المحاضرة الثامنة : التعبير الجيني

المبدأ الاساسي للوراثة الجزيئية هو ان المعلومات الوراثية تتحرك وتنتقل بطريقتين هما :

1- من الـ DNA الى الـ DNA بعملية التضاعف Replication والتي تنتقل من جيل الى جيل .
2- من الـ DNA الى الـ RNA الى البروتين خلال التعبير المظهري في الكائن الحي .

تعد جزيئة الدنا احدى المكونات الوراثية الاساسية للخلايا الحية اذ تحمل هذه الجزيئة معلومات بصورة شفرة وراثية Genetic Code تنقل من خلية الى اخرى ومن كائن حي الى كائن حي آخر ، ويتم ذلك عن طريق مادة وسيطة بين المادة الوراثية والبروتين وهو الرنا الرسولي.

ان عملية نقل المعلومات الوراثية من الـ DNA الى الـ RNA الى البروتين تتطلب:

1) عملية استنساخ Transcription : وهي عملية نقل المعلومات الوراثية من الـ DNA الى RNA
2) عملية الترجمة Translation : وهي نقل المعلومات الوراثية من الـ RNA الى البروتين.

الاستنساخ Transcription

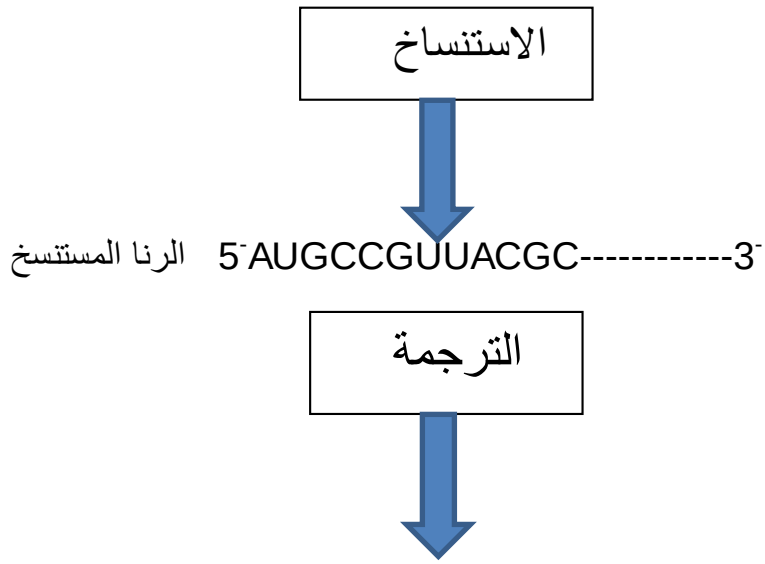
يعد الاستنساخ الخطوة الاولى في عملية التعبير عن المعلومات الوراثية ، وفيه يتم تخليق الرنا من احد شريطي الدنا ومن أجزاء معينة ومحدودة من هذا الشريط . ويتكون جراء عملية الاستنساخ الانواع الثلاثة من الرنا وهي الرنا المرسال او الوسيط mRNA (mesenger RNA) الرايبوسومي (ribosomal RNA) rRNA و الناقل tRNA (transfer RNA) ولكل نوع من هذه الانواع سيكون له دوره في الخطوة التالية من التعبير عن المعلومات والتي تسمى الترجمة Translation .

وتكمن المعلومات الوراثية في قطع من الدنا تعرف بالجينات genes او المورثات وهي عبارة عن سلسلة من النيوكليوتيدات على أحد شريطي جزيئة الدنا ويختلف طول هذه السلسلة باختلاف الجين ويتراوح مابين 75 نيوكليوتيدا (قاعدة نتروجينية) الى 40 ألف قاعدة .

يسمى شريط الدنا الذي يتم استنساخه بالشريط القالب template strand وهذا الشريط يمثل الشريط المضاد للتشفير anticoding strand او الشريط غير الحساس antisense ، بمعنى ان تتابعات القواعد النتروجينية فيه لا تتطابق مع تتابعات القواعد النيتروجينية للرنا المستنسخ منه ، وانما تكون مكملة لها تميزا له عن الشريط المقابل الذي يسمى بالشريط المشفر coding strand او الحساس sense strand ، وعليه ينتج عن عملية الاستنساخ جزيئة رنا بسلسلة من القواعد النيتروجينية مكملة في تتابعاتها للسلسلة التي استنسخت منها ومماثلة للسلسلة او الشريط المقابل مع حقائق ينبغي ان لا تغيب عن البال وهي : ان جزيئة الرنا تحتوي على سكر الرايبوز بدلا من الرايبوز منقوص الاوكسجين ، وعلى اليوراسيل U بدلا من الثايمين T . ويمكن تسمية جزيئات الرنا وبصرف النظر عن نوعها بالمستنسخات او نواتج عملية الاستنساخ وكما موضح في ادناه :

coding strand 5- ATGCCG TTACGC---------3- الشريط المشفر

anticoding strand or Template 3-TACGGC AATGCG---------- 5- الشريط
المضاد للتشفير او القالب



بروتين

ويلاحظ من المخطط ان جزيئة الدنا لا تعد القالب المباشر لتخليق البروتينات التي هي النواتج النهائية للتعبير عن الجينات في الدنا وفي جميع الكائنات الحية ، بل ان هناك قالبا وسطيا او جزيئات تتوسط في تخليق البروتينات تلك هي جزيئات الرنا.

أنواع الـ RNA ووظائفها :

كما ذكرنا آنفا فان عملية الاستنساخ تؤدي الى تكوين ثلاثة انواع من الرنا

النوع الأول mRNA (الرنا الوسيط) ويتوسط في نقل المعلومات الوراثية الكامنة في الجينات على شكل تتابعات من القواعد النيتروجينية الى الرايبوسومات بغية ترجمتها الى بروتينات، ومن هنا جاءت تسميته بالوسيط بدل المرسال او الرسول ، وعادة تمثل كل ثلاث قواعد نيتروجينية على الرنا الوسيط مايعرف بالشفرة الوراثية genetic code وكل شفرة تترجم الى حامض اميني (الذي سيتم توضيحه في عملية الترجمة).

النوع الثاني tRNA (الرنا الناقل) وهو ذو تركيب خاص يتوسط في عملية الترجمة من خلال شفرته المضادة والحامض الاميني الذي يحمله.

النوع الثالث rRNA (الرنا الرايبوسومي) يدخل في تركيب الرايبوسومات ويسهم في منح الرايبوسومات التي تعرف ببيوت تخليق البروتينات صيغتها التركيبية النهائية بالاشتراك مع بروتينات تعرف هي الاخرى بالبروتينات الرايبوسومية ، كما ان لها دور في تحديد القاعدة النيتروجينية على mRNA التي تبدأ عندها عملية الترجمة.

والـ RNA هو شريط مفرد بسلسلة طويلة من النيوكليوتيدات الرايبوزية ترتبط مع بعضها عبر اواصر فوسفاتية ثنائية الاستر ويتراوح عدد النيوكليوتيدات في جزيئات الرنا بين 75 (كما هو الحال في tRNA) وعدة آلاف (كما هوالحال مع بعض انواع mRNA و rRNA) ويتم استنساخ الرنا بوساطة انزيمات بلمرة الرنا.

أنزيمات بلمرة الرنا في بدائية النواة:

يعد RNA polymerase الانزيم الوحيد المسؤول عن استنساخ جزيئات الرنا في البكتريا ويسمى الانزيم تفصيلا بـ DNA dependent RNA polymerase وذلك لانه يتخذ من احد شريطي الدنا قالبا لبناء جزيئة من الرنا .

ان جميع انواع الرنا في البكتريا تستنسخ بوساطة الانزيم نفسه لكن الامر يختلف في حقيقية النواة اذ تتولى عملية الاستنساخ مجموعة من انزيمات بلمرة الرنا.

انزيمات بلمرة الـ RNA في حقيقية النواة:

1- انزيمات بلمرة الرنا النووي Nuclear RNA polymerase وتوجد في النواة والنوية وهو على ثلاث انواع: RNA polymerase I و RNA polymerase II و RNA polymerase III.

2- أنزيمات موجودة في كل من البلاستيدات و المايتوكوندريا وكلا هذين المكونين في الخلايا الحقيقية النواة تعدان من العضيات، لكل منهما مادتها الوراثية الخاصة بها والتي تشابه مادة الدنا في البكتريا والتي تكون حلقية دائرية مغلقة وبجزيئة واحدة.

يتألف انزيم بلمرة الرنا من الوحدات الثانوية التالية:

الوحدة σ سيكما وهي المسؤولة عن قيادة وارشاد الانزيم الى موقع ارتباطه بجزيئة الدنا، اما كل من الوحدات α ألفا وβ بيتا β^- بيتا فتحة فانها تكون ما يسمى بلب الانزيم وهي الوحدات الفعلية المسؤولة عن عملية الاستنساخ.

متطلبات عمل انزيم RNA polymerase :

1- القالب Template : ويتمثل القالب بالدنا ذو شريط مزدوج او شريط مفرد.
2- الانواع الاربعة من النيوكليوسيدات الرايبوزية ثلاثية الفوسفات وهي ATP و GTP و UTP و CTP .
3- ايون معدني ثنائي التكافؤ : ويتمثل بايونات المغنيسيوم Mg^{+2} او المنغنيز Mn^{+2} .

ان عملية الاستنساخ او تكوين وتخليق الـ RNA تشابه عملية تضاعف الـ DNA في عدة نواح :

1- ان عملية بلمرة او بناء الرنا هو باتجاه 5^{-} الى 3^{-} على أساس الشريط النامي او الشريط قيد البلمرة.
2- ان اضافة النيوكليوتيدات الرايبوزية تكون على الطرف OH - 3^{-} الحرة من الشريط النامي.
3- يتحرر عن كل اضافة لنيوكليوسيد رايبوزي ثلاثي جزيئة فوسفات ثنائية.

اما اوجه الاختلاف :

1- ان عملية الاستنساخ لا تحتاج الى بادئ primer بخلاف عملية التضاعف وهذا هو احد اوجه الاختلاف بين انزيمي RNA polymerase و DNA polymerase .
2- ان بلمرة جزيئات الرنا تكون مستمرة ذلك ان الانزيم يتخذ من احد شريطي الدنا قالبا بخلاف عملية التضاعف التي تتخذ فيها انزيمات بلمرة الدنا من كلا الشريطين قالبا .
3- تفتقر انزيمات بلمرة الرنا الى خاصية تدقيق القراءة proofreading activity .

خطوات عملية الاستنساخ :

1- مرحلة البدء Initiation :

يبدأ الاستنساخ من مواقع معينة ومحددة على الدنا تسمى بالحفازات promoters وتمتلك هذه المواقع تتابعات من القواعد النيتروجينية يسهل عنده فك ارتباط شيطي الدنا ، يتألف الحفاز من 40 زوجا من القواعد النيتروجينية . ولكل جين يتم استنساخه بصورة مستقلة حفازه الخاص يسبقه في الموقع وللحفازات المختلفة تتابعات متماثلة تقريبا من القواعد النيتروجينية ، تقرأ القواعد النيتروجينية في هذه التتابعات بالاتجاه المعاكس لحركة انزيم بلمرة الرنا او انزيم الاستنساخ اي بعكس اتجاه 5^{-} الى 3^{-} .

ولان التتابعات النيتروجينية في الحفازات تقرأ بعكس حركة الانزيم لذلك تمنح ارقاما تؤشر بعلامة سالب (-) وبدءا من اول قاعدة تسبق القاعدة التي تستنسخ من قبل الانزيم ويطلق عليها بمنطقة اعلى التيار up stream لانها تمثل منطقة ما قبل الاستنساخ ، اما منطقة الاستنساخ فتسمى بأسفل التيار down stream وتبدأ من أول قاعدة يتم استنساخها وترقم من (+1) صعودا .

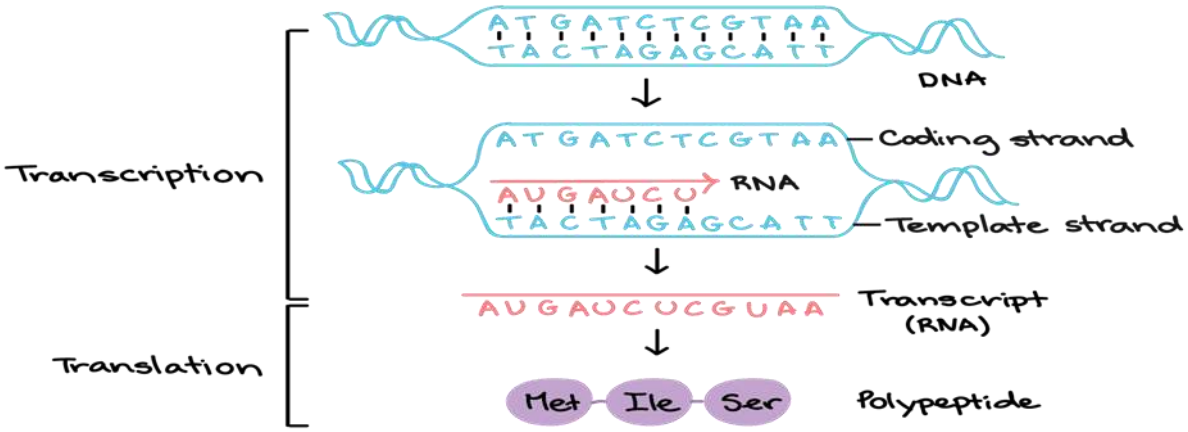
ويعتقد ان للقواعد النيتروجينية التي تقع ما بين -10 و -35 من الحفاز أهمية كبيرة في ارتباط انزيم بلمرة الرنا بشريط الدنا قيد الاستنساخ ، وان هذه المواقع تكون غنية بالادنين A والثايمين T اللذان يرتبطان بآصرتين هيدروجينيتين مما يسهل فك شريطي جزيئة الدنا في هذه المواقع من قبل الانزيم والتغلغل بينهما للشروع بالاستنساخ ، ويدعى الموقع -10 بتتابعات بريبنو او صندوق بريبنو

pribnow box نسبة الى مكتشفه، وتزداد سهولة تمييز هذه المواقع وارتباط الانزيم بها كلما كانت تتابعات القواعد النيتروجينية فيها مماثلة لـ TATAAT في الموقع -10 و TTGACA في الموقع -35 وبالتالي تحقق سرعة الاستنساخ وقوة التعبير عن الصفة الوراثية.

والحفازات موجودة في بداية جينات حقيقية النواة ايضا، بيد انها مؤلفة من سلسلة طويلة نوعا ما وتحتوي على موقعين مهمين يسميان موقع -25 او صندوق هوكنيس Hogness box وموقع -75 ويعتقد ان الاول الذي يمتلك التتابع 5^- TATAAAT 3^- أكثر اهمية من الثاني في ارتباط انزيم بلمرة الرنا بالحفاز.

2- الاستطالة Elongation :

بعد تكون ما بين ثماني الى تسع آصرة من الاواصر الفوسفاتية ثنائية الاستر بين النيوكليوتيدات في سلسلة الرنا التي هي قيد البناء ،تنفصل الوحدة الثانوية سيكما من الانزيم ويستمر Core enzyme في عملية البلمرة او استطالة الرنا على طول جزيئة الدنا القالب من خلال الاضافة المستمرة للنيوكليوتيدات الرايبوزية الى النهاية OH -3^- الحرة لشريط الرنا وبناء على قاعدة ازدواج القواعد النيتروجينية بين الرنا والقالب.



3- الانهاء Termination :

كما لاحظنا في مرحلة الابتداء فان انتهاء عملية الاستنساخ لا تتم بطريقة ذاتية او انها لا تحدث بصورة تلقائية بل عند نقطة او قاعدة نيتروجينية معينة تمثل آخر قاعدة ينبغي استنساخها وتقع هذه القاعدة خارج الجين بمسافة معينة تحتوي على ما تعرف بمنهي الاستنساخ transcription terminator الغنية بـ GC والتي تسهم في تكوين حلقة ماشة الشعر hairpin loop يتبعها خيط من اليوراسيل.

والمنهيات Terminator موجودة على الشريط القالب وتتألف من تتابعين معكوسين بينهما عدد معين من القواعد النيتروجينية وينتهي بمجموعة من الادينوسين A ، ولان تتابعات القواعد النيتروجينية في الرنا المستنسخ تكون مماثلة للشريط المقابل للقالب اي الشريط المشفر ، عليه فان الرنا المستنسخ ينتهي بمجموعة من اليوراسيل U في النهاية 3^- OH من مستنسخات الرنا .

ان الانتهاء من استنساخ التتابعين المعكوسين وما بينهما من القواعد ومجموعة اليوراسيل الاخيرة سيؤدي الى تشكيل تركيب مميز على الرنا يعرف بالعصا والحلقة ونظرا لان هذا التركيب يشبه ماشة الشعر او ماسكة الشعر فيسمى hairpin ايضا، ان مجرد تكون هذا التركيب خلف انزيم البلمرة

يتسبب في تباطئ حركة الانزيم او توقفه عن الاستمرار في عملية الاستطالة اعتمادا على ماشة الشعر المتكونة ومن ثم في انفصال انزيم بلمرة الرنا عن الشريط القالب وما يساعد على هذا الانفصال ضعف الاواصر التي تنشأ مابين القواعد U اليوراسيل في الجزء الاخير من الرنا وقواعد الادنين A في نهاية المنطقة المطلوب استنساخها من القالب.

تقدر درجة دقة عمل انزيم RNA polymerase بحوالي 10^5 مرة بقدر درجة دقة عمل انزيم بلمرة الدنا في عملية التضاعف ،لذلك فان معظم الطفرات الذاتية أي حدوث الاخطاء في اضافة القواعد النيتروجينية لجزيئة الدنا تحدث في مرحلة التضاعف.