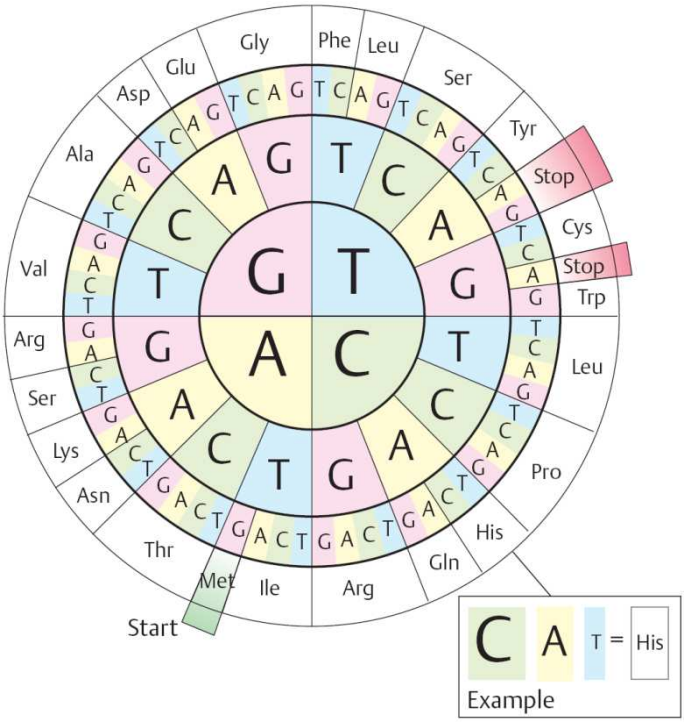
5

الفصل الخامس

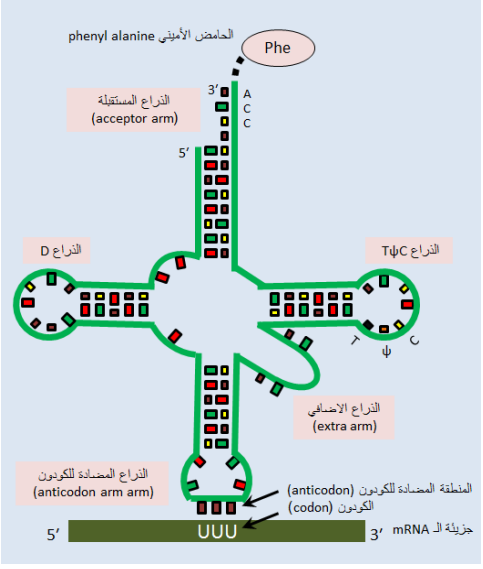
ترجمة الجين



جدول الشفرة الوراثية بعد فك رموزها (Koolman and Roehm, 2005)

مقدمة

تتألف لغة الحياة من حروف أبجدية أربعة: A و G و T و C. تتطابق هذه الحروف مع النيوكليوتيدات الموجودة في الـ DNA. وتنتظم هذه النيوكليوتيدات إلى شفرة ذات ثلاثة حروف تدعى بالكودون codon ، ويؤلف مجموع هذه الكودونات ما يعرف بالشفرة الوراثية genetic code. تشفّر الكودونات المنتظمة خطياً (الجينات) إلى تخليق عدّة جزيئات RNA ، معظمها تدخل في بعض مظاهر تخليق البروتين. يحدث تخليق البروتين في ثلاث خطوات رئيسية: وهي البدء initiation، والاستطالة elongation ، والانتهاء termination. تشابه هذه العملية عمليتي التضاعف replication والاستنساخ transcription في صفاتها العامة، وفي كون أن اتجاه حدوثها من 5′ إلى 3′. يجب أن تمتلك الخلية الماكنة الضرورية التي تترجم المعلومات بكفاءة وبدقة من التسلسل النيوكليوتيدي في الـ RNA إلى تسلسل أحماض أمينية في البروتين المطابق. هذا وأدرك الباحثون مبكرا بأن جزيئات الـ mRNA بنفسها لا تمتلك ألفة للأحماض الأمينية، ولهذا، فان ترجمة المعلومات الوراثية الموجودة في تسلسل الـ mRNA إلى تسلسل أحماض أمينية في البروتين يحتاج إلى جزيئة وسيطة لها قابلية التكيف ما بين الأحماض النووية والأحماض الأمينية. يجب أن تميز هذه الجزيئات المتكيفة adaptor molecules التسلسل النيوكليوتيدي المتخصص من جهة، وتسلسل الأحماض الأمينية المطابق من جهة أخرى (راجع صفات جزيئة الـ tRNA). وبوجود هكذا جزيئات متكيفة، تستطيع الخلية أن توجه الحامض الأميني المتخصص إلى مكانه الصحيح في البروتين حسب التسلسل كما هو مقرر في التسلسلات النيوكليوتيدية الموجودة في جزيئة الـ mRNA (شكل 1.5).

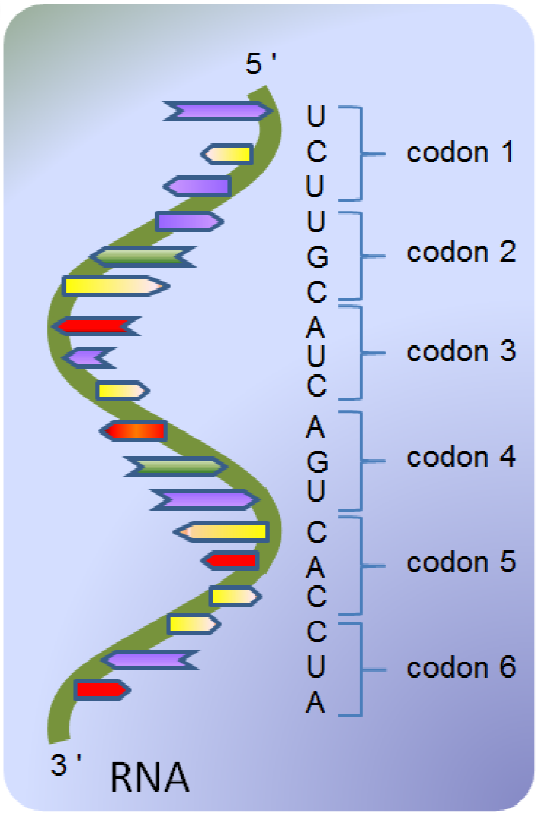


شكل (1.5) : يوضح قدرة جزيئة الـ tRNA على الربط بين الأحماض النووية عن طريق ذراع الشفرة المضادة anticodon arm من جهة، والأحماض الأمينية عن طريق الذراع المستقبلة acceptor arm من جهة أخرى. تتألف المنطقة المضادة للشفرة anticodon region على تسلسل من سبع نيوكليوتيدات: وهي N أي المتغايرة و *Pu أي البيورين المحور والنيوكليوتيدات الثلاثة X,Y,Z والتي هي AAA كمثال في هذا الشكل واثنان من Pyr أي من قواعد البيريمدين من الاتجاه 3′ الى 5′ (تصميم المؤلف)

يقوم الـ tRNA بوصفه كجزيئة متكيفة adaptor molecule باستخدام ذراع مضاد الشفرة anticodon arm في تمييز الكودونات الموجودة في جزيئة الـ mRNA ،باعتماد قواعد Watson و Crick في الازدواج القاعدي. كل جزيئة من الـ tRNA تحتوي على تسلسل معين متمم للكودون، والتي يصطلح عليها بالشفرة المضادة (anticodon). وبما أن كل جزيئة من الـ tRNA تعلم بنوع واحد فقط من الأحماض الأمينية، لذا فان كل كودون متخصص بحامض أميني واحد.

الكودونات وتخليق البروتين codons and protein synthesis

إن التسلسلات الموجودة في جزيئات الـ mRNA توجد في كل حامض أميني (شكل 2.5). إن الجزيئات المتكيفة التي تترجم الكودونات إلى تسلسل أحماض أمينية في البروتين هي جزيئات الـ tRNA . ان الرايبوسومات هي مكونات خلوية والتي تتآثر عليها الكيانات الوظيفية المختلفة لكي تخلق جزيئة البروتين. تتراكب العديد من الرايبوسومات على بعضها البعض تلقائيا لتترجم جزيئة mRNA مفردة، وتكون ما يعرف بمتعدد الرايبوسوم polyribosome (راجع الشكل 9.4). أما الشبكة الاندوبلازمية الداخلية هي حجرات يرتبط متعدد الرايبوسوم على سطوحها.



شكل (2.5) : كيفية تمثيل تسلسلات الـ RNA إلى كودونات مختلفة لها القابلية على الترجمة. ان كل ثلاث أحماض نووية تشكل كودوناً واحداً والذي يشفر بدوره لحامض اميني واحد (تصميم المؤلف).

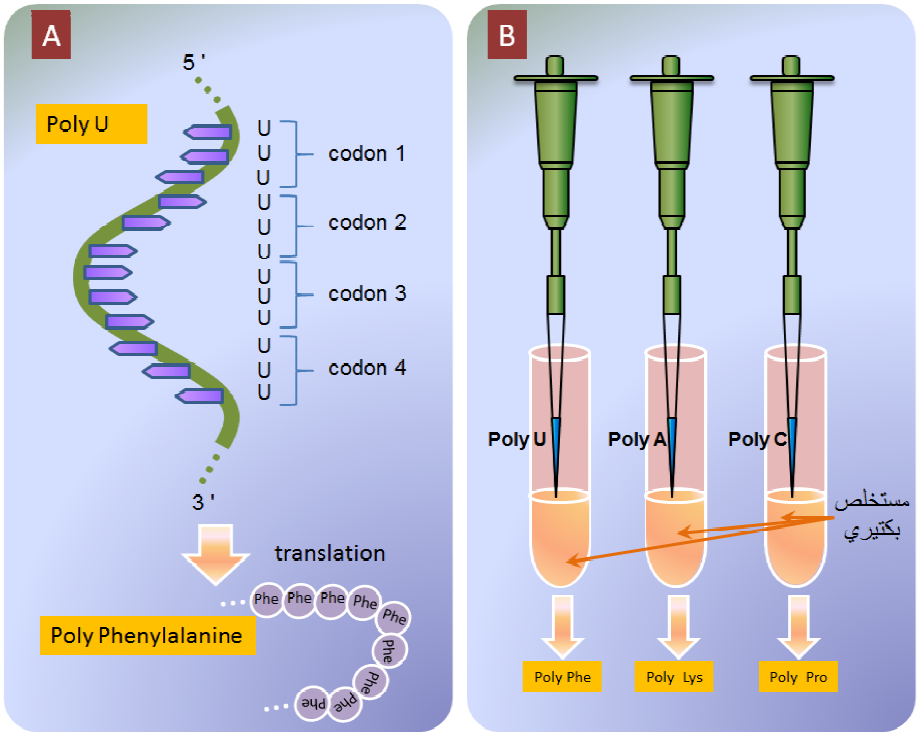
فك رموز الشفرة الوراثية cracking the genetic code

استطاع العلماء في نهاية الخمسينات وبداية الستينات من القرن الماضي من حل سر من أسرار الحياة المهمة، وهو كيف تعمل الجينات. إن المشكلة التي حاول الباحثون حلها هي كيف أن التسلسل الخطي للنيوكليوتيدات الأربع (A و G و C و U) يحدد تسلسل الأحماض الأمينية في البروتين المتألف من 20 حاض أميني مختلف. بعد اكتشاف تركيب الـ DNA من قبل James Watson و Francis Crick و Rosalind Franklin، انبثقت محاولات جادة لفهم طبيعة التشفير للبروتين.

Marshall Nirenberg

تم أول تفسير للشفرة الوراثية على يد العالمين Nirenberg و Mathaei عام 1961. أن المجتمع العلمي في مجال تفسير الشفرة الوراثية يعد مديناً لأعمال Nirenberg و Mathaei الذين جرت تجربتهم على مستخلصات بكتريا القولون المزال منها الـ DNA باستعمال الإنزيم الهاضم له (الـ DNase) لكي لا يتداخل مع نتائج التجربة. وعندما استخدما متعدد نيوكليوتيدي polynucleotide مصنع مختبرياً من اليوراسيل فقط (poly U) باستخدام الإنزيم polynucleotide phosphorylase (الذي يبلمر النيوكليوتيدات عشوائياً دون الاعتماد على شريط قالب، وهو بهذا يختلف عن كافة إنزيمات الـ polymerases والتي لا تعمل إلاّ بوجود شريط قالب يحدد لها مسارها)، وأضافاه إلى الوسط ، تم الحصول على متعدد ببتيد polypeptide يحتوي على متعدد الحامض الأميني phenylalanine فقط (poly-phenylalanine) (شكل 3.5 A).

وبشكل مشابه، وباستخدام نفس الإنزيم مع تغيير مادة التفاعل، كوّن متعدد الأدنين poly (A) متعدد الحامض الأميني lysine فقط (poly-lysine)، و كوّن متعدد السايتوسين poly (C) متعدد الحامض الأميني proline فقط (poly-proline). ولذلك، يشفر متعدد اليوراسيل UUU للحامض الأميني phenylalanine ، ويشفر AAAللحامض الأميني lysine ، ويشفر CCC للحامض الأميني proline (شكل 3.5 B).



شكل (3.5) : (A) تحديد الشفرة الوراثية باستخدام جزيئة mRNA مصنعة مختبرياً باستخدام رايبونيوكليوتيدة من نفس النوع وهي متعدد اليوراسيل poly U. إضافة هكذا mRNA مخلّق إلى المستخلص البكتيري يؤدي إلى تخليق أحماض أمينية من نوع واحد وهي متعدد الفنيل الانين poly-phenylalanine. (B) تحديد الشفرة الوراثية باستخدام جزيئة mRNA مصنعة مختبرياً باستخدام رايبونيوكليوتيدة من عدة أنواع، وهذا يؤدي إلى تخليق أحماض أمينية من عدة أنواع (تصميم المؤلف).

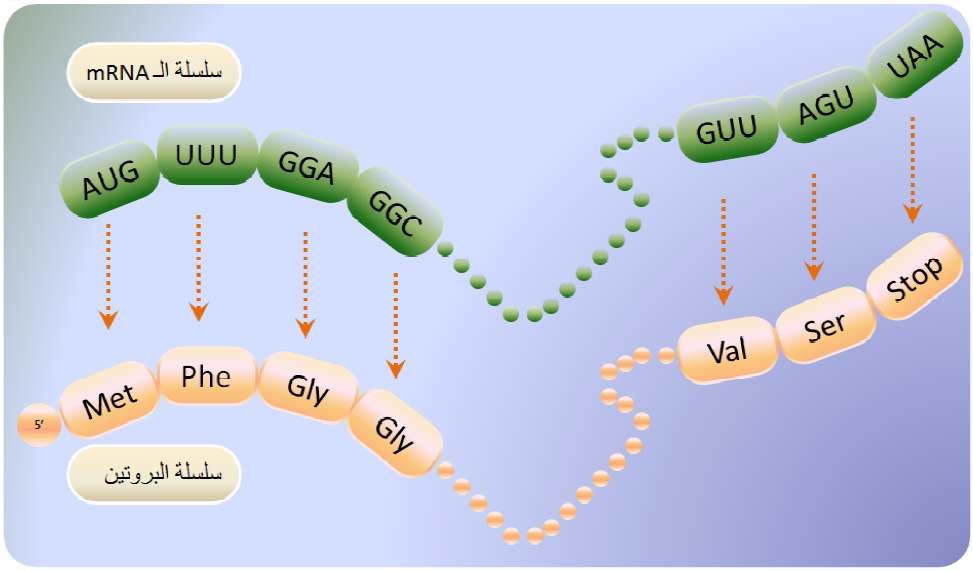
ظلّت مجموعة Nirenberg عاجزة عن فك كل رموز الشفرة الوراثية، بسبب عدم توصلها إلى طريقة تمكنها من تخليق متعدد نيوكليوتيدي يتألف من مزيج من النيوكليوتيدات ذو تسلسل معروف. وبقيت الحال هكذا إلى أن وسّعت التجارب باستخدام متعددات نيوكليوتيدية مختلطة mixed polynucleotides وكشفت الشفرة الوراثية genetic code بأكملها (شكل 4.5)، وكان هذا من نصيب العالم الهندي Khorana والذي شخص بقية الشفرة، وذلك من خلال تطويره لوسائل كيميائية مكنته من تخليق متعدد النيوكليوتيد الثنائي poly-dinucleotide ومتعدد النيوكليوتيد الثلاثي poly-trinucleotide من تسلسلات الـ DNA والتي يمكن لها من أن تترجم إلى بروتين. وعندما خلّق العالم Khorana وجماعته التسلسل CUCUCUC... على سبيل المثال، نتج عن هذا التسلسل تكوين متعدد ببتيدي polypeptide متكون من leu-ser-leu-ser...، وهذا لا يؤكد فقط بأن الكودون CUC يشفر للحامض الأميني leucine فقط، والكودون UCU يشفر للحامض الأميني serine،

Har G. Khorana

Robert Holley

وإنما يثبت في نفس الوقت بأن الشفرة الوراثية ذات طبيعة ثلاثية. وإذا كانت الشفرة ذات طبيعة ثنائية ...CU CU CU CU أو رباعية ...CUCU CUCU CUCU فإنها سوف تؤدي إلى إنتاج متعدد ببتيدي يحتوي على حامض أميني من نوع واحد.

ولكن حتى لو تمكن كل من Nirenberg و Khorana من فك رموز الشفرة الوراثية، ولكن الطريقة التي بواسطتها يمكن للـ RNA من أن يتحول الى بروتين لم تعرف على وجه التحديد، حتى استطاع Holley بعد فترة قصيرة من تشخيص تسلسل جزيئة الـ tRNA ، وهي الجزيئة المتكيفة التي تسهل عملية الترجمة، ليحصل كل من Nirenberg و Khorana و Holley جائزة نوبل في الفسلجة أو الطب تقديراً لعملهم البارع. وذلك في عام 1968.



شكل (4. 5): ترجمة الكودونات المختلفة في جزيئة الـ mRNA إلى أحماض أمينية مختلفة في جزيئة البروتين. تدل كلمة stop على كودون الانهاء stop codon (تصميم المؤلف).

لماذا يتألف كل كودون من ثلاث نيوكليوتيدات؟

يجب أن يتوفر 20 نوع من الأحماض الأمينية لتخليق البروتينات، وهكذا، لا بد من وجود 20 كودون مختلف ليؤلف الشفرة الوراثية. وبما أن هنالك أربعة أنواع فقط من الأحماض النووية في جزيئة الـ mRNA ، لذا، فان كل كودون يجب أن يتألف من أكثر من نيوكليوتيدة واحدة. وإذا فرضنا بأن الكودونات تحتوي على اثنان من النيوكليوتيدات، فإنها لا تستطيع أن توفر أكثر(4^2) كودون متخصص، بينما إذا احتوى الكودون على ثلاث نيوكليوتيدات فيمكن له أن يوفر(4^3) أي 64 كودون متخصص، وعندما وجد الباحثين بان عدد الكودونات هو 64 لذا فان الفرضية التي تقول بان الكودونات ثلاثية triple هي الفرضية الصحيحة.

صفات الشفرة الوراثية

يمكن إجمال المواصفات العامة للشفرة الوراثية بالآتي:

- التشفير الثلاثي triple coding: وكما نوقش سابقاً، تكون الشفرة الوراثية ثلاثية triple، أي ذات ثلاث نيوكليوتيدات، حيث يقرأ التسلسل النيوكليوتيدي كثلاثيات تعرف بالكودونات، ولكن أول نيوكليوتيدتين في الكودون الثلاثي triple codon هما الأكثر أهمية.
- التخصص specificity: تعد الشفرة الوراثية متخصصة (غير غامضة unambiguous)، هذا يعني، ان الشفرة المتخصصة عادة ما تشفر لنفس الحامض الأميني.
- العمومية universality: تعد الشفرة الوراثية عمومية افتراضياً، هذا يعني، أن تخصص الشفرة الوراثية قد حوفظ علية منذ المراحل المبكرة للتطور مع تغيرات طفيفة جداً في أسلوب ترجمة الشفرة الوراثية. تكون الشفرة الوراثية متشابهة في كل الكائنات. أما الآن نحن نعلم بأن الشفرة الوراثية هي نفسها غالباً في كل الكائنات الحية ولكن هنالك اختلافات طفيفة. يشفر الجينوم في المايتوكوندريا من 10 إلى 20 بروتين. وهنا، بعض كودونات المايتوكوندريا تمتلك معاني مختلفة من نظيراتها الموجودة في السايتوبلازم. فمثلاً، تشفر الكودون AUA في المايتوكوندريا إلى الحامض الأميني methionine بدلاً من isoleucine.
- الغزارة redundancy: تتصف الشفرة الوراثية بالوفرة (تدعى في بعض الأحيان بالتفسخ أو الانحطاط degenerative). معظم الأحماض الأمينية في تسلسل البروتين يشفر لها من أكثر من كودون واحد. وعلى سبيل المثال تمثل بعض الأحماض الأمينية بأكثر من كودون واحد، يشفر للحامض الأميني ارجنين من قبل

ستة كودونات مختلفة، ولكن كل كودون يمثل حامض أميني واحد. ان الأحماض الأمينية التي تشفر من قبل كودون واحد لا تسمى degenerative وإنما synonyms أي ترادفية والتي تختلف فقط في الموقع الثالث، الموقع المهتز wobble position، حيث يعتبر الازدواج القاعدي مع الموقع الثالث في الكودون المضاد أقل تشدداً من الموقعين الأول والثاني في الكودون. وبالتالي، يسمح هذا الاهتزاز لبعض جزيئات الـ tRNA من أن تميز أكثر من كودون واحد

- تداخل نسق القراءة والفواصل overlapping reading frames and commas: ان معنى نسق القراءة reading frame هو التسلسل النيوكليوتيدي من كودون البدء إلى كودون النهاية. يحتوي الفاصل الواقع بين كودون البدء والنهاية على معلومات وراثية تدعى بنسق القراءة المفتوح open reading frame (ORF). ان نسق القراءة الاعتيادي لا يتداخل. عندما نقول بأن الشفرة الوراثية غير متداخلة nonoverlapping وليست ذات فواصل comma less يعني هذا بأن الشفرة تقرأ من نقطة بداية ثابتة كتسلسل مستمر من القواعد ثلاثة ثلاثة بدون أي توقف بين الكودونات. عموماً، ان قراءة الشفرة الوراثية خلال عملية تخليق البروتين لا تحتاج إلى أي تداخل في الكودونات. وكذا، فالشفرة الوراثية هي غير متداخلة. وعلاوة على ذلك، حال بداية القراءة عند كودون متخصص، لا يوجد هنالك تنقيط punctuation بين الكودونات ويتم قراءة الرسالة بشكل مستمر من النيوكليوتيدات الثلاثية لحين الوصول الى كودون الإيقاف.

كما ذكر سابقاً، إن عدد الكودونات هو 64 كودون، هذه الكودونات كلها تشفر إلى أحماض أمينية ما عدا 3 منها فقط، لذا أصطلح على تسميتها بالكودونات العبثية nonsense codons (أنظر أدناه). ويستخدم منها اثنان على الأقل في الخلية كإشارات إنهاء termination signals، حيث تبدأ بالتشفير عندما تشارف عملية بلمرة الأحماض النووية إلى جزيئة بروتين على الانتهاء. هذا وتشفر بقية الكودونات الـ 61 لعشرين حامض أميني. ويبين الجدول أدناه بأن هنالك 64 كودون تنتظم في 16 عائلة، تحتل كل عائلة عمود مفرد بين الخطوط الأفقية. وعلى سبيل المثال، ان كودونات CCN ، حيث N يمكن أن تكون U أو C أو A أو G، تعرّف العائلة الواقعة في العمود الثاني للصندوق الثاني من القمة. وفي بعض العوائل، تشفر كل الكودونات الأربع لنفس الحامض الأميني، كما هو الحال بالنسبة لأعضاء العائلة CC المذكورة تواً في أعلاه. يشار إلى هذه العوائل، بالعوائل الغير مختلطة unmixed families. وتشكل هذه العوائل 8 من أصل 16 عائلة من عوائل الكودونات (جدول 1.5).

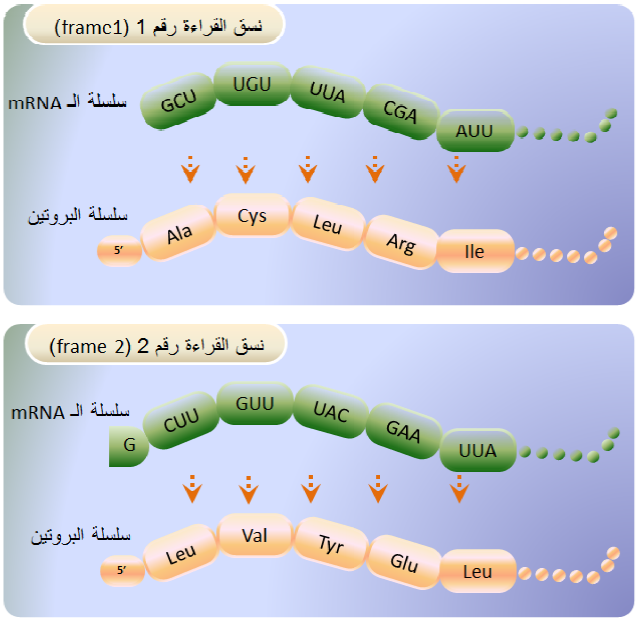
جدول (1.5) : كيفية اصطفاف الكودونات ضمن شفرة وراثية موحدة، تحتوي الشفرة الوراثية على 64 كودون، 61 منها تشفر و 3 منها لا تشفر للأحماض الامينية.

First nucleotide	Second nucleotide				Third nucleotide
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Term	Term[2]	A
	Leu	Ser	Term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile[2]	Thr	Lys	Arg[2]	A
	Met	Thr	Lys	Arg[2]	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

أما العائلتين الباقيتين – عائلة UG، وعائلة AU– فإنها لا تبدي أي نمط آخر وتوصف بأنها متفرّدة. وهكذا، وبشكل عام، ان النيوكليوتيدة الثالثة في الكودون هي أقل أهمية من النيوكليوتيدة الأولى والثانية في تحديد نوعية الحامض الأميني الذي يندمج في سلسلة البروتين.أما العوائل التي تشفر لأكثر من حامض أميني واحد يطلق عليها بالعوائل المختلطة mixed families. وفي 6 من تلك العوائل المختلطة، فان الكودونات ذات الـ pyrimidine أي اليوراسيل U أو السايتوسين C، عند الموقع الثالث، تشفر لحامض أميني واحد، بينما أعضاء تلك العائلة ذات الـ purine أي الأدنين A أو الكوانين G، عند الموقع الثالث، تشفر لحامض أميني آخر، أو تشفر لما يعرف بإشارة إنهاء السلسلة chain termination signal.

نسق القراءة reading frame

بما ان تسلسل جزيئة الـ mRNA يتم قراءته في مجاميع من ثلاث نيوكليوتيدات (كودونات) من النهاية 5′ ، لذا يمكن يمكن أن يقرأ هذا التسلسل بثلاث أنساق قراءة مختلفة، أعتماداً على ماهية النيوكليوتيدة المستخدمة أولاً في الكودون الأول. وعادة ما ينتج نسق قراءة واحد بروتين وظيفي بينما النسقين الأخريين سوف تشتمل على عدة كودونات ايقاف متنوعة. وفي بعض العاثيات البكتيرية، يوجد ما يعرف بالجينات المتداخلة (راجع الفصل الثاني) والتي تستخدم أنساق قراءة مختلفة، حيث تستخدم العاثيات البكترية فضلا عن الكثير من الفايروسات الأخرى هذا الأسلوب كوسيلة لعمل أكبر قدر من الفائدة من الجينوم الفايروسي الصغير. وبما أن الشفرة الوراثية هي ليست ذات فواصل وليست متداخلة وثلاثية، لذا يمكن نظرياً للـ mRNA من أن يترجم إلى ثلاثة أنساق للقراءة. وتبين احتواء بعض جزيئات mRNA على معلومات متداخلة يمكن أن تترجم إلى أنساق قراءة مختلفة، لتعطي متعددات ببتيدية مختلفة (شكل 5.5).



شكل (5.5): كيفية قيام الشفرة الوراثية – الغير متداخلة والتي هي ليست ذات فواصل والثلاثية – بقراءة أنساق قراءة مختلفة. إذا بدأت ترجمة تسلسل الـ mRNA عند موقعي بداية مختلفين (غير مبينين في الشكل)، عندها يمكن وجود نسقين للقراءة. وفي هذا المثال، تنتقل الكودونات بمسافة قاعدة واحدة إلى اليمين في النسق الأسفل. وكنتيجة لذلك، يشفر نفس التسلسل النيوكليوتيدي لأحماض أمينية مختلفة خلال عملية الترجمة. وعلى الرغم من ندرة هذه العملية، فان العديد من الحالات التداخلية قد تم اكتشافها في الجينات الفايروسية والخلوية في الكائنات بدائية وحقيقية النواة. ويكن – نظرياً – للـ mRNA من أن يحتوي على نسق قراءة ثالث (تصميم المؤلف).

تقرأ معظم جزيئات الـ mRNA بنسق قراءة واحد بسبب مواجهة نسقي القراءة الآخرين لعدة كودونات إيقاف تنهي الترجمة وذلك قبل إنتاج البروتين الفعال. يحدث ترتيب غير اعتيادي آخر في ترتيب الشفرة بسبب تغيير نسق القراءة (frame shifting). وفي هذه الحالة، تقوم ماكنة تخليق البروتين بقراءة أربع نيوكليوتيدات كحامض أميني واحد وتستمر بقراءة الكودونات بشكلها الثلاثي المعتاد، أو ربما تتجاهل قاعدة نيوكليوتيدية واحدة وتقرأ كل الكودونات الثلاثية المتعاقبة بنسق قراءة جديد إلى حين الوصول إلى نهاية السلسلة. وعلى الرغم من عدم شيوع هكذا حالة ولكن توجد عدة أمثلة تؤكد حدوثها.

كودونات البدء والنهاية start\stop codons

تبدأ عملية الترجمة بكودون البدء start codon أو initiation codon. وبشكل مغاير لكودونات الانتهاء، فان هذا الكودون لوحده غير قادر على بدء عملية تخليق البروتين، وإنما يحتاج إلى التسلسلات القريبة وعوامل البدء initiation factors لبدء العملية. يعد التسلسل AUG أكثر كودون بدء شيوعاً، والذي يشفر للحامض الاميني methionine فيما إذا لو وجد في مكان آخر.

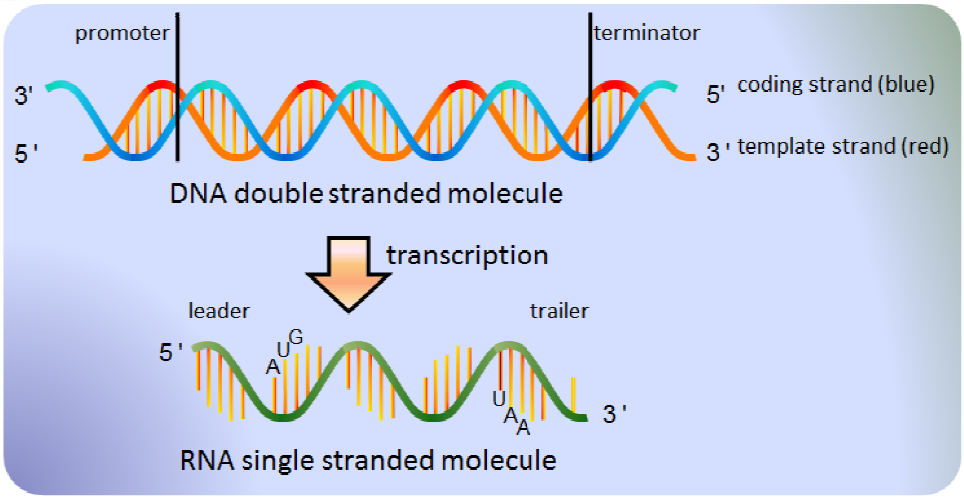
Harris Bernstein

أما كودونات الإيقاف stop codons، فهي ثلاث: وهي UAG والذي يدعى *amber*، و UAA والذي يدعى *ochre* و UGA والذي يدعى *opal*. سمي الكودون UAG بـ *amber* بسبب مكتشفه Harris Bernstein، ويعني اسمه الأخير في اللغة الألمانية بـ "*amber*". أما كودوني الإيقاف الأخريين فسميا بـ *ochre* و *opal* وذلك للحافظة على سياق التسمية. وتدعى بكودونات الإيقاف بكودونات الإنهاء termination codons وتقوم بإعطاء إشارة بتحرر متعدد الببتيد الناشيء nascent polypeptide من الرايبوسوم ويحدث هذا بسبب ارتباط عوامل التحرر release factors بغياب الـ tRNA ذو الصلة cognate tRNA والذي يحمل شفرة مضادة anticodon مكملة لكودونات الإيقاف.

عملية تخليق البروتين process of protein synthesis

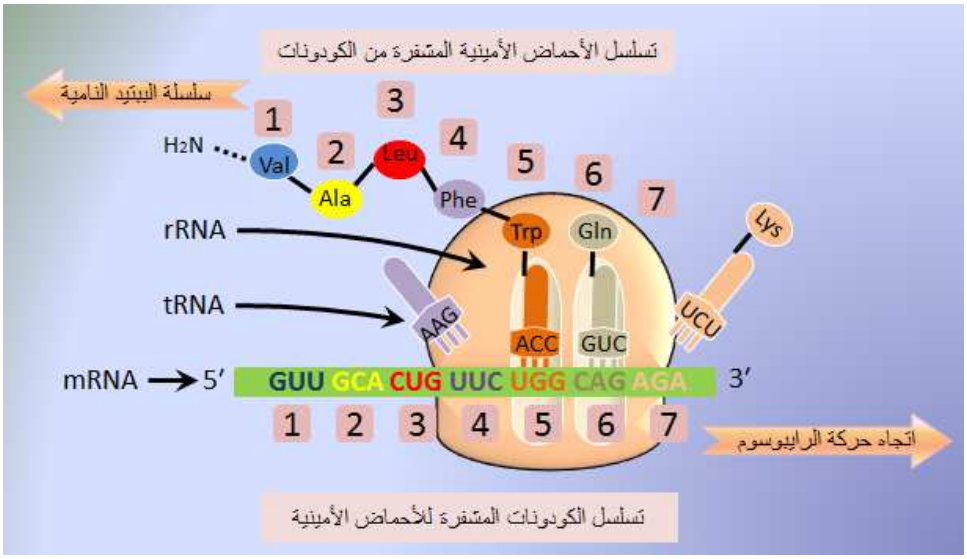
قبل أن نتطرق إلى مراحل عملية الترجمة لا بد لنا من توضيح أن التسلسلات الواقعة بعد نقطة بداية الاستنساخ وهي التسلسلات التي تعطي نسخة RNA أو الـ RNA transcript توجد على ثلاثة مناطق. تدعى منطقة نسخة الـ RNA التي تبدأ عند بداية الاستنساخ وتنتهي عند كودون البدء (AUG) بالقائدة أو القاطرة (leader) أو بالمنطقة 5′ الغير قابلة للترجمة. بينما تدعى المنطقة الثالثة والغير قابلة للترجمة أيضاً والتي تمتد من

كودونات الإنهاء (UAA أو UAG أو UGA) إلى آخر نيوكليوتيدة بالمقطورة (trailer)، أو التسلسل 3′ الغير قابل للترجمة. تلعب هذه التسلسلات دوراً في تمييز الـ mRNA وضمان ثباتيته على الرايبوسوم خلال مرحلة الترجمة. يمكن للمنطقة القائدة أن تلعب دوراً في تنظيم التعبير الجيني (أنظر الفصل السادس). إذن المنطقة الوحيدة القابلة للترجمة (في حالة التشفير إلى بروتين) هي المنطقة الثانية والواقعة بين المنطقة الأولى والمنطقة الثالثة أي بين كودون البدء وكودون النهاية. وهذا يعني أن ليس كل الـ RNA المخلق في عملية الاستنساخ وحتى بعد عملية المعالجة كما في حقيقية النواة سوف يترجم من أقصاه إلى أقصاه (شكل 6.5).



شكل (6.5): قطعة من RNA بدائية النواة قد استنسخت من منطقة الـ DNA القالب العائدة لها. لا حظ مناطق البروموتر (المبدئ) والمنهي على الـ DNA ومناطق القاطرة والمقطورة على الـ RNA. يقوم الرايبوسوم بقراءة شفرتي بدء ونهاية تخليق البروتين المبينتان في هذا الشكل (تصميم المؤلف).

في الفصل السابق قدمنا الجزيئات الرئيسية المشاركة في تخليق البروتين – وهي جزيئة الـ mRNA وجزيئات الـ tRNAs والرايبوسومات المحتوية على جزيئات rRNAs الكبيرة والصغيرة. وهنا، سوف نأخذ نظرة مفصلة حول كيفية تداخل هذه المكونات مع بعضها البعض لتصنع لوحة فنية كيموحيوية (شكل7.5) تؤدي بالنهاية إلى تكوين البروتينات.

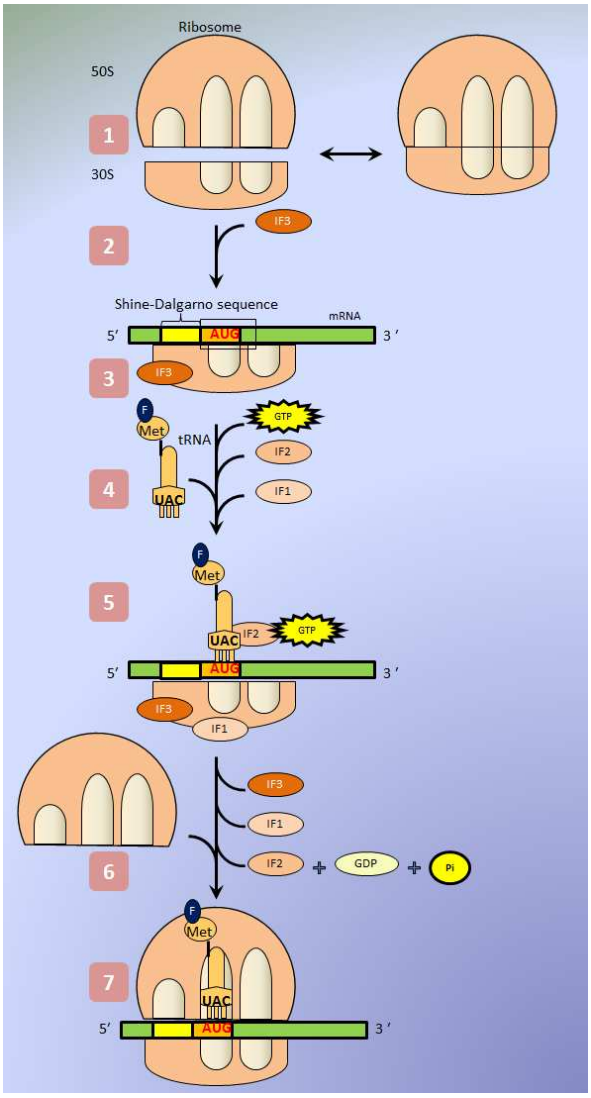


شكل (7.5): ثلاثة أدوار يقوم بها الـ RNA خلال تخليق البروتين. يترجم الـ mRNA إلى بروتين بمساعدة كل من الـ tRNA الرايبوسوم، والذي يتألف من بروتينات عديدة متنوعة ومن نوعين من جزيئات rRNA. لاحظ أن جزيئات الـ rRNA تؤلف مع البروتينات الرايبوسومية تركيب الرايبوسومات (تصميم المؤلف).

تعمل الرايبوسومات كماكنة يترجم عليها تسلسل الأحماض النووية في جزيئة الـ mRNA إلى تسلسل أحماض أمينية في البروتين المطابق لذلك الـ mRNA كما نوقش ذلك سابقا. تبدأ ترجمة الـ mRNA قرب النهاية 5′ ، حيث تقرأ الرسالة من الاتجاه 5′ إلى 3′. وهذا يعني بدأ تكوين النهاية الأمينية N-terminus لسلسلة متعدد الببتيد، والتي تخلّق حال صنع أول حامض أميني، وهي بهذا تمثل النهاية 5′ للبروتين. أما النهاية الأمينية C-terminus، فهي النهاية التي تتكون بعد صنع آخر حامض أميني في سلسلة متعدد الببتيد، وهي بهذا تمثل النهاية 3′ للبروتين. ومن جديد، ظهر مفهوم القطبية كذلك. إذن تشبه عملية تخليق البروتين عملية تضاعف الـ DNA واستنساخ الجين ليس في قطبيتها فحسب وإنما من حيث انقسامها إلى ثلاثة أطوار هي البدء initiation، والاستطالة elongation، والانتهاء termination كما تم مناقشة ذلك سابقاً.

مرحلة البدء initiation

تتضمن مرحلة ابتداء الترجمة كل المكونات الضرورية لتخليق البروتين، والتي تتألف من:



(1) جزيئة mRNA و (2) الوحدات الثانوية الصغيرة والكبيرة للرايبوسوم و (3) ومجموعة من ثلاث بروتينات تدعى بعوامل الأبتداء و (4) وجزيئة tRNA الابتدائية المرتبطة بمجموعة N-formylmethionine و التي تدعى بالـ fMet-tRNA (5) والكوانوسين ثلاثي الفوسفات GTP. تتألف مرحلة البدء من ثلاث خطوات. أولاً، يرتبط الـ mRNA بوحدة الرايبوسوم الصغيرة. ثانياً، ترتبط جزيئة الـ tRNA الابتدائية بالـ mRNA من خلال الازدواج القاعدي بين الكودون ومضاد الكودون. ثالثاً، ترتبط وحدة الرايبوسوم الكبيرة بمعقد البدء. دعنا نرى الآن ماذا يحدث في كل خطوة بتفصيل أكثر. يوجد الرايبوسوم الفعال بهيئة وحدتين (راجع الفصل الرابع) وهما وحدتي 30S و 50S في الخلايا البكتريا. وعندما تكون كلتا الوحدتين غير فعالتين في عملية الترجمة، تتواجد كلتا الوحدتان بهيئة توازن ديناميكي، والتي ترتبط وتنفصل ديناميكياً عن بعضها البعض (شكل8.5 a). ولا يمكن لجزيئة الـ mRNA أن ترتبط بوحدة الرايبوسوم الصغيرة إلا عندما تكون الأخيرة مفصولة عن الوحدة الثانوية الكبيرة.

شكل (8.5): مرحلة بدء تخليق البروتين في الخلايا البكتيرية. (1) ترتبط وتنفصل الوحدة الرايبوسومية الصغيرة والكبيرة مع بعضهما البعض بشكل ديناميكي، (2) يرتبط عامل الابتداء رقم 3 (IF-3) بوحدة الرايبوسوم الصغيرة، مانعاً من ارتباط الوحدة الكبيرة، (3) وهذا يسمح لوحدة الرايبوسوم الصغيرة للارتباط بالرايبوسوم، (4) تكون جزيئة الـ tRNA المحملة بالحامض الأميني المثيونين الموسوم بالفورميل (N-formylmethionine) معقداً مع عامل الاستطالة رقم اثنان GTP والـ IF-2، (5) ويرتبط بوحدة الرايبوسوم الصغيرة وبالـ mRNA، (6) ينفك كل من عامل الابتداء الأول والثاني والثالث من المعقد ويتحلل الـ GTP الى GDP، (7) وترتبط الوحدة الثانوية الكبيرة لتخلق معقد الابتداء 70S. اذن في نهاية مرحلة الابتداء يتجمع الرايبوسوم على الـ mRNA ويرتبط أول tRNA بكودون الابتداء (تصميم المؤلف).

يرتبط عامل البدء رقم ثلاثة IF-3 بالوحدة الثانوية الصغيرة ويمنع الوحدة الكبيرة من الارتباط خلال مرحلة البدء (شكل 8.5 b). يرتبط الرايبوسوم مع تسلسل شاين دلكارنو الموضح في أعلاه والذي يكمل لجزيئة 16S rRNA والتي تشكل جزءاً من الوحدة الثانوية للرايبوسوم، وهذا يسمح للوحدة الصغيرة بالارتباط مع الـ mRNA بحيث يتمركز الرايبوسوم مباشرة فوق كودون البدء. بعد ذلك، يرتبط جزيئة fMet-tRNA بكودون البدء (شكل 8.5 c). تحتاج هذه الخطوة إلى عامل البدء رقم اثنان، والذي يكون معقد مع مركب GTP.

يقوم العامل الثالث، وهو عامل البدء رقم واحد بتسريع انفكاك وحدات الرايبوسوم الكبيرة والصغيرة. وعند هذه النقطة، يتألف معقد البدء من (1) وحدة الرايبوسوم الثانوية الصغيرة و (2) جزيئة الـ mRNA و (3) جزيئة الـ tRNA البادئة مع حامضها الأميني مثيونين fMet-tRNA و (4) مركب الـ GTP و (5) عوامل البدء رقم واحد واثنان وثلاثة. تعرف هذه المكونات بمجموعها بمعقد البدء نوع "ثلاثين أس" 30S initiation complex (شكل 8.5 c).

وفي آخر خطوة من البدء، ينفك عامل البدء رقم ثلاثة من وحدة الرايبوسوم الثانوية وهذا يسمح لوحدة الرايبوسوم الثانوية الكبيرة من الانضمام لمعقد البدء. يتحلل مركب GTP (المجهز من قبل عامل البدء رقم اثنان) تتحلل إلى GDP ، وبعدها يهاجر كل من عامل البدء رقم واحد ورقم اثنان (شكل 8.5 d). وعندما ترتبط وحدة الرايبوسوم الكبيرة بمعقد البدء يتحول معقد البدء من نوع "ثلاثين أس" إلى معقد الابتداء من نوع "سبعين أس" 70S initiation complex.

فروقات بدء الترجمة بين بدائية وحقيقية النواة

على الرغم من أن السياق العام لعملية بدء الترجمة في بدائية النواة يشابه ذلك الذي يحدث في حقيقية النواة، إلا إن هنالك فروقاً مهمة لا بد من ملاحظتها.

لعل من أهم الفروق هو وجود تسلسل Shine Dalgarno في بدائية النواة وعدم وجود تسلسل مكافئ له في حقيقية النواة. إن العديد من mRNA بدائية النواة هو متعدد السسترون polycistronic، أي، تشفّر جزيئة الـ mRNA أكثر من سلسلة ببتيدية واحدة (كما نوقش ذلك سلفاً). يجب أن يحتوي الـ mRNA متعدد السسترون على عدة كودونات بداية.

وعلى أية حال، يجب أن يحتوي متعدد الببتيد على أكثر من حامض أميني من نوع methionine لاترد في موقع البداية non-initiating methionine. وفي الشفرة الوراثية

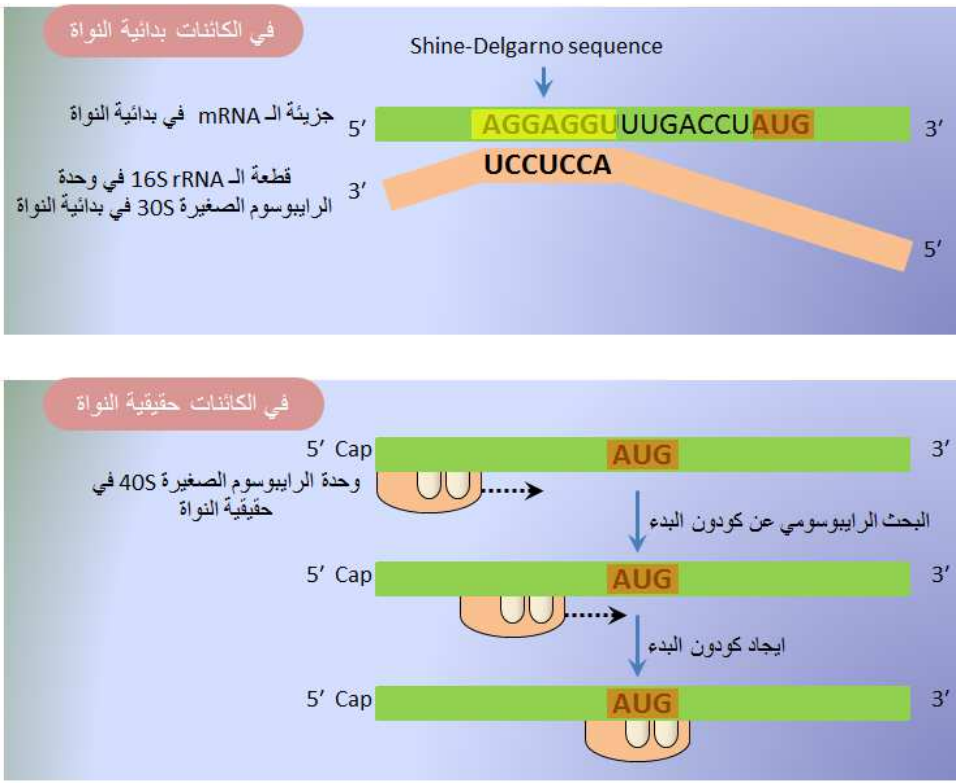
المثالية، فان كودون مثيونين البدء initiating codon والمثيونين الذي لا يرد في البداية non-initiating methionine هو AUG.

وللتمييز بينهما تستخدم الكائنات بدائية النواة تسلسل متخصص يقع 5 إلى 10 زوج قاعدي قبل كودون البدء AUG، في منطقة غير قابلة للترجمة un-translated region (UTR) تقع ′5 من النقطة القابلة للترجمة لجزيئة الـ mRNA. يدعى هذا التسلسل المتخصص بتسلسل Shine-Dalgarno نسبة إلى مكتشفه. إن هذا التسلسل الغني بالبيورين يكمّل التسلسل الصميمي UCCU للنهاية ′3 لجزيئة 16S rRNA (التي تقع في وحدة 30 الثانوية الصغيرة 30 S subunit للرايبوسوم).

تتأثر فعالية موقع الارتباط بالرايبوسوم ribosome binding site (RBS) والذي يمتلكه أحد جزئي هذا التسلسل بالطول وبالمحتوى النيوكليوتيدي للجزء الآخر، وهو الجزء الفاصل spacer الذي يفصل بين موقع الارتباط بالرايبوسومات وكودون البدء AUG.

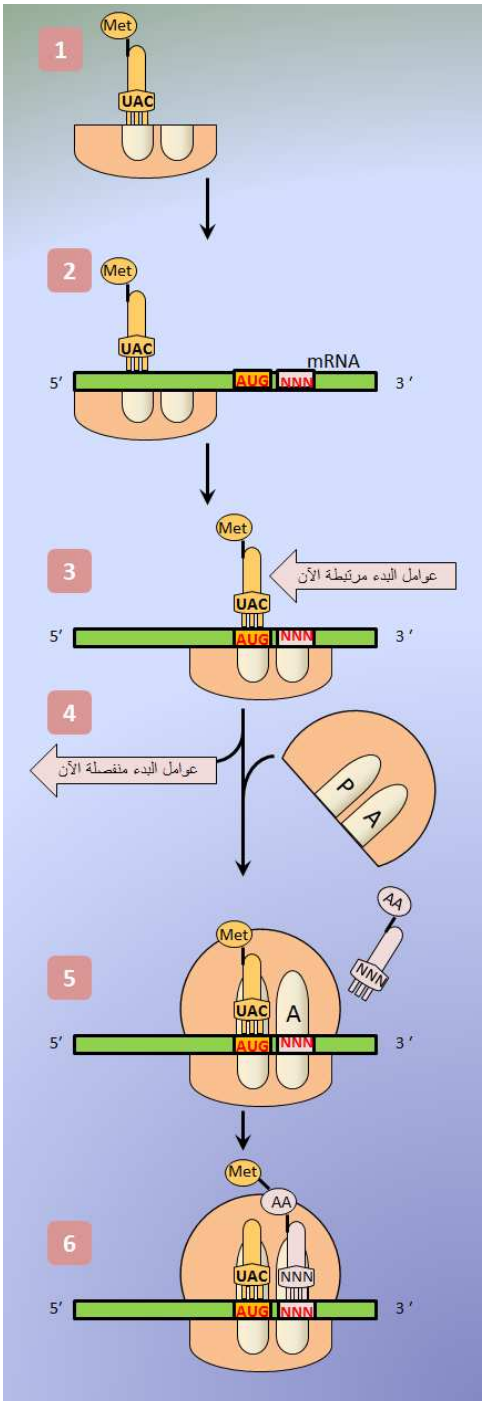
يتضح من هذا بأن تسلسل Shine-Dalgarno يعمل على اصطفاف جزيئة الـ mRNA على الرايبوسوم في بداية عملية الترجمة وذلك باستخدام الازدواج القاعدي base pairing مع التسلسل المكمل complementary sequence قرب النهاية ′3 لجزيئة الـ rRNA (شكل 9.5). إن هذا التداخل عن طريق الازدواج القاعدي تمكن الرايبوسومات البكتيرية من بدء عملية تخليق البروتين قرب النهاية ′5 لجزيئة الـ mRNA.

وبالتناقض من ذلك، ففي الكائنات حقيقية النواة، تميز الرايبوسومات الـ mRNA بواسطة الارتباط بقلنسوته ذات التركيب 7-methylguanosine عند النهاية ′5 لجزيئة الـ mRNA (شكل9.5). ثم يبدأ الرايبوسوم بفحص دقيق للـ mRNA منطلقاً من النهاية ′5، إلى أن يصل إلى التسلسل AUG والذي يمثل هنا كودون البدء initiation codon.



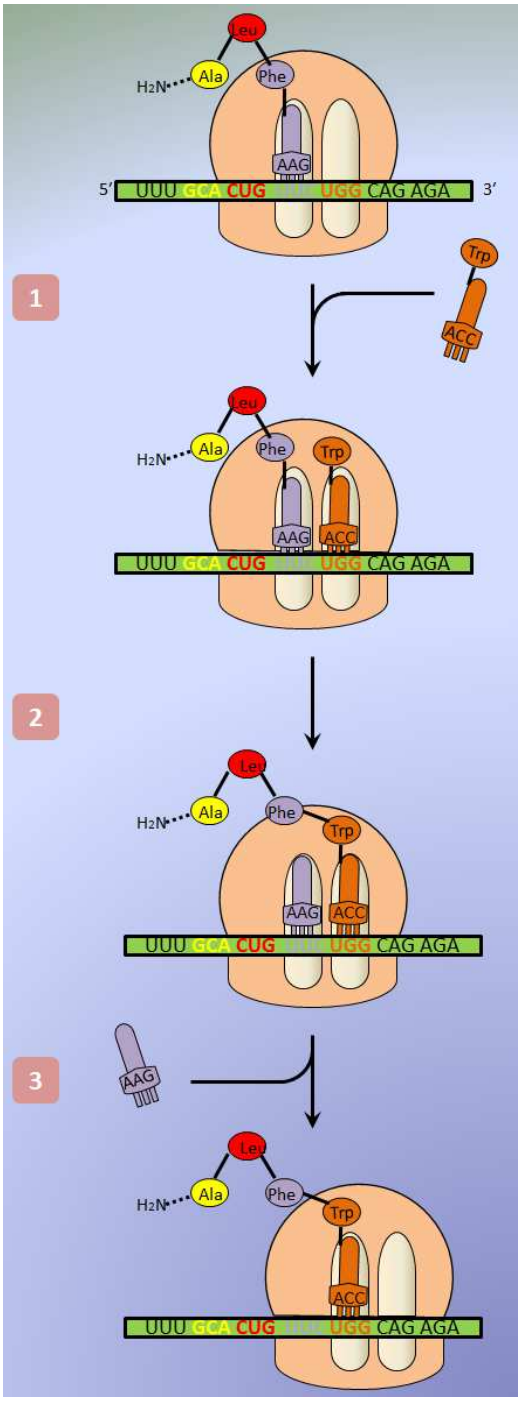
شكل (9.5): كيفية تمييز كودون البدء في رايبوسومات الخلايا بدائية وحقيقية النواة (تصميم المؤلف)

إن الآلية المستخدمة من قبل الكائنات حقيقية النواة لتمييز كودون البداية AUG ليست واضحة بشكل كامل، ولكن تقترح البحوث بأن رايبوسومات الكائنات حقيقية النواة وببساطة تفحص جزيئة الـ mRNA المرتبطة بها فحصاً دقيقاً (scanning) من قلنسوتها ذات النهاية 5′ وتشخص أول كودون من نوع AUG حال عثورها عليه وتعتبره كموقع لبدء عملية الترجمة. إن هذه الآلية توصف بالمعقولة، لأن كل جزيئات mRNA حقيقية النواة تقريباً هي أحادية السسترون (والتي تشفّر لببتيد مفرد). يتم تسهيل تشخيص كودون البدء بواسطة وجود تسلسل متفق عليه (يدعى بتسلسل كوزاك) والذي يحيط كودون البدء، ويتكون مما يقارب من 13 زوج قاعدي (GCCGCCACCAUGG)، والذي يقع معظمه ضمن منطقة 5′ الغير قابلة للترجمة ليقوم بالارتباط وابتداء عملية الترجمة.



يتمثل الفرق الهام الآخر باحتياجات عملية بدء الترجمة في حقيقية النواة إلى عوامل بدء أكثر. والتي هي الأقل عشرة عوامل مختلفة كل منها يؤدي دور متميز في تسهيل عملية بدء الترجمة مقارنة بعوامل البدء الثلاث فقط الموجودة في الخلايا البكتيرية. بينما يتعلق الفرق الثالث بإضافة مجموعة الفورميل إلى أول مثيونين. ففي معظم البكتريا تبدأ الترجمة بالحامض الأميني methionine المحور بالفورميل formyl-modified methionine، بينما في اللبائن (شكل10.5)، يستخدم الحامض الأميني الـ methionine بصورته الغير محوّرة (ما عدا المايتوكوندريا والكلوروبلاست، والتي رايبوسوماتها تشبه تلك الموجودة في البكتريا). وفي الكائنات بدائية النواة، فان إضافة الفورميل إلى الـ methionine في جزيئة الـ tRNA يبدو انه يخدع موقع الببتيد P-site في الرايبوسوم وذلك لأن إضافة الفورميل إلى الـ methionine يجعله يبدو كآصرة ببتيدية، وبما أن الموقع الببتيدي يتقبل الأواصر الببتيدية، لذا، تستقر جزيئة N-formylmethionyl- tRNA في الموقع الببتيدي. تحدث هذه العملية طبعاً لمرة واحدة فقط عند تصنيع البروتين.

شكل (10.5): مرحلة بدء عملية الترجمة في الخلايا حقيقية النواة. (1) ارتباط وحدة الرايبوسوم الصغيرة بعوامل البدء، (2) ارتباط الـ mRNA، (3) بسمح المسح "scanning" بتمييز كودون البدء عن طريق الارتباط بجزيئة الـ tRNA البادئة،(4) انفصال عوامل البدء وارتباط وحدة الرايبوسوم الثانوية الكبيرة بنظيرتها الصغيرة – يشير الحرف P الى الموقع الببتيدي ويشير الحرف A الى الموقع الأميني، (5) ارتباط جزيئة الـ tRNA المحملة بالحامض الأميني والذي يرمز له AA، (6) تكوين أول آصرة ببتيدية (تصميم المؤلف).



تؤثر التسلسلات التي تحيط الكودون AUG على كفاءة هذا الكودون في هذا الموقع للتشفير عن المثيونين، ولهذا، وفي العديد من الحالات، يتم تجاهل أول كودون من نوع AUG في جزيئة الـ mRNA حيث يعتبر هنا هذا الكودون هو كودون يؤذن لمرحلة البداية فقط دون أن يعبّر عن أي حامض أميني، بينما إذا وقع هذا الكودون في مكان آخر يقرأ كبقية الكودونات الـ 61 لذا، يشفر عن الحامض الأميني methionine.

مرحلة الاستطالة elongation step

بعد أن يتكون معقد البدء، تتقدم عملية الترجمة وذلك بإطالة سلسلة متعدد الببتيد. إن آلية الاستطالة في الخلايا بدائية وحقيقية النواة متشابهة جداً. يمتلك الرايبوسوم ثلاث مواقع لارتباط الـ tRNA، وهي الموقع الببتيدي peptidyl site ويختصر P-site والموقع الأميني aminoacyl site ويختصر A-site وموقع المخرج exit-site ويختصر E-site. يرتبط tRNA البدء initiator methionyl tRNA بالموقع الببتيدي P-site.

شكل (11.5): ملخص مرحلة الاستطالة في عملية تخليق البروتين في الكائنات حقيقية النواة (تصميم المؤلف).

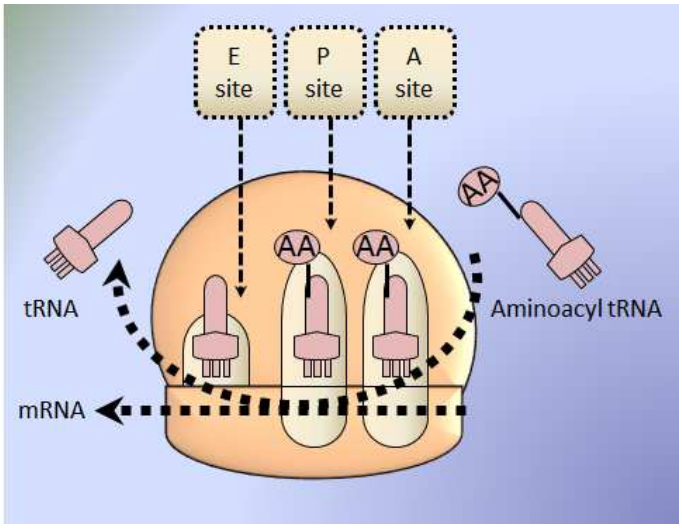
تذكّر بأن جزيئة الـ tRNA المبدئة للعملية والمحملة بالحامض الأميني methionine مرتبطة حينها بالموقع الببتيدي P-site ومزدوجة قاعدياً مع كودون البدء AUG. فإذا كانت الشفرة المضادة anticodon لجزيئة aminoacyl-tRNA القادمة (الثانية) تطابق وبشكل صحيح ذلك الكودون في الـ mRNA ينشأ ارتباطاً قوياً عند موقع الحامض الأميني A-site. وإذا لم تطابق جزيئة aminoacyl-tRNA القادمة ذلك الكودون في جزيئة الـ mRNA، يؤدي ذلك إلى انفكاكها. بوجود جزيئة الـ tRNA الأولى المحملة بالحامض الأميني methionine عند الموقع الببتيدي P-site وجزيئة aminoacyl-tRNA القادمة المرتبطة بقوة بموقع الحامض الأميني A-site، تتفاعل مجموعة الأمين ألفا α amino group في الحامض الأميني الثاني مع الـ methionine المنشّط في جزيئة الـ tRNA الأولى، مكوناً آصرة ببتيدية. إن الثورة الحادثة في مجال الكيمياء الحيوية أكدت بأن هذا التفاعل ينشط بواسطة إنزيم يدعى peptidyl transferase في حقيقية النواة، والذي يؤثر على انتقال سلسلة الببتيد النامية في جزيئة الـ tRNA الموجودة في الموقع الببتيدي إلى الحامض الأميني المنشط في جزيئة الـ aminoacyl-tRNA والموجود في الموقع الأميني A-site. ان عملية إطالة سلسلة متعدد الببتيد على الرايبوسوم هي دورة من ثلاث خطوات مميزة (شكل 11.5):

في الخطوة رقم 1 ، ترتبط جزيئة الـ aminoacyl –tRNA في الموقع الأميني الشاغر (المجاور لموقع الببتيد P-site المشغول) بواسطة تكوين أزواج قاعدية مع نيوكليوتيدات الـ mRNA الثلاث (الكودون) المتكشفة عند ذلك الموقع الأميني.

في الخطوة رقم اثنين، ينتهي ازدواج النهاية الكاربوكسيلية لسلسلة متعدد الببتيد من جزيئة الـ tRNA في الموقع الببتيدي لتتصل بواسطة آصرة ببتيدية بالحامض الأميني المرتبط بجزيئة الـ tRNA في الموقع الأميني. وذلك لأن مجموعة الأمين ألفا α amino group في جزيئة الـ aminoacyl- tRNA الجديدة تقوم بالهجوم على (نوع الهجوم محب للنواة nucleophilic attack) على المجموعة الكاربوكسيلية لجزيئة tRNA الببتيدية (peptidyl- tRNA) المحتلة للموقع الببتيدي P-site. يحفز هذا التفاعل الأساسي في تخليق البروتين من قبل إنزيم الـ peptidyl transferase، وهو مكون لمنطقة متخصصة من جزيئة الـ rRNA في الوحدة الثانوية الصغيرة للرايبوسوم. ان الفعالية الإنزيمية لهذه المنطقة هو أحد الأمثلة الحية لفعالية الرايبوزايم الحفزية ribozyme catalytic activity التي تتمتع بها بعض جزيئات الـ RNA (أنظر ملحق الفصل الرابع). ينتج التفاعل في ارتباط السلسلة الببتيدية النامية بجزيئة الـ tRNA عند الموقع الأميني A-site.

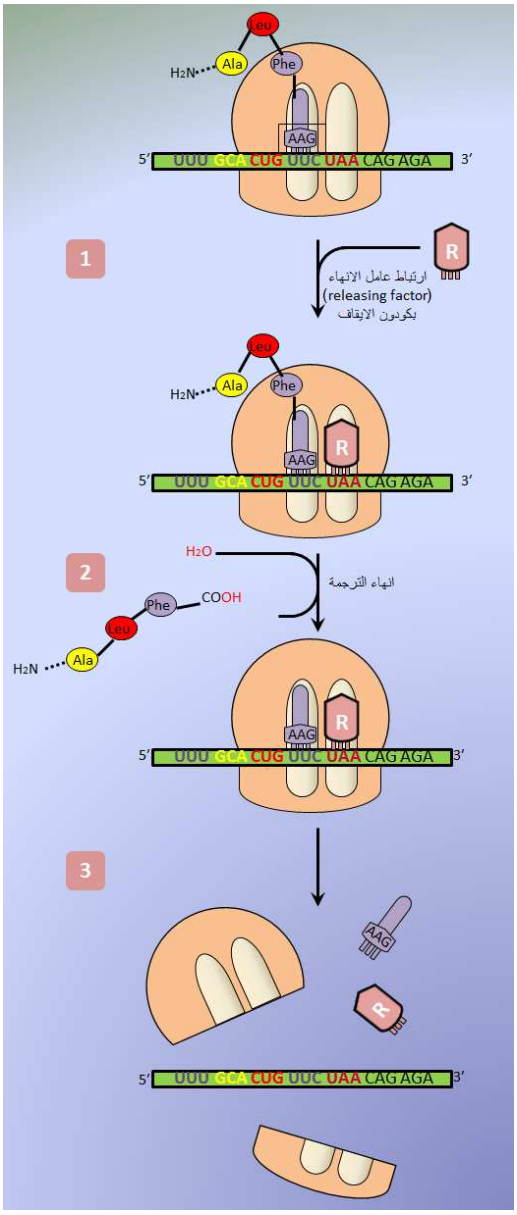
في الخطوة رقم 3، ينتقل الـtRNA الببتيدي الجديد (new peptidyl tRNA) من

الموقع الأميني الى الموقع الببتيدي وذلك بحركة الرايبوسوم ثلاثة نيوكليوتيدات بالضبط على طول جزيئة الـ mRNA. تحتاج هذه الخطوة الى الطاقة والتي تؤدي الى استحداث سلسلة من التغيرات الفراغية في واحدة من المكونات الرايبوسومية وذلك بواسطة التحلل المائي لجزيئة الـ GTP بالإضافة الى دور عامل الاستطالة elongation factor الذي يجب أن لا يغفل في هذه العملية (وهو لتبسيط العملية غير موضح في الشكل 10.5). وبعد إزالة المجموعة الببتيدية من جزيئة الـ tRNA ، في الموقع الببتيدي P-site، تنفك جزيئة الـ tRNA المزالة بسرعة من الموقع الببتيدي P-site. وفي البكتريا، يترك الـ tRNA الفارغ (المفرغة حمولته) الرايبوسوم عبر موقع آخر يدعى بموقع الخروج E-site، بينما في الكائنات حقيقية النواة فانه يلفظ مباشرة الى السايتوبلازم.وبعد اكتمال الخطوة رقم 3، يكون الموقع الأميني الغير مشغول حراً لكي يستقبل جزيئة الـ tRNA الجديدة المرتبطة بالحامض الأميني الجديد، والذي يبدأ الدورة من جديد. وفي البكتريا كل دورة تحتاج الى حوالي جزء الى 20 جزء من الثانية تحت الظروف المثالية، ولهذا، يكتمل التخليق الكامل لبروتين بمعدل طول 400 حامض أميني بغضون 20 ثانية. تتحرك الرايبوسومات على طول جزيئة الـ mRNA في الاتجاه من 5′ الى 3′ ، وهو نفس اتجاه تخليق البروتين كما تم مناقشة ذلك سلفاً (راجع شكل 6.5). تنتقل جزيئة الـtRNA الببتيدية (peptidyl-tRNA) المتكونة حديثا مع الكودون المطابق لها إلى الموقع الببتيدي P-site ليصبح الموقع الأميني A-site مستعداً لاستقبال دورة جديدة من جزيئات الـ aminoacyl- tRNA. يتضح من هذا إن تدفق الـ tRNA هو عبر موقع A، مروراً بموقع P، والى الخارج من خلال موقع E (في بدائية النواة). يقارن الشكل (12.5) بين حركة الـ tRNA والـ mRNA وعلى الرغم من اختلاف سلوكهما الواضح إلا أن لهما نفس الاتجاه في الحركة.



شكل (12.5): حركة الـ tRNA والـ mRNA وبنفس الاتجاه خلال الرايبوسوم (تصميم المؤلف)

مرحلة الانتهاء termination



عندما تصل السلسلة إلى كودون الإيقاف لجزيئة الـ mRNA فأنها تقع ويتحرر البروتين المتكون. يعرف هذا بالانتهاء termination. ومن المهم أن نعرف بأنه خلال هذه العملية، بأن العديد من الإنزيمات أما أن تساعد أو تسهل من العملية بأكملها. فبعد عدة دورات من الاستطالة لبلمرة الأحماض الأمينية إلى جزيئة بروتين، يظهر كودون الإنهاء في الموقع الأميني A-site. وعادة، لا يوجد جزيئة tRNA ذات ذراع مضاد للشفرة anticodon قادرة على تمييز إشارة الانتهاء termination signal. ولكن ما يعرف بعوامل التحرير releasing factors فإنها تكون قادرة على تمييز إشارة الانتهاء الواقعة في الموقع الأميني A-site (شكل 13.5).

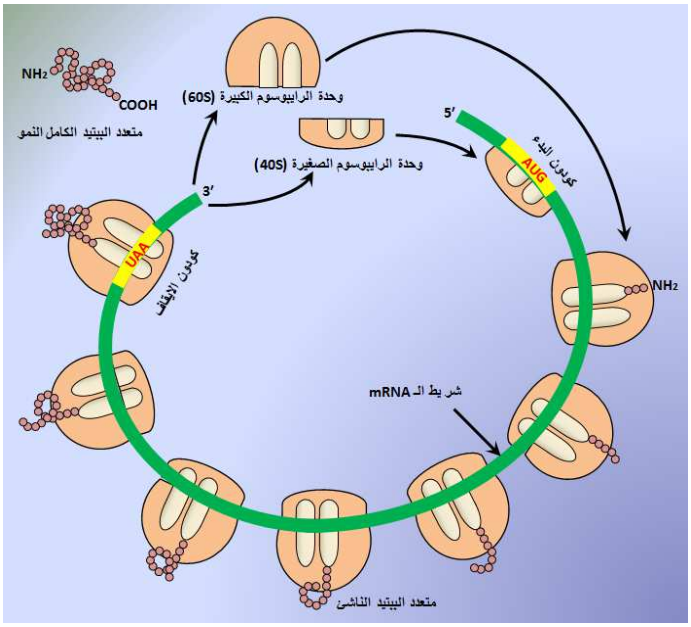
شكل (13.5): مرحلة الانتهاء في عملية تخليق البروتين في الكائنات بدائية وحقيقية النواة. (1) ارتباط العامل المحرر على كودون الإيقاف ينهي عملية الترجمة، (2) يتحرر الببتيد الذي قد تم تخليقه، (3) ينفك الرايبوسوم إلى وحدتيه المنفصلتين (تصميم المؤلف).

يحث عامل التحرير، وبالارتباط مع مصدر الطاقة GTP وإنزيم peptidyl transferase على التحلل المائي للآصرة بين الببتيد وجزيئة الـ tRNA الذي ما زال محتلا الموقع الببتيدي P-site. يحرّر هذا التحلل المائي البروتين وجزيئة الـ tRNA من الموقع.

بعد التحلل المائي والتحرر، ينفك الرايبوسوم إلى وحدتيه الثانويتين الكبيرة والصغيرة، والتي سوف يعاد الاستفادة منها في عمليات تخليق بروتينية لاحقة. ولهذا، فان عوامل التحرر هي بروتينات تحلل آصرة جزيئة peptidyl- tRNA مائياً وذلك عندما يحتل كودون الانتهاء الموقع الأميني A-site.

دور الرايبوسومات في عملية تخليق البروتين

تستطيع العديد من الرايبوسومات أن تترجم نفس جزيئة الـ mRNA بوقت متزامن. ولكن، وبسبب حجمها الكبير نسبياً، لا تقدر جزيئات الرايبوسوم على الارتباط بالـ mRNA بمسافة أقصر من 80 نيوكليوتيدة عن بعضها البعض (أي ان أصغر مسافة بين رايبوسومين يعملان على نفس جزيئة الـ mRNA هي 80 نيوكليوتيدة). وعندما تعمل الرايبوسومات معاً على نفس جزيئة الـ mRNA ، تعمل على تكوين ما يعرف بمتعدد الرايبوسوم polyribosome، أو يطلق عليه اختصاراً polysome، والتي يتناسب عددها طردياً بزيادة طول جزيئة الـ mRNA (شكل 14.5).



شكل (14.5): معقد الـ polyribosome. يبين هذا المخطط كيف يمكن لسلسلة من الرايبوسومات من أن تحفز ترجمة نفس جزيئة الـ mRNA بشكل متزامن (تصميم المؤلف).

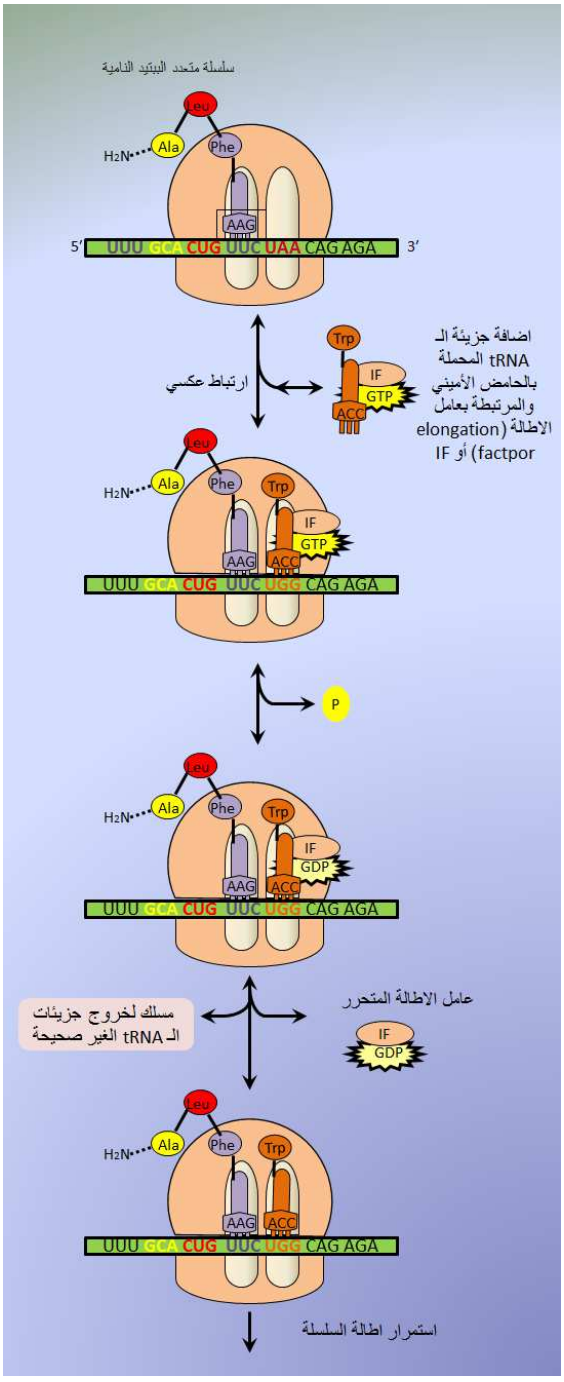
يستطيع الرايبوسوم الواحد في اللبائن من تخليق ما يقارب 100 آصرة ببتيدية في كل دقيقة. ويقوم متعدد الرايبوسومات وبفعالية بتخليق بروتينات ممكن أن توجد كدقائق حرة في السايتوبلازم، أو ربما ترتبط بلفائف مادة غشائية سايتوبلازمية تدعى بالشبكة الاندوبلازمية الداخلية endoplasmic reticulum. ان ارتباط متعدد الرايبوسومات بالشبكة الاندوبلازمية

الداخلية يكون مسؤولاً عن المظهر "الخشن" الذي تتميز به بعض مناطق هذه الشبكة في المجهر الالكتروني electron microscopy. ينبثق البروتين المنتج من متعدد الرايبوسوم المرتبطة على الشبكة الاندوبلازمية الداخلية إلى حيز مفتوح يدعى بفراغ السسترنا cisternal space والذي يتواجد بين لفائف الشبكة الاندوبلازمية، ويتم تصديره من هناك. تعبأ بعض نواتج بروتينات الشبكة الاندوبلازمية الداخلية بواسطة جهاز كولجي Golgi apparatus ومن ثم إلى دقائق الزايموجين zymogen particles وذلك لغرض التصدير النهائي. تستخدم كلمة زايموجين لوصف مولدات البروتين (protein precursors) أي البروتينات الأولية والتي فيما بعد تتحول إلى بروتينات ناضجة بعدة وسائل.

هل هنالك تدقيق في عملية الترجمة؟

لوحظ وجود معدلات خطأ في عملية تخليق البروتين مقاربة لحامض أميني واحد لكل 10000 حامض أميني متبلمر، وهذا يعني أن جزيئة بروتينية واحدة بمعدل 400 حامض أميني لا بد من أن تحتوي على خلل. لهذا، طورت الخلايا آليات تدقيق proofreading mechanisms لتقليص عدد الأخطاء في تلك الخطوات الأساسية في تخليق البروتين. استخدمت الخلية آليتين مختلفتين من الإصلاح، كلاهما يصرف طاقة، لأنه ثمناً لا بد له من أن يدفع لأي زيادة حادثة في النشاط البروتيني للخلية. تستخدم آلية بسيطة نسبياً وذلك لتحسن كفاءة ارتباط الحامض الأميني بالـ tRNA. وهذا يتضح من وجود موقعين فعالين لإنزيم aminoacyl tRNA synthetase بدلاً من موقع واحد. فبينما يقوم الموقع الأول بعملية تحميل الحامض الأميني يميز الموقع الآخر الحامض الأميني المرتبط بشكل خاطئ بجزيئة الـ tRNA ويزيله بواسطة التحلل المائي. وتعد هذه الخطوة مكلفة من ناحية الطاقة حالها في ذلك حال عملية التدقيق المستخدمة في تضاعف الـ DNA (راجع الفصل الثالث). أما الآلية الأخرى المستخدمة لتحسين أمانة ازدواج الـ codon - anticodon فتتمثل بتكوين معقد مع بروتين متوفر في الخلية يدعى عامل الاستطالة elongation factor (EF) حال اكتساب جزيئات الـ tRNA الحامض الأميني. يرتبط هذا البروتين بإحكام بكلا الحامض الأميني والـ tRNA الذي يزدوج مع الكودون الملائم في جزيئة الـ mRNA. يسمح عامل الاستطالة المرتبط بحدوث ازدوج الكودون مع الكودون المضاد ولكنه يمنع من انحشار الحامض الأميني في سلسلة متعدد الببتيد النامية. ان تمييز الكودون الأولي، على أية حال، يؤدي إلى أن يحلل مائياً مركب الـ GTP (إلى GDP و فوسفات غير عضوية)، بينما ينفك عامل الإطالة من الرايبوسوم بدون جزيئة الـ tRNA المرتبط بها سامحاً بتقدم عملية تخليق البروتين.

وبهذه الطريقة يؤدي عامل الاستطالة إلى تأخر قصير في الازدواج القاعدي بين الكودون ومضاد الكودون وفي استطالة متعدد الببتيد، وهذا يؤدي إلى خلق فرصة لجزيئة الـ tRNA لكي تخرج من الرايبوسوم، وربما تكون هذه الخطوة هي المسؤولة عن بطئ عملية الترجمة (40 حامض أميني بالثانية تقريباً) مقارنة بالتضاعف (1000 نيوكليوتيدة أو أكثر بالثانية الواحدة) .

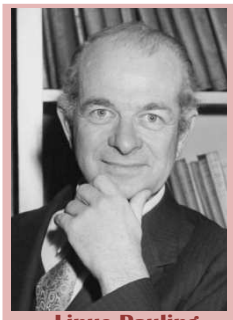


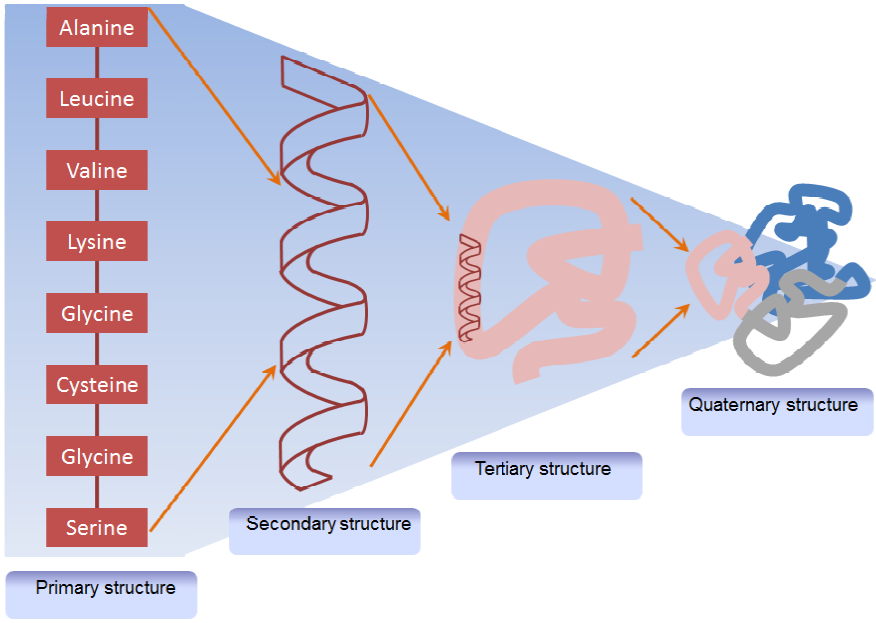
شكل (15.5): عملية تدقيق جزيئة الـ RNA الصحيحة على الرايبوسوم أثناء عملية الترجمة (تخليق البروتين). توجد تفاصيل أكثر في الخطوة 1 في مرحلة الاستطالة لتخليق البروتين والتي تبين كيف يمكن في عملية الارتباط الأولية لجزيئة الـ aminoacyl-tRNA من أن يرتبط بشكل مؤقت بالكودون عند موقع الأميني في الرايبوسوم A- site. هذا الازدواج يحفز التحلل المائي لجزيئة الـ GTP بواسطة عامل الاستطالة ممكناً من إنفكاك عامل الاستطالة من جزيئة الـ aminoacyl-tRNA ، والتي يمكن لها الآن من أن تشارك في عملية إطالة السلسلة. التأخر بين ارتباط الـ aminoacyl-tRNA ووفرته لتخليق البروتين ولهذا السبب يدخل في آلية تخليق البروتين. وكنتيجة، فقط جزيئات الـ tRNAs ذات الكودون المضاد الصحيح يمكن لها أن تبقى مزدوجة بالـ mRNA بما يكفي من الوقت لكي تضاف لسلسلة متعدد الببتيد النامية. ان عامل الاستطالة، والذي هو عبارة عن بروتين متوفر، والذي يدعى بـ EF-Tu في بدائية النواة و ef-1 في حقيقية النواة (تصميم المؤلف).

تكون جزيئة الـ tRNA الغير صحيحة عدداً أقل من الأواصر الهيدروجينية بين الكودون ومضاد الكودون مقارنة بجزيئة الـ tRNA الصحيحة: ولهذا ترتبط بصورة أضعف بالرايبوسوم ويحتمل أكثر من أن ينفك خلال هذه المرحلة. وبسبب التأخر المتسبب من قبل عامل الاستطالة تغادر جزيئات tRNA للرايبوسوم المرتبطة به بشكل غير صحيح من دون أن تستخدم في عملية تخليق البروتين، حيث يزيد هذا العامل من معدل الأحماض الأمينية الصحيحة إلى الغير صحيحة المندمجة في البروتين (شكل 15.5).

تركيب البروتين (Protein Structure)

تعد البروتينات جزيئات ثلاثية الأبعاد والتي تنجز معظم الوظائف الخلوية. فبينما يحدد الـ DNA الصبغة الوراثية genotype، فان الصبغة المظهرية phenotype للخلية هي نتيجة فعل البروتين. كل حامض أميني يحتوي على مجموعة وظيفية متفردة (والتي تسمى أيضاً R group) والتي تؤسس لفعاليتها الكيميائية. ومع تقدم عملية الترجمة، تبدأ المجاميع الفعالة في الأحماض الأمينية لمتعدد الببتيد بالتداخل مع بعضها البعض. وعند حدوث هذا، يبدأ البروتين بالانحناء الى شكله ذو الأبعاد الثلاثية. ان هنالك أربع مستويات من تركيب البروتين (شكل 16.5). التركيب الابتدائي للبروتين يمثل التسلسل الخطي للأحماض الأمينية كما هو محدد من قبل التسلسل النيوكليوتيدي في جزيئة الـ mRNA. وهذه هي المعلومة المحتواة ضمن اكسون الجين (راجع الفصل الثاني). ان الجين المفرد ينتج ربما متعددات ببتيدية بتراكيب أولية مختلفة. هذا ولا تستطيع معظم البروتينات أن تبقى بتركيبها الابتدائي وذلك لأن المجاميع الوظيفية لسلسلة متعدداتها الببتيدية المتكونة خلال الترجمة تبدأ بالتداخل مكونة للتراكيب الثانوية (secondary structures) والثالثية (tertiary structures). يشير التركيب الثانوي الى الاصطفافات المستقرة تحديداً لمخلفات الأحماض الأمينية والتي تعطي انماط تركيبية متكررة. وهكذا يتألف المستوى الثاني من تركيب البروتين من سلسلة من الطيات ضمن سلسلة متعدد الببتيد. ان هذه الأنماط هي نتيجة الأواصر الهيدروجينية بين المجاميع الفعالة لأحماض أمينية معينة. تنتج أنماط معينة من الأحماض الأمينية في تكوين التركيب الحلزوني الذي يدعى بالحلزون ألفا (α-helix) والمكتشف من قبل العالم Linus Pauling. وهذا التركيب لا يشبه جزيئة حلزون الـ DNA المزدوج بل بدلاً من ذلك تتميز بنمط حلزوني متفرد يختلف عن ذلك الملاحظ في حلزون الـ DNA المزدوج.


Linus Pauling



شكل (16.5): أربع مستويات من تركيب البروتين، مرتبة من اليسار (التركيب الأولي) الى اليمين (التركيب الرابعي)، في يسار الشكل تكون الآصرة الوحيدة الرابطة في التركيب الأولي تقتصر على الأواصر الببتيدية بين الأحماض الأمينية، ثم تتنوع وتتعقد تلك الأواصر الى أن تصل الى التركيب الرابعي (تصميم المؤلف).

هنالك مجاميع أخرى من الأحماض الأمينية يمكن أن تكون شكل يشبه الصفيحة المتعرجة في متعدد الببتيد. ويدعى هذا الشكل بصفيحة بيتا (β-sheet). ويمكن لمتعدد الببتيد من أن يصنع كلا المظهرين حلزون ألفا وصفيحة بيتا في نفس جزيئة البروتين، وليس لمرة واحدة فقط، بل لعدة مرات لكل مظهر. أما التركيب الثالثي tertiary structure فيصف كل مظاهر الطيات ثلاثية الأبعاد three dimensional folding في متعدد الببتيد. ويمكن أن يتكون التركيب الثانوي والثالثي في متعدد الببتيد بشكل متزامن. وبتكون التركيب الثالثي، يصنع متعدد الببتيد معقد بشكل ثلاثي الأبعاد والذي يحدد وظيفة البروتين في الخلية. تنجز العديد من البروتينات وظيفتها عند هذا المستوى من التنظيم. أما عندما يحتوي البروتين على أكثر من وحدة ثانوية (subunit) واحدة، فيدعى اصطفافها في الفضاء يدعى بالتركيب الرابعي quaternary structure (حيث يطلق على سلاسل متعدد الببتيد للبروتين ذو التركيب الرباعي بالوحدات الثانوية). يدعى ارتباط هذه الببتيدات المتعددة أو الوحدات الثانوية المتعددة بالمستوى الرباعي لتركيب البروتين (شكل 16.5). ليست كل البروتينات تستغل التركيب الرابعي، ولكن تلك التي يمكن لها أن تقوم بذلك فانها تستطيع أن تكون تراكيب كبيرة جداً. وعلى أية حال، تتعرض البروتينات بعد تخليقها وطيها الى تحويرات معينة الهدف

منها اضفاء البصمة الأخية على تلك البروتينات لكي تؤدي الدور المناط بها في الخلية أو في خارج الخلية. تدعى تلك التحويرات بالتحويرات مابعد الترجمة post-translational modifications.

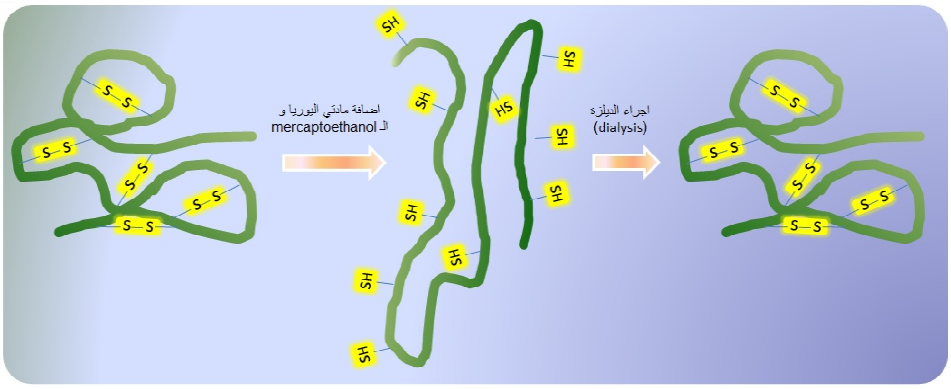
تحويرات ما بعد الترجمة
Post-transcriptional Modifications

يمكن تعريف معنى السيطرة ما بعد الترجمة بتلك الآليات التي يمكن بواسطتها معالجة البروتين بعد عملية الترجمة، وقد تتم هذه المعالجة بتحوير التركيب الثلاثي للبروتين أو بتحوير السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية أو بتحوير العمود الفقري للبروتين نفسه كما سيوضح ذلك في أدناه. وبما أن البروتين يتألف من سلسلة من الأحماض الأمينية التي يبلغ عددها عشرين، لذا، فان كلا ترتيب وهوية تلك الأحماض الأمينية يكونان مهمين في تحديد الدور الذي يلعبه ذلك البروتين في الخلية.ويمكن هذه التغيرات من أن تغير في تركيب ووظيفة البروتين، أو يمكن لها من أن تحدد عمر البروتين نفسه.

أولاً: تحوير التركيب البروتيني ثلاثي الأبعاد
(Three dimensional structure modifications)

تنهي عملية الترجمة جريان المعلومات الوراثية ضمن الخلية. ان تسلسل النيوكليوتيدات في الـ DNA قد تحول الآن إلى تسلسل أحماض أمينية في البروتينات. ان تخليق متعدد الببتيد polypeptide، على أية حال، ليس كافيا لإنتاج بروتين فعّال. ولكي يكون متعدد الببتيد الناتج من عملية الترجمة مفيدا، فلابد من أن ينطوي إلى هيئة ثلاثية الأبعاد متميزة distinct 3 dimensional conformation . لذا، تعاني العديد من البروتينات تحويرات أخرى، والتي هي ضرورية لوظيفة وموضع تلك البروتينات في الخلية.إن المثال التقليدي لطي البروتينات هو ان كل المعلومات الضرورية للبروتين لكي يتخذ هيئته الثلاثية الأبعاد الصحيحة مجهزة من قبل تسلسل أحماضه الأمينية. ان هذا قد تم إثباته من قبل تجارب Christian Anfinsen والتي أجراها على بروتين الـ RNase، وحصل على جائزة نوبل في الكيمياء سنة 1972 نتيجة لهذا الاكتشاف، حيث أثبت العالم Anfinsen بأن بروتين الـ RNase الممسوخ يمكن له أن يعد طيه تلقائيا خارج جسم الكائن الحي *in vitro* ليرجع إلى هيئته الفعالة (شكل 17.5).

Christian Anfinsen



شكل (17.5): عملية الـ renaturation التلقائية بعد عملية الـ denaturation في بروتين الـ RNase (تصميم المؤلف).

إن اكتشاف قدرة انزيم الـ RNase على أن يرجع حالة الطي الطبيعية فيه (عملية الـ renaturation التلقائية) من دون اضافة عوامل خلوية إضافية، جعلت العلماء يظنون بأن ما يحصل لبروتين RNase ينطبق على بقية البروتينات اِلأخرى. ولكن معظم التجارب الحديثة قد بينت حاجة عملية الطي الصحيح للبروتينات ضمن الخلية إلى توسط فعاليات بروتينات أخرى. في البكتريا تساهم بروتينات معينة (أنظر أدناه) تدعى بالوصيفات chaperones في طي 85% من البروتينات، بينما في الكائنات حقيقية النواة يوجد نسبة حتى أعلى من ذلك من تلك البروتينات التي تعتمد بشكل كبير على الوصيفات في عملية طيها.

يطلق على البروتينات التي تسهل عملية طي بروتينات أخرى بالوصيفات الجزيئية molecular chaperones. ان مصطلح chaperones أو "وصيفات" قد استخدم للمرة الأولى لوصف بروتين الـ nucleoplasmin الضروري لتراكب النيوكليوسومات من histone و DNA (راجع الفصل الثاني) . يرتبط بروتين الـ nucleoplasmin بالهستونات ويساعد على تراكبها إلى نيوكليوسومات، ولكن تركيب الـ nucleoplasmin نفسه لا يندمج في تركيب النيوكليوسوم النهائي. وهكذا تعمل الوصيفات الجزيئية على تسهيل عملية التراكب من دون أن تكون جزءا من المعقد المتراكب. وبينت تجارب لاحقة بأن للوصيفات الجزيئية دورا أساسيا في تسهيل عملية طي البروتينات. تقع الوصيفات في كل ردهة خلوية، وترتبط بمدى واسع من البروتينات، والتي تعمل في آلية الطي العامة للبروتينات. هذا وميّز الباحثين عائلتين أساسيتين للوصيفات:

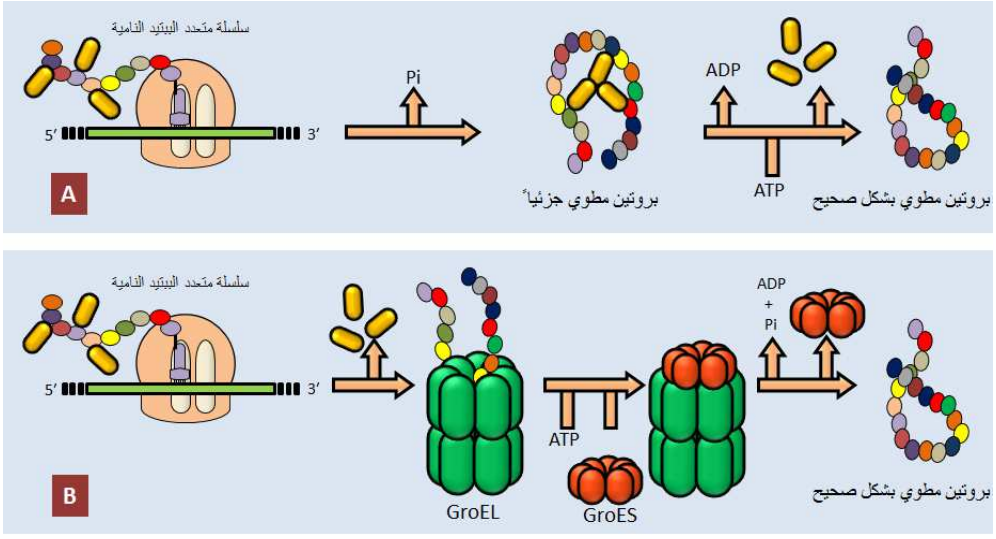
- الوصيفت الجزيئية molecular chaperones، والتي ترتبط وتثبت البروتينات الغير مطوية أو المطوية جزئياً، وبهذه الطريقة تمنع تلك البروتينات من التراكم والتحطم.

- الوصيفات المصغرة chaperonins، والتي تسهل طي البروتينات مباشرة.

تتألف الوصيفات الجزيئية من بروتينات الصدمة الحرارية heat shock proteins (Hsp70) 70 ونظيراته المماثلة له: كما في الـ Hsp70 في السايتوزول cytosol وقالب المايتوكوندريا mitochondrial matrix ، الـ BiP في الشبكة البلازمية الداخلية endoplasmic reticulum ، والـ DnaK في البكتريا. شخصت تلك البروتينات لأول مرة وذلك بسبب ظهورها السريع بعد إجهاد الخلية بدرجات حرارية عالية، ومن هنا جاء الاسم. ان الـ Hsp70 ونظيراته من البروتينات الأخرى هي الوصيفات الرئيسية في كل الكائنات. عندما يرتبط الـ Hsp70 أو نظيراته المماثلة له بمركب الـ ATP تبدي تلك البروتينات شكلاً مفتوحاً والذي به يرتبط الجيب الكارهة للماء المتكشف بشكل مؤقت بالمناطق المتكشفة الكارهة للماء للبروتين الهدف الغير مطوي. يسبب التحلل المائي للـ ATP المرتبط أن تصنع الوصيفات الجزيئية شكلاً مغلقاً والذي ينطوي فيه البروتين الهدف. إن آلية عمل الوصيفات الجزيئية هو أنها تمنع تكوين التراكيب الغير صحيحة بدلا من تحفيز تكوين التراكيب الصحيحة. وعلى سبيل المثال، ترتبط الوصيفات الجزيئية في بدائية النواة بسلسلة متعدد الببتيد الناشئة nascent polypeptide chain والتي مازالت في طور الترجمة من قبل الرايبوسومات، وبهذا تمنع الطي الغير صحيح incorrect folding لسلسلة متعدد الببتيد منذ بداية تخليقها. ان استبدال مركب الـ ADP وحله محل الـ ATP يلعب دوراً أساسياً في تحرير البروتين الهدف. تسرُّع هذه الدورة من قبل بروتين معين يعرف بمصاحب الوصيفات co-chaperone Hsp40 في الكائنات حقيقية النواة والذي يصاحب في عمله للوصيف Hsp70، و بروتين co-chaperone DnaJفي البكتريا المصاحب في عمله للوصيف DnaK حيث يعتقد بأن الوصيفات الجزيئية ترتبط بكل سلاسل متعدد الببتيد الناشئة وهي مازالت في طور التخليق في الرايبوسوم.

إن الطي الصحيح لأنواع عديدة من البروتينات المخلقة حديثاً أو البروتينات المنقولة يحتاج الى مساعدة الوصيفات الصغيرة chaperonins. تتكون تلك التراكبات من حلقتين من السلاسل الببتيدية المتعددة oligomeres. يتألف الوصيف الصغير TriC في الكائنات حقيقية النواة من 8 وحدات ثانوية لكل حلقة. أما في البكتريا والمايتوكوندريا والكلوروبلاست هنالك وصيف صغير يدعى بالـ GroEL الذي يتكون من حلقتين، كل حلقة تتألف من سبع وحدات ثانوية. تعمل آلية طي وصيف الـ GroEL (والتي هي مفهومة بشكل أكبر مقارنة بالآلية المتوسطة من قبل وصيف TriC الصغير في حقيقية النواة) كموديل عام. في البكتريا، يتم حشر متعدد الببتيد الغير مطوي unfolded أو المطوي بشكل خاطئ misfolded في تجويف الـ GroEL ، والذي يرتبط بالجدار الداخلي وينطوي الى الهيئة الطبيعية الصحيحة. وفي خطوة معتمدة على الـ ATP، يعاني الوصيف الصغير GroEL تغييراً في هيئته

الفراغية conformational change ويحرر البروتين المطوي في خطوة معتمدة على وجود الوصيف المصاحب GroES كمسهّل لهكذا عملية، حيث يعمل الأخير كقلنسوة تسد نهايات الوصيف GroEL. يكون الـ GroES تركيبا يشبه القبّة dome like structure والذي يرتبط بسطح واحد للحلقة المزدوجة، وهكذا فانه يغطي فتحة الاسطوانة. يمكن لنا أن نفرق (كما في الشكل 18.5) بين حلقتي الـ GroEL ، حيث نطلق على الأولى بالحلقة القريبة proximal ring (المرتبطة بـ GroES) والحلقة الثانية بالحلقة البعيدة distal ring (الغير مرتبطة بـ GroES). ان سبب تسمية الـ GroEL بالـ chaperonin، والـ GroES بمرافق الـ chaperonin (co-chaperonin)، وذلك لأن GroEL يلعب دورا أساسيا في قيادة عملية الطي folding process ، أما GroES فيساعده على أداء عمله فقط.



شكل (18.5): عملية طي البروتين المتوسطة من قبل الوصيفات – الوصيفات الصغيرة chaperone-chaperonin mediated. تنطوي العديد من البروتينات بهيئتها الصحيحة ثلاثية الأبعاد بمساعدة المناظرات المماثلة للـ Hsp70 (في أعلى الشكل). تلك الوصيفات الجزيئية ترتبط بشكل مؤقت بسلسلة متعدد الببتيد الناشئة وذلك عند خروجها من الرايبوسوم. أما الطي الصحيح للبروتينات الأخرى (في أسفل الشكل) فيعتمد على الوصيفات الصغيرة كما في الـ GroEL في بدائية النواة، والذي هو عبارة عن معقد برميلي الشكل ذو اسطوانة مجوفة يتألف من 14 وحدة ثانوية مصطفة على شكل حلقتين الواحدة فوق الأخرى. يتم إغلاق إحدى نهايتي الـ GroEL بشكل مؤقت من قبل الوصيف الجزيئي GroES (تصميم المؤلف).

أما دور بروتينات Hsp70 فيتلخص في مساعدة البروتين الناشئ في عملية الطي نسبياً ريثما تسلّمه إلى تركيب الـ GroEL لاكتمال عملية الطي فيه. ثم ترتبط مادة التفاعل substrate المتمثلة بالبروتين الناشئ حديثا بالحلقة البعيدة في تركيب الـ GroEL مسببة انتفاخ التجويف المركزي central cavity فيه . وعندما ينغلق GroES على الـ GroEL ،

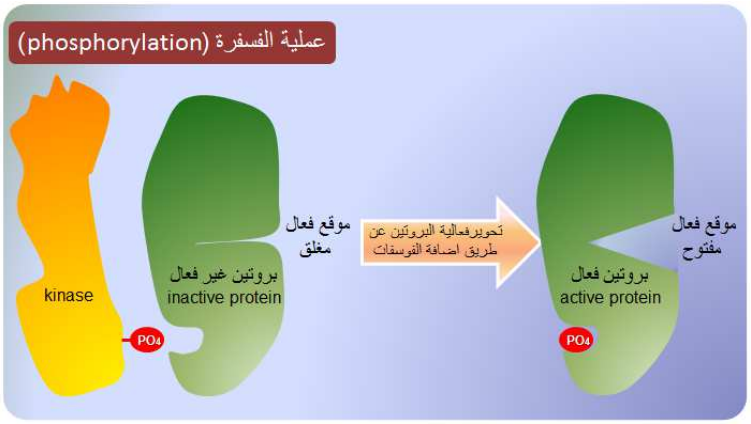
فانه يسبب تغيير في هيئة حلقة GroEL القريبة، مسبباً زيادة في تجويفها المركزي بينما ، وفي نفس الوقت، يقل فيه انتفاخ التجويف المركزي في الحلقة البعيدة. إن الطاقة التي تقود هذا التفاعل هي التحلل المائي hydrolysis لـ ATP. لذا، وبعد اكتمال عملية معالجة البروتين داخل معقد GroEL\GroES تقل ألفة GroEL لـ GroES بسبب التحلل المائي لـ ATP، وهذا يؤدي بدوره إلى تحرر البروتين المعالج. بالإضافة إلى ذلك، فان التحلل المائي لـ ATP في الحلقة البعيدة يكون ضروريا لقذف البروتين المعالج من قبل هذا المعقد، تحدث هذه الخطوة عند اكتمال معالجة البروتين. لكن إذا لم يكن البروتين قد عولج بشكل كاف، يتنبه هذا المعقد إلى ذلك، ويعمل على إعادة الكرّة عليه من جديد إلى أن يصل ذلك البروتين إلى هيئته الناضجة mature conformation، وعندها سوف لا يجد معقد GroEL\GroES مادة تفاعل يعمل عليها، ليتحرر البروتين حينها من سطوة معقد GroEL\GroES عليه، ثم يذهب إلى تأدية وظيفته المحددة.

ثانياً: تحوير سلاسل الأحماض الأمينية الجانبية للبروتين (Amino acids side chains modifications)

تحتوي العديد من البروتينات، كما في انزيمات الـ RNase A والكيموتربسين مثلاً، على أحماض أمينية فقط ولاتحتوي على أي مركبات كيميائية أخرى، وتدعى تلك البروتينات بالبروتينات البسيطة simple proteins. ولكن بعض البروتينات تحتوي على بشكل دائم على مكونات كيميائية اضافة الى الأحماض الأمينية، ولذلك تدعى بالبروتينات المقترنة conjugated proteins. ويدعى المكون الكيميائي الذي هو ليس بالحامض الأميني بالـ prosthetic group. تصنف البروتينات المقترنة على أساس الطبيعة الكيميائية للـ prosthetic group الى عدة أصناف، كما في البروتينات الدهنية lipoproteins، أي الحاوية على مجموعة دهنية، وبروتينات سكرية glycoproteins، أي الحاوية على مجموعة سكر، وبروتينات معدنية metalloproteins، أي الحاوية على معدن معين. كما تحتوي العديد من البروتينات على أكثر من prosthetic group. وفي الحقيقة، تلعب تلك المجاميع دوراً مهماً في وظيفة البروتينات البايولوجية. وعلى أية حال، يمكن انجاز السيطرة ما بعد الترجمة لوظيفة البروتين أو تركيبه بواسطة عدة طرق منها التحوير الكيميائي المذكور للسلسلة الجانبية للحامض الأميني amino acid side chain. على الرغم من وجود العديد من التحويرات الكيميائية للسلاسل الجانبية للأحماض الأمينية كما هو مبين في أعلاه، لكن نكتفي هنا بإيضاحمثالينموذجيين لمثل تلك التحويرات (شكل 19.5):

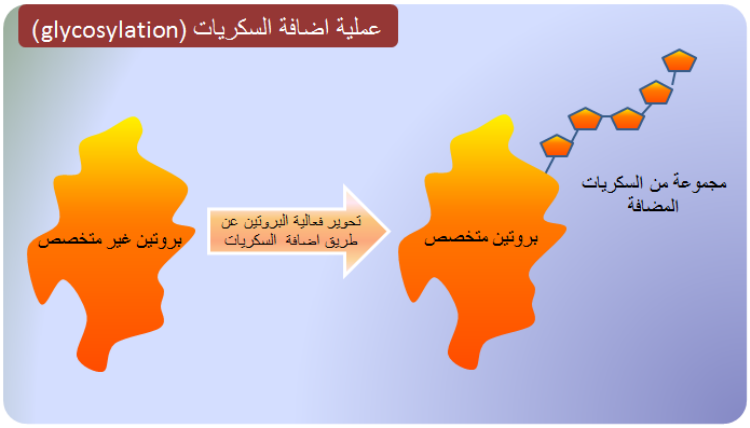
(أ). الفسفرة phosphorylation: تتضمن الفسفرة إضافة الفوسفات الى السلسلة الجانبية للحامض الأميني، وهي أما أن تكون مجموعة الهيدروكسيل في الحامض الأميني serine أو الـ threonine أو الـ tyrosine. تنتج هذه التحويرات من عمل بروتين يعرف بالـ

kinase والذي يستخدم الـ ATP كمصدر للفوسفات. ويمكن للفوسفات من أن تزال بواسطة إنزيم آخر يعرف بالـ phosphatase. يمكن للفسفرة من أن تحور وظيفة البروتين، ونتيجة هذا التحوير هو تغير في دور البروتينات الطبيعي ذات العلاقة في مسالك الإشارات الخلوية cellular signaling pathways. ويمكن للفسفرة الشاذة من أن تؤدي الى تحطم في دورة الخلية وحث السرطان.



شكل (19.5): آلية السيطرة ما بعد الترجمة بواسطة فسفرة البروتينات (تصميم المؤلف)

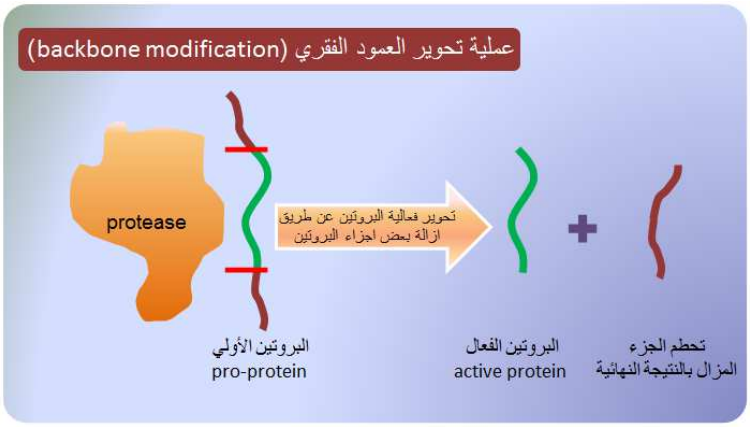
(ب). الـ glycosylation والتي يمكن أن تتضمن إضافة واحدة أو أكثر من السكريات إلى السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية، ويتم ذلك أما خلال الترجمة أو بعدها، وذلك لتكوين ما يعرف بالـ glycoprotein (بروتين يحتوي على مجموعة سكر مرتبطة به). تربط مجاميع السكر أما بسلسلة النتروجين الجانبية للحامض الأميني asparagines، أو بمجموعة الهيدروكسيل الموجودة بالحامض الأميني الـ serine أو الـ threonine. يمكن أن يكون تركيب هذه الكاربوهيدرات معقد ومتنوع وغالباً لا يؤثر على وظيفة البروتين بشكل مباشر. وعلى أية حال، يمكن للـ glycosylation من أن يؤثر على ذوبانية البروتين، أو لاستهدافه لمكان محدد في الخلية، أو على طياته في تكوين تركيب ثلاثي الأبعاد، أو على فترة حياته، أو على تداخله مع بروتينات أخرى. إن البروتينات التي تعد مثالاً نموذجياً لهذا النوع من التحويرات هو بروتينات الـ glycoprotein الموجودة على السطح الخارجي للغلاف البلازمي للخلية والتي تعمل كمستقبلات متخصصة لجزيئات مختلفة (شكل 20.5).



شكل (20.5): آلية السيطرة ما بعد الترجمة بواسطة اضافة مجاميع السكريات (تصميم المؤلف)

ثالثاً: تحوير العمود الفقري لمتعدد الببتيد (Polypeptide Backbone modifications)

ربما تحدث السيطرة على وظيفة البروتين أيضاً بواسطة تحوير نظام ترتيب الأحماض الأمينية في العمود الفقري للبروتين. أما أن يتم تحفيز هذه التحويرات بواسطة بروتينات أخرى أو أنها تدار من قبل البروتين نفسه. يمكن لبروتينات متعددة من أن تخلق كبروتينات بادئة كبيرة large precursor proteins ثم يتم تنشيطها بواسطة انشقاق عمودها الفقري الببتيدي بواسطة الإنزيمات الهاضمة للبروتين proteases (شكل 21.5).

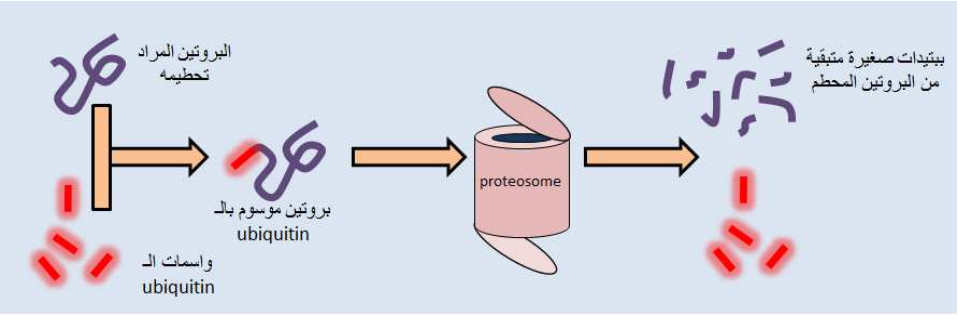


شكل (21.5): تحوير العمود الفقري لمتعدد الببتيد المخلق حديثا (البروتين الأولي) بواسطة ازالة بعض الأحماض النووية والتي بازالتها في بعض الحالات يتكون البروتين الفعال (تصميم المؤلف).

تدعى العديد من البوادئ الكبيرة للبروتينات بالـ zymogens أو بالبروتينات الأولية pro-proteins والتي تحتوي على تسلسل عند نهايتها الأمينية والذي يعطي معلومات للخلية بأن تصدر البروتين. ثم تنشق تلك النهاية الأمينية المعروفة بـ N-terminal signal sequence ، ولكن البروتين المصدر ربما لا يزال غير فعال الى أن ينشق من جديد بواسطة إنزيم آخر هاضم للبروتين. تتضمن البروتينات المنشطة بواسطة هذه الآلية بعض الإنزيمات الهاضمة للبروتين والموجودة في الجهاز الهضمي كما في التربسين والتي يجب أن تنظم فعاليتها قبل أن تصدر من الخلية. يعالج ألبومين المصل serum albumin بتلك الوسيلة أيضاً، وكذلك الحال بالنسبة للأنسولين والـ vasopressin والـ oxytocin.

تحطيم البروتينات

ان الخلايا الحية لا تصنع البروتينات فحسب، وانما تقوم بتحطيمها كذلك. وعلى الرغم من أن عملية تحطيم البروتين ليس بتعقيد عملية تخليقه، الا ان هذه العملية مسيطر عليها بدقة. ان انزيمات الـ proteases هي تلك التي تحطم البروتينات. وهي لهذا خطرة على الكائن الذي يصنعها ويجب أن يتم السيطرة عليها بشكل حذر. ليست بروتينات الـ proteases هي المسلك الوحيد المسؤول عن تحطيم البروتينات، وانما هنالك تراكيب أكثر تعقيداً منها تعرف بالـ proteosomes. وهي تراكيب اسطوانية، تحتوي في داخلها على مواقع الـ protease الفعالة. تغطى قمة وقعر الاسطوانة من قبل معقدات بروتينية والتي تميّز وترتبط بالبروتينات المتضررة والغير مطلوبة. ان البروتينات المقدر عليها أن تتحطم يمكن تمييزها لأنها موسومة بالـ ubiquitin. وهو بروتين صغير مخصص للبروتينات المحطمة أو البروتينات الغير مطوية بشكل صحيح، بالاضافة الى ذلك، فهي مخصصة أيضاً لبروتينات معينة ضرورية لفترة محدودة فقط (شكل 22.5). ينفتح طي البروتينات الموسومة بالـ ubiquitin ويتم تلقيم برميل الـ proteosome بها. حيث أنها تتحطم الى ببتيدات صغيرة. ولابد من الاشارة الى أن واسمات الـ ubiquitin نفسها تنشطر ويعاد تدويرها.



شكل (22.5): آلية عمل الـ proteosome. يتم تشخيص البروتينات المحطمة بواسمات الـ ubiquitin ، ثم تتحول تلك البروتينات متعددات ببتيدية صغيرة (تصميم المؤلف).

ملحق الفصل الخامس
مثبطات تخليق البروتين .... وسيلة للعلاج!

يختلف الرايبوسوم البكتيري عن الرايبوسوم في الخلايا حقيقية النواة، حيث يكون الرايبوسوم البكتيري أصغر (70S بدلا من 80S). هذا الاختلاف قد تم استغلاله للأغراض السريرية، وذلك لأن العديد من المضادات الحيوية الفعالة تتداخل بشكل حيوي مع البروتينات التي تعمل عليها رايبوسومات بدائية النواة فقط وهكذا تثبط تخليق البروتين فيها.

تبدي عدة مضادات حيوية تأثيرها من خلال استهدافها عملية الترجمة في البكتريا. إنها تستغل الفروقات في آليات الترجمة بين الكائنات حقيقية وبدائية النواة، وذلك لكي تثبط تخليق البروتين بشكل انتقائي في البكتريا دون أن تؤثر على العائل. تتضمن الأمثلة: المضاد الحيوي streptomycin، والذي يسبب خطأ في قراءة الشفرة الوراثية في البكتريا بتراكيز واطئة نسبياً، ويثبط عملية بدء ترجمة البروتين initiation وذلك بالارتباط بوحدة الرايبوسوم الثانوية الصغيرة 30S. بينما يمنع المضاد الحيوي kanamycin ارتباطات أخرى في نهاية مرحلة البدء، ويسبب خطأ في قراءة الشفرة الوراثية.

يقوم المضاد الحيوي puromycin، والذي يمتلك تركيب مشابه لجزيئة tyrosinyl aminoacyl tRNA بالارتباط بالموقع الرايبوسومي A ويشارك في تكوين الآصرة الببتيدية، منتجاً لمعقد peptidyl-puromycin. وعلى أية حال، فانه لا يدخل في عملية الانتقال وينفك بسرعة من الرايبوسوم مسبباً إنهاء مبكر لتخليق متعدد الببتيد. إن المضاد الحيوي puromycin يثبط وبكفاءة عملية تخليق البروتين في الكائنات بدائية وحقيقية النواة.أما المضاد الحيوي Diphtheria toxin ، وهو ذيفان خارجي exotoxin لبكتريا الخناق *Corynebacterium diphtherium* المخموجة بعاثي تحلحلي lysogenic phage متخصص والذي يحفز عملية ADP ribosylation لعامل الاستطالة EF-2 في خلايا اللبائن. يثبط هذا التحوير العامل EF-2 وبهذا فانه يثبط عملية تخليق البروتين بشكل متخصص. ان العديد من الحيوانات (كما في الفأر) تكون مقاومة لذيفان بكتريا الخناق. هذه المقاومة تعزى إلى عدم قدرة ذيفان بكتريا الخناق على عبور الغشاء الخلوي فضلا عن عدم حساسية العامل EF-2 في الفأر لذيفان بكتريا الخناق.يسد المضاد الحيوي tetracycline موقع الحامض الأميني في الرايبوسوم A site، مانعاً ارتباط جزيئات الـ tRNA المحملة بالحامض الأميني aminoacyl tRNAs به. بينما يسد المضاد الحيوي chloramphenicol خطوة النقل الببتيدي peptidyl transfer step الحادثة في مرحلة الاستطالة في الوحدة الثانوية الكبيرة للرايبوسوم البكتيري 50S.