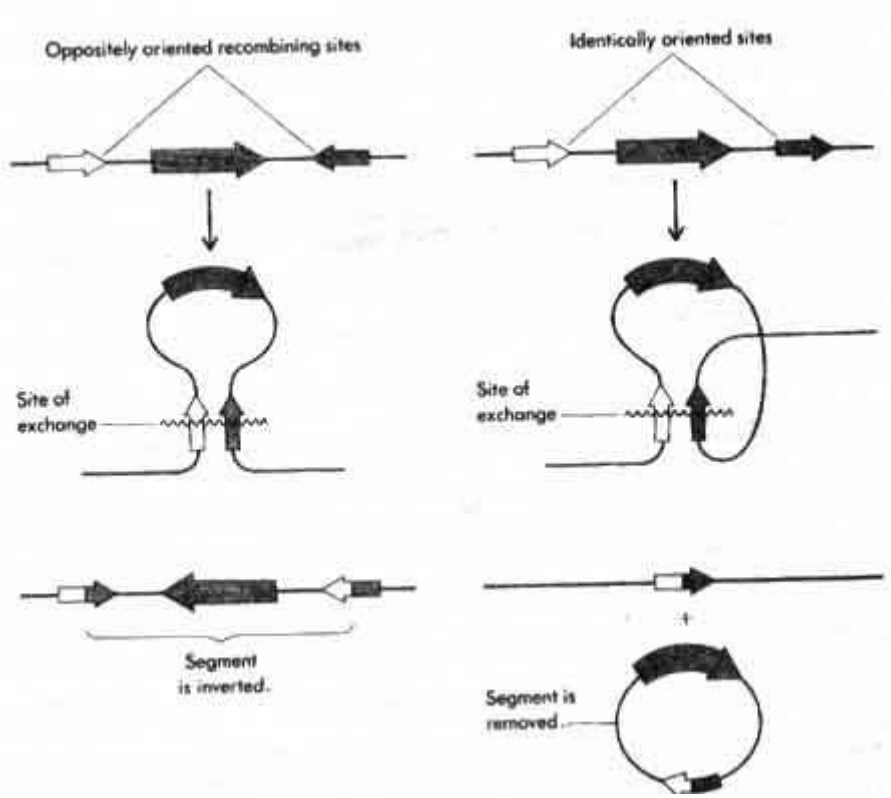
نوترکیبی در جایگاههای ویژه سبب تنظیم بیان ژن می‌شود

نوترکیبی دو جایگاه در یک مولکول DNA واحد بر حسب اینکه جهت جایگاههای فوق چگونه باشد ممکن است یکی از عواقب زیر را به دنبال داشته باشد: یا سبب حذف قطعه موجود بین دو منطقه فوق و یا باعث معکوس شدن آن شود (شکل).

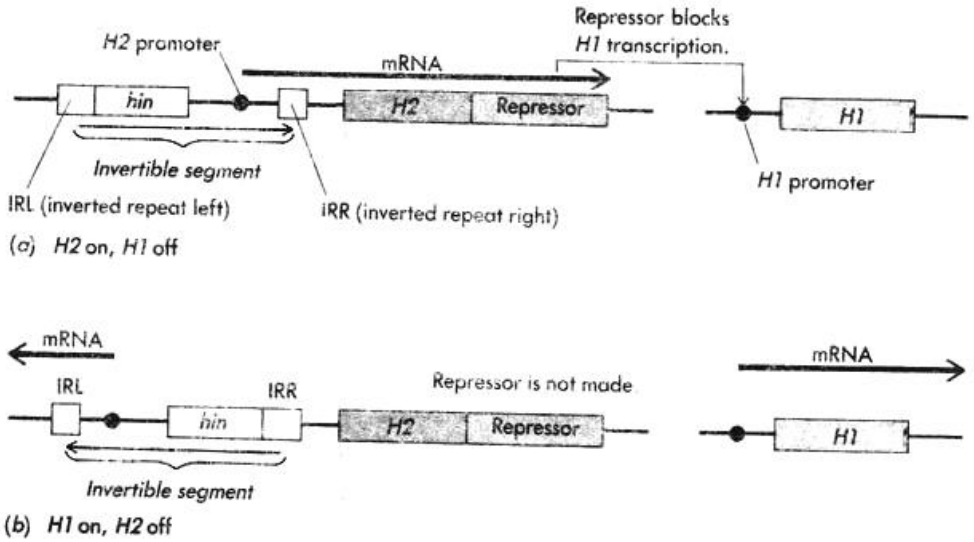


چگونه نوترکیبی بین دو جایگاه در مولکول DNA می‌تواند منجر به حذف و یا معکوس شدن قسمتی شود.

گاه سلول‌ها با معکوس کردن چنین قطعاتی دو توالی معکوس ایجاد می‌کنند که می‌توانند دو پروتئین یا دو گروه پروتئین مختلف را بیان نمایند. به عنوان مثال این مکانیسیم در فاژ Mu (موتاسیون دهنده) سبب تغییر نوع پروتئین‌های دم فاژ فوق می‌گردد بطوری که در اثر تنظیم قطعه معکوس شوند

gin موجود در فاژ *Mu*، دو نوع پروتئین مختلف دم فاژ بیان می‌شوند . چنین وضعی در مورد بیان آنتی‌ژن‌های تاژکی باکتری سالمونلا نیز صادق است و این عمل بطور بسیار پیچیده که یادآور چگونگی بازآرایی ژنهای مولد آنتی‌بادی‌ها است صورت می‌گیرد. تنوع پروتئین‌های سطحی تریپانوزوم نیز در اثر بازآرایی متوالی ژن‌ها رخ می‌دهد. شاید نوترکیبی برای کنترل پروتئین‌های سطحی باشد که به جاندار امکان دهد که منحصراً یکی آنتی‌ژن سطحی را بسازد و بدین ترتیب جاندار از واکنش آنتی‌بادیهای بسیار ناچیزی که به وسیله میزبان علیه سایر آنتی‌ژنها ساخته است در امان می‌ماند.

در سالمونلا بیان متناوب ژنی منجر به ایجاد دو نوع پروتئین تاژکی *H1* , *H2* می‌شود. در هر زمان سلول تنها یکی از این دو نوع پروتئین را بیان می‌کند و هرگز هر دو با هم بیان نمی‌شوند. پروموتر ژن *H2* در مجاورت قطعه *DNA* معکوس شونده‌ای بطور ۹۷۰ جفت باز واقع شده است و در دو سمت آن ۱۴ جفت باز تکراری در دو جهت مخالف قرار گرفته‌اند (شکل).



تنظیم بیان ژنهای *H1* , *H2* پروتئین‌های تاژکی سالمونلا با معکوس کردن قسمتهایی از *DNA*. *IRL* و *IRR* نواحی تکرار شونده‌ای هستند که معکوس می‌شوند. این عمل به وسیله آنزیمی که توسط ژن *Hin* کد می‌گردد، امکان‌پذیر است.

بنظر می‌رسد این همولوژی کوتاه (۱۴ جفت باز) مشابه همولوژی توالی مرکزی در هنگام انتگراسیون فاژ لامبدا برای هدایت نوترکیبی باشد. از آنجا که ردیفهای همولوگ در دو جهت مخالف قرار گرفته‌اند، در هر بار تبادل، قطعه مزبور وارونه می‌گردد. اگر قطعه فوق در یک جهت باشد پرومـوتر در کنار ژن $H2$ قرار می‌گیرد که می‌تواند با ژن مجاور که سدکننده ژن پروتئین تاژکی $H1$ است رونویسی شود. بدین ترتیب $H1$ خاموش و $H2$ رونویسی می‌شود. اگر قطعه فوق معکوس گردد به دلیل آنکه $H2$ پروموتری ندارد،رونویسی نمی‌شود. از طرف دیگر به دلیل عدم سنتز سدکننده $H1$ پروتئین $H1$، ساخته می‌شود. ضمناً قطعه معکوس شده فوق آنزیم Hin که عمل معکوس شدن را کاتالیز می‌نماید را بیان می‌کند. احتمالاً فعالیت یا بیان آنزیم Hin در هنگامی که رشد سلول مختل شده است، افزایش می‌یابد و بدین ترتیب امکان ایجاد پروتئین سطحی جدید بوجود می‌آید.

یک کشف غیرمترقبه! ترانسپوزون‌ها ژن‌ها را به جایگاههای جدید و غیرمرتبط منتقل می‌کنند

وجود مکانیسم‌های اختصاصی نوترکیبی در جایگاههای ویژه، عقیده ما را در مورد اینکه نوترکیبی معمولاً سبب حفظ ردیف ژن‌ها در کروموزوم‌ها می‌شود را تغییر نمی‌دهد. به هر حال باآرایی در جایگاههای ویژه محدود و حفاظتی است و در جانداران عالیتر به دلیل آنکه غالباً تنها در سلول‌های سوماتیک انجام می‌شود به ارث نمی‌رسد. به هر حال تحقیقات بیشتر نشان داد که بازآرایی کروموزوم‌ها بطریق کاملاً غیرمنتظره‌ای روی می‌دهد. بهترین مثال، بازآرایی ژن‌های مربوط به مقاومت باکتریها نسبت به آنتی‌بیوتیکهایی چون تتراسایکلین و پنی‌سیلین است. این ژن‌ها توسط پلاسمیدهایی که هیچ نوع

همولوژی با کروموزوم باکتری ندارند حمل می‌شوند. در سلول حامل چنین پلاسمیدهایی گاه ژن مقاومت به آنتی‌بیوتیک در کروموزوم باکتری یا زاده‌های فاژهایی که در آن رشد یافته‌اند دیده می‌شود. چنین یافته‌هایی نشان دهنده آن هستند که نوترکیبی فوق احتمالاً بدون وجود همولوژی صورت می‌گیرد. به هر حال ژنهایی که بدین طریق در باکتری یا زاده‌های فاژی قرار گرفته‌اند مجدداً ممکن است به پلاسمید دیگری منتقل شوند. چنین نوترکیبی‌هایی بسیار بندرت رخ می‌دهند (کمتر از 10^{-6} بار) ولی براحتی می‌توان آنها را در ژنومی که ژن مقاومت را حمل می‌نماید پیدا کرد. مطالعاتی که با میکروسکوپ الکترونی بر روی هترودوپلکس‌ها انجام شده و نیز تحقیقات انجام شده با استفاده از آنزیم‌های محدودکننده نشان داد که هنگامی که مقاومت در سلول بوجود می‌آید توالی DNA جدیدی در ژنوم دخول کرده است. چنین قطعات DNAای که بدون وجود همولوژی می‌توانند حرکت کنند به نام ترانسپوزون خوانده می‌شوند. طور ترانسپوزون‌های شناخته شده بین ۷۵۰ تا ۴۰۰۰۰ جفت باز است که چیزی حدود اندازه فاژهای متوسط می‌باشد.

ترانسپوزونهایی که در باکتری‌ها شناخته شده‌اند دو نوع هستند: نوع مرکب و نوع ساده. به نوع ساده توالیهای دخولی نیز گفته می‌شود. ترانسپوزونهای مرکب علاوه بر ژنهایی که برای انجام روند انتقال لازم هستند واجد یک یا چند ژن دیگر می‌باشند. این ترانسپوزونها اگر حامل مارکرها یا شاخصهای ژنتیکی چون ژنهای مولد مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیکها و یا تولید سموم باشند، را می‌توان براحتی تشخیص داد. توالیهای دخولی تنها ژنهای مربوط به انتقال خود را حمل می‌کنند و حضور آنها را می‌توان به دو طریق نشان داد: اول اینکه آنها سبب خاموش شدن ژنهایی می‌شوند که در آنها دخول یافته‌اند، ثانیاً ممکن است دارای پروموتر باشند، در نتیجه امکان اتصال RNA پلی‌مراز و رونویسی ژنهای خاموش

مجاور محل دخول را می‌دهند. با آنکه عمل اختصاصی توالیهای دخولی در باکتریها شناخته نشده است گفته می‌شود که آنها شاید به عنوان عوامل طبیعی تغییر ژنتیکی ساختمان ژنوم و تغییر بیان ژنها محسوب شوند.

ترانسپوزونهای مرکب اغلب در انتهاهای خود واجد توالیهای دخولی کامل یا بقایای آنها می‌باشند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ممکن است ترانسپوزونهای مرکب در اثر پرش توالیهای دخولی در دو سمت یک ژن سلولی بوجود آیند. توالیهای دخولی که به انتهاهای ژنهای فوق متصل شده‌اند، نمی‌توانند بطور مستقل حرکت کنند. علت این امر آن است که آنها در طول تکامل چنان تغییر یافته‌اند که بخوبی بصورت یک واحد پیوسته منتقل می‌شوند.

دلایلی وجود دارند که ترانسپوزونها در تمام جانداران یافت می‌گردند بعضی از ترانسپوزونهای کلی‌باسیل در جدول 1 نشان داده شده‌اند. ترانسپوزونهای جانداران عالیتر شامل عناصر T_y موجود در مخمر عناصر *Copia* در درزوفیلا و رتروویروس‌های ساکن بسیاری از سلول‌های گونه‌های مختلف می‌باشند .(جدول 1).

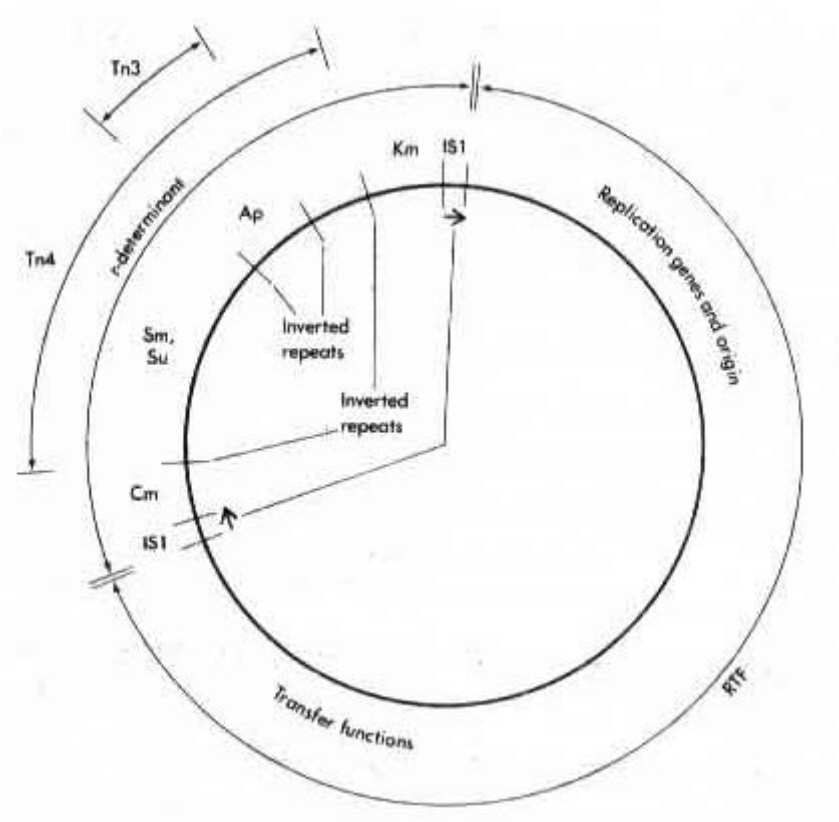
ترانسپوزونها عمدتاً عامتل انتقال مقاومت نسبت به داروها هستند و معمولاً مقاومت نسبت به چند دارو را بطور همزمان انتقال می‌دهند.

بعضی از توالیهای دخولی و ترانسپوزونهای مرکب

	اندازه *(bp)*	دفعات تکرار *DNA* هدف *(pb)*	عمل یا پروتئین تولید شده
توالیهای دخولی			
*IS*1	۷۶۸	۹	_
*IS*2	۱،۳۲۷	۵	_
*IS*10 – *R*	۱،۳۲۹	۹	_
ترانسپوزونهای مرکب			
*Tn*3	۴،۹۵۷	۵	مقاومت به آمپی‌سیلین
*Tn*5	۵،۷۰۰	۹ (*IS*50 در انتها)	مقاومت به کانامایسین
*Tn*10	۹،۳۰۰	۹ (*IS*10 در انتها)	مقاومت به تتراسیکلین
*Tn*681	۲،۱۰۰	۹ (*IS*1 در انتها)	آنتروتوکسین مقاوم به حرارت
*Tn*2571	۲۳،۰۰۰	۹ (*IS*1 در انتها)	مقاومت به کلرآمفنیکول، فوسید یک اسید استرپتومایسین، سولفانامیدها و جیوه

هنگامی که یک باکتری عفونت‌زا نسبت به چند آنتی‌بیوتیک بطور همزمان مقاوم شده باشد، درمان بسیار مشکل می‌شود. در واقع مقاومت نسبت به چند آنتی‌بیوتیک فوق توسط ژنهای مختلفی که هر یک مقاومت نسبت به یک آنتی‌بیوتیک را باعث می‌شوند و بر روی یک پلاسمید قرار گرفته‌اند، بوجود می‌آید. بدین ترتیب می‌توان گفت که بوجود آمدن چنین پلاسمیدی به کمک نوترکیبی

ترانسپوزونها بدون وجود همولوژی صورت گرفته است. در اثر نوترکیبی، ژنهای فوق در یک پلاسمید واحد قرار می‌گیرند و چنانچه در محیط آنتی‌بیوتیکهای متعددی بطور همزمان وجود داشته باشند، این پلاسمیدها باقی خواهد ماند. پلاسمید مرکب R_1 که بطور طبیعی وجود دارد از ترانسپوزونهایی که مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیکهای کلرامفنیکول *(Cm)* کانامایسین *(Km)* و نیز ترانسپوزون کامل $Tn4$ که مقاومت به استرپتومایسین *(Sm)* سولفونامید *(Su)* و آمپی‌سیلین *(Ap)* را بوجود می‌آورد تشکیل شده است (شکل). $Tn4$دارای یک ترانسپوزون مستقل به نام $Tn3$ می‌باشد که نسبت به آمپی‌سیلین مقاومت ایجاد می‌کند. ژنهای مربوط به مقاومت (شاخصهای مقاومت) با اتصال به ژنهای مربوط به همانندسازی و انتقال پلاسمید، پلاسمید کاملی را بوجود می‌آورند. ژنهای مربوط به انتقال پلاسمید در تماس جنسی بین باکتری میزبان و سایر باکتری‌ها توزیع می‌شوند و بدین ترتیب پلاسمید در جمعیتی از باکتری‌ها قرار می‌گیرد. طبیعت بسیار انعطاف ایجاد چنین ترکیباتی سبب ایجاد انواع پلاسمیدها در طبیعت و لوله آزمایش شده است.



R_1 پلاسمید مرکب و در عین حال طبیعی است که ۹۴ کیلو باز طول دارد و دارای ژنهای مقاومت به پنج آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکول *(Cm)* استرپتومایسین *(Sm)* سولفونامید *(Su)* آمپی‌سیلین *(Ap)* و کانامایسین *(Km)* می‌باشد. این پلاسمید دارای دو بخش است که در سایر پلاسمیدها می‌تواند وجود داشته باشد: شاخص مقاومت و عامل انتقال مقاومت این عامل سبب ایجاد پروتئین‌هایی می‌شود که حرکت پلاسمید از سلولی به سلول دیگر (جفت‌گیری) را امکان‌پذیر می‌سازد. طرز تشکیل R_1 بدین ترتیب است که در اثر قرار گرفتن یک توالی دخولی IS_1 در کنار مجموعه ژنهای انتقالی، آنها به یکدیگر ملحق می‌شوند و مجموعه پایداری بوجود می‌آید که در محلهای اتصال دارای IS_1 می‌باشد.