

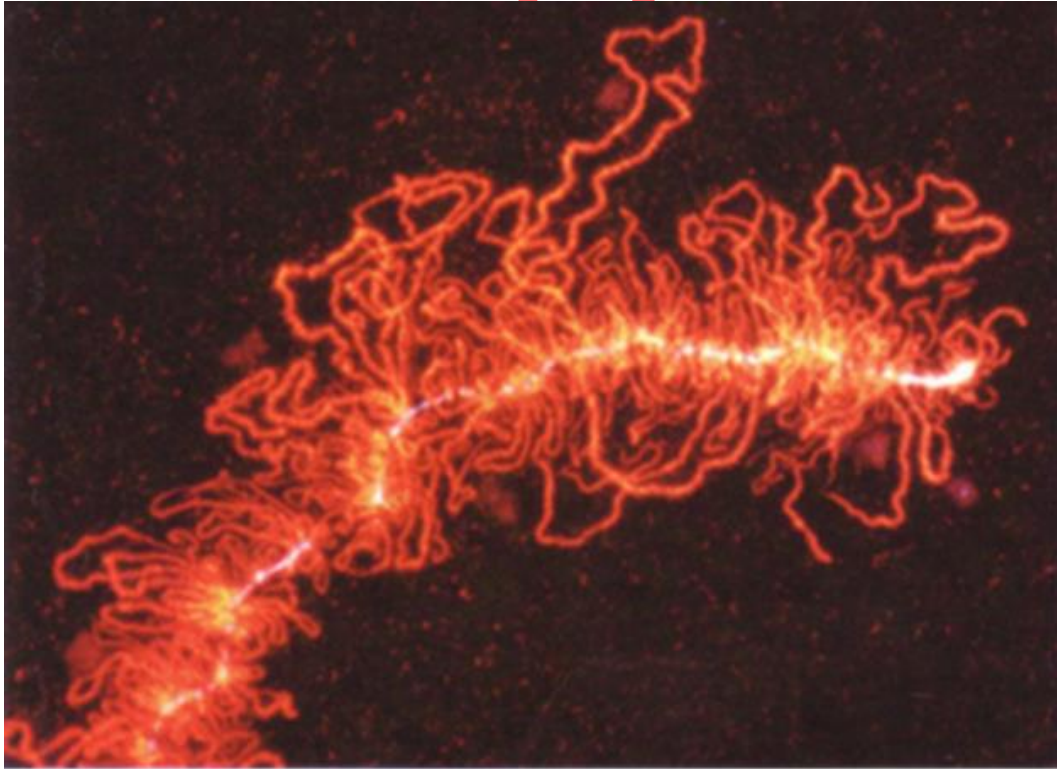
جينومات حقيقيات النوى تعضيها وتنظيمها وتطورها (1)

Eukaryotic Genomes: organization, regulation, and evolution

مقدمة:

إن التعبير الوراثي في خلايا حقيقيات النوى هو عملية معقدة، وغالباً ما يتم تنظيم هذه العملية في مرحلة الانتساخ للمادة الوراثية. يتميز جينوم حقيقيات النوى بأنه أكبر بكثير مما هو عليه في بدائيات النوى، وتكون معالجة (معاملة) processing المعلومات لدى الخلية حقيقية النواة غايةً في التعقيد بسبب التخصص الخلوي.

فعلى سبيل المثال، يمتلك الجينوم البشري ما يقدر بخمسة وعشرين ألف مورثة، وهذا يعادل خمسة أمثال ما يمتلكه الجينوم النمطي لبدائيات النوى. ويتضمن الجينوم البشري كذلك كمية ضخمة من ال DNA ليس لها دور في ترميز ال RNA أو البروتين. ويرافق ال DNA في جميع الكائنات الحية بروتينات تكثفه. ويترتب هذا المعقد من ال DNA والبروتينات عند حقيقيات النوى في مستويات بنوية أرقى من معقد ال DNA والبروتينات عند بدائيات النوى. ويوضح الشكل (10:1) البنية المعقدة للكروماتين chromatin في صبغي حقيقيات النوى.



الشكل (10:1): DNA في صبغي مأخوذ من بيضة سمندل آخذة بالتشكل لدى حقيقيات النوى.

إن جزءاً من الكروماتين يكون مرصوفاً داخل المحور الرئيسي (الأبيض في هذه الصورة) للصبغي، في حين أن الأجزاء التي يتم انتساخها تنتشر من هذا المحور بشكل عرى (الأحمر في الصورة).

تقوم بدائيات النوى وحقيقيات النوى بالاستجابة للتغيرات في الشروط البيئية من خلال تعديل التعبير الوراثي. وبالإضافة إلى ذلك، تتميز حقيقيات النوى بوجود أنماطاً خلوية متعددة، وتحتوي كل هذه الأنماط نفس الجينوم (الذخيرة الوراثية). ولكن في كل نمط خلوي، هناك مجموعة فرعية من المورثات تعبر عن نفسها وتختلف هذه المجموعة من نمط لآخر، وهذا أمر يعد تحدياً مهماً في التنظيم الوراثي.

سنقوم بدراسة بنية الكروماتين وكيف تؤثر تغيرات هذه البنية على التعبير الوراثي gene expression. ومن ثم سنناقش آليات أخرى مسؤولة عن تنظيم تعبير مورثات حقيقيات النوى.

أولاً: بنية الكروماتين وتوضيب ال DNA (DNA packing)

ترتكز بنية الكروماتين على مستويات متتابعة من توضيب وطي ال DNA. يرتبط DNA حقيقيات النوى بكمية كبيرة من البروتين بشكل وثيق مشكلاً بنية خاصة تُدعى الكروماتين، ويتعرض الكروماتين إلى تغيرات مهمة في سياق دورة الخلية، ففي خلايا طور البيني interphase cells يظهر الكروماتين ممتداً كثيراً. وعندما تتحضر الخلية للانقسام الخيطي يتلولب كروماتينها ويلتف (يتكثف) ليتشكل في نهاية المطاف عدداً مميزاً من صبغيات قصيرة وثخينة تتميز بعضها عن بعض تحت عدسة المجهر الضوئي.

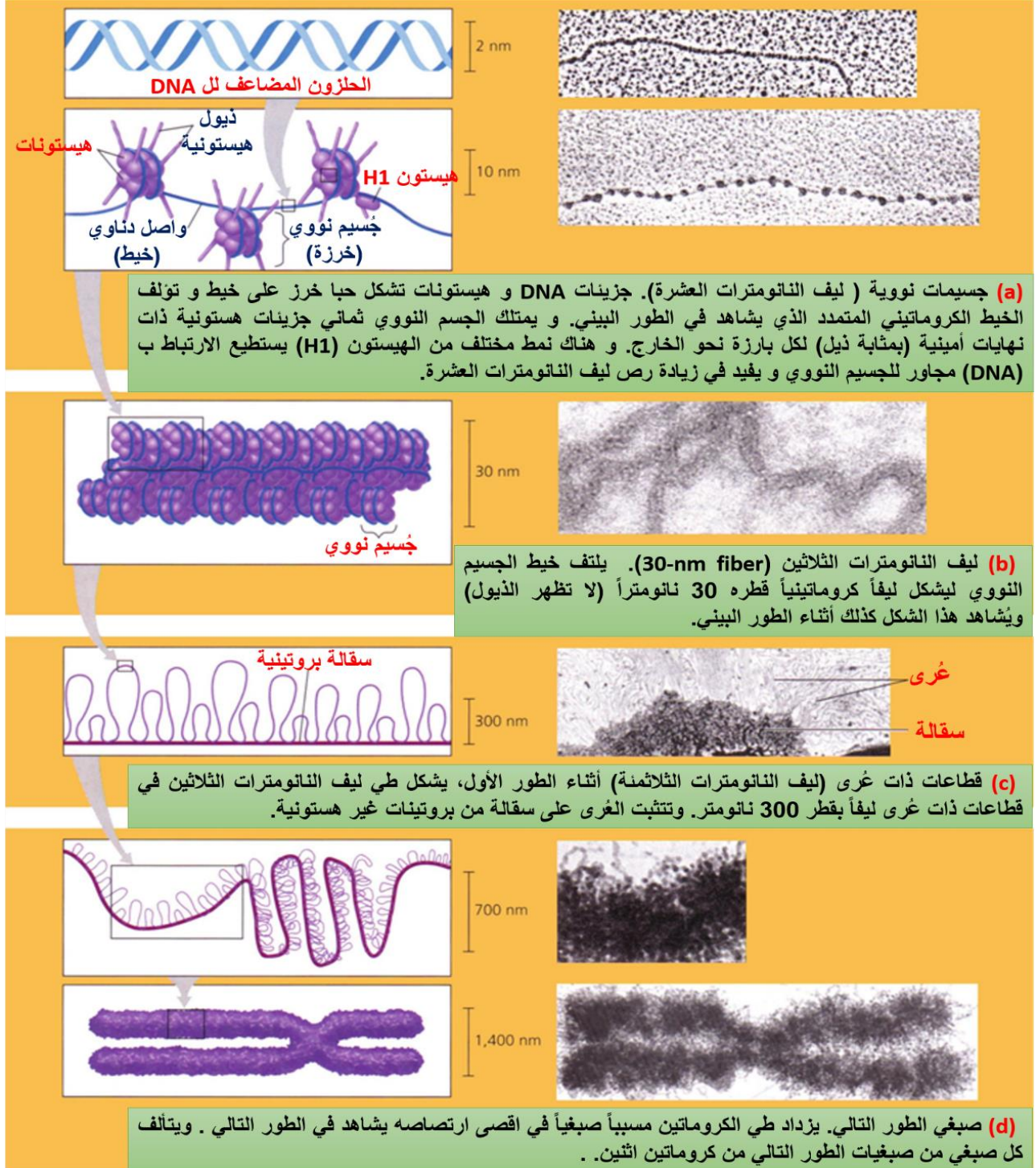
يحتوي كل صبغي حلزوناً مزدوجاً خطياً من ال DNA يبلغ طوله في المتوسط حوالي 1.5×10^8 زوجاً نكليوتيدياً. وإذا جرى بسط مثل جزيئة ال DNA هذه بشكل تام، فإن طولها سيبلغ حوالي 4 سينتيمترات. وينزل كل هذا ال DNA (و DNA الصبغيات البشرية الخمسة والأربعين الأخرى) داخل النواة في منظومة متطورة متعددة المستوى لتوضيب ال DNA والتي يلخصها الشكل (10:2).

أ- الجسيمات نووية nucleosomes (المستوى الأول من توضيب ال DNA)

تكون البروتينات التي تسمى هيستونات histones مسؤولة عن أول مستويات توضيب ال DNA في الكروماتين، وتساوي كتلة الهيستون في الكروماتين ما يقارب كتلة ال DNA. تحتوي الهيستونات على نسبة عالية من حموض أمينية موجبة الشحنة مثل الليزين والأرجينين، ترتبط بإحكام مع ال DNA ذات الشحنة السالبة (الزمر الفوسفاتية لل DNA تعطيه شحنة سالبة).

يتخذ الكروماتين مظهر خرزات في خيط كما يظهر في الشكل (a 10:2)، ويبلغ قطر الخيط الكروماتيني عشرة نانومترات. وكل خرزة فيه تمثل جسيماً نووياً nucleosome يؤلف الوحدة الأساسية لجزيئة ال DNA. ويدعى الخيط الواصل بين خرزاتها باسم الواصل linker الدناوي. يتألف الجسيم النووي من DNA ملتف حول لب كروماتيني مكون من جزيئتين من البروتينات الهيستونية تضم كل واحدة منهما أربعة أنماط من الهيستونات وهي:

H2A و H2B و H3 و H4. وتمتد النهاية الأمينية (المطرف N) لكل بروتين هيستوني (الذيل الهيستوني) خارج الجسيم النووي. وهناك جزيئة هيستون خامسة تدعى (H1) ترتبط بال DNA بالقرب من الجسيم النووي حين يخضع الليف الكروماتيني إلى المستوى التالي من تضييب ال DNA.



الشكل (10:2): مستويات تضييب الكروماتين. تصور سلسلة الرسوم التوضيحية أو الصور المجهرية الألكترونية أنموذجاً حالياً للمراحل المتتالية لعملية لف وطي ال DNA.

ب- المستويات العليا من تضييب ال DNA

يعود المستوى اللاحق من تضييب ال DNA إلى التأثيرات بين الذبول الهيستونية للجسيم النووي وال DNA الوصلة (linker DNA) والجسيمات النووية على الجانبين. فبمساعدة الهيستون تسبب هذه التأثيرات التفاف وطي الليف ذي العشرة نانومترات طولاً بحيث يتشكل ليف كروماتيني ذو ثخن يقارب 30 نانو متراً (الشكل 10:2 b). وهذا الليف يشكل بدوره عرى (تدعى القطاعات المتحلقة looped domains). ترتبط بسقالة مصنوعة من بروتينات غير هيستونية بحيث تؤلف ليفاً تبلغ ثخانتها 300 نانومتر (الشكل 10:2 c).

وتتطلب القطاعات المتحلقة نفسها في الصبغي التفتلي mitosis chromosome وتتطوى ويزداد تماسك جميع الكروماتين ليولد صبغي الطور التالي metaphase الظاهر في الصورة المجهرية عند أسفل الشكل (10:2d). ونتيجة لذلك، تتوضع مورثات معينة دائماً في نفس الأماكن لدى صبغيات الطور التالي مما يشير إلى أن خطوات التضييب هي في غاية الدقة والنوعية.

وبالرغم من أن كروماتين الطور البيني هو على العموم أقل تكثفاً من كروماتين الصبغيات التفتلية، فإنه يبدي مستويات تضييب عالية ويتميز صبغي الطور البيني بأن:

- الكثير من الكروماتين الذي يؤلف الصبغي موجود بشكل ألياف بثخانة 10 نانومتر، ولكن بعضها مرصوص compacted بشكل ألياف بثخانة 30 نانومتراً، تكون في بعض المناطق مطواة بشكل قطاعات متحلقة.
- صبغي الطور البيني يفتقر إلى السقالة الواضحة، ورغم ذلك فإن قطاعاته المتحلقة يبدو أنها ترتبط بالصفحة النووية nuclear lamina في داخل الغلاف النووي.
- تساعد هذه الارتباطات في تنظيم مناطق الانتساخ الفعال.
- يحتل كروماتين كل صبغي من الصبغيات منطقة نوعية محددة داخل نواة الطور البيني ولا تتشابك ألياف كروماتين الصبغيات المختلفة.
- القسيمات المركزية centromeres والقسيمات الطرفية telomeres للصبغيات في الطور البيني، تكون في حالة عالية التكثف كما في الشكل (10:2d).
- يدعى هذا النمط من كروماتين الطور البيني باسم الكروماتين المتغاير heterochromatin تمييزاً له عن الكروماتين الحقيقي euchromatin الأقل ارتصاصاً.

وبسبب ارتباط الكروماتين المتغير يصعب على أنزيمات الانتساخ الوصول إلى ال DNA، وبذلك لا يجري انتساخ ال DNA بشكل عام. و على النقيض من ذلك، فإن التوضيب المتخلل للكروماتين الحقيقي يجعل الأنزيمات أسهل وصولاً لل DNA الخاص بذلك الكروماتين بحيث يتاح انتساخه.

ثانياً: تنظيم التعبير الوراثي:

تقوم الخلايا بتشغيل المورثات وتوقيفها استجابة لإشارات تأتيها من أوساطها الخارجية والداخلية وبشكل مستمر. كما أن هذه الخلايا تنظم تعبير مورثاتها على أساس طويل الأمد.

ففي أثناء تنامي الكائن الحي كثير الخلايا، تمر خلاياه بعملية تخصص في الشكل والوظيفة تدعى التمايز differentiation، والتي تقود إلى أنماط خلوية متميزة. فعلى سبيل المثال، يتألف الجسم البشري الناضج من 200 نمط خلوي مختلف، منها الخلايا العضلية والخلايا العصبية.

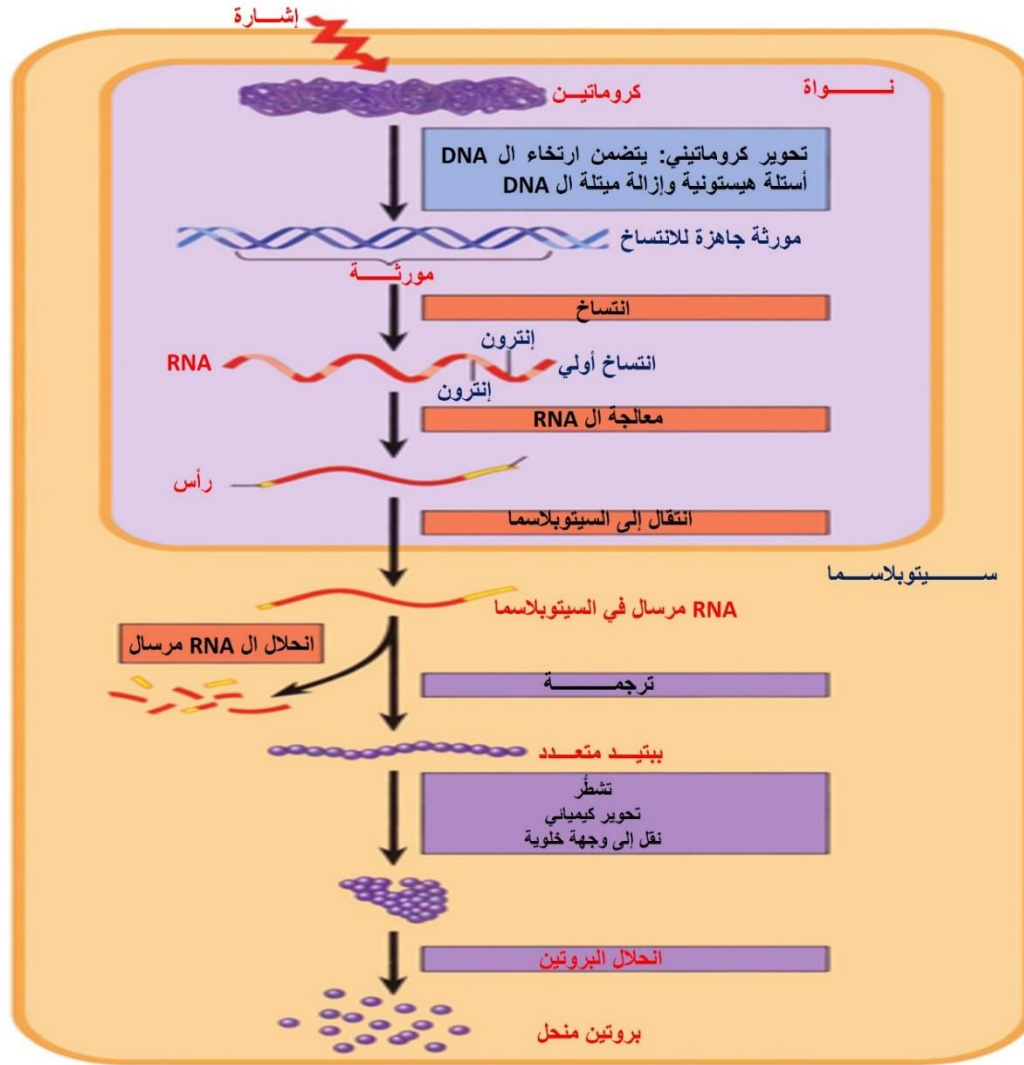
التعبير الوراثي التفريقي Differential gene expression

بشكل عام، إن حوالي 20% من مورثات الخلية البشرية النمطية تعبر عن نفسها في أي زمن، ولكن في الخلايا ذات التمايز الكبير، مثل الخلايا العضلية، تكون هذه النسبة أقل بكثير. وبالرغم من أن جميع خلايا الكائن الحي تقريباً تحتوي على جينوم متماثل، فإن المجموعة الفرعية للمورثات المعبرة expressed في خلايا كل نمط من الأنماط تكون فريدة unique بحيث تسمح لهذه الخلايا بالقيام بوظيفتها النوعية. ولذلك فإن الفروق بين الأنماط الخلوية لا تعود لوجود مورثات مختلفة بل تعود إلى التعبير الوراثي التفريقي.

قد تحتوي جينومات حقيقيات النوى عشرات الآلاف من المورثات، ولكن بالنسبة لبعض الأنواع، فإن كمية قليلة من ال DNA (حوالي 1.5% لدى البشر) ترمز البروتينات. ومن ال DNA المتبقي يتألف جزء صغير جداً من مورثات مسؤولة عن منتجات من ال RNA مثل ال RNA الريبوزومي وال RNA الناقل. ويبدو أن معظم باقي ال DNA يكون غير مُرمز noncoding.

يلخص الشكل (10:3) العملية الكلية للتعبير الوراثي في خلية حقيقية النواة، موضحاً المراحل الرئيسية في تعبير مورثة مُرمزة لأحد البروتينات. وتمثل كل مرحلة مرسومة في الشكل (10:3) نقطة تحكم control point محتملة يستطيع عندها تشغيل التعبير الوراثي أو إيقافه أو تسريعه أو إبطاؤه.

لقد سمحت إنجازات تقانة ال DNA المجال للمختصين بالبيولوجيا الجزيئية بالكشف عن العديد من تفاصيل التنظيم الوراثي لدى حقيقيات النوى. ففي جميع الأحياء ينتظم تعبير مورثات نوعية على العموم عند الانتساخ، ويكون ذلك على الأغلب استجابة لإشارات تأتي من خارج الخلية.



الشكل (10:3): مراحل في التعبير الوراثي يمكن تنظيمها في خلايا حقيقيات النوى. تشير المؤطرات الملونة في هذا الرسم التوضيحي إلى العمليات التي غالبا ما يجري تنظيمها. فالغلاف النووي الذي يفصل الانتساخ عن الترجمة لدى خلايا حقيقيات النوى، يقدم فرصة لتحكم تالي للانتساخ في شكل معالجة ال RNA التي تغيب في بدائيات النوى. يضاف إلى ذلك، أن حقيقيات النوى تمتلك تشكيلة أكثر تنوعاً لآليات تحكم تشغل قبل الانتساخ وبعد الترجمة. ولكن تعبير أية جينة معينة لا يتضمن بالضرورة كل مرحلة مبينة هنا. فعلى سبيل المثال، لا يتشطر كل ببتيد متعدد. وكما في جميع بدائيات النوى يمثل بدء الانتساخ أهم نقطة من نقاط التحكم.

ولهذا السبب فإن مصطلح التعبير الوراثي غالباً ما يعادل الانتساخ في كلا بدائيات النوى وحقيقيات النوى ولكن زيادة تعقيد الخلية الحقيقية النواة في البنية والوظيفة تمنح فرصاً لتنظيم التعبير الوراثي عند مراحل إضافية.

وسنركز على بعض نقاط التحكم المهمة للتعبير الوراثي لدى حقيقيات النوى وهي: **تنظيم البنية الكروماتينية.**
– تنظيم بدء الانتساخ. – آليات التنظيم التالية للانتساخ.

ثالثاً: تنظيم البنية الكروماتينية

إن التعضي البنيوي للكروماتين يساعد بتوضيب ال DNA الخلوي في شكل مكتنز وفي تنظيم التعبير الوراثي. فالمورثات في داخل الكروماتين المغاير ذي التكثف الكبير لا يجري في العادة التعبير عنها. وقد لوحظ التأثير الكابت للكروماتين المغاير في تجارب أدخلت فيها مورثة ناشطة انتساخياً داخل منطقة من الكروماتين المغاير لدى خلايا خميرة yeast cells فلم يجري تعبير المورثة المدخلة. إن إجراء تحويلات كيميائية معينة على هيستونات DNA الكروماتين يؤثر في بنية الكروماتين وفي التعبير الوراثي. ونذكر من هذه التحويلات:

أ- التحويلات الهيستونية histone modification

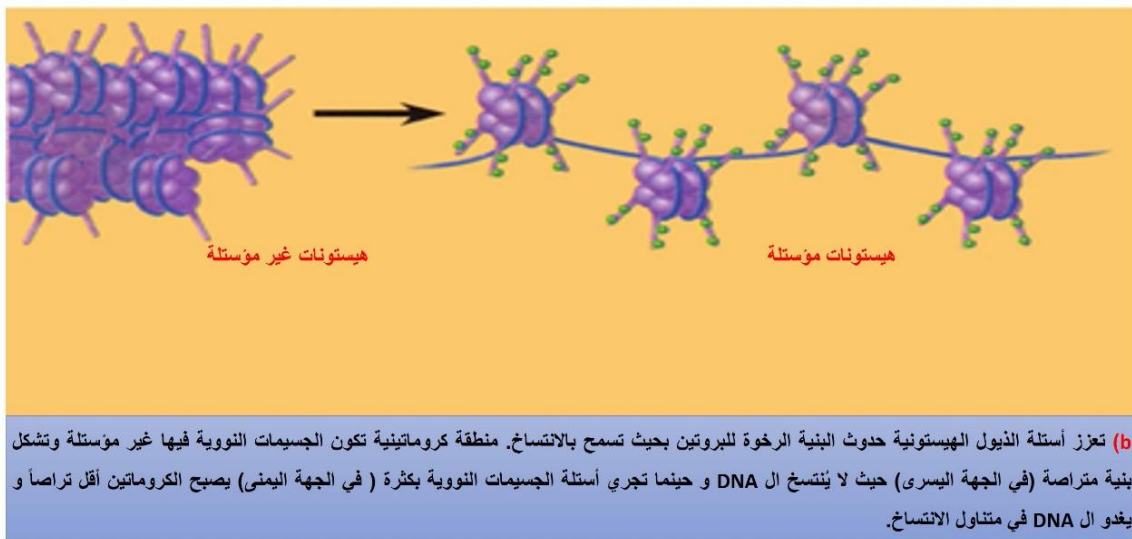
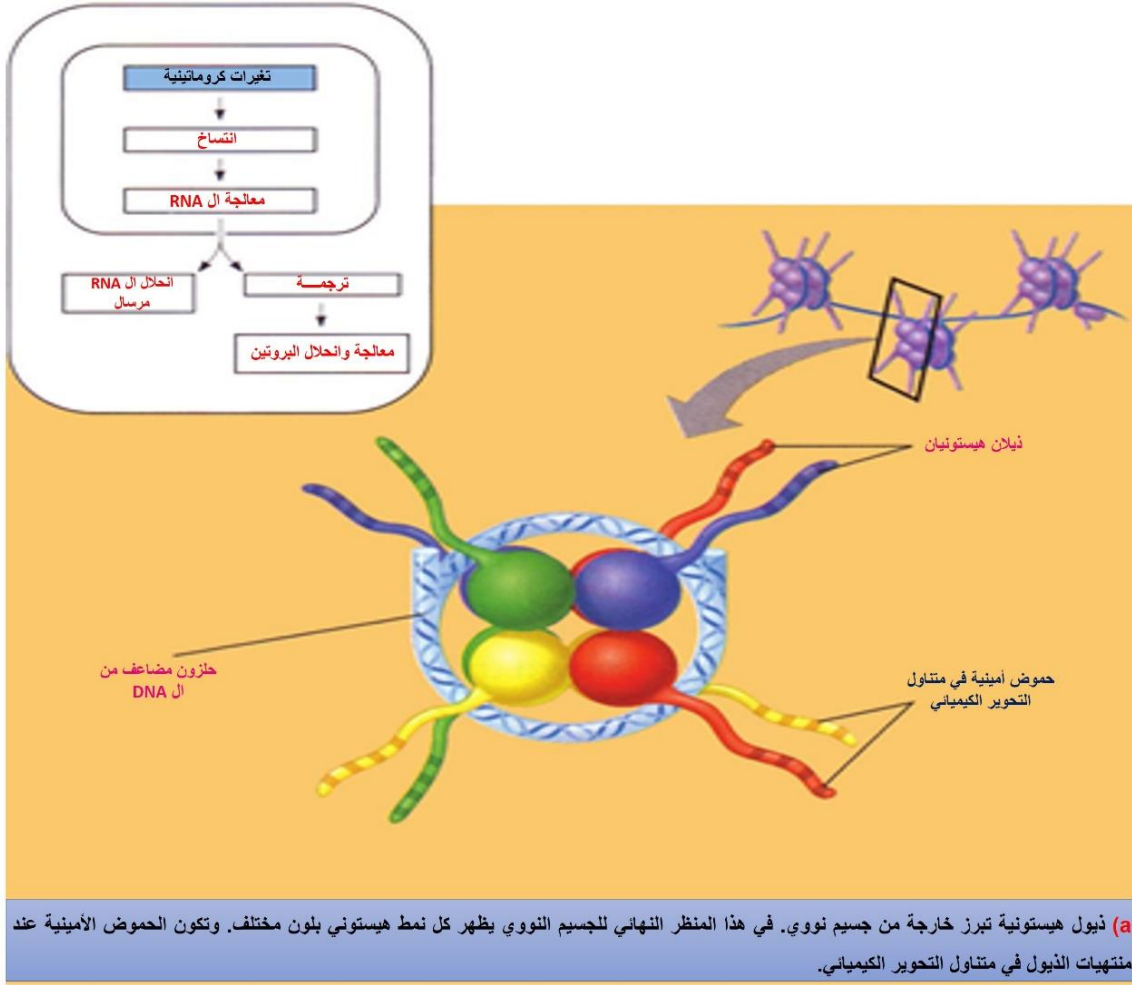
تلعب التحويلات الكيميائية في الهيستونات دوراً مباشراً في تنظيم الانتساخ الوراثي. فالنهاية النتروجينية -N terminus لكل جزيئة هيستونية في الجسيم النووي، تبرز من الجسيم النووي نحو الخارج (الشكل a 10:4) وتكون هذه الذيل الهيستونية histone tails في متناول أنزيمات تحويل مختلفة تقوم بتحفيز أو إزالة زمر كيميائية نوعية.

ففي أستلة الهيستون histon acetylation ترتبط زمر الأسيتيل (-COCH₃) بالليزينات lysines الموجبة الشحنة في ذيل الهيستون. ويعني نزع الأستلة deacetylation إزالة زمر الأسيتيل. فحينما تتأستل الذيل الهيستونية للجسيم النووي تتعدل شحناتها الموجبة، ولا تعود ترتبط بالجسيمات النووية المجاورة (الشكل b 10:4). علماً أن هذا الارتباط يعزز طي الكروماتين ليعطي بنية أكثر اكتنازاً، وحين لا يحدث هذا الارتباط يكون للكروماتين بنية مفككة، وبنتيجة لذلك تحظى بروتينات الانتساخ بوصول أسهل إلى المورثات في المنطقة المؤسلة.

إن بعض الأنزيمات التي تؤسّتل أو تنزع أستلة الهيستونات تلازم بشكل وثيق مكونات عوامل الانتساخ التي ترتبط بالحااثات. وبمعنى آخر، يمكن أن تعزز أنزيمات أستلة الهيستونات بدء الانتساخ ليس عبر تحويل بنية الكروماتين فقط بل وكذلك عبر ربط، وبالتالي توظيف، مكونات آلة الانتساخ.

وهناك عدة زمر كيميائية يمكن أن ترتبط بشكل عكوسي reversibly بالحموض الأمينية في ذيل الهيستون. فعلى سبيل المثال يمكن أن تفضي إضافة زمر الميثيل (-CH₃) إلى الذيل الهيستونية (أو مايسمى المَثِيلَة methylation) إلى تكثف الكروماتين. إن معرفة هذه التحويلات في الذيل الهيستونية التي يمكن أن تؤثر في

بنية الكروماتين قد أفضى إلى فرضية راموز الهيستون histone code hypothesis. فهذه التحويلات تلعب دوراً في تحديد بنية configuration الكروماتين الذي يؤثر بدوره في الانتساخ.



الشكل (10:4): أنموذج بسيط للذبول الهيستونية وتأثير أسئلة الهيستون يمكن أن تعاني الهيستونات بالإضافة إلى الأسئلة بضعة أنماط من التحويلات تفيد أيضاً في تحديد بنية الكروماتين في منطقة ما.

ب- مَثِيلَة ال DNA (DNA methylation)

المَثِيلَة هي عملية منفصلة عن مَثِيلَة الذيل الهيستونية، وتتمثل في إضافة زمر الميثيل إلى أسس bases معينة في ال DNA بعد اصطناعها. يمتلك DNA معظم النباتات والحيوانات أسساً مُمَثِيلَة methylated bases (من السيتوزين في العادة). ويكون ال DNA غير الفعال كال DNA الموجودة في الصبغي X غير الفعال في الثدييات، شديد المَثِيلَة بشكل عام وذلك بالمقارنة مع ال DNA التي يتم انتساخها بشكل فعال.

تبين مقارنة نفس المورثات في أنسجة مختلفة أن المورثات تكون في العادة أثقل مَثِيلَة في الخلايا التي لا تستطيع أن تعبر فيها عن نفسها. ويشار إلى أن إزالة زمر الميثيل الإضافية يمكن أن تشغل مورثات معينة. وعلاوة على ذلك، فإن بروتينات معينة ترتبط بال DNA المُمَثِيل تستطيع تفعيل أنزيمات نزع أسئلة الهيستون. وبذلك تستطيع آلية مزدوجة، تتضمن مَثِيلَة ال DNA ونزع أسئلة الهيستون أن تكبت عملية الانتساخ.

ج- وراثَة التخلق المتوالي epigenetic inheritance

لا تتضمن تحويلات الكروماتين كأسئلة الهيستون ومَثِيلَة ال DNA تغييراً في تتالي النكليوتيدات DNA (sequence)، وبالرغم من ذلك يمكن تمريرها إلى أجيال الخلايا المستقبلية. إن وراثَة الصفات التي تنقلها آليات لا تتضمن التتالي النكليوتيدي بشكل مباشر يطلق عليها اسم وراثَة التخلق المتوالي. يبدو أن معلومات التخلق المتوالي لها أهمية في تنظيم التعبير الوراثي وأن الأنزيمات التي تحور بنية الكروماتين هي أجزاء مكملَة integral parts من الآلة الخلوية المسؤولة عن تنظيم الانتساخ.

رابعاً: تنظيم بدء الانتساخ

تقدم أنزيمات تحويل الكروماتين ضبطاً أولياً للتعبير الوراثي عن طريق جعل منطقة من ال DNA قادرة إلى حد ما على الارتباط بالآلة الانتساخ. وحالما تتحور إحدى المورثات بالشكل المفضل للانتساخ بشكل بدء الانتساخ المرحلة الأهم والأعم التي ينتظم عندها التعبير الوراثي.

أ- تعضي مورثة نمطية لحقيقيات النوى

تنتظم مورثة حقيقيات النوى وعناصر ال DNA التي تتحكم بها على النحو الذي يظهر في الشكل (10:5). يتجمع معقد بدء الانتساخ (تجمعاً من البروتينات) عند تتالية الحاث promoter sequence في النهاية العليا من المورثة. ومن ثم تبادل إحدى هذه البروتينات (وهي ال RNA بوليميراز II) إلى نسخ المورثة بحيث تصنع نسخة أولية من ال RNA (هو طليعة RNA المرسل pre-mRNA). ونشير هنا إلى أن صناعة ال RNA تتضمن إضافة أنزيمية ل (القلنسوة 5' cap والذيل poly-A tail) جنباً إلى جنب مع شطر نترونات، وصولاً لل RNA

المرسال الناضج (mRNA). وترافق معظم مورثات حقيقيات النوى عناصر تحكم متعددة، وهي قطع غير مرئية من ال DNA تساعد في تنظيم الانتساخ عن طريق ربط بروتينات معينة. وتعد عناصر التحكم هذه والبروتينات التي تربطها مهمة جداً للتنظيم الدقيق للتعبير الوراثي الذي يشاهد في الأنماط الخلوية المختلفة.

ب- أدوار عوامل الانتساخ

يتطلب ال RNA بوليميراز لحقيقيات النوى مساعدة بروتينات تدعى عوامل الانتساخ transcription factors من أجل بدء الانتساخ. ويوجد مجموعتين من عوامل الانتساخ:

♦ عوامل الانتساخ العامة: وهي عوامل أساسية لانتساخ جميع المورثات التي ترمز البروتينات. ولا يقوم إلا القليل من عوامل الانتساخ العامة بشكل مستقل بربط تتالية ال DNA مثل صندوق TATA (box TATA) الموجود في داخل الحاث. أما باقي العوامل فإنها ترتبط بشكل أساسي بروتينات، بما في ذلك ربطها مع بعضها ومع ال RNA بوليميراز II.

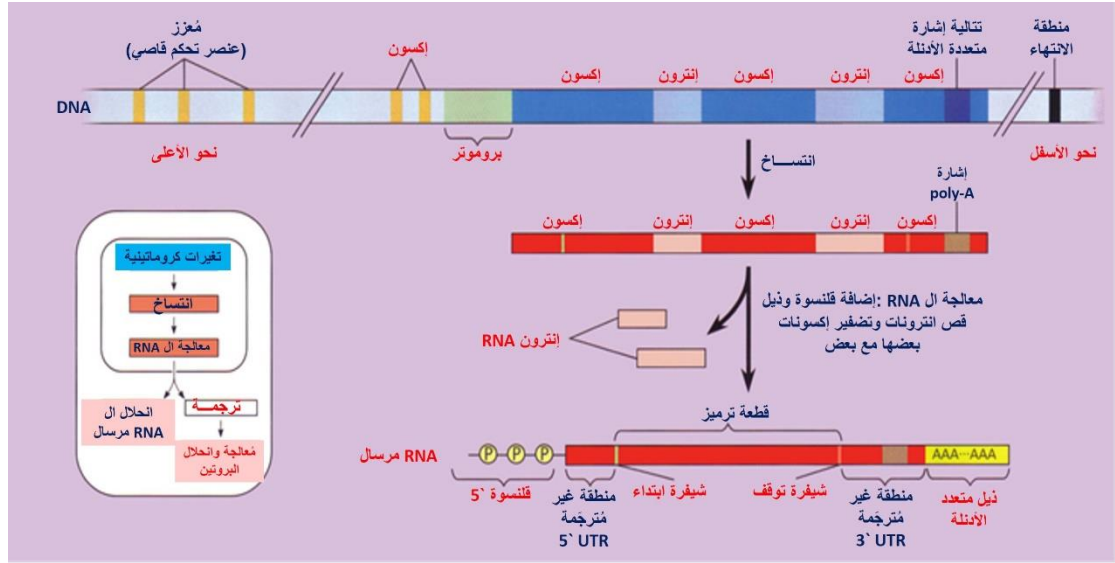
إن هذه التأثيرات (البروتينية – البروتينية) ضرورية لبدء الانتساخ في حقيقيات النوى. ولا يستطيع البوليميراز التحرك على طول شريط قالب ال DNA ليولد شريطاً متمماً من ال RNA إلا حيث يتجمع معقد البدء الكامل. إن تأثير عوامل الانتساخ العامة وال RNA بوليميراز II مع الحاث لا يؤدي في العادة إلا إلى نسبة منخفضة من بدء وإنتاج نسخ قليلة من ال RNA.

♦ عوامل الانتساخ النوعية: في حقيقيات النوى تعتمد السويات العالية من انتساخ مورثات معينة في الوقت والمكان المناسبين على تأثير عناصر التحكم control elements مع بروتينات أخرى يُعتقد بأنها عوامل انتساخ نوعية.

المعززات enhancers وعوامل الانتساخ النوعية: يوجد مجموعتين من عناصر التحكم الشكل (5:10):

- عناصر التحكم الدانية (القريبة) Proximal control elements: تتوضع في محاذة الحاث.
- عناصر التحكم القاصية (البعيدة) distal control elements: التي تدعى مجموعاتها باسم المُعزّزات فيمكن أن تكون آلافاً من النكليوتيدات في أعلى المورثة أو أسفلها أو حتى داخل الإنترون intron.

ويمكن لمورثة ما أن تكون ذات معززات متعددة وكل مُعزّز منها ينشط في زمن مختلف أو في نمط خلوي مختلف أو في موقع مختلف في الكائن الحي.



الشكل (10:5): مورثة من حقيقيات النوى وناسوخها tranascript. تمتلك كل مورثة من حقيقيات النوى حاث يتألف من تتالية من DNA ال يرتبط بها ال RNA بوليميراز ويبدأ الانتساخ سائراً حتى نهايته ويضطلع عدد من عناصر التحكم (باللون الذهبي) بتنظيم بدء الانتساخ. وتجري أدلة متعددة (poly-A) لإشارة موجودة على الإكسون الأخير للمورثة فتنتسخ إلى تتالية رناوية تحدد أين ينشطر الناسوخ. ويضاف ذيل الأدلة المتعددة. ويمكن أن يتواصل الانتساخ ليتناول مئات النكلوتيدات بعد الإشارة المتعددة الأدلة poly-A signal قبل الانتهاء. وتتضمن معالجة ال RNA للناسوخ الأولي وصولاً إلى RNA مرسال وظيفي ثلاث خطوات هي: 1-إضافة قلنسوة 5` فإنها تنضاف بعد بدء الانتساخ مباشرة. 2- ينضاف الذيل poly-A. 3- التضفير أثناء عملية الانتساخ.

هذا وتتمتع التأثيرات بين المعززات و عوامل انتساخ نوعية أخرى (تدعى المفعلات activators أو الكاظمات repressors) بأهمية خاصة في التحكم بالتعبير الوراثي.

المفعلات activators: هو بروتين يرتبط بأحد المعززات وينشط انتساخ مورثة ما. ويبين الشكل (10:6) أنموذجاً عن الكيفية التي يمكن أن يؤثر فيها ارتباط المفعلات بمُعززات متوضعة بعيداً عن الحاث على الانتساخ. لقد اكتشف مئات من مفعلات الانتساخ في حقيقيات النوى، وتم تحديد هوية عنصرين بڤيويين شائعين في عدد كبير من بروتينات المفعلات وهما:

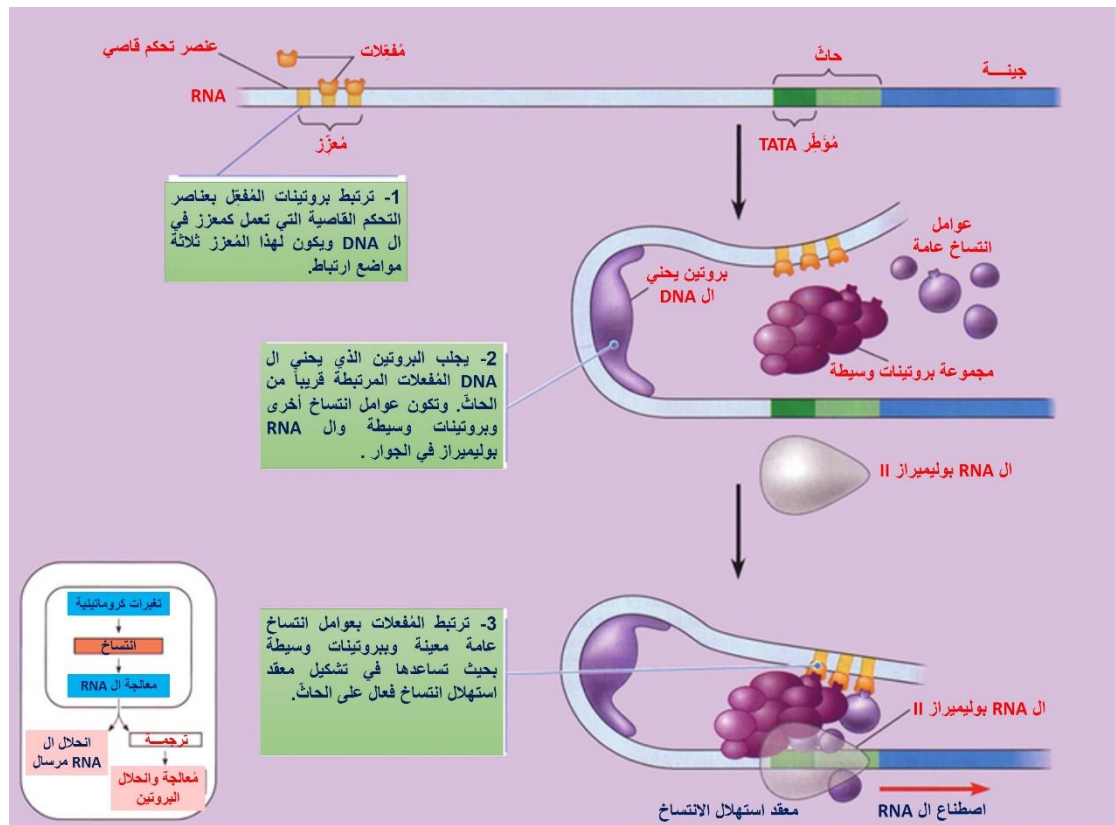
- قطاع رابط لل DNA يعد جزءاً من بنية بروتينية ثلاثية الأبعاد ترتبط بال DNA .
- قطاع تفعيل activation domain أو أكثر. وهي تربط بروتينات تنظيمية أخرى، مما يسمح بقيام متواليات من التأثيرات البروتينية - البروتينية تسبب انتساخ مورثة ما.

الكاظمات repressors: تعمل بعض عوامل الانتساخ النوعية بمثابة كاظمات تثبط تعبير مورثة معينة. وتستطيع كاظمات حقيقيات النوى أن تثبط التعبير ببضعة أساليب مختلفة منها:

- بعض الكاظمات تحصر block ارتباط المفعلات بعناصر تحكمها أو بمكونات آلة الانتساخ.

– بعضها الآخر يرتبط مباشرة بعناصر تحكُّمه الخاصة في المعزز ويعمل على إيقاف الانتساخ حتى بوجود المفعلات.

وبالإضافة إلى تأثيرها في تجميع آلة الانتساخ transcription machinery بشكل مباشر فإن المفعلات والكاظمات تفعل فعلها بشكل غير مباشر عن طريق التأثير في بنية الكروماتين.



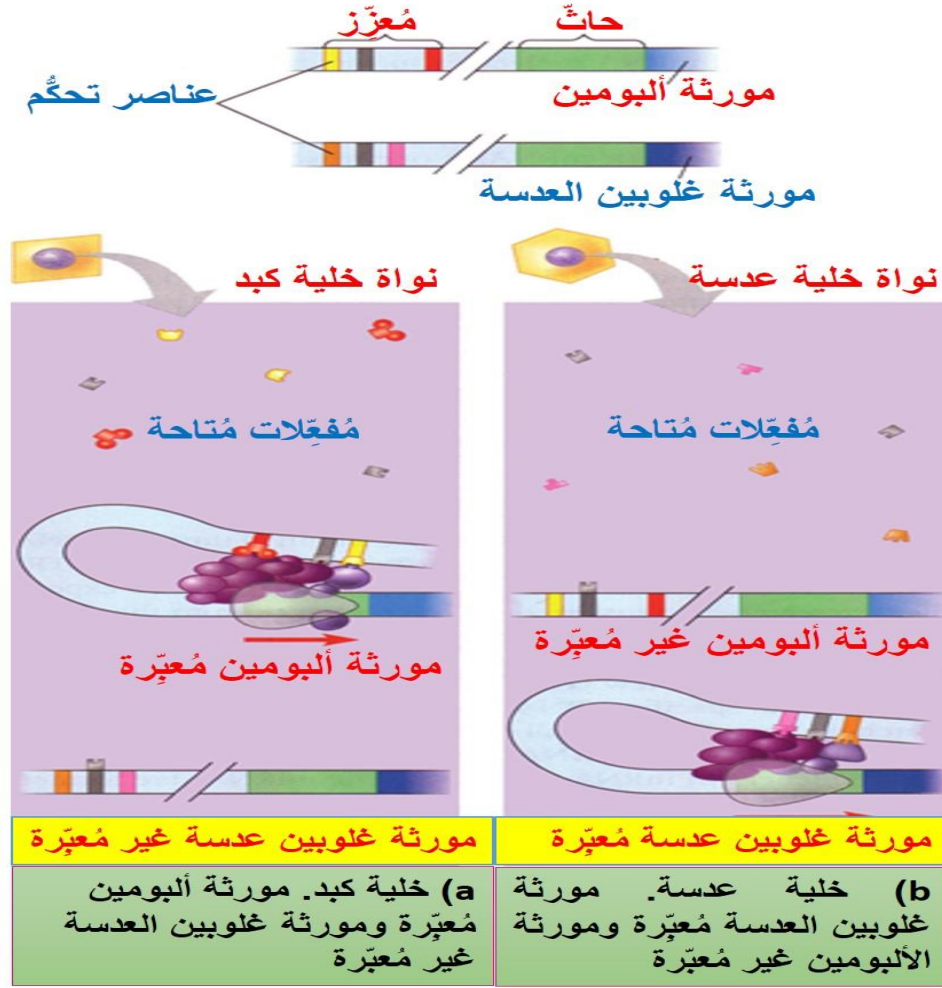
الشكل (10:6): أنموذج لعمل معززات ومفعلات الانتساخ. إن انحناء ال DNA بواسطة بروتين ما ينتج للمعززات أن تؤثر في حاث ما يبعد مئات وحتى آلاف النكليوتيدات. إذ ترتبط عوامل انتساخ نوعية تدعى مفعلات activators بنتالية ال DNA للمعزز ثم بمجموعة من بروتينات وسيطة ترتبط بدورها بعوامل انتساخ عامة لتنشئ معقد بدء الانتساخ. وتسهل هذه التأثيرات البروتينية – البروتينية تصحيح وضعية ذلك المعقد على الحاث وبدء اصطناع ال RNA.

ت- التحكم التوافقي للتفعيل الوراثي combinatorial control of gene activation:

يعتمد التحكم الدقيق بالانتساخ إلى حد كبير على ربط المفعلات بعناصر تحكُّم ال DNA. وإذا ما أُخذ بالاعتبار العدد الكبير جداً للمورثات التي يجب تنظيمها لدى خلية حيوانية أو نباتية نمطية فإن عدد التتاليات النكليوتيدية المختلفة كلياً في عناصر التحكم يكون صغيراً إلى حد كبير. فهناك حوالي عشرة من التتاليات النكليوتيدية القصيرة

تظهر مرة بعد الأخرى في عناصر التحكم بمورثات مختلفة. وبالمتوسط يتألف كل من المعززات من حوالي عشرة عناصر تحكم يستطيع كل منها أن يربط عامل انتساخ نوعي واحد أو اثنين فقط.

ويوضح المثال الوارد في الشكل (10:7) كيف يمكن لاستخدام توليفات مختلفة من عناصر التحكم المفعلة للانتساخ أن يسمح بالتنظيم الدقيق للانتساخ عن طريق طاقم صغير من عوامل التحكم.



الشكل (10:7): انتساخ نوعي خاص بنمط خلوي معين. تمتلك خلايا الكبد وخلايا العدسة مورثات لصنع بروتينين هما: الألبومين وغلوبولين العدسة crystalline. ولكن خلايا الكبد وحدها تصنع ألبوميناً (هو بروتين دموي) وخلايا العدسة وحدها تصنع غلوبولين العدسة. إن عوامل الانتساخ النوعية (المفعلات والكاسطات) المصنوعة في نمط خلوي خاص هي التي تحدد أي المورثات يتم تعبيرها. وفي هذا المثال تشاهد مورثتا الألبومين وغلوبولين العدسة في الأعلى ولكل منهما معزز مصنوع من ثلاثة عناصر تحكم مختلفة. وبالرغم من أن المعززين الخاصين بهاتين المورثتين يتشاركان عنصر تحكم واحد، فإن لكل معزز منهما توليفة مميزة من العناصر. هذا وإن جميع المفعلات المطلوبة لتعبير عالي المستوى يخص مورثة الألبومين لا توجد إلا في خلايا الكبد (a) في حين أن المفعلات المطلوبة لتعبير غلوبولين العدسة غير موجودة إلا في خلايا العدسة (b).

خامساً: آليات التنظيم التالية للانتساخ mechanisms of post-transcription regulation

لا يؤلف الانتساخ لوحده تعبيراً وراثياً، فتعبير مورثة مُرمّزة لبروتين ما، يُقاس بكمية البروتين الوظيفي الذي تصنعه الخلية. ويحدث الكثير من العمليات بين اصطناع نسخة ال RNA (RNA transcript) وفعالية البروتين في الخلية. فهناك عدد من الآليات التنظيمية تشتغل في مراحل مختلفة بعد الانتساخ (انظر الشكل 10.3). وتسمح هذه الآليات للخلية بالموالفة الدقيقة للتعبير الوراثي بسرعة بغية الاستجابة للتغيرات البيئية بدون تغيير نماذج الانتساخ. وأهم هذه الآليات:

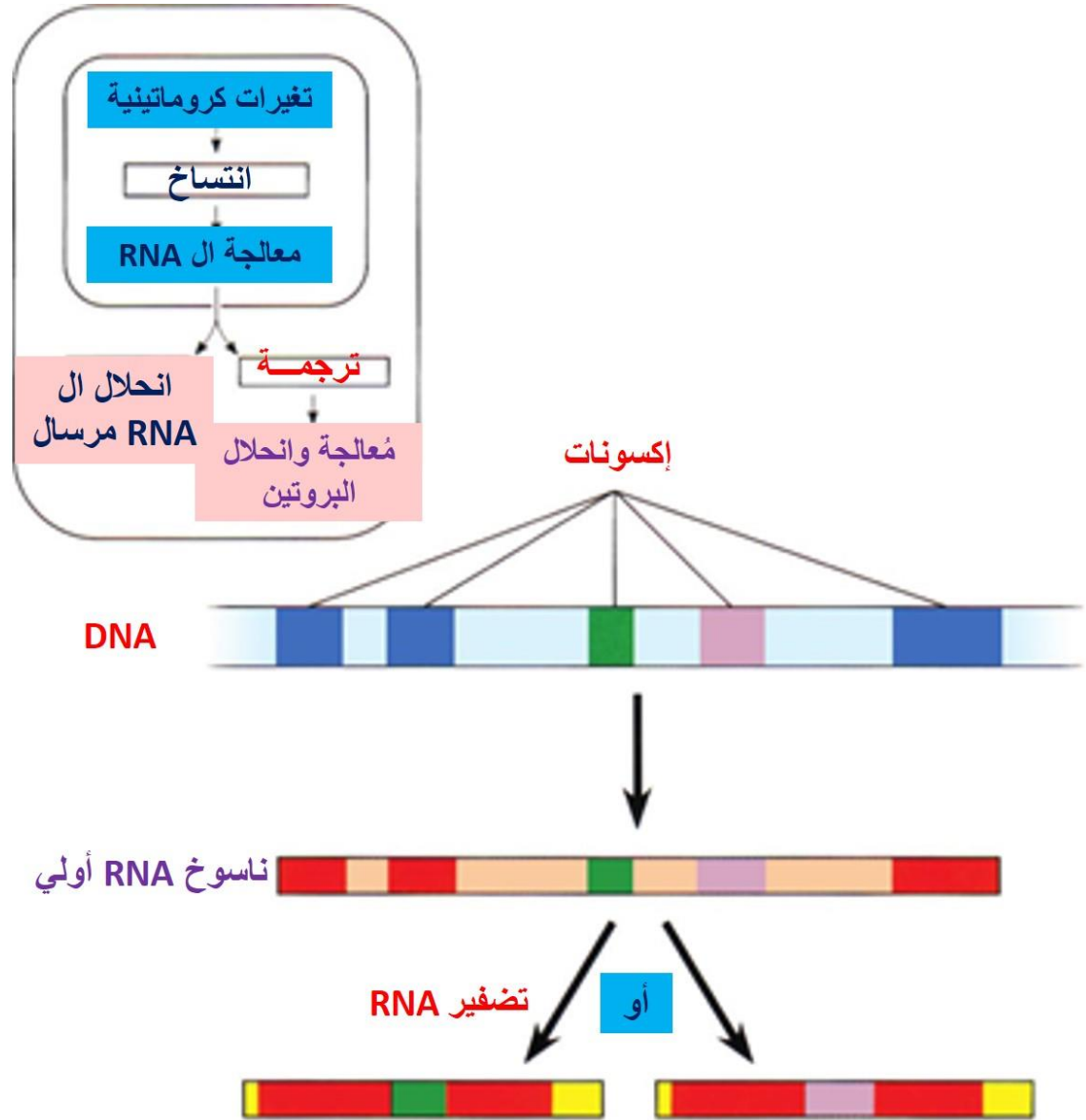
أ- معالجة RNA (RNA processing)

تقدم معالجة ال RNA في النواة، ومن ثم تصدير ال RNA الناضج إلى السيتوبلاسما، فرصة لتنظيم التعبير الوراثي غير المتاح لدى بدائيات النوى. ويتمثل أحد أمثلة التنظيم على مستوى معالجة ال RNA فيما يسمى بتضفير ال RNA البديل alternative RNA splicing، الذي تتولد فيه جزيئات mRNA مختلفة انطلاقاً من **نفس النسخة الأولية**، وذلك بالاعتماد على تحديد أي قطع ال RNA يجري التعامل معها بمثابة إكسونات exons وأيها يجري التعامل معها بمثابة إنترونات introns (الشكل 10:8). وتتحكم بروتينات تنظيمية خاصة بالنمط الخلوي بالخيارات (الإكسونية-الإنترونية) عن طريق الارتباط بتتاليات تنظيمية داخل النسخة الأولية primary transcript.

ب- تدرك RNA المرسال mRNA degradation

يعد مدى عمر جزيئات ال RNA المرسال في السيتوبلاسما عاملاً مهماً في تحديد نموذج الاصطناع البروتيني في الخلية. فجزيئات ال RNA المرسال لدى بدائيات النوى تكون من الناحية النمطية دروكة (قابلة للانحلال) degradable بفعل الأنزيمات في غضون دقائق قليلة من اصطناعها. ويعد هذا المدى العمري القصير لل RNA المرسال في بدائيات النوى أحد أسباب استطاعة بدائيات النوى تنويع نماذج اصطناع بروتيناتها بهذه السرعة استجابة للتغيرات البيئية.

وعلى العكس من ذلك، فإن ال RNA المرسال لدى حقيقيات النوى العديدة الخلايا تعيش نمطياً عدة ساعات أو أيام أو حتى أسابيع. فعلى سبيل المثال، تكون جزيئات ال RNA المرسال المسؤولة عن الببتيدات المتعددة للهيموغلوبين (غلوبين ألفا و غلوبين بيتا) لدى كريات الدم الحمر مستقرة بشكل غير عادي. وتجري ترجمة هذه الجزيئات المرسالية الطويلة العمر بشكل متكرر في تلك الخلايا.



الشكل (8:10): تضفير RNA متناوب. يمكن أن تتضفر النواسيج الأولية لبعض المورثات بأكثر من أسلوب، بحيث تولد جزيئات RNA مرسل مختلفة. لاحظ في هذا المثال أن إحدى جزيئات ال mRNA هذه تنتهي بالإكسون الأخضر والأخرى تنتهي بالإكسون الأرجواني. فبالضفير المتناوب يستطيع الكائن الحي أن يولد أكثر من نمط واحد من الببتيدات المتعددة من مورثة واحدة.

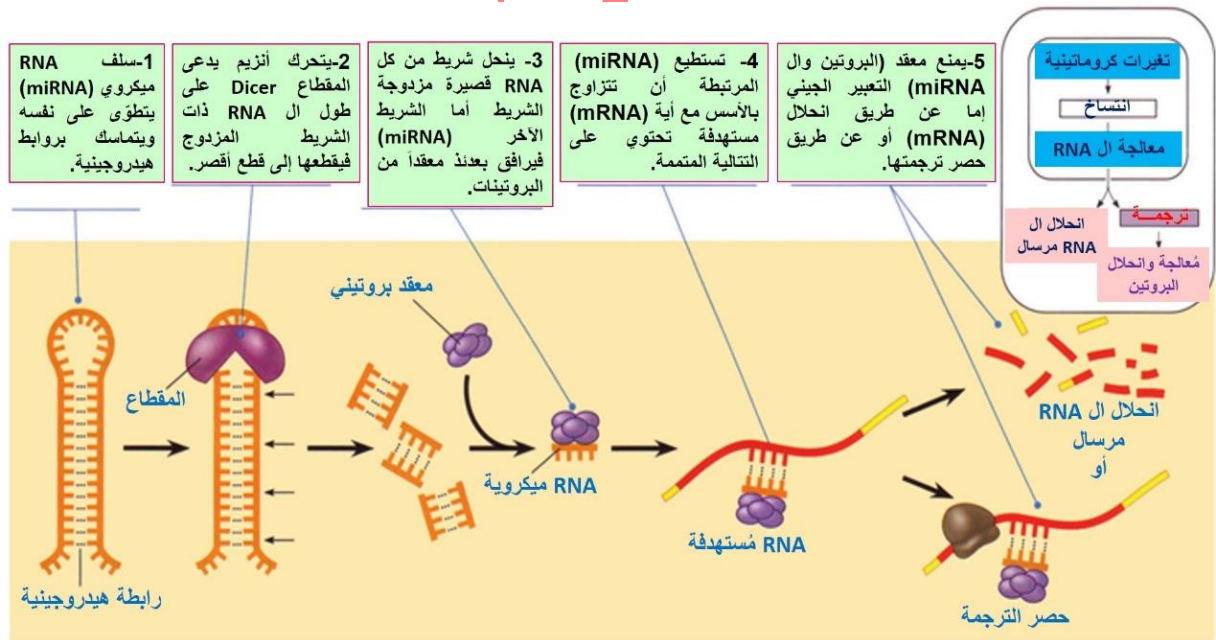
توحي البحوث على الخمائر أن المسار المعتاد لتفكيك ال RNA المرسل يم وفق الخطوات التالية:

- تقصير shortning أنزيمي للذيل poly-A.
- قرح أنزيمات من شأنها أن تزيل الفلنسة 5'.
- تباشر أنزيمات النوكلياز بمضغ RNA المرسل بسرعة.

غالباً ما توجد التتاليات النكليوتيدية التي تؤثر في طول عمر ال RNA المرسال في المنطقة المترجمة untranslated region (UTR) عند النهاية 3' للجزيئة (انظر الشكل 10:5). ونشير هنا إلى أن الباحثين نقلوا في إحدى التجارب مثل هذه التتالية من RNA المرسال القصيرة العمر المسؤولة عن عامل النمو إلى النهاية 3' ل RNA مرسل مستقرة stable تخص الغلوبين، فلاحظوا تدركاً سريعاً لل RNA المرسال الخاص بالغلوبين.

كما وجد الباحثون جزيئات RNA صغيرة أحادية الشريط single – stranded تدعى (RNA) ميكروي (Micro RNAs). وتستطيع الارتباط بتتالية متممة complimentary sequence في جزيئات RNA المرسال. وتتشكل هذه الجزيئات الميكروية من طلائع RNA أكثر طولاً منها تتطوى على نفسها لتشكل بنية طويلة مزدوجة الشريط لها شكل دبوس الشعر وتتماسك بعضها مع بعض بروابط هيدروجينية (الشكل 10:9).

ومن ثم يقوم أنزيم يحمل اسم المقطاع dicer بتقطيع جزيئة RNA ذات الشريط المزدوج هذه إلى قطع fragments. وهنا يتدرك أحد الشريطين ويرافق الشريط الآخر (RNA الميكروية) معقداً بروتينياً كبيراً ويوجه ذلك المعقد إلى أي من جزيئات ال RNA المرسال التي تمتلك تتالية متممة. ومن ثم، إما أن يسبب معقد البروتين وال RNA الميكروي microRNA-protein complex تدريك ال RNA المرسال المستهدف أو يمنع ترجمته وذلك تبعاً لعوامل مختلفة.



الشكل (10:9): تنظيم التعبير الوراثي بواسطة رناوات ميكروية. تجري معالجة نواسيخ ال RNA من مورثات مرمزة (miRNAs) لتعطي جزيئات ال RNA الميكروية التي تمنع تعبير جزيئات ال RNA المرسالية المتممة (siRNAs) (التي يعتقد أنها تتولد وتعمل بأسلوب مشابه).

ت- بدء الترجمة initiation of translation

تقدم الترجمة فرصة أخرى لتنظيم التعبير الوراثي، ويحدث مثل هذا التنظيم بالشكل الأعم عند مرحلة البدء. ويمكن منع بدء ترجمة جزيئات ال RNA مرسل منتقاة بواسطة بروتينات تنظيمية ترتبط بتتاليات أو بنى نوعية داخل المنطقة غير المترجمة untranslated عند الطرف 5' من ال RNA المرسل، بحيث تمنع ارتكاز الريبوزومات.

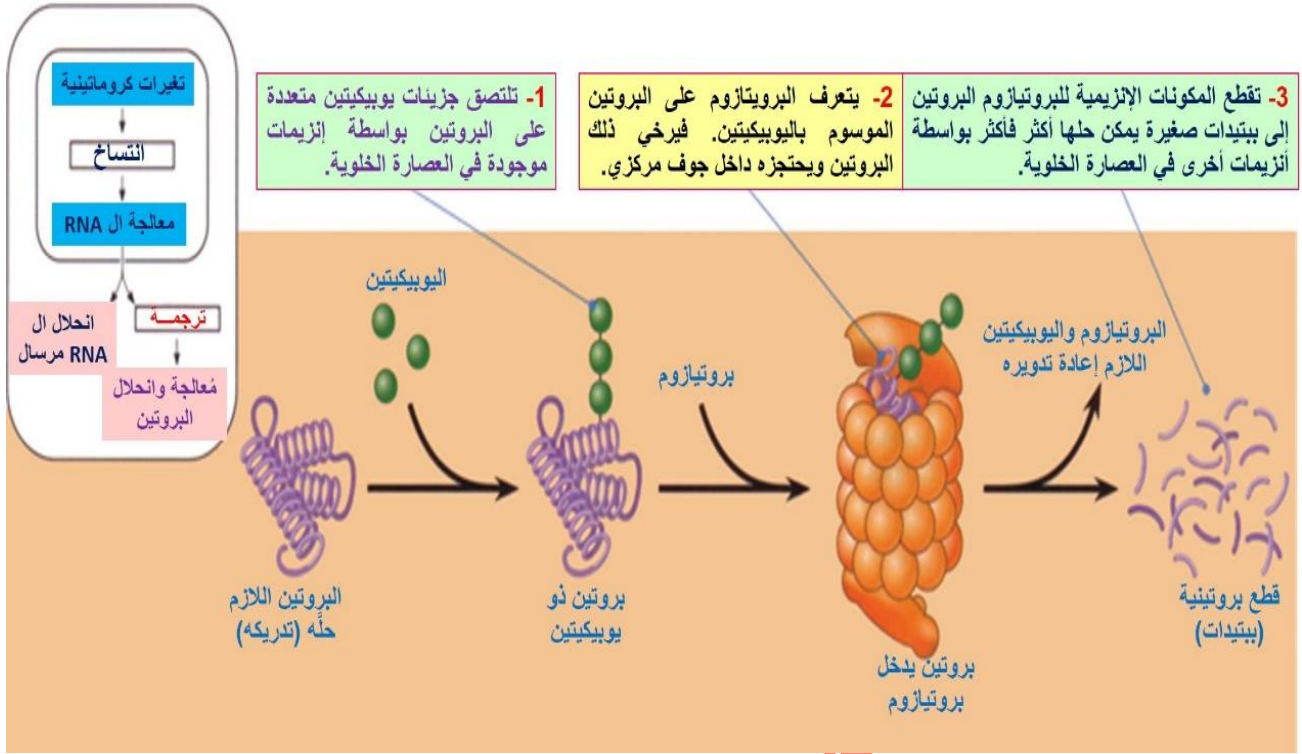
وهناك آلية أخرى لمنع الترجمة تُشاهد لدى تشكيلة متنوعة من جزيئات ال RNA المرسل موجودة في الخلايا البيضية لدى العديد من الكائنات الحية. فهذه الجزيئات المخترنة تفقر لذيل poly-A ذات حجم كافٍ يسمح ببدء الترجمة. ولكن في زمن مناسب أثناء التشكل والنماء الجنيني يقوم أنزيم سيتوبلازمي بإضافة مزيد من الثمالات residues مما يسمح ببدء الترجمة.

ث- معالجة البروتين والتدرك protein processing and degradation

تحدث الفرص الأخيرة لضبط التعبير الوراثي بعد الترجمة. وعلى الأغلب تجب معالجة الببتيدات المتعددة poly-peptides لحقيقيات النوى كي تعطي جزيئات بروتينية وظيفية. ونذكر من أهم مظاهر المعالجة على سبيل المثال:

- انشطار الببتيد المتعدد الأولي للأنسولين (بمعنى طليعة الأنسولين) يعطي الهرمون الفعال.
- التحويرات الكيميائية التي تطرأ على العديد من البروتينات تجعل تلك البروتينات وظيفية.
- تفعيل أو تعطيل البروتينات التنظيمية عبر الإضافة العكوسة reversible لرمز فوسفاتية. انضمام سكريات إلى البروتينات المتوجهة لسطوح الخلايا الحيوانية.
- التحويرات التي تسبق نقل بروتينات السطوح الخلوية وغيرها من البروتينات إلى أماكن عملها في الخلية.

وأخيراً ينتظم طول الزمن الذي يعمل خلاله كل بروتين في الخلية بواسطة تدرك انتقائي. فالعديد من البروتينات مثل السيكلينات cyclins المشاركة في تنظيم دورة الخلية يجب أن تكون قصيرة العمر نسبياً لكي تعمل الخلية بنجاح. ومن أجل تحديد البروتين المحدد اللازم تدميره، تعتمد الخلية بشكل عام إلى ربط جزيئات بروتين صغير يدعى يوبيكيتين ubiquitin بهذا البروتين، ثم تتعرف تجمعات بروتينية عملاقة تدعى البروتيازومات proteasomes إلى تلك الجزيئات البروتينية المرتبطة باليوبيكيتين وتقوم بتدريكها degrade (الشكل 10:10). إن الطفرات التي تجعل بروتينات الدورة الخلوية منيعة على التدرك بالبروتيازومات قد تفضي إلى السرطان.



الشكل (10:10): تدرك البروتين بواسطة البروتيازوم. إن البروتيازوم (الذي هو معقد بروتيني ضخم ذو شكل يوحى بخابية للقمامة transcan يعمل على تقطيع البروتينات التي لا حاجة لها في الخلية. وفي معظم الحالات تُوسم البروتينات التي يهاجمها البروتيازوم بسلاسل قصيرة من اليوبيكيتين ubiquitin (الذي هو بروتين قصير) وتتطلب الخطوتان 1 و 3 مادة الأدينوزين الثلاثي الفوسفات ATP. وتكون بروتيازومات حقيقيات النوى كبيرة بحجم تحت الوحدات subunits البروتيازومية.