

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

مقدمة

مرض الأنثراكس (Anthrax - غحلت) **קישור**، بالعربية الجمرة الخبيثة- يُمكن أن يظهر بثلاثة أشكال مُختلفة: تلوّث وجروح على سطح الجلد، مرض في الأمعاء يؤدي إلى تقيؤ دموي وإسهال، مرض في جهاز التنفس. المرض الذي يُصيب جهاز التنفس هو أكثر هذه الأشكال خطورة حيث بإمكانه أن يتطوّر إلى فشل مُتعدّد الأجهزة (كشل رب معرکتی) يؤدي إلى الموت. اسم المرض أنثراكس يُنسب إلى البكتيريا التي تُسببه Bacillus anthracis. أُشتق اسم البكتيريا من اللغة اليونانية Anthrakis ومعناها "فحم" وهي تصف الإصابة الجلدية السوداء التي تظهر لدى مرضى الجمرة الخبيثة. تتغلغل البكتيريا إلى الجسم من خلال جهاز الهضم، جهاز التنفس أو الجروح المفتوحة وتُحرر سمًا **קישור** إلى تيار الدم. يثُل هذا السمّ جهاز المناعة ويُمكن أن يؤدي إلى الموت. تُعرض في الجدول 1 مُعطيات عن الأعراض المُختلفة للمرض.

مرض الجمرة الخبيثة في الجهاز الهضم	مرض الجمرة الخبيثة في الجلد	مرض الجمرة الخبيثة في الجهاز التنفسي	
نادرة جدًا.	95% من كافة المُصابين بمرض الجمرة الخبيثة.	أقل من 5% من كافة المُصابين بمرض الجمرة الخبيثة.	الإصابة لدى الإنسان
تناول غذاء ملوّث بالأبواغ، لم يتمّ طهوه بشكل جيّد (غالبًا لحم مُصاب).	تغلغل الأبواغ الى الجسم من خلال جرح، إصابة أو خدش في الجلد. انتشرت بين العمّال الذين يُلامسون الحيوانات المُصابة (بيطريّ، مزارع، مُربي الأبقار، الأغنام والخُيول وما شابه) أو بين عمّال صناعة منتجات من الأحياء.	استنشاق كمية كبيرة من الأبواغ ودخولها إلى الرئتين. في الماضي مرض بها الأشخاص الذين عملوا في مُعالجة جلود الأغنام الملوّثة، لذلك لُقبت بـ "مرض فارزي الصوف"	الإصابة بالعدوى
المرحلة I: التهاب موضعيّ في القناة الهضمية، فقدان شهية، غثيان، تقيؤ وارتفاع في الحرارة.	إصابة في الجلد تُشبه لسعة الحشرات يُرافقها تهيج وتورم يتحوّل إلى فقاعة (بثرة)، تنفجر الفقاعة وتحوّل إلى قُرحة تترك بقعة مركزها أسود بسبب الودمة والهدم	المرحلة I: حرارة مُنخفضة، ضعف، سُعال، ضيق تنفس، قشعريرة، أو جاع خفيفة. المرحلة II: حرارة عالية، مشاكل حادة في التنفس، تعرّق زائد وإرهاق، أو جاع شديدة،	الأعراض
المرحلة II: آلام بطن شديدة،			

<p>تقيئ دموي، إسهال دموي (שלשול דמוי)، وذمة (בצקת) في فراغ البطن وتلوث في الدم (רעלת).</p>	<p>الموضعي للأنسجة، يرافقها حرارة وضعف. في حالة عدم معالجة التلوث من الممكن أن ينتشر ويصل إلى الغدد اللمفاوية، إلى جهاز الدم وإلى جهاز الأعصاب.</p>	<p>من الممكن حدوث وذمة (בצקת) في الصدر والرقبة. المرحلة III: التهاب السحايا (דלקת קרום המוח)، توقف جهاز التنفس عن العمل، فشل مُتعدد الأجهزة (כשל רב מערכתי).</p>	
<p>العلاج: مُضادات حيوية، معالجة داعمة (טיפול תומך) لتخفيف الأعراض والمضاعفات. الوقاية: يتم تطعيم الأشخاص المعرضين للخطر (קבוצת סיכון) ضد البكتيريا (بكتيريا مُضعفة).</p>			العلاج والوقاية
<p>50% من الحالات لا يتم علاجها</p>	<p>20% من الحالات لا يتم علاجها</p>	<p>95% من الحالات لا يتم علاجها.</p>	معدل الوفيات

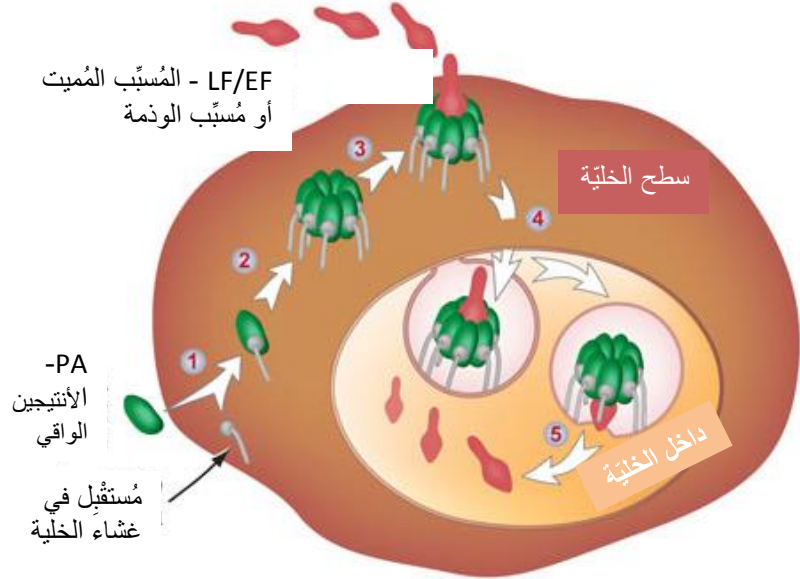
القائمة 1: مقارنة بين الأشكال المختلفة لمرض الجمرة الخبيثة

تستطيع بكتيريا الجمرة الخبيثة كجزء من دورة حياتها أن تُطور أبواغ **كيشور** مقاومة جدًا للظروف المتطرفة، وبإمكان هذه الأبواغ أن تصمد عشرات السنوات. تُعتبر هذه البكتيريا خطيرة جدًا (عنيفة جدًا)، وهناك إمكانية لاستعمالها كسلاح بيولوجي ناجع، وقد تم إجراء عدّة محاولات لاستخدام أبواغ هذه البكتيريا كسلاح بيولوجي (انظر المقال المُرفق **كيشور**).

تم بحث آلية عُنف بكتيريا الجمرة الخبيثة مرات عديدة على مرّ السنين وظهر أنّ خطورتها تكمن بقدرتها على إنتاج ثلاثة بروتينات أساسية مسؤولة عن المرض: 1. **الأنتيجين الواقي** (Anstigen מגן-PA, Protective Antigen)؛ 2. **سُم (توكسين)** يُسمى **المُسبب المُميت** (הגורם הממית - Lethal Factor, LF)؛ 3. **سُم آخر يُسمى مُسبب الوذمة** (גורם הבצקת - Edema Factor, EF). إنّ هاذين النوعين من السُم غير فعالين بشكل ذاتي، ففي البداية يجب على الأننتيجين الواقي أن يرتبط بمُستقبل **كيشور** موجود في غشاء الخلية **كيشور**، بعدها ترتبط 7 وحدات من المُستقبل المرتبط بالأننتيجين الواقي الواحدة بالأخرى لإنتاج مُعقد حلقي (תצמיד טבעתי). ومن ثم يرتبط المُسبب المُميت أو مُسبب الوذمة إلى هذا المُعقد (הצמיד)، وتتغلغل جميع هذه المركبات معًا إلى داخل الخلية، ثمّ ينحرّر السُم إلى السيتوبلازما. أي أنّ الأننتيجين الواقي يُمكن من عمل نوعي السُم. يضرّ الدمج بين الأننتيجين الواقي ومُسبب الوذمة في الأساس بخلايا الدم ويُسبب وذمة (בצקת)، أي تراكم فائض من السوائل في الأنسجة. بالمقابل فإنّ الدمج بين الأننتيجين الواقي والمُسبب المُميت يضرّ بجميع أنواع الخلايا وخاصة بالماكر وفاجات **كيشور**. تؤدي هذه البروتينات إلى توقف عمل (شل) أجهزة مُعيّنة في الخلايا مما يؤدي إلى موتها. تُعرض آلية عمل البروتينات المذكورة في الرسم 1.

للمعلم:

للتوسع- بعد أن يرتبط الأنتيجين الواقي بالمُستقبل الموجود في غشاء الخلية، يمرُّ بعملية قطع (معالجة) بواسطة بروتياز (من نوع Furin)، بعد حدوث هذه العملية بإمكان الوحدات المكوّنة من مُستقبل- أنتيجين وافي التي قُطعت أن ترتبط الواحدة بالأخرى. ترتبط 7 وحدات كهذه، تُنتج مُعقد حلقيّ (תצמיד טבעתי)، يربط السُم (EF أو LF) بهذا المُعقد ويتغلغل إلى الخلية بعملية الإدخال الخلويّ (Endocytosis). بيئة حامضية كتلك الموجودة في الدُخُول (الجسيم الداخلي- אנדוזوم- endosome) تؤدي إلى تغيير مبنى المُعقد وتحرير السُم (من الأنتيجين الواقي الذي يرتبط به) إلى السيتوبلازما.



- 1 ارتباط الأنتيجين الواقي بالمُستقبل الموجود في غشاء الخلية.
- 2 ارتباط عدد من جسيمات الأنتيجين الواقي (PA).
- 3 ارتباط سُم المُسبب الوممة (LF) أو مُسبب الوممة (EF).
- 4 تغلغل المُعقد إلى الخلية
- 5 تحرير السُم إلى السيتوبلازما

الرسم 1: مراحل أساسية في آلية الإصابة بمرض الأنتراKS
بإمكاننا رؤية نموذج ثلاثي الأبعاد للخلية، ترتبط فيه على سطح الخلية (اللون البنّي) البروتينات التي تُسبب المرض بالمُستقبل الخلوي، وعندها يتغلغل المُعقد إلى الخلية (اللون البنّي الفاتح)، ويتحرر السُم إلى السيتوبلازما.

كما دُكر، أحد المراحل الهامة في عملية تطوّر المرض هو ارتباط البروتينات المُختلفة بالمُستقبل الموجود في غشاء الخلية. أحد التوجّهات لتطوير دواء ضدّ بكتيريا الجمرة الخبيثة هو تطوير مُعيق **قيشور** يرتبط بالانتيجين الواقي ويعيق ارتباطه بالسُموم وبالتالي يمنع الإصابة بالمرض. مُعيق كهذا يُسمّى مُعيق تنافسيّ **قيشور** لأنه يُنافس السُموم على الارتباط بالانتيجين الواقي بواسطة نفس موقع الربط. هذا الأمر مُشابه لمُعيق له مبنى الفراغي (مبנה مרחبي) **قيشور** مُشابه لمبنى مادّة الأساس (السبسترات) لإنزيم مُعين لذلك فهو يتنافس معها على الارتباط بالموقع الفعّال للإنزيم. كنتيجة لارتباط المُعيق بالإنزيم، يُمنع أو يُعيق ارتباط مادّة الأساس بالإنزيم، وتتباطأ فعالية الإنزيم. إنّ معرفة وفهم طرق ارتباط الأنتيجين الواقي بالمُسبب الوممة أو مُسبب الوممة هو أمر حيويّ لتصميم مثل هذه المُعوقات.

سنتعلم خلال هذه الفعاليّة عن المراحل المُختلفة التي يجب تنفيذها من أجل التعرّف على موقع ارتباط السّموم (المُسبّب المُميت ومُسبّب الودمة) بالأنّيجين الواقِي. تضمُّ هذه العمليّة المراحل التاليّة:

المَهْمَة الأولى: العُثور على سِجَلات **قيسور** تحتوي على تسلسل بروتينات السّم الموجودة في بكتيريا الجمرة الخبيثة في مخازن المعلومات **قيسور**.

المَهْمَة الثانيّة: المُقارنة بين تسلسل **قيسور** بروتينات السّم وتحديد موقع ارتباط السّموم بالأنّيجين الواقِي.

المَهْمَة الثالثّة: التمعّن في المبنى الفراغي للموتيف **قيسور** المسؤول عن ارتباط السّموم بالأنّيجين الواقِي.

تحتاج عمليّة إنتاج المُعيق بالإضافة إلى البحث البيوانفورماتي، إلى تجارب تُجرى في المُختبر لفحص نجاعة ارتباط المُعيق بالأنّيجين الواقِي. نظرًا لخطورة بكتيريا الجمرة الخبيثة، من المُفضّل إجراء هذه التجارب باستعمال بكتيريا غير خطيرة، لكنّها تحتوي على سُمووم مشابهة لتلك الموجودة في بكتيريا الجمرة الخبيثة. لذلك نقوم بتنفيذ المَهْمَة الرابعّة.

المَهْمَة الرابعّة: العُثور على سُمووم مُماثلة (هومولوجيّة) **قيسور** لسُموم البكتيريا المُسبّبة لمرض الجمرة الخبيثة في بكتيريا اقل خطورةً. سنستخدم في هذه الحالة بكتيريا *Bacillus cereus*، وهي بكتيريا مُشابهة لبكتيريا الجمرة الخبيثة *Bacillus anthracis* (تنتمي لنفس النوع (Genus- نوع) **قيسور**): *Bacillus*.

للمُعلم: تهدف المَهْم ات التاليّة إلى التمرّن مرّة أخرى على استعمال قِسْم من الأدوات البيوانفورماتيّة التي تعرّفنا عليها في وحدة التعليم في البيوانفورماتيكا. أولاً نتمرّن على البحث في مُستودعات معلومات لتسلسلات البروتينات بمُساعدة أداة البحث Entrez. في المَهْمَة الثانيّة نتمرّن على المُقارنة بين التسلسلات بمُساعدة الأداة ClustalW. أما في المَهْمَة الثالثّة فنرى كيف ينعكس هذا التّشابه بين التسلسلات على مُستوى الأحماض الأمينيّة في المبنى ثلاثيّ الأبعاد، وهذا بمُساعدة الأداة Jmol المُستعملة لعرض المباني ثلاثيّة الأبعاد للجزيئات. في المَهْمَة الأخيرة نتمرّن على استعمال مُحرك البحث BlastN حيث نستعمل استعلام بحث مُكوّن من تسلسل نوكلوتيدياتٍ لإيجاد تسلسل الجينات المُشابهة للجينات التي تُشفر إلى البروتينات المسؤولة عن المرض في بكتيريا أخرى. يتعرف الطلاب في كل مَهْمَة على طريقة تشغيل الأداة وعلى طريقة تحليل المعلومات التي يحصلون عليها.

الحرب البيولوجيّة والحرب المضادّة- سموم وأدوية

المَهْمَة I: إيجاد تسلسل البروتينات الثلاثة المسؤولة عن المرض (الأنّيجين الواقِي، المُسبّب المُميت ومُسبّب الودمة)(صفحة 1 من 3)

هدف المَهْمَة

تهدف المَهْمَة إلى إيجاد السِجَلات الخاصّة بتسلسل البروتينات: الأنّيجين الواقِي، المُسبّب المُميت ومُسبّب الودمة في مخازن المعلومات.

1. نستعين بمُحرك البحث Entrez لإيجاد سِجَلات تصف تسلسل البروتينات المُذكورة أعلاه.

2. نستخرج المعلومات البيولوجيّة التي نحتاجها من السِجَلات التي حصلنا عليها.

للمعلم:

أهداف المهمة :

- التمرن على اختيار مُخزن المعلومات المناسب للسؤال البيولوجي الذي نبحثه.
- التمرن على استعمال مُحرك البحث Entrez لتنفيذ بحث مُركّز ودقيق.
- التمرن على طريقة قراءة السجلات، فهم وتحليل المعلومات البيولوجية الموجودة في كلِّ حقل من حقولها.

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سُوم وأدوية

المهمة I: إيجاد تسلسل البروتينات الثلاثة المسؤولة عن المرض (الأنتيجين الواقي، المُسبب المُميت ومُسبب الوبئة) (الوئمة) (صفحة 2 من 3)

البحث عن سجلات

في هذه المرحلة نبحث في مُخازن المعلومات عن سجلات تصف البروتينات الثلاثة المُسببة للمرض والموجودة لدى بكتيريا الجمرة الخبيثة.

يجب أن نتذكر أنه علينا تنفيذ بحث ذكي. علينا أولاً اختيار مُخزن المُعطيات المناسب، استعمال كلمات بحث صحيحة بالإضافة إلى استعمال قيود مناسبة لتقليص عدد نتائج البحث.

لنتذكر طريقة استعمال مُحرك البحث – بإمكانك مشاهدة الجولة الإرشادية للأداة Entrez **قيشور** مُجدداً لتذكرك بأسس استعمال أساسية للأداة .

ندخل إلى الصفحة الرئيسية ل NCBI **قيشور**. نضغط على Search بدون أن نكتب أي شيء في نافذة البحث، نصل إلى صفحة تعرض كل مُخازن المعلومات التي يُمكن أن ننفذ فيها البحث. نختار مخزن المعلومات المناسب.

1. أي نوع من مخازن المعلومات علينا أن نستعمل في هذه المهمة؟

- أ. Protein (بروتين)
- ب. Nucleotide (نوكلوتيد)
- ج. PubMed (النشرات الطبية –ספרות רפואית)
- د. Structure (مبنى)

الجواب هو: أ. نرغب في هذه الفعالية بالعثور على تسلسل البروتينات المسببة للمرض الموجودة في بكتيريا الجمره الخبيثة، لذلك نختار مستودعات تسلسل البروتينات (Protein) بواسطة الضغط على الرابط المناسب.

نقوم بتنفيذ البحث بعد اختيار نوع المستودع المناسب. نرغب بإيجاد تسلسل بروتينات مسببات المرض في بكتيريا الجمره الخبيثة (Bacillus anthracis)، لهذا الهدف علينا صياغة استعلام بحث دقيق يضم كلمات بحث مناسبة، ووضع قيود بحث ملائمة. سنجد في المرحلة الأولى السجل الذي يصف بروتين الأنتجين الواقي (Protective Antigen)، لهذا الهدف نقوم بصياغة استعلام بحث ونشدد على تحديد البحث للمستودع الفرعي SWISS-PROT **קישור**.

2. نفذوا البحث. تمعنوا في الشاشة التي تحوي نتائج البحث، على كم نتيجة حصلتكم؟

- أ. لم نحصل على أي سجل.
- ب. سجلات قليلة (معدودة-בודדות).
- ج. مئات السجلات.
- د. آلاف السجلات.

الجواب هو: ب البحث الذكي يجب أن يضم الاستعلام [organism] AND bacillus anthracis AND protective antigen في نافذة البحث. كذلك علينا استعمال إمكانيات التقييد بواسطة الضغط على -Limits. في الحقل Only from (المسمى أيضاً Source Database) نختار مستودع المعلومات SWISS PROT. قائمة نتائج البحث المناسبة تضم عدداً قليلاً من السجلات.

NCBI Resources How To My NCBI Sign In

Protein Translations of Life

Search: Protein المُستودع الذي اخترناه

protective antigen AND bacillus anthracis[organism] الاستعلام

Display Settings: Summary, 20 per page. Sorted by Default order

Limits Activated: Source database: SWISS-PROT التقييدات التي نُنفذت

This search in Gene shows 9 results, including:

pa06A (Bacillus anthracis str. 'Ames Ancestor'): protective antigen
 GBAA_pX01_0163 (Bacillus anthracis str. 'Ames Ancestor'): protective antigen-related protein
 pa06B (Bacillus anthracis str. A0246): protective antigen

Results: 8 عدد النتائج

1. RecName: Full=Protective antigen; Short=PA; AltName: Full=PA-83; Short=PA83; AltName: Full=Anthrax toxins translocating protein. Contains: RecName: Full=Protective antigen PA-20; Short=PA20; Contains: RecName: Full=Protective antigen PA-63; Short=PA63; Flags: Precursor
 764 aa protein
 P13423.2 GI: 17380160
 Related sequences Identical proteins

2. RecName: Full=Transcriptional repressor pagR; AltName: Full=Protective antigen repressor
 99 aa protein
 O31178.1 GI: 18202010
 Related sequences Identical proteins

3. RecName: Full=Cainmodulin-sensitive adenylate cyclase; AltName: Full=ATP pyrophosphate-lyase; AltName: Full=Adenylyl cyclase; AltName: Full=Anthrax edema toxin adenylate cyclase component; AltName: Full=Edema factor; Short=EF; Flags: Precursor
 800 aa protein

Filter your results:
 All (8)
 Bacteria (6)
 Related Structures (3)
 RefSeq (0)

Analyze these sequences
 Run BLAST
 Align sequences with COBALT

Find related data
 Database: Select

Search details
 (protective antigen[Protein Name] OR (protective[All Fields] AND antigen[All Fields])) AND "Bacillus anthracis"[Organism] AND

النتائج

شاشة 1: شاشة النتيجة وفيها استعلام البحث، تقييد البحث للمُستودع المطلوب، ونتائج البحث.

للمعلم: انتبهوا أن تحديث مُستودعات المعطيات يتم بصورة منتظمة ومُستمرة، لذلك عدد السجلات المناسبة لشروط البحث يزداد مع تقدّم الزمن ويمكن أن يتغيّر من حين لآخر.

3. هل حصلتم على نتائج من مُستودع المعلومات RefSeq **קישור**؟

- أ. نعم، لأن هذا المُستودع هو أيضًا مُستودع لتسلسل بروتينات.
- ب. نعم، لأنه لا يُمكننا تحديد مُستودع المعلومات الذي نُنفذ فيه البحث.
- ج. لا، لأنه لا يُمكننا تحديد مُستودع المعلومات الذي نُنفذ فيه البحث.
- د. لا، لأننا قَيّدنا البحث للمُستودع SWISS-PROT.

الإجابة هي: د عدد السجلات من المُستودع الفرعي RefSeq هو 0 (شاشة 2)، وهذا لأننا قَدِمنا البحث للمُستودع .SWISS-PROT

NCBI Resources How To My NCBI Sign In

Protein
Translations of Life

Search: Protein Save search Limits Advanced search Help

protective antigen AND bacillus anthracis[organism] Search Clear

Display Settings: Summary, 20 per page, Sorted by Default order Send to

Limits Activated: Source database: SWISS-PROT Change Remove

Filter your results:

- All (8)
- Bacteria (8)
- Related Structures (8)
- RefSeq (0)

عدد النتائج التي يضمها المخزن RefSeq

9 نتائج في جين

This search in Gene shows 9 results, including:

- paqA (Bacillus anthracis str. Ames Ancestor): protective antigen
- GBAA_pX01_0163 (Bacillus anthracis str. Ames Ancestor): protective antigen-related protein
- paqB (Bacillus anthracis str. A0245): protective antigen

Results: 8

1. RecName: Full=Protective antigen; Short=PA; AltName: Full=PA-63; Short=PA63; AltName: Full=Anthrax toxins translocating protein; Contains: RecName: Full=Protective antigen PA-20; Short=PA20; Contains: RecName: Full=Protective antigen PA-63; Short=PA63; Flags: Precursor
764 aa protein
P13423.2 GI: 17380160
Related sequences Identical proteins
2. RecName: Full=Transcriptional repressor pagR; AltName: Full=Protective antigen repressor
99 aa protein
O31178.1 GI: 18202010
Related sequences Identical proteins
3. RecName: Full=Calmodulin-sensitive adenylyate cyclase; AltName: Full=ATP pyrophosphate-lyase; AltName: Full=Adenylyl cyclase; AltName: Full=Anthrax edema toxin adenylyate cyclase component; AltName: Full=Edema factor; Short=EF; Flags: Precursor
800 aa protein

Find related data
Database: Select
Find items

Search details
(protective antigen[Protein Name] OR (protective[All Fields] AND antigen[All Fields])) AND "Bacillus anthracis"[Organism] AND

شاشة 2: نتائج البحث التي تلائم استعمال البحث بحسب نوع المخزن الفرعي

نختار متابعة المهمة مع السجل ذا كود التعرّف **قيسور** P13423.

لم تجد السجل؟ اضغط هنا للمساعدة **قيسور**.

4. بالاعتماد على المعلومات التي في صفحة النتيجة – ما هو طول البروتين الذي يصفه السجل P13423؟

- أ. 63 حامض أميني (aa) ○
- ب. 16 حامض أميني (aa) ○
- ج. 764 حامض أميني (aa) ○
- د. لا يُمكن المعرفة . ○

الجواب هو: ج. 764 حامض أميني (aa)

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

المهمة I: إيجاد تسلسل البروتينات الثلاثة المسؤولة عن المرض (الأنتيجين الواقي، المُسبب المُميت ومُسبب
الوذمة) (صفحة 3 من 3)

تحليل مُعطيات سجلّ بروتين الأنتجين الواقي

لنتعلّم أكثر عن بروتين الأنتجين الواقي **PA83**، نتعمّن في الحقول المُختلفة وفي تفاصيل المعلومات الموجودة فيها.

أمامك الحقل COMMENT الموجود في السجلّ (شاشة 3) والذي يحوي على ترجمة لتفاصيل معلومات هامة للغة العبرية.

RecName: Full=Protective antigen; Short=PA; AltName: Full=PA-83;
Short=PA83; AltName: Full=Anthrax toxins translocating protein; Contains:
RecName: Full=Protective antigen PA-20; Short=PA20; Contains:
RecName: Full=Protective antigen PA-63; Short=PA63; Flags: Precursor

Swiss-Prot: P13423.2

Comment Features Sequence

LOCUS P13423 764 aa linear BCT 13-JUL-2010
DEFINITION RecName: Full=Protective antigen; Short=PA; AltName: Full=PA-83;
Short=PA83; AltName: Full=Anthrax toxins translocating protein;
Contains: RecName: Full=Protective antigen PA-20; Short=PA20;
Contains: RecName: Full=Protective antigen PA-63; Short=PA63;
Flags: Precursor.

ACCESSION P13423

⋮
⋮
⋮

COMMENT On or before Apr 12, 2005 this sequence version replaced
gi:2126758, gi:129655.

[FUNCTION] One of the three proteins composing the anthrax toxin,
the agent which infects many mammalian species and that may cause
death. PA binds to a receptor (ATR) in sensitive eukaryotic cells,
thereby facilitating the translocation of the enzymatic toxin
components, edema factor and lethal factor, across the target cell
membrane. PA associated with LF causes death when injected, PA
associated with EF produces edema. PA induces immunity to infection
with anthrax.

[SUBUNIT] Anthrax toxins are composed of three distinct proteins, a
protective antigen (PA), a lethal factor (LF) and an edema factor
(EF). None of these is toxic by itself. PA+LF forms the lethal
toxin (LeTx); PA+EF forms the edema toxin (EdTx). PA-63 forms
heptamers and this oligomerization is required for LF or EF
binding. This complex is endocytosed by the host. Once activated,
at low pH, the heptamer undergoes conformational changes and
converts from prepore to pore inserted in the membrane, forming
cation-selective channels and triggering the release of LF and EF
in the host cytoplasm.

אנטיגן המגן הוא אחד משלושת החלבונים המרכיבים את רעלן הגחלת (אנתרקס). זהו המרכיב אשר מדביק מיני יונקים רבים ועלול לגרום למוות. האנטיגן המגן נקשר לקולטן (רצפטור) בתאים אאוקריוטים רגישים ובכך מזרז את חדירת הרעלנים - גורם הבצקת והגורם הממית - דרך קרום התא.

שאלה 3: החقل COMMENT في السجل P13423 الذي يصف الأنتجين الواقى

5. بالاعتماد على المعلومات التي تظهر في الفقرة الأولى [FUNCTION] للحقل COMMENT (شاشة 3)، ما هي وظيفة بروتين الأنتجين الواقى؟

- الارتباط بمستقبل على سطح الخلايا حقيقية النواة وإتاحة تغلغل السموم إلى داخل الخلية.
- إتاحة ارتباط المسبب المميت (LF) وعامل الونمة (EF)، أحدهما بالآخر.
- التصاق الخلايا ببعضها البعض.
- المعلومات المطلوبة غير موجودة في الحقل.

الجواب هو: أ. الارتباط بمستقبل على سطح الخلايا حقيقية النواة وإتاحة تغلغل السموم إلى داخل الخلية.

6. في أي حقل يتواجد تسلسل الأحماض الأمينية للأنتجين الواقى؟

- أ. PROTEIN
- ب. FEATURES
- ج. REFERENCE
- د. ORIGIN

الجواب هو: د. ORIGIN

7. هل بإمكاننا بالاعتماد على هذا السجل، أن نعرف ما هو عدد الاكسونات **קישור** الموجود في الجين المُشفّر لبروتين الأنتجين الواقى؟

- أ. نعم، بحسب المعلومات الموجودة في الحقل FEATURES.
- ب. لا، هذا سجلّ تسلسل بروتين وليس سجلّ تسلسل جين.
- ج. نعم، كل سجلّ يحتوي على معلومات عن الإكسونات والإنترونات. **קישור**

○ د. لا، لا توجد مُستودعات معلومات تحتوي على معلومات من هذا النوع.

الجواب هو: ب. معلومات عن الاكسونات والانترونات تتواجد فقط في سبجالات تصف تسلسل جينات وليس سبجالات تصف تسلسل بروتينات، لأنّ الاكسونات والانترونات هي مركبات الجينات وهي ليست جزء من البروتينات.

بعد أن عثرنا على السبجل الذي يصف بروتين الأنتجين الواقي وقمنا بتحليله، نعثر بشكل مشابه على السبجلات التي تصف البروتينين الآخرين: المُسبب المُميت (Lethal Factor-LF) ومُسبب الوذمة (Edema Factor-EF). لهذا الهدف ندخل مُجددًا إلى الصفحة الرئيسيّة ل NCBI **קישור** ونصل إلى الصفحة التي تعرض كلّ مُستودعات المعلومات التي تُمكن من تنفيذ البحث فيها. نختار المُستودع المُناسب ونقوم بصياغة استعلام بحث مُلائم، نُشدّد على تقييد البحث للمُستودع الفرعيّ SWISS-PROT.

8. كود التعرّف لسبجل بروتين المُسبب المُميت (Lethal Factor) هو:

○ أ. P15917

○ ب. P40136

○ ج. P13423

○ د. O31178.

الجواب هو: أ. P15917

9. كود التعرّف لسبجل بروتين مُسبب الوذمة (Edema Factor) هو:

○ أ. P58335

○ ب. P40136

○ ج. P13423

○ د. O31178

الجواب هو: ب. P40136

بعد أن عثرنا على السبجلات الخاصة بكلّ بمُسببات المرض في بكتيريا الجمرة الخبيثة، نواصل تحليل التسلسلات بهدف تحديد المنطقة الموجودة في تسلسل السُموم والتي تُشكّل موقع ارتباط هذه البروتينات ببروتين الأنتجين الواقي.

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

المهمة II: مقارنة تسلسلات السموم لتحديد مكان ارتباطها بالانتجين الواقى (صفحة 1 من 2)

هدف المهمة

في المرحلة السابقة من البحث عثرنا بمساعدة مُحرك البحث Entrez على تسلسل البروتينات المُسببة للمرض لدى بكتيريا الجمرة الخبيثة. قامت أبحاث سابقة بتحليل آلية عمل هذه البروتينات وطريقة دخولها إلى الخلية. أظهرت هذه الأبحاث أنَّ الأنتجين الواقى (PA) يرتبط بمُسْتَقْبَل موجود في غشاء الخلية، بعدها ترتبط 7 جزيئات من الأنتجين الواقى المرتبطة بالمُسْتَقْبَلات الواحدة بالأخرى، لتُشكّل قناة تخترق غشاء الخلية. هذه القناة تُمكن البروتينان الآخران، المُسبب المُميت (LF) و مُسبب الودمة (EF)، من التغلغل إلى سيتوبلازم الخلية ومُهاجمتها.

كيف ينجح الأنتجين الواقى بربط البروتينان المذكوران المُختلفان عن بعضهما البعض في التسلسل والمبنى؟ فرضية البحث هي أنَّ لهذين البروتينين، المُسبب المُميت و مُسبب الودمة، موتيف معيّن في تسلسل كل واحد منهما، هو المسؤول عن الارتباط بالانتجين الواقى. أيّ أنّه بالرغم من الفروقات العديدة بين المُسبب المُميت و مُسبب الودمة، توجد لديهما منطقة مُتماثلة تتشابه في كلا التسلسلين و تُمكن من ارتباطهما بالانتجين الواقى. في هذه المهمة سنُقدّم تسلسل المُسبب المُميت مع تسلسل مُسبب الودمة لتحديد تسلسل المنطقة الهومولوجية (المُتشابهة) فيهما. تحديد هذا التسلسل يُمكن من استعماله لإيجاد مُعيق تنافسي يستطيع هو أيضًا الارتباط بالانتجين الواقى وعندها يمنع ارتباطه بالبروتينات المُسببة للمرض (المُسبب المُميت و مُسبب الودمة)؛ هكذا يستطيع المُعيق التنافسي أن يُشكّل أساسًا لدواء مُستقبلي ضدَّ فعالية البروتينات المُسببة للمرض .

للمعلم: في هذه المرحلة من المُفضَّل أن نعود ونناقش آلية عمل البروتينات التي تكوّن السُم في الصف. من المُهم أن نتأكّد أن يفهم الطلاب لماذا نتوقّع أن تحتوي البروتينات – EF و LF- على موتيف مُتشابه، والمسؤول عن الارتباط ب PA، كذلك يجب أن يفهموا لماذا يُمكننا التعرف على هذا الموتيف عن طريق مقارنة التسلسلين (محاذاة التسلسلين). حتى أنّه بإمكاننا أن نسأل الطلاب: لماذا لا نتوقّع وجود هذا الموتيف في بروتين PA.

لتحديد المنطقة المُشتركة بين البروتينات EF و LF، نُقدّم تسلسلات هذه البروتينات من خلال محاذاتها بمُساعدة الأداة ClustalW. تحليل نتائج المُقارنة يُشير إلى المنطقة المُتشابهة بين البروتينات، هذه المنطقة المُتشابهة هي المسؤولة عن ارتباط البروتينات المذكورة بالبروتين PA.

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

المهمة II: مقارنة تسلسلات السموم لتحديد موقع ارتباطها بالانتجين الواقى (صفحة 2 من 2)

مقارنة تسلسلي السموم EF و LF

لتنفيذ هذه المرحلة نستعمل تسلسلات البروتينات التي وجدناها في المرحلة السابقة. أمامكم تسلسل البروتينين (مُسبب الودمة والمُسبب المميت) بصيغة FASTA **كيسور** - هذه الصيغة هي الصيغة المناسبة للمقارنة بين التسلسلات. نقوم بمحاذاة التسلسلين بواسطة الأداة ClustalW **كيسور**. تذكر: في بعض الأحيان، بعد أن ندخل إلى الأداة ClustalW، يجب أن نضغط في مُتصفح الشبكة (דפדפן האינטרנט)، على الزر " ارجع صفحة واحدة إلى الخلف " (Back to) وبعدها على الزر " تقدّم صفحة واحدة إلى الأمام " (Forward to) لتحديث (ريعلون) الأداة، بدون ذلك لا يُمكن إصاق التسلسلات التي نرغب بمقارنتها.

تمعنوا في النتائج وجدوا المنطقة الأكثر حفظاً (أزور שמור ביותר) بين التسلسلين. في هذه المهمة حاولوا أن تعثروا في المحاذاة على أسطر تحتوي على أكثر من 50% من المواضع المتطابقة تماماً (الإشارة * تحت الموضع) أو متشابهة جداً (الإشارة : تحت الموضع).

1. أين يتواجد التسلسل المُتمائل (الهومولوجي) في التسلسلين؟

- أ. التسلسلين مُتشابهين جداً على امتدادهما.
- ب. التسلسل المُتمائل موجود في بداية التسلسلين (حتى الموضع 290).
- ج. التسلسل المُتمائل موجود في مركز التسلسلين (المواضع 600 - 290).
- د. التسلسل المُتمائل موجود في نهاية التسلسلين (ابتداءً من الموضع 600).

الجواب هو: ب. التسلسل المُتمائل موجود في بداية التسلسلين (حتى الموضع 290).

للمعلم: حدّ التشابه الذي عُيّن في هذا التمرين هو 50% (50% من المواضع محفوظة في السطر) وهو حدّ مناسب لهذا المثال فقط. من المهمّ التشديد على أنه تمّ تحديد هذه النسبة من قِبَل الباحثين بحسب المقارنة الموجودة أمامهم. في غالبية الحالات لا يوجد أي حاجة لتحديد حدّ رقمي واضح، وإنما يجب التمعّن في مقارنة التسلسلات ومحاولة إيجاد مناطق نُلاحظ فيها وجود مواضع كثيرة مُتشابهة.

نُلاحظ من خلال نتائج المُحاذاة (شاشة 1)، أن معظم المواضع المُتطابقة والمُتشابهة موجودة في بداية التسلسلين (تقريباً حتى الموضع 290). معنى هذا الحفظ بالتسلسل أنّ هذه المنطقة في البروتينات EF و LF مسؤولة عن الارتباط بالانتجين الواقى PA. ومع ذلك يجب التشديد على أنّ هذه الفرضية بحاجة إلى دعم بواسطة تجارب إضافية.

موضع الطفرة في تسلسل المُسبب المُمت	طبيعة الطفرة (אופי מוטציה)	تأثير الطفرة على فعالية المُسبب المُمت
181	Y→A (تايرولين أُستبدلت بالانين)	فقدان قُدرة ربط PA
182	Y→A	فقدان قُدرة ربط PA
183	E→A	ليس له تأثير
184	I→A	فقدان قُدرة ربط PA
185	G→A	ليس له تأثير
186	K→A	فقدان قُدرة ربط PA
220	D→A	فقدان قُدرة ربط PA
221	L→A	ليس له تأثير
222	L→A	ليس له تأثير
223	F→A	فقدان قُدرة ربط PA
719	H→A	فقدان القُدرة على ربط الخارصين (العامل المُرافق للإنزيم)
720	E→C	فقدان سُميّة البروتين
723	H→A	فقدان القُدرة على ربط الخارصين (العامل المُرافق للإنزيم)

قائمة 1: طفرات مُختلفة في بروتين LF الموجود في بكتيريا الجمرة الخبيثة وتأثيرها على أداء البروتين

3. أمعنوا النظر في القائمة. هل نتائج البحث في المُختبر تدعم الفرضية التي تدّعي أنّ منطقة ربط البروتين PA موجودة في بداية تسلسل البروتين (المنطقة من بداية التسلسل وحتى الموضع 290 تقريباً)، أو أنّها تنفيها؟

- أ. نتائج البحث تنفي الفرضية؛ الطفرات الموجودة على امتداد التسلسل تُؤثر على أداء السُم.
- ب. نتائج البحث تنفي الفرضية؛ توجد مواضع في المنطقة المُشتبه بأنّها تربط البروتين لا تُؤثر على قُدرة الارتباط ب-PA (مثلاً، الموضع 185).
- ج. نتائج البحث تدعم الفرضية؛ بالرغم من أنّ الطفرات على امتداد التسلسل تُؤثر على أداء السُم، إلا أنّ مُعظم الطفرات ذات التأثير - أيًا كان هذا التأثير - موجودة في المنطقة المُشتبه بها (حتى الموضع 290).
- د. نتائج البحث تدعم الفرضية؛ جميع الطفرات التي تُؤثر على قدرة الارتباط بالبروتين PA موجودة في المنطقة المُشتبه بأنّها تربط البروتين (حتى الموضع 290).

الجواب هو : د. نتائج البحث تدعم الفرضية، جميع الطفرات التي تُؤثر على قدرة الارتباط بالبروتين PA موجودة في المنطقة المُشتبه بأنّها تربط البروتين (حتى الموضع 290).

للمعلم: تدلُّ المُعطيات الموجودة في القائمة على أنَّ جميع الطفرات التي أثَّرت على قُدرة ارتباط المُسبِّب المُमित، موجودة في المواضع ذات رقم أقل من 224. تدلُّ هذه النتيجة على أنَّ المنطقة المسؤولة عن الربط موجودة هي أيضًا في بداية البروتين. من المهمَّ التَّوصُّل إلى هذا الاستنتاج والتوضيح أنَّه يستند على عدد معيَّن من المواضع التي فُحصت بواسطة التجارب (لم تُفحص كل الأحماض الأَمينية الموجودة في التسلسل بشكل منهجيّ (באופן שיטתי)، كذلك فإنَّ هذه التجارب ضمَّت طفرات من أنواع مُعيَّنة فقط. مثلاً، الموضع الأول الذي فُحص هو 178؛ في هذا الموضع لا يوجد أي تأثير لتبديل الحامض الأَميني الأصلي ليسين بالحامض ليوسين. انتبهوا إلى أنَّه لا يُمكننا أن نعرف إذا كانت المواضع التي تسبق هذا الموضع تُؤثر على قُدرة الارتباط، لأنَّه لا توجد معلومات في القائمة عن هذه المواضع.

4. هل بإمكاننا أن نتوقَّع أنَّ المنطقة المُماثلة التي وجدناها، والتي تُميز المُسبِّب المُमित ومُسبِّب الودمة، تتواجد أيضًا في تسلسل الأنتجين الواقي؟

للمعلم: من غير المتوقَّع أن يتواجد التسلسل المُماثل في تسلسل الأنتجين الواقي أيضًا. وظيفة المنطقة المُتماثلة هي ربط السُّموم المُختلفة (المُسبِّب المُमित ومُسبِّب الودمة) بالأنتجين الواقي، لذلك لا يوجد أي سبب لوجود المنطقة المُتماثلة في الأنتجين الواقي ذاته.

للتلخيص، قُمنَّا في هذه المَهمة بمُحاذاة تسلسلات المُسبِّب المُमित ومُسبِّب الودمة بمُساعدة الأداة ClustalW، وبمُساعدة هذه العمليَّة استطعنا أن نعرِّض على مقطع مُتماثل مُشترك في تسلسل البروتينين. يُشكِّل هذا التسلسل موتيف **קישור** مسؤول كما يبدو عن قُدرة مُشتركة للبروتينين على الارتباط بالأنتجين الواقي.

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

المهمة III: التمعّن في المبنى الفراغي للسموم (المُسبّب المُميت ومُسبّب الودّمة) (صفحة 1 من 2)

هدف المهمة

قارننا في البحث السابق بين تسلسل بروتينين من مُسببات المرض في بكتيريا الجمرة الخبيثة وحلّلنا نتائج المُقارنة. مُقارنة تسلسل المُسبّب المُميت (LF) مع مُسبّب الودّمة (EF) دلّت على وجود مقطع مُتماثل موجود في بداية التسلسلين. تدّعي فرضية البحث أنّ هذه المنطقة هي المسؤولة عن ارتباط كل واحد من البروتينين ببروتين البكتيريا الثالث، بالأنتجين الواقي (PA).

كيف تظهر منطقة الارتباط عندما نتمعّن في المبنى الفراغي **קישור** للبروتينين؟ تذكّروا أنّه في بعض الأحيان، عند طيّ البروتين تقترب المناطق البعيدة عن بعضها البعض في تسلسل البروتين (المبنى الأولي) وتُصبح بجانب بعضها البعض في المبنى الفراغي (المبنى الثلاثي). سنتمعّن في هذه المهمة في المبنى الفراغي لبروتين LF ونتركّز في المنطقة المُتماثلة التي عثرنا عليها في بداية التسلسلات. تحليل المبنى الفراغي سيفحص اذا كانت جميع مواضع المنطقة المُتماثلة قريبة من بعضها حتى بعد طيّ البروتين وتشكّل ميناه الفراغي.

للمُعّم:

من المُفضّل في هذه المرحلة أن نعود ونناقش الاستنتاجات التي استخلصناها من الفصل الرابع في فعالية IPNS، التي تبحث في المبنى الفراغي للإنزيمات. من المهمّ أن يفهم الطلاب أنّ تجاور الأحماض الأمينية بالتسلسل الأولي للبروتين لا يدلّ بالضرورة على تجاورها بالمبنى الفراغي. مثلاً مواضع الموقع الفعّال في بروتين IPNS ليست مُتجاورة أبداً في التسلسل الأولي، لكنّ بعد طيّ البروتين تتواجد هذه المواضع بقرب بعضها في المبنى الفراغي. في هذه الحالة سنتعامل مع موتيف كبير جدّاً في تسلسل البروتين (تقريباً 290 موضع)، ولذلك سنتطرق إلى منطقة كبيرة جدّاً في ميناه. سيفحص الطلاب إذا تمّ طيّ هذا الموتيف الكبير إلى منطقة صغيرة في المبنى الفراغي.

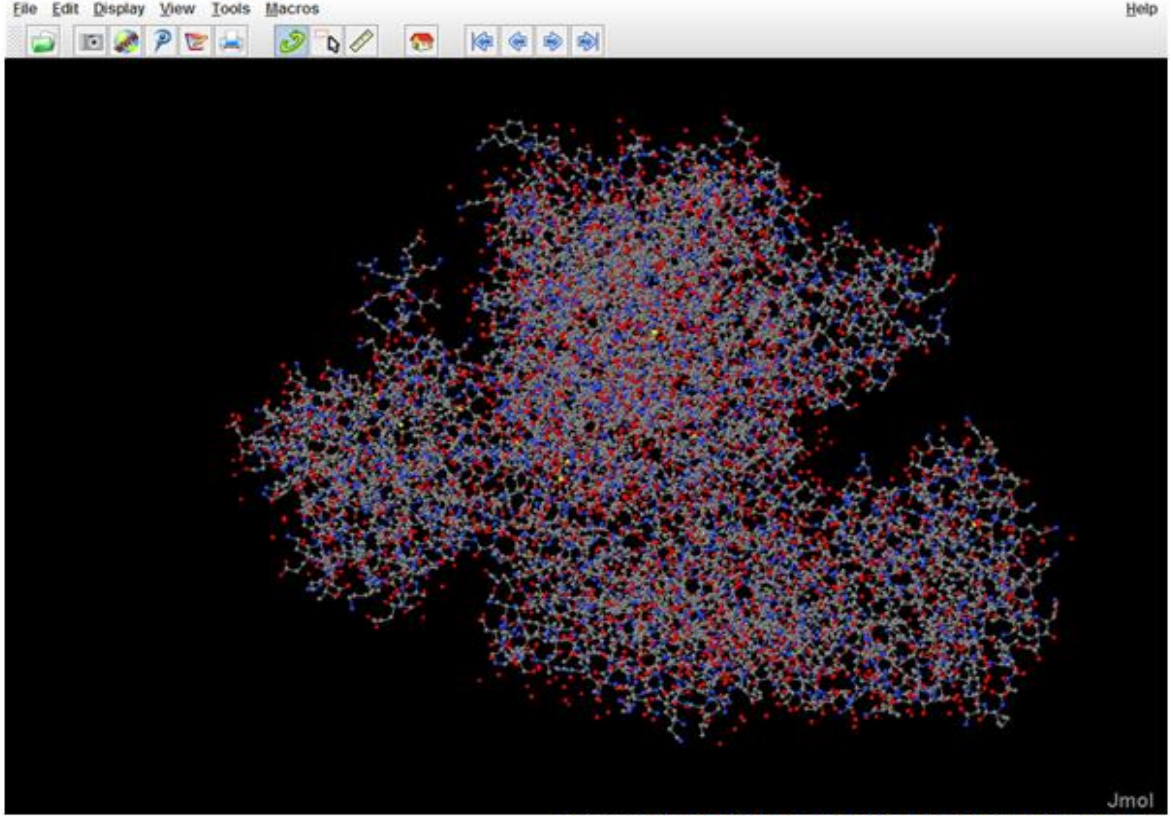
لدراسة المبنى الفراغي للمُسبّب المُميت نستعمل الأداة Jmol وملفّ مبنى البروتين. تأشير المواضع التي يتواجد فيها الموتيف الهومولوجي (المُماثل) الموجود أيضاً في مُسبّب الودّمة (تأشير بواسطة التلوين)، يدلّ على مكانه في المبنى الفراغي للبروتين.

المهمة III: التمعّن في المبنى الفراغي للسموم (المُسبّب المُميت ومُسبّب الودّمة) (صفحة 2 من 2)

تحليل مبنى المُسبّب المُميت (LF)

قوموا بتحميل ملف مبنى المُسبّب المُميت 1J7N.PDB **קישור** على سطح مكتب حاسوبكم (שולחן העבודה) وافتحوه بمساعدة برنامج Jmol.

يُعرض أمامكم البروتين بطريقة عرض تُدعى طريقة عرض الذرّات. انتبهوا: يُمكن أن تختلف طريقة عرض البروتين حسب طريقة العرض التلقائية (تצוגת בררת המחדל) بالتلاؤم مع نسخة الأداة Jmol الموجودة لديكم. إذا كانت طريقة عرض المبنى تختلف عن تلك المعروضة في الشاشة 1، نضغط على الجهة اليمنى للفأرة ونختار **Style → Scheme → Ball and Stick** من القائمة التي نحصل عليها.



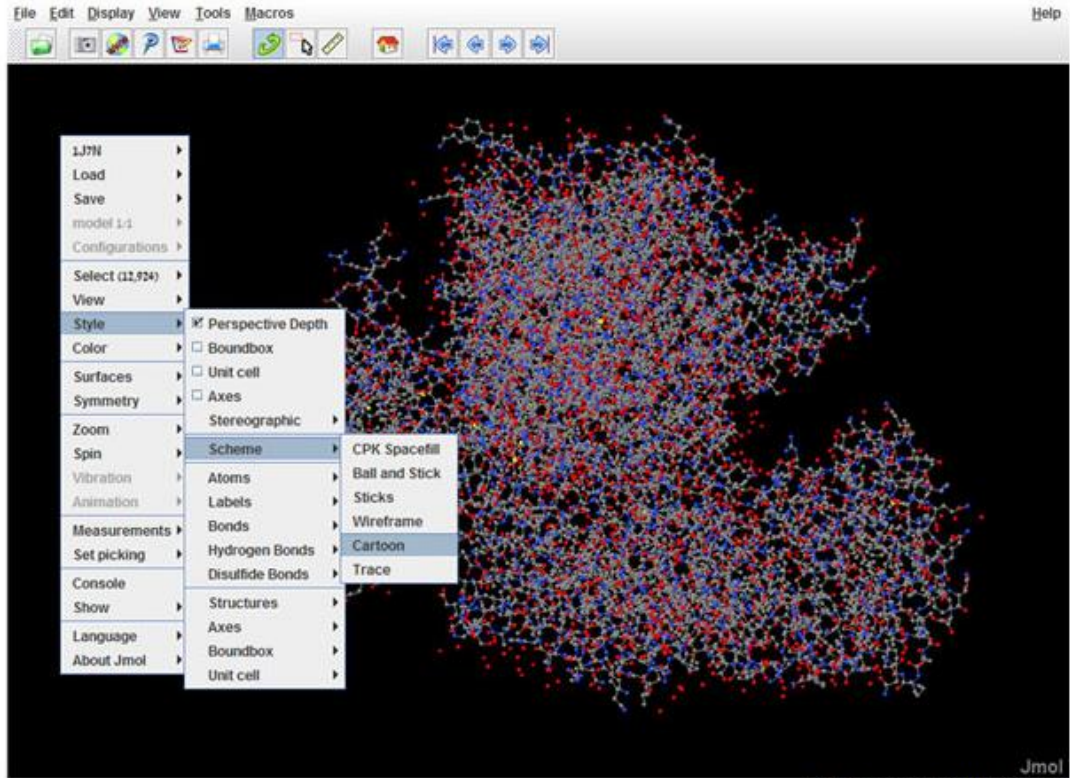
الشاشة 1: طريقة العرض الذرية (Ball and Stick) للمُسبَّب المُميت.

1. ما هي الأفضلية المُهمّة لطريقة العرض الذرية (Ball and Stick)؟

- أ. يمكن تحديد (تشخيص) الهيكل الببتيدي بشكل سهل.
- ب. يُمكن رؤية مكان كلّ ذرّة (كرة) بالنسبة للذرّات الأخرى، كذلك يُمكن رؤية الروابط (عيدان) التي تربطها مع الذرّات الأخرى.
- ج. تعرض المباني الثانويّة.
- د. هذا هو مبنى البروتين في المحلول.

الجواب هو : ب. يُمكن رؤية مكان كلّ ذرّة (كرة) بالنسبة للذرّات الأخرى، كذلك يُمكن رؤية الروابط (عيدان) التي تربطها مع الذرّات الأخرى. الأقوال الأخرى تتناول طرق عرض أخرى: طريقة عرض الهيكل الببتيدي – Backbone، طريقة عرض المبنى الثانوي – Cartoon، وطريقة عرض سطح البروتين الخارجي الذي يُقلّد مبنى البروتين في محلول Surface–.

نحن معنيون في هذه المرحلة بتغيير طريقة عرض مبنى البروتين LF (شاشة 2). نضغط في بيئة العمل على الجهة اليمنى للفأرة، ونختار **Style** → **Scheme** → **Cartoon** من قائمة الامكانيات.



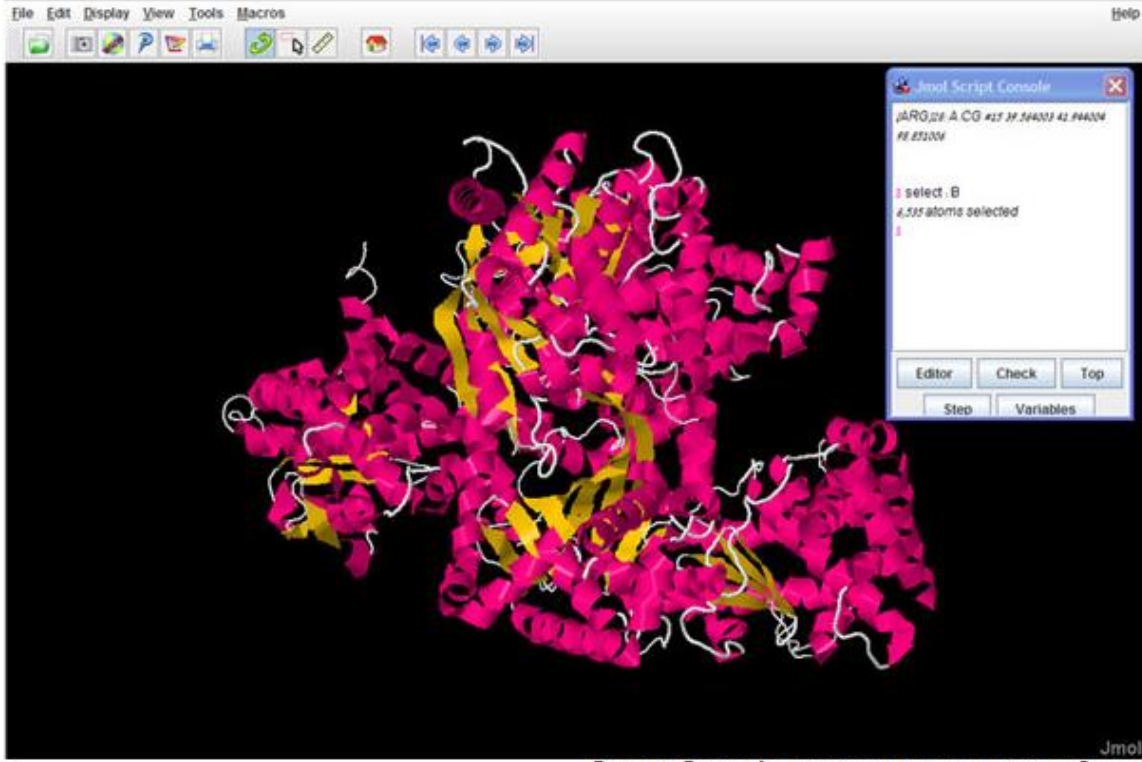
الشاشة 2: تغيير طريقة عرض البروتين.

2. ما هو التغيير الذي حدث لطريقة عرض البروتين؟

- أ. لم يحدث أي تغيير، الأمر الذي نفذناه يختار جزيئة البروتين فقط (بدون إحداث أي تغيير على الجزيئة).
- ب. طريقة عرض البروتين تغيرت والآن يُعرض بطريقة عرض الهيكل الببتيدي.
- ج. طريقة عرض البروتين تغيرت والآن يُعرض بطريقة عرض المبنى الثانوي.
- د. مبنى البروتين يُشبه الكرتونة المطوية.

الجواب هو: ج. طريقة عرض البروتين تغيرت والآن يُعرض البروتين بطريقة عرض المبنى الثانوي. وفقًا لذلك تُعرض مسطحات صفائح بيتا باللون الأصفر، ولولب ألفا يُعرض باللون الوردِي.

يصف هذا الملف ديمير **كيشور** وفيه بروتيني LF مُتطابقين تمامًا (يُسميان سلسلة A وسلسلة B). سنتمّن بسلسلة واحدة فقط. لهذا نختار سلسلة B ونقوم بإزالتها من المبنى المعروف. نختار الإمكانية **File** الموجودة في الزاوية اليسرى العلوية لنافذة Jmol ثم نختار الإمكانية **Console** (كطريقة بديلة، نضغط على الجهة اليمنى للفأرة، ونختار **Console** من قائمة الإمكانيات الإضافية). نكتب الأمر `select :B` في النافذة التي فتحت ونضغط على `Enter` (الشاشة 3).



الشاشة 3: كتابة أوامر بواسطة - **Output Console**.

3. ما هو التغيير الذي حدث لطريقة عرض البروتين؟

- أ. لم يحدث أي تغيير، بواسطة هذا الأمر اخترنا الذرات التي تركّب السلسلة B من البروتين (الديمير) فقط ولم نُجرِ أي تغيير عليها.
- ب. يتم عرض المبنى الثانوي للسلسلة B من البروتين فقط.
- ج. غيرت سلسلة B للبروتين مكانها في الفراغ.
- د. تمّت إزالة سلسلة B للبروتين.

الجواب هو : أ. لم يحدث أي تغيير، بواسطة هذا الأمر اخترنا الذرات التي تركب السلسلة B من البروتين (الديمير) فقط ولم نُجرِ أي تغيير عليها.

نضغط على الجهة اليمنى للفأرة ونختار الأمر **Style → Structure → Off**.

4. ما هو التغيير الذي حدث لطريقة عرض البروتين؟

- أ. سلسلة A التابعة للديمر غيرت مكانها في الفراغ .
- ب. سلسلة B التابعة للديمر غيرت مكانها في الفراغ .
- ج. تمت إزالة سلسلة A من الديمر.
- د. تمت إزالة سلسلة B من الديمر.

الجواب هو : د. في المرحلة السابقة قمنا باختيار السلسلة B بواسطة الأمر Select، في هذه المرحلة يتم تنفيذ عملية إزالة السلسلة التي اخترناها فقط (الشاشة 4).



الشاشة 4: تغيير طريقة عرض المبنى الفراغي للمُسَبَّب المُمَيّت – تُعرض سلسلة واحدة فقط

5. تمعنوا في مبنى المُسَبَّب المُمَيّت. ما هو المبنى الثانوي الأكثر انتشارًا في هذا البروتين؟

- يتركَّب البروتين من لولب ألفا (سوليلي ألفا- alpha helix) **كيسور** فقط.
- يتركَّب البروتين في الأساس من لولب ألفا (سوليلي ألفا- alpha helix).
- يتركَّب البروتين فقط من مسطّحات صفائح بيتا (مستحي بيتا- beta sheet) **كيسور**.
- يتركَّب البروتين في الأساس من مسطّحات صفائح بيتا (مستحي بيتا- beta sheet).

الجواب هو : ب. يتركَّب البروتين في الأساس من لولب ألفا الملونة باللون الوردّي، ولكن يوجد أيضًا القليل من مسطّحات صفائح بيتا الملونة باللون الأصفر.

نُشير في السلسلة A التابعة للمُسبَّب المُميت إلى الأحماض الأَمينيَّة في المواضع 1 حتى 290- هذه هي المنطقة التي يتواجد فيها تماثل مع مُسبَّب الودمة. كما دُكر، هذه هي المنطقة المُشْتبه بأنَّها المسؤولة عن الارتباط بالأنْتجين الواقِي. نفتح نافذة الأوامر: نختار **File** ثمَّ نختار الإمكانية **Console**، نكتب الأمر **select A: 1-290** ونضغط على **Enter**. يختار هذا الأمر (select) الأحماض الأَمينيَّة 1-290 في السلسلة A.

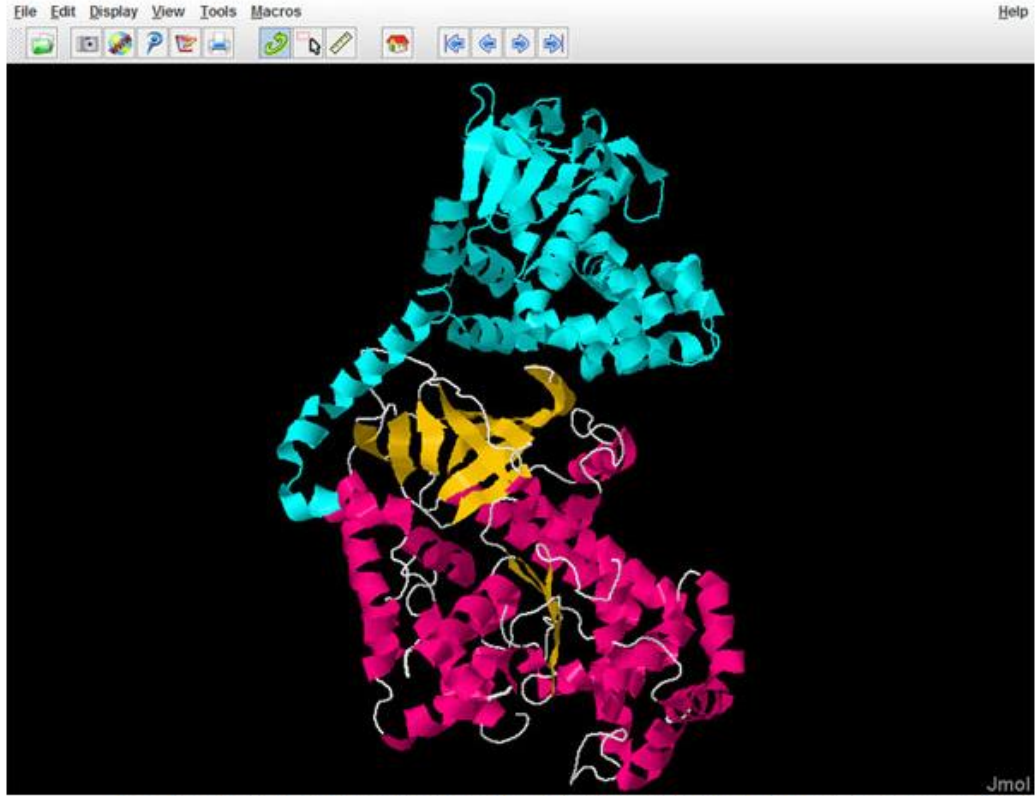
الآن نلوّن من جديد هذه المنطقة في تسلسل البروتين بواسطة الضغط على الجهة اليمنى للفأرة واختيار الأمر **Color → Structures → Cartoon → Cyan**. نُحرِّك البروتين وندرس المنطقة التي لُوّنت باللون الأزرق السماوي.

6. تمعّنوا في نتائج التلوين. هل المواضع التي تُركَّب المنطقة المحفوظة في التسلسل مُجاورة الواحدة للأخرى في المبنى الفراغي؟

- أ. لا يُمكن المعرفة حسب الألوان.
- ب. المواضع غير مُجاورة الواحدة للأخرى إطلاقًا، وهي موزَّعة في كُل البروتين.
- ج. قِسْم من المواضع مُجاورة الواحدة للأخرى، ولكنَّ مُعظمها بعيدة عن بعضها البعض.
- د. غالبية المواضع قريبة الواحدة من الأخرى، وهي تتركَّز في مبنى مُستقل ومُنفرد تقريبًا.

الجواب هو : د. غالبية المواضع قريبة الواحدة من الأخرى، وهي تتركَّز في مبنى مُستقل ومُنفرد تقريبًا.

يُمكن أن نلاحظ في الشاشة 5، الصورة الناتجة من تلوين المنطقة المذكورة سابقًا، أنَّ المنطقة المحفوظة التسلسل مُركَّزة كلَّها تقريبًا في منطقة كرويَّة صغيرة في المبنى الفراغي. عمليًا هذا التسلسل ينطوي حول نفسه ويُنتج قِسْمًا منفصلًا ومُستقلًا بشكل كليّ تقريبًا في بروتين ال-LF.



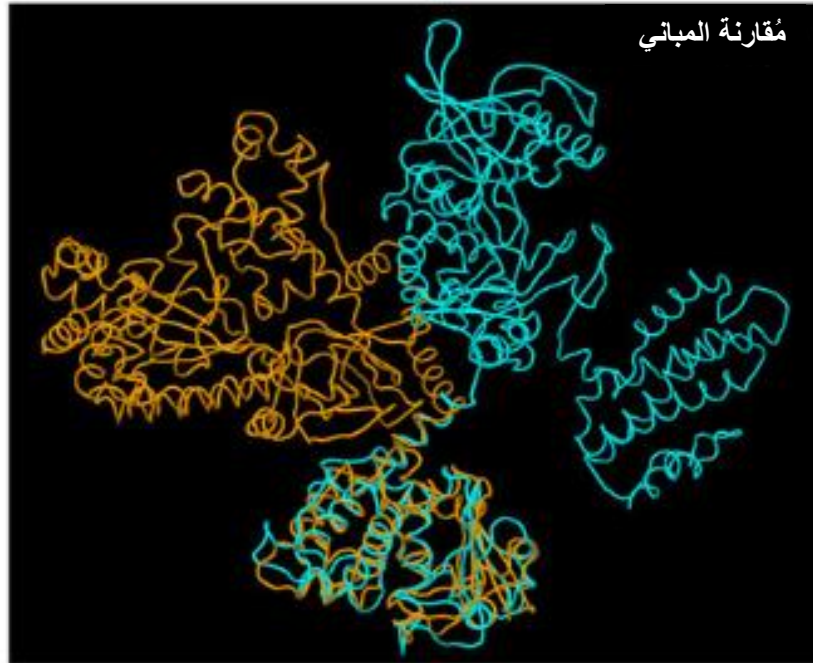
الشاشة 5: تلوين (بالأزرق السماوي) التسلسل المتماثل في بروتين LF المشتبه به كمسؤول عن الارتباط بالانتجين الواقي

7. هل يُمكن أن يُسهّل التعرّف على المبنى الفراغي للمنطقة المحفوظة في تسلسل البروتين، عملية تطوير مُعيق تنافسي يُنافس المُسبّب المُमित على الارتباط بالانتجين الواقي؟

للمُعلم: النتائج التي تعرضها أداة Jmol تدلُّ على أنّ المنطقة المتماثلة تنطوي حول نفسها وتنتج موتيف ذاتي في المبنى الفراغي للبروتين. توجّه مُمكن لتطوير مُعيق يُعيق ارتباط المُسبّب المُमित بالانتجين الواقي هو بناء تسلسل أحماض أمينية يحتوي فقط على المنطقة المحفوظة التي تعرّفنا عليها. من المُتوقَّع أن يتمّ طيُّ هذا التسلسل إلى مبنى يُمكنه من الارتباط بالانتجين الواقي ومُنافسة بروتينات المُسبّب المُमित ومُسبّب الودمة على موقع الارتباط.

للتلخيص، تمعنا في هذه المهمة في المبنى ثلاثي الأبعاد للمسبب المميت بعد أن عثرنا على موتيف موجود في تسلسل البروتين. كانت فرضية البحث أن هذا الموتيف الموجود في تسلسل البروتين مسؤول عن قدرة ارتباط المسبب المميت مع الأنتجين الوافي. أظهر تأشير (تلوين) الموتيف الموجود في المبنى ثلاثي الأبعاد أن طي هذا التسلسل أدى إلى إنتاج منطقة كروية وتقريباً منفردة في البروتين، الأمر الذي يدعم فرضية البحث. توجه ممكن لتطوير معيق يمنع ارتباط المسبب المميت بالأنتجين الوافي هو بناء تسلسل من الأحماض الأمينية يضم فقط التسلسل المحفوظ الذي تعرفنا عليه، ومن المتوقع أننا سنحصل بعد طي هذا التسلسل على مبنى بإمكانه ربط الأنتجين الوافي والتنافس مع مواقع الربط التابعة للمسبب المميت ومُسبب الودمة.

ننتبه إلى أنه بإمكاننا تنفيذ مهمة مشابهة بمساعدة المبنى ثلاثي الأبعاد لمسبب الودمة، توجد لهذا البروتين منطقة مُماثلة نشأ عنها أيضاً مسؤولة عن الارتباط بالأنتجين الوافي. لكن بإمكاننا الحصول على دليل أقوى عن طريق مقارنة المباني ثلاثية الأبعاد للمسبب المميت ولمسبب الودمة. هذه المقارنة تُسمى مقارنة مبنى البروتينات، وتتم بمساعدة أدوات بيوانفورماتية لن نتعلم عنها. إذا كانت فرضية البحث صحيحة، نتوقع أن يتم طي المنطقة المتماثلة الموجودة في البروتينين إلى موتيف مبنوي ثلاثي الأبعاد مُتشابه جداً، الأمر الذي يُمكن البروتينين من الارتباط بشكل مُتشابه بالأنتجين الوافي. في الرسم 1 يُمكن أن نرى نتائج مقارنة مبنى المسبب المميت ومُسبب الودمة. كما ترون، بالرغم من الاختلاف الكبير في مبنى البروتينين، كلاهما يحتويان على موتيف مبنوي مُشترك ذا طي مُتشابه بشكل تام تقريباً. التسلسل المُشفر إلى الموتيف المبنوي المُشترك يتواجد في المنطقة المتماثلة التي تعرفنا عليها في بداية تسلسل البروتينين.



الرسم 1: مُقارَنة المَبائِي الفِراغِي لِلْمُسَبَّب المُمَيِّت مَعَ المَبائِي الفِراغِي لِمُسَبَّب الوذمة.

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

المهمة IV: العثور على بكتيريا أقل خطورة تحتوي على سُمووم مُماثلة لسموم بكتيريا الأنثراكس (صفحة 1 من

2)

هدف المهمة

بعد أن وجدنا تسلسل الأحماض الأمينية للمُسبب المُميت ومُسبب الودمة المسؤولين عن الارتباط بالأنتيجين الوافي- وبعد أن تعرّفنا على المبنى الفراغي لهذه المُسببات، بإمكاننا الانتقال إلى مرحلة البحث الأخيرة. تشمل هذه المرحلة إنتاج بيتيد (سلسلة قصيرة من الأحماض الأمينية) ذا مبنى مُشابه لمبنى هذه البروتينات وبإمكانه أن يتنافس معها على الارتباط بالأنتيجين الوافي وبذلك يُبطل الفعالية السُميّة لبكتيريا الأنثراكس. على عكس مراحل البحث السابقة التي كانت في غالبيتها بيونفورماتية، فإنّ هذه المرحلة تحتاج إلى بحث في المُختبر من أجل إنتاج البيبتيد وفحص فعاليته ونجاعته في منع ارتباط السُموم. في حالات عديدة يُفضّل الباحثون تنفيذ تجارب في المُختبر على أنظمة أو حيوانات تجارب (معاركوت وحיות نيسوي)، حيث لا يتم إجراء التجارب على الكائن الطبيعي وإنما على كائنات مُشابهة جدًا له، تُعرف أنظمة كهذه باسم أنظمة نموذجية (معاركوت مودل). في هذا البحث وبعد إنتاج البيبتيد، يُفضّل الباحثون تنفيذ التجارب الضرورية لفحص نجاعته كمُعيق بواسطة نظام نمودجي (معاركوت مودل) **كيشور** أي بكتيريا أقل خطورة، الأمر الذي يجعل هذه التجارب أكثر أمانًا، ولكن شرط أساسي لملائمة هذه البكتيريا لاستعمالها كنظام نمودجي هو أن تحتوي هذه البكتيريا وتُعبّر عن الجينات المُشفّرة لبروتينات مُماثلة لبروتينات بكتيريا الأنثراكس. تهدف المهمة إلى البحث في مخازن المعلومات عن وجود جينات مُماثلة تُشفّر لبروتينات مُماثلة للبروتينات الثلاثة الموجودة في بكتيريا الأنثراكس في بكتيريا من صنف مُشابه وذا خطورة أقل.

مراحل المهمة

1. نستعمل أداة البحث nucleotide BLAST من أجل البحث في مُستودع المعلومات عن تسلسلات مُتماثلة.
2. نستخلص المعلومات البيولوجية المناسبة من السجلات التي حصلنا عليها.

للمُعَلِّم:

مراحل المهمة:

1. التمرّن على استعمال أداة البحث BLASTn وإيجاد تسلسلات مُشابهة لتسلسلات المُسبب المُميت ومُسبب الودمة.
2. التمرّن على كيفية تحليل نتائج البحث وفهم المعلومات البيولوجية الموجودة في السجلات التي نحصل عليها.

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

المهمة VI: العثور على بكتيريا أقل خطورة تحتوي على سُمووم مُماثلة لسموم بكتيريا الأنثراكس (صفحة 2 من 2)

استعمال أداة البحث nucleotide BLAST للبحث في مُستودعات المعلومات عن تسلسلات مُتماثلة

حتى نجد في مُستودعات المعلومات، تسلسلات مُماثلة لتسلسلات بروتينات بكتيريا الأنثراكس نقوم بتنفيذ المراحل التالية: ندخل إلى الصفحة الرئيسية للموقع NCBI [رابط](#)، نضغط على (Resource List (Z-A، نجد أداة البحث BLAST(Basic Local Alignment Search Tool). عند الضغط على الرابط تُفتح واجهة أداة البحث (ממשק הכלי)، نختار من بينها الأداة المناسبة لمُقارنة تسلسلات الأحماض النووية [رابط](#).

أمامك تسلسل الجين المُشفر للأنثراكس الوافي [رابط](#) في بكتيريا الأنثراكس. استعن بالأداة BLASTn لفحص وجود هذا الجين في كائنات أخرى من أنواع مُشابهة لها لكنها أقل خطورة.

1. أي مُستودع معلومات عليك أن تختار لهذا الهدف؟

- أ. Nucleotide collection (nr/nt)
- ب. Protein Data Bank (pdb)
- ج. Human Alu Repeat elements (alu_repeats)
- د. لا يُمكننا المعرفة.

الجواب هو: أ. نحن معنيون بإيجاد تسلسل أحماض نووية مصدره من بكتيريا ولَسْنَا معنيون بإيجاد تسلسل بروتين أو تسلسلات من مصدر إنساني، لذلك نختار مُستودع تسلسلات النوكلوئيدات العام وليس مُستودع بروتينات أو مُستودع نوكلوئيدات خاص بالإنسان فقط .

بعد أن نختار المُستودع المُناسب، نقوم بتنفيذ البحث.

تحليل النتائج واستخلاص الاستنتاجات

تُعرض أمامنا الآن صفحة النتائج؛ نقوم بتحليل النتائج التي حصلنا عليها.

2. أين يظهر طول تسلسل الاستعلام (في أي حقل)، وما هو طول التسلسل؟

- أ. في الحقل Query ID، طوله 63601 حامض أميني [نومضات أميني](#).
- ب. في الحقل Query ID، طوله 63601 نوكلوئيد [نوكلاوتيد](#).

- ج. في الحقل Query Length، طوله 2369 حامض أميني.
- د. في الحقل Query Length، طوله 2369 نوكلونتييد.

الجواب هو: د. تفاصيل تسلسل الاستعلام، مثل نوع الجزيئة (Molecule type)، طولها (Query Length) واسم المُستودع الذي نُفِّذ فيه البحث (Database Name)، تُعرض في القسم الأول من صفحة النتيجة (شاشة 1).

BLAST Basic Local Alignment Search Tool

Home Recent Results Saved Strategies Help

NCBI BLAST/ blastn suite/ Formatting Results - 47XYM3P701R

Edit and Resubmit Save Search Strategies Formatting options Download

PA

Query ID |47375
Description PA
Molecule type: nucleic acid
Query Length: 2369

Database Name: nr
Description: All GenBank sequences (but GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 sequences)
Program: BLASTN 2.2.24+ Citation

Other reports: Search Summary Taxonomy reports Distance tree of results

شاشة 1: القسم الأول من صفحة النتائج - وصف تسلسل الاستعلام والمُستودع الذي نُفِّذ فيه البحث

3. بالاعتماد على العرض البياني (القسم الثاني) وعلى وصف النتائج (القسم الثالث) الموجودان في صفحة النتيجة، لأي كائن تتبع السجلات الأكثر شبيهاً بتسلسل الاستعلام؟

- أ. Plasmid
- ب. *Bacillus anthracis*
- ج. *Bacillus cereus*
- د. Synthetic construct.

الجواب هو: ب. كما يُمكن أن نلاحظ في الشاشة 2، كل سجلات تسلسل بروتين الأنتيجين الواقي المُشابهة لتسلسل الاستعلام، مصدرها من بكتيريا الأنثراكس *Bacillus anthracis*.

▼ Descriptions

Legend for links to other resources: [U](#) UniGene [E](#) GEO [G](#) Gene [S](#) Structure [M](#) Map Viewer [P](#) PubChem BioAssay

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
AF306781.1	Bacillus anthracis isolate 33 protective antigen (pag) gene, complete	4375	4375	100%	0.0	100%
AF306780.1	Bacillus anthracis isolate BA1035 protective antigen (pag) gene, cor	4370	4370	100%	0.0	99%
CP001599.1	Bacillus anthracis str. A0248 plasmid pXO1, complete sequence	4364	4437	100%	0.0	99%
AE017336.2	Bacillus anthracis str. 'Ames' protective antigen (pag) gene, complete seq	4364	4437	100%	0.0	99%
AF065404.1	Bacillus anthracis virulence factor protective antigen (pag) gene, complete	4364	4437	100%	0.0	99%
AF306782.1	Bacillus anthracis isolate BA1035 protective antigen (pag) gene, cor	4364	4364	100%	0.0	99%
AF306778.1	Bacillus anthracis plasmid pXO1, complete sequence	4364	4364	100%	0.0	99%
AE011190.1	Bacillus anthracis str. A201 protective antigen (pag) gene, complete	4364	4437	100%	0.0	99%
CP001216.1	Bacillus anthracis str. CDC Ames protective antigen (pag) gene, complete	4359	4432	100%	0.0	99%
AF306783.1	Bacillus anthracis isolate BA1035 protective antigen (pag) gene, cor	4359	4359	100%	0.0	99%
AF306779.1	Bacillus anthracis isolate 28 protective antigen (pag) gene, complete	4359	4359	100%	0.0	99%
M22589.1	Bacillus anthracis cryptic protein and protective antigen precursor (i	4359	4432	100%	0.0	99%
CP001747.1	Bacillus anthracis CI plasmid pCI-XO1, complete sequence	4352	4426	100%	0.0	99%
DQ899807.1	Bacillus cereus strain G9241 plasmid pBCXO1, complete sequence	4352	4426	100%	0.0	99%
AF306857.1	Bacillus anthracis plasmid pXO1 protective antigen (pagA) gene, cor	4352	4353	100%	0.0	99%
CP001406.1	Bacillus cereus 0388102 plasmid p0388102_179, complete sequenc	4283	7519	99%	0.0	99%
AY997299.1	Bacillus anthracis strain A16R protective antigen (pag) gene, compl	4228	4228	96%	0.0	99%
AJ413936.1	Bacillus anthracis partial pag gene, isolate IT-Carb3-6254	4109	4109	94%	0.0	99%
AJ413937.1	Bacillus anthracis partial pag gene, isolate IT-Carb1-6241	4098	4098	93%	0.0	99%
AY700758.1	Bacillus anthracis strain Sterne plasmid pXO1 protective antigen gen	4061	4061	93%	0.0	99%
AM404332.1	Bacillus anthracis partial pag gene for protective antigen	4028	4028	93%	0.0	99%
AY921578.1	Bacillus anthracis isolate 34F2 plasmid pXO1 protective antigen (pa	3123	3123	71%	0.0	99%

شاشة 2: القسم الثالث من صفحة النتائج – قائمة لوصف النتائج

4. كما هو معروض في الشاشة 2، بإمكاننا أن نلاحظ خلال قسم الوصف أننا حصلنا على عدد كبير من النتائج ذات نسبة تشابه كبيرة جداً. معنى هذا أنه توجد تسلسلات كثيرة لدى نفس الكائن تُشبه بشكل كبير جداً الجين الذي بحثنا عنه، ويوجد لديها كود تعرّف مختلف. لماذا حسب رأيكم نحصل على نتيجة كهذه؟

للمعلم: تتميز مخازن المعلومات بتكراريتها الكبيرة (حوزניים ماد)، حيث تظهر تسلسلات مُعيّنة في سجلات مختلفة لأنها تتواجد في أبحاث مختلفة. عملياً مستوى التكرار هو أحد معايير جودة مخازن المعلومات.

5. بالاعتماد على صفحة النتائج، هل يتواجد في بكتيريا *Bacillus cereus* جين مُماثل (مُشابه) لجين الأنتيجين الواقي الموجود في بكتيريا *Bacillus anthracis*؟ إذا كان كذلك ما هي نسبة التشابه بين تسلسل الجينين؟

- أ. لا يتواجد جين مُماثل في بكتيريا *Bacillus cereus*.
- ب. نعم، يوجد جين مُماثل في بكتيريا *Bacillus cereus*، لكنَّ نسبة تشابهه مع الجين التابع لبكتيريا الأنتراكس مُنخفضة جدًا وتتراوح بين 4%-6%.
- ج. نعم، يوجد جين مُماثل في بكتيريا *Bacillus cereus*، ونسبة تشابهه مع الجين التابع لبكتيريا الأنتراكس عالية جدًا وتتراوح بين 99%-100%.
- لا يُمكن المعرفة.

الجواب هو: ج. كما نرى في الشاشة 3 – يظهر في القسم الثالث لصفحة النتيجة تسلسل مُماثل مصدره من بكتيريا *Bacillus cereus*. هذا التسلسل ذا نسبة تشابه كبيرة (تطابق معظم التسلسل 99%) مع تسلسل الاستعلام.

▼ Descriptions

Legend for links to other resources: [U](#) UniGene [E](#) GEO [G](#) Gene [S](#) Structure [M](#) Map Viewer [P](#) PubChem BioAssay

Sequences producing significant alignments:

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
AF306781.1	Bacillus anthracis isolate 33 protective antigen (paq) gene, complet	4375	4375	100%	0.0	100%
AF306780.1	Bacillus anthracis isolate BA1035 protective antigen (paq) gene, cor	4370	4370	100%	0.0	99%
CP001599.1	Bacillus anthracis str. A0248 plasmid pXO1, complete sequence	4364	4437	100%	0.0	99%
AE017336.2	Bacillus anthracis str. 'Ames Ancestor' plasmid pXO1, complete seq	4364	4437	100%	0.0	99%
AF065404.1	Bacillus anthracis virulence plasmid pXO1, complete sequence	4364	4437	100%	0.0	99%
AF306782.1	Bacillus anthracis plasmid pXO1 protective antigen (paq) gene, com	4364	4364	100%	0.0	99%
AF306778.1	Bacillus anthracis plasmid pXO1 protective antigen (paq) gene, com	4364	4364	100%	0.0	99%
AF011190.1	Bacillus anthracis str. A2012 plasmid pXO1, complete sequence	4364	4437	100%	0.0	99%
CP001216.1	Bacillus anthracis str. CDC 684 plasmid pXO1, complete sequence	4359	4432	100%	0.0	99%
AF306783.1	Bacillus anthracis isolate BA1024 protective antigen (paq) gene, cor	4359	4359	100%	0.0	99%
AF306779.1	Bacillus anthracis isolate 28 protective antigen (paq) gene, complet	4359	4359	100%	0.0	99%
M22589.1	Bacillus anthracis cryptic protein and protective antigen precursor (i	4359	4432	100%	0.0	99%
CP001747.1	Bacillus anthracis CI plasmid pCI-XO1, complete sequence	4353	4426	100%	0.0	99%
DQ889680.1	Bacillus cereus strain G9241 plasmid pBCXO1, complete sequence	4353	4426	100%	0.0	99%
AF268967.1	Bacillus anthracis plasmid pXO1 protective antigen (paqA) gene, cor	4353	4353	100%	0.0	99%
CP001406.1	Bacillus cereus 03BB102 plasmid p03BB102 179, complete sequenc	4283	7519	99%	0.0	99%
AY997299.1	Bacillus anthracis strain A16R protective antigen (paq) gene, compl	4228	4228	96%	0.0	99%
BJ413936.1	Bacillus anthracis partial paq gene, isolate IT-Carb3-6254	4109	4109	94%	0.0	99%
BJ413937.1	Bacillus anthracis partial paq gene, isolate IT-Carb1-6241	4098	4098	93%	0.0	99%
AY700258.1	Bacillus anthracis strain Sterne plasmid pXO1 protective antigen ge	4061	4061	93%	0.0	99%
AM404332.1	Bacillus anthracis patial pa gene for protective antigen	4028	4028	93%	0.0	99%
AY921578.1	Bacillus anthracis isolate 34F2 plasmid pXO1 protective antigen (pa	3123	3123	71%	0.0	99%

شاشة 3: تسلسل مُماثل مصدره من بكتيريا *Bacillus cereus*

للمُعلم: بسبب التعديلات المُستمرّة الموجودة في مُستودعات المعلومات، من المُحتمل أن نحصل في البحث عن تسلسلات إضافيّة مُماثلة لتسلسل الاستعلام، ومن ضمنها في *Bacillus cereus* هذه فرصة إضافيّة لُناقش المُعلم مع الطلاب كُيفية مُساهمة الأبحاث الجديدة في تحديث مُستودعات المعلومات. بإمكان المُعلم في نهاية المهمة أن يقوم بعرض السجّل ذا كود التعرّف [CP001747](#) [رابط](#) (أو يوجّه الطلاب للدخول إلى السجّل)، هذا السجّل هو السجّل الأول غير التابع لبكتيريا *Bacillus anthracis*. بشكل مُشابه يمكنه الدخول للسجّل ذا كود التعرّف [DQ889680](#)، الذي يقوم الطلاب بتحليله بأنفسهم، أيضًا هذا السجّل يحوي تسلسل طوله 200000 نوكلوئيد تقريبًا، وهو تسلسل بلاسميد استنسخ فيه مقطع جينومي كبير نسبيًا يحتوي على أكثر من 100 جين من *Bacillus cereus*. بالإمكان توضيح ذلك بواسطة البحث (CTRL+F) عن الحقل الفرعي *Gene*،

وأيضاً بواسطة بحث مُحدّد عن "protective antigen" (الموجود في المواضع 144034 حتى 146328 في هذا السجلّ).
هكذا يستطيع الطلاب أخذ انطباع عن مبنى السجلّ الذي يُعرض استنتاج مقطع جينومي طويل داخل بلاسميد قصير.

بعد أن علمنا بوجود جين يُشبه بالفعل وبشكل كبير الجين المُشفّر للأنتيجين الواقي الموجود في بكتيريا الانثراكس، في سلالة بكتيريا مُشابهة وذا خطورة أقل، ندخل إلى السجلّ الذي يصف هذا الجين. لهذا الهدف نفتح السجلّ في نافذة جديدة بواسطة وضع سهم الفأرة على الرابط الأزرق لكود التعرّف DQ889680؛ نضغط على الجهة اليُمنى للفأرة ونختار الإمكانية ' פתיחה ' في نافذة جديدة.

إن لم تجد السجلّ، اضغط هنا للمُساعدة [رابط](#)



6. بالاعتماد على المعلومات الموجودة في السجلّ، ما هو طول التسلسل الموصوف فيها؟

- أ. 190861 نوكلوتيدات
- ب. 2369 نوكلوتيدات
- ج. 889680 نوكلوتيدات
- د. لا يُمكن المعرفة.

الجواب هو : أ. 190861 نوكلوتيدات.

نعود الآن إلى نتائج بحث الأداة nucleotide BLAST

7. بالاعتماد على " التراصيف التسلسلي"، الموجود في القسم الرابع من صفحة النتائج، هل تسلسل النتيجة من بكتيريا *Bacillus cereus* مُشابه لتسلسل الاستعلام؟ ما هي حدود التشابه في تسلسل النتيجة؟

- نعم، حُدود التشابه من نوكلوتيد 1 حتى نوكلوتيد 190861 في تسلسل النتيجة من بكتيريا *Bacillus cereus*.
- لا، حُدود التشابه من نوكلوتيد 1 حتى نوكلوتيد 2369 في تسلسل النتيجة من بكتيريا *Bacillus cereus*.
- نعم، حُدود التشابه من نوكلوتيد 1 حتى نوكلوتيد 2369 في تسلسل النتيجة من بكتيريا *Bacillus cereus*.
- لا، حُدود التشابه من نوكلوتيد 10989 حتى نوكلوتيد 13357 في تسلسل النتيجة من بكتيريا *Bacillus cereus*.

الجواب هو: د. بالاعتماد على التراصف التسلسلي، لتسلسل النتيجة وتسلسل الاستعلام (الشاشة 4)، بإمكاننا أن نلاحظ أن قسمًا من تسلسل النتيجة مشابه لتسلسل الاستعلام. المنطقة المُشابهة التي مصدرها من بكتيريا *Bacillus cereus* تبدأ من نوكلونيد 10989 وتنتهي بنوكلونيد 13357.

> gb|DQ889660.1 | Bacillus cereus strain G9241 plasmid pBCX01, complete sequence
Length=190861

الموضع الأول الذي يبدأ فيه التشابه بين تسلسل النتيجة من بكتيريا *Bacillus cereus* وتسلسل PA من بكتيريا الأنثراكس

Sort alignments for this subject sequence by:
E value Score Percent identity
Query start position Subject start position

Score = 73.1 bits (39), Expect = 7e-09
Identities = 58/67 (86%), Gaps = 1/67 (1%)
Strand=Plus/Plus

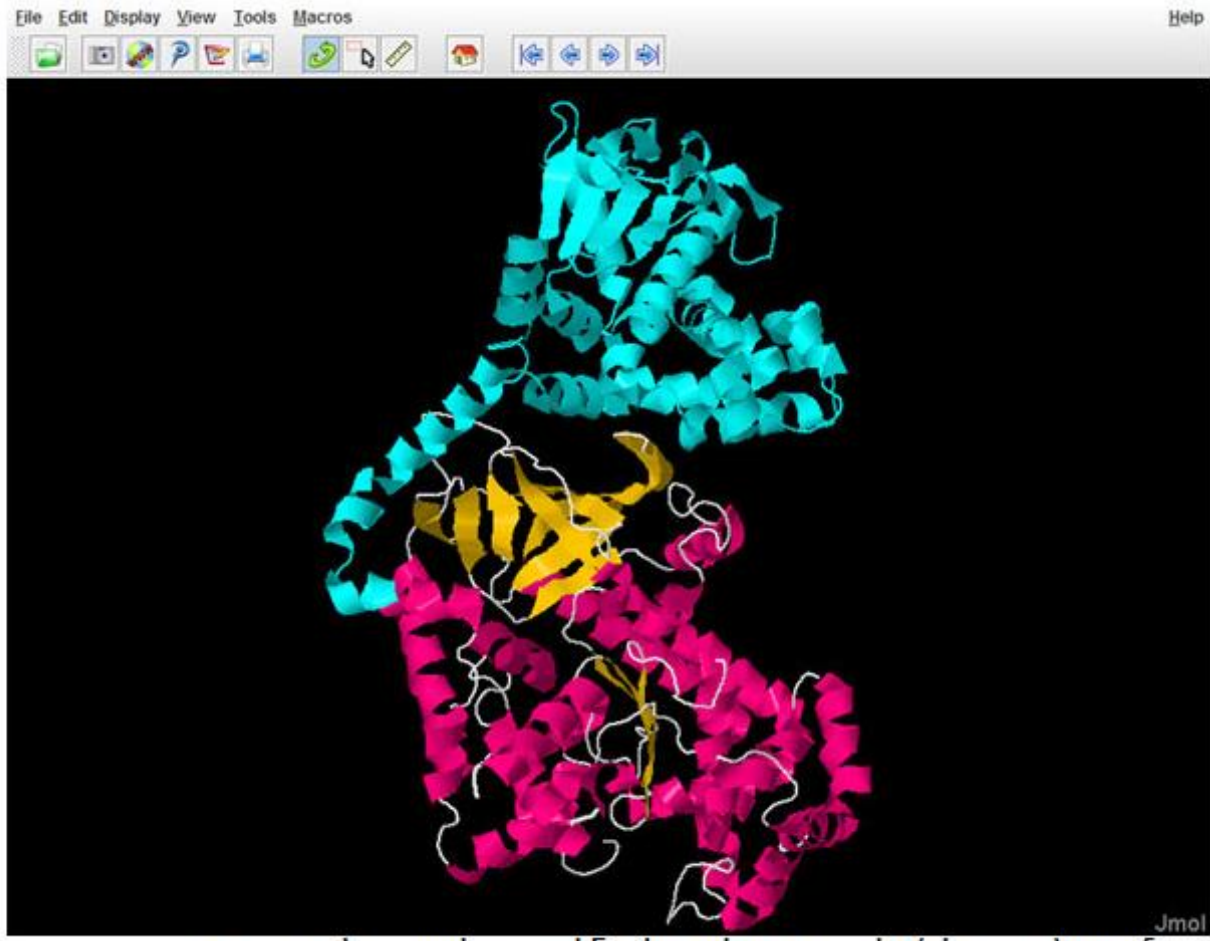
Query	1	AATTTCAATATAATATAAAATTTAATTTTATACAAAAAGGAGAACGTATATGAAAAACGA	60
Sbjct	10989	AATTTCAATATAATATAAAATTTAATTTTATACAAAAAGGAGAACGTATATGAAAAACGA	11048
Query	61	AAAGTGTTAATACCATTAAATGGCATTGTCTACGATATTAGTTTCAAGCACAGGTAATTTA	120
Sbjct	11049	AAAGTGTTAATACCATTAAATGGCATTGTCTACGATATTAGTTTCAAGCACAGGTAATTTA	11108
Query	121	GAGGTGATTCAGGCAGAAAGTTAAACAGGAGAACCGGTTATTAATGAATCAGAATCAAGT	180
Sbjct	11109	GAGGTGATTCAGGCAGAAAGTTAAACAGGAGAACCGGTTATTAATGAATCAGAATCAAGT	11168
Query	181	TCCCAGGGGTTACTAGGATACTATTTTAGTGATTGAAATTTTCAAGCACCCATGGTGGTT	240
Sbjct	11169	TCCCAGGGGTTACTAGGATACTATTTTAGTGATTGAAATTTTCAAGCACCCATGGTGGTT	11228
...
Query	2161	ATAGATTTTAAAAAATATAATGATAAATTACCGTTATATATAAGTAATCCCAATTATAAG	2220
Sbjct	13149	ATAGATTTTAAAAAATATAATGATAAATTACCGTTATATATAAGTAATCCCAATTATAAG	13208
Query	2221	GTAATGTATATGCTGTTACTAAAGAAAACACTATTATTAATCCTAGTGAGAATGGGGAT	2280
Sbjct	13209	GTAATGTATATGCTGTTACTAAAGAAAACACTATTATTAATCCTAGTGAGAATGGGGAT	13268
Query	2281	ACTAGTACCAACGGGATCAAGAAAATTTAATCTTTTCTAAAAAAGGCTATGATAGGA	2340
Sbjct	13269	ACTAGTACCAACGGGATCAAGAAAATTTAATCTTTTCTAAAAAAGGCTATGATAGGA	13328
Query	2341	TAAGGTAATTCAGGTGATTTTAAATTA	2369
Sbjct	13329	TAAGGTAATTCAGGTGATTTTAAATTA	13357

الموضع الأخير الذي ينتهي فيه التشابه بين تسلسل النتيجة من بكتيريا *Bacillus cereus* وتسلسل PA من بكتيريا الأنثراكس

Score = 73.1 bits (39), Expect = 7e-09
Identities = 58/67 (86%), Gaps = 1/67 (1%)
Strand=Plus/Plus

شاشة 4: التراصف التسلسلي لتسلسل الاستعلام والتسلسل المُماثل من *Bacillus cereus*

كما وجدنا في المَهمة السابقة (شاشة 5)، الصورة الناتجة من تلوين المنطقة المعروضة تدلّ على أنّ المنطقة المحفوظة مُركّزة كُلِّها تقريبًا في منطقة كرويّة صغيرة في المبنى الفراغي. عمليًا هذا التسلسل يُنطوي حول نفسه ويُنتج جزءً منفصلاً وتقريبًا مُستقلًا في



شاشة 5: يظهر بالأزرق السماوي التسلسل المُشابه الموجود في بروتين LF والمسؤول عن الارتباط بالأنتيجين الواقفي

8. هل حسب رأيك الجين المُشفّر للأنتيجين الواقفي في بكتيريا *Bacillus cereus* أطول بكثير من الجين المُشفّر للأنتيجين الواقفي في بكتيريا *Bacillus anthracis*؟ فسّر بالاعتماد على طول كلِّ السجّل، نوع الجزيئة وتراصف التسلسلات الواحد مُقابل الآخر.

للمُعلم: ليس بالضرورة أن يكون هذا الجين أطول بكثير من الجين المُشفّر للأنتيجين الواقفي في بكتيريا *Bacillus anthracis*؛ السجّل الذي يصف تسلسل النتيجة يضمُّ تسلسلاً طويلاً جداً (190861_نوكلوتيد)، ولكن لا يُشفّر كلُّ هذا التسلسل لبروتين

الانتيجين الوافي. عملياً من خلال اسم السجلّ وصفه بإمكاننا أن نعرف أن السجلّ يصف بلاسيد يحمل بداخله جين الانتيجين الوافي بالإضافة إلى جينات أخرى. التسلسل الموصوف في هذا السجلّ هو لكل البلاسيد. بالاعتماد على مقارنة التسلسلات بإمكاننا أن نفترض أن طول الانتيجين الوافي أصغر بكثير. من الممكن أن يتواجد كل الانتيجين الوافي في المنطقة الموجودة بين نوكلونتيدي 10989 وبين نوكلونتيدي 13357. هذا هو الوقت المناسب للتوضيح للطلاب بأنه في حالات كثيرة تحمل البلاسميدات الطبيعية جينات تزيد من خطورة البكتيريا وتمنحها القدرة على المهاجمة أو الصمود في الخلية التي تُهاجمها. من الممكن أن يكون هذا هو الحال أيضاً في البكتيريا *Bacillus cereus*. من المثير أيضاً فحص إذا كان السمين الأخرين – المسبب المُميت ومُسبب الودمة – رابطين في هذه البكتيريا موجودان على البلاسيد أيضاً.

حتى نستطيع استعمال بكتيريا ذات درجة خطورة قليلة (*Bacillus cereus*) كجهاز نموذجي (كمعרכת مودل)، علينا أن نتأكد من أن هذه البكتيريا تحوي تسلسلات مُماثلة للسمين الآخرين. لهذا الهدف نكرّر عملية البحث مرّة أخرى بواسطة BLASTn لنبحث عن تسلسلات مُماثلة لتسلسلات السُموم أيضاً. أمامك تسلسل الجينات المُشفرة للسموم، المُسبب المُميت ومُسبب الودمة رابطين. نكرّر عملية البحث مع كل واحد من هذين التسلسلين. إن وجدت تسلسلات مُماثلة من البكتيريا *Bacillus cereus*، يجب عليك تسجيل كود التعرّف الخاص بها في دفترك.

9. بالاعتماد على نتائج البحث الجديدة، هل تتواجد تسلسلات مُماثلة للسمين في بكتيريا *Bacillus cereus*؟ إذا كان الجواب نعم، ما هو كود التعرّف الخاص بها؟

- أ. جزئياً، للمُسبب المُميت يوجد تسلسل مُماثل (كود التعرّف CP001406)، لكن لا يوجد تسلسل مُماثل لمُسبب الودمة.
- ب. جزئياً، لمُسبب الودمة يوجد تسلسل مُماثل (كود التعرّف DQ889680)، لكن لا يوجد تسلسل مُماثل للمُسبب المُميت.
- ج. نعم، للمُسبب المُميت يوجد تسلسل مُماثل (كود التعرّف CP001406) وأيضاً لمُسبب الودمة يوجد تسلسل مُماثل (كود التعرّف DQ889680).
- د. لا يوجد تسلسلات مُماثلة من البكتيريا *Bacillus cereus* لأي واحد من التسلسلين.

الجواب هو: ج. نعم، للمُسبب المُميت يوجد تسلسل مُماثل (كود التعرّف CP001406) وأيضاً لمُسبب الودمة يوجد تسلسل مُماثل (كود التعرّف DQ889680).

10. دلّت نتائج البحث على وجود تسلسل مُماثل للانتيجين الوافي في بكتيريا *Bacillus cereus*. هذا التسلسل المُماثل موصوف في السجلّ ذا كود التعرّف DQ889680. أيضاً لمُسبب الودمة يوجد تسلسل مُماثل والموصوف في السجلّ ذا نفس كود التعرّف (DQ889680). كيف يُمكن أن يكون الجينان موصوفان في نفس السجلّ.

للمعلم: السجلات غير محدودة لجين واحد. عملياً يُمكن أن يحتوي السجل على تسلسل لجين واحد (أو قسم من جين) ذا أي طول مُمكن، ويُمكن أن يصل طول التسلسل الذي يعرضه السجل إلى جينوم كامل. في الحالة المعروضة في السؤال، السجل ذا كود التعرّف DQ889680 يضمُّ تسلسل بلاسميد مصدره من بكتيريا *Bacillus cereus*. هذا البلاسميد يحتوي على عدد من الجينات المُشتركة في آليّة عُنف البكتيريا (مנגونن اليموت)، من بينها الأنتيجين الواقي ومُسبب الودمة، ولذلك كود التعرّف لهذا السجل يظهر في نتائج البحث عن التسلسلين.

وجدنا أنّ بكتيريا *Bacillus cereus* تحتوي على بروتينات مُماثلة لجميع البروتينات التي تُسبب مرض الجمرة الخبيثة الموجودة في بكتيريا *Bacillus anthracis*: الأنتيجين الواقي وكلا السُمين -المُسبب المُميت ومُسبب الودمة. *Bacillus cereus* هي بكتيريا من سلالة قريبة لبكتيريا *Bacillus anthracis* لكنّها ذات خطورة أقل، لذلك هذه البكتيريا مُناسبة أكثر للتجارب التي ستُجرى في المُختبر لفحص نجاعة المُعيق التنافسي.

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

تلخيص الفعالية

تعقّبنا في هذه الفعالية عملية بحث متعدّدة المراحل، تودّي إلى تطوير مُعيق مُمكن ضدّ البروتينات المُسببة للمرض في بكتيريا الأنثراكس.

مبادئ تطوير المُعيق هي كالتالي: إيجاد منطقة مُماثلة (منطقة محفوظة) في تسلسلي السُمين (المُسبب المُميت ومُسبب الودمة)- أي إيجاد الموقع الذي يُستخدم لارتباط كل واحد منهما بالانتيجين الواقي؛ دراسة المبنى الفراغي لموقع ربط الأنتيجين الواقي، تصميم بيتيد ذا مبنى فراغي مُشابه لموقع الربط وبإمكانه مُنافسة السُموم على الارتباط بالانتيجين الواقي وبالتالي إعاقة عمل هذه السُموم.

لتحقيق هذه الأهداف استعنا بأدوات بيوانفورماتية مُختلفة: في البداية وجدنا بمُساعدة مُحرك البحث Entrez تسلسل البروتينات المُسببة للمرض لدى بكتيريا الأنثراكس. لكون اثنان منها- المُسبب المُميت ومُسبب الودمة - يرتبطان ببروتين الأنتيجين الواقي، افترضنا أنّه يجب أن تتوفر منطقة مُماثلة (منطقة محفوظة) في تسلسلي السُمين والتي تُستخدم لارتباط كل واحد منهما بالانتيجين الواقي. في المرحلة التالية استعملنا أداة مُقارنة التسلسلات ClustalW لإثبات هذه الفرضية وإيجاد المنطقة المحفوظة في تسلسلي السُمين. وجدنا منطقة محفوظة مكوّنة مما يُقارب 290 حامض أميني في بداية تسلسل كل واحد من السُموم. استعملنا بيئة العمل Jmole وبحثنا المبنى الفراغي للمُسبب المُميت. أظهر هذا التحليل أنّ المنطقة المحفوظة الموجودة في مُقارنة التسلسلات تنطوي كلّها تقريباً إلى مبنى كروي. عملياً، هذا التسلسل ينطوي حول نفسه ويُنتج جزءاً منفرداً ومُستقلاً تقريباً في البروتين. الآن وبين أيدينا هذه المعلومات، بإمكاننا تصميم مُعيق ذا مبنى مُشابه لمبنى موقع الربط في المُسبب المُميت ومُسبب الودمة، وحتى ذا ألفة (زיקه) أكبر للإرتباط بالانتيجين الواقي، هذا المُعيق يُنافس السُموم على الارتباط بالانتيجين الواقي. في مرحلة البحث الأخيرة بحثنا عن بكتيريا من صنف قريب لبكتيريا الأنثراكس، لكن ذات مستوى خطورة أقل وبإمكاننا استخدامها كنظام نموذجي (كمعרכת مودل) أقل خطورة لتخطيط تجارب في المُختبر، شرط أن تحتوي هذه البكتيريا على جينات مُماثلة بشكل كبير للبروتينات الثلاثة لدى بكتيريا الأنثراكس. من أجل فحص هذا الأمر استخدمنا أداة البحث BLASTn، للبحث عن تسلسلات مُماثلة لهذه البروتينات. لحسن حظنا اكتشفنا أنّ بكتيريا من سلالة قريبة لبكتيريا الأنثراكس العنيفة والمُسماة *Bacillus cereus* بالفعل

تحتوي على تسلسلات مُماثلة بشكل كبير للبروتينات الثلاثة. كل ما تبقى الآن هو التوجّه للمُختبر وتنفيذ التجارب لفحص نجاعة المُعيق.

الحرب البيولوجية والحرب المضادة- سموم وأدوية

مصادر وإثراء

- [بهלת האנתרקס: שני נדבקים נוספים](#), Ynet, 16.10.2001
- [ארה"ב: תעלומת האנתרקס נגמרה בהתאבדות](#), Ynet, 1.08.2008
- [גחלת](#), ויקיפדיה
- [חוקרי הטכניון פיתחו תכשיר ראשון מסוגו נגד חיידק האנתרקס](#), הידען, 2.01.2004
- [אם יש זרם, זה אנתרקס](#) (מאמר מתורגם בעברית על פיתוח נוגדנים), הידען, 22.09.2003