رمز ژن

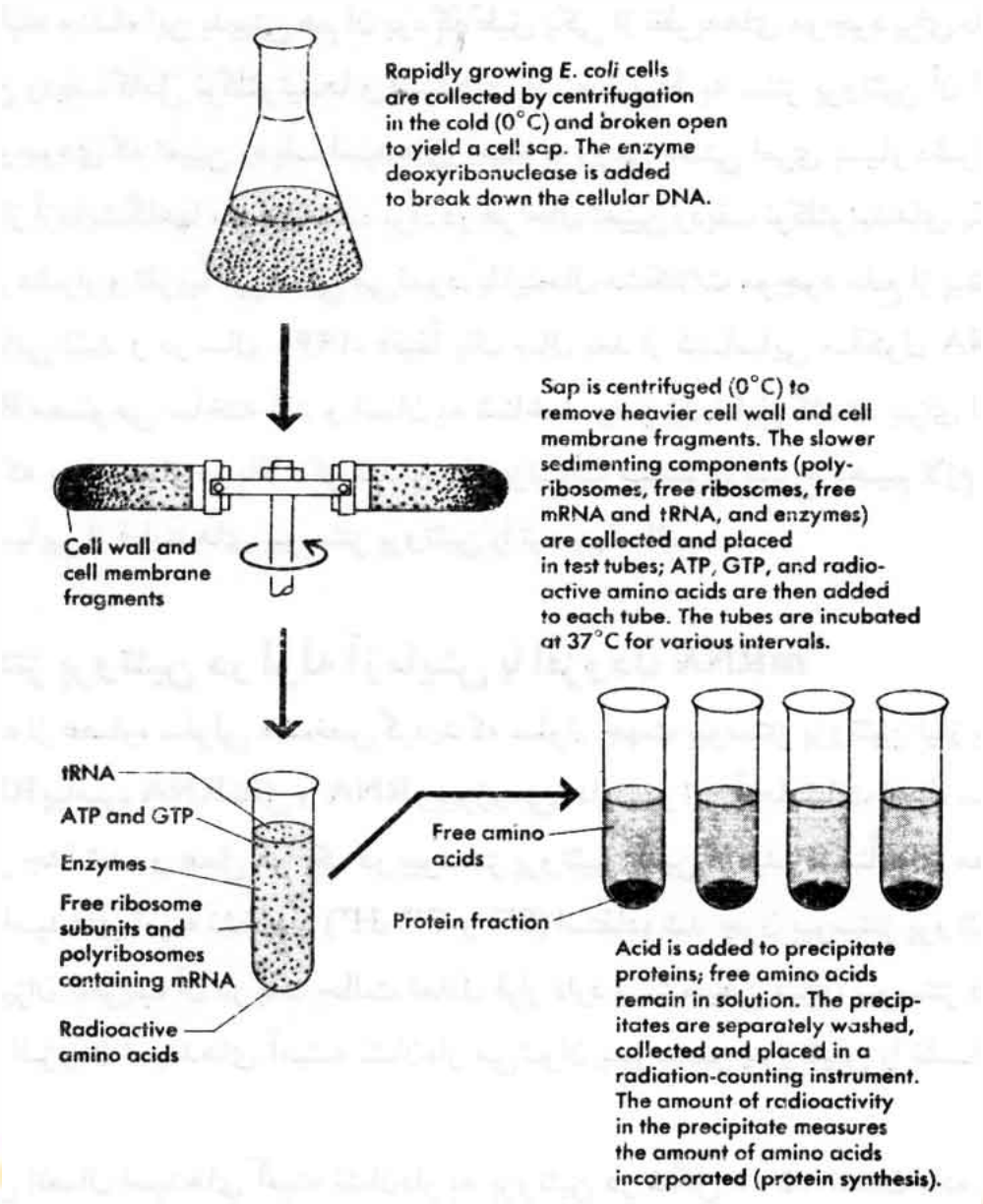
با وجود اینکه تا سال **1960** نقش مولکول‌های RNA در فرایند بیوسنتز پروتئین تا حدی واضح گردیده بود ولی خوشبینی چندانی برای شناخت کامل رمز ژنی در محافل علمی آن روز وجود نداشت. البته منشاء این بدبینی هم آن بود که طبق یکی از نظریه‌های موجود برای دانستن رمز ژنی، دانستن ردیف کامل نوکلئوتیدها و اسیدهای آمینه مربوط به سنتز پروتئین آن الزامی بود. بهرحال با وجودی که تعیین ردیف اسیدهای آمینه به روش دستی امری بسیار دشوار بود ولی در بسیاری از آزمایشگاهها متداول شده بود. در هر حال تعیین ردیف نوکلئوتیدهای یک ژن در آن زمان بسیار دشوار و تقریباً غیرعملی می‌نمود. با اینحال مشکلات موجود مانع از پیشرفت مطالعات تحقیقاتی نشد و در سال **1961**، دقیقاً یک سال بعد از شناسایی مولکول $mRNA$ مولکولهای RNA مصنوعی ساخته شد و انسان به شناخت رمز ژن نایل گشت. برای اینکه مراحل مختلفی که به اختصار در بالا ذکر شد را با جزئیات بیشتری شرح دهیم لازم است تصویری بیوشیمیایی از فرایندهای بیوسنتز پروتئین را ترسیم نمائیم.

شروع بیوسنتز پروتئین در لوله آزمایش با افزودن $mRNA$

با استفاده از عصاره سلولی مشخص گردید که سلول جهت بیوسنتز پروتئین نیاز به سه نوع RNA (RNA پیامبر، RNA ناقل و RNA ریبوزومی) دارد. در این آزمایشات اجزاء سلولی بدقت از یکدیگر جدا شده و عمل هر یک در بیوسنتز پروتئین معین گردید. ضمناً برای مطالعه روند بیوسنتز از اسیدهای آمینه نشان‌دار $\left(S^{35},C^{14},H^{3}\right)$ استفاده شد چون بیوسنتز پروتئین در داخل سلول با میزان تخریب آن در یک

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

حالت تعادل قرار دارد و تشخیص میزان بیوسنتز دشوار است، و تنها با افزودن اسیدهای آمینه نشان‌دار می‌توان بیوسنتز پروتئین را نشان داد (شکل 1).



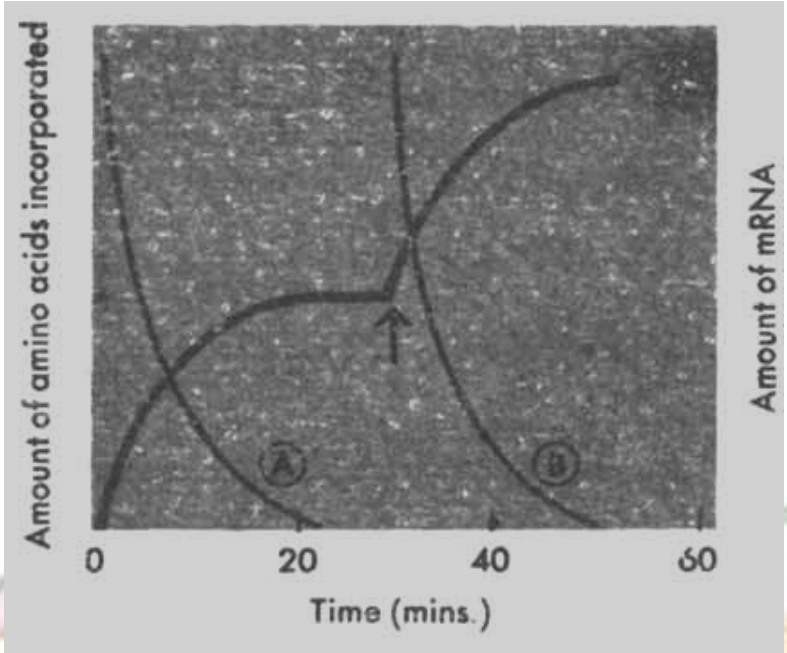
شکل 1 : جزئیات بیو سنتز پروتئین درلوله آزمایش

چگونگی اتصال اسیدهای آمینه نشان‌دار به پروتئین در شکل 2 نشان داده شده است. منحنی فوق نشان

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

می‌دهد که در شرایط آزمایشگاهی بیوسنتز پروتئین توسط عصاره سلول کلی‌باسیل در چند دقیقه اول با سرعت بیشتری انجام می‌شود و سپس بتدریج سرعت آن کاهش می‌یابد. میزان *mRNA* بعلت حضور آنزیم‌های مخرب ریبونوکلئاز بتدریج کاهش می‌یابد و به همین علت یکی از عواملی که در شرایط آزمایشگاه موجب کاهش بیوسنتز پروتئین می‌شود کاهش غلظت *mRNA* است که بعنوان الگو جهت بیوسنتز عمل می‌کند. با اضافه کردن *mRNA* دوباره بیوسنتز پروتئین افزایش می‌یابد. اندازه‌گیری فعالیت *mRNA* در عصاره سلولی به این ترتیب انجام می‌شود که با اضافه کردن مقدار ناچیزی از *mRNA* به عصاره سلولی فاقد *mRNA* اثر آن در فرایند بیوسنتز پروتئین سنجیده می‌شود.

شکل 2



Ⓐ تخریب *mRNA* آندوژن. Ⓑ *mRNA* اضافه شده و با پیکان زمان اضافه شدن نشان داده شده است.

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

تولید پروتئین‌های اختصاصی توسط عصاره سلولی

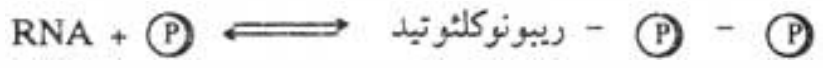
با افزودن میزان قابل توجهی از $mRNA$ به عصاره سلولی مقدار کمی از اسید آمینه نشاندار به رشته پلی‌پپتیدی متصل می‌شود به همین علت شک و تردید در مورد شباهت رشته‌های پلی‌پپتیدی تولید شده در لوله آزمایش با آنچه که بطور طبیعی اتفاق می‌افتد بوجود آمد. با استفاده از RNA ویروسی شک و تردید در مورد صحت عمل بیوسنتز پروتئین در شرایط آزمایشگاه برطرف شد. در یکی از آزمایش‌ها، $mRNA$ تخلیص شده از ویروس F_2 به عصاره سلولی کلی‌باسیل اضافه شد. مولکول RNA بعنوان الگو عمل کرده و با اتصال اسیدهای آمینه به رشته پلی‌پپتید، رشته طویل‌تری ساخته شد. سپس مولکول پلی‌پپتید ساخته شده از ریبوزوم جدا شد و در مقایسه با پروتئین پوششی ویروس F_2 که وزن مولکولی **14** هزار دالتون دارد معلوم گردید که ردیف اسیدهای آمینه هر دو رشته یک جور است. بنابراین در شرایط آزمایشگاهی نیز $mRNA$ به ریبوزوم متصل می‌شود و مولکول‌های $aa-tRNA$ مناسب را بعنوان پیش ساز انتخاب می‌کند. بعد از کسب موفقیتهای اولیه دانشمندان به مطالعه بیوسنتز پروتئین های ویروسی و باکتریایی دیگر پرداختند. یکی از این مطالعات بر روی نحوه بیوسنتز لیزوزیم فاژ T_4 بود. لیزوزیم یک آنزیم فعال هیدرولیز کننده دیوار سلول باکتری است و بیوسنتز آن در لوله آزمایش نشان داد که مرحله ترجمه $mRNA$ به پروتئین در این شرایط با دقت لازم انجام می‌شود. اگر چه در ابتدا بیوسنتز رشته‌های طویل‌تر پلی‌پپتید با مشکلاتی همراه بود اما در سال **1969** بیوسنتز آنزیم فعال بتا– گلوکوزیداز (یک رشته پلی‌پپتید با **1300** اسید آمینه) با موفقیت انجام شد. سپس بیوسنتز چند پروتئین پستانداران (از قبیل هموگلوبین، زنجیره‌های سبک و سنگین ایمونوگلوبولین، اکتین، کلاژن و میوزین) در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت. این مطالعات نشان داد که شرایط بیوسنتز پروتئین در سلولهای یوکاریوت مشابه

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

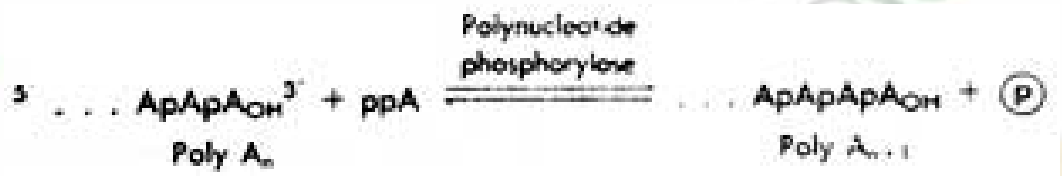
سلولهای پروکاریوت است.

بیوسنتز رشته‌های پلی‌پپتیدی با استفاده از *mRNA* مصنوعی

اگر چه تجربیات انجام شده دلالت بر اختصاصی بودن بیوسنتز پروتئین داشت، اما با اینحال ماهیت رمز ژنی ناشناخته باقی مانده بود. از میان 64 رمز ژنی اسیدهای آمینه رمز هیچکدام تعیین نشده بود. برای شناسایی رمز اسیدهای آمینه از رشته‌های *mRNA* مصنوعی (سنتز شده در آزمایشگاه) استفاده شد. رشته‌های فوق توسط آنزیم پلی‌نوکلئوتید فسفوریلاز ساخته می‌شود این آنزیم که در اغلب سلولهای باکتری‌ها وجود دارد واکنش زیر را کاتالیز می‌کند:



آنزیم، رشته *RNA* را به نوکلئوزید – دی فسفات تبدیل می‌کند و طول عمر *mRNA* را در سلول باکتری تنظیم می‌کند . اگر غلظتهای بالای نوکلئوزید – دی فسفات بکار گرفته شود روند واکنش در جهت تشکیل پیوندهای فسفو دی استر و تولید رشته *RNA* معکوس می‌شود (شکل 3).



شکل 3: ساختن و تخریب مولکول‌های *RNA* توسط آنزیم پلی‌نوکلئوتید فسفوریلاز

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

برای سنتز RNA نیازی به مولکول‌های الگوی RNA و یا DNA نیست و توالی RNA صرفاً بستگی به غلظتهای نوکلئوزیدهای دی – فسفاته گوناگون دارد که به لوله آزمایش اضافه می‌شود. برای مثال، اگر در محیط واکنش صرفاً آدنوزین دی فسفات وجود داشته باشد، رشته ساخته شده پلی‌آدنیلیک اسید و یا پلی A خواهد بود. به همین صورت رشته‌های پلی U، پلی C و پلی G ساخته می‌شود. همچنین با افزودن دو یا چند نوکلئوتید، پلی‌مرهای مخلوط CU, AC, AU و یا $AGCU$ ساخته می‌شود. در اغلب مواقع قرار گرفتن هر یک از نوکلئوتیدها در رشته RNA غیر انتخابی است و میزان اتصال آن‌ها به رشته RNA بستگی به غلظت هر یک از نوکلئوتیدها دارد. برای مثال در سنتز مولکول پلی AU اگر غلظت A دو برابر U باشد احتمالاً پلی‌مر $UAAUAUAAAUAAUAAAAUAUU...$ تولید می‌شود.

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