

کنترل رونویسی DNA در کارخانه های

سلول میکروبی

Lidia Boss. Monika Glinkowska

Grzegorz Węgrzyn

مترجم: شبیم شامنصوری

کارشناس ارشد میکروبیولوژی

سرشناسه	گلینکوفسکا، مونیکا Glinkowska, Monika
عنوان و نام پدیدآور	کنترل رونویسی DNA در کارخانه‌های سلول میکروبی / مولفان مونیکا گلینکوفسکا، لیدیا باس، گریز گورز و گرز؛ مترجم شبنم شامنصوری.
مشخصات نشر	تهران: انتشارات ماهواره، ۱۳۹۷. ۱۱۰ ص؛ ۱۴/۵ × ۲۱/۵ س.م.
شابک	978-600-459-305-2
سبب فهرست نویسی	فیفا
سال داشت	عنوان اصلی: DNA replication control in microbial cell factories, 2014.
موضوع	دی. ان. ا. -- همانندسازی - تنظیم, DNA replication - Regulation
شناسه افزوده	باس، لیدیا, Boss, Lidia
شناسه افزوده	ونگزن، گریز گوش, Węgrzyn, Grzegorz
شناسه افزوده	شامنصوری، شبنم، - ۱۳۵۴، مترجم
رده بندی کنگره	QP۱۴/۵/۳۸ ۱۳۹۷
رده بندی دیویی	۵۷۲/۸۶۴۵
شماره کتابشناسی ملی	۵۱۵۰۶۱۸

کنترل رونویسی DNA در کارخانه‌های سلول میکروبی

Glinkowska, Monika, Boss, Lidia, Węgrzyn, Grzegorz

مترجم: شبنم شامنصوری

ناشر مجوز: تهران، ماهواره
 نوبت چاپ: اول، ۱۳۹۷
 شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۴۵۹-۳۰۵-۲
 ناظر کتاب: سبزی، علی محمد
 قیمت: ۸۰۰۰ تومان
 تیراژ: ۵۰ جلد

دفتر انتشارات:

میدان فاطمی، خ چهارستون، پ. ۵۰، و. ۴، ۰۲۱۸۸۳۹۲۲۶۷، ۰۹۱۹۰۶۲۱۴۱۸

مسئولیت صحت مطالب و پاسخگویی به شکایت های حقوق مادی و معنوی کتاب بر عهده مولف است.

کلیه حقوق برای مولف و حق مجوز برای انتشارات محفوظ است.

فهرست مطالب

۱	چکیده
۲	مقدمه
۵	هماهنگی تکثیر مواد ژنتیکی با رشد سلول: نظریات معاصر و فرضیات گذشته
۱۹	سازماندهی ساختار فرایندهای سلولی و تنظیم چرخه سلولی
۲۵	ارتباط میان متابولیسم و رونویسی DNA
۴۰	فعال سازی فاکتور رونویسی مشکل حل نشده
۴۹	فعالیت DNA توپولوژیستگاه انتقال متوقف می شود
۵۱	پروتئین های مرتبط با برابری، فعالیت ابتدایی <i>dnaA</i> را تنظیم می کنند
	فعل و انفعال <i>dnaA</i> با اجزاء اسید غشای سلولی متحرک، تنظیم نوکلئوئید محصور و
۵۴	متصل به <i>oriC</i>
۵۹	تأثیر رونویسی DNA در ساختار و عملکرد
۷۲	نتایج
۷۳	منابع

فرایند افزایش مواد ژنتیکی برای تولید سلول‌های فرزند و ارگانیزم‌ها، حیاتی است. هر مانعی در تکمیل صحیح ژنوم رونویسی، یک تهدید برای تمامیت سلول است. بنابراین، این مرحله به شدت تنظیم کننده است، اساساً در فاز شروع، و به ویژه در سلول‌های باکتری، محیط ممکن است متحمل تغییرات سریع متناظر با شرایط فانی رشد شود. مطالعات سال‌های اخیر، مدارکی ارائه کردند که نشان می‌دهد تنظیم رونویسی DNA در باکتری، خیلی پیچیده‌تر از پیش بینی‌های گذشته است. به عنوان مثال، کنترل لایه‌های متعدد، برای اطمینان از هماهنگی این فرایند با الزامات تغییرات سلولی و چرخه سلولی، می‌باشد. فرایندهای متابولیک و ترکیبات علائم ممکن است به عنوان نقطه‌ای در نظر گرفته شوند که درادغام رونویسی ژنوم با شرایط رشد رخ دهد. هم چنین احتمالاً، اتصال DNA سنتز شده با متابولیسم سلولی ممکن است شامل تعامل رونویسی پروتئین‌ها با دیگر کمپلکس‌های ماکرومولکولی، مسئول در فرایندهای مختلف سلولی باشند. بنابراین، مجموعه دقیق عوامل شرکت کنند، در راه اندازی شروع رونویسی به شرایط مختلف رشد وابسته است. بنابراین، درک تنظیم رونویسی DNA مستلزم قرار دادن این فرایند در چارچوب دانش کنونی ما درباره متابولیسم باکتری و هم چنین ساختار کروموزومی و سلولی می‌باشد. علاوه بر این، هر دو اشرشیا کولی و سلول‌های یوکاریوتی، پروتئین‌های شروع رونویسی، علاوه بر با حرکت درآوردن کمپلکس ترکیبی رونویسی، نقش‌های دیگری نیز دارند، نقش دیگری که تشکیلات لایه هماهنگ کننده تکثیر DNA با سیکل سلولی بازی می‌کند، هنوز به خوبی درک نشده است. در این کار، دانش کنونی ما نشان می‌دهد که

متابولیسم‌های بیوشیمیایی تنظیم کننده شروع رونویسی DNA در *E. coli* بر کنترل فعالیت پروتئین DnaA متمرکز است و این نظریه را با ارائه نمونه هایی از ارتباط مستقیم میان رونویسی DNA و دیگر فرایندهای سلولی به تفصیل شرح می‌دهیم. علاوه بر آن، به شباهت‌های مکانیسم‌های تنظیم کننده رونویسی عامل DNA در سلول‌های پروکاریوت و یوکاریوت اشاره می‌کنیم، و آن را برای درک مفهوم فرایندهای پیچیده تر، نظیر تولید سرطان ارائه می‌دهیم.

مقدمه

با توسعه تکنیک تصویربرداری در داخل بدن در سال‌های اخیر، دنیای جدید ساختار سلول باکتری کشف شد. در بررسی‌های قبلی، میزان کنترل مکانی و زمانی اجزای آن غیرقابل پیش بینی بود (Govindarajan et al. 2012). Vande vill et al. 2009). برخی از این بررسی‌ها که در پاراگرافهای بعدی ارائه می‌شوند، بیان گر یک نظر کلی از بررسی‌های عمده و مهم است که موفقیت آن‌ها در زمینه‌های خاص به میزان زیادی به مراجعات علمی مقالات مروری متکی است. اهمیت ویژه این نتایج با پیشرفت در درک ساختمان بافت سلولی تحتانی باکتری مرتبط است که حاصل آن، میزانی از تقسیم مولی است و به علاوه بر ساختار شیمیوتاکسی و تحرک نیز حاکم است. آن‌ها مدارکی درباره تشکیلات ویژه و بسیاری از کمپلکس‌های پروتئین لوکالیزه شده ارائه دادند، که از قطعات وب اتصالی همراه با فعل و انفعالات انبوهی تشکیل شده‌اند (Rudner and Losick, 2010). به علاوه، بعضی پروتئین‌های دیگر به فرم خوشه هایی هستند که با توجه به محرک‌های خارجی و داخلی، عملکردهای خاص ترکیبات

سلول را نشان می‌دهند. اغلب آن‌ها از فیلامنت‌های ستاره‌ای شکل (Ingerson-Celler et al. 2009; Mahar and Gatai. 2012) یا گروه‌های لوکالیزه شده در سیتوپلاسم و غشاء سلول تشکیل شده‌اند (Shapiro et al. 2009). مطالعات اخیر درباره سلول‌های کالوباکتر کرسنتوس نشان می‌دهد که در حدود ۱۰٪ کلیه پروتئین‌ها، به طور غیر تصادفی درون سلول توزیع شده‌اند (Werner et al. 2009). مکانیسم مسئول مهار پروتئین‌های خاص و نیروی محرکه آن‌ها که در سلول مهار می‌شوند، شامل ترکیبات هتروژنیک غشاء (Fishov and Norris 2009; 2013; Mileykovskya and Dowhan 2009) و خمیدگی (Ramamurthi et al. 2009; 2009; Ramamurthi and Josic. 2009)، تعامل با عناصر اسکلت سلولی (White et al. 2010; Kawai et al. 2000; Heidegger et al. 2011) و کروموزوم‌های انحصاری می‌باشد (Sabeti and Kuhlman and Cox. 2012; Emberly. 2013).

تقسیم غیر تصادفی متناسب با پروتئین‌های درون سلولی، همانند توزیع mRNA، در یک فضای متعادل، تشخیص داده شده است (Campos and Jacob-Wagner. 2013). گرچه در مورد مکانیسم‌های راجع mRNA لوکالیزه شده، نتایج به دست آمده از *C. crescentus* و *Escherichia coli* نشان می‌دهد که توزیع mRNA مربوط به مکان‌هایی است که رونویسی در آن‌ها می‌شود است (Montero-Llopis et al. 2010)، هم چنین نشان داده شد که خواص ساختمانی کروموزوم ممکن است چارچوبی را برای افزایش غلظت پروتئین‌های نگهداری شده در بافت‌های سلولی لوکالیزه ارائه دهد.

در بررسی‌های چند سطر بالاتر، نظریه ساختاری کروموزوم باکتری نیز متحمل تغییرات عمده‌ای شد. در گذشته تصور می‌شد که مخزن منفعل تشکیلات

ژنتیکی و طولانی شدن رشته های DNA تصادفی است، اما اکنون به عنوان نهاد بسیار سازمان یافته تشخیص داده شد که نقش موثر ساختاری آن مؤید تنظیم رونویسی DNA (هم چنین تعیین متقابل) می باشد (Dorman, 2013؛ Fogg et al. 2012؛ Wang et al. 2013؛ Muskhelishvili and Travers, 2013). در انتها، ترکیب های ناهمگن غشاء متوقف می شوند، این در حالی است که خمیدگی آن ها، لالت بر تشخیص کمپلکس های پروتیینی لوکالیزه دارد (Ramamurthi and Fishov and Norris, 2012؛ Glick, 2009). بنابراین، بررسی های اخیر، درک سلول باکتری در کشف سطوح جدید فرایندهای سلولی سازمان یافته را دگرگون کرده است. از آن لحاظ، درک صحیح تنظیم رونویسی DNA در *E. coli* که فرایند بیولوژیکی بسیار مهمی است، قابل توجه است، که بیشتر بر روی توضیحات بیوشیمی-ژنتیک و والی های پروتئین های درگیر در مراحل متوالی، متکی می باشد.

مدل های موجود، توضیحات کمی راء هماهنگ کردن تکثیر DNA با متابولیسم سلولی ارائه می دهند. آن ها بر اساس میزان نوسانات فرم فعال DnaA شروع کننده رونویسی، به مبداء رونویسی در استرین متصل می شوند. با این حال، چگونگی این نوسانات در ارتباط با شرایط رشد توضیح داده نشده است. نظریه متداول در *E. coli* این است که، توده اولیه رونویسی، توده سلولی متصل می شود، و بنابراین، رونویسی DNA در قسمت خاصی از مبداء آغاز می شود (قسمت شروع) (Donachie, 1968). اما، آیا این نسبت ثابت یا متغیر، با نرخ رشد باقی می ماند، هنوز مورد بحث است (Wold et al. 1994). علاوه بر این، پشتیبانی از توده سلولی وابسته به مکانیسم های رونویسی بیرونی در *E. coli* محدود است (Hill et al. 2012). علاوه بر آن، مکانیسم های هماهنگ کننده

رونویسی DNA، تقسیم سلولی، نگهداری اندازه سلول هموستازی، نامشخص باقی مانده است. در اینجا، متذکر می‌شویم که درک موضوعات مربوط به مکان تنظیم رونویسی DNA و کنترل چرخه سلولی در بافت خارجی نشان دهنده تشکیل سلول باکتری و متابولیسم است. به طور ویژه، شایان ذکر است که شواهد زیادی مبنی بر هماهنگی مستقیم رونویسی DNA در *E. coli* و *S. subtilis* همراه با عملکرد سلول اصلی وجود دارد: متابولیسم کربن مرکزی (CCM)، تکثیر، انتقال، و کروموزوم‌های پویا. اشاره کردیم که این هماهنگی ممکن است بواسطه تبادل میان کمپلکس پروتئین بکار گرفته شده در این فرایندها و تشعشع مستقیم تعاملات پروتئین-پروتئین و همچنین از طریق تغییر در ساختمان DNA به اتمام رسد. هم چنین نمونه‌هایی از مکانیسم‌های مشابه فعال در سلول‌های یوکاریوت‌ها می‌کنیم.

هماهنگی تکثیر مواد ژنتیکی با رشد سلول: نظریات معاصر و فرضیات گذشته

زیستگاه‌های طبیعی *E. coli* شرایط زندگی پایداری ارائه می‌دهند. بنابراین، سلول‌های باکتری به سرعت شرایط فیزیولوژی خود را با تغییرات محیطی و منابع غذایی در دسترس تنظیم می‌کنند، در شرایط مساعد، تجمع در سلول‌های سریع‌تر و سلول‌ها بزرگتر هستند، در زمان قحطی، رشد آهسته است و اندازه سلول‌ها کاهش می‌یابد. قبل از تقسیم، مواد ژنتیکی با مصرف انرژی، فرایند رونویسی DNA را تکرار می‌کنند، و لازم است کروموزوم‌ها قبل از تفکیک، جداسازی شوند. با وجود منابع کافی، همه‌ی این فرایندها با موفقیت به پایان

می‌رسند. بنابراین، تجمع توده، رونویسی DNA کروموزومی، تفکیک، و تقسیم سلولی باید با هماهنگی مطمئن انجام شوند، کروموزوم‌ها فقط یکبار در هر چرخه سلولی رونویسی می‌شوند، و هر سلول فرزند یک کپی صحیح با حفظ اندازه مناسب به ارث می‌برد. در نتیجه، در باکتری، رونویسی DNA، همچنین سنتز ماکرومولکول‌های کلیدی - RNA و سایر پروتئین‌ها - با دسترسی به مواد غذایی و سرعت رشد مرتبط است (Dennis and Bremer, 1974). چگونگی تنظیم پارامترهای چرخه سلولی برای تغییر میزان نرخ رشد بنیادی، مسأله اساسی و برجسته در فیزیولوژی باکتری است. درک کنونی این مسائل، عمدتاً از مطالعات (Helmstetter and Cooper, 1968) استنباط شد، که ۴۵ سال پیش انجام شده بود.

شرح نتایج توسط (Helmstetter and Cooper, 1968) منتشر شد، لازم است اتفاقات چرخه سلولی در زمان و بین ارائه شود، اینجا می‌توان آن را در سه دوره پی در پی تشریح کرد: دوره میانی که بیان چرخه تقسیم و شروع تکثیر DNA (دوره B) است، دوره لازم برای سنتز DNA کروموزومی (دوره C)، و فاصله میان تکمیل رونویسی و پایان چرخه تقسیم (دوره D). در این مقاله، Cooper and Helmstetter، نشان دادند که تحت شرایط دمایی ثابت، افزایش مواد غذایی موجود با کاهش زمان مضاعف شدن توده همراه است، در حالی که در دوره‌های C و D، مدت زمان تولید نسل کمتر از ۶۰ دقیقه ثابت باقی می‌ماند (Cooper and Helmstetter, 1968). برای توضیح این مسئله، آن‌ها اشاره کردند که در نتیجه رشد سریع سلول‌های باکتری، دور بعدی رونویسی DNA شروع می‌شود، و در ضمن در موجود زنده پیشرفته، رونویسی دو سویه انجام می‌شود. این نتیجه گیری به ما اجازه می‌دهد تا بتوانیم چگونگی رشد جمعیت باکتری با دو

برابر زمان کوتاهتر از زمان مورد نیاز برای سنتز یک کپی کامل از DNA کروموزومی، را شرح دهیم (Cooper and Helmestetter, 1968).

اساس مدل ارائه شده در بالا به درک ما از کنترل رونویسی DNA در *E.coli* کمک می‌کند، گرچه، چرخه سلولی به عنوان یک فرایند ثابت از مراحل متوالی موجود است، اما معمولاً زمانبندی با شروع رونویسی DNA تعیین می‌شود. با این وجود اثبات شد که رشد باکتری با دو برابر شدن زمان بیش از ۷۰ دقیقه، در آن رونویسی در شرایط متابولیک را با تعدیل طول دوره C تنظیم می‌کند (Michelsen et al. 2003). بنابراین، مدل Cooper- Helmestetter تنها کنترل متابولیک سویل سازی در رونویسی DNA را محاسبه می‌کند، بلکه شواهد جمع آوری شده توسط (Janniere et al. 2007; Maciag et al. 2011)، نیز نشان می‌دهد که سلول چگونه به موقع، زمان مناسب شروع مرحله مضاعف شدن DNA را تعیین می‌کند. به عنوان یک جایگزین، اشاره شد که چرخه سلولی به مرحله گسترش رشد سلول رونویسی کروموزوم، تفکیک، و تقسیم سلولی، وابسته است، که به طور مستقیم تنظیم می‌شود، ولی وابستگی به نقطه بازرسی، تنظیم مناسب این وقایع را تعیین می‌کند (Boye and Wang and Levin. 2009; Nordstroem. 2003). پیشنهاد کردیم که مسیر متابولیک و ارتباط ماشین رونویسی با کمپلکس‌های ماکروملکولی، می‌تواند با انجام عملکرد اساسی سلولی در نقطه بازرسی پایه گذاری شود. بحث‌های بعدی، به طور خلاصه نظریه‌های جدید تنظیم رونویسی DNA در *E.coli* را شرح می‌دهیم و به بعضی از پرسش‌های عمده درباره مکانیسم آن‌ها اشاره می‌کنیم.