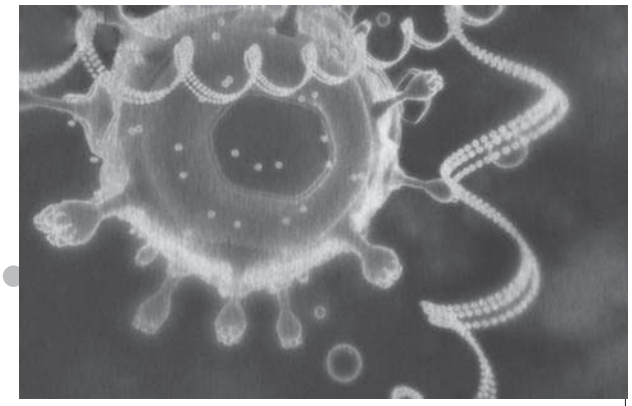


ریبوزیم‌ها

کند و کاو

گردآوری: حمیدرضا دهشیری

چکیده

پژوهشگران در دهه‌ی ۱۹۸۰ کشف کردند که بعضی از مولکول‌های RNA علاوه بر آن‌که حاوی اطلاعات وراثتی هستند، می‌توانند فعالیت آنزیمی از خود نشان دهند. این RNAهای آنزیمی **ریبوزیم**[1] نامگذاری شده‌اند و بعضی آن‌ها از RNA و پروتئین تشکیل شده‌اند. در بسیاری موارد، پیش‌ماده‌ی این آنزیم‌ها RNAهای سلولی هستند که پس از رونویسی نیازمند تغییر و پردازش‌اند. مثلاً mRNA یوکاریوت‌ها دارای رونوشت‌هایی از اینترون‌ها هستند که آمینو اسیدی کد نمی‌کنند و باید حذف شوند تا mRNA بالغ به‌وجود آید. تعدادی از این RNAهای آنزیمی درون توالی‌های اینترونی RNA قرار دارند و باعث تغییر و پردازش آن می‌شوند. نمونه‌های زیادی از آنزیم‌های ریبوزیمی به‌طور طبیعی در سلول‌ها شناسایی شده است. تعدادی هم از طریق دست‌ورزی، در مهندسی ژنتیک تهیه شده‌اند که کاربردهای متنوعی از جمله درمان بیماری‌ها دارند. از سوی دیگر محققان بخشی از توالی ریبونوکلئوتید ریبوزیم‌ها را در آزمایشگاه جدا و به‌جای آن دئوکسی ریبونوکلئوتید وارد کرده که باز هم فعالیت آنزیمی خود را هر چند با سرعت کم‌تر، حفظ کرده‌اند و می‌توانند دو RNA را از طریق فعالیت لیگازی به یکدیگر متصل کنند. از این مشاهدات در جهت تأیید این نظریه نیز استفاده شده که هنگام پیدایش حیات، ابتدا RNA حاوی اطلاعات وراثتی بوده و سپس این وظیفه را به DNA منتقل کرده است.

مقدمه

در دهه ۱۹۸۰ پژوهشگران کشف کردند که بعضی مولکول‌های RNA می‌توانند فعالیت آنزیمی از خود نشان دهند. ادامه‌ی تحقیقات تا به امروز این مطلب را تأیید می‌کند. نامگذاری ریبوزیم هم به‌خاطر این است که ماهیت این آنزیم‌ها از RNA است. اولین بررسی‌هایی که منجر به شناسایی فرایندهای اصلاح RNA شد، حاصل بررسی mRNA یوکاریوت‌ها بود. (۱۲) در یوکاریوت‌ها پس از تولید RNA اولیه قطعاتی از انتهاهای '۳ و '۵ و حتی از داخل آن‌ها حذف می‌شود که توالی‌های داخلی را اینترون گویند. این عملِ پردازشِ RNA به‌وسیله آنزیم‌های خاصی انجام می‌شود که همان ریبوزیم‌ها هستند. تعدادی از این RNAهای آنزیمی در داخل توالی‌های اینترونی قرار گرفته‌اند، یعنی اینترون‌ها به‌طور خودکار باعث پردازش خود می‌شوند. (۲ و ۱۲)

این موضوع که RNA می‌تواند خاصیت آنزیمی داشته باشد باعث تغییر فرضیه‌هایی در تکامل شده است. مثلاً این‌که ابتدا پروتئین‌ها به‌وجود آمده‌اند یا نوکلئیک اسیدها؟ (۱۰)

عقیده بر این است که هنگام پیدایش حیات در زمین ابتدا RNA به وجود آمده است که توانایی آنزیمی و نیز ذخیره اطلاعات ارثی را هم‌زمان داشته است (۸). در بعضی باکتری‌ها (مثل *Bacillus brevis*) ترکیبات آنتی‌بیوتیکی با ساختار پلی‌پپتیدی کوتاه بدون کمک ریبوزوم‌ها ساخته می‌شود (مثل گرامیسیدین S، تیروزیدین و باسیتراسین). برای انجام این اعمال غیرعادی آنزیم‌هایی لازم است که ساختارهایی بسیار طویل‌تر از الیگوپپتیدهایی دارند که تولید می‌کنند. همزمان اینترونی از rRNA پروتوزوآی مژکدار کشف شد که قادر به حذف خودش از مولکول پیش‌ساز بود، بدون این‌که پروتئین‌هایی وجود داشته باشد.

نظریه دیگری ابراز داشته است که مولکول RNA قادر به همانندسازی خودش است. پلی‌مرهای کوتاه در خارج از بدن موجود زنده شکل گرفته و فعالیت کاتالیکی ضعیفی داشته‌اند. این نوع همانندسازی مستعد خطا و اشتباه بوده است. از سوی دیگر RNA قادر به استفاده از خود یا RNAهای دیگر به‌عنوان الگویی جهت پلی‌مر شدن نوکلئوتیدها و تشکیل RNA بوده است.

بسیاری از اشتباهات طی همانندسازی اولیه باعث ایجاد خزانه‌ی ژنتیکی متنوع شده و انتخاب طبیعی آن مولکول‌هایی را که همانندسازی سریع‌تر بوده‌اند و دقت و صحت بیش‌تری داشته‌اند، برگزیده است.

آنزیم‌شناسی ریبوزیم‌ها

ریبوزیم‌ها با اتصال به RNAهای هدف موجب غیر فعال شدن آن‌ها می‌گردند. پنج گروه ریبوزیم براساس خصوصیات ساختار سه‌بُعدی به‌دست آمده است:

۱ـ اینترون گروه ۱ تتراهیمنا[۲]

۲ـ RNase P

۳ـ ریبوزیم سرچکشی[۳]

۴ـ ریبوزیم سنجاق‌سری[۴]

۵ـ ریبوزیم ویروس هپاتیت دلتا

بعضی از این آنزیم‌ها می‌توانند مولکول‌های RNA را از داخل یا خارج مولکولی بشکنند، مانند ریبوزیم سرچکشی.

ساختار ریبوزیم RNase P از دو مولکول RNA و پروتئین تشکیل شده است که از طریق پیوند کووالانسی به یکدیگر متصل اند (RNA آن ۱۳۰ و پروتئین‌اش ۲۰ کیلو دالتون است) (۱۲ و ۱۰). همان‌طور که از مقایسه‌ی اندازه و وزن مولکولی RNA فوق با پروتئین مربوطه بر می‌آید، بخش اصلی و جایگاه فعال آنزیم، RNA آن است و قسمت پروتئینی به پایداری شکل فضایی RNA کمک می‌کند. همچنین این پروتئین با خنثی کردن بار منفی RNA، سبب ترکیب RNA آنزیمی با RNA پیش‌ساز می‌شود. در صورت عدم وجود پروتئین فوق بارهای همنام روی دو مولکول RNA باعث دفع آن‌ها از یکدیگر می‌گردد. در شرایط فیزیولوژیک وجود هر دو مولکول برای انجام فعالیت آنزیم لازم است، ولی در شرایط غیر فیزیولوژیک در حضور بافرهای دارای مقادیر زیادی یون منیزیوم، بخش RNA آنزیم به تنهایی و با دقت خاصی می‌تواند عمل شکستن را با سرعت تقریباً نزدیک مولکول کامل آنزیم انجام دهد، یعنی در واقع به‌صورت یک هولوآنزیم یا آنزیم کامل عمل می‌کند و خود تجزیه نمی‌شود.

ریبوزیم‌های دیگری به نام‌های RNase P2، RNase o، RNase F در باکتری *E. coli* شناسایی شده که مانند RNase P عمل می‌کند(۱۲).

ریبوزیم‌های سرچکشی شناخته‌شده‌ترین گروه ریبوزیم‌ها هستند که نام‌شان به علت شباهت ساختار دوم‌شان با شکل سر یک نوع کوسه‌ماهی به نام کوسه‌ی سرچکشی است. بعضی از ریبونوکلئوتیدهای موجود در توالی آن‌ها با یکدیگر جفت‌شده و شکل ساقه به‌خود می‌گیرند و بقیه‌ی مولکول به حالت تک‌رشته باقی می‌ماند که به آن **لوپ** گویند(۲).

ریبوزیم‌ها در مقایسه با RNAهای آنتی‌سنس معمولی، توان برگشت‌پذیری دارند و یک مولکول ریبوزیم قادر به غیر فعال کردن چند RNA هدف است. همچنین اختصاصی عمل می‌کنند که هر دو این خصوصیت‌ها متأثر از طول بازوی اتصال است. اگر طول بازوهای اتصال خیلی کوتاه باشد اثر آنزیم بر RNA هدف کاهش می‌یابد. از سوی دیگر هیبریدهای بسیار پایدار هم فعالیت کاتالیکی کمی دارند، زیرا مواد شکسته‌شده به آهستگی جدا می‌شوند. بنابراین طول بازوی تشکیل شده اهمیت زیادی در شکستن پیش‌ماده و جدایی سریع محصولات دارد(۲).

عملکرد ریبوزیم‌ها در سلول

۱ـ تکامل RNAها در سلول‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی

۲ـ تنظیم و کاهش بیان ژن‌های سلولی به‌طور طبیعی و یا دست‌ورزی شده (۱ و ۶ و ۱۱)

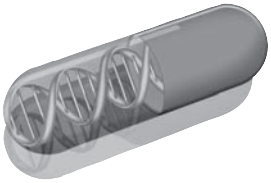
تکامل RNA در پروکاریوت‌ها

تغییرات RNA در پروکاریوت‌ها ساده‌تر از یوکاریوت‌هاست. در پروکاریوت‌ها تقریباً هیچگونه تغییر روی mRNA انجام نمی‌گیرد و عمل ترجمه با نسخه‌برداری توأم می‌شود. مولکول‌های tRNA پروکاریوت‌ها به‌صورت RNAهای بلند واجد چنین tRNA و گاهی به همراه rRNA سنتز می‌شوند که این مولکول‌های بزرگ، **RNAی پیش‌ساز** نامیده می‌شوند. سپس طی فرایندهایی و با فعالیت ریبوزیم‌های مختلف، RNA پیش‌ساز قطعه‌قطعه می‌شود و هر قطعه پس از تغییراتی تبدیل به tRNA بالغ می‌شود(۱۲).

rRNAها نیز مانند tRNA به‌صورت مولکول پیش‌ساز سنتز می‌شوند سپس توسط آنزیم‌های RNase مختلف شکسته می‌شوند و پس از تغییرات اندک به‌عنوان rRNA بالغ عمل می‌کنند. مهم‌ترین مکانیسم تکامل RNA که در پروکاریوت‌ها بررسی شده، مربوط به سنتز rRNA و tRNA در باکتری اشریشیا کولی است. هنگام رونویسی، RNA پیش‌ساز نسبتاً بزرگی (۴۵S) ساخته می‌شود که دارای سه مولکول rRNA و چهار tRNA است(۱۲). RNase P مولکول پیش‌ساز را از انتهای '۵ مربوط به tRNAها برش می‌دهد. RNase III نیز قطعات منحصر به rRNAها را برش می‌دهد و جدا می‌کند. در انتها قطعات اضافه‌ی مولکول‌های حاصل حذف و مولکول‌ها کامل می‌شوند.

تکامل RNA در یوکاریوت‌ها

یوکاریوت‌ها سیستم تکاملی پیچیده‌تری دارند، زیرا در ژن‌های آن‌ها قطعات اینترونی وجود دارد. تقریباً همه‌ی اینترون‌ها با GU



شروع و با AG خاتمه می‌یابند. پردازش در مورد هر سه نوع RNA انجام می‌شود، ولی ساز و کار هر مورد متفاوت است. انتهای هر '۳ و '۵ دارای توالی‌های خاصی هستند که در پردازش دخالت دارند. این توالی‌ها شامل دو نوکلئوتید یا بیش‌تر هستند. دو ساز و کار اصلی برای پردازش RNAهای یوکاریوتی وجود دارد:

۱ـ ساز و کار آنزیمی

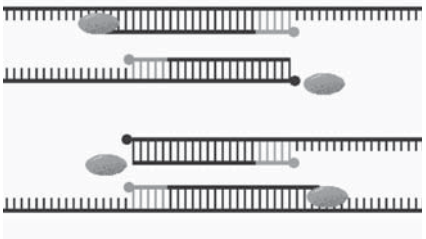
۲ـ ساز و کار خودپردازشی

ساز و کار آنزیمی شبیه پروکاریوت‌هاست و بیش‌تر در مولکول های tRNA و rRNA مشاهده می‌شود. در این روش اینترون‌ها واجد قطعات خاص و مکملی هستند که با اتصال به یکدیگر شکل فضایی خاصی ایجاد می‌کنند که سبب شناسایی این توالی‌ها توسط آنزیم‌های RNase اختصاصی (ریبوزیم‌ها) می‌شود. سپس RNA را برش می‌دهند و اینترون‌ها خارج می‌شوند و در مرحله‌ی بعدی اگزون‌ها به هم متصل می‌شوند(۱۲).

خود پردازش بیش‌تر که در mRNAهای یوکاریوتی به‌کار می‌رود، در rRNAها نیز وجود دارد. مهم‌ترین ویژگی این ساز و کار آن است که در آن، عمل پردازش RNA به توالی‌های داخل اینترونی وابسته است که خصوصیت آنزیمی RNA را یادآور می‌شود.

بحث و نتیجه گیری

براساس شواهد و تحقیقات انجام‌شده عقیده بر این است که هنگام پیدایش حیات در زمین، ابتدا مولکول‌های RNA به‌وجود آمده‌اند (۲ و ۵ و ۱۲). زیرا در آن شرایط مولکول‌های RNA دارای توانایی آنزیمی و ذخیره اطلاعات وراثتی به‌طور همزمان بوده‌اند. از سوی دیگر این اطلاعات از نسلی به نسل دیگر انتقال می‌یافته است. همچنین امروزه این عقیده که بعضی RNAها دارای فعالیت آنزیمی هستند در انواعی سلول‌ها مورد مشاهده قرار گرفته است. یعنی RNAها در توالی‌های خاصی از خود شکل فضایی سه‌بعدی به‌صورت جایگاه فعال آنزیمی به‌وجود آورده‌اند که پیش ماده (معمولاً RNA) در آن وارد و کاتالیز می‌شود. اخیراً در شرایط آزمایشگاهی توالی‌هایی از ریبوزیم‌های لیگازی جدا و به‌جای آن دئوکسی ریبونوکلئوتید وارد کرده‌اند که در نتیجه دئوکسی ریبوزیم‌های لیگازی تولیدشده، قادرند دو مولکول RNA را به یکدیگر متصل کنند؛ اما این دئوکسی ریبوزیم‌ها تابه‌حال به‌طور طبیعی مشاهده نشده‌اند (۷ و ۹). این گونه مشاهدات می‌تواند تأییدی بر این نظریه باشد که ابتدا اطلاعات وراثتی به‌صورت RNA بوده سپس به‌علت ناپایداری، این نقش به DNA واگذار شده است(۷). به‌علاوه امروزه معلوم شده است که DNA از نظر ساختار شیمیایی پایدارتر از RNA است که بدین‌ترتیب اطلاعات وراثتی دستخوش تغییرات بسیار کمتری می‌شود.



زیرنویس

1. Ribozyme
2. Tetrahymena
3. Hammerhead
4. Hair Pin

منابع

1. Beckley, SA., Liu, P., Stover, ML., and et al. Reduction of taget gene expression by a modified U1 Sn RNA. American society for microbiology. 2001, 21(8): 2815-25.
2. Du, Q., Ribozyme enzymology. Best viewed at 1024768 monitor resolution. 1999: 1-4.
3. Doherty, EA., and Doudna, JA., Ribozyme structures and mechanisms. Annu Rev Biophys Struct. 2001, 30: 457-75.
4. Ikawa, Y., Tsuda, K., Matsumura, S., and et al. De novo synthesis and development of an RNA Enzyme. PNAS, 2004, 101: 13750-55.
5. Joyce, GF., Directed evolution of nucleic acid enzymes. Annu Rev Biochem. 2004, 73: 791-836.
6. Liber, A., Strauss, M., Selection of efficient cleavage sites in target RNAs by using a ribozyme expression library. ASM 1995, 15(1): 540-51.
7. Paul, N., Springsteen, G., and Joyce, GF., Conversion of a ribozyme to a deoxyriboyme through In Vitro evolution. 2006, 13: 329-38.
8. Rogers, J., and Joyce, GF., A ribozyme that lacks cytidine. Nature. 1999, 402 (6759): 323-5.
9. Reader, JS., and Joyce, GF., A ribozyme composed of only two different nucleotides. Nature. 2002, 420: 841-4.
10. Stans Field, WD., Colome, JS., Cano, RJ., Molecular and Cell Biology. Schaums outlines series MCGRAW. Hill Pub. PL 127 and 346-7.
11. Yeow, W. sh., AU, WC., Lowther, WJ., and Pitha, PM., Downregulation of IRF-3 levels by ribozyme modulates the profile of IFNA subtypes expressed in infected human cells. J. of Virology. ASM. 2001, 75(6): 3021-7.
۱۲. دکتر گیتی امتیازی، و همکاران، مبانی زیست‌مولکولی و مهندسی ژنتیک، انتشارات مانی دانشگاه اصفهان، چاپ سوم، ۱۳۸۰، ص ۱۵۸-۱۱۹.