اصول تنظیم ژن

ژن هایی که محصولات آنها در تمامی اوقات مورد نیاز هستند، به مقادیر تقریباً ثابتی در هر سلولی از موجود زنده بیان می‌گردند. ژن‌های مربوط به آنزیم‌های شرکت‌کننده در مسیرهای متابولیک اصلی سلول، نظیر چرخه کربس، در این گروه قرار گرفته و اغلب به آن‌ها ژن‌های خانه‌نگهدار[۱] گفته می‌شود. بیان ثابت یک ژن را اصطلاحاً بیان دائمی ژن[۲] گویند.

مقادیر سلولی بعضی محصولات ژنی، در پاسخ به پیام‌های مولکولی بالا و پایین می‌رود؛ به این حالت بیان تنظیم شده ژن[۳] گویند. ژنی که غلظت محصول آن درحضور بعضی ملکول‌ها افزایش می‌یابد، ژن قابل القاء نامیده[۴] می‌شود. برای مثال، بیان بسیاری از ژن‌های کدکننده آنزیم‌های ترمیمی DNA در حضور صدمه شدید به DNA القاء می‌گردد. برعکس، ژنی که محصول آن در پاسخ به یک ملکول کاهش می‌یابد را قابل مهار[۵] و فرآیند مربوطه را مهار کردن[۶] گویند. برای مثال، وجود مقادیر فراوان تریپتوفان منجر به مهار ژن‌های لازم برای تولید آنزیم‌های سنتزکننده تریپتوفان در باکتری می‌گردد.

تنظیم بیان ژن از طریق توالی پروموتر

RNA پلی‌مراز در جایگاه‌هایی به نام پروموتر به DNA متصل شده و رونویسی را شروع می‌نماید (شکل ۵-۲۶ را ببینید). این جایگاه‌ها عموماً در نزدیکی نقاط شروع سنتز RNA در DNA الگو قرار دارند. تنظیم شروع رونویسی اغلب به واسطه تغییراتی در نحوه واکنش متقابل RNA پلی‌مراز با پروموترها به انجام می‌رسد. توالی‌های نوکلئوتیدی پروموترها تفاوت قابل توجهی با یکدیگر داشته و در تمایل اتصال RNA پلی‌مرازها به پروموتر و بنابراین فراوانی شروع رونویسی مؤثر می‌باشند. بعضی از ژن‌های E.coli یکبار در هر ثانیه رونویسی شده و بقیه کمتر از یک بار در هر نسل رونویسی می‌شوند. بیشتر این تفاوت‌ها به خاطر تفاوت در توالی پروموتر می‌باشد. در

---

۱. Houskeeping gene
۲. Constitutive
۳. Regulated
٤. Inducible
٥. Repressible
٦. Repression

غیاب پروتئین‌های تنظیمی، تفاوت موجود در توالی‌های دو پروموتر ممکن است تا ۱۰۰۰ برابر یا بیشتر بر روی فراوانی شروع رونویسی اثر بگذارد. اکثر پروموترهای E.coli دارای توالی نزدیک به توالی مشترک[۷] هستند (شکل ۲-۲۸). جهشی که منجر به کاهش این شباهت گردد، معمولاً همراه با کاهش عملکرد پروموتر بوده و بر عکس، جهشی که این شباهت را بیشتر نماید، معمولاً این عملکرد را افزایش می‌دهد.

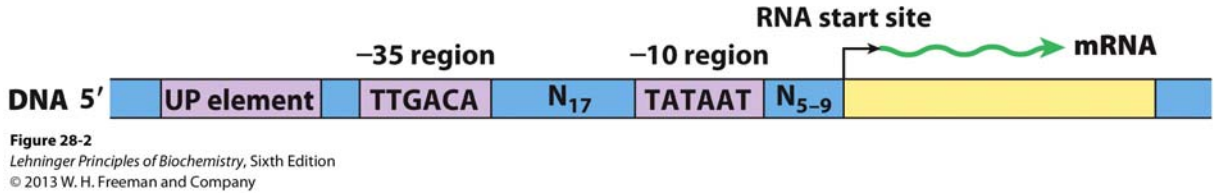


Figure 28-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل ۲-۲۸. توالی مشترک در بسیاری از پروموترهای E.coli. N نشانه هر نوکلئوتید می‌باشد. اکثر جایگزینی‌های بازی در نواحی ۱۰- و ۳۵- اثر منفی بر عملکرد پروموتر دارند. بعضی از پروموترها نیز دارای عنصر UP هستند (شکل ۵-۲۶ را ببینید). به‌طور قراردادی، توالی‌های DNA براساس وجود آنها در رشته غیرالگو، با انتهای '۵ در سمت چپ، نشان داده می‌شوند. نوکلئوتیدها براساس محل شروع رونویسی شماره‌گذاری می‌شوند؛ به طوریکه اعداد سمت راست (در جهت رونویسی) مثبت و اعداد سمت چپ منفی می‌باشند.

هر چند ژن‌های خانه‌نگهدار به طور دائمی بیان می‌گردند، ولی غلظت سلولی پروتئین‌هایی که توسط آنها کد می‌شوند، تنوع زیادی دارد. در مورد این ژن‌ها، واکنش متقابل RNA پلی‌مراز و پروموتر بر روی میزان شروع رونویسی اثرات عمیقی دارد. تفاوت‌های موجود در توالی پروموتر این امکان را به سلول می‌دهد تا مقادیر مناسب محصول هر ژن خانه‌نگهدار را سنتز نماید.

سرعت پایه‌ای شروع رونویسی در پروموترهای ژن‌های غیرخانه‌نگهدار نیز توسط پروموتر تعیین می‌گردد، ولی بیان این ژن‌ها بیشتر توسط پروتئین‌های تنظیمی تعدیل می‌شود. این پروتئین‌ها اغلب از طریق تداخل با واکنش متقابل بین RNA پلی‌مراز و پروموتر و یا تسهیل این ارتباط عمل می‌نمایند.

توالی پروموترهای یوکاریوتی متغیرتر از انواع موجود در پروکاریوت ها می‌باشد (شکل ۸-۲۶). سه نوع RNA پلی‌مراز یوکاریوتی برای اتصال به پروموتر معمولاً نیاز به دسته‌ای از فاکتورهای رونویسی عمومی دارند. در مورد

---

۷. Consensus

یوکاریوت‌ها نیز همانند پروکاریوت ها، میزان پایه رونویسی توسط اثر توالی پروموتر بر روی عملکرد RNA پلی‌مراز و فاکتورهای رونویسی همراه آن تعیین می‌گردد.

تنظیم بیان ژن از طریق پروتئین‌های تنظیمی

حداقل سه نوع پروتئین در تنظیم شروع رونویسی توسط RNA پلی‌مراز دخالت دارند:

- فاکتورهای اختصاصیت[۸] سبب تغییر ویژگی RNA پلی‌مراز برای یک پروموتر یا یک سری پروموتر می‌گردند.
- رپرسورها[۹] مانع دسترسی RNA پلی‌مراز به پروموتر می‌شوند.
- فعال‌کننده‌ها[۱۰] که واکنش متقابل RNA پلی‌مراز با پروموتر را تسهیل می‌نمایند.

زیرواحد σ در هولوآنزیم RNA پلی‌مراز موجود در E.coli یک فاکتور اختصاصیت است که در شناسایی پروموتر و اتصال به آن نقش دارد. اکثر پرومترهای E.coli توسط یک زیرواحد σ (با وزن مولکولی ۷۰۰۰۰) به نام $\sigma^{۷۰}$، شناسایی می‌گردند. تحت بعضی شرایط، بخصوص زمانیکه باکتری در معرض شوک حرارتی است فاکتور اختصاصیت دیگری (با وزن مولکولی ۳۲۰۰۰) به نام $\sigma^{۳۲}$ به جای $\sigma^{۷۰}$ به بعضی از آنزیم‌های RNAپلی‌مراز متصل می‌شود. وقتی RNA پلی‌مراز به $\sigma^{۳۲}$ متصل می‌گردد، به سمت پروموترهای خاصی، هدایت می‌شود. این پروموترها بیان مجموعه‌ای از ژن‌ها را کنترل می‌نمایند که کدکننده پاسخ شوک حرارتی هستند. بنابراین، با تغییر در تمایل اتصال پلی‌مراز به پروموترهای خاص، مجموعه‌ای از ژن‌های وابسته، به طور هماهنگ تنظیم می‌شوند. در سلول‌های یوکاریوتی، بعضی از فاکتورهای رونویسی عمومی، بخصوص پروتئین متصل شوند به TATA، ممکن است به عنوان فاکتورهای اختصاصیت در نظر گرفته شوند.

رپرسورها به جایگاه‌های اختصاصی موجود بر روی DNA، به نام اپراتور[۱۱] متصل می‌شوند. این جایگاه‌ها عموماً در نزدیکی یک پروموتر قرار دارند. در حضور رپرسور، اتصال RNA پلی‌مراز و یا حرکت

---

۸. Specifity factors
۹. Repressors
۱۰. Activators
۱۱. Operator

آن در طول DNA، مهار می‌گردد. این نوع از تنظیم ژنی که با اتصال یک پروتئین رپرسوری رونویسی متوقف می‌گردد را تنظیم منفی گویند. اتصال رپرسور به DNA توسط یک مولکول پیام‌رسان که اصطلاحاً افکتور[۱۲] نامیده می‌شود تنظیم می‌گردد. افکتور معمولاً یک پروتئین یا ملکول کوچکی است که به رپرسور متصل شده و سبب تغییر شکل فضایی آن می‌شود. واکنش متقابل بین رپرسور و افکتور می‌تواند سبب کاهش و یا افزایش رونویسی گردد. در بعضی موارد، این تغییر شکل فضایی منجر به جدایی رپرسور از اپراتور شده (شکل ۴a-۲۸) و آنگاه شروع رونویسی بدون ممانعت ادامه می‌یابد که در این حالت به آن القاء کننده[۱۳] می‌گویند. در بعضی موارد نیز واکنش متقابل بین رپرسور غیرفعال و افکتور سبب اتصال رپرسور به اپراتور می‌گردد که در این حالت به آن کورپرسور[۱۴] می‌گویند (شکل ۴b-۲۸).

فعال‌کننده‌ها نقطه مقابل رپرسورها می‌باشند؛ به طوریکه با اتصال به جایگاه خاص خود در DNA، سبب تسریع فعالیت RNA پلی‌مراز در محل پروموتر و بنابراین تنظیم مثبت ژن می‌شوند. محل‌های اتصال فعال‌کننده‌ها اغلب در مجاورت پروموترهایی وجود دارد که RNA پلی‌مراز به تنهایی، یا قادر به اتصال با آن‌ها نیست و یا به طور ضعیف به آن‌ها متصل می‌گردد و بنابراین در غیاب فعال‌کننده، رونویسی از این ژن‌ها کم خواهد بود. بعضی از فعال‌کننده‌ها به طور طبیعی به DNA متصل شده و تا زمانیکه در اثر اتصال یک افکتور (مهارکننده)[۱۵]، از DNA جدا نشده‌اند، سبب تسریع رونویسی می‌گردند (شکل ۴c-۲۸). در برخی موارد نیز فعال‌کننده تنها بعد از واکنش با یک افکتور (القاء کننده)، به DNA متصل می‌شود و رونویسی را تسریع می‌نماید (شکل ۴d-۲۸). بنابراین، افکتورها برحسب نحوه اثر بر روی فعال‌کننده، می‌توانند سبب افزایش و یا کاهش رونویسی شوند. تنظیم مثبت بخصوص در یوکاریوت‌ها معمول بوده و پیچیده‌تر از پروکاریوت ها می‌باشد.

---

۱۲. Effector
۱۳. Inducer
۱۴. Corepressor
۱۵. Inhibitor

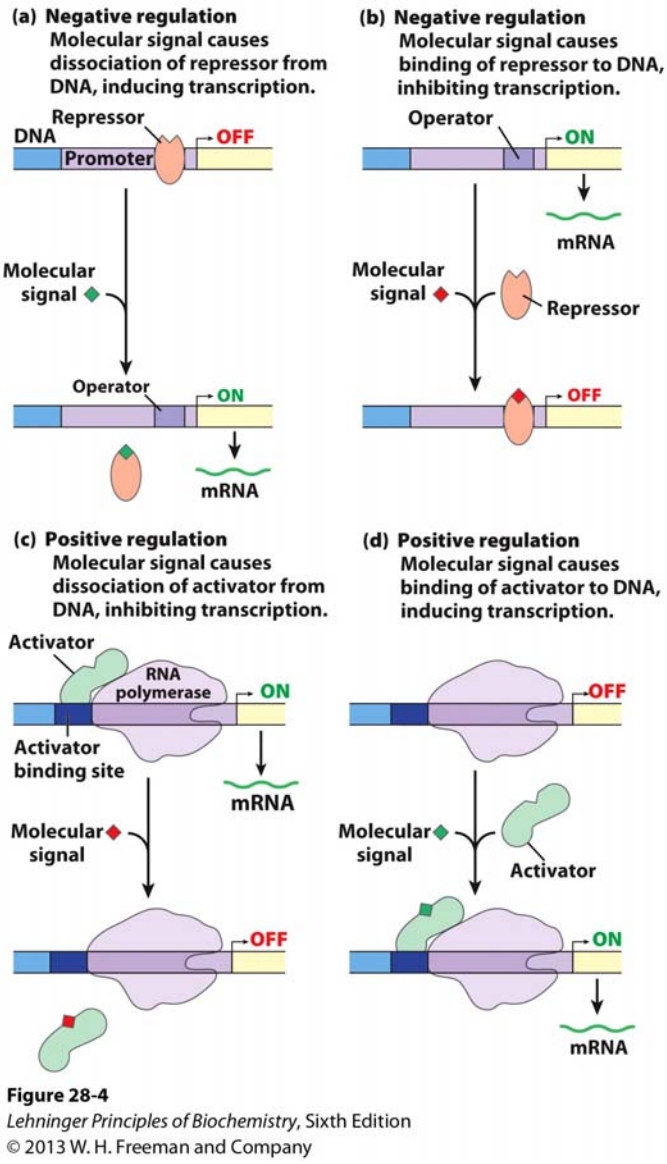


Figure 28-4
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل ۴-۲۸. الگوهای معمول تنظیم شروع رونویسی. دو نوع تنظیم منفی شرح داده شده است. (a) رپرسور در غیاب افکتور به اپراتور متصل می‌گردد؛ پیام خارجی با جدا نمودن رپرسور، امکان رونویسی را فراهم می‌سازد. (b) در حضور پیام، رپرسور متصل شده و برعکس با برداشت پیام، رپرسور جدا و رونویسی به انجام می‌رسد. تنظیم مثبت توسط فعال‌کننده‌های ژنی صورت می‌پذیرد. مجدداً دو نوع از این تنظیم نشان داده شده است. (c) در غیاب افکتور، فعال‌کننده متصل شده و رونویسی ادامه می‌یابد؛ و برعکس با اضافه‌شدن پیام، فعال‌کننده جداشده و رونویسی مهار می‌گردد. (d) در حضور پیام، فعال‌کننده اتصال یافته و تنها با برداشت پیام، جدا می‌شود. توجه داشته باشید که تنظیم «مثبت» و «منفی» به نوع پروتئین تنظیمی موجود اشاره می‌نماید: پروتئین اتصال‌یافته یا رونویسی را تسهیل و یا آن را مهار می‌نماید. در هر حالت، افزودن افکتور، براساس اثر آن بر روی پروتئین تنظیمی، ممکن است رونویسی را افزایش و یا کاهش دهد.

اپرون‌های پروکاریوتی

باکتری‌ها برای هماهنگ‌نمودن تنظیم ژن‌هایی که محصولات آنها در فرایندهای مرتبط شرکت می‌کنند، دارای یک مکانیسم ساده عمومی هستند؛ در باکتری‌ها این ژن‌ها بر روی DNA دسته‌بندی شده و با یکدیگر رونویسی می‌شوند. اکثر ملکول‌های mRNA پروکاریوتی از نوع پلی سیسترونیک (ژن‌های متعدد بر روی یک رونوشت) هستند و تنها پروموتری که رونویسی این دسته را آغاز می‌نماید، محل تنظیم بیان تمامی ژن‌هایی است که در داخل این دسته وجود دارند. تمامی این ژن‌ها توسط یک پروموتر تنظیم می‌گردند. این دسته ژنی و پروموتر، به همراه توالی‌های دیگری که در تنظیم شرکت می‌نمایند، اپرون[۱۶] نامیده می‌شود (شکل ۵-۲۸). اپرون‌ها معمولاً دارای ۲ تا ۶ ژن

۱۶. Operon

در یک واحد بوده ولی تعداد ژن‌های موجود در بعضی از آنها به ۲۰ یا حتی بیشتر نیز می‌رسد. در زمان رونویسی از روی کلیه ژن‌های موجود در اپرون یک مولکول mRNA ساخته می‌شود. به این mRNA اصطلاحا mRNAی پلی‌سیسترونیک (رونوشت‌های حاوی چندین ژن) گفته می‌شود که ویژگی سلول‌های پروکاریوتی است.

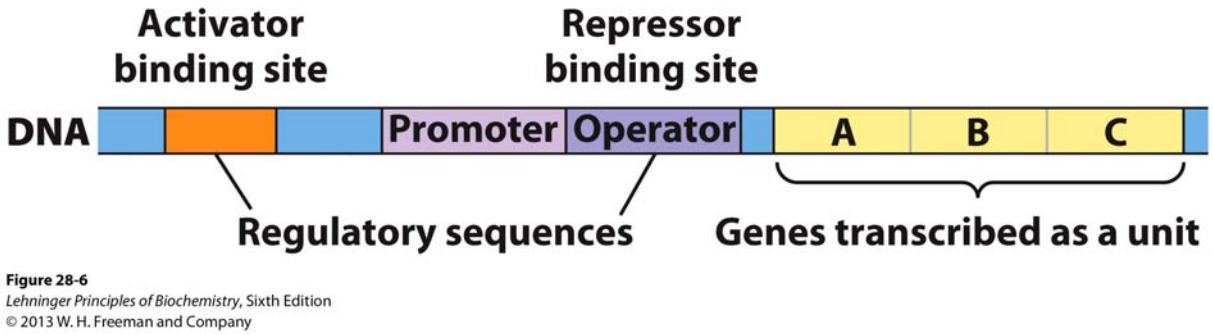


Figure 28-6
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل ۵-۲۸. اپرون پروکاریوتی شاخص. ژن‌های A، B و C بر روی یک mRNA پلی سیسترونیک رونویسی می‌شوند. توالی‌های تنظیمی شاخص شامل جایگاه‌های اتصالی برای پروتئین‌هایی است که رونویسی را از محل پروموتر فعال و یا مهار می‌نمایند.

اصول بیان ژن پروکاریوتی برای اولین بار با مطالعه بر روی متابولیسم لاکتوز توسط فرانکوئیس ژاکوب و ژاکوئیس مونود در E.coli تعیین گردید. اصطلاحات «اپرون» و «اپراتور» برای اولین بار توسط این دو دانشمند معرفی شدند.

تنظیم منفی در اپرون Lac

اپرون لاکتوز (Lac) دارای سه ژن β- گالاکتوزیداز (Z)، گالاکتوزید پرمئاز (Y) و تیوگالاکتوزید ترانس استیلاز (A) می‌باشد (شکل ۲۸-۷a). عمل آنزیم ترانس استیلاز هنوز نامشخص است. قبل از هر کدام از این سه ژن، جایگاه اتصال ریبوزومی وجود دارد (شکل ۲۸ -۷)که به طور مستقل ترجمه ژن مربوطه را هدایت می‌نماید. تنظیم اپرون Lac بر اساس الگوی شرح داده شده در شکل ۲۸ -۴a به انجام می‌رسد.

مطالعه بر روی جهش‌یافته‌های اپرون Lac ، بعضی جزئیات عملکرد سیستم تنظیمی اپرون را آشکار ساخته است. در غیاب لاکتوز، ژن‌های اپرون Lac مسدود می‌باشند. جهش در اپراتور یا در ژن I (ژن رپرسور)، منجر به سنتز دائمی محصولات ژن‌های اپرون Lac می‌گردد. وقتی نقص در ژن I وجود دارد، با انتقال یک ژن I سالم به داخل سلول توسط یک وکتور پلاسمیدی، می‌توان باعث مهار اپرون شد. این موضوع نشان می‌دهد که ژن I پروتئینی را

کد می‌نماید که سبب مهار اپرون می‌شود. اپراتوری که رپرسور Lac به آن اتصال می‌یابد (به نام O_1) در حدود جایگاه شروع رونویسی قرار دارد (شکل ۷a-۲۸). ژن I از پروموتر خود (P_I) رونویسی می‌شود که مستقل از ژن‌های اپرون Lac است. اپرون Lac دو جایگاه اتصالی دیگر نیز برای رپرسور Lac دارد که گاهی اپراتور های کاذب گفته می‌شوند، زیرا به طور مطلق برای عمل اپراتور لازم نمی‌باشند. یکی از این اپراتور ها (O_2)در نزدیکی موقعیت ۴۱۰+ و در داخل ژن کدکننده β-گالاکتوزیداز (Z) قرار داشته و اپراتور دیگر(O_3) در نزدیک موقعیت ۹۰- و در داخل ژنI وجود دارد. به نظر می‌رسد که برای مسدود کردن این اپرون، رپرسور Lac به اپراتور اصلی و یکی از دو جایگاه ثانویه متصل شده و DNA را به شکل قوس در می‌آورد. هر کدام از این آرایش‌های اتصالی سبب مهار شروع رونویسی می‌گردد.

با وجود کمپلکس اتصالی مذکور، مسدود کردن اپرون به صورت مطلق نمی‌باشد. اتصال رپرسور Lac میزان شروع رونویسی را به میزان ۱،۰۰۰ برابر کاهش می‌دهد. در صورت حذف جایگاه های O_2 و O_3 با مکانیسم حذف یا جهش، اتصال رپرسور به O_1 به تنهایی رونویسی را ۱۰۰ برابر کاهش می‌دهد. حتی در حالت مسدود شده، هر سلول دارای تعداد کمی ملکول β-گالاکتوزیداز و گالاکتوزید پرمئاز بوده که احتمالاً در موارد نادرِ جداشدن موقت رپرسور از اپراتور ها سنتز می‌گردند. این میزان پایه رونویسی برای تنظیم اپرون ضروری است.

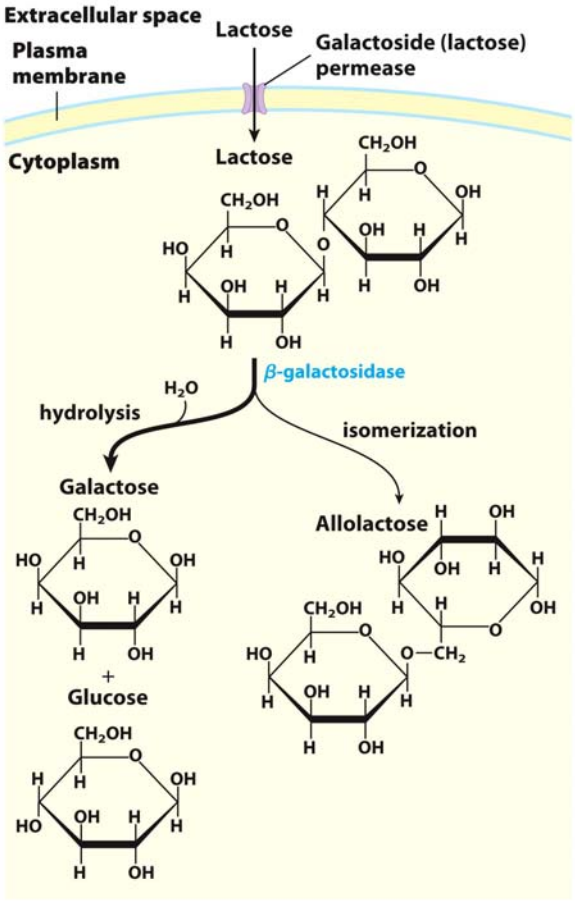


Figure 28-7
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل ۶-۲۸. متابولیسم لاکتوز در E.coli. برداشت و متابولیسم لاکتوز نیاز به فعالیت‌های گالاکتوزید پرمئاز و β-گالاکتوزیداز دارد. تبدیل لاکتوز به آلولاکتوز توسط ترانس‌گلیکوزیلاسیون یک واکنش جزئی است که توسطβ-گالاکتوزیداز کاتالیز می‌گردد.

وقتی سلول در محیط واجد لاکتوز قرار می‌گیرد، اپرون Lac القاء می‌شود. یک ملکول القاءکننده به یک جایگاه اختصاصی بر روی رپرسور Lac متصل شده و با ایجاد یک تغییر شکل فضایی (شکل ۷d – ۲۸)، سبب جدایی رپرسور از اپراتور می‌گردد. این القاءکننده در سیستم اپرون Lac خود لاکتوز نبوده و در واقع ایزومری از آن به نام آلولاکتوز است (شکل ۶ – ۲۸). بعد از ورود به داخل سلول (از طریق ملکول‌های پرمئاز موجود)، لاکتوز توسط چند ملکول β- گالاکتوزیداز موجود به آلولاکتور تبدیل می‌گردد. آلولاکتوز با رها نمودن رپرسور Lac ، بیان ژن-های اپرون Lac را سبب شده و منجر به افزایش ۱،۰۰۰ برابر غلظت β- گالاکتوزیداز می‌گردد.

β-گالاکتوزیدهای متعددی به عنوان القاءکننده اپرون Lac وجود دارند که از نظر ساختمانی مشابه به آلولاکتوز هستند ولی سوبسترای β- گالاکتوزیداز نمی‌باشند. بر عکس، تعدادی از ترکیبات سوبسترای آنزیم بوده ولی القاءکننده نمی‌باشند. یکی از القاءکننده‌های مؤثر اپرو لاکتوز که می‌تواند باعث جدا شدن رپرسور از اپراتور شو ولی سوبسترای آنزیم β- گالاکتوزیداز نیست و اغلب در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می‌گیرد، ایزوپروپیل تیوگالاکتوزید (IPTG) می‌باشد. القاءکننده‌هایی که قابل متابولیزه‌شدن نیستند، امکان تحقیق در زمینه کشف عملکرد فیزیولوژیک لاکتوز به عنوان منبع کربن برای رشد، جدا از عملکرد آن در تنظیم بیان ژنی، را فراهم می‌آورند.

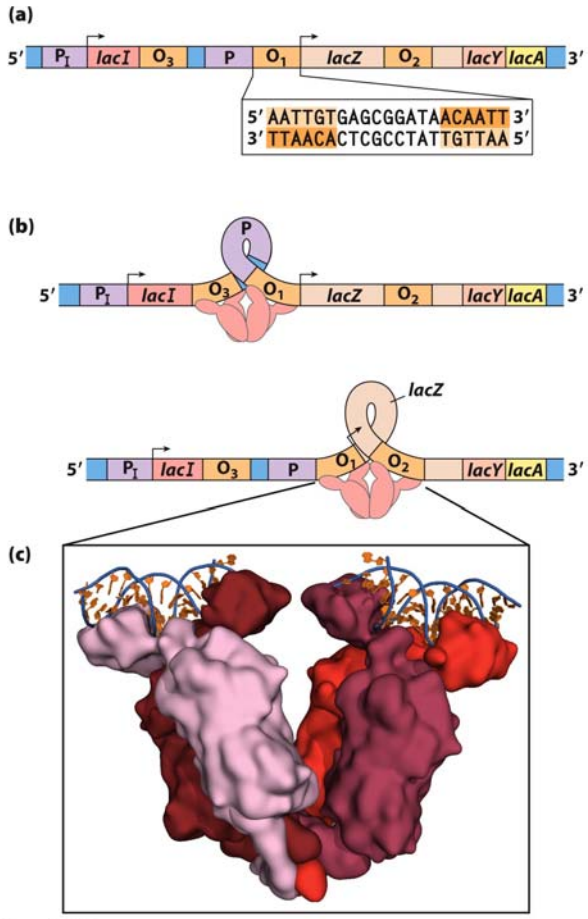


Figure 28-8
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل ۷-۲۸. اپرون Lac . (a) اپرون Lac در حالت مسدودشده. ژن I رپرسور Lac را کد می‌نماید. ژن‌های Z، Y و A اپرون Lac به ترتیب β-گالاکتوزیداز، گالاکتوزید پرمئاز و ترانس استیلاز را کد می‌نمایند. P پروموتر ژن‌های Lac بوده و P_I پروموتر ژن‌های I است. O_1 اپراتور اصلی اپرون Lac بوده؛ O_2 و O_3 جایگاه‌های اپراتوری ثانویه به نام اپراتورهای کاذب، هستند. (b) رپرسور Lac به اپراتور اصلی و به یکی از دو اپراتور کاذب متصل شده و در DNA ایجاد یک قوس می‌نمایدکه ممکن است همانطور نشان داده شده است بدور رپرسور بپیچد. (c) رپرسور Lac به DNA متصل می‌گردد. این شکل نشان می‌دهد که پروتئین (خاکستری) تنها به قطعات کوتاه و ناپیوسته‌ای از DNA (آبی) متصل می‌شود. در اثر اتصال القاءکننده مصنوعی IPTG ، تغییر کونفورماسیونی در رپرسور Lac ایجاد می‌گردد.

علاوه بر این تعداد زیاد اپرون‌های شناخته شده در باکتری‌ها، در سلول‌های یوکاریوتی پست نیز تعدادی اپرون پلی‌سیترونیک وجود دارد. هرچند در سلول‌های یوکاریوتی عالی، تقریباً تمامی ژن‌ها به طور مجزا (مونوسیسترونیک) بیان می‌گردند.

مکانیسم‌های تنظیمی اپرون‌ها می‌توانند از مدل ساده‌ای که در شکل ۷-۲۸ نمایش داده شده است، تفاوت قابل توجهی داشته باشند. حتی اپرون Lac ، به علت نقش یک فعال‌کننده در طرح کلی که بعداً شرح داده خواهد شد، پیچیده‌تر از چیزی است که در اینجا نشان داده شده است. قبل از این که در مورد سطوح تنظیمی بیان ژن بیشتر صحبت کنیم، واکنش‌های متقابل مهم مولکولی بین پروتئین های اتصالی DNA (نظیر رپرسورها و فعال‌کننده‌ها) و توالی‌های DNA اتصال یابنده به آنها، مورد بررسی قرار می‌گیرند.

تنظیم مثبت در اپرون Lac

واکنش‌های متقابل اپراتور ـ رپرسورـ القاءکننده که قبلاً برای اپرون Lac شرح داده شد مدل مناسبی برای درک مستقیم روشن و خاموش شدن بیان ژن می‌باشد. در حقیقت، تنظیم اپرونی به ندرت تا این حد ساده است. عوامل

دیگری غیر از لاکتوز، نظیر دسترسی به گلوکز، بر روی بیان اپرون Lac اثر دارند. منبع انرژی ترجیحی برای E.coli، گلوکز می‌باشد که مستقیماً در مسیر گلیکولیز متابولیزه می‌گردد. سایر قندها نیز می‌توانند به عنوان منبع غذایی اصلی یا تنها منبع مورد استفاده قرار گیرند ولی برای ورود آنها به مسیر گلیکولیز نیاز به مراحل دیگری است که ضرورت سنتز آنزیم‌های دیگری را ایجاب می‌نماید. وقتی گلوکز فراوان است، بیان ژن پروتئین‌هایی که قندهایی نظیر لاکتوز و ارابینوز را متابولیزه می‌نمایند، بیهوده خواهد بود.

وقتی هم گلوکز و هم لاکتوز در محیط می‌باشد، چه اتفاقی برای اپرون Lac رخ می‌دهد؟ در حضور گلوکز، مکانیسم تنظیمی دیگری، به نام مهار کاتابولیت[۱۷]، مانع از بیان ژن‌های کاتابولیسم لاکتوز، ارابینوز یا قندهای دیگر، حتی در حضور این قندهای ثانویه می‌گردد. این اثر گلوکز به واسطه cAMP و پروتئینی به نام پروتئین گیرنده cAMP یا CRP[۱۸] (گاهی این پروتئین CAP[۱۹] نیز نامیده می‌شود) می‌باشد. CRP هومودیمر (وزن مولکولی ۲۲۰۰۰) بوده و دارای جایگاه‌هایی جهت اتصال به DNA و cAMP می‌باشد. در غیاب گلوکز، CRP به محلی نزدیکی پروموتر Lac اضافه شده (شکل۱۷a-۲۸) و رونویسی RNA را ۵۰ برابر بیشتر می‌نماید. بنابراین CRP یک عنصر تنظیمی مثبت می‌باشد که به مقادیر گلوکز پاسخ داده، در حالیکه رپرسور Lac یک عنصر تنظیمی منفی است که به لاکتوز پاسخ می‌دهد. این دو به‌طور هماهنگ عمل می‌نمایند؛ وقتی رونویسی توسط رپرسور Lac مهار می‌شود، CRP اثر کمی بر روی اپرون Lac داشته و جدا شدن رپرسور Lac از اپراتور اثر کمی بر روی رونویسی اپرون دارد، مگر اینکه CRP برای تسهیل رونویسی موجود باشد؛ وقتی CRP متصل نمی‌باشد، پروموتر نوع وحشی Lac، پروموتر نسبتاً ضعیفی است (شکل ۱۷b-۲۸). کمپلکس باز RNA پلی‌مراز و این پروموتر (شکل ۶-۲۶ را ببینید) ایجاد نشده، مگر اینکه CRP وجود داشته باشد. CRP مستقیماً از طریق زیرواحد α در RNA پلی‌مراز به آن اتصال می‌یابد (شکل ۱۶-۲۸).

۱۷. Catabolite repression
۱۸. cAMP Receptor Protein
۱۹. Catabolite gene Activator Protein

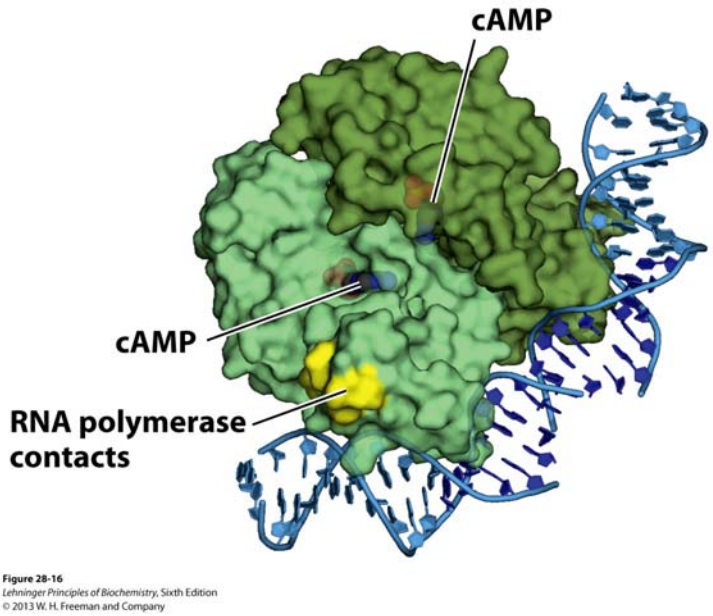


Figure 28-16
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل ۱۶-۲۸. هومودیمر CRP. ملکول‌های اتصال یافته cAMP، قرمز نشان داده شده‌اند. به تاشدن DNA حول این پروتئین توجه کنید. ناحیه‌ای که با RNAپلیمراز واکنش می‌کند، با سایه زرد نشان داده شده است.

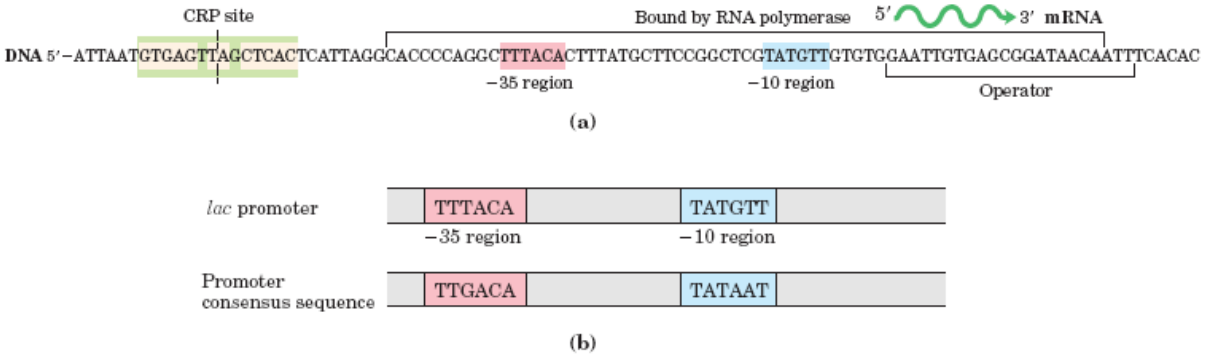


FIGURE 28–17 Activation of transcription of the *lac* operon by CRP. **(a)** The binding site for CRP-cAMP is near the promoter. As in the case of the *lac* operator, the CRP site has twofold symmetry (bases shaded beige) about the axis indicated by the dashed line. **(b)** Sequence of the *lac* promoter compared with the promoter consensus sequence. The differences mean that RNA polymerase binds relatively weakly to the *lac* promoter until the polymerase is activated by CRP-cAMP.

شکل ۱۷-۲۸. فعال‌شدن رونویسی اپرون Lac توسط CRP. (a) جایگاه اتصالی برای CRP در نزدیکی پروموتر قرار دارد. همانند اپراتور Lac ، جایگاه CRP حول محوری که با خط منقطع نشان داده شده است، دارای تقارن دوطرفه می‌باشد. (b) توالی پروموتر Lac در مقایسه با توالی مشترک پروموتری. تفاوت‌ها به معنی آن می‌باشند که RNA پلیمراز به‌طور نسبتاً سست به پروموتر Lac اتصال می‌یابد، مگر اینکه پلیمراز توسط CRP فعال گردد.

اثر گلوکز بر روی CRP از طریق cAMP انجام می‌شود (شکل ۱۸-۲۸). CRP دارای یک جایگاه اتصالی cAMP بوده و زمانیکه غلظت cAMP بالا است، با تمایل بیشتری به DNA اتصال می‌یابد. در حضور گلوکز، سنتز cAMP متوقف شده و خروج cAMP از سلول تحریک می‌گردد. با کاهش cAMP، اتصال CRP به DNA کاهش یافته و به موجب آن بیان اپرون Lac تنزل می‌یابد. بنابراین، برای القاء قوی اپرون Lac همزمان به لاکتوز برای غیرفعال نمودن رپرسور Lac و غلظت پایین گلوکز برای افزایش cAMP و همچنین افزایش اتصال cAMP به CRP نیاز می‌باشد. CRP و cAMP در تنظیم هماهنگ بسیاری از اپرون‌ها، بخصوص انواعی که آنزیم‌های لازم برای متابولیسم سایر قندهای ثانویه نظیر لاکتوز و ارابینوز را کد می‌کنند، شرکت دارند.

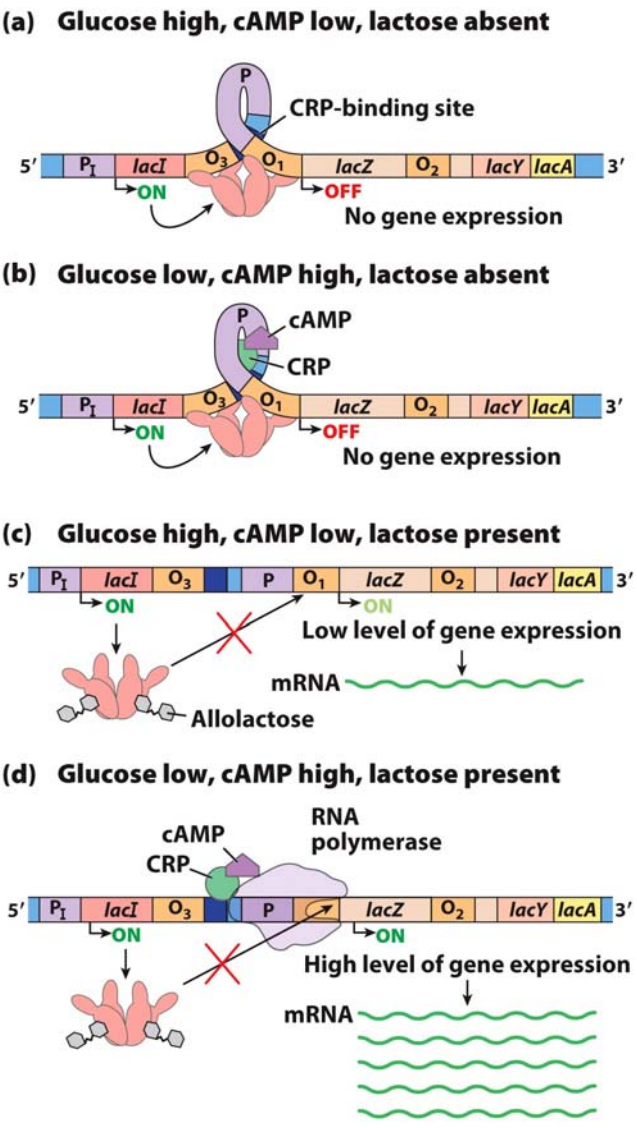


Figure 28-17
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل ۱۸-۲۸. اثرات مرکب گلوکز و لاکتوز بر روی بیان اپرون Lac. رونویسی تنها زمانی رخ می‌دهد که غلظت گلوکز پایین بوده (بطوریکه مقادیر cAMP بالا بوده و CRP متصل می‌باشد) و غلظت‌های لاکتوز بالا باشد (بطوریکه رپرسور Lac اتصال نمی‌یابد).

تنظیم از طریق تضعیف رونویسی

باکتری E.coli برای سنتز پروتئین به مقادیر زیادی از ۲۰ اسیدآمینه استاندارد نیاز دارد که خود قادر به سنتز تمامی آنها می‌باشد. ژن آنزیم‌های مورد نیاز برای سنتز هر کدام از این اسیدهای آمینه عموماً در داخل اپرون‌های مجزا دسته‌بندی شده‌اند. هر زمان مقادیر سلولی یک اسیدآمینه خاص برای رفع نیازهای سلول کافی نباشد، اپرون

مربوطه بیان می‌گردد. برعکس، وقتی اسیدآمینه فراوان است، آنزیم‌های بیوسنتتیک آن لازم نبوده و اپرون مهار می‌شود.

اپرون تریپتوفان (trp) در E.coli شامل پنج ژن مربوط به پنج آنزیم مورد نیاز برای تبدیل کوریسمات به تریپتوفان می‌باشد (شکل۲۱-۲۸). دو تا از این آنزیم‌ها بیش از یک مرحله را در این مسیر کاتالیز می‌نمایند. نیمه عمر mRNAاپرون trp تنها ۳ دقیقه بوده که امکان پاسخ سریع سلول به تغییر نیاز به این اسیدآمینه را فراهم می‌آورد. رپرسور Trp همودیمری است که هر زیرواحد آن از ۱۰۷ اسیدآمینه تشکیل شده است (شکل۲۲-۲۸). وقتی تریپتوفان فراوان است، به رپرسور Trp اتصال یافته و با ایجاد یک تغییر کونفورماسیونی، سبب اتصال آن به اپراتور trp و مهار رونویسی اپرون trp می‌گردد. جایگاه اتصالی اپراتور trp دارای همپوشانی با این پروموتر است، بنابراین اتصال رپرسور ممکن است مانع اتصال RNA پلی‌مراز شود.

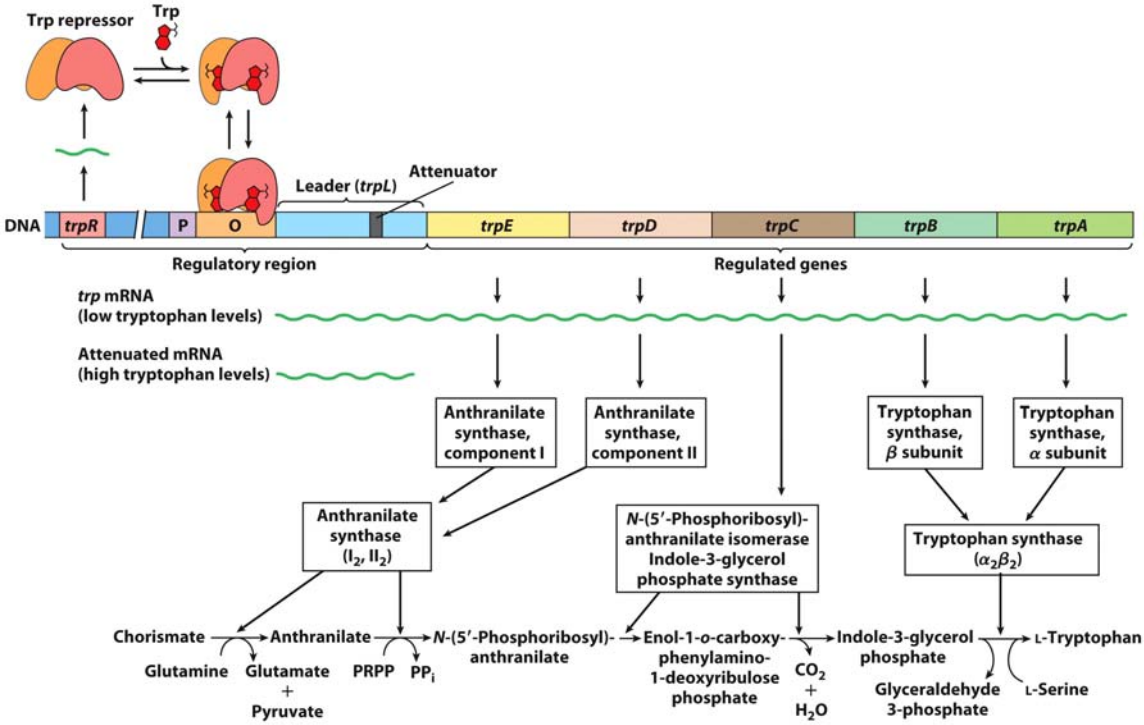


Figure 28-18
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل۲۱-۲۸. اپرون trp. این اپرون توسط دو مکانیسم تنظیم می‌شود: وقتی مقادیر تریپتوفان بالا می‌باشد، (۱) رپرسور (بالا چپ) به اپراتور متصل شده و (۲) رونویسی trp mRNA تضعیف می‌گردد (شکل ۲۳-۲۸ را ببینید). بیوسنتز تریپتوفان توسط آنزیم‌های کدشونده در اپرون trp، در قسمت پایین نشان داده شده است.

در اینجا نیز این مسیر ساده روشن/ خاموش‌شدن توسط یک رپرسور، تمامی داستان تنظیمی نمی‌باشد. غلظت‌های سلولی مختلف تریپتوفان می‌تواند سبب تغییر سرعت سنتز آنزیم‌های بیوسنتتیک تا دامنه بیش از ۷۰۰ برابر گردد. وقتی مهار رونویسی برداشته و رونویسی آغاز می‌شود، سرعت رونویسی توسط فرایند تنظیمی دوم، به نام تضعیف رونویسی[۲۰]، به طور ظریفی تنظیم می‌گردد که در آن رونویسی به طور طبیعی آغاز شده ولی قبل از رونویسی ژن-های اپرون، به طور ناقص بازمی‌ایستد. میزان تضعیف رونویسی توسط میزان تریپتوفان موجود تنظیم شده و متکی بر انجام همزمان رونویسی و ترجمه در باکتری‌ها می‌باشد.

مکانیسم تضعیف اپرون trp با استفاده از پیام‌هایی به انجام می‌رسد که در چهار توالی موجود در داخل یک ناحیه رهبر ۱۶۲ نوکلئوتیدی در انتهای '۵ ملکول mRNA کد شده که قبل از کدون شروع اولین ژن قرار دارد(شکل ۲۳a-۲۸). در داخل ناحیه رهبر، ناحیه ای به نام تضعیف کننده[۲۱] قرار دارد که از توالی های ۳ و ۴ تشکیل شده است. این توالی‌ها با یکدیگر ایجاد جفت باز نموده و تولید یک ساختمان ساقه- حلقه غنی از G ≡ C می‌نمایند که به فاصله نزدیکی از آن یک سری از ریشه‌های یوریدیلات قرار دارد. به این ساختار، اصطلاحا ساختار تضعیف کننده می‌گویند. این ساختار تضعیف‌کننده همانند یک خاتمه‌دهنده رونویسی (ختم مستقل از Rho) عمل می‌نماید (شکل ۲۳b-۲۸). علاوه بر این توالی ۲ نیز با توالی ۳ مکمل است (شکل ۲۳c-۲۸). وقتی توالی‌های ۲ و ۳ با یکدیگر ایجاد جفت باز می‌کنند، ساختمان تضعیف کننده ایجاد نشده و رونویسی ژن‌های بیوسنتتیک trp ادامه می‌یابد؛ قوس حاصل از جفت‌شدن توالی‌های ۲ و۳، رونویسی را مختل نمی‌نماید.

۲۰. Transcription attenuation
۲۱. Attenuator

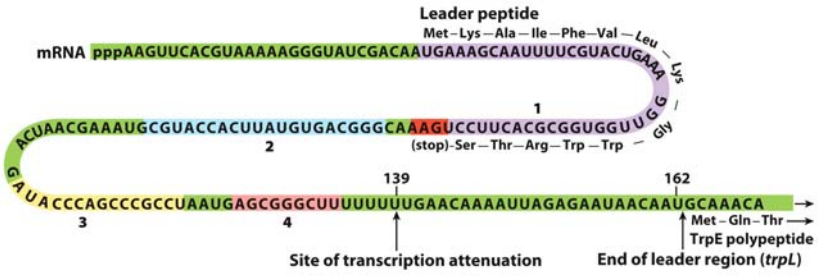
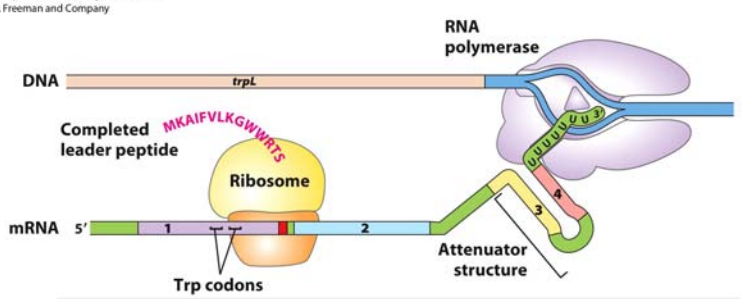
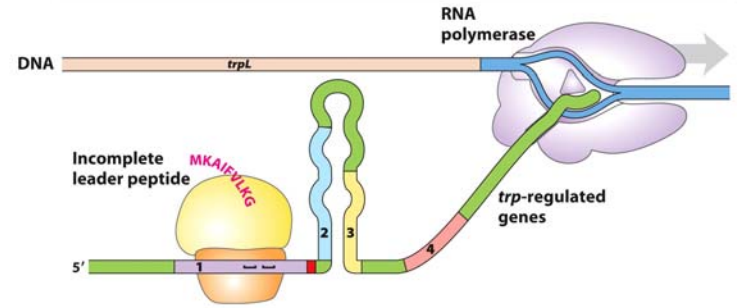


Figure 28-19a
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company



When tryptophan levels are high, the ribosome quickly translates sequence 1 (open reading frame encoding leader peptide) and blocks sequence 2 before sequence 3 is transcribed. Continued transcription leads to attenuation at the terminator-like attenuator structure formed by sequences 3 and 4.



When tryptophan levels are low, the ribosome pauses at the Trp codons in sequence 1. Formation of the paired structure between sequences 2 and 3 prevents attenuation, because sequence 3 is no longer available to form the attenuator structure with sequence 4. The 2:3 structure, unlike the 3:4 attenuator, does not prevent transcription.

Figure 28-19b
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

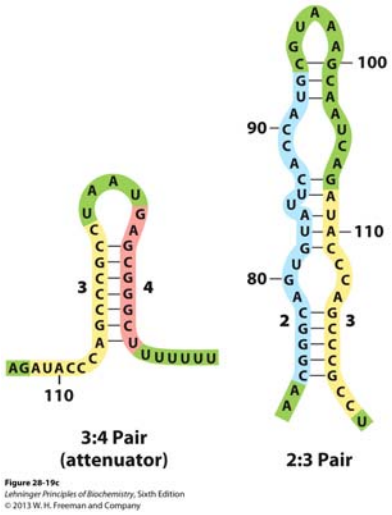


Figure 28-19c
Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

شکل ۲۳-۲۸. تضعیف رونویسی در اپرون trp. رونویسی در ابتدای mRNA (هبر ۱۶۲ نوکلئوتیدی آغاز می‌شود که توسط ناحیه‌ای از DNA به نام trpL کد می‌گردد (شکل ۲۱-۲۸ را ببینید). یک مکانیسم تنظیمی مشخص می‌نماید که آیا رونویسی در انتهای این رهبر تضعیف شده و یا تا ژن‌های ساختمانی ادامه یابد. (a) trp mRNA رهبر (trpL). مکانیسم تضعیف در اپرون trp، نیاز به توالی‌های ۱ تا ۴ (سایه‌دار) دارد. (b) توالی ۱ یک پپتید کوچک، به نام پپتید رهبر، را کد می‌کند که دارای دو ریشه (W) Trp می‌باشد؛ این پپتید بلافاصله بعد از شروع رونویسی، ترجمه می‌گردد. توالی‌های ۲ و ۳ و همینطور توالی‌های ۳ و ۴ مکمل یکدیگر هستند. ساختمان تضعیف‌کننده با جفت‌شدن توالی‌های ۳ و ۴ (بالا) ایجاد می‌گردد. ساختمان و عملکرد این تضعیف‌کننده مشابه یک خاتمه‌دهنده رونویسی است (شکل ۲۶-۷ را ببینید) و جفت‌شدن توالی‌های ۲ و ۳ (پایین) مانع از ایجاد این ساختمان تضعیف‌کننده می‌گردد. توجه داشته باشید که این پپتید رهبر فاقد هر نوع فعالیت سلولی دیگری است. ترجمه قالب خواندن باز آن، دارای فعالیت تنظیمی خاص می‌باشد که تعیین می‌نماید کدام توالی مکمل (۲ و ۳ یا ۳ و ۴) جفت شوند. (c) طرح‌های ایجاد جفت باز برای نوامی مکمل trp mRNA رهبر.

توالی ۱ نقش مهمی را در مکانیسم حساس به تریپتوفان دارد که مشخص می‌نماید توالی ۳ با توالی ۲ جفت شود و رونویسی ادامه یابد و یا اینکه با توالی ۴ ایجاد جفت باز نماید و رونویسی تضعیف گردد. ایجاد ساختار ساقه- حلقه تضعیف‌کننده بستگی به حوادثی دارد که طی ترجمه توالی تنظیمی ۱ رخ می‌دهد؛ این توالی یک پپتید رهبر (علت نامگذاری کدشدن توسط ناحیه رهبر در mRNA می‌باشد) با ۱۴ اسید آمینه است که دو ریشه آن را Trp تشکیل می‌دهد. پپتید رهبر جهت تنظیم اپرون تریپتوفان ساخته می‌شود و فاقد عمل سلولی شناخته شده است. این پپتید بلافاصله بعد از رونویسی، توسط ریبوزومی ترجمه می‌گردد که به فاصله نزدیکی در پشت سر RNA پلی‌مراز حرکت می‌نماید.

وقتی غلظت تریپتوفان بالا باشد، غلظت ملکول tRNA شارژ شده با تریپتوفان($Trp\text{-}tRNA^{Trp}$) نیز بالا خواهد بود. از این رو، ترجمه به سرعت و قبل از رونویسی توالی ۳ توسط RNA پلی‌مراز، از دو کدون Trp توالی ۱ عبور می‌نماید. در این حالت، توالی ۲ توسط ریبوزوم پوشیده بوده و وقتی توالی ۳ رونویسی می‌شود، نمی‌تواند با توالی ۲ جفت باز ایجاد نماید. بنابراین ساختار تضعیف‌کننده (توالی ۳ و ۴) ایجاد شده و رونویسی متوقف می‌گردد (شکل ۲۳b-۲۸ بالا). وقتی غلظت تریپتوفان پایین است، بخاطر کمبود $Trp\text{-}tRNA^{Trp}$ ریبوزوم در محل دو کدون Trp توالی ۱ متوقف می‌شود. در این حالت، توالی ۲ آزاد باقی مانده و با سنتز توالی ۳، این دو توالی با یکدیگر ایجاد جفت‌باز نموده و امکان پیشرفت رونویسی را فراهم می‌آورند (شکل۲۳b-۲۸ پایین). بدین ترتیب، با افزایش غلظت تریپتوفان، نسبت رونویسی‌هایی که تضعیف شده‌اند، بالاتر می‌رود.

بسیاری از اپرون‌های اسید آمینه‌ای دیگر از استراژی تضعیفی مشابهی برای تنظیم ظریف آنزیم‌های بیوسنتتیک جهت رفع نیازهای سلولی استفاده می‌نمایند. پپتید رهبر ۱۵ اسید آمینه‌ای تولیدی توسط اپرون phe دارای هفت ریشه Phe است. پپتید رهبر اپرون leu دارای چهار ریشه Leu مجاور است. پپتید رهبر اپرون his دارای هفت ریشه His مجاور می‌باشد. در حقیقت، در مورد اپرون his و تعدادی از اپرون‌های دیگر (به استثناء trp)، تضعیف به اندازه کافی حساس است که به عنوان تنها مکانیسم تنظیمی عمل می‌کند.