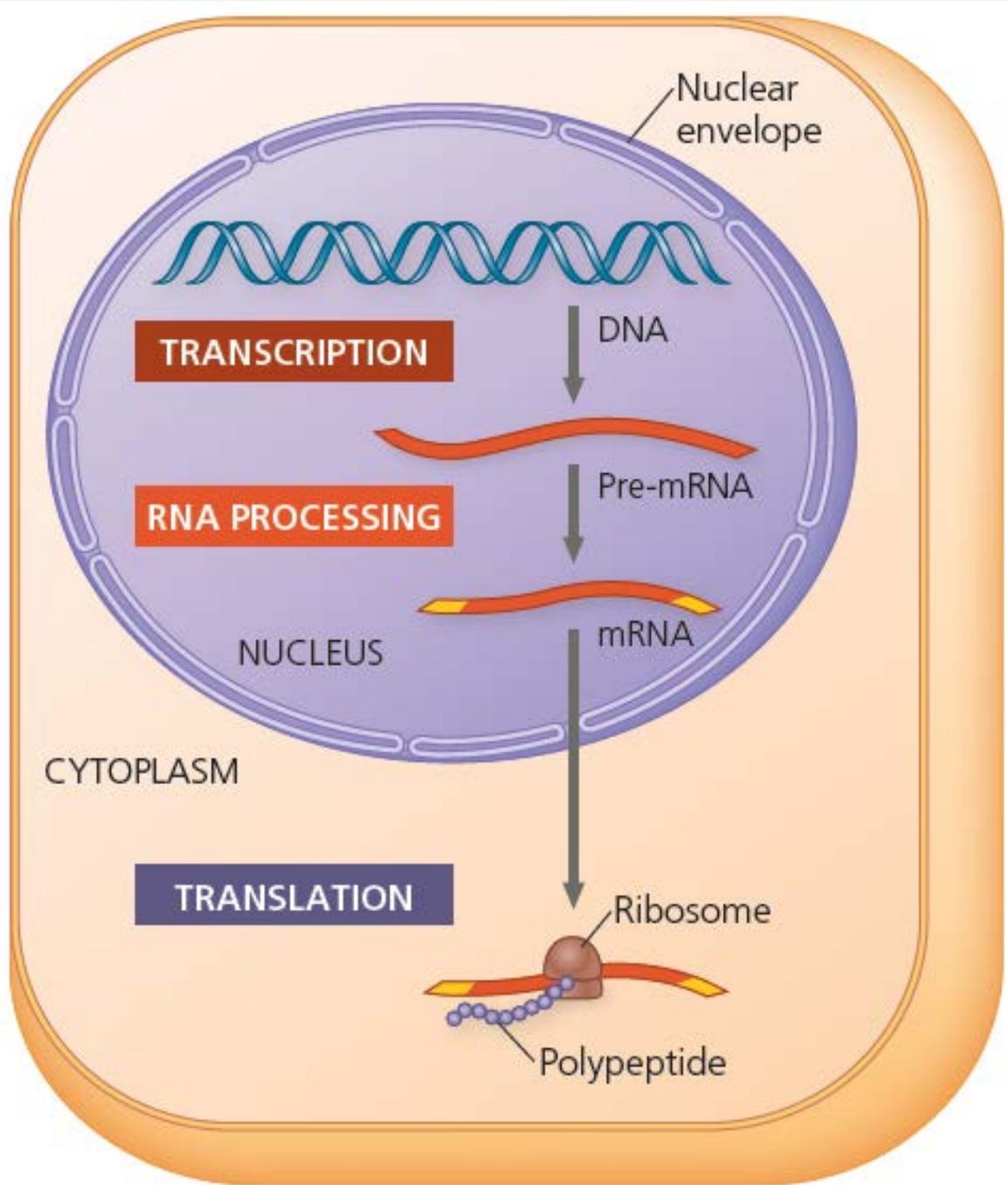


# The Central Dogma

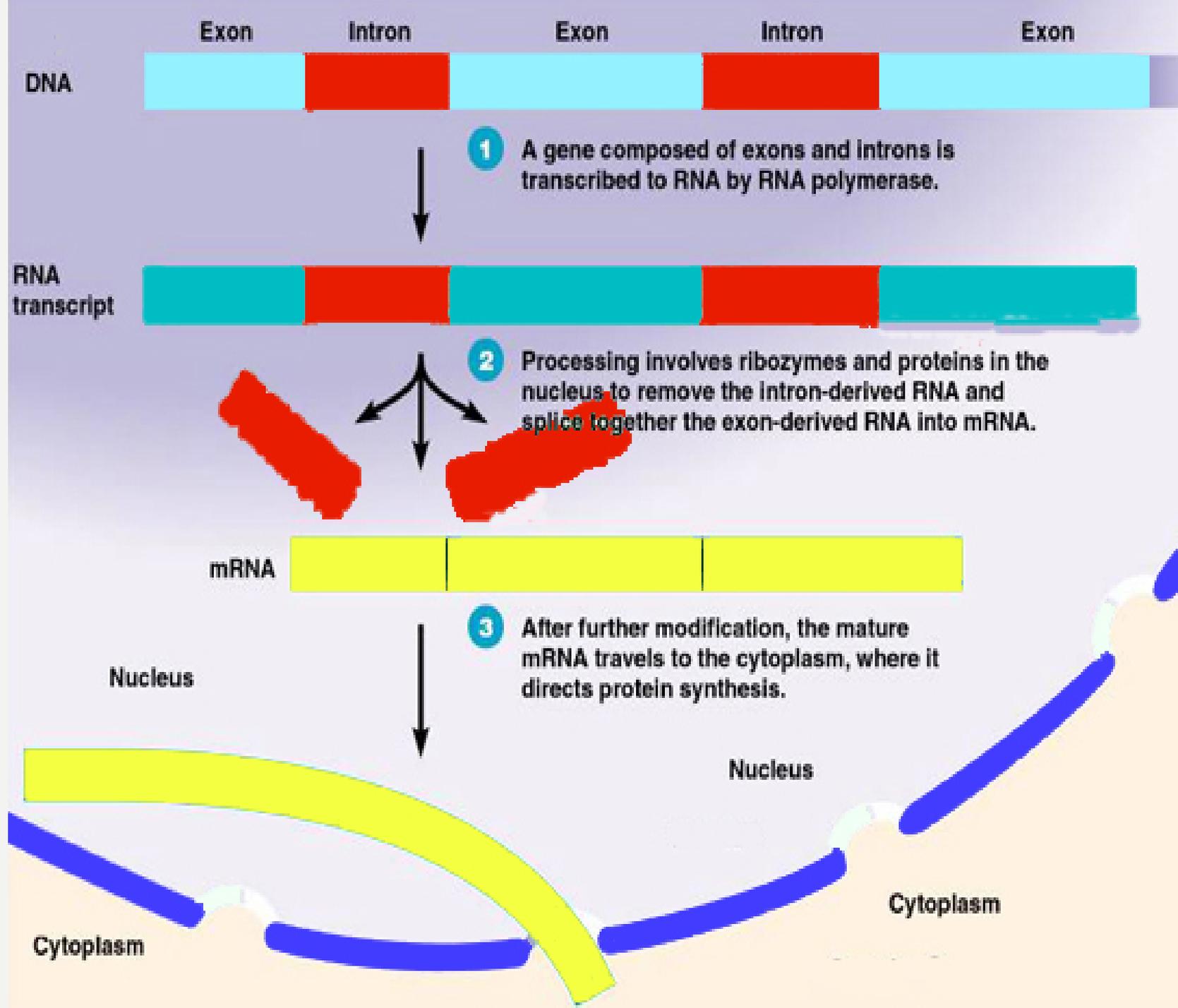
Flow of genetic information:

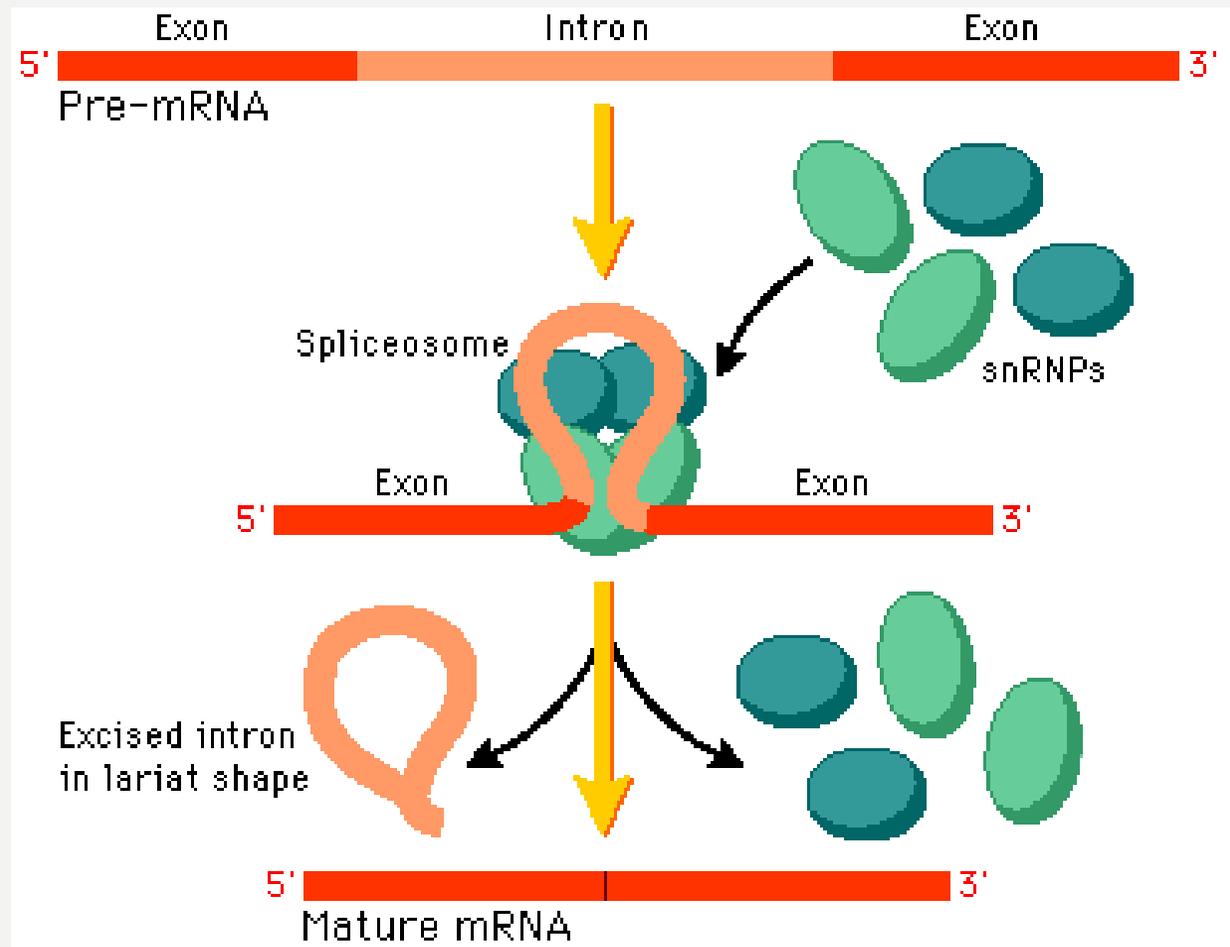
1. Perpetuation of genetic information from generation to generation





Pre-mRNA جزئيء الـ RNA المرسل المبدئي



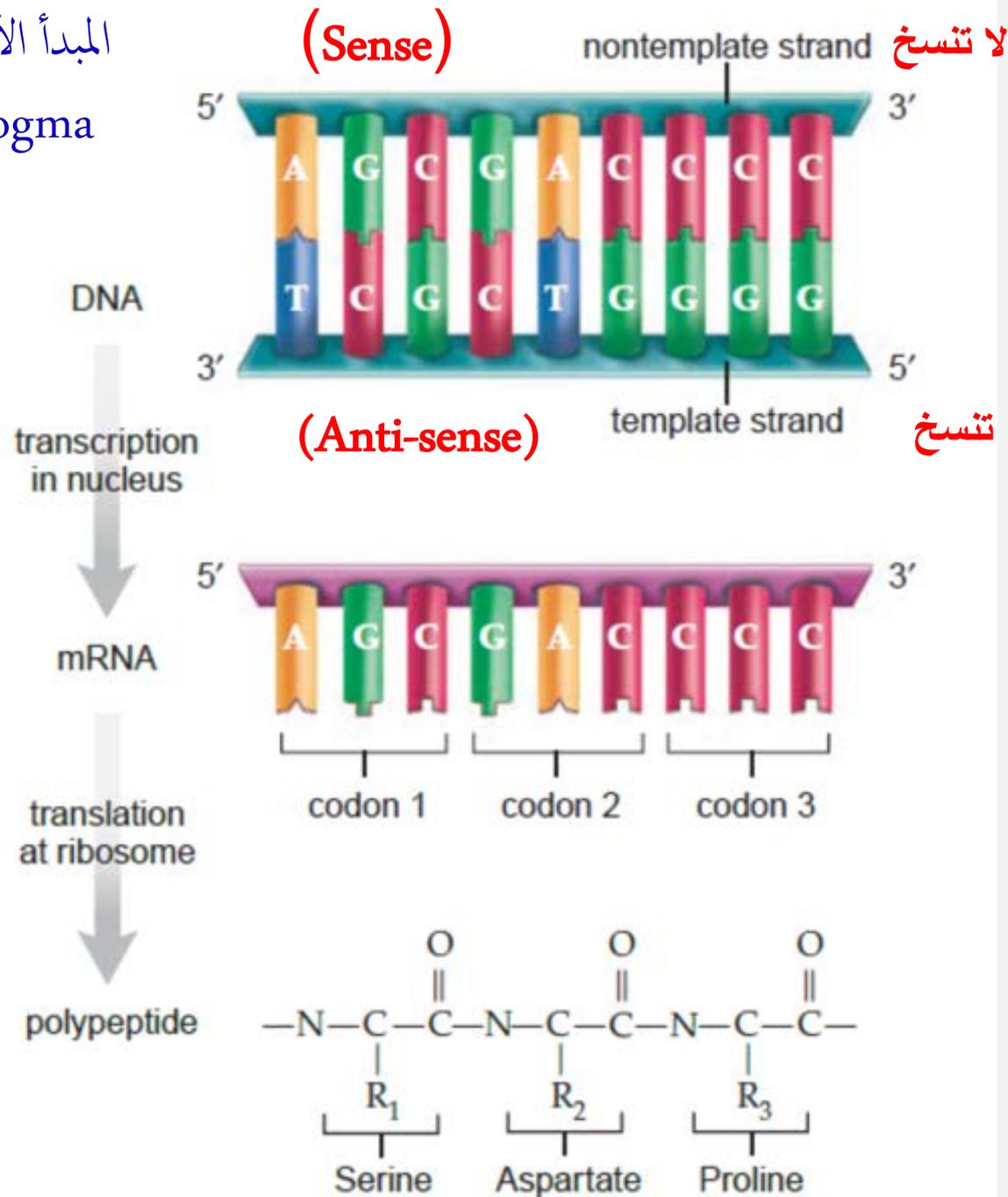


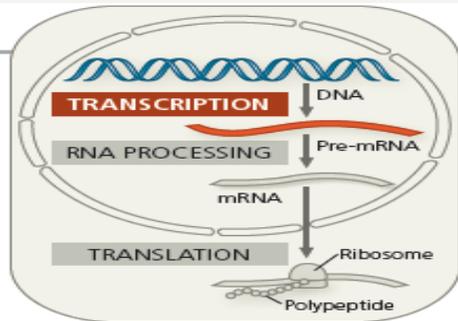
يصطنع الـ RNA عبر آلية مشابهة لآلية اصطناع الـ DNA ماعدا:

DNA	RNA	
نوكليو تيدات ريبية منقوصة الأكسجين في الموقع 2'	نوكليو تيدات ريبية (تحتوي على OH في الكربون 2' للريبوز) يوجد U بدلا عن T	ركائز التفاعل
كلا سلسلتي الـ DNA يساهمان في الاصطناع	سلسلة أو طاق أو شريط واحد من الـ DNA كمرصاف Template لاصطناع سلسلة الرنا المتممة لنوكليو تيدات السلسلة المرصافة.	السلسلة المرصافة
لا بد من وجود Primers ??????	لا توجد حاجة لـ Primers	(مشارع) Primers

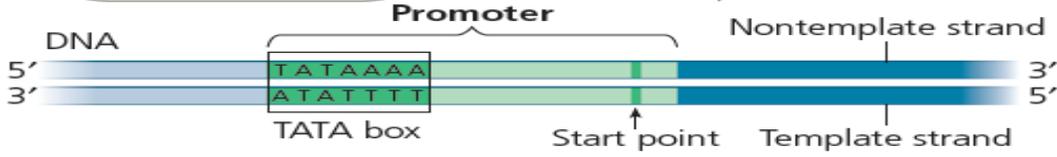


المبدأ الأساس في البيولوجيا  
The central dogma

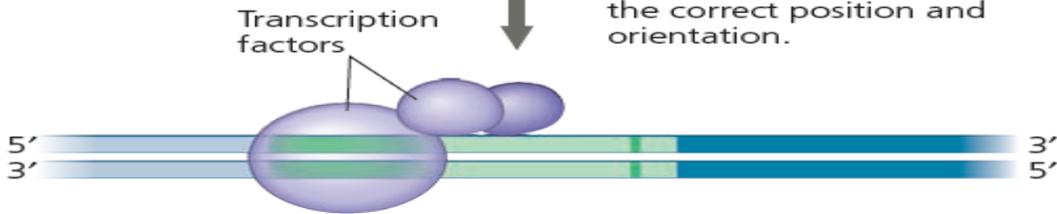




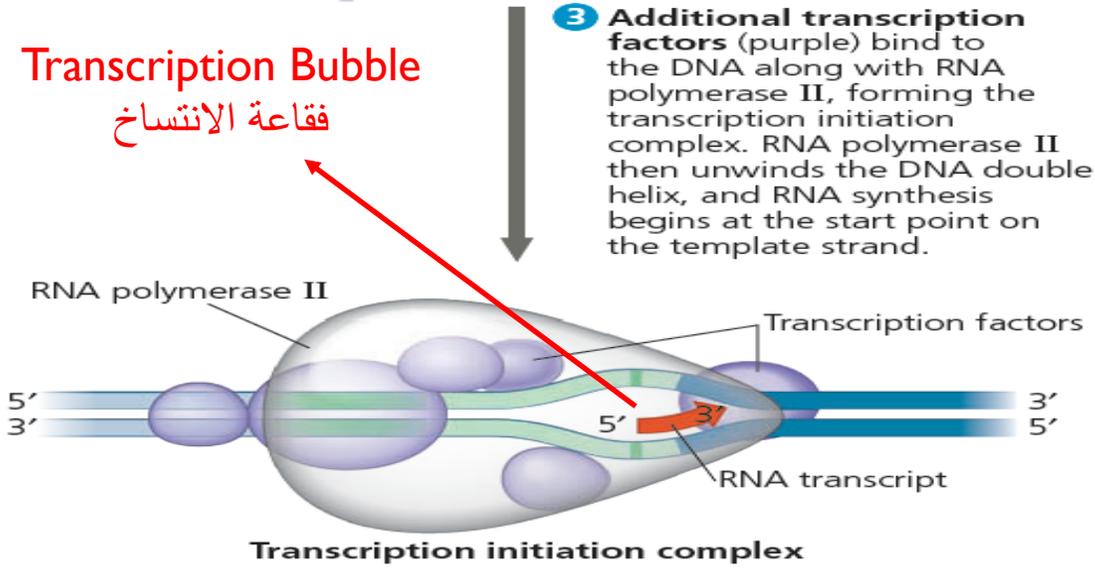
**1 A eukaryotic promoter** commonly includes a TATA box, a nucleotide sequence containing TATA, about 25 nucleotides upstream from the transcriptional start point. (By convention, nucleotide sequences are given as they occur on the *nontemplate* strand.)



**2 Several transcription factors**, one recognizing the TATA box, must bind to the DNA before RNA polymerase II can bind in the correct position and orientation.



**3 Additional transcription factors** (purple) bind to the DNA along with RNA polymerase II, forming the transcription initiation complex. RNA polymerase II then unwinds the DNA double helix, and RNA synthesis begins at the start point on the template strand.



Transcription Bubble  
فقااعة الانتسااخ

حقيقيات النوى	طلائعيات النوى
المحسسات في حقيقيات النوى أكثر تعقيداً	المحسسات بسيطة
خمسة أنواع من بوليميراز RNA (خمسة أنماط) (كل منها مسؤول عن اصطناع صنف محدد من الـ RNA)	بوليميراز RNA وحيد (نمط واحد)
عوامل انتساخ Transcription factors	عوامل انتساخ Transcription factors
الـ mRNA البدئي يخضع عمليات نضج في النواة ليتحول إلى mRNA ناضج وينتقل إلى السيتوبلازما (هيولى الخلية) ليتم ترجمته إلى متعدد ببتيد	الـ mRNA قابلاً للترجمة مباشرة على الريباسات (الرايبوزومات)

عمليات نضج الـ mRNA البدئي في حقيقيات النوى:

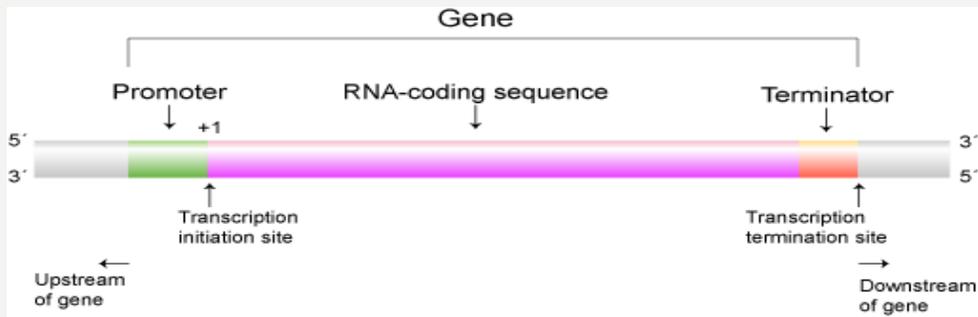
- إضافة قلنسوة 7 ميثيل غوانوزين إلى النهاية 5' للـ mRNA البدئي عن طريق رابطة فوسفاتية 5'-5'.
- إضافة ذيل عديد الأدينين Poly (A) tail (20-200 نوكليويتيد) إلى النهاية 3' للـ mRNA البدئي التي تتولد عبر الشطر.
- **وظيفتهما الحماية وتسهيل نقل الـ RNA إلى الستوبلازما (يوجد أيضاً بروتينات رابطة للـ mRNA في النواة تحميه من التدرك بأنزيمات الريبونوكلياز المحلّمة للـ RNA**
- **تضفير أو تعديل Splicing تتاليات الإنترونات وإزالتها خارج الـ mRNA البدئي.**

في حقيقيات النوى يسمى مجموع الـ mRNA البدئي في النواة بالـ RNA النووي غير المتجانس Heterogeneous Nuclear RNA أو hnRNA بسبب التباين الكبير في أطوال جزيئات الـ RNA الموجودة العائد لاحتوائها على إنترونات متباينة الطول.

يبلغ متوسط عمر الـ RNA في حقيقيات النوى تقريباً 5 ساعات؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟  
(جزئياً لارتباط البروتينات)

يبلغ متوسط عمر الـ RNA في بدائيات النوى 5 دقائق فقط!!!!!!!!!!!!!!

## الانتساخ في بدائيات النوى Transcription in Prokaryotes



1. البدء باصطناع سلسلة الـ RNA

2. إطالة السلسلة

3. إنهاء الانتساخ و تحرير جزيء الـ RNA الناشئ.

اصطلاح:

**Upstream** صعوداً : المناطق التي تقع باتجاه النهاية 5' نسبة لموقع معين في جزيء الـ RNA أو الـ DNA

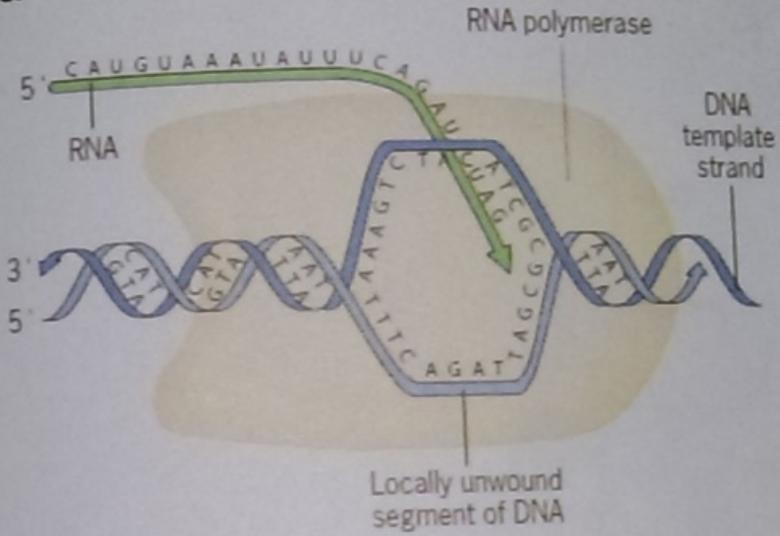
**Downstream** نزلاً: المناطق التي تقع باتجاه النهاية 3' نسبة لموقع معين في جزيء الـ RNA أو الـ DNA

جزيء بوليميراز الـ RNA: بروتين معقد متعدد الأجزاء Multimeric، وزنه عند E.coli تقريباً 480,000 دالتون يتألف من خمس وحدات Subunits هي  $\alpha 2\beta\beta' \sigma$  (اثنان متطابقتان) والتي تشكل مجمل الإنزيم Holoenzyme.

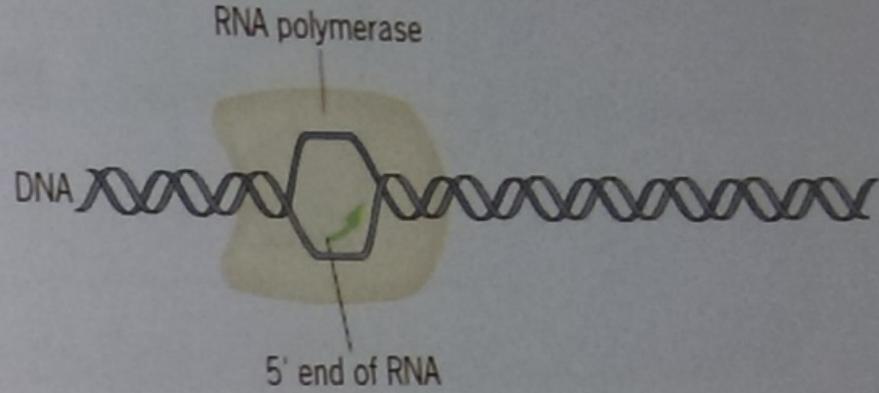
الوحيدة $\sigma$	الوحيدة $\beta$	الوحدتان ألفا
تمتلك المنطقة الرابطة للـ DNA المرصاف. تنخرط فقط في بدء الانتساخ ولا تؤدي أي دور في طور الإطالة حيث أنها تتحرر مباشرة بعد بدء الانتساخ وتتوسط الوحدات $\alpha 2\beta\beta'$ إطالة السلسلة. لذلك تكون مهمة الوحيدة $\sigma$ التعرف على المحضض وتوجيه بقية إنزيم بوليميراز الـ RNA للارتباط به.	تحتوي على موقع الارتباط بالنكويوزيد الريبسي ثلاثي الفوسفات	تساعدان في تشكيل المعقد الرباعي $\alpha 2\beta\beta'$

# مراحل الانتساخ في بدائيات النوى Transcription in Prokaryotes

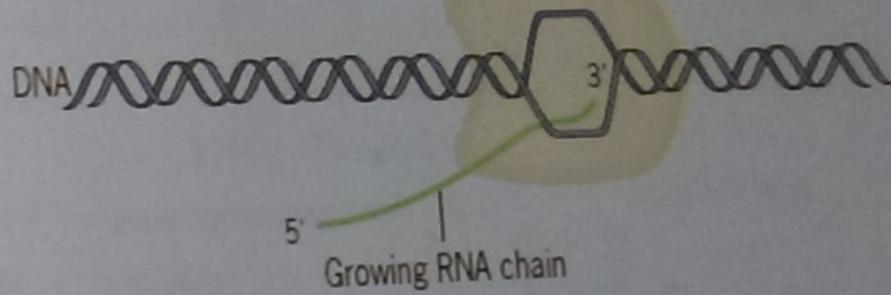
**a**



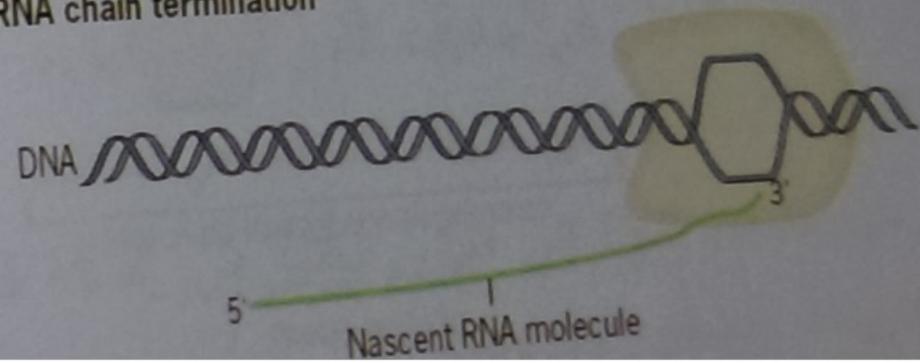
**b** <sup>STEP</sup> 1 RNA chain initiation



<sup>STEP</sup> 2 RNA chain elongation



<sup>STEP</sup> 3 RNA chain termination



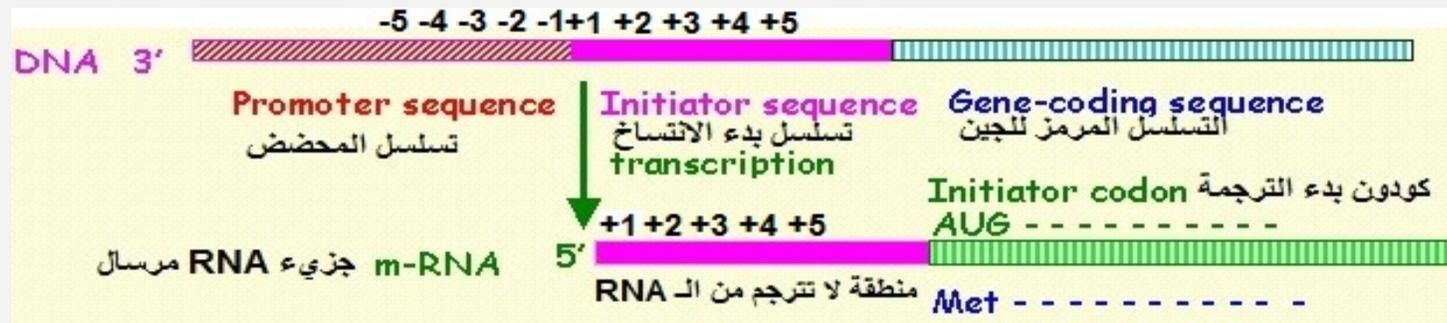
## • طور البدء في بدائيات النوى Initiation Phase in Prokaryotes

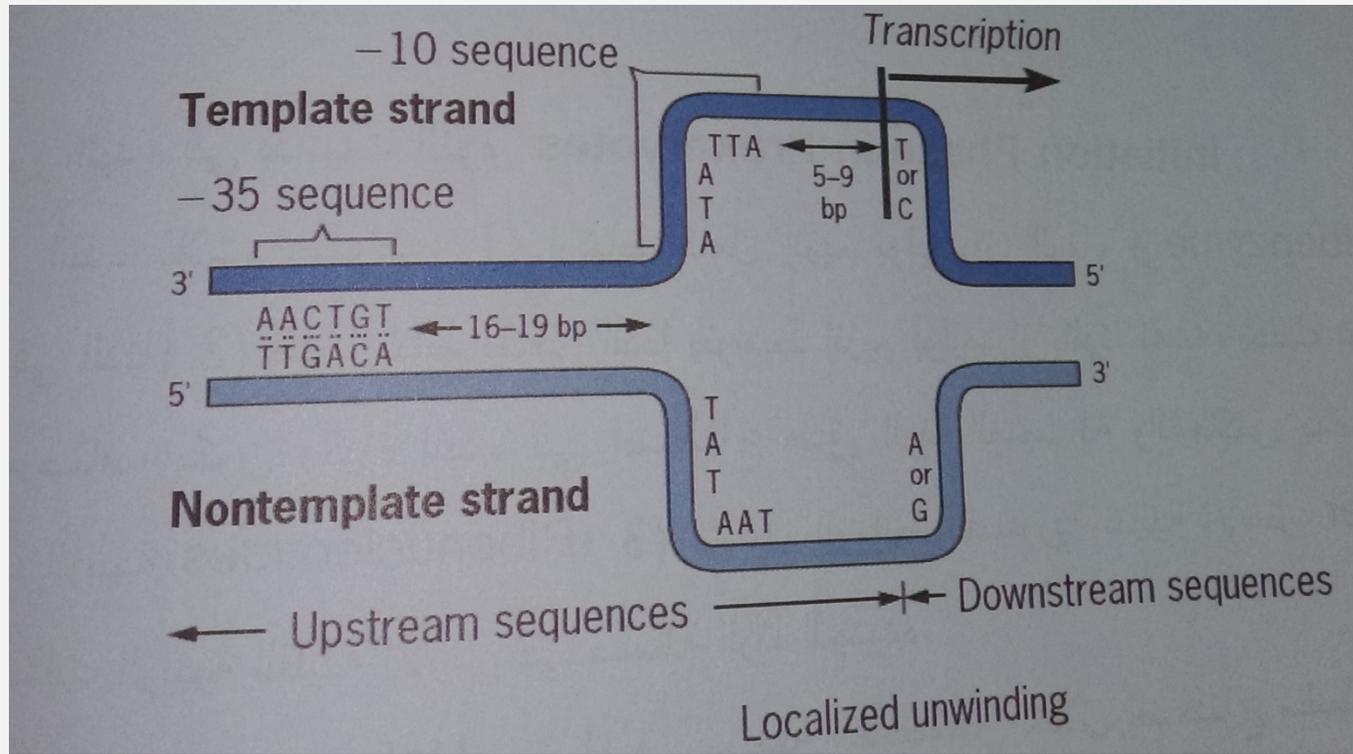
1. ارتباط كامل إنزيم بوليميراز الـ RNA (Holoenzyme) إلى منطقة المحضض في الـ DNA
  2. فك ارتباط طاقى الـ DNA بتوسط إنزيم بوليميراز الـ RNA نفسه
- حيث يولد ذلك طاقاً حراً من الـ DNA المرصاف يكون ركيزة للبدء في اصطناع طاق الـ RNA المتم له والمعاكس بالقطبية عبر رصف النوكليوتيدات الريبية Ribonucleotides
3. تشكيل الروابط الفسفورية ثنائية الإستر Phosphodiester بين النوكليوتيدات الريبية القليلة الأولى في سلسلة الـ RNA الجديدة.
- يبقى مجمل الإنزيم Holoenzyme مرتبطاً في منطقة المحضض خلال اصطناع سلسلة مؤلفة من 8 إلى 9 نوكليوتيدات RNA، وبعدها يتحرر العامل  $\sigma$  و يشرع الإنزيم  $\alpha 2\beta\beta'$  بطور الإطالة.

### اصطلاح:

أول نوكليوتيد في النهاية 5' لسلسلة الـ RNA الناتج عن الانتساخ يُرقم +1 ويستمر الترقيم إيجابياً من 5' إلى 3'، أما النوكليوتيدات السابقة لموقع البدء (قبل أول نكليوتيد) من الجهة 5' فترقم بإشارة سلبية (-).

يُشار إلى تتاليات النوكليوتيدات السابقة لموقع البدء بالتتاليات صُعداً Upstream وتلك التي تلي موقع البدء بالتتاليات نزلاً Downstream.





هناك منطقتين متماثلتين (-10 و -35 نسبة لموقع البدء) في جميع المحضضات في صبغي E.coli وهما كافيتان لتعرف وارتباط الوحيدة  $\sigma$  والشروع بالانتساخ. تتشارك كل منطقة منهما مع مثيلاتها في المحضضات الأخرى ببعض النوكليوتيدات المصانة.

التتالي المصان في المنطقة -10 من الطاق غير المرصاف Non-template strand هو TATAAT، والتتالي المصان في المنطقة -35 هو TTGACA. تتعرف الوحيدة  $\sigma$  أولاً وترتبط على التتالي -35، بينما يسهل التتالي -10 الغني بالأدينين والثايمين عملية فك ارتباط طاقى DNA ؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟

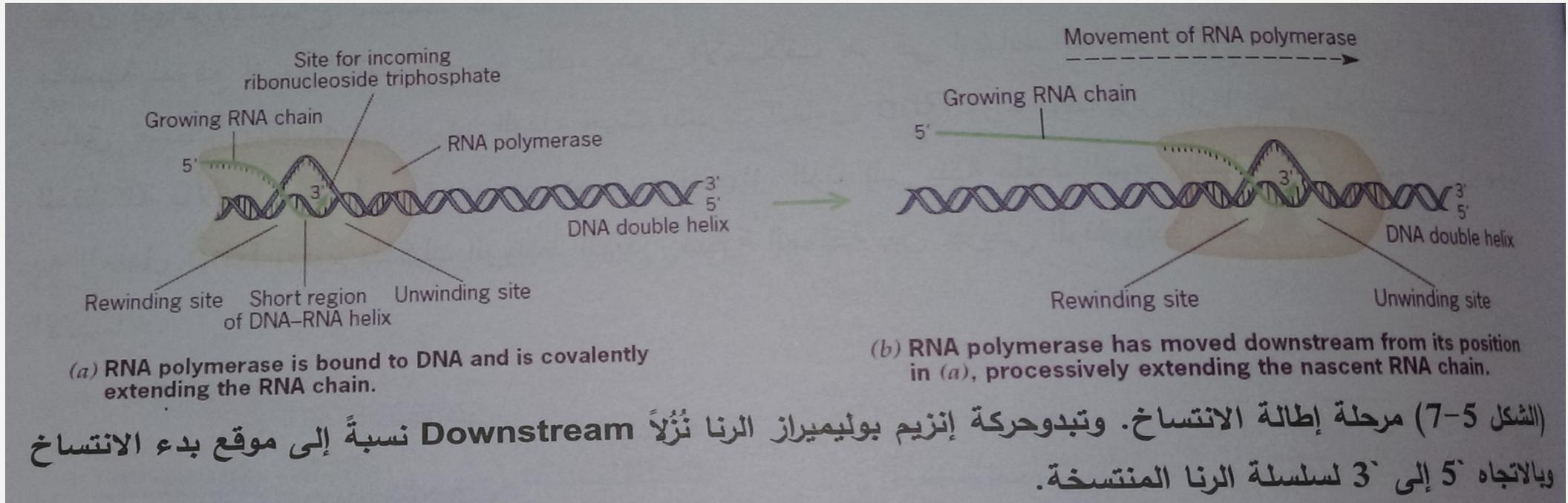
## • طور الإطالة في بدائيات النوى Elongation Phase in Prokaryotes

1. يمتلك إنزيم بوليميراز الـ RNA فعالية فك Unwinding وإعادة ربط Rewinding طاقي الـ DNA.

وبذلك وبشكل مستمر يقوم إنزيم بوليميراز الـ RNA بفك طاقي الـ DNA أمام موقع الانتساخ وإعادة ربطهما خلفه خلال مسيره على جزيء الـ DNA.

2. متوسط طول فقاعة الانتساخ في E.coli حوالي 18 زوجاً نكليوتيداً، حيث تتم إضافة نحو 40 نوكلوتيداً ريبياً في كل ثانية إلى سلسلة الـ RNA المتشكلة المتزايدة في الطول.

3. لا ترتبط سلسلة الـ RNA المتشكلة بالـ DNA المرصاف لوقت طويل بل تنفك عنه وتبرز خارج فقاعة الإنتساخ ؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟ لا تبقى سوى بضع نوكلوتيدات من الـ RNA مرتبطة بشكل مؤقت مع النوكلوتيدات المتممة لها في طاق الـ DNA المرصاف في أي مرحلة من عملية الإطالة.

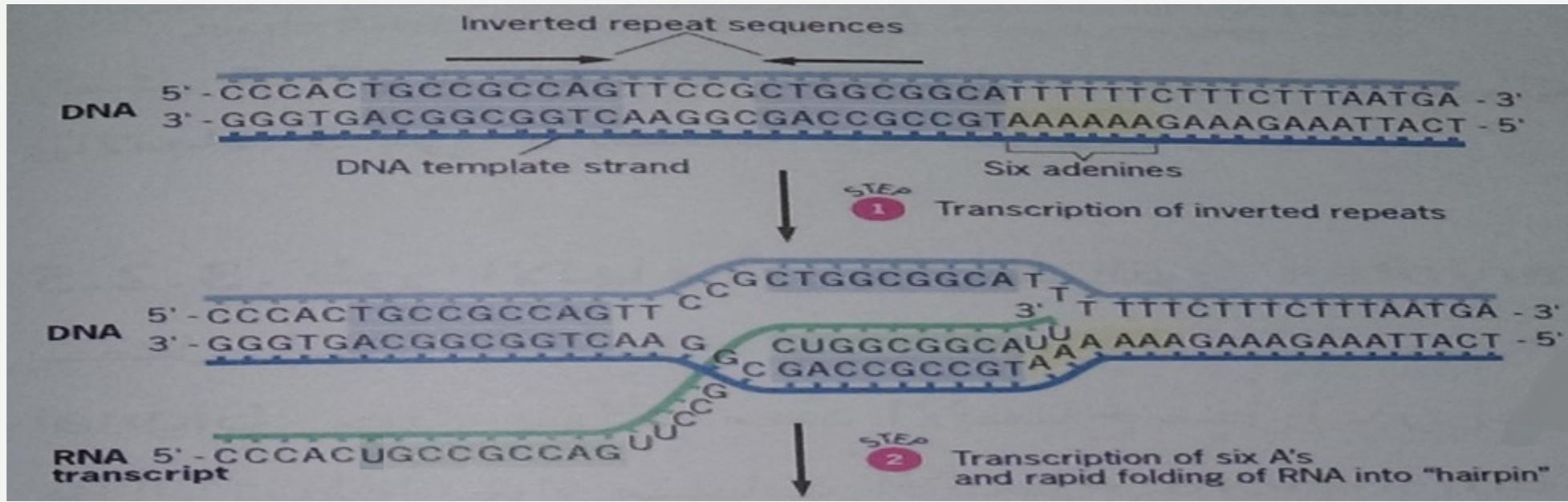


## • طور الإنهاء في بدائيات النوى Termination Phase in Prokaryotes

1. يحصل إنهاء الانتساخ حين تصل سلسلة الـ RNA المتشكلة إلى إشارة الإنهاء Termination Signal.
2. عندها ينفك معقد الانتساخ محرراً جزيء الـ RNA.
3. يوجد نمطان منهيات الانتساخ في جراثيم E.coli:
  - A. عامل انتهاء معتمد على العامل البروتيني Rho ( $\rho$ ) ويسمى Rho-dependent Termination
  - B. عامل انتهاء غير معتمد على العامل Rho و مستقل عنه Rho-independent Termination

### آلية الانتهاء المستقلة عن العامل Rho

- تحتوي هذه المنهيات على منطقة غنية بالـ GC تتبعها ستة نوكليويتيدات أو أكثر من الأدينين والثايمين (حيث يكون الأدينين في الطاق المرصاف).
- يتألف التسلسل الغني بـ GC من تتاليات مقلوبة.



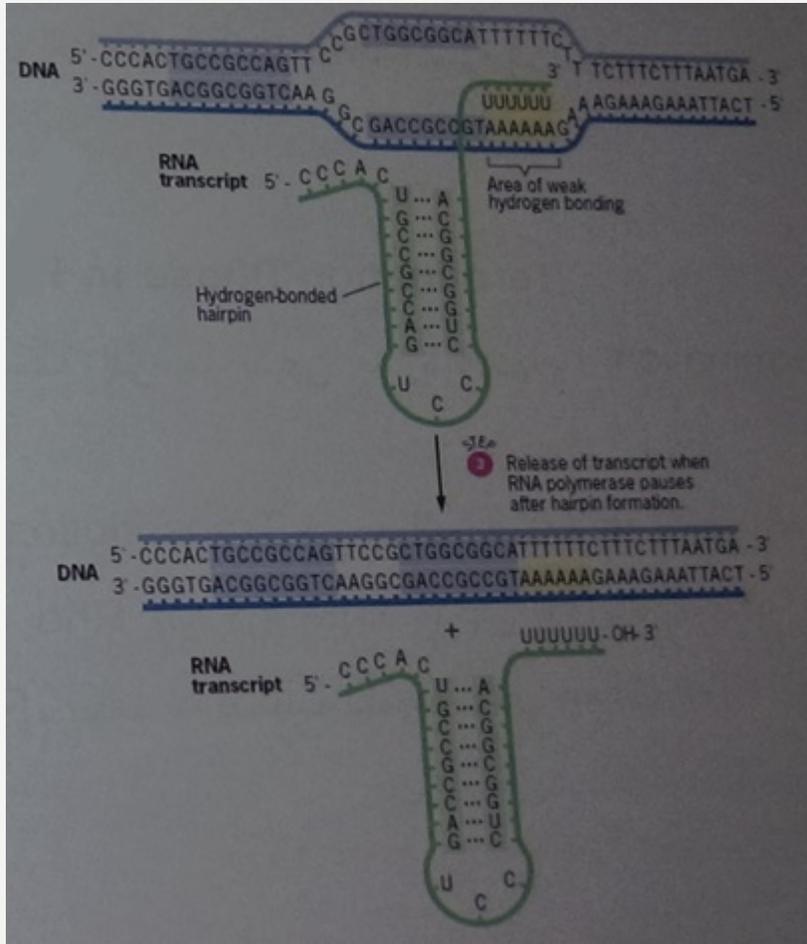
## • طور الإنهاء في بدائيات النوى Termination Phase in Prokaryotes

### آلية الانتهاء المستقلة عن العامل Rho

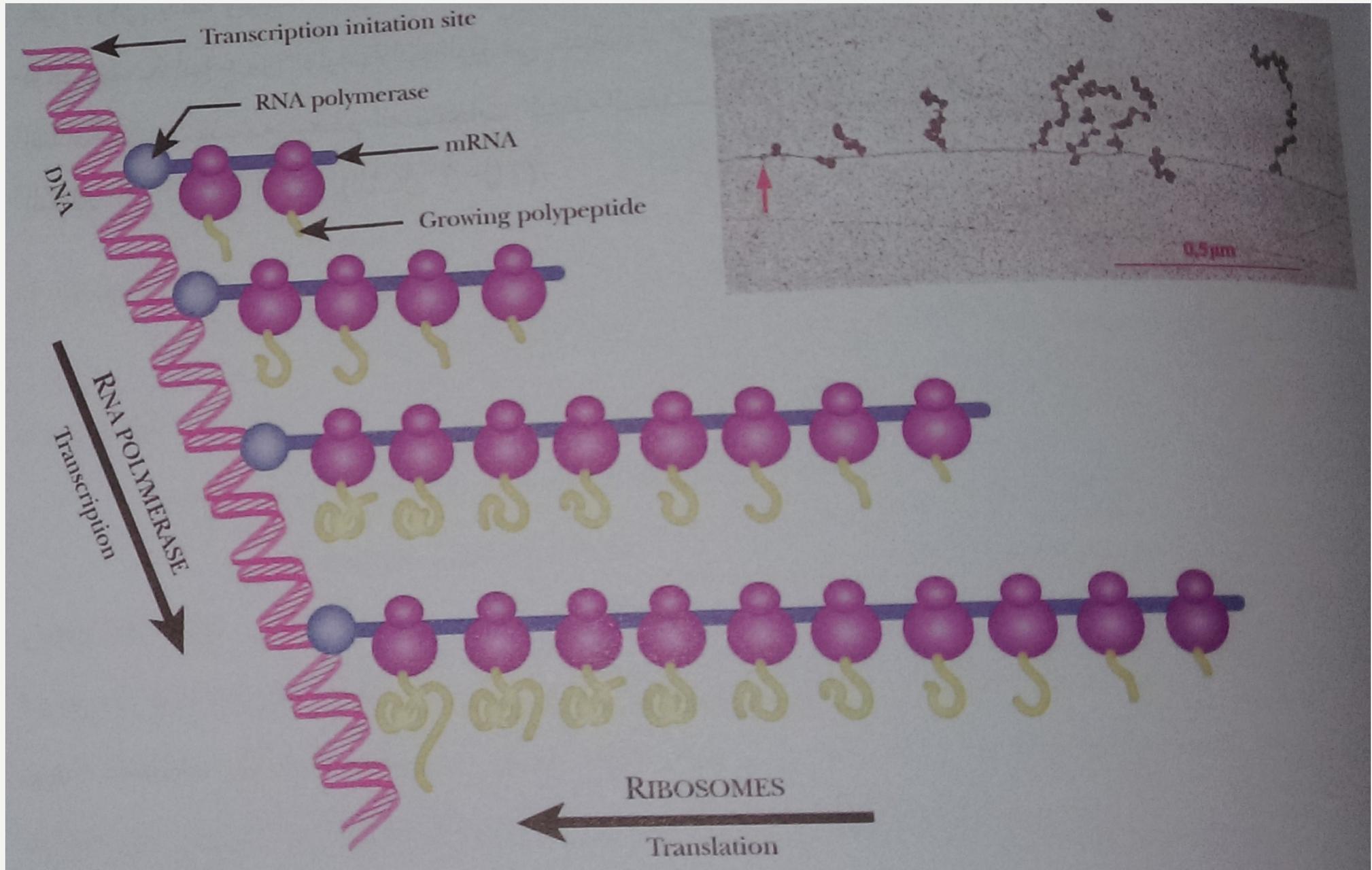
• عند انتساخ تتاليات الـ DNA المقلوبة ينتج عنها طاق RNA يحتوي على تتاليات مقلوبة تتشافع فيما بينها داخل الطاق نفسه مشكلة بنية تعرف بملقط الشعر Hairpin structure.

• تؤخر بنية ملقط الشعر حركة جزيء بوليميراز الـ RNA على طول الـ DNA المرصاف مما يؤدي إلى إيقاف الإطالة

• بما أن التتاليات اللاحقة لهذه المنطقة غنية بـ AU وهي فقيرة بالروابط الهيدروجينية فيما الـ RNA و الـ DNA المرصاف فإنها تسهل انفكاك الـ RNA وتحرره عن معقد الانتساخ منهيًا بذلك عملية الانتساخ.



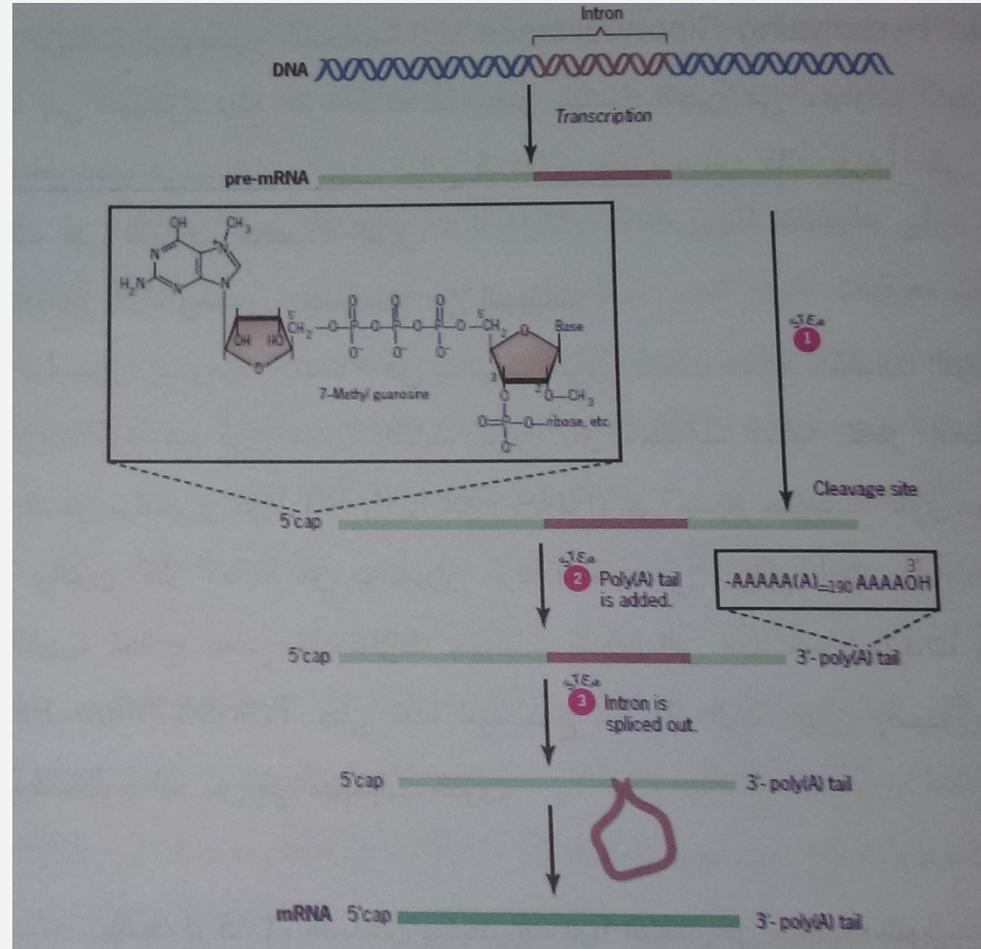
• تزامن الانتساخ والترجمة وتدرک الـ RNA المرسل في بدائيات النوى



## الانتساخ ومعالجة الـ RNA في حقيقيات النوى Transcription in Eukaryotes

- يحصل الانتساخ في النواة والترجمة في السيتوبلازما
- RNA Multigenic: جزيئات RNA مرمزة لجنتين أو أكثر (بدائيات النوى)
- RNA Monogenic: جزيئات RNA مرمزة لجين واحدة فقط (حقيقيات النوى)

التعديلات على جزيء الـ RNA المرسل البدئي في النواة قبل انتقاله إلى السيتوبلازما



## أنواع بوليميراز الـ RNA في حقيقيات النوى

- ❖ ينجز الانتساخ إنزيم بوليميراز RNA وحيد في بدائيات النوى.
- ❖ تمتلك جميع حقيقيات النوى من 3-5 أنواع بوليميراز RNA بعض النظر عن حجم الكائن ورقية (فطر الخميرة-الانسان).
- ❖ توجد 3 إنزيمات بوليميراز RNA رئيسية في جميع حقيقيات النوى (RNA Pol I,II,III).
- ❖ جميعها تمتلك 10 وحيدات أو أكثر وهي أكثر تعقيداً مما هو عند E.coli
- ❖ تحتاج جميع بوليميرازات RNA في حقيقيات النوى إلى بروتينات عوامل الانتساخ حتى تبدأ اصطناع سلاسل RNA

### (الجدول 5-1) خصائص بوليميرازات الرنا الخمس في حقيقيات النوى

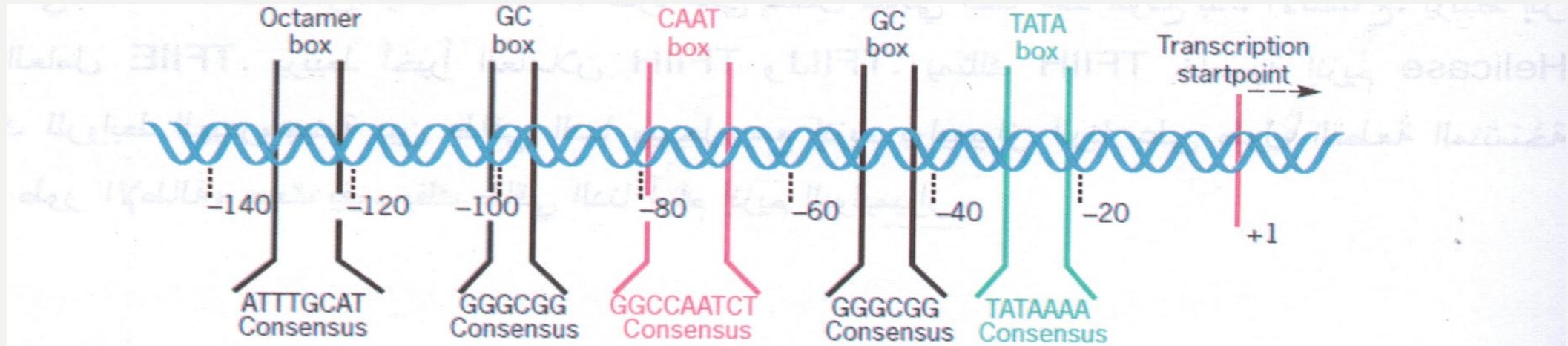
Enzyme	Location	Products
RNA polymerase I	Nucleolus	Ribosomal RNAs, excluding 5S rRNA
RNA polymerase II	Nucleus	Nuclear pre-mRNAs
RNA polymerase III	Nucleus	tRNAs, 5S rRNA, and other small nuclear RNAs
RNA polymerase IV	Nucleus (plant)	Small interfering RNAs (siRNAs)
RNA polymerase V	Nucleus (plant)	Some siRNAs plus noncoding (antisense) transcripts of siRNA target genes.

## • طور البدء في حقيقيات النوى Initiation Phase in Eukaryotes

1. بدء الانتساخ يتطلب فصل طاقى الـ DNA وهذا يتم بتأثر ما بين عدة عوامل انتساخ وتتالياتها النوعية في المحضض.
2. تتألف المحضضات التي يستخدمها إنزيم Pol II من عناصر قصيرة مصانة متوضعة صُعداً نسبة لنقطة بداية الانتساخ.
3. يتطلب إنزيم الانتساخ Pol II مساعدة من عدة عوامل انتساخ أساسية Basic TFs (وتوجد عوامل انتساخ أخرى).
4. هناك المعززات Enhancers و المُسكتات Silencers تقوم بتعديل فعالية بدء الانتساخ.

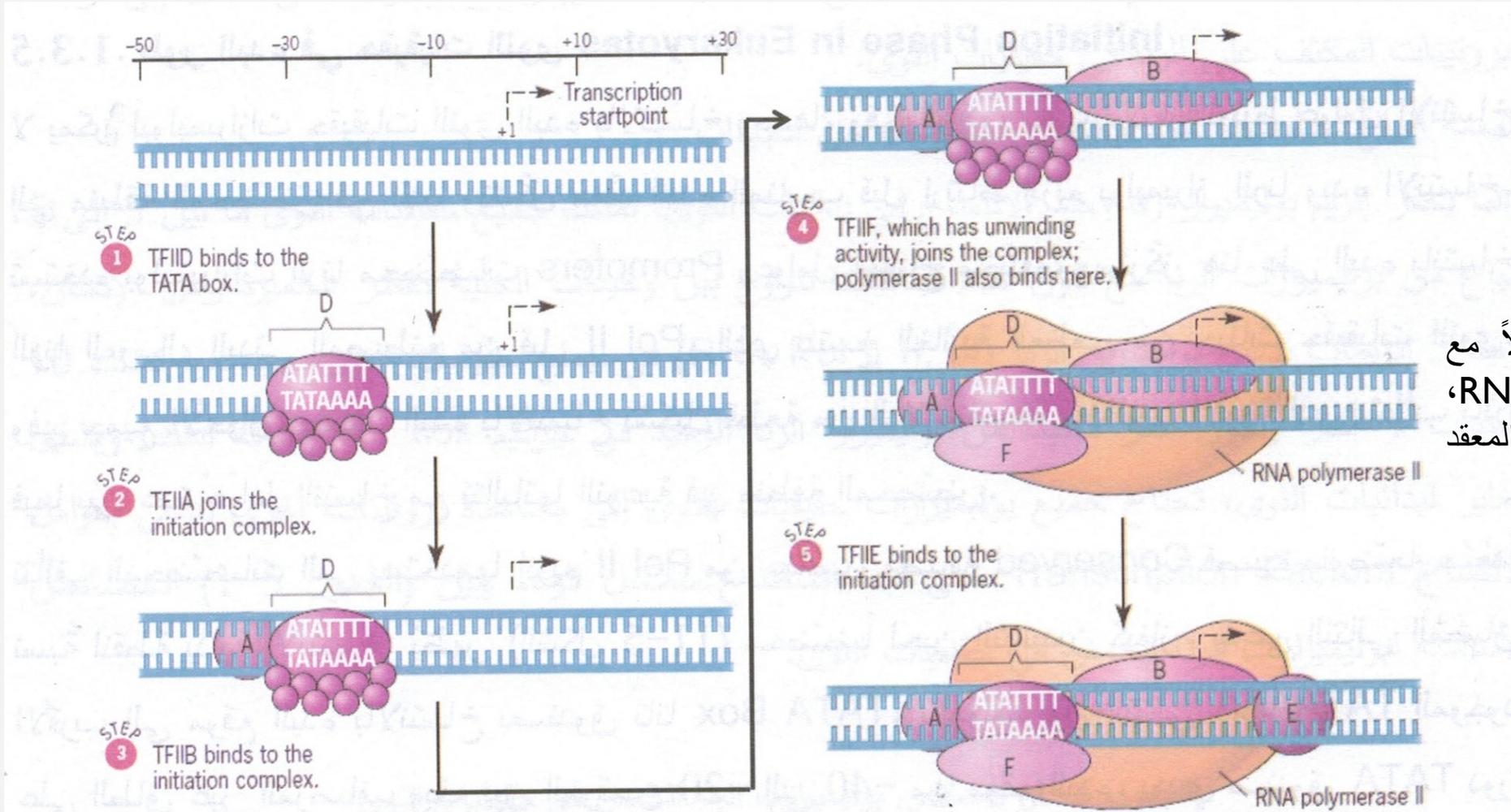
تؤثر في فعالية المحضض في بدء الانتساخ

يلعب دور في  
تحديد موقع  
بدء الانتساخ



(الشكل 5-11) التتاليات المُصانة في محضّضات حقيقيات النوى مع مواقعها صُعداً نسبةً لموقع بدء الانتساخ +1.

5. تعتمد فعالية الانتساخ على تأثر عوامل الانتساخ الأساسية مع المحضضات وفق ترتيب محدد، تسمى هذه العوامل TFII(X)، حيث X هي نوع العامل.



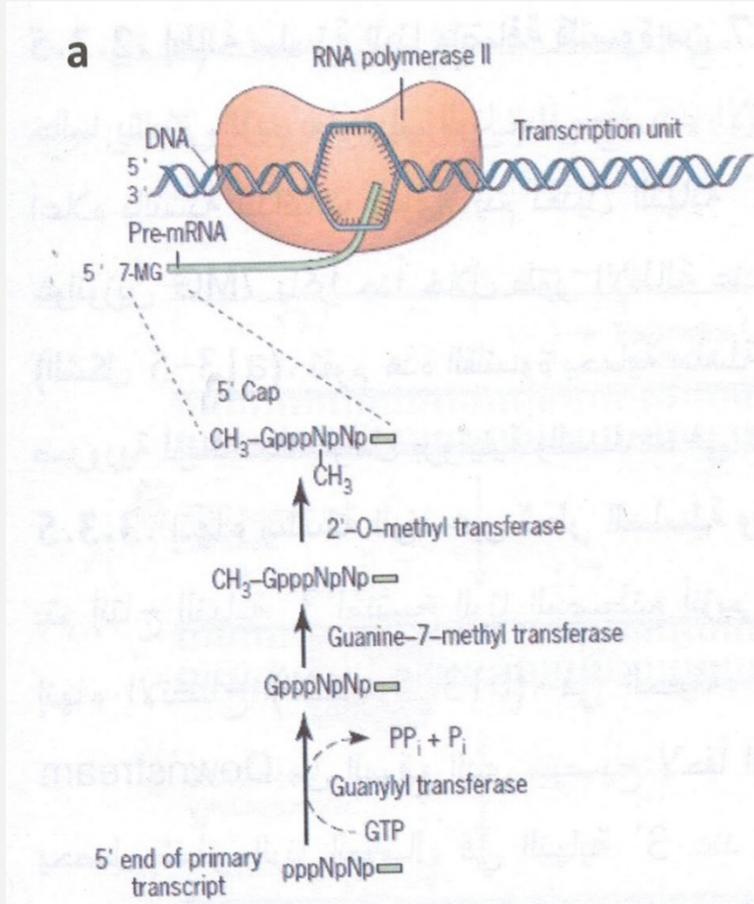
يرتبط العامل TFIIIF أولاً مع أنزيم بوليميراز الـ RNA، ومن ثم يرتبطان مع كامل المعقد المرتبط مسبقاً بالمحضض

يرتبط بعد هذه المرحلة العامل TFIIIE و العامل TFIIIF. يمتلك TFIIIE خاصية Helicase وهو يرحل مع إنزيم البوليميراز

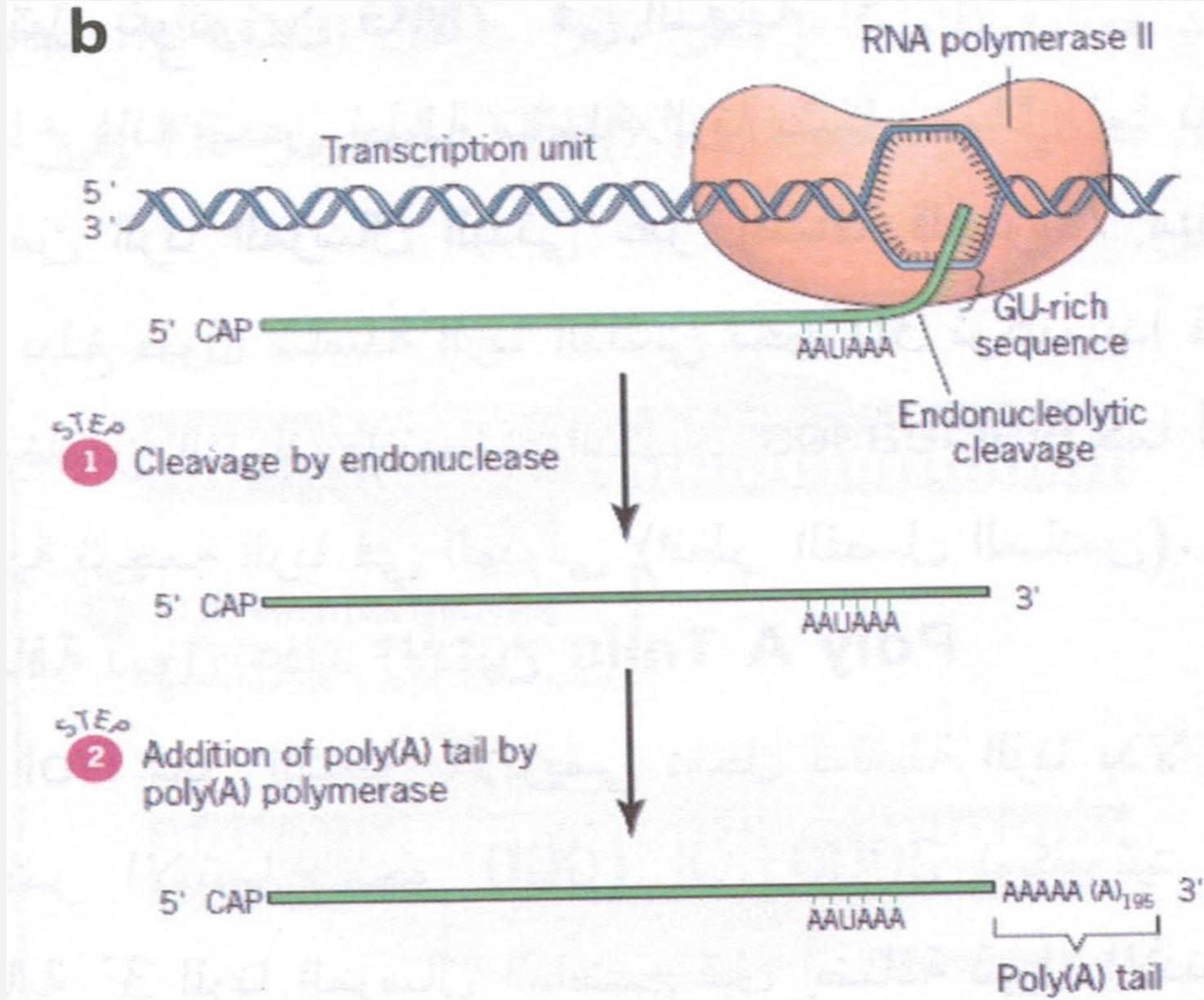
(الشكل 5-12) مراحل تشكيل معقد بدء الانتساخ في حقيقيات النوى. (1) يرتبط TFIID إلى صندوق TATA، (2) يلي ذلك ارتباط TFIIA ومن ثم (3) TFIIIB و(4) TFIIIF وأخيراً (5) TFIIIE.

• إطالة سلسلة الـ RNA وإضافة قلنسوة 7 ميثيل غوانوزين في النهاية 5`

1. حالما يتحرر إنزيم بوليميراز الـ RNA من معقد بدء الانتساخ فإنه يحفز إطالة سلسلة الـ RNA.
2. يتم إضافة قلنسوة 7 ميثيل غوانوزين باكراً جداً خلال طور الإطالة إلى النهاية 5` من الـ RNA المرسل البدئي (غالباً عندما يبلغ طول سلسلة الـ RNA الناشئ نحو 30 نكليوتيداً فقط).
3. تقوم هذه القلنسوة بحماية سلسلة الـ RNA من التدرّك بإنزيمات النكلياز كما أنها ضرورية لربط عدة عوامل بروتينية والمساعدة في عملية ترجمة الـ RNA في الهيولى.



• إنهاء اصطناع الـ RNA عبر شطر السلسلة وإضافة ذيل عديد الأدينيل



يستمر الانتساخ نحو 2000 إلى 3000 نوكلوتيد نزلاً من النهاية 3' للمرسل الناضج قبل إضافة ذيل عديد أدينيل

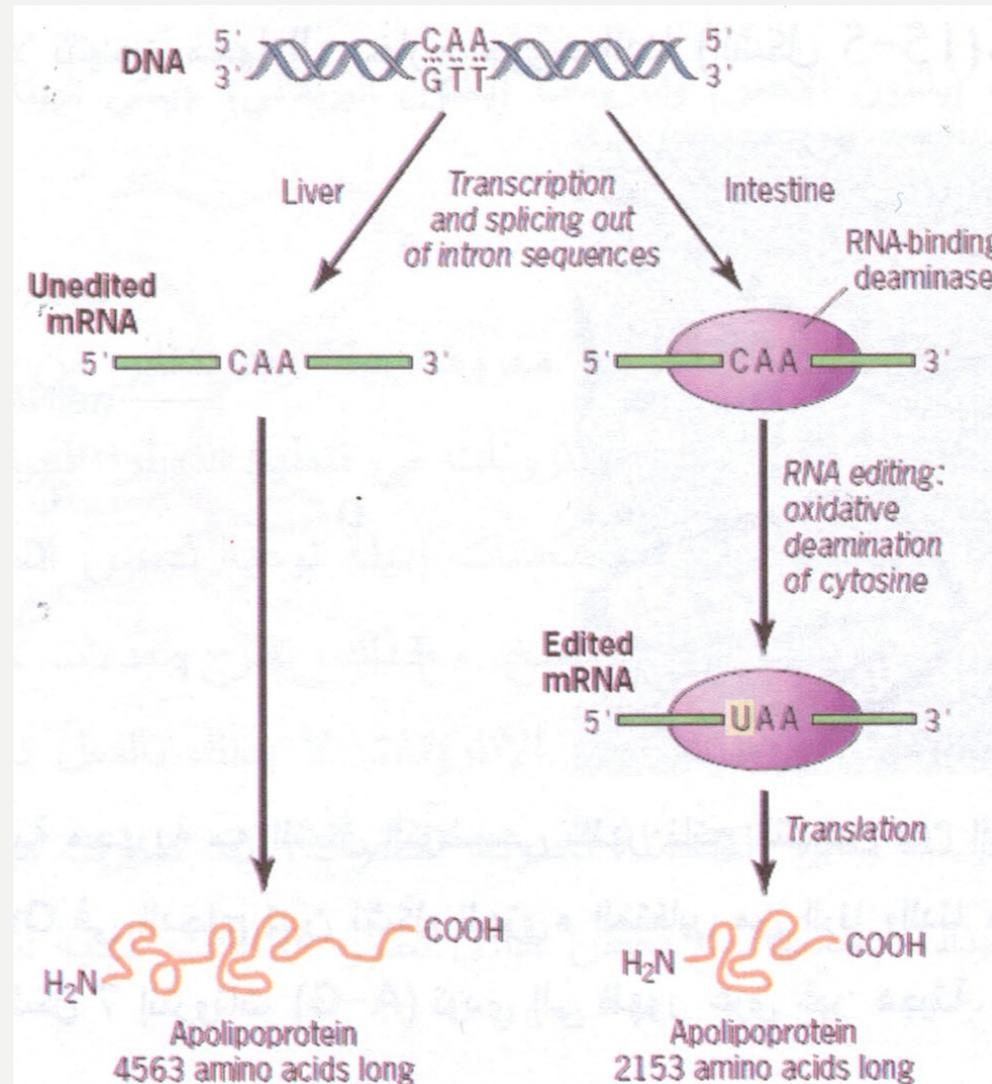
يحصل شطر عند موقع 11 - 30 نوكلوتيد نزلاً من موقع إشارة مصان

يتم إضافة ذيل عديد أدينيل بطول 200 نوكلوتيد إلى 3' للمرسل المشطور وظيفه الذيل تعزيز ثباتية جزيء الـ RNA المرسل والمساهمة في نقله من النواة إلى السيتوبلازما

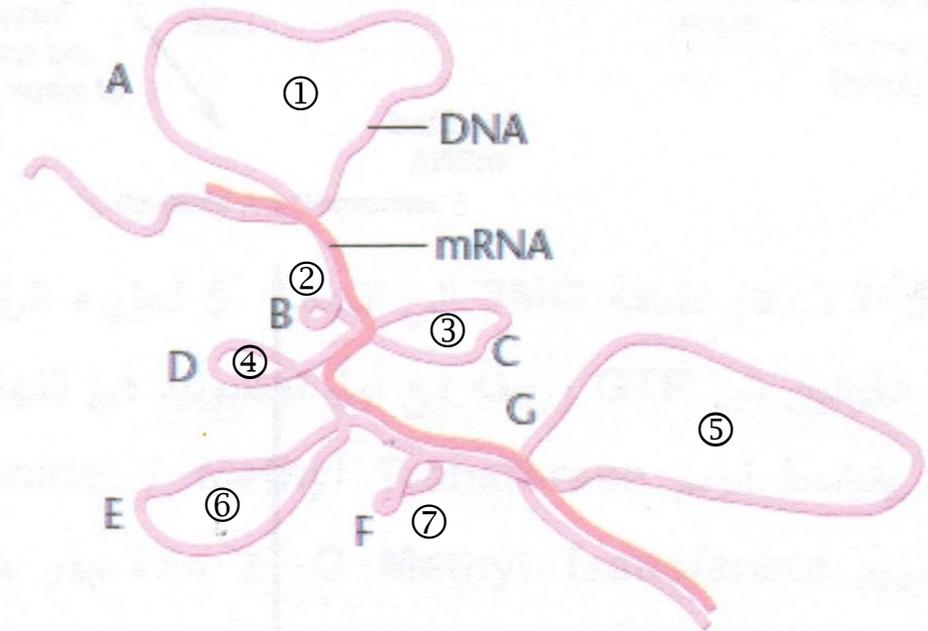
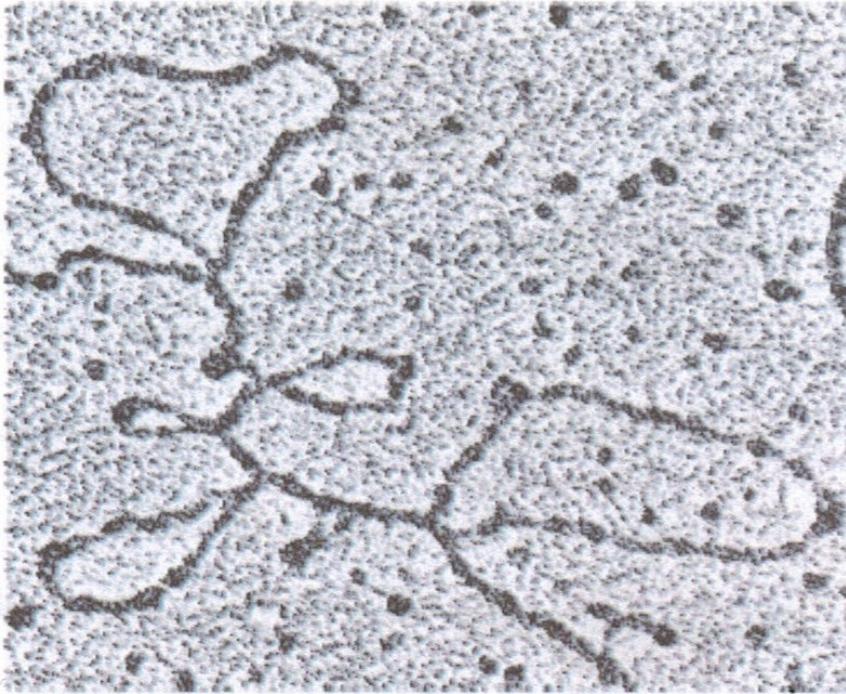
• تحرير الـ RNA (RNA editing): تغيير محتوى المعلومات في جزيئات الـ RNA المرسل

1. عبر تغيير بنى الأسس الأزوتية

2. عبر إضافة أو حذف نوكليوزيد اليوراسيل

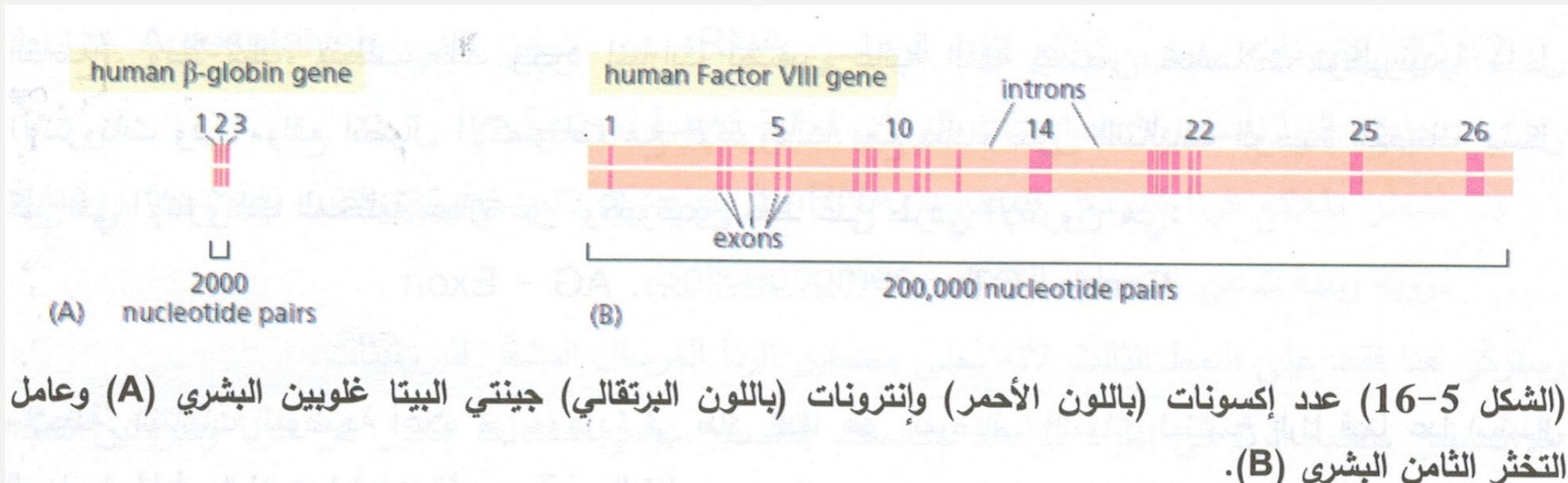


• الجينات المتقطعة في حقيقيات النوى: Exons & Introns



(الشكل 5-15) صورة إلكترونية مجهرية مع الشكل التوضيحي تُظهر ناتج التهجين بين الرنا المرسال وجين الأوفالبوبومين المرمزين لبروتين Ovalbumin في الدجاج تبين تشكّل الجزيء المتغاير من الرنا والدنا مع خروج تسلسلات الإنترونات خارج سلسلة الدنا. وتبدو في الشكل 7 إنترونات (A-G) تؤدي إلى ظهور عُرى غير هجينة.

• الجينات المتقطعة في حقيقيات النوى: Exons & Introns



(الشكل 5-16) عدد إكسونات (باللون الأحمر) وإنترونات (باللون البرتقالي) جيني البيتا غلوبين البشري (A) وعامل التخثر الثامن البشري (B).

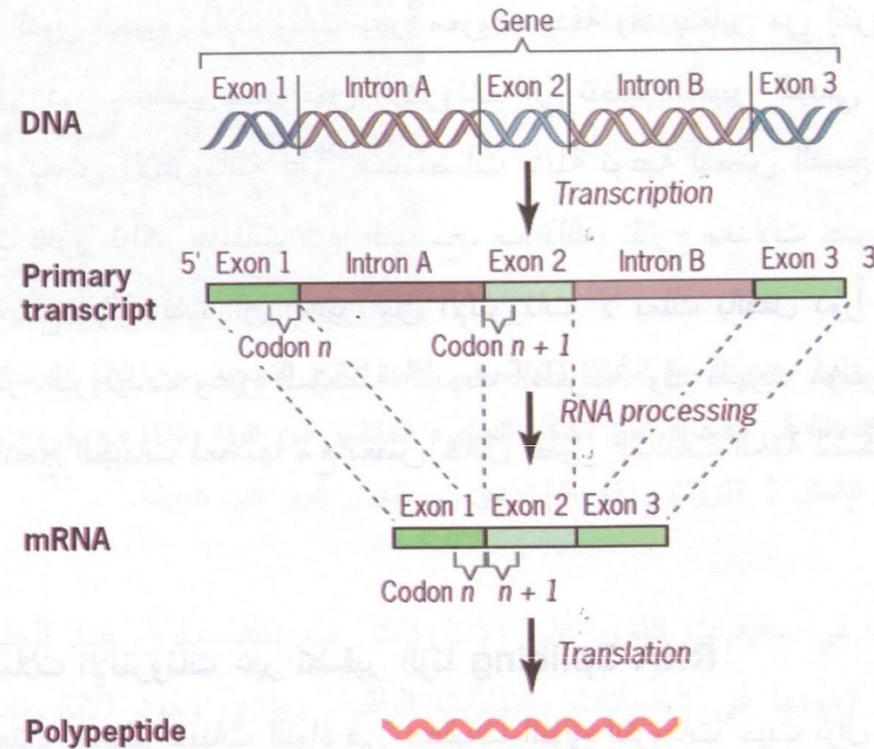
أدوار الإنترونات

- تلعب دور في تنظيم التعبير الجيني للجينات التي تحويها
- تحتوي على محضضات بديلة نوعية لبعض النسخ
- تحتوي على تسلسلات تعزز تراكم جزيئات الـ RNA المنتسخ
- معدل حدوث الطفرات أعلى في الأنترونات بالمقارنة مع الإكسونات
- هناك فرضيات تفسر وجود الأنترونات كنتيجة لدمج الجينات بعضها مع بعض خلال تطور الكائنات الحية

• تضفير الـ RNA (إزالة تسلسلات الإنترونات)

Exon – GT ..... AG – Exon

ملاحظة: التتاليات الموضحة أعلاه هي موجودة في طاق الدنا غير المرصاف (المماثل لمنتسخ الرنا فيما عدا استبدال اليوراسيل U في الرنا عوضاً عن الثيمين T في الدنا).



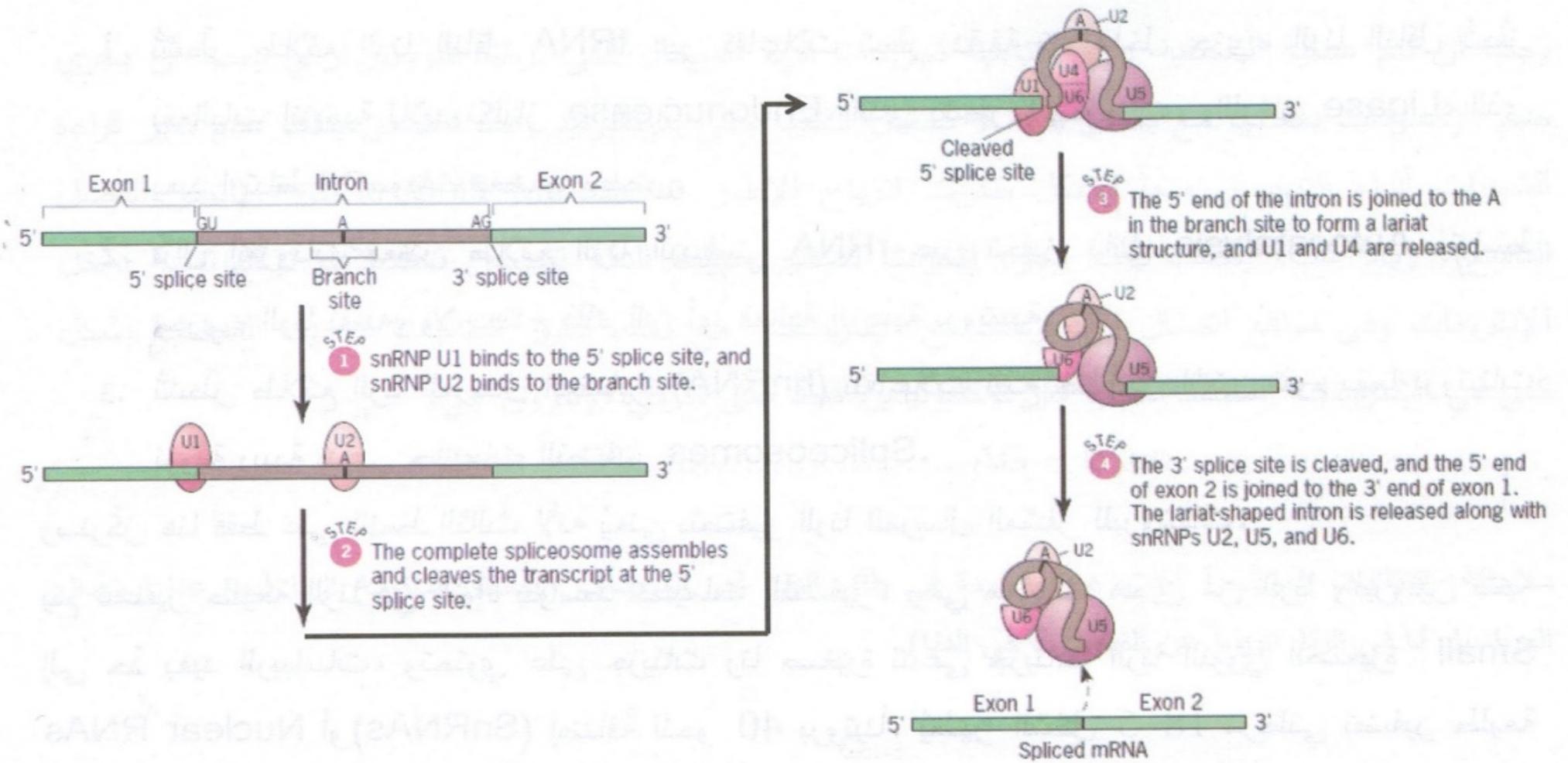
(الشكل 5-17) تضفير الرنا، أي إزالة الإنترونات وإعادة ربط الإكسونات. ويلاحظ ترقيم النوكليوتيد الأخير من الإكسون الأول الذي يليه مباشرة النوكليوتيد الأول من الإكسون الثاني بعد التضفير، بحيث تحافظ عملية التضفير على جميع التتاليات النوكليوتيدية في الإكسونات وتزيل جميع تتاليات الإنترونات.

• تَضْفِير الـ RNA (إزالة تسلسلات الإنترونات)

- (1) تُشَطَّر طلائع الـ RNA الناقل عبر تفاعلات شطر بوساطة Endonuclease و الربط بوساطة الليغاز.
- (2) تُزال إنترونات بعض طلائع الـ rRNA عبر تحفيز ذاتي (متواسط بالجزء نفسه) ولا يحتاج إلى أي فعالية إنزيمية بروتينية.
- (3) تُشَطَّر طلائع الـ hnRNA بتفاعلات تتبع خطوتين اثنتين تقوم بهما بروتينات نووية ريبية تدعى جسيمات التضفير Spliceosomes (معدات هجينة من الـ RNA والبروتين).

جسيمات التضفير Spliceosomes

- تحتوي على جزيئات RNA نووي صغيرة تسمى SnRNAs و تقريباً 40 بروتين.
- هناك 5 أنواع من SnRNAs تسهم في عملية التضفير هي: U1, U2, U4, U5, U6 و تعمل كأجزاء من معدد التضفير.
- يوجد **U3 في النوية ويكون مسؤولاً عن تشكيل الريباسات، ولا يتدخل في تضفير الـ RNA المرسل.**
- حجم جزيئات SnRNAs بين 100 نوكلئوتيد في U6 إلى 215 نوكلئوتيد في U3.
- لا توجد جزيئات الـ SnRNA بشكل حر ولكن دائماً بشكل معدات RNA-protein تدعى البروتينات النووية الريبية الصغيرة Small Nuclear Ribonucleoproteins (snRNPs)



(الشكل 5-18) مراحل تفسير الرنا المرسال الأولي. (1) يرتبط البروتين النووي الريبسي U1 إلى النهاية 5` للإنترون (أوموقع الشطر 5`) والبروتين النووي الريبسي U2 إلى موقع داخل الإنترون يدعى بموقع التفرع Branch Site. (2) يتشكل كامل جسيم التفسير Spliceosome ويشطر النهاية 5` للإنترون المشطور مع موقع التفرع داخل الإنترون نفسه مشكّلة بنية تسمى البنية الملتوية Lariat Structure. (4) تُشطر النهاية 3` للإنترون ويتحرر الإنترون مع البروتينات النووية المرتبطة بها، ويعاد ربط الإكسونين بعضهما مع بعض بتوسط إنزيم الليغاز.

شكراً لاستماعكم