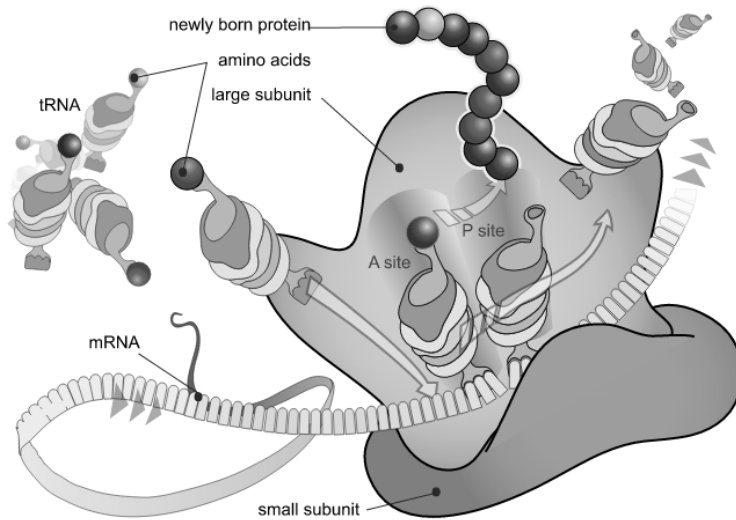


# فصل ۱

## پروتئین سازی



### رئوس مطالب فصل

- ۱- بررسی و آشنایی با بیماریه آلکاپتونوریا
- ۲- آشنایی با فرایند رو نویسه
- ۳- آشنایی با فرایند با فرایند ترجمه
- ۴- آشنایی با اگزون و اینترون
- ۵- بررسی تنظیم بیان ژن در پروکاریوت ها و یوکاریوت ها
- ۶- جهش و انواع آن

**توجه ۱:** سلول های هاپلوئید به طور طبیعی دارای کروموزوم همتا نمی باشند، مانند سلول های جنسی انسان، نوروسپورا کراسا و ...

**توجه ۲:** جهش های مؤثر در جاندارن هاپلوئید حتماً نمایان می شود.

۱۱. کپک نوروسپورا نیازهای تغذیه ای ساده ای دارد. این کپک در محیط کشت ساده ای که فقط شامل کمی قند، انواع نمک (مواد معدنی)، ویتامین بیوتین و آب است، رشد می کند و کلیه مواد آلی پیچیده ای را که نیاز دارد، از همین مواد ساده می سازد، یعنی اگر ساختار کپک مورد تجزیه واقع شود، انواعی از مواد در آن یافت خواهد شد که در محیط کشت قبلاً نبوده است.

\* وجود انواع نمک در محیط کشت برای تأمین نیتروژن مورد نیاز برای تولید مواد نیتروژن دار مانند آمینواسیدها، آنزیم ها و .. می باشد.

\* منظور از شکر، دی ساکارید ساکارز است که برای تأمین کربن، هیدروژن و اکسیژن مورد نیاز است.

۱۲. کپک نوروسپورا قادر به تولید قند ساکارز و ویتامین بیوتین نیست (آنزیم های لازم برای سنتز آن ها را ندارد) ولی آنزیم تجزیه کننده ساکارز را دارد.

**توجه ۳:** عدم توانایی سنتز بعضی از مواد (مانند بیوتین و ...) در نوروسپورا کراسا را نمی توان به وقوع جهش در این قارچ نسبت داد.

۱۳. کپک نوروسپورا با این که هتروتروف است اما می تواند تمامی آمینواسیدها و بیشتر ویتامین های مورد نیاز خود را به جز بیوتین بسازد. در کپک سالم مسیر های ساخت همه ی آمینواسیدها و بیشتر ویتامین های مورد نیاز آن به طور طبیعی وجود دارد.

**توجه ۴:** بیوتین؛ یکی از ویتامین های خانواده B است و لذا محلول در آب است و توسط مویرگ های خونی در روده کوچک جذب می شود.

B <sub>12</sub>	B <sub>9</sub>	H=B <sub>7</sub>	B <sub>6</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>1</sub>	نام ویتامین
کوبال آمین	پانکوتین	بیتین	پیریدوکسین	نیاسین	ریبوفلاوین	توتین	

۱۴. دو دانشمند به نام بیدل و تیم در آزمایش های خود از این کپک استفاده کردند.

**یادمان باشد:** در هر دو فرمانرو آغازیان و قارچ ها کپک وجود دارد، پس کلمه ی کپک الزاماً متعلق به فرمانروی قارچ ها نیست.

☞ در فرمانرو قارچ ها ← مانند کپک نوروسپورا کراسا

☞ در فرمانرو آغازیان ← مانند کپک های مخاطی سلولی و کپک های مخاطی پلاسمودیومی

### انواع محیط کشت

#### ☑ محیط کشت حداقل (ساده)

– شامل: انواع نمک + آب + کمی شکر + بیوتین → برای نوروسپورا کراسا

– در این محیط کشت رشد هاگ های سالم صورت می گیرد ولی هاگ های جهش یافته قادر به رشد نیستند.

#### یادمان باشد:

☞ اگر ماده ای در محیط کشت حداقل یک جاندار وجود داشته باشد، یعنی جاندار به آن ماده نیاز دارد ولی توانایی تولید آن ماده را

ندارد. ← پس نوروسپورا کراسا می تواند همه آمینواسید های مورد نیاز خود را بسازد

☞ عدم رشد در محیط کشت حداقل می تواند ناشی از جهش ها باشد و در مورد نوع جهش آن می توان با انجام آزمایش اظهار نظر کرد.

### ✓ محیط کشت غنی شده

- شامل: محیط کشت ساده + برخی از مواد لازم برای رشد

- در این محیط کشت رشد هاگ های سالم و جهش یافته صورت می گیرد.

✓ **کارمان باشد:**

☞ در **تمام** محیط کشت های غنی شده، هاگ های جهش یافته رشد نمی کنند.

☞ در محیط کشت های غنی شده، هر نوع هاگ جهش یافته قادر به رشد **نیست**.

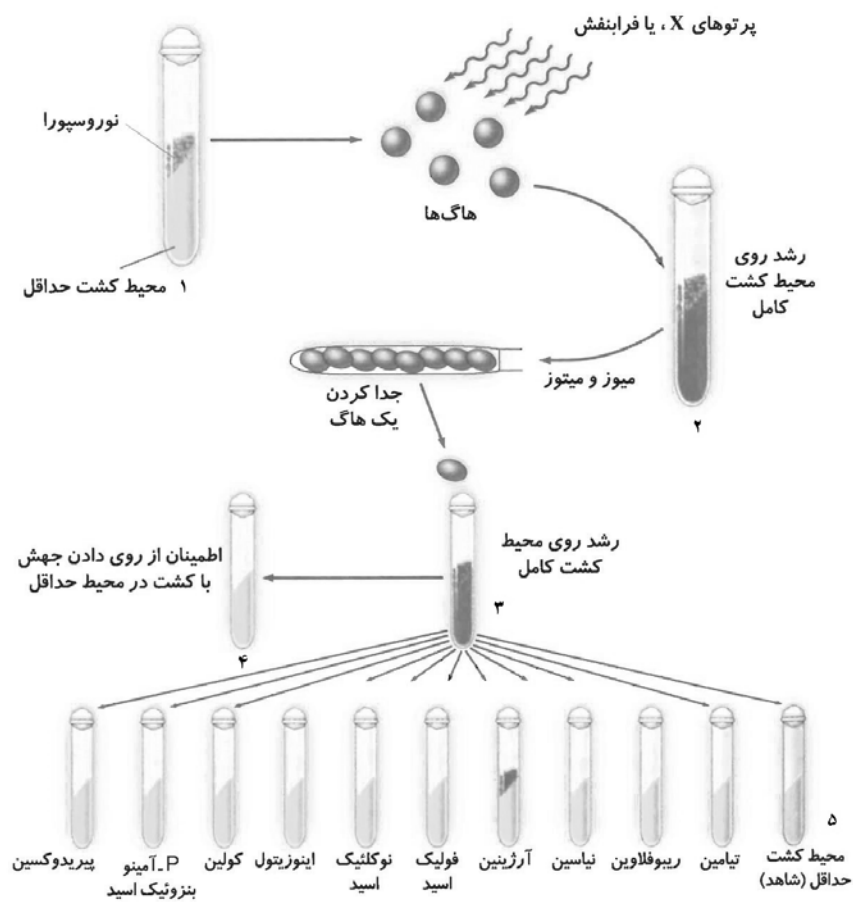
☞ بیوتین به دلیل این که در محیط کشت حداقل وجود دارد، محیط کشت غنی شده با بیو تین برای قارچ نوروپورا معنا ندارد.

### ✓ محیط کشت کامل

- شامل: محیط کشت ساده + تمام مواد لازم برای رشد

- در این محیط کشت رشد هاگ های سالم و **همه** ی جهش یافته ها صورت می گیرد.

### آزمایش بیدل و تیتوم:



## مراحل آزمایش بیدل و تیتوم

### مرحله اول: تولید نئوسپوراهای جهش یافته

+ هدف بیدل و تیتوم ایجاد جهش در هاگ‌ها بود. لذا کپک‌هایی را که در محیط کشت حداقل رشد کرده بودند، تحت تابش پرتو X قرار دادند.

### چند نکته استنباطی

- ☞ بیدل و تیتوم از پرتوهای X برای ایجاد جهش در هاگ‌های نئوسپورا استفاده کردند.
- ☞ همه‌ی هاگ‌ها پرتو را دریافت می‌کنند، اما باید توجه داشت که فقط بعضی از هاگ‌ها جهش می‌یابند نه همه‌ی آنها.
- ☞ هاگ‌هایی که جهش یافته‌اند دیگر قادر به رشد در محیط کشت حداقل نیستند.
- ☞ اگر هاگی جهش یابد، نئوسپورایی که از آن می‌روید نیز جهش یافته خواهد بود و این جهش یافتگی نسل به نسل منتقل می‌شود.
- ☞ هدف از محیط کشت شماره ۱ (محیط کشت حداقل) اطمینان از سلامت هاگ است.

### یادمان باشد:

- ۱- هرگونه تغییر در ماده وراثتی را جهش گویند.
- ۲- آقای بیدل و تیتوم از جهش و چگونگی انجام آن اطلاعی نداشتند، جهش از دیدگاه آنان یعنی عدم رشد کپک نئوسپورا در محیط کشت حداقل بوده است.
- ۳- پرتو X و فرابنفش جزء اشعه‌های یونیزان بوده و قدرت نفوذ زیادی دارند و باعث ایجاد جهش می‌شوند.
- ۴- هر هاگی که در معرض پرتو X یا فرابنفش قرار بگیرد الزاماً جهش یافته نیست و می‌تواند سالم هم باشد.

### مرحله دوم: تشخیص جهش یافته‌ها

+ نئوسپورایی که جهش یافته است، نمی‌تواند همه‌ی مواد مورد نیازش را از محیط کشت حداقل بسازد و بنابراین دیگر نمی‌تواند روی محیط کشت حداقل رشد کند. بیدل و تیتوم از همین خاصیت برای جدا کردن نئوسپوراها استفاده کردند.

+ بیدل و تیتوم پس از آن که هاگ‌ها را یکی یکی از آسک‌ها خارج کردند، آنها را در محیط کشت کامل قرار دادند تا برویند. با رویش هاگ‌ها در محیط‌های کشت کامل، نئوسپوراهایی پدید می‌آید که بعضی از آنها جهش یافته‌اند و بعضی دیگر سالم.

+ وقتی نئوسپوراها در لوله‌های آزمایش حاوی محیط کشت کامل به اندازه‌ی کافی رشد کردند و تعدادشان زیاد شد، از هر لوله‌ی آزمایش تعداد کمی نئوسپورا را به عنوان نمونه برداشتند و به محیط کشت حداقل منتقل کردند. نئوسپوراهایی که جهش یافته‌اند در این محیط قادر به رشد نیستند و به این ترتیب از نئوسپوراهای سالم تشخیص داده می‌شوند.

### چند نکته استنباطی

- ☞ به محیط کشت شماره ۲ (محیط کشت کامل)، همه هاگ‌ها وارد می‌شوند.
- ☞ در ابتدا، همه‌ی هاگ‌ها (غیر جنسی) ژنوتیپ یکسان داشتند اما پس از گذر از عوامل جهش زا (اشعه X یا پرتو فرابنفش)، ژنوتیپ‌های مختلف می‌یابند. بعضی از هاگ‌ها ممکن است جهش نیابند و یا بعضی ممکن است آنچنان جهش یابند که قادر به رشد در هیچ محیط کشتی نباشند و در نهایت بعضی از هاگ‌ها ممکن است در یک یا چند ژن خود دچار جهش شوند که این گروه از هاگ‌ها می‌توانند انواع مختلف داشته باشند.

☞ هدف از محیط کشت شماره ۲ (محیط کشت کامل) ایجاد تنوع در هاگ‌ها بود < تولید مثل جنسی

از رویش هاگ ها درون لوله آزمایش با محیط کشت کامل، کپک های نوروسپورای جدید پدید می آیند که با تقسیم میتوز، گامت تولید می کنند و از لقاح گامت ها، زیگوت دیپلوئید تشکیل می شود. زیگوت دیپلوئید، میوز می کند تا هاگ های جدید به وجود آیند (نوع هاگ).

در تولید مثل جنسی کپک نوروسپورا، هشت هسته هاپلوئید و در نهایت، هشت هاگ به وجود می آید. پس پیدایش هشت هاگ از یک زیگوت در کپک نوروسپورا، نتیجه یک تقسیم میوز و چهار تقسیم میتوز است.

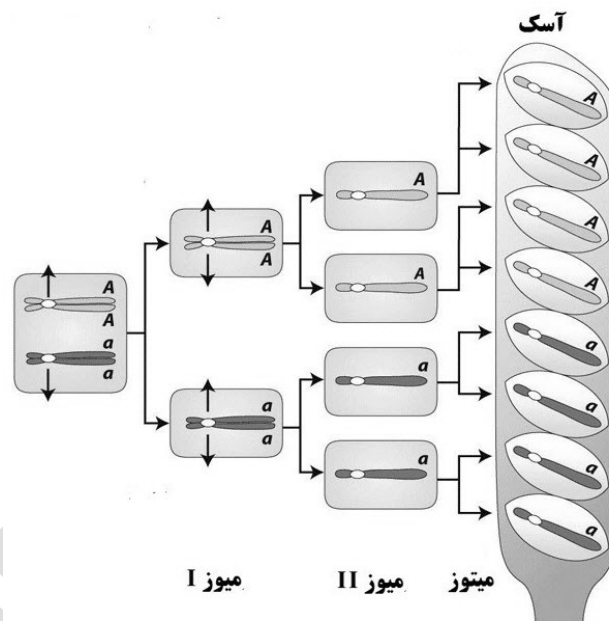
هاگ ها به طور خطی درون آسک قرار می گیرند و حاصل مستقیم تقسیم میتوز بوده و از دو نوع ژنوتیپ هستند.

برای پیدایش هشت هاگ از یک زیگوت در کپک نوروسپورا، پنج بار همانندسازی رخ می دهد یعنی پنج مرحله S طی می شود.

برای پیدایش هشت هاگ از یک زیگوت در کپک نوروسپورا، هفت دوک تقسیم تشکیل می شود (در هر میوز سه دوک و در هر میتوز یک دوک تشکیل می شود).

هاگ، سلول تولید مثلی هاپلوئیدی است که توانایی لقاح ندارد و توانایی رویش دارد.

توجه: هاگ همیشه هاپلوئید نیست، بلکه هاگ دیپلوئید از گیاهان تتراپلوئید تولید می شود.



کدامهاج باشد:

۱. ممکن است هاگ های حاصل از تولید مثل هاگ های جهش یافته بتوانند در محیط حداقل برویند؛ در حالی که هیچ کدام از والدین آن ها این توانایی را نداشته اند. در واقع، پدیده «نوترکیبی» می تواند سبب چنین وضعیتی شود.

۲. در کپک نوروسپورا، آمینواسید آرژینین طی فرایندی سه مرحله ای و توسط سه آنزیم از پیش ماده X ساخته می شود. فرض کنید ژن های رمزگردان آنزیم های ۱، ۲ و ۳ مؤثر در ساخته شدن این آمینواسید را به ترتیب A و B و C بنامیم و انواع جهش یافته این ژن ها را با حروف کوچک نمایش دهیم. در این صورت، تنها هاگ هایی توانایی رویش محیط حداقل را خواهند داشت که ژنوتیپ ABC داشته باشند.

در چنین شرایطی، هاگی با ژنوتیپ abc نمی تواند در محیط حداقل رشد کند؛ چرا که توانایی ساختن آنزیم ۱ را ندارد و نمی تواند X را به آرنتین تبدیل کند. چنین هاگی می تواند در محیط حداقل به اضافه آرژینین، سیتروولین یا آرنتین بروید. به همین ترتیب، هاگی با ژنوتیپ Abc در ساختن آنزیم ۲ و تبدیل آرنتین به سیتروولین اختلال دارد و نمی تواند در محیط حداقل بروید. چنین هاگی در محیط حداقل به اضافه آرژینین یا سیتروولین خواهد روئید.

حال در نظر بگیرید که دو هاگ جهش یافته فوق در محیط کامل وجود داشته باشد و از رویش آن ها در این محیط، کپک های نوروسپورا با ژنوتیپ های  $aBc$  و  $AbC$  به وجود آید. هر یک از این کپک ها با تقسیم میتوز، گامت های هاپلوئیدی با ژنوتیپ مشابه ژنوتیپ خود می سازد و از لقاح گامت های  $aBc$  و  $AbC$ ، زیگوت دیپلوئید با ژنوتیپ  $AaBbCC$  پدید خواهد آمد. در مرحله بعدی، زیگوت دیپلوئید با ژنوتیپ  $AaBbCC$  میوز خواهد کرد. با فرض این که ژن های  $A$  و  $B$  و  $C$  بر روی کروموزوم های متفاوت قرار داشته باشند یا اصطلاحاً پیوسته نباشند، دو حالت در وضع قرارگیری تترادهای نسبت به هم در متافاز اولین تقسیم میوز امکان پذیر است. می بینید که در حالت دوم، نیمی از هاگ های حاصل ژنوتیپ  $ABC$  خواهند داشت و در نتیجه، می توانند در محیط حداقل برویند. در واقع، پدیده نوترکیبی موجب به وجود آمدن ترکیب جدیدی از ژن های والدین شده است که می تواند در محیط حداقل رشد کند؛ در حالی که هیچ یک از والدین با توجه به ترکیب ژن هایشان، این توانایی را نداشتند.

۳. مکانیسم پیدایش تنوع در تولید مثل جنسی قارچ ها، نوترکیبی است.

### ☑ مرحله سوم: تشخیص نوع ماده ای که ساخته نمی شود.

بیدل و تیتوم صدها لوله ی آزمایش، محتوای محیط کشت حداقل تهیه کردند و به هر کدام یکی از مواد لازم برای رشد را افزودند. سپس کپک جهش یافته را در این لوله ها قرار دادند. در هر لوله ای که کپک رشد کرد، معلوم می شود که ماده ی موجود در آن لوله را نمی توانسته بسازد.

### کچند نکته استنباطی

☞ دلیل استفاده از محیط کشت شماره ۳ (محیط کشت کامل) ← تکثیر یک نوع ژنوتیپ خاص هاگ بود.

☞ دلیل استفاده از محیط کشت شماره ۴ (محیط کشت حداقل) ← برای اطمینان از وقوع جهش (تفکیک جهش یافته از نیافته) بود.

☞ دلیل استفاده از محیط کشت شماره ۵ (محیط کشت حداقل = محیط کشت شاهد) ← یک آزمایش کنترل برای مرحله ۵ می باشد.

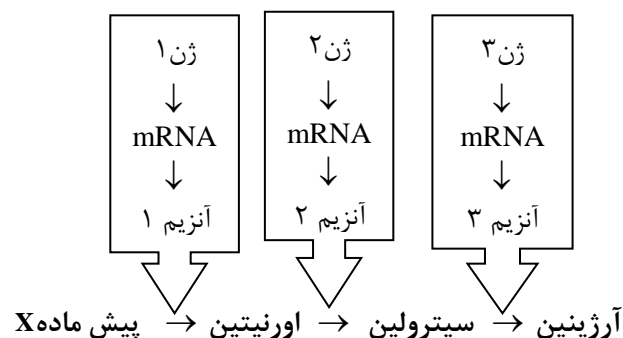
☞ دلیل استفاده از محیط کشت غنی شده ← تفکیک انواع هاگ های جهش یافته از هم بود.

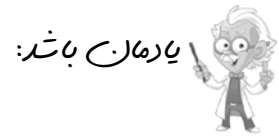
☞ توجه: عملاً هر ماده ای را که قارچ در حالت طبیعی می سازد، تحت کنترل وراثتی است و با اشعه  $X$  یا فرا بنفش می توان ژن ها را طوری تغییر داد که قادر به این عمل نباشند.

☞ توجه: جهش های متعددی در نوروسپورا کشف شد. گروهی از این جهش یافته ها برای رشد نیاز به آمینواسید آرژینین داشتند.

☞ توجه: در سلول هر مولکول از یک پیش ماده ساخته می شود. این پیش ماده توسط واکنش های پی در پی به مولکول های حد واسطی تبدیل می شود تا این که سرانجام مولکول مورد نظر ساخته شود. بر این اساس آنان (بیدل و تیتوم) مسیر بیوسنتزی زیر را برای سنتز آرژینین پیشنهاد کردند.

◆ فرضیه ی بیدل و تیتوم این بود که هر یک از واکنش های مسیر سنتز آرژینین توسط آنزیم مخصوص کاتالیزی می شود که هر کدام به وسیله ی یک ژن ساخته می شوند.





- ۱- آقای بیدل و تیتوم تأثیر جهش در سنتز آمینواسید آرژینین را پیدا کردند.
  - ۲- نام پیش ماده X که مربوط به محیط کشت حداقل است، N استیل اورنیتین می باشد.
  - ۳- مسیر متابولیکی سنتز آرژینین از نوع خطی (نه چرخه ای) است.
  - ۴- در مسیر سنتز آرژینین سه ژن، شش آنزیم (۳ آنزیم RNA پلیمرز و آنزیم های ۱، ۲ و ۳) و سه پیش ماده وجود دارد.
  - ۵- آرژینین یکی از آمینواسیدهای نیمه ضروری در بدن پستانداران است.
  - ۶- آمینواسیدها به دو گروه عمده تقسیم می شوند:
    - ✓ اساسی یا ضروری: آمینو اسیدهایی که بدن قادر به تولید آن ها نیست.
    - ✓ غیر اساسی یا غیر ضروری: آمینو اسیدهایی که بدن قادر به تولید آن ها است.
  - ۷- ارنیتین و سیترولین نوعی آمینواسید غیراستاندارد (فاقد کد ژنتیکی) هستند و در ساختار پروتئین ها وارد نمی شوند.
- توجه:** در کل طبیعت ۱۵۰ نوع آمینواسید وجود دارد که از این تعداد ۲۰ نوع (البته امروزه ۲۲ نوع) دارای کد ژنتیکی هستند و در ساختار پروتئین ها وارد می شوند. ارنیتین و سیترولین جزء ۱۵۰ تا آمینواسید هستند و به جهت نداشتن کد ژنتیکی در ترجمه وارد نمی شوند.
- توجه:** همه آمینواسیدها بر روی DNA انسان رمز ندارند، مانند ارنیتین و سیترولین.

### 📄 جهش یافته های نیازمند به آرژینین

- + جهش های متعددی در نوروسپورا کشف شد. گروهی از این جهش یافته ها برای رشد نیاز به آمینواسید آرژینین داشتند.
- + آقای بیدل و تیتوم مشاهده کردند که جهش یافته های نیازمند به آرژینین سه دسته اند:
- + در جدول زیر سه نوع جهش یافته و دلیل عدم رشد در محیط حداقل را مشاهده می کنید.

جهش یافته	امکان رشد	دلیل عدم رشد در محیط کشت حداقل
اول	محیط کشت حداقل + اورنیتین، سیترولین یا آرژینین	نقص ژن ۱
دوم	محیط کشت حداقل + سیترولین یا آرژینین	نقص ژن ۲
سوم	محیط کشت حداقل + آرژینین	نقص ژن ۳

### ☑ جهش یافته های اول

در این نوع جهش یافته ها

- Ⓐ ژن ۱ نقص دارد. با نقص ژن ۱ آنزیم ۱ تولید نخواهد شد.
- Ⓑ در عدم حضور آنزیم ۱، پیش ماده (X) به محصول (اورنیتین) تبدیل نخواهد شد و در صورت فعال بودن آنزیم ۲ و ۳ سیترولین و آرژینین نیز تولید نمی شود.
- Ⓒ در جهش یافته هایی که در حضور هر سه ماده ارنیتین، سیترولین یا آرژینین رشد می کنند، ژن ۱ دچار جهش شده است و بنابر این آنزیم ۱ ساخته نمی شود.
- Ⓓ اگر در مسیر سنتز یک ماده فعالیت یک آنزیم دچار اختلال شود، میزان محصول آن آنزیم کاهش و میزان پیش ماده ی آن افزایش می یابد.

### جهدش یافته های دوم

در این نوع جهدش یافته ها

- Ⓐ ژن ۲ نقص دارد. با نقص ژن ۲ آنزیم ۲ تولید نخواهد شد.
- Ⓑ در عدم حضور آنزیم ۲، اورنیتین به سیترولین تبدیل نخواهد شد و در صورت فعال بودن آنزیم ۳ آرژینین نیز تولید نمی شود.
- Ⓒ ژن ۳ سالم است.
- Ⓓ در مورد ژن ۱ نمی توان اظهار نظر کرد.
- Ⓔ در جهدش یافته‌هایی که در حضور آرژینین یا سیترولین رشد می‌کنند، اما در حضور ارنیتین رشد نمی‌کنند، ژن ۲ دچار جهدش شده است و بنابر این سلول توانایی تبدیل اورنیتین به سیترولین را از دست داده است.

### جهدش های یافته سوم

در این نوع جهدش یافته ها

- Ⓐ ژن ۳ نقص دارد. با نقص ژن ۳ آنزیم ۳ تولید نخواهد شد.
- Ⓑ در عدم حضور آنزیم ۳، سیترولین به آرژینین تبدیل نخواهد شد و آرژینین تولید نمی شود.
- Ⓒ در جهدش یافته‌هایی که فقط در حضور آرژینین رشد می‌کنند، ژن ۳ دچار جهدش شده است و بنابر این آنزیم ۳ ساخته نمی‌شود. در نتیجه سلول توانایی تبدیل سیترولین به آرژینین را از دست داده است و در نتیجه فقط در حضور آرژینین است که می‌تواند زنده بماند.

کجایرمان باشد:

- وجه تشابه سه نوع جهدش یافته نیازمند آرژینین آن است که در هیچ کدام آرژینین ساخته نمی شود و هر سه قادرند با افزودن آرژینین رشد کنند.
- آرژینین نوعی آمینواسید است و در نتیجه مونومر پروتئین هاست.
- همه جهدش یافته ها با آرژینین رشد می کنند ولی هیچ کدام از آن ها با پیش ماده X رشد نمی کنند.



هفت حالت متفاوت در روند سنتز آرژینین در کپک نوروکسپورا کراسا برای جهش یافته ها می توان در نظر گرفت:

- ۱- فقط ژن سازنده آنزیم ۱ دچار جهدش شود.
- ۲- فقط ژن سازنده آنزیم ۲ دچار جهدش شود.
- ۳- فقط ژن سازنده آنزیم ۳ دچار جهدش شود.
- ۴- ژن های سازنده آنزیم های ۱ و ۲ دچار جهدش شوند.
- ۵- ژن های سازنده آنزیم های ۱ و ۳ دچار جهدش شوند.
- ۶- ژن های سازنده آنزیم های ۲ و ۳ دچار جهدش شوند.
- ۷- هر سه ژن سازنده آنزیم های ۱ و ۲ و ۳ دچار جهدش شوند.

آزمایش بیدل و تیتوم رابطه ی یک ژن - یک آنزیم را نشان داد که بعدها به نظریه ی یک ژن - یک رشته ی پلی پپتیدی تغییر کرد.



**گروه‌های نوروسپورا کراسا**

	نوع نرمال (سالم)	جهش یافته نوع I	جهش یافته نوع II	جهش یافته نوع III
محیط کشت حداقل (شاهد)				
محیط کشت حداقل همراه با ارنیتین (O)				
محیط کشت حداقل همراه با سیتروولین (C)				
محیط کشت حداقل همراه با آرژینین (A)				
	در تمام محیط‌های کشت قادر به رشد است.	در محیط کشت حداقل رشد نمی‌کند اما در محیط کشت حداقل همراه با O یا C یا A رشد می‌کند.	در محیط کشت حداقل همراه با C یا A رشد می‌کند.	فقط در محیط کشت حداقل همراه با A رشد می‌کند.

	نوع نرمال (سالم)	جهش یافته نوع I	جهش یافته نوع II	جهش یافته نوع III
پیش ماده	پیش ماده	پیش ماده	پیش ماده	پیش ماده
ژن A → آنزیم A	آنزیم A	<del>آنزیم A</del>	آنزیم A	آنزیم A
ارنیتین	ارنیتین	ارنیتین	ارنیتین	ارنیتین
ژن B → آنزیم B	آنزیم B	آنزیم B	<del>آنزیم B</del>	آنزیم B
سیتروولین	سیتروولین	سیتروولین	سیتروولین	سیتروولین
ژن C → آنزیم C	آنزیم C	آنزیم C	آنزیم C	<del>آنزیم C</del>
آرژینین	آرژینین	آرژینین	آرژینین	آرژینین