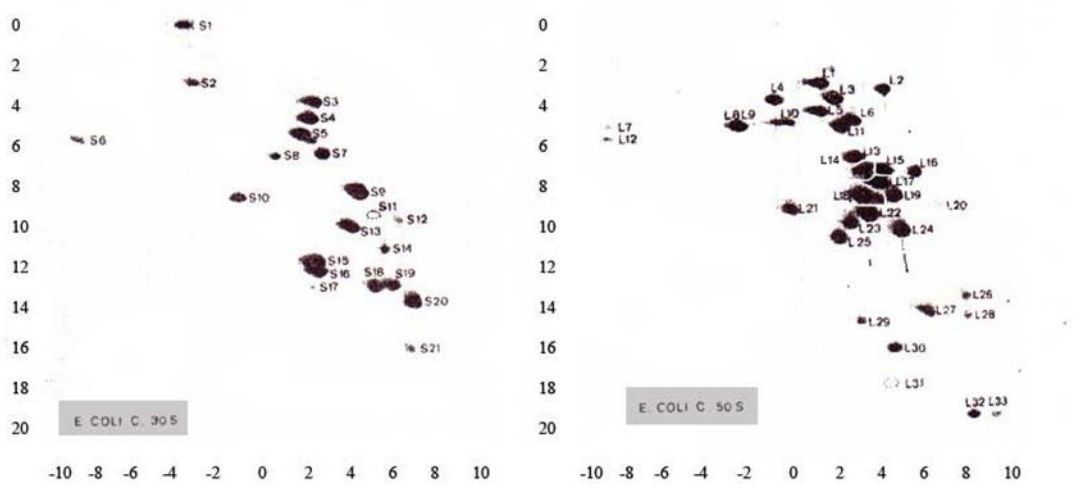
تشکیل $AA\sim tRNA$ بسیار دقیق است

چگونگی انتخاب صحیح اسیدهای آمینه مشابه، توسط آنزیم‌های آمینواسیل -$tRNA$ سنتتاز ابتدا بنظر معما جلوه می کرد. اینکه آنزیم ایزولوسیل -$tRNA$ سنتتاز بطور دقیق ایزولوسین را از والین تمیز می‌دهد بسیار جای تعجب بود. تنها تفاوت این دو اسیدآمینه یک گروه متیل است بنابراین اختلاف انرژی اتصال والین به آنزیم ایزولوسین -$tRNA$ سنتتاز تنها ۳ – ۲ کیلوکالری است، یعنی انرژیی که ابتدا بنظر می‌رسید که از خطاهای فراوان جلوگیری کند. برای مثال هنگامی که آنزیم ایزولوسیل -$tRNA$ سنتتاز در مقابل مخلوط مساوی ایزولوسین و والین قرار گیرد، احتمال بوجود آمدن یک کمپلکس فعال اشتباه $Val - AMP$ تنها یک درصد خواهد بود. چنانچه کلیه این کمپلکسها به $tRNA$ ایزولوسین انتقال داده شوند میزان خطا بطور غیرقابل قبولی افزایش می‌یابد (منظور قرار دادن اسیدآمینه اشتباه در رشته پروتئین است) ولی باید دانست که چنین انتقال بندرت صورت می‌گیرد. چون هنگامی که $tRNA$ ایزولوسین به یک آنزیم ایزولوسیل -$tRNA$ سنتتازی که به آن والین متصل شده است $(Val - AMP\text{-}\ isoleucyl - tRNASynthetase)$ برخورد نماید تقریباً تمامی مولکولهای $Val\text{-}AMP$ از هم جدا شده و به اجزاء تشکیل دهنده خود $(Val\ ,\ AMP)$ تبدیل می شوند (شکل۱). برای انجام چنین عمل تصحیحی باید اسیدآمینه دائماً در هر دو مرحله آنزیمی که توسط سنتتازها کاتالیز می‌شود به جایگاه فعال متصل باقی بماند. در نتیجه این عمل تمیز ایزولوسین از والین دو بار کنترل می‌شود و احتمال خطای نهایی به $10^{-4}(10^{-2}\times 10^{-2})$ کاهش می‌یابد.

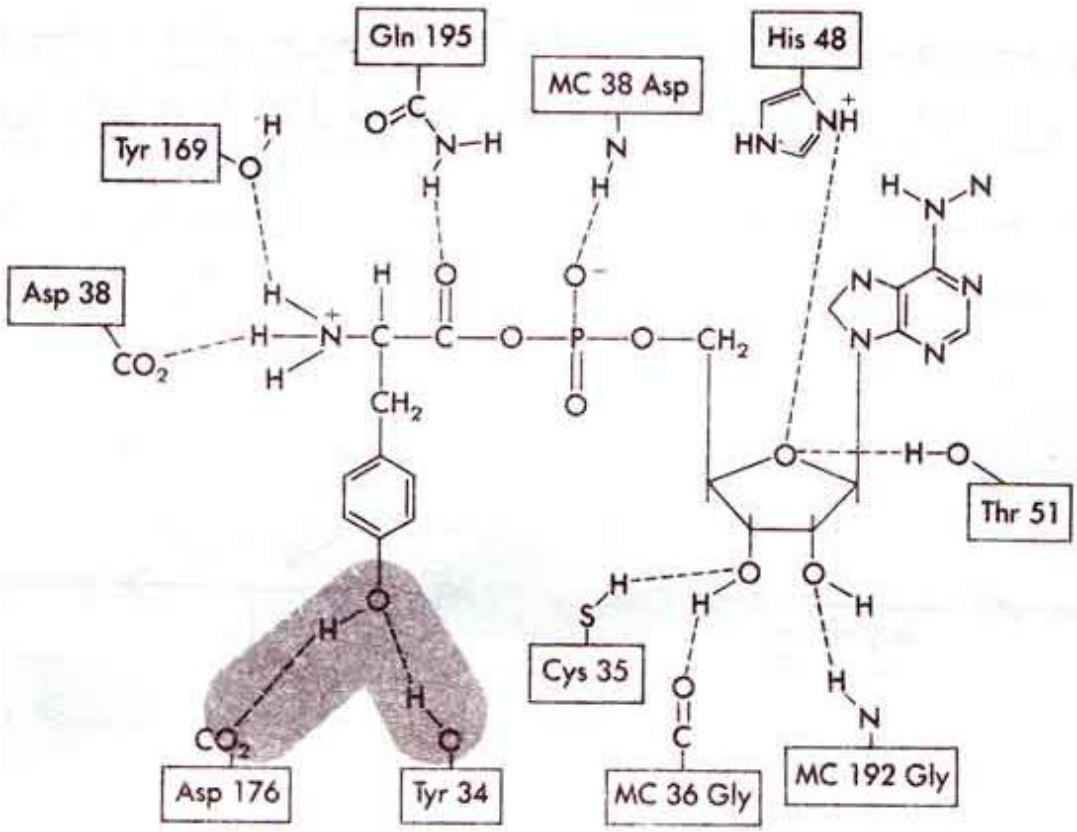
(شکل۱)



طرح حاصل از الکتروفورز دو بعدی ۲۱ پروتئین زیرواحد کوچک (سمت چپ) و ۳۴ پروتئین زیرواحد بزرگ ریبوزومی (سمت راست). بنظر می‌رسد L_{26}, S_2 یک نوع پروتئین باشند. L_8 نشان‌دهنده کمپلکس $L_{10}, L_7 / L_{12}$ است. شماره‌گذاری پروتئین‌های فوق براساس اندازه آنها صورت گرفته است بطوریکه هر چه پروتئین بزرگتر باشد در هنگام الکتروفورز کمتر حرکت می‌کند و عدد کوچکتری به ان نسبت داده می‌شود. مثلاً پروتئین S_1 بزرگترین ($MW \cong 60,000$) و S_{21} کوچکترین ($MW \cong 8000$)پروتئین‌های زیرواحد کوچک *(30S)* هستند. همچنین L_1 بزرگترین ($MW \cong 25000$) و L_{34} کوچکترین ($MW \cong 5000$) پروتئین زیرواحد بزرگ $50S$ ریبوزوم می‌باشند.

امروزه روشن شده است که عمل تصحیح تنها در ان دسته از آنزیمهایی انجام می‌شود که انجام دقت کافی طی یک مرحله تشخیص کافی نباشد. برای مثال با بررسی ساختمان سه بعدی آنزیم تیروزیل $tRNA$- سنتتاز روشن شده است که این آنزیم بخوبی قادر است بین فنیل‌آلانین و تیروزین که تنها اختلافشان یک گروه هیدروکسیل موجود در تیروزین است، تمیز قایل شود و این تمایز از طریق ایجاد پیوند هیدروژنی اختصاصی آنزیم فوق با گروه OH تیروزین صورت می‌گیرد (شکل۲). اسیدهای آمینه آسپاراژین، آسپارتیک، سیستئین، هیستیدین، لیزین و تریپتوفان نیز بدون انجام عمل تصحیح از یکدیگر تمیز داده می‌شوند.

(شکل۲)

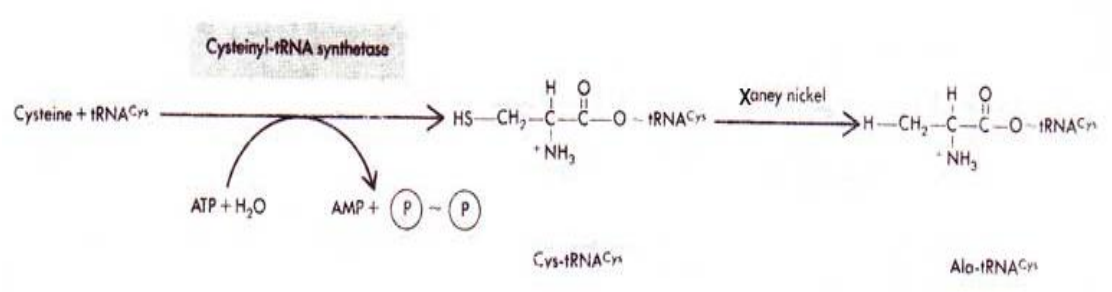


پیوندهای هیدروژنی تشکیل شده بین آنزیم تیروزیل - $tRNA$ سنتتاز و تیروزیل – آدنیلات. ساختمان سه‌بعدی فوق که با مطالعات بلورشناسی بکمک اشعه ایکس بدست آمده است نشان‌دهنده آن است که یازده پیوند هیدروژنی می‌تواند بین آنزیم و $AA-AMP$ بوجود آید. در آنزیم سنتتاز گروههای جانبی اسیدهای آمینه و نیز گروههایی که مربوط به زنجیره اصلی (MC^{l}) هستند درگیر می‌باشند نه تنها گروه هیدروکسیل تیروزین می‌تواند بوجود آید که چنانچه فنیل آلانین به جای تیروزین قرار گیرد چنین واکنش‌هایی نیز انجام نخواهد شد.

به محض آنکه یک اسیدآمینه به $tRNA$ مربوط به خود متصل شد در هیچیک از مراحل بعدی سنتز پروتئین، مجدداً مورد شناسایی قرار نمی‌گیرد. آزمایش زیر که در این زمینه انجام شده است شاهدی است بر این مدعا: ابتدا سیستئین به $tRNA$ مربوط به خود ($tRNA^{Cys}$) متصل می‌شود و سپس بطور شیمیایی گروه $-SH$ آن جدا شده و تبدیل به آلانین می‌شود (شکل۳). هنگامی که چنین $tRNA$ ایی که به آلانین متصل است به یک سیستم در حال سنتز پروتئین (لوله آزمایش حاوی

رتیکولوسیت‌های لیز شده در حال سنتز هموگلوبین می‌باشد) اضافه شود ملاحظه می‌گردد که در کلیه جایگاههای سیستئین در هموگلوبین جدید آلانین قرار گرفته است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مولکولهای $tRNA$ مولکولهای انطباقی واقعی هستند که انتخاب آنها تنها توسط الگو $(mRNA)$ صورت می‌گیرد.

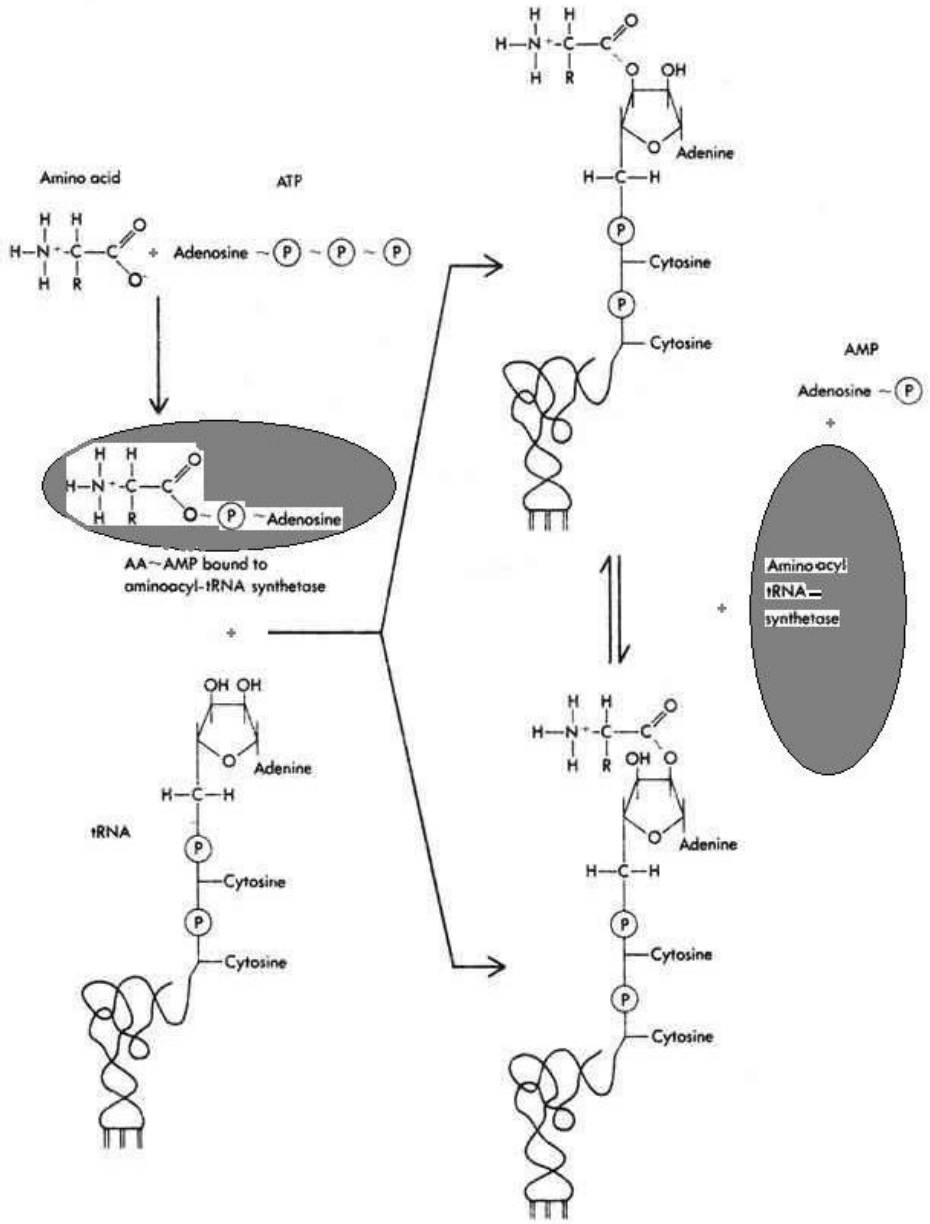
(شکل۳)



چگونگی تبدیل زنجیره جانبی سیستئین به آلانین پس از اتصال $tRNA - Cys$. آلانین در جایگاههای سیستئین مولکول هموگلوبین قرار می‌گیرد.

آنزیم‌های آمینواسیل $- tRNA$ سنتتاز از نظر اندازه و تعداد زیرواحدهای پلی‌پپتیدی تشکیل دهنده آنها بسیار متنوع هستند. بعضی از سنتتاز اسیدآمینه را به $3' - OH$ و بعضی به $2' - OH$ قند ریبوزو انتهایی $tRNA$ متصل می‌کنند. بهرحال پس از اینکه $tRNA$ به اسیدآمینه مربوط به خود متصل شد می‌تواند بسرعت بین دو جایگاه فوق که از نظر شیمیایی بسیار شبیه هستند جابجا شود (شکل۴). کمی بعد هنگامی که اسیدآمینه به زنجیره پلی‌پپتیدی در حال رشد انتقال می‌یابد. جایگاه فوق مهم می‌شود بدین ترتیب که همواره اسیدآمینه باید از گروه $3'$جدا شود.

(شکل۴)



فعال شدن یک اسیدآمینه توسط ATP و انتقال آن بر روی انتهای CCA مولکول $tRNA$ مربوط به آن. توجه شود که اسیدآمینه هنگامی که به $tRNA$ متصل شد، می‌تواند بین جایگاههای OH $3'$ و $2'$ آدنوزین انتهایی جابجا شود.

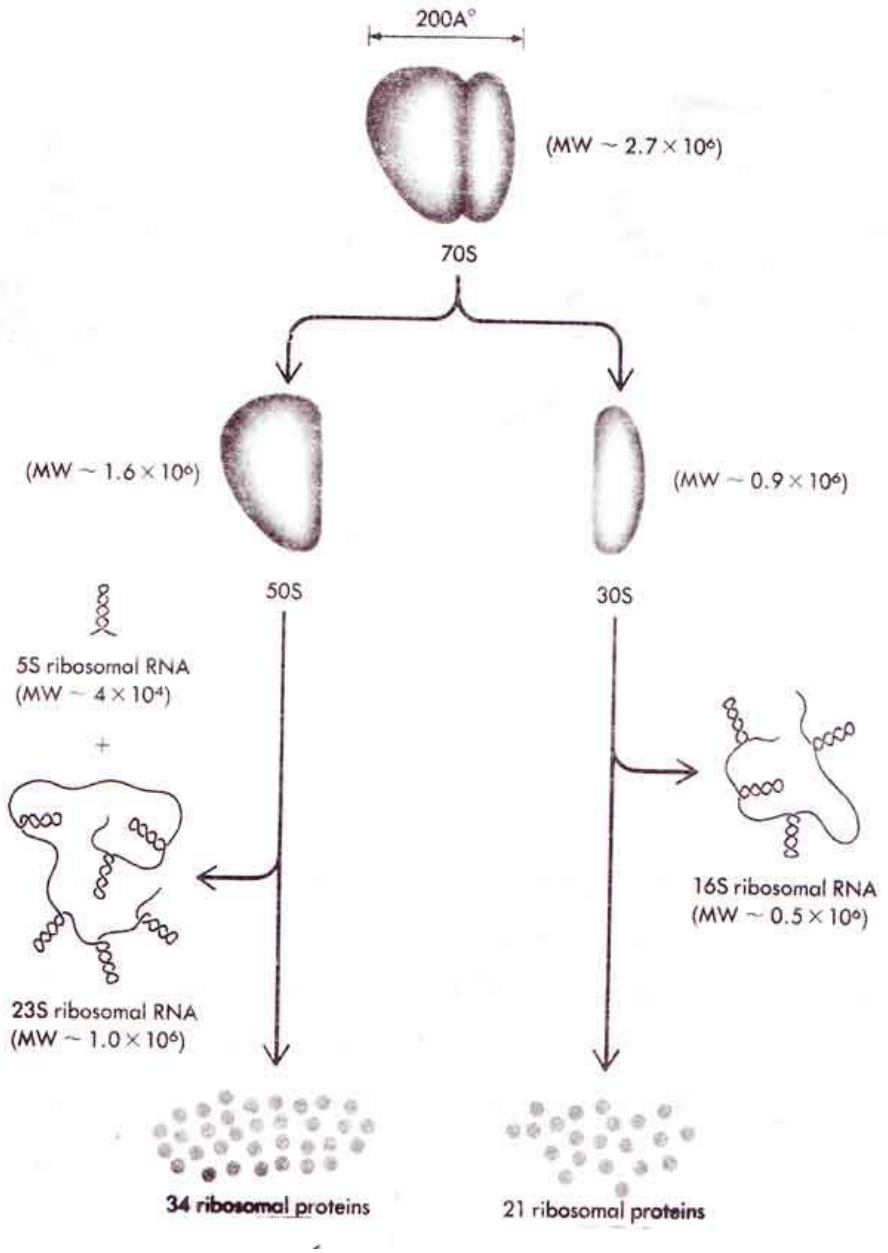
ایجاد پیوندپپتیدی در ریبوزومها صورت می‌گیرد

پس از آنکه اسیدهای آمینه به مولکولهای انطباق‌دهنده خویش متصل شدند در ریبوزوم‌ها جا می‌گیرند. ریبوزوم‌ها ذرات کروی هستند که عمل سنتز پروتئین بر روی آنها انجام می‌شود. باید دانست که هرگز پروتئین‌سازی در محلول فاقد ریبوزوم انجام نمی‌شود. بنابراین ریبوزوم‌ها را می‌توان بعنوان کارخانه‌های کوچک پروتئین‌سازی محسوب کرد که عمل اصلی آنها قرار دادن صحیح پیش‌سازهای $AA\text{-}tRNA$ و الگوی RNA است. بطوریکه کد ژنتیکی بطور صحیحی خوانده شود. بنابراین ریبوزوم‌ها باید حاوی سطوح اختصاصی و جایگاههای استرئوشیمیایی مناسب جهت اتصال الگو $(mRNA)$ و پیش‌سازهای $AA\text{-}tRNA$ و زنجیره پلی‌پپتیدی در حال رشد باشند.

در هر سلول کلی‌باسیل در حال رشد سریع حدود ۱۵۰۰۰ ریبوزوم وجود دارد که وزن مولکولی هر یک از آنها کمی کمتر از ۳ میلیون دالتون است. $\frac{1}{4}$ وزن کل باکتری را ریبوزومها تشکیل می‌دهند بنابراین قسمت بزرگی از اعمال سنتزی سلول به سنتز ریبوزومها اختصاص دارد. در یک زمان در روی هر ریبوزوم تنها یک زنجیره پلی‌پپتیدی می‌تواند ساخته شود. در شرایط مطلوب برای سنتز زنجیره پلی‌پپتیدی بطول ۴۰۰ اسیدآمینه (به وزن مولکولی تقریبی ۴۰۰۰۰) حدود ۱۰ ثانیه وقت لازم است. پس از ختم سنتز زنجیره پلی‌پپتیدی ریبوزومها آزاد می‌شوند و می‌توانند بلافاصله جهت سنتز پروتئین دیگری بکار گرفته شوند.

هر ریبوزوم از دو زیرواحد تشکیل شده است، زیرواحد بزرگتر تقریباً دو برابر زیرواحد کوچکتر است (شکل۵). هر دو زیرواحد حاوی RNA و پروتئین می‌باشند. نسبت RNA به پروتئین در ریبوزوم باکتریها دو به یک است. در بسیاری از جانداران دیگر نسبت به فوق ۱:۱ می‌باشد.

(شکل۵)



ساختمان ریبوزوم کلی‌باسیل. این ریبوزوم معمولاً $70S$ خوانده می‌شود. $70S$ ضریب ته نشست ریبوزوم در سانتریفوژ است (Sاول سوئدبرگ و نشانه سرعت ته‌نشین شدن است). علائم $30S$، $50S$، $16S$ و $23S$ بترتیب ضریب ته‌نشست زیرواحدهای کوچک و بزرگ و RNAهای ریبوزومی است. کلیه ریبوزومهای باکتریها اندازه مشابه ریبوزوم کلی‌باسیل دارند. بعبارت دیگر دارای زیرواحدهای $30S$ و $50S$ هستند. در حالی که در جانداران عالیتر ریبوزومها تا حدی بزرگتر $(80S)$ بوده و از زیرواحدهای $40S$ و $60S$ تشکیل شده‌اند.

پروتئین‌های مختلفی در دو زیرواحد فوق وجود دارند. ۲۱ نوع پروتئین زیرواحد کوچکتر *(30S)* کـه بـا علائم S_1 تا S_{21} نشان داده می‌شوند، اندازه‌های مختلفی دارند (شـکلهای۵و۱). اخیـراً تـوالی کلیـه پروتئین‌های فوق تعیین شده است و نشان داده شده که از هر یک از آنها یک نـسخه در هـر ریبـوزوم وجود دارد. زیرواحد بزرگتر *(50S)* دارای ۳۴ پروتئین است که بصورت L_1 تا L_{34} نشان داده می‌شـوند. علیرغم اینکه از اکثر این پروتئین‌ها در هر ریبوزوم یـک نـسخه وجـود دارد تنهـا از پروتئینـی بنـام L_7 / L_{12} چهار نسخه وجود دارد کـه $N-$ انتهـایی بعـضی از آنهـا دارای گـروه اسـتیل مـی‌باشـد. پروتئین L_7 / L_{12} در مراحلی از سنتز پروتئینی که با مصرف انرژی همراه است نقش دارد.