



به نام خدا

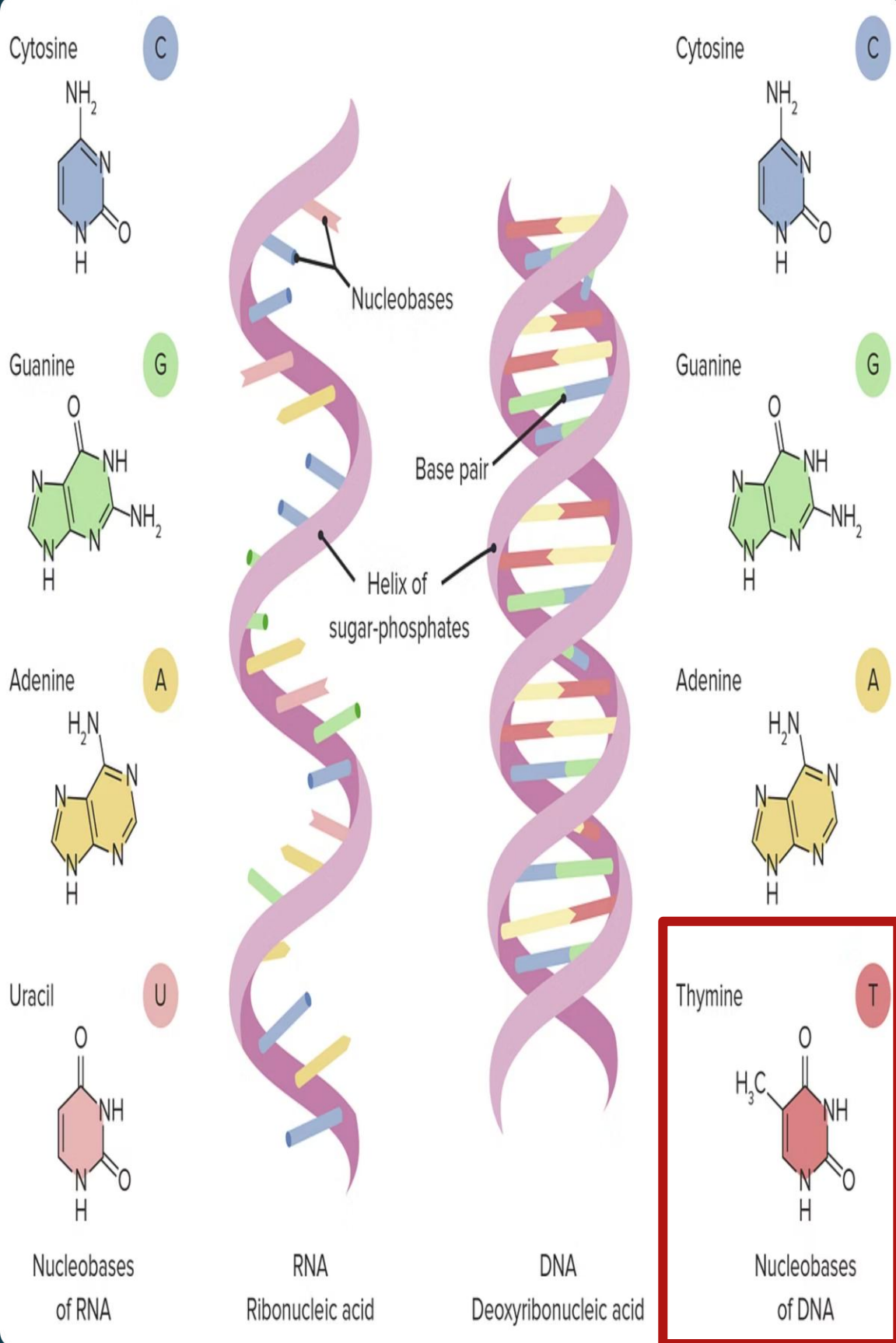
بیولوژی سلولی و مولکولی

فرآیند رونویسی ژن

دکتر محمد درویش خادم

D.V.M., Ph.D. of Biochemistry

دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان



فرآیند رونویسی: انتقال اطلاعات ژنتیکی

در رونویسی، اطلاعات ژنتیکی از یک رشته DNA به یک مولکول RNA منتقل

این فرآیند در یوکاریوت‌ها می‌تواند در هسته، میتوکندری و کلروپلاست انجام

در حالی که در پروکاریوت‌ها در سیتوپلاسم صورت می‌گیرد.

انواع مختلف RNA و نقش‌های تخصصی آنها

RNA ناقل (tRNA)

به عنوان رابط عمل کرده، هر یک به یک **اسید آمینه** خاص **متصل** شده و آن را برای شرکت در فرآیند ترجمه به ریبوزوم منتقل می‌کنند.

RNA پیام‌رسان (mRNA)

حاوی اطلاعات ژنتیکی به صورت کدهای سه‌حرفی به نام **کدون** که به عنوان **الگوی ساخت پروتئین** عمل می‌کند.

RNA ریبوزومی (rRNA)

جزء اصلی ساختار **ریبوزوم‌ها** (ماشین‌های پروتئین‌سازی سلول) برخی مانند **23S rRNA** دارای فعالیت آنزیمی هستند و **ریبوزیم** نامیده می‌شوند.

میکرو RNA (miRNA)

RNAهای کوچک و غیرکدکننده با اتصال به mRNAهای هدف و با تخریب یا جلوگیری از ترجمه آنها در تنظیم بیان ژن نقش مهمی دارند

RNA کوچک هسته‌ای (snRNA)

در **هسته یوکاریوت‌ها** یافت شده و نقش کلیدی در فرآیند **Splicing** یا حذف بخش‌های غیرکدکننده از mRNA اولیه دارند.
این RNAها در ساختار **اسپلایسوزوم** قرار می‌گیرند.

آنزیم‌های RNA پلیمراز: تفاوت‌های کلیدی

پروکاریوت‌ها

تنها یک نوع آنزیم RNA پلیمراز وجود دارد که مسئول سنتز تمام انواع RNA است. این آنزیم ساختار ساده‌تری دارد و می‌تواند به تنهایی پروموتور را شناسایی کند.

Single RNA polymerase (Prokaryotes)

Core enzyme

2 α , 1 β and 1 β' subunits

Polymerizes RNA

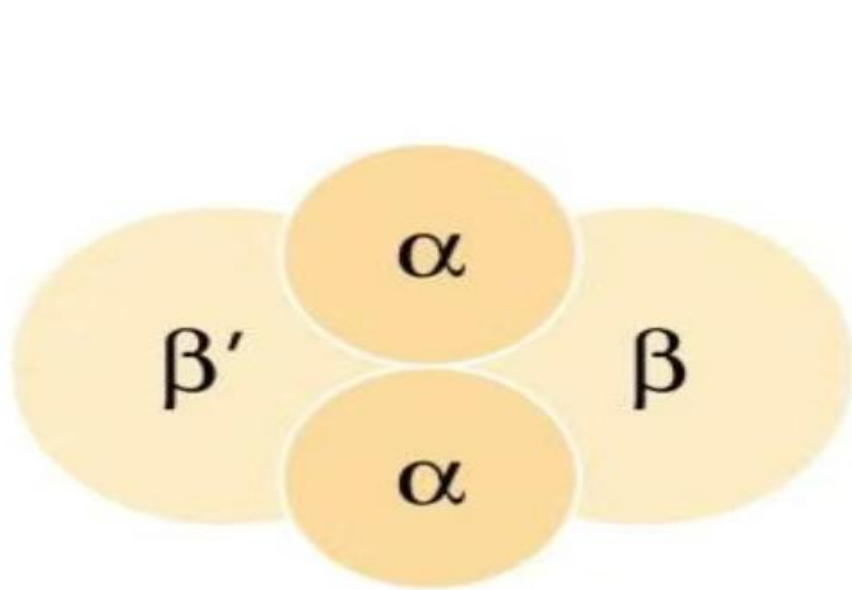
Holoenzyme

2 α , 1 β , 1 β' subunits plus
 σ subunit

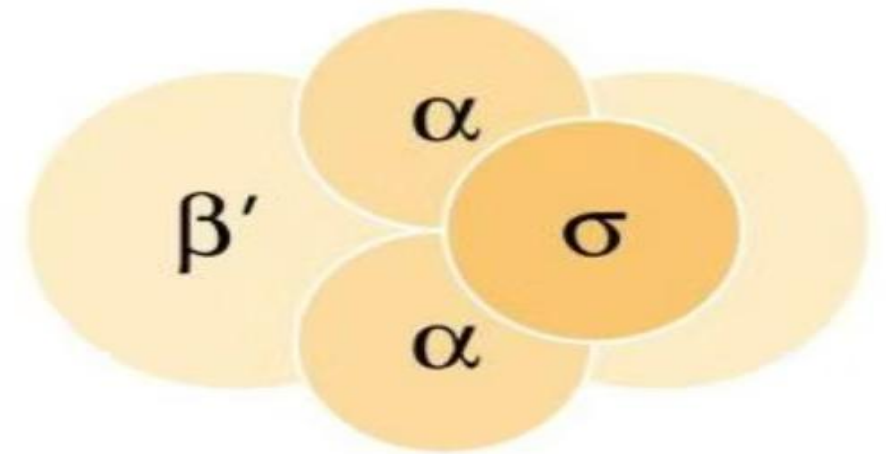
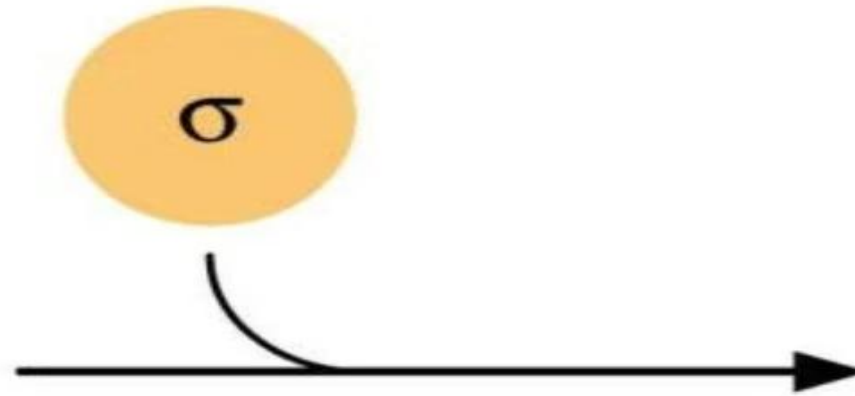
Finds initiation sites

(a)

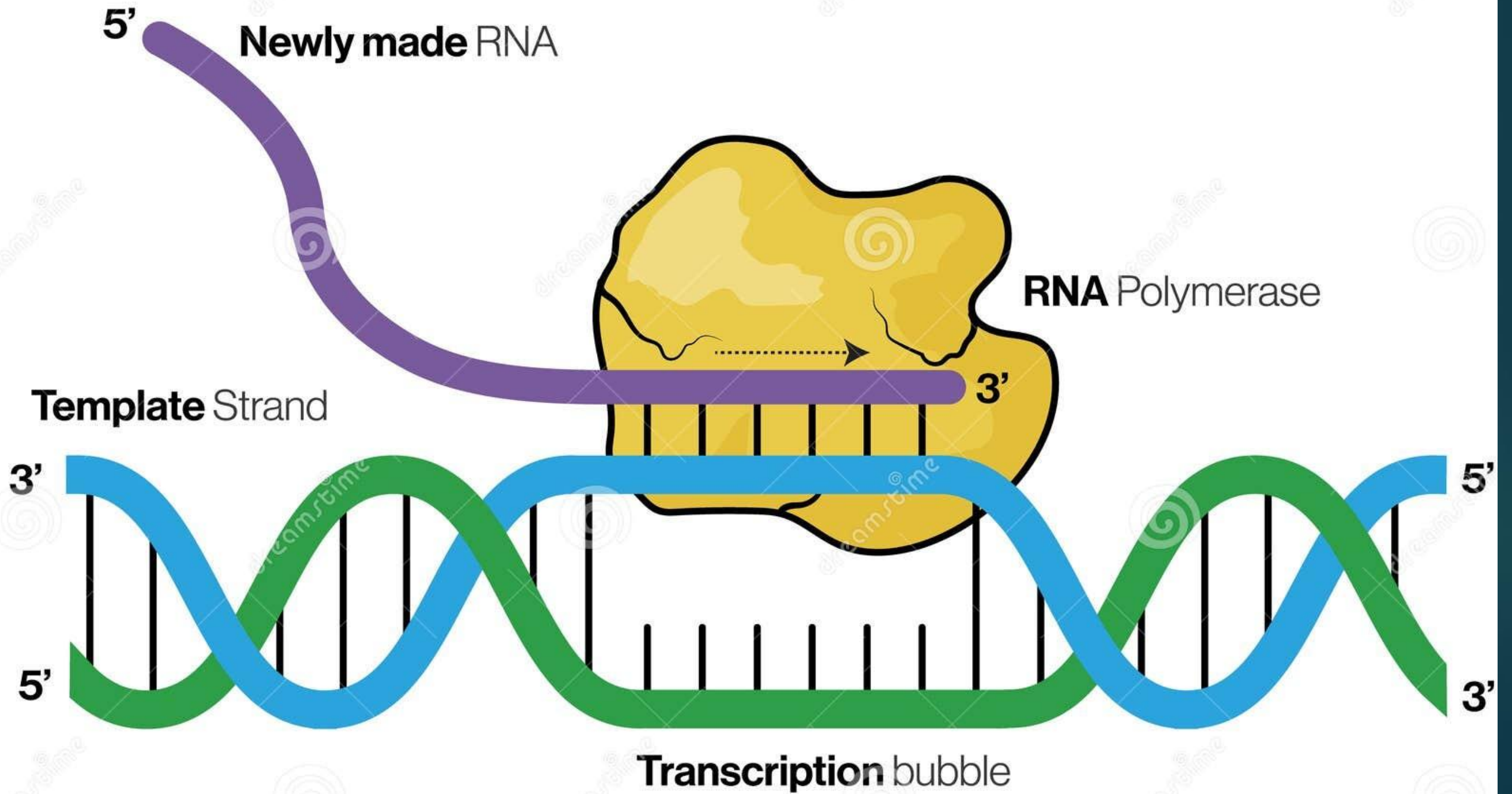
Sigma factor



Core RNA
polymerase



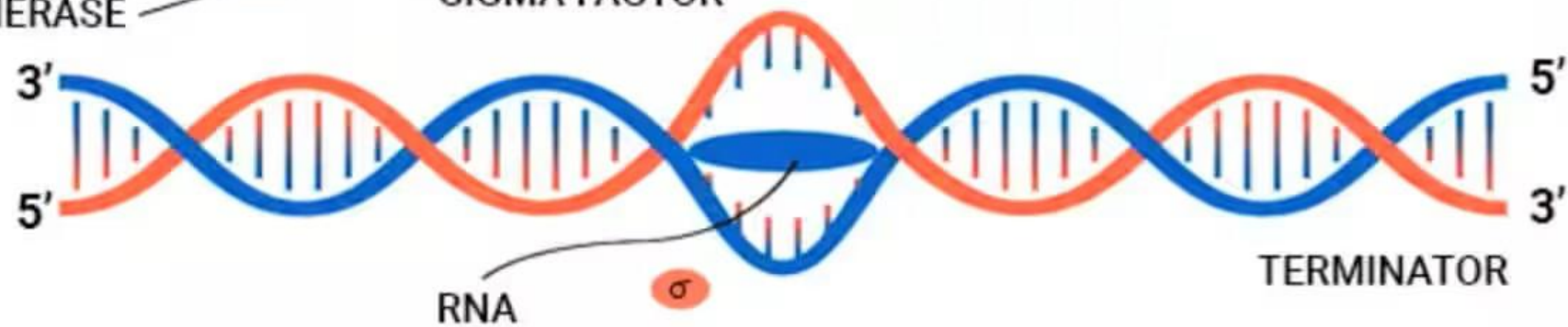
RNA polymerase
holoenzyme



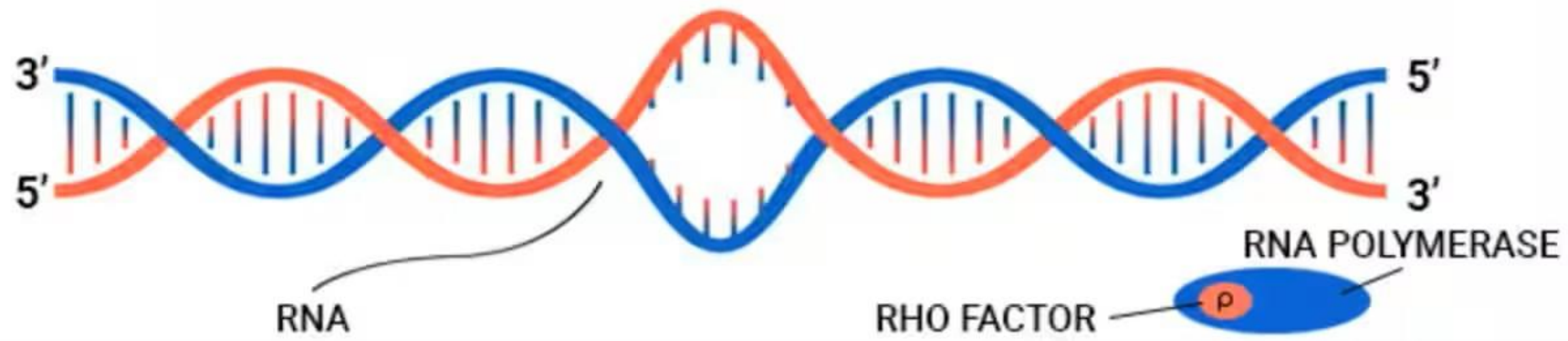
INITIATION



ELONGATION



TERMINATION



آنزیم‌های RNA پلیمراز: تفاوت‌های کلیدی

یوکاریوت‌ها

سه نوع آنزیم RNA پلیمراز مجزا با ساختار پیچیده‌تر و وزن مولکولی بالاتر فعالیت می‌کنند که هر یک مسئول رونویسی از دسته‌ی خاصی از ژن‌ها هستند.

پروکاریوت‌ها

تنها یک نوع آنزیم RNA پلیمراز وجود دارد که مسئول سنتز تمام انواع RNA است. این آنزیم ساختار ساده‌تری دارد و می‌تواند به تنهایی پروموتور را شناسایی کند.

مسئول سنتز اغلب rRNA شامل 5.8S، 18S و 28S

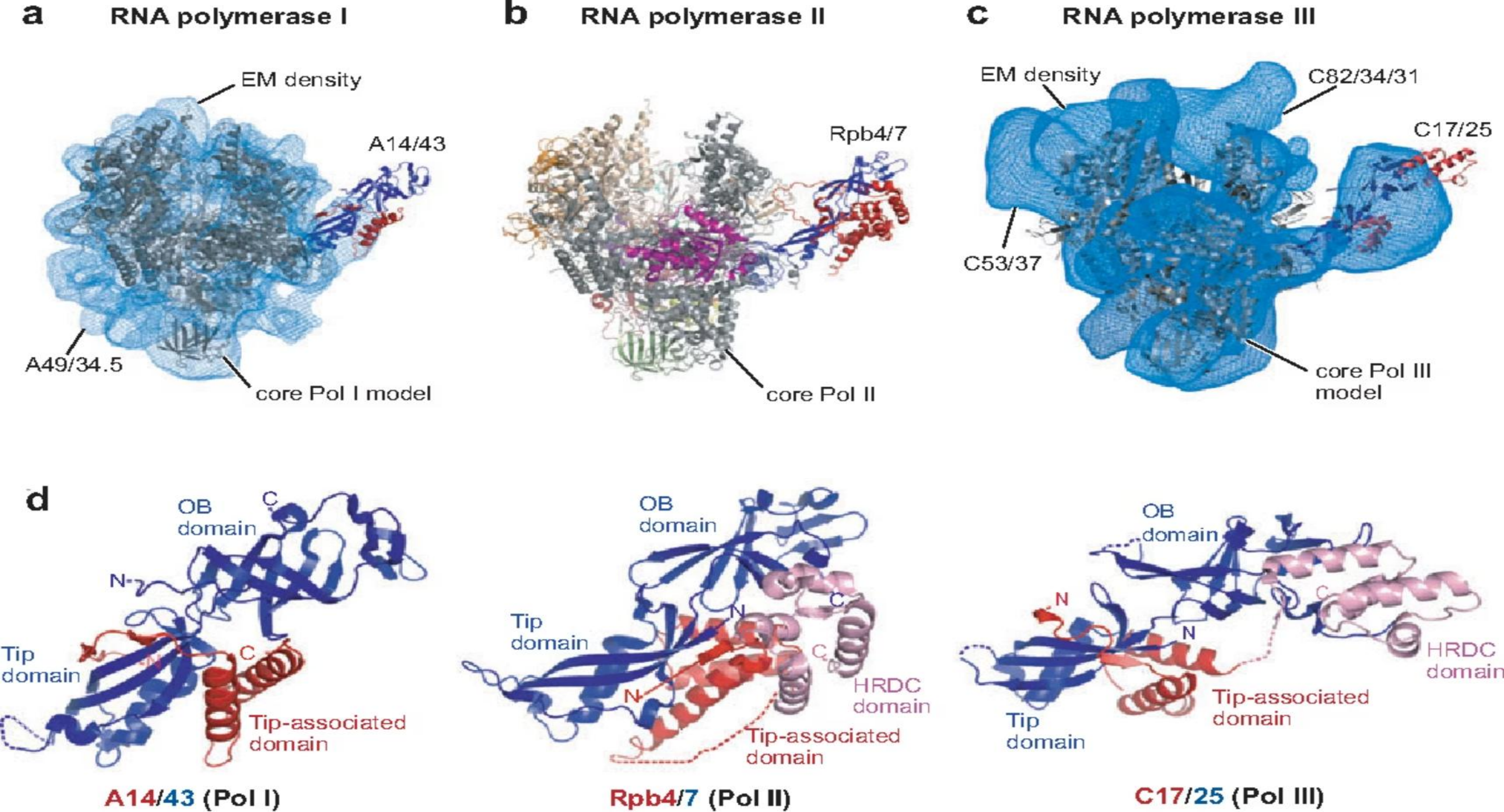
RNA پلیمراز I

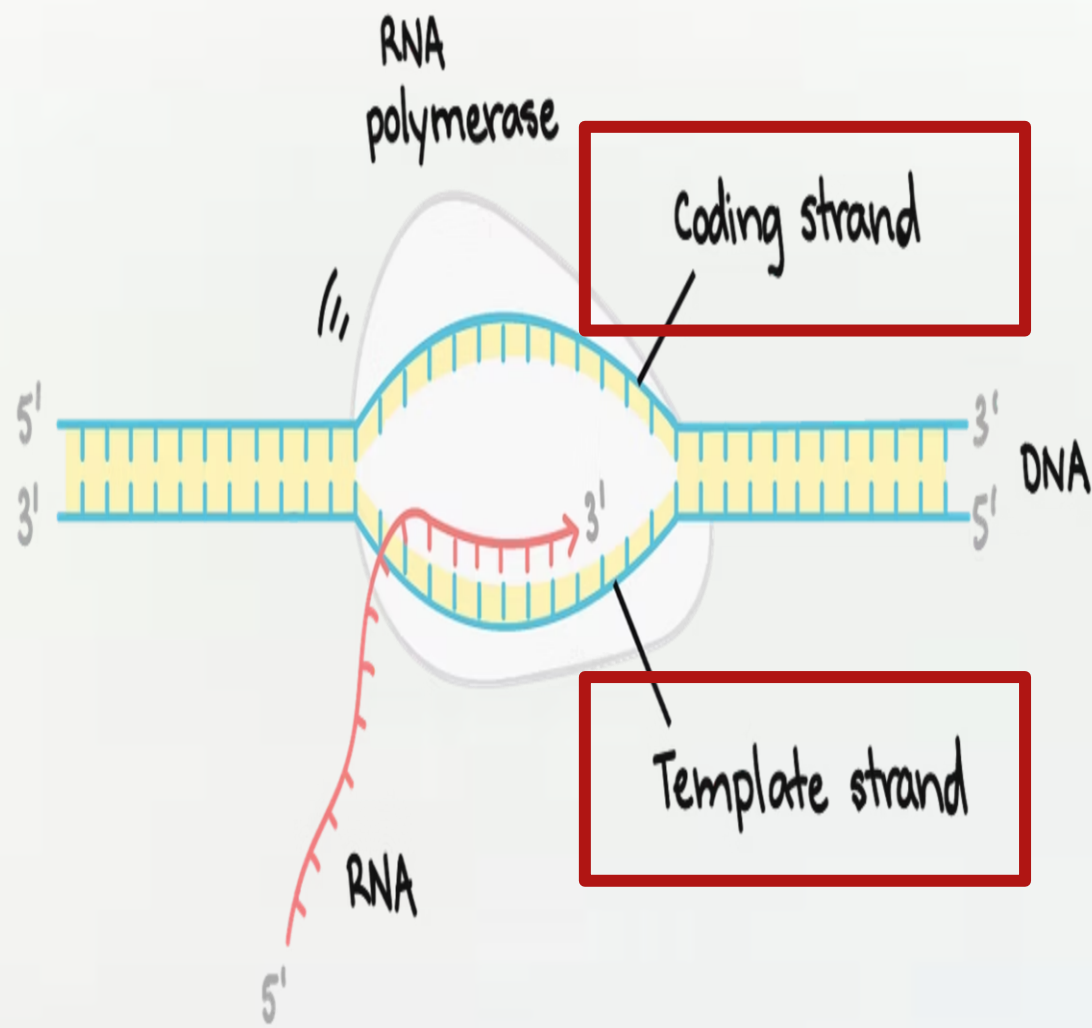
مسئول سنتز mRNA و برخی از RNA های کوچک

RNA پلیمراز II

مسئول سنتز tRNA و برخی RNA های کوچک

RNA پلیمراز III

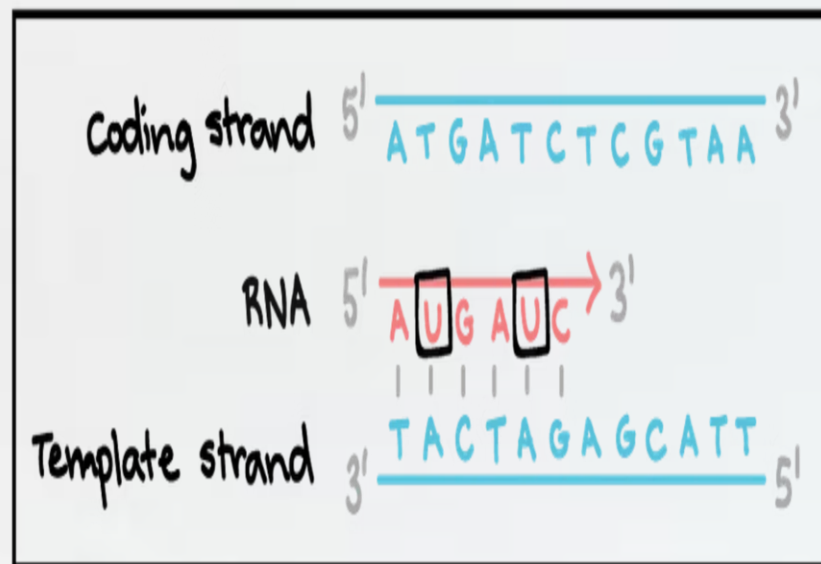




مکانیسم رونویسی: رشته الگو و غیرالگو

برای انجام رونویسی، دو رشته DNA به صورت موضعی از یکدیگر باز می‌شوند. یکی از رشته‌ها به عنوان الگو یا غیرکدکننده (Template strand) یا (Antisense strand) مورد استفاده قرار می‌گیرد و این رشته همواره در جهت $3' \rightarrow 5'$ خوانده می‌شود.

رشته مقابل که رونویسی نمی‌شود، رشته غیرالگو یا کدکننده (Coding strand) یا (Sense strand) نامیده می‌شود، زیرا توالی آن به جز جایگزینی تیمین (T) با یوراسیل (U) مشابه توالی RNA رونویسی شده یا همان mRNA است.



نکته مهم: برای ژن‌های مختلف روی یک کروموزوم، هر یک از دو رشته DNA می‌تواند به عنوان رشته الگو عمل کند.

ساختار ژن در پروکاریوت‌ها

بخش اپراتور (Operator)

ناحیه‌ای که پروتئین‌های تنظیم‌کننده به آن متصل شده و سرعت و میزان رونویسی را کنترل می‌کند

بخش پایانی (Terminator)

ناحیه‌ای که با رسیدن آنزیم به آن، رونویسی خاتمه می‌یابد

بخش راه‌انداز (Promoter)

توالی خاصی از DNA که آنزیم RNA پلیمراز به آن متصل می‌شود. شامل توالی -35 (TTGACA) و توالی -10 یا جعبه پرینو (TATAAT)

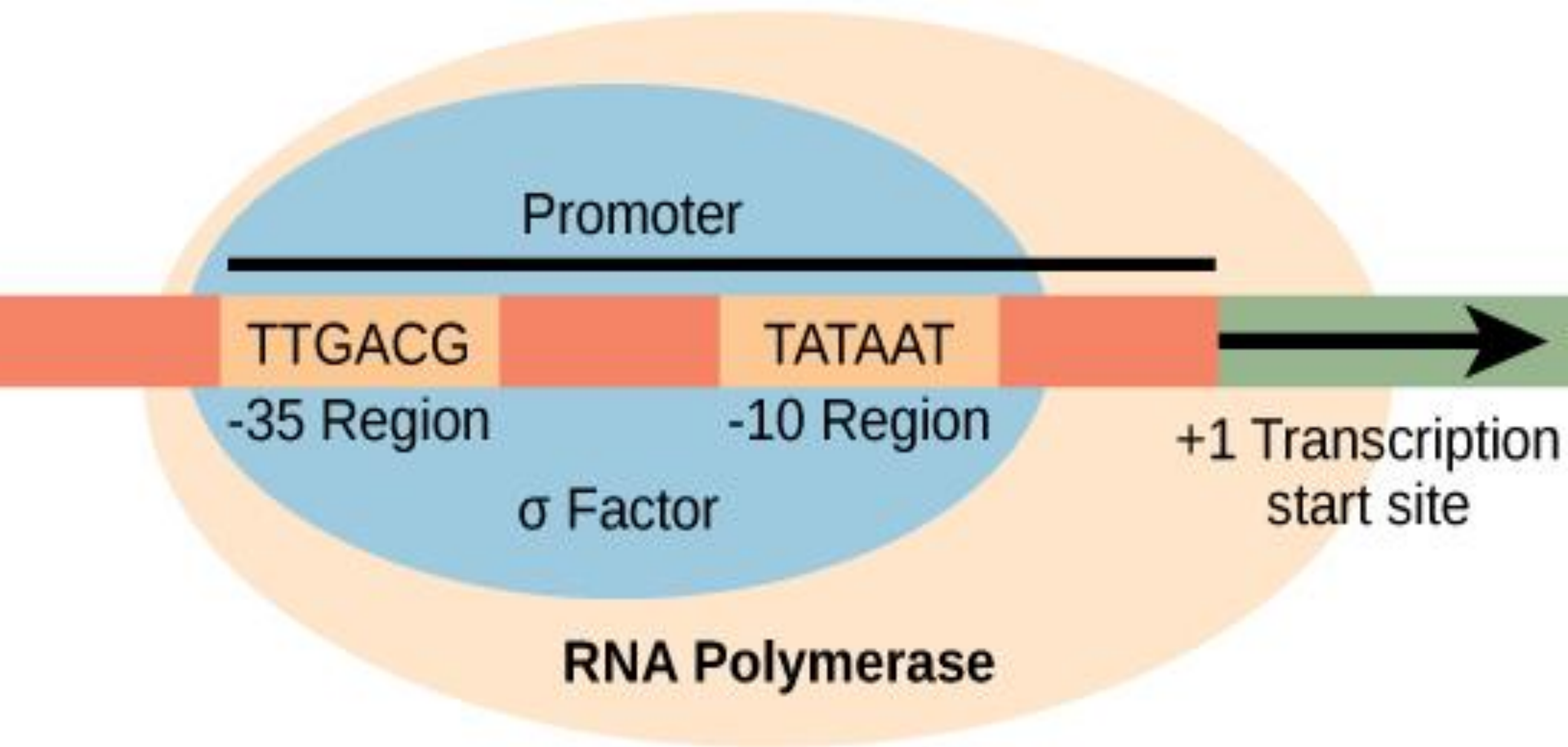
بخش ساختاری ژن

محل قرارگیری توالی‌های کدکننده و حاوی اطلاعات لازم برای ساخت محصول ژن

ساختار RNA پلیمراز پروکاریوتی

آنزیم RNA پلیمراز پروکاریوتی یک هولوآنزیم متشکل از $(\alpha_2 \beta \beta' \omega)$ و یک فاکتور سیگما (σ) می‌باشد. زیرواحد سیگما نقش حیاتی در شناسایی اختصاصی پروموتور دارد

ساختار ژن در پروکاریوت‌ها



مرحله شروع (Initiation)

هولوآنزیم از طریق فاکتور **سیگما**، ناحیه راه‌انداز را شناسایی کرده و به آن متصل می‌شود و کمپلکس بسته تشکیل می‌شود. سپس آنزیم، دو رشته DNA را **در ناحیه جعبه پرینو** باز کرده و کمپلکس باز یا **حباب رونویسی** را ایجاد می‌کند.

مرحله طویل‌سازی (Elongation)

پس از سنتز یک قطعه RNA کوتاه، فاکتور **سیگما از آنزیم جدا** شده و پروتئین NusA به آن متصل می‌شود. که به آنزیم اجازه می‌دهد تا با سرعت بیشتری در طول رشته DNA الگو حرکت کرده و زنجیره RNA را طویل سازد.



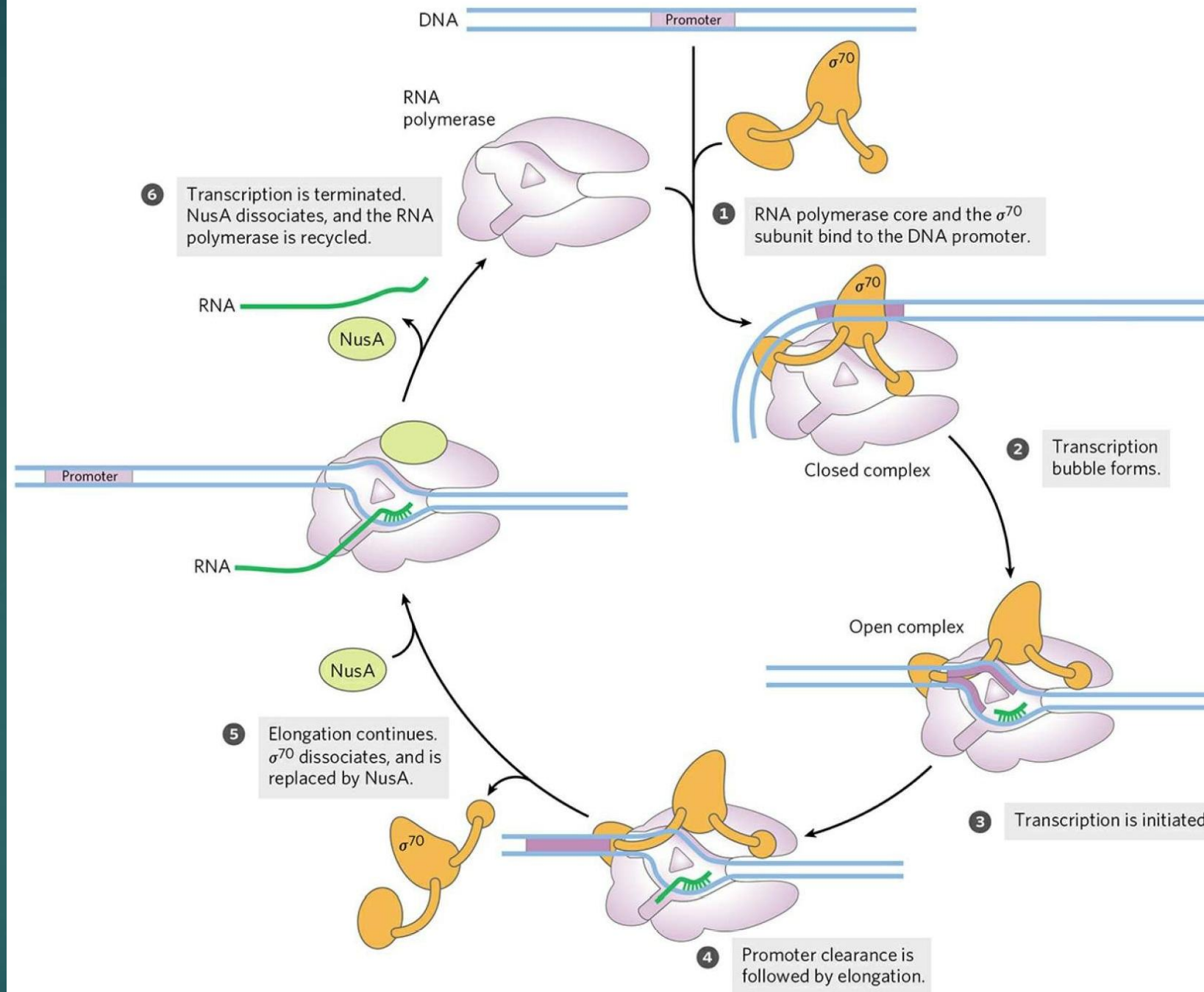


FIGURE 26-6 Transcription initiation and elongation by *E. coli* RNA polymerase.

مراحل رونویسی در پروکاریوت‌ها

مرحله شروع (Initiation)

هولوآنزیم از طریق فاکتور **سیگما**، ناحیه راه‌انداز را شناسایی کرده و به آن متصل می‌شود و کمپلکس بسته تشکیل می‌شود. سپس آنزیم، دو رشته DNA را **در ناحیه جعبه پرینو** باز کرده و کمپلکس باز یا **حباب رونویسی** را ایجاد می‌کند.

مرحله طولی سازی (Elongation)

پس از سنتز یک قطعه RNA کوتاه، فاکتور **سیگما** از آنزیم جدا شده و پروتئین NusA به آن متصل می‌شود. که به آنزیم اجازه می‌دهد تا با سرعت بیشتری در طول رشته DNA الگو حرکت کرده و زنجیره RNA را طولی سازد.

مرحله پایان (Termination)

خاتمه رونویسی به دو روش صورت می‌گیرد: **خاتمه وابسته به Rho**: با استفاده از پروتئین Rho که دارای فعالیت ATPase و هلیکاز است.

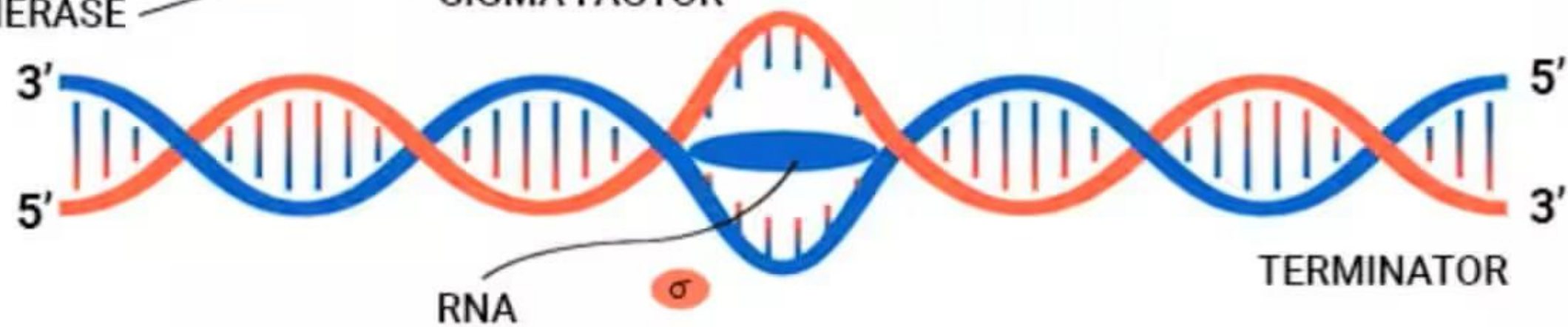
خاتمه غیر وابسته به Rho: متداول‌ترین روش و با تشکیل ساختار سنجاق سری

در پروکاریوت‌ها به دلیل **عدم وجود غشای هسته**، فرآیندهای رونویسی و ترجمه به صورت **همزمان** و جفت شده (Coupled) انجام

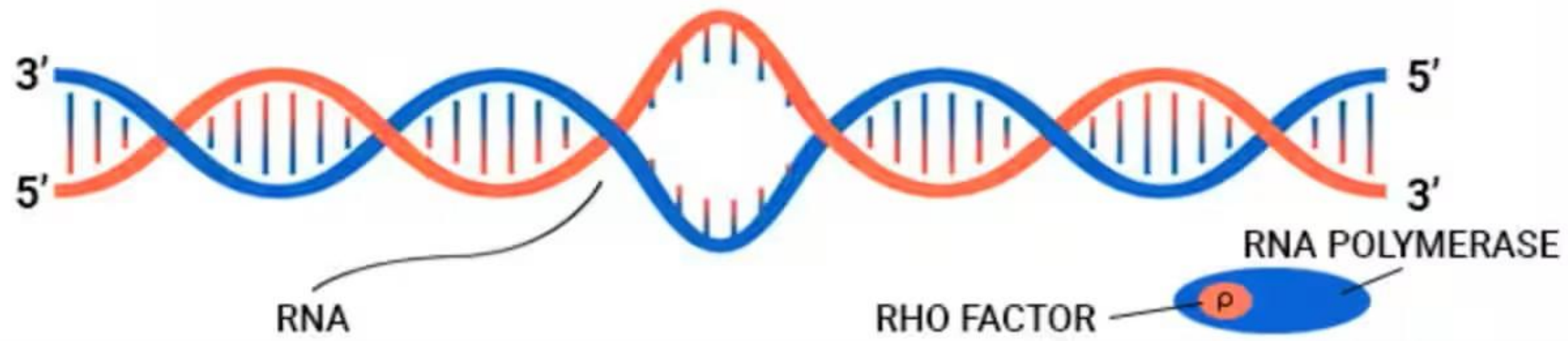
INITIATION

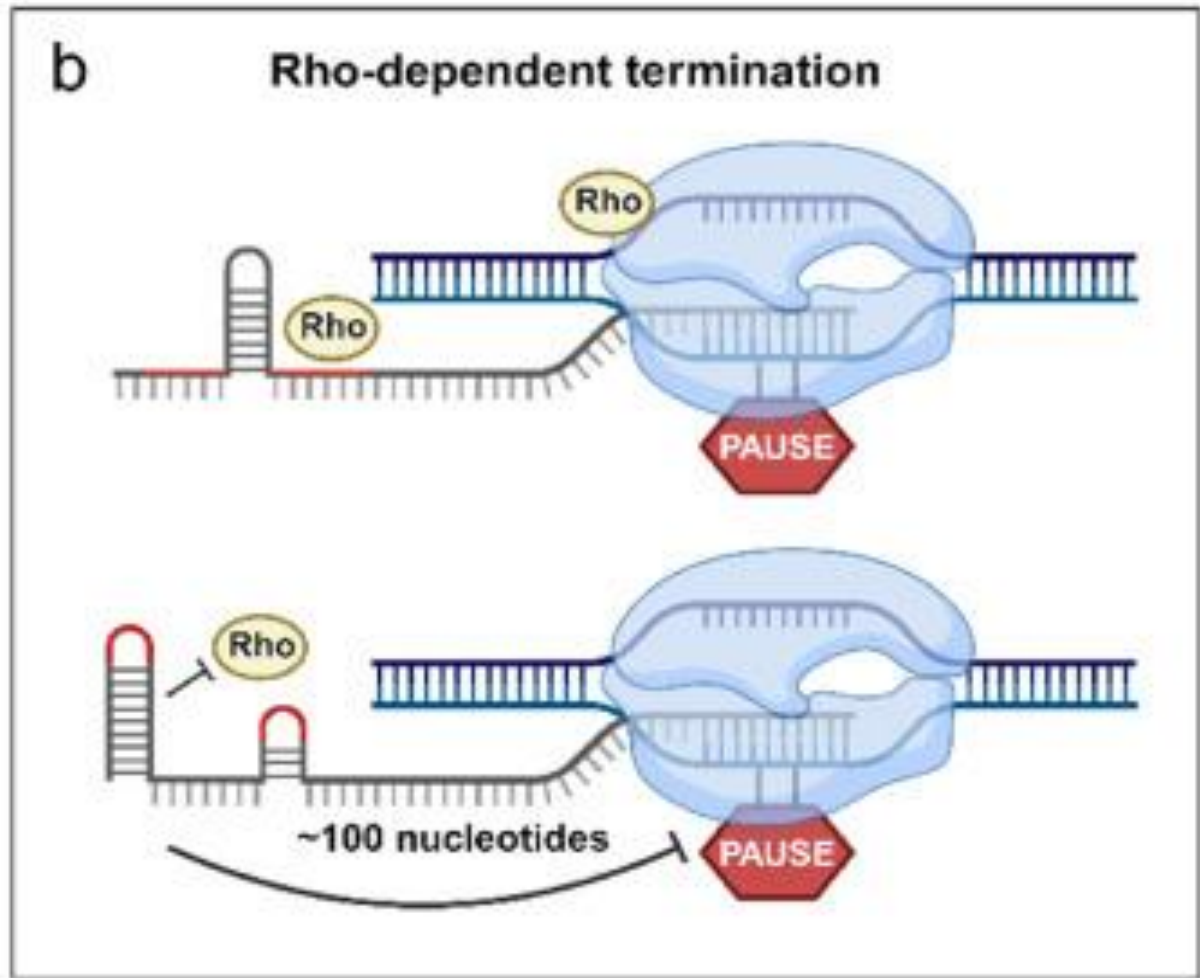
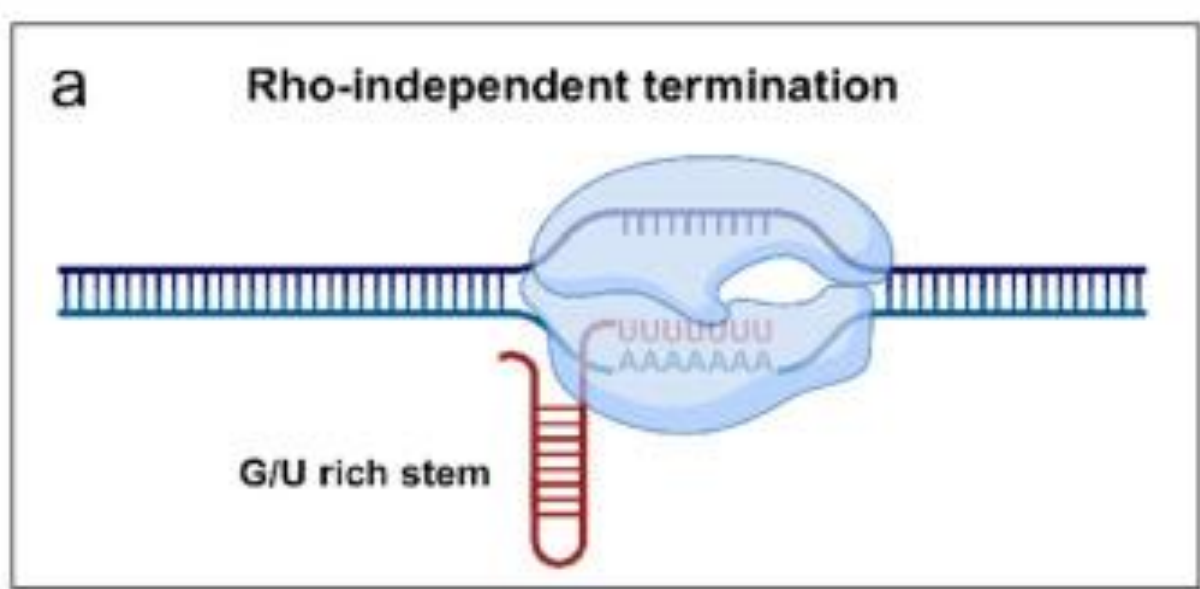


ELONGATION



TERMINATION





Current Opinion in Structural Biology

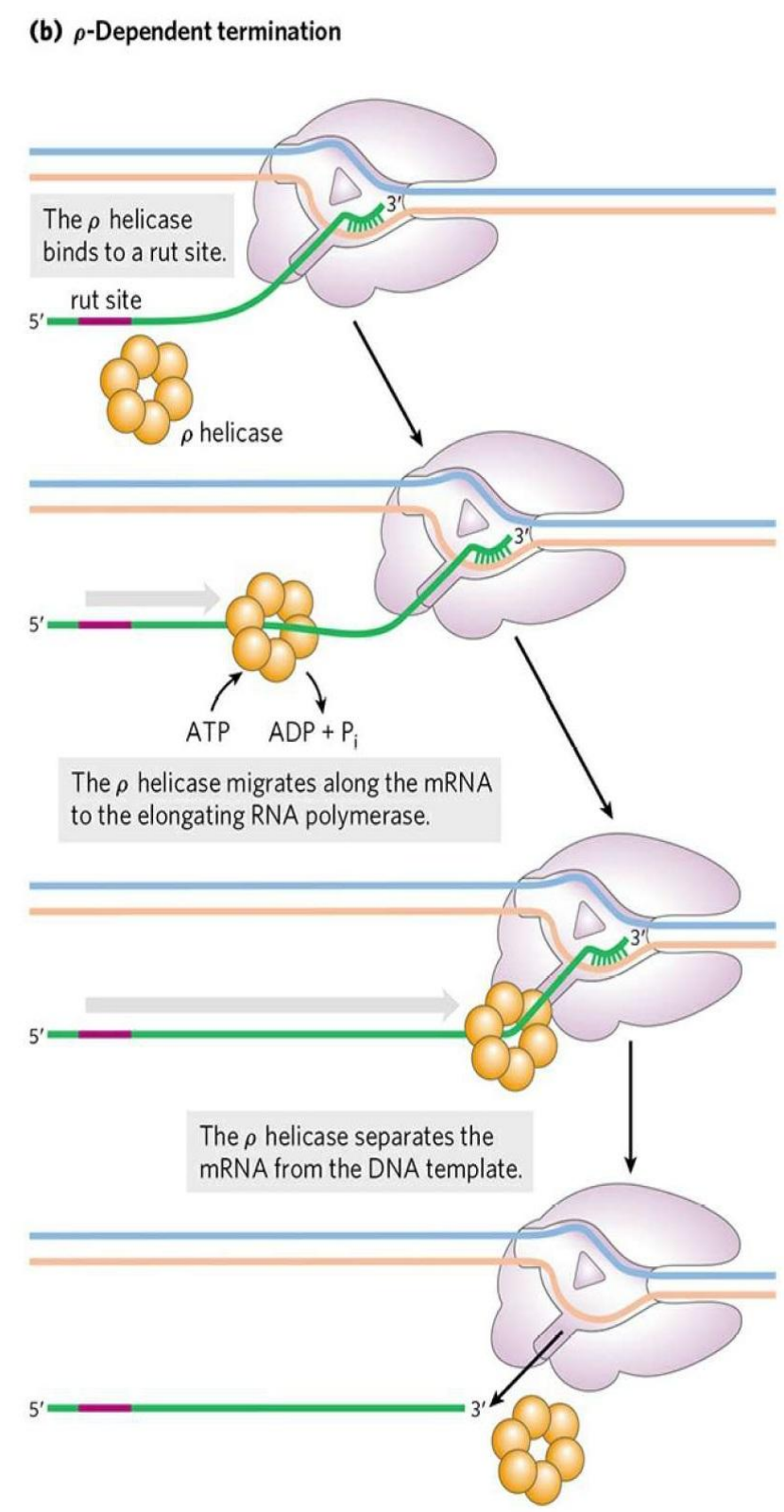
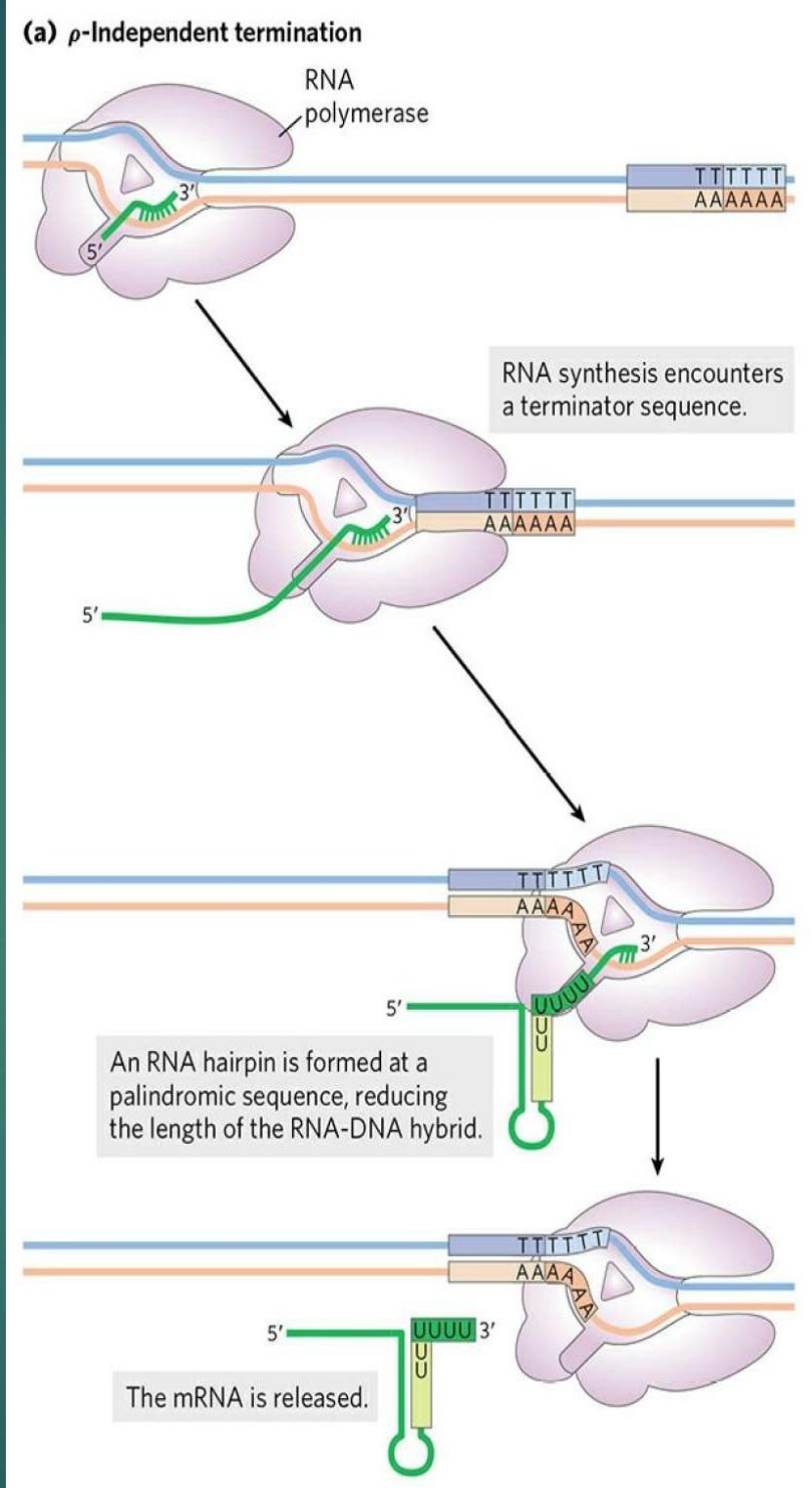


FIGURE 26-7 Termination of transcription in *E. coli*.

رونویسی در یوکاریوت‌ها

ژن‌های یوکاریوتی علاوه بر **پروموتور**، دارای توالی‌های تنظیمی دیگری مانند **افزاینده** (Enhancer) و **کاهنده** (Silencer) هستند که می‌توانند در فواصل دوری از ژن قرار گرفته و **سرعت رونویسی را تنظیم** کنند.

رونویسی توسط RNA پلیمراز II

آنزیم‌های RNA پلیمراز یوکاریوتی برای شروع رونویسی به مجموعه‌ای از پروتئین‌ها به نام عوامل عمومی رونویسی مانند **TFIID**، **TFIIF**، **TFIIH** نیاز دارند.

TFIID (شامل TBP و TAFs) به جعبه TATA در راه‌انداز (پروموتور) متصل می‌شود

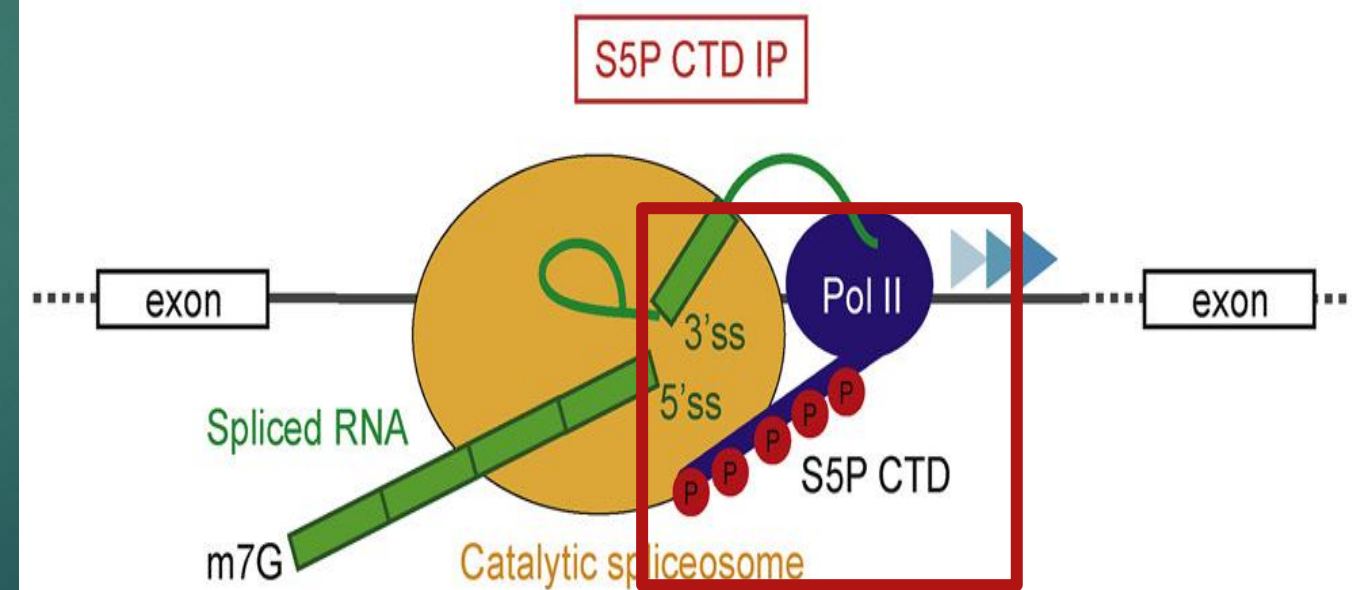
سپس TFIIB به TBP

RNA پلیمراز II به همراه **TFIIF** (**معادل فاکتور سیگما**) به کمپلکس TFIIB-TBP متصل

با اتصال TFIIE و TFIIH کمپلکس بسته تشکیل

TFIIH با فعالیت **هلیکازی** DNA را باز کرده و با فسفریلاسیون دومین کربوکسیل انتهایی (CTD) آنزیم،

طویل‌سازی را آغاز می‌کند



طویل سازی، خاتمه و آزادسازی

در هنگام سنتز ۶۰-۷۰ نوکلئوتید ابتدایی، ابتدا TFIIE و TFIIH آزاد شده و RNA پلیمراز II وارد فاز طویل سازی رونویسی می شود.

در طول طویل سازی، TFIIF همراه با RNA پلیمراز II باقی می ماند. در این مرحله فعالیت پلیمراز II توسط پروتئین هایی به نام فاکتورهای طویل سازی به طور قابل توجهی افزایش می یابد.

وقتی رونوشت RNA تکمیل شد، رونویسی خاتمه می یابد. Pol II **دفسفریله** شده و با چرخش مجدد آماده شروع سنتز رونوشت بعدی می شود.

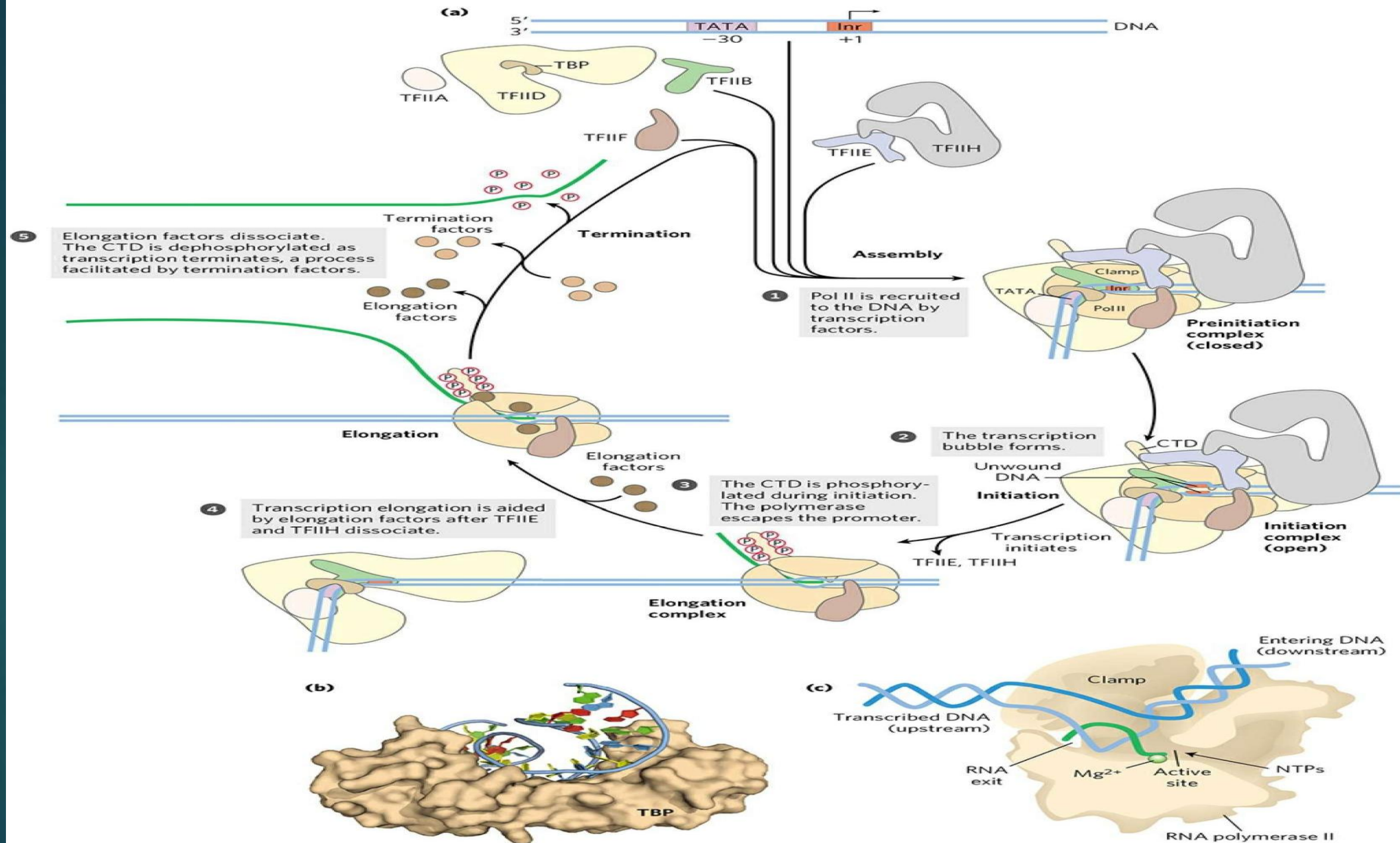


FIGURE 26-9 Transcription at RNA polymerase II promoters.

پردازش و تغییرات پس از رونویسی در RNA یوکاریوتی

مولکول mRNA که توسط RNA پلیمراز II سنتز می‌شود، ابتدا به صورت یک پیش‌ساز نابالغ به نام RNA ناهمگون هسته‌ای (hnRNA) است و باید برای تبدیل شدن به یک mRNA بالغ و عملکردی، تحت سه فرآیند اصلی قرار گیرد:

افزودن کلاهک ۵' (5' Capping)

یک نوکلئوتید **گوانین متیله شده (۷-متیل گوانوزین)** از طریق یک پیوند غیر معمول ۵'-۵' تری فسفات به انتهای ۵' مولکول mRNA اضافه می‌شود.

این کلاهک از mRNA در برابر **تخریب محافظت** کرده و برای **شناسایی آن توسط ریبوزوم** ضروری است.

افزودن دم پلی آدنین ۳' (Poly A Tail)

پس از اتمام رونویسی، آنزیم **پلی آدنیلات پلیمراز**، دنباله‌ای طولانی از نوکلئوتیدهای آدنین (دم پلی A) را به انتهای ۳' مولکول mRNA اضافه می‌کند.

این دم نیز در **پایداری mRNA** و **محافظت آن از تخریب**

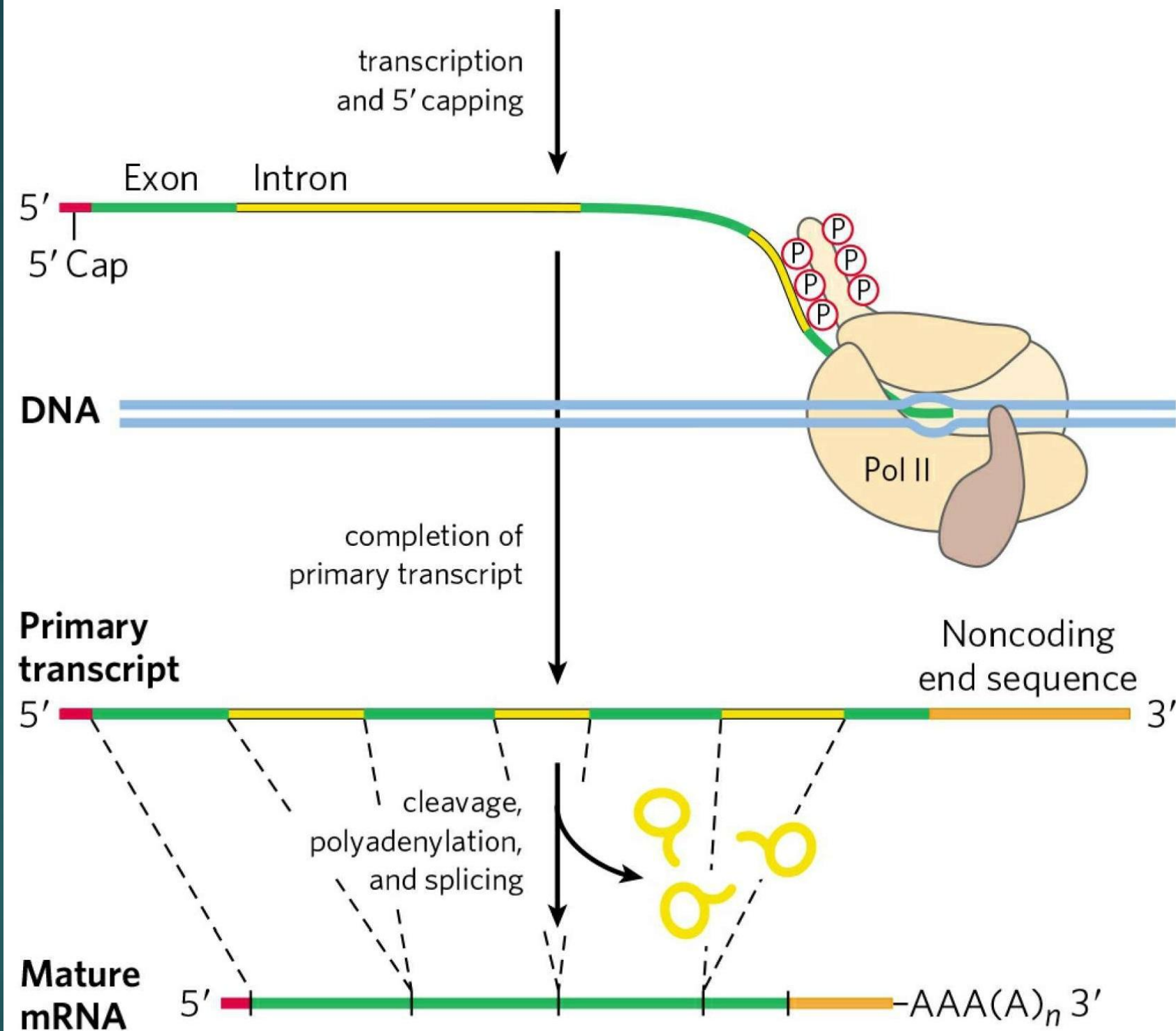


FIGURE 26-11 Formation of the primary transcript and its processing during maturation of mRNA in a eukaryotic cell.

پیرایش (Splicing)

در این فرآیند، توالی‌های **غیر کدکننده** به نام **اینترون‌ها** از hnRNA **حذف** شده و توالی‌های **کدکننده** به نام **اگزون‌ها** به یکدیگر **متصل** می‌شوند و در نتیجه mRNA بالغ ایجاد می‌شود. این عمل توسط **کمپلکس‌های پروتئینی RNA** به نام **اسپلایسوزوم** که حاوی **snRNAها** هستند، انجام می‌شود.

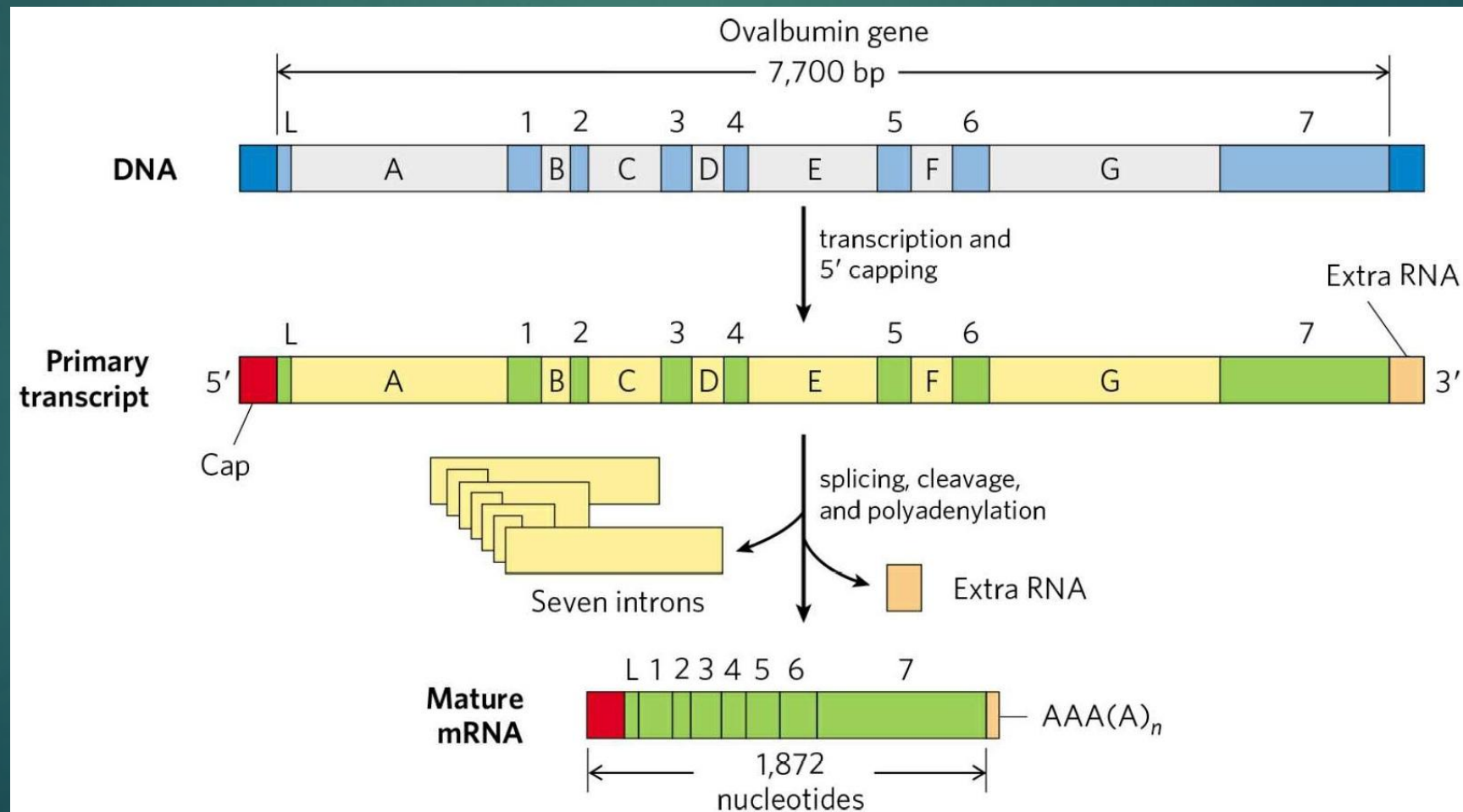


FIGURE 26-18 Overview of the processing of a eukaryotic mRNA.

پردازش tRNA

مولکول‌های tRNA نیز پس از رونویسی تحت پردازش قرار می‌گیرند که شامل:
حذف توالی‌های اضافی از دو انتها،
اضافه شدن توالی CCA به انتهای ۳' (جایگاه اتصال اسید آمینه) و
تغییرات شیمیایی در برخی از بازهای آن است.

مهارکنندگان فرآیند رونویسی

برخی ترکیبات می‌توانند فرآیند رونویسی را مهار کنند و در درمان بیماری‌ها کاربرد دارند:

اکتینومايسين D و آکریدین

این آنتی‌بیوتیک با قرار گرفتن در بین جفت‌بازهای DNA، مانع از حرکت آنزیم RNA پلیمراز در طول رشته DNA می‌شود و در درمان برخی سرطان‌ها کاربرد دارد. در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها

ریفامپین (ریفامپسین)

این آنتی‌بیوتیک به طور اختصاصی به زیرواحد بتای RNA پلیمراز پروکاریوتی متصل شده و مانع از شروع فرآیند رونویسی می‌شود، به همین دلیل در درمان عفونت‌های باکتریایی کاربرد دارد.

قارچ Amanita phalloides

این قارچ α -آمانیتین را تولید می‌کند که از طریق مهار RNA پلیمراز II و در غلظت‌های بالاتر همچنین با مهار RNA پلیمراز III، مانع تولید mRNA در سلول‌های حیوانی می‌شود.

شاد و پیروز باشید...