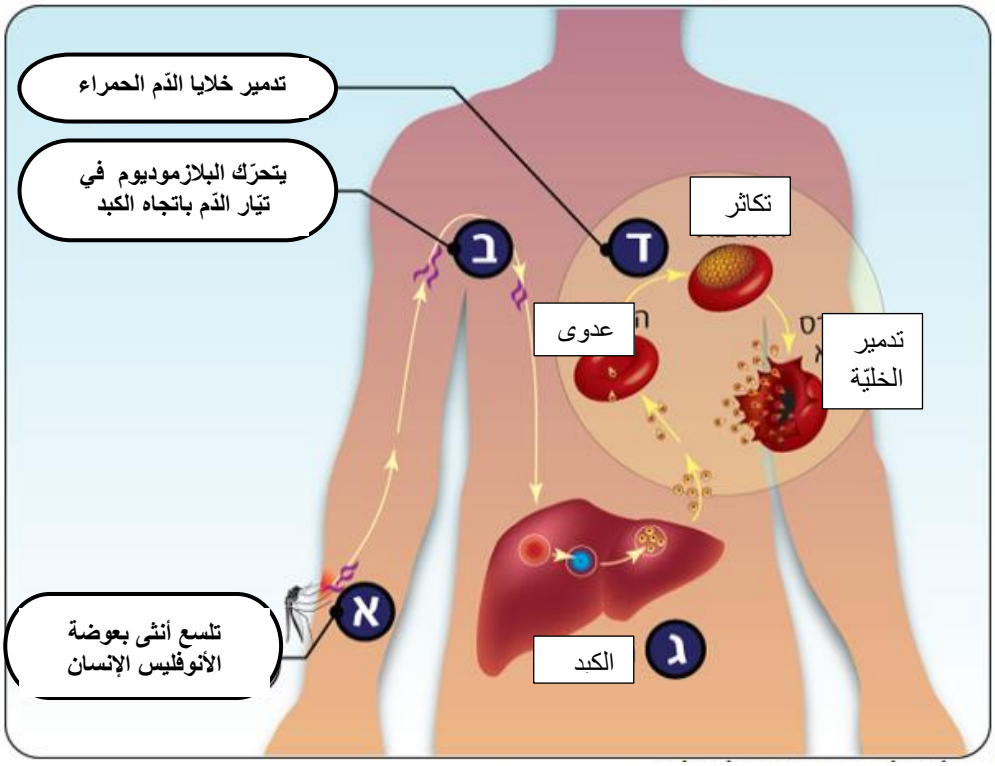
الطفرات تُنقذ الحياة

مُقدمة

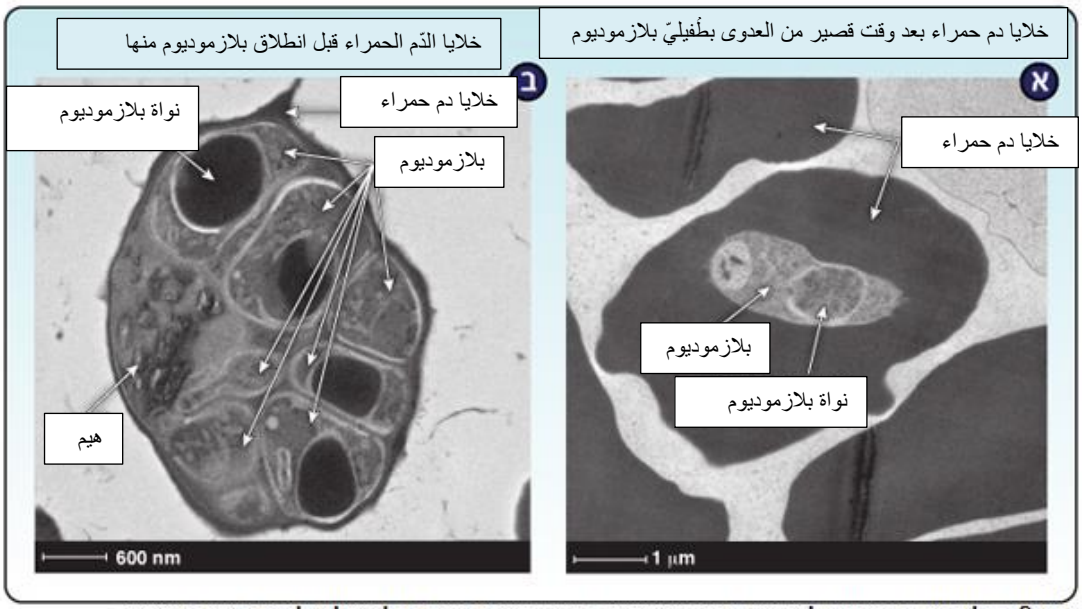
للمُعلم : بإمكانك أنْ تبدأ الدرس بمُراجعة قصيرة عن مبنى الجين عند الكائنات الحية حقيقيّة النواة وغير حقيقيّة النواة، المعلومات عن هذا الموضوع موجودة في فصل "المُقدمة البيولوجيّة" (קישור)

الملاريا (קדחת הביצות) هي مرض تلويثيّ يُسبِّبه طُفيليّ أُحادي الخليّة يُدعى مُتَصَوِّرة (أو بلازموديوم פְּלַסְמוֹדְיוּם (plasmodium))קישור. يتغلغل هذا الطُفيليّ إلى جسم الإنسان عندما تلسعه أنثى بعوضة الأنوفليس (אנופלס-anopheles)، يقوم الطفيليّ بمُهاجمة خلايا الكبد ويتكاثر داخلها (الرسم1). في المرحلة التاليّة تتحرَّر الطُفيليّات إلى تيّار الدَّم وتقوم بعدوى خلايا الدَّم الحمراء. تقوم الطُفيليّات خلال نموّها باستغلال بروتينات الخليّة، وبشكل أساسيّ تقوم باستغلال الهيموجلوبين ممّا يؤدي في نهاية الأمر إلى تدمير خلايا الدّم الحمراء.

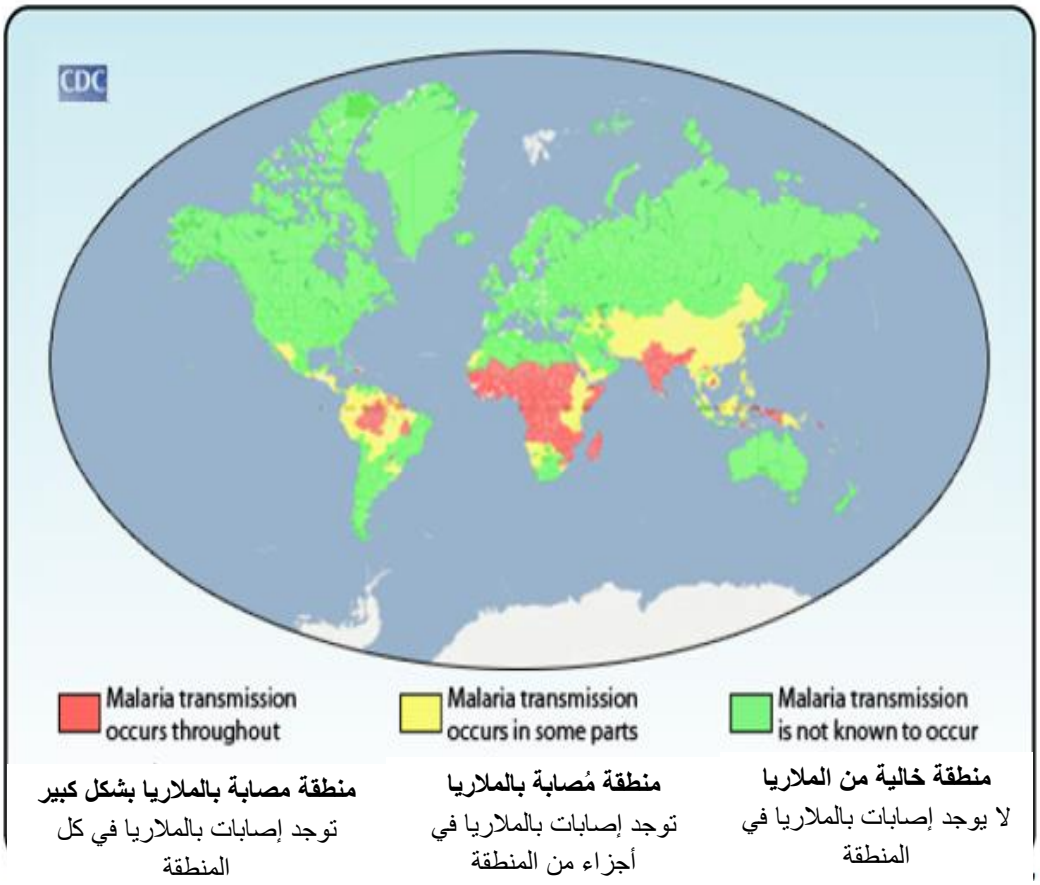


الرسم 1 : مراحل العدوى بطفيليّ الملاريا
أ. تلسع أنثى بعوضة الأنوفيس الإنسان وتُدخل طُفيليّ البلازموديوم إلى الجسم.
ب. يتحرّك الطُفيليّ في الدورة الدمويّة باتجاه الكبد.
ج. يتكاثر الطُفيليّ في الكبد وينتشر في الجسم.
د. يستهلك الطُفيليّ الهيموجلوبين الموجود في خلايا الدّم الحمراء ويؤدي إلى تدميرها.

عندما يُهاجم الطُفيليّ خلايا الدّم الحمراء، يكون قد فات الأوان للسيطرة عليه. في هذه المرحلة، تنطلق من كل خليّة دم طُفيليّات بلازموديوم جديدة وكثيرة تقوم بعدوى خلايا دم إضافيّة في الجسم (الرسم 2). تؤدي عمليّة تدمير خلايا الدّم الحمراء إلى حدوث نقص في هذه الخلايا ومن ثمَّ إلى فقر في الدّم (أنيميا) קישור يؤدّي في نهاية الأمر إلى الموت. لذلك، في إفريقيا وحدها يموت جراء هذا المرض 3000 طفل يوميًا (الرسم 3).



الرسم 2: يتغلغل البلازموديوم إلى خليّة دم حمراء، يتكاثر داخلها ويؤدي في النهاية إلى تدمير الخليّة المُصابة بالعدوى.
في المرحلة الأولي، تُصاب خليّة الدّم بالعدوى من طُفيليّ واحد، يشغل حجمًا صغيرًا من حجم خليّة الدّم الحمراء. في مرحلة مُتقدمة، يتكاثر الطُفيليّ وتتواجد منه عدة نُسخ في الخليّة وعندها تَشغل الطفيليّات معظم حجم الخليّة. بالإضافة إلى ذلك في هذه المرحلة بإمكاننا رؤية بلورات هيم (גבישי הֵם) في خليّة الدّم الحمراء.
صور لمقاطع عرضيّة لخلايا الدم الحمراء المُصابة بعدوى البلازموديوم في مراحل مُختلفة للعدوى تمَّ الحصول عليها بمُساعدة ميكروسكوب إلكتروني. مُقدمة من طالب البحث الون فاينر، بإرشاد البروفيسور مايكل الباؤوم، وبمُشاركة وحدة الميكروسكوبيا الالكترونية في معهد وايزمن للعلوم.

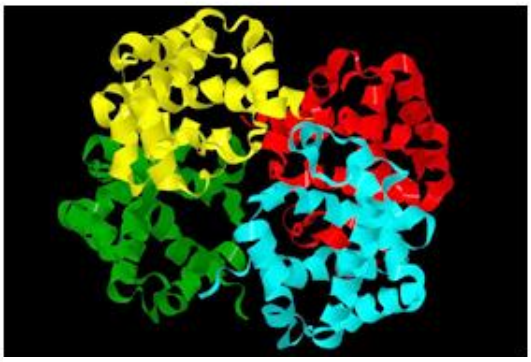


الرسم 3: خارطة لعرض انتشار الملاريا في أنحاء العالم
تقدمة مراكز مراقبة ومنع الأمراض (*Centers for Disease Control and Prevention*) في قسم الصحة والخدمات الإنسانيّة؛ للتوّسع http://www.cdc.gov/malaria

للتوّسع بموضوع العدوى وتطوّر مرض الملاريا يُمكن مشاهدة الفيديو الذي يظهر بالجهة اليُسرى

للمُعلمين: يطرح الفيديو موضوع الملاريا بتوّسع أكبر بكثير من النطاق الذي نحتاجه. يُستخدم الفيديو كإثراء ولا توجد حاجة لمعرفة جميع مراحل تطوّر الطُفيليّ حتى يتمكن الطالب من مُتابعة الفعاليّة.

اضافة الرابط

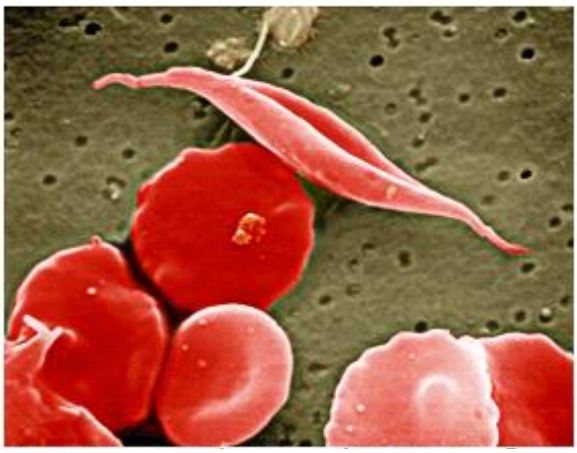


الرسم 4: المبنى الفراغي لبروتين الهيموجلوبين، ملون حسب الوحدات البروتينيّة

البروتين الأساسي الفعّال في نقل الأكسجين في خلايا الثديّات هو الهيموجلوبين קישור (الرسم 4). يربط الهيموجلوبين الأكسجين ويحرِّره في بيئات مُختلفة ويتعلّق ذلك بظروف مُتعدِّدة كالحامضيّة، تركيز الأكسجين وتركيز ثاني أكسيد الكربون وغيرها. وظيفة الهيموجلوبين الأساسيّة هي نقل الأكسجين من الرئتين إلى كلّ خلايا الجسم بواسطة تيّار الدَّم. ينقل الهيموجلوبين أيضًا قِسْمًا من ثاني أكسيد الكربون الذي ينطلق بعمليّة تنفس الخلايا إلى الرئتين. بروتين الهيموجلوبين هو تترامير، فهو بروتين مكوَّن من 4 وحدات بروتينيّة (טטרמר complex)، كذلك يحتوي هذا البروتين على 4 مجموعات هيم (הם-heme) تُمكّنه من ربط الأكسجين. معلومات موسّعة عن مبنى ووظيفة الهيموجلوبين موجودة في الموقع פרוטאופדיה.

קישור

يوجد في خلايا الدَّم عدد من الجينات التي تُشفِّر إلى أنواع مُختلفة من وحدات الهيموجلوبين (תתי יחידות ההמוגלובין): هيموجلوبين ألفا، هيموجلوبين بيتا وهيموجلوبين جاما. تُشكّل هذه السلاسل البروتينيّة وحدات البناء المُختلفة التي تُكوّن سوّيةً بروتين الهيموجلوبين الكامل.



الرسم 5: خلايا دم حمراء لإنسان مريض بفقر الدَّم المنجليّ بالمُقارنة مع خلايا دم حمراء لإنسان سليم

وُجدت في الماضي علاقة بين مُقاومة الملاريا وبين طفرات קישור في الجين المُشفِّر لوحدة هيموجلوبين بيتا. مثلًا وُجدت طفرة تُؤدي إلى تغيير في وحدة هيموجلوبين بيتا، وتؤدي إلى إنتاج بروتين طافر يُعرف باسم هيموجلوبين S، بالمُقابل يُعرف البروتين السليم بهيموجلوبين A. نتيجة للطفرة، ينتج بروتين ذا عُطب (فيه خلل) ويميل لإنتاج بوليمير קישור في الخلايا. نتيجة لتكوّن البوليميرات، تفقد خلايا الدَّم الحمراء شكلها الكرويّ وتحصل على صورة مُنْحنية وتتخذ شكل مِنْجَل (الرسم5). تُسبِّب هذه الطفرة فقر دمٍ حادٍ (أنيميا) يُعرف باسم فقر الدَّم المِنْجليّ. لقد وُجد أنَّ الأشخاص الذين يحملون هذه الطفرة يتمتعون بميزة خاصةٍ – مُقاومة الملاريا. هذه العلاقة بين الطفرة ومُقاومة الملاريا أدَّت إلى طرح فكرة البحث عن طفرات إضافيّة في جين الهيموجلوبين بيتا تمنح مُقاومة لمرض الملاريا ولكنْ بشكل مُناقض لبروتين S لا تُسبِّب فقر دمٍ مِنجليّ حاد. إذا وُجدت طفرات كهذه فبالإمكان استعمالها في المُستقبل كعلاج واقي ضدّ الملاريا.

من أجل البحث عن طفرات كهذه، نُفِّذ بحث واسع النطاق فَحَصَ تسلسل الجين المُشفِّر لهيموجلوبين بيتا لدى ما يُقارب 4500 طفل، بمُساعدة طُرق الهندسة الوراثيّة (PCR، تحديد التسلسل)קישורים. خلال البحث قارن الباحثون تسلسل الجين المُشفِّر لهيموجلوبين بيتا لدى أطفال

مرضى بالملاريا مع الجين لدى أطفال أصحاء. كان هدف البحث، تحديد طفرات في الجين المُشفِّر للهيموجلوبين بيتا التي تُميّز أطفال ذوي مُقاومة للملاريا، ومن ثمَّ فحص تأثير هذه الطفرات على صفات البروتين ووظيفته. مكّن هذا البحث من فهم الطفرات التي تمنح مُقاومة للملاريا ممّا يُمكِن أنْ يُساعد في تطوير تطعيم ضدّ الملاريا في المُستقبل.

نبحث في هذه الفعاليّة تسلسل الجين المُشفِّر للهيموجلوبين بيتا ونُحاول تحديد الطفرات التي بإمكانها مَنْح مُقاومة لمرض الملاريا. إذا وُجدت علاقة بين التغيير في تسلسل جين هيموجلوبين بيتا ومُقاومة الملاريا، من المُمكن أنْ يتمَّ استغلال هذه المعلومات في المُستقبل لتطوير علاج واقٍ ضدّ الملاريا. من أجل تحقيق الهدف يجب علينا مُقارنة تسلسل الجين المُشفِّر للهيموجلوبين بيتا الموجود لدى مرضى الملاريا مع تسلسل الجين الموجود لدى أشخاص لديهم مُقاومة لهذا المرض.

مراحل تنفيذ البحث :

- **المهمّة الأولى:** نبحث في مخازن المعلومات (مستودعات المعلومات)، بواسطة مُحرِّك البحث Entrez عن تسلسل الجين المُشفِّر لوحدة هيموجلوبين بيتا.
- **المهمّة الثانية :** يُقارن المُستخدِم **بواسطة الأداة** ClustalW بين تسلسلات الجينات المذكورة ويقوم بتحديد مكان الطفرات في تسلسل وحدة هيموجلوبين بيتا.

للمُعلّم: نهدف من خلال الفعاليّات التالية إلى تعرُّف الطلاب على إحدى الأدوات الأساسيّة والمركزيّة في البيوإنفورماتيكا – مُحرِّك البحث في مخازن المعلومات، Entrez. سنُركِّز في هذه المهمّة على البحث في مخازن معلومات تخزن تسلسلات من النوكلوئتيدات، سنستعمل المثال المذكور لأجل عرض الأسس العامّة للبحث الصحيح والدقيق في مخازن المعلومات. هذه الأسس صحيحة بالنسبة لمخازن المعلومات الموجودة بصيانة NCBI.

يتعلَّم الطلاب خلال الفعاليّة الثانية استعمال أداة بيوإنفورماتيّة إضافيّة - الأداة ClustalW لمُقارنة (لمُحاذاة) التسلسلات. سيتعرَّف الطلاب خلالها على طريقة تشغيل الأداة، طريقة تحليل المعلومات التي يحصلون عليها ومن ثمَّ التوصل إلى الاستنتاجات البيولوجيّة المناسبة من خلال هذه المعلومات.

الطفرات تُنقذ الحياة

مهمّة 1 : البحث عن تسلسل الجين هيموجلوبين بيتا بمُساعدة الأداة Entrez (صفحة 1 من 7)

هدف المهمّة

تهدف المهمّة إلى إيجاد تسلسل الجين المُشفِّر للوحدة هيموجلوبين بيتا في مخازن المعلومات (عمليًّا سنجد التسلسل المُشفِّر، أي ال RNA رسول). إنَّ الطريقة الأفضل لإيجاد التسلسل هي الاستعانة بمراكز البيوإنفورماتيكا، التي تُركِّز وتُدير مخازن المعلومات **קישור** وأدوات بيوانفورماتيّة كثيرة. سنستعين في هذا المثال بمخازن المعلومات الموجودة في الصفحة الرئيسيّة للموقع NCBI (National Center for Biotechnology).

مراحل المهمّة :

1. نستعمل مُحرِّك البحث Entrez لإيجاد سِجلّ يصف تسلسل جُزيئة RNA رسول (mRNA) لجين هيموجلوبين بيتا عند الإنسان.
2. نتعلّم عن مبنى السِجلّ وعن الطريقة التي تُمكِّن المُستخدِم من استخلاص المعلومات البيولوجيّة المطلوبة.

للمُعلّم : تُعرض فيما يلي أهداف ومراحل المهمّة.
1. النظر بنظرة خاطفة إلى مخازن المعلومات المُختلفة الموجودة تحت اشراف NCBI واختيار المخزن المناسب للفعاليّة.
2. التعرُّف على مُحرِّك البحث Entrez، طريقة استعماله والطريقة السليمة لإجراء بحث مُركَّز ودقيق بواسطته.

3. التعرُّف على مبنى السِجلّات الموجودة في مخازن المعلومات (هذه الفعاليّة تتركَّز في مخازن النوكلوئتيدات)، التعرُّف على الحقول المُختلفة الموجودة في هذه السِجلّات، فَهْم وتحليل المعلومات البيولوجيّة الموجودة في كلّ حقل منها.

الطفرات تُنقذ الحياة

مهمة 1 : البحث عن تسلسل الجين هيموجلوبين بيتا بمُساعدة الأداة Entrez (صفحة 2 من 7)

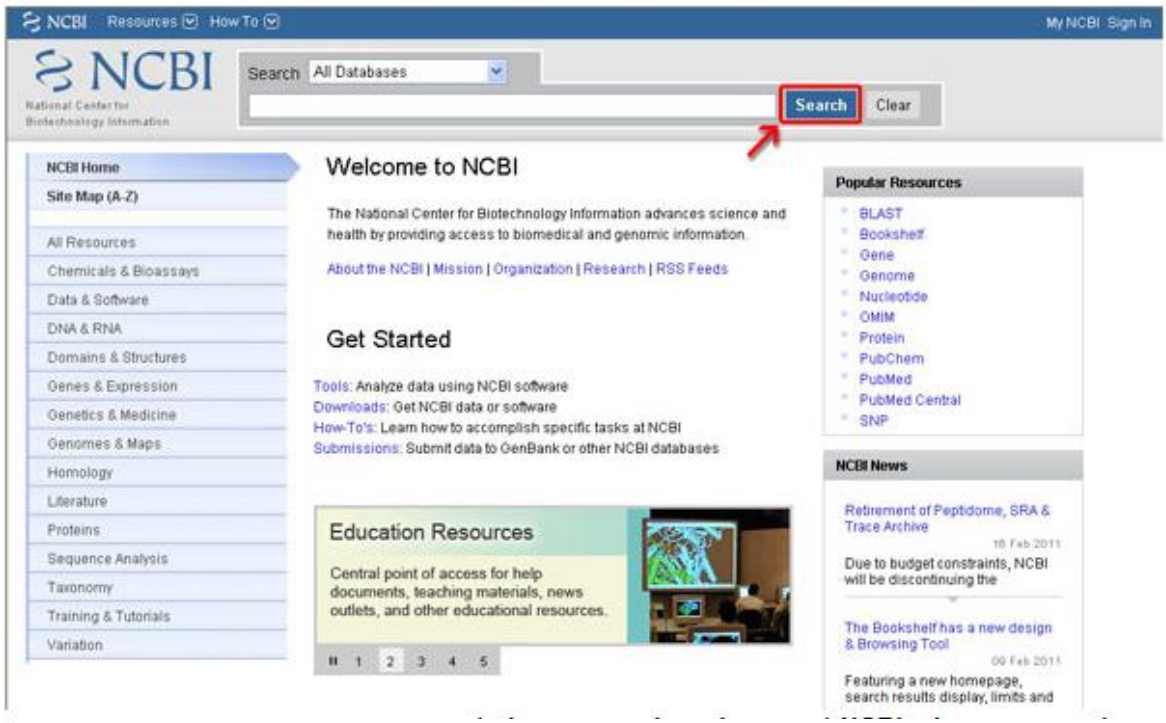
البحث عن سِجلّ (entry)

في هذه المرحلة، نبحث في مخازن المعلومات קישור عن سِجلّ يصف جُزيئة RNA رسول קישור (mRNA) لجين هيموجلوبين بيتا عند الإنسان.

من أجل البحث في مخزن المعلومات عن سِجلّ علينا أنْ نُنفِّذ العمليّات التاليّة:

1. اختيار مخزن معلومات مناسب.
2. البحث بواسطة مُحرِّك البحث Entrez.
3. تحديد نتائج البحث بمُساعدة استعمال امكانيّات التقييد (limits).

ندخل إلى الصفحة الرئيسيّة لموقع NCBI קישור(اضغطوا على الرّابط)(الشاشة 1).



الشاشة 1 : الصفحة الرئيسيّة لموقع NCBI (المركز القوميّ للعلوم البيوتكنولوجيّة)

عندما يظهر في نافذة ال Search الحقل "All Databases" نضغط على زر Search (شاشة 2). عندها نحصل على صفحة تظهر فيها كل مخازن المعلومات التي يقوم بصيانتها موقع NCBI والتي بإمكاننا البحث فيها.

الشاشة2 : مخازن المعلومات التي يقوم بصيانتها الموقع NCBI والتي بإمكاننا البحث فيها.

تضمّ هذه المخازن مخازن لتسلسلات نوكلوئتيدات، مخازن تسلسلات بروتينات، مخازن مقالات علمية، مخازن جينومات كاملة، مخازن مباني بروتينات ثلاثيّة الأبعاد، مخازن نماذج التعبير عن الجينات وغيرها (الشاشة 2). كل مخزن معلومات كهذا يضمّ ملفات عديدة تصف جُزيئات مُختلفة. مثلًا، بروتينات مُختلفة أو تسلسلات نوكلوئتيدات مُختلفة. يُسمّى كلُّ ملف في مخزن المعلومات بسِجلّ קישור .

يتمّ البحث في مخازن المعلومات المُختلفة بواسطة مُحرِّك بحث (بشكل مُشابه لمُحرِّك بحث شبكة الإنترنت Google). مُحرِّك البحث في NCBI يُدعى Entrez קישור

من المُفضَّل قبل مُتابعة المَهمّة مُشاهدة الجولة الإرشاديّة للأداة Entrez التي تشرح مبادئ الاستعمال الأساسيّة للأداة[בטרם נמשיך בפעילותינו מומלץ לצפות בסיור המודרך של הכלי Entrez המסביר עקרונות שימוש בסיסיים בכלי.]

اختيار مخزن/مستودع معلومات مناسب

يُنفَّذ البحث الناجع والذكي باختيار مخزن معلومات مناسب وبتركيز البحث في مخزن من هذا النوع فقط. نتمعّن في أنواع المخازن الموجودة في NCBI (الشاشة 2). علينا تنفيذ البحث عن تسلسل الجين المُشفِّر لهيموجلوبين بيتا.

1. أي نوع من مخازن المعلومات علينا أنْ نستعمل؟(للتوسع انظروا موضوع "مخازن المعلومات")

- أ. Protein (بروتين)
- ب.Nucleotide (نوكلوئتيد).
- ج. PubMed (مقالات).
- د.Structure (مبنى).

الإجابة هي: ب Nucleotide
نحن معنيون في هذه الفعاليّة بالعثور على تسلسل RNA رسول لجين هيموجلوبين بيتا لدى الإنسان، لذلك نختار مخازن لتسلسلات النوكلوئتيدات (Nucleotide). اضغطوا على رابط Nucleotide.

الشاشة 3: مخزن النوكلوئتيدات

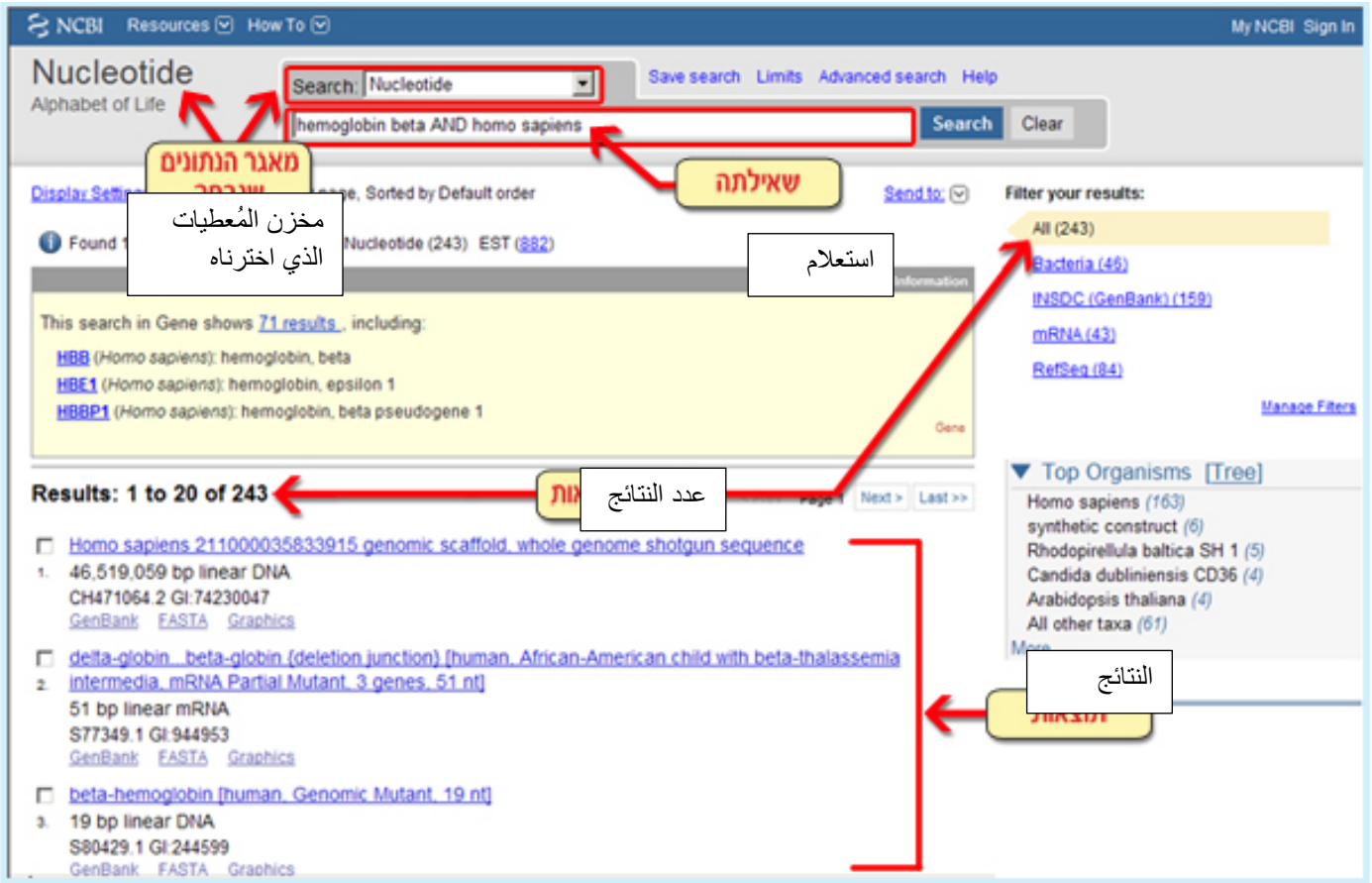
مهمّة 1 : البحث عن تسلسل الجين هيموجلوبين بيتا بمُساعدة الأداة Entrez (صفحة 3 من 7)

كيف يتمُّ البحث عن سِجلّ في مخزن المعلومات؟
يتمُّ البحث بواسطة مُحرِّك البحث Entrez، عن طريق تزويد كلمات بحث مناسبة واستعمال قوانين كتابة ملائمة لهذا المُحرِّك. تُعرف مجموعة كلمات البحث باسم استعلام بحث (שאלתה). مثلاً عندما نكتب الاستعلام pepsin AND mouse، نحصل على سِجلّات تصف تسلسلات مُشفِّرة لبروتين الببسين لدى الفأر.
في هذه الفعاليّة نحن معنيّون بإيجاد تسلسل الجين hemoglobin لدى الإنسان (Homo sapiens). قوموا بصياغة استعلام بحث دقيق لإيجاد التسلسل الملائم.
2. ما هي كلمات البحث التي يجب علينا كتابتها في نافذة البحث (السطر الأول في الشاشة)؟

الآن زوِّدوا نافذة بحث الأداة Entrez بكلمات البحث واضغطوا على Search. انتبهوا – في بعض الأحيان تتغيّر واجهة الأداة (ממשק הכלי)، ولكنْ سطر البحث يتواجد غالبًا مُقابل أو أسفل النافذة التي يُشار فيها إلى نوع مخزن المعلومات الذي نُنفِّذ فيه البحث، في هذه الحالة. Nucleotide

3. ما هو عدد النتائج التي حصلت عليها؟
   - أ. لم نحصل على نتائج.
   - ب. نتيجة واحدة .
   - ج. عشرات النتائج.
   - د. مئات النتائج.

الإجابة هي: د مئات النتائج
فيما يلي شرح الجواب. بجانب كلمة ALL في الجهة اليُسرى وفي الحقل קישורResults يُذكر عدد النتائج التي حصلنا عليها. تمَّ الحصول على 243 سِجلّ للنوكلوئتيدات التي تلائم استعلام البحث. انتبهوا أنَّه من الممكن أنْ تحصلوا الآن على عدد نتائج مُختلف عن هذا العدد بسبب التحديث المتواصل لمخازن المعلومات في الإنترنت קישור.
بإمكانكم رؤية نصّ الاستعلام في نافذة البحث: hemoglobin beta AND Homo sapiens. نحن معنيّون بإيجاد تسلسل RNA مُشفر لهيموجلوبين بيتا (hemoglobin beta)، و**أيضًا** أنْ يكون هذا التسلسل تابعًا للإنسان (Homo sapiens)، لهذا الهدف نُضيف بين كلمات البحث الكلمة **AND**. في تتمّة الصفحة يتم وصف السِجلّات التي تضمَّ بداخلها كلمات استعلام البحث، يظهر في كل نتيجةٍ اسم يصف التسلسل، ورابط للسِجلّ الذي يحتوي على تفاصيل إضافيّة عنه.



الشاشة 4: نتائج البحث عن الاستعلام "hemoglobin beta AND Homo sapiens"

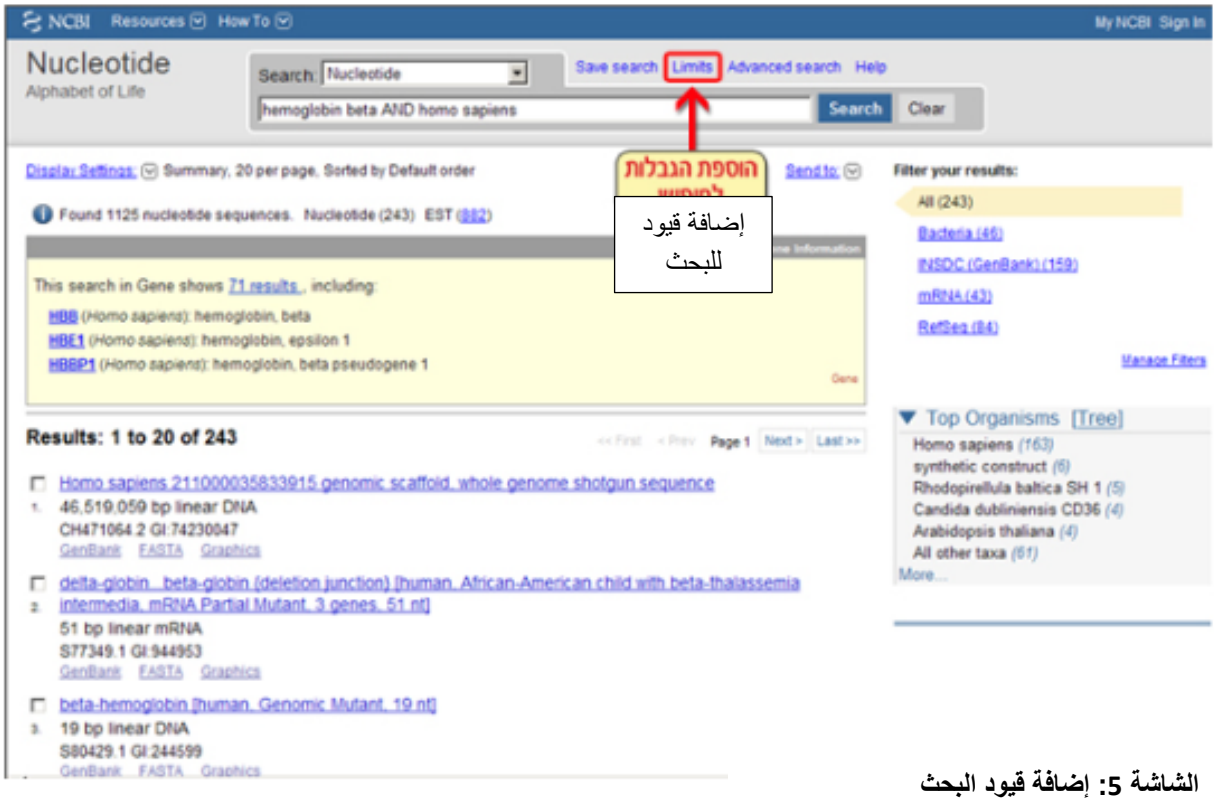
للمعلم : انتبهوا إلى أنَّه يتمُّ تحديث مخازن المعلومات بشكل متواصل، لذلك من المُمكن أنْ يتغيّر عدد السِجلّات التي تستجيب لشروط البحث، نُلاحظ أنَّ عدد النتائج يزداد مع تقدم الزمن، من المُمكن بل ومن المُفضّل استغلال هذه الفرصة من أجل تقديم تفسير للطلاب عن الفرق بين عدد السِجلّات التي حصلوا عليها عندما نفَّذوا البحث بالمُقارنة مع عدد النتائج الموجودة في صفحة الإجابة، وهكذا نُجسِّد لهم موضوع ديناميكيّة مخازن المعلومات وتراكم المعلومات فيها.

الطفرات تُنقذ الحياة

مهمّة 1 : البحث عن تسلسل الجين هيموجلوبين بيتا بمُساعدة الأداة Entrez (صفحة 4 من 7)

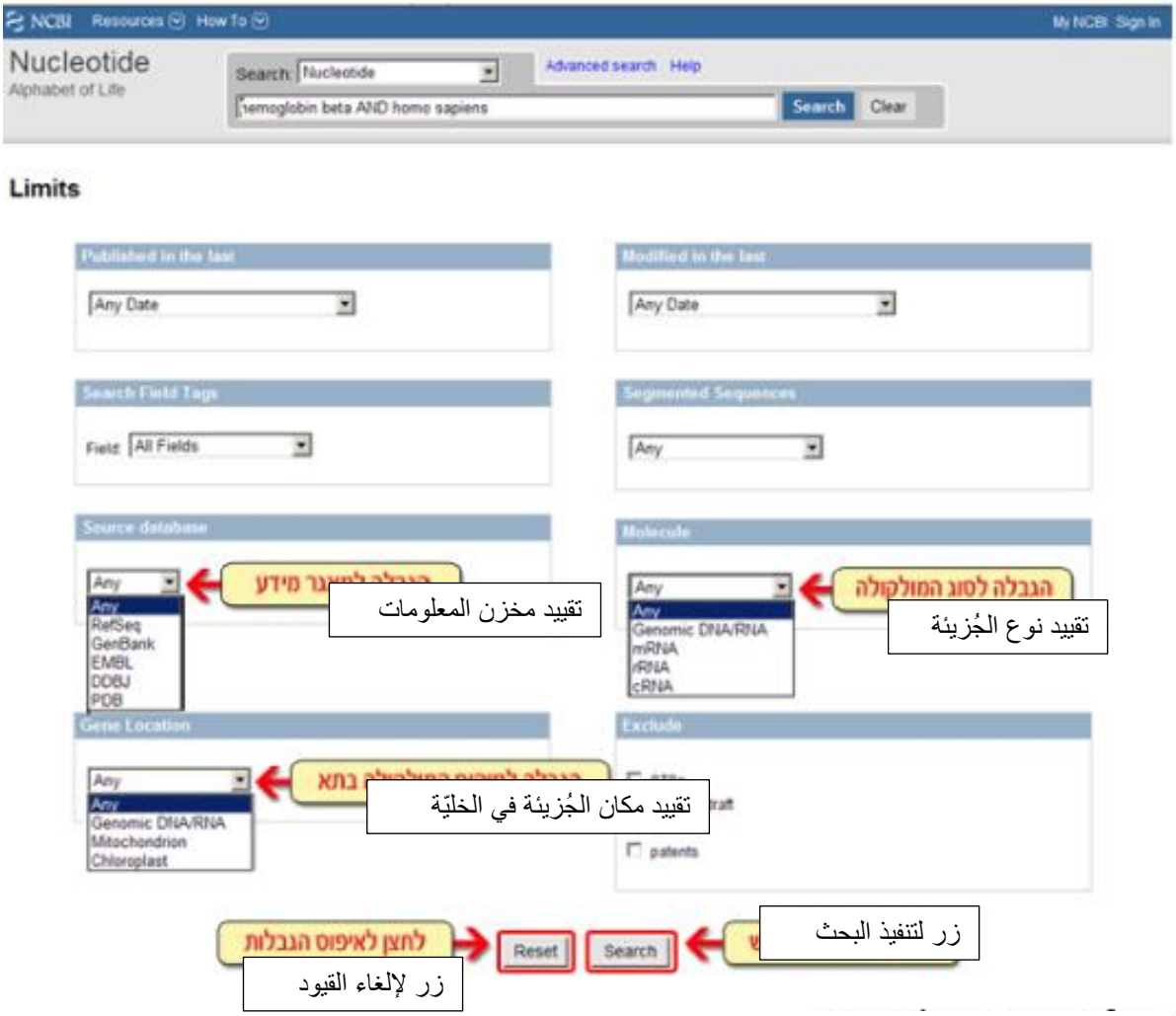
تحديد نتائج البحث بمُساعدة استعمال إمكانيّات التقييد (Limits)

كما لاحظنا، تمَّ الحصول على عدد كبير من النتائج. بما أنَّ العدد كبير لا يمكننا فحص كل واحد من هذه السِجلّات بشكل دقيق لإيجاد التسلسل المطلوب، لذلك علينا إضافة قيود تركِّز البحث عن السِجلّات التي تصف جُزيئة RNA رسول لهيموجلوبين بيتا لدى الإنسان فقط. لهذا الهدف نستعمل إمكانيّة التقييد الموجودة على الشاشة Limits. في شاشة limits يُمكن إضافة قيود إضافيّة على الاستعلام، مثلًا تقييد نوع الجُزيئة، مكانها في الخليّة، مخزن المعلومات الذي يتمُّ البحث فيه وغيرها. نضغط على الرابط limits من أجل فتح شاشة القيود (الشاشة 5). انتبهوا – في بعض الأحيان تتغيّر واجهة الأداة، لكنَّ الرابط limits موجود عادةً فوق أو تحت نافذة البحث (مكان تزويد استعلام البحث).



الشاشة 5: إضافة قيود البحث

كما نُلاحظ توجد في شاشة القيود، حقول مُختلفة تُمكِّن من تنفيذ التقييد (الشاشة 6). مثلًا، الحقل קישור molecule يُقيّد البحث لنوع الجُزيئة المطلوبة (DNA جينوميّ، DNAمُكمِّل- DNAמשלים קישורים وغيرها). الحقل Gene Location يُقيّد البحث لمكان الجين (كروموزوم، ميتوكندريا وغيرها קישורים). الحقل Source database يُقيّد البحث لمخزن معلومات مُعيّن. والحقل Published in the last يُقيّد البحث بحسب تاريخ النشر. انتبهوا أنَّ واجهة الأداة تتغيّر في بعض الأحيان، لذلك من المُمكن أنْ يختلف مكان الحقول قليلاً بالمُقارنة مع المعروض في الشاشة 6.



الشاشة 6: إمكانيّات تقييد البحث

4. أي إمكانيّة عليك أنْ تختار في شاشة Limits من أجل تقييد البحث لجُزيئة RNA رسول (mRNA) فقط؟ (لرؤية إمكانيّات الاختيار في الحقول المُختلفة يُمكن أنْ نضغط على السهم في كل حقل).

- أ. Molecule
- ب. Gene Location
- ج. Only from
- د. Published in the last .

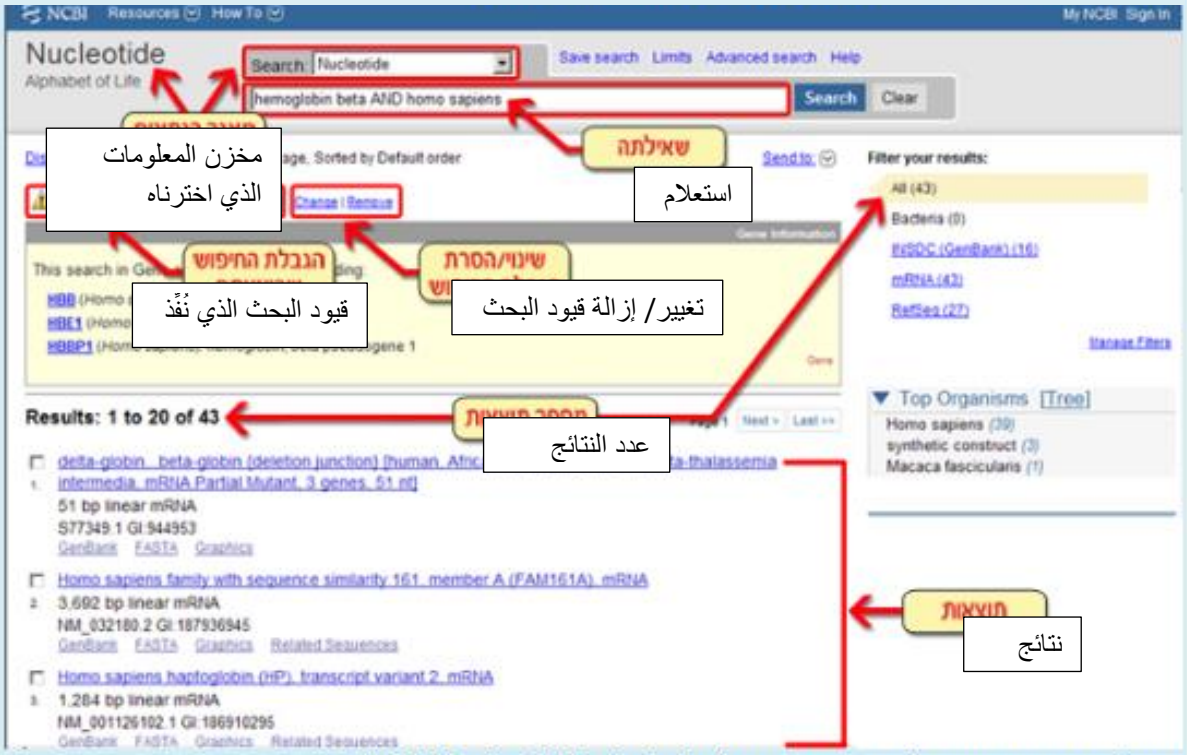
الإجابة هي: أ. Molecule

من أجل تقييد البحث ليقتصر على جُزيئات RNA رسول (mRNA)، نستعمل الإمكانيّة Limits. في شاشة التقييد في الحقل Molecule يجب أنْ نختار mRNA.

5. نفّذوا التقييد واضغطوا على Search. ماذا يحدث لعدد النتائج التي نحصل عليها.

- أ. كبر
- ب. صغُر
- ج. لم يتغيّر
- د. لا يُمكن المعرفة .

الإجابة هي: ب. صغُر. صغُر عدد النتائج إلى عدة عشرات.



الشاشة 7: نتائج البحث بعد إضافة التقييد لجُزيئة RNAرسول (mRNA).

في نتائج البحث، يُعرض بالنسبة لكل واحد من السِجلّات التي تُناسب استعلام البحث وقيوده، سطر يصف باختصار فحوى السِجلّ وتحته سطر آخر يحتوي على كود تعرُّف السِجلّ (קוד זיהוי רשומה). كود التعرُّف مُكوّن من أحرف وأرقام. في مُعظم مخازن المعلومات يُسمّى الحقل الذي يحوي كود التعرُّف بِاسم Accession. يدلّ كود التعرُّف على نوع المخزن الذي يتواجد فيه السِجلّ وعلى نوع الجُزيئة التي يحتوي عليها أيضًا.

للمُعلِّم : هكذا مثلًا، كود تعرُّف لسِجلّات مخزن RefSeq ذا الجودة العالية، يبدأ بحرفين بعدهما الإشارة "_" وتليها عادة 6 أرقام. في هذا المخزن كود تعرُّف سِجلّات تسلسلات الأحماض الأمينيّة يبدأ ب "NP"، بينما كود تعرُّف سِجلّات تسلسل جُزيئات mRNA يبدأ ب "NM"، أمّا كود تعرُّف سِجلّات التسلسلات الجينوميّة فيبدأ ب "NC" وهكذا. في المخزن GenBank، يختلف مبنى كود التعرُّف قليلًا عن هذا المبنى حيث تنقصه الإشارة "_" بالمُقارنة مع كود تعرُّف السِجلّات في المخزن RefSeq.

6. هل يبدأ كود تعرُّف كل السِجلّات يبدأ بنفس الأحرف؟

- أ. نعم.
- ب. لا.

الاجابة هي: ب. لا يبدأ كود تعرُّف كلُّ السِجلّات بنفس الأحرف.

مهمّة 1: البحث عن تسلسل الجين هيموجلوبين بيتا بمُساعدة الأداة Entrez (صفحة 5 من 7)

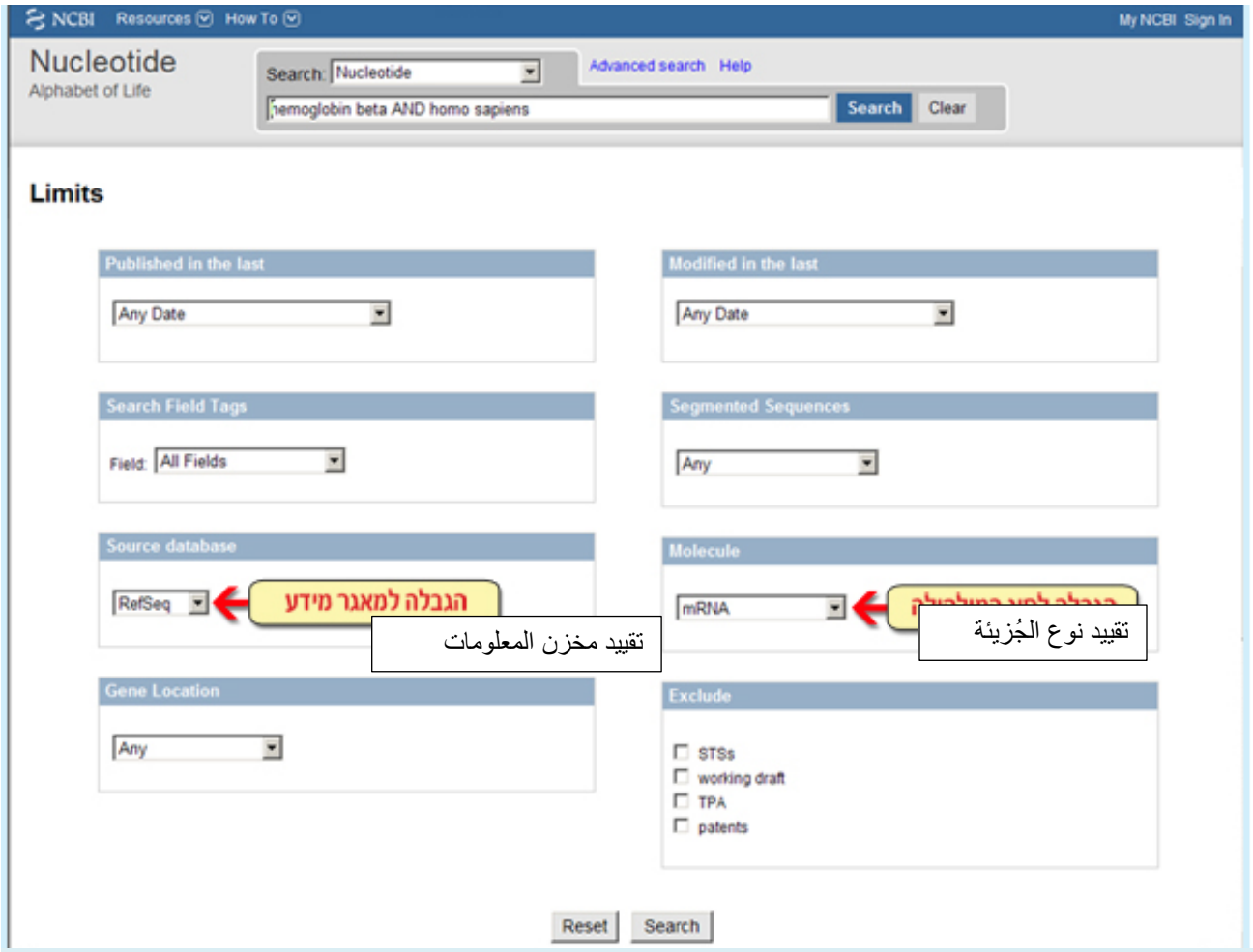
للسِجلّات التي حصلنا عليها كود تعرُّف يبدأ بأحرف مُختلفة (مثلاً NM_، BC، CH وغيرها). هذه البدايات المُختلفة لكود التعرُّف تدلُّ على أنَّ مصدر السِجلّات من مخازن معلومات مُختلفة للنوكلوئتيدات، حيث أنَّ كل مخزن يتميّز ببداية مُختلفة. من أجل تقليص عدد النتائج نقوم بتحديد البحث أكثر، يُمكن تقييد البحث في مخزن نوكلوئتيدات ذا جودة عالية، من بين مخازن النوكلوئتيدات المختلفة الموجودة (مثل RefSeq أو GenBank). نختار مثلًا المخزن المُسمّى RefSeq קישור (من أجل التعرُّف أكثر على أنواع المخازن المُختلفة، اضغطوا على الرابط مخازن معلومات).

اضغطوا مُجدّدًا على الرابط لشاشة ال- Limits من أجل تقييد البحث في مخزن المعلومات RefSeq.

7. نُنفِّذ التقييد. أي حقل يجب أنْ تختار في شاشة ال – Limits؟

- أ. Molecule
- ب. Gene Location
- ج. Source database
- د. Published in the last
-

الإجابة هي: ج. يجب اختيار الحقل Source database.



השאלה 8: תקיד מסד הנתונים RefSeq

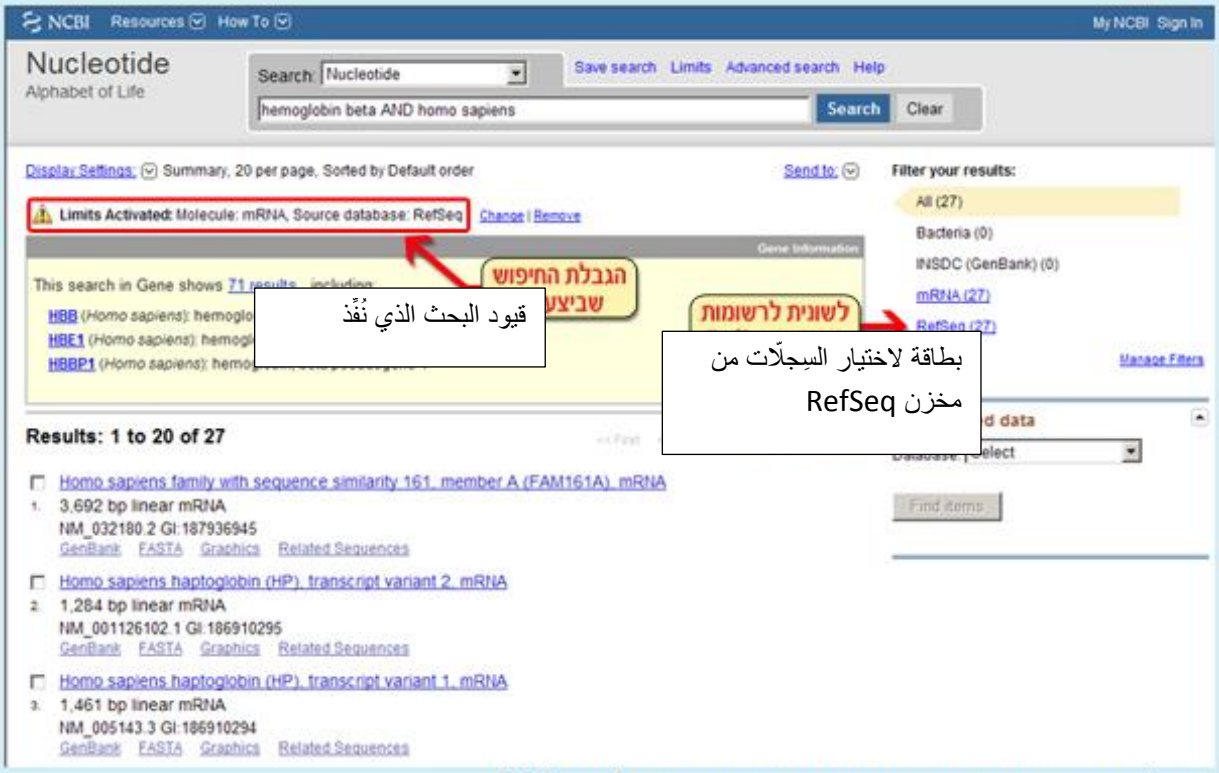
8. نفِّذوا التقييد واضغطوا على Search. هل تغيّر عدد النتائج التي حصلتم عليها؟

- أ. نعم
- ب. لا.

الإجابة هي: أ. تغيّر عدد النتائج التي حصلنا عليها.

انتبهوا: في بعض الأحيان بإمكانكم النظر إلى جزء من النتائج (مجموعة فرعيّة للنتائج) من خلال اختيار الرابط المُناسب.

مثلًا، في هذه الحالة يُمكن النظر إلى كل السِجلّات من مخزن النوكلوئتيدات RefSeq بدون استعمال الإمكانيّة (Limits)، وذلك من خلال اختيار الرابط المُناسب كما هو موصوف في الرسم.



الشاشة 9: عدد النتائج تقلّص بعد التقييد لمخزن RefSeq.

تقييد البحث في مخزن المعلومات Refseq قلَّص عدد النتائج التي حصلتم عليها بشكل كبير، والآن يُمكنْ أنْ نفحص النتائج بشكل أكثر تفصيلًا. انظروا إلى الأسطر التي تصف النتائج التي حصلتم عليها وأجيبوا عن الأسئلة التالية:

9. هل تصف كل النتائج جُزيئات RNA رسول (mRNA)؟

- أ. نعم
- ب. لا.

الإجابة هي: نعم تصف كل النتائج جُزيئات RNA رسول (mRNA).

10. هل كل النتائج تصف جُزيئات RNA رسول من مصدر إنسانيّ (بشريّ)؟

- أ. نعم
- ب. لا.

الإجابة هي: نعم كل النتائج تصف RNA رسول من مصدر إنسانيّ (بشريّ).

11. هل كل النتائج تصف التسلسل المطلوب التابع ل hemoglobin beta؟

- أ. نعم
- ب. لا.

الإجابة هي: لا، لا تصف كل النتائج التسلسل hemoglobin beta.

12. لماذا حسب رأيكم حصلتم على نتائج متنوعة؟

للمُعلِّم : انتبهوا، بالرغم من القيود التي قُمنا بوضعها، عادة، تَعرض نتائج البحث في مخزن المعلومات نتائج غير مناسبة أيضًا. في هذه المهمّة قِسْم من النتائج التي حصلنا عليها لا تصف جين هيموجلوبين بيتا وإنَّما تصف جينات أخرى، مثلًا haptoglobin، السبب للحصول على نتائج تصف جينات أخرى يعود إلى أنَّ كلمات البحث hemoglobin beta تظهر في حقول معيّنة في السِجلّ الخاص بجُزيئة الجين الآخر. غالبًا يكون الحديث عن جينات ذات علاقة وظيفيّة مُعيّنة بالجين الذي نبحث عنه. لذلك على المُستخدِم اختيار النتائج المناسبة لبحثه.

الطفرات تُنقذ الحياة

مهمّة 1 : البحث عن تسلسل الجين هيموجلوبين بيتا بمُساعدة الأداة Entrez (صفحة 6 من 7)

تحليل سِجلّ يصف تسلسل جُزيئة RNA رسول المُشفِّرة لهيموجلوبين بيتا

تقلَّص عدد النتائج التي تُلبّي شروط البحث بشكل كبير بعد إضافة القيود المذكورة، الآن نستطيع فحص كل واحد من السِجلّات بدقة لإيجاد السِجلّ الذي يصف تسلسل جين الهيموجلوبين بيتا عند الإنسان. انتبهوا أنَّ قِسْم من النتائج التي حصلنا عليها يصف جينات أخرى، مثلًا الجين haptoglobin. السبب لذلك هو أنَّ كلمات البحث hemoglobin beta تظهر في حقول معيّنة في هذا السِجلّ.

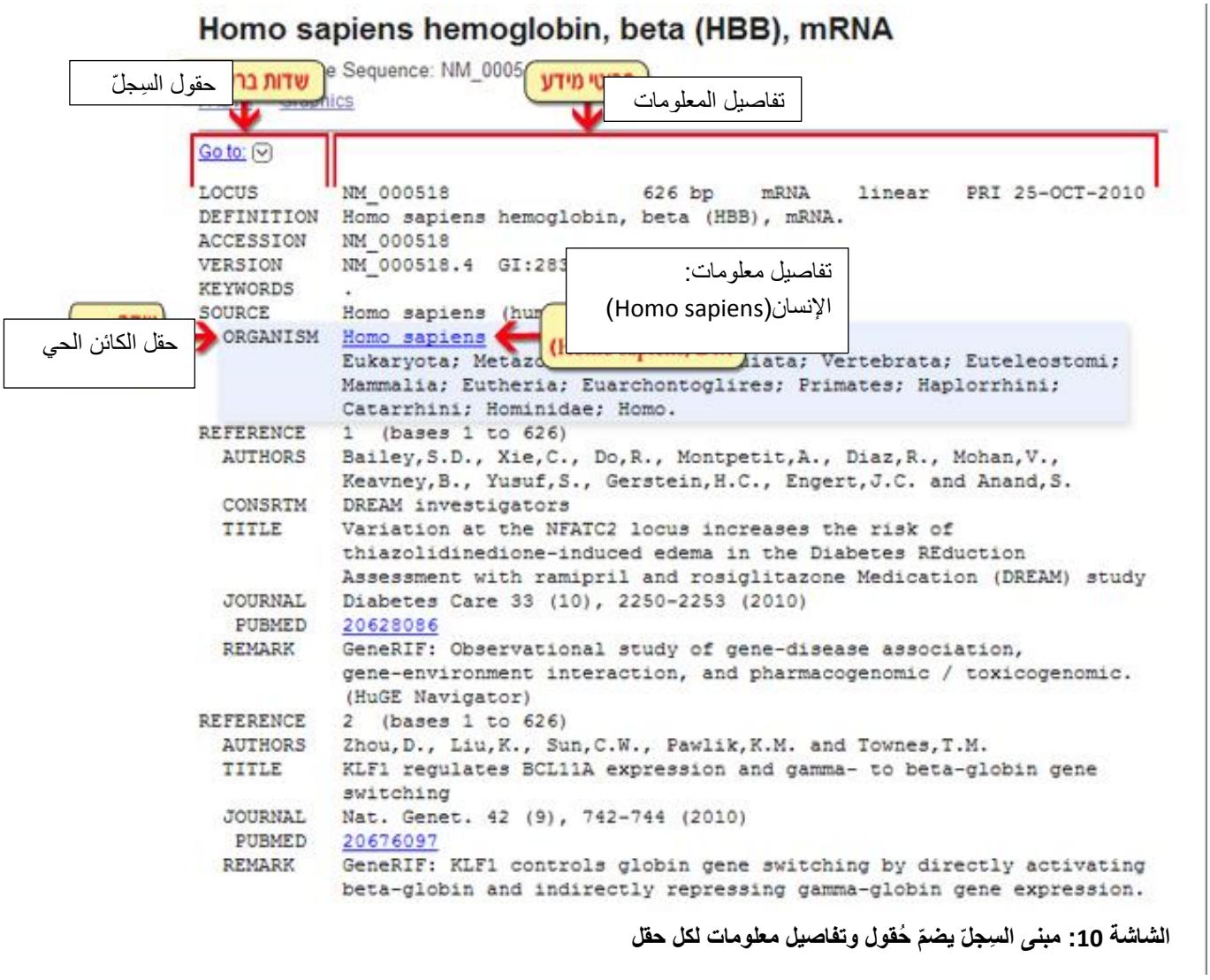
الآن علينا أنْ نختار سِجلًّا ملائمًا من أجل تحديد تسلسل الجين المُشفِّر لهيموجلوبين بيتا سليم (أليل A קישור). بعد أنْ نجد تسلسل الجين سنقوم بمُقارنته مع تسلسل هيموجلوبين بيتا لدى الأشخاص المُقاومين لمرض الملاريا. احتمال وارد جدًّا أنْ يكون بروتين هيموجلوبين بيتا لدى الأشخاص المقاومين لمرض الملاريا يحتوي على طفرات. عندما نُقارن بين تسلسل البروتين السليم وتسلسل البروتين لدى أشخاص مُقاومين للملاريا نستطيع أنْ نفحص وجود علاقة بين طفرات مُعيّنة في الجين المُشفِّر لهيموجلوبين بيتا وبين مُقاومة مرض الملاريا.

في هذا الفصل سنختار سِجلّ معيّن ونقوم بتحليل المعلومات الموجودة فيه. المعلومات التي نحصل عليها تضمُّ تسلسل جُزيئة RNA رسول المُشفِّر لهيموجلوبين بيتا إنسانيّ وتفاصيل مُهمّة أخرى.

لهذا الهدف سنتعلّم المواضيع التالية:
1. ما هو مبنى السِجلّات الموجودة في مخازن المعلومات.
2. كيف يُمكن تحديد معلومات بيولوجيّة مُعيّنة في هذه السِجلّات.

ما هو مبنى السِجلّ؟

السِجلّ النموذجيّ الموجود في مخزن المعلومات هو ملف مُقسَّم إلى حقول ثابتة (مواضيع فرعيّة) وإلى تفاصيل معلومات خاصة بكل حقل (شاشة 10). الحقول هي كلمات ثابتة ومُتطابقة في كل السِجلّات الموجودة في مخزن معلومات مُعيّن. بالمُقابل فإن تفاصيل المعلومات في كل حقل تختلف من سِجلّ إلى سِجلّ بالتلاؤم مع فحوى هذا السِجلّ. مثلًا في الحقل " ORGANISM" تظهر معلومات تصف الكائن الذي عُزل منه التسلسل (في المثال الموجود لدينا الإنسان، Homo sapiens). يُمكن أنْ تجد توسّع عن الحقول المُختلفة ومعناها في موضوع **מאגרי מידע** קישור.



الشاشة 10: مبنى السِجلّ يضمّ حُقول وتفاصيل معلومات لكل حقل

اختاروا من بين النتائج التي حصلتم عليها السِجلّ ذا كود التعرُّف NM_000518 (لإيجاد السِجلّ بسرعة يُمكن الضغط في نفس الوقت على الزر Ctrl و F، والضغط 000518 في نافذة Find: أو في نافذة جِد: (يتعلق بنوع ونسخة المُتصفح (דפדפן))

نضغط على الرابط الذي يصف هذا السِجلّ ونتمعّن في الحقول المُختلفة وتفاصيل المعلومات الموجودة فيها.

لم تجد السِجلّ؟ اضغط هُنا للمُساعدة. קישור

بالاعتماد على المعلومات الموجودة في السِجلّ، أجب عن الأسئلة التالية:

13. بالاعتماد على الحقل DEFINITION الذي يصف باختصار المعلومات الموجودة في الملف، أي وحدة من وحدات بروتين الهيموجلوبين توصف في هذا الملف؟

- أ. ألفا
- ب. بيتا
- ج. جاما
- د. دلتا.

الإجابة هي: ب. توصف في هذا الملف وحدة هيموجلوبين بيتا.

14. في أي حقل توجد معلومات عامة عن السِجلّ مثل: نوع الجُزيئة، طول التسلسل، تاريخ تحديث السِجلّ؟

- أ. REFERENCE
- ب. LOCUS
- ج.ORGANISM
- د. FEATURES

الإجابة هي: ب. معلومات عامة عن السِجلّ موجودة في الحقل LOCUS.

15. في أي حقل يتواجد التسلسل ذاته؟

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

الإجابة هي: ج. التسلسل موجود في الحقل ORIGIN.

16. اقروا التلخيص (Summary) الذي يظهر في الحقل Comments واختاروا الإمكانيّة التي تصف بروتين الهيموجلوبين بشكل صحيح:

- ا. الهيموجلوبين هو ديمير (דימר קישור) مبني من سلسلتيّ ألفا
- ب. الهيموجلوبين هو تترامير(טטרמר קישור) مبني من أربعة سلاسل ألفا
- ج. الهيموجلوبين هو ديمير (דימר) مبني من سلسلة ألفا وسلسلة بيتا
- د. الهيموجلوبين هو تترامير(טטרמר) مبني من سلسلتيّ ألفا وسلسلتيّ بيتا.

الإجابة هي: د. الهيموجلوبين هو تترامير(טטרמר) مبني من سلسلتيّ ألفا وسلسلتيّ بيتا.

17. انظروا إلى الحقل FEATURES المكوَّن من حقول فرعيّة تحوي معلومات عن مُميِّزات مناطق مُعيّنة في التسلسل. بحسب هذا الحقل:

أ. ما هو عدد الاكسونات (אקסון-exone קישור) في التسلسل؟ ما هي حدود كل اكسون؟

ب. لماذا لا تتمُّ الإشارة إلى الانترونات (אנטרונים-introns)קישור في هذا الحقل؟

ج. ما هو مجال نوكلوئتيدات التسلسل المُشفِّر؟

د. لماذا يختلف مجال النوكلوئتيدات التابع للاكسونات عن مجال نوكلوئتيدات التسلسل المَشفِّر؟

للمُعلم :

أ. ما هو عدد الاكسونات في التسلسل؟ ما هي حدود كل اكسون؟

الإجابة: حقل FEATURES يحتوي على معلومات عن نوكلوئتيدات ذات مُميّزات مُعيّنة في التسلسل (مثل: تسلسل مُحفِّز للنسخ (بروموتور)، مواقع ربط البروتينات، انترونات، اكسونات وغيرها). يتمّ ترتيب المواقع في الحقل بحسب ترتيب ظهورها في التسلسل. تتمّ الإشارة إلى مجال النوكلوئتيدات بالنسبة لكل منطقة مُميّزة بالإضافة إلى عرض معلومات عنها. في هذا المثال تسلسل RNA رسول (mRNA) مكوَّن من 626 نوكلوئتيد ويضمّ 3 اكسونات:

اكسون 1 : 1-142

اكسون 2 : 143-365

اكسون 3 : 366-626

ب. لماذا لا يُشار إلى الانترونات في هذا الحقل؟

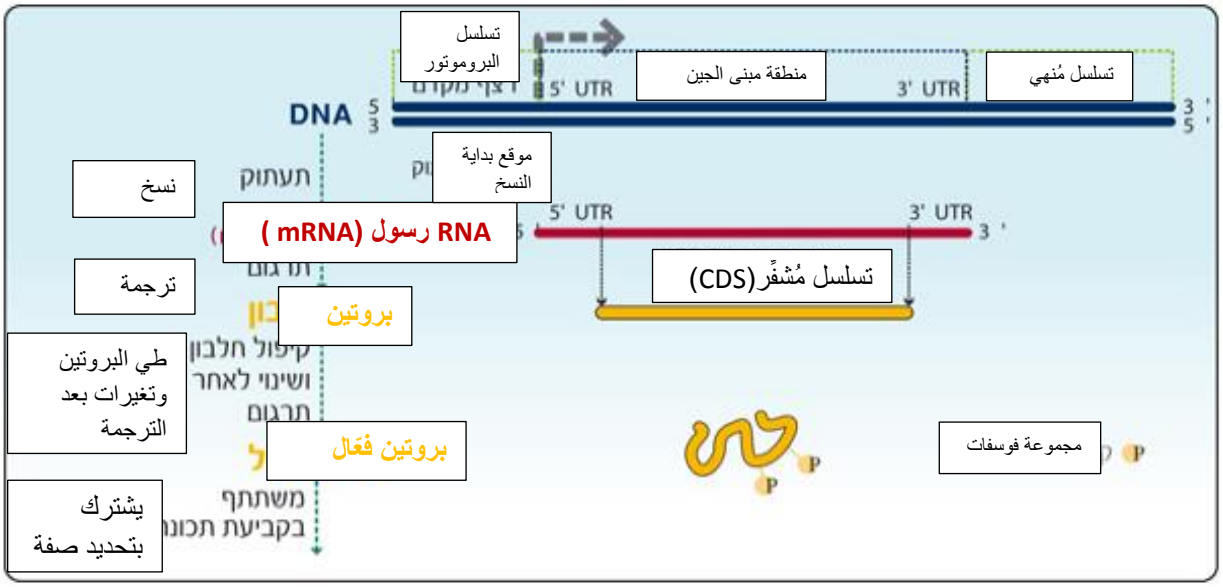
الإجابة: في هذا التسلسل لا يُشار إلى الانترونات لأنَّ الملف يصف جُزيئة mRNA ناضجة، أي جُزيئة mRNA مرّت بعمليّات المُعالجة وإزالة الإنترونات. المُميّز CDS (اختصار Coding Sequence) يصف المنطقة المُشفِّرة للبروتين (من الكودون المُشفِّر للمثيونين الأول حتى الكودون الذي يُشفِّر إلى كودون وقف الترجمة).

ج. ما هو مجال نوكلوئتيدات التسلسل المُشفِّر؟

الإجابة: في هذه الحالة المنطقة في تسلسل RNA رسول (mRNA) التي تُشفِّر إلى البروتين هي من النوكلوئتيد 51 إلى النوكلوئتيد 494.

د. لماذا يختلف مجال النوكلوئتيدات التابع للاكسونات عن مجال نوكلوئتيدات التسلسل المَشفِّر؟

الإجابة: السبب أنَّ مجال المنطقة المُشفِّرة لا يُغطّي الاكسونات الثلاثة كاملة، نابع من أنَّ جُزيئة mRNA تحوي مناطق غير مُشفِّرة (UTR-Un Translated Region) على طرفيّ التسلسل المُشفِّر. هذه المناطق تمرّ عملية نسخ (תעתוק) ولذلك تتواجد في جُزيئة ال RNA رسول (mRNA)، ولكنَّها لا تُشفِّر إلى بروتين وتُشكِّل عادةً منطقة مراقبة تؤثّر على نجاعة عمليّة الترجمة، ثبات RNA رسول (mRNA) ومكانه في الخليّة.



الطفرات تُنقذ الحياة

مهمّة 1 : البحث عن تسلسل الجين هيموجلوبين بيتا بمُساعدة الأداة Entrez (صفحة 7 من 7)

استعملنا في هذه الفعاليّة مُحرِّك البحث Entrez للبحث عن تسلسل الجين المُشفِّر لبروتين هيموجلوبين بيتا سليم في مخزن معلومات للنوكلوئتيدات. يُسمّى هذا التسلسل أليل A. في الفعاليّة التاليّة سنستعمل أدوات لمُقارنة تسلسلات (העמדת רצפים) קישור من أجل مُقارنة تسلسل أليل A مع تسلسل الجين الموجود لدى أشخاص لديهم مُقاومة لمرض الملاريا.

18. بالاعتماد على المعلومات التي اكتسبتموها في هذه المهمّة، ما هو مبدأ البحث بواسطة الأداة Entrez؟

للمُعلِّم :
Entrez هو مُحرِّك بحث يُمكِّن من البحث في مخازن المعلومات البيولوجيّة المُختلفة بحسب كلمات مُفتاح. مبدأ البحث هو تزويد مُحرِّك البحث باستعلام بحث يضمُّ كلمات مُفتاح تصف السِجلّ المطلوب. مُحرِّك البحث يُمكِّن من الوصول الفوريّ لكلِّ مخازن المعلومات التي يتواجد فيها الاستعلام أو اختيار مخزن معلومات واحد والبحث فيه. في حالة ظُهور كلمات البحث في حقل مُعيّن في السِجلّ يجد مُحرِّك البحث هذا السِجلّ ويعرضه كنتيجة للبحث. من المُفضَّل الحرص على اختيار كلمات مُفتاح صحيحة، وإجراء تقييدات ذكيّة على البحث للحصول على نتائج دقيقة.

لاحظنا خلال الفعاليّة أنَّ البحث في مخازن المعلومات يؤدّي غالبًا إلى الحصول على عدد كبير من النتائج، لذلك تعرَّفنا على طُرق لتركيز البحث ولتقليص عدد النتائج.

19. عدِّدوا الطُرق التي تُمكِّن من إجراء بحث مُركِّز بواسطة مُحرِّك البحث Entrez؟

للمُعلِّم:
هناك عدة طُرق لاستعمال ناجع لمُحرِّك البحث Entrez
1. اختيار مُناسب لكلمات البحث وتقييدها بواسطة استعمال AND و/أو OR و/أو الأقواس.
2. تقييد كلمة البحث لحقل مُعيّن بدلًا من البحث في كلّ السِجلّ. مثلًا السِجلّ الذي بحثنا عنه في هذه الفعاليّة يصف RNA رسول لهيموجلوبين بيتا ومع ذلك يضمّ ذكر لهيموجلوبين ألفا (في الحقل Comment). لذلك إدخال استعلام البحث Homo sapiens AND hemoglobin alpha بدون قيود إضافيّة يؤدي إلى الوصول إلى هذا السِجلّ بالرّغم من أنَّه لا يصف هيموجلوبين ألفا. من أجل الامتناع عن هذه الحالة يُمكن تقييد البحث عن الكلمات hemoglobin alpha للحقل DEFINITION بواسطة استعمال قَوسيْن مُربّعيْن.
3. استعمال إمكانية التقييد Limits التي تُمكِّن من إضافة قيود للبحث بما في ذلك تقييد للحقل، نوع الجُزيئة، نوع المخزن الفرعيّ (תת-מאגר) الذي يتمّ البحث فيه، تاريخ نشر السِجلّ وغيرها.

تنفيذ بحث ناجع يُمكِّن من العثور على عدد صغير من السِجلّات، بإمكاننا تحليل كل سِجلّ منها على حدة. في هذه المهمّة عثرنا على سِجلّ يصف جُزيئة RNA رسول تُشفِّر لهيموجلوبين بيتا في الإنسان، تعلَّمنا كيف نحلِّله ونستخلص منه معلومات بيولوجيّة.

20. بالاعتماد على السِجلّ الذي عُرض في هذه الفعاليّة، صِف ما هو مبنى السِجلّ؟ أي فروق تتوقّع أنْ تجدها بين السِجلّات المُختلفة الموجودة في نفس مخزن المعلومات وبين السِجلّات الموجودة في المخازن المُختلفة؟

للمُعلِّم :
كل السِجلّات الموجودة في مخازن المعلومات مبنيّة بمبنى ثابت. تحتوي السِجلّات على حقول ثابتة (مواضيع فرعية- תתי נושאים)، في كل حقل تتواجد تفاصيل معلومات خاصة. الحقول ثابتة في كل السِجلّات الموجودة في مخزن مُعيّن. وفقًا لذلك السِجلّات المُختلفة من نفس مخزن المعلومات تحوي دائمًا على نفس الحقول ولكنَّها تختلف عن بعضها بتفاصيل المعلومات الموجودة في كل حقل. تفاصيل المعلومات تُلائم المعلومات البيولوجيّة التي تصف السِجلّ. مثلًا السِجلّ الذي يصف الجين هيموجلوبين من الإنسان، يحوي في الحقل الفرعيّ

ORGANISM تفاصيل المعلومات Homo sapiens، بينما السِجلّ الذي يصف الهيموجلوبين من الفأر يحوي في الحقل ORGANISM تفاصيل المعلومات Mus musculus. بالمُقابل سِجلّات من مخازن معلومات مُختلفة، يُمكنها أنْ تحوي حقول مُختلفة تبعًا لنوع المعلومات التي على السِجلّ وصفها. مثلًا السِجلّ الذي يحوي الجين المُشفِّر لهيموجلوبين بيتا يحوي في الحقل FEATURES، حقول فرعيّة مثل Exon و Gene و CDS، التي تصف مُميّزات في تسلسل النوكلوئتيدات. بينما السِجلّ من مخزن البروتينات الذي يصف بروتين الهيموجلوبين بيتا، يحوي في هذا الحقل حقول فرعيّة مُختلفة مثل Protein Region و Site، التي تصف مُميّزات في تسلسل أحماض أمينيّة.

بعد أنْ عثرنا على السِجلّ المطلوب وقُمنا بتحليل المعلومات فيه، وبعد أنْ حصلنا على تسلسل جُزيئة RNA رسول لهيموجلوبين بيتا من الإنسان نحن جاهزون للمُقارنة بين هذا التسلسل وتسلسل الهيموجلوبين بيتا الذي عزلناه من أشخاص ذوي مُقاومة للملاريا.