پروتئین سازی در هسته

تهیه و ترجمه : نظام جلیلیان
دبیر زیست شناسی خرمشهر

اشاره

سال‌هاست که پذیرفته‌ایم در سلول‌های پروکاریوتی دو فرایند رونویسی و پروتئین‌سازی هم‌زمان و در یک محل انجام می‌گیرند، یعنی ممکن است یک mRNA ی در حال ساخت که هنوز سنتز آن به پایان نرسیده است، توسط ریبوزوم‌ها در حال ترجمه نیز باشد. ولی در سلول‌های یوکاریوتی به‌علت وجود غشای هسته، این دو فرایند از هم جدا هستند و در دو محل متفاوت، یعنی هسته و سیتوپلاسم انجام می‌گیرند. در سال‌های اخیر دیدگاهی مورد توجه قرار گرفته است که بر طبق آن در هسته‌ی سلول‌های یوکاریوتی نیز عمل پروتئین‌سازی رخ می‌دهد. این دیدگاه جنجالی و بحث‌برانگیز موافقان و مخالفانَ فراوانی دارد که سعی می‌کنیم در این مقاله به نظرات و دلایل هر دو گروه اشاره کنیم:

نخستین مشاهده‌ها

در سال ۱۹۷۸ بررسی هسته‌های یوکاریوتی جداشده از سیتوپلاسم نشان داد که این هسته‌ها می‌توانند آمینو اسیدهای نشان‌دار شده را به زنجیره‌های پلی‌پپتیدی وارد کنند، به‌همین علت گفته شد که در هسته‌های یوکاریوتی نیز فرایند پروتئین‌سازی انجام می‌گیرد. اما مخالفان معتقد بودند که به علت ضعف فنون، جداسازی هسته‌ها از سیتوپلاسم به‌طور کامل و با موفقیت صورت نگرفته است و احتمالاً هسته‌ها با تعدادی از ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی همراه بوده‌اند. بنابراین پلی‌پپتیدهای سنتز شده نتیجه‌ی فعالیت ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی بوده‌اند، نه ریبوزوم‌های موجود در هسته، از طرفی با کشف اینترون‌ها این دیدگاه که در هسته‌های یوکاریوتی نیز پروتئین‌سازی انجام می‌پذیرد کم‌کم به دست فراموشی سپرده شد، زیرا ترجمه‌ی یک mRNA اولیه که دارای رونوشت‌های اینترونی است، منجر به تولید پروتئینی غیر طبیعی می‌شود، بنابراین ضروری به‌نظر می‌رسید که در سلول‌های یوکاریوتی دو فرایند رونویسی و پروتئین‌سازی در دو محل متفاوت، یعنی هسته و سیتوپلاسم انجام گیرد و فقط mRNA بالغ فاقد رونوشت اینترون‌ها، ترجمه شود.

جهش بی‌معنی

اما در چند سال اخیر بنا به دلایل مختلفی بحث پروتئین‌سازی در هسته دوباره مورد توجه قرار گرفته است. یکی از این دلایل، پدیده‌ای موسوم به تخریب mRNA به‌واسطه‌ی جهش بی‌معنی[1] یا به‌اختصار (NMD) است که در ادامه با این پدیده بیش‌تر آشنا می‌شویم:

طی بالغ شدن mRNA اولیه که اصطلاحاً عمل پردازش[2] نامیده می‌شود، علاوه بر تشکیل کلاهک و دم‌پُلی A، حذف اینترون‌ها نیز صورت می‌گیرد. پس از حذف اینترون‌ها، اگزون‌ها به هم متصل می‌شوند و mRNA بالغ یوکاریوتی شکل می‌گیرد. در هر mRNA یوکاریوتی به‌طور معمول ۷ تا ۸ مرز اتصال بین اگزون‌ها وجود دارد. بلافاصله پس از عمل پردازش، تقریباً در فاصله ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتید قبل از هر مرز اتصال، کمپلکسی پروتئینی به نام کمپلکس اتصال اگزون[3] (EJC) شکل می‌گیرد. این کمپلکس در پدیده‌ی تخریب mRNA به واسطه جهش بی‌معنی نقش مهمی ایفا می‌کند.

در mRNA طبیعی، کدون پایان در انتهای آخرین اگزون قرار دارد. اگر در یک mRNA بالغ، کدون پایانی در اگزون‌های ماقبل آخر ایجاد شده باشد، آن mRNA به اصطلاح دارای کدون پایان زودهنگام یا نابه‌جا[4] (PTCs) خواهد بود و در اثر پدیده‌ی تخریب به‌واسطه‌ی جهش بی‌معنی تجزیه می‌شود تا از ترجمه آن mRNA ی غیر طبیعی، پروتئینی ناقص و کوتاه‌تر تولید نشود. اعتقاد عمومی بر این است که تنها عاملی که می‌تواند کدون‌های پایانی نابه‌جا را شناسایی کند، ریبوزوم‌ها هستند. در واقع ریبوزوم‌ها قبل از ترجمه‌ی اصلی mRNA، یک دور آن را به صورت آزمایشی ترجمه می‌کنند. اگر mRNA طبیعی باشد، ریبوزوم در هنگام ترجمه‌ی آزمایشی، تا انتهای منطقه رمزگردان در mRNA را طی می‌کند و با عبور از مرز اتصال بین اگزون‌ها همه‌ی کمپلکس‌های پروتئینی اتصال اگزون (EJC) را کنار می‌زند. اما اگر در mRNA کدون پایان نابه‌جایی وجود داشته باشد، ریبوزوم ترجمه‌ی آزمایشی را زودتر به اتمام می‌رساند و نمی‌تواند تا انتهای منطقه‌ی رمزگردان را طی کند، بنابراین حتی اگر یکی از کمپلکس‌های پروتئینی اتصال اگزون باقی بماند آن mRNA تخریب می‌شود، زیرا این کمپلکس‌های پروتئینی به‌عنوان نشانه‌ای برای آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی mRNA عمل می‌کنند تا mRNA غیر طبیعی تجزیه و از

تولید پروتئینی کوتاه‌تر جلوگیری شود. با توجه به این که کمپلکس‌های پروتئینی اتصال اگزون در ۲۰ تا ۲۴ نوکلئوتید قبل از محل اتصال اگزون‌ها تشکیل می‌شوند، اگر کدون پایان نابه‌جایی بعد از آخرین کمپلکس، یعنی در آخرین اگزون موجود در mRNA به‌وجود آید، آن mRNAی غیر طبیعی، دیگر تخریب نمی‌شود زیرا ریبوزوم در ترجمه‌ی آزمایشی، آخرین کمپلکس‌های پروتئینی اتصال اگزون را بر می‌دارد و دیگر نشانه‌ای برای تخریب آن mRNA غیر طبیعی وجود نخواهد داشت. بنابراین در اثر ترجمه‌ی این mRNA، پروتئینی کوتاه‌تر تولید می‌شود. به‌عنوان مثال، ایجاد یک کدون پایانی نابه‌جا در آخرین اگزون ژن زنجیره‌ی بتای گلوبین، منجر به تولید زنجیره‌ی کوتاه‌تر می‌شود که یکی از دلایل ایجاد تالاسمی نوع بتاست.

چهار مدل

در مورد محل انجام پدیده‌ی تخریب mRNA به‌واسطه جهش بی‌معنی (NMD) چهار مدل ارائه شده است:

۱. ترجمه‌ی آزمایشی در سیتوپلاسم صورت می‌گیرد. بر طبق این مدل، اگر mRNA دارای کدون پایانی نابه‌جا باشد، مجدداً به هسته بر می‌گردد و به‌طریقی تخریب mRNAهای همسان خود را تحریک می‌کند. برای این مدل دلایل قانع‌کننده‌ای وجود ندارد.

۲. ترجمه‌ی آزمایشی در هسته انجام می‌گیرد، اما مکانیزم‌هایی به غیر از ریبوزوم‌ها در شناسایی کدون‌های پایانی نابه‌جا نقش دارند. این مدل توضیحی در مورد ساز و کارهای شناسایی کننده کدون‌های پایانی نابه‌جا ارائه نمی‌دهد. از طرفی مهار ریبوزوم‌ها با آنتی‌بیوتیک سیکلوهگزامید میزان تخریب mRNA به‌واسطه‌ی جهش بی‌معنی را کاهش می‌دهد که این نشان‌دهنده‌ی دخالت ریبوزوم‌ها در این پدیده است.

۳. ریبوزوم‌های متصل به غشای خارجی هسته در محل منافذ هسته، mRNA تازه خارج شده را ترجمه‌ی آزمایشی می‌کنند. اگر این mRNA دارای کدون پایان نابه‌جا باشد، همان‌جا تخریب می‌شود. اگر این مدل درست باشد و در محل منافذ هسته تخریب صورت بگیرد، باید رونوشت‌های فراوانی در محل منافذ هسته یافت شود. اما مطالعه با روش‌های فلورسانس نشان می‌دهد که بیش‌تر رونوشت‌ها درون هسته قرار دارند.

۴. ریبوزوم‌های فعال موجود در هسته، mRNA را ترجمه‌ی آزمایشی می‌کنند اگر دارای کدون پایان نابه‌جا باشد، mRNA در هسته تخریب می‌شود.

موافقان انجام پروتئین‌سازی در هسته، مدل چهارم را قبول دارند و اعتقاد دارند که ترجمه‌ی آزمایشی توسط ریبوزوم‌های فعال هسته‌ای به انجام می‌رسد. اما مخالفان انجام پروتئین‌سازی در هسته، معتقدند که فاکتور پروتئینی TIF6 با اتصال به زیرواحدهای ریبوزوم، مانع از اتصال آن‌ها به یکدیگر و سبب غیر فعال شدن ریبوزوم‌ها می‌شود با توجه به این که این فاکتور مهارکننده فقط در سیتوپلاسم برداشته می‌شود، بنابراین امکان ترجمه‌ی آزمایشی و انجام تخریب mRNA به‌واسطه‌ی جهش بی‌معنی در هسته وجود ندارد. ولی موافقان انجام پروتئین‌سازی در هسته، مدعی هستند که همیشه جمعیت کوچکی از ریبوزوم‌های فعال در هسته وجود دارد که برای یک‌بار ترجمه آزمایشی هر mRNA بالغ کافی هستند. از طرفی در اثبات این مدل دلایلی وجود دارد. مثلاً با مهار خروج mRNA از هسته، باز هم عمل تخریب به‌واسطه جهش بی‌معنی در مورد mRNA های غیر طبیعی اتفاق می‌افتد.

دلیل دیگر موافقان انجام پروتئین‌سازی در هسته، آزمایش ایبورا (Iborra) و همکارانش در سال ۲۰۰۱ است. ایبورا با استفاده از سلول‌های هلا و به‌کارگیری tRNA حامل آمینو اسید لیزین نشان‌دار، مشاهده کرد که بیش‌تر پروتئین‌های سنتز شده در سلول، حاوی لیزین نشان‌دار هستند و قسمت اعظم این پروتئین‌ها در سیتوپلاسم جای دارند؛ اما ۹ تا ۱۵ درصد این پروتئین‌های نشان‌دار در هسته قرار داشتند. انجام این آزمایش با هسته‌های یوکاریوتی جدا شده از سیتوپلاسم نیز منجر به چنین نتیجه‌ای شد. این آزمایش نشان داد که پروتئین‌های نشان‌دار موجود در هسته، در سیتوپلاسم سنتز نشده‌اند، بلکه در خود هسته سنتز شده‌اند. از طرفی محل‌های پروتئین‌سازی در هسته که با ترکیبات فلورسانس ردیابی شده‌اند، به صورت تصادفی پراکنده نشده‌اند، بلکه در محل‌های فعال رونویسی قرار دارند و مهار ورود پروتئین به درون هسته توسط ماده تاپسی‌گارگین[5] تأثیری بر فلورسانس درون هسته ندارد.

مخالفان به چند علت آزمایش ایبورا و همکارانش را مخدوش می‌دانند. از آن جمله این که احتمالاً هسته‌هایی که توسط ایبورا خالص‌سازی شده‌اند، با مقدار سیتوپلاسم حاوی ریبوزوم آغشته بوده‌اند. یا این که بافرهای استفاده شده منجر به آسیب غشای هسته و افزایش نفوذپذیری و ورود پروتئین‌های سیتوپلاسمی به درون هسته شده‌اند. از طرفی تکرار آزمایش ایبورا توسط گروهی از محققان که از فنون قوی‌تر برای

خالص سازی هسته‌ها استفاده کرده بودند، نشان داد که مقدار پروتئین‌های ردیابی شده در هسته چندصد برابر کم‌تر از آن بود که ایبورا گزارش کرده بود (۰/۳ درصد در مقابل ۹ تا ۱۵ درصد گزارش شده توسط ایبورا). بنابراین این گروه اعتقاد دارند که یا در هسته پروتئین‌سازی رخ نمی‌دهد، یا این کار به میزان بسیاری کم صورت می‌گیرد.

دلیل دیگری که موافقان انجام پروتئین‌سازی در هسته ارائه می‌دهند، این است که درون هسته‌های یوکاریوتی در محل‌های فعال رونویسی علاوه بر RNA پلی‌مراز II، ریبوزوم‌های فعال، آنزیم آمینو اسیل tRNA سنتتاز، tRNA حامل آمینو اسید و همه‌ی فاکتورهای پروتئینی لازم برای مراحل آغاز، ادامه و پایان فرایند ترجمه (فاکتورهایی همچون eIF4A1، eIF5، eIF2B، eIF2، eEF2eRF1، eEF1B، eEF1A)، وجود دارد. موافقان وجود دستگاه پروتئین‌سازی در هسته را دلیل بر انجام پروتئین‌سازی در هسته می‌دانند. اما مخالفان اعتقاد دارند که اولاً غلظت فاکتورهای لازم برای پروتئین‌سازی بسیار ناچیز است و در حدود ۱٪ سطح سیتوپلاسمی آن‌هاست و از طرفی این فاکتورها ممکن است اعمال دیگری همچون تنظیم میزان بیان ژن‌های کدکننده خود و یا دخالت در پردازش mRNA اولیه را انجام دهند و یا شاید دستگاه پروتئین‌سازی در هسته سازماندهی شده و سپس به سیتوپلاسم منتقل می‌شوند. از طرفی اعتقاد دارند که فاکتور پروتئینی TIF6 با اتصال به زیرواحدهای ریبوزوم، سبب غیرفعال شدن آن‌ها می‌شود و تا وقتی که این فاکتور مهارکننده در سیتوپلاسم از ریبوزوم جدا نشود، ریبوزوم‌ها فعال نمی‌شوند. مخالفان همچنین اعتقاد دارند که tRNA توانایی ورود به هسته‌های سالم را ندارد.

موافقان در پاسخ به این ایرادات می‌گویند که اولاً همیشه جمعیت کوچکی از ریبوزوم‌های فعال در هسته وجود دارد که برای یک‌بار ترجمه آزمایشی هر mRNA بالغ کافی هستند و ثانیاً آزمایشات مختلف نشان داده است که tRNA توانایی ورود به هسته را دارد می‌تواند در همان‌جا توسط آنزیم آمینو اسیل tRNA سنتتاز بارگذاری شود. از طرفی همین غلظت کم فاکتورهای رونویسی برای یک بار ترجمه آزمایشی کافی است.

ایراد دیگری که مخالفان وارد می‌دانند این است که هدف از تکامل غشای هسته این بوده است که محل پروتئین‌سازی از محل رونویسی و پردازش mRNA اولیه جدا باشد تا از ترجمه mRNA های اولیه‌ی دارای رونوشت‌های اینترونی و تولید پروتئین‌های غیرطبیعی ممانعت به‌عمل آید. بنابراین در صورت انجام پروتئین‌سازی در هسته، تولید پروتئین‌های غیرطبیعی حیات سلول را به‌خطر می‌اندازد. به همین علت نباید در هسته پروتئین‌سازی صورت بگیرد.

اما برخی مطالعات موافقان نشان داده است که mRNA های دارای رونوشت اینترونی از دسترس ریبوزوم‌های موجود در هسته به‌دور هستند، زیرا پس از شروع رونویسی از ژن بلافاصله عمل کلاهک‌گذاری، تشکیل دُم پلی A و حذف اینترون‌ها روی mRNA اولیه صورت می‌گیرد و سپس ریبوزوم‌ها و سایر عوامل لازم برای پروتئین‌سازی که در محل‌های فعال رونویسی قرار گرفته‌اند mRNA بالغ را برای پی‌بردن به این‌که دارای کدون پایان نابه‌جا (PTCs) هست یا نه، یک دور ترجمه آزمایشی می‌کنند. پس دیگر رونوشت اولیه‌ی ژن، در اختیار ریبوزوم‌ها قرار نمی‌گیرد تا از ترجمه‌ی آن پروتئین‌های غیرطبیعی تولید شود.

به هر حال با توجه به شواهد فوق، چنین به نظر می‌رسد که نمی‌توان به‌طور قطع، امکان پروتئین‌سازی در هسته‌های یوکاریوتی را رد کرد و یا پذیرفت. باید آزمایشات دقیق‌تری انجام پذیرد و دلایل بیش‌تری ارائه شود تا بتوانیم یکی از دو دستگاه را بپذیریم.

زیرنویس

1. nonsense-mediated mRNA decay (NMD)
2. processing
3. exon junction complex (EJC)
4. premature termination codons (PTCs)
5. thapsigargin

منابع

1. Francisco J. Iborra, Dean A. Jackson, Peter R. Cook. Coupled Transcription and Translation Within Nuclei of Mammalian Cells. Science, vol. 293, no. 5532, pp. 1139-1142 (2001).
2. Francisco J. Iborra, Dean A. Jackson and Peter R. Cook. The case for nuclear translation. *Journal of Cell Science* 117, 5713-5720 (2004).
3. James E. Dahlberg and et al.. Nuclear translation: What is the evidence? *RNA*, 9: 1-8 (2003).
4. Lubov Nathanson and et al. Nuclear protein synthesis: A re-evaluation. *RNA*, 9: 9-13 (2003).
5. Sheila V. Graham. Nonsense-mediated decay breaks the circle?. Biochem. J. 373 (10.1042/BJ2 0021920COM). Printed in Great Britain. (2003).
6. Nicolas Kuperwasser and et al. Nonsense-mediated decay does not occur within the yeast nucleus. RNA, 10: 1907-1915 (2004).
7. Matthias W. Hentze. Believe It or Not-Translation in the Nucleus. Science. VOL 293, 10 AUGUST 2001.
8. Lynne E. Maquat. Nonsense-mediated mRNA decay in mammals. Journal of Cell Science 118, 1773-1776 (2005).
9. Akira Takano, Toshyiya Endo, Tohru Yoshihisa. tRNA Actively Shuttles Between the Nucleus and Cytosol in Yeast. *Science*: Vol. 309. no. 5731, pp. 140-142 (2005).
10. R Tyler Hillman, Richard E Green and Steven E Brenner. An unappreciated role for RNA surveillance. Genome Biology, 5: R8, (2004).