RNA پلیمراز های یوکاریوتی

سه نوع RNA پلی مراز رونویسی از ژنها را در سلول های یوکاریوتی انجام می دهند. هر کدام از این RNA پلی مراز ها ژن های خاصی را رونویسی می کند که در زیر به آنها اشاره شده است؛

RNA پلیمراز I: rRNA (پیش سازهای rRNA بزرگ مربوط به rRNA های 28S,18S,5.8S)

RNA پلیمراز II: miRNA, SnRNA, mRNA

RNA پلیمراز III: 7SL RNA, U6 SnRNA, 5S rRNA, tRNA

هر کدام از RNA پلیمراز ها از چند زیر واحد پروتئینی ساخته شده اند. بعضی از زیر واحدهای آنها به هم شباهت دارند. با این حال هر سه از نظر عملکرد با هم متفاوت هستند و پروموترهای خاص خود را فعال می کنند و با یکدیگر تداخل ندارند. آنزیم های RNA پلی مراز یوکاریوتی را می توان بر اساس حساسیت به سم آلفا-آمانیتین (α -amanitin) که منشا قارچی دارد تقسیم بندی نمود: آلفا-آمانیتین در غلظت های خیلی کم، RNA پلی مراز II را کاملا مهار می کند. در حالیکه در این غلظت ها روی I و III اثری ندارد. در غلظت های بسیار بالا (هزار برابر بالاتر) این سم RNA پلی مراز III را مهار می کند.

RNA پلیمراز II:

اکثر ژن ها را رونویسی میکند. ژن هایی که توسط این آنزیم رونویسی می شوند ژن های کلاس II نامیده می شوند. پروموتور مربوط به این پلی مراز در محدوده ای در حدود ۱۰۰ جفت باز در فرادست ناحیه شروع قرار دارد. برای پروموترهای کلاس II دو قسمت در نظر گرفته می شود:

۱- هسته مرکزی پروموتر (core promoter)

2- عناصرپروموتری بالادست (Upstream Promoter Element) یا UPE

این دو قسمت علاوه بر اختلاف در مکان قرار گیری تفاوت در عملکرد هم دارند. در اکثریت قریب به اتفاق پروموترها هسته مرکزی پروموتر محل قرارگیری فاکتورهای عمومی رونویسی (General Transcription Factor یا GTF) است. این فاکتورها با RNA پلی مراز همراه می شوند و یک کمپلکس پیش آغازی (preinitiation complex) را بوجود می آورند که برای انجام رونویسی اهمیت دارد. ولی عناصر پروتومری بالادست که در تعداد کمی از پروموترها وجود دارند بوسیله فاکتورهای رونویسی خاصی شناسایی می شوند و شروع رونویسی را تحت تاثیر قرار می دهند.

مهمترین عناصری که در هسته مرکزی پروموتر قرار دارند جعبه TATA (TATA Box) و Inr (Initiator) هستند. این دو عنصر مرکزی همیشه در موقعیت های خاصی یافت می شوند. جعبه TATA که معمولا در ژن های مختلف حدودا ۲۵ تا ۳۰ جفت باز در فرادست ۱+ قرار دارد (توجه کنید که جایگاه جعبه TATA در پروکاریوت ها در موقعیت ۱۰- می باشد) و توالی آن به صورت TATAAA است (گاهی بصورت TATAWAAR ذکر می شود که W می تواند A یا T و R می تواند A یا G باشد). در مخمرها جعبه TATA جایگاه متغیری دارد و از ۳۰ تا بیش از ۳۰۰ جفت باز نسبت به نقطه شروع فاصله دارد. بعضی از پروموترهای ژن های کلاس II جعبه TATA ندارند، این حالت در دو کلاس از ژن ها وجود دارد:

۱- ژن های خانه نگهدار (housekeeping genes) که همیشه در همه سلولها روشن هستند. بعضی مواقع این ژنها دارای جعبه های GC (غنی از نوکلئوتید های G و C می باشند) هستند که فقدان جعبه TATA را جبران می کند.

۲- ژن هایی که در دوره تکاملی خاص بیان می شوند. مثلا ژن هایی که تکامل مگس سرکه را کنترل می کنند یا ژن هایی که در طول تکامل سیستم ایمنی در پستانداران فعال هستند.

جعبه TATA چه عملکردی دارد؟

بعضی پروموترهای کلاس II برای عملکرد مناسب شروع رونویسی و تنظیم آن و بعضی پروموترها برای پیدا کردن نقطه شروع به جعبه TATA نیاز دارند. البته همانطور که در بالا اشاه شد بعضی از ژن ها نیز جعبه TATA نداشته ولی عملکرد کاملا مناسبی دارند. پروموتر برای تشکیل کمپلکس پیش آغازی مهم است، این کمپلکس در نزدیکی نقطه شروع بوجود می آید. در پروموترهای کلاسII جعبه TATA جایگاهی است که فاکتورهای پروتئینی مورد نیاز برای تشکیل کمپلکس پیش آغازی دور هم جمع می شوند و این کمپلکس را بوجود می آورند. اولین پروتئینی که به جعبه TATA وصل می شود فاکتور باند شونده به TATA (TATA Box Binding Protein) یا TBP است. فاکتور های پروتئینی دیگر به TBP وصل شوند.

Inr توالی دیگری است که در پروموترهای کلاس II قرار دارد. Inr نقطه شروع را نیز شامل می شود. در پستانداران توالی آن PyPyAN(T/A)PyPy است که A نقطه شروع رونویسی می باشد. همانطور که پیداست Inr غنی از پریمیدین می باشد. اکثر پروموترهای کلاس II یا یک جعبه TATA یا بعضی از انواع Inr را دارند. بعضی ها نیز میتوانند هر دو را داشته باشند که در صورت همخوانی و هماهنگی بیان بسیار بالای ژن و در صورت عدم هماهنگی بیان کم ژن را خواهیم داشت. بعضی از فاکتور های پروتئینی به Inr متصل می شوند و TBP را در جایگاه خاص خود (نزدیکی نقطه شروع) قرار می دهند.

علاوه بر دو قسمت فوق در بعضی از پروموترها قسمت های دیگری نیز یافت می شوند که عبارتند از:

۱- عنصر پروموتری پایین دست (DPE) (Downstream Promoter Element)

۲- BRE (TFIIB Recognition Element)

۳- عنصر توالی نزدیک (Proximal Sequence Element) یا PSE

از جمله عناصری که در بالادست پروموتر قرار دارند (در ناحیه UPE) می توان به جعبه GC و جعبه CAT اشاره کرد که فاکتورهای پروتئینی خاصی به آنها متصل شده و در شروع رونویسی اهمیت دارند.

مرحله شروع رونویسی ژن های کلاس II:

همانطور که دیدیم برای اینکه رونویسی شروع شود یک کمپلکس پیش آغازی تشکیل می شود. ایجاد این کمپلکس معمولا در ارتباط با ناحیه TATA (TATA associated assembly) است. اجزای این کمپلکس به قرار زیر می باشند:

- TFIID: کمپلکسی حدود ۷۰۰ کیلو دالتون است و به جعبه TATA متصل می شود. اتصال آن به جعبه TATA به دلیل وجود یکی از اجزای آن به نام TBP است. TBP حدود ۳۸کیلودالتون است. علاوه بر TBP حدود۱۳ عدد TAF (TATA Associated Factor) نیز در ساختار

TFIID وجود دارد. هر کدام از TAF ها یک پروتئین است که برای عملکرد مناسب TFIID و برای رونویسی توسط RNA پلی مراز مورد نیاز می باشد. TFIID کمپلکس بزرگی است و منطقه وسیعی را در جوار TATA می پوشاند.

- TFIIA: سه زیر واحد دارد (13KD,19KD,37KD)
- TFIIB: یک پلی پپتید منفرد است. وزن آن 33KD می باشد.
- TFIIF: معمولا همراه با آنزیم RNA پلی مراز II وارد عمل می شود. دو زیر واحد دارد (74KD,30KD).
- TFIIE: هتروتترامر است (دو زیر واحد 34KD و دو زیر واحد 56KD).
- TFIIH: کمپلکسی از ۸ تا ۱۰ زیر واحد است. برای شروع رونویسی خیلی اهمیت دارد. هم ویژگی کینازی دارد و هم ویژگی هلیکازی. خاصیت هلیکازی آن در فرایند ترمیم برش بازی DNA نقش دارد.

TBP یک پروتئین 38 کیلو دالتونی در انسان است و در مخمر ۲۷ کیلو دالتون می باشد. این پروتئین ۱۸۰ اسید آمینه در انتهای C دارد که دامین اتصال به DNA است. حفاظت شدگی در این قسمت زیاد است و مثلا در انسان و موش در این ۱۸۰ اسید آمینه هیچ تفاوتی وجود ندارد. TFIID ازطریق TBP به جعبه TATA اتصال برقرار می کند. TBP باند شده به DNA مولکول های TFIIA و TFIIB را به کار می گیرد. TFIIB سایت هایی دارد که می تواند به TFIIF متصل شود. TFIIF نیز به RNAپلی مرازII چسبیده است. پس از این اتصال، TFIIE و TFIIH نیز با آنزیم میانکنش می کنند. TBP و انواع TAF ها چندین تماس پروتئین- پروتئین در درون کمپلکس TFIID ایجاد می کنند. این میانکنش ها باعث می شود که TFIID یک ساختار پایدار داشته باشد. علاوه بر این بعضی از TAF ها می توانند با DNA بر هم کنش کنند. این بر هم کنش ها باعث می شود که میل اتصالی TFIID به DNA بیشتر شود. البته در بعضی موارد دیده شده است که TAFها کمک می کنند اتصال TFIID با DNA برقرار شود. چون اگر TBP بخواهد به تنهایی به جعبه TATA متصل شود اصولا این اتصال خیلی آرام و کند و غیر موثر انجام می شود.

IIA بعد از IID وارد عمل می شود. IIA مستقیما به TBP متصل می شود و باعث می شود که بر هم‌کنش TBP با DNA ثبات پیدا کند و به این صورت میزان رونویسی را افزایش دهد. دیده شده است که در شرایط *in vitro* می توان فاکتور IIA را حذف کرد و رونویسی باز هم انجام می شود ولی در *in vivo* و مخصوصا در مخمر بدون IIA رونویسی انجام نمی شود. وقتی TBP به TATA متصل می شود شکل DNA را برای اتصال فاکتورهای پروتئینی دیگر مهیا می کند. با تغییر شکل DNA یک محل اتصال ویژه برای IIB ایجاد می شود. IIB برای رونویسی RNA پلی مرازII ضروری است. این فاکتور طوری به TBP متصل می شود که هم در فرادست TATA و هم در فرودست TATA با DNA اتصال دارد. در واقع TBP طوری DNA را خم می کند که ناحیه فرودست و فرادست TATA نزدیک یکدیگر قرار می گیرند. IIB محلی دارد که میتواند با RNA پلی مراز II بر هم کنش نمایند. علاوه بر این IIB با IIF نیز اتصال برقرار میکند. IIF حتی زمانیکه قرار نیست RNA پلی مراز II به پروموتر متصل شود نیز به طور محکم به RNA پلی مراز II متصل است. با اتصال RNA پلی مراز II به IIB سایت فعال آنزیم روی نقطه شروع رونویسی

قرار می گیرد و به این صورت IIB به صورت یک پل مولکولی عمل میکند که تعیین می نماید در چه فاصله ای از TATA رونویسی باید آغاز شود. IIF از بر هم کنش اتفاقی و نامناسب RNA پلی مراز II و DNA جلوگیری می کند. یعنی اتصال پلی مراز به محلهایی غیر از پروموتر را مهار می کند. IIF علاوه بر نقشی که در شروع رونویسی دارد در مرحله طویل شدن نیز اهمیت دارد (یکی از فاکتور های طویل شدن است).

آنزیم RNA پلیمراز II یک دامین C ترمینال دارد که CTD (C-Terminal Domain) نامیده می شود و دارای چندین قسمت است که می توانند فسفریله شوند. چنانچه CTD غیر فسفریله باشد به آن فرم IIA می گویند و در صورتی که تمامی قسمت ها فسفریله شود و اصطلاحا بسیار فسفریله باشد به آن فرم IIO می‌گویند. فسفریلاسیون حد واسط معمولا وجود ندارد. CTD به صورت غیر فسفریله(IIA) می تواند مستقیما به TBP متصل شود. این امر به استقرار آنزیم در شروع تشکیل کمپلکس پیش آغازی کمک می کند. وقتی CTD فسفریله باشد این اتصال صورت نمی گیرد.

دو فاکتور دیگری که در مرحله آغاز رونویسی نقش دارند IIE و IIH هستند. IIE یک هتروتترامر است و به صورت مستقیم به RNA پلی مراز II متصل می شود و واسطه ای برای اتصال IIH است. IIH چندین زیر واحد دارد . هم نقش هلیکازی دارد و هم نقش کینازی. فعالیت کینازی این پروتئین می تواند باعث فسفریله کردن و فعال شدن بعضی از CDK ها شود. بعضی از زیر واحدهای IIH نیز نقش مهمی در ترمیم DNA دارند. در واقع این بدین معنی است که رونویسی می تواند همراه با فرایند ترمیم DNA انجام شود یعنی وقتی RNA پلی مراز II به قسمتی از DNA می رسد که آسیب دیده است می تواند آنرا ترمیم کند و رونویسی انجام دهد.