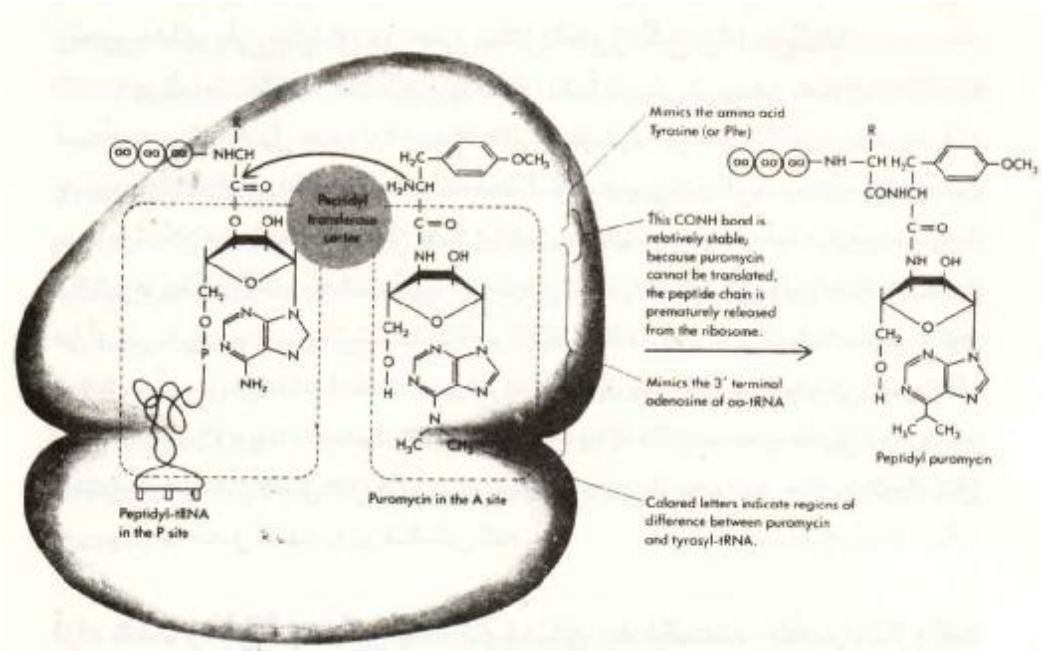
حرکت $mRNA$ بر روی ریبوزوم

بطور طبیعی در هر بار جابجایی (ترانس لوکاسیون) الگوی $mRNA$ دقیقاً به اندازه سه نوکلئوتید جلو می رود. به بیان دیگر می‌توان ماشینی را در ریبوزوم تجسم کرد که زنجیره $mRNA$ را هر بار به اندازه سه نوکلئوتید پیش می‌برد. نظر دیگری که در این باره وجود دارد این است که $mRNA$ بوسیله ریبوزوم حرکت نمی کند بلکه در اثر جابجا شدن پپتیدیل – $tRNA$ از جایگاه A به P ، $mRNA$ نیز کشیده می‌شود. براساس این نظریه حرکت یک کدون در نتیجه اتصال آن به آنتی کدون موجود در $tRNA$ است. کشف $tRNA$هایی که آنتی کدون آنها از چهار نوکلئوتید بوجود آمده است و بنام $tRNA$ سوپرسور خوانده می‌شوند شدیداً در تایید نظریه فوق است . در اثر جابجایی چنین $tRNA$هایی الگوی $mRNA$ متصل به آنها به اندازه چهار نوکلئوتید پیش می رود و این نشان می‌دهد که حرکت $mRNA$ و حرکت $tRNA$ با هم بصورت جفت شده انجام می‌شود. مراحل خاصی از سنتز پروتئین ها توسط آنتی بیوتیکها مهار می‌شود.

امروز بکمک چنین آنتی بیوتیک‌هایی توانسته اند مراحلی از سنتز پروتئین را مشخص نمایند. برای مثال پورومایسین مانع رشد کلیه سلولها می‌شود و عمل خود را از طریق مهار طویل شدن زنجیره پلی‌پپتیدی انجام می‌دهد (شکل 1).

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



شکل 1 : ختم زودرس پلی‌پپتید توسط پوروماپسین

ساختمان این آنتی بیوتیک مشابه انتهای $3'$ یک مولکول $tRNA$ حامل یک اسید آمینه است و بنابراین به سادگی وارد جایگاه A می‌شود و از ورود طبیعی پیش سازهای $AA \sim tRNA$ به جایگاه فوق ممانعت می نماید. نکته مهمتر این است که پپتیدیل ترانسفراز زنجیره‌های تازه سنتز شده را به روی آنتی‌بیوتیک فوق منتقل می‌نماید. از آنجا که اندازه پوروماپسین بسیار کوچکتر از $tRNA$ است، اتصال آن در جایگاه A بسیار ضعیف است بنابراین زنجیره های تازه ساخته شده‌ای که در انتهای آنها پوروماپسین وجود دارد از ریبوزوم‌ها جدا می‌شوند و در این صورت پلی‌پپتیدهای ناقص با طول مختلف بوجود می‌آیند. توجه داشته باشید که وجود پوروماپسین در انتهای کربوکسیل زنجیره خودگواهی است بر اینکه سنتز پروتئین از انتهای آمین شروع و به انتهای کربوکسیل ختم می شود.

آنتی بیوتیکهای دیگر در مهار بعضی دیگر از مراحل سنتز پروتئین اثر دارند. برای مثال اسیدفوزیدیک

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

مانع از رها شدن $EF-G$ از کمپلکس $EF-G-GDP$ می‌شود. بدین صورت که بعد از آنکه عمل جابجایی بطور طبیعی باید $EF-G$ آزاد شود ولی آنتی بیوتیک فوق مانع آزاد شدن $EF-G$ می‌شود. کمپلکس $EF-G-GDP$ مانع اتصال کمپلکس $AA \sim tRNA-EF-Tu-GTP$ در جایگاه A می‌شود و در نتیجه طویل شدن زنجیره پلی‌پپتیدی متوقف می‌شود. آنتی بیوتیکهای کلرامفینکل و اسپارسومایسین با اتصال به زیرواحد $50S$ مانع عمل پپتیدیل ترانسفراز می‌شوند. از طرف دیگر استرپتومایسین با اتصال به زیرواحد $30S$ مانع شروع سنتز زنجیره پلی‌پپتیدی می‌شود.

زنجیره های پلی‌پپتیدی در حین سنتز تاخوردگی پیدا می‌کنند.

در شرایط مطلوب زمان لازم برای سنتز یک زنجیره پلی‌پپتیدی حاوی **300-400** اسیدآمینه در کلی‌باسیل حدود **20 – 10** ثانیه است. در طول این مدت زنجیره در حال رشد بصورت یک کلاف بی شکل نمی‌ماند بلکه قسمت قابل توجهی از شکل سه بعدی خود را بدست می‌آورد. شکل فوق از طریق تشکیل تعداد زیادی پیوند ثانویه بوجود می‌آید. بنابراین بسیاری از پروتئین‌ها پیش از آنکه چند اسیدآمینه آخر متصل شوند عمدتاً شکل نهایی خود را بدست می‌آورند. بنابراین جای تعجب نیست اگر ریبوزومهایی که در حال سنتز آنزیم ها هستند مقداری از فعالیت آنزیمی فوق را نشان دهند (در واقع فعالیت فوق مربوط به محصول پلی‌پپتیدی است که هنوز از ریبوزوم جدا نشده است). همچنین آنتی‌بادیها که شکل سه بعدی خاصی از پروتئین‌ها را تشخیص می دهند غالباً می توانند زنجیره های پلی‌پپتیدی در حال رشدی که هنوز به ریبوزومها متصل هستند را نیز شناسایی کنند.

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

آزاد شدن زنجیره بستگی به فاکتورهای رها کننده خاصی داردکه کدونهای ختم را شناسایی می‌کنند.

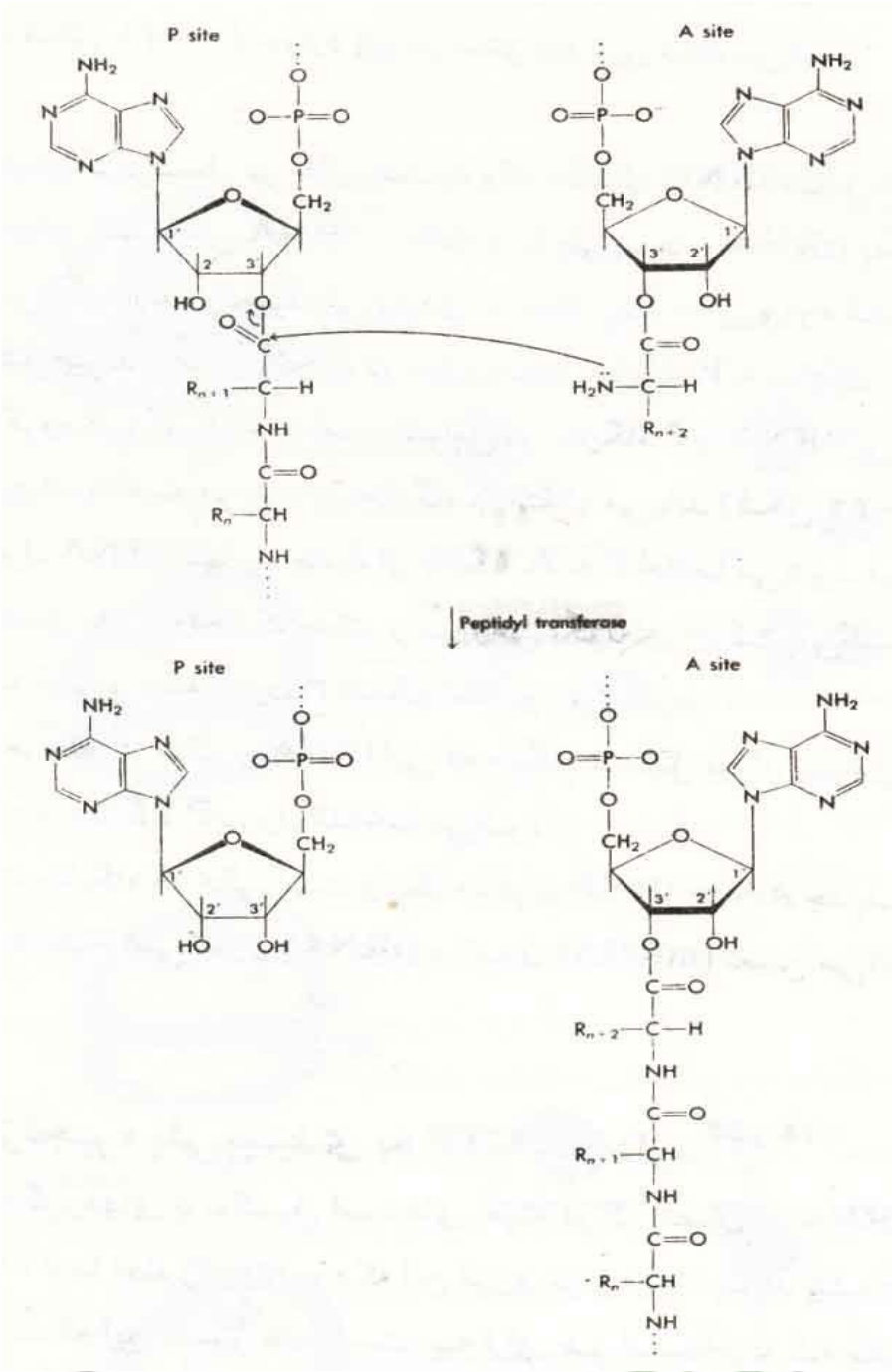
ختم سنتز پروتئین مستلزم وجود دو عامل است. اول وجود کدونی است که بطور اختصاصی علامت ختم سنتز پروتئین است و دیگری وجود پروتئینی بنام فاکتور رهاکننده (RF) که علامت ختم فوق را شناسایی می‌کند. در واقع پیچیدگی ختم پروتئین تا حد زیادی مربوط به این واقعیت است که انتهای زنجیره پلی‌پپتیدی کامل هنوز به $tRNA$ خود متصل است و باید از آن جدا شود. بنابراین ختم سنتز پروتئین تا حد زیادی در ارتباط با قطع $tRNA$ انتهایی است. در اثر قطع $tRNA$ فوق زنجیره جدید بسرعت از ریبوزوم جدا می‌شود چون اتصال آن به ریبوزوم عمدتاً با واسطه $tRNA$ بوده است.

با شناسایی رمز ژنتیکی، سه کدون مربوط به ختم نیز شناسایی شدند. ابتدا تصور بر این بود که مولکولهای $tRNA$ مخصوص ختم زنجیره وجود دارد که آنتی کدون آنها مکمل کدونهای فوق می‌باشد ولی به آدنوزین انتهای $3'$ آنها هیچ اسید آمینه‌ای وصل نشده است. ولی بعدها وجود چنین مولکولهایی بدون تردید رد شد. بهرحال امروزه می‌دانیم که کدونهای ختم بوسیله فاکتورهای رها کننده (فاکتورهای ختم) شناسایی می‌شوند. در کلی باسیل وجود دو نوع RF کاملاً ثابت شده است. یکی از آنها (RF_1) کدونهای UAG,UAA و دیگری (RF_2) کدونهای ختم UAA,UGA را شناسایی می‌کنند. عمل آنها این است که سبب می‌شوند پپتیدیل ترانسفراز، زنجیره پروتئینی را بجای آنکه به یک اسید آمینه که به $tRNA$ خود متصل است وصل کند به آب منتقل نماید (ر.ک به شکل 2).

شکل 2

Olympiad.roshd.ir

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران



شکل 2: واکنش پپتیدیل ترانسفراز. چگونگی طویل شدن زنجیره پلی‌پپتیدی در اثر اضافه شدن یک اسیدآمینه. در هنگام ختم سنتز پروتئین، پیونداستری موجود بین آدنوزین انتهای $3'$ مولکول $tRNA$ و اسید آمینه متصل به آن در اثر حمله نوکلئوفیلیک آب شکسته می شود. در مراحل طویل شدن بجای آب، حمله نوکلئوفیلیک بوسیله گروه آمین اسید آمینه بعدی انجام می‌شود و در نتیجه پپتیدی جدید بوجود می‌آید.

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

هنوز معلوم نیست که آیا برای ختم پروتئین در کلی‌باسیل GTP هیدرولیز می‌شود یا خیر، هر چند فاکتور دیگری که گاهی بنام RF_3 خوانده می‌شود، شناخته شده است که به GDP, GTP متصل می‌شود و بنظر می‌رسد که واکنش فوق را تحریک می‌کند. پس از ختم سنتز زنجیره، آزاد شدن $mRNA$ از زیرواحد $50S$ ریبوزوم، ممکن است سبب جدا شدن جزء $30S$ شود و احتمال دارد فاکتور دیگری در ارتباط با آزادی ریبوزوم باشد. در این مرحله زیرواحدهای ریبوزومی می‌توانند سنتز زنجیره پلی‌پپتیدی دیگری را شروع نمایند.

عمل GTP ممکن است ایجاد تغییر شکل فضایی باشد

استفاده مکرر GTP در مراحل مختلف عمل ترجمه (شروع، طویل شدن و احتمالاً ختم) به توضیح بیشتری نیاز دارد. تا کنون هیچ شاهد مستقیمی در مورد مصرف آن برای ایجاد پیوند پپتیدی بدست نیامده است و بنابراین گفته می‌شود بعنوان دهنده انرژی مانند ATP عمل نمی کند بلکه نقش بسیار مهمی در اتصال غیرکووالانسی فاکتورهای ترجمه ای مختلف $(EF-G, EF-Tu, IF_2)$ به سطح ریبوزوم دارد. در حالیکه اتصال این فاکتورها به وجود GTP نیاز دارد هیدرولیز $GTP \rightarrow GDP$ سبب آزاد شدن آنها از ریبوزوم می‌گردد. فرضیه جالبی در این میان وجود دارد که می‌گوید GTP سبب تغییر شکل فضایی فاکتورهای ترجمه ای می شود و بدین وسیله آنها می توانند به ریبوزومها متصل شوند. در اثر هیدرولیز GTP و تبدیل آن به GDP آرایش فضایی آزاد اولیه بوجود می‌آید که باعث جدا شدن فاکتورهای مزبور از سطح ریبوزوم می‌گردد.

آزمایشات انجام شده بر روی ساختمان ریبوزوم نشان داده است که از پروتئین L_7/L_{12} چهار نسخه

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

در زیرواحد $50S$ وجود دارد. پروتئین‌های فوق در ارتباط با هیدورلیز GTP می‌باشند و برای اتصال انواع فاکتورهای بیوسنتز پروتئین که انرژی ذخیره شده در GTP را در حین عمل خود استفاده می‌کنند لازم می‌باشند. بهرحال گزارشاتی وجود دارد که بیوسنتز پروتئین بدون هیدرولیز GTP و وجود فاکتورهای طویل کننده می‌تواند انجام شود (البته با سرعت بسیار کم) بنابراین ریبوزومها خود باید دارای قدرت اتصال به $AA \sim tRNA$ و ترانس لوکاسیون باشند و وجود فاکتورها و GTP تنها سبب افزایش سرعت سنتز پروتئین در حد بیولوژیک می‌شود.

هیدرولیز GTP در صحت ترجمه نیز اثر دارد.

عمل مهم دیگر GTP بر روی ریبوزوم، نقش آن در کنترل درستی ترجمه است. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد پس از پیوند $AA \sim tRNA$ به ریبوزوم عمل تصحیح صورت می گیرد. هنگامیکه $AA \sim tRNA$ ایی که به $EF-Tu-GTP$ متصل شده است وارد جایگاه A می‌شود واکنش جفت شدن اولیه $mRNA-tRNA$ به اندازه کافی دقیق نیست که بتواند درصد خطای کم سنتز پروتئین (حدود 10^{-4}) را توجیه کند. انجام عمل تصحیح باعث کاهش میزان خطا می‌شود و این عمل بدین صورت انجام می‌گیرد که $AA \sim tRNA$ ایی که به غلط وارد شده است بیرون انداخته می‌شود. عمل تصحیح با استفاده از کمپلکس $AA \sim tRNA-EF-Tu-GTP$ و شکسته شدن GTP بدون آنکه رشد زنجیره پلی‌پپتیدی صورت گیرد، انجام می‌شود. بدین طریق ملاحظه می‌شود که عمل تصحیح عمل انرژی خواهی است. برای مطالعه مکانیسم تصحیح لازم است که بیوسنتز پروتئین در لوله آزمایش با دقت مورد آزمایش قرار گیرد (دقت بیوسنتز پروتئین در سلول و لوله آزمایش یکسان است). این امر با انتخاب دقیق شرایط یونی که مشابه

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

سلول است و نیز اطمینان از وجود نسبت بالای GTP/GDP در طول آزمایش، میسر است. تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که انتخاب اولیه $tRNA$ و مراحل بعدی تصحیح هر دو به یک اندازه در صحت ترجمه دخیل هستند (هر یک تقریباً 10^{-2}). لازم بتذکر است که بعضی از جهش هایی که در پروتئین های ریبوزومی رخ می‌دهند، می‌توانند تا حد زیادی بر روی میزان توانایی عمل تصحیح ریبوزومها اثر بگذارند.

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