الفصل العاشر

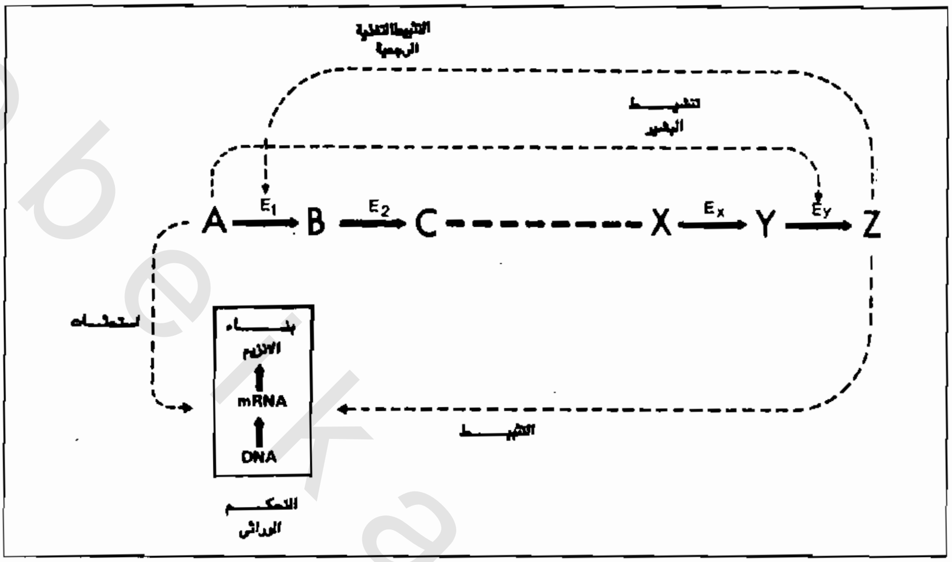
تنظيم التعبير الجينـي
في غير مميزة النواه

تتميز الخلية الحية بوجود تباين كبير فـي أعـداد الجزيئـات المختلفـة للبروتينات النوعية ، لذلك كان لا بد من وجود نظم لتأمين البناء الإختيارى لتلك البروتينات التي تحتاجها الخلية بكميات كبيرة.

كما أن الخلية البكتيرية بطبيعتها محافظة ، بمعنى أنها نادرا ما تـستهلك طاقة في بناء أو هدم مواد تزيد عن احتياجاتها. لذلك نجد ان الخلية قد استنبطت نظم للتحكم في مستويات انتاج الاف المركبات الكيماوية بداخلها. ويـتم تنظـيم النشاط الانزيمى عن طريق ميكانيكيتين رئيسيتين وهما: التحكم الوراثي والتحكم في النشاط الحفزي كما هو موضح في الشكل (١٠-١).

يتضمن التحكم الوراثي تنظيم انتاج الكمية الكلية لحزيئات إنـزيم معـين وسوف نتعرض لذلك فيما بعد عند دراسة نظام الأوبـرون ، حيـث تكـون محصلة هذا النظام أن الإنزيم لا يتم انتاجة الا عند الحاجة اليه فقط. اما التحكم في النشاط الحفزي Catalysis ، فيتضمن تغيير في نشاط الإنزيم بدون تغيير في الكمية الكلية للإنزيم المنتج أي أن التغيير يكون نوعيا وليس كميا. ويـتم ذلـك

بصفة خاصة في الانزيمات التنظيمية الألوستيرية Allosteric Enzymes بفعل جزيئات ألوستيرية منشطة أو مثبطة.



الشكل (١٠-١): شكل تخطيطي يبين نظم التحكم فى النشاط الإنزيمى عن طريق التثبيط بالتغذية الرجعية ونظام التحكم الوراثي (الأوبرون)

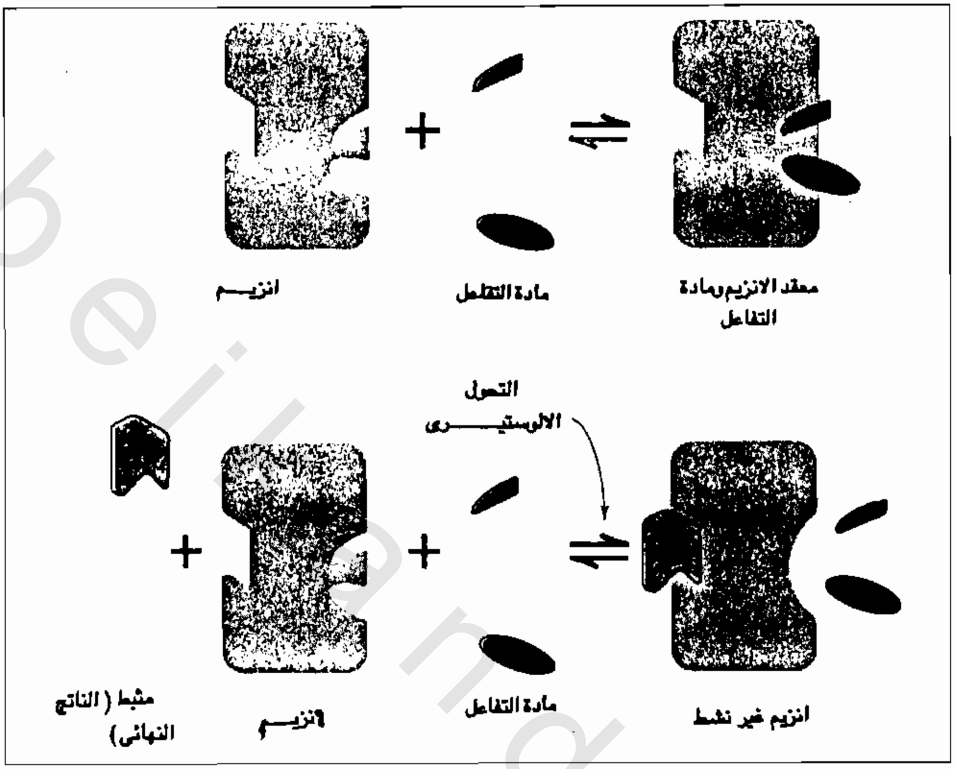
توجد ميكانيكيتين رئيسيتين لهذا النوع من التحكم وهما :

التثبيط بالتغذية الرجعية Feed Back Inhibition (FBI) ، والتنشيط بمـادة التفاعل الأولية Substrate كما هو موضح بالشكل (١٠-١).

فى حالة التغذية الرجعية يعمل المنتج النهائي End Product فى السلسلة الايضية كمثبط الوستيرى للإنزيم الاول في السلسلة ، ويترتب على ذلـك انـه عندما يتم بناء كمية كافية من هذا المنتج النهائى، فإن السلسلة الايضية باكملهـا يتم إيقافها وبذلك تتجنب الخلية استمرار إنتاج وتـراكم مركبـات أكثـر مـن احتياجاتها . ويبين الشكل (١٠-٢) كيف أن ارتباط المنتج النهائي يـؤدى إلـى

obeikandl.com

تثبيط نشاط الإنزيم بهذه الميكانيكية والتى تتضمن عملية تحول الوستيرى Allosteric Transformation.



الشكل (١٠-٢): شكل تخطيطي لتفاعل التحول الألوستيرى

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 للإنزيم أن يستعيد نشاطه إذا احتاجت الخلية إليه، أى أن التفاعل هنا يكون عكسيا. أما فى حالة التنشيط بمادة التفاعل الاولية ، فإن أول مادة تفاعل فى سلسلة المسار الايضي تعمل كمنشط الوستيرى للإنزيم الأخير فى السلسلة.

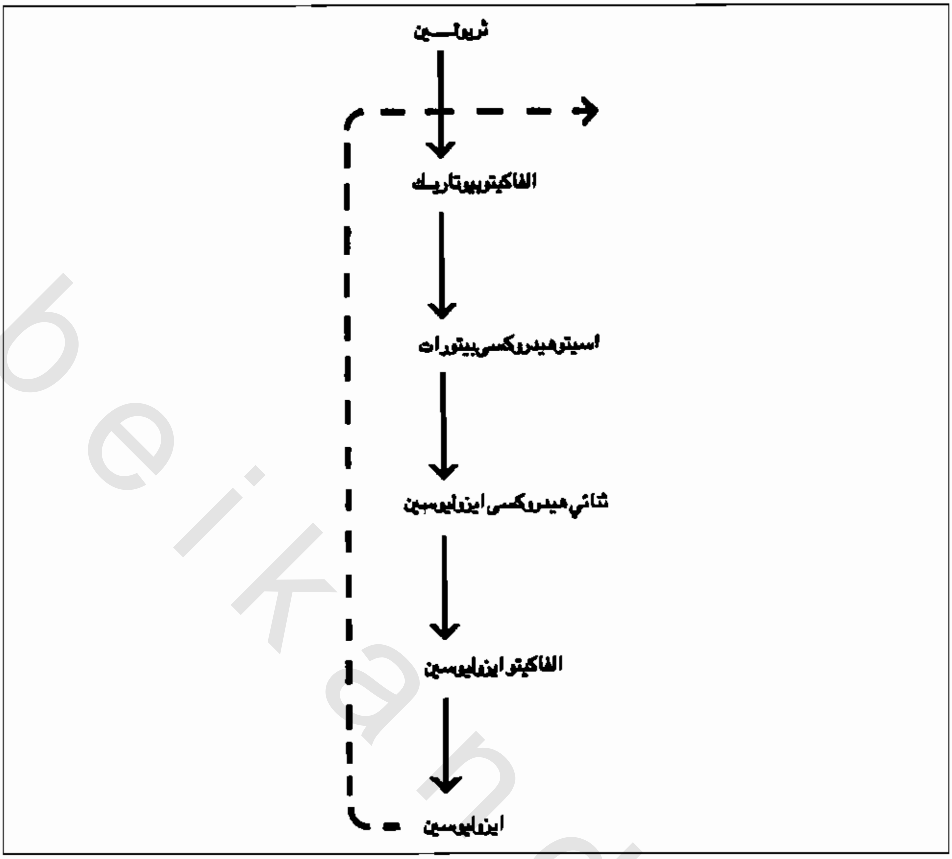
من جهة اخرى، يعد النظام الوراثى طريقة بطيئة نسبيا للتحكم فى النشاط الإنزيمى ، فى حين يعد نظام الثبيط بالتغذية الرجعية نظام سريع جدا لضمان أن مستويات النشاط الإنزيمى كافية وفى حدود احتياجات الخلية فقط.

أنواع التثبيط بالتغذية الرجعية Types of Feedback Inhibition:

يمكن تقسيم الثبيط بالتغذية الرجعية إلى الانواع التالية:

١- فى حالة سلاسل الايض المستقيمة (غير المتفرعة) وحيث يفصل عادة بين مادة التفاعل الأول وبين المنتج النهائي عدد من الخطوات الإنزيمية ، فإن المنتج النهائى عند وصوله الى مستوى معين من التركيزيقوم بالارتباط بالإنزيم المساعد في الخطوة الاولى مسببا إيقاف نشاطه وبالتالى يودى إلى توقف اى نشاط جديد في السلسلة الإيضية. والمثال على ذلك ما يحدث فى السلسلة الأيضية للحامض الامينى الايزوليوسين كما في الشكل (١٠-٣).

obeikandl.com



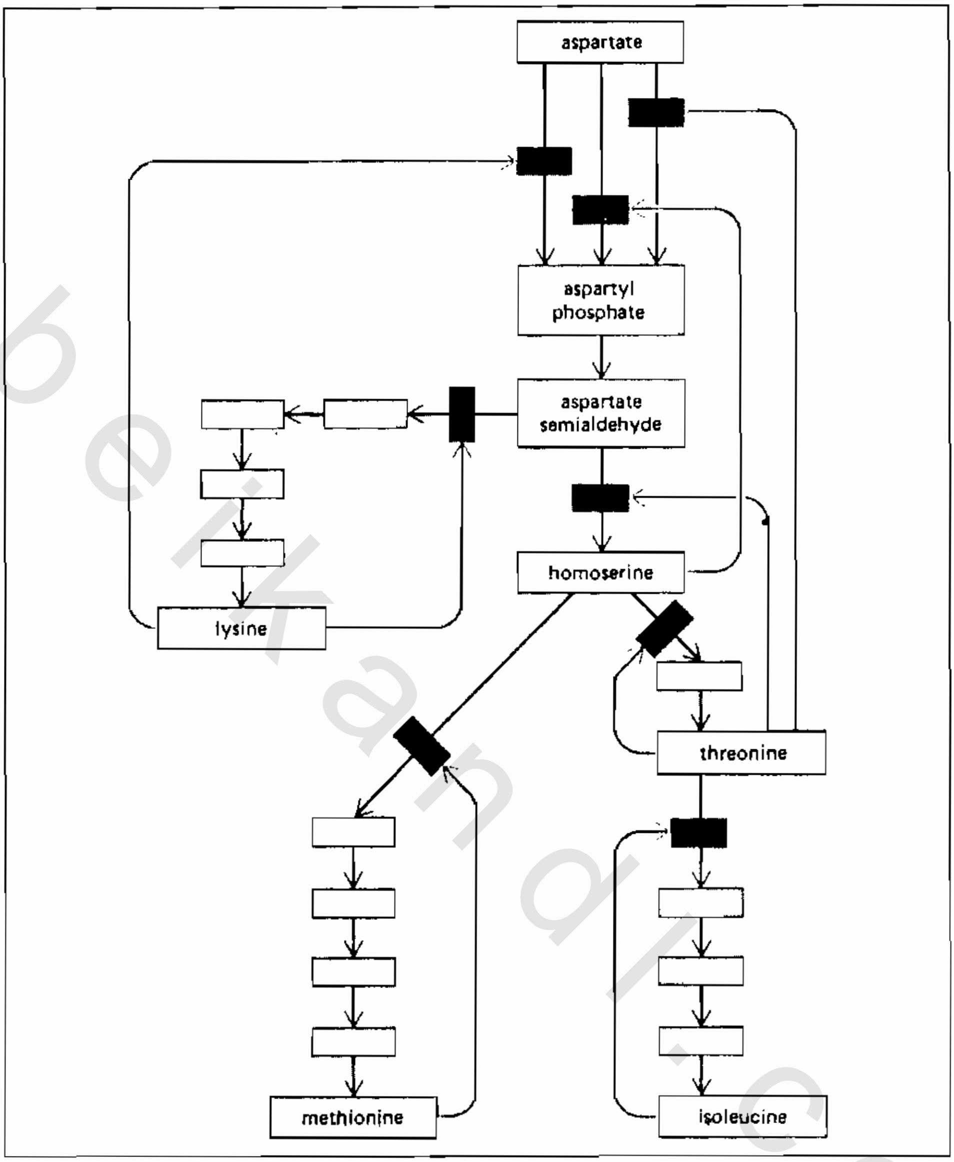
الشكل (١٠-٣): مثال لنظام التغذية الرجعية في السلاسل الايضية البسيطة (غير المتفرعة) في بناء الأيزوليوسين من الثيريونين. تبين الخطوط المتقطعة أن الايزوليوسين (الناتج النهائي) يقوم بتثبيط الانزيم الذي يساعد في تفاعل الخطوة الأولى (ثريونين- > الفا-كيتوبيوتاريك)

٢- فى حالة السلاسل الايضية المتفرعة Branched Pathway حيث تبدا سلسلة الايض بمادة تفاعل مشتركة ثم لا تلبث السلسلة ان تتشعب بحيث تنتهى بعدد من النواتج النهائية المختلفة. ومعنى ذلك أنه إذا طبقت نفس القاعدة المعمول بها في حالة السلاسل غير المتفرعة ، فإنه بمجرد

وصول اى من المنتجات النهائية إلى مستوى معين من التركيز سيتم ارتباط هذا المنتج بإنزيم الخطوة الأولى في السلسلة ، مما يعني وقف السلسلة بأكملها وما يترتب على ذلك من توقف إنتاج النواتج النهائية الاخرى ، على الرغم من أنها قد لا تكون قد وصلت إلى المستوى المطلوب والذى يفى باحتياجات الخلية ما قد يؤدي ذلك من نتائج سلبية. لذلك اقترحت أربعة انواع من الثبيط بالتغذية الرجعية لتفسير ما يحدث فى حالة السلاسل المتشعبة وهى:

أ- تعدد الصور الانزيمية (مشابهات الانزيم) Isozymes:

حيث يكون للإنزيم المشارك في أول خطوة من السلسلة الأيضية عدة صور (مشابهات انزيمية) ، بحيث يختص كل واحد من المنتجات النهائية المختلفة بالارتباط نوعيا 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 من السلسله 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 الايض المتفرعة الخاصة بإنتاج الأحماض الامينية الثلاثة: الليسين والأيزوليوسين والمثيونين حيث تبدا كلها من مادة تفاعل اولية مشتركة وهى حامض الاسبارتيك كما فى الشكل (١٠-٤).



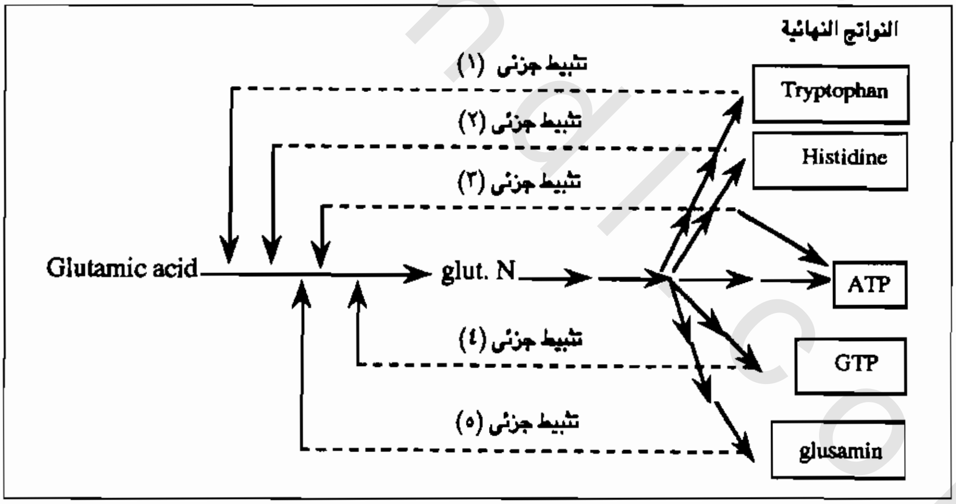
الشكل (١٠-٤): مثال لنظام التثبيط بالتغذية الرجعية في سلاسل الايض المتفرعة حيث يتم تثبيط بناء الاحماض الأمينية الليسين والمثيونين والثريونين والايزوليوسين في البكتريا بنظام تعدد الصور الانزيمية(مشابهات الانزيمات)

ب- التثبيط المتناسق Concerted Feedback Inhibition:

حيث لا يحدث ايقاف للسلسلة المتفرعة إلا عندما يتم الوصول إلى مستويات كافية من جميع النواتج النهائية معا: بمعنى ان وجود احد المنتجات النهائية بكمية زائدة لا يكفى لايقاف السلسلة الايضية بأكملها.

ج- التثبيط التجميعى أو التراكمى Additive or Cumulative FBI:

حيث يؤدى كل من النواتج النهائية الى احداث تثبيط جزئي فقط ، ولكن عندما تتوفر كميات زائدة من منتجين نهائيين أو أكثر فإن درجة التثبيط المشترك لهما ستكون مساوية لمجموع التثبيط الذى يحدثة كل منهم على حده. ويتضح ذلك في السلسلة المتفرعة الخاصة بإنتاج التربتوفان والهستيدين و ATP, GTP والجلوسامين وتبدأجميعا بحامض الجلوتاميك كما في الشكل (١٠-٥) ، حيث يحدث اغلاق للخطوة الأولى في السلسلة وهى Glutamic --> Glut. N بنظام تجميعي حسب عدد النواتج النهائية التي تصل الى مستوى تركيز معين في البيئة.



الشكل (١٠-٥): مثال للنظام التراكمى للتثبيط بالتغذية الرجعية فى سلاسل الأيض المتفرعة

د- التثبيط التعاوني Co-operative FBI:

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

التنظيم الوراثى Genetic Control:

يتم تنظيم التعبير الجينى فى البكتريا أساساعلى مستوى عملية بناء ر ن أ المراسل mRNA أى على مستوى النـسخ Transcription. ويـتم ذلـك عـادة بالسماح ببدء أو منع بدء عملية النسخ بواسطة انزيم بلمـرة ر ن أ. وحيـث أن البكتريا تعتمد فى الحصول على غذائها من المواد المتوفرة في الوسط المحـيط بها مباشرة فإنها تستجيب بسرعة للتغيرات التى تحدث فى هذا الوسـط حـسب وفرة هذه المواد الغذائية .

تبين أنه اذا أتيحت لبكتريا القولون الفرصة للأختيار بين سكرى الجلوكوز واللاكتوزكمصدر للكربون فإن البكتريا تفضل استهلاك الجلوكوز الموجود فى البيئة أولا قبل أن تبدأ فى استخدام اللاكتوز كمصدر للطاقة اللازمة لهـا. وقـد لوحظ أن التحول الى استخدام اللاكتوز كان مقرونا بفترة توقف فى نمو البكتريا تم خلالها بناء انزيم بيتا جلاكتوسيديز ß-Galactosidase الذى يقوم بالمساعدة في عملية التحليل المائى لسكر اللاكتوز الى جلوكوز وجلاكتوز. أمكن عزل وتمييز بعض الطافرات البكتيرية التى تتميز بوجود بعض النقص النوعى فـى تنظـيم هذا التحكم مما أدى فى النهاية الى التوصل الى البـروتين المثـبط للاكتـوز Lactose Repressor Protein وقد أدت الدراسات البيوكيماوية والوراثيـة التـى

obeikandl.com

اجريت على مثبط سكر اللاكتوز ومثبط فاج لامبدا وعدد آخر من البروتينات المنظمة للنشاط الأيضى فى البكتيريا إلى استنتاج نموذج عام للتنظيم على مستوى النسخ فى الخلية غير مميزة النواة .

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

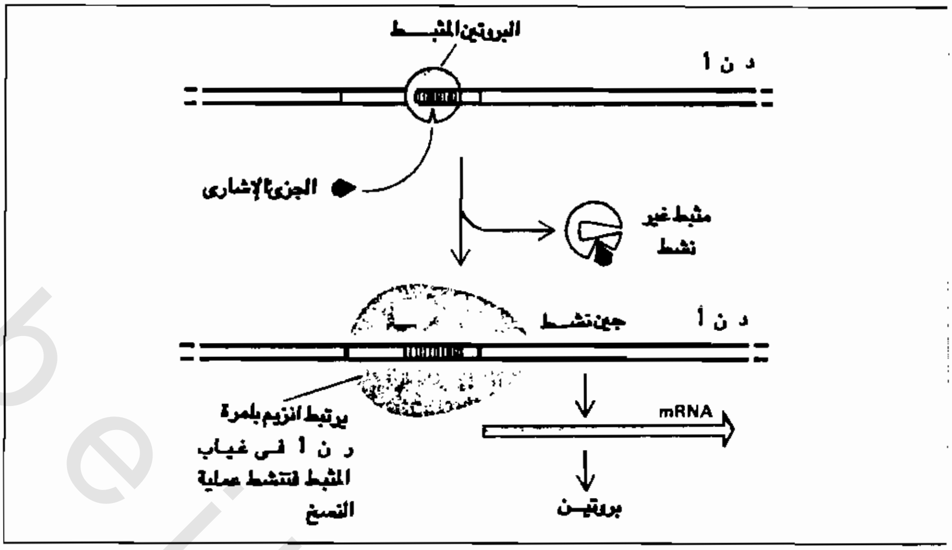
لوحظ أن التغيرات التى تحدث فى عملية الارتباط النوعي لتلك البروتينات التنظيمية على جزئ د ن أ تؤدى إلى فتح أوقفل التعبير الجينى.

معروف أن كروموسوم بكتريا القولون يتكون من جزئ حلقى واحد من د ن أ بطول حوالى ٤,٣×١٠^٦ زوج نيوكلتيدى . ويمثل هذا الطول ما يكفي للتشفير لحوالى ٤٠٠٠ بروتين نوعى. وعلى الرغم من أن نسبه فقط من هذه البروتينات هى التى يتم بنائها فى فترة ما ، إلا أن البكتريا بمقدروها 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 للاكتوزوالذي يقوم بالارتباط بوحدة نسخية تسمى أوبرون اللاكتوز Lac Operon، بحيث يؤدى هذا الارتباط النوعى إلى توقف انتاج إنزيم بيتا جلاكتوسيديز ß-Galactosidase فى غياب اللاكتوز. وقد تبين أن هذا المثبط يقوم بإيقاف Repression عملية النسخ لهذا الأوبرون عن طريق ارتباطه بتتابع نوعى قصير فى جزئ د ن أ يتكون من

حوالى ٢١ زوج نيوكلتيدى يطلق عليه «المشغل» Operator والـذى يتـداخل فى تتابعه مع تتابع منطقة البروموتور السابقة له مباشرة. عندما يـتم ارتبـاط البروتين المثبط بمنطقة المشغل فإنه يمنع انزيم بلمرة ر ن أ من بده عملية نسخ ر ن أ عند منطقة البروموتور ، مما يؤدى إلى ايقاف عمليـة النـسخ للمنطقـة المجاورة من جزئ د ن أ وبذلك يلعب دور ضـبط أو تنظـيم إنتـاج إنـزيم بيتاجلاكتوسيديز حسب احتياج الخلية. تبين أنه فى وجـود كميـة مـن سـكر اللاكتوز يتكون جزيء من السكر يـسمى Allolactose وهـو أحـد الـصور الأيزوميرية لسكر اللاكتوز في الخلية حيث يرتبط هذا السكر نوعيا بـالبروتين المثبط مما يؤدي إلى انفكاكة وإزاحته عن منطقة المشغل وبذلك يمكن اسـتئنأف عملية النسخ فى عملية تسمى «إبطال التثبيط» Derepression ويترتب على ذلك أن تتمكن الخلية من إنتاج ليس فقـط إنـزيم ß-galactosidase ولكـن جميـع الإنزيمات اللازمة لهدم اللاكتوز ولكن ذلك يحدث فقط عندما يتـوفر اللاكتـوز (مادة التفاعل) فى البيئة كما في الشكل (١٠-٦).

ويلاحظ أن اللاكتوز (اللولاكتوز) يعمل هنـا كجـزئ إشـارى Signal Molecule نوعي بحيث يؤدى وجوده إلي تنشيط الوحدة النسخية بأكملهـا عـن طريق خفض أوتقليل قدره المثبط على الارتباط بمنطقة المشغل.

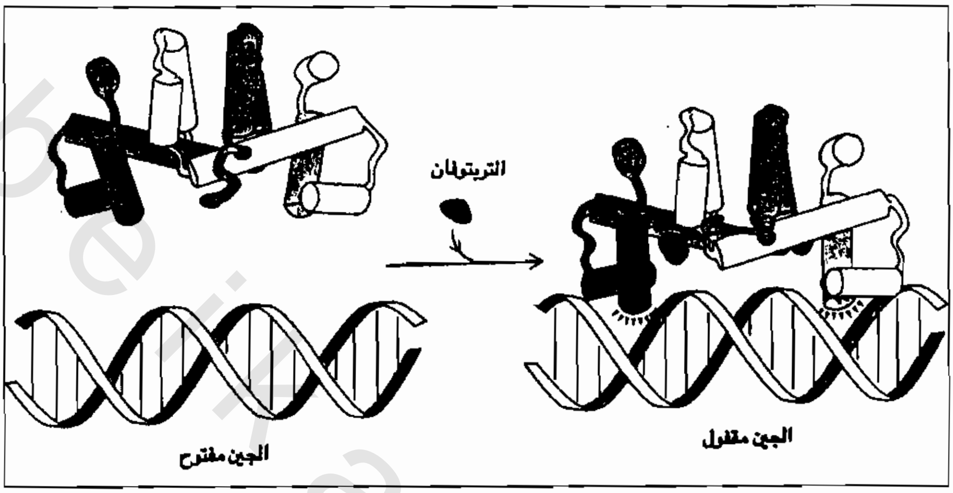


الشكل (١٠-٦): إبطال تثبيط Derepression الجين في البكتريا حيث يقوم جزئ اشارى صغير بالارتباط بالبروتين المثبط بحيث يغيرمن شكله فيترك جزيء د ن أ مما يسمح بتعبير الجينات المجاورة ونسخها

ولكن من جهة أخرى تبين وجود نظم أخرى يقوم فيها الجزئ الاشارى بعملية عكسية تماما لما يحدث فى أوبرون اللاكتوز ، أى أنه يستخدم في وقف نشاط الوحدة النسخية عن طريق زيادة النشاط التثبيطى للمثبط وبالتالي 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 الأميني تربتوفان في بكتريا القولون. ويطلق على هذه الوحدة النسخية اسم أوبرون التربتوفان Trp. Operon. وجد أن البروتين المثبط للتربتوفان يتحكم في إنتاج الجزئ الكبير المتعدد السسترون Polycistronic من mRNA الذى يشفر للخمس بروتينات معا. إلا أن هذا البروتين التنظيمي يكون عادة في صورته الاولية غير فعال ويسمى Aporepressor ويحتاج لكر يتحول إلى الصورة الفعالة إلى الارتباط نوعيا

obeikandi.com

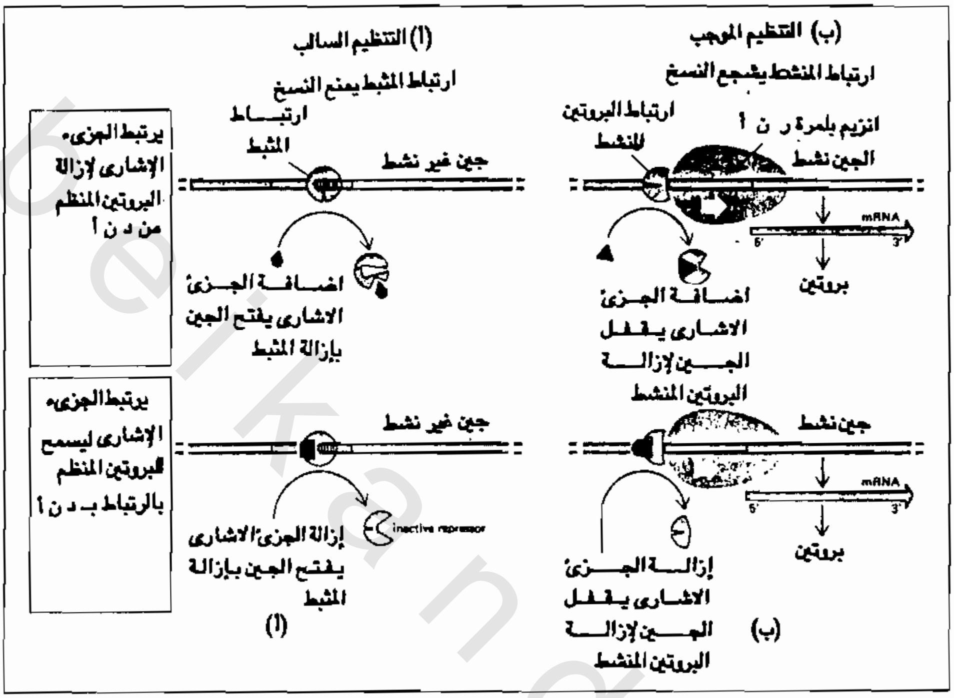
بجزئ من التربتوفان (المنتج النهائى) حتى يجعله مثبط نشط Active Repressor يمكنه الارتباط بمنطقة المشغل وايقاف النسخ لوحدة الاوبرون كما في الشكل (١٠-٧).



الشكل (١٠-٧): يؤدى ارتباط التربتوفان بالمثبط إلى تغير في شكل المثبط مما يسمح له بالارتباط بقوة بالتتابع النوعي في جزئ د ن ا مما يوقف النسخ للجينات المسئولة عن التشفير للانزيمات الخاصة بانتاج التربتوفان في اوبرون التربتوفان. يبين الشكل ثلاثى الابعاد كيف أن ارتباط التربتوفان يؤدى إلى زيادة المسافة بين حلزونى التعارف (الأسطوانات المظللة) في الثنائي مما يسمح بتكوين تفاعلات لروابط هيدوجينية 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 للإرتباط 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 السلبي Negative Regulation كما في الـشكل (١٠-٨أ) أى أنة في التنظيم السلبي يحدث التعبير الجيني الا اذا تم إيقافه بواسطة جزيء منظم (مثبط).



الشكل (١٠-٨): ملخص لميكانيكيات التحكم الوراثي السلبى (أ) والتحكم الموجب (ب) في غير مميزة النواة. يلاحظ ان اضافة جزئ اشارى صغير مستحث يمكنة 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 النسخي للجين إما بازالة البروتين المنشط من على د ن ا (الجزد الأيمن العلوى) اويربط البروتين المثبط بجزئ د ن أ (الجزء الأيسر السفلي)

دور البروتينات المنشطة في بدء عملية النسخ للأوبرون:

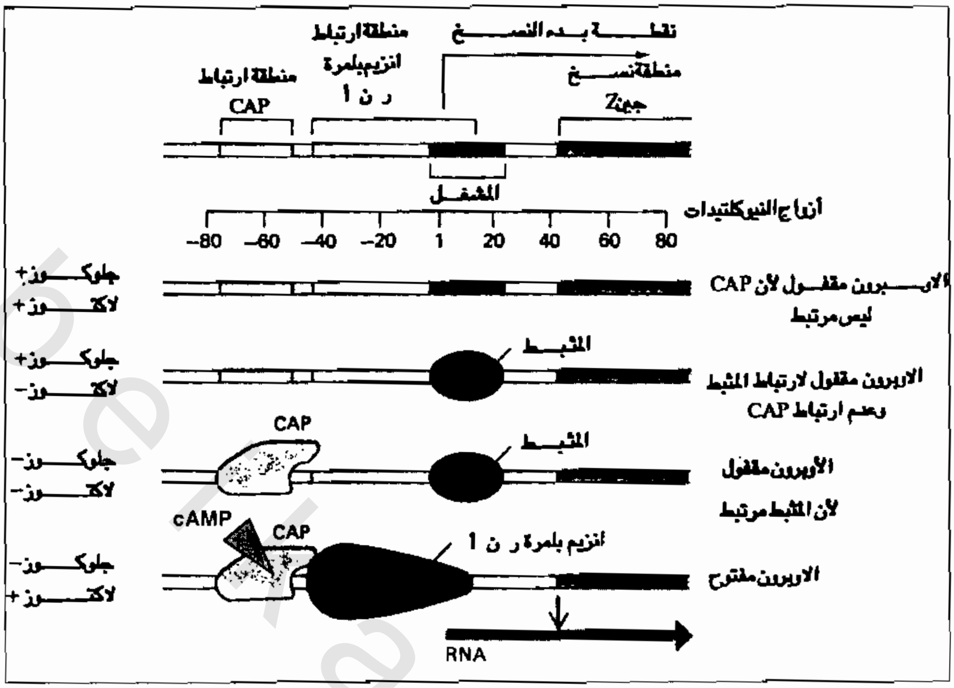
إلى جانب نظام التحكم السلبى المشار إليه سابقاً ، حيث يرتبط البـــروتين المثبط بالقرب من منطقة البروموتور ويتدخل في نشاط انــزيم بلمــرة ر ن أ،

يوجد نوع آخر من التحكم يسمى التنظيم الموجب Positive Regulation حيث لا يحدث النسخ الا في وجود جزيء منظم (منشط)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 ضروريا لبعض الوحدات النسخية فى بكتريا القولون، وخاصة تلك التى تحتوى على برموتور ضعيف نسبياً بحيث لا يستطيع فى حد ذاته 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 الأخير 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 معا عندما ترتبط جزيئاته بعدة مواقع فى الجينوم بحيث يقوم بتثبيط النسخ فى بعض المناطق فى حين يلعب دوراً منشطا 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 الجيني بالتنظيم الموجب إلى حقيقة أن عملية النسخ تحدث بكفاءة أعلى في وجود البروتينات التنظيمية عما في حالة غيابها كما في الشكل (١٠-٨ ب). فى حالة اوبرون اللاكتوز Lac Operon نجد أن هناك نوعاً خاصا من البروتين المنشط يسمى Catabolite Activator Protein ويطلق علية اختصاراً (CAP)، بحيث يتيح هذا البروتين للبكتريا أن

تستخدم مصدر بديل للكربون فقط عندما لا يتوفر الجلوكوز في البيئة ، والــذى يعد بالطبع مصدرا مثالياً للكربون. فى حالة أوبرون اللاكتوز يحدث تنسيق بين عمل البروتين المثبط للاكتوز والبروتين المنشط CAP لكى يتم انتــاج التعبيــر الجينى المناسب. وكما سبق القول فان وجود اللاكتوز يؤدى الى انفكاك البروتين المثبط عن د ن أ ، الا آنه تبين آن ذلك ليس كافياً فى حد ذاته لتنشيط عمليــة النسخ لاوبرون اللاكتوز ، نظراً لأن منطقة البروموتور ضعيفة مما يؤدى إلــى انخفاض درجة ارتباط انزيم بلمرة ر ن أ بها. لذلك تحتاج عملية النسخ بواسطة هذا البروموتور الي تقوية درجة ارتباط إنزيم بلمرة ر ن أ بالبروموتور ويــتم ذلك عن طريق ارتباط البروتين المنشط (CAP) فى منطقة تسبق مباشرة منطقة البروموتور كما هو موضح فى الشكل (١٠-٩). تنطبق نفس الميكانيكية علــى بروموتور المالتوز والجلاكتوز وغيرهما مــن الإنزيمــات الخاصــة بتمثيــل السكريات.

يتم تنظيم عملية ارتباط البروتين المنــشط CAP بجــزئ د.ن.أ. حــسب تركيز الجلوكوز في البيئة وذلك لضمان استخدام مصادر بديلة للكربون فقط فى غياب الجلوكوز. ويحدث ذلك عندما يؤدى عدم توفر الجلوكوز فى البيئة الــى استحداث زيادة فى مستوى الخلية من جزيئات AMP الحلقــي cAMP والــذى يعمل كجزىء اشارى للخلية البكتيرية وكذلك فى الخلية مميزة النواة كما سيأتى بعد.



الشكل (١٠-٩): تأثير تركيز الجلوكوز واللاكتوز على تنظيم بدء النشاط النسخي في اوبرون 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 لنشاطCAP فيترك الأخير د.ن.أ. مما يؤدي الى قفل الاوبرون. يعتقد أن بروتين CAP يلامس انزيم بلمرة ر.ن.أ. لمساعدته على بدء النسخ

يرتبط cAMP بالبروتين CAP محدثاً تغييراً فى الشكل التركيبي لهذا البروتين مما يمكنه من الارتباط بكفاءة بالتتابع النوعى الموجود على جزىء د ن أ مما يؤدى بالتالى الى تنشيط نسخ الجينات المجاورة. ولكن عندما يكون الجلوكوز متوفراً فى البيئة ، ينخفض مستوى تركيز cAMP بحيث يتفكك عن البروتين CAP فيتحول الأخير الى الصورة غيرالنشطة التى لا يمكنها آن ترتبط بجزئ د ن أ مما يؤدى الى تحول الخلية بسرعة الى استخدام الجلوكوز فقط ، ويتوقف النسخ حتى فى وجود كمية كبيرة من اللاكتوز في البيئة كما في الشكل

(١٠-٩) وقد تبين أن انتاج جزئ cAMP يعتمد على نشاط إنزيم Adenyl Cyclase وأن وجود الجلوكوز يثبط نشاط هذا الانزيم.

تعريف الأوبرون:

وجد فى عدد كبير من النظم البكتيرية ان مجموعة من الجينات التى تشفر لعدد من البروتينات النوعية التى ترتبط ببعضها بعلاقات وظيفية محددة ، من الممكن أن يتحكم فى تعبيرها جميعا 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:

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

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

٢- يوجد جين منظم Regulator مستقل (i) يقوم بالتحكم فى إنتاج البروتين المثبط Repressor الذى ينتج عن تفاعلة مع المشغل إحداث تثبيط متناسق ومنتظم لجميع الجينات التركيبية معا وفى نفس الوقت بمعنى أنه يحدث

obeikandl.com

توقف متواز وكمى فى تعبير جميع الجينات التركيبية الخاصة بهذا الأوبرون بحيث تظل نسبة التعبير الجينى ثابته بين هذه الجينات.

٣- يحدث إعادة تنشيط (أو إيقاف للتثبيط) Derepression لجميع الجينات التركيبية معا وفى نفس الوقت وبنفس المعدل (فيما يسمى بإعادة التنشيط المتناسق Co-ordinate Derepression) ويتم ذلك إما باستخدام جزئ مستحث Inducer أو نتيجة لحدوث طفره تأسيسية Constitutive Mutation فى المشغل (Oc).

٤- تؤدى طفرة الاقتضاب او الحذف Deletion التى تشمل منطقة المشغل فقط (O) الى وقف متناسق للنشاط النسخى لجميع الجينات التركيبية فى الاوبرون.

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

٦- يتم نسخ الإوبرون كوحدة نسخية كبيرة مكونة من جزئ RNA متعدد السيسترونات Polycistronic mRNA بحيث يشتمل على جميع مناطق الجينات التركيبية معا بدلا من ان يتم النسخ على مستوى كل جين تركيبى على حدة إلا أنه عند الترجمة تتم ترجمة كل جين تركيبى مستقلا الى بروتين محدد.

تركيب اوبرون اللاكتوز Lac Operon:

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

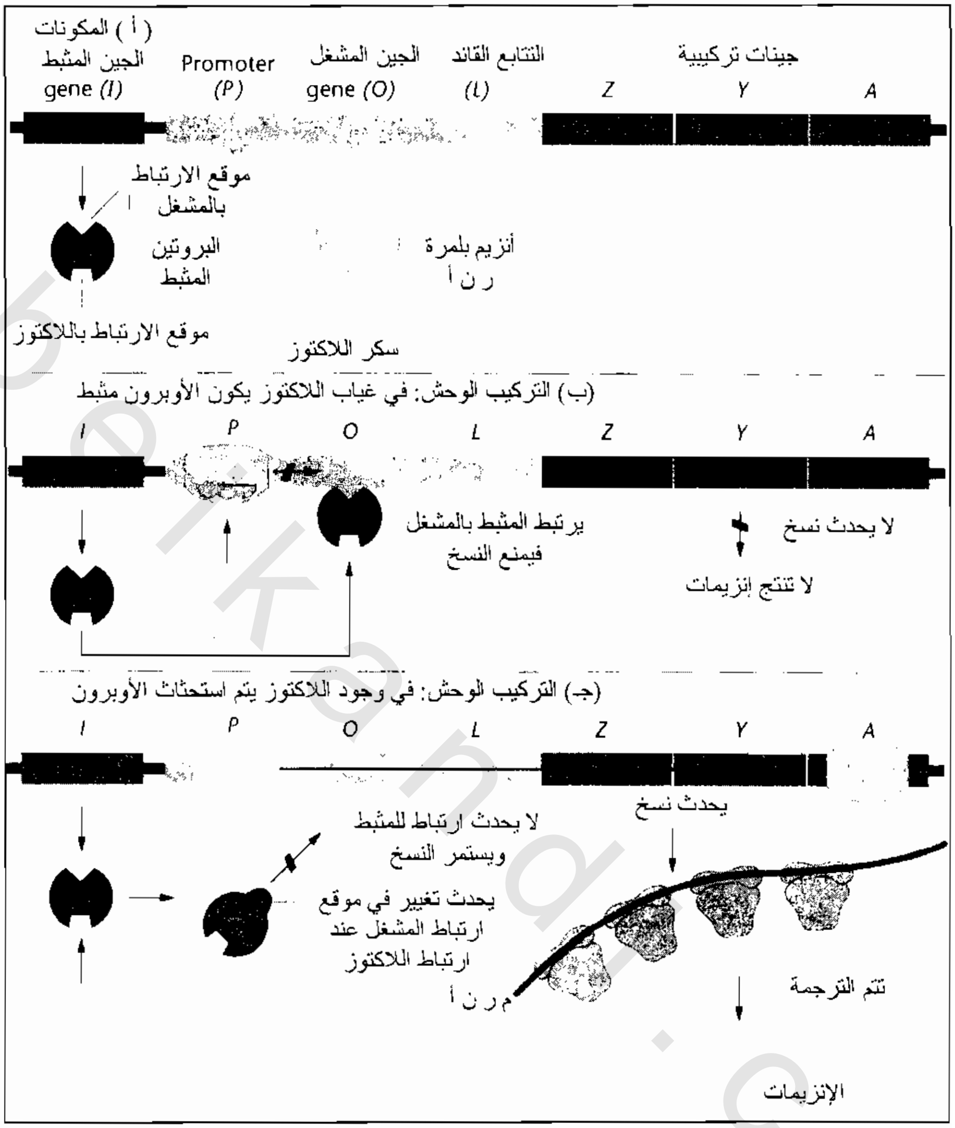
الجين z : ويتحكم فى انتاج انزيم بيتا جلاكتوسيديز ß-Galactosidase.

obeikandl.com

والجين y : ويقوم بانتاج انزيم Lac Permease عند الترجمة.
والجين a : وينتج انزيم Transacetylase عند الترجمة.

ويتم نسخ جينات هذه الانزيمات الثلاثة معا فى وحدة نسخية واحدة يطلق عليها أوبرون اللاكتوز. ويوجد الجين المنظم (i) الذى ينتج البروتين التنظيمى المثبط Protein Repressor الى اليسار من مجموعة الجينات التركيبية ، يليه منطقة البروموتور (P) التى ترتبط بها انزيم بلمرة ر ن أ ثم منطقة المشغل (O) الذى يرتبط به البروتين المثبط كما فى الشكل (١٠-١٠).

opeikandl.com



الشكل (١٠-١٠): مكونات أوبرون اللاكتوز Lac Operon وتأثير وجود أو غياب سكر اللاكتوز على إستحثاثه Induction

الأدلة الوراثية لإثبات نموذج الاوبرون:

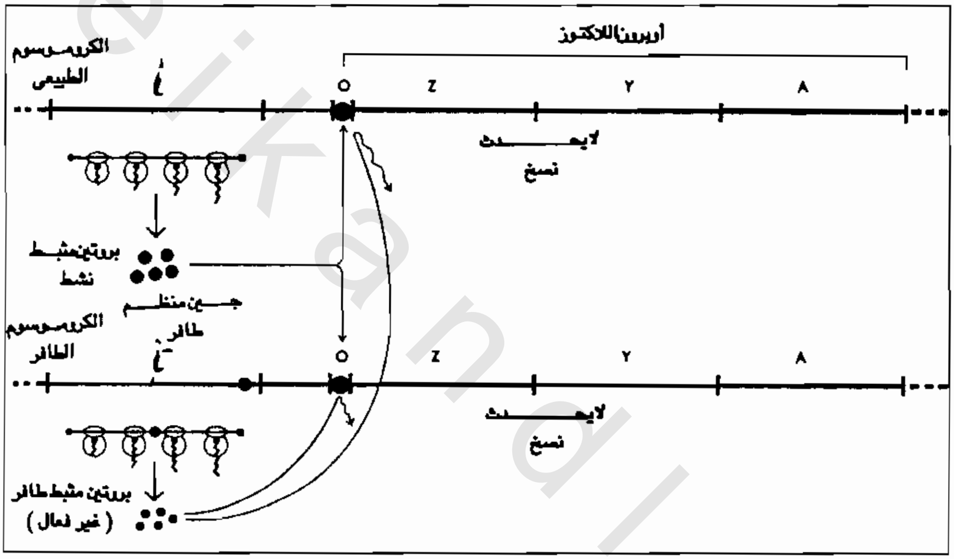
Genetic Proof of The Operon Model:

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 الاوبرون.

أمكن التعرف على عدة انواع من الطفرات التى تحدث فى الجين i : ومنها الطفرة (i^-) حيث يصبح الجين غير قادر على انتاج بروتين مثبط فعال. ويتم ذلك إما بطفرة تغيير القاعدة الواحدة أو طفرة حذف Deletion فى هذا الجين. وتؤدى طفرة الحذف فى الجين i الى غياب البروتين المثبط بالكامل فى حين تؤدى الطفرات الاخرى الى انتاج بروتين مثبط غير فعال بحيث لا يتمكن من الارتباط بقرين المثبط الخاص به وبالتالى لا يمكنه ان يأخذ الشكل النشط فى التثبيط .أى لا يمكنة الارتباط بالتتابع النيوكلتيدى الخاص به على المشغل. ويؤدى حدوث الطفرة -i الى انتاج جميع انزيمات الاوبرون بصرف النظر عن الاحتياج اليها من عدمه ويقال لهذه الطفرات بانها طافرات تأسيسية Constitutive Mutations. ويبين الشكل (١٠-١١) كيف امكن استخدام خلايا بكتيريه ثنائية جزيئا Partial Diploid بالنسبة للكروموسوم البكتيرى وبتركيب (i/i-) لبيان ان وجود أليل واحد من الجين i يكون سائدا على الأليل الطافر -i حيث وجد انه فى هذه الحالة لن تتكون اى كمية من جزيئات انزيم بيتا جلاكتوسيديز ß-Galactosidase فى هذه الخلايا فى غياب اللاكتوز فى البيئة ، حيث ان وجود نسخة واحده من الأليل الوحشى i سيؤدى الى انتاج كمية كافية

من البروتين المثبط للقيام بتثبيط كلا الموقعين للمشغل فى الكروموسومين ويطلق على الجين i الذى ينتج بروتين مثبط قابل للانتشار Diffusable بانه ذو تأثير عابر Trans-Acting. من جهة اخرى توجد طفرة اخرى يطلق عليها i^s حيث تؤدى الى تثبيط فائق للاوبرون Super Repression نتيجة لأن الطفرة أدت الى تغيير دائم في منطقة ارتباط البروتين المثبط بسكر اللاكتوز (Inducer) بحيث يظل المثبط الطافر مرتبط بقوة بالمشغل حتى في وجود فائض من اللاكتوز.

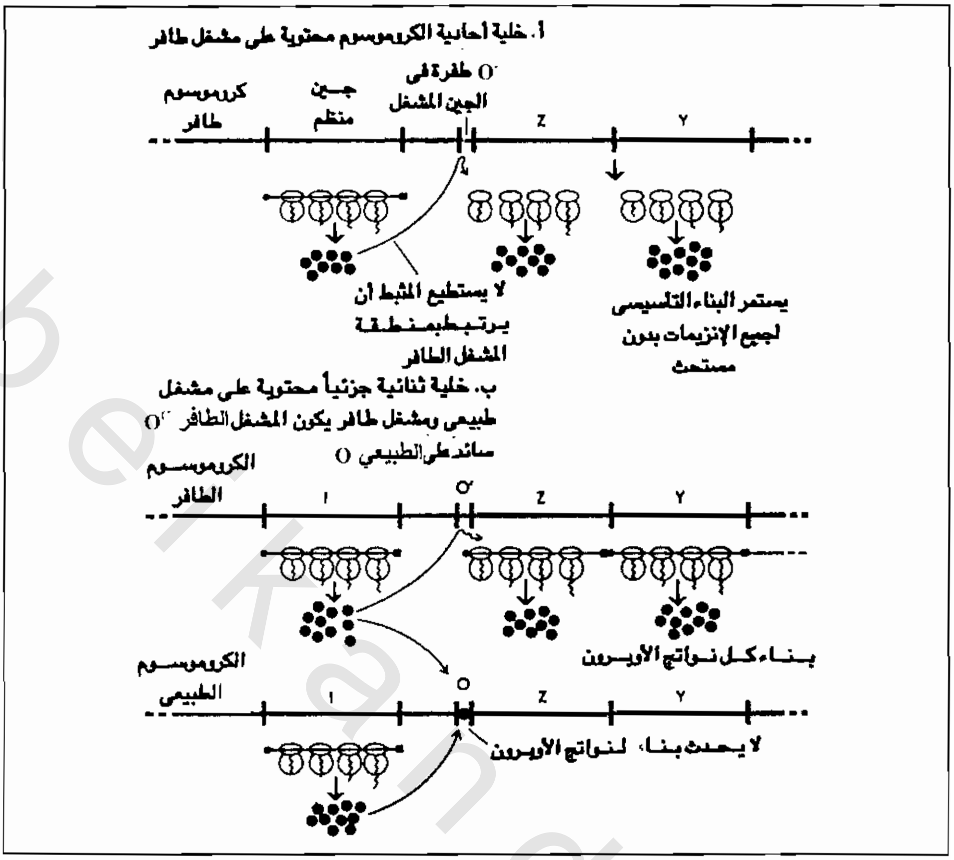


الشكل (١٠-١١): استخدام تركيب ثنائى جزئى فى كروموسوم البكتريا لاثبات ان وجود مثبط واحد فعال يكون سائد على وجود مثبط غير نشط. لا تنتج أى كميات من انزيمات الاوبرون فى هذه الحالة

٢- طفرات فى الجين المشغل Operon(O):

أمكن عزل سلسله من الطافرات التأسيسية Constitutive Mutations فى هذا الجين بحيث تفقد القدرة على التحكم فى انتاج الانزيم الذى يستمر انتاجة بصرف النظر عن وجود المستحث Inducer من عدمه.

وعند تحديد موقع تلك الطفرات تبين ان عددا منها كان متجمعا بالقرب من الجين Z فى منطقة المشغل . وقد اطلق على هذه الطافرات التأسيسية Operator Constitutive Mutations (O^c). وقد وجد انها 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 والخليطه بالنسبة لهذا الموقع اى بتركيب (O/O^c) كما فى الشكل (١٠-١٢) حيث تبين انه فى الخلايا الأحادية كانت الطفرة التأسيسية O^c فعاله بحيث منعت ارتباط المثبط بالمشغل مما أدى الى استمرار إنتاج إنزيمات الأوبرون فى غياب المستحث (اللاكتوز) أما فى حالة الخلايا الثنائية جزئيا بتركيب (O/O^c) فقد وجد أن الأليل O^c كان سائدا على O بحيث تغلبت الطفرة O^c على الأليل الوحشى O وجعلت فى امكان الخلية الثنائية الجزئية ان تستمر فى انتاج الانزيمات الثلاثة للأوبرون بالرغم من غياب المستحث (قارن ما يحدث بالنسبة للتركيب O^c/O بما يحدث بالنسبة للتركيب (-i/i)).ويدل ذلك على ان منطقة المشغل من النوع Cis-Acting وليس بمقدورها انتاج أى منتج ينتشر Diffusible.



الشكل (١٠-١٢): تنظيم النسخ فى أوبرون اللاكتوز بالمشغل الطبيعى والطافر لمنطقة المشغل (Oc/O)

٣- طفرات فى الجينات التركيبية Structural Genes:

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

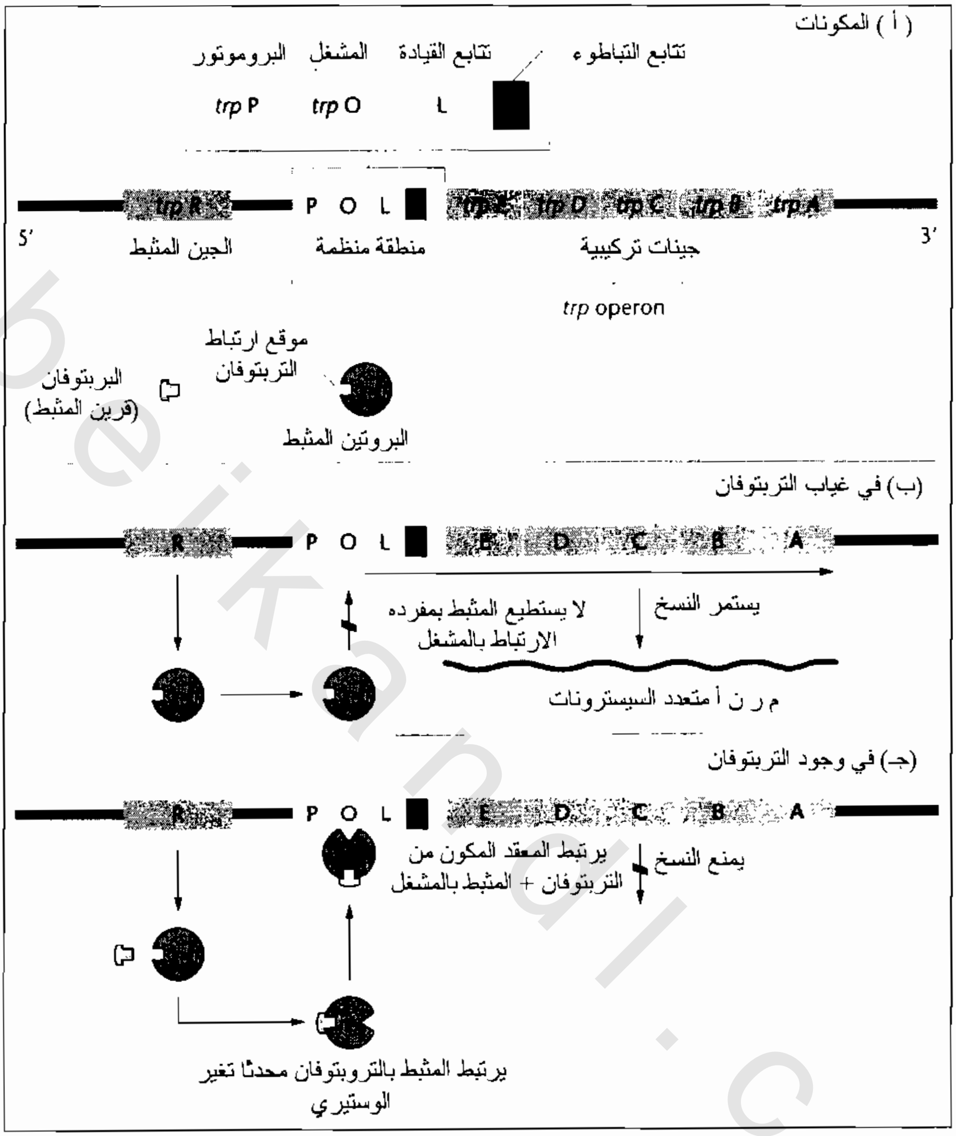
بيتا جلاكتوسيديز ß-Galactosidase ولكن تاثيرها سيمتد ليشمل تعبير الجينان التاليان a,y بحيث يتوقف انتاج انزيمى Transacetylase, Permease على الترتيب فى حين لو حدثت الطفرة فى الموقع y فقط فان التأثير المانع سيشمل الجين التالى له فى الخريطة الكروموسومية وهو الجين a فى حين لن تؤثر هذه الطفرة على الجين السابق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

أوبرون التربتوفان Tryptophan Operon:

يتكون أوبرون التربتوفان من خمس جينات تركيبية متجاورة. ويعد أوبرون التربتوفان في بكتريا القولون من النوع القابل للكبت أو التثبيط

Repressible System حيث يتم التثبيط عن طريق الناتج النهائى End Product لسلسلة الأيض التي يتحكم فيها هذا الأوبرون وهو الحامض الأميني التربتوفان الذى يعمل هنا كقرين مثبط Co-repressor بحيث يرتبط بالبروتين المثبط الأولي غير الفعال Aporepressor ويحوله الى الصوره الفعالة فينشط فى التثبيط مما يجعله قادرا على الارتباط بمنطقة المشغل وقفل الأوبرون.

تحتاج الخلية الى التربتوفان لبناء البروتين ، وعندما يكون التربتوفان متوفر فى البيئة فإن جميع الإنزيمات الخمسة التي تساعد في سلسلة البناء الخاصة بالتربتوفان تكون غير متوفرة نتيجة لتثبيط نسخ حميع الجينات التركيبية الخاصة بها . ويعتبر هذا الأمر طبيعيا نظرا لأن جميع الأوبرونات التى تتحكم في انتاج مركب أو جزئ نهائى لا بد ان تكون قابلة للتثبيط عندما يزيد انتاج هذا المنتج النهائى عن حدود احتياج الخلية . في حين أن الاوبرونات المسئولة عن انحلال أو هدم مادة التفاعل (مثل سكر اللاكتوز) لا بد أن تكون من النوع القابل للإستبداء Inducible عند توفر مادة التفاعل حتى يتسنى تحليل أو هدم هذه المادة بالإنزيمات التي تنتج عن نشاط الأوبرون.ويبين الشكل (١٠-١٣) مكونات اوبرون التربتوفان.



الشكل (١٠-١٣)

أ - مكونات أوبرون التربتوفان Trp Operon والعناصر المنظمة.

ب- إستحثاثه.

ت- تثبيط نشاطه.

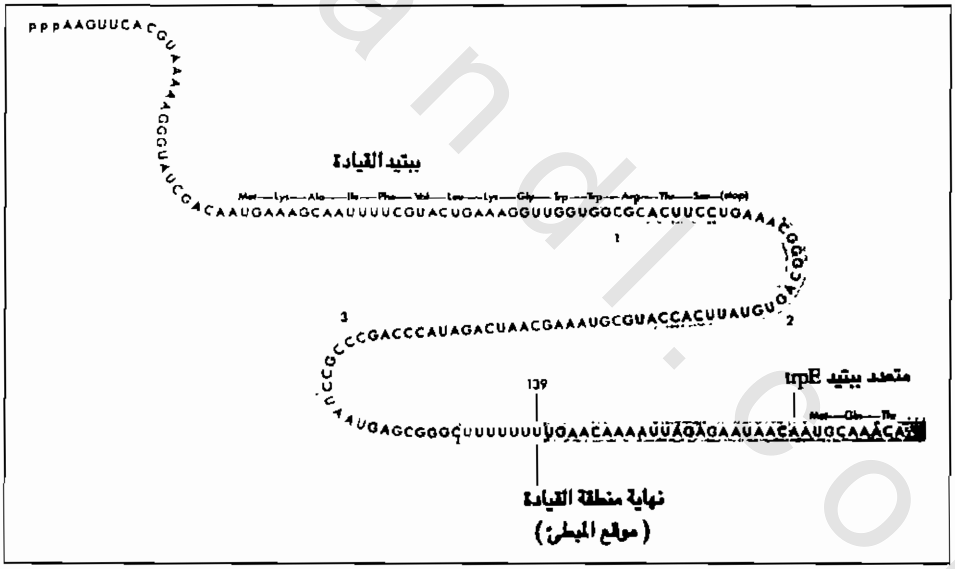
دور منطقة التباطوء Attenuation في تنظيم نسخ أوبرن التربتوفان:

فى البداية كان المفهوم الشائع ان بناء الانزيمات الخمسة فى أوبرون التربتوفان يتم تنظيم نسخها بصفة رئيسية عن طريق البروتين المثبط : وكما سبق القول فان الملاحظ هنا أن نسخ الجينات الخمس المتجاورة المكونة لأوبرون التربتوفان يحدث فقط عندما تكون كمية التربتوفان محدودة جدا 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 حتى 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 منmRNA 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 تاكيد ثان وبطريقة أخرى مستقلة بأن التربتوفان غير متوفر في البيئة بالفعل.

وقد تاكد ذلك بتحليل تتابعات النهاية 5' في جزئ mRNA لهذا الأوبرون حيث ظهر أن هناك ١٦١نيوكلتيده فى RNA وتسمى منطقة القيادة Leader Sequence تكون ضمن منطقة البروموتور قبل الوصول إلى أول كودون فى جينTrpE(وهو الجين الأول فى هذا الأوبرون) كما فى الشكل (١٠-١٤). حيث وجد بالقرب من نهاية هذا التتابع وقبل بدء جين trpE تتابع لانهاء النسخ Terminator والذى يأخذ شكل عروه دبوس الشعر المميز فى ر ن أ (ويتكون من التتابعات فى المناطق ٣ ، ٤ في الشكل) ويليه تتابعا مكونا من U8. وعند هذه المنطقة والتى تسمى منطقة الأبطاء Attenuator 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 Leaderبطول حوالي ١٣٩نيوكلتيد.



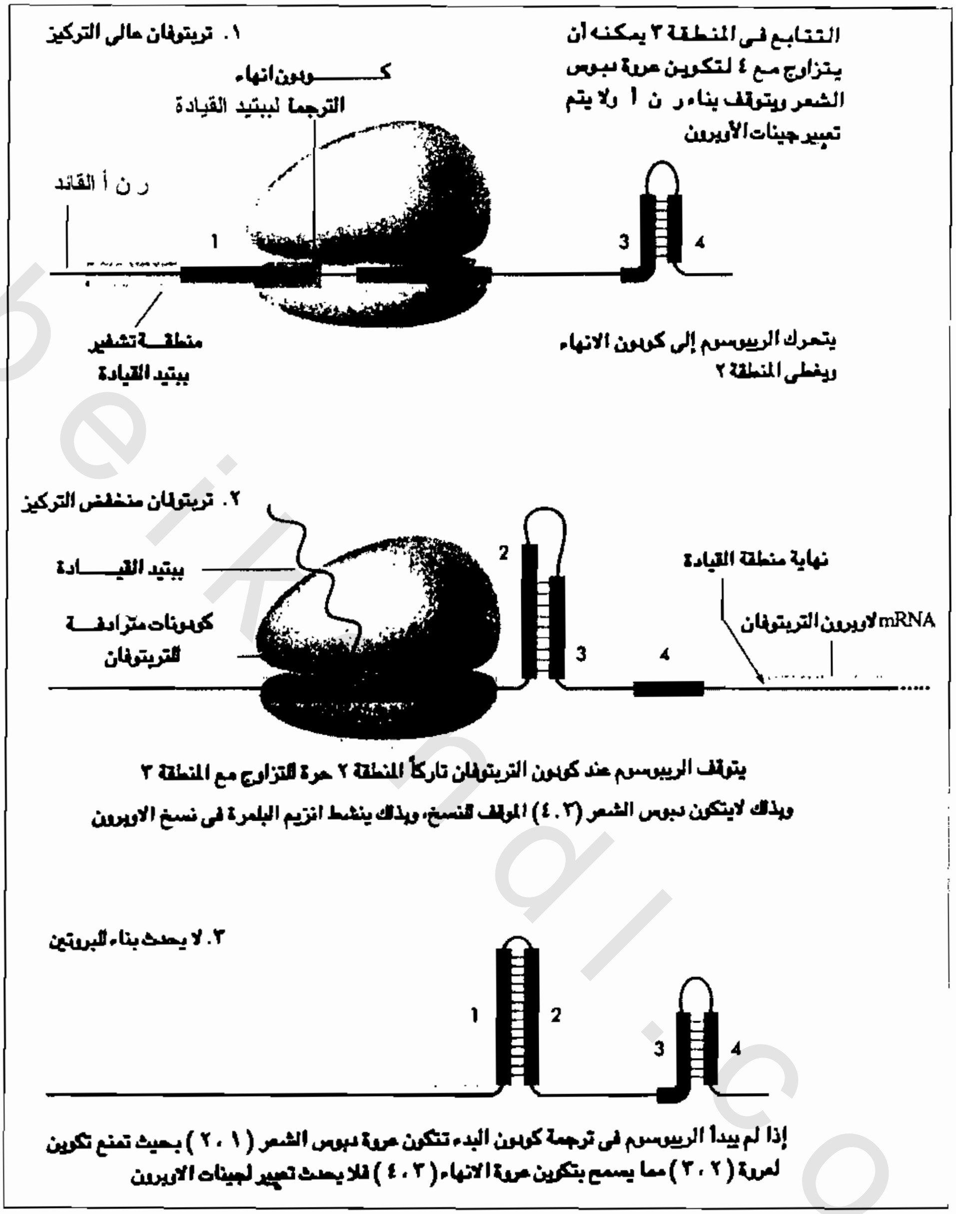
الشكل (١٠-١٤): تتابع النيوكلتيدات في منطقة القيادة Leader لجزئ ر ن أ في أوبرون التربتوفان

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

١- وجود شكل عروة دبوس شعر ثانية بالاضافة إلى عروة دبوس الشعر الخاصة بانهاء النسخ ويمكن أن تتكون هذه العروة الإضافية من تزاوج المنطقة ٢،١في منطقة القيادة Leader كما فى الشكل (١٠-١٥).

٢- أن تتابع القواعد فى المنطقة ٢ يكون متكاملاً مع المنطقة ٣ مما يعطى فرصة لتزاوج هاتين المنطقتين أيضا 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 ان تتابع منطقة القيادة يحتوى على كودونين متتاليين 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 ستة كودونات متتالية للهستيدين فى كل المنطقة.



الشكل (١٠-١٥): دور منطقة المبطىء Attenautor فى تنظيم نشاط أوبرون التربتوفان حسب مستوى تركيز التربتوفان

تبين أن وظيفة هذه الكودونات هى منع الريبوسوم من محاولة الاشـتراك فى ترجمة منطقة القيادة Leader. ومعنى ذلك أنه عندما يكون تركيز التربتوفان منخفضاً جداً فى الخلية يكون مقدار trp-tRNA ^{trp} منخفضاً جداً مما يحتم علـى الريبوسوم أن يتوقف عندما يصل إلى كودون التربتوفان فى منطقة القيادة ويظل mRNA حول كودون التربتوفان مرتبطا بالريبوسوم وبالتالى لا يمكنه الـدخول فى تكوين عروه دبوس الشعر للإنهاء (٤/٣) ويبين الـشكل (١٠-١٥) النتـائج المترتبة على ذلك. حيث يكون الريبوسوم مقيداً بكودون التربتوفان فـى مكـان يسمح بأن تظل المنطقة ٢ حرة للإرتباط بالمنطقة ٣ أويؤدى هذا بدوره إلي عدم إمكان تكوين عروه دبوس الشعر الخاصة بالانهاء (٤/٣) مما يـسمح لإنـزيم بلمرة ر ن أ بعبور منطقة المبطئ إلى الأوبـرون ويـتم نـسغ جينـات هـذا الأوبرون. ولكن إذا حدث من جهة أخـرى أن تـوفرت كميـات كبيـرة مـن التربتوفان فى البيئة ، وبالتالى ارتفع مقدار جزيئات trp-tRNA ^{trp} مما يـسمح للريبوسوم بالتحرك خلال كودون التربتوفان ، فإن الريبوسوم سيـشغل منطقـة التتابع ٢ مما يسمح بتكون عروة دبوس الشعر الخاص بإنهـاء النـسخ (٤/٣) وبالتالى يتوقف النسخ عند نهاية منطقة القيادة فى جزئ mRNA. هناك احتمال آخر وهو أن الترجمة قدتتوقف قبل كودون التربتوفان (وذلك نظراً لندرة أحـد الأحماض الأمينية الأخرى) أو قد تفشل فى البدء بالمرة مما يؤدى الى أن يصبح التتابع ١ حراً لكى يتزاوج مع التتابع ٢ وبالتالى تتكون عـروة دبـوس شـعر الإنهاء (٤/٣) التى تؤدى إلى إيقاف عملية تعبير الجينات فى هذا الاوبرون.

يعتقد أن أهمية منطقة القيادة فى جزئ mRNA ترجع فقط إلى أنها تـضع الريبوسوم فى المكان المناسب أثناء عملية الترجمـة لهـذه المنطقـة نفـسها. ومما يؤكد هذا الدور الفريد ان ببتيد القياده يتم تحليله انزيميا بعد ذلك مباشرة.

من الممكن ام يكون وجود كلا من ميكانيكتى التحكم بـــالتثبيط والابطـــاء يؤديان الى السماح فقط بحدوث النشاط النسخى حسب المستوى الذى يتوفر فيـــه التربتوفان فى الخليه بحيث يحتاج الأمر الى خطوتين للاستجابة حسب تـــصاعد درجة الاحتياج الى التربتوفان. إذ تحدث الاستجابة المبدئية المتمثله فى توقـــف ارتباط البروتين المثبط بمنطقة المشغل. وعندما تدعو الحاجة الى انتاج المزيـــد من التربتوفان فان الخطوة الثانية تؤدى الى الاسترخاء فى نظام الابطاء. وقـــد تبين ان بعض نظم الأوبرون الأخرى مثل أوبـــرون الهـــستيدين His Operon وأوبرون الليوسين Leu-operon تعتمدان اساسا على نظام الأبطاء ولا يحتـــوى أى منهما على نظام البروتين المثبط.

وعلى ذلك فان تنظيم إنتاج التربتوفان يتم على ثلاث مستويات وهى:

١- Repressor/Operator.

٢- Attenuation.

٣- Feedback Inhibition.