نقش ترانسپوزون‌ها در پروکاریوت‌ها (قسمت اول)

وهاب پیرانفر (کارشناس ارشد)، محمد عرفانی (کارشناس ارشد)، دکتر رضا میرنژاد (دانشیار دانشگاه)

مقدمه‌ای بر ترانسپوزون‌ها[1]

از ۱۹۳۰ میلادی، مطالعات ژنتیکی به‌صورت مستقل توسط باربارا مک‌کلینتوک[2] و مارکوس روداس[3] روی گیاه ذرت انجام گرفت. نتایج این مطالعات آشفتگی زیادی در مورد ژن‌های ساکن در جایگاه‌های ثابت درکروموزم‌های اصلی به همراه داشت. گزارش‌های این دو دانشمند نشان می‌داد که عناصر ژنتیکی بر روی کروموزوم اصلی وجود دارند که می‌توانند از یک موقعیت به موقعیت دیگری نقل‌مکان کنند. هرچند این یافته‌ها تا سال‌ها مورد شک و تردید قرار داشت، اما در حال حاضر روشن است که چنین عناصری همواره در طبیعت وجود داشته‌اند. امروزه می‌دانیم که کروموزوم‌های پروکاریوتی، ویروس‌ها و ژنوم یوکاریوتی حاوی قطعاتی از DNA هستند که می‌توانند حرکت کرده و به مکان‌های متفاوتی از همان کروموزوم و یا کروموزوم دیگری مهاجرت کنند. این حرکت، جابجایی (ترانسپوزیشن[4]) خوانده می‌شود و نقش مهمی در تولید ترکیبات جدید ژنی بازی می‌کند.

قطعات DNA که ژن‌های موردنیاز برای جابجایی را حمل می‌کنند عناصر قابل‌انتقال یا ترانسپوزون هستند و برخی اوقات "ژن‌های جهش دهنده" نامیده می‌شوند، اما نام‌های بسیاری (که بعضی برای توصیف عمل آنهاست) بر این عناصر ژنتیکی نهاده‌اند، مانند عناصر کنترل‌کننده، cassettes، ژن‌های پرشی[5]، ژن‌های سیار[6]، ژن‌های همراه، عناصر ژنتیکی همراه[7] و ترانسپوزون‌ها. ما اصطلاح "*عناصر ژنتیکی قابل جابجایی*" را که به‌طور رسمی درست و شامل تمام اعضای خانواده است را انتخاب می‌کنیم. اصطلاح جابجایی (ترانسپوزیشن) به‌طور مدید در علم ژنتیک مورداستفاده قرار گرفته است و مشخصاً برای انتقال بخشی از کروموزوم از یک موقعیت به موقعیت دیگر و بازآرایی ساختار آن به کار می‌رود.

قطعات DNA که ژن‌های موردنیاز برای جابجایی را حمل می‌کنند عناصر قابل‌انتقال یا ترانسپوزون هستند و برخی اوقات ژن‌های جهش‌دهنده نامیده می‌شوند. الحاق این عناصر ژنتیکی نه‌تنها عملکرد ژن در منطقه‌ای که در آن قرار می‌گیرد را از بین می‌برد،

---

[1] Transposons
[2] Barbara McClintock
[3] Marcus Rhoades
[4] Transposition
[5] Jumping genes
[6] Roving genes
[7] Mobile genetic elements

بلکه می‌تواند عملکرد دوگانه داشته باشد یعنی روی بیان ژن پایین‌دست اثر بگذارد؛ در حقیقت ترانسپوزون‌ها مانند موتاژن‌ها عمل می‌کنند. در حال حاضر یک قطعه کوچک ژنی یا تعداد کمی از آن‌ها که ارتباط خاصی در عملکرد با قابلیت جابجایی دارند در این خانواده قرار می‌گیرد.

جابجایی این قطعات می‌تواند روی همان کروموزوم و یا بر روی یک کروموزوم جدید باشد. قوانین و ارتباطاتی که این موضوع را سبب می‌شود در دست مطالعه است. این قطعات فقط از لحاظ ژنتیکی و فیزیکی شناسایی شده‌اند. بررسی ایجاد ناهنجاری در فعالیت و ساختارهای ژن که در محل ورود این قطعات قرار دارد، از راه‌های شناسایی ژنتیکی آنهاست. متدهایی از قبیل تعیین توالی رشته‌های الگو نیز مورد کاوش قرار گرفته‌اند که از روش‌های فیزیکی محسوب می‌شوند. نتایج نشان داده است که این عناصر جابجاشونده در اکثر موجودات زنده روی کره زمین وجود دارند.

امروزه این عناصر کلیدهای ژنتیکی ارزشمندی در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها محسوب می‌شوند. با استفاده از این عناصر، نقشه‌برداری ژنتیکی، ایجاد جهش، کلون‌سازی ژن‌ها و حتی تولید موجود تراریخته زنده با سهولت بیشتری صورت می‌گیرد.

شکل ۱) باربارا مک کلینتوک – دریافت جایزه نوبل در ۱۹۸۵ جهت توضیح رنگارنگی دانه‌های ذرت و کشف ترانسپوزون‌ها

توالی‌های الحاق‌شونده در باکتری‌ها

توالی‌های الحاقی (IS)[1] در حال حاضر به خوبی شناخته شده‌اند؛ آن‌ها بخشی از DNA باکتریایی هستند که می‌توانند از موقعیتی به موقعیت دیگری بر روی یک کروموزم و یا یک محل جدید انتقال یابند. الحاق آن‌ها نه‌تنها عملکرد ژن در منطقه‌ای که در آن قرار می‌گیرند را از بین می‌برد، بلکه می‌تواند عملکرد دوگانه داشته باشد؛ یعنی روی بیان ژن پایین‌دست اثر بگذارد. در حقیقت ترانسپوزون‌ها مانند موتاژن‌ها عمل می‌کنند. اگر آن‌ها به وسط یک ژن منتقل شوند، کد قطعه ژنتیکی را بی‌معنی و حتی از بیان

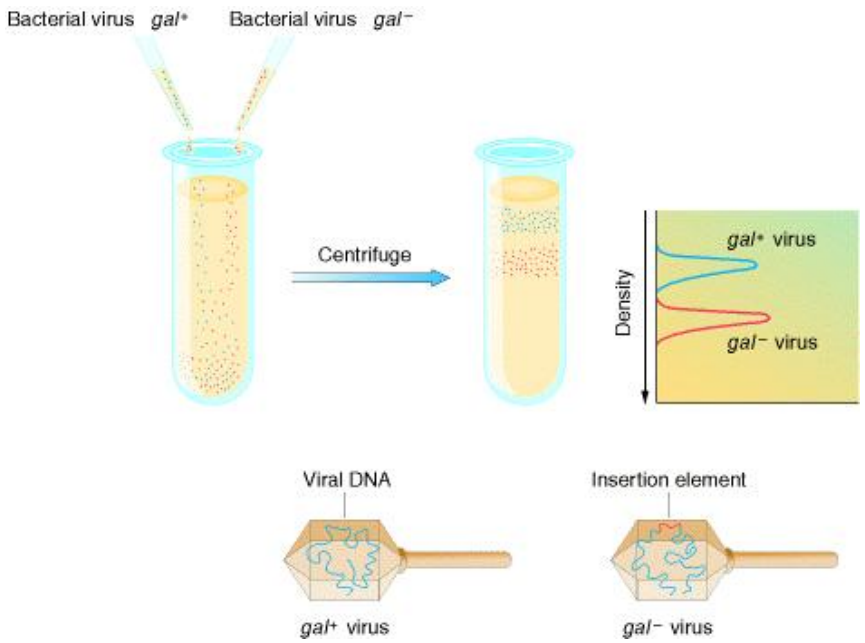
[1] Insertion sequences, or insertion-sequence

آن جلوگیری می‌کنند. آن‌ها هم‌چنین با در نظر گرفتن طولشان می‌توانند حاوی کدهای پایان ترجمه و رونویسی باشند و از بیان سایر ژن‌ها در اپرون (اگر در پایین‌دست باشند) جلوگیری کنند. ISها اولین بار در اپرون *gal* باکتری *E. coli* که مجموعه سه ژنی و مسئول متابولیسم قسمتی از قند گالاکتوز است، شناسایی شدند.

ترانسپوزون‌ها برخی اوقات از رپلیکونی که در آن الحاق شده‌اند خارج می‌شوند، اما احتمال خروج کمتر از الحاق است. ترانسپوزون‌ها می‌توانند حرکت کرده روی مکان دیگری از همان کروموزوم یا کروموزوم متفاوت بنشینند. آن‌ها همچنین می‌توانند سازماندهی مجدد کروموزوم را ایجاد کنند.

بررسی فیزیکی DNA الحاقی

برای اثبات وجود DNA الحاقی، یک آزمایش برای بررسی فیزیکی توالی الحاق‌شونده در نظر گرفته‌ایم؛ فاژ λ در کنار اپرون *gal* قرار می‌گیرد و آن یک راه ساده برای به دست آوردن ذرات فاژ *λdgal* است که منطقه *gal* را انتخاب کرده‌اند. وقتی قطعات IS در *gal* در داخل *λdgal* جای می‌گیرند، طول کلی برخی از *λdgal* در کل محلول تغییر می‌کند، در نتیجه وقتی کل محلول در یک ستون شیب چگالی سزیم کلراید شناور می‌شود، گرادیان IS فاژهای *λdgal* با نرمال قابل‌مقایسه می‌گردد (شکل ۲). این مولکولی DNA است که قطعات IS را حمل می‌کند و بلندتر از DNA نوع معمولی است. آزمایش به‌طور واقع اثبات می‌کند که موتاسیون‌ها به‌وسیله درج مقدار عمده‌ای DNA در داخل اپرون *gal* ایجاد شده‌اند.



شکل ۲) ایجاد جهش توسط DNA الحاقی به‌وسیله فاژ λ در اپرون *gal*، سپس سانتریفیوژ محصول در سدیم کلرید سزیوم، ذرات جهش‌یافته چگال‌تر شده‌اند. ازآنجاکه ذرات ویروس همه به همان اندازه هستند، افزایش چگالی نشان‌دهنده مولکول DNA بزرگ‌تر است که با جهش و افزوده شدن قطعه DNA الحاقی بوجود آمده است.

تشخیص ISهای مجزا

آزمایش‌های هیبریداسیون نشان می‌دهد که موتاسیون‌های الحاقی بسیار مختلفی به‌وسیله مجموعه کوچکی از سکانس‌های الحاقی ایجاد می‌شوند. بر اساس طرح‌های هیبریداسیون متقاطع (Cross Hybridization)، موتانت‌های الحاقی در گروه‌هایی متفاوت قرار داده می‌شوند. اولین سکانس این گروه با ۸۰۰ جفت باز در اپرون *gal* شناسایی شد و IS1 خوانده شد.

دومین سکانس IS2 نامیده شد و طول آن 1350_{bp} است. ما می‌دانیم که ژنوم استاندارد *E. coli* غنی از قطعات IS است که شامل ۸ کپی از IS1 و کپی‌های دیگر از انواع IS می‌شود. باید تأکید کرد که پیدا شدن ناگهانی سکانس‌های الحاقی در هر لوکوس مشخص به این معنا است که این عناصر متحرک با قابلیت ترانسپوزیشن (جابجایی) در داخل ژنوم هستند. تغییرات تنها وقتی که در داخل یک موقعیت غیرطبیعی قرار می‌گیرند (مثل یک ژن ساختاری) یا بعضی تغییرات قابل‌تشخیص در عملکرد، قابل مشاهده هستند.

جهت‌یابی (گرایش) قطعات IS

قطعات IS در بهم‌ریختگی نسبی، نظم و یا آرایش وقایع مولکولی ژنومی که در آن زندگی می‌کنند، شرکت می‌کنند که مهم‌ترین تغییرات ناشی از وجود آن‌ها شامل موارد ذیل است:

۱- **ترانسپوزیشن:** حرکت IS و الحاق آن در مکان دیگر در همان DNA یا مولکول DNA دیگر در سلول

۲- **غیرفعال‌سازی الحاقی:** الحاق یک IS در داخل یک سکانس کدکننده که باعث از دست رفتن عملکرد آن ژن می‌شود (Null Mutation).

۳- **نوترکیبی همولوگ:** سبب حذف، وارونگی یا ترکیب مولکول‌های DNA می‌شود.

ترانسپوزون‌های پروکاریوتی

در سال ۱۹۵۰ میلادی یک توانایی بسیار جالب و دردسرساز در بیمارستان‌های ژاپن در هنگام اپیدمی شیگلوز (اسهال خونی) کشف شد. این بیماری که عامل آن باکتری‌های جنس شیگلا هستند در طی این اپیدمی طیف وسیعی از مقاومت با سرعت بالایی

نشان می‌دادند. مطالعات نشان می‌داد که این باکتری‌ها در ابتدای درمان به‌صورت وسیع‌الطیف مقاوم نبوده‌اند، اما اکنون به آنتی‌بیوتیک‌هایی مثل پنی‌سیلین، تتراسایکلین، سولفونامید، استرپتومایسین و کلرامفنیکل مقاومت نشان می‌دهند. محققان ژاپنی متوجه شدند که مقاومت به چندین دارو به‌صورت یک بسته واحد ژنتیکی از یک باکتری به باکتری دیگر به ارث می‌رسد. این مقاومت نسبت به چند آنتی‌بیوتیک نه‌تنها می‌توانست از یک باکتری به باکتری از همان جنس دیگر منتقل شود، بلکه قادر بود تا به‌صورت عرضی جنس‌ها و گونه‌های دیگر را نیز در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم سازد. این استعداد برای باکتری‌های بیماری‌زا فوق‌العاده و برای پزشکان درگیر وحشتناک بود. از دیدگاه متخصصین ژنتیک این موضوع بسیار جذاب و قابل‌بررسی می‌نمود. مشاهدات نشان داد که حامل حمل‌کننده این مقاومت از سلول به سلول دیگر حرکت کرده و به‌صورت مستقل خود همانندسازی می‌کند؛ شبیه چیزی که در مورد فاکتور F می‌دانیم. عوامل این مقاومت به‌سرعت از سلول به سلول دیگر انتقال یافته و شبیه فاکتور F[1] در *اشریشیا کلی* هستند. در واقع هم این عوامل که برای اولین بار کشف شدند، بسیار شبیه فاکتور F بودند. این عناصر در جایگاه پلاسمیدی باکتری‌ها در سیتوپلاسم قرار داشتند و می‌توانستند دسته‌های مختلفی از ژن‌ها را حمل کنند.

عناصر متحرک DNA ضرورتاً انگل‌های مولکولی هستند که به ظاهر هیچ عملکردی در زیستایی ارگانیسم‌های میزبان خود ندارند و تنها برای بقای خود وجود دارند به همین دلیل آن‌ها را به‌عنوان DNA خودخواه نیز یاد می‌کنند. انباشت آهسته‌ی این عناصر در ژنوم‌های یوکاریوتی طی زمان تکاملی از ترانسپوزیشن آن‌ها ناشی می‌شود، همچنین این عناصر با سرعت بسیار کند به‌وسیله حذف قطعات DNA حاوی آن‌ها و یا جمع شدن جهش‌ها ناپدید می‌شوند به همین دلیل عناصر متحرک بسیار آهسته از ژنوم یوکاریوتی حذف می‌شوند و اکنون به جایگاهی رسیده‌اند که قسمت عمده و مهمی از ژنوم بسیاری از یوکاریوت‌ها را تشکیل می‌دهند.

پس یکی از مشخص‌ترین پیامدهای ترانسپوزیشن، زیان‌آور بودن آنهاست خصوصاً وقتی که الحاق در داخل ژن‌های ضروری اتفاق می‌افتد. سؤالی که اینجا ایجاد می‌شود این است که نگهداری آن‌ها در ژنوم باکتری‌ها در طی تکامل برای چیست؟

اگر عوامل IS اغلب زیان‌آور بودند از ژنوم باکتری در طولانی‌مدت حذف می‌شدند، مگر این‌که به‌وسیله سایر عوامل مثل ویروس‌ها یا پلاسمیدها به‌صورت مکرر با انتقال افقی در ژنوم افزایش پیدا کنند.

صحت یا دقت موتاسیون‌های مفید وابسته به IS، بسیاری از موتاسیون‌های مضر یا طبیعی را متعادل می‌کند و یکی از دلایل نگهداری بلندمدت آن‌ها در طی تکامل است. نگهداری طولانی‌مدت IS در سلول‌ها را می‌توان به‌عنوان یک معامله بین موتاسیون‌های بسیار طبیعی یا مضری که به‌آرامی ژنوم باکتری را فلج می‌کنند و موتاسیون‌های مفید نادری که به خاطر حضور

---

[1] F factor

ISها به‌صورت مجانی سوار ژنوم می‌شوند، در نظر گرفت. سازماندهی مجدد با واسطه IS نقش عمده‌ای در سازگاری باکتریایی دارند. تثبیت یک موتاسیون مفید، هم اندازه و هم سرعت موتاسیون را افزایش می‌دهد.

در قسمت‌های بعدی، درباره ساختار فیزیکی، چگونگی عملکرد ترانسپوزون‌ها و انواع آن‌ها بحث خواهیم کرد.