# تنظيم التعبير الجينى فى غير مميزة النواة

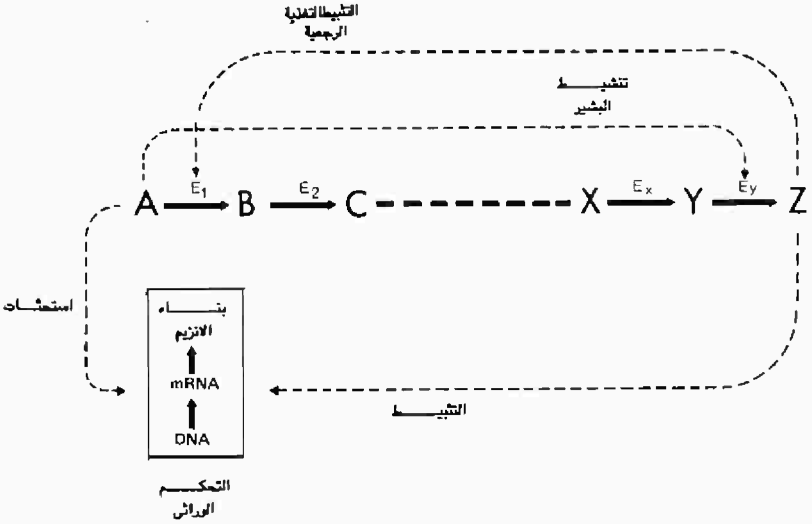
يوجد فى الخلية تباين كبير فى إعداد الجزيئات المختلفة للبروتينات النوعية ، لذلك كان لابد من وجود نظم لتأمين البناء الاختيارى لتلك البروتينات التى تحتاجها الخلية بكميات كبيرة . كما أن الخلية البكتيرية بطبيعتها محافظة ، بمعنى أنها نادراً ما تستهلك طاقة فى بناء أو هدم مواد تزيد عن احتياجاتها . لذلك نجد أن الخلية قد استنبطت نظم للتحكم فى مستويات انتاج الاف المركبات الكيماوية بداخلها . ويتم تنظيم النشاط الانزيمى عن طريق ميكانيكيتين رئيسيتين وهما :

التحكم الوراثى والتحكم فى النشاط الحفزى كما هو موضح فى الشكل (٩ – ١) .

يتضمن التحكم الوراثى تنظيم انتاج الكمية الكلية لجزيئات إنزيم معين وسوف نتعرض لذلك فيما بعد عند دراسة نظام الأوبرون ؛ حيث تكون محصلة هذا النظام أن الإنزيم لا يتم انتاجه إلا عند الحاجة إليه فقط . أما التحكم فى النشاط الحفزى Catalysis ، فيتضمن تغيير فى نشاط الإنزيم بدون تغيير فى الكمية الكلية للإنزيم المنتج أى أن التغير يكون نوعياً وليس كمياً . ويتم ذلك بصفة خاصة فى الإنزيمات التنظيمية الألوستيريه Allosteric enzymes بفعل جزيئات الوستيريه منشطة أو مثبطة .

توجد ميكانيكيتين رئيسيتين لهذا النوع من التحكم وهما :

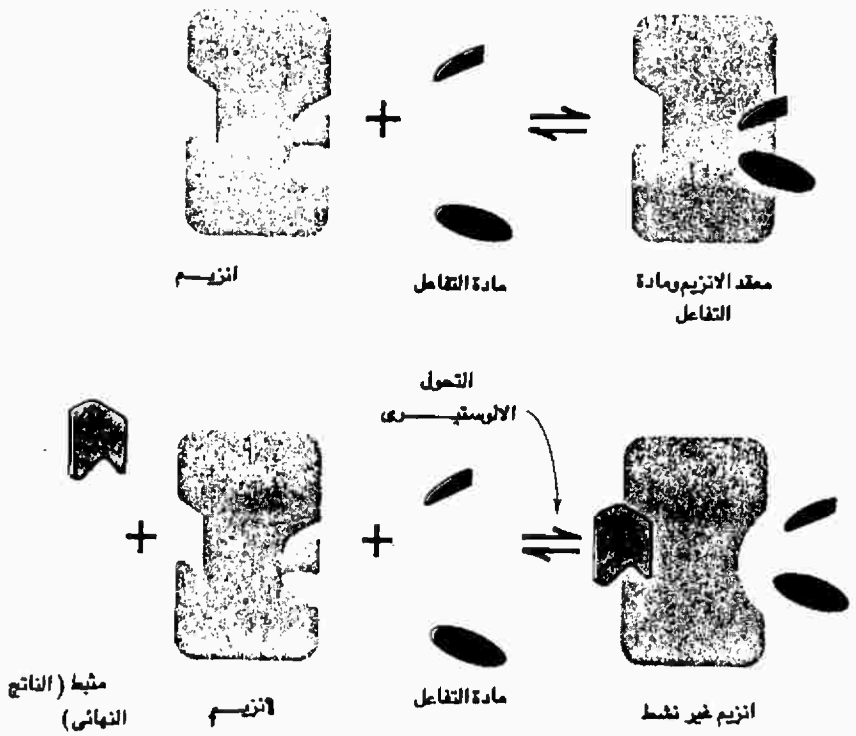
التثبيط بالتغذية الرجعية Feed back inhibition (FBI) ، والتنشيط بمادة التفاعل الأولية Substrate كما هو موضح بالشكل أعلاه .




**الشكل (٩ - ١):**

شكل تخطيطى يبين نظم التحكم فى النشاط الإنزيمى عن طريق التثبيط بالتغذية الرجعية ونظام التحكم الوراثى(الأوبرون)

فى حالة التغذية الرجعية يعمل المنتج النهائى endproduct فى السلسلة الايضية كمثبط الوستيرى للإنزيم الأول فى السلسلة ؛ ويترتب على ذلك أنه عندما يتم بناء كمية كافية من هذا المنتج النهائى ، فإن السلسلة الايضية بأكملها يتم إيقافها وبذلك تتجنب الخلية استمرار إنتاج وتراكم مركبات أكثر من احتياجاتها . ويبين الشكل (٩ - ٢) كيف أن ارتباط المنتج النهائي يؤدى إلى تثبيط نشاط الإنزيم بهذه الميكانيكية والتى تتضمن عملية تحول الوستيرى Allosteric transformation ويتم ذلك فى موقع على الإنزيم غير الموقع النوعى للارتباط بمادة التفاعل . وعادة يكون الارتباط ضعيف بحيث يسهل فك الارتباط عندما تتغير الظروف حتى يمكن للانزيم أن يستعيد نشاطه إذا احتاجت الخلية إليه أى ، أن التفاعل هنا يكون عكسياً .




**الشكل (٩ - ٢):**

رسم تخطيطى لتفاعل التحول الألوستيرى .

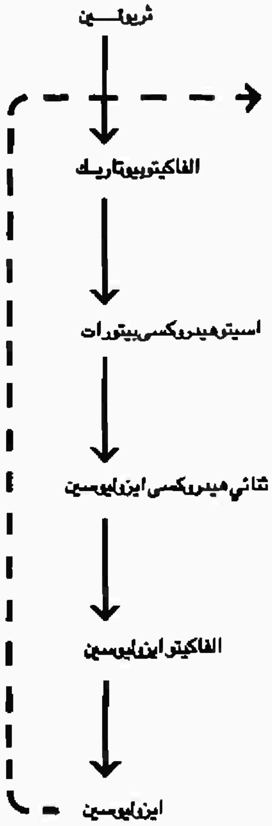
أما فى حالة التنشيط بمادة التفاعل الأولية ، فإن أول مادة تفاعل فى سلسلة المسار الايضى تعمل كمنشط الوستيرى للإنزيم الأخير فى السلسلة .

يعد النظام الوراثى طريقة بطيئة نسبياً للتحكم فى النشاط الإنزيمى ؛ فى حين يعد نظام التثبيط بالتغذية الرجعية نظام سريع جداً لضمان أن مستويات النشاط الإنزيمى كافية وفى حدود احتياجات الخلية فقط .

## أنواع التثبيط بالتغذية الرجعية Types of feedback inhibition

يمكن تقسيم التثبيط بالتغذية الرجعية إلى الأنواع التالية :

١ - فى حالة سلاسل الأيض المستقيمة (غير المتفرعة) وحيث يفصل عادة بين مادة التفاعل الأول وبين المنتج النهائي عدد من الخطوات الإنزيمية ، فإن المنتج النهائى عند وصوله إلى مستوى معين من التركيز يقوم بالارتباط بالإنزيم المساعد فى الخطوة الأولى مسبباً إيقاف نشاطه وبالتالي يؤدى إلى توقف أى بناء جديد فى السلسلة الإيضية . والمثال على ذلك ما يحدث فى السلسلة الأيضية للحامض الأمينى الايزوليوسين كما فى الشكل (٩ - ٣).




**الشكل (٩-٣):**

مثال لنظام التغذية الرجعية فى السلاسل الايضية البسيطة (غير المتفرعة) فى بناء الايزوليوسين من الثيريونين . تبين الخطوط المتقطعة أن الايزوليوسين (الناتج النهائى) يقوم بتثبيط الانزيم الذى يساعد فى تفاعل الخطوة الأولى (ثريونين ⟵ الفا - كيتوبيوتاريك) .

٢ - فى حالة السلاسل الايضية المتفرعة branched pathways حيث تبدأ سلسلة الأيض بمادة تفاعل مشتركة ثم لا تلبث السلسلة أن تتشعب بحيث تنتهى بعدد من النواتج النهائية المختلفة . ومعنى ذلك أنه إذا طبقت نفس القاعدة المعمول بها فى حالة السلاسل غير المتفرعة ، فإنه بمجرد وصول أى من المنتجات النهائية إلى مستوى معين من التركيز سيتم ارتباط هذا المنتج بإنزيم الخطوة الأولى فى السلسلة ، مما يعنى وقف السلسلة بأكملها وما يترتب على ذلك من توقف إنتاج النواتج النهائية الأخرى ، على الرغم من أنها قد لا تكون قد وصلت إلى المستوى المطلوب والذى يفى باحتياجات الخلية .

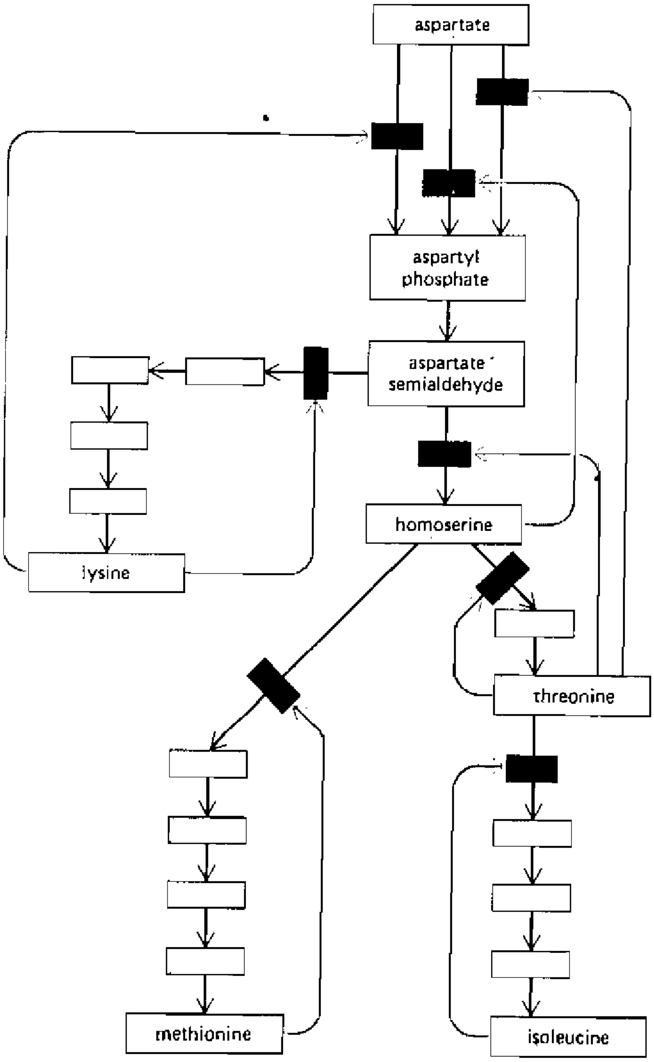
لذلك اقترحت أربعة أنواع من التثبيط بالتغذية الرجعية لتفسير ما يحدث فى حالة السلاسل المتشعبة وهى :

## أ- تعدد الصور الإنزيمية (مشابهات الإنزيم) Isozymes

حيث يكون للإنزيم المشارك فى أول خطوة فى السلسلة الأيضية عدة صور (مشابهات انزيمية ) ، بحيث يختص كل واحد من المنتجات النهائية المختلفة بالارتباط نوعياً بأحد هذه الصور مما يؤدى إلى إيقاف جزئى للسلسلة المتفرعة ؛ بحيث يتم ايقاف الخطوات الوسطية المؤدية إلى هذا المنتج النهائى وحده فى حين يستمر الانتاج فى الأفرع الأخرى للسلسلة إلى أن تصل بدورها إلى المستوى المطلوب للخلية ، فيحدث الارتباط بين صورة أخرى للإنزيم مع المنتج النهائى التالى وهكذا . والمثال على ذلك ما يحدث فى سلسلة الأيض المتفرعة الخاصة بإنتاج الأحماض الأمينية الثلاثة : الليسين والايزوليوسين والميثونين حيث تبدأ كلها من مادة تفاعل أولية مشتركة وهى حامض الأسبارتيك كما فى الشكل (٩ - ٤) .

## ب - التثبيط المتناسق concerted feedback inhibition

حيث لا يحدث ايقاف للسلسلة المتفرعة إلا عندما يتم الوصول إلى مستويات كافية من جميع النواتج النهائية معاً ؛ بمعنى أن وجود أحد المنتجات النهائية بكمية زائدة لا يكفى لايقاف السلسلة الايضية .




**الشكل (٩-٤):**

مثال لنظام التثبيط بالتغذية الرجعية فى سلاسل الايض المتفرعة حيث يتم تثبيط بناء الأحماض الأمينية الليسين والمثيونين والثريونين والايزوليوسين فى البكتريا بنظام تعدد الصور الإنزيمية (مشابهات الإنزيمات )

## جـ - النشاط التجمعى أو التراكمى additive or commulative FBI

حيث يؤدى كل من النواتج النهائية التثبيط جزئى فقط ؛ ولكن عندما تتوفر كميات زائدة من منتجين نهائيين أو أكثر فإن درجة التثبيط المشترك لهما ستكون مساوية لمجموع التثبيط الذى يحدثه كل منهم على حده . ويتضح ذلك فى السلسلة المتفرعة الخاصة بانتاج التربتوفان والهستيدين و ATP ، GTP ، والجلوسامين وتبدأ جميعاً بحامض الجلوتاميك كما فى الشكل (٩ - ٥) ، حيث يحدث إغلاق للخطوة الأولى فى السلسلة وهى glutamic --> glut. N بنظام تجمعى حسب عدد النواتج النهائية التى تصل إلى مستوى تركيز معين فى البيئة .

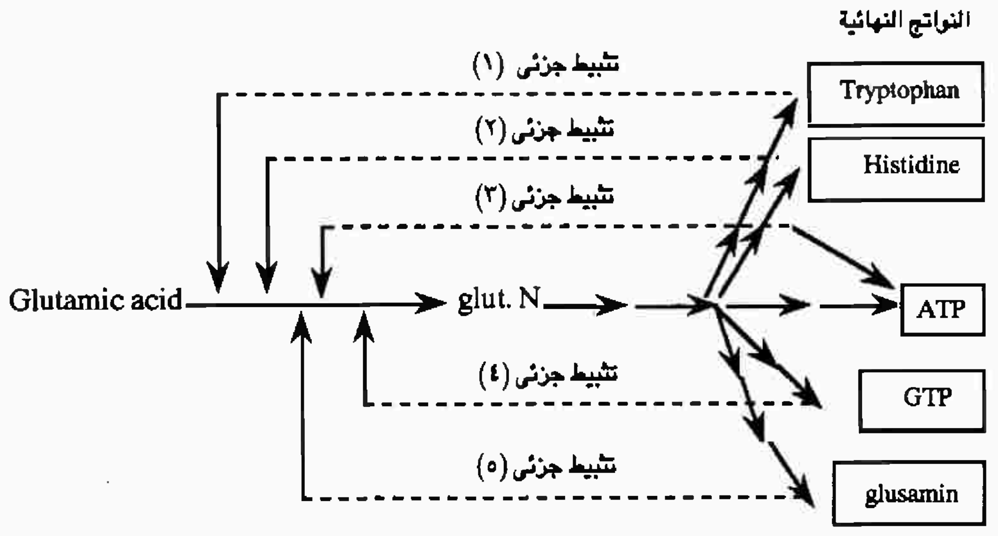
## د - التثبيط التعاونى co-operative FBI

حيث يكون التثبيط المشترك لاثنين أو أكثر من النواتج النهائية أقوى من التأثير التجمعى لهما أى أن وجود اثنين أو أكثر من النواتج النهائية بكمية فائضة سيعطى درجة من التثبيط الرجعى أعلى من مجموع التثبيط الناتج عن فعل كل منهما على حدة .

## ثانياً : التحكم الوراثى Genetic Control

يتم تنظيم التعبير الجينى فى البكتريا أساساً على مستوى عملية بناء ر ن أ المراسل mRNA أى على مستوى النسخ Transcription . ويتم ذلك عادة بالسماح ببدء أو منع بدء عملية النسخ بواسطة إنزيم بلمرة ر ن أ وحيث أن البكتريا تعتمد فى الحصول على غذائها من المواد المتوفرة فى الوسط المحيط بها مباشرة فإنها تستجيب بسرعة للتغيرات التى تحدث فى هذا الوسط حسب وفرة هذه المواد الغذائية .

تبين أنه إذا أتيحت لبكتريا القولون الفرصة للاختيار بين سكرى الجلوكوز واللاكتوز كمصدر للكربون ، فإن البكتريا تفضل استهلاك جميع الجلوكوز الموجود فى البيئة أولاً قبل أن تبدأ فى استخدام اللاكتوز كمصدر للطاقة اللازمة لها . وقد لوحظ أن التحول إلى استخدام اللاكتوز كان مقروناً بفترة توقف فى نمو البكتريا تم خلالها بناء إنزيم بيتا جلاكتوسيديز - β galactosidase الذى يقوم بالمساعدة فى عملية التحليل المائى لسكر اللاكتوز إلى جلوكوز وجلاكتوز . أمكن عزل وتمييز بعض الطافرات البكتيرية التى تتميز بوجود بعض النقص النوعى فى تنظيم هذا التحكم ، مما أدى فى النهاية إلى التوصل إلى البروتين المثبط للاكتوز Lactose repressor protein .




**الشكل (٩ - ٥) :**

**مثال للنظام التجمعى أو التراكمى للتثبيط بالتغذية الرجعية فى سلاسل الايض المتفرعة**

وقد أدت الدراسات البيوكيماوية والوراثية التى اجريت على مثبط سكر اللاكتوز ومثبط فاج لامبدا وعدد آخر من البروتينات المنظمة للنشاط الأيضى فى البكتريا إلى استنتاج نموذج عام للتنظيم على مستوى النسخ فى الخلية غير مميزة النواة .

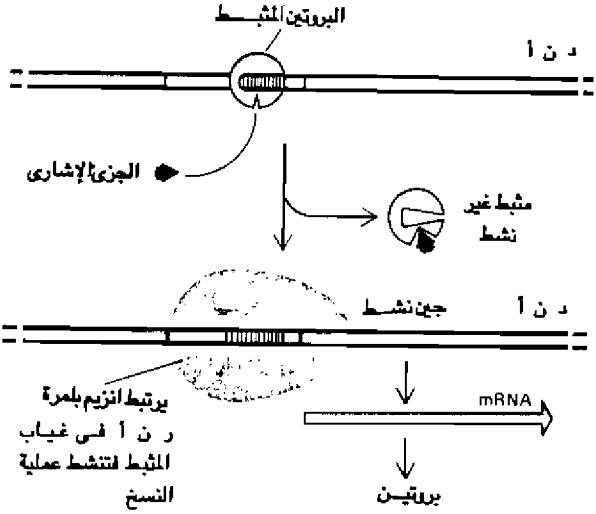
تبين أن ارتباط هذه البروتينات نوعياً بتتابعات معينة فى جزئ د ن أ يؤدى إلى تثبيط أو حث بدء بناء ر ن أ لذلك الجين ، وذلك من خلال الارتباط بالمنطقة التالية مباشرة لمنطقة البروموتور حيث موقع ارتباط إنزيم بلمرة ر ن أ لبدء عملية النسخ .

لوحظ أن التغيرات التى تحدث فى عملية الارتباط النوعى لتلك البروتينات التنظيمية على جزئ د ن أ تؤدى إلى فتح أو قفل التعبير الجينى .

معروف أن كروموسوم بكتريا القولون يتكون من جزئ حلقى واحد من د ن أ بطول حوالى ٤,٧ × ١٠ ^٦^ زوج نيوكلتيدى . ويمثل هذا الطول ما يكفى للتشفير لحوالى ٤٠٠٠ بروتين نوعى . وعلى الرغم من أن نسبة فقط من هذه البروتينات هى التى يتم بناؤها فى فترة ما ، إلا أن البكتريا بمقدورها تنظيم تعبير عدة جينات طبقاً لمستويات التركيز داخل الخلية لبعض مواد التفاعل النوعية والتى تختلف حسب مصادر الغذاء المتاحة فى بيئة الخلية البكتيرية .

وقد أمكن التحقق من وجود بروتين مثبط للاكتوز يقوم بالارتباط بوحدة نسخية تسمى أوبرون اللاكتوز Lac operon ؛ بحيث يؤدى هذا الارتباط النوعى إلى توقف انتاج إنزيم بيتا جلاكتوسيديز β - galactosidase فى غياب اللاكتوز . وقد تبين أن هذا المثبط يقوم بإيقاف عملية النسخ لهذا الأوبرون عن طريق ارتباطه بتتابع نوعى فى جزئ د ن أ يتكون من حوالى ٢١ زوج نيوكلتيدى يطلق عليه « المشغل » Operator والذى يتداخل فى تتابعه مع تتابع منطقة البروموتور السابقة له مباشرة . عندما يتم ارتباط البروتين المثبط بمنطقة المشغل فإنه يمنع انزيم بلمرة ر ن أ من بدء عملية نسخ ر ن أ عند منطقة البروموتور ، مما يؤدى إلى ايقاف عملية النسخ للمنطقة المجاورة من جزئ د ن أ وبذلك يلعب دور ضبط أو تنظيم إنتاج إنزيم بيتا جلاكتوسيديز حسب احتياج الخلية . تبين أنه فى وجود كمية من سكر اللاكتوز يتكون جزئ من السكر يسمى اللو لاكتوز Allolactose فى الخلية حيث يرتبط هذا السكر نوعياً بالبروتين مما يؤدى إلى انفكاكه عن منطقة المشغل وبذلك يمكن استئناف عملية النسخ فى عملية تسمى « إبطال التثبيط » derepression ويترتب على ذلك أن تتمكن الخلية من إنتاج

ليس فقط إنزيم β - galactosidase ولكن جميع الإنزيمات اللازمة لهدم اللاكتوز ولكن ذلك يحدث فقط عندما يتوفر اللاكتوز (مادة التفاعل) فى البيئة كما فى الشكل (٩ – ٦) .



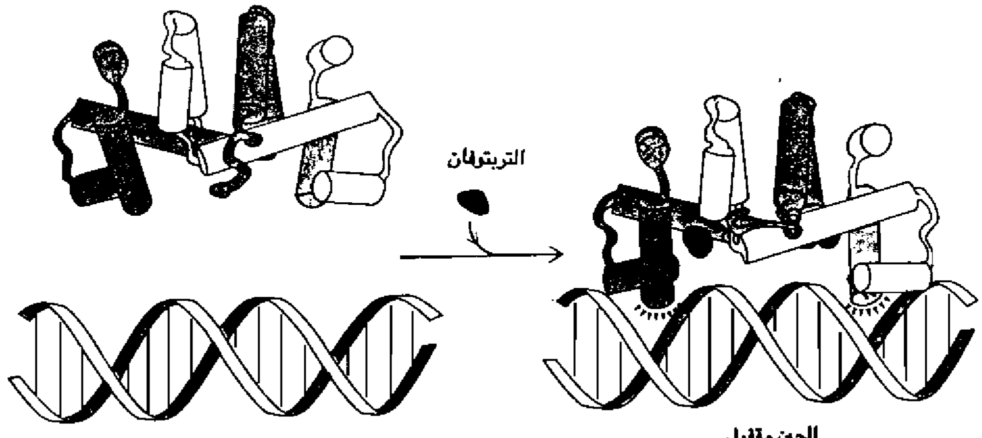

**الشكل (٩ - ٦)؛**

إبطال تثبيط derepression الجين فى البكتريا حيث يقوم جزئ اشارى صغير بالارتباط بالبروتين المثبط بحيث يغير من شكله فيترك جزئ د ن أ مما يسمح بتعبير الجينات المجاورة ونسخها .

ويلاحظ أن اللاكتوز (اللولاكتوز) يعمل هنا كجزئ إشارى Signal molecule نوعى بحيث يؤدى وجوده إلي تنشيط الوحدة النسخية بأكملها عن طريق خفض أو تقليل قدره المثبط على الارتباط بمنطقة المشغل .

ولكن من جهة أخرى تبين وجود نظم أخرى يقوم فيها الجزئ الاشارى بعملية عكسية تماماً لما يحدث فى أوبرون اللاكتوز ؛ أى أنه يستخدم فى وقف نشاط الوحدة النسخية عن طريق زيادة النشاط التثبيطى للمثبط وبالتالى رفع قدرته على الارتباط بمنطقة المشغل ، وقد تبين أن ذلك يحدث فى عملية التحكم فى التعبير الجينى لخمس جينات متجاورة تعمل فى تنسيق فيما بينها للتشفير لإنتاج الانزيمات اللازمة لإنتاج الحامض الأمينى تربتوفان فى بكتريا

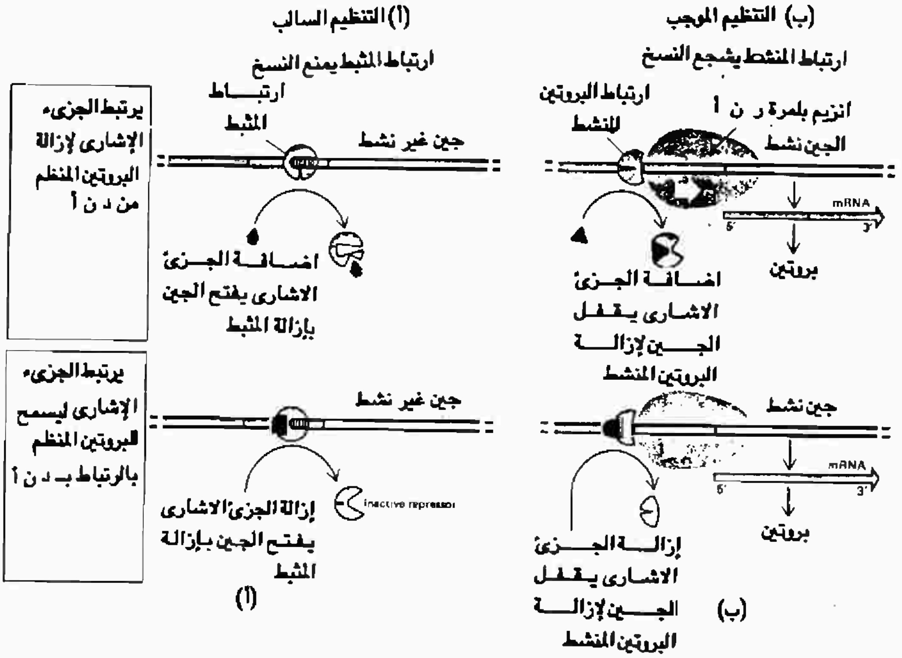
القولون . ويطلق على هذه الوحدة النسخية اسم أوبرون التريبتوفان Trp. Operon . وجد أن البروتين المثبط للتريبتوفان يتحكم فى إنتاج الجزئ الكبير المتعدد السسترون Polycistronic من m RNA الذى يشفر للخمس بروتينات معاً . إلا أن هذا البروتين التنظيمى يكون عادة فى صورته الأولية غير فعال ويسمى aporepressor ويحتاج لكي يتحول إلى الصورة الفعالة إلى الارتباط نوعياً بجزئ من التريبتوفان ( المنتج النهائى) حتى يجعله مثبط نشط Active repressor يمكنه الارتباط بمنطقة المشغل وايقاف النسخ لوحدة الاوبرون كما فى الشكل (٩ – ٧) .




**الشكل (٩-٧):**

يؤدى ارتباط التريبتوفان بالمثبط إلى تغيير فى شكل المثبط مما يسمح له بالارتباط بقوة بالتتابع النوعى فى جزئ د ن أ مما يوقف النسخ للجينات المسئولة عن التشفير للانزيمات الخاصة بانتاج التريبتوفان فى أوبرون التريبتوفان . يبين الشكل ثلاثى الأبعاد كيف أن ارتباط التريبتوفان يؤدى إلى زيادة المسافة بين حلزونى التعارف (الأسطوانات المظللة) فى الثنائى مما يسمح بتكوين تفاعلات لروابط هيدروجينية متماثلة التى تظهر هنا كأشعة .

أى أنه بالنسبة لأوبرون اللاكتوز تؤدى الزيادة فى تركيز اللاكتوز (الجزئ الاشارى) إلى انفكاك البروتين المثبط من على التتابع النوعى لجزئ د ن أ الخاص بأوبرون اللاكتوز وبالتالى تنشيط النسخ فى حين أن زيادة تركيز التربتوفان (كجزئ اشارى) تؤدى إلى زيادة كفاءة المثبط للارتباط بمنطقة المشغل مما يؤدى إلى تثبيط النسخ . ونظراً لأنه فى كلتا الحالتين يؤدى ارتباط البروتين المنظم بمنطقة المشغل إلى كبت النسخ ، فيطلق على هذا النوع من التحكم اسم التنظيم السلبى negative regulation كما فى الشكل (٩ – ٨ أ) .




**الشكل (٩ – ٨):**

ملخص لميكانيكيات التحكم الوراثى السلبى (أ) والتحكم الموجب (ب) فى غير مميزه النواه ، يلاحظ أن اضافة جزئ اشارى صغير مستحث يمكنه أن ينشط الجين إما بإزالة المثبط من على د ن أ (الجزء العلوى إلى اليسار) أو بربط بروتين منشط للجين (الجزء السفلى إلى اليمين) وبنفس الطريقة يؤدى اضافة جزئ اشارى مثبط إلى ايقاف النشاط النسخى للجين إما بإزالة البروتين المنشط من على د ن أ (الجزء الأيمن العلوى) أو بربط البروتين المثبط بجزئ د ن أ (الجزء الأيسر السفلى).

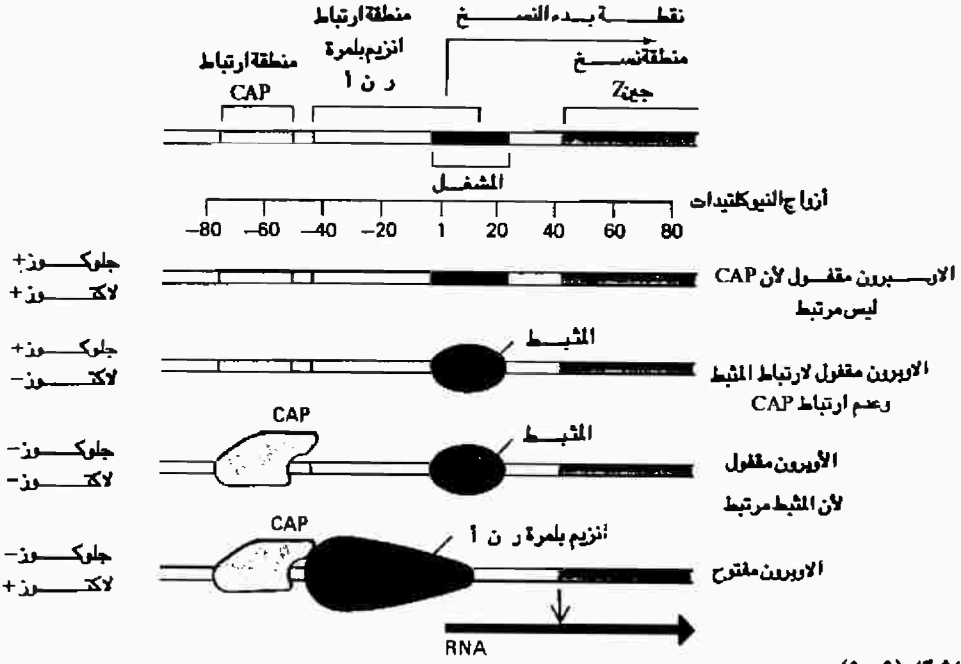
## دور البروتينات المنشطة فى بدء عملية النسخ للاوبرون

إلى جانب نظام التحكم السلبى المشار إليه سابقاً ، حيث يرتبط البروتين المثبط بالقرب من منطقة البروموتور ويتدخل فى نشاط إنزيم بلمرة ر ن أ ، يوجد نوع آخر من التحكم يسمى التنظيم الموجب positive regulation ، حيث يؤدى وجود بروتين نوعى يسمى البروتين المنشط activator protein إلى تسهيل عمل إنزيم بلمرة ر ن أ وقد تبين أن هذا النوع من التنظيم الموجب يكون ضرورياً لبعض الوحدات النسخية فى بكتريا القولون ، وخاصة تلك التى تحتوى على بروموتور ضعيف نسبياً بحيث لا تستطيع فى حد ذاتها الارتباط بكفاءة بإنزيم بلمرة ر ن أ ويتم تنشيط مثل هذه الوحدات النسخية عن طريق ارتباط البروتين المنشط بمنطقة نوعية مجاورة على جزئ د ن أ ، بحيث يتمكن هذا البروتين من أن يتلامس مع إنزيم بلمرة ر ن أ بطريقة تؤدى إلى زيادة قدرة الأخيرة على بدء النسخ .

يحدث أحياناً أن يتشابه الدور الذى يقوم به البروتين المنشط مع ذلك الذى يقوم به البروتين المثبط ، بل أنه فى بعض النظم الوراثية فى البكتريا قد يقوم نفس البروتين التنظيمى بدور المثبط والمنشط معاً عندما ترتبط جزيئاته بعدة مواقع فى الجينوم بحيث يقوم بتثبيط النسخ فى بعض المناطق فى حين يلعب دوراً منشطاً للنسخ فى مناطق أخرى . تتم عملية التنشيط عندما يرتبط البروتين المنشط بجزيئات اشارة signal molecules بحيث تؤدى إلى زيادة أو خفض قدرته التنشيطية ، وبالتالى تؤدى إلي فتح أو قفل نشاط الوحدة النسخية على الترتيب . ترجع تسمية هذا النوع من التحكم الجينى بالتنظيم الموجب إلى حقيقة أن عملية النسخ تحدث بكفاءة أعلى فى وجود البروتينات التنظيمية عما فى حالة غيابها كما فى الشكل (٩ – ٨ ب) .

فى حالة اوبرون اللاكتوز Lacoperon نجد أن هناك نوعاً خاصاً من البروتين المنشط يسمى Catabolite activator protein ويطلق عليه اختصاراً (CAP) ، بحيث يتيح هذا البروتين للبكتريا أن تستخدم مصدر بديل للكربون فقط عندما لا يتوفر الجلوكوز فى البيئة ، والذى يعد بالطبع مصدراً مثالياً للكربون . فى حالة أوبرون اللاكتوز يحدث تنسيق بين عمل

البروتين المثبط للاكتوز والبروتين المنشط CAP لكى يتم انتاج التعبير الجينى المناسب . وكما سبق القول فإن وجود اللاكتوز يؤدى إلى أنفكاك البروتين المثبط عن د ن أ إلا أنه تبين أن ذلك ليس كافياً في حد ذاته لتنشيط عملية النسخ لاوبرون اللاكتوز ، نظراً لأن منطقة البروموتور ضعيفة مما يؤدى إلى انخفاض درجة ارتباط انزيم بلمرة ر ن أ بها . لذلك تحتاج عملية النسخ بواسطة هذا البروموتور إلي تقوية درجة ارتباط انزيم بلمرة ر ن أ بالبروموتور ويتم ذلك عن طريق ارتباط البروتين المنشط CAP في منطقة تسبق مباشرة منطقة البروموتور كما هو موضح فى الشكل (٩ - ٩) . تنطبق نفس الميكانيكية على بروموتور المالتوز والجلاكتوز وغيرهما من الإنزيمات الخاصة بتمثيل السكريات .




**الشكل (٩ - ٩):**

تأثير تركيز الجلوكوز واللاكتوز على تنظيم بدء النشاط النسخى فى أوبرون اللاكتوز من خلال مفعولهما على البروتين المثبط والجين المنشط CAP . تؤدى اضافة اللاكتوز إلى زيادة تركيز اللولاكتوز الذى يزيل المثبط من على د ن أ وعند اضافة الجلوكوز ينخفض تركيز CAMP الضرورى لنشاط CAP فيترك الأخير د ن أ مما يؤدى إلى قفل الأوبرون . يعتقد أن بروتين CAP يلامس إنزيم بلمرة ر ن أ لمساعدته على بدء النسخ .

يتم تنظيم عملية ارتباط البروتين المنشط CAP بجزئ د ن أ بواسطة الجلوكوز وذلك

لضمان استخدام مصادر بديلة للكربون فقط فى غياب الجلوكوز . ويحدث ذلك عندما يؤدى عدم توفر الجلوكوز فى البيئة إلى استحداث زيادة فى مستوى الخلية من جزيئات AMP الحلقى cAMP والذى يعمل كجزئ اشارى للخلية البكتيرية وكذلك فى الخلية مميزة النواة كما سيأتى بعد .

يرتبط cAMP بالبروتين CAP محدثاً تغييراً فى الشكل التركيبى لهذا البروتين مما يمكنه من الارتباط بكفاءة بالتتابع النوعى الموجود على جزئ د ن أ مما يؤدى بالتالى إلى تنشيط نسخ الجينات المجاورة . ولكن عندما يكون الجلوكوز متوفراً فى البيئة ، ينخفض مستوى تركيز cAMP بحيث يتفكك عن البروتين CAP فيتحول الأخير إلى الصورة غير النشطة التى لا يمكنها أن ترتبط بجزئ د ن أ مما يؤدى إلى تحول الخلية بسرعة إلى استخدام الجلوكوز فقط ، ويتوقف النسخ حتى فى وجود كمية كبيرة من اللاكتوز فى البيئة كما فى الشكل (٩ – ٩) .

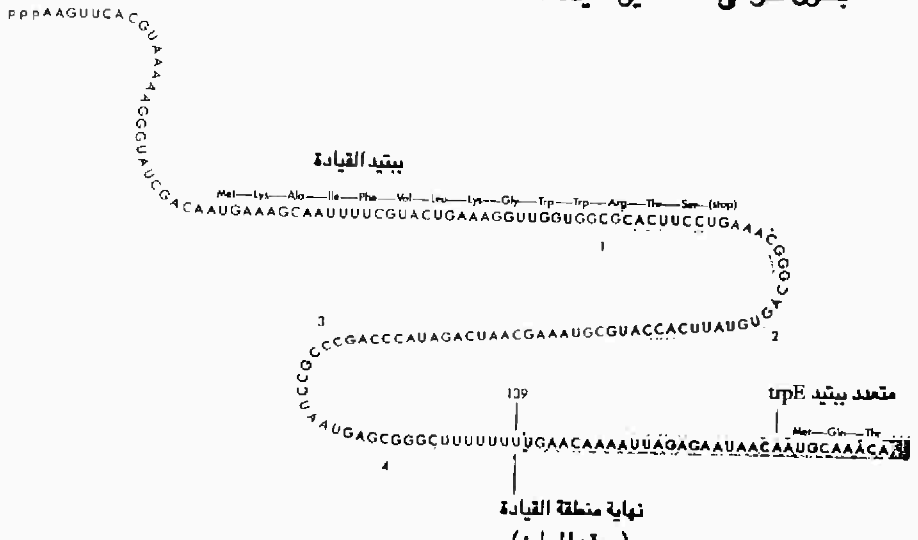
## دور منطقة التباطؤ attenuation فى تنظيم نسخ أوبرون التربتوفان

فى البداية كان المفهوم الشائع أن بناء الإنزيمات الخمسة فى أوبرون التربتوفان يتم تنظيم نسخها بصفة رئيسية عن طريق البروتين المثبط ؛ وكما سبق القول فإن الملاحظ هنا أن نسخ الجينات الخمس المتجاورة المكونة لأوبرون التربتوفان يحدث فقط عندما تكون كمية التربتوفان محدودة جداً فى بيئة الخلية البكتيرية .

وعلى ذلك فإن التربتوفان يعمل فى هذه الحالة ليس كمستحث للنسخ ، ولكنه على العكس من ذلك تماماً ، يعمل كقرين مثبط co-repressor ، بحيث يكون دوره عبارة عن تنشيط المثبط النوعى الخاص به وحتى يمكنه أن يرتبط بتتابع المشغل لأوبرون التربتوفان . ولذلك فإنه عندما يكون تركيز التربتوفان منخفض ، نجد أن منطقة المشغل تكون حرة مما يسمح لعملية النسخ لجزئ mRNA بأن تبدأ من منطقة البروموتور المجاورة .

إلا أنه تبين حديثاً أنه بالاضافة إلى هذا التنظيم المبدئى ، توجد ميكانيكية تحكم اضافية تعمل على تنظيم هذا الأوبرون . إذ وجد أن مجرد بدء بناء جزئ ر ن أ المراسل mRNA لا يعنى بالضرورة أن عملية البناء هذه ستستمر تلقائياً إلى أن نحصل على جزئ كامل من mRNA بل تبين أن معظم جزيئات mRNA لجينات أوبرون التربتوفان تتوقف عن النمو بعد البداية مباشرة ، وقبل أن يبدأ حتى نسخ أول جين فى هذا الأوبرون ولا تستأنف النسخ إلا إذا حدث تأكيد ثان وبطريقة أخرى مستقلة بأن التربتوفان غير متوفر بالفعل .

وقد تأكد ذلك بتحليل تتابعات النهاية '5 فى جزئ mRNA لهذا الأوبرون حيث ظهر أن هناك ١٦١ نيوكلتيده فى RNA تكون ضمن منطقة البروموتور قبل الوصول إلى أول كودون فى جين TrpE (وهو الجين الأول فى هذا الأوبرون) كما فى الشكل (٩ - ١٠) . حيث وجد بالقرب من نهاية هذا التتابع وقبل بدء جين trp E كودون لانهاء النسخ Terminator والذى يأخذ شكل عروه دبوس الشعر المميز فى ر ن أ (ويتكون من التتابعات فى المناطق 3 ، 4 فى الشكل أعلاه ويليه تتابعا مكوناً من U8 . وعند هذه المنطقة والتى تسمى منطقة الأبطاء at-tenuator نجد أن بناء ر ن أ يتوقف عادة (والمفروض أن يتوقف بصفة دائمة ونهائية عند الوصول إلى هذه المنطقة) معطياً سلسلة قصيرة من ر ن أ فيما يعرف بمنطقة القيادة Leader بطول حوالى ١٣٩ نيوكلتيده .

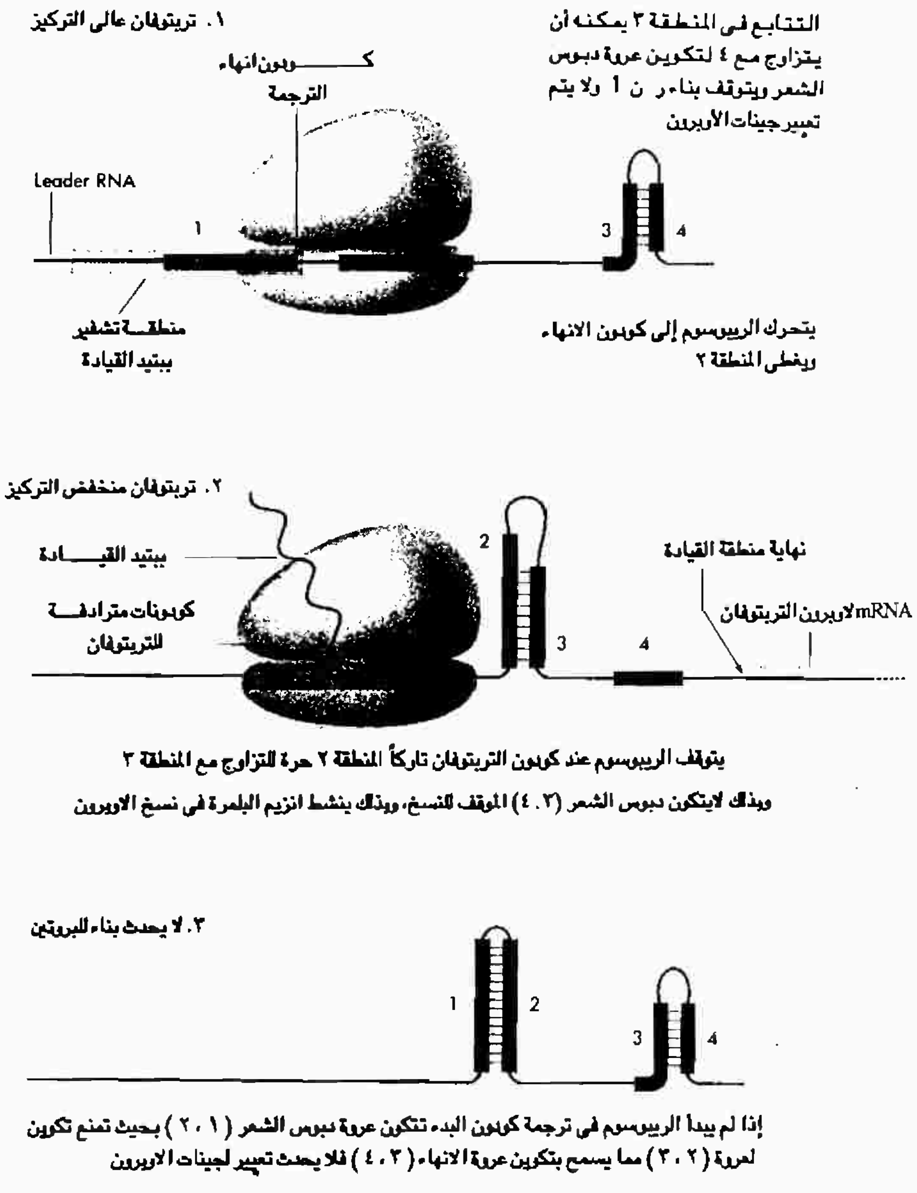



**الشكل (٩ - ١٠):**

تتابع النيوكلتيدات فى منطقة القيادة Leader لجزئ ر ن أ فى أوبرون التربتوفان

ولكن كيف يتسنى لإنزيم بلمرة ر ن أ تخطى عقبة منطقة المبطئ لاستكمال عملية البناء وخاصة عندما يكون تركيز التربتوفان منخفضاً ؟ تكمن الإجابة على ذلك السؤال عند دراسة ثلاث خواص لتتابعات منطقة القيادة Leader :

١ - وجود شكل عروة دبوس شعر ثانية بالاضافة إلى عروة دبوس الشعر الخاصة بانهاء النسخ ويمكن أن تتكون هذه العروة الإضافية من تزاوج المنطقة ١ ، ٢ فى منطقة القيادة Leader كما فى الشكل (٩ - ١١) .




**الشكل (٩ - ١١):**

دور منطقة المبطئ فى تنظيم نشاط أوبرون التريتوفان حسب مستوى تركيز التريتوفان .

٢ – أن تتابع القواعد فى المنطقة ٢ يكون متكاملاً مع المنطقة ٣ مما يعطى فرصة لتزاوج هاتين المنطقتين أيضاً لتكوين عروة دبوس شعر أخرى مما يحول دون تكوين عروة دبوس الشعر الخاصة بالانهاء (٣ ، ٤) .

٣ – تختص منطقة Leader من ر ن أ بالتشفير لسلسلة قصيرة من الببتيدات القائدة مكونة من حوالى ١٤ حامض أمينى مسبوقة بموقع ارتباط قوى بالريبوسوم . وجد أن تتابع منطقة القيادة يحتوى على كودونين متتالين للتربتوفان . وقد تبين أن هذه خاصية مميزة لهذه المنطقة ، فقد وجد فى أوبرونات أخرى مثل أوبرون الليوسين أن هذه المنطقة النوعية تحتوى على أربعة كودونات مترادفة تشفر لليوسين فى حين يحتوى أوبرون الهستدين على ٦ كودونات متتالية للهستيدين فى تلك المنطقة .

تبين أن وظيفة هذه الكودونات هى منع الريبوسوم من محاولة الاشتراك فى ترجمة منطقة القيادة Leader . ويعنى ذلك أنه عندما يكون تركيز التربتوفان منخفضاً جداً فى الخلية يكون مقدار $Trp\text{-}tRNA^{trp}$ منخفضاً جداً مما يحتم على الريبوسوم أن يتوقف عندما يصل إلى كودون التربتوفان فى منطقة القيادة ويظل mRNA حول كودون التربتوفان مرتبطاً بالريبوسوم وبالتالى لا يمكنه الدخول فى تكوين عروه دبوس الشعر للانهاء (٣ ، ٤) ويبين الشكل (٩ – ١١) النتائج المترتبة على ذلك . حيث يكون الريبوسوم مقيداً بكودون التربتوفان فى مكان يسمح بأن تظل المنطقة ٢ حرة للارتباط بالمنطقة ٣ ويؤدى هذا بدوره إلى عدم إمكان تكوين عروه دبوس الشعر الخاصة بالانهاء (٣ ، ٤) مما يسمح لإنزيم بلمرة ر ن أ بعبور منطقة المبطئ إلى الأوبرون ويتم نسخ جينات هذا الأوبرون . ولكن إذا حدث من جهة أخرى أن توفرت كميات كبيرة من التربتوفان فى البيئة ، وبالتالى ارتفع مقدار جزيئات $trp\text{ - }tRNA^{trp}$ مما يسمح للريبوسوم بالتحرك خلال كودون التربتوفان ، فإن الريبوسوم سيشغل منطقة التتابع ٢ مما يسمح بتكوين عروة دبوس الشعر الخاص بإنهاء النسخ (٣ ، ٤) وبالتالى يتوقف النسخ عند نهاية منطقة القيادة فى جزئ mRNA . هناك احتمال آخر وهو أن الترجمة قد تتوقف قبل كودون التربتوفان (وذلك نظراً لندرة أحد الأحماض الأمينية الأخرى) أو قد تفشل فى البدء بالمرة مما يؤدى إلى أن يصبح التتابع ١ حراً لكى يتزاوج مع التتابع ٢ وبالتالى تتكون عروة دبوس شعر الإنهاء التى تؤدى إلى إيقاف عملية تعبير الجينات فى هذا الاوبرون . يعتقد أن أهمية منطقة القيادة فى جزئ mRNA ترجع فقط إلى أنها تضع الريبوسوم فى

المكان المناسب أثناء عملية الترجمة لهذه المنطقة نفسها . ومما يؤكد هذا الدور الفريد انها لا تلبث أن تتحلل إنزيمياً بعد أدائه .

من الممكن أن يكون وجود كلاً من ميكانيكيتى التحكم بالتثبيط والأبطاء يؤديان إلى السماح فقط بحدوث النشاط النسخى حسب المستوى الذى يتوفر فيه التربتوفان فى الخلية بحيث يحتاج الأمر إلى خطوتين للاستجابة حسب تصاعد درجة الاحتياج إلى التربتوفان . إذ تحدث الاستجابة المبدئية المتمثلة فى توقف ارتباط البروتين المثبط بمنطقة المشغل . وعندما تدعو الحاجة إلى إنتاج المزيد من التربتوفان فإن الخطوة الثانية تؤدى إلى الاسترخاء فى نظام الأبطاء . وقد تبين أن بعض نظم الأوبرون الأخرى مثل أوبرون الهستيدين His operon وابرون الليوسين Leu - operon تعتمدان أساساً على نظام الأبطاء ولا يحتوى أى منهما على نظام البروتين المثبط .

**تعريف الأوبرون :** وجد فى عدد كبير من النظم البكتيرية أن مجموعة من الجينات التى تشفر لعدد من البروتينات النوعية التى ترتبط ببعضها بعلاقات وظيفية محددة ، من الممكن أن يتحكم فى تعبيرها جميعاً مشغل واحد Operator . وعادة تكون هذه المجموعة من الجينات مرتبطة بشدة على الكروموسوم البكتيرى . ويطلق على المنطقة من المادة الوراثية التى تحتوى على عدد من الجينات التى تربطها علاقة وظيفية متناسقة والتى تتكون من المشغل وعدد من الجينات التركيبية اسم الأوبرون . وحسب التعريف فإن الأوبرون عبارة عن وحدة نسخ وراثية ذات تعبير متناسق .

## العناصر الرئيسية للأوبرون :

١ - يتكون الأوبرون من مجموعة من الجينات المتجاورة التى تربطها علاقات وظيفية ويطلق عليها الجينات التركيبية (S) .

٢ - يتم تنظيم تعبير هذه الجينات التركيبية فى الأوبرون عن طريق تتابع نيوكلتيدى قصير نسبياً يسمى المشغل(O) ويوجد عادة قبل أول جين تركيبى من ناحية النهاية 5' .

٣ - يوجد جين منظم مستقل (i) يقوم بالتحكم فى إنتاج البروتين المثبط الذى ينتج عن تفاعله مع المشغل إحداث تثبيط متناسق ومنتظم لجميع الجينات التركيبية معاً وفى نفس الوقت.

بمعنى أنه يحدث توقف متواز وكمى فى تعبير جميع الجينات التركيبية الخاصة بهذا الأوبرون بحيث تظل نسبة التعبير الجينى ثابتة بين هذه الجينات .

٤ - يحدث إعادة تنشيط (أو إيقاف للتثبيط) Derepression لجميع الجينات التركيبية معاً وفى نفس الوقت وبنفس المعدل (فيما يسمى بإعادة التنشيط المتناسق co-ordinate derepression) ويتم ذلك إما باستخدام جزئ مستحث Inducer أو نتيجة لحدوث طفرة تأسيسية Constitutive mutation فى المشغل ($O^C$) .

٥ - تؤدى طفرة الاقتضاب أو الحذف deletion التى تشمل منطقة المشغل فقط (O) إلى وقف متناسق للنشاط النسخى لجميع الجينات التركيبية فى الأوبرون .

٦ - يبدأ النسخ عند منطقة البروموتور التى تسبق منطقة المشغل والتى تقع إلى اليسار منها ، حيث يرتبط إنزيم بلمرة ر ن أ بهذه المنطقة لبدء النسخ .

٧ - يتم نسخ الأوبرون كوحدة نسخية كبيرة مكونة من جزئ RNA متعدد السيسترونات Polycistronic mRNA بحيث يشتمل على جميع مناطق الجينات التركيبية معاً بدلاً من أن يتم النسخ على مستوي كل جين تركيبى على حدة إلا أنه عند الترجمة تتم ترجمة كل جين تركيبى مستقلاً إلى بروتين محدد .

## تركيب اوبرون اللاكتوز Lac operon

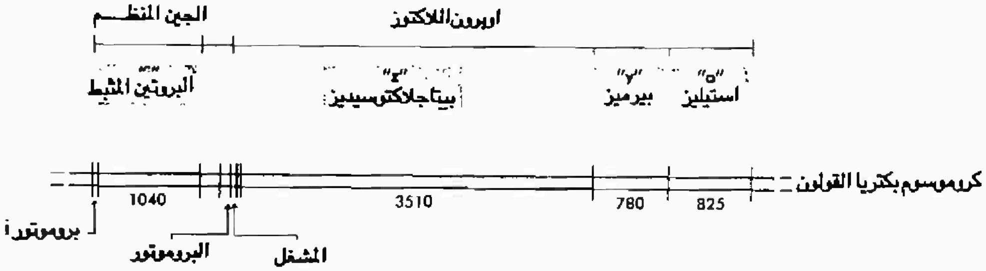
تتكون الوحدة النسخية لأوبرون اللاكتوز من ثلاث جينات تركيبية وهى على الترتيب من اليسار إلى اليمين :

الجين z : ويتحكم فى إنتاج إنزيم بيتا جلاكتوسيديز β - galactosidase .

والجين y : ويقوم بإنتاج إنزيم Lac permease عند الترجمة .

والجين a : وينتج إنزيم Transacetylase عند الترجمة .

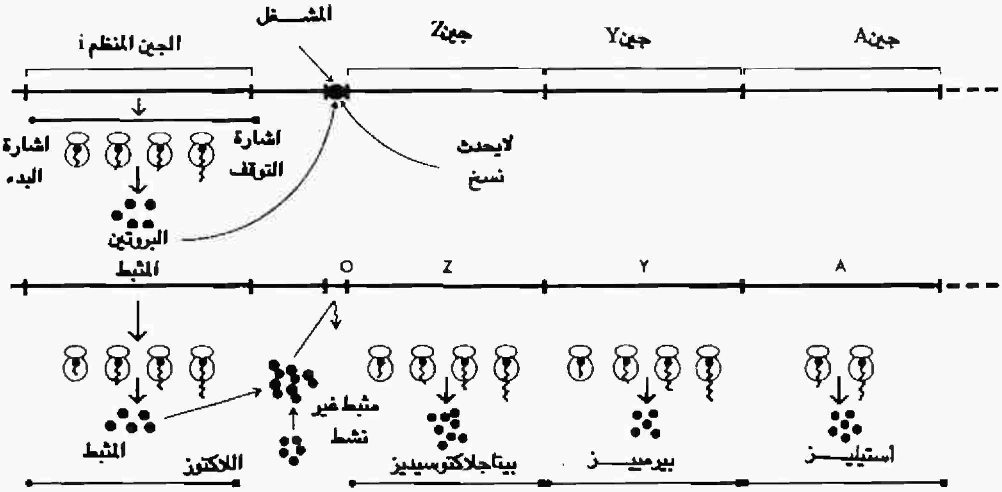
ويتم نسخ جينات هذه الإنزيمات الثلاثة معاً فى وحدة نسخية واحدة يطلق عليها أوبرون اللاكتوز . ويوجد الجين المنظم (i) الذى ينتج البروتين التنظيمى المثبط repressor protein إلى اليسار من مجموعة الجينات التركيبية ، يليه منطقة البروموتور (P) التى يرتبط بها إنزيم بلمرة ر ن أ ثم منطقة المشغل (O) الذى يرتبط به البروتين المثبط كما فى الشكل (٩ - ١٢).




**الشكل (٩ - ١٢) :**

مكونات أوبرون اللاكتوز والجين المنظم لنشاطه .

كما يبين الشكل (٩ - ١٣) الطريقة التى يتم بها التفاعل بين البروتين المثبط والجزئ المستحث Inducer والمشغل للتحكم فى مستوى بناء بروتينات (إنزيمات) أوبرون اللاكتوز فى بكتريا القولون . وتجدر الاشارة إلى النظام الاضافى الخاص بالبروتين المنشط CAP كما سبق الذكر . من ذلك يتبين أن أوبرون اللاكتوز يتبع نظام الأوبرون المستحث Inducible operon system .




**الشكل (٩ - ١٣) :**

يؤدى التفاعل بين البروتين المثبط والجزئ المستحث والمشغل إلى تنظيم بناء انزيمات أوبرون اللاكتوز .

## اثبات نظام التحكم فى ابرون اللاكتوز Lac operon بدراسة الطافرات:

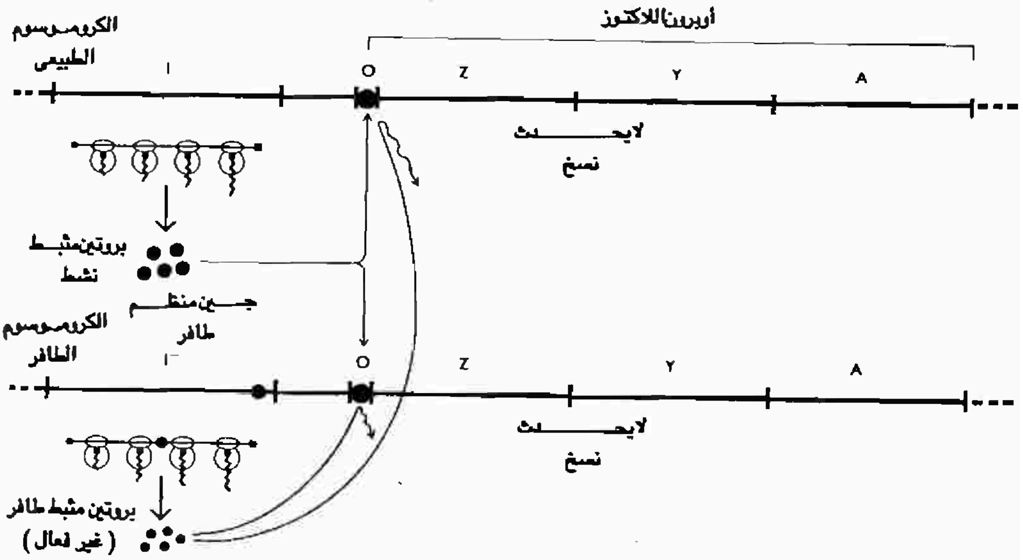
١ – طفرات فى الجين المنظم (i) Regulatory gene

تؤثر الطفرات التى تحدث فى الجين الخاص بإنتاج البروتين المثبط (i) على القدرة على التحكم فى تعبير أوبرون اللاكتوز ، وقد ساعدت هذه الطفرات بشكل كبير فى استنباط نموذج الأوبرون .

أمكن التعرف على عدة أنواع من الطفرات التى تحدث فى الجين i : ومنها الطفرة (-i) حيث يصبح الجين غير قادر على إنتاج بروتين مثبط فعال . ويتم ذلك إما بطفرة تغيير القاعدة الواحدة أو طفرة حذف deletion فى هذا الجين . وتؤدى طفرة الحذف فى الجين i إلى غياب البروتين المثبط بالكامل فى حين تؤدى الطفرات الأخرى إلى إنتاج بروتين مثبط غير فعال بحيث لا يتمكن من الارتباط بقرين المثبط الخاص به وبالتالي لا يمكنه أن يأخذ الشكل النشط فى التثبيط . ويؤدى حدوث الطفرة - i إلى إنتاج جميع إنزيمات الأوبرون بصرف النظر عن الاحتياج إليها من عدمه ويقال لهذه الطفرات بأنها طافرات تأسيسية constitutive mutations . ويبين الشكل (٩ – ١٤) كيف أمكن استخدام خلايا بكتيرية ثنائية جزئياً Partial diploid بالنسبة للكروموسوم البكتيرى وبتركيب (i / i-) لبيان أن وجود أليل واحد من الجين i يكون سائداً علي الأليل الطافر -i . حيث وجد أنه فى هذه الحالة لن تتكون أى كمية من جزيئات إنزيم بيتا جلاكتوسيديز β - galactosidase فى هذه الخلايا فى غياب اللاكتوز فى البيئة ، حيث أن وجود نسخة واحدة من الأليل i سيؤدى إلى إنتاج كمية كافية من البروتين المثبط للقيام بتثبيط كلا الموقعين للمشغل فى الكروموسومين .

٢ – طفرات فى الجين المشغل (O) Operator .

أمكن عزل سلسلة من الطافرات التأسيسية constitutive mutations فى هذا الجين بحيث تفقد القدرة على التحكم فى إنتاج الإنزيم الذى يستمر إنتاجه بصرف النظر عن وجود المستحث Inducer من عدمه .

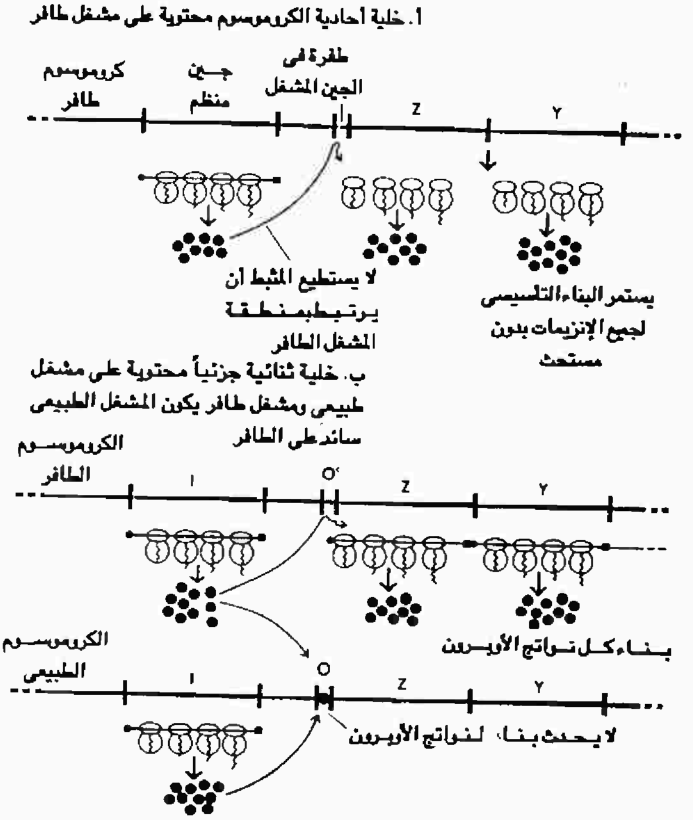



**الشكل (٩ - ١٤):**

استخدام تركيب ثنائى جزئى فى كروموسوم البكتريا لاثبات أن وجود مثبط واحد فعال يكون سائد على وجود مثبط غير نشط . لا تنتج أى كميات من إنزيمات الأوبرون فى هذه الحالة

وعند تحديد موقع تلك الطفرات تبين أن عدداً منها كان متجمعاً بالقرب من الجين Z فى منطقة المشغل . وقد أطلق على هذه الطافرات التأسيسية operator constitutive mutants ($O^c$) . وقد وجد أنها قد فقدت القدرة على الارتباط بالبروتين المثبط ، بحيث لا يمكن وقف عملية النسخ فى الوقت المناسب . وقد تم التأكد من ذلك بمقارنة ما يحدث فى الخلايا أحادية الكروموسوم haploid والثنائية الجزئية Partial diploid والخليطة بالنسبة لهذا الموقع أى بتركيب ($O / O^c$) كما فى الشكل (٩ - ١٥) . حيث تبين أنه فى الخلايا الأحادية كانت الطفرة التأسيسية $O^c$ فعالة بحيث منعت ارتباط المثبط بالمشغل مما أدى إلى استمرار إنتاج إنزيمات الأوبرون فى غياب المستحث (اللاكتوز) أما فى حالة الخلايا الثنائية جزئياً بتركيب $O/O^c$ فقد وجد أن الأليل $O^c$ كان سائداً على O بحيث

تغلبت الطفرة $O^c$ على الأليل الوحشى O وجعلت فى إمكان الخلية الثنائية الجزئية أن تستمر فى إنتاج الإنزيمات الثلاثة للأوبرون بالرغم من غياب المستحث [(قارن ما يحدث بالنسبة للتركيب $O^c/O$ بما يحدث بالنسبة للتركيب (i / i-)] .




**الشكل (٩ - ١٥) :**

تنظيم النسخ فى أوبرون اللاكتوز بالمشغل الطبيعى والطافر

٣ - طفرات فى الجينات التركيبية Structural genes .

أمكن عزل طفرات عديمة المعنى لكل من الجينات التركيبية الثلاثة لأوبرون اللاكتوز وقد تبين أن تتابع مواقع هذه الجينات على الكروموسوم البكتيرى هو z - y, a . بينت الطفرات عديمة المعنى فى الموقع z أن تأثيرها لن يقتصر على وقف الانزيم المسئولة عنه فقط وهو

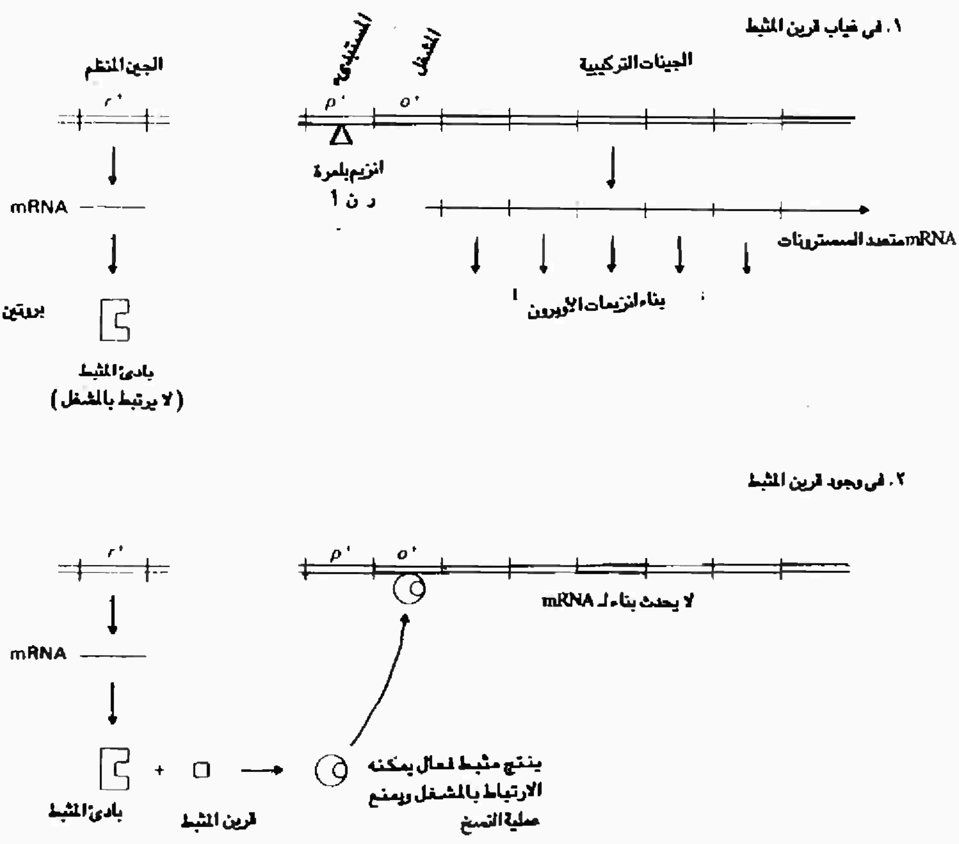
بيتا جلاكتوسيديز β - galactosidase ، ولكن تأثيرها سيمتد ليشمل تعبير الجينان التاليان a, y بحيث يتوقف إنتاج انزيمى Transacetylase, Permease على الترتيب . فى حين لو حدثت الطفرة فى الموقع y فقط فإن التأثير المانع سيشمل الجين التالى له فى الخريطة الكروموسومية وهو الجين a فى حين لن تؤثر هذه الطفرة على الجين السابق له فى الترتيب أى الجين z فيستمر فى إنتاج انزيم بيتا جلاكتوسيديز β - galactosidase فى نفس الوقت الذى يتوقف فيه انتاج انزيمى transacetylase, Permease . وإذا حدثت الطفرة فى الجين التركيبى a فسيقتصر تأثيرها على تعبير هذا الجين فقط فلا ينتج إنزيم Transacetylase ويستمر الجينان الاخران فى إنتاج الإنزيمات الخاصة بها بدون تغيير . يطلق على هذا النوع من الطفرات اسم الطفرات القطبية Polar mutation حيث أنها ذات اتجاه محدد فى التأثير مما يفترض معه وجود تدرج فى التأثير القطبى فى اتجاه النسخ 3' <-- 5' وليس العكس . ويعتقد أنه كلما اقتربت الطفرة القطبية من تتابع المشغل Operator كلما زاد التأثير القطبى لهذه الطفرة بحيث يقل أو ينعدم إنتاج الجينات التالية مباشرة لها ؛ فى حين يقل التأثير كلما كان موقع الطفرة القطبية بعيداً عن المشغل . وقد تم تفسير ذلك على أساس أن الجينات الثلاثة يتم نسخها فى صورة جزئ mRNA واحد كبير متعدد السيسترونات Polycistronic فى الاتجاه القطبى 3' <-- 5' حسب تتابع الجينات z - y - a ، بحيث يكون من الصعب على انزيم بلمرة ر ن أ الاستمرار فى النسخ فى المنطقة التالية للطفرة القطبية مما يؤدى إلى توقف النسخ .

## ثانياً : أوبرون التريبتوفان Tryptophan Operon

يعد أوبرون التريبتوفان فى بكتريا القولون من النوع القابل للكبت أو التثبيط Repressi-ble system حيث يتم التثبيط عن طريق الناتج النهائى end product لسلسلة الايض التى يتحكم فيها هذا الاوبرون وهو الحامض الأمينى التريبتوفان الذى يعمل هنا كقرين مثبط co - repressor بحيث يرتبط بالبروتين المثبط الأولى غير الفعال aporepressor ويحوله إلى الصورة الفعالة فينشط فى التثبيط مما يجعله قادراً على الارتباط بمنطقة المشغل وقفل الأوبرون .

تحتاج الخلية إلى التريبتوفان لبناء البروتين ، وعندما يكون التريبتوفان متوفر فى البيئة فإن

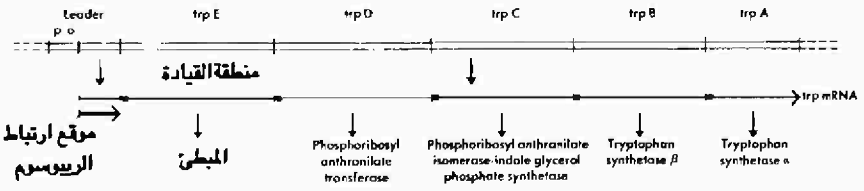
جميع الإنزيمات الخمسة التى تساعد فى سلسلة البناء الخاصة بالتريبتوفان تكون غير متوفرة نتيجة لتثبيط جميع الجينات التركيبية الخاصة بها . ويعتبر هذا أمراً طبيعياً نظراً لأن جميع الأوبرونات التى تتحكم فى انتاج مركب أو جزئ نهائى لابد أن تكون قابلة للتثبيط عند زيادة إنتاج هذا المنتج النهائى عن حدود احتياج الخلية . فى حين أن الاوبرونات المسئولة عن انحلال أو هدم مادة تفاعل (مثل سكر اللاكتوز) لابد أن تكون من النوع القابل للإستبداء Inducible عند توفر مادة التفاعل حيث يتسنى تحليل أو هدم هذه المادة بالإنزيمات التى تنتج عن نشاط الأوبرون .




**الشكل (٩ - ١٦) :**

**الملامح الرئيسية لطريقة عمل الأوبرون القابل للتثبيط فى بكتريا القولون**

ويبين الشكل (٩ – ١٦) الملامح الرئيسية لنظام الأوبرون القابل للتثبيط Repressible فى حين يبين الشكل (٩ – ١٧) مكونات أوبرون التريبتوفان . وتجدر الاشارة هنا إلى المستوى الثانى من التنظيم فى هذا الأوبرون والخاص بمنطقة المبطئ attenuator والذى سبقت مناقشته فى هذا الفصل .




**الشكل (٩-١٧):**

مكونات أوبرون التريبتوفان فى بكتريا القولون مبيناً العلاقة بين منطقة القيادة والجينات التركيبية المشفرة لإنزيمات الأوبرون .