ORF Finder (Open Reading Frame Finder)- هي أداة للتنبؤ بإطار قراءة مفتوح، أي التنبؤ بتسلسل النوكلوئتيدات المُشفِّر للبروتين.

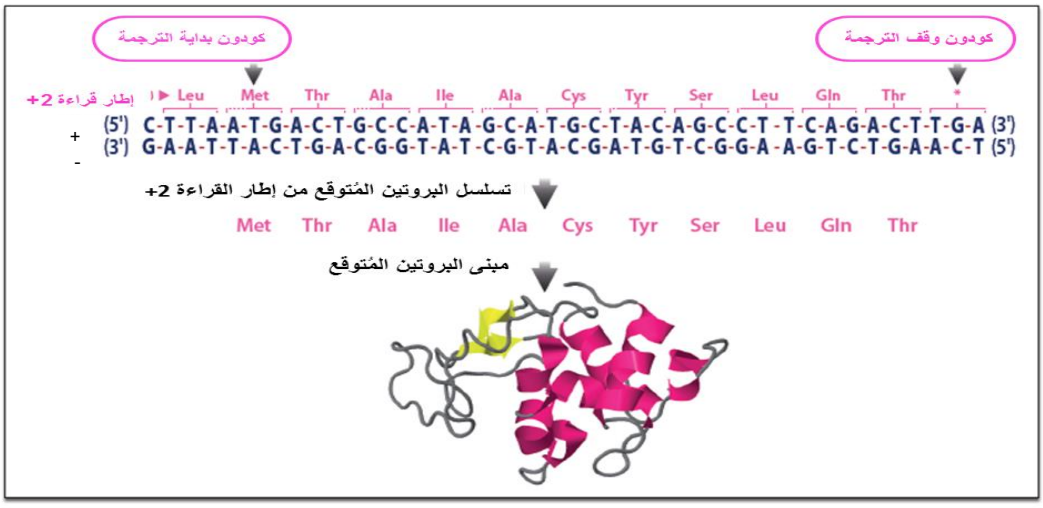
ORF Finder (Open Reading Frame Finder)- هي أداة للتنبؤ بإطار القراءة المفتوح، أي تسلسل النوكلوئتيدات المُشفِّر للبروتين. يحتوي كل مقطع من ال DNA على 6 أطر قراءة، 3 أطر في كل جديلة، تختلف الأطر الموجودة في نفس الجديلة عن بعضها بالموضع الذي يبدأ فيه الكودون الأول. الأداة ORF Finder تستقبل كمُدخل تسلسل من النوكلوئتيدات وتجد في كل واحد من أطر القراءة تسلسلات مُشفِّرة والتي يُمكن أن نُعرّفها كأطر قراءة مفتوحة (ORFs). بالاعتماد على طول كل إطار قراءة مفتوح، بالإمكان تحديد إطار القراءة المفتوح الأكثر احتمالًا لأن يُشفِّر إلى بروتين أي التنبؤ بالتسلسل المُشفِّر (CDS) لتسلسل الأحماض الأمينيّة للبروتين الذي يتكوّن من هذا الإطار. بمُساعدة الروابط لأداة BLAST بإمكان الأداة أيضًا البحث عن جينات أو بروتينات معروفة ذات تسلسل مُشابه للتسلسل الذي نبحثه، وهكذا بإمكاننا التعرف على هوّية التسلسل الذي نبحثه ووظائفه.

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

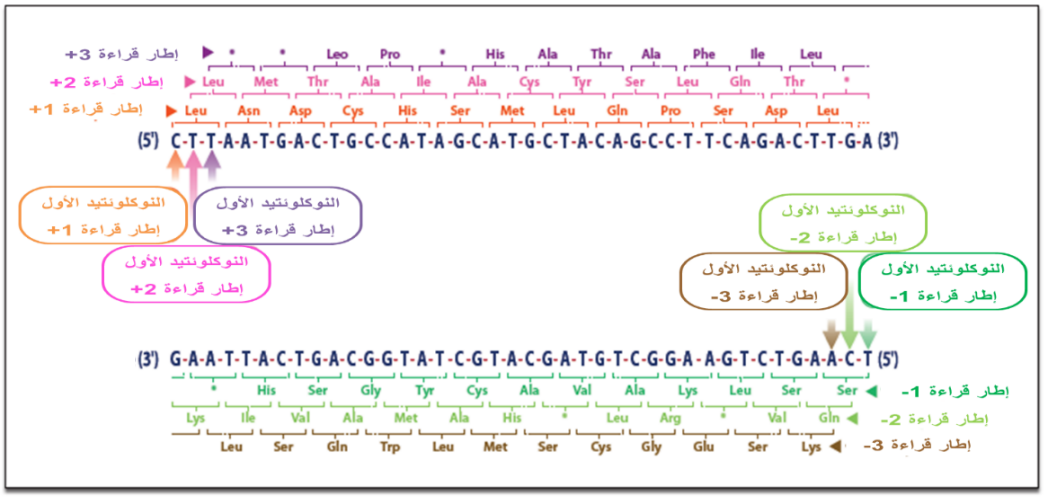
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/

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) لجُزيء RNA رسول، تتمُّ ترجمة هذا الجُزيء 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 بالاعتماد على تسلسل النوكلوئتيدات.

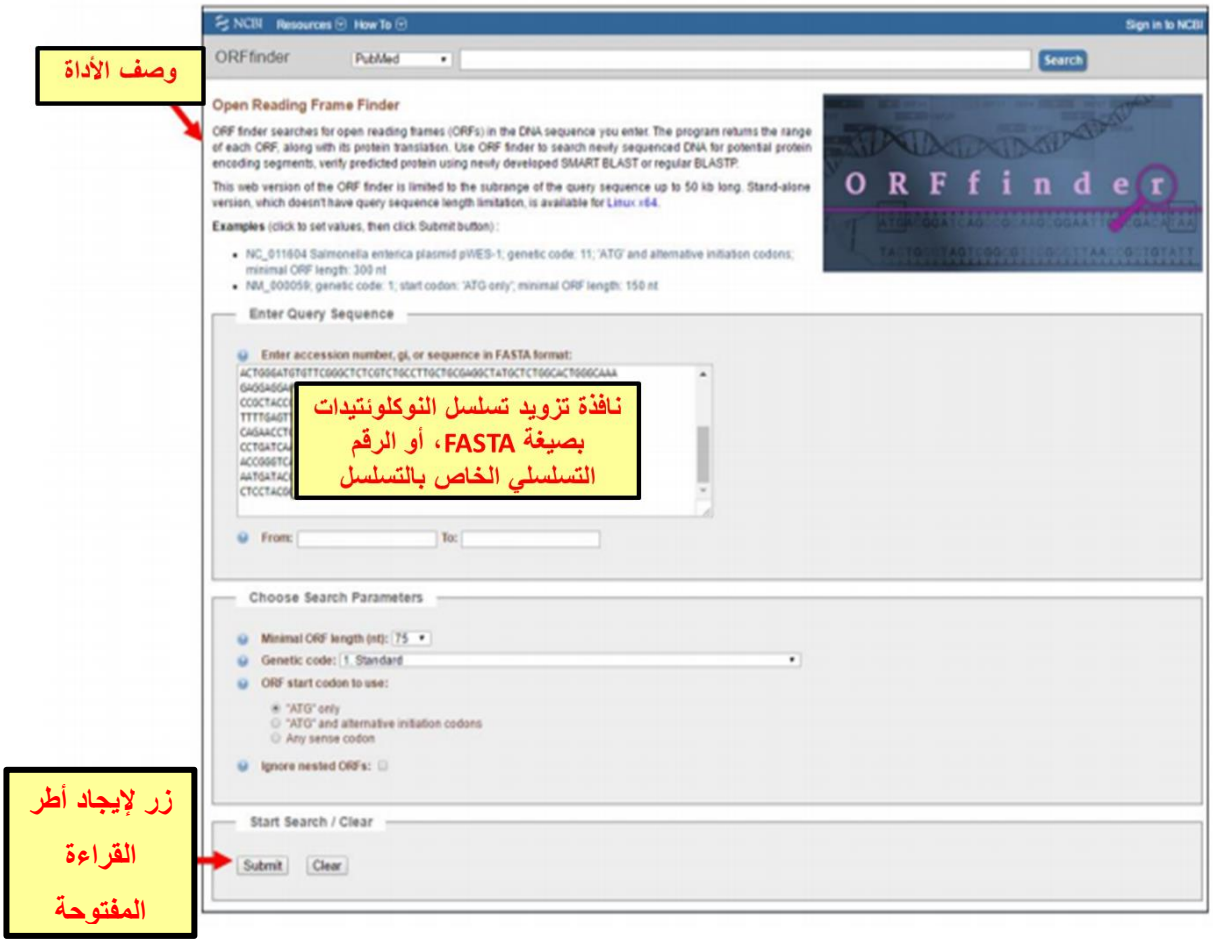


للقيام بذلك، يجب تحديد إطار القراءة المفتوح من بين أطر القراءة الستة في كل مقطع DNA. كل واحدة من جديلتي ال DNA تحوي على 3 أطر قراءة: يُشار إلى تلك الموجودة في إحدى الجدائل بالإشارة "+" (زائد)، وإلى تلك الموجودة في الجديلة الأخرى بالإشارة "-" (ناقص). تختلف أطر القراءة الموجودة في نفس الجديلة بالموضع الذي يبدأ فيه الكودون الأول، ويُشار لها بالأرقام "1" "2" و "3". إطار القراءة المفتوح يُسمّى Open Reading Frame أو باختصار ORF. من أجل إيجاد إطار القراءة المفتوح الذي يُشفِّر إلى بروتين، 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 ال DNA 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 Submit. الآن تقوم الأداة بمسح التسلسل المُزوّد وتبحث في كل واحد من أطر القراءة الستة عن أطر قراءة مفتوحة.

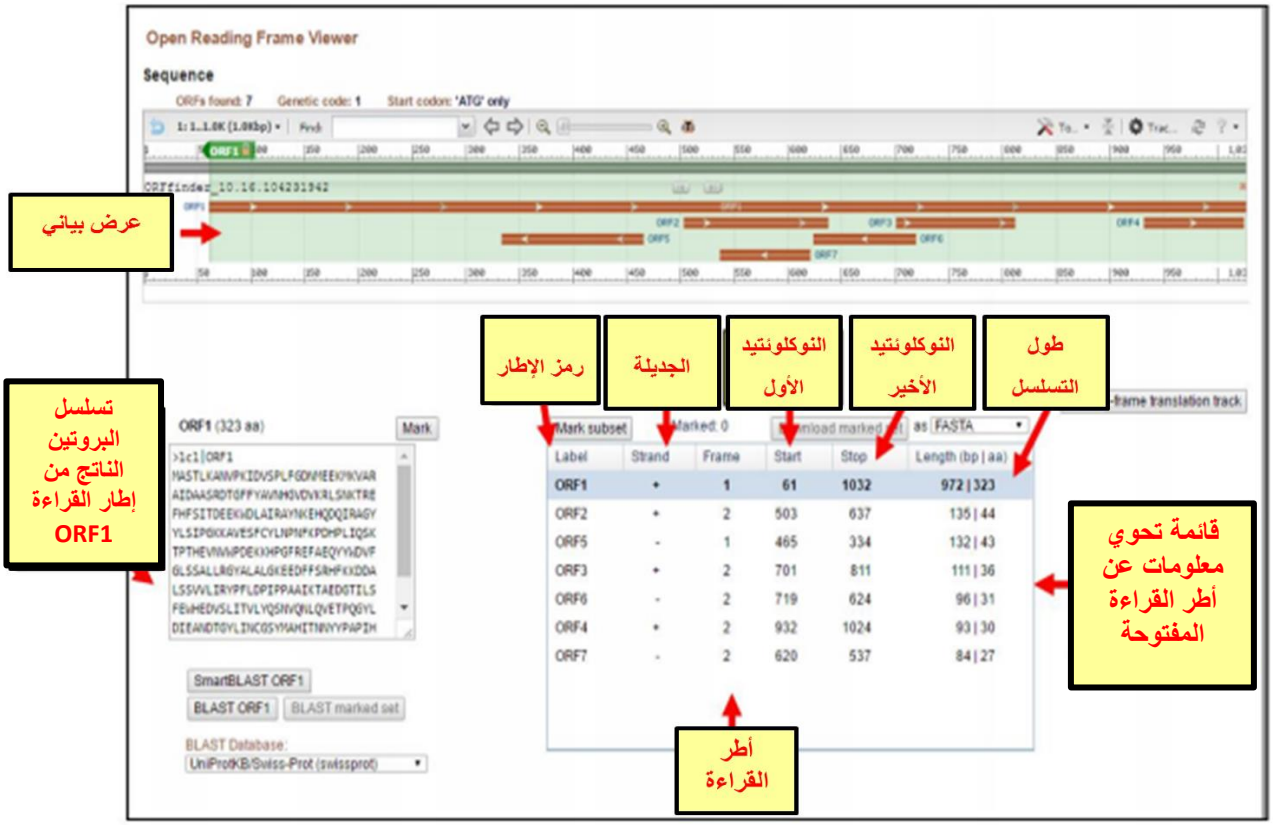


تحليل صفحة النتائج

تُعرض نتائج أطر القراءة المفتوحة (ORFs) على شكل بياني وعلى شكل قائمة مُعطيات عدديّة تعرض بارمترات مُختلفة لأطر القراءة المفتوحة.

تُعرض في القسم العلوي لصفحة النتيجة أطر القراءة المفتوحة بشكل بياني، بحيث أنَّ كل مُستطيل برتقالي يُمثّل إطار قراءة مفتوح واحد ومكانه النسبي في التسلسل الذي زوّدنا الأداة به. بالإضافة إلى ذلك يُعرض في القسم البياني بجانب كل مُستطيل الرقم التسلسلي لإطار القراءة المفتوح (بحسب تسلسل ظهوره في القائمة) وإتجاه قراءته (سهم إلى اليمين يُشير إلى قراءة التسلسل الذي قُمنا بتزويد واجهة الأداة به كمُدخل، سهم إلى اليسار يُشير إلى قراءة تسلسل النوكلوئتيدات المكمّل لتسلسل المُدخل).

تُعرض في القسم المركزي لصفحة النتيجة قائمة تُرتِّب أطر القراءة المفتوحة، بحيث أن إطار القراءة المفتوح الأول هو الأطول لذلك نعتقد أنّه الأكثر احتمالًا لأن يُشفِّر إلى البروتين. بالنسبة لكل إطار قراءة مفتوح تظهر في القائمة المعلومات التالية: الجديلة التي يتواجد عليها إطار القراءة (الإشارة "+" تدلّ على الجديلة التي تمّ تزويد واجهة الأداة بها، الإشارة "-" تدلّ على الجديلة المُكمّلة للتسلسل الذي زوّدنا به الأداة)، رقم إطار القراءة (1 2 أو 3)، موضع النوكلوئتيد الأول وموضع النوكلوئتيد الأخير في التسلسل، طول التسلسل المُشفِّر بالنوكلوئتيدات (bp) وطول البروتين المُشفَّر بالأحماض الأمينيّة (aa) والناتج من هذا الإطار.



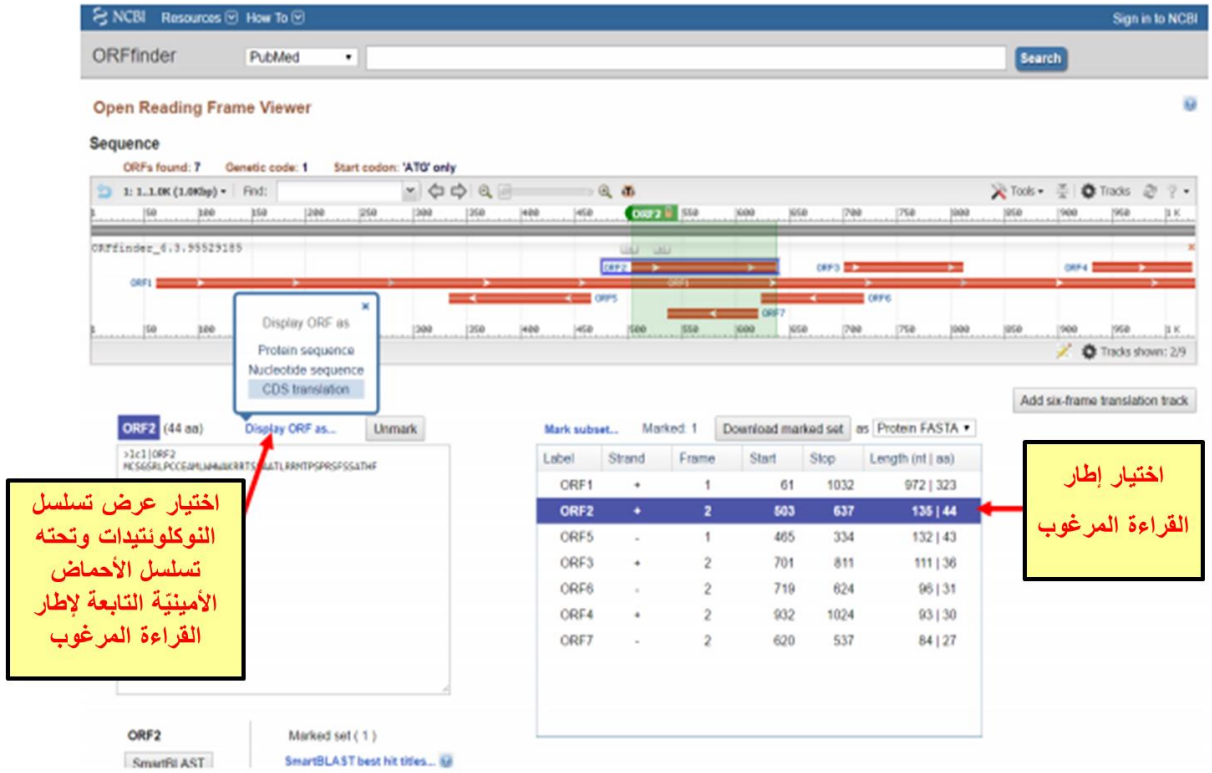
في هذه المرحلة من المهم أنْ نذكر أنَّ نتائج الأداة هي فقط تنبؤ أولي لتسلسلات مُشفِّرة نظريّة. من المُرجّح أنَّ قسمًا من أطر القراءة المفتوحة التي تعرضها الأداة لا تُشفِّر إلى بروتين إطلاقًا.

في صفحة النتيجة، على يسار القائمة، يظهر تلقائيًا بواسطة الأداة تسلسل الأحماض الأمينيّة لإطار القراءة المفتوح الأطول والذي يظهر في أول سطر من القائمة.

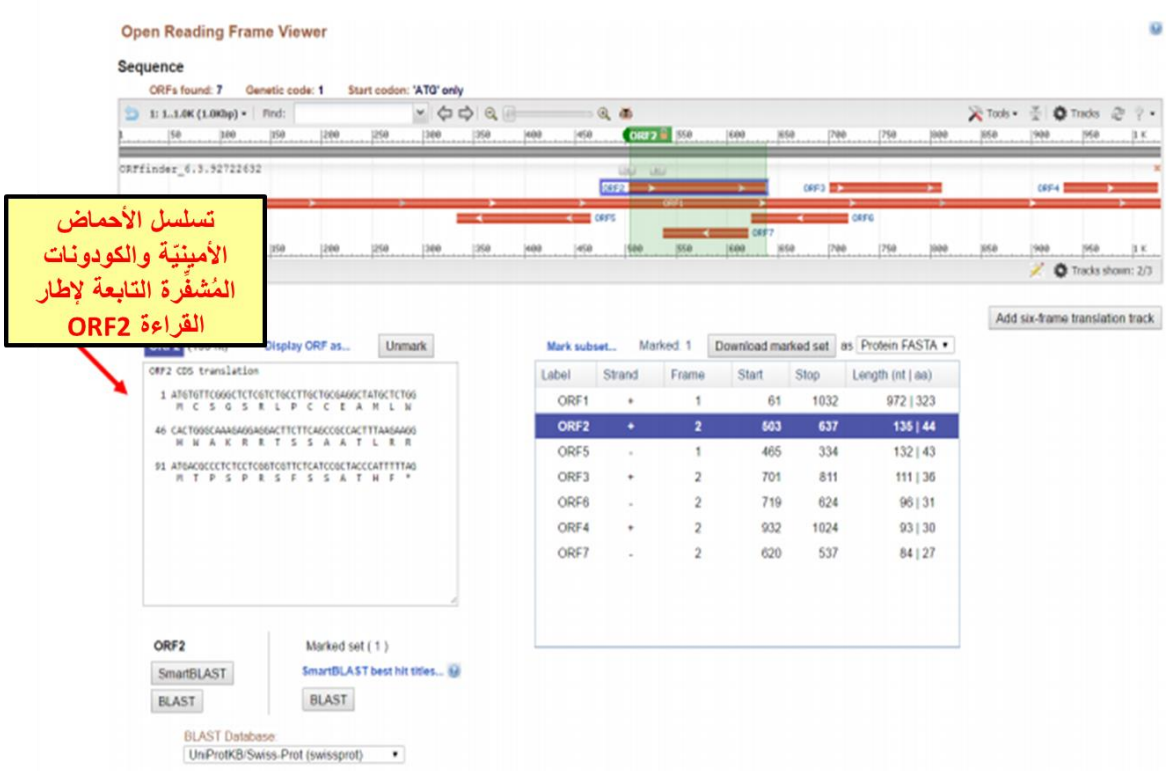
في هذا المثال، إطار القراءة المفتوح ذا الرمز ORF1، يتواجد على الجديلة التي تمّ إدخالها للأداة ولذلك يُشار إليه ب + وهو موجود في إطار القراءة 1 ولذلك يُشار إليه ب (+1)، طوله 972 نوكلوئتيد وهو يُشفِّر إلى بروتين بطول 323 حامض أميني.

لرؤية تسلسل الأحماض الأمينيّة المُتوقع من كل واحد من أطر القراءة المفتوحة بالإضافة إلى تسلسل النوكلوئتيدات المُشفِّر، يجب الضغط على رمز التسلسل في القائمة ومن ثمّ على الكلمة "MARK" الموجودة فوق تسلسل البروتين المُتوقّع في الجهة اليُسرى. عندها تتمّ الإشارة لإطار القراءة الذي اخترناه باللون الأزرق في القائمة وبخلفية خضراء في القسم البياني. بعدها يجب الضغط على "Display ORF as…" واختيار "CDS translation" في النافذة التي تُفتح أمامك.

في هذا المثال يُمكن أنْ نرى تأشير إطار القراءة ORF2 واختيار "CDS translation".



نتيجة لهذا الاختيار يُمكن أنْ نرى في الجهة اليُسرى إطار القراءة المفتوح كتسلسل نوكلوئتيدات مُشفِّر وتحته تسلسل الأحماض الأمينيّة الناتج – كل حامض أميني تحت الكودون المُشفِّر له.



في هذا المثال، إطار القراءة المفتوح ذا الرمز ORF2 موجود على إطار القراءة (2+)، طوله 135 قاعدة وهو يُشفِّر إلى بروتين طوله 44 حامض أميني.

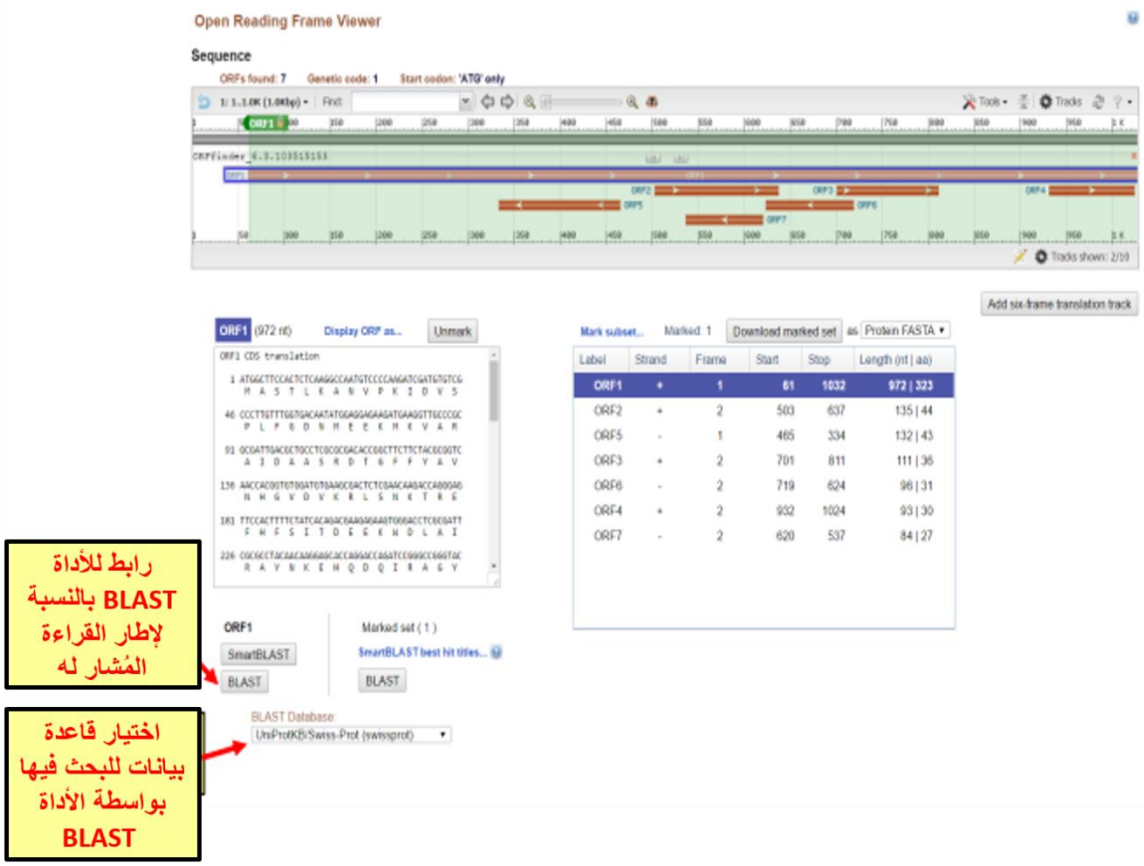
إطار القراءة المفتوح المُشفِّر إلى بروتين يجب أنْ يحتوي على كودون بداية ترجمة وكودون وقف ترجمة. في بعض الأحيان تعرض الأداة أيضًا تسلسل مُشفِّر ممكن لا يحتوي على هذه الكودونات، على فرض أنَّ كودون بداية الترجمة موجود قبل التسلسل الذي زوّدنا الأداة به، أو أنَّ كودون وقف الترجمة موجود بعد التسلسل المُزوّد للأداة. في هذه الحالات يجب الانتباه أنَّ الكودونات "الناقصة" موجودة بالفعل على امتداد التسلسل، وإذا لم تكن موجودة فلا يوجد لهذه التسلسلات أيْ معنى.

تحليل تسلسل البروتين المُتوقّع

بعد إيجاد إطار القراءة المفتوح الأكثر احتمالًا ليُشفِّر إلى بروتين، يتواجد لدينا تسلسل البروتين المُتوقّع. في بعض الأحيان، نرغب بفحص كون هذا الإطار يُشفِّر فعلًا إلى بروتين حقيقي، إذا كان كذلك، من هو هذا البروتين وهل يُشبه هذا البروتين بروتينات أخرى معروفة.

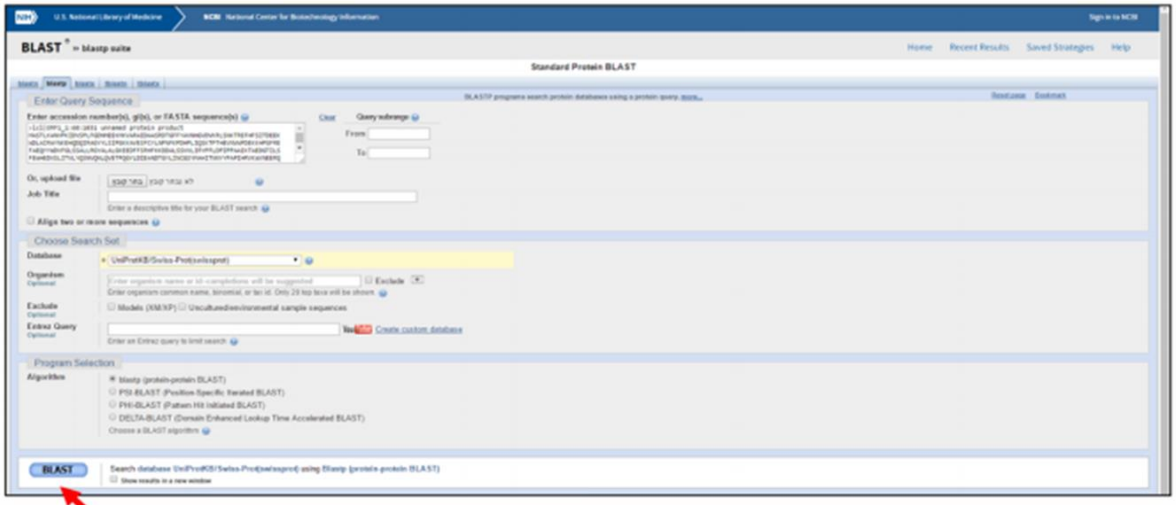
تُمكِّننا الأداة ORF Finder من تنفيذ بحث عن تسلسل البروتين المُتوقع، بواسطة الأداة Protein BLAST (BLASTp)، وهي مُحرِّك بحث عن تسلسلات البروتينات والمُقارنة بينها. بما أنَّ إطار القراءة ORF1 هو الإطار الأكثر احتمالًا، نُنفِّذ مُقارنة تسلسل البروتين المُشفَّر من إطار القراءة المفتوح ORF1.

بواسطة الضغط على "BLAST" تحت النافذة التي تحوي تسلسل البروتين، نستطيع مُقارنة التسلسل المُشفَّر من إطار القراءة المفتوح ORF1 مع تسلسلات البروتينات بواسطة الأداة BLASTp. لتقييد البحث يُمكن تحديد قاعدة بيانات تسلسلات البروتينات التي نرغب بالبحث فيها. تُعتبر قاعدة بيانات البروتينات swissprot قاعدة موثوقًا بمصداقيتها لذلك سنستعملها للبحث في حالات عديدة.



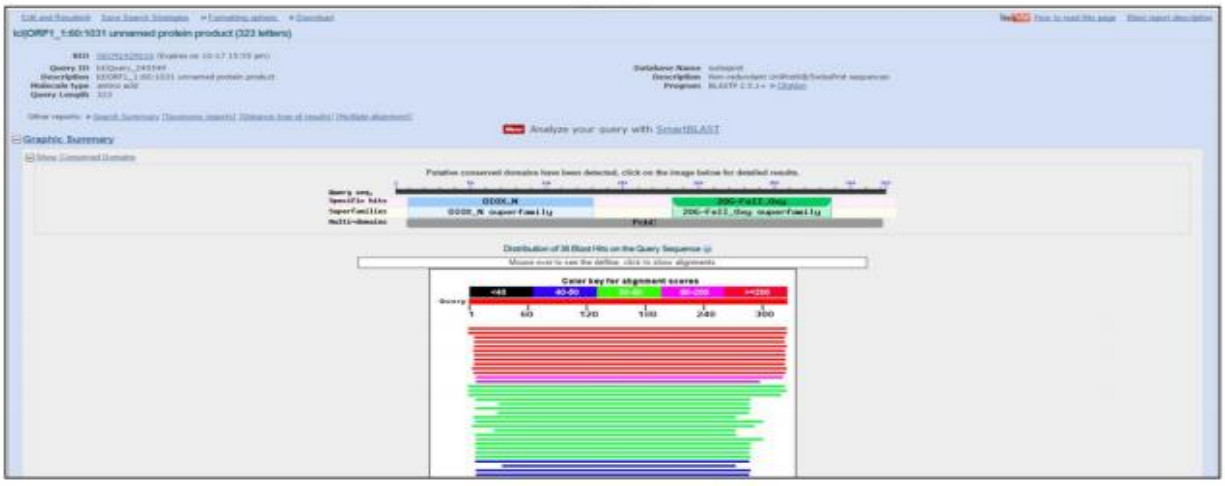
إذا كُنا نرغب بمُقارنة تسلسل بروتين مصدره من إطار قراءة مفتوح آخر، نُشير إلى إطار القراءة المفتوح المرغوب في القائمة ونضغط على "BLAST".

صورة نتائج الربط بالأداة BLASTp



يجب الضغط على كلمة BLAST لتشغيل الأداة BLASTp ولتنفيذ مُقارنة تسلسلات البروتينات

نتائج البحث بواسطة الأداة BLASTp



لفهم كيفية قراءة نتائج البحث بواسطة الأداة BLASTp يجب التوجه إلى صندوق الأدوات والتعرف على هذه الأداة.

للتلخيص، تعرض الأداة ORF Finder بشكل بياني وكلامي أطر القراءة المفتوحة (أي التسلسلات المُشفِّرة النظرية) في أطر القراءة المُختلفة للتسلسل الذي نُزوّدها به. حيث تعرض لكل إطار قراءة مفتوح مكانه في التسلسل الذي زوّدنا به الأداة، التسلسل المُشفِّر وتسلسل البروتين المُتوقّع. هكذا يستطيع المُستخدمون تحديد إطار القراءة المفتوح الذي يُشفِّر فعلًا إلى بروتين، غالبًا هذا هو إطار القراءة الذي يعرض التسلسل المُشفّر الأطول. الروابط للأداة BLAST تُمكن من البحث عن الجينات أو البروتينات المعروفة ذات التسلسل المُشابه للتسلسل الذي نبحثه، وهكذا يُمكن أنْ نتعرف على هويّة التسلسل الذي تبحثه ووظيفته.

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