وزارة التربية الوطنية — مديرية التربية لولاية سكيكدة

اختبار الثلاثي الأول — متقن القل

المستوى : الثالثة شعبة العلوم التجريبية — التاريخ : 2015/12/02

مادة : علوم الطبيعة والحياة — **الأستاذ : بوالريش أحمد** — المدة: ساعتان

التمرين الأول (12 نقطة)

بهدف التعرف على خصائص ودور الجزيئات المتدخلة في الرفض المناعي للطعم وإبراز قدرة العضوية على التمييز بين الذات واللاذات، أنجزت الدراسة التالية :

I – 1 – حضنت مجموعة من الكريات البيضاء في وسط يحتوي على الاضداد (الأجسام المضادة) Anti-HLA ، ثم فحصت بالمجهر الالكتروني فلوحظ تواجد شريط عاتم حول الكريات البيضاء.

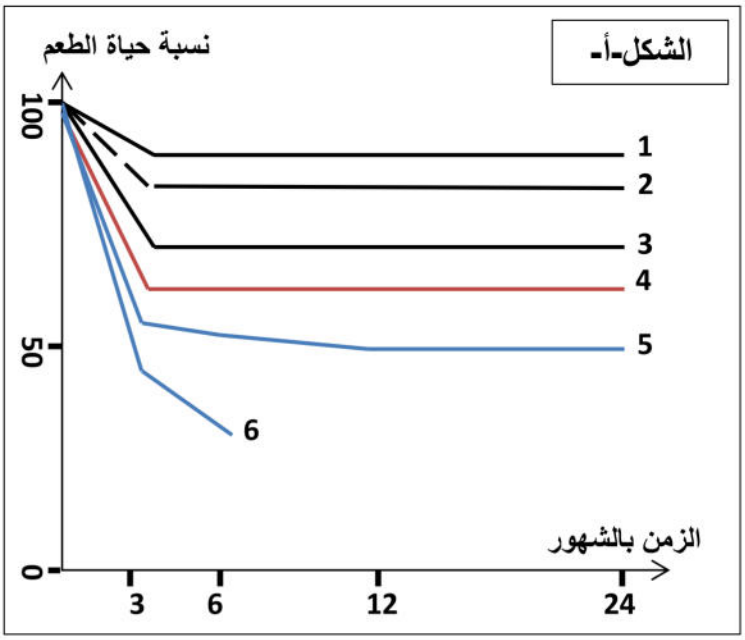
أ – **ما هي** دلالة هذ الملاحظة ؟

ب - **قدم** تعريف لمصطلح " جزيئات HLA " **مبرزا** أصنافها ومكان تواجدها.

2 – يتوقف نجاح زرع الطعم لدى الانسان على مدى التوافق من حيث النظام HLA بين المعطي والمستقبل ، اذ يملك الفرد تركيبة خاصة به من حيث الأليلات المشفرة لجزيئات HLA.

يمثل الشكل (أ) من الوثيقة 1 منحنى تغيرات نسبة حياة الطعم بدلالة الزمن بينما يمثل الشكل (ب) جدول يوضح عدم التوافق بين المعطي والمستقبل.

الشكل-أ-



رقم المنحنى	عدم التوافق HLAI	عدم التوافق HLAII
1	0	0
2	1أو2	0
3	3أو4	0
4	0	1أو2
5	1أو2	1أو2
6	3أو4	1أو2

الشكل-ب-

الوثيقة1

أ- **ما هي** المعلومات المستخرجة من **مقارنة** النتائج :

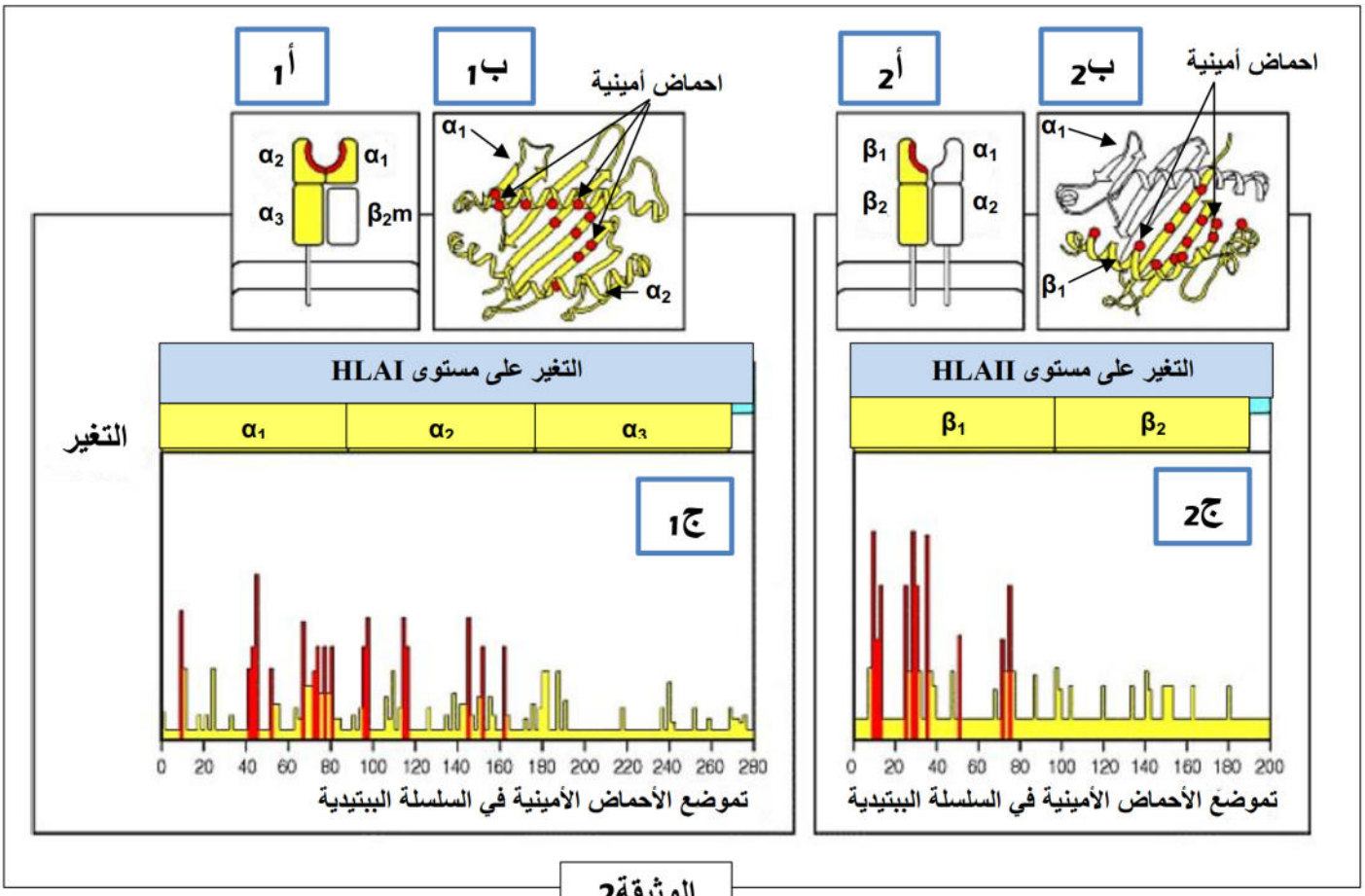
- 2 و 3 مع 1.
- 2 و 3 مع 4.
- 2 و3 مع 5 و 6.

ب- **كيف تفسر** النتائج الممثلة بالمنحنيين 1و6 .

ج- بالاعتماد على النتائج السابقة **استخرج** خاصية تتميز بها الخلايا المناعية للمستقبل اتجاه مؤشرات اللاذات .

II - لإبراز الخصائص البنيوية المميزة للجزيئات المحددة للذات ، نقترح عليك المعطيات المبينة في الوثيقة2 ، حيث يمثل الشكلان (أ1،أ2) التمثيل التخطيطي لجزيئتي الـ HLAI و HLAII ، بينما يمثل الشكل (ب1) البنية ثلاثية الأبعاد للمجالين (α1 وα2) لجزيئة HLAI ، والشكل (ب2) يمثل البنية ثلاثية الأبعاد للمجالين (α1 وβ1) لجزيئة الـ HLAII .

الشكلان (ج1 وج2) يمثلان نتائج إحصائية لتغيرات الأحماض الأمينية بدلالة وضعيتها ضمن السلاسل الببتيدية لعديد من جزيئات الـ HLAI وHLAII المختلفة.



الوثيقة2

1 – اعتمادا على بنية كل جزيئة HLA الموضحة في الشكلين (أ1 وأ2) من الوثيقة (2) ومعلوماتك حول البروتينات ، **قارن** بين بنية HLAI وHLAII.

2 – من خلال **تحليلك** لمعطيات الوثيقة2 (ب$_1$،ب$_2$،ج$_1$،ج$_2$)ومعارفك المكتسبة ،**استخرج** العلاقة بين جزيئات النظام HLA ونسبة قبول الطعم ؟ **علل** تسمية CMH .

III – **قدم** نصا علميا تتناول فيه :

1 - الذات البيولوجية والمؤشرات المحددة له.

2 - اللاذات ، محددا عناصره في حالة رفض الطعم ، نقل الدم ، مستخلصا تعريفا لمولد الضد.

التمرين الثاني (08 نقاط)

نقترح من خلال هذا الموضوع دراسة تأثير عوامل المحيط على تفاعلات تركيب النشاء ، هذا التركيب يحفز بواسطة انزيم الأميلو-سنتيتاز(amylo-synthétase) المتواجد على مستوى خلايا درنة البطاطا الفتية.

I - اول مرحلة من هذا التركيب هي تركيب الأميلوز انطلاقا من غلوكوز-1- فوسفات وفق المعادلة التالية:

ن (غلوكوز-1- فوسفات) ⟸ الأميلوز + ن(مجموعة فوسفات)

تم اجراء مجموعة من التجارب ، مراحلها ونتائجها ممثلة في جدول الوثيقة(1) ،الاختبار خلال هذه التجارب يتم بعد 15 دقيقة من إضافة مادة التفاعل حيث يأخذ الكاشف ماء اليود اللون الأسود مع الأميلوز، بينما الكاشف محلول فهلنج يأخذ اللون الأحمر مع الغلوكوز-1-فوسفات وغلوكوز-6- فوسفات.

الرقم	محتوى أنبوب الاختبار	الحرارة	PH	محلول فهلنج	ماء اليود
1	غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز	40م^0	7	-	+
2	غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز	90م^0	7	+	-
3	الأنبوب2 يعاد الى درجة حرارة 40م^0	40م^0	7	+	-
4	غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز	3م^0	7	+	-
5	الأنبوب4 يعاد الى درجة حرارة 40م^0	40م^0	7	-	+
6	غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز+حمض Hcl	40م^0	2	+	-
7	غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز+ الصودا(NaOH)	40م^0	10	-	-
8	غلوكوز-6- فوسفات + اميلوسنتيتاز	40م^0	7	+	-

الوثيقة1

ملاحظة :
الرمز (+) : يشيرإلى التفاعل موجب مع الكاشف.
الرمز (-) : يشيرإلى التفاعل سالب مع الكاشف.

1 – ما الطبيعة الكيميائية للاميلوز . انطلاقا من المعادلة الكيميائية , **حدد** نوع التفاعل المحفز بانزيم الاميلوسنتيتاز.

2 - فسر النتائج التجريبية الممثلة في الوثيقة1.

3 - بالاستعانة برسم تخطيطي , **اشرح** على المستوى الجزيئي نتائج التجربة5.

4 – اذا علمت باننا نتحصل على نفس النتائج التجريبية السابقة مع محفزات انزيمية أخرى ، **استنتج** الخصائص العامة لعمل الانزيمات مع **تحديد** كل مرة التجربة او التجارب التي تسمح بذلك.

5 – بتوظيف معارفك المكتسبة ، **اذكر** بقية خصائص التحفيز الانزيمي والتي لم تظهرها التجارب السابقة.

II – تمثل الوثيقة2 دراسة تغيرات السرعة الابتدائية للتفاعل الانزيمي بدلالة تركيز مادة التفاعل (S) عند تركيزين مختلفين للانزيم E (1 وإ ،0.5 و.إ) .

1 – حلل ثم **فسر** المنحنى1.

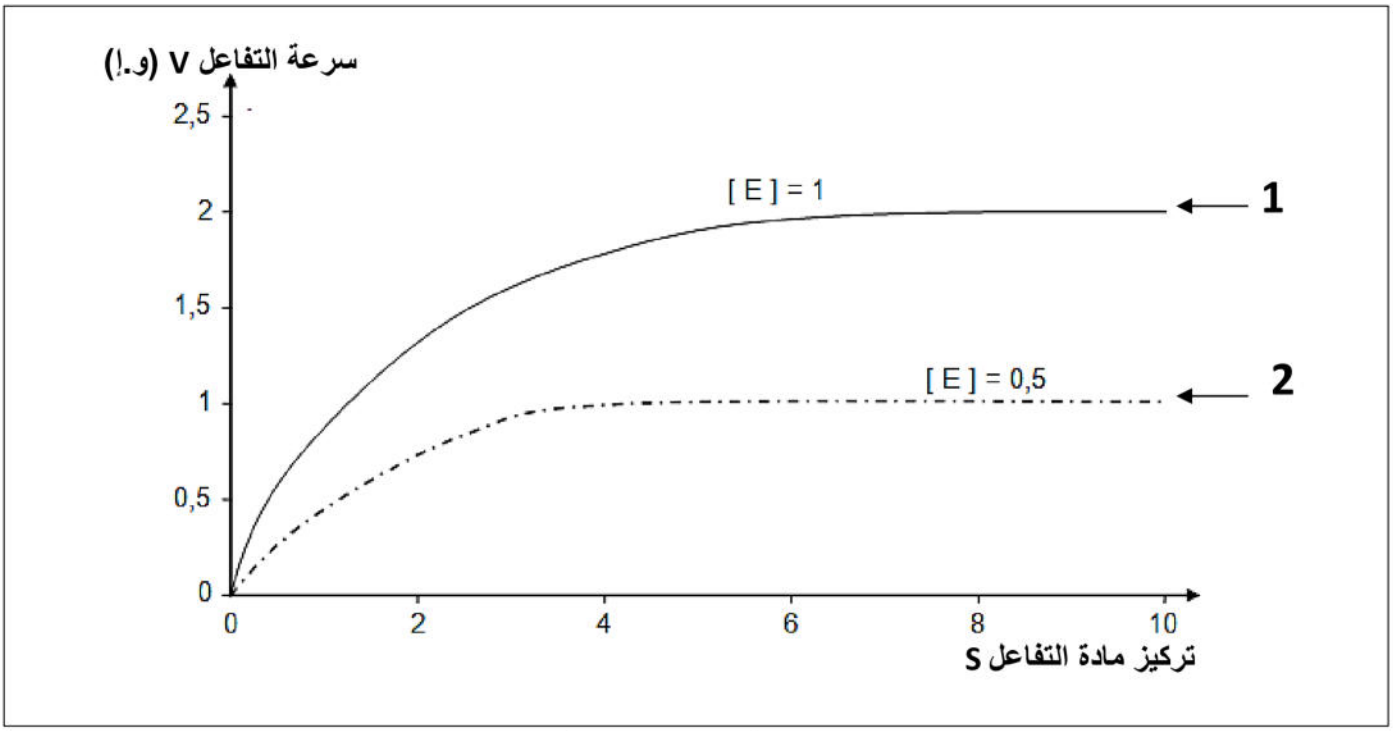
2 – اشرح الاختلاف الملاحظ في السرعة القصوى (Vmax) عند تغير تركيز الانزيم.

III – بتوظيف المعارف اتي توصلت إليها خلال هذه الدراسة ومعارفك المكتسبة :

1 – قدم تعريفا للمصطلحات التالية :

- المحفز - سرعة التفاعل - السرعة الابتدائية (Vi) - الموقع الفعال

2 - حدد - ضمن جدول بعض أوجه التشابه والاختلاف للإنزيمات.


سرعة التفاعل V (و.إ)
2,5
2
1,5
1
0,5
0
0
2
4
6
8
10
[E] = 1
[E] = 0,5
1
2
تركيز مادة التفاعل S

الوثيقة2

تصحيح اختبار الثلاثي الأول

التمرين الأول (12 نقطة)

عناصر الاجابة	العلامة مجزأة	العلامة كاملة
I – 1 – أ – دلالة هذ الملاحظة: ✓ تواجد الشريط العاتم حول الخلايا المعالجة بالوسم المناعي يدل على أن خلايا الجسم ذات نواة تحمل على سطحها الخارجي جزيئات HLA. **ب- تعريف مصطلح "جزيئات HLA" :** • جزيئات من طبيعة غليكوبروتينية محمولة على أغشية الخلايا ذات نواة ومحددة وراثيا, تعبر عن نظام CMH وتتدخل في التميز بين الذات واللاذات عند الانسان. **أصنافها ومكان تواجدها:** هناك صنفان هما : • HLAI :تتواجد على أغشية جميع الخلايا العضوية ذات نواة ولا توجد على الكريات الحمراء. • HLAII : تتواجد أساسا على غشاء الخلايا العارضة لمولد الضد (المكروفاج واللمفاويات B ..) .	0.5 0.25x3	1.25
2 – أ – المعلومات المستخرجة من مقارنة النتائج : ✓ من مقارنة 2 و 3 مع 1: كلما زاد عدد مؤشرات الذات HLAI الغير متوافقة كلما نقصت نسبة حياة الطعم. ✓ من مقارنة 2 و 3 مع 4: إن تأثير عدم توافق جزيئات HLAII أكبر من تأثير HLAI على رفض الزرع.(اختلاف واحد في جزيئةHLAII لها نفس تأثير أو أكثر من اختلاف 3 أو 4 جزيئات HLAI) ✓ من مقارنة 2 و 3 مع 5 و6: تزداد سرعة رفض الطعم كلما كان عدم التوافق يمس جزيئات HLAI و HLAII معا. **ب- تفسير النتائج الممثلة بالمنحنيين 1 و6 :** ✓ **المنحنى1 :** نسبة حياة الطعم مرتفعة تقريبا 100% يفسر ذلك بعدم حدوث استجابة مناعية من طرف عضوية المستقبل اتجاه الطعم، وذلك لوجود توافق من حيث جزيئات HLA بين خلايا المعطي وخلايا المستقبل فالطعم في هذه الحالة يعتبر جسما من الذات. ✓ **المنحنى2 :** نسبة حياة الطعم منخفضة في حدود 30% يفسر ذلك بحدوث استجابة مناعية من طرف عضوية المستقبل اتجاه الطعم، وذلك لعدم وجود توافق من حيث جزيئات HLA بين خلايا المعطي وخلايا المستقبل فالطعم في هذه الحالة يعتبر جسما من اللاذات. **ج - الخاصية التي تتميز بها الخلايا المناعية للمستقبل اتجاه مؤشرات اللاذات :** ✓ تمتاز الخلايا المناعية عند المستقبل بالقدرة على التعرف على عديد مؤشرات اللاذات.	0.5x3 0.5 0.5 0.25	2.75
II -1 - المقارن بين بنية HLAI وHLAII	0.5X2	01

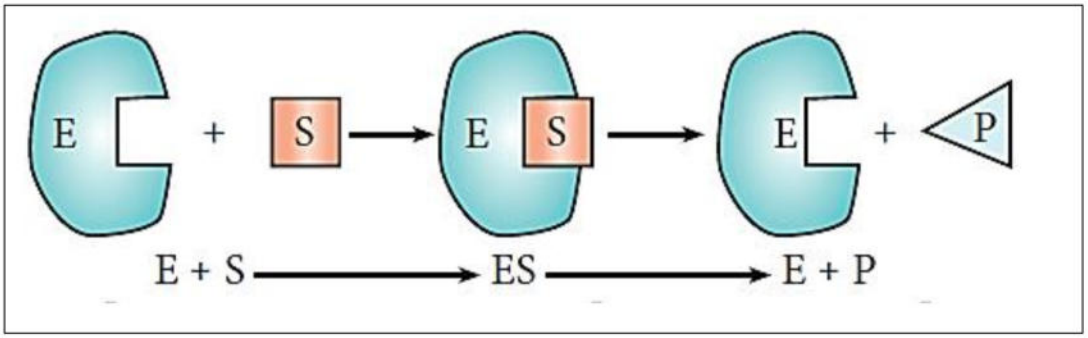
أوجه المقارنة	HLAI	HLAII
البنية	رابعية	رابعية
عدد السلاسل	- سلسلتان غير متناظرتان السلسلة α طويلة و السلسلة β2m قصيرة (خارج خلوية) -السلسلة α :بها مجال خارج خلوي هما α1 و α2 + α3 + مجال غشائي + مجال هيولي	2 متناظرتان : α و β - السلسلة α: بها مجال خارج خلوي هما α1 و α2 + مجال غشائي + مجال هيولي - السلسلة β: بها مجال خارج خلوي هما β2 و β1 + مجال غشائي + مجال هيولي

		2 – تحليل المعطيات :
	0.25X2	**الشكلان (ج1 و ج2) :** ✓ **الشكل (ج1) :** يمثل تغير الاحماض الامينية بدلالة وضعيتها ضمن السلسل الببتيدية لعديد من جزيئات الـ HLAI - نلاحظ تغير عال للاحماض الامينية المشكلة للمجالين α1 و α2 وبالمقابل تغير أقل على مستوى المجال α3 للسلسلة α. - منطقة تثبيت المستضد الببتيدي يكون مغلق الطرفين وتشكله السلسلة α (المجالين α2/α1)
	0.25X2	✓ **الشكل (ج2) :** يمثل تغير الاحماض الامينية بدلالة وضعيتها ضمن السلسل الببتيدية لعديد من جزيئات الـ HLAII - نلاحظ تغير عال للاحماض الامينية المشكلة للمجال β1 وبالمقابل تغير أقل على مستوى المجال β2 للسلسلة β. - منطقة تثبيت المستضد الببتيدي مفتوح الطرفين موجود بين السلسلتين α و β (المجالين α1 و β1)
		الشكلان (ب1 وب2) :
	0.5	✓ **الشكل (ب1) :** - نلاحظ ان الاحماض الاكثر تغير على مستوى المنطقة المتغيرة لجزيئات HLAI عددها 11 حمض اميني متوزعة على المجالين α1 و α2 وهي الاحماض الامينية المسؤولة على تثبيت الببتيد المستضدي .
4.25	0.5	✓ **الشكل (ب2) :** - نلاحظ ان الاحماض الاكثر تغير على مستوى المنطقة المتغيرة لجزيئات HLAII عددها 13 حمض اميني وهي تنتمي للمجال β1 فقط وهي الاحماض الامينية المسؤولة كذلك على تثبيت الببتيد المستضدي
		العلاقة بين جزيئات النظام HLA ونسبة قبول الطعم :
	1X2	✓ التغير الكبير لجزيئات الـ HLA يكون على مستوى منطقة تثبيت الببتيد المستضدي راجع الى التغير المحدد بالاحماض الامينية والناتجة عن تعبير اليلات مختلفة لمورثات الـ CMH ، هذا التغير الكبير مسؤول عن التنوع الهائل لجزيئات HLA ، فكل فرد يمتلك تركيبة خاصة لـCMH مرتبطة بتعدد الاليلات للمورثات المشفرة لجزيئات HLA. ✓ نسبة قبول الطعم مرتبط بمدى التوافق بين جزيئات HLA للمعطي والمستقبل نظرا للتنوع الكبير لهذه الجزيئات ، فكلما زاد الاختلاف كلما قلت نسبة قبول الطعم ، اما في حالة التوافق بين جزيئات HLA (حالة التوأم الحقيقي) يحدث قبول للطعم لانه يعتبر جسما من الذات.
	0.25	**تعليل تسمية CMH (معقد التوافق النسيجي الرئيسي) :** ✓ يعلل هذه التسمية للدور الذي تلعبه الجزيئات الناتجة عن تعبيرمورثات CMH والمتمثلة في جزيئات HLA في زراعة الطعوم .
		III- النص العلمي :
	0.5X2	**1 – الذات البيولوجية والمؤشرات المحددة له :** ✓ يعرف الذات بمجموع الأعضاء والانسجة والخلايا والجزيئات الناتجة عن التعبير المورثي للبيضة الملقحة وتحضى بتسامح مناعي.
1.75		✓ بعض الجزيئات تتواجد على أغشية الخلايا وتشكل المؤشرات البيولوجية للفرد وهي تتمثل في جزيئات معقد التوافق النسيجي الرئيسي HLA عند الانسان (جزيئات الـ HLAI ، التي تعرض ببتيدات الذات والجزيئات HLAII التي تعرض عليها البتيدات المستضدية) والجزيئات المحددة للزمر الدموية (جزيئات النظام ABO ، وجزيئات النظام ريزوس Rh)
	0.25X3	**2 – اللاذات :** ✓ يشمل **اللاذات** مجموع الجزيئات التي لم تشفر بالتعبير المورثي للعضوية. ينتج النظام المناعي ضد اللاذات استجابات بهدف ابطال مفعوله او تخريبه.

✓ **في حالة رفض الطعم** ، توجه الاستجابة المناعية ضد الجزيئات HLA من نسيج الطعم. ✓ **في حالة عدم توافق الدم** ، توجه الاستجابة المناعية ضد المؤشرات الغشائية للزمر الدموية. ✓ نسمي **مولد الضد** كل جزيئة يتعرف عليها النظام (الجهاز) المناعي بأنها من اللاذات ليصدر تجاهها استجابة مناعية نوعية .		

التمرين الثاني (08 نقاط)

عناصر الاجابة	العلامة مجزأة	العلامة كاملة
1 – الطبيعة الكيميائية للأميلوز : ✓ عبارة عن سكر متعدد ناتج عن تكاثف لجزيئات غلوكوز-1-فوسفات. **نوع التفاعل :** ✓ تفاعل تركيب (بناء)	0.25 0.25	0.5
2 – تفسير النتائج : **التجربة1 (الشاهد):** ✓ غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز وفي درجة حرارة 40م^0 و PH=7 : كان الاختبار بمحلول فهلنج سالب اما الاختبار بماء اليود فكان موجب ، يفسر ذلك باختفاء الغلوكوز-1-فوسفات وتشكل الاميلوز نتيجة تحفيز انزيم اميلوسنتيتازلتفاعل بلمرة (تكاثف) الغلوكوز-1-فوسفات الى الاميلوز. **التجربة2:** ✓ غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز وفي درجة حرارة 90م^0 و PH=7: عند رفع درجة الحرارة كان الاختبار موجب مع محلول فهلنج وسالب مع ماء اليود ، يفسر ذلك بوجود الغلوكوز-1-فوسفات في الانبوب وغياب الاميلوز، بسبب عدم حدوث تكاثف لجزيئات الغلوكوز-1-فوسفات نتيجة غياب النشاط التحفيزي للانزيم بسبب درجة الحرارة المرتفعة . **التجربة3:** ✓ عند إعادة الانبوب2 الى درجة حرارة 40م^0 ، نحصل على نفس نتائج التجربة 2 ، يفسر ذلك بعدم استعادة الانزيم لنشاطه التحفيزي (عدم حدوث التفاعل) رغم توفر جميع الشروط الملائمة لنشاطه **التجربة4:** ✓ غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز وفي درجة حرارة 3م^0 و PH=7 : نحصل على نفس نتائج التجربة2 ، يفسر ذلك بتثبيط النشاط التحفيزي للانزيم عند درجة حرارة منخفضة . **التجربة5:** ✓ عند إعادة الانبوب4 الى درجة حرارة 40م^0 : نحصل على اختبار سالب مع محلول فهلنج وموجب مع ماء اليود ، يفسر ذلك بحدوث تفاعل تركيب الاميلوز نتيجة استعادة الانزيم نشاطه التحفيزي . **التجربة6:** ✓ غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز + حمض Hcl وفي درجة حرارة 40م^0 و PH=2 : عند تغيير قيمة PH الوسط (حامضي) كان الاختبار موجب مع محلول فهلنج وسالب مع ماء اليود ، يفسر ذلك بوجود الغلوكوز-1-فوسفات في الانبوب وغياب الاميلوز لعدم حدوث تفاعل تركيب الاميلوز نتيجة لغياب النشاط التحفيزي لانزيم اميلوسنتيتاز. **التجربة7:** ✓ غلوكوز-1- فوسفات + اميلوسنتيتاز + الصودا وفي درجة حرارة 40م^0 و PH=10 : عند تغيير قيمة PH الوسط (قاعدي) كان الاختبار موجب مع محلول فهلنج وسالب مع ماء اليود ، يفسر ذلك بوجود الغلوكوز-1-فوسفات في الانبوب وغياب الاميلوز لعدم حدوث تفاعل تركيب الاميلوز نتيجة لغياب النشاط التحفيزي لانزيم اميلوسنتيتاز.	8x0.25	02

		التجربة8: ✓ عند إعادة التجربة1 مع استبدال مادة التفاعل غلوكوز-1- فوسفات بغلوكوز-6- فوسفات ، نحصل على نفس نتائج التجربة2 ، يفسر ذلك بعدم تشكل الاميلوز لعدم حدوث تفاعل تركيب الاميلوز نتيجة غياب النشاط التحفيزي للانزيم .
0.75	0.5 0.25	**3 – شرح نتائج التجربة5 على المستوى الجزيئي :** توفر الشروط الملائمة لنشاط الانزيم ✓ يمتلك الانزيم بنية ثلاثية الابعاد محددة باحماض امينية معينة . ✓ يرتكز التخصص الوظيفي للإنزيم على تشكل معقد أنزيم – مادة التفاعل (اميلوسنتتاز –غلوكوز1- فوسفات) ، ينشأ أثناء حدوثه رابطة انتقالية بين جزء من مادة التفاعل ومنطقة خاصة من الأنزيم تدعى الموقع الفعال .وهذا يؤدي الى تحفيز التفاعل وتشكيل المنتوج (الاميلوز). **الرسم التخطيطي** 
0.75	0.25x3	**4 – الخصائص العامة لعمل الانزيمات** ✓ من مقارنة التجربتين 2 و4 مع1 : نشاط الانزيم يتطلب درجة حرارة مثلى ، في حالة انزيم الاميلوسنتيتاز تقدر بـ 40م^0. ✓ من مقارنة التجربتين 6و7 مع1 : نشاط الانزيم يتطلب درجة PH مثلى ، في حالة انزيم الاميلوسنتيتاز تقدر بـ 7 . ✓ من مقارنة التجربة8 مع التجربة1 : يمتلك الانزيم (اميلوسنتيتاز) تخصص نوعي بالنسبة مادة التفاعل (غلوكوز-1-فوسفات).
0.5	0.25x2	**5 – بقية خصائص التحفيز الانزيمي :** ✓ يمتلك الانزيم تخصص نوعي بالنسبة للتفاعل الكيميائي . ✓ الانزيمات لا تستهلك خلال التفاعل الكيميائي وتؤثر بكميات ضئيلة جدا.
01	0.25x2 0.25x2	**III-1- تحليل وتفسير المنحنى1** **التحليل :** ✓ من التركيز0 إلى6 و.إ لمادة التفاعل : سرعة التفاعل تزداد بزيادة تركيز مادة التفاعل إلى ان تصل السرعة إلى قيمة قصوى تقدر بـ 1.2 و.إ عند التركيز6 و.إ. ✓ ابتداء من التركيز 6و.إ لمادة التفاعل, سرعة التفاعل الانزيمي تبقى ثابتة عند قيمة قصوى V_{max} = 1.2 و.إ **التفسير :** ✓ في البداية تزداد سرعة التفاعل إلى غاية ارتباط كل جزيئات الانزيم بمادة التفاعل في صورة معقد ES . ✓ في الجزء الثاني , بقاء السرعة ثابتة عند قيمة قصوى لان الانزيم في حالة تشبع ، كل الانزيمات مثبتة لمادة التفاعل ، فمهما زاد تركيز مادة التفاعل تبقى سرعة التحفيز عند قيمة قصوى V_{max}.
0.5	0.5	**2 – شرح الاختلاف الملاحظ في السرعة القصوى (V_{max}) عند تغير تركيز الانزيم:** ✓ عند إضافة المزيد من جزيئات الانزيم فان السرعة تزداد نتيجة الزيادة في تشكيل المعقد ES ولمدة

أطول إلى غاية ارتباط كل جزيئات الانزيم بمادة التفاعل عندئد تصل سرعة التفاعل إلى قيمة قصوى

- ✓ تركيز الانزيم يحدد سرعة التفاعل بطريقة طردية مع توفر كمية متزايدة من مادة التفاعل.

S S S S S S S S **مادة التفاعل** S S S S S S S S
E E E **الانزيم** E E E E E

ES ES ES **المعقد "انزيم-مادة التفاعل"** ES ES ES ES ES

عند تركيز 1 و.إ للانزيم : زيادة في تشكل معقد ES خلال وحدة الزمن=**5**	عند تركيز 0.5 و.إ للانزيم : العدد الأقصى للمعقد ES =**3**

III -1 تعرف المصطلحات : — 0.25x4 — 01

المحفز:

- ✓ مادة تسطيع بتراكيز ضعيفة من تسريع التفاعلات الكيميائية ولا تستهلك في نهاية التفاعل.

سرعة التفاعل :

- ✓ تغير في تركيز مواد التفاعل (او النواتج) لتفاعل كيميائي بدلالة الزمن.

السرعة الابتدائية V_i

- ✓ سرعة تشكل النواتج في بداية التفاعل عند التراكيز الكبيرة لمادة التفاعل , وتصل إلى سرعة قصوى V_{max}.

الموقع الفعال :

- ✓ جزء من الإنزيم له القدرة على التعرف النوعي لمادة التفاعل و تحويلها.

---

2 – أوجه التشابه والاختلاف للانزيمات — 01 — 01

أوجه التشابه	أوجه الاختلاف
- الإنزيم طبيعة بروتينية	- كل انزيم تشرف على تركيبه مورثة معينة.
- تبقى على حالتها بعد التفاعل.	- كل انزيم يتخصص في تفاعل معين.
- يتم تركيبها بعد النسخ وترجمة.	- كل انزيم ذو بنية فراغية معينة.