الفصل العاشر

تنظيم التعبير الجينى فى مميزة النواة

هناك نوعان رئيسيان من الخلايا مميزه النواه وهما وحيدة الخلية مثل الخميرة ومتعددة الخلايا أى التى تشترك فى منظومة ضمن نسيج محدد . وتختلف احتياجات هذه المجموعة الأخيرة من الخلايا عن تلك الخاصة بوحيدة الخلية وكذلك عن الخلايا غير مميزة النواه حيث انها لا تستجيب بسرعة للتغيرات البيئية . يحدث اثناء فترة النمو لكائن ما أن تستجيب الخلايا لاشارات مختلفة تؤدى إلى تكوين وتمايز تلك الخلايا المستهدفة ، إلا أن معظم هذه الاشارات لم يتم التعرف عليها بعد . وبمجرد أن تتمايز الخلايا فإنها تبقى ثابتة أو مستقره بحيث تتخصص فى انتاج مواد معينه اما بمعدل ثابت أو متغير حسب درجة الاستجابه لاشارات خارجية مثل الهرمونات أو التغيرات فى درجة الحرارة . تتشابه مميزه النواه وحيده الخلايا مثل الخميرة مع غير مميزة النواه مثل البكتريا فى بعض خصائص تنظيم التعبير الجينى . وعلى الرغم من أن التركيب الجينى للخميره ينتمى إلى مميزه النواه إلا أنها تعتبر ضمن الكائنات الدقيقة التى تتأثر بسرعة بالتغيرات البيئية المحيطة بها وخاصة بالنسبة للاحتياجات الغذائية .

توجد بعض الأدلة على وجو نوع من التنظيم للتعبير الجينى فى الخميرة يشبه إلى حد ما نظام الاوبرون الموجود فى البكتريا .

تحتوى الخميرة على جينوم يبلغ حجمه حوالى عشرة أضعاف جينوم بكتريا القولون . وقد تركزت الدراسات على البحث عن وجود نظم اوبرون فى الخميرة اسوه بما اكتشف فى البكتريا ، وقد تبين أن الجينات التى توجد بينها علاقات وظيفية لا تكون عادة مرتبطة بشدة ولكنها ، على العكس مما فى البكتريا ، تكون متناثره على الكروموسومات فى جينوم الخميرة . إلا أنه تبين وجود مستوى معين من التنسيق الظاهر فى انتاج الانزيمات الخاصة بسلسلة أيض معينة . ويفترض أن ذلك يرجع إلى وجود نوع من نظم التحكم فى التعبير الجينى

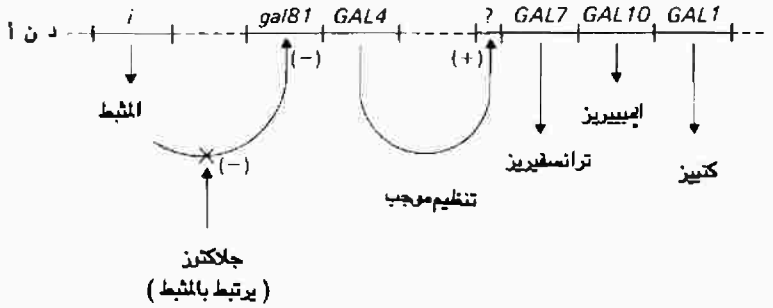
يختلف عما يحدث فى غير مميزة النواه . كما تبين أنه فى الخميرة يتم نسخ وحدات mRNA منفردة وحيده السسترون monocistrnic وليست عديده السسترونات Polycistronic نظرا لعدم ارتباط الجينات ذات العلاقة الوظيفية أو تجاورها فى مميزة النواه . ولو أن هناك بعض الحالات التى وجد فيها أن الجينات تكون متجاوره ، مما أعطى الانطباع بوجود نظام شبيه بنظام الاوبرون وسوف نتعرض لبعض هذه الحالات .

١ . جينات تخمر الجلاكتوز فى الخميرة :

The galactose Fermentation genes in yeast

وجد أن الانزيمات الثلاثة الأولى فى عملية تخمر الجلاكتوز فى الخميرة هى : جلاكتو كينيز galactokinase ، الفاد - جلاكتوز - الفوسفات يوريديل ترانسفيريز ∝-Dgalactose 1-phosphate uridyl trnasferase وانزيم لوريدين ثنائى فوسفات الجلوكوز 4 - ابيميريز Uridine diphosphoglucose 4 - epimerase ويتحكم فى انتاج هذه الانزيمات الجينات - GAL1 و GAL7 و GAL10 ، على الترتيب . ويبدو أن هذه الجينات مرتبطه بشده على الكروموسوم رقم II بالتتابع التالى : GAL1 - GAL10 - GAL7 . ويتم استبداء induction الجينات الثلاثة فى تناسق يؤدى إلى زيادة انتاجها من الانزيمات إلى أكثر من ٥٠٠٠ ضعف عند اضافة الجلاكتوز إلى البيئة أمكن التعرف على طافرات فى الجين المنظم Regulatory gene بحيث تؤثر على تعبير جينات GAL . وقد تبين بالنسبه لمجموعه من هذه الطافرات النوعية أن الموقع الخاص بالجين المنظم يحتل مكانا مستقلا عن الجينات التركيبه الثلاث ، كما وجد أن هذه الطافرات من النوع التأسيسى Con-stitutive mutants بالنسبة للثلاث انزيمات وهى متنحيه (i^-) بالنسبه للطراز الوحشى (i) . كما وجدت مجموعه أخرى من الطافرات فى جين منظم آخر يسمى GAL4 وهو غير مرتبط بالجين i أو بالجينات التركيبية . وتتميز طافرات الجين GAL4 بانها من النوع متعدد الاثر pleiotropic سالبه بمعنى انها لا تستحث بوجود الجلاكتوز . كما اكتشفت مجموعة ثالثة من طافرات جين منظم ثالث ، ويقع مجاور مباشره للموقع GAL4 فى منطقة gal 81 ويؤدى إلى

إنتاج مستمر (تأسيسي) لانزيمات تخمر الجلاكتوز . وقد اقترح نموذج لتنظيم تعبير جينات GAL كما في الشكل (١٠ - ١) ، حيث ينتج الجين المنظم (i) البروتين المثبط الذي يقوم بتثبيط تعبير الجين GAL4 عن طريق تفاعله مع المنطقة gal 81 المجاوره له وذلك في غياب الجلاكتوز . ولكن إذا توفر الجلاكتوز فإنه يتم ايقاف نشاط البروتين المثبط ، وبالتالي يمكن نسخ الجين GAL4 . وحيث أن طافرات GAL4 متعددة الاثر سالبه فإنه يعتقد أن الجزئ الذي ينتجه الجين GAL4 هو عبارة عن جزئ مؤثر موجب positive effactor يحتاجه النظام لكي يتم التعبير عن الجينات الثلاثة التركيبه في اوبرون GAL ولم يعرف كيفية أو مكان تفاعل ناتج الجين GAL4 (العامل المؤثر) مع مجموعة جينات GAL ، وبمعنى آخر فإن العلاقة بين ناتج الجين i والمنطقة gal 81 تشبه العلاقة بين البروتين المثبط للجين المشغل في اوبرون البكتريا .



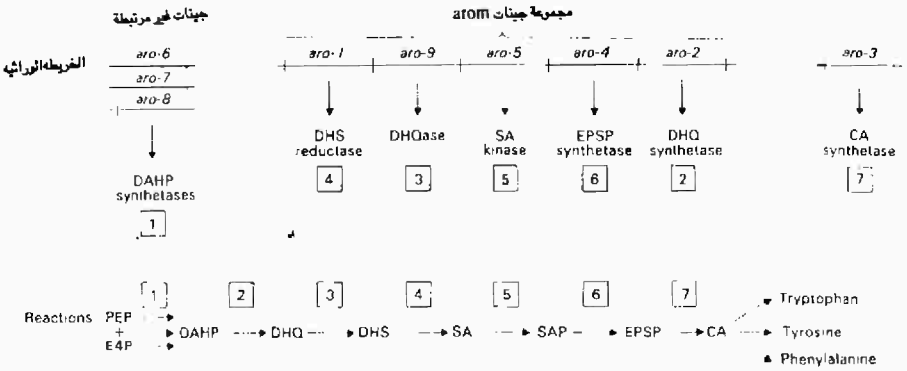
الشكل (١٠-١)،

النموذج المقترح لتنظيم تعبير الجينات المسئوله عن تخمر الجلاكتوز في الخميرة

٢ .مجموعة جينات بناء الحماض الامنية العطرية في فطر النيوروسبرا :

تمثل هذه المجموعة من الجينات أحد النظم الشبيهه بنظام الاوبرون . وتتحكم هذه الجينات في الخطوات الأولى من سلسلة بناء الاحماض الأمنية العطرية : فينل الانين والتيروسين والتربتوفان في فطر النيوروسبرا *Neurospora crassa* ، ويبين الشكل (١٠- ٢) مجموعة الجينات المتحكمة في انتاج الانزيمات المشتركة في هذه السلسلة الأيضية . وقد تبين وجود تكتل من عدة انزيمات maltienzyme aggvegate ذات وزن

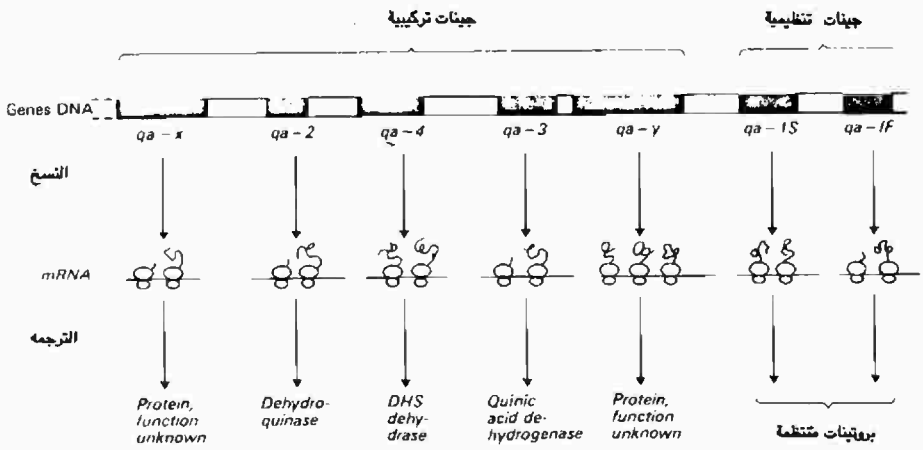
جزئى حوالى ٢٣٠٠٠٠ دالتون ، ويحتوى على خمس انزيمات مختلفة . يتم التشفير لهذه الانزيمات الخمسة بمجموعه جينات يطلق عليها "arom" والمكونه من الخمس جينات المتجاوره aro - 2, aro - 4, aro -5, aro - 9,aro -1 . وقد دلت الدراسات الوراثيـه علـى أن



الشكل (١٠-٢)،

مجموعة جينات arom فى فطر النيوروسبرا حيث تظهر الانزيمات التى يتحكم فى انتاجها الجينات التركيبيه والتفاعلات التى تقوم بها فى بناء الاحماض الأمينية العطرية

حدوث طفرة فى جين ما تؤثر اما على نشاط احد هذه الانزيمات فقط أو قد تؤدى إلى فقد نشاط إثنين أو أكثر من هذه الانزيمات فى المعقد الانزيمى المذكور . وهى تشبه فى ذلك الطفرات القطبية فى اوبرون اللاكتوز فى بكتريا القولون . ولذلك افترض أن مجموعة جينات arom يتم نسخها فى صورة mRNA عديد السسترون ، وأن عملية النسخ تبدأ عند الجين aro - 2 . مما حدى بالبعض إلى الاعتقاد بأن مجموعة جينات arom تمثل اوبرون فى هذا الفطر . إلا أن الأدله الحديثة أثبتت أن ما يسمى بمجموعة جينات arom تتكون فى الحقيقة من جين واحد تركيبى يشفر لمتعدد ببتيدى واحد نو وزن جزئى مرتفع مقداره ١١٥٠٠٠ دالتون ، وان جزئيين من هذا المتعدد الببتيدى يكونان معا الانزيم الفعال الذى يعطى النشاط الانزيمى لما كان يظن أنه من فعل خمس انزيمات فى المعقد الذى سبقت الاشاره اليه . ويعنى ذلك أن نظام arom ليس فى الحقيقة أوبرون ولكنه عباره عن اندماج خمس جينات قديمه فى جين واحد ، كما أن هذا الجين المتجمع (العنقودى) له منطقة بروموتور واحدة .

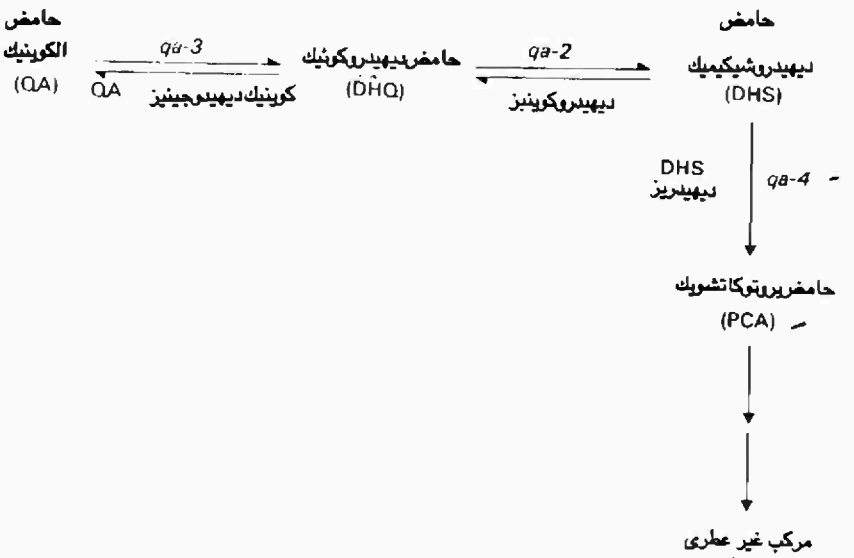


الشكل (١٠ - ٣):

المسار الأيضى لعمليه هدم حامض الكوينيك فى فطر النيوروسبرا والجينات التركيبيه والانزيمات الناتجة عنها . يستحث المسار الأيضى عندما ترتفع نسبه المركبات العطرية فى الخلية وتقوم الإنزيمات بهدمها إلى مركبات غير عطرية

٣ .التحكم فى تمثيل حامض الكوينيك quinic acid فى النيوروسبرا:

تمت دراسة تنظيم تعبير جينات (qa) فى النيوروسبرا وهى عباره عن مجموعة من الجينات تشارك منتجاتها فى التمثيل الهدمى لحامض الكوينيك (QA) والذى يستخدم كمصدر للكربون . وقد تبين من الدراسات الوراثية والجزيئية ان مجموعة جينات qa تتكون من خمس جينات تركيبيه وجينان منظمان كما فى الشكل (١٠-٣) . تستحث عملية نسخ الجينات التركيبه بمعدل ٣٠٠ - ١٠٠٠ ضعف عند اضافة حامض الكوينيك إلى البيئة . وتشفر الجينات : qa-3, qa-2, qa-4 للانزيمات الثلاثة الأولى فى سلسلة هدم حامض الكوينيك وهى بالترتيب:Catabolic dehydrogenase, quinic acid dehydrogenase, dehydroshikimic acid dehydrase كما فى الشكل (١٠ - ٤) .



الشكل (١٠ - ٤):

مكونات مجموعة الجنيات التركيبيه والمنظمة المسئولة عن عملية تمثيل حامض الكوينيك (qa) فى فطر النيوروسبرا

ويلاحظ أن هذه السلسلة الهدمية تتشابه مع سلسله بناء الاحماض الامنية العطرية في وجود انزيم dehydroquinase ، إلا أنه لا يوجد تداخل بين هاتين السلسلتين ، حيث ان البروتين المتعدد الوظائف الناتج من سلسله البناء يستخدم بكفاءه لتوجيه تفاعلات المركبات الوسيطه . أما الجينان الأخران وهما qa - x ، qa - y فقد تم التعرف عليهما بطرق تحليل تتابعات د ن أ لمنطقة qa .

وقد وجد أن نسخ هذين الجينين يستجيب للمستحث QA إلا أنه لم يعرف بعد وظيفة نواتجهما البروتينية . وعند الطرف qa - y من مجموعة الجينات التركيبية qa ، يوجد جينان منظمان وهما qa - 1S و qa - 1F وبعد ذلك مشابها لما وجد في اوبرون غير مميزة النواه ، الا انه لم تتوفر بعد ادلة على وجود منطقة المشغل أو على ان نسخ mRNA يتم في صوره سسترون متعدد Polycistranic . وفي الحقيقة فإنه توجد أدله على أن كل جين تركيبي في هذه المجموعة يشفر لجزئ مستقل من mRNA . وعلى ذلك فإنه على الرغم من أن الجينات تستجيب بالتنسيق للمستحث QA إلا أنها تقوم بذلك لأنها تتعرف فيما يبدو على إشارة الحث بصوره مستقله . أمكن بدراسه بعض الطفرات في الجينات المنظمة لهذا النظام التعرف على عملية التحكم في تعبير الجينات التركيبية qa ، حيث تبين أن الطفرات التي تحدث في الجين qa - 1S إما أن تكون تأسيسه ومتنحيه ($qa - 1S^c$) أو غير مستحثه وشبه سائدة ($qa - 1S^-$) . اما طفرات الجين qa - IS فتكون غير مستحثه ومتنحيه حتى في وجود الطفرات التأسيسيه $qa - 1S^c$ مما ادى إلى اقتراح النموذج التالي لميكانيكيه عمل هذه المجموعة من الجينات qa :

يشفر الجين qa - 1F لانتاج بروتين منشط activator protein المطلوب لعمليه نسخه هو نفسه وكذلك لنسخ جميع الجينات التركيبيه فيما عدا الجين qa - X . في حين يشفر الجين qa - 1F لانتاج بروتين مثبط Repressor Protein الذي يتفاعل مع QA ، وفي هذه الحالة لا يكون له تأثير على نسخ qa - 1F . إلا أنه في غياب المستحث QA يقوم بروتين qa - lS بإيقاف عمليه نسخ الجين qa - 1F المنتج للبروتين المنشط مما يؤدى إلى تثبيط معظم الجينات التركيبيه . ولم يعرف بعد دور الجين qa - X في نظام qa .

من هذه الأمثله يتبين أن هناك بعض الأنظمة التنظيميه في مميزه النواه وحيده الخلية

التى قد تتشابه إلى حد ما مع ما يحدث فى أوبرون غير مميزه النواه إلا أنها تفتقر إلى الكثير من الخواص أو السمات الرئيسية المميزه لنظام الأوبرون الكامل .

الجرعة الجينيه والتضخيم الجينى :

Gene dosage and gene amplification

تبين أن منتجات بعض الجينات يكون الاحتياج اليها فى الخلية بكميات اكبر بكثير عن غيرها . والطريقة الشائعة للحفاظ على نسب معينه من منتجات جينيه نوعيه هى ما يعرف بالجرعة الجينيه gene dosage ، فعلى سبيل المثال إذا كان الجينان A و B يتم نسخهما بنفس المعدل كما أن كفاءة الترجمة لكل منها تكون متساوية ، فإنه يمكن انتاج ٢٠ ضعف من المنتج الجينى A عن B لو كان هناك ٢٠ نسخه من الجين A لكل نسخه من الجين B . تمثل جينات الهستونات فى مميزة النواه نظام تأثير الجرعة . إذ أنه لكى يتم بناء الكمية الكبيرة من الهستونات المطلوبة لتكوين الكروماتين ، فإن معظم الخلايا تحتوى على مئات النسخ من جينات الهستونات لكل جين مطلوب لتناسخ د ن أ وهناك حالة خاصة من تأثير الجرعة الجينيه وهى التضخيم الجينى والتى يتم فيها زيادة عدد نسخ الجينات استجابه لاشاره ما . وبعد ما يحدث أثناء تمايز الخلايا الأمية للبويضات OOcytes فى أبو ذنيبه *Xenopus laevis* افضل مثل لحاله التضخم الجينى . يحتاج تكوين البويضه من خلايا الأووسيت إلى حدوث عمليات معقدة تتطلب توفر كميه هائلة من البروتين مما يستدعى ضروره وجود عدد كبير جدا من الريبوسومات لبناء هذا البروتين . ونعرف أن أن الريبوسومات تحتوى على rRNA ، وقد وجد أن عدد جينات rRNA فى الخلايا الأمية للبويضات يكون محدودا بحيث لا يفى انتاجها العادى باحتياجات الخلية من الاعداد المطلوبه من الريبوسومات فى الوقت المناسب . وللتغلب على هذا القصور ، وجد أنه أثناء تمايز خلايا امهات البيض يرتفع عدد جينات rRNA إلى حوالى ٤٠٠٠ ضعف . وقد وجد أن هذه الزيادة الهائلة تحدث فقط أثناء فترة تكوين البويضة . تحتوى الخلايا الابتدائية للبيضه ، مثلها مثل جميع الخلايا الجسميه فى ابوذنيبه ، على حوالى ٦٠٠ وحدة من جينات rRNA (rDNA) وبعد التضخيم نجد أن العدد يرتفع إلى ٢ × $^{٦}١٠$ نسخة من كل وحدة . يمكن هذا العدد الكبير من نسخ rRNA فى الأووسيت من بناء $^{١٢}١٠$ ريبوسوم الذى تحتاجه الخليه لانتاج البروتينات اللازمة فى المراحل المبكره من تكوين الجنين .

وجد أنه قبل أن يحدث التضخيم الجيني تكون وحدات rRNA موجود في تتابع مترادف، في حين انه اثناء عملية التضخيم الجيني وعلى مدى الثلاث اسابيع الأولى لتمايز الخليه البيضية من الخلية الابتدائية تظهر اعداد كبيرة من النوائر الصغيرة أو النوائر المتدحرجة المتناسخة .

عندما يتم نضج البويضة ، فانه تنتفي الحاجة إلى بناء كميات كبيره من rRNA إلا بعد الاخصاب ، وعند التمايز المبكر للجنين حيث تكون النسخ الاصلية كافيه في تلك المرحلة . وعلى ذلك فإن الزيادة في نسخ rRNA لن يخدم أي غرض ما يؤدي إلى انحلالها انزيميا ببطء .

بعد الاخصاب نجد أن د ن أ الكروموسومي يتناسخ وتبدأ عمليه الانقسام الميتوزي المتكرر اثناء نمو وتكوين الجنين وتمايزه . وفي اثناء هذه الفترة نجد أن rRNA غير الكروموسومي يظل بدون تناسخ ، وتستمر عمليه تحلله بحيث لا يتبقى منه أي كمية في الخلايا عندما يكون الجنين قد وصل إلى مرحله مبكره من التكوين . وجد أن عملية التضخيم الجيني تتم في عدد كبير من الكائنات مثل الحشرات والبرمائيات والاسماك .

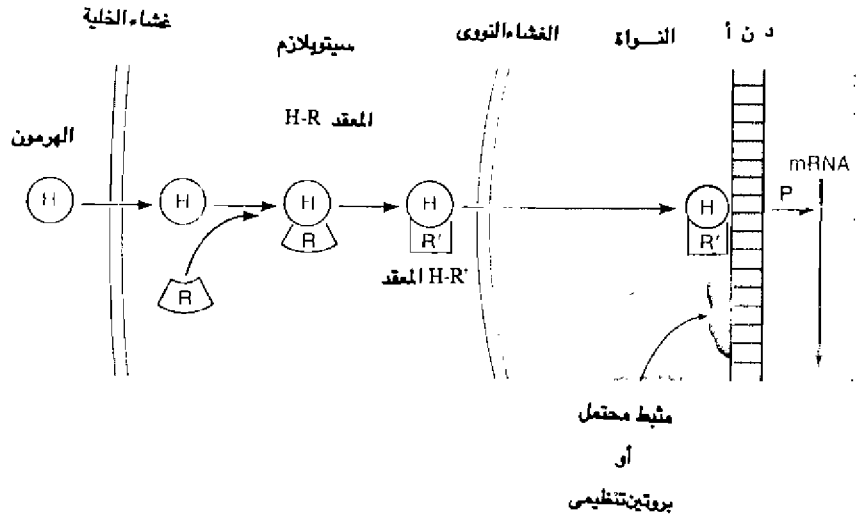
التنظيم على مستوى النسخ :

يصنف mRNA في مميزه النواه عادة إلى مجاميع حسب عدد النسخ الموجودة من جزيئاته في كل خليه إلى : وحيد النسخه single copy (وهو مصطلح يستخدم لكلا من النسخه الوحيده أو لعدد قليل من النسخ لكل جينوم احادي) ومتوسط التكرر (عدة مئات من النسخ لكل خليه) وعالي التكرر (عدة الاف من النسخ لكل خليه) . يشفر mRNA وحيد النسخه ومتوسط التكرر عادة للانزيمات والبروتينات التركيبيه على الترتيب . أما جزيئات mRNA عاليه التكرر فيتم نسخها من عدد قليل من الجينات الموجوده في مميزه النواه ويكون انتاجها عاده مرتبطا بتغير يحدث في مرحله تمايز معينه ويفيد المثال التالي في توضيح هذه العملية .

وجد أن بادئات خلايا الدم الحمراء الناضجة erythroblast cell في نخاع العظام تقوم بانتاج كميات هائلة من mRNA الذي يمكن أن تتم ترجمته إلى هيموجلوبين ناضج في حين أن الخلايا الاساسية التي تسبق مرحلة تكوين الاريثروسايت لا يمكنها انتاج أي هيموجلوبين .

تعد الهرمونات من أهم منظمات النسخ في الخلايا مميزه النواه الراقية ، وقد وجد أن

عدداً من هرمونات الجنس تعمل عن طريق تنشيط عملية النسخ . ولكى يكون للهرمون دور فى تنظيم عملية النسخ فإنه لابد أن يكون بمقدوره اعطاء اشاره إلى د ن أ وقد وجد أن الهرمونات الاستيروديه الكارهه للماء (اللاقطبيه) يمكنها المرور بحرية من خلال الغشاء البلازمى . وتحتوى الخلية المستهدفة target cell على مستقبل نوعى (R) فى السيتوبلازم الذى يشترك فى تكوين معقد مع الهرمون (H-R) بحيث يتحور المستقبل فى هذا المعقد فيصبح (H-R') كما فى الشكـل (١٠ - ٥) .



الشكل (١٠ - ٥):

شكل تخطيطى يبين كيف يصل الهرمون (H) إلى جزئ د ن أ ليحفز عملية النسخ عن طريق الارتباط بمستقبل سيتوبلازمى . قد يمنع البروتين المنظم وصول المعقد H-R' إلى منطقة البروموتور أو قد يساعد على الارتباط به

يمر المعقد (H-R') بعد ذلك من خلال الغلاف النووى ويدخل إلى النواه . ولم يعرف الكثير مماً يحدث بعد هذه النقطه . ومن المرجح أنه فى النواه اما أن يشارك المعقد H-R' باكمله أو الهرمون بمفرده فى احدى هذه البدائل :

١ - الارتباط المباشر بجزئ د ن أ

٢ – الارتباط الجزئى ببروتين مؤثر effector protein .

٣ – تنشيط جزىء مرتبط بجزئ د ن أ

٤ – وقف نشاط احد المثبطات .

٥ – احداث تغير فى تركيب الكروماتين بحيث يصبح د ن أ معرضا لأنزيم بلمره ر ن أ

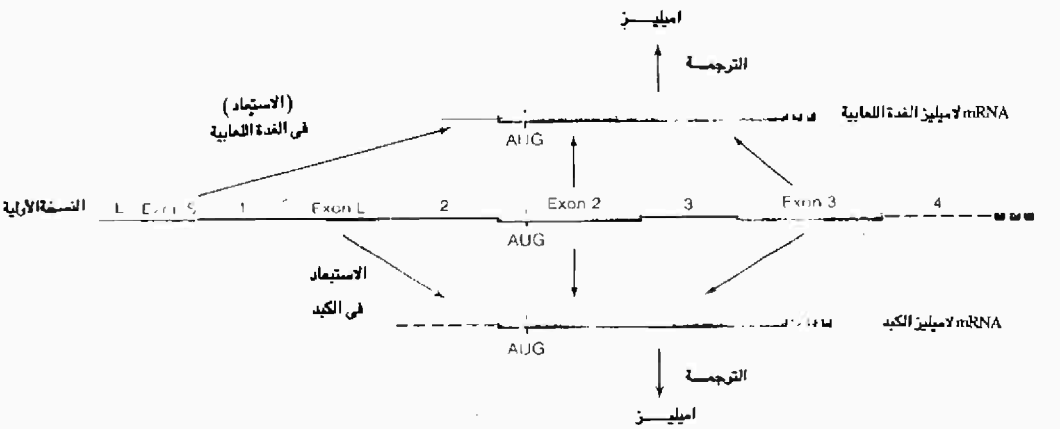
ولم يعرف إلى الآن أى من هذه البدائل هى التى تحدث فى النواه المميزه التى يتم فيها نظام التنشيط الهرمونى للنسخ .

ومن الامثلة المعروفة لحث النسخ بالهرمونات ، ما تبين من تحفيز بناء بروتين البيومين البيضه ovlbumin فى قناة بيض الدجاجه عن طريق هرمون الجنس الاستيروجين estrogen، حيث وجد انه عندما تحقن الدجاجه بهذا الهرمون ، فإن انسجه قناة المبيض تستجيب لهذه العملية فتقوم بانتاج جزئيات mRNA الخاصة بالبيومين البيضه ، وتستمر عمليه البناء هذه طالما استمرت اضافة الاستيروجين . ولكن بمجرد ايقاف اضافته نجد ان معدل بناء البيومين البيضه ينخفض بشكل سريع . وقد تبين عدم وجود mRNA لالبيومين البيضه سواء فى الفتره قبل اعطاء الهرمون أو بعد ٦٠ ساعة من وقف إعطائه . وجد أنه عند حقن الاستيروجين فى الدجاجه فإن انسجه قناه المبيض فقط هى التى تستجيب وتقوم بانتاج mRNA النوعى الخاص بالبيومين البيضه فى حين لا تحدث استجابه مماثله فى الانسجه الأخرى للجسم نظرا لأن سيتوبلازمها لايحتوى على المستقبل النوعى الخاص بهذا الهرمون.

تنظيم التجهيز Regulation of Processing :

غالبا ما ينتج نوعان مختلفان من الخلايا نفس النوع من البروتين ولكن بكميات مختلفة على الرغم من وجود نفس الجين فى كلا النوعين وحدوث عملية النسخ فيهما . ترتبط هذه الظاهره كثيرا بوجود جزئيات مختلفة من mRNA لا يتم ترجمتها بنفس الكفاءة . فمثلا عند بناء انزيم الفا اميليز anmylase - ∝ فى الفأر فإنه يتم أنتاج جزيئات مختلفة من mRNA من نفس الجين نتيجة لاستخدام نظم مختلفة فى عملية حذف واستبعاد الانترونات introns. ومعروف أن خلايا الغدد اللعابية تنتج كمية اكبر من الانزيم عما تنتجه خلايا الكبد فى الفأر على الرغم من نسخ نفس التتابعات الشفرية فى كلا النوعين من الخلايا ، إلا أن الفرق يرجع إلى أنه بينما يتم بناء نفس النسخة الأوليه من mRNA النوعى إلا أنه يتم استخدام

ميكانيكيتين مختلفين لاستبعاد الانترونات Splicing . يبين الشكل (١٠ - ٦) القسم الأول من النسخة الأولية لجزئ mRNA ، ويبدأ التتابع الشفرى بعد حوالى ٥٠ زوج من القواعد داخل الاكسون رقم ٢ وتتكون المنطقة الشفرية من التحام الاكسون رقم ٣ مع الاكسونات التاليه له . فى حالة خلايا الغدد اللعابية ، يتم تجهيز النسخة الأوليه بحيث يتم ربط الاكسون S بالاكسون ٢ (بمعنى أنه يتم حذف واستبعاد الاكسون L كجزء من الانترون ١ ، ٢) . من ناحية أخرى ، يتم فى خلايا الكبد ربط الاكسون L بالاكسون ٢ وذلك لأن الاكسون S يتم حذفه مع الانترون 1 ومع المنطقة القائده Leader (L) . وبذلك تعمل الاكسونات L ، S كقائدين بديلين لجزئ mRNA النوعى للأميليز مما يؤدى بطريقة ما إلى حدوث عملية النسخ بمعدلات مختلفة .



الشكل (١٠ - ٦)،

انتاج جزيئات نوعيه من mRNA للاميليز من خلال عمليات الاستبعاد والربط المختلفة فى خلايا الغدد اللعابيه وخلايا الكبد فى الفار . تلون منطقة القياده L والانترونات باللون الداكن والاكسونات باللون الباهت . وتبدأ التتابعات الشفريه بالكودون AUG فى اكسون ٢.

تنظيم الترجمة :

فى البكتريا ، نجد أن معظم جزئيات mRNA يتم ترجمتها بنفس العدد من المرات مع

اختلافات طفيفة من جين إلى آخر ؛ بعكس الحال فى الخلايا مميزه النواه حيث نجد أن عملية الترجمه يحدث فيها نوع من التنظيم للتحكم فى بناء البروتينات المختلفة من حيث الكم والكيف . ويمكن تلخيص أهم أنواع التنظيم فى الآتى :

١ - ضرورة استقبال اشاره نوعيه قبل أن تبدأ عملية ترجمة جزئ mRNA النوعى .

٢ - تحديد فترة عمر جزئ معين من mRNA .

٣ - التحكم فى معدل البناء العام للبروتين النوعى .

وسوف نستعرض بعض الامثله لكل من هذه الأنواع من التنظيم . من الامثلة الهامة لتنظيم الترجمة ما يعرف بـ mRNA المقنع أو المحجوب masked mRNA ، من المعروف أن البويضات غير المخصبة تكون فى حالة كمون بيولوچى ، إلا أنه بمجرد حدوث الاخصاب يتم انتاج اعدادا كبيرة من أنواع مختلفة من البروتينات الخاصة بالجهاز الميتوزى والاغشية الخلوية وغيرها . وجد أن البويضات غير المخصبه لقنفذ البحر sea urchin تقوم ببناء وتخزين كميات كبيرة من mRNA على مدى عدة شهور ، وذلك على شكل حبيبات من معقد mRNA مع البروتين الذى يتكون أثناء فترة تكوين البويضة . تكون هذه المعقدات من البروتينات النووية غير نشطة فى الترجمة قبل الاخصاب ، إلا أنه فى خلال دقائق قليلة بعد الاخصاب يبدأ ترجمة هذه الجزيئات من mRNA . يفسر ذلك على أساس أنه يتم تنظيم توقيت بدء عملية الترجمة . ولم تعرف بعد الميكانيكية التى يتم بها المحافظة على ثبات جزئيات mRNA وحمايتها من عملية التحليل المائى بانزيم RNase ولو أن ارتباطها بالبروتين قد يعطيها الحماية اللازمة ضد هذا التحلل .

يحدث نوع آخر من تنظيم الترجمة فى البويضات الناضجة غير المخصبة فى فترة تحتاج فيه إلى المحافظة على نفسها بدون أن تنمو أو أن تتعرض لأى تغير فى حالتها . ولذلك فإن معدل بناء البروتين فى تلك البويضات يكون بطيئا بصفة عامة . وقد تبين أن ذلك لا يحدث كنتيجة لعدم كفاية مقادير mRNA ، ولكنه يرجع فى المقام الأول إلى تأثير عامل لم يتم التعرف عليه بعد ويطلق عليه عامل التأهيل أو التحديد Recruitment factor الذى يبدو أنه يتدخل فى عملية تكوين معقد mRNA - ribome .

فى بعض الأحيان ، يتم التحكم فى بناء بعض البروتينات نتيجة للتأثير أو الفعل المباشر للبروتين على mRNA . إذ وجد ، على سبيل المثال ، أن تركيز أحد الأنواع من جزيئات

الاجسام المضاده يظل ثابتا عن طريق التثبيط الذاتى لعملية الترجمة ، بمعنى أن جزئيات الجسم المضاد ترتبط نفسها بجزئ mRNA الذى يشفر لها مما يؤدى إلى فشل بدء عملية الترجمة .

من الأمثلة الواضحة لتنظيم الترجمة ما يحدث فى دودة الحرير ، حيث يتم التنظيم هنا عن طريق إطالة فترة عمر جزيئات mRNA الخاصة بانتاج الخيوط الحريرية . تنتج غدد الحرير اثناء تكوين الشرنقة نوعا واحدا من البروتين المسمى فيبروين fibroin ، ولما كانت اليرقة تستغرق عدة أيام لتكوين الشرنقة ، فإن الامر يتطلب زيادة الكمية الكلية من هذا البروتين وليس مجرد رفع معدل بناء الفيبروين . تصل دودة الحرير إلى هذه الكمية العالية من البروتين النوعى عن طريق انتاج نوع من جزيئات mRNA الفيبروين التى تتميز بانها طويلة العمر نسبيا . يبدأ نسخ جين الفيبروين عند منطقة بروموتور قوى عندما تحدث إشارة غير معروفة المصدر بحيث يتكون حوالى 10^4 من جزيئات mRNA النوعى على مدى عدة أيام (ويعد هذا البناء مثالا للتنظيم النسخى) . ومعروف أن فترة عمر جزئ mRNA فى مميزة النواه يكون حوالى ٣ ساعات فقط يبدأ بعدها فى التحلل ويتلاشى . إلا أنه فى حالة mRNA الفيبروين تظل هذه الجزيئات نشطة وفعالة لعدة أيام يتم أثناؤها ترجمة كل جزئ منها عدة مرات لتنتج 10^5 من جزيئات الفيبروين ، أى أن كل جين هنا يكون مسئولا عن انتاج 10^9 جزيئاً من البروتين فى نهاية أربعة أيام . وقد تبين أن غدة الحرير تنتج إجمالى ٣٠٠ ميكروجرام أى 10^{15} من جزيئات بروتين الفيبروين أثناء هذه الفترة . ولولا امتداد عمر mRNA لكان من المحتم وجود حوالى ٢٥ ضعف العدد من الجينات الاصلية أو أن تستغرق عملية انتاج الكمية المطلوبة من الفيبروين حوالى ١٠٠ يوما .

وكمثال آخر لجزيئات mRNA طويلة العمر ذلك الذى يشفر لبروتين الكازين وهو بروتين اللبن الرئيسى الذى تفرزه الغدد اللبنية . فعندما تستقبل الغدد اللبنية هرمون البرولاكتين Prolactin تزيد فترة عمر mRNA الكازين ، ويستمر ايضا بناء mRNA بحيث يرتفع معدل انتاج الكازين بدرجة كبيرة تحت تأثير الهرمون . وعندما ينخفض تركيز البرولاكتين ينخفض مستوى تركيز mRNA الكازين بدرجة ملحوظة نظرا لتحلل mRNA مما يؤدى إلى توقف عملية افراز اللبن .

انتاج بروتينات نوعية مختلفة من نفس المنطقة من تتابع د ن أ:

فى غير مميزة النواه ، يتم التنظيم المتناسق لبناء عدد من النواتج الجينية عن طريق تنظيم

mRNA واحد متعدد السسترون Polycisnonic يضم مناطق التشفير لجميع المنتجات . يقابل هذا التنظيم فى مميزه النواه ، بناء ما يسمى البروتين المتعدد Polyprotein وهو عبارة عن سلسلة كبيرة من متعدد الببتيد والتى تتم تجزئتها بعد الترجمة لانتاج عدة بروتينات مستقلة بحيث يمكن اعتبار كل بروتين جزئى كمنتج لجين مفرد . فى مثل هذا التنظيم لا تكون التتابعات الشفرية لكل جين فى الوحدة الكبيرة لمتعدد البروتين منفصلة عن بعضها بكودون التوقف وكودون البدء فى كل مرة ولكنها بدلا من ذلك تكون مُعَرَّفة أو معلمه بعدد من تتابعات الاحماض الامينية النوعية التى يتم التعرف عليها كمواقع انفصال أو انفلاج بواسطه الانزيمات النوعية لقطع البروتين .

أمكن التعرف على البروتينات المتعددة التى تحتوى على عدد من مواقع القطع التى تصل إلى عشرة مواقع . وقد تبين أن عملية القطع لا تتم فى نفس الوقت ولكن ذلك يحدث حسب تتابع نوعى . وقد وجد أن أن استخدام البروتين المتعدد يؤدى إلى المحافظة على نسب مولاريه متساوية للبروتينات المكونة له . بالاضافة إلى ذلك فإن تأخير القطع عند مواقع معينة يؤدى إلى إيجاد تتابع زمنى لانتاج البروتينات الفردية وهى ميكانيكية شائعة الحدوث فى بعض الفيروسات الحيوانية .

توجد أمثلة عديدة ومعروفة للبروتينات المتعددة . فمثلا يسبق بناء القواعد المفسفره (والتى تستخدم فى بناء ر ن أ) وهى ثلاثى فوسفات اليوريدين وثلاثى فوسفات السيتدين سلسله البناء التالية :

Precursers

Carbamoyl ↓ phosphate Syunthetase

Carbamoyl phosphate --- Aspartyl Transcarbomylase ---> N - Carbamoyl aspatate

↓ dihydrooratase

GTP ← ← ← ← Dihydroorotate

يتم بناء كل انزيم منفصلا فى البكتريا ، فى حين تنتج كل من الخميرة والنيوروسبرا بروتينين فقط وهما dihydrocoratase والآخر عبارة عن بروتين كبير الحجم يتم تقطيعه فيما

بعد ليكون aspartyl transcarbomylase و Carbamylphosphate synthetase . ومن جهة أخرى تبين أن الثدييات تبنى بروتين ثلاثى الوحدات والذى يتم تقطيعه إلى الانزيمات الثلاثة المذكورة .

تبين أنه بالنسبة للعضلات الهيكلية فى الدجاج يتم تكوين صورتين مختلفتين من البروتين العضلى الميوسين Myosin من نفس الجين . وجد أن هذا الجين يحتوى على موقعين مختلفين لبدء النسخ (تتابعات TATA) بحيث يعطى كل منها نسختين أوليتين مختلفتين من mRNA والتى يتم تجهيز كل منهما بطريقة مختلفه لتكوين الجزئ النهائى الناضج من mRNA الذى يشفر لصور مستقلة من البروتين . وفى الدروسفلا يتم تجهيز الميوسين باربع طرق مختلفة ، ويعتمد طراز كل منها على مرحلة التمايز التى تمر بها الحشرة . يوجد أحد أنواع الميوسين فى طور العذراء فى حين توجد أنواع أخرى فى المراحل التالية من التمايز الجنينى ، إلا أنه لم يعرف بعد كيف يحدث هذا الاختلاف فى طرز التجهيز :

دور فسفره البروتين فى تنظيم التعبير الجينى:

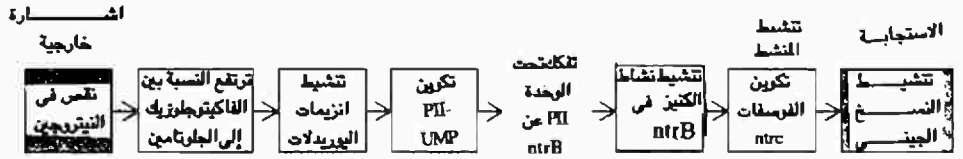
هناك بعض الظواهر التى تحدث فى غير مميزه النواه والتى يوجد لها مثيل فى مميزه النواه ايضا . فمثلا ، وكما سبق القول عند مناقشة دور البروتينات المثبطة فى ابرون التريتوفان واللاكتوز و CAP ، نجد أن تلك البروتينات تعتمد فى تأثيرها على عملية الارتباط العكسى باحد الجزئيات النوعية الصغيرة (الجزئيات الاشاريه) . وقد تبين ان بعض هذه الجزئيات الاشاريه مثل AMP الحلقى cAMP يمكنها ايضا أنه تتحكم فى نشاط البروتينات المنظمة للتعبير الجينى فى خلايا مميزه النواه إلا أنها تقوم بتلك الوظيفة بطريقة غير مباشرة حيث يتم ذلك من خلال عملية فسفره أو نزع فوسفات البروتينات . وعلى الرغم من أن عملية الفسفره لا تستخدم كثيرا فى تنظيم التعبير الجينى فى البكتريا إلا أنه يوجد نظام تحكم بكتيرى يعتمد على فسفره البروتين وسوف نبدأ بمناقشته كمدخل لمعرفة ما يحدث فى مميزه النواه .

تتحكم بعض البروتينات فى عمليات تمثيل كل من النتروجين والفوسفات وبروتينات الاغشية وفى الحركة الكيماوية Chemotaxis والتجرثم فى كثير من انواع البكتريا . وسوف نستعرض بالتفصيل تمثيل النتروجين فى بكتريا القولون ، حيث وجد أنه عندما يكون النتروجين محدوداً فى البيئة ، يرتفع معدل بناء عدد من البروتينات ومنها : انزيم جلوتامين

سينثيتيز glutamine Synthetase الذى يعد أهم انزيم فى تمثيل النتروجين والذى يساعد فى التفاعل .

glutamic acid + ammonia → glutamin

وتشتمل عملية التنشيط الجينى فى تمثيل النتروجين على مكونين تنظيميين مركزيين وهما بروتين ntrC وهو بروتين منشط للجين الذى يقوم بتشغيل الجينات فقط عندما يكون فى الصوره المفسفره (ntrC-phosphate) . أما المكون الآخر فهو انزيم ntrB الذى يمكنه اما فسفره بروتين ntrC (من خلال نشاط الكينيز) أو نزع مجموعة الفوسفات (من خلال نشاط الفوسفاتيز) . وتتحدد درجة فسفره ntrC بمجموعة من الانزيمات التى يتم تحفيزها عند انخفاض مستوى النتروجين حيث تقوم بإضافة جزئ احادى فوسفات اليوريدين (UMP) إلى تحت وحده تنظيمية فى ntrB . ويؤدى هذا التحوير إلى زياده النشاط النسبى للكينيز فى انزيم ntrB . يقاس مدى الاحتياج للنتروجين عن طريق زيادة نسبه الفاكيتوجلوتارات - ∝ Ketoglutarate إلى الجلوتامين مما يؤدى إلى حث عملية نسخ جين جلوتامين سينثيتيز glutamine synthetase كما فى الشكل (١٠ – ٧) .



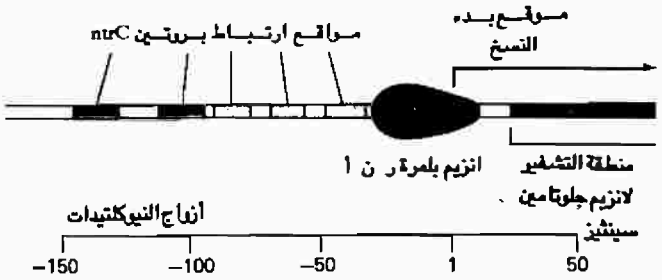
الشكل(١٠-٧):

جزء من المسار التنظيمى الذى يسمح بتنشيط الجينات المسئوله عن تمثيل النتروجين فى البكتريا عند نقص النتروجين فى البيئة . يعمل البروتين PII كتحت وحدة منظمة للبروتين ntrB . ولهذا المسار المتعدد الخطوات ميزه امكان احداث تغيير كبير فى الاستجابه الأيضيه لاى تغير طفيف نسبيا فى النتروجين المتاح . تقوم السلاسل الجانبيه ايضا بتحوير انزيمات اخرى لتنظيم نشاطها الحفزى بتأثير النتروجين .

دور مرونةجزئ د ن أ فى تنظيم النسخ:

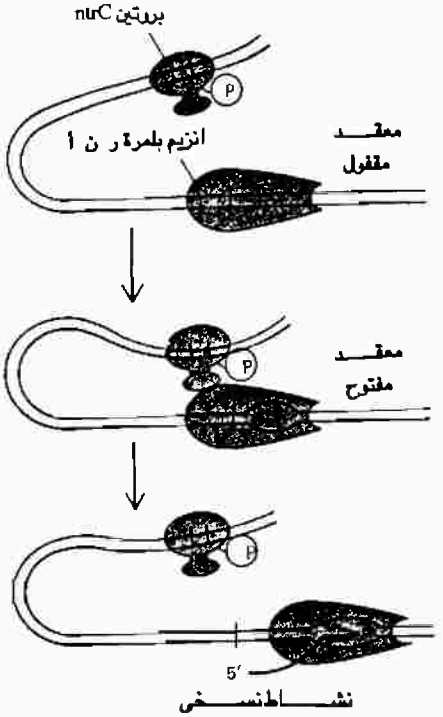
وجد أن بروتين ntrC يحتوى على موقعين قويين للارتباط على د ن أ ويقعان على بعد حوالى ١٠٠ زوج نيوكلتيدى أو أكثر قبل البروموتور الخاص بجين الجلوتامين سينثيتيز كما فى

الشكل (١٠ – ٨) . وعندما ترتبط الصورة المفسفره من ntrC (ntrC - phasphate) بهذين الموقعين فإن هذين الاخيرين يقومان بدورهما فى تحفيز عملية النسخ بصوره فعاله ، والأهم من ذلك أنه عندما تم نقل هذين الموقعين بطرق الهندسة الوراثية إلى مكان يبعد عن البروموتور بحوالى ١٠٠٠ زوج نيوكلتيدى فانهما ظلا يعطيان نفس التأثير المحفز ، وبينما يحدث هذا التأثير من بعد action at a distance أحيانا فى غير مميزه النواه ، نجد أن هذا النوع من التأثير هو السائد فى مميزه النواه كما سيأتى بعد . توجد أدلة فى غير مميزه النواه تشير إلى ان البروتينات المرتبطة بجزئ د ن أ على مسافة بعيده تعطى نفس التأثير الذى تعطيه إذا ارتبطت به على مسافة قريبة . فعلى سبيل المثال وجد أن بروتين ntrC يحفز قابليه انزيم بلمره ر ن أ على الارتباط بالبروموتور وتكوين معقد البدء المفتوح ، كما سبق القول فى عملية النسخ ، حيث تنفتح منطقة د ن أ لتكوين عروه للسماح للبروتينات المرتبطة على بعد للتفاعل مع انزيم بلمرة ر ن أ كما فى الشكل (١٠ – ٩) يعتقد بأن هذا التفاعل يحدث بسهولة نظرا لأن د ن أ يعمل tethers مسببا الاصطدام المتكرر للبروتينات المرتبطة على بعد الاف الازواج النيوكلتيديه مع منطقه البروموتور عن طريق زيادة التركيز المحلى للبروتين فى هذه المنطقة كما فى الشكل (١٠ – ١٠) .



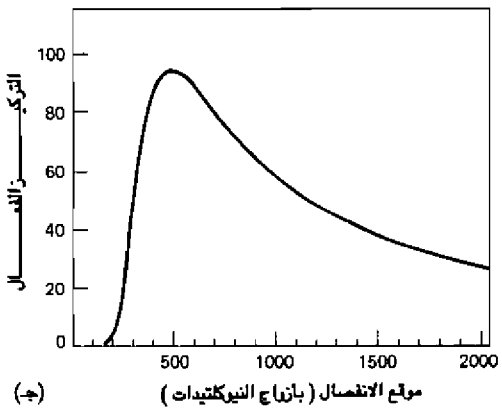
الشكل (١٠ - ٨):

المنطقة المنظمة للجين البكتيرى لانزيم جلوتامين سينثيتيز الذى يساعد فى التفاعل : حامض جلوتاميك + امونيا ← جلوتامين . يرتبط الموقعين المظللين بالبروتين ntrC بفاعليه مرتفعة ويكون وجودهما ضرورى لتنشيط النسخ



الشكل (١٠-٩):

نموذج لتأثير معزز بروتين ntrC على بناء ر ن أ في جين انزيم جلوتامين سينثيتيز في بكتريا القولون . يؤدى ارتباط البروتين المنظم في تتابع سابق لـ د ن أ إلى زيادة معدل بدء بناء ر ن أ بانزيم بلمره ر ن أ وعلى الرغم من أن البروتين يرتبط بهذه المواقع حتى وهو غير مفسفر ، إلا أن الصورة المفسفرة فقط هي التي تستطيع تنشيط النسخ . ويبدو أن تأثيرها يرجع إلى اتصالها بانزيم بلمره ر ن أ مما يؤدى إلى رفع قدره هذا الانزيم على فتح حلزون د ن أ وتكوين معقد مفتوح



الشكل (١٠ ـ ١٠)

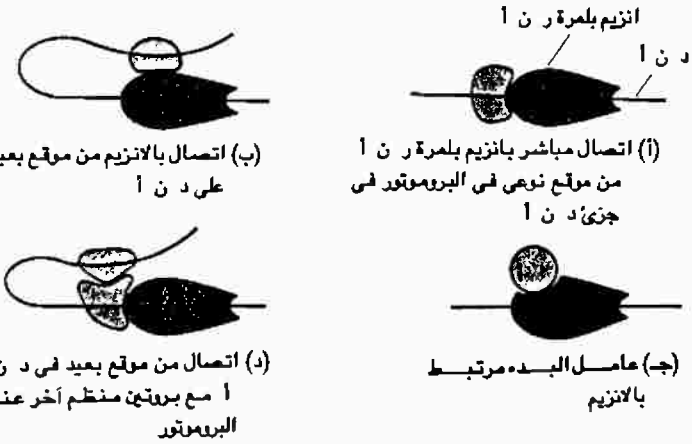
يؤدى ارتباط بروتينان نوعيان بموقعين منفصلين فى جزئ د ن أ المزدوج إلى زيادة احتمال تفاعلهما .

أ – يؤدى توصيل (تقريب) بروتين بالآخر بواسطه عروه من د ن أ مكونة من ٥٠٠ زوج نيوكلتيدى إلى زيادة تكرار اصطدامهما . تعكس كثافة اللون احتمال أن البروتين الداكن اللون سيقع فى موقع كل منهما فى الفراغ بالنسبه للبروتين الباهت اللون فى الشكل .

ب ـ تؤدى مرونه د ن أ إلى امكان حدوث التواء بزاوية ٩٠° (لفه محنيه) مره كل ٢٠٠ نيوكلتيده . وعندما يقترب بروتينان بمسافة ١٠٠ نيوكلتيده فقط فإن اتصالهما سيكون محدودا . وسيكون بمقدور البروتينات ان يتفاعلا إذا كانت المسافة بينهما مضاعفات لعشرة نيوكلتيدات التى تؤدى إلى وضع كلا من البروتينان على نفس الجانب من حلزون د ن أ بحيث يكون داخل عروه د ن أ حيث يمكنها الوصول إلى بسهولة .

جـ - التركيز الفعال للبروتين الداكن اللون فى الموقع الذى يرتبط فيه البروتين الباهت يمكن أن يستخدم كدالة لانفصالهما .

ويلخص الشكل (١٠ - ١١) الميكانيكيات المختلفة لتنظيم بدء النسخ فى الجينوم البكتيرى.



الشكل (١٠ - ١١)،

الميكانيكيات التى تعمل بها البروتينات لتنظيم بدء نسخ ر ن أ فى خلايا البكتيريا . يمكن للبروتينات إحداث تاثيرها . اما بتحفيز أو إيقاف أى من الخطوات المتعددة المطلوبة لبدء بناء ر ن أ الميكانيكية د كانت أول ميكانيكية اكتشفت عند دراسة ابرون الارابينوز فى بكتريا القولون وهى عباره عن تجميع بين الميكانيكتين أ ، ب.

دور عوامل النسخ فى تنظيم التعبير الجينى فى مميزه النواه:

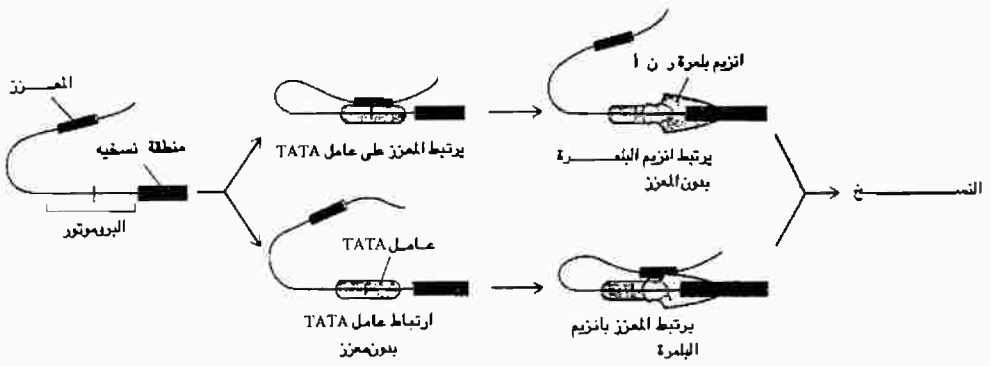
تتميز عملية النسخ فى مميزه النواه بانها اكثر تعقيدا عما فى غير مميزه النواه ، وعلى الرغم من أن الأنواع الثلاثة من انزيمات بلمره ر ن أ (RNApol I, RNApol II, RNApol III) تعتبر متقاربه تطوريا مع الانزيم البكتيرى المقابل ، إلا أنها تتكون من تحت وحدات أكثر كما سبق القول . وفى حين نجد أن انزيم بلمره ر ن أ فى البكتريا يتعرف مباشرة على تتابع معين من د ن أ لبدء عملية النسخ (promotor) ، نجد الانزيم المقابل فى مميزه النواه لا يتعرف على هذا التتابع النوعى إلا بعد أن يتكون معقد من د ن أ وأحد البروتينات النوعية التى تعرف بعوامل النسخ (TF) كما سبق القول .

وقد وجد أنه فى مميزه النواه يتعرف انزيم RNA pol II على منطقة هامه فى هذا المعقد المكون من د ن أ وعامل النسخ TATA والمعروف ايضا بعامل النسخ (TF- II D) وهو البروتين الذى يرتبط بالتتابع المحفوظ فى صندوق TATA "TATA box" . وهذه المنطقة هى "TATAAA" ، حيث يقع هذا التتابع عاده عند الموقع - ٢٥ إلى - ٣٥ بالنسبه لموقع بدء النسخ . وفى كثير من الجينات التى تشعر للبروتينات يكون هذا الارتباط هاما جداً لبدء نشاط البروموتور ولتحديد المكان المضبوط لبدء بناء سلسله ر ن أ ويتكون العامل TATA من بروتين وهو يرتبط نوعيا مع منطقة نوعية من د ن أ وهو عامل ضرورى لنسخ معظم أن لم يكن جميع الجينات التى يتم نسخها بانزيم بلمرة ر ن أ RNA pol II لذلك فإنه يعتبر جزء اساسى فى الميكانيكية العامة للنسخ وليس مجرد جزئ منظم للجين . وقد اظهرت التجارب المعملية *in vitro* أنه بمجرد ارتباط العامل TATA بجزئ د ن أ عند منطقه البروموتور فإنها تميل إلى البقاء فى معقد نسخ مستقر Stable Transcription Complex الذى يمكنه أن يساعد فى حدوث عدة دورات من النسخ بواسطة الانزيم المختص كما سبق القول .

ويبدو أن جميع الميكانيكيات التى تستخدمها البكتريا للتحكم فى نشاط انزيم بلمره ر ن أ عند منطقه البروموتور تستخدم بطريقة أو أخرى فى خلايا مميزه النواه كما فى الشكل (١٠-١١) . إلا أن تكوين معقد نسخى مستقر أو ثابت على د ن أ نتيجة لارتباطه بالعامل TATA يضيف بعدا اضافيا وتعقيدات اكثر لميكانيكيات التنظيم فى مميزه النواه . ولذلك فإن التجارب المعملية قد بينت أن الوظيفة الرئيسية لبعض البروتينات المنشطة للجينات فى مميزه النواه هى المساعده فى وضع عامل TATA على د ن أ فى منطقة البروموتور (انظر الشكل ١٠ - ١٢) .

دور المستبدىء والمعزز Enhancer فى تنظيم التعبير الجينى :

وجد أنه إلى جانب ضرورة وجود منطقة البروموتور التى تقع على مسافة ١٠٠ نيوكلتيده قبل منطقة بدء النسخ والتى تحتوى على صندوق TATA ، فلابد من وجود تتابع نيوكلتيدى آخر يقع قبل ذلك بكثير ويبعد الاف النيوكلتيدات عن منطقة بدء النسخ ، وذلك لكى يتحقق المستوى المناسب من التعبير الجينى . يطلق على هذه المنطقة البعيده اسم منطقة المعزز enhancer ، وكما اشرنا بالنسبة لمواقع ارتباط بروتين ntrC فى البكتريا ، وجد أن المعزز يؤثر على النسخ من بعد action at a distance .



الشكل (١٠ - ١٢):

نموذجين لفعل المعزز فى الخلايا مميزه النواه ، مبنيان على خاصيه التفاف د ن أ كما فى البكتريا . فى هذا المثال يكون المعزز سابق لمنطقة التشفير ولكن يمكن ايضا تكوين عروه المعزز فى منطقة لاحقة لمنطقة التشفير .

كان أول معزز تمت دراسته عباره عن منطقة صغيره من جينوم فيرس حيوانى وهو فيرس سيمان Simian Virus 40 (SV40) ، وقد ظهر أن الوظيفة العادية للمعزز هنا هى زيادة معدل النسخ لجينات الفيرس التى تكون منتجاتها ضرورية فى المراحل المبكره من العدوى .

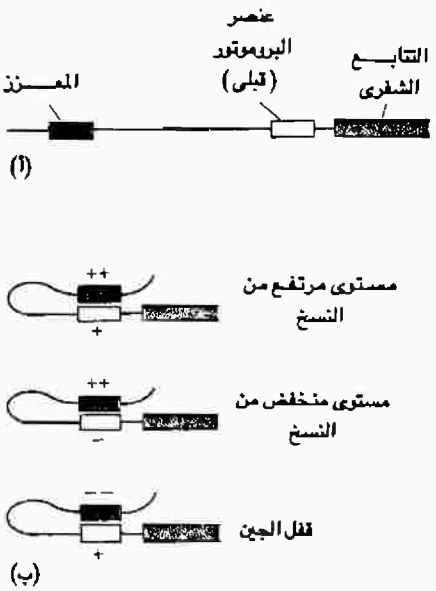
وتقوم منطقة المعزز بدورها عن طريق استخدامها كمواقع ارتباط للبروتينات المنظمة التى تشجع زيادة معدل النسخ من « البروموتور المبكر » للفيرس . وقد وجد أنه لو تم الحاق هذه المنطقة الصغيرة بجين بيتا جلوبين B - globin ، فإن ذلك سيؤدى إلى رفع مستوى معدل النسخ لهذا الجين إلى أكثر من ١٠٠ ضعف حتى ولو تم وضعها على مسافة تبعد أكثر من ٣٠٠٠ نيوكلتيدة عن موقع بدء نسخ ر ن أ بهذا الجين . وقد وجد أن عنصر المعزز عباره عن تتابع منظم (تنظيمى) فى جزئ د ن أ ويؤدى الوظائف التالية :

١ - تنشيط النسخ على البروموتور المرتبط به بحيث يبدأ البناء لجزئ ر ن أ عند موقع البدء العادى .

٢ - بإمكانه أن يؤدى وظيفته فى أى اتجاه سواء كان فى الاتجاه الصحيح أو المقلوب .

٣ - يقوم بعمله حتى لو أبعد عن البروموتور بأكثر ١٠٠٠ من زوج نيوكلتيدى أو حتى لو تم وضعه قبل أو بعد منطقه البروموتور .

وقد تبين أن معظم الجينات فى مميزه النواه الراقية يتم تنظيمها بالتأثير المشترك لمنطقة البروموتور القريبة نسبيا (حوالى ١٠٠ نيوكلتيده قبل البدء) ومنطقة المعزز البعيده نسبيا (أكثر من ١٠٠ نيوكلتيده) كما فى الشكل (١٠ - ١٣) أ .



الشكل (١٠ - ١٣):

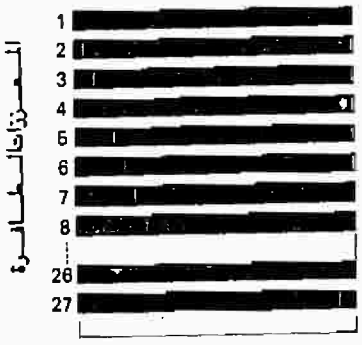
يتم تحديد درجة النشاط النسخى لجين ما عن طريق الفعل المشترك للبروتينات المنظمة المرتبطة بالبروموتور (بالمنطقة القبليه) والبروتينات المنظمة المرتبطة بالمعزز . أ - الموقع النموذجى لمنطقتى البروموتور والمعزز بالنسبة لمنطقة التشفير . ب ـ أمثلة للفعل المشترك للبروتينات المرتبطة بهاتين المنطقتين . وعلى حسب نوع البروتين المرتبط فإن كل عنصر إما أن يكون له تأثير ضعيف موجب (+) أو قوى موجب (++) أو تأثير ضعيف سالب (−) أو قوى سالب (− −) على النسخ .

وقد وجد أن المعزز قد يبعد أحيانا بمسافة تزيد عن ٢٠٠٠٠ نيوكلتيده عن البروموتور .

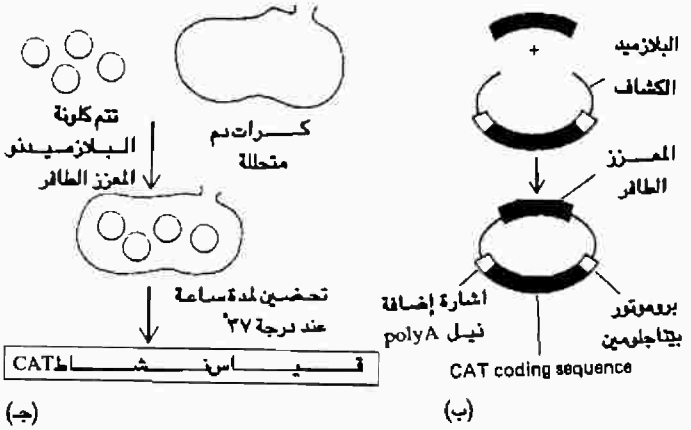
يقوم كلا من مناطق البروموتور والمعزز بربط تتابعات نوعيه من د ن أ ببروتينات تخصصية لكى تعطى تأثيرها . وكما سيأتى بعد ، فيبدو أن بعض هذه البروتينات التنظيمية تكون متوفره فى جميع انواع الخلايا والانسجة فى حين يكون البعض الآخر مقصورا على طرز متخصصة من الخلايا .

طبيعة تركيب مناطق البروموتور والمعزز وكيفية قيامها بوظائفها:

أمكن تحديد نشاط كل من منطقة المعزز و البروموتور فى منطقة صغيرة من د ن أ لا تزيد عن ١٠٠ – ٢٠٠ زوج نيوكلتيدى . وقد وجد أن عنصرا بهذا الطول يشتمل على مواقع ارتباط نوعيه بعده بروتينات مختلفة ، وان هذه التتابعات يمكن تقطيعها بطرق الهندسة الوارثية إلى قطع د ن أ اصغر حجما لمتابعة درجة نشاطها الجزئى . تعتمد وظيفة كل من هذين العنصرين على الارتباط ببروتينات نوعية تنظيمية تكون عاده متوفرة فى نوع معين من الخلايا ، بينما قد يتوفر القليل منها (مثل معزز SV 40) الذى يمكن أن يتوفر فى انواع مختلفة من الخلايا . يصل تأثير المعزز إلى أقصاه فى الخلايا المتخصصه التى يتم فيها التعبير الجينى للنواتج النوعيه فى هذه الخلايا . وكمثال ، سنأخذ منطقة المعزز الخاصة بجين بيتا جلوبين B - globin فى الدجاج . يقع هذا المعزز فى التتابعات التاليه لوحده النسخ لهذا الجين ؛ وقد اثبتت التجارب أن البروتينات التنظيمية تكون مرتبطة اكثر ما يكون بالمعزز فى خلايا الدم erythrocytes المتخصصة فى انتاج الجلوبين . امكن عن طريق دراسة سلسله من الطفرات فى تتابع المعزز ، بعد ربطها بجين كشاف فى كل مره بحيث يمكن قياس ناتجه النهائى بسهولة ، التعرف على كيفية قيام المعزز بوظيفته كمنظم للتعبير الجينى عن طريق قياس قدرته على التأثير على معدل التعبير الجينى للجين الكشاف كما فى الشكل (١٠– ١٤) ؛ ثم يلى ذلك تحديد التتابع النيوكلتيدى فى المعزز الذى يعمل كمواقع ارتباط للبروتينات التنظيمية وذلك بطرق البيولوچيا الجزيئية . أمكن التوصل بهذه الطريقة إلى ثلاث بروتينات تنظيمية يكون وجودها ضرورى لنشاط معزز جين الجلوبين فى الدجاج كما فى الشكل (١٠– ١٥) وقد تبين أن تركيز هذه البروتينات فى الخلايا يكون ضئيلا .



(أ)

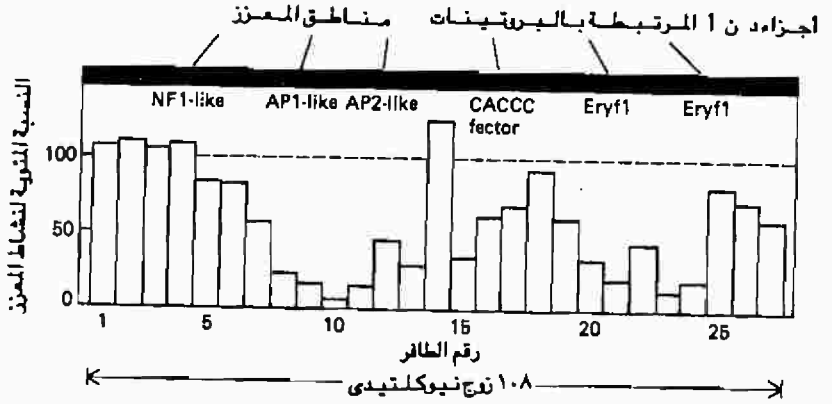


الشكل (١٠-١٤):

أ – الحصول على مجموعة طفرات فى المنطقة المنظمة بإحداث تغيير فى ٤ أزواج نيوكلتيديه فى كل طفره ولإجراء الاختبار لـ ١٠٨ نيوكلتيدة المكونه للمعزز فى جين بيتا جلوبين يجب الحصول على ٢٧ طفره .

ب – ادخال معزز طافر فى بلازميد كشاف يحتوى على الانزيم الكشاف البكترى كلورمفينكول اسيتل ترانسفيريز (CAT) الذى يمكن متابعة نشاطه بسهوله .

جـ – اختبار تأثير المعزز الطافر على بناء ر ن أ يقاس معدل بناء ر ن أ بطريقة غير مباشرة بقياس كميه البروتين التى ينتجها الجين المعاد صياغته (فى صورة نشاط انزيم CAT) .



الشكل (١٠ - ١٥):

نتائج تحليل طافرات المعزز المذكورة فى الشكل ١٠ - ١٤ جـ مقرونه بالنتائج التى تبين مواقع الارتباط للبروتين المعزز الطبيعى . تشير المستطيلات الملونة فى الخط العلوى إلى أجزاء المعزز الطبيعى المرتبطة بالبروتينات المبينه ويقدر معدل النشاط كنسبة نشاط المعزز القيمة ١٠٠ تعنى أن المعزز الطافر يحفز بناء ر ن أ إلى نفس مستوى المعزز الطبيعي بين القيمة صفر تعنى أن معدل بناء ر ن أ لا يزيد عن ذلك المتحصل عليه بدون معزز . تدل النتائج على أن البروتينات API-Like ، AP2-like ، Eryfl ، تعطى أكبر مساهمه للمعزز فى تحفيز النسخ إلا أنه لا يكفى وجود بروتين واحد لاعطاء تحفيز قوى للنسخ

وقد أدت هذه الدراسة وغيرها إلى التوصل إلى الاستنتاجات العامة التالية :

١ - يحتوى كل من هذه العناصر التنظيمية على تركيب نموذجى مكون من سلسلة من تتابعات نيوكلتيديه نوعيه (يتكون كل منها من ٨ - ١٥ زوج نيوكلتيدى) تقوم بربط سلسله من البروتينات فى خلايا متخصصة ، بينما يوجد بعض منها فى معظم انواع الخلايا غير المتخصصة .

٢ - بعض البروتينات التنظيمية تقوم بتنشيط النسخ عندما ترتبط بتلك المناطق فى حين يؤدى البعض الآخر إلى تثبيط النسخ عند ارتباطها . ويعتمد التأثير النهائى على محصلة التأثير المشترك للبروتينات المرتبطة .

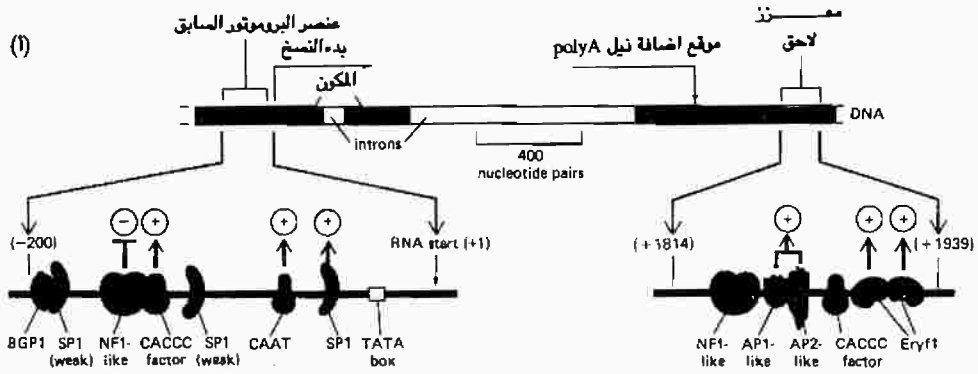
وحتى بالنسبة لكل عنصر فقد يتغير التأثير الناتج مع مرحلة نمو وتمايز الخلية فيمكن أن

يقوم المعزز فى مرحلة ما بتنشيط النسخ ، فى حين يقوم هو نفسه فى مرحله أخرى بتثبيط النسخ فى نفس الخلية كما فى الشكل (١٣ - ب) . وقد يدعو ذلك إلى اعادة النظر فى التسميه الدقيقة لهذه العناصر .

٣ - يبدو أن مناطق المعزز والبروموتور يمكنها الارتباط بعدد كبير من البروتينات من نفس النوع مما يعنى أن كلا من المنطقتين تقوم بالتأثير على النسخ بميكانيكية مشابهه للأخرى.

٤ - عندما يتم اكتشاف نوع جديد من العوامل المنظمة لجين ما فى الفقاريات فإنه غالبا ما يتضح أن البروتين النوعى الذى يرتبط به هو البروتين البروتين المنظم لتعبير جين آخر ، مما يدعو إلى الافتراض بأن هناك عدد محدود من البروتينات التنظيمية بإمكانها التحكم فى تنظيم التعبير فى عدد كبير من الجينات فى مميزه النواه .

تبين أن البروتينات التى ترتبط بالبروموتور الخاص بجين ما تعمل بالتعاون الوثيق مع تلك المرتبطة بمنطقة المعزز للتحكم فى النسخ . وبصفه عامه ، فإن التأثير النهائى سيعكس محصلة النشاط والثبيط المتعاكس فى هذين الموقعين كما يتضح من الشكل (١٠ - ١٣) . ويعتقد بان التغير فى التوازن بين البروتينات المنظمة التى تعطى التأثير الموجب وتلك التى تعطى تأثيرا سالبا هو الذى يحدد زيادة أو انخفاض النشاط النسخى لجين الجلوبين B - globin فى المراحل المختلفة لتكوين خلال الدم الحمراء فى الدجاج (الشكل ١٠ - ١٦).



(ب)

البروتينات وتأثيرها على النسخ		Eryf1	BGP1	NF1-like	CACCC factor	CAAT	SP1	AP1-like	AP2-like	النتيجة
مقدار البروتين في خلايا الدم	٤ أيام	2	1	0	2	1	2	0	0	الجين مقفول
	٩ أيام	2	2	1	2	1	2	2	2	الجين مفتوح
الحمراء عند عمر	البالغ	2	2	2	?	1	2	2	2	الجين مقفول
– في أنواع أخرى من الخلايا		0	0	0	?	1	2	?	?	الجين مقفول

الشكل (١٠ - ١٦):

البروتينات المنظمة التي تتحكم في تغير جين بيتاجلوبين في الدجاج أثناء تكوين خلايا الدم الحمراء الطبيعية .

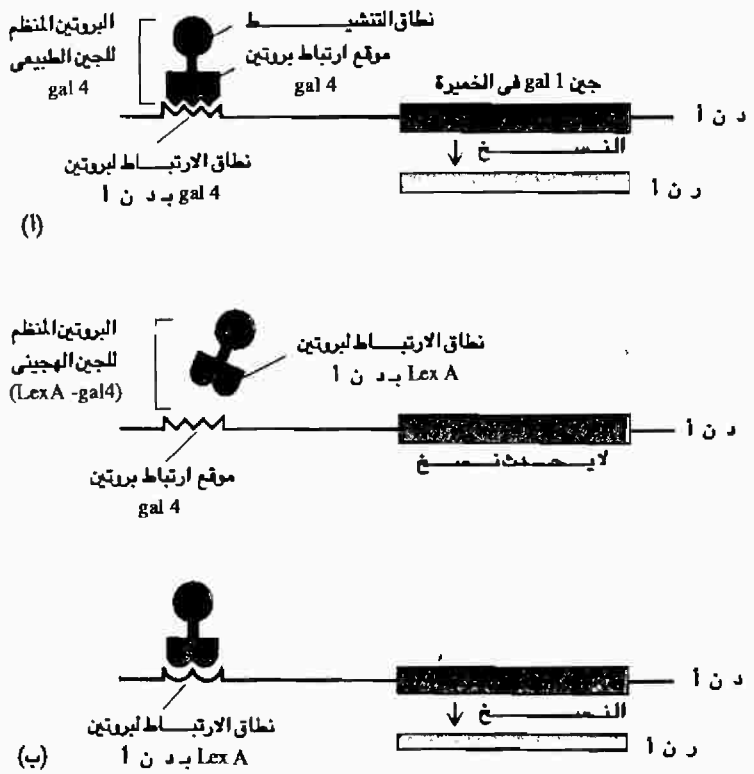
أ – مواقع الارتباط للبروتينات المنظمة وتأثيرها يلاحظ أن المعزز هنا يقع بعد منطقة التشفير . يبدو أن البروتينات التي لا تأخذ الاشاره + (تنشيط) أو – (تثبيط) ليس لها تأثير رئيسي على النسخ كما يدل على ذلك انعدام تأثيرها على النسخ عندما يكون تتابعاتها طافره .

ب – المقادير النسبيه من كل بروتين منظم الموجودة في الفترات المختلفة للنمو تدل الارقام صفر و ١ و ٢ على مستويات معدومة ومنخفضة وعاليه على التوالي . ولا تعطي النتائج المتوفرة حتى الآن تفسيرا عن لماذا ينشط الجين في فترة التكوين بين ٤ – ٩ أيام ولكنها تفترض أنه يمكنه أن يتوقف نتيجة لزيادة كمية بروتين NFI - like مقرونه بانخفاض في تركيز العامل CACCC .

وظائف نطاقات البروتينات المنظمة للتعبير الجينى:

على الرغم من أنه لم تتضح بعد الطريقة التى تعمل بها البروتينات المنظمة فى التحكم فى تعبير الجين إلا أنه أمكن بطرق الهندسة الوراثية التوصل إلى أن تأثيرها على النسخ ينطوى على ما هو أكثر من مجرد الارتباط بتتابعات معينة على د ن أ فعلى سبيل المثال تبين أن بروتين gal4 يحتوى على نطاقين domains مستقلين يختص احدها بالارتباط بجزىء د ن أ فى حين يقوم الآخر بتنشيط النسخ . وهذا البروتين المنشط للجين فى الخميره يساعد على تشغيل النسخ لعدة جينات كما سبق القول وهى تلك الجينات التى تحتاج الخميره إلى منتجاتها لتحويل الجلاكتوز إلى جلوكوز عندما يتم نموها فى بيئة محتوية على الجلاكتوز . ويقوم بروتين gal4 بالارتباط بتتابع نوعى مكون من ١٧ زوج نيوكلتيدى والتى تعتبر مكافئة لمنطقة المعزز فى الخميره والتى يطلق عليها تتابع التنشيط القبلية upstream activating sequence (UAS) . يحتوى بروتين gal4 على حوالى ٩٠٠ حامض امينى إلا أن الاحماض الامنية الثلاثة والسبعين الاولى منها والتى تكون ما يعرف باصابع الزنك "Zinc fingers" تعتبر كافية فى حد ذاتها للارتباط بالتتابع النوعى المكون من ١٧ نيوكلتيده كما سبق الذكر . إلا أن نطاق الارتباط بجزىء د ن أ لا يكفى وحده لتنشيط النسخ وفى نفس الوقت لا يكون لبقية سلسلة متعدد البتيد أي نشاط يذكر فى غياب مجال أو نطاق الارتباط بجزىء د ن أ وقد أمكن التحقيق تجريبيا من أن كل من النطاقين المذكورين له وظيفة محددة ومنفصلة كما يتبين من الشكل (١٠ – ١٧) . وقد أمكن التوصل إلى نتائج مشابهه فى بروتينات منظمة فى الثدييات فقد تبين أن البروتينات التنظيمية للجينات الخاصة بمجموعة المستقبلات للهرمونات الاستيروديه والتى تسمح بالاستجابة للعديد من الهرمونات الذائبة فى الدهون، تقوم بعملها عن طريق تنشيط أو تثبيط مجموعة من الجينات النوعية . وهذه البروتينات تحتوى على نطاق مركزى للارتباط بجزىء د ن أ يتكون من حوالى ١٠٠ حامض أمينى ، ويحتوى هذا النطاق على سلسلة من اصابع الزنك ويتعرف على تتابعات نوعيه من د ن أ.

وقد أمكن تحديد نطاق تنشيط النسخ فى بعض هذه المستقبلات حيث تبين أنه يقع فى النهاية الامينة للبروتين . بالاضافة إلى ذلك تحتوى كل من هذه المستقبلات على نطاق نوعى للارتباط بالهرمون فى النهاية الكربوكسيليه للبروتين (الشكل ١٠ – ١٨) .



الشكل (١٠-١٧):

تجربة لاثبات وجود نطاقات مستقلة في البروتين المنشط لجين gal في الخميرة ، يمكن اعادة تكوين منشط فعال من النهاية الكربوكسيليه للبروتين gal إذا تم ربطها بنطاق الارتباط في د ن أ لجين بكتيري منتج لبروتين منظم (بروتين lexA) . وعند انتاج البروتين الهجين (بكتيري - خميرة) في خلايات الخميرة فإنها ستنشط النسخ من جينات الخميرة على شرط أن الموقع النوعي لارتباط د ن أ بالبروتين البكتيري يكون قد تم إدخاله بعدها مباشرة .

(أ) التنشيط الطبيعي لنسخ الجين بواسطه بروتين gal .

(ب) يحتاج البروتين المنظم للجين الهجيني إلى موقع ارتباط د ن أ ببروتين lexA لنشاطه .

الشكل (١٠ - ١٨):

المستقبلات المتقاربة تطوريا للهرمونات الاستيرويديه للبروتينات المنظمة للنشاط الجيني يكون مجـال الارتبـاط فى د ن أ مظللا فى كل حالة وتدل النتائج على أن الكثير من نطاقات الارتباط بالهرمون وتنشيط النسخ والارتباط مع د ن أ فى هذه المستقبلات يمكنها أن تتبادل الوظائف (تقوم بنفس الوظيفة) .

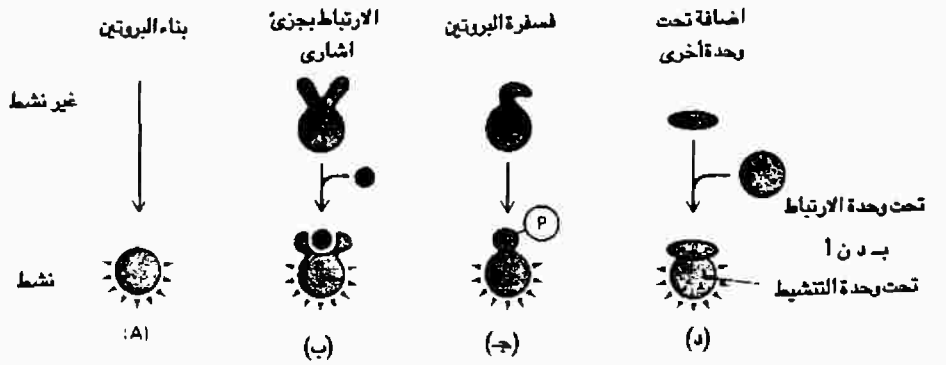
وقد أمكن التحقق من أن هذه المجالات يمكن أن تؤدى وظيفتها تبادليا فى المستقبلات الهجينيه . فمثلا يـؤدى استبدال مجال الارتباط فى د ن أ فـى البروتين المستقبل لهرمـون glococorticoid أو بمجـال ارتـباط بجزىء د ن أ لمستـقـبل الاستيروجـين -es terogen إلى إمكان ارتباط مستقبل glococorticoid المحور بمناطق المعزز التى تنشط عاده الجينات التى تستجيب للاستيروجين . وكنتيجة لذلك فإن هذه الجينات يتم نسخها استجابه لهرمون الجلوكوكورتيكويد بدلا من للاستيروجين وبنفس الطريقة فإن إضافة نطاق الارتباط لمستقبل الجلوكوكورتيكويد ببروتين منظم لاى جين آخر يؤدى إلى احتياج البروتين المنظم المحور الى الجلوكوكورتيكويد لاداء نشاطه . ويتم تشفير كل من هذه النطاقات فى البروتين المستقبل بواسطه اكسونات مستقلة وقد بينت الدراسات المقارنة لتحليلات التتابعات بين

مجموعة مستقبلات الهرمونات الاستيرودية أن كل مستقبل بروتينى قد نشأ نتيجة لتغيرات كروموسوميه واعاده ترتيب لمناطق كروموسوميه حيث ادت إلى تجميع نطاقات من بروتينات منظمة أخرى كما فى الشكل (١٠ - ١٨) .

ميكانيكيه تنشيط البروتينات المنظمة فى مميزه النواه :

يمكن تشبيه مستقبلات الجلوكوكورتيكويد والاستيروجين التى نوقشت عاليه ببروتينات CAP فى بكتريا القولون فى امكان تنشيطها عن طريق الارتباط بين جزئى اشارى صغير وبين نطاق مستقل للارتباط بجزىء صغير أخر ligand . وتوجد بروتينات منظمه أخرى فى مميزه النواه التى يتم تنشيطها أو وقف نشاطها عن طريق فسفره البروتينات بالارتباط ببروتينات أخرى مما يؤدى إلى تغير نشاطها ويلخص الشكل (١٠ - ١٩) الطرق المختلفة

للتحكم فى نشاط البروتينات المنظمة للتعبير الجينى فى مميزه النواه . تتحكم بعض هذه الميكانيكيات فى قدره البروتينات المنظمة على الارتباط ب د ن أ فى حين يؤثر البعض الآخر على درجة الفسفرة مثل ما يحدث فى (بروتين ntrc) فى البكتريا حيث يقتصر التأثير فقط على نطاق تنشيط النسخ .



الشكل (١٠ - ١٩):

الطرق المختلفة لتنشيط البروتينات المنظمة فى خلاياميزه النواه .

(أ) يتم بناء البروتين المنظم عند الاحتياج فقط ويتم هدمه بسرعه بالتحليل المائى حتى لا يتراكم .

(ب) الارتباط مع جزىء اشارى ligand .

(جـ) الفسفرة أو التحوير التساهمى .

(د) تكوين معقد مع بروتين اخر يعمل كنطاق لتنشيط النسخ .

ميكانيكية عمل المعزز:

يبدو أن الميكانيكيات الخاصة بتنظيم التعبير الجينى فى مميزه النواه قد تم حفظها أثناء عملية التطور إذ أن بروتين gal فى الخميرة على سبيل المثال يمكنه تحفيز النسخ فى جينات ثديية فى مزارع الخلايا البشرية على شرط أن تكون هذه الجينات محتوية على التتابع المنشط القبلى (UAS) الذى سبق ذكره . وبنفس الطريقة، فإنه عندما يحدث أنتاج للبروتين المستقبل للاستيروجين البشرى فى خلية الخميرة فإن جينات الخميرة التى يتم الحاقها بمعزز استجابه للاستيروجين البشرى سيحدث لها تنشيط عند اضافة الاستيروجين فى البيئة ولو أن تلك

المحافظة الوظيفية قد لا يصاحبها محافظة مقابله فى تركيب سلاسل متعدد البيتيد بين هذه الكائنات.

تفترض أحد الميكانيكيات المحتملة لفعل المعزز أنه يحث انبعاج لجزىء د ن أ ليكون عروه مما يسمح للبروتينات المنظمة المرتبطة على مسافة بعيده بمساعدة انزيم بلمره ر ن أ على بدء نشاطه النسخى عند منطقة البروموتور كما سبق القول . ويؤكد ذلك ما عرف من أن عناصر المعزز تقوم بدورها على الوجه الأكمل عندما تكون قريبة من البروموتور فى حين أن نشاطها يتضاءل تدريجيا مع زيادة المسافه بينهما . ويبين الشكل (١٠ - ١٢) نوعان من نماذج الانبعاج فى د ن أ لتسهيل عمل المعزز . وقد اقترحت عدة ميكانيكيات بديلة لتفسير كيفيه عمل المعزز وهى :

١ - يمكن للمعزز أن يعطى تأثيره عن بعد عن طريق تنشيط انزيم DNA Topoisomerase الذى يستخدم الطاقة الناتجة عن التحليل المائى لجزىء ATP لاحداث ضغط على جزىء د ن أ محدث الانبعاج الكبير (العروه) .

٢ - يمكن أن يؤثر المعزز على النسخ بأن يعمل كموقع دخول فى د ن أ للبروتينات المتحركة التى ترتبط ثم لا تلبث أن تواصل السير على جزىء د ن أ .

٣ - أنه قد يرتبط بالبروتينات مما يؤدى إلى التصاق الجينات القريبة بمنطقة نوعية غنيه بعوامل النسخ فى النواه.

وإذا اخذنا فى الاعتبار جميع نظم السيطرة على التعبير الجينى فى جميع الكائنات سواء غير مميزه النواه أو مميزة النواه ، نجد أنه لا توجد ميكانيكيه تنظيم موحدة أو عامة ولكن توجد عدة طرق مختلفة ممكنه للتنظيم تعمل بأساليب مختلفة .

وبالاضافة إلى ذلك ، لم يكن الانتخاب الطبيعى والتطور دائما فى اتجاه تبسيط هذه النظم بقدر ما كان فى اتجاه الوصول إلى ميكانيكيه صالحه للعمل. وانه إذا كان لابد من نشوء نظام تنظيمى معقد فإنه يفترض بإنها ستتطور مع الزمن بحيث يتم تعديلها إلى الأفضل

لكى تصبح اكثر فاعليه ولكنها لن تصبح بالضرورة أبسط . وعموما فإن ميكانيكيات التنظيم تشمل مجموعة من العمليات الطارئة أو غير العادية بحيث ظلت سائده ولم تندثرلسبب بسيط وهو أنها تقوم بالعمل التنظيمى على ما يرام .