

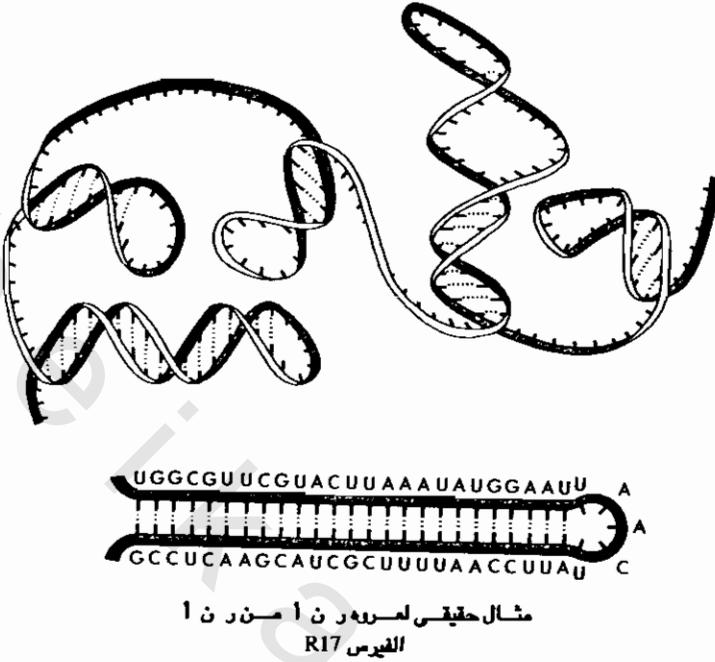
## بناء ر ن أ في غير مميزة النواة

### تركيب جزئ ر ن أ:

يتكون جزئ ر ن أ عادة من سلسلة مفردة بعكس د ن أ وهو ينسخ على قالب من د ن أ وتعد سلاسل ر ن أ قصيرة جداً بالمقارنة بجزئ د ن أ حيث تمثل كل سلسلة من ر ن أ عادة تتابعات خاصة بجين واحد أو بمجموعة من الجينات التي تربطها علاقة وظيفية مشتركة فيما يسمى بالأوبرون Operon كما سيأتي بعد . على الرغم من أن جزئ ر ن أ يكون أحادي السلسلة إلا أنه قد يتشكل في تركيبات مختلفة أكثر تعقيداً . توجد في معظم أنواع ر ن أ مناطق قصيرة تأخذ شكل قريب من الحلزون المزدوج والتي تتكون نتيجة لتكوين ما يسمى بتركيب دبوس الشعر hairpin بين تتابعات متكاملة بحيث تتزوج عند التواها وتكون منطقة مزبوجة السلسلة كما في الشكل ه - ١ .

بالإضافة إلى أزواج القواعد الثابتة AU , GC فإنه قد يتكون تزاوج ضعيف من نوع GU والتي تساهم أيضاً في التركيب الثانوي (الثاني) لجزئ ر ن أ .

من المعروف أنه توجد ثلاث أنواع رئيسية من ر ن أ وهي ر ن أ المراسل mRNA ، ر ن أ الريبوسومي rRNA ، ر ن أ الناقل tRNA ويقوم كل منها بدور محدد في عملية الترجمة وبناء البروتين كما سيأتي بعد .



الشكل (5-1):

انتشاء سلسلة ر ن أ مبيناً مناطق عديدة مزوجة الطزون مرتبطة ببعضها بروابط هيدروجينية

في حالة tRNA مثلاً نجد أن طبيعة تكوينه ووظيفته تحتم أن تنتشى السلسلة لتكوين عدد من العروات (فيما يعرف بشكل ورقة البرسيم Clover leaf shape كما سيأتى بعد) ولذلك يوجد عدد كبير من التتابعات المتكاملة الداخلية حتى يمكنها أن تتزوج عند تقابلها في هذه العروات حتى يتسنى للجزئ أن يأخذ هذا الشكل المميز في التركيب الثالثي Tertiary .

تحتوى كل خلية غير مميزة النواة على عدد كبير ومختلف من جزيئات ر ن أ والتي تتراوح في الطول بين 70 نيوكليتيده إلى عشرات الآلاف من النيوكليتيديات . وهى فى الغالب من نوع السلاسل الطولية المفردة ولكن يوجد القليل منها الذى يأخذ شكلاً حلقياً .

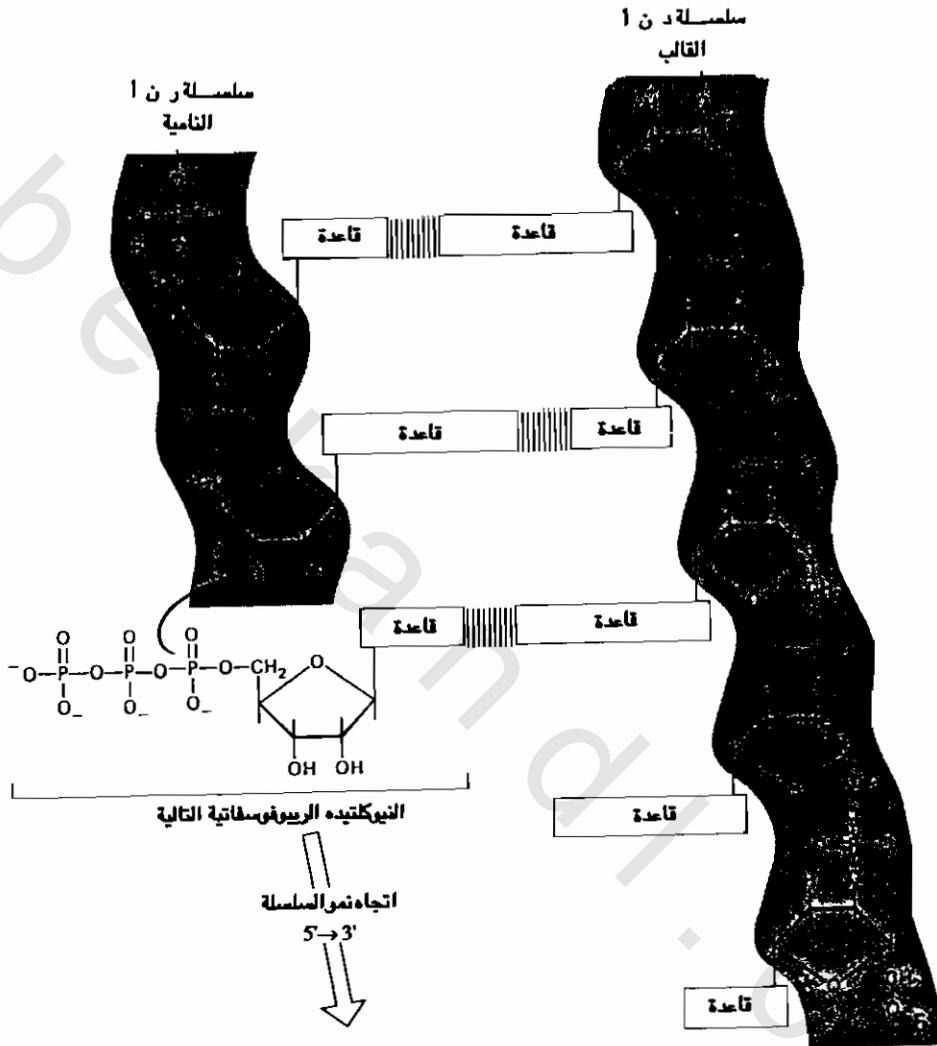
## البناء الأنزيمي لجزئ ر ن أ على قالب د ن أ:

تدعو حقيقة أن ر ن أ مثله مثل د ن أ يتكون من سلسلة طويلة غير متفرعة مكونة من تتابعات مختلفة لأربعة نيوكلييدات (U, A, C, G) إلى افتراض أن المعلومات الوراثية المخزونة في سلاسل د ن أ يتم انتقالها إلى تتابع مكمل من نيوكلييدات ر ن أ.

وطبقاً لهذه الفرضية فإنه لا بد أن يحدث انفصال بين سلسلتى د ن أ في مرحلة معينة من دورة الخلية لتعمل السلاسل المفردة كقالب يتم عليها بناء ر ن أ تكاملياً مع تتابع القواعد الموجودة على القالب بحيث يتقابل A مع U ، G مع C . ولا بد من وجود ضوابط لمعرفة إذا كانت السلسلة د ن أ المنفصلة ستستعمل كقالب لإنتاج سلسلة مكاملة من د ن أ أو في بناء سلسلة من ر ن أ.

أمكن التحقق من وجود تلك الضوابط عندما تم اكتشاف الانزيم المسئول عن التخليق الحيوي لجزئ ر ن أ والذي سمي في البداية انزيم النسخ Transcriptase ثم أصبح اسمه انزيم بلمرة ر ن أ RNA polymerase والذي يوجد في جميع خلايا غير مميزة النواة . فمثلاً وجد أن خلية بكتريا القولون الواحدة تحتوى على حوالى ٢٠٠٠ جزئ من هذا الانزيم . يقوم هذا الانزيم بربط الوحدات البنائية لسلاسل ر ن أ وهي الريبونيوكلتيدات Ribonucleotides ببعضها وذلك بتكوين روابط 5' , 3' فوسفودايستر التي تعمل على ثبات الهيكل الأساسى لجزئ ر ن أ كما في الشكل ٥ - ٢ .

إلا أن ذلك لا يمكن أن يحدث إلا في وجود قالب من د ن أ مما يدل على أن د ن أ لا بد أن يقوم بترتيب النيوكلييدات التي تدخل في تتابع ر ن أ بمعلومية تتابع القواعد في السلسلة د ن أ القالب وذلك حتى يستطيع انزيم بلمرة ر ن أ من العمل بكفاءة في عملية البناء .



الشكل (٥-٢):

يحدث انزيم بلمرة رن أ في بكتريا القولون في إضافة النيوكليوتيدات الريبوسية لاستطالة سلسلة رن أ على أساس قانون تزاوج القواعد مع القواعد في رن أ القالب ويكون البناء في الاتجاه 3' → 5' .

## تركيب انزيم بلمرة رن أ RNA polymerase

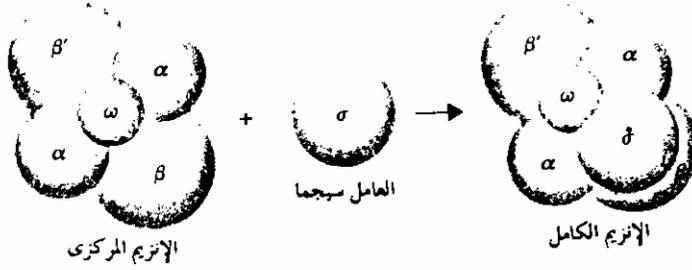
يتكون انزيم بلمرة رن أ من عدد من الوحدات وتتكون الصورة النشطة للانزيم والمسماه بالانزيم الكامل Holoenzyme من خمس سلاسل من متعددات البيبتيد مختلفة وهي ( $\alpha, \beta', \beta, \sigma, \omega$ ) وترتبط مع بعضها بروابط ثانوية غير تساهمية . وتمثل كل وحدة مرة واحدة في الجزئ الكامل فيما عدا الوحدة  $\alpha$  التي تمثل بوحدين ويكون الوزن الجزيئي للانزيم الكامل حوالي 450,000 دالتون (الشكل 5 - 3) . ويلخص الجدول (5 - 1) الوحدات الداخلة في تركيب الانزيم في بكتريا القولون ووظيفة كل منها في عملية النسخ .

الجدول تحت وحدات Subunits لانزيم بلمرة رن أ

في بكتريا القولون وعوامل النسخ ووظيفة كل منها .

اسم الجين	الموقع على الخريطة (دقائق)*	الوزن الجزيئي (Dalton)	عدد تحت الوحدات في الانزيم	الوظيفة
rpoC	89,0	100,000	1	الارتباط مع دن أ <sup>‡</sup>
rpoB	89,0	101,000	1	موقع التفاعل لبلمرة رن أ
rpoD	66,0	70,000	1	التعرف على تتابع Promoter وبدء البلمرة
rpoA	77	36,000	2	البلزمة
--	--	11,000	1	؟
rho	84,0	46,0	6	انتهاء أووقف البلمرة
nusA	60	69,000	1	الاستطالة والانتهاء

\* يشير المواقع على الخريطة إلى الخريطة المعروفة عن التركيب الحلقي لجزئ دن أ في بكتريا القولون والذي يمثل بستين دقيقة .



الشكل (٥-٣):

رسم توضيحي يشرح التركيب المعقد لانزيم بلمرة ر ن أ

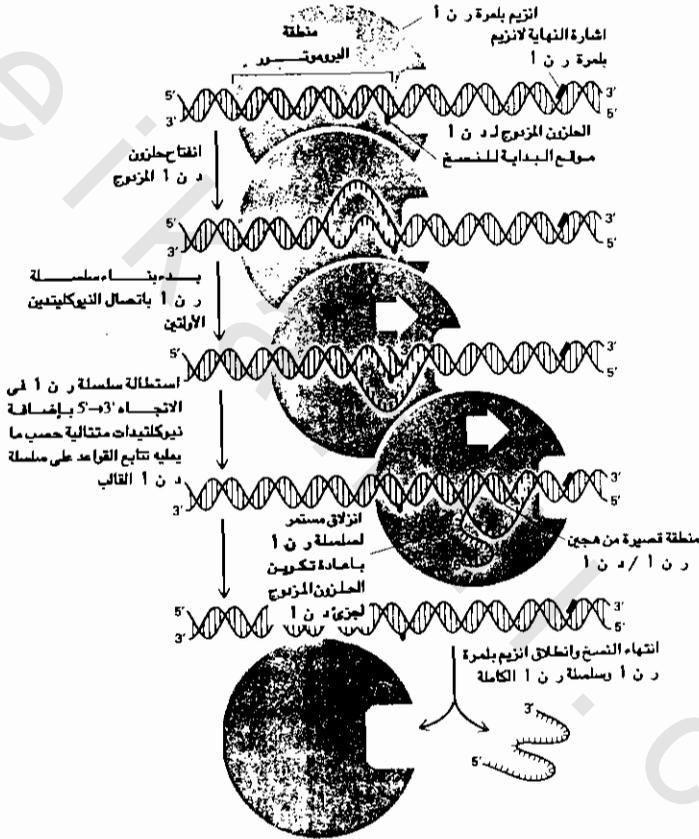
لا يوجد ارتباط قوى بين تحت الوحدة سيجما ( $\sigma$ ) مع بقية مكونات الإنزيم لذلك يمكن فصل معقد إنزيمي مكون من ( $\beta' B \alpha_2$ ) بدون الوحدة  $\sigma$  ويطلق على هذا المعقد الإنزيم المركزي core enzyme حيث تبين أن باستطاعته أن يقوم بتكوين الروابط الفوسفودايستر أثناء بناء سلسلة ر ن أ بنفس الكفاءة التي يقوم بها الإنزيم الكامل أى فى وجود أو غياب الوحدة سيجما  $\sigma$  ويعتقد بأن مركز النشاط الإنزيمى يقع فى الوحدة  $\beta$  للإنزيم المركزى .

إلا أن تحت الوحدة  $\sigma$  تلعب دوراً رئيسياً وهاماً فى التعرف على نقطة بدء بناء السلسلة على قالب د ن أ والمعروفة باسم منطقة تتابع الابداء Promoter كما سيأتى بعد . ويبين الشكل رقم ٥ - ٤ رسماً تخطيطياً لعملية بناء ر. ن. أ. بواسطة إنزيم بلمرة ر ن أ.

### اختيار سلسلة واحدة من د ن أ للعمل كقالب لبناء ر ن أ

فى حين يحتوى جزئ د ن أ عادة على عدد كبير جداً من الجينات فإن كل جزئ من ر ن أ يمثل عادة تتابعات ريبونيوكلتيديّة مكملة محدودة تمثل جين واحد محدد وعلى ذلك فإنه إذا افترضنا أن كل من سلسلتى د ن أ يمكن أن تستخدمان كقالب لبناء سلسلة معينة من ر ن أ فإن معنى ذلك أن كل جين سينتج منه نسختين من ر ن أ بتتابعات مكملة . وحيث أن كل الأدلة الوراثية تجمع على أن كل جين يتحكم فى جزئ واحد من البروتين (متعدد البيبتيد) فإن ذلك سيضعنا أمام أحد احتمالين : إما أن واحدة فقط من سلاسل ر ن أ هى التى سيتم بنائها أو إذا كان لابد من بناء السلسلتين فإن إحدهما فقط ستكون نشطة وفعالة. ولكن تبين

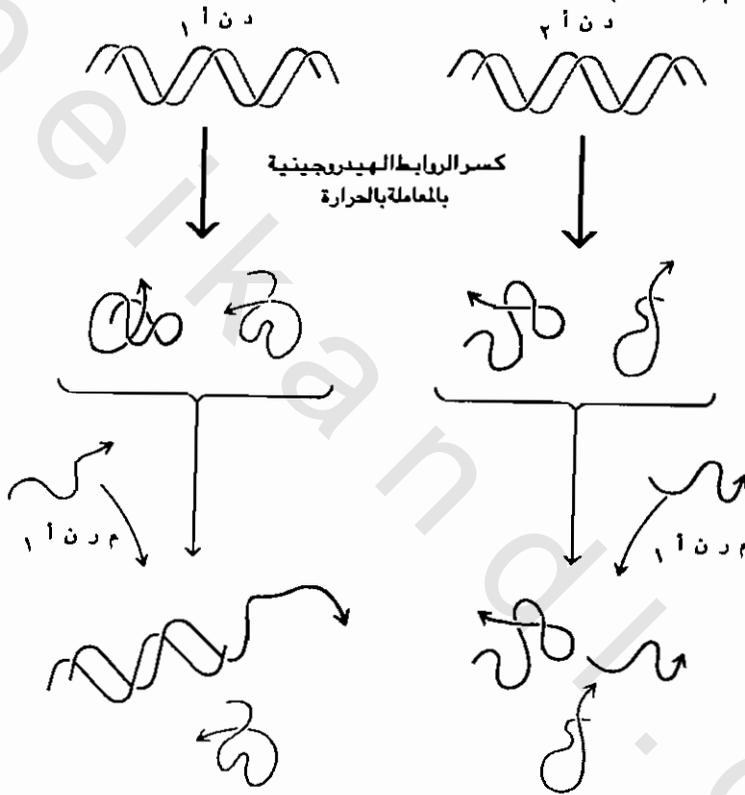
أن الاحتمال الأول هو الصحيح ففي الخلية الحية *In vivo* لا يوجد إلا نوع واحد من سلسلة رن أ التي تمثل جين معين . كما أمكن البرهنة على ذلك بدراسة رن أ المتكون في الخلية البكتيرية بواسطة فيروس SP8 الذي يتكاثر في الخلية البكتيرية *Bacillus subtilis* . يتميز الطزون المزوج لهذا الفيروس باحتواء كل سلسلة على قواعد مختلفة ومميزة بحيث يمكن التعرف على كل منهما بطرق جزيئية خاصة كما يمكن فصل السلسلتين بسهولة وبذلك يمكن معرفة ما إذا كان رن أ المتكون يحتوي على تنابعات من القواعد مكملة لسلسلة واحدة فقط أم لكلا السلسلتين .



الشكل (5-4):

رسم تخطيطي لعملية بناء رن أ بواسطة أنزيم بلمرة رن أ يبدأ الإنزيم عملية البناء من نقطة بداية نوعية على رن أ تسمى البروموتور ويستكمل البناء عند نقطة انتهاء (توقف) حيث يتحرر عندها الإنزيم وتفرلق سلسلة رن أ

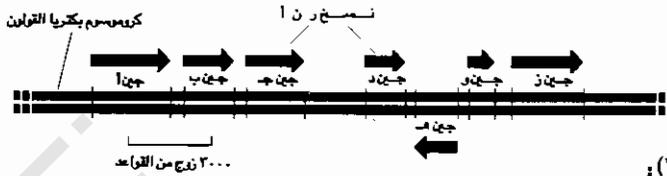
استخدمت في ذلك تقنية تهجين ر ن أ مع د ن أ RNA / DNA hybridization حيث تخلط جزئيات ر ن أ مع السلاسل المفردة من د ن أ الناتجة عن عملية الدنتره للحلزون المزدوج denaturation بالتسخين . وعند إجراء عملية إعادة الاتحاد Renaturation بالتبريد البطئ لهذا الجزئ المذتر في وجود سلاسل ر ن أ التي سبق بناؤها على قالب د ن أ الفيروس نفسه فإن بعضاً من ر ن أ سينجذب إلى مناطق د ن أ المكلمة ويكون حلزون مزدوج كما في الشكل رقم ( ٥ - ٥ ) .



الشكل (٥-٥):

استخدام الهجين د ن أ / ر ن أ لبيان التكامل في تتابع القواعد من جزئ ر ن أ واحد سلسلتي د ن أ القالب . يبين الجانب الأيسر من الشكل التخطيطي تكوين جزئ هجين بين جزئ ر ن أ واحد السلسلتين للقالب . ويبين الجانب الأيمن لماذا يسمع تكوين هجين د ن أ / ر ن أ بالكشف عن التكامل في التتابع . إذا تم خلط نفس جزئ ر ن أ مع د ن أ غريب فإنه لن يتكون جزئ هجين .

تبين أن ر ن أ المتخلق حيويًا في الخلية سيتجه إلى تكوين هجين مع إحدى السلسلتين من د ن أ الفيرس SP8 فقط ، مما يعنى أنه بالنسبة لجين ما يتم التخليق الحيوى لتتابعات ر ن أ على إحدى السلسلتين من د ن أ فقط . أى أن النسخ لا يتم إلا على سلسلة قالب واحدة بالنسبة لجين معين . وبصفة عامة فإن إحدى السلسلتين من د ن أ في الكائنات غير مميزة النواة تستخدم كقالب لمجموعة من الجينات في حين قد تستخدم السلسلة الأخرى كقالب لنسخ عدد آخر من الجينات كما في الشكل رقم ٥ - ٦ .



الشكل رقم (٥-٦) :

منطقة قصيرة من كروموسوم بكتيرى تبين عملية نسخ عدة جزيئات ر ن أ على قالب د ن أ المحتوى على عدة جينات متجاورة .

ويتم ذلك الاختيار بتوجيه من منطقة تتابع ابتداء النسخ Promoter الموجودة على سلسلة د ن أ التى تؤدي إلى ارتباط إنزيم بلمرة ر ن أ بالسلسلة القالب الصحيحة لجين معين كما سيأتى بعد .

### إتجاه البناء فى جزئ ر ن أ

إن إتجاه البناء فى جزئ ر ن أ يتحدد (كما فى د ن أ) بإتجاه ارتباط السكر والفوسفات فى الهيكل الأساسى للجزئ فإذا انتهت السلسلة بذره كربون رقم 5' فيطلق عليها النهاية 5' فى حين يطلق على النهاية المحتوية على الذرة رقم 3' النهاية 3' .

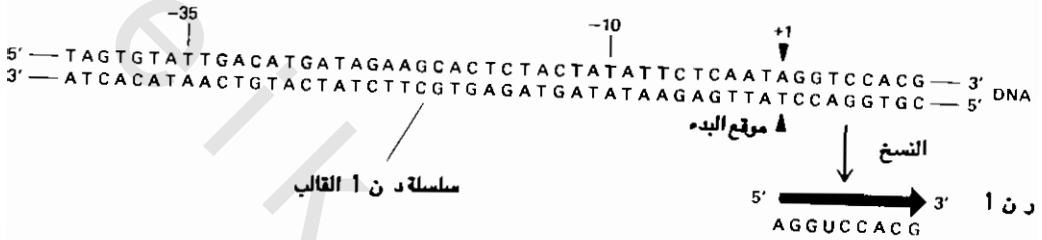
هناك احتمالان فقط لإتجاه البناء فى ر. ن. أ. إما فى الإتجاه 3' --> 5' أو 5' --> 3' فإذا كان النمو فى الإتجاه 3' --> 5' فإنه من المتوقع أن تكون النيوكليتيده الأولى فى السلسلة محتويه على مجموعة ثلاثية من الفوسفات (P) (P) (P) ولكن إذا كانت السلسلة ستتمو فى الإتجاه 5' --> 3' فإنه من المتوقع أن تكون النيوكليتيده التى تنتهى بها السلسلة هى المحتويه على مجموعة فوسفات ثلاثية (P) (P) (P)



تبين أن الاحتمال الأول هو الصحيح حيث وجد أنه في السلاسل الحديثة البناء تكون أحدث نيوكليتيده مضافة للنهاية النامية عند النهاية 3' في حين تكون مجاميع الفوسفات الثلاثية  $\text{P}-\text{P}-\text{P}$  مرتبطة بالنيوكليتيده التي ابتدأ بها بناء السلسلة . أمكن البرهنة على الاتجاه البنائي 3' --> 5' باستخدام المثبط الأيضى 3'-deoxyadenosine وهو مشابه لقاعدة الأدينين<sup>P</sup> ولكن مع عدم وجود ذرة الأوكسوجين على ذرة الكربون رقم 3' والتي تشارك في تكوين أحد الروابط الهيدروجينية بين القواعد . عند إضافة هذا المثبط إلى الخلايا البكتيرية فإنه يتم أولاً فسفرته إلى  $\text{P}-\text{P}-\text{P}$  - deoxyadenosine 3' ثم يتم ارتباطه بعد ذلك بالنهاية 3' النامية من السلسلة وحيث أنه لا يحتوى على مجموعة OH - 3' فإنه لا يمكنه استقبال ر ن أ مما يؤكد أن البناء لا بد أن يتم في الاتجاه 3' --> 5' فقط كما في الشكل (٥ - ٧) .

### دور منطقة تتابع المستبدىء Promoter في بناء ر ن أ

في حين لا يوجد أى نور بنائي للوحدة سيجما ( $\sigma$ ) في إنزيم بلمرة ر ن أ الكامل إلا أن لها وظيفة هامة جداً حيث تقوم بالتعرف على إشارات البدء على طول جزئ ر ن أ قالب . وقد أظهرت نتائج التجارب العملية *In vitro* على أنه في غياب الوحدة  $\sigma$  قد يتم بناء سلسلة ر ن أ ولكن ببدايات غير صحيحة مما يجعل السلسلة الناتجة غير صالحة لعملية بناء البروتين المطلوب حيث يتم ارتباط الإنزيم المركزى core enzyme بأماكن عشوائية على طول قالب ر ن أ مما يعطى ر ن أ بتتابعات غير صحيحة وبالتالي نحصل على منتج غير فعال . ولكن في وجود وحدة سيجما  $\sigma$  مع بقية الوحدات في الإنزيم فإن الموقع الصحيح لبدء النسخ يتم التعرف عليه مما يدل على أن الإنزيم الكامل Holoenzyme لديه المقدرة على الارتباط نوعياً مع تتابع البدء على جزئ ر ن أ والذي يعرف بمنطقة تتابع الابتدء Promoter . تتكون هذه المنطقة في بكتريا القولون من حوالى ٥٠ - ٦٠ نيوكليتيده يرتبط بها إنزيم بلمرة ر ن أ في منطقة تمتد حوالى ٤٠ قاعدة قبل بدء النسخ upstream إلى حوالى ٢٠ قاعدة بعد بدء النسخ down stream . تبين أن هناك تتابعات نوعية محافظاً عليها في منطقة تتابع الابتدء هذه يطلق عليها التتابع الكشاف المحفوظ consensus sequence لا بد أن يتعرف عليها إنزيم بلمرة ر ن أ وهي تتكون من تتابعين طول كل منهما ٦ نيوكليديات وتقعان قبل موقع بدء النسخ بحيث يفصل بينهما حوالى ١٧ نيوكليتيده من التتابعات غير المحددة من ر ن أ كما في الشكل (٥ - ٨) .



الشكل (5-8)

منطقة تتابع البروموتور على سلسلة د ن أ القالب التي يتعرف عليها إنزيم بلمرة ر ن أ لبدء النسخ لسلسلة ر ن أ تتكون منطقة البروموتور من تتابعين قصيرين على بعد حوالي - ٣٥ إلى - ١٠ نيوكليتيده من نقطة بدء نسخ سلسلة ر ن أ وهذه التتابعات تحدد موقع ارتباط انزيم بلمرة ر ن أ وتكون هذه التتابعات مع موقع البدء منطقة البروموتور . ويؤدي حدوث طفرات في أي من هذين التتابعين المحفوظين إلى توقف نشاط البروموتور في حين لا يتأثر هذا النشاط إذا حدثت التغيرات في أي تتابعات أخرى .

يبدأ التتابع السداسي الأول عند موقع النيوكليتيده رقم -٣٥ قبل بدء النسخ وتتكون غالباً من التتابع (TTGACA) في حين يقع التتابع السداسي الثاني عند النيوكليتيده رقم -١٠ قبل بدء النسخ وتتكون من التتابع (TATAAT). وجد أنه لا بد أن يرتبط إنزيم البلمرة رن أ بهذين الموقعين قبل أن يبدأ عملية النسخ الفعلية عند نيوكليتيده البدء في الموقع رقم +١ على سلسلة رن أ القالب. وقد تبين أن أي تغيير (طفور) في أي من هذين التتابعين السداسيين يؤدي إلى توقف نشاط تتابع الابتداء وبالتالي توقف بدء النسخ بإنزيم بلمرة رن أ في حين لا تتأثر عملية النسخ كثيراً إذا حدث تغيير في التتابعات الأخرى في منطقة الابتداء Promoter كما في الشكل (٥ - ٩).



الشكل (٥-٩):

مواقع الطفرات التي تؤدي إلى خفض نشاط البروموتور في عملية بدء النسخ (الأسهم إلى أسفل) أو زيادة النشاط (الأسهم إلى أعلى) في خمس بروجينز مختلفة. كما يظهر تتابع القواعد في سلاسل رن أ

وكما سبق القول يتم اختيار السلسلة القالب بتوجيه من تتابع الابداء Promoter حيث تؤدي حقيقة أن البناء يتم في الاتجاه 3' --> 5' إلى أنه يلزم على إنزيم بلمرة ر ن أ أن يتجه إلى السلسلة التي يكون فيها تتابع الابداء الحرج Consensus sequence في الاتجاه الصحيح مما يسمح بارتباط قوى بينه وبين الانزيم كما في الشكل (٥ - ١٠) .



الشكل (٥-١٠):

أهمية اتجاه تتابع القواعد في البروموتور في اختيار سلسلة د ن أ القالب الصحيحة لنسخ سلسلة ر ن أ بواسطة إنزيم بلمرة ر ن أ

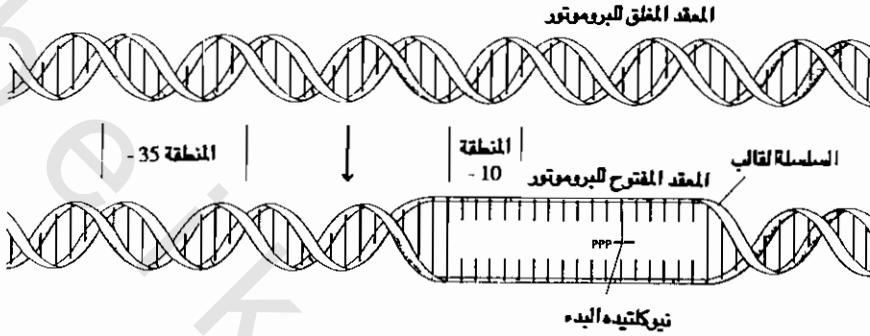
## تأثير ارتباط إنزيم البلمرة مع تتابع المستبدىء Promoter فى فك حلزنة د ن أ وبدء عملية النسخ :

تبين فى بكتريا القولون أن إنزيم بلمرة رن أ يرتبط بمنطقة تتابع الابتداء Promoter فى خطوتين محددتين : حيث يبحث أولاً عن منطقة الابتداء ويرتبط بها ارتباطاً مبدئياً ضعيفاً فى المعقد المقفول (Closed) أى قبل فك الحلزون المزدوج لجزئ د ن أ يحدث هذا التعرف المبدئى غالباً فى المنطقة (-٣٥) حيث تبين أن الطفرات التى تمنع الارتباط مع تتابع الابتداء هى تلك التى تؤدى إلى تغيير القواعد فى هذه المنطقة . والخطوة الثانية تتم عند تحول المعقد المقفول إلى معقد مفتوح ويتم فيه ارتباط إنزيم بلمرة رن أ بقوة بتتابع الابتداء Promoter . فى هذه المرحلة من التحول يتم فك حلزنة حوالى ١٧ زوج من القواعد بدءاً من منطقة (-١٠) مما يجعل السلسلة المفردة للقالب معرضة ومكشوفة بفعل إنزيم بلمرة رن أ لاستخدامها كقالب لإملاء تتابع نسخ القواعد فى سلسلة رن أ النامية .

تبين أن المنطقة (-١٠) تكون عادة غنية فى أزواج القواعد AT ومعروف أنها تكون أسهل فى الانفكاك بالذنترة عن الأزواج GC . وقد تبين أن الطفرات التى تمنع تكون المعقد المفتوح تقع فى نفس هذه المنطقة إذ تحدث هذه الطفرات تغيير فى تتابع المنطقة (-١٠) ولكنها تحافظ على محتواها من أزواج القواعد AT مما يشير إلى أن هذه المنطقة تأخذ شكلاً مميزاً ونوعياً بحيث يتعرف عليه إنزيم البلمرة بالإضافة إلى كونها سهلة الأنصهار . يؤدى فك الحلزنة الجزئى فى حلزون د ن أ عند تكوين المعقد المفتوح إلى امتداد منطقة د ن أ التى تلامس إنزيم بلمرة رن أ بحيث تشمل النيوكليوتيدات التى تلى منطقة (-١٠) التى كانت سابقاً على الجانب الآخر من حلزون د ن أ بالنسبة لجهة الارتباط كما فى الشكل (٥ - ١١) .

يلى ذلك تحرك إنزيم بلمرة رن أ خطوة خطوة على قالب د ن أ (الخطوة = اضافة ريبونيوكلتيده واحدة) مع استمرار الانفكاك الجزئى للحلزون فى مقدمة الإنزيم حتى يمكن أن تستمر عملية النسخ ، وبذلك تنمو السلسلة بمعدل نيوكليتيده فى كل خطوة فى الاتجاه --> 5' 3' . بمجرد بدء استطالة سلسلة رن أ تنفصل الوحدة سيكما  $\sigma$  من المعقد الإنزيمى وتصبح حرة للارتباط بإنزيم مركزى آخر Core enzyme . قد يفسر ذلك على أساس إما أنها قد أدت دورها فى التعرف على منطقة تتابع الابتداء Promoter حيث نقطة بدء النسخ وبذلك لم

يعد لها دور تقوم به أو أن استمرار وجودها في المعقد الانزيمي الكامل قد يؤدي إلى استمرار الارتباط القوي بين الإنزيم الكامل وبين إلى Promoter مما يحول دون سهولة حركة الإنزيم على القالب لبدء رحلة البلمرة في حين يكون هذا الارتباط ضعيف في غياب الوحدة  $\sigma$  مما يتيح للإنزيم حرية الحركة في اتجاه استقطاب سلسلة ر ن أ.



الشكل (٥-١١):

ارتباط إنزيم بلمرة ر ن أ بالمعقد المغلق والمفتوح للبروموتور . يبين الشكل منطقة تلامس الإنزيم بالبروموتور عند بداية الارتباط (المعقد المغلق) وبعد انفصال سلسلتى ر ن أ للسماح ببدء نمو سلسلة ر ن أ (المعقد المفتوح) تبدو مواقع التلامس داكنة اللون .

وعلى العكس من ذلك وجد أن الارتباط بين الإنزيم الكامل holoenzyme وبين مناطق ر ن أ غير المحتوية على تتابع الابتدء Promoter يكون ضعيفاً جداً مما يسمح بتحريك الإنزيم على القالب بسرعة بحثاً عن منطقة المستبدىء . أى أن دور الوحدة سيجما في هذه الحالة هو تثبيط الارتباط غير النوعى بين ر ن أ القالب وبين الإنزيم .

ظهر حديثاً أنه إلى جانب الوحدة سيجما الرئيسية ( $\sigma$ ) المسئولة عن التعرف عن مناطق المستبدىء Promoter الرئيسية في جينوم بكتريا القولون ، توجد وحدات نوعية أخرى من الوحدة سيجما (مثل  $\sigma^{70}$  ،  $\sigma^{32}$ ) تكون متخصصة في التعرف على نوعيات خاصة من تتابع الابتدء غير العادية والتي تمثل نقطة بدء النسخ لأنواع غير عادية من ر ن أ مسئولة عن إنتاج بروتينات متخصصة تحتاجها الخلية تحت الظروف غير العادية مثل ظروف الإجهاد البيئى .

## الكفاءة النسبية لتتابعات المستبدىء Promoters

تبين وجود فروق كبيرة في فعالية ونشاط المستبدىء بحيث قد يعمل بعضها بكفاءة أكبر عن البعض الآخر بحيث تسمح بحدوث دورات أكثر وأسرع لبدء بناء ر ن أ وقد تبين أن معدل حدوث كلا من خطوتى الارتباط الأولى وتكوين المعقد المفتوح تختلف بين المستبدىء Promoter ما بين مرة واحدة كل عشرة دقائق أو أكثر إلى بدء الارتباط مرة كل ثانية أو ثانيتين فقط . تعد هذه إحدى الوسائل فى التحكم فى معدل التعبير الجينى - Regulation of gene expression.

## دور البروتينات المنظمة Regulators فى التأثير على بدء النسخ

إن معدل النسخ لجين ما ليس من الضرورى أن يكون ثابتاً ولكنه يمكن أن يتغير حسب احتياجات الخلية تحت الظروف المختلفة من النمو . يقال لمثل هذا الجين بأنه منظم Regulated . يتم فى بكتريا القولون تنظيم النسخ عن طريق بعض البروتينات النوعية التى يؤدى ارتباطها بجزئ ر ن أ بالقرب من أو داخل المستبدىء Promoter إلى زيادة أو انخفاض فى معدل البناء لإنزيم بلمرة ر ن أ تشمل هذه البروتينات المنظمة المثبطات Repressors والتى تقوم بإيقاف أو منع الارتباط بين إنزيم بلمرة ر ن أ مع تتابع الابتداء وبالتالي توقف عملية النسخ . كما تشمل المنشطات Activators التى ترتبط بإنزيم بلمرة ر ن أ وتحفز نشاطه . وجد أن المستبدىء Promoter الذى يحتاج إلى منشطات لكى يعمل بكفاءة أكبر يكون فيه التتابع المحفوظ Consensus sequence فى النقطة (-٢٥) غير متطابق أو غير متشابه مع التتابع النموذجى مما يعنى أن المنشط يعمل كبديل لتعويض النقص الوظيفى لهذا الجزء من موقع الارتباط .

يمكن أن يعمل بروتين ما كمثبط المستبدىء معين فى حين قد يقوم هذا البروتين نفسه بدور المنشط لمستبدىء آخر والعكس صحيح ، ويتوقف ذلك على الموقع الدقيق لنقطة ارتباطه .

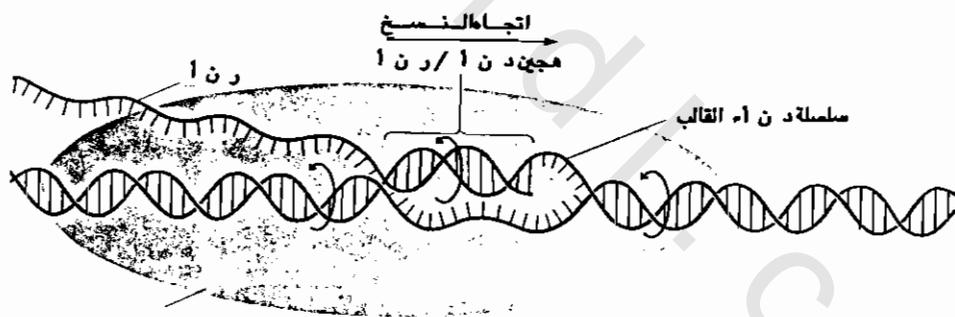
## نيوكلتيدات بدء بناء سلسلة ر ن أ :

إن بدء النسخ الحقيقى يحدث عادة عند حافة المنطقة التى يرتبط فيها إنزيم بلمرة ر ن أ بقلب ر ن أ نو السلسلة المفردة وعلى بعد حوالى ١٢ إلى ١٣ قاعدة من بداية منطقة (-١٠)

وبذلك يبدو أن مركز النشاط لهذا الإنزيم يقع في النهاية البعيدة له في اتجاه بناء ر ن أ وقد وجد أن أول نيوكليتيده يتم اضافتها في سلسلة ر ن أ حديثة البناء تكون عادة إما ثلاثي فوسفات الأدينين أو ثلاثي فوسفات الجوانين . وفي بعض الأحيان قد تبدأ بثلاثي فوسفات السيتوسين (PPPC) . وفي أحيان نادرة قد تكون قاعدة البدء ثلاثي فوسفات اليوراسيل (PPPU) . ولكن قد يحدث إزالة لهذه القاعدة الأولى في المراحل التالية من نضج السلسلة وذلك بفعل إنزيمات التحليل المائي للأحماض النووية nucleases في الخلية .

### فك الحلزونة وإعادتها أثناء تقدم إنزيم بلمرة ر ن أ

يقوم إنزيم بلمرة ر ن أ بفك حلزونة د. ن. أ. باستمرار أثناء تقدمه في عملية النسخ على القالب لبناء سلسلة ر ن أ واستطالتها وذلك لكي تصبح نيوكلييدات القالب معرضة للنسخ . تبدأ نقطة النمو والاستطالة لسلسلة ر ن أ بمنطقة مكونة من هجين ر ن أ / د ن أ بطول حوالي ١٢ قاعدة والتي تنفك عندما تترك سلسلة ر ن أ السلسلة القالب وتعود سلسلتى حلزون د ن أ إلى التحلزن حول بعضهما البعض في حلزون مزدوج كما في الشكل رقم ١٢ - ٥ .



الشكل (٥-١٢):

نموذج لمعدد الاستطالة المكون من إنزيم بلمرة ر ن أ و د ن أ القالب وسلسلة ر ن أ النامية . يدل اتجاه الأسهم على الدوران الذي يجب أن يحدث في جزيء د ن أ لتنتفك الحلزونة كلما تعرضت السلسلة القالب للإنزيم وتكوين هجين مؤقت من د ن أ و ر ن أ ولكي تتحلزن سلاسل د ن أ مرة أخرى عندما تتطلق سلسلة ر ن أ

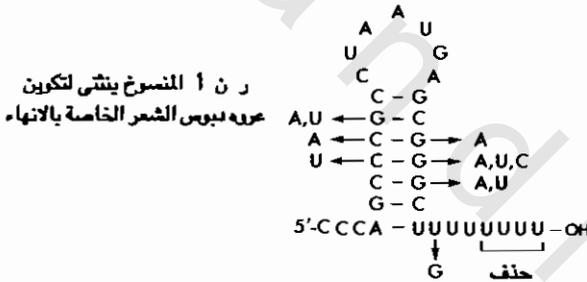
إلا أن المنطقة من د ن أ التي تكون غير متحلزنة بمرور إنزيم البلمرة عليها تكون أطول قليلاً من طول منطقة هجين ر ن أ / د ن أ إذ تكون بطول حوالي ١٧ قاعدة وهي تساوي المسافة التي تنفك عند بداية بدء تكوين المعقد المفتوح عند منطقة المستبدىء Promoter.

### دور اشارات الإنهاء أو التوقف في إنتهاء النسخ

توجد إشارات في جزئ د ن أ البكتيرى تسمى الموقفات أو مواقع الإنهاء Terminators والتي تكون وظيفتها وقف بناء ر ن أ عند نقطة محددة على قالب د ن أ عند موقع الإنهاء يتوقف إنزيم بلمرة ر ن أ عن إضافة نيوكليوتيدات جديدة إلى سلسلة ر ن أ وتنفك السلسلة عنه ويترك الإنزيم د ن أ القالب لكي يبدأ دوره جديدة من النسخ . في بعض مواقع الإنهاء تحتاج عملية الايقاف إلى بروتين إضافي يسمى عامل  $\rho$  (رو Rho) . في حين قد يقوم الإنزيم المركزي نفسه core enzyme بهذا الدور بدون الحاجة إلى عوامل إضافية.

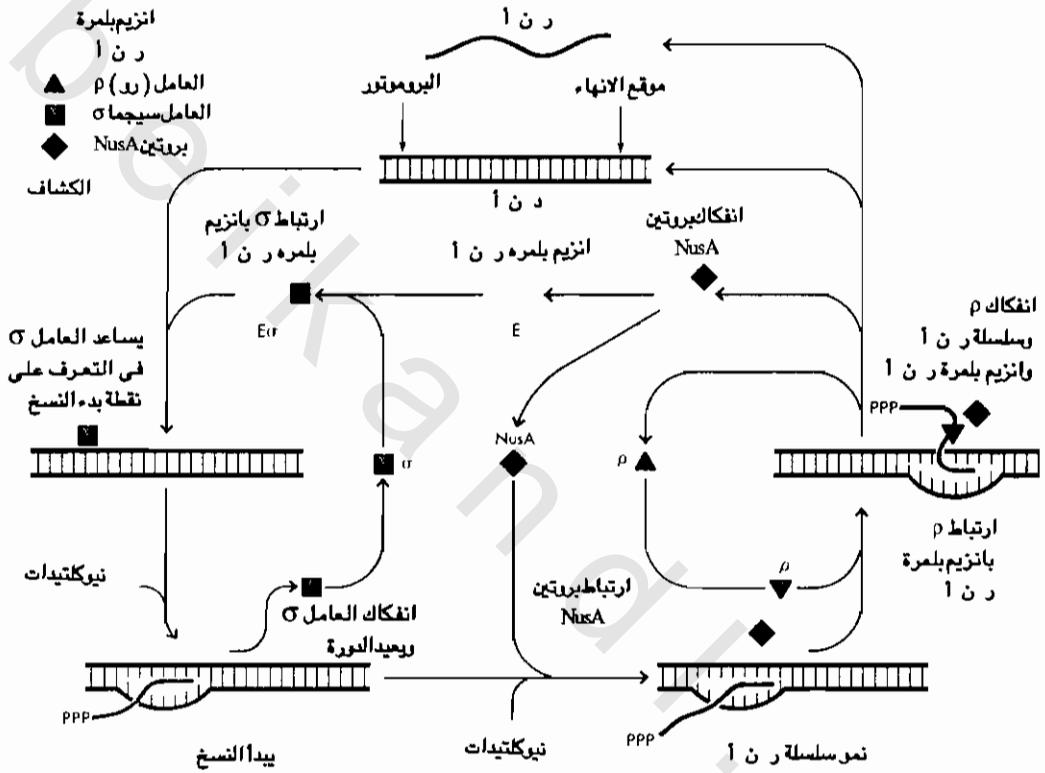
توجد تتابعات معينة في منطقة الايقاف في سلسلة د ن أ القالب تتكون من تتابع ثنائى متمائل dyad symmetry في د ن أ على مسافة ١٥ إلى ٢٠ نيوكليتيده قبل نهاية منطقة النسخ ر ن أ يليه تتابع من ٦ قواعد أدينين A في سلسلة د ن أ القالب والتي يتم نسخها إلى ست قواعد من اليوراسيل U عند نهاية سلسلة ر ن أ كما في الشكل (٥ - ١٢). يتوقف إنزيم بلمرة ر ن أ عن اضافة أي نيوكليوتيدات جديدة عندما يتم نسخ منطقة الايقاف هذه حيث يتكون بسرعة حلزون بتركيب دبوس الشعر hairpin في هذه المنطقة مما يؤدي إلى توقف النسخ وانزلاق إنزيم بلمرة ر ن أ عن السلسلة القالب لجزئ د ن أ ؛ كما يحدث إنفكاك لسلسلة ر ن أ المبنية حديثاً وتصبح حرة . يبين الشكل (٥ - ١٤) دور كل من إنزيم بلمرة ر ن أ وعامل سيجما  $\sigma$  وعامل  $\rho$  و Rho في بناء ر ن أ.

← تماثل الثنائي →



الشكل (5-13)،

تتابع منطقة انتهاء النسخ المستقلة عن العامل ρ وتركيب سلسلة ر ن أ التي توقف نموها . الطفرات المظلة تؤدي إلى منع جزئي أو كلي لعملية الايقاف .



الشكل (5-14):

نور إنزيم بلمرة رن أ والعامل سيجما σ والعامل ρ (رو) والبروتين NusA في عملية بناء سلسلة رن أ