الأداة ORF Finder

ORF Finder (Open Reading Frame Finder)- هي أداة للتنبؤ بإطار القراءة المفتوح، أي تسلسل النوكلوئتيدات المُشفِّر للبروتين.

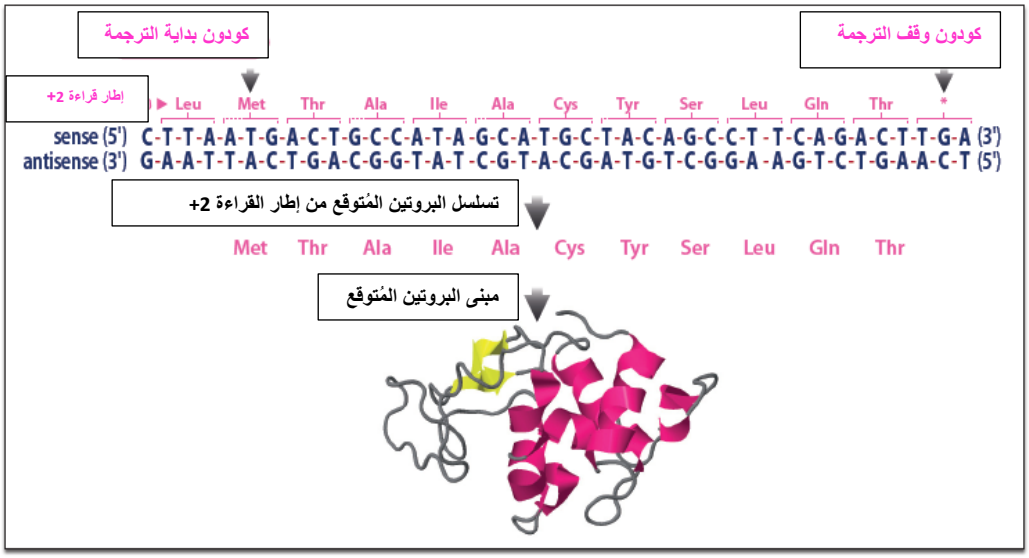
ORF Finder (Open Reading Frame Finder)- هي أداة للتنبؤ بإطار القراءة المفتوح، أي تسلسل النوكلوئتيدات المُشفِّر للبروتين، يحتوي كل مقطع من الDNA على 6 أطر قراءة مُحتملة، 3 أطر من كل جديلة، تختلف الأطر الموجودة في نفس الجديلة عن بعضها بالموضع الذي يبدأ فيه الكودون الأول. عادةً إطار قراءة واحد فقط من بين هذه الأطر هو إطار القراءة المفتوح المُشفِّر إلى البروتين، وهو ذلك الإطار الذي يحتوي على التسلسل المُشفِّر المُحتمل الأطول. الأداة ORF Finder تستقبل تسلسل من النوكلوئتيدات وتجد في كل واحد من أطر القراءة الستة تسلسلات مُشفِّرة مُحتملة (ممكنة). تأخذ الأداة بعين الاعتبار مكان وطول كل تسلسل مُشفِّر مُمكن. بالإمكان تحديد إطار القراءة المفتوح الأكثر احتمالًا وبالتالي التنبؤ بتسلسل الأحماض الأمينيّة الذي يتكوّن من هذا الإطار. بمُساعدة الروابط للأداة BLAST بإمكان الأداة أيضًا البحث عن جينات أو بروتينات معروفة ذات تسلسل مُشابه للتسلسل الذي نبحثه، وهكذا بإمكاننا التعرف على ماهية التسلسل الذي نبحثه ووظائفه.

ORF Finder (Open Reading Frame Finder)- توجيه للأداة في العنوان

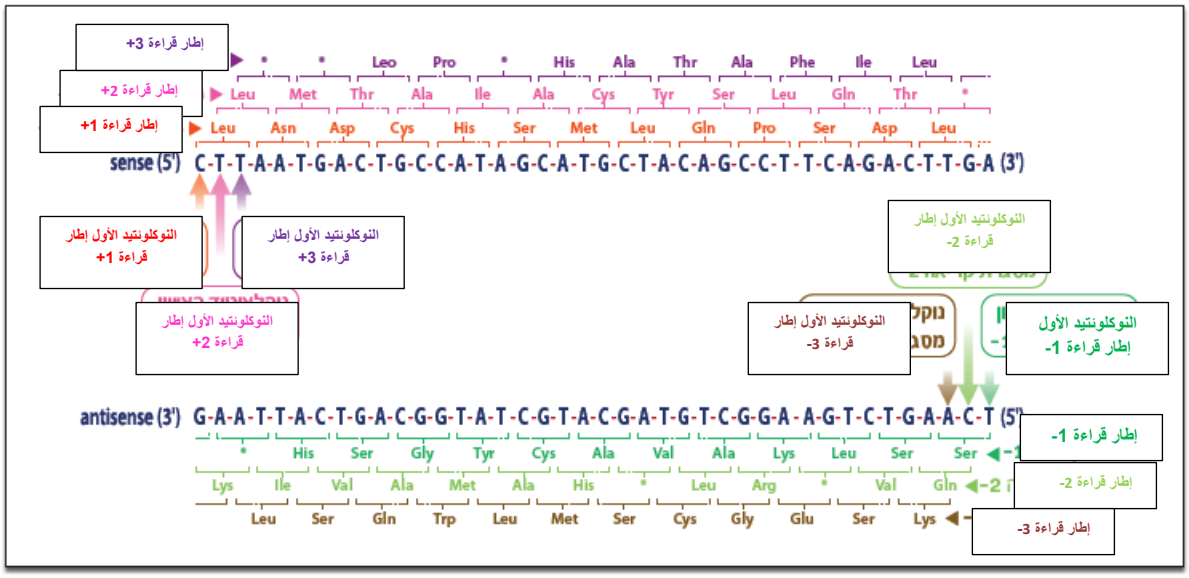
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/

أهلًا بكم في الجولة الإرشاديّة للأداة ORF Finder، الأداة المُستعملة للتنبؤ بتسلسلات النوكلوئتيدات المُشفِّرة للبروتينات.

مقطع DNA مُشفِّر إلى بروتين يمُرّ في البداية بعمليّة نسخ (תעתוק) لجُزيئة RNA رسول، تتمُّ ترجمة هذه الجُزيئة فيما بعد إلى بروتين. أحد التحديّات التي تُواجه الباحثين هي التنبؤ بالمقاطع الموجودة في الجينوم والتي تُشكِّل جينات مُشفِّرة للبروتينات، وأيضًا التنبؤ بتسلسل الأحماض الأمينيّة الناتج من خلال تسلسل النوكلوئتيدات.

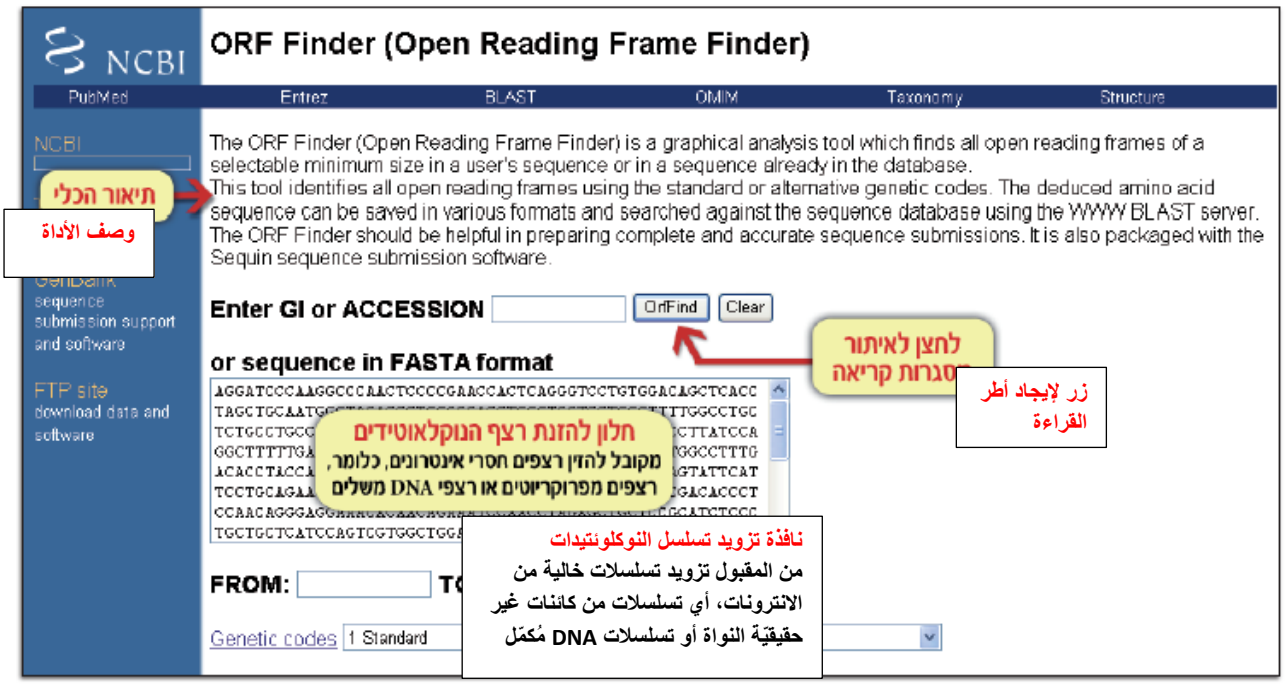


للقيام بذلك، يجب تحديد إطار القراءة المفتوح من بين أطر القراءة الستة المُمكنة في كل مقطع DNA. كل واحدة من جديلتي ال DNA تحوي على 3 أطر قراءة: يُشار إلى تلك الموجودة في جديلة ال-sense بالإشارة "+" (زائد)، وإلى تلك الموجودة في الجديلة anti-sense بالإشارة"-" (ناقص). تختلف أطر القراءة الموجودة في نفس الجديلة بالموضع الذي يبدأ فيه الكودون الأول، ويُشار لها بالأرقام "1" "2" و "3". إطار القراءة المفتوح الذي يُشفِّر بالفعل إلى بروتين يُسمّى Open Reading Frame أو بإختصار ORF. من أجل إيجاد إطار القراءة المفتوح، يجب أن نبحث عن تسلسل نوكلوئتيدات طويل قدر الإمكان، بدايته بكودون بداية ترجمة، استمراره كودونات تُشفِّر إلى أحماض أمينيّة، وينتهي بأحد كودونات وقف الترجمة.



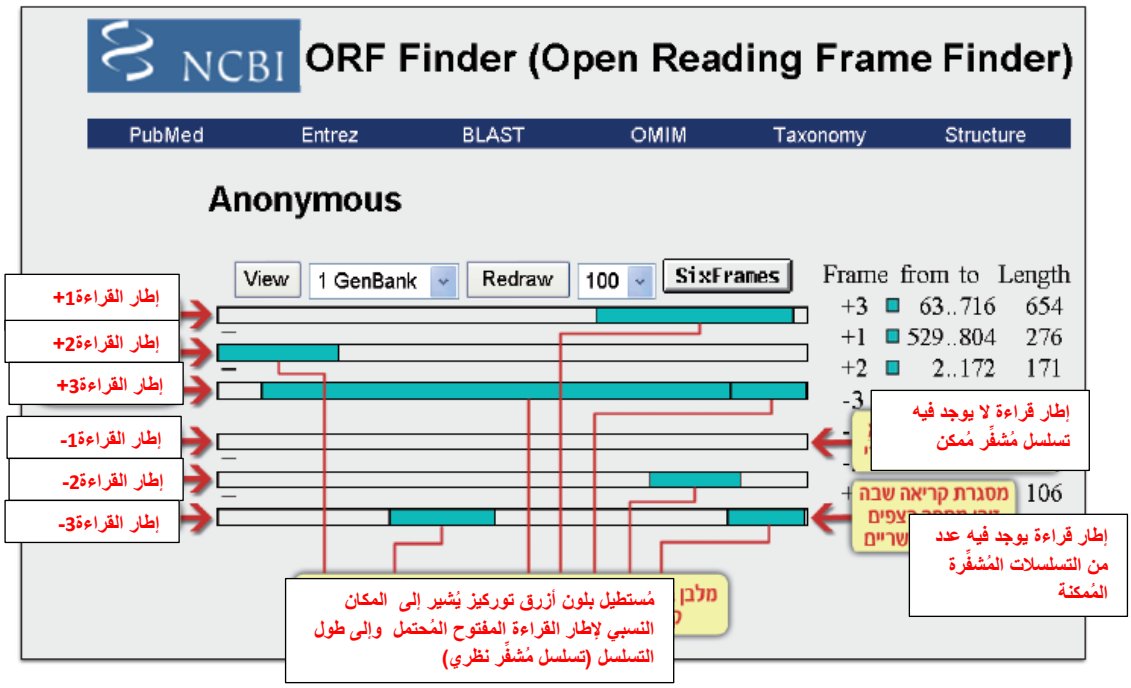
واجهة الأداة ORF Finder

تستقبل الأداة تسلسل من النوكلوئتيدات وتَعتبر كل تسلسل النوكلوئتيدات الذي تستقبله تسلسلًا مُشفِّرًا مُمكنًا، لذلك من المقبول أنْ يتمّ تزويد الأداة بتسلسلات خالية من الانترونات، كتسلسل جينات من كائنات غير حقيقيّة النواة أو تسلسلات من الDNA المُكمِّل من كائنات حقيقيّة النواة. بالإمكان إلصاق التسلسل في نافذة التسلسلات أو كتابة كود تعرُّف السِجلّ Accession number في النافذة المُناسبة. من أجل تنفيذ المسح يجب الضغط على OrfFind. الآن تقوم الأداة بمسح التسلسل المُزوّد وتبحث في كل واحد من أطر القراءة الستة عن تسلسلات مُشفِّرة مُمكنة.

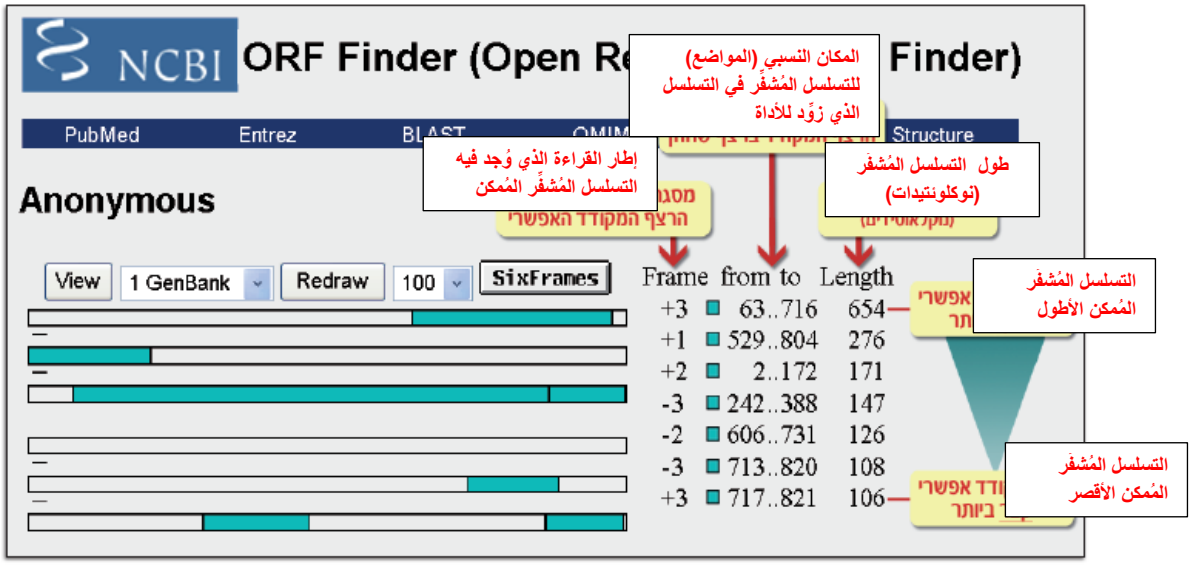


تحليل صفحة النتائج

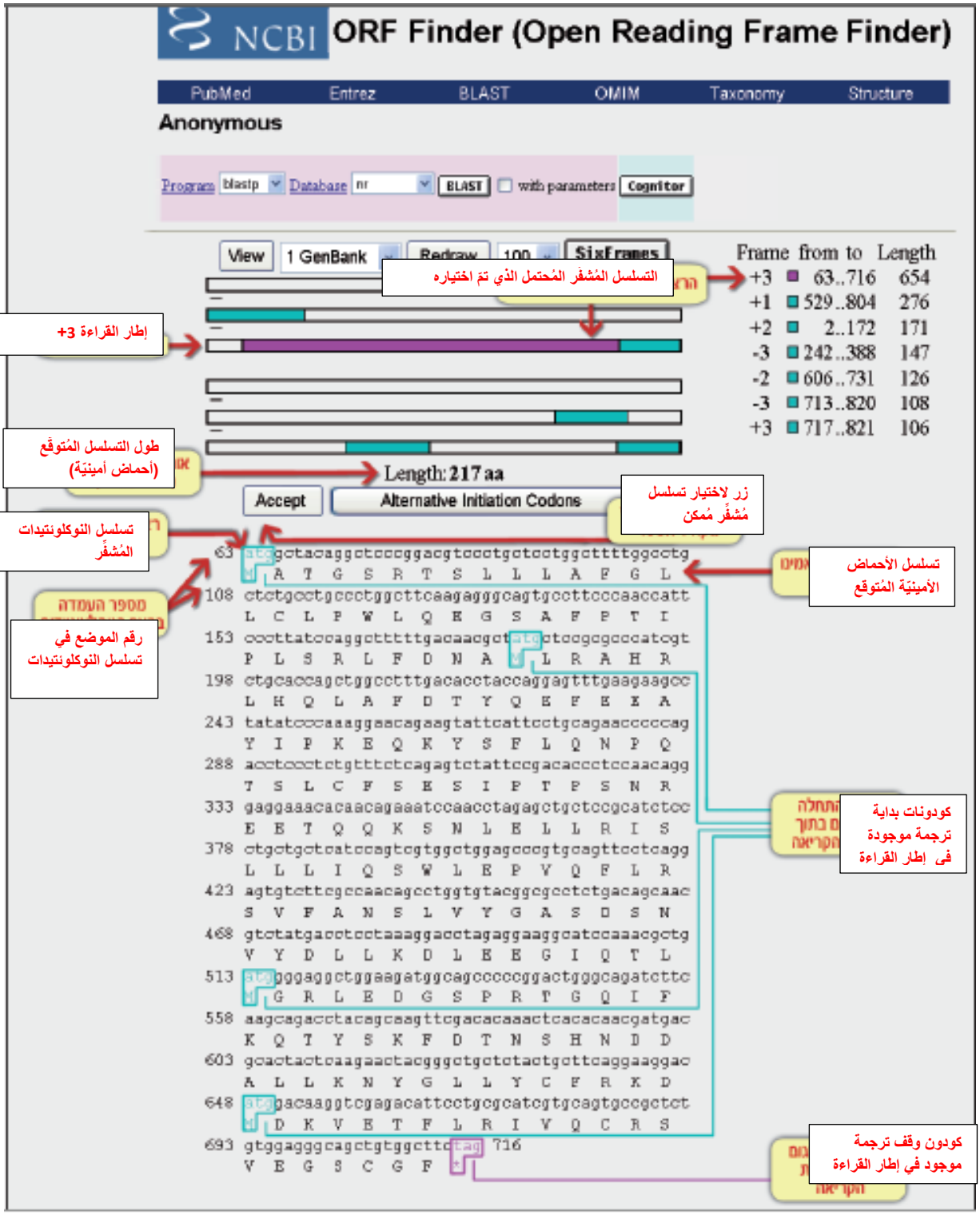
تُعرض النتائج على شكل وصف كلامي وبياني. يُمثِّل كل مُستطيل أبيض إطار قراءة. في البداية تُعرض 3 أطر قراءة من جديلة الsense: "1+"، "2+" و"3+"، بعدها تُعرض 3 أطر قراءة من جديلة الanti-sense"1-"، "2-" و"3-". تُعرض أطر القراءة المفتوحة المُمكنة أو التسلسلات المُشفِّرة النظرية بلون أزرق توركيز، ومكانها داخل المُستطيل الأبيض يُشير إلى مكانها النسبي في التسلسل المُعطى. بالإمكان وجود أطر قراءة لا تتواجد فيها تسلسلات مُشفرة مُمكنة بتاتًا، كذلك بإمكاننا أنْ نجد أطر قراءة تحتوي على عدَّة تسلسلات مُشفِّرة مُمكنة. من المُهمّ أنْ نتذكر في هذه المرحلة أنَّ نتائج الأداة هي فقط تنبؤات أوليّة، أي تسلسلات مُشفِّرة نظريّة. من المرجح أنَّ قسم من أطر القراءة المفتوحة المُمكنة التي عرضتها الأداة لا تُشفِّر إلى بروتين.



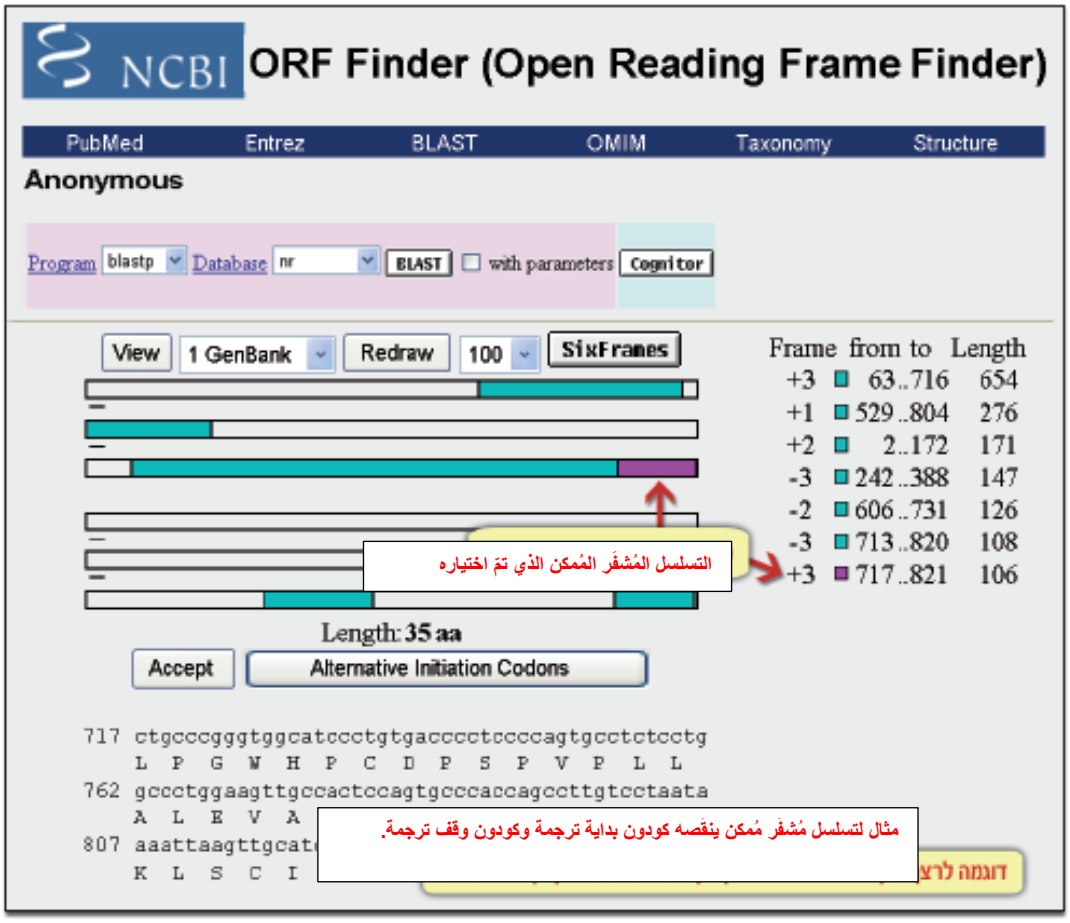
في الوصف الكلامي للنتائج، يتمّ ترتيب التسلسلات المُشفِّرة المُمكنة تنازليًا بحسب طولها، بحيث يُعرض إطار القراءة المفتوح الأطول والأكثر احتمالًا في أول القائمة. يُعرض لكل تسلسل مُشفِّر مُمكن إطار القراءة الذي نتج منه، مكانه النسبي في التسلسل المُزوّد للأداة وكذلك طوله (بالنوكلوئتيدات). إطار القراءة المفتوح يبدأ عادة بكودون بداية ترجمة، يُقرأ كودونًا تلوَ الآخر وينتهي بأحد كودونات وقف الترجمة، ولذلك يكون طول التسلسل الكلي من مُضاعفات الرقم 3.



لفحص تسلسل الأحماض الأمينيّة المُتوقّع من أحد أطر القراءة المفتوحة المُمكنة، يجب الضغط على إشارة التسلسل في الوصف البياني من الجهة اليُسرى أو على الوصف الكلامي من الجهة اليُمنى. نختار التسلسل المُشفِّر النظري الأطول، عندها سيتغيّر لون هذا التسلسل إلى اللون الزهري. تعرض الأداة تسلسل النوكلوئتيدات وتسلسل الأحماض الأمينيّة المُتوقَّع – كل حامض أميني تحت الكودون المُشفِّر له. حتى يكون الأمر سهلًا بالنسبة للمُستخدِم، يتمُّ تلوين كودونات بداية الترجمة المُمكنة باللون الأزرق التوركيز، وكودون وقف الترجمة باللون الزهري. يُعرض في بداية كل سطر رقم الموضع لتسلسل النوكلوئتيدات. في للتسلسل الذي اخترناه – التسلسل المُمكن الأطول والموجود في إطار القراءة 3+ - توجد عدَّة كودونات بداية ترجمة مُمكنة، الترجمة التي تبدأ في كودون بداية الترجمة الأول، تؤدّي إلى إنتاج بروتين بطول 217 حامض أميني.

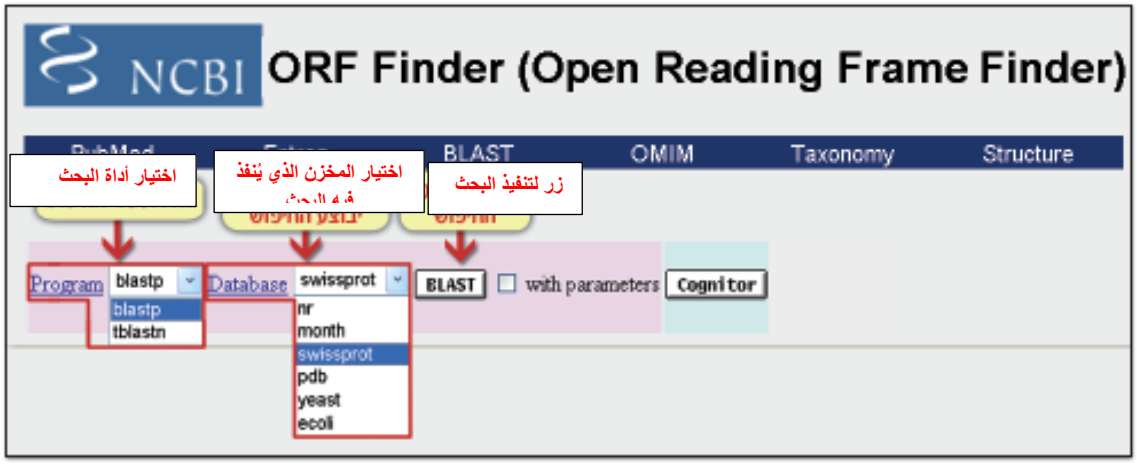


يجب أنْ يحتوي إطار القراءة المفتوح المُشفِّر للبروتين على كودون بداية ترجمة وكودون وقف ترجمة. في بعض الأحيان تعرض الأداة أيضًا تسلسل مُشفِّر مُمكن لا يحتوي على هذه الكودونات، على افتراض أنَّ كودون بداية الترجمة موجود قبل التسلسل الذي تمَّ تزويده للأداة (במעלה הרצף)، أو أنَّ كودون وقف الترجمة موجود بعد التسلسل المُزوّد للأداة (במורד הרצף). في هذه الحالات يجب التأكد من أنَّ الكودونات "الناقصة" موجودة بالفعل في تتمّة التسلسل، إذا لم تتواجد هذه الكودونات – فليس لهذا التسلسل أي معنى.

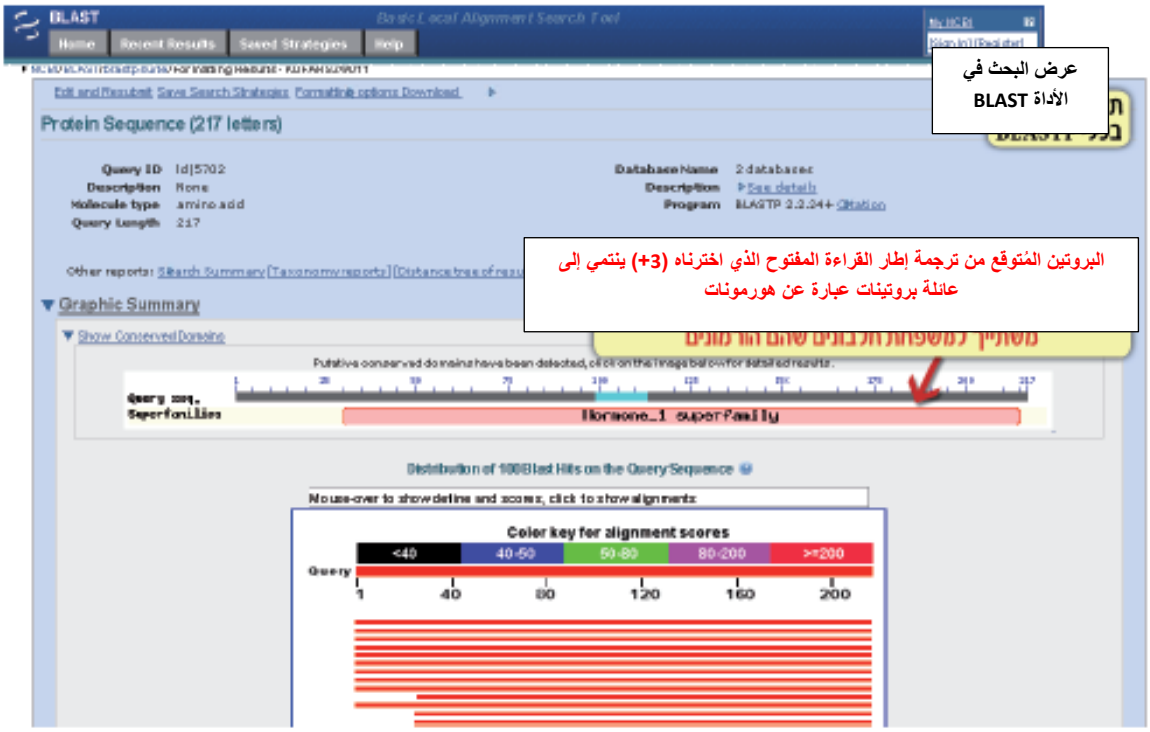


تحليل تسلسل البروتين المُتوقّع

في بعض الأحيان بعد إيجاد إطار القراءة المفتوح وتسلسل البروتين المُتوقّع، نرغب بفحص كون هذا الإطار يُشفِّر فعلًا إلى بروتين حقيقي، من هو هذا البروتين وإذا كان هذا البروتين يُشبه بروتينات أخرى معروفة. تُمكِّننا الأداة ORF Finder من تنفيذ بحث عن التسلسل المُشفِّر الذي اخترناه أو تسلسل البروتين المُتوقع بواسطة الأداة BLAST، مُحرِّك بحث عن التسلسلات. في النافذة Program نختار أداة البحث التي نرغب بها؛ عادة نختار blastp التي تبحث في مخزن تسلسلات بروتينات. نختار المخزن الذي نُنفِّذ فيه البحث في نافذة database؛ عادة نختار المخزن ذو الجودة العالية Swissprot. نُنفِّذ البحث بواسطة الضغط على BLAST.



نرى في هذا المثال أنَّ تسلسل البروتين المُتوقّع من إطار القراءة المفتوح الذي اخترناه هو هرمون؛ هرمون النمو لدى الإنسان (הורמון הגדילה).



تلخيص

تعرض الأداة ORF Finder التسلسلات المُشفِّرة المُمكنة في أطر القراءة الستة على شكل عرض بياني وكلامي. حيث تعرض لكل تسلسل مُشفِّر مُمكن مكانه في التسلسل الذي زوّدناه للأداة، تسلسل البروتين المُتوقّع منه وكودونات بداية ووقف الترجمة المُمكنة الموجودة في التسلسل. هكذا يستطيع المُستخدِم تحديد إطار القراءة المفتوح المُرجّح وفي أغلب الأحيان يكون هذا الإطار هو إطار القراءة الذي يحتوي على التسلسل المُشفِّر الأطول. الروابط للأداة BLAST تُمكِّن من البحث عن الجينات أو البروتينات المعروفة التي تُشبه بتسلسلها التسلسل الذي نبحثه، وهكذا نستطيع أنْ نعرف أكثر على التسلسل الذي نبحثه وعن وظائفه.

أنتم مدعوون لاختبار الأداة، نأمل أنْ تستمتعوا بوقتكم. بالنجاح!