

تنظيم التعبير الجيني في 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 تؤدي 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 تخصص فى انتاج مواد معينه اما بمعدل ثابت أو متغير حسب درجة الاستجابه لاشارات خارجية مثل الهرمونات أو التغيرات فى درجة الحرارة . تتشابه مميزه النواه وحيدة الخلايا مثل الخميرة مع غير مميزة النواه مثل البكتريا فى بعض خصائص تنظيم التعبير الجيني . وعلى الرغم من أن التركيب الجيني 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 وجود نوع من التنظيم للتعبير الجيني 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 الجيني

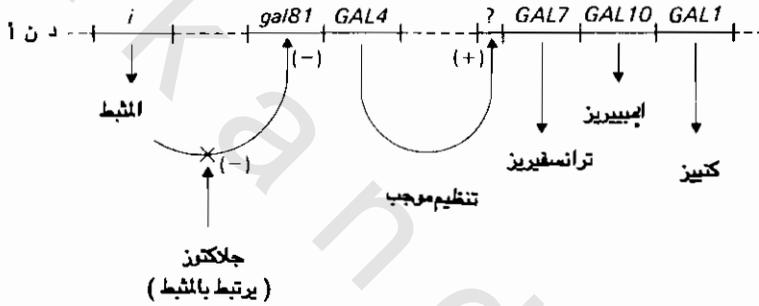
يختلف عما يحدث في غير مميزة النواه . كما تبين أنه في الخميرة يتم نسخ وحدات mRNA منفردة وحيدة السسترون monocistronic وليست عديده السسترونات Polycistronic نظرا لعدم ارتباط الجينات ذات العلاقة الوظيفية أو تجاورها في مميزة النواه . ولو أن هناك بعض الحالات التي وجد فيها أن الجينات تكون متجاوره ، مما أعطى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

١ . جينات تخمر الجلاكتوز في الخميرة :

The galactose Fermentation genes in yeast

وجد أن الانزيمات الثلاثة الأولى في عملية تخمر الجلاكتوز في الخميرة هي : جلاكتو كينيز galactokinase ، الفاد - جلاكتوز - الفوسفات يوريديل ترانسفيريز α -Dgalactose 1-phosphate uridyl trnsferase وانزيم لوريدين ثنائي فوسفات الجلوكوز 4 - ابيميريز Uridine diphosphoglucose 4 - epimerase ويتحكم في انتاج هذه الانزيمات الجينات - GAL1 و GAL7 و GAL10 ، على الترتيب . ويبدو أن هذه الجينات مرتبطة بشده على الكروموسوم رقم II بالتتابع التالي : GAL10 - GAL1 - GAL7 . ويتم استبداء induction الجينات الثلاثة في تناسق يؤدي إلى زيادة انتاجها من الانزيمات إلى أكثر من ٥٠٠٠ ضعف عند اضافة الجلاكتوز إلى البيئة أمكن التعرف على طافرات في الجين المنظم Regulatory gene بحيث تؤثر على تعبير جينات GAL . وقد تبين بالنسبة لمجموعه من هذه الطافرات النوعية أن الموقع الخاص بالجين المنظم يحتل مكانا مستقلا عن الجينات التركيبي الثلاث ، كما وجد أن هذه الطافرات من النوع التأسيسي Con-stitutive mutants بالنسبة للثلاث انزيمات وهي متتحيه (i) بالنسبة للطراز الوحشى (i) . كما وجدت مجموعه أخرى من الطافرات في 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 في منطقة gal 81 ويؤدي 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 المجاورة له وذلك في غياب الجلاكتوز . ولكن إذا توفر الجلاكتوز فإنه يتم إيقاف نشاط البروتين المثبط ، وبالتالي يمكن نسخ الجين GAL4 . وحيث أن طافرات GAL4 متعددة الاثر سالبه فإنه يعتقد أن الجزيء الذي ينتجه الجين GAL4 هو عبارة عن جزيء مؤثر موجب positive effactor يحتاجه النظام لكي يتم التعبير عن الجينات الثلاثة التركيبي في اوپرون 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 اوپرون البكتريا .



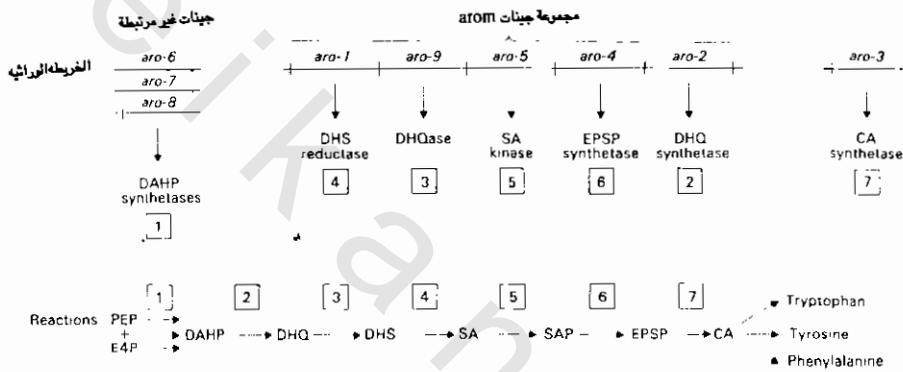
الشكل (١٠-١) :

النموذج المقترح لتنظيم تعبير الجينات المسئولة عن تخمر الجلاكتوز في الخميرة

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

تمثل هذه المجموعة من الجينات أحد النظم الشبيهه بنظام الاوپرون . وتتحكم هذه الجينات في الخطوات الأولى من سلسلة بناء الاحماض الامنية العطرية : فينل الاتين والتيروسين والتريتوفان 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 aggvegat ذات وزن

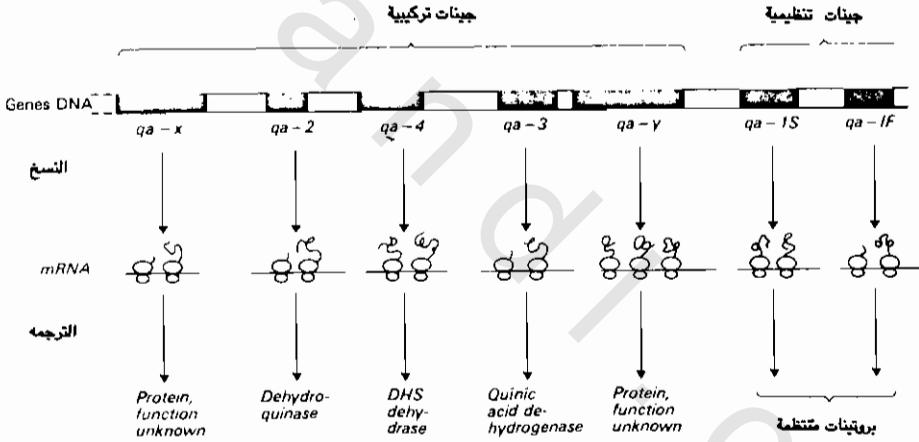
جزئى حوالى ٢٢٠٠٠٠ دالتون ، ويحتوى على خمس انزيمات مختلفة . يتم التشفير لهذه الانزيمات الخمسة بمجموعه جينات يطلق عليها "arom" والمكونه من الخمس جينات المتجاوره 1,aro - 9,aro - 5,aro - 4,aro - 2 . وقد دلت الدراسات الوراثيه على أن



الشكل (١٠-٢) :

مجموعه جينات arom فى فطر النيوروسبرا حيث تظهر الانزيمات التى يتحكم فى انتاجها الجينات التركيبه والتفاعلات التى تقوم بها فى بناء الاحماض الامينية العطرية

حدوث طفرة في جين ما تؤثر اما على نشاط احد هذه الانزيمات فقط أو قد تؤدي إلى فقد نشاط إثنين أو أكثر من هذه الانزيمات في المعقد الانزيمي المذكور . وهي تشبه في ذلك الطفرات القطبية في اوبرون اللاكتوز في بكتريا القولون . ولذلك افترض أن مجموعة جينات arom يتم نسخها في صورة mRNA عديد السسترون ، وأن عملية النسخ تبدأ عند الجين aro - 2 . مما حدى بالبعض إلى الاعتقاد بأن مجموعة جينات arom تمثل اوبرون في هذا الفطر . إلا أن الأدلة الحديثة أثبتت أن ما يسمى بمجموعة جينات arom تتكون في الحقيقة من جين واحد تركيبى يشفر لمتعدد بيتيدى واحد ذو 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 في المعقد الذى سبقت الاشارة اليه . ويعنى ذلك أن نظام arom ليس فى الحقيقة اوبرون ولكنه عبارة عن اندماج خمس جينات قديمه فى جين واحد ، كما أن هذا الجين المتجمع (العنقودى) له منطقة بروموتور واحدة .



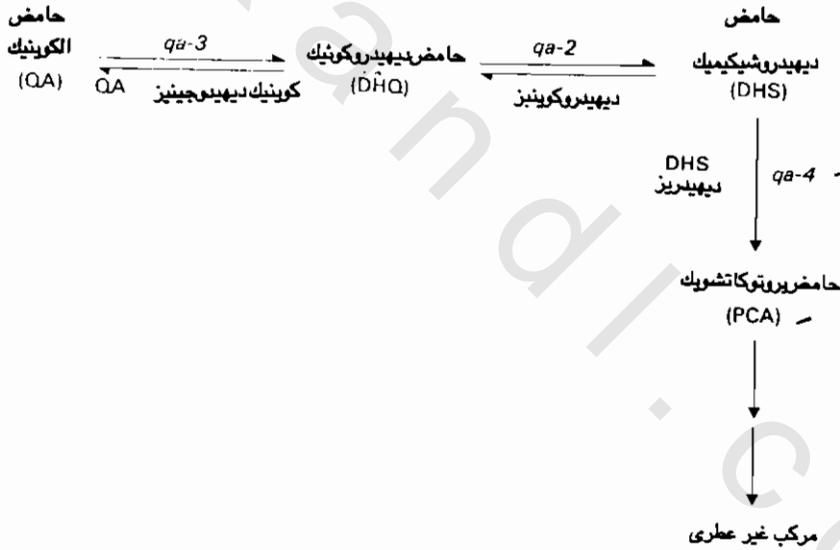
الشكل (١٠ - ٣) :

المسار الأيضى لعملية هدم حامض الكوينيك في فطر النيوروسيرا والجينات التركيبية والانزيمات الناتجة عنها . يستحث المسار الأيضى عندما ترتفع نسبة المركبات العطرية في الخلية وتقوم الإنزيمات بهدمها إلى مركبات

غير عطرية

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

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



الشكل (١٠-٤)

مكونات مجموعة الجينات التركيبية والمنظمة المسئولة عن عملية تمثيل حامض الكوينيك (qa) في فطر النيوروسبرا

ويلاحظ أن هذه السلسلة الهدمية تتشابه مع سلسله بناء الاحماض الامنية العطرية فى وجود انزيم dehydroquinase ، إلا أنه لا يوجد تداخل بين هاتين السلسلتين ، حيث ان البروتين المتعدد الوظائف الناتج من سلسله البناء يستخدم بكفاه لتوجيه تفاعلات المركبات الوسيطة . أما الجينان الأخران وهما $qa - x$ ، $qa - y$ فقد تم التعرف عليهما بطرق تحليل تتابعات دن 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 فى اوپرون غير مميزة النواه ، الا انه لم تتوفر بعد ادلة على وجود منطقة المشغل أو على ان نسخ mRNA يتم فى صورته سسترون متعدد Polycistronic . وفى الحقيقة فإنه توجد أدله على أن كل جين تركيبى فى 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 يبلى على إشارة الحث بصوره مستقله . أمكن بدراسه بعض الطفرات فى الجينات المنظمة لهذا النظام التعرف على عملية التحكم فى تعبير الجينات التركيبية qa ، حيث تبين أن الطفرات التى تحدث فى الجين $qa - 1S$ إما أن تكون تأسيسيه ومنتحيه ($qa - 1S^c$) أو غير مستحثة وشبه سائده ($qa - 1S^-$) . اما طفرات الجين $qa - 1S$ فتكون غير مستحثة ومنتحيه حتى فى وجود الطفرات التأسيسيه $qa - 1S^c$ مما ادى إلى اقتراح النموذج التالى لميكانيكيه عمل هذه المجموعة من الجينات qa :

يشفر الجين $qa - 1F$ لانتاج بروتين منشط activator protein المطلوب لعملية نسخه هو نفسه وكذلك لنسخ جميع الجينات التركيبية فيما عدا الجين $qa - X$. فى حين يشفر الجين $qa - 1F$ لانتاج بروتين مثبط Repressor Protein الذى يتفاعل مع QA ، وفى هذه الحالة لا يكون له تأثير على نسخ $qa - 1F$. إلا أنه فى غياب المستحث QA يقوم بروتين $qa - 1S$ بإيقاف عملية نسخ الجين $qa - 1F$ المنتج للبروتين المنشط مما يؤدى إلى تثبيط معظم الجينات التركيبية . ولم يعرف بعد دور الجين $qa - X$ فى نظام qa .

من هذه الأمثله يتبين أن هناك بعض الأنظمة التنظيميه فى مميزه النواه وحيدته الخلية

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

الجرعة الجينية والتضخيم الجيني :

Gene dosage and gene amplification

تبين أن منتجات بعض الجينات يكون الاحتياج إليها في الخلية بكميات أكبر بكثير عن غيرها . والطريقة الشائعة للحفاظ على نسب معينه من منتجات جينيه نوعيه هي ما يعرف بالجرعة الجينية gene dosage ، فعلى سبيل المثال إذا كان الجينان A و B يتم نسخهما بنفس المعدل كما أن كفاءة الترجمة لكل منهما تكون متساوية ، فإنه يمكن انتاج ٢٠ ضعف من المنتج الجيني A عن B لو كان هناك ٢٠ نسخه من الجين A لكل نسخه من الجين B . تمثل جينات الهستونات في مميزة النواه نظام تأثير الجرعة . إذ أنه لكي يتم بناء الكمية الكبيرة من الهستونات المطلوبة لتكوين الكروماتين ، فإن معظم الخلايا تحتوي على مئات النسخ من جينات الهستونات لكل جين مطلوب لتناسخ د ن أ وهناك حالة خاصة من تأثير الجرعة الجينية وهي التضخيم الجيني والتي يتم فيها زيادة عدد نسخ الجينات استجابة لاشاره ما . ويعد ما يحدث أثناء تمايز الخلايا الأمية للبيضات Oocytes في أبو ذنبيه *Xenopus laevis* افضل مثل لحاله التضخم الجيني . يحتاج تكوين البويضه من خلايا الأوسيت إلى حدوث عمليات معقدة تتطلب توفر كميه هائلة من البروتين مما يستدعى ضروره وجود عدد كبير جدا من الريبوسومات لبناء هذا البروتين . ونعرف أن الريبوسومات تحتوي على rRNA ، وقد وجد أن عدد جينات rRNA في الخلايا الأمية للبيضات يكون محدودا بحيث لا يفي انتاجها العادي باحتياجات الخلية من الاعداد المطلوبه من الريبوسومات في الوقت المناسب . وللتغلب على هذا القصور ، وجد أنه أثناء تمايز خلايا امهات البيض يرتفع عدد جينات rRNA إلى حوالي ٤٠٠٠ ضعف . وقد وجد أن هذه الزيادة الهائلة تحدث فقط أثناء فترة تكوين البويضة . تحتوي الخلايا الابتدائية للبيضة ، مثلها مثل جميع الخلايا الجسميه في ابوذنيه ، على حوالي ٦٠٠ وحدة من جينات rRNA (rDNA) وبعد التضخيم نجد أن العدد يرتفع إلى ٢ × ٦١٠ نسخة من كل وحدة . يمكن هذا العدد الكبير من نسخ rRNA في الأوسيت من بناء ١٢١٠ ريبوسوم الذي تحتاجه الخلية لانتاج البروتينات اللازمة في المراحل المبكره من تكوين الجنين .

وجد أنه قبل أن يحدث التضخيم الجيني تكون وحدات tRNA موجود في تتابع مترادف، في حين انه اثناء عملية التضخيم الجيني وعلى مدى الثلاث اسابيع الأولى لتمايز الخلية البيضوية من الخلية الابتدائية تظهر اعداد كبيرة من النواثر الصغيرة أو النواثر المتدرجة المتناسخة .

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

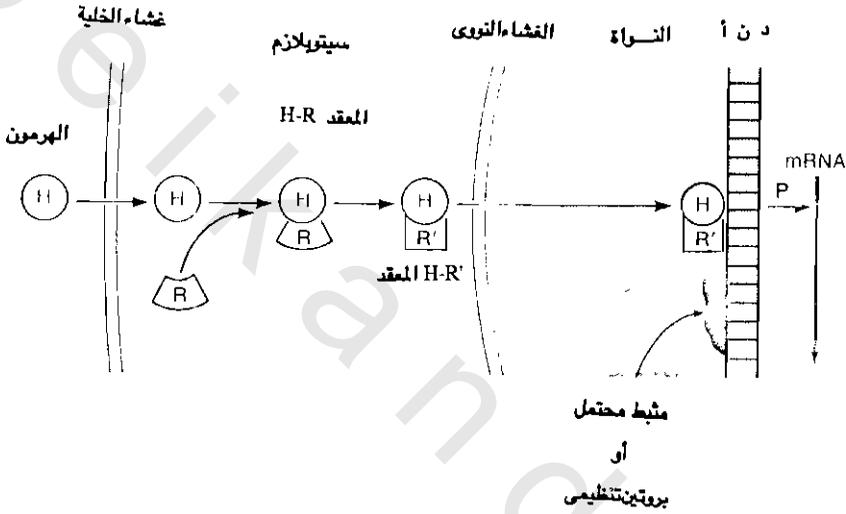
بعد الاخصاب نجد أن د ن أ الكروموسومي يتناسخ وتبدأ عملية الانقسام الميتوزي المتكرر اثناء نمو وتكوين الجنين وتمايزه . وفي اثناء هذه الفترة نجد أن tRNA غير الكروموسومي يظل بدون تناسخ ، وتستمر عملية تحله بحيث لا يتبقى منه أى كمية في الخلايا عندما يكون الجنين قد وصل إلى مرحله مبكره من التكوين . وجد أن عملية 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 احادى) ومتوسط التكرار (عدة مئات من النسخ لكل خليه) وعالى التكرار (عدة الاف من النسخ لكل خليه) . يشفر mRNA وحيد النسخه ومتوسط التكرار عادة للانزيمات والبروتينات التركيبية على الترتيب . أما جزيئات mRNA عاليه التكرار فيتم نسخها من عدد قليل من الجينات الموجوده في مميزه النواه ويكون انتاجها عاده مرتبطاً بتغير يحدث في مرحله تمايز معينه ويفيد المثال التالى في توضيح هذه العملية .

وجد أن بادئات خلايا الدم الحمراء الناضجة erythroblast cell في نخاع العظام تقوم بانتاج كميات هائلة من mRNA الذى يمكن أن تتم ترجمته إلى هيموجلوبين ناضج في حين أن الخلايا الاساسية التى تسبق مرحلة تكوين الاريتروسايت لا يمكنها انتاج أى هيموجلوبين . تعد الهرمونات من أهم منظومات النسخ في الخلايا مميزه النواه الراقية ، وقد وجد أن

عدداً من هرمونات الجنس تعمل عن طريق تنشيط عملية النسخ . ولكي يكون للهرمون دور في تنظيم عملية النسخ فإنه لابد أن يكون بمقتوره اعطاء اشارته إلى د ن أ وقد وجد أن الهرمونات الاستيرويديه الكارهه للماء (اللاقطيبه) يمكنها المرور بحرية من خلال الغشاء البلازمي . 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 الشكل (١٠ - ٥) .



الشكل (١٠-٥):

شكل تخليطى يبين كيف يصل الهرمون (H) إلى جزيء 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 مما يحدث بعد هذه النقطة . ومن المرجح أنه فى النواه اما أن يشارك المعقد H-R' باكملة أو الهرمون بمفرده فى احدى هذه البدائل :

١ - الارتباط المباشر بجزيء د ن أ

٢ - الارتباط الجزئي ببروتين مؤثر effector protein .

٣ - تنشيط جزيء مرتبط بجزيء د ن أ

٤ - وقف نشاط احد المثبطات .

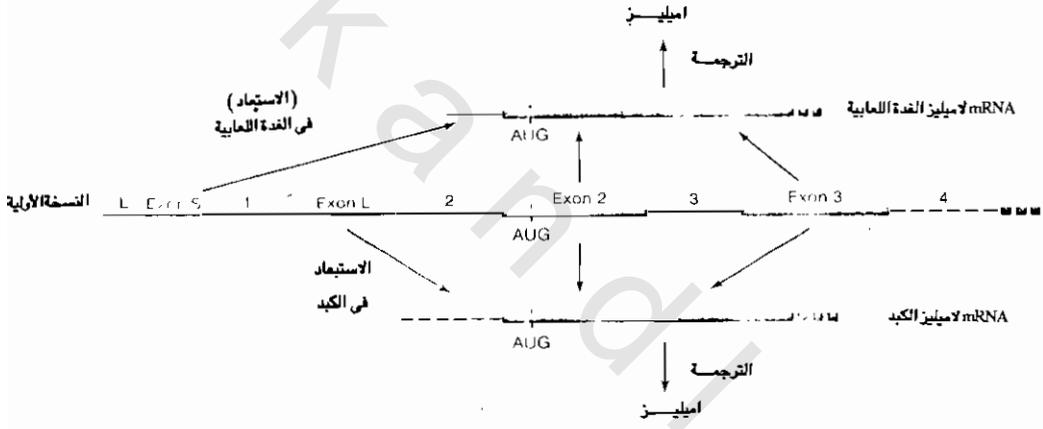
٥ - احداث تغير في تركيب الكروماتين بحيث يصبح د ن أ معرضا لأنزيم بلمره ر ن أ ولم يعرف إلى الآن أى من هذه البدائل هي التي تحدث في النواه المميزه التي يتم فيها نظام التنشيط الهرموني للنسخ .

ومن الامثلة المعروفة لحت النسخ بالهرمونات ، ما تبين من تحفيز بناء بروتين البيومين البيضه ovlbumin في قناة بيض الدجاجه عن طريق هرمون الجنس الاستروجين estrogen، حيث وجد انه عندما تحقق الدجاجه بهذا الهرمون ، فإن انسجه قناة المبيض تستجيب لهذه العملية فتقوم بانتاج جزيئات mRNA الخاصة بالبيومين البيضه ، وتستمر عليه البناء هذه طالما استمرت اضافة الاستروجين . ولكن بمجرد ايقاف اضافته نجد ان معدل بناء البيومين البيضه ينخفض بشكل سريع . وقد تبين عدم وجود mRNA لالبيومين البيضه سواء في الفتره قبل اعطاء الهرمون أو بعد ٦٠ ساعة من وقف إعطاؤه . وجد أنه عند حقن الاستروجين في الدجاجه فإن انسجه قناه المبيض فقط هي التي تستجيب وتقوم بانتاج mRNA النوعى الخاص بالبيومين البيضه في حين لا تحدث استجاباه مماثله في الانسجه الأخرى للجسم نظرا لأن سيتوبلازمها لا يحتوى 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 في كلا النوعين وحدثت عملية النسخ فيهما . ترتبط هذه الظاهره كثيرا بوجود جزيئات مختلفة من mRNA لا يتم ترجمتها بنفس الكفاءة . فمثلا عند بناء انزيم الفا اميليز α - amylase في الفأر فإنه يتم أنتاج جزيئات مختلفة من mRNA من نفس الجين نتيجة لاستخدام نظم مختلفة في عملية حذف واستبعاد الانترونات introns. ومعروف أن خلايا الغدد اللعابية تنتج كمية اكبر من الانزيم عما تنتجه خلايا الكبد في الفأر على الرغم من نسخ نفس التتابعات الشفرية في كلا النوعين من الخلايا ، إلا أن الفرق يرجع إلى أنه بينما يتم بناء نفس النسخة الأولى من mRNA النوعى إلا أنه يتم استخدام

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



الشكل (١٠-٦)

انتاج جزيئات نوعيه من mRNA للاميليز من خلال عمليات الاستبعاد والربط المختلفة في خلايا الغدد اللعابية وخلايا الكبد في الفأر . تلون منطقة القياده L والانترونات باللون الداكن والاكسونات باللون الباهت . وتبدأ التتابعات الشفريه بالكوبون AUG في اكسون ٢ .

تنظيم الترجمة:

في البكتريا ، نجد أن معظم جزيئات mRNA يتم ترجمتها بنفس العدد من المرات مع

اختلافات طفيفة من جين إلى آخر ؛ بعكس الحال في الخلايا مميزة النواه حيث نجد أن عملية الترجمة يحدث فيها نوع من التنظيم للتحكم في بناء البروتينات المختلفة من حيث الكم والكيف . ويمكن تلخيص أهم أنواع التنظيم في 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 الامثله الهامة لتنظيم الترجمة ما يعرف بـ mRNA المقنع أو المحجوب masked mRNA ، من المعروف أن البويضات غير المخصبة تكون فى حالة كمون بيولوجى ، 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 لقتنذ 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 جزيئات 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 المضادة يظل ثابتا عن طريق التثبيت الذاتى لعملية الترجمة ، بمعنى أن جزيئات الجسم المضاد ترتبط نفسها بجزيء mRNA الذى يشفر لها مما يؤدي إلى فشل بدء عملية الترجمة .

من الأمثلة الواضحة لتنظيم الترجمة ما يحدث فى بودة 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 بودة 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 ١٠^٤ من جزيئات mRNA النوعى على مدى عدة أيام (ويعد هذا البناء مثلا للتنظيم النسخى) . ومعروف أن فترة عمر جزيء mRNA فى مميزة النواه يكون حوالى ٢ ساعات فقط يبدأ بعدها فى التحلل ويتلاشى . إلا أنه فى حالة mRNA الفيبروين تظل هذه الجزيئات نشطة وفعالة لعدة أيام يتم أثناءها ترجمة كل جزيء منها عدة مرات لتنتج ١٠^٥ من جزيئات الفيبروين ، أى أن كل جين هنا يكون مسئولاً عن انتاج ١٠^٩ جزيئاً من البروتين فى نهاية أربعة أيام . وقد تبين أن غدة الحرير تنتج إجمالى ٢٠٠ ميكروجرام أى ١٠^{١٥} 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 يؤدي إلى توقف عملية افراز اللبن .

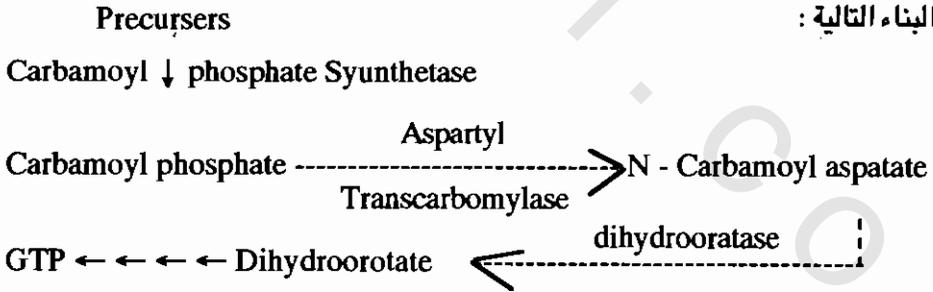
انتاج بروتينات نوعية مختلفة من نفس المنطقة من تتابع د ن أ:

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 في مميزة النواه ، بناء ما يسمى البروتين المتعدد Polyprotein وهو عبارة عن سلسلة كبيرة من متعدد البيتيد والتي 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 بكونون التوقف وكونون البدء فى كل مرة ولكنها بدلا من ذلك تكون مُعرفة أو معلمه بعدد من تتابعات الاحماض الامينية النوعية التى يتم التعرف عليها كمواقع انفصال أو انفلاج بواسطة 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 استخدام البروتين المتعدد يؤدي إلى المحافظة على نسب مولاريه متساوية للبروتينات المكونة له . بالإضافة إلى ذلك فإن تأخير القطع عند مواقع معينة يؤدي 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 المفسفرة (والتي تستخدم فى بناء ر ن أ) وهى ثلاثى فوسفات اليوريدين وثلاثى فوسفات السيتدين سلسله البناء التالية :



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

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

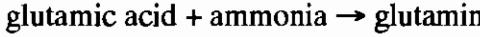
تبين أنه بالنسبة للعضلات الهيكلية فى الدجاج يتم تكوين صورتين مختلفتين من البروتين العضلى الميوسين Myosin من نفس الجين . وجد أن هذا الجين يحتوى على موقعين مختلفين لبدء النسخ (تتابعات TATA) بحيث يعطى كل منها نسختين أوليتين مختلفتين من mRNA والتي يتم تجهيز كل منهما بطريقة مختلفة لتكوين الجزئ النهائى الناضج من mRNA الذى يشفر لصور مستقلة من البروتين . وفى الدروسفلا يتم تجهيز الميوسين بأربع 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 :

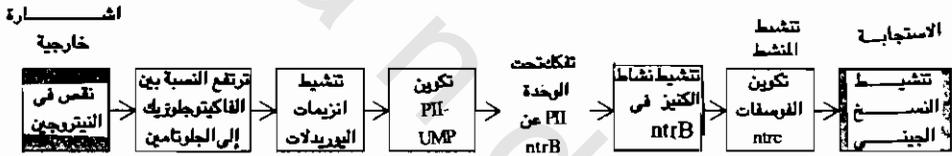
هناك بعض الظواهر التى تحدث فى غير مميّزه النواه التى يوجد لها مثال فى مميّزه النواه ايضا . فمثلا ، وكما سبق القول عند مناقشة نور البروتينات المثبطة فى ابرون التريتوفان واللاككوز و CAP ، نجد أن تلك البروتينات تعتمد فى تأثيرها على عملية الارتباط العكسى باحد الجزئيات النوعية الصغيرة (الجزئيات الاشاريه) . وقد تبين ان بعض هذه الجزئيات الاشاريه مثل AMP الحلقى cAMP يمكنها ايضا أنه تتحكم فى نشاط البروتينات المنظمة للتعبير الجينى فى خلايا مميّزه 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 مميّزه 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 الذي يعد أهم انزيم في تمثيل النتروجين والذي يساعد في التفاعل .



وتشتمل عملية التنشيط الجيني في تمثيل النتروجين على مكونين تنظيميين مركزيين وهما بروتين ntrC وهو بروتين منشط للجين الذي يقوم بتشغيل الجينات فقط عندما يكون في الصورة المفسفرة (ntrC-phosphate) . أما المكون الآخر فهو انزيم ntrB الذي يمكنه إما فسفره بروتين ntrC (من خلال نشاط الكينيز) أو نزع مجموعة الفوسفات (من خلال نشاط الفوسفاتيز) . وتتحدد درجة فسفره ntrC بمجموعة من الانزيمات التي يتم تحفيزها عند انخفاض مستوى النتروجين حيث تقوم بإضافة جزئى احادى فوسفات اليوريدين (UMP) إلى تحت وحده تنظيمية في ntrB . ويؤدي هذا التحوير إلى زيادة النشاط النسبى للكينيز في انزيم ntrB . يقاس مدى الاحتياج للنتروجين عن طريق زيادة نسبة الفاكيتوجلوكتارات - α Ketoglutarate إلى الجلوتامين مما يؤدي إلى حث عملية نسخ جين جلوتامين سينثيتيز glutamine synthetase كما في الشكل (١٠ - ٧) .



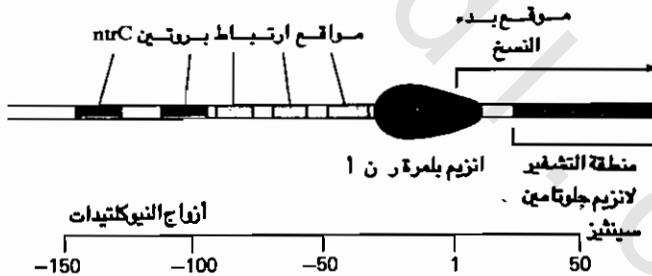
الشكل (١٠-٧):

جزء من المسار التنظيمي الذي يسمح بتنشيط الجينات المسئولة عن تمثيل النتروجين في البكتريا عند نقص النتروجين في البيئة . يعمل البروتين PII كتحته وحدة منظمة للبروتين ntrB . ولهذا المسار المتعدد الخطوات ميزه امكان احداث تغيير كبير في الاستجابة الايضيه لاي تغير طفيف نسبيا في النتروجين المتاح . تقوم السلاسل الجانبية ايضا بتحويل انزيمات اخرى لتنظيم نشاطها الحفزى بتأثير النتروجين .

دور مرونة جزئى د ن أ في تنظيم النسخ:

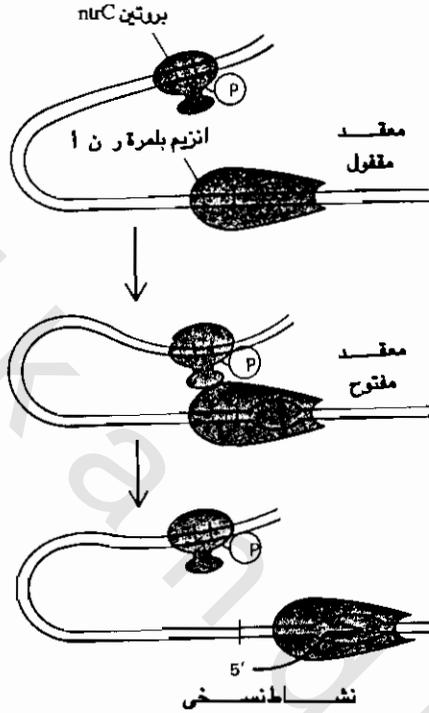
وجد أن بروتين ntrC يحتوى على موقعين قويين للارتباط على د ن أ ويقعان على بعد حوالي ١٠٠ زوج نيوكليدي أو أكثر قبل البروموتور الخاص بجين الجلوتامين سينثيتيز كما في

الشكل (١٠ - ٨) . وعندما ترتبط الصورة المفسفرة من ntrC (ntrC - phosphate) بهذين الموقعين فإن هذين الأخيرين يقومان بدورهما في تحفيز عملية النسخ بصورة فعالة ، والأهم من ذلك أنه عندما تم نقل هذين الموقعين بطرق الهندسة الوراثية إلى مكان يبعد عن البروموتور بحوالي ١٠٠٠ زوج نيوكليدي فإنهما ظلوا يعطيان نفس التأثير المحفز ، وبينما يحدث هذا التأثير من بعد action at a distance أحيانا في غير مميزه النواه ، نجد أن هذا النوع من التأثير هو السائد في مميزه النواه كما سيأتى بعد . توجد أدلة في غير مميزه النواه تشير إلى ان البروتينات المرتبطة بجزئ د ن أ على مسافة بعيدة 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 تفتح 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 الأزواج النيوكليديه مع منطقه البروموتور عن طريق زيادة التركيز المحلى للبروتين فى هذه المنطقة كما فى الشكل (١٠ - ١٠) .



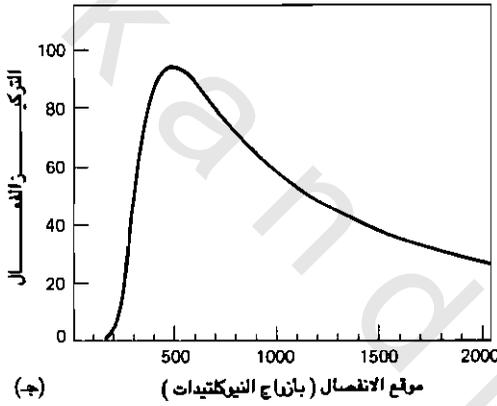
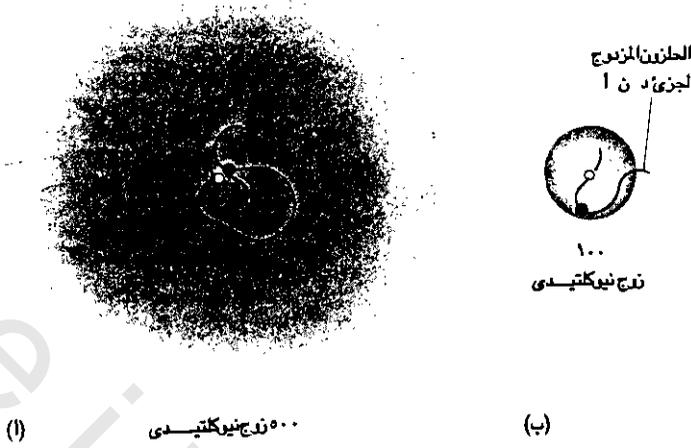
الشكل (١٠ - ٨) :

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 ntrA فى جين انزيم جلوتامين سينثيتيز فى بكتريا القولون . يؤدي ارتباط البروتين المنظم فى تتابع سابق لـ ntrA إلى زيادة معدل بدء بناء ntrA بانزيم بلمرة ntrA 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 بلمرة ntrA مما يؤدي إلى رفع قدره هذا الانزيم على فتح حلزون ntrA وتكوين مقعد مفتوح

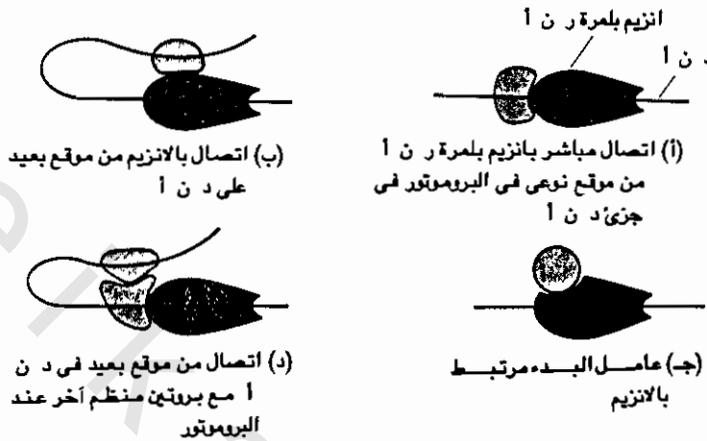


الشكل (١٠-١٠)

يؤدي ارتباط بروتينان نوعيان بموقعين منفصلين في جزئ د ن أ المزوج إلى زيادة احتمال تفاعلها .
 أ - يؤدي توصيل (تقريب) بروتين بالآخر بواسطة عروه من د ن أ مكونة من ٥٠٠ زوج نيوكليدي إلى زيادة تكرار اصطدامهما . تعكس كثافة اللون احتمال أن البروتين الداكن اللون سيقع في موقع كل منهما في الفراغ بالنسبة للبروتين الباهت اللون في الشكل .
 ب - تؤدي مرونة د ن أ إلى إمكان حدوث التواء بزوايا ٩٠° (لغة محنية) مره كل ٢٠٠ نيوكليديه . وعندما يقترب بروتينان بمسافة ١٠٠ نيوكليديه فقط فإن اتصالهما سيكون محدودا . وسيكون بمقدور البروتينات ان يتفاعلا إذا كانت المسافة بينهما مضاعفات لعشرة نيوكليديات التي تؤدي 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 .

ج - التركيز الفعال للبروتين الداكن اللون في الموقع الذي يرتبط فيه البروتين الباهت يمكن أن يستخدم كدالة لانفصالهما .

ويخلص الشكل (١٠ - ١١) الميكانيكيات المختلفة لتنظيم بدء النسخ في الجينوم البكتيري.



الشكل (١٠ - ١١)،

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

دور عوامل النسخ في تنظيم التعبير الجيني في مميزة النواه:

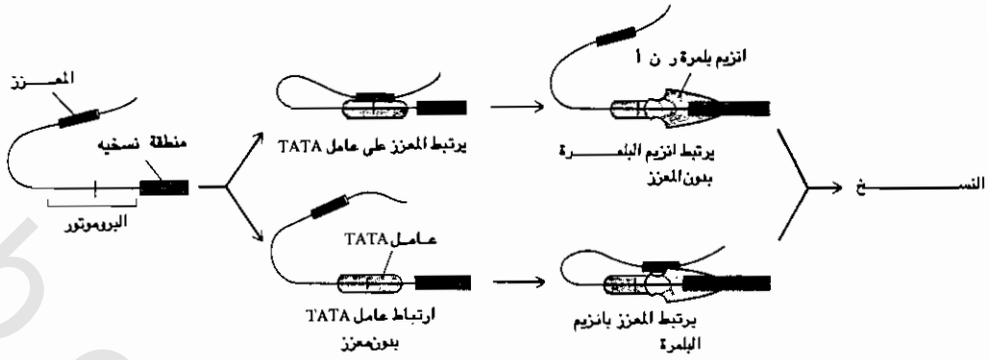
تتميز عملية النسخ في مميزة النواه بانها اكثر تعقيدا عما في غير مميزة النواه ، وعلى الرغم من أن الأنواع الثلاثة من انزيمات بلمره ر ن ا (RNAPol I, RNAPol II, RNAPol III) تعتبر متقاربه تطوريا مع الانزيم البكتيرى المقابل ، إلا أنها تتكون من تحت وحدات أكثر كما سبق القول . وفي حين نجد أن انزيم بلمره ر ن ا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

وقد وجد أنه في مميّزه النواه يتعرف انزيم RNA pol II على منطقة هامه في هذا المعقد المكون من د ن أ وعامل النسخ TATA والمعروف ايضا بعامل النسخ (TF- II D) وهو البروتين الذى يرتبط بالتتابع المحفوظ في صندوق TATA "TATA box". وهذه المنطقة هي "TATAAA"، حيث يقع هذا التتابع عادة عند الموقع - ٢٥ إلى - ٢٥ بالنسبة لموقع بدء النسخ . وفي كثير من الجينات التى تشعّر للبروتينات يكون هذا الارتباط هاما جداً لبدء نشاط البروموتور ولتحديد المكان المضبوط لبدء بناء سلسلة ر ن أ ويتكون العامل TATA من بروتين وهو يرتبط نوعياً 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 جزءاً أساسياً في الميكانيكية العامة للنسخ وليس مجرد جزئٍ منظم للجين . وقد اظهرت التجارب المعملية *in vitro* أنه بمجرد ارتباط العامل TATA بجزئٍ د ن أ عند منطقه البروموتور فإنها تميل إلى البقاء في معقد نسخ مستقر Stable Transcription Complex الذى يمكنه أن يساعد في حدوث عدة دورات من النسخ بواسطة الانزيم المختص كما سبق القول .

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

دور المستبدىء والمعزز Enhancer في تنظيم التعبير الجينى :

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



الشكل (١٠-١٢) :

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

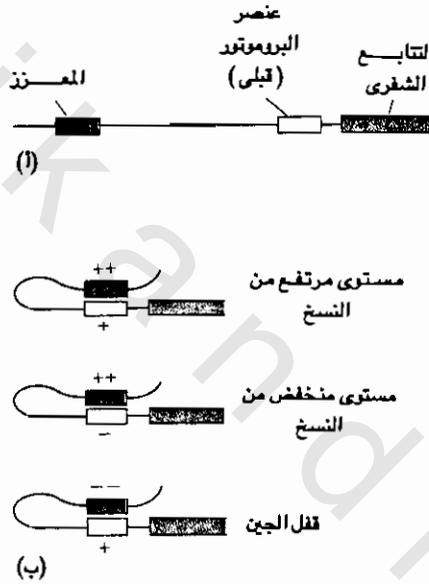
كان أول معزز تمت دراسته عباره عن منطقة صغيره من جينوم فيرس حيوانى وهو فيرس سيمان 40 (SV40) Simian Virus ، وقد ظهر أن الوظيفة العادية للمعزز هنا هي زيادة معدل النسخ لجينات الفيوس التي تكون منتجاتها ضرورية في المراحل المبكره من العدوى .

وتقوم منطقة المعزز بدورها عن طريق استخدامها كمواقع ارتباط للبروتينات المنظمة التي تشجع زيادة معدل النسخ من « البروموتور المبكر » للفيوس . 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 نيوكليتيده 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 يؤدي وظيفته في أى اتجاه سواء كان في الاتجاه الصحيح أو المقلوب .
 ٣ - يقوم بعمله حتى لو أبعاد عن البروموتور بأكثر ١٠٠٠ من زوج نيوكليدي أو حتى لو تم وضعه قبل أو بعد منطقة البروموتور .

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



الشكل (١٠-١٣):

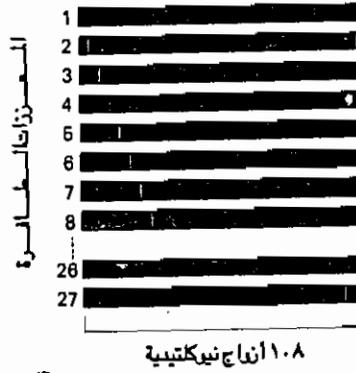
يتم تحديد درجة النشاط النسخي لجين ما عن طريق الفعل المشترك للبروتينات المنظمة المرتبطة بالبروموتور (بالمنطقة القبلية) والبروتينات المنظمة المرتبطة بالمعزز . أ - الموقع النموذجي لمنطقتى البروموتور والمعزز بالنسبة لمنطقة التشفير . ب - أمثلة للفعل المشترك للبروتينات المرتبطة بهاتين المنطقتين . وعلى حسب 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 نيوكليديه عن البروموتور .

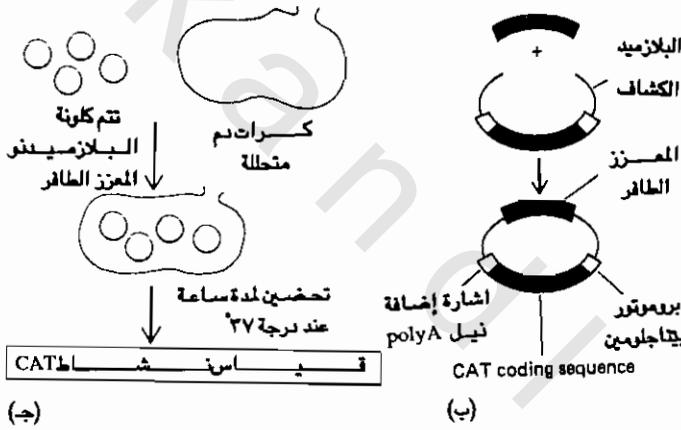
يقوم كلا من مناطق البروموتور والمعزز بربط تتابعات نوعيه من د ن أ بروتينات تخصصية لكي تعطى تأثيرها . وكما سيأتى بعد ، فيبدو أن بعض هذه البروتينات التنظيمية تكون متوفرة في جميع انواع الخلايا والانسجة في حين يكون البعض الآخر مقصورا على طرز متخصصة من الخلايا .

طبيعة تركيب مناطق البروموتور والمعزز وكيفية قيامها بوظائفها:

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



(أ)

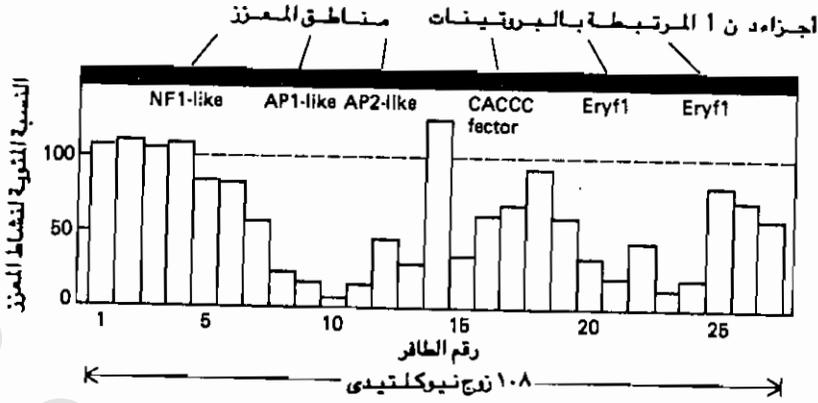


(ج)

(ب)

الشكل (١٠-١٤) :

- أ - الحصول على مجموعة طفرات في المنطقة المنظمة بإحداث تغيير في ٤ أزواج نيوكليدية في كل طفره وإجراء الاختبار لـ ١٠٨ نيوكليدية المكونه للمعزز في جين بيتا جلوبين يجب الحصول على ٢٧ طفره .
- ب - ادخال معزز طافر في بلازميد كشاف يحتوى على الانزيم الكشاف البكتري كلورمفينيكول اسيتل ترانسفيريز (CAT) الذي يمكن متابعة نشاطه بسهولة .
- ج - اختبار تأثير المعزز الطافر على بناء ر ن أ يقاس معدل بناء ر ن أ بطريقة غير مباشرة بقياس كميه البروتين التي ينتجها الجين المعاد صياغته (في صورة نشاط انزيم CAT) .



الشكل (١٠-١٥):

نتائج تحليل طافرات المعزز المذكورة في الشكل ١٠ - ١٤ جـ مقرونة بالنتائج التي تبين مواقع الارتباط للبروتين المعزز الطبيعي . تشير المستطيلات الملوقة في الخط العلوي إلى أجزاء المعزز الطبيعي المرتبطة بالبروتينات المبينة ويقدر معدل النشاط كنسبة نشاط المعزز القيمة ١٠٠ تعني أن المعزز الطافر يحفز بناء ر ن أ إلى نفس مستوى المعزز الطبيعي بين القيمة صفر تعني أن معدل بناء ر ن أ لا يزيد عن ذلك المتحصل عليه بدون معزز . تدل النتائج على أن البروتينات AP2-like ، Eryf1 ، تعطي أكبر مساهمة للمعزز في تحفيز النسخ إلا أنه لا يكفي وجود بروتين واحد لاعطاء تحفيز قوي للنسخ

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

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

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

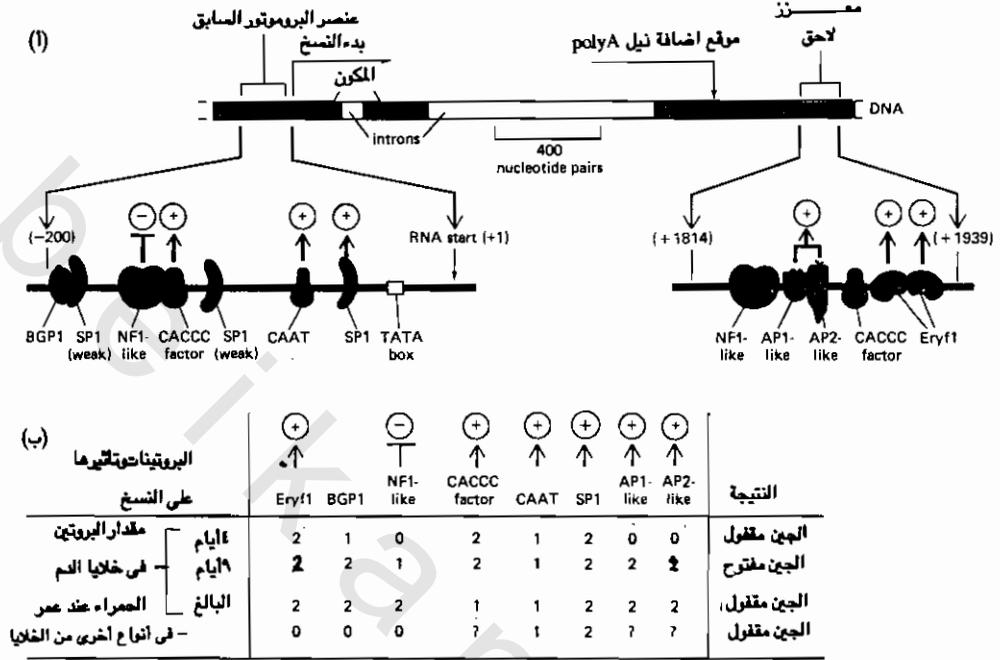
وحتى بالنسبة لكل عنصر فقد يتغير التأثير الناتج مع مرحلة نمو وتمايز الخلية فيمكن أن

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

٢ - يبدو أن مناطق المعزز والبروموتور يمكنها الارتباط بعدد كبير من البروتينات من نفس النوع مما يعنى أن كلا من المنطقتين تقوم بالتاثير 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 التاثير النهائى سيعكس محصلة النشاط والتثبيط المتعاكس فى هذين الموقعين كما يتضح من الشكل (١٠ - ١٣) . ويعتقد بان التغير فى التوازن بين البروتينات المنظمة التى تعطى التاثير الموجب وتلك التى تعطى تاثيرا سالبا هو الذى يحدد زيادة أو انخفاض النشاط النسخى لجين الجلوبيين B - globin فى المراحل المختلفه لتكوين خلال الدم الحمراء فى الدجاج (الشكل ١٠ - ١٦).



الشكل (١٠-١٦)؛

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

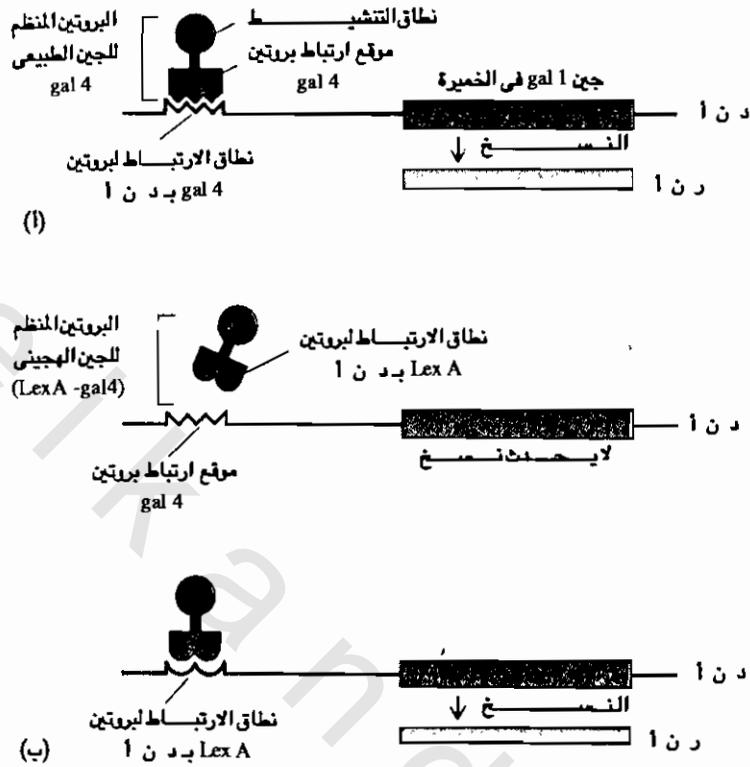
١ - مواقع الارتباط للبروتينات المنظمة وتأثيرها يلاحظ أن المعزز هنا يقع بعد منطقة التشفير . يبدو أن البروتينات التي لا تأخذ الاشارة + (تنشيط) أو - (تثبيط) ليس لها تأثير رئيسي على النسخ كما يدل على ذلك انعدام تأثيرها على النسخ عندما يكون تتابعاتها طافره .

ب - المقادير النسبية من كل بروتين منظم الموجودة في الفترات المختلفة للنمو تدل الارقام صفر و ١ و ٢ على مستويات معدومة ومنخفضة وعالية على التوالي . ولا تعطى النتائج المتوفرة حتى الآن تفسيراً عن لماذا ينشط الجين في فترة التكوين بين ٤ - ٩ أيام ولكنها تفترض أنه يمكنه أن يتوقف نتيجة لزيادة كمية بروتين - NF1 like مقرونه بانخفاض في تركيز العامل CACCC .

وظائف نطاقات البروتينات المنظمة للتعبير الجيني:

على الرغم من أنه لم تتضح بعد الطريقة التي تعمل بها البروتينات المنظمة في التحكم في تعبير الجين إلا أنه أمكن بطرق الهندسة الوراثية التوصل إلى أن تأثيرها على النسخ ينطوي 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 احدهما بالارتباط بجزء 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 نيوكليديى والتى تعتبر مكافئة لمنطقة المعزز فى الخميره والتي يطلق عليها تتابع التنشيط القبلى upstream activating sequence (UAS) . يحتوى بروتين gal4 على حوالى ٩٠٠ حامض أمينى إلا أن الاحماض الامينية الثلاثة والسبعين الاولى منها والتي تكون ما يعرف باصابع الزنك "Zinc fingers" تعتبر كافية فى حد ذاتها للارتباط بالتتابع النوعى المكون من ١٧ نيوكليديه كما سبق الذكر . إلا أن نطاق الارتباط بجزء 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 بجزء 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 الاستيرويديه والتي 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 بجزء 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 الامينية للبروتين . بالاضافة إلى ذلك تحتوى كل من هذه المستقبلات على نطاق نوعى للارتباط بالهرمون فى النهاية الكربوكسيلية 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 الكربوكسيلية للبروتين gal إذا تم ربطها بنطاق الارتباط في د ن أ لجين بكتيرى منتج لبروتين منظم (بروتين lexA) . وعند انتاج البروتين الهجين (بكتيرى - خميرة) في خلايا الخميرة فإنها ستنشط النسخ من جينات الخميرة على شرط أن الموقع النوعى لارتباط د ن أ بالبروتين البكتيرى يكون قد تم إدخاله بعدها مباشرة .

(أ) التنشيط الطبيعي لنسخ الجين بواسطة بروتين gal .

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



الشكل (١٠-١٨):

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

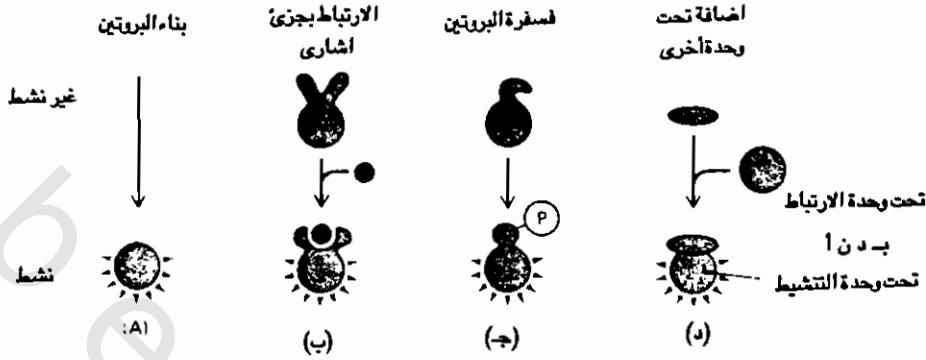
وقد أمكن التحقق من أن هذه المجالات يمكن أن تؤدي وظيفتها تبادليا في المستقبلات الهجينية . فمثلا يؤدي استبدال مجال الارتباط في د ن أ في البروتين المستقبل لهرمون glucocorticoid أو بمجال ارتباط بجزء د ن أ لمستقبل الستيروجين ES-terogen إلى إمكان ارتباط مستقبل glucocorticoid المحور بمناطق المعزز التي تنشط عادة الجينات التي تستجيب للستيروجين . وكنتيجة لذلك فإن هذه الجينات يتم نسخها استجابة لهرمون الجلوكوكورتيكويد بدلا من الستيروجين وبنفس الطريقة فإن إضافة نطاق الارتباط لمستقبل الجلوكوكورتيكويد ببروتين منظم لاي جين آخر يؤدي إلى احتياج البروتين المنظم المحور الى الجلوكوكورتيكويد لاداء نشاطه . ويتم تشفير كل من هذه النطاقات في البروتين المستقبل بواسطة اكسونات مستقلة وقد بينت الدراسات المقارنة لتحليلات التتابعات بين

مجموعة مستقبلات الهرمونات الاسترويدية أن كل مستقبل بروتيني قد نشأ نتيجة لتغيرات كروموسومية واعاده ترتيب لمناطق كروموسومية حيث ادت إلى تجميع نطاقات من بروتينات منظمة أخرى كما في الشكل (١٠ - ١٨) .

ميكانيكه تنشيط البروتينات المنظمة في مميزه النواه :

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

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



الشكل (١٠-١٩):

الطرق المختلفة لتنشيط البروتينات المنظمة في خلايا مميّزة النواه .

(أ) يتم بناء البروتين المنظم عند الاحتياج فقط ويتم هدمه بسرعة بالتحلل المائي حتى لا يتراكم .

(ب) الارتباط مع جزئ اشرى ligand .

(ج) الفسفرة أو التحوير التساهمي .

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

ميكانيكية عمل المعزز:

يبدو أن الميكانيكيات الخاصة بتنظيم التعبير الجيني في مميّزة النواه قد تم حفظها أثناء عملية التطور إذ أن بروتين gal في الخميرة على سبيل المثال يمكنه تحفيز النسخ في جينات ثديية في مزارع الخلايا البشرية على شرط أن تكون هذه الجينات محتوية على التابع المنشط القبلي (UAS) الذي سبق ذكره . وبنفس الطريقة، فإنه عندما يحدث إنتاج للبروتين المستقبل للاستيروجين البشري في خلية الخميرة فإن جينات الخميرة التي يتم إلحاقها بمعزز استجابته للاستيروجين البشري سيحدث لها تنشيط عند اضافة الاستيروجين في البيئة ولو أن تلك

المحافظة الوظيفية قد لا يصاحبها محافظة مقابلة في تركيب سلاسل متعدد البيبتيد بين هذه الكائنات.

تفترض أحد الميكانيكيات المحتملة لفعل المعزز أنه يحدث انبعاث لجزء د ن أ ليكون عروه مما يسمح للبروتينات المنظمة المرتبطة على مسافة بعيدة بمساعدة انزيم بلمره ر ن أ على بدء نشاطه النسخي عند منطقة البروموتور كما سبق القول . ويؤكد ذلك ما عرف من أن عناصر المعزز تقوم بدورها على الوجه الاكمل عندما تكون قريبة من البروموتور في حين أن نشاطها يتضاؤل تدريجيا مع زيادة المسافة بينهما . ويبين الشكل (١٠ - ١٢) نوعان من نماذج الانبعاث في د ن أ لتسهيل عمل المعزز . وقد اقترحت عدة ميكانيكيات بديلة لتفسير كيفية عمل المعزز وهي :

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

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

٣ - أنه قد يرتبط بالبروتينات مما يؤدي إلى التصاق الجينات القريبة بمنطقة نوعية غنية بعوامل النسخ في النواه.

وإذا اخذنا فى الاعتبار جميع نظم السيطرة على التعبير الجيني 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 .

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