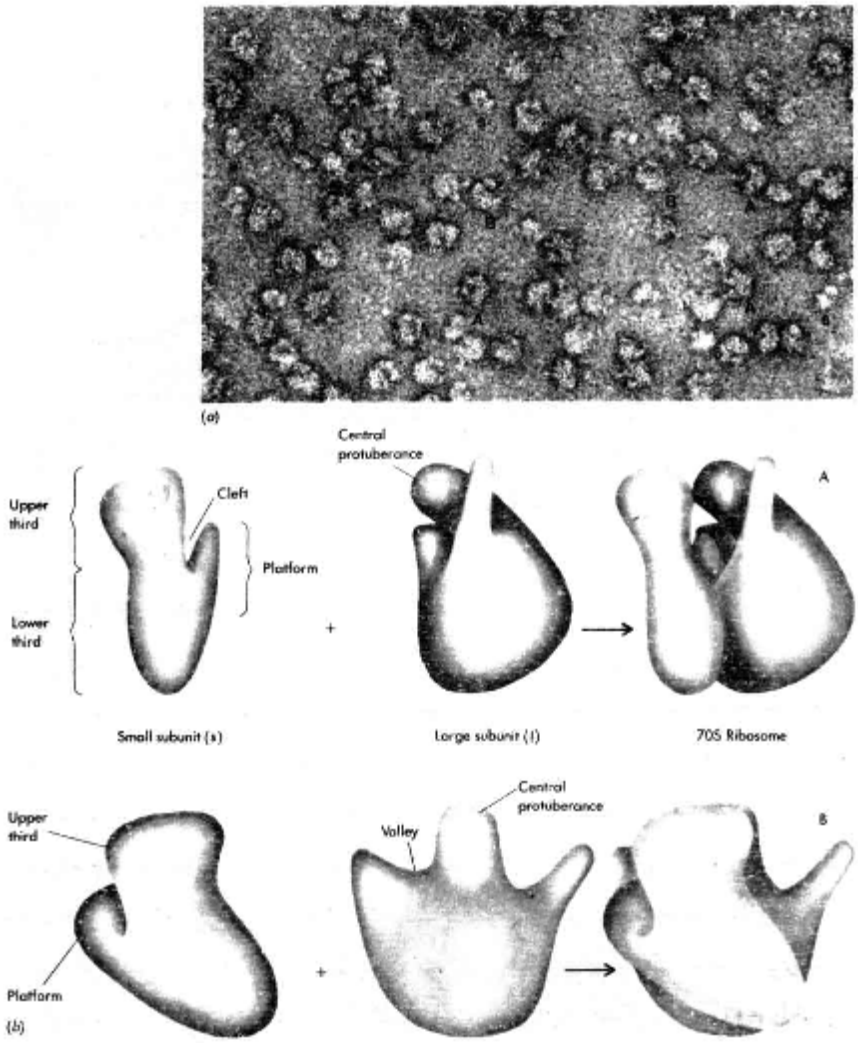
متدهای پیشرفته برای مطالعه ساختمان ریبوزوم

به احتمال زیاد ویژگیهای اصلی سنتز پروتئین تا کنون شناخته شده است. بهرحال شناسایی ارتباط هر یک از واکنش‌های متعدد سنتز پروتئین با ساختمان ریبوزوم با تاخیر صورت گرفت. علیرغم تاخیر زیاد اخیراً اطلاعات زیادی در این ارتباط با استفاده از روشهای مختلف در حال جمع آوری می‌باشد. اطلاعات فوق طرحی از شکل زیرواحدهای ریبوزومی کلی‌باسیل و مکان جایگاههای مهم عمل ریبوزوم را بدست می‌دهد.

با استفاده از دو نوع میکروسکوپ الکترونی اطلاعات زیادی در مورد شکل ریبوزومها بدست آمده است. یکی از این روشها، مشاهده مستقیم ریبوزومهای $70S$ و زیر واحدهای $50S$ و $30S$ آن در زیر میکروسکوپ الکترونی است (شکل**1**) و دیگری استفاده از روشهای بازسازی ریاضی جهت تفسیر میکروکریستالهای ریبوزومی که بطور طبیعی وجود دارند می‌باشد. شواهد نشان می‌دهد که زیرواحد $50S$ شبیه نیم کره‌ای است که در سطح آن سه برجستگی وجود دارد. زیرواحد $30S$ مسطح تر است و از دو قسمت که توسط ناحیه باریکتری جدا می‌شوند ساخته شده است بطوریکه $\frac{1}{3}$ قسمت بالایی و $\frac{2}{3}$ قسمت پائینی را تشکیل می‌دهند. در قسمت پایینی درست زیر ناحیه‌ای که دو قسمت را از هم متمایز می‌کند سکویی وجود دارد. شکلهایی که بدین ترتیب با استفاده از روشهای فوق برای دو زیر واحد بدست آمده و نیز نحوه روی هم قرار گرفتن آنها برای تشکیل ریبوزوم کامل $70S$ در شکلهای**1** و **2** نشان داده شده‌اند.

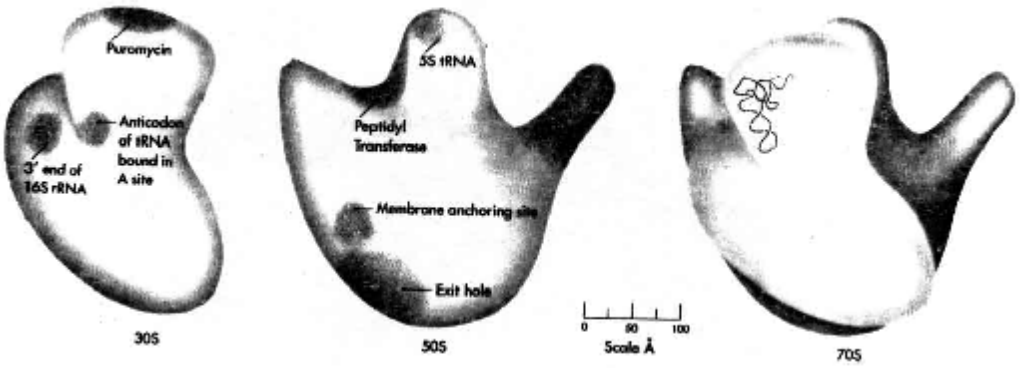
شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir



شکل 1: دیدن مستقیم شکل ریبوزوم با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (a) در این عکس ریبوزومهای کلی‌باسیل با حروف A یا B (بر حسب جهتی که قرار گرفته‌اند) و S و L (مربوط به زیر واحد کوچک و بزرگ)نشان داده شده اند. رنگ آمیزی منفی فوق با استفاده از نمک فلزات سنگین (در اینجا اورانیوم) انجام شده است.

شکل2

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

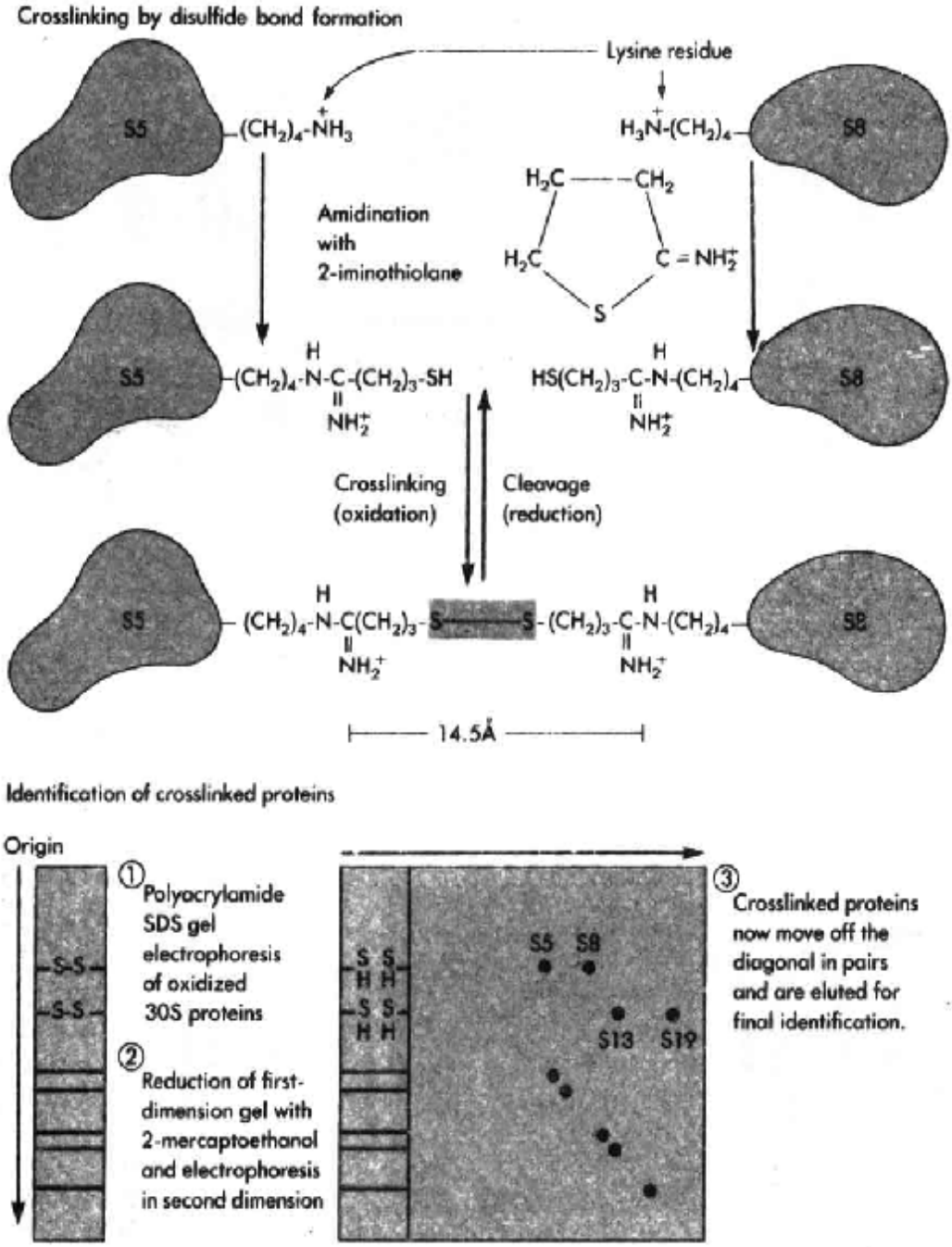


شکل2 : تصویر دو زیرواحد ریبوزومی کلی‌باسیل. جایگاههای عمل ریبوزوم با استفاده از چندین متد نشان داده شده اند.

چگونگی اتصال یک $tRNA$ به جایگاه A ریبوزوم $70S$ نشان داده شده است. جایگاه A بین زیر واحدهای $50S$,$30S$ قرار گرفته است.

روشهای دقیق‌تر دیگری بکار گرفته شده است که نشان دهد که هر جایگاه ریبوزومی مسئول انجام چه عملی است. بطور مثال با بررسی اتصالات شیمیایی بین پروتئین‌ها، بین پروتئین با توالیهای $rRNA$ یا $tRNA$ و نیز بین قسمتهای مختلف یک مولکول $rRNA$ معلوم می‌شود که چه چیزهایی در کنار هم قرار دارند (شکل 3).

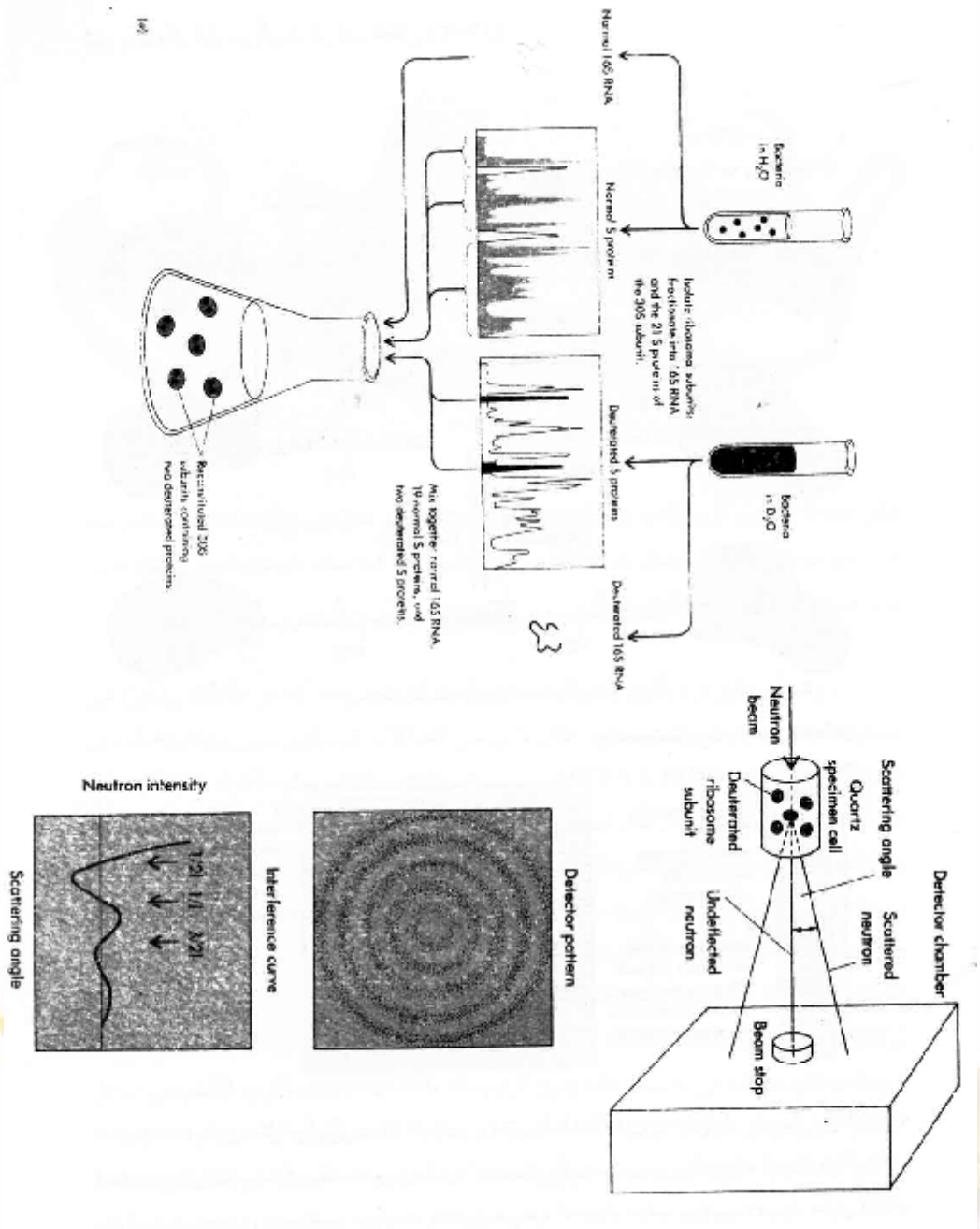
شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir



شکل 3 : این شکل چگونگی پیوند شیمیایی پروتئین‌ها را نشان می‌دهد. آزمایش بدین ترتیب است که ابتدا پیوندهای عرضی قابل برگشت بین پروتئین ها بوجود می‌آورند و سپس با استفاده از متد دیاگونال و بکارگیری ژل دو بعدی نتایج تفسیر می‌گردند. یادآوری می‌شود که میزان حرکت پروتئین‌ها در ژل حاوی SDS به وزن مولکولی آنها بستگی دارد.

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

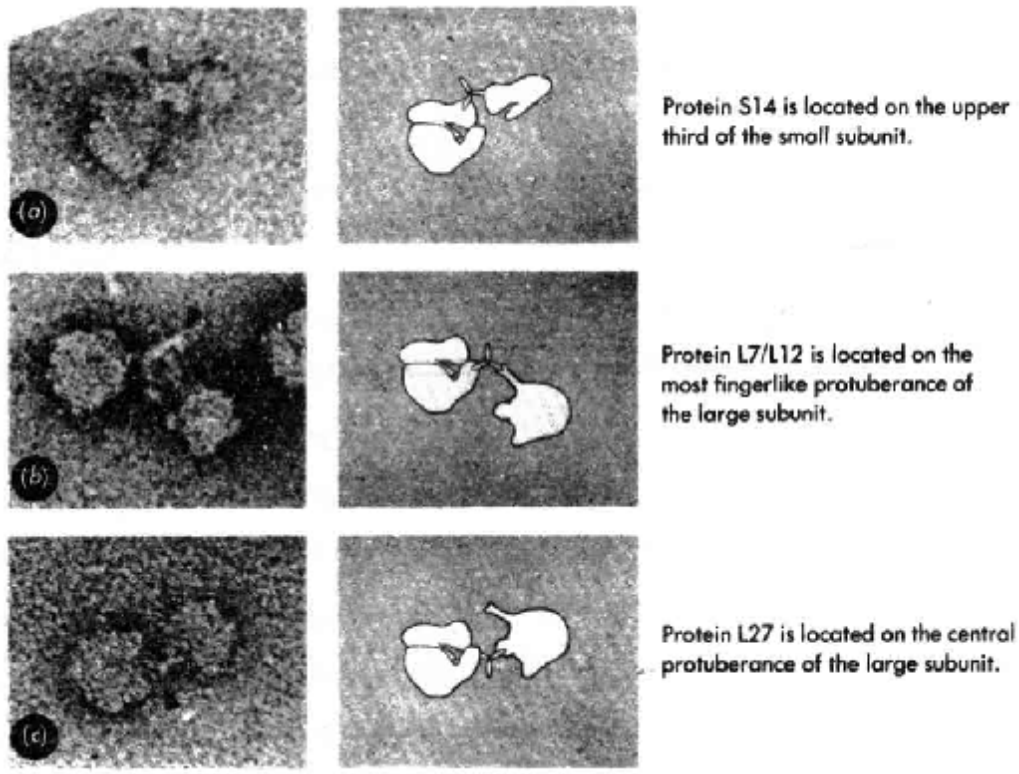
با توجه به آنکه اجزاء زیرواحدهای ریبوزومی همانگونه که گفته شد می‌توانند بطور خودبخودی کنـار هم قرار گیرند و زیرواحدهای کامل را بوجود آورند می‌توان پروتئین خاصی را بکمک مواد رنگی فلوئورسانس و یا دو تریوم نشاندار کرد و فاصله پروتئین‌های موجود یا متصل به ریبوزوم را تعیین نمود (شکل4).



شکل4: چگونه مطالعات تفرق نوترون می‌تواند فاصله بین پروتئین‌های معین را در ریبوزوم نشان دهد.

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

بالاخره با استفاده از آنتی بادیهایی که بر علیه پروتئین‌های ریبوزومی خاص یا نوکلئوتیـدهای تغییـر یافته $rRNA$ تهیه شده‌اند می‌توان جایگاههای مختلف موجود در زیرواحدهای ریبوزومی را نشان داد، بـدین ترتیب که با کمک میکروسکوپ الکترونی محل اتصال آنتی بادیهای فوق را می‌توان مشاهده نمود (5).



شکل5: شناسایی پروتئین ها توسط ایمونو الکترون میکروسکوپی. ریبوزومها و زیر واحدهای ریبوزومی بوسیله آنتی بادی به یکدیگر متصل می‌شوند (با Y نشان داده شده است). (a) آنتی‌بادی $Anti-S14$، $Anti-L7/12(b)$ و $Anti-L27(c)$

تصویری که بدین ترتیب بدست می‌آید کاملاً قابل قبول است چون اجزایی که معلوم شده است با هـم واکنش نشان می‌دهند در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند (ر.ک شکل2).

1. جایگاه اتصال $mRNA$ و انتهای $RNA3'$ ریبوزومی $16S$در سکوی موجـود بـین دو قـسمت

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

بالایی و پایینی زیر واحد $30S$ قرار دارد. فاکتورهای شروع نیز به همین ناحیه متصل می‌شوند.

2. دو جایگاه اتصال $tRNA$ در شیار موجود بین سکو و $\frac{1}{3}$ بالایی زیر واحد ریبوزومی $30S$ وجود دارند.

3. قسمتی که خاصیت $GTPase$ دارد و شامل چهار مولکول پروتئین $L7/L12$ است در بزرگترین زایده انگشت مانند زیر واحد $50S$ وجود دارد.

4. قسمتی که خاصیت پپتیدیل ترانسفرازی دارد در فرورفتگی بین دو بر جستگی دیگر قرار دارد.

5. جایگاه خروج زنجیره پلی‌پپتیدی در حال رشد عمدتاً در مقابل جایگاه پپتیدیل ترانسفراز در زیرواحد $50S$ قرار دارد. بدین ترتیب **30** اسیدآمینه که به تازگی بصورت زنجیره پلی‌پپتیدی درآمده‌اند باید بصورت زنجیره گسترده (بدون حضور ساختمان دوم)وجود داشته باشند.

6. جایگاهی که زیر واحد $50S$ با غشاء واکنش نشان می‌دهد، نزدیک حفره خروج پلی‌پپتیدی است.

7. دو زیرواحد ریبوزومی به نحوی کنار هم قرار می‌گیرند که سکوی $30S$ که به $mRNA$ و $tRNA$ متصل می‌شود، در نزدیکی قسمتی از زیرواحد $50S$ که دارای خاصیت $GTPase$ و پپتیدیل تراسنفرازی است قرار می‌گیرد.

علیرغم پیشرفتهای زیادی که در توپوگرافی ریبوزوم صورت گرفته است. روشهایی که در اینجا ذکر

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

شدند قادر نیستند که عملکرد ریبوزومها را در حد اتمی نشان دهند و در این زمینه روشهای آنالیز تفرق اشعه ایکس در نهایت موثر خواهد بود. تنها همین اواخر بلورهای سه بعدی خوبی از زیر واحدهای ریبوزوم کلی باسیل بدست آمده است. باید تذکر داد که عکسهای تهیه شده از این بلورها اولین گامها در شناسایی ساختمان ریبوزوم است چرا که تا کنون به هیچ وجه این روشها برای شناسایی ساختمانی بدین پیچیدگی بکار گرفته نشده بوده‌اند. بهرحال امروزه بلورهای جداگانه پروتئین‌های مختلف ریبوزومی و نیز RNA ریبوزومی $5S$و نیز کمپلکس RNA ریبوزومی $5S$ و پروتئین‌هایی که به آن متصل می‌شوند بدست آمده و ساختمان آنها بتدریج مشخص می‌شود. چنین عکسهایی اطلاعات زیادی در مورد ساختمان $rRNA$ و واکنش متقابل آن با پروتئین‌ها بدست می‌دهند. معهذا باید یادآوری کرد که هنوز سئوالاتی نظیر اینکه چرا $\frac{2}{3}$ریبوزوم از RNA تشکیل شده است مطرح است و تنها بعد از آنکه ساختمان سه بعدی این دستگاه سنتز پروتئین تعیین شود می‌توان امید داشت که به سئوالات فوق پاسخ داده شود.

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