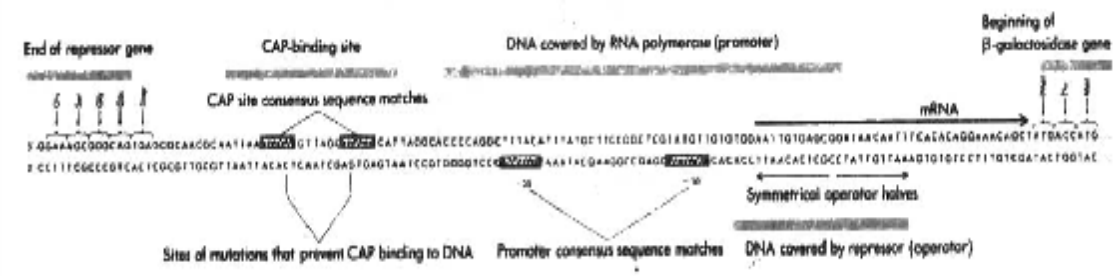
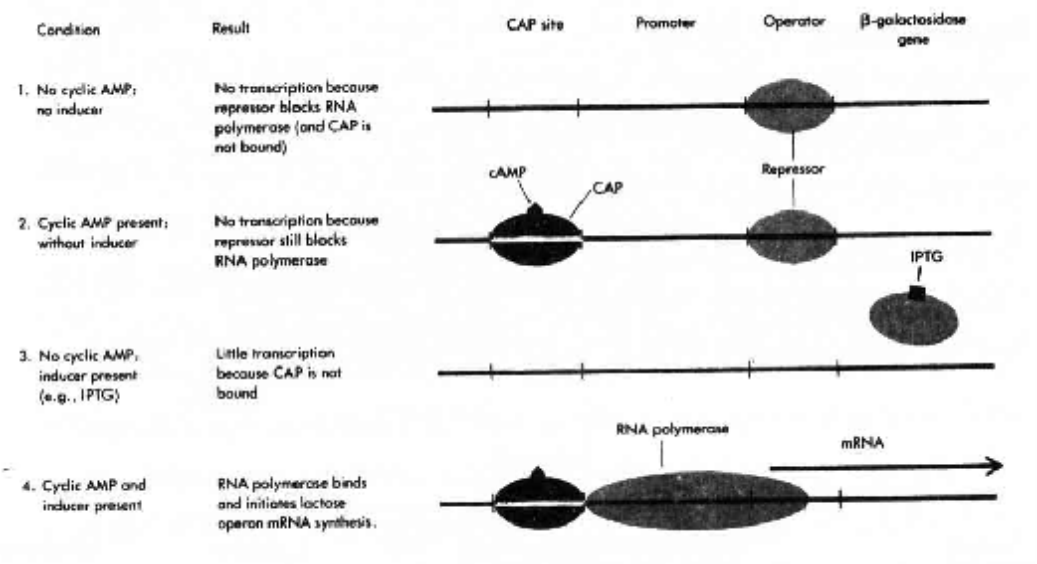
CAP اتصال RNA پلیمراز از پروموتر لاکتوز را کنترل می‌نماید

نه CAP و نه هیچ مولکول سدکننده‌ای بر سرعت طویل شدن $mRNA$ اثری ندارند. بلکه در واقع هر دو بر سرعت اتصال RNA پلیمراز به پروموتر تاثیر می‌گذارند. سدکننده‌ها مانع و کمپلکس $cAMP - CAP$ باعث اتصال RNA پلیمراز به پروموتر اپرون لاکتوز می‌شوند و بدین طریق سرعت سنتز RNA را تغییر می‌دهند. جایگاه اتصال CAP به اپراتور لاکتوز نیز مانند جایگاه اپراتور، با استفاده از جهش‌هایی که مانع عمل آن می‌شوند (در شرایطی که $cAMP$ درون سلولی بالا است و آنزیم‌ها سنتز نمی‌شوند) و نیز با روشهای ردپا و حمایت شیمیایی، شناسایی شده است. در نتیجه این مطالعات معلوم شده است که CAP متصل به $cAMP$ در مجاورت محل اتصال RNA پلی‌مراز به پروموتر، به آن متصل می‌شود (شکلهای **1** و **2**).



شکل **1** : توالی نوکلئوتیدی و چگونگی سازمان‌یابی ناحیه کنترل اپرون لاکتوز در کلی باسیل

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir



شکل2: کنترل شروع رونویسی اپرون لاکتوز بوسیله CAP، رپرسور و $cAMP$ و یک القاءکننده (مانند آلولاکتوز که یک القاکننده طبیعی است و یا ایزوپروپیل تیوگالاکتوزید $[IPTG]$ که یک القاءکننده صناعی مفید است).

چگونه CAP اتصال RNA پلیمراز به پروموتر را تقویت می‌کند؟ بررسی نقش CAP در شناسایی نحوه عمل پروتئین‌های تنظیمی بسیار مهم است و در این زمینه دو نظریه وجود دارد یکی اینکه محل قرار گرفتن RNA پلیمراز و CAP به اندازه کافی بیکدیگر نزدیک است تا مستقیماً با یکدیگر تماس حاصل کنند. چنین تماس پروتئین – پروتئینی می‌تواند باعث تقویت اتصال RNA پلیمراز شود. ثانیاً، اتصال CAP ممکن است، ساختمان مارپیچ مضاعف DNA اطراف جایگاه اتصال را بگونه‌ای تغییر دهد که RNA پلیمراز آنرا راحت‌تر از زمانی که به CAP متصل نیست، شناسایی کند. امروزه می‌دانیم که DNA به اندازه کافی انعطاف پذیر است تا امکان چنان تغییر شکلهایی در ساختمان مارپیچ مضاعف را پدید آورد.

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

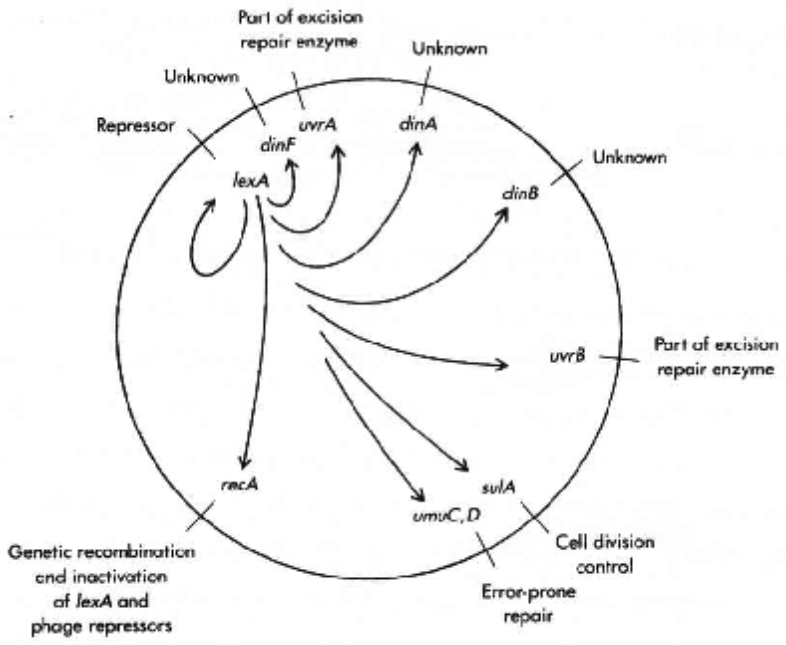
بررسی نحوه عمل پروموتر در لوله آزمایش

یکی از راههای شناسایی نحوه عمل پروموترها و اپراتورها، بررسی رونویسی در لوله آزمایش است. برای مثال هنگامیکه *DNA* اپرون لاکتوز بعنوان الگو در لوله آزمایش مورد استفاده قرار می‌گیرد، ملاحظه می‌شود که اتصال *RNA* پلیمراز به آن و شروع سنتز *mRNA* به وجود همزمان *cAMP* و *CAP* نیاز دارد. چنانچه الگوی *DNA* از سلولهای جهش‌یافته‌ای جدا شده باشد که اپرون لاکتوز حتی در صورت وجود گلوکز رونویسی می‌شود، بوجود *CAP* در لوله آزمایش نیازی نیست. چنین آزمایشاتی بوضوح نشان می‌دهندکه *cAMP*، *CAP* ورپرسورها در سطح رونویسی عمل می‌کنند و عمل آنها از طریق تغییر میزان نفوذپذیری غشاء نیست.

ژنهای ترمیم *DNA* که در جایگاههای زیادی از کروموزوم قرار دارند، بوسیله یک سدکننده واحد تنظیم می‌شوند

سدکننده *Lac* تنها بیک اپراتور متصل می‌شود و این اپراتور در نزدیکی ژن مزبور قرار دارد ولی هیچیک از موارد فوق برای عمل سدکننده ضروری نیست. بعبارت دیگر چون مولکولهای سدکننده در سلول منتشر می‌شوند، ژنهای زیادی حتی با فاصله نسبتاً زیاد می‌توانند تحت تاثیر قرار گیرند. با غیرفعال شدن چنین سدکننده‌هایی سلول می‌تواند چندین ژن مربوط بیک عمل مشترک را بطور همزمان روشن نماید. بعنوان مثال می‌توان از حدود پانزده ژن *SOS* که پروتئین‌های مربوط به ترمیم آسیب‌های وارد به *DNA* (مثلاً آسیبهایی که در اثر اشعه ماوراء بنفش ایجاد می‌شوند) را سنتز می‌کنند نام برد (شکل 3).

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir



شکل3: جایگاه ژنهای SOS مربوط به ترمیم DNA در کروموزوم حلقوی کلی‌باسیل، کلیه ژنهای SOS بوسیله سدکننده $LexA$ تنظیم می‌شوند. نام ژنها داخل و اعمال آنها (اعمال شناخته شده) خارج از دایره نشان داده شده‌اند.

هر ژن SOS دارای اپراتوری است که می‌تواند به سدکننده $LexA$ متصل شود. $LexA$ توسط ژن $LexA$ سنتز می‌شود.

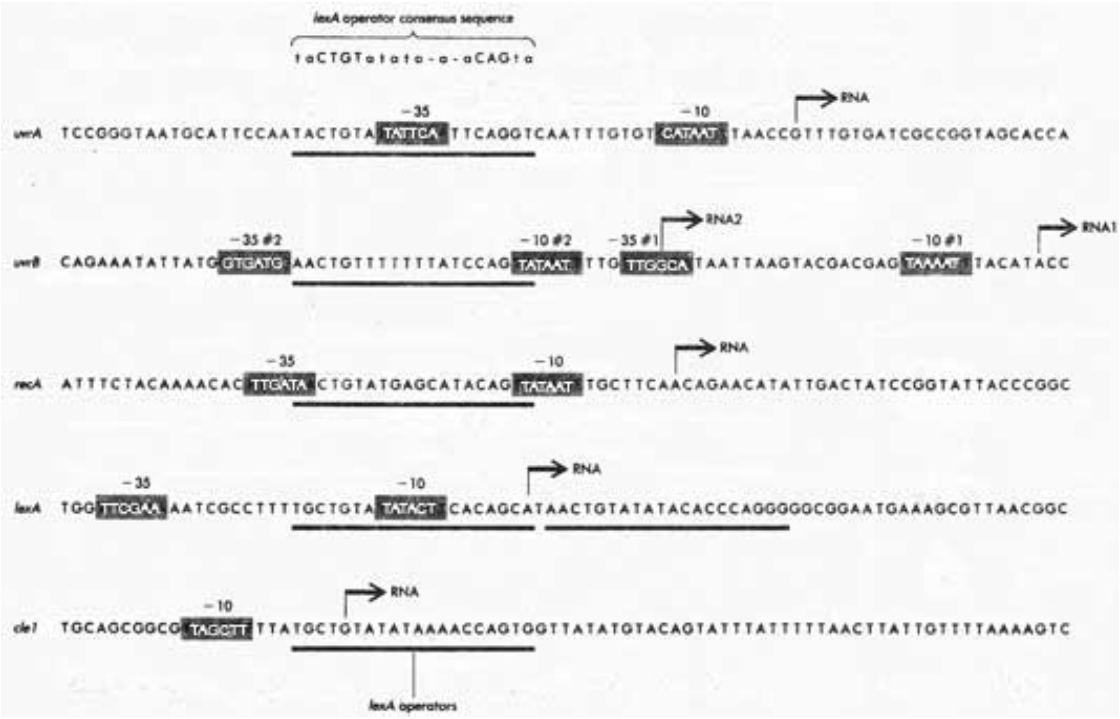
نواحی آسیب‌دیده DNA بوسیله آنزیمی بنام پروتئین $RecA$ ترمیم می‌شود این پروتئین که در نوترکیبی هم نقش دارد چنانچه در هنگام همانندسازی آسیبی به DNA وارد شده باشد که باعث تک رشته‌ای شدن قسمتی از آن شود، می‌تواند باعث ترمیم آسیب فوق از طریق نوترکیبی شود. بطور شگفت‌انگیزی معلوم شد که القاکننده ژنهای SOS مولکول کوچکی مانند لاکتوز یا تریپتوفان نیست، بلکه خود پروتئین $RecA$ است. پروتئین $RecA$ در اثر اتصال به DNA تک رشته‌ای، خاصیت پروتئازی اختصاصی نسبت به سدکننده $LexA$ (و سدکننده فاژ لامبدا) می‌یابد. جایگاه هیدرولیز فوق نسبت به جایگاه اتصال این پروتئین به DNA با فاصله قرار دارد. با فعال شدن جایگاه

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

هیدرولیز پروتئین $RecA$، مولکولهای $LexA$ بدو قطعه تبدیل می‌شوند و حاصل آنکه پروتئین $LexA$ دیگر نمی‌تواند به اپراتور وصل شود در نتیجه $mRNA$ ژنهای SOS سنتز می‌شوند. برخلاف سدکننده لاکتوز، غیرفعال شدن $LexA$ برگشت ناپذیر است و تنها زمانی که مقدار $LexA$ مجدداً افزایش یابد، سدکنندگی می‌تواند صورت گیرد.

القاء ژنهای SOS نشان می‌دهد که چگونه انعطاف‌پذیری و کنترل ظریف سدکننده می‌تواند نیازهای سلولی را برطرف نماید. $LexA$ علاوه بر ژنهای SOS، مانع فعالیت ژنهای $recA$ و $LexA$ می‌شود. در اینجا سدکنندگی کامل نیست و حتی در شرایطی که سدکننده در حد پایه طبیعی وجود دارد، مقداری از هر دو ساخته می‌شود. تخریب $LexA$ سبب افزایش سرعت سنتز پروتئین‌های $RecA$ و $LexA$ می‌گردد. افزایش فوق در هر مورد هدف خاصی را دنبال می‌کند. هر چه آسیب به DNA بیشتر باشد پروتئین $RecA$ بیشتری در سلول متراکم می‌شود تا نیاز سلول برای سرعت بیشتر ترمیم DNA بوسیله نوترکیبی برآورده شود. در حالت برعکس در شرایط آسیب به DNA چنانچه سنتز $LexA$ در سلول زیاد باشد چون فعالیت پروتئازی $RecA$ نیز زیاد است، براحتی کلیه $LexA$های جدید با سرعت تخریب می‌شوند، این سنتز سریع $LexA$ پس از ترمیم آسیب و از بین رفتن فعالیت پروتئازی بسیار مهم است. بدین ترتیب $LexA$ بسرعت ساخته می‌شود و سدکنندگی مجدداً با کارآیی مناسب انجام می‌شود. نحوه دیگر تنظیم در بیان ژن UV_rB ملاحظه می‌شود. این ژن یکی از ژنهای SOS است که قسمتی از آنزیم اصلی ترمیم حذفی را می‌سازد. در شرایطی که سدکننده $LexA$ فعال وجود داشته باشد، این پروتئین در حد پایه بالایی سنتز می‌شود. سنتز $mRNA$ این پروتئین از دو پروموتر مجاور ولی مجزا شروع می‌گردد. تنها یکی از این دو پروموتر بوسیله $LexA$ سد شده، دومی همواره فعال است و بنابراین همواره در حد پایه‌ای، آنزیم ترمیم حذفی فوق سنتز می‌شود (شکل **4**).

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir



شکل4: توالیهای DNA ناحیه پروموتر پنج ژن SOS. مکانهای پروموتر و اپراتورها را نشان داده شده‌اند. پروموتر I ژن UV_rB بوسیله $LexA$ سد می‌شود در حالیکه پروموتر 2 چنین نیست. ژن $LexA$ دو اپراتور مجاور دارد که محصول خودش به آنها متصل می‌شود. ژن $Cle1$ پلاسمید $ColE1$ پروتئین کلی‌سین $E1$ را می‌سازد که یک توکسین ضدباکتری است. در توالی اپراتور $LexA$ آندسته از بازهای که بشدت حفظ شده‌اند سیاهرنگ و آنها که نسبتاً کمتر حفظ شده‌اند رنگی نشان داده شده‌اند.

نکته مهمتر و جالب این است که اپراتورهای ژنهای مختلف SOS میل ترکیبی متفاوتی به سدکننده $LexA$ دارند، بطوریکه میل ترکیبی بعضی ضعیف است و در این صورت پس از آسیب ملایم به DNA (که حد متوسطی از فعالیت پروتئازی را باعث می‌شود و مقدار $LexA$ تنها دو تا سه برابر کاهش می‌یابد)، ژنهای فوق روشن می‌شوند. اپراتورهای دیگر میل ترکیبی بیشتری به $LexA$ دارند و تنها زمانیکه آسیب شدیدی به DNA وارد شده باشد (در نتیجه غلظت $LexA$ خیلی کم شده باشد)، القاء می‌شوند. با بررسی و مقایسه توالیهای DNA در ناحیه شروع چند ژن SOS چگونگی سدکنندگی نشان داده شده است. هرجایی از پروموتر که سدکننده به DNA وصل

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

می‌شود، ممکن است باعث عدم اتصال *RNA* پلی‌مراز شود (ر.ک. به شکل4). بنابراین بعضی از اپراتورهـا در هگزامـر 35- و بعضی بین هگزامرهای 35- تا 10- و یکی در هگزامر 10- و بعضی دیگر عمدتاً درون ناحیـه رونویـسی قـرار گرفته‌اند. از آنجا که جایگاه اتصال *RNA* پلیمراز از هر دو طرف خارج از هگزامرهای *Consensus* است، تنوع جایگاه فوق باید از اهمیت خاصی برخوردار باشد. اینکه *LexA* پروموتر 2 ژن UV_rB را سد می‌کند و بـر روی پرومـوتر یـک اثری ندارد، بیانگر آنست که یک سدکننده ممکن است روی هفت یا هشت باز از هگزامر 35- قرار گیرد، بدون آنکـه مانع عمل *RNA* پلیمراز شود.

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir