

"سباق التسلُّح" ("مירוץ החימוש") - تطوير "جيل جديد" من المُضادَّات الحيويَّة (الأنْتبوتيكَا).

المَهْمَة III: تحديد هويَّة البروتين وفعاليتِه بواسطة البحث عن بروتينات مُماثلة (حلبونيم هومولوجيم) (صفحة 1 من 6)

هدف المَهْمَة :

بحوزتنا تسلسل البروتين الذي نتج في المَهْمَة السابقة من ترجمة تسلسل ال DNA الذي عُزل من الفطر. يُشَفَّر هذا التسلسل كما يبدو لإنزيم يشترك في إنتاج البنسلين، لإنزيم IPNS. كما هو الحال في الإنزيمات الأخرى يوجد للإنزيم موقع فعَّال [أثر فعيل](#) يقوم بنشاطه. يتركَّب هذا الموقع من عدد قليل من الأحماض الأمينيَّة الخاصة الضروريَّة لفعاليَّة سليمة للإنزيم. تحديد مكان الموقع الفعَّال في التسلسل الموجود لدينا يُشكِّل حقيقةً إضافيَّة تدعم أنَّ هذا التسلسل هو الإنزيم المذكور.

في هذه المَهْمَة سوف نحدِّد المواضع في تسلسل البروتين، التي تركَّب الموقع الفعَّال التابع له. في المرحلة الأولى سنجد بواسطة الأداة BLASTp بروتينات مُماثلة [هومولوجيم](#) من عائلة IPNS، والتي تمَّ تحديد وتشخيص الموقع الفعَّال فيها. بعدها نُقارن التسلسلات المُماثلة مع تسلسل البروتين الذي بحوزتنا لنعرف إذا كانت الأحماض الأمينيَّة التي تركَّب الموقع الفعَّال فيه مطابقة للأحماض الأمينيَّة التي تركَّب الموقع الفعَّال في البروتينات المُماثلة التي وجدناها.

للمعَّم: من المُفضَّل في المرحلة الأولى إجراء نقاش مع طلاب الصف والتشديد على أنَّ التماثل الذي لاحظوه على مستوى النوكليوتيدات هو فقط إثبات أوليِّ لهويَّة الإنزيم الذي يُشَفَّر له الجين. الآن ندعم هذا الاستنتاج بمُساعدة فحوصات إضافيَّة. كما لاحظنا عندما قارنا تسلسلات النوكليوتيدات، توجد مواضع عديدة يختلف فيها التسلسل الذي عزلناه عن التسلسلات المعروفة من النوكليوتيدات والتي تُشَفَّر للإنزيم IPNS. نبحث في هذه الفعاليَّة عن بروتينات ذات تسلسلات مُشابهة لتسلسل البروتين الذي نتج من ترجمة الجين المعزول، ونفحص إذا كان الجين الذي عزلناه هو بالفعل إنزيم IPNS. في القسم الثاني من الفعاليَّة نعود إلى المقارنة على مستوى تسلسل البروتين، خلال ذلك نركِّز على مواضع الموقع الفعَّال. إذا وُجدت في التسلسل الذي بحوزتنا نفس الأحماض الأمينيَّة التي تُركَّب الموقع الفعَّال للإنزيم IPNS (هذه المواضع هي مواضع محفوظة التسلسل خلال عملية النشوء والارتقاء)، هناك احتمال كبير أنَّ يُشَفَّر التسلسل المعزول إلى بروتين نشاطه كُنشاط الإنزيم IPNS.

لفحص إذا كان تسلسل البروتين المتوقَّع الموجود بحوزتنا (التسلسل المُترجم من المَهْمَة السابقة) هو بالفعل بروتين IPNS، ذا موقع فعَّال مُميِّز لإنزيمات من هذا النوع، نُنفِّذ الخطوات التاليَّة:

1. بواسطة BLASTp نبحث في مُستودعات معلومات تسلسلات البروتينات عن تسلسلات مُماثلة لتسلسل البروتين المُترجم (التسلسل المُتوقَّع).
2. نُقارن تسلسل البروتين الذي ترجمناه سابقًا مع تسلسل إنزيم معروف (من تسلسلات النتائج) يُشبهه بشكل كبير مع التركيز على مواضع الموقع الفعَّال.

للمعلم: تهدف الفعاليّة إلى عرض إجراءات البحث اللازمة من أجل تأكيد وجود موقع فعّال من نوع IPNS في تسلسل البروتين الذي بحوزتنا. تضمّ هذه العمليّة المراحل التالية:

1. التعرّف على الأداة BLASTp، التي تبحث عن تسلسلات مُماثلة لتسلسل البروتين الذي نقوم ببحثه.

2. تحليل مُحاذاة تسلسلات البروتينات واستخلاص الاستنتاجات.

" **سباق التسلّح** " (" **מירוץ החימוש** ") - تطوير " **جيل جديد** " من **المُضادّات الحيويّة** (الأنتيبيوتيك).

المهمّة III : تحديد هويّة البروتين وفعالّيته بواسطة البحث عن بروتينات مُماثلة (حلبונים هومولوجים) (صفحة 2 من 6)

إيجاد تسلسلات بروتينات مُماثلة (هومولوجية) بمُساعدة الأداة BLASTp

لدينا الآن تسلسل بروتين، نحاول إيجاد تسلسلات مُماثلة له في مُستودعات تسلسلات البروتينات. مُعظم تسلسلات البروتينات التي أودعت في الماضي في مُستودع المعلومات بُحثت بشكل عميق، حيث يُعرف من هو الإنزيم، ما هي وظيفته وكذلك مكان الموقع الفعّال فيه. مُقارنة التسلسل الذي بحوزتنا مع بروتينات موجودة في مُستودعات المعلومات تكشف عن بروتينات مُماثلة، مُتشابهة في تسلسلها. بالاعتماد على هذه التسلسلات يُمكننا أن نستنتج من هو البروتين الذي بحوزتنا وما هي وظيفته. في المرحلة التالية نستطيع أن نحدّد الموقع الدقيق للمواضع التي تتركّب الموقع الفعّال. نقوم بالبحث بمُساعدة الأداة BLASTp، تشغيل الأداة يُشبه بشكل كبير تشغيل الأداة BLASTn التي استعملناها من قبل، لكنّ BLASTp معدّة لمقارنة تسلسلات من البروتينات مع سجّلات في مُستودعات معلومات البروتينات .

قبل أن نتابع المهمّة من المُفضّل أن نُشاهد مُجددًا الجولة الإرشاديّة لأداة BLAST، التي تشرح مبادئ الاستعمال الأساسيّة للأداة

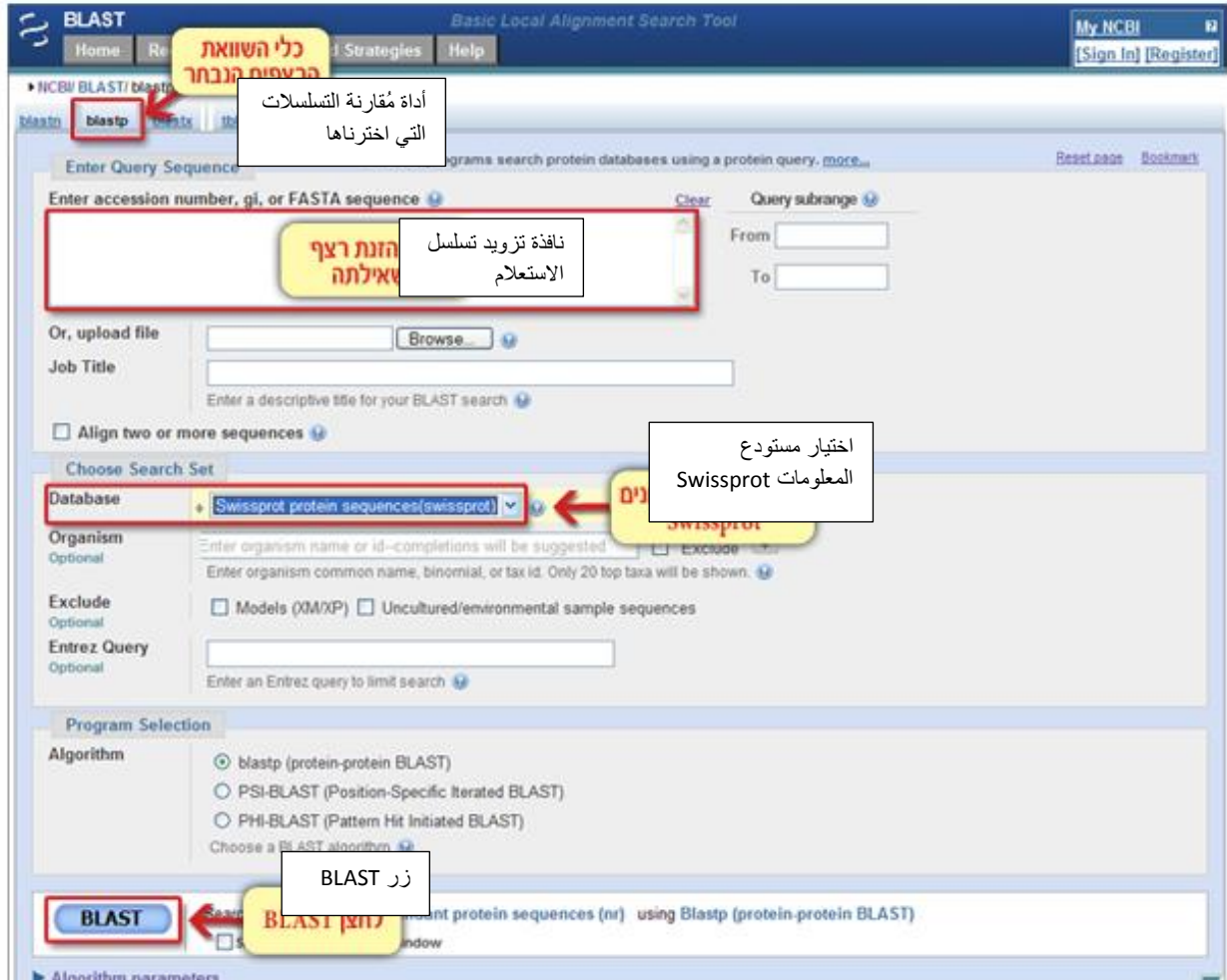
[بטרם نمשיך בפעילותנו מומלץ לצפות שוב בסיור המודרך של הכלי BLAST המסביר עקרונות שימוש בסיים בכלי.](#)

ندخل إلى الصفحة الرئيسيّة لموقع [NCBI](#)، حتّى نجد أداة البحث BLASTp نضغط على (Resource List (A-Z)، نختر عائلة الأدوات (BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (أو بالعبرية כלי חיפוש בסיסי באמצעות [העמדת רציפם](#) بالعربيّة أداة بحث أساسيّة بواسطة مُحاذاة تسلسلات) والموجودة تحت الحرف B، الضغط على الرابط يفتح واجهة أداة البحث (ממשק הכלי) (الشاشة 1). في الشاشة التي تظهر أمامنا يمكن أن نجد عدة إمكانيّات للمقارنة، سنستعمل الأداة protein blast التي تُمكن من مقارنة تسلسل الأحماض الأمينيّة مع تسلسلات موجودة في مُستودعات تسلسلات البروتينات، تُعرف هذه الأداة أيضًا باسم BLASTp .

الشاشة 1: واجهة أداة البحث (مמשك الكلي) BLAST

تُصنق تسلسل الأحماض الأمينية [رصف حومضات الأميمين](#) في نافذة البحث العلوية لواجهة الأداة (الشاشة 2)، نختار مُستودع المعلومات الذي نرغب بمقارنة التسلسل الذي بحوزتنا مع التسلسلات الموجودة فيه. نستعمل مُستودع تسلسلات بروتينات مُركّز وذا جودة عالية من أجل إيجاد تسلسلات مُماثلة شُخص فيها الموقع الفعّال سابقًا. نختار مُستودع المعلومات Swissprot في نافذة الاختيار بجانب كلمة Database.

للمعلم: بسبب التغييرات التي جرت في التوجيه لمُستودع المعلومات swissprot، من المُمكن الحصول على نتائج تختلف عن تلك المعروضة في المهمة، مثلاً لن تُعرض أبداً سجّلات من الفطريات. اذا كان الأمر كذلك، من المُفضّل أن يقوم المُعلم بفحص ذلك قبل الدرس أو أن يقوم بتوجيه الطلاب للتأكد من أنّ صفحة النتيجة تُشبه تلك المعروضة في الشاشة 4، ثم العودة مُجددًا إلى واجهة الأداة وتنفيذ البحث في مُستودع (nr) non-redundant protein sequences.



الشاشة 2: واجهة الأداة protein BLAST

نُنفِّذ البحث بواسطة الضغط على الزر BLAST ومنتظر صفحة النتائج .

"سباق التسلُّح" ("مירוץ החימוש") - تطوير "جيل جديد" من المضادات الحيوية (الأنتيبيوتيك).

المهمّة III : تحديد هويّة البروتين وفعاليتّه بواسطة البحث عن بروتينات مُماثلة (حלבונים هومولوجים) (صفحة 3 من 6)

تحليل النتائج

تُعرض أمامنا صفحة النتائج. الآن سنقوم بتحليل النتائج التي حصلنا عليها.

في تحليل النتائج نُنفِّذ الخُطوات التالية:

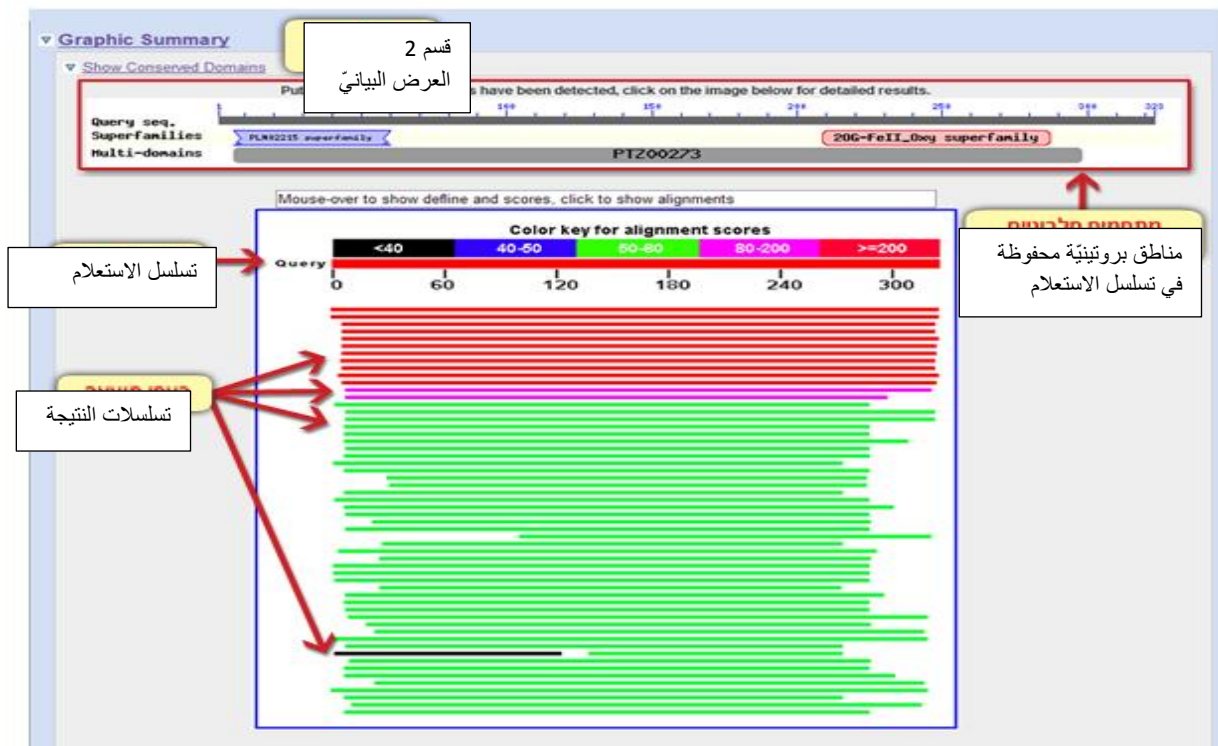
1. ندرس التسلسلات المُختلفة التي وُجدناها ونفحص التشابه والاختلاف بينها وبين تسلسل الاستعلام.
2. نتركِّز في السجل الذي يحتوي على التسلسل الأكثر شبيهاً بتسلسل الاستعلام، نستخلص من المعطيات الموجودة فيه إجابات عن الأسئلة: ما هي الوظيفة المتوقّعة لتسلسل الاستعلام؟ هل الموقع الفعّال محفوظ في هذا البروتين؟

نُمنع النظر في صفحة النتائج التي حصلنا عليها ونتأكد من فهمنا لمبناها. (تشبه بشكل كبير صفحة النتائج التي شاهدناها في البحث عن تسلسلات نوكلونتيديات بواسطة الأداة (BLASTn). كما ذكرنا تنقسم هذه الصفحة إلى عدة أقسام أساسية. في القسم الأول من الصفحة تظهر تفاصيل معلومات عن البحث الذي نُفِّدناه، تفاصيل عن تسلسل الاستعلام وعن المستودع الذي نُفِّد فيه البحث (شاشة 3).



شاشة 3 : صفحة نتائج البحث – قسم 1: تفاصيل المعلومات عن البحث .

القسم الثاني لصفحة النتائج يُسمى العرض البياني سيكوم غرافي (Graphic Summary) (شاشة 4). وهو يعرض بشكل بياني تسلسل الاستعلام تحت المُستطيلات التي تُنَّسب اللون لعلامة التشابه (ציון דמיון). يُعرض الاستعلام (تسلسل الأحماض الأمينية) كخط أحمر تحته مسطرة تُشير إلى طوله. تحت المسطرة تُعرض التسلسلات التي وُجدت مُشابهة لتسلسل الاستعلام والموجودة في مُستودعات تسلسلات البروتينات. يُعرض كل تسلسل كخط يدلّ لون الخط على مدى التشابه بين تسلسل الاستعلام وتسلسل النتيجة. كذلك فإنّ مكان الخط يدلّ على مكان التشابه على طول التسلسل. اللون الأحمر يدلّ على تشابه كبير، بينما اللون الأسود يدلّ على نسبة تشابه صغيرة جدًا.



الشاشة 4: صفحة نتائج البحث – القسم 2: عرض بياني

في القسم الثالث من صفحة النتائج يظهر القسم الوصفي (حלק התיאור- Descriptions) (الشاشة 5). يضم هذا القسم قائمة تعرض كود التعرّف (קודי הזיהוי) لسجلات التسلسلات التي وجدت مُشابهة لتسلسل الاستعلام، وصف قصير لفحوى السجلّ ومعايير مختلفة تُعطي علامة للتشابه بين تسلسل الاستعلام وتسلسل النتيجة. كما ذكرنا يتم ترتيب التسلسلات بحسب درجة التشابه بينها وبين تسلسل الاستعلام (يظهر التسلسل الأكثر شبهاً بتسلسل الاستعلام في أعلى القائمة).

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

תסללות התיאור

קוד 3
תיאור

قسم 3
الوصف

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Links
P08703.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	626	626	100%	6e-179	
P05326.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	574	574	100%	2e-163	
P05189.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	530	530	97%	6e-150	
P18286.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	379	379	97%	2e-104	
P27744.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	377	377	98%	4e-104	
P16020.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	370	370	97%	8e-102	
Q48239.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	369	369	97%	2e-101	
P10621.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	369	369	97%	2e-101	
P12438.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	366	366	97%	1e-100	
Q54243.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	363	363	98%	6e-100	
Q53932.1	RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS	283	283	97%	1e-75	
Q54864.1	RecName: Full=Probable iron/ascorbate oxidoreductase DDB_G02	106	106	96%	2e-22	G
Q76NT9.1	RecName: Full=1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase; Short	85.9	85.9	89%	4e-16	
Q39110.2	RecName: Full=Gibberellin 20 oxidase 1; AltName: Full=Gibberellin	77.4	77.4	87%	1e-13	G
Q7XQ7.1	RecName: Full=Flavanone 3-dioxygenase; AltName: Full=Flavanon	74.7	74.7	96%	8e-13	
Q04395.1	RecName: Full=Flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase; Short	69.7	69.7	96%	2e-11	
Q04706.1	RecName: Full=Gibberellin 20 oxidase 1-B; AltName: Full=Gibberelli	68.9	68.9	86%	4e-11	G
Q39111.1	RecName: Full=Gibberellin 20 oxidase 2; AltName: Full=Gibberellin	68.2	68.2	86%	6e-11	G
Q04707.1	RecName: Full=Gibberellin 20 oxidase 1-A; AltName: Full=Gibberelli	67.8	67.8	92%	9e-11	G
Q7XQ6.1	RecName: Full=Flavonol synthase/flavanone 3-hydroxylase	67.4	67.4	86%	1e-10	
Q04705.1	RecName: Full=Gibberellin 20 oxidase 1-D; AltName: Full=Gibberell	66.2	66.2	86%	2e-10	G
Q49561.2	RecName: Full=Gibberellin 2-beta-dioxygenase 8; AltName: Full=Gi	65.5	65.5	83%	4e-10	G
Q39112.1	RecName: Full=Gibberellin 20 oxidase 3; AltName: Full=Gibberellin	63.2	63.2	86%	2e-09	G
Q8LEA2.2	RecName: Full=Gibberellin 2-beta-dioxygenase 1; AltName: Full=Gi	63.2	63.2	78%	2e-09	G
Q9XG83.1	RecName: Full=Gibberellin 2-beta-dioxygenase; AltName: Full=Gibt	62.8	62.8	78%	3e-09	G

تسلسلات النتائج

كود التعرّف

وصف محتوى السجلّ

معايير لقياس علامة التشابه

الشاشة 5 : صفحة نتائج البحث - القسم 3 وصف تسلسلات النتيجة

في القسم الرابع لصفحة النتائج تظهر مقارنة التسلسلات (השוואת רצפים- Alignments) بين تسلسل الاستعلام وكل واحد من التسلسلات المشابهة له (الشاشة 6).

Alignments

Select All Get selected sequences Distance tree of results Multiple alignment

apIP08703.1:IPNS_FENCH RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS Length=331

Score = 626 bits (1615), Expect = 6e-179, Method: Compositional matrix adjust. Identities = 297/323 (91%), Positives = 308/323 (95%), Gaps = 0/323 (0%)

Query 1 MASTLFANVFKIDVSVLPGDNMEEKKVARAIDAAASRD TGFFYAINHGIDVNRLSQKIKE 60
 Sbjct 1 MASTKANVFKIDVSVLPGDNMEEKKVARAIDAAASRD TGFFYA+NHG+DV RLS KT+E 60

Query 121 FHSITDEEKNDLAIRAYNKEHQQIRAGYLLSIPOKKAVESFCYLNPNFKPDHPLIQSK 120
 Sbjct 121 DLAIRAYNKEHQQIRAGYLLSIIP KKAIVESFCYLNPNFKPDHPLIQSK 120

Query 181 LSSVVLIRYPFLDPYPPAAIKTAEDGTILSFENHEDVSLITVLYQSNVQNLQVETPQQYL 240
 Sbjct 181 LSSVVLIRYP+L+P PPAIKTAEDGT LSFENHEDVSLITVLYQS+V NLQVE PQQYL 240

Query 241 DIEANDGYLINCSSYMAHITNNYYPAPIHRVKWVNEERQSLPFFVNLGFNDTVQLWDFP 300
 Sbjct 241 DIEA+D YL+NCSSYMAHITNNYYPAPIHRVKWVNEERQSLPFFVNLGFNDTVQ WDFP 300

Query 301 SFDGKIDKEFVSYGQYLQNLVLS 323
 Sbjct 301 KEDGKTDQRFISYGDYLLQNLVLS 323

محاذاة التسلسلات

معايير جودة التشابه

הדמיון

רצף השאלה (Query)

רצף התוצאה (Sbjct)

תסלול האשטלעם (Query)

תסלול התניעה (Sbjct)

الشاشة 6: صفحة نتائج البحث - القسم 4 مقارنة التسلسلات .

تُظهر مقارنة التسلسلات المواضع التي تكون فيها الأحماض الأمينية متطابقة، مُتشابهة أو مُختلفة في التسلسلين. يجب أن ننتبه للإشارات المُختلفة التي تظهر في السطر الموجود بين التسلسلين. تُظهر هذه الإشارات ما هي نتائج المقارنة في كل موضع وموضع (شاشة 7). في الموضع الذي تتواجد فيه أحماض أمينية متطابقة في كلا التسلسلين (اللون الأخضر في الرسم)، يُشار لذلك بواسطة نفس حرف الحامض الأميني الموجود في التسلسلين. الموضع المُشار له بالإشارة "+" يدلّ على أنّه بالرغم من أنّ الأحماض الأمينية في التسلسلين غير متطابقة، فهي مُشابهة الواحدة للأخرى في الصفات الفيزيائية والكيميائية (باللون البنفسجي في الرسم). في موضع معيّن عندما لا يتواجد أي تشابه بين الحامضين الأميين في التسلسلين، لا تتواجد أي إشارة بين الحامضين الأميين (اللون الزهري في الرسم).

الشاشة 7 : صفحة نتائج البحث - قسم 4: مقارنة التسلسلات .

" سباق التسلُح " ("مירוץ החימוש ") - تطوير "جيل جديد" من المضادات الحيوية (الأنتيبيوتيك).

المهمة III: تحديد هوية البروتين وفعالتيته بواسطة البحث عن بروتينات مُماثلة (حلبונים هومولوجים) (صفحة 4 من 6)

الاستنتاجات عن هوية تسلسل الاستعلام

قوموا بعملية مسح للنتائج وأجيبوا:

1. أمعنوا النظر في قائمة التسلسلات المُماثلة لتسلسل الاستعلام. ما هو الإنزيم الأكثر شبيهاً بالبروتين الذي بحوزتنا؟
 - أ. بروتين غير معروف.
 - ب. إنزيم يشترك في بناء البنسلين وهو ليس Isopenicillin-N-synthase.
 - ج. إنزيم مُماثل للإنزيم IPNS.
 - د. إنزيم IPNS.

الإجابة هي: د. إنزيم IPNS

2. أمعنوا النظر في قائمة التسلسلات المُماثلة لتسلسل الاستعلام، ركّزوا في أعلى القائمة. ما هو عدد التسلسلات المُماثلة

التي تشكّل تسلسلات إنزيمات من نوع (Isopenicillin N synthase) IPNS?

- أ. كل التسلسلات .

- ب. أكثر من عشرة تسلسلات .
- ج. أقل من عشرة تسلسلات .
- د. تسلسل واحد.

الإجابة هي: ب. أكثر من عشرة تسلسلات .



3. هل نتائج البحث، أي الإنزيمات والكائنات الحية التي نتجت في هذه المرحلة بمُساعدة الأداة BLASTp مُطابقة لنتائج البحث التي نتجت بمُساعدة الأداة BLASTn؟



للمعلم: نتائج البحث في الأداة (BLASTp, BLASTn) مُختلفة. من المُفضَّل التحوُّر مع الطلاب حول أسباب هذه الفروقات. الأسباب الأساسيَّة للفروقات هي:

- أ. يتمُّ تنفيذ البحث مُقابل مُستودعات معلومات مُختلفة والتي تحتوي على معلومات مُختلفة. مثلاً مُستودع البروتينات هو مُستودع صغير يحتوي على عدد تسلسلات أقل. هذا المُستودع لا يُوازي بالضرورة مُستودع النوكليوتيدات.
- ب. بسبب مبنى الشيفرة الوراثية والذي فيه توجد عدَّة كودونات مُختلفة تُشفر إلى نفس الحامض الأميني، فإنَّ تغييرات كثيرة موجودة في تسلسل النوكليوتيدات لا تؤثر على تسلسل البروتين. عملياً، استعمال تسلسل البروتين كاستعلام يُمكن من إيجاد تسلسلات مُماثلة مُتباعدة من ناحية تطورية (רחוקים אבולוציונית)، أي أننا لن نجد هذه التسلسلات أبداً عند استعمال تسلسل النوكليوتيدات كاستعلام.

4. اضغطوا على الرابط ذا كود التعرّف [P08703](#) (يُمكن أيضاً أن نبحث في العمود Accession في قائمة التسلسلات المُماثلة)، يُفتح أمامكم السجل الذي يحتوي على التسلسل الأكثر شبهاً بتسلسل الاستعلام. في أي كائن حي يتواجد هذا التسلسل (ابحثوا عن الحقل organism في بداية السجل)؟

- أ. في الفطر *Penicillium chrysogenum* (فطر البنسيليوم).
- ب. في الفطر *Aspergillus oryzae* (فطر رشاشية أوريژه).
- ج. في البكتيريا *Escherichia coli* (بكتيريا الإشريكية القولونية).
- د. لا يمكن التحديد.

الإجابة هي: أ. في الفطر *Penicillium chrysogenum* (فطر البنسيليوم).

الضغط على رابط السجل الذي يحتوي على تسلسل يشبه تسلسل الاستعلام، يوجهك إلى ملف يصف الإنزيم IPNS من الفطر *Penicillium chrysogenum*. انتبهوا، هذه النتيجة تدلّ على أنّ النوع الأقرب للفطر الذي عزلناه هو *Penicillium chrysogenum*. كما ذكرنا، أحد الأمور الأساسية التي نفترضها بالبيوانفورماتيك هو أنّ التشابه عند مقارنة التسلسلات يشهد على تشابه الأنواع بحسب نظرية التطور (קרבה אבולוציונית)، لذلك يمكن أن نستنتج أنّ التسلسل الأكثر شبيهاً بتسلسل الاستعلام يتبع للمخلوق الأقرب له من ناحية التطور والارتقاء (אבולוציונית) من بين الكائنات الموجودة في مُستودعات المعلومات.

"سباق التسلّح" ("מירוץ החימוש") - تطوير "جيل جديد" من المُضادات الحيويّة (الأنتيبيوتيك).

المهمّة III : تحديد هويّة البروتين وفعاليتّه بواسطة البحث عن بروتينات مُماثلة (حلبונים هومولوجים) (صفحة 5 من 6)

حفظ الأحماض الأمينيّة التي تركّب الموقع الفعّال

عندما ننمّن في ملف السجل نرى أنّ هناك حقول (שדות) باسم Site. تُشير هذه الحقول في هذا الملف إلى أماكن الأحماض الأمينيّة المُشتركة بالموقع الفعّال.

5. ما هو عدد الأحماض الأمينيّة التي تكوّن الموقع الفعّال للإنزيم؟

- أ. 1
- ب. 2
- ج. 3
- د. 4

الإجابة هي: ج. 3.

الأحماض الأمينيّة التي تكوّن الموقع الفعّال في هذا الإنزيم معروفة، كذلك موقعها في التسلسل معروف أيضاً. يتركّب الموقع الفعّال من ثلاثة أحماض أمينيّة: هستيديين (היסטידין -H) في الموضع 214، حامض الجلوتاميك (גולוטמאט -D) في الموضع 216 وهستيدين (היסטידין -H) في الموضع 270 (الشاشة 8). يجب أن ننتبه أنّ هذه الأحماض الأمينيّة الثلاثة هي الأحماض اللازمة لفعاليّة الموقع الفعّال. احتمال كبير جدّاً أنّ يودّي تغيير واحد في أحد هذه الأحماض إلى فقدان الإنزيم لنشاطه.

للمعلم: بالإمكان تحليل سجلّ الإنزيم IPNS من الفطر *Penicillium chrysogenum* بالمشاركة مع الطلاب. يجب على المعلم أن يُرشد الطلاب أن موضع الأحماض الأمينية التي تركّب الموقع الفعّال موجود في الحقل Site. بالإضافة لذلك من المفضّل في هذه المرحلة التركيز على أنّه بالرغم من أنّ مواضع الموقع الفعّال ليست مُجاورة الواحدة للأخرى في تسلسل البروتين، كما ذكر 214، 216 و 270، فإنّها تتواجد الواحدة بجانب الأخرى بعد تشكّل البروتين في الفراغ (طَي البروتين - 7:104 حلبون). ستُعرض هذه النقطة خلال الفعاليّة التالية حيث سنتعمّن خلالها بالمبنى ثلاثي الأبعاد التابع للبروتين.



Display Settings: GenPept

Send To

RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS

Swiss-Prot: P08703.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

[Go to](#)

```

LOCUS       P08703                331 aa                linear           PLN 20-APR-2010
DEFINITION  RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS.
ACCESSION   P08703
VERSION     P08703.1  GI:124829
DBSOURCE    UniProtKB: locus IPNS_PENCH, accession P08703;
            class: standard.
            created: Jan 1, 1988.
            sequence updated: Jan 1, 1988.
            annotation updated: Apr 20, 2010.
xrefs:     MIM:2081.1, 22331696.1, X17496.1, CAA35480.1, A26467, P04441
xrefs (non-sequence databases): SMR:P08703, BRENDA:1.21.3.1,
GO:0005204, GO:0014216, GO:0011418, GO:0017090, GO:0055114,
InterPro:IPRO022052, IncerPro:IPRO022223, InterPro:IPRO05123,
Pfam:PF03171, PRINTS:PRO0682, PROSITE:PS51471, PROSITE:PS00185,
PROSITE:PS00186
KEYWORDS    Antibiotic biosynthesis; Iron; Metal-binding; Oxidoreductase;
            Vitamin C.
SOURCE      Penicillium chrysogenum
    
```

```

...
Region      195
            /gene="pcbC"
            /gene_synonym="ips"
            /region_name="Variant"
            /experiment="experimental evidence, no additional details
            recorded"
            /note="I -> Y (in strain: AS-P-78)."
```

Site 214

```

            /gene="pcbC"
            /gene_synonym="ips"
            /region_name="2OG-FelI_Oxy"
            /note="2OG-Fe(II) oxygenase superfamily: c101206"
            /db_xref="CDD:174582"
```

Site 216

```

            /gene="pcbC"
            /gene_synonym="ips"
            /site_type="metal-binding"
            /inference="non-experimental evidence, no additional
            details recorded"
            /note="Iron (By similarity)."
```

Site 216

```

            /gene="pcbC"
            /gene_synonym="ips"
            /site_type="metal-binding"
            /inference="non-experimental evidence, no additional
            details recorded"
            /note="Iron (By similarity)."
```

Site 270

```

            /gene="pcbC"
            /gene_synonym="ips"
            /site_type="metal-binding"
            /inference="non-experimental evidence, no additional
            details recorded"
            /note="Iron (By similarity)."
```

```

ORIGIN
1  maatpkavvp kidvaplfgd rmeekmkvar aidaasrdcg ffyavvhgvd vkrlanktre
61  fhfctdseek wlaairaynk ehqdsiragy ylsipekkav esfcylngpf kpdhpliqsk
121 tpcbevnvvp dekkbpgfze fscgyydvdf glsallrgy alalqkeedf fershkkea
181 lsvvlliryp ylnpippaal ktseadgtkls fewhedvsl i tvlyqedvan lqvempqyl
241 dieaddnayl vncgymahi tnnypapah rvkwmeerq slpffvnlgf ndtvqwdps
301 kedgktdqrp isygydlqng lvalinkqg t
    
```

عمدات האתר הפעיל ברצף IPNS חלבון

מواضع الموقع الفعّال في تسلسل البروتين IPNS في الفطر *Penicillium chrysogenum*

الشاشة 8: الأحماض الأمينية التي تركّب الموقع الفعّال في الإنزيم IPNS

نعود الآن إلى صفحة النتائج BLASTp ونُمكن النظر بنتائج مقارنة تسلسل الاستعلام مع التسلسل الأكثر شبيهاً به. (شاشة 9).

```
Alignments
Select All Get selected sequences Distance tree of results Multiple alignment

> sp|P08703.1|IPNS_FENCH RecName: Full=Isopenicillin N synthase; Short=IPNS
Length=331

Score = 626 bits (1615), Expect = 6e-179, Method: Compositional matrix adjust.
Identities = 297/323 (91%), Positives = 308/323 (95%), Gaps = 0/323 (0%)

Query 1  MASTLNANVFKIDVSPFLPGDNMEEKMKVARAIDAASRDGFFFYAINHGIDVNRLSQKTKE 60
Sbjct 1  MASTFRANVFKIDVSPFLPGDNMEEKMKVARAIDAASRDGFFFYAVNHGVDVKRLSNKTRE 60

Query 61  FHFSITDEEKNDLAIKAYNKEHQDQIRAGYLLSIPGKKAIVESPCYLNPNFKPDHPLIQSK 120
Sbjct 61  FHFSITDEEKNDLAIKAYNKEHQDQIRAGYLLSIPKKAIVESPCYLNPNFKPDHPLIQSK 120

Query 121  TPTHEVNVWFDEKXHPGFREFAEQYYWVDFGLSSALLRGYALALGKEEDFFSRHFKKDDA 180
Sbjct 121  TPTHEVNVWFDEKXHPGFREFAEQYYWVDFGLSSALLRGYALALGKEEDFFSRHFKKEDA 180

Query 181  LSSVVLIRYPFLDFYPPAAIKTAEDGTILSFENHDSLSLITVLYQS+VNLQVEPQGYL 240
Sbjct 181  LSSVVLIRYPFLDFYPPAAIKTAEDGTILSFENHDSLSLITVLYQSDVANLQVEMPQGYL 240

Query 241  DIEANDGYLINCOSYMAHITNNYYPAPHEVWVNEERQSLFFVNLGPNDTVQLWDP 300
Sbjct 241  DIEADNAYLVNCGSYMAHITNNYYPAPHEVWVNEERQSLFFVNLGPNDTVQWDP 300

Query 301  SPDGKIDKEFPVSYGQYLQNLVS 323
Sbjct 301  KEDGKIDQRPISYGQYLQNLVS 323
```

الشاشة 9: صفحة نتائج البحث – قسم 4 : مقارنة تسلسلات

6. فكروا كيف يُمكن أن نعرف إذا كان تسلسل الاستعلام يحتوي على موقع مشابه للموقع الفعّال الذي يُميّز إنزيمات



؟IPNS



للمُعلم: المعلومات اللازمة للإجابة عن هذا السؤال موجودة بحوزة الطلاب. من المعروف أن الموقع الفعّال يتركّب من الأحماض الأمينية هستيديين (H)، حامض الجلوتاميك (D)، وهستيديين (H) في مواضع مُعيّنة في التسلسل. كل ما علينا أن نتمنّى في نتائج مقارنة تسلسل الاستعلام مع التسلسل المُماثل الأكثر شبيهاً به، ومعرفة الأحماض الأمينية الموجودة في تسلسل الاستعلام في المواضع المُقابلة للموقع الفعّال لإنزيم IPNS. يظهر من خلال مُقارنة هذه المواضع أن تسلسل الاستعلام يحتوي على نفس الأحماض الأمينية التي تركّب الموقع الفعّال لإنزيم IPNS.

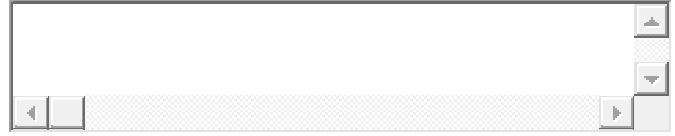
"سباق التسلح" ("مירוץ החימוש") - تطوير "جيل جديد" من المضادات الحيوية (الأنتيبيوتيك).

المهمة III : تحديد هوية البروتين وفعاليتها بواسطة البحث عن بروتينات مماثلة (حلبונים هومولوجيس)
(صفحة 6 من 6)

تلخيص المهمة III



7. التسلسل الثاني في قائمة التسلسلات المماثلة هو إنزيم IPNS أيضاً لكن مصدره من فطر من نوع آخر. هل تتوقع عند مُحاذاة التسلسلات، أن تكون الأحماض الأمينية للموقع الفعال الخاص بالإنزيم مطابقة للأحماض الأمينية للموقع الفعال في تسلسل الاستعلام؟



المعلم: بالرغم من أن التسلسل الثاني في القائمة هو أيضاً إنزيم IPNS، إلا أن نسبة التشابه بينه وبين تسلسل الاستعلام أقل (بالمقارنة مع التشابه الموجود بين التسلسل الأول وتسلسل الاستعلام). تذكر أن التسلسلات تظهر في القائمة بحسب مدى التشابه بينها وبين التسلسل. بما أن التسلسل الثاني هو أيضاً تسلسل إنزيم IPNS معروف وذا موقع فعال مُميّز لإنزيمات IPNS، من المتوقع أن تتم المحافظة على التطابق بين الأحماض الأمينية التي تركب الموقع الفعال عند مُحاذاة التسلسل الثاني مُقابل تسلسل الاستعلام.

مقارنة التسلسل الذي بحوزتنا مع تسلسلات إنزيمات IPNS مشابهة له تدلُّ على وجود مواضع عديدة تتطابق فيها الأحماض الأمينية في التسلسلين (هناك أيضاً عدّة مواضع لا تكون فيها الأحماض الأمينية مُتطابقة لكنّها مُتشابهة، كما وهناك مواضع قليلة تختلف فيها الأحماض الأمينية بين التسلسلين). هذا التطابق يشهد على أن هذه المواضع مهمة لوظيفة البروتين ومبناه، لذلك حُفظت خلال عملية النشوء والارتقاء ([أبولوزيا](#)) (بينما الكائنات التي حدثت لها طفرة في إحدى المواضع المحفوظة تسلسلياً لم تنتج خلال عملية الانتخاب الطبيعي وتلاشت). التركيز في المواضع الثلاثة التي تركب الموقع الفعال، يُظهر أن الأحماض الأمينية في هذه المواضع في التسلسل الذي بحوزتنا مطابقة تماماً للأحماض الأمينية التي تُميّز مواضع فعالة لإنزيمات IPNS. هذا الأمر يدعم بشكل كبير الاستنتاج أن التسلسل الذي عزلناه يُشغّر لإنزيم IPNS فعال يشترك في إنتاج البنسلين .