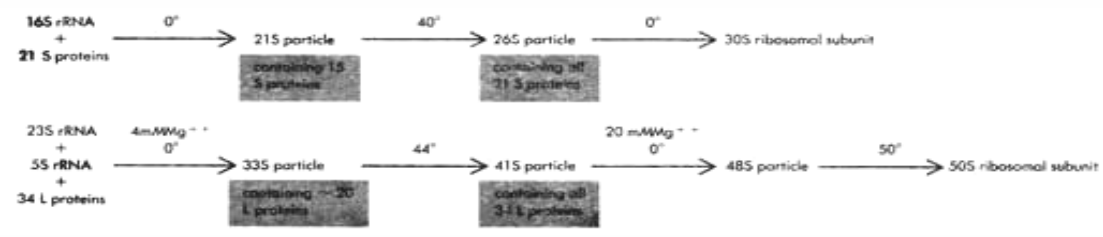
قسمتهای مجزا شده ریبوزومها در لوله آزمایش بطور خودبخودی به ریبوزوم کامل تبدیل می شود

در سال **1968** نشان داده شد که اجزاء مختلف *RNA* و پروتئین زیر واحد کوچک کلی باسیل بطور کامل در لوله آزمایش کنار هم قرار می گیرند و چنین زیر واحدهایی که بازسازی شده اند کاملاً از نظر پروتئین سازی فعال بوده عملی مشابه زیر واحدهای *S* **30** طبیعی نشان می دهند. با توجه به آنکه مونتاژ فوق بجز *RNA* ریبوزومی *S* **16** و **21** نوع پروتئین موجود در زیرواحد کوچکتر به چیز دیگری احتیاج ندارد می‌توان گفت که بازسازی فوق در لوله آزمایش یک پدیده خود مونتاژی واقعی است. این مطالعات همچنین نشان داد که بعضی از پروتئین ها مستقیماً به *rRNA* متصل می شوند در حالیکه مونتاژ بعضی دیگر از پروتئین ها مستلزم وجود مجموعه پروتئین- *rRNA* است (شکل **1**).

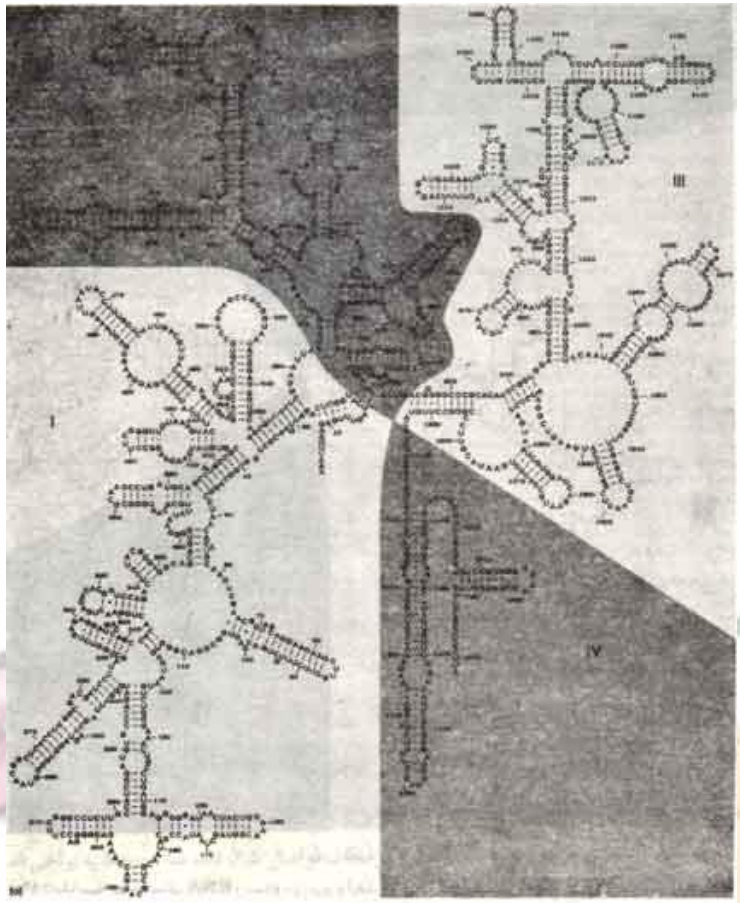


شکل 1 : مسیر واکنش هایی که منجر به مونتاژ زیر واحدهای *S* **30** و *S* **50** کلی باسیل می شود. در این شکل مراحل انرژی خواه که در آنها تغییر شکل فضایی رخ می دهد نشان داده شده است. بر حسب روش تهیه *RNA* ریبوزومی می توان نشان داد که **7** و یا **13** پروتئین *S* (پروتئین های مربوط به زیر واحد کوچکتر را با حرف *S* نشان می دهند) مستقیماً به *RNA* ریبوزومی *S* **16** متصل می شوند، در حالیکه این تعداد در مورد *RNA* ریبوزومی *S* **23** برابر **17** پروتئین *L* می باشد. به *RNA* ریبوزومی *S* **5** تنها سه پروتئین بطور مستقیم وصل می شوند.

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

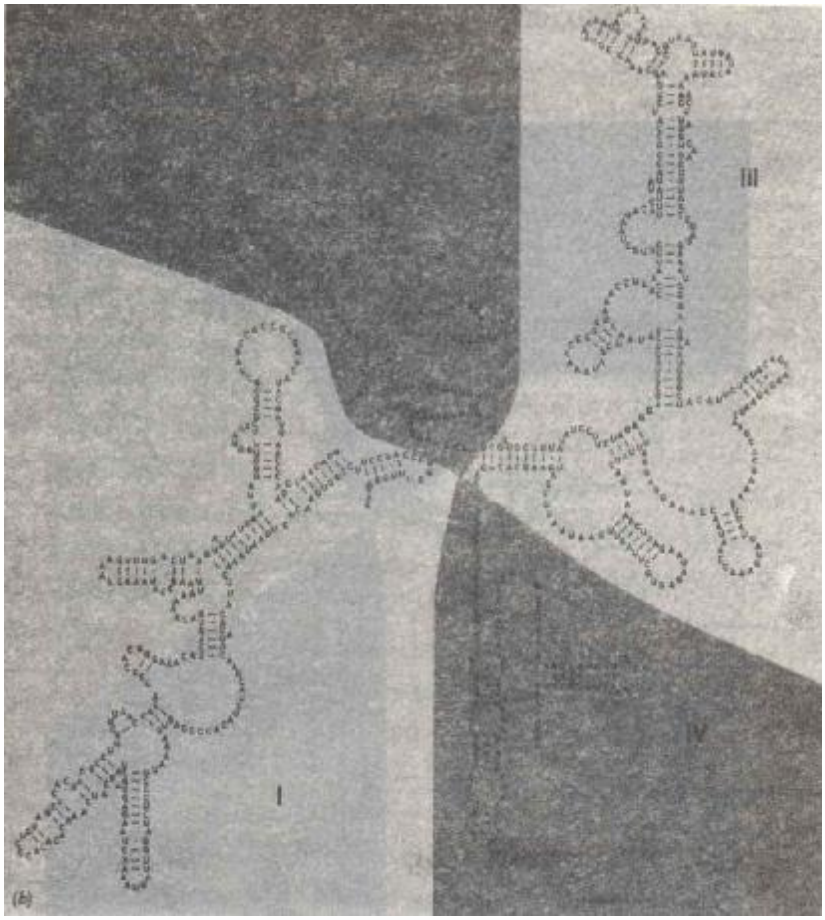
در مورد پروتئین های اخیر این بدان معنی نیست که آنها به RNA ریبوزومی وصل نشده و مثلاً به پروتئین های دیگر متصل می گردند، بلکه ممکن است که پروتئین هایی که ابتدا به $rRNA$ متصل می شوند، تغییر شکل فضایی خاصی در $rRNA$ بوجود آورند که سبب ایجاد یا در معرض قرارگرفتن جایگاههای اتصال به پروتئین های فوق شوند. برای مثال گفته می شود که پروتئین S_4 که در مراحل اولیه بازسازی زیر واحد S 30 شرکت می کند، با اتصال به دو ساقه مارپیچی که مناطق I, II ساختمان تاخورده RNA ریبوزومی S 16 (شکل زیر) را به هم نزدیک می کند، سبب پایداری آنها می شود.

(a)ساختمان RNA ریبوزومی S 16 کلی باسیل .



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

(b)ساختمان RNA ریبوزومی S 12 میتو کندری گاو



مقایسه ساختمان RNA ریبوزومی زیر واحد کوچک کلی باسیل (a) که S 16 و میتوکندری گاو (b) که S 12 می باشد. کلیه ساقه های فوق با مقایسه گونه های مختلف رسم شده اند. جفت شدن بازها که سبب ایجاد چهار منطقه (IV, III, II, I) اصلی این RNA ها می شود نشان داده است. توجه شود که علیرغم اختلاف زیادی که در طول RNA های مختلف وجود دارد (1542 نوکلئوتید در S 16 و 954 نوکلئوتید در S 12) معهذا ساختمان چهار منطقه فوق در دو جاندار بطور مشابه وجود دارد.

بازسازی زیر واحد S 50 کلی باسیل در لوله آزمایش مشکل تر انجام می شود و این بدلیل آن است که اولاً در این زیر واحد پروتئین های بیشتری وجود دارند و دیگر اینکه دو نوع $rRNA$ (S 23 و S 5) در آن قرار

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

می گیرد. تحقیقات نشان می دهد که پس از آنکه نیمی از پروتئین ها با دو نوع RNA فوق پیوند یافتند، تغییر شکل فضایی خاصی رخ می دهد و سپس پروتئین های دیگر می توانند در جایگاههای صحیح خویش قرار گیرند (ر.ک. به شکل 1). نکته بسیار مهم این است که اولین پروتئین هایی که در بازسازی شرکت می‌کنند به انتهای $5'$ مولکول RNA ریبوزومی $23\,S$ متصل می شوند و پروتئین های بعدی بیشتر با نواحی نزدیک به انتهای $3'$ مولکول فوق واکنش نشان می دهند. بنابراین بطور طبیعی هم مونتاژ ریبوزوم هماهنگ با جهت رونویسی $RNA(5'-3')$ ریبوزومی صورت می گیرد.

دانستن شرایط لازم برای مونتاژ دو زیر واحد ریبوزومی می تواند کمک بزرگی به درک ساختمان و عمل ریبوزوم نماید. برای مثال چنانچه بازسازی ریبوزوم در شرایطی که یک یا چند پروتئین اختصاصی آن وجود نداشته باشد انجام شود نقش پروتئین (پروتئین های) غایب شناخته می شود. بدین طریق می توان پروتئین‌هایی که در ریبوزوم اعمال بخصوصی مانند تشکیل پیوند پپتیدی و هیدرولیز GTP را بعهده دارند شناسایی کرد. همچنین با بازسازی ریبوزومها با استفاده از مخلوطی از پروتئین های ریبوزومی طبیعی و جهش یافته و یا پروتئین های ریبوزومی گونه های مختلف باکتریها می توان نشان داد که کدام پروتئین جهش یافته است و یا کدام دو پروتئین از نظر عمل در دو گونه، همتای یکدیگراند. بازسازی ریبوزومهایی که چند پروتئین آنها با ایزوتوپها نشان دار شده اند می تواند در تحقیقات آینده راهگشایی در تشخیص ساختمان کلی ریبوزوم باشد.

پیش سازهای RNA ریبوزومی و $tRNA$

در باکتریها مولکولهای $tRNA$ و $rRNA$ مانند مولکولهای $mRNA$ از روی الگوی DNA توسط

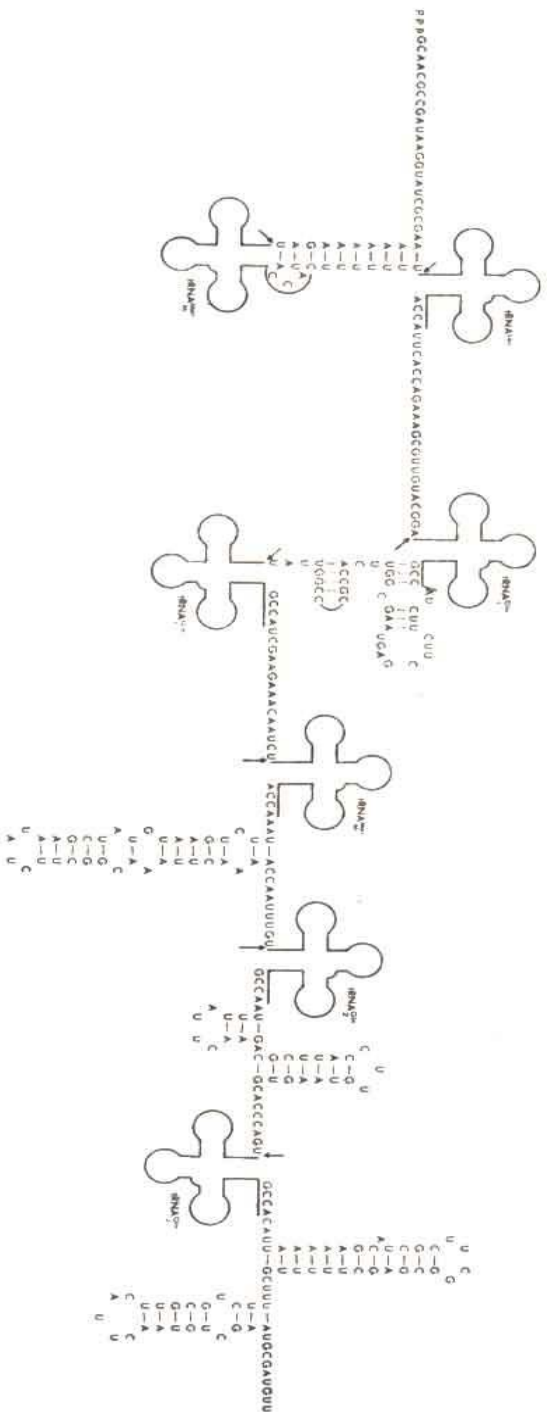
Olympiad.roshd.ir

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران

آنزیم RNA پلیمراز از بطور دقیق رونویسی می شوند. با وجودیکه بیش از **98** درصد کل RNA های موجود در سلول از نوع $tRNA$ و RNA ریبوزومی هستند ولی کمتر از یک درصد کل DNA اختصاص به سنتز آنها دارد. دلیل این امر این است که $tRNA$ها و $rRNA$های بالغ نسبت به $mRNA$ از پایداری بیشتری برخوردار هستند و طول عمر بسیار بیشتری دارند.

رونویسی $tRNA$هاو RNA های ریبوزومی دقیقاً شبیه رونویسی $mRNA$ نیست بلکه مولکولهای فوق ابتدا بصورت پیش سازهای طویل ساخته می شوند و سپس در اثر عمل نوکلئازها بلافاصله شکسته شده و مولکولهای بالغ $tRNA$ و $rRNA$ را بوجود می آورند. سه نوع RNA ریبوزومی (بترتیب S **16**، S **23** و S **5**) از یک مولکول طویل پیش ساز $\Pr e-rRNA$ که ضریب ته نشست برابر S **30**و طول حدود **6500** نوکلئوتید دارد بوجود می آیند. $\Pr e-rRNA$ها حاوی توالیهای اضافی در دو انتهای $3',5'$ خود هستند که بترتیب توالیهای رهبر و دمی خوانده می‌شوند. همچنین بین سه نوع $rRNA$موجود در مولکول پیش ساز فوق توالیهای فیمابینی نیز وجود دارد. انواع $tRNA$ها بصورت مولکولهای پیش ساز بزرگ رونویسی می شوند (شکل**2**).

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



شکل 2 : توالی و ساختمان دوم مولکول پیش ساز $Pre-tRNA$ که از اپرونی بنام $Sup\ B-E$ در کلی باسیل رونویسی می شود. هفت توالی $tRNA$ بشکل برگ شبدری نشان داده شده اند. ژنهای مضاعف $tRNA_M^{Met}$، $tRNA_{A_1}^{G\ln}$ و

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

$tRNA_2^{G\ln}$دارای توالیهای یکسانی هستند. توالیها و ساختمان اطراف نواحی برش توسط $RNase\ P$ متفاوت می باشند (نواحی فوق با پیکان علامت گذاری شده اند.) در کلی باسیل انتهاهای $CCA-3'$ کلیه $tRNA$ها از پیش وجود دارد ولی طول و ردیف توالیهای فیمابینی متفاوت است.

گاه تنها یک نوع $tRNA$ با توالیهای اضافی در دو انتهای $5',3'$ در یک مولکول پیش ساز وجـود دارد و گاه پیش از هفت نوع مختلف $tRNA$ در یک پیش ساز دیده می شود.

وجود سه نوع RNA ریبوزومی در یک پیش ساز واحد $Pre-rRNA$ می تواند جهت حصول اطمینـان از سنتز مساوی سه مولکول فوق باشد ولی علت اینکه چرا $tRNA$ها نیز از مولکولهای پیش ساز اولیه سـاخته می‌شوند هنوز معلوم نشده است. بهرحال اخیراً نشان داده اند کـه $Pre-tRNA$هـای جهـش یافتـه ای کـه نمی‌توانند بطور صحیحی به مولکولهای بالغ $tRNA$ تبدیل شوند دچار اشکالاتی هستند که مانع از تـاخوردگی صحیح $tRNA$های موجود در آنها می شود. چنین $Pre-tRNA$های جهش یافتـه در سـلول پـیش از آنکـه تبدیل به $tRNA$های بالغ شوند بسرعت تخریب می شوند.

$Pre-tRNA$ها توسط آنزیمی که دارای RNA ایـی اسـت کـه خاصـیت کاتـالیتیکی دارد بریـده و به $tRNA$های بالغ تبدیل می شوند.

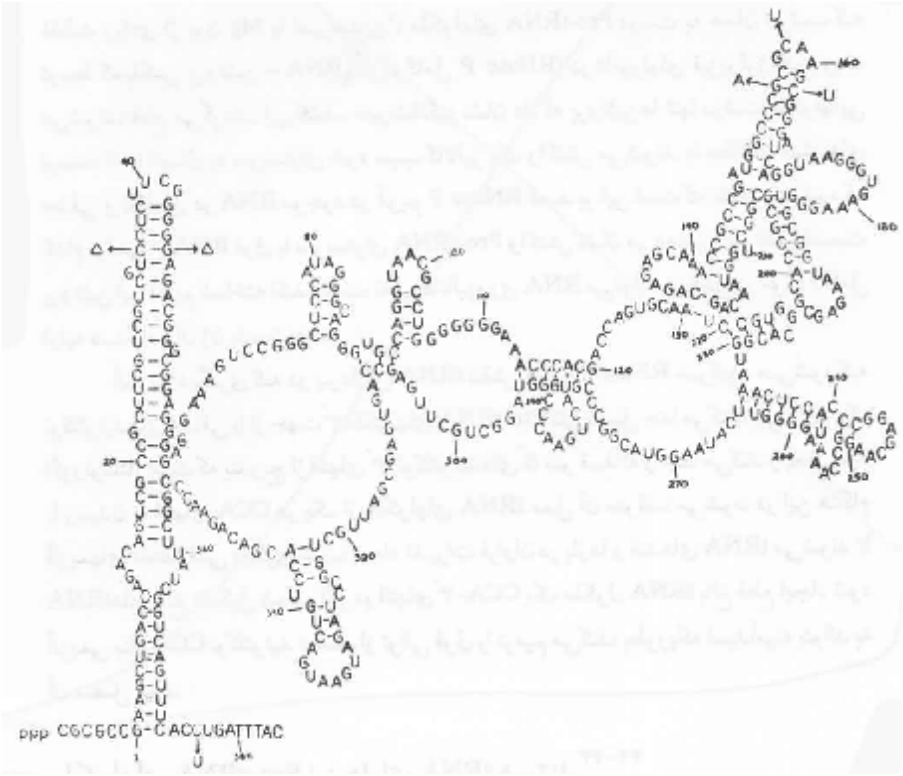
از آنجا که در مولکولهای $Pre-tRNA$ توالی های اضافی در انتهاهای $5',3'$ هر یک از $tRNA$ها وجـود دارد، آنزیم های $(RNase)$ لازم است تا بخش های فوق را قطع کـرده، $tRNA$ هـای بـالغ را بوجـود آورنـد. بیشترین اطلاعات در مورد آنزیم ریبونوکلئاز P $(RNase\ P)$وجود دارد. ایـن آنـزیم نوکلئوتیـدهای اضـافی موجود در انتهای $5'$ $tRNA$های مولکول پیش ساز اولیه را حذف می کنـد (ر.ک. بـه شـکل **2**). $RNase\ P$

Olympiad.roshd.ir

آندونوکلئازی است که سبب ایجاد بریدگی در پیش ساز اولیه می شود و همزمان باعث بوجود آمدن انتهای $5'-P$ برای $tRNA$ و آزاد شدن توالی اضافه $5'$ با گروه $3'-OH$ می شود. از آنجا که این آنزیم بر روی کلیه $Pre-tRNA$ های کلی باسیل اثر می گذارد (چه حاوی یک نوع $tRNA$ باشند و یا چند نوع) باید طرحهای مشابهی که در کلیه این مولکولها وجود دارد را تشخیص دهد. هنوز هیچ توالی نوکلئوتیدی بخصوصی در جایگاههای برش $5'$ یا $3'$ نشان داده نشده است و گفته می شود که $RNase\ P$ احتمالاً طرحهای خاصی از ساختمان سه بعدی $tRNA$ را که قبلاً بطور صحیح در مولکول پیش ساز تا خوردگی یافته اند را شناسایی می‌کند.

پس ازتخلیص $RNase\ P$ معلوم شد که این آنزیم پروتئین خالص نیست بلکه کمپلکس از یک مولکول RNA کوچک (بطول **377** نوکلئوتید) و یک پروتئین ($MW\ \sim$ **20000**) می باشد. با مطالعات بازسازی این مولکول و نیز تشخیص انواع جهش در RNA و پروتئین فوق نشان داده شد که هر دو جزء در فعالیت آنزیمی شرکت می کنند. بدین ترتیب در شرایط فیزیولوژیک برای قسمت RNA آنزیم در کلی باسیل ساختمان دومی پیشنهاد شد که در شکل 3 نشان داده شده است.

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



شکل 3 : ساختمان دوم احتمالی $M1-RNA$ و زیر واحد RNA آنزیم $RNase\ P$ کلی باسیل. ساختمان فوق با کمک مطالعه حساسیت $M1-RNA$ به هضم در محلولهای حاوی نوکلئازهای مختلف و مقایسه با مشابه آن در سالمونلاتیفی موریوم بدست آمده است. توالی $M1-RNA$ بالغ به نوکلئوتید شماره 377 خاتمه می یابد. D نشان دهنده نوکلئوتیدهای حذف شده و پیکانها نشانه بازهای تعویض شده در سالمونلاتیفی موریوم می باشند.

نکته بسیار جالب توجه این است که جزء RNA این آنزیم به تنهایی برای عمل آن (بریدن $Pre-tRNA$) کافی است. اخیراً نشان داده اند که در تامپونهای غیر فیزیولوژیک حاوی غلظت زیادی از یون Mg یا اسپرمیدین، مولکولهای $Pre-tRNA$ درست به همان ترتیب که توسط کمپلکس پروتئین-RNA (آنزیم کامل $RNase\ P$) در تامپونهای فیزیولوژیک بریده می شوند، قطع می گردند. این کشف حیرت انگیز نشان داد که پروتئین ها تنها درشت مولکولهایی نیستند که با اتصال به سوبسترای خود سبب کاتالیز

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

یک واکنش می شوند. با مطالعه جهش های حذفی و نقطه ای در RNA موجود در آنزیم $RNase\ P$ قصد بر این است که نشان داده شود که کدام نواحی از RNA فوق با سوبسترای $Pre-tRNA$ واکنش نشان می‌دهند. هنوز نقش قسمت پروتئین این آنزیم شناخته نشده است. نقش کاتالیزوری RNA می تواند سرنخی در مورد تکامل اولیه دستگاه بیان ژن بدست دهد.

آنزیم دیگری که در پردازش $tRNA$ نقش دارد $RNase\ D$ خوانده می شود که نوکلئوتیدهای اضافی را از جهت $3'$ مولکولهای $Pre-tRNA$ کلی باسیل جدا می کند. این آنزیم یک اگزونوکلئاز است که بتدریج از انتهای $3'$، نوکلئوتیدهای $5'$ منو فسفاته را جدا می کند و به طریقی با رسیدن به انتهای CCA هر یک از مولکولهای $tRNA$ عمل آن متوقف می شود. در این هنگام آنزیمهای اختصاصی دیگری سبب ایجاد تغییرات فراوان در بازها و قندهای $tRNA$ می شوند تا $tRNA$ های بالغ تشکیل شوند. اگر در انتهای $CCA-3'$ یک مولکول $tRNA$ بالغ قطع ایجاد شود آنزیمی بنام CCA نوکلئوتید ترانسفراز توالی فوق را ترمیم می‌کند، بطوریکه اسید آمینه بتواند به آن متصل شود.

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

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