ترجمه فا

TarjomeFa.Com

ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

پروموتورهای دوطرفه در نسخه برداری ژنوم پستانداران

چکیده

در ژنوم انسانها و سایر پستانداران یک تعداد زیادی از جفت های به هم نزدیک ژنها که در جهات مخالف نسخه برداری می شوند، مشخص شده است. نسخه برداری اینها با به اصطلاح پروموتورهای دوطرفه هدایت می شود. این مقاله مروری اختصاص دارد به مشخصات پروموتورهای دوطرفه و خصوصیات ساختاری آنها. ترکیب عناصر پروموتور هسته در پروموتورهای یک جهته و دوجهته مرسوم با هم مقایسه شده است. داده ها درباره محلهای پیوند شیمیایی فاکتورهای نسخه برداری که اساس بویژه پروموتورهای دوطرفه می باشند مورد بحث قرار گرفته است. مثالهایی از پروموتورهایی توضیح داده شده است که ژنهای کدگذاری کننده پروتئین را که با پلیمراز RNA ی II نسخه برداری می شوند و ژنهای RNA غیرکدگذاری کننده را که با پلیمراز RNA ی III نسخه برداری می شوند، به طور مشترک دارند. داده های بدست آمده از تحلیل ترانس کریپتوم جهانی درباره وجود RNA ی انتی سنس غیرکدگذاری کننده کوتاه در ارتباط با پروموتورها در زمینه فرضیه شروع نسخه برداری دوطرفه به شکل یک خاصیت ذاتی پروموتورهای یوکاریوتی مورد بحث قرار گرفته است.

کلیدواژه ها: ساختار ژنوم، پروموتورهای دوطرفه، نسخه برداری واگرا، ترانس کریپتوم، عناصر هسته ای پروموتور، شروع نسخه برداری، جزایر CpG، عوامل نسخه برداری، RNAهای غیرکدگذاری کننده کوتاه.

مقدمه

ژنوم های یوکاریوتی بالاتر زیادند و یک محل مهم در آنها به توالی غیرکدگذاری کننده مربوط است. بسیاری ژنهای کدگذاری کننده پروتئین ها دارای نواحی تنظیم کننده '5 خیلی گسترده ای می باشند که حاوی پروموتورهای متناوب است، که اغلب با ده ها هزار نوکلئوتید مجزا شده اند. علی رغم این حواشی در ژنوم های انسانی و سایر پستانداران تعداد زیادی جفت ژنهای به هم نزدیک و با جهت گیری سر به سر و با نسخه برداری در جهات مخالف وجود دارد. چنین جفت ژنهایی با نواحی بین ژنی کوچکی با طول کمتر از یک هزار جفت باز (kb) مجزا شده اند، که دارای یک فعالیت پروموتوری دوطرفه می باشند. این مقاله مروری درک و فهم کنونی را از شیوع پروموتورهای دوطرفه در ژنومهای پستانداران، خصوصیات ویژه سازماندهی آنها و عملکردشان، و فاکتورهای نسخه برداری،

محلهای پیوند که در پروموتورهای دوطرفه بیش از حد متظاهرند، تحت پوشش قرار می دهد. در بخش نهایی مقاله مروری، ما درباره این فرضیه بحث کرده ایم که توانایی شروع نسخه برداری دوطرفه یک خصوصیت ذاتی پروموتورهای یوکاریوتی است.

شیوع پروموتورهای دوطرفه در ژنومهای پستانداران

کدگشایی توالی نوکلئوتیدی ژنوم انسانی احتمال تحلیل جهانی سازماندهی ژن را گشوده است. در واقع در چنین مطالعات اولیه ای، نشان داده شده که جفت های ژنی که خیلی به هم فشرده می باشند و جهت گیری سر به سر دارند از یک فراکسیون خیلی اساسی ژنهای کدگذاری کننده پروتئین تشکیل شده اند. بویژه، مشخص گردیده است که 31 تا از 144 ژن کروموزوم 21 یعنی 22 درصد آن در جهت گیری سر به سر واقعند و با فاصله دهنده های کمتر از 1 کیلوبایتی جداسازی شده اند. یک نسبت مشابه (56 ژن با چنین جهت گیری برابر با 319 (یا 18 درصد) در کروموزوم 22 یافت شده است. جستجو برای چنین جفت ژنهایی براساس نقشه برداری cDNA طول کامل ژنوم انسانی ارقام تا اندازه ای کمتری را نشان داده است. تحلیل فاصله میان 23752 ژن نشان داده است که بیش از ده درصد ژنهای کدگذاری کننده پروتئین انسانها از پروموتورهای دوطرفه نسخه برداری می شوند. درمقاله Koyanagi و همکارانش و Frank و همکارانش نشان داده است که غنی سازی جفت ژنهای دوطرفه نزدیک بهم که مشخصه ژنومهای پستانداران می باشد در سایر مهره داران کمتر برجسته است. پیشگویی پروموتورهای دوطرفه در ژنومهای انسانی و پستانداران به طور موفقیت آمیزی با استفاده از روشهای بیوانفورماتیک اجرا گردید. مطالعه ویژگی های بیان ژن موش که از روی پروموتورهای دوطرفه با هیبریداسیون با میکروآرایه ها نسخه برداری شده اند نشان داده است که خیلی اوقات ژنهای نسخه برداری شده در جهات مخالف از یک پروموتور دوطرفه به طور هماهنگی تنظیم شده است. فعالیت های پروموتورهای دوطرفه در چهار خط سلولی مختلف تعریف گردید و مشخص شد که کارایی نسخه برداری در جهات مخالف می تواند تا حدی بسته به نوع سلول تحت کنترل درآید. بااینحساب، ژنومهای پستانداران حاوی یک تعداد زیادی پروموتورهای دوطرفه جهت گیری کننده نسخه برداری جفت ژنهای با جهت گیری سر به سر نزدیک به هم می باشند.

مشخصات ساختاری پروموتورهای دوطرفه

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

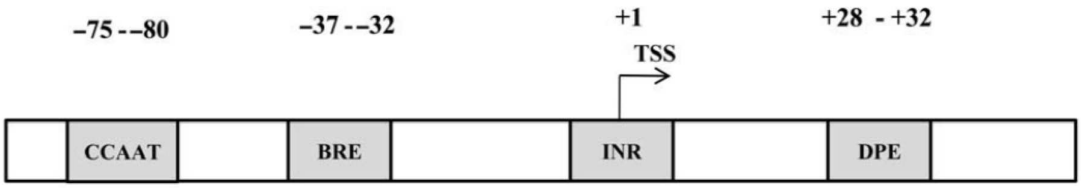
در ارتباط با شناسایی پروموتورهای دوطرفه متعدد، مسئله درباره مشخصات ساختار آنها بوجود آمد. آیا این امکان هست که الگوهای یکنواختی را شناسایی کنیم که پروموتورهای دوطرفه و یک طرفه ژنهای کدگذاری کننده پروتئین را تشخیص بدهد؟ در چندین مطالعه عناصر هسته ای در پروموتورهای دوطرفه انسانی تحلیل گردیدند، بویژه جعبه TATAی نقشه برداری شده ویژه، INR (عنصر آغازگر)، BRE (عنصر قابل تشخیص توسط فاکتور نسخه برداری IIB)، موتیف های DPE (عنصر دست پایین) و رابطه پروموتورها با جزایر CpG ارزیابی شده است. ترتیب برخی عناصر پروموتور هسته ای پروموتورهای فاقد جعبه TATA در شکل 1 نشان داده شده است.

ناحیه پروموتور نزدیک در پروموتورهای دوطرفه (تقریبا 500 کیلوبایت قبل و 100 کیلوبایت بعد از محل شروع نسخه برداری) ممکن است حاوی عناصری مانند جعبه های TAT و CCAAT ، INR ، BRE، DPE باشد که همراه با جزایر CpG مسئول فعالیت پایه پروموتور می باشند. موتیف TATA در موقعیت 30- نسبت به نقطه شروع نسخه برداری هر دو در پروموتورهای یکطرفه و پروموتورهای دوطرفه واقع است. در فقدان جعبه TATA، عنصر پروموتور دست پایین DPE برای پیوند فاکتور نسخه برداری متداول TFIID لازم است. ویژگی DPE در یوکاریوتهای مختلف ضدو نقیض است (از دروزوفیلای مگس سرکه گرفته تا انسان) و تنها در پروموتورهای فاقد جعبه TATA وجود ندارد. DPE به همراه INR عمل کرده و معمولا در موقعیت 30+ از لحاظ نوکلئوتید A_{+1} در موتیف INR قرار دارد. موتیف مشترک DPE (یعنی DSWYVY) در 46.6% از پروموتورهای دوطرفه در مقایسه با 50.6% از پروموتورهای یک طرفه یافت گردید. پروموتورهای وابسته به DPE معمولی حاوی INR و DPE می باشند. با اینحساب، DPE و INR با همدیگر عمل می کنند. فاکتورهای مربوط به TBP (یا TAFها) بویژه TAF6 و TAF9 مسئول تشخیص DPE می باشند.

عنصر INR در توالی DNA با نقطه شروع نسخه برداری همپوشانی دارد و برای تعیین موقعیت این نقطه در یک پروموتوری کافی است که حاوی یک جعبه TATA نمی باشد. بعلاوه، قدرت پروموتور حاوی TATA را افزایش می دهد. INR به لحاظ کارکرد مشابه با جعبه TATA می باشد و می تواند به طور مستقل از آن ، و همراه با موتیف TATA یا DPE عمل کند. برای شروع نسخه برداری صحیح در محیط ازمایشگاهی و بالینی، توالی INR بین 3- و 5+ لازم و کافی است. تحقیقات درباره نقش فاصله بین جعبه TATA و INR نشان داده است که دو عنصر با سینرجی کار می کنند وقتی که به اندازه 25-30 bp از هم فاصله داشته باشند، و آنها در صورتی به طور مستقل

کار می کنند که فاصله بینشان بیش از 30bp باشد. توالی هماهنگ INR همان YYANWYY می باشد. نشان داده شد که این موتیف در 25.3% از پروموتورهای دوطرفه و 30.8% از پروموتورهای یک طرفه وجود دارد.

عنصر BRE (عنصر تشخیص دهنده فاکتور نسخه برداری IIB) مستقیما در مقابل جعبه TATA در برخی پروموتورهای حاوی TATA واقع است و بر توانایی فاکتور نسخه برداری IIB که به شکل کمپلکس های نسخه برداری تشکیل شده است، اثر می گذارد و از شروع نسخه برداری پشتیبانی می کند. وقوع این عنصر برابر با 16.5 و 11.1% به ترتیب در پروموتورهای دو طرفه و یک طرفه می باشد. توالی هماهنگ BRE همان SSRCGCC می باشد. تعامل TFIIB-BRE می تواند نقش بارزی را در تجمع کمپلکس قبل از شروع و شروع نسخه برداری در پروموتورهای فاقد جعبه TATA ایفا نماید. موتیف CCAAT یک توالی هماهنگی است که در فاصله 75 الی 80 بازی قبل از محل شروع نسخه برداری واقع است. وجود آن در پروموتورهای دوطرفه برابر با 12.9% می باشد و در پروموتورهای یک طرفه برابر با 6.9% می باشد.



شکل 1-طرح موقعیت نسبی عناصر پروموتور در پروموتورهای فاقد جعبه ی معمولی TATA . موقعیت جعبه CCAAT، BRE (عنصر تشخیص TFIIB)، INR (عنصر شروع کننده)، و DPE (عنصر پروموتور دست پایین) نسبت به محل شروع نسخه برداری TSS نشان داده شده است. توالی های هماهنگی عناصر: CCAAT-GGCCAATCT؛ BRE-SSRCGCC، INR-YYANWYY، DPE-DSWYVY(T). نامگذاری نوکلئوتیدهای خراب شده طبق فهرست اسامی IUPAC می باشد.

مقایسه ساختار پروموتورهای یک طرفه و دوطرفه نشان داده است که تعداد پروموتورهای دوطرفه بیش از نوع یکطرفه فاقد جعبه های TATA می باشند. پروموتورهای دوطرفه خیلی اوقات حاوی عناصر BRE و CCAAT می باشند. ولیکن، پروموتورهای این دو نوع به سختی در محتوای DPE و INR یافت می شوند. تا اندازه ای، تفاوت

در مجموعه ای از عناصر پروموتور هسته ای می تواند با این حقیقت توضیح داده شود که پروموتورهای دوطرفه غنی از جفت های GC می باشند.

رابطه میان پروموتورهای دوطرفه و جزایر CpG

در تحلیل کامپیوتری ژنوم کامل، مشخص شد که بیش از 70.8% پروموتورهای دوطرفه انسانی غنی از GC می باشند (بیش از 60 درصد) و غنی از محلهای پیوند برای فاکتور نسخه برداری Sp1 می باشند. پروموتورهای دوطرفه خیلی به جزایر CpG نزدیکند و غنی از محلهای پیوند برای چندین فاکتور نسخه برداری دیگر نظیر GABPA و MYC و E2F1 و E2F4، Nrf1، YY1 ، NF-Y می باشند.

جزایر CpG در ژنومهای بسیاری مهره داران یافت شده و آنها نمایانگر مناطقی از DNA هستند که غنی از دی نوکلئوتیدهای CpG و بدون متیلاسیون می باشند. آنها دارای محتوای بالای G+C (بیش از 50 درصد) و با تراکم بالای دی نوکلئوتیدهای CpG می باشند. اندازه جزایر معمولا طول 0.5-2kb دارد. در پستانداران، جزایر CpG با تقریبا 60 درصد از پروموتورهای ژنهای کدگذاری کننده پروتئین همراهند. مشخصه جزایر CpG همان محلهای پیوند متعددی برای فاکتور نسخه برداری Sp1 می باشد. جزایر CpG معمولا در نواحی '5 ژنهای داخلی و بسیاری ژنهای خاص بافت واقعند برای مثال ژنهایی که در مغز و دستگاه عصبی بیان می شوند.

پروموتورهای دوطرفه دارای یک محتوای متوسط G+C برابر با 66 درصد می باشند درحالیکه برای پروموتورهای یک طرفه این مقدار برابر با 53 درصد می باشد. بعلاوه، 77 درصد پروموتورهای دوطرفه درون جزایر CpG در مقایسه با 38 درصد پروموتورهای یکطرفه واقعند. طبق سایر منابع تقریبا 90 و 45 درصد پروموتورهای دوطرفه و یک طرفه به ترتیب با جزایر CpG خیلی بهم مرتبط هستند. پروموتورهای مربوط به CpG نسبت به متیلاسیون مقاومترند. هیپیرمتیلاسیون یک جزیره CpG در ناحیه پروموتور معمولا منجر به سرکوبی بیان ژن می شود و پروموتورهای برخی ژنهای سرکوب گر تومور در سرطان هیپرمتیله شده اند. She و همکارانش دریافتند که پروموتورهای دوطرفه متشکل از بیش از 25 درصد همه پروموتورهایی هستند که همگی هیپرمتیله شده و در جزایر CpG درسلولهای سرطانی واقعند. با تحلیل سه جفت ژنها (*WNT9A/CD558500, CTDSPL/BC040563,* and *KCNK15/BF195580*) نشان داده شده است که درجه متیلاسیون به طور برعکس با محتوای mRNAی این ژنها در انواع مختلف خطوط سلولی سرطانی همبستگی دارد.

افزودن 5-آزا-داکسی سیتیدین به سلولها که باعث دمتیلاسیون دی نوکلئوتیدهای CpG می شود منجر به بیان افزایش یافته این ژنها می شود. بااینحساب، هیپرمتیلاسیون پروموتورهای دوطرفه مرتبط به جزایر CpG با خاموش سازی دو ژن به طور همزمان همراه است.

در اکثر موارد، یک جزیره CpG تا اندازه ای یا کاملا یک ناحیه از اولین اکسون (و گاهی اوقات بیش از یک اکسون) را از هر ژن تحت پوشش قرار داده است. ولی اندازه جزیره CpG ، که با تعداد دی نوکلئوتیدهای CpG تعیین می شود، یک شاخص نسخه برداری دوطرفه نمی باشد چرا که هیچ تفاوتی در ویژگی های طول و توالی جزایر CpG که به پروموتورهای دوطرفه و یک طرفه مربوط باشد نشان داده نشده است.

محلهای پیوند فاکتورهای نسخه برداری در پروموتورهای دوطرفه

همانگونه که قبلا اشاره گردید، پروموتورهای دوطرفه غنی از محلهای پیوند ویژه برای عوامل نسخه برداری مانند GABPA ، MYC، E2F1، E2F4، NrF1، YY1، NF-Y و SP1 می باشند. در بسیاری موارد، نقش پیوند این فاکتورهای نسخه برداری در بکاراندازی پروموتورها بنا به آزمایشات تایید شده است. برای مثال، نشان داده شده است که پروموتور دوطرفه دو ژن برای دستگاه نسخه برداری میتوکندریایی در موش ها با یک جعبه CCAAT تنظیم می شود که با عامل نسخه برداری NF-Y تعامل دارد. ژنهای پروتئین ریبوزومی میتوکندریایی (Mrps S12 12) و سریل-tRNA لیگاز میتوکندریایی در ژنومهای هم انسان و هم موش در جهات متضادی با یک پروموتور محافظه کار با کمتر از 200 bp نسخه برداری می شوند. با استفاده از یک حامل گزارشگر، نویسندگان مقاله مجموعه ای از چهار جعبه CCAAT را که برای نسخه برداری موثر دو ژن در کشت سلولی 3T3 موش لازم است، شناسایی کردند. بوسیله اندازه گیری تغییر تحرک ژل و با رهگیری در محیط بالینی، تایید گردید که این عناصر که به شکل محلهای پیوند برای فاکتور نسخه برداری NF-Y عمل می کنند از اهمیت برخوردارند. این پروتئین در پروموتور همه بافتهای بررسی شده توسط رسوب ایمنی کروماتینی (کبد، مغز، قلب، کلیه ها، و سلولهای NIH3T3) یافت شده است. مشخصات فعالیت دوطرفه NF-Y باعث می شود که یک فاکتور تنظیم بویژه مناسبی برای این رده از پروموتورها بشود که بیان ژنهای مربوط به پرولیفراسیون سلولی را هدایت می کنند. یک سازماندهی و تنظیم مشابه بیان ژن با جعبه های CCAAT و فاکتور نسخه برداری NF-Y مشخصه پروموتورهای دوطرفه ژنهای انسانی اورتولوگ می باشد. تحلیل در سطح ژنوم توزیع محلهای پیوند NF-Y ی CCAAT در پروموتورهای یک و دوطرفه

ژنومهای موش و انسان مشخص نمود که پروموتورهای دوطرفه تخصیص ویژه ای از این جعبه ها را دارند و به شدت در توالی های نوکلئوتیدی خودشان حفظ شده اند.

در یکی از مطالعات اول تحلیل کننده تفاوت ها در مجموعه فاکتورهای نسخه برداری که به پروموتورهای دوطرفه در مقایسه با یکطرفه پیوند می خورند، یک نقش ویژه فاکتور نسخه برداری GABP از خانواده ets تعیین گردید. پیوند برقرار شده GABP با 121 و 291 پروموتور دوطرفه و یکطرفه که به طور تصادفی انتخاب شدند در سه خط سلولی انسانی مختلف (HeLa, Jurkat, K562) با رسوب ایمنی کروماتین تایید گردید. نشان داده شد که GABP به 86.6% از پروموتورهای دوطرفه و تنها 30.6% از پروموتورهای یکطرفه در دست کم یکی از سه خط سلولی پیوند می خورد. GABP پیوند خورده به خوبی با فعالیت پروموتور دوطرفه در سیستم بیان ژن گزارشگر لوسیفراز همبستگی داشته است. بعلاوه، ترکیب توالی هماهنگ محل پیوند GABP در پروموتورهای یک طرفه با انتخاب تصادفی در 67 درصد موارد باعث یک فعالیت در جهت مخالف گردید بنابراین یک پروموتور دوطرفه به یک پروموتور دوطرفه تغییر شکل یافته است.

اخیرا، با استفاده از تکنیک های بیوانفورماتیک و بیوشیمیایی، نشان داده شده است که فاکتور نسخه برداری دیگری به نام hStaf/Znf143 در کار کنترل بیان ژن توسط پروموتورهای دوطرفه فعالیت دارد. Staf در اصل توسط فعال کننده نسخه برداری در ژن tRNAی سلنوسیستئین در گونه Xenopus Laevis کشف گردید. بعدها مشخص گردید که این پروتئین با زوائد روی در کار تنظیم بیان ژن بسیاری از ژنهای کدگذاری کننده پروتئین و RNAهای هسته ای کوچک و اسیدنوکلئوتیکی کوچک فعالیت دارد، یعنی یک فعال کننده ژنهایی است که توسط RNA پلیمراز II و III نسخه برداری شده اند. همولوگ های Staf در ژنوم انسانی توسط ژنهای ZNF143 و ZNF76 کدگذاری شده است. بعدها، محلهای پیوند با hStaf/ZNF143 در پروموتورهای ژنهای منفرد نقشه گذاری شده است. Anno و همکارانش این حقیقت را تایید کرده اند که پروموتورهای دوطرفه در محلهای پیوند عملی غنی از hStaf/ZNF143 می باشند. آنها ژنهایی را انتخاب کرده اند که در جهات مخالف با انتهاهای '5 غیرهمپوشاننده مجزاسازی شده با نواحی بین ژنی کمتر از 1000 bp از ژنوم انسانی نسخه برداری شده اند. در آن تحلیل ها، مجموعه حاوی 1678 ژن (839 پروموتور دوطرفه)، محلهای پیوند hStaf/ZNF143 در مقایسه با پروموتورهای یکطرفه بیش از حد نمایش داده شده است. نقشه گذاری مستقیم فاکتور نسخه برداری با رسوب ایمنی کروماتینی

تایید کرد که اغلب محلهای پیوند پیشگویی شده در پروموتورهای دوطرفه حقیقتا با این پروتئین به شکل بالینی پیوند خورده اند. با اینحساب، در نمونه تصادفی متشکل از 87 پروموتور دوطرفه که ژنهای کدگذاری کننده پروتئین را مجزا می سازد، 84 تا حاوی محلهای پیوند عملی برای hStaf/ZNF143 می باشند. در آزمایشاتی راجع به بیان بیش از حد ژن و سرکوبی hStaf/ZNF143، شرکت این عامل در فعالسازی نسخه برداری از پروموتورهای دوطرفه تایید گردید.

با اینحساب، نسخه برداری از پروموتورهای دوطرفه با یک مجموعه ویژه از فاکتورهای پروتئینی تنظیم شده است که در آن پروتئین های GABP و hStaf/ZNF143 نقش ویژه ای را ایفا می کنند.

پروموتورهای دوطرفه و ژنهای RNA ی غیرکدگذاری کننده

به دلیل این حقیقت که Staf یک فعال کننده نسخه برداری هر دو RNA پلیمراز II و RNA پلیمراز III می باشد، علاقه خاصی به مشخصات پروموتورهای دوطرفه مربوط به جفت ژنهای غیرکدگذاری کننده RNA بویژه درمورد جفت ژن های کدگذاری کننده پروتئین و ژنهای غیرکدگذاری کننده RNA وجود دارد. تعداد چنین پروموتورهایی در ژنوم انسانی اندک است. در نمونه مشخصه ای از پروموتورهای دوطرفه که قبلا ذکر شد، تعداد آنها به ترتیب برابر با 12 و 26 می باشد. همه این 12 پروموتورها از اولین این گروه ها جفت ژنهای tRNA را جداسازی می کند که ظاهرا توسط RNA پلیمراز III نسخه برداری شده است. پروموتور دوطرفه ای که از آن پلیمراز RNAی III یک طرفه نسخه برداری RNA H1 غیرکدگذاری کننده (یعنی محتوای RNAی RNase P ریبوزیم) را انجام می دهد و پلیمراز RNAی II طرف دیگر، نسخه برداری mRNAی مولکول پلی(ADP-ریبوز)-پلیمراز 2 (PARP2) را انجام می دهد، قبلا در ژنوم موش شناسایی شده است و به تفصیل توضیح داده شده است. فاصله میان نقاط شروع نسخه برداری ژن RNA H1 و PARP2 تنها 114bp می باشد. یک سازماندهی مشابه این ژنها در ژنوم های سایر پستانداران شامل انسان یافت شده است. جفت های با جهت واگرا دارای ژنهای کدگذاری کننده پروتئین در ژنوم انسانی شامل 25 ژن RNA غیرکدگذاری کننده کوچک دیگر می باشد: یعنی ژنهای محتوای RNA در ذره تشخیص منفرد SRP، محتوای RNA در MRP ی ریبونوکلئوپروتئین که در آغاز نسخه برداری mtDNA و پردازش rRNAی پیش ساز در هسته، RNA 7SK، RNAی اجسام کاجال (U91) scaRNA17 ، U6.2 ، U6.9 و U12 ی RNA هسته ای کوچک، U13ی RNAی اسیدنوکلئیکی کوچک، و tRNA 17 مختلف فعالیت دارند.

پروموتور دوطرفه که ژنهای PARP2 و RNA H1 را جداسازی می کند برای ایجاد حاملی با بیان همزمان ژنهای کدگذاری کننده پروتئین و ژنهای RNA سنجاق مویی کوتاه (shRNA) (یعنی پیش سازهای RNA تداخل کننده کوچک siRNA) استفاده گردید. کارایی این حامل ها از روی بیان همزمان ژنهای پروتئین فلورسانت سبز و shRNA خاص mRNA ی لوسیفراز تایید گردید. همچنین نشان داده شد که بیان دوطرفه از این پروموتور می تواند بیان ژنهای مربوطه عملکردی را در سلول تنظیم نماید. با اینحساب، نویسندگان بیان بیش از حد کلون سازی شده به حامل ژن سرکوبگر تومور p53 را فراهم کرده و نیز بیان ژن سلولی پروتئین ضدآپوپتوزی Bcl-2 را بوسیله shRNA ویژه نسخه برداری شده از همان پروموتور دوطرفه سرکوب نمودند. این روش می تواند برای ابداع روشهای ژن درمانی برای غلبه بر عملکرد موتاسیونهای غالب و منفی جالب باشد.

پروموتورهای دوطرفه ژنهای کدگذاری کننده پروتئین می توانند برای ایجاد حامل های بیان استفاده شوند. ما به طور موفقیت آمیزی یکی از این پروموتورهای کنترل کننده بیان ژنهای پروتئین های انسانی فرضیه ای با عملکرد ناشناخته را (یعنی CCDC142 (حاوی دومین پیچیده پیچیده شده) و TTC31 (حاوی تکرار تتراتری کوپپتید)) برای بیان همزمان ژنها در همان سلول دو پروتئین فلورسانتی (سبز (EGFP) و قرمز (DsRed2)) استفاده کرده ایم.

شروع نسخه برداری دوطرفه به عنوان یک ویژگی ذاتی پروموتورهای یوکاریوتی

در سالهای اخیر، به دلیل ایجاد و کاربرد روشهایی برای تحلیل ترانس کریپتوم جهانی، تعداد زیادی اطلاعات جدید وجود دارد که به بازبینی و اصلاح برخی مفاهیم نسخه برداری ژنومهای پستانداران نیاز دارد. مشخص گردید که یک قسمت خیلی بزرگتر ژنوم ها نسبت به آنی که قبلا تصور می شد، نسخه برداری می شود. بنا به برخی تخمین ها، بیش از 70 درصد از توالی های نوکلئوتیدی ژنوم انسانی نسخه برداری شده است که از این میان تنها 2 درصد نسخه برداری کننده های کدگذاری کننده پروتئین می باشند. یک قسمت قابل ملاحظه ای از نسخه برداری های غیرکدکننده با مرزهای ژنها متناظر هستند از جمله نواحی پروموتوری.

رده های جدید RNA مربوط به پروموتورها و محلهای شروع نسخه برداری ژنهای پستانداران شناسایی شده در تحلیل ترانس کریپتوم جهانی

رفرانس	مشخصات	طول	نام کامل	اختصاری

38-37	RNAهای غیرکدگذاری کننده کوتاه که با فعالیت دوطرفه RNA پلیمراز تشکیل شده اند.	20-90 nt	محل شروع نسخه برداری که به RNAهای آنتی سنس مربوط است.	TSSa-RNA
40-39	RNAهای کوتاهی که با ناحیه پروموتورهای هسته ای همپوشانی دارد.	20-200 nt	RNAهای کوتاه مربوط به پروموتور	PASR
41	RNAهای کوتاه با تعیین توالی جهانی نسخه برداری کننده های در حال کار اشکار شده است. و مربوط به نواحی متصل به نقاط شروع نسخه برداری می باشند.	20-50 nt	RNA شناسایی شده با نسخه برداری هسته ای در حال کار	NRO-RNA
42	RNAهای مربوط به ناحیه طولانی مدت تقریبا 20bp زیردست نقطه شروع نسخه برداری	~18 nt	RNAهای شروع نسخه برداری	tiRNA
45-43	نسخه برداری کننده های بی ثبات نقشه گذاری شده در ناحیه بالا دست محلهای شروع نسخه برداری	0.5-2 knt	نسخه برداری کننده های بالادست پروموتور	PROMPT

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

بعلاوه مشخص گردید که پروموتورهای ژنهای کدگذاری کننده پروتئینی نواحیی هستند که در آن نسخه برداری ثابتی (گسترده) وجود دارد، و شروع نسخه برداری در هر دو طرف رخ می دهد. این نتیجه گیری براساس شناسایی و مشخصات مفصل چندین رده جدید RNAها می باشد که به محلهای شروع نسخه برداری و پروموتورهای ژنهای نسخه برداری شده فعال (جدول) مربوط می باشند. اجازه دهید که درباره مشخصات این RNAهای غیرکدگذاری کننده توضیحی بدهیم.

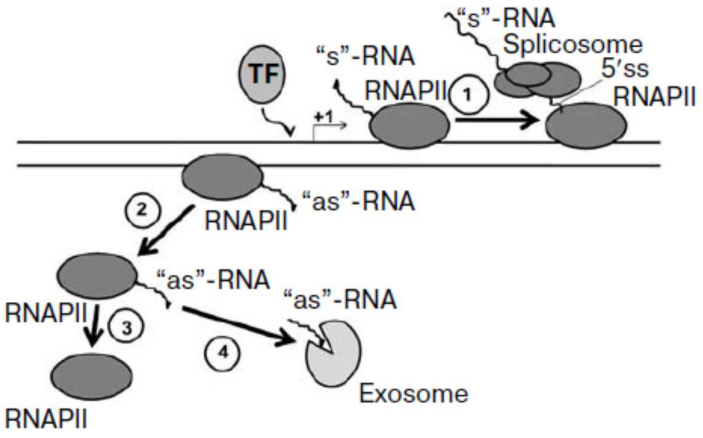
RNAهای غیرکدگذاری کننده کوتاه که به محلهای شروع نسخه برداری مربوط می باشد، TSSa-RNAها، در اصل در تحلیل کتابخانه های cDNA ی سنتز شده روی الگوی RNAهای کوتاه از سلولهای بنیانی جنینی کشف گردید. آنها نمایانگر RNAیی با طول 20 الی 90 نوکلئوتید می باشند. بیشتر اینها به شکل قطعات ژنومی نقشه

گذاری شده اند که محلهای شروع نسخه برداری یا TSS را در RNA پلیمراز II می پوشاند. این RNAها مربوط به توالی های هم رشته سنس و هم رشته انتی سنس می باشند. اولی بیشتر در دامنه 1+ تا 50+ نسبت به TSS نقشه گذاری شده است و دومی در ناحیه بین 100- و 300- می باشد. همچنین مشخص گردید که تعیین محل TSSa-RNAهای سنس و آنتی سنس در کروماتین با اشغال این محلها توسط RNA پلیمراز II که نسخه برداری را شروع می کند و نیز با مارکرهای تری متیله شده در هیستون H3 ی Lys4 (یا 3met-H3K4) برای شروع نسخه برداری منطبق است. لازم به ذکر است که TSSa-RNAها همچنین در سلولهای بنیانی جنینی بدون RNase Dicer یافت شدند یعنی آنها محصول پردازش RNA طویلتر توسط مکانیسم تداخل RNA نیستند.

کل تحلیل RNAهای هسته ای و سیتوپلاسمی کمتر از 200 نوکلئوتیدی در خطوط سلولی انسانی با استفاده از هیبریداسیون با تفکیک بالا روی میکروارایه ها و تعیین توالی نشان داده است که یک بخش مهم این RNAهای به چنگال های '5 و '3 ژنهای کدگذاری کننده پروتئین نقشه گذاری شده اند. آنها را به ترتیب PASR (RNAی مربوط به پروموتور) و TASR (RNA مربوط به انتهاها) نامیده اند. طول PASR از 22 تا 200 nt متغیر است و محتوای آنها در سلول با میزان بیان ژنهای مربوطه همبستگی دارد. محلهای متمم PASR در ژنومهای خطوط سلولی انسانی مختلف بویژه در ژنومهای خطوط HepG2 و HeLa مطابقت دارد. نواحیی در ژنوم که به PASR و TSSa-RNA مربوط می شود، به مارکرهای نسخه برداری فعال مربوط است (حضور RNA پلیمراز II، استیله سازی هیستون های H3 و H4، حضور 3met-H3K4، و حساسیت به DNase I).

نتایج مشابه با استفاده از روش متفاوتی بدست آمد که تعیین توالی جهانی نسخه برداری های در حال کار هسته ای یا GRO-seq می باشد. این روش به نقشه گذاری محل در سطح ژنوم و جهت گیری RNA پلیمراز امکان می دهد. نتیجه این شد که بیشتر پروموتورهای حاوی RNA پلیمراز II به ناحیه بالادست در جهت مخالف با جهت اصلی نسخه برداری ژن پیوند خوردند. نتیجه گرفته شد که احتمال نسخه برداری بهره ورانه و جهت آن از روی تعامل RNA پلیمراز و انواع تنظیم کننده ها در ناحیه پروموتور نسبتا گسترده تعیین می شود.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com



شکل 2-طرح شماتیک شروع نسخه برداری دوطرفه توسط RNA پلیمراز II. RNA پلیمراز II (RNAPII) با شرکت فاکتورهای نسخه برداری (TF) به یک محل نزدیک به محل شروع نسخه برداری باند می شود (+1) و سنتز نسخه برداریهای سنس و انتی سنس کوتاه (یعنی s-RANها و as-RNAها) را شروع می کند. بعد از آن، نسخه برداری در هر دو طرف متوقف می شود. آنگاه، در مورد پروموتورهای یکطرفه یک انتقال به طویل شدن بهره ورانه نسخه برداری (1) در یک طرف و همراه با وصل شدن mRNA قبل از نسخه برداری وجود دارد. کمپلکس RNAPII با as-RNA به نوبه خود از پروموتور جدا می شود (2) RNAPII رهاسازی می شود (3) و as-RNA بوسیله اگزوزوم ها تنزل داده می شود (4). در مورد پروموتورهای دوطرفه، طویل شدن بهره ورانه نسخه برداری در هردو طرف پیش می رود. 5'ss در محل وصل دهنده می باشد.

TarjomeFa.Com

دو رده دیگر از RNAهای کوتاه نقشه گذاری شده نزدیک به TSS همان tiRNA و PROMPT بودند. tiRNAها به قسمتهای کوتاه رشته سنس بلافاصله بعد از TSS مربوط است و PROMPT (نسخه برداری کننده های رشته بالادست پروموتور) به TSS و با هر دو رشته های سنس و انتی سنس نقشه گذاری می شوند. PROMPT به شدت بی ثبات می باشد، ولیکن محتوای آنها طی سرکوبی با تداخل RNA ی سیستم تنزل '5—'3 اگزوزوم های mRNA-RNA یوکاریوتی افزایش می یابد. نشان داده شد که PROMPT در انتهای '3 پلی آدنیلاته شده و در قسمت '5 کلاهک دارد. بعلاوه، مشخص شد که این RNAها همچنین از روی پروموتورهایی سنتز شده اند که فعالانه توسط RNA پلیمراز I و III نسخه برداری شده اند.

سنتز فعال نسخه برداری های کوتاه مربوط به نواحی پروموتور ژنها و نواحی مربوط به هر دو رشته های DNA در مقالات اخیر همکاران محقق در پروژه ENCODE (دایره المعارف عناصر DNA) تایید شد که هدفشان نقشه گذاری مفصل محلها نسخه برداری شده و سایر نواحی کارکردی در ژنوم انسانی بود.

داده های ارائه شده در این بخش از مقاله مروری حاکی از آنست که توانایی شروع نسخه برداری در جهت مخالف یک خصوصیت ذاتی پروموتورهای یوکاریوتی می باشد. در خصوص پروموتورهای یکطرفه، طویل شدن نسخه برداری بهره ورانه تنها در یک طرف امکانپذیر است. و نسخه برداری های کوتاه که از رشته انتی سنس شروع می شود دیگر طویل نشده و تنزل می کنند. این برنامه به طور سیستماتیک در شکل 2 نشان داده شده است. فاکتورهای حاکم بر انتخاب جهت شروع نسخه برداری بهره ورانه بعد از شروع دوطرفه آغازین تا همین اواخر خیلی درک نشده بود. ولیکن اکنون نشان داده شده است که اتخاذ ساختار حلقوی توسط ژن در انتقال به یک سنتز مفید mRNA نقش دارد. تشکیل چنین ساختاری بستگی به فاکتورهای نسخه برداری مربوط به پروموتور و فاکتورهای کمپلکس پلی آدنیلاسیون پیوند خورده با انتهای '3 ی ژن (pAC) دارد که با یکدیگر از طریق واسطه گری فاکتور پروتئین Ssu72 تعامل دارند. با اینحساب، همگرایی وابسته به Ssu72 در دو انتهای '5 و '3 در ژن تعیین کننده جهت نسخه برداری از پروموتور یکطرفه می باشد. برای نسخه برداری بهره ورانه در هر دو طرف، پروموتور احتمالا باید حاوی عناصر دیگری هم باشد، که بویژه محلهای پیوند عملی در عوامل نسخه برداری خاص مانند GABP یا hStaf/Znf143 می باشد. واضح نیست که آیا در این مورد یک تعاملی در ناحیه پروموتور با نواحی '3 انتهایی دو ژن نسخه برداری شده واگرا وجود خواهد داشت یا خیر. یک مطالعه مفصلتر فاکتورها و شرایط که نسخه برداری دوطرفه مفید را ایجاد می کند در مطالعات آتی در عرصه نسخه برداری یوکاریوتی از فایده برجسته ای برخوردار است.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

REFERENCES

1. Adachi, N., and Lieber, M. R. (2002) *Cell*, **109**, 807-809.
2. Trinklein, N. D., Aldred, S. H., Hartman, S. J., Schroeder, D. I., Otillar, R. P., and Myers, R. M. (2004) *Genome Res.*, **14**, 62-66.
3. Collins, P. J., Kobayashi, Y., Nguyen, L., Trinklein, N. D., and Myers, R. M. (2007) *PLoS Genet.*, **3**, e208.
4. Koyanagi, K. O., Hagiwara, M., Itoh, T., Gojobori, T., and Imanishi, T. (2005) *Gene*, **353**, 169-176.
5. Franck, E., Hulsen, T., Huynen, M. A., De Jong, W. W., Lubsen, N. H., and Madsen, O. (2008) *Mol. Biol. Evol.*, **25**, 1909-1921.

6. Yang, M. Q., and Elnitski, L. L. (2007) *Lect. Notes Comput. Sci.*, **4463**, 361-371.
7. Yang, M. Q., and Elnitski, L. L. (2008) *BMC Genom.*, **9** (Suppl. 1), S2.
8. Piontkivska, H., Yang, M. Q., Larkin, D. M., Lewin, H. A., Reecy, J., and Elnitski, L. (2009) *BMC Genom.*, **10**, 189.
9. Engstrom, P. G., Suzuki, H., Ninomiya, N., Akalin, A., Sessa, L., Lavorgna, G., Brozzi, A., Lizi, L., Tan, S. L., Yang, L., Kunarso, G., Ng, E. L., Batalov, S., Wahlestedt, C., Kai, C., Kawai, J., Carninci, P., Hayashizaki, Y., Wells, C., Bajic, V. B., Orlando, V., Reid, J. F., Lenhard, B., and Lipovich, L. (2006) *PLoS Genet.*, **2**, e47.
10. Yang, M. Q., and Elnitski, L. L. (2008) *BMC Genom.*, **9** (Suppl. 2), S3.
11. Smale, S. T., and Kadonaga, J. T. (2003) *Annu. Rev. Biochem.*, **72**, 449-479.
12. Kutach, A. K., and Kadonaga, J. T. (2000) *Mol. Cell. Biol.*, **20**, 4754-4764.
13. Lagrange, T., Kapanidis, A. N., Tang, H., Reinberg, D., and Ebright, R. H. (1998) *Genes Dev.*, **12**, 34-44.
14. Yang, C., Bolotin, E., Jiang, T., Sladek, F. M., and Martinez, E. (2007) *Gene*, **389**, 52-65.
15. Javahery, R., Khachi, A., Lo, K., Zenzie-Gregory, B., and Smale, S. T. (1994) *Mol. Cell. Biol.*, **14**, 116-127.
16. Lin, J. M., Collins, P. J., Trinklein, N. D., Fu, Y., Xi, H., Myers, R. M., and Weng, Z. (2007) *Genome Res.*, **17**, 818-827.
17. Bird, A. P. (1986) *Nature*, **321**, 209-213.
18. Gardiner-Garden, M., and Frommer, M. (1987) *J. Mol. Biol.*, **196**, 261-282.
19. Antequera, F. (2003) *Cell. Mol. Life Sci.*, **60**, 1647-1658.
20. Shu, J., Jelinek, J., Chang, H., Shen, L., Qin, T., Chung, W., Oki, Y., and Issa, J. P. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 5077-5084.
21. Zanotto, E., Shah, Z. H., and Jacobs, H. T. (2007) *Nucleic Acids Res.*, **35**, 664-677.
22. Zanotto, E., Lehtonen, V., and Jacobs, H. T. (2008) *Biochim. Biophys. Acta*, **1783**, 2352-2362.
23. Hakkinen, A., Healy, S., Jacobs, H. T., and Ribeiro, A. S. (2011) *J. Theor. Biol.*, **281**, 74-83.
24. Anno, Y.-N., Myslinski, E., Ngondo-Mbongo, R. P., Krol, A., Poch, O., Lecompte, O., and Carbon, P. (2011) *Nucleic Acids Res.*, **39**, 3116-3127.
25. Schuster, C., Myslinski, E., Krol, A., and Carbon, P. (1995) *EMBO J.*, **14**, 3777-3787.
26. Schaub, M., Myslinski, E., Schuster, C., Krol, A., and Carbon, P. (1997) *EMBO J.*, **16**, 173-181.
27. Myslinski, E., Krol, A., and Carbon, P. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 21998-22006.
28. Schaub, M., Krol, A., and Carbon, P. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 24241-24249.
29. Myslinski, E., Gerard, M. A., Krol, A., and Carbon, P. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 39953-39962.
30. Ame, J.-C., Schreiber, V., Fraulob, V., Dolle, P., de Murcia, G., and Niedergang, C. P. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 11092-11099.

Fa.Com

31. Hung, C. F., Cheng, T. L., Wu, R. H., Teng, C. F., and Chang, W. T. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **339**, 1035-1042.
32. Orekhova, A. S., Sverdlova, P. S., Spirin, P. V., Leonova, O. G., Popenko, V. I., Prasolov, V. S., and Rubtsov, P. M. (2011) *Mol. Biol. (Moscow)*, **45**, 486-495.
33. The ENCODE Project Consortium (2007) *Nature*, **447**, 799-816.
34. Jacquier, A. (2009) *Nat. Rev. Genet.*, **10**, 833-844.
35. Carninci, P. (2010) *DNA Res.*, **17**, 51-59.
36. Wei, W., Pelechano, V., Jarvelin, A. I., and Steinmetz, L. M. (2011) *Tends Genet.*, **27**, 267-276.
37. Seila, A. C., Calabrese, J. M., Levine, S. S., Yeo, G. W., Rahl, P. B., Flynn, R. A., Young, R. A., and Sharp, P. A. (2008) *Science*, **322**, 1849-1851.
38. Seila, A. C., Core, L. J., Lis, J. T., and Sharp, P. A. (2009) *Cell. Cycle*, **8**, 2557-2564.
39. Kapranov, P., Cheng, J., Dike, S., Nix, D. A., Duttagupta, R., Willingham, A. T., Stadler, P. F., Hertel, J., Hackermuller, J., Hofacker, I. L., Bell, I., Cheung, E., Drenkow, J., Dumais, E., Patel, S., Helt, G., Ganesh, M., Ghosh, S., Piccolboni, A., Sementchenko, V., Tammana, H., and Gingeras, T. R. (2007) *Science*, **316**, 1484-1488.
40. Fejes-Toth, K., Sotirova, V., Sachidanandam, R., Assaf, G., Hannon, G. J., Kapranov, P., Foissac, S., Willingham, A. T., Duttagupta, R., Dumais, E., and Gingeras, T. R. (2009) *Nature*, **457**, 1028-1032.
41. Core, L. J., Waterfall, J. J., and Lis, J. T. (2008) *Science*, **322**, 1845-1848.
42. Taft, R. J., Glazov, E. A., Cloonan, N., Simons, C., Stephen, S., Faulkner, G. J., Lassmann, T., Forrest, A. R., Grimmond, S. M., Schroder, K., Irvine, K., Arakawa, T., Nakamura, M., Kubosaki, A., Hayashida, K., Kawazu, C., Murata, M., Nishiyori, H., Fukuda, S., Kawai, J., Daub, C. O., Hume, D. A., Suzuki, H., Orlando, V., Carninci, P., Hayashizaki, Y., and Mattick, J. S. (2009) *Nat. Genet.*, **41**, 572-578.
43. Preker, P., Nielsen, J., Kammler, S., Lykke-Andersen, S., Christensen, M. S., Mapendano, C. K., Schierup, M. H., and Jensen, T. H. (2008) *Science*, **322**, 1851-1854.
44. Preker, P., Nielsen, J., Schierup, M. H., and Jensen, T. H. (2009) *Cell. Cycle*, **8**, 1106-1107.
45. Preker, P., Almvig, K., Christensen, M. S., Valen, E., Mapendano, C. K., Sandelin, A., and Jensen, T. H. (2011) *Nucleic Acids Res.*, **39**, 7179-7193.
46. The ENCODE Project Consortium (2012) *Nature*, **489**, 57-74.
47. Sanyal, A., Lajoie, B. R., Jain, G., and Dekker, J. (2012) *Nature*, **489**, 109-113.
48. Yip, K. I., Cheng, C., Bhardwaj, N., Brown, J. B., Leng, J., Kundaje, A., Rozowsky, J., Birney, E., Bickel, P., Snyder, M., and Gerstein, M. (2012) *Genome Biol.*, **13**, R48, 1-22.
49. Tan-Wong, S. M., Zaugg, J. B., Camblong, J., Xu, Z., Zhang, D. W., Mischo, H. E., Ansari, A. Z., Luscombe, N. M., Steinmetz, L. M., and Proudfoot, N. J. (2012) *Science*, **338**, 671-675.

برای خرید فرمت ورد این ترجمه، بدون واتر مارک، اینجا کلیک نمائید.

ترجمه فا
TarjomeFa.Com

این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

✔ لیست مقالات ترجمه شده

✔ لیست مقالات ترجمه شده رایگان

✔ لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی