

تجزیه توالی 5'UTR در انسان، گوسفند و گیاه آراییدوپسیس و

بررسی علت عبور ماشین ریبوزوم از uAUG

فروزان قاسمیان رودسری^{۱*}، سید محمد حسینی ده آبادی^۲، حافظ دلجو^۳

۱، ۲ و ۳- به ترتیب استادیار و دانشجویان کارشناسی ارشد دانشگاه زنجان

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: forouzanghasemian@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۹۰/۳/۲۹)

چکیده

توالی mRNA در یوکاریوت‌ها از 5'Cap شروع شده و به پلی A ختم می‌شود و در بین آن‌ها توالی تنظیمی 5'UTR توالی ساختاری ORF و توالی تنظیمی دیگر به نام 3'UTR قرار می‌گیرند. در توالی 5'UTR در بسیاری از موجودات یک یا تعدادی ATG قبل از شروع کدگذاری شروع ترجمه وجود دارد که ریبوزوم از آن‌ها عبور کرده تا به ATG شروع کننده ترجمه برسد. تجزیه محاسباتی uATG در منطقه 5'UTR در ۸۰ ژن با محصول‌های متفاوت در انسان، گوسفند و گیاه آراییدوپسیس مورد بررسی قرار گرفت که ۲۶/۶۶ درصد از 5'UTR زیر ۱۰۰ جفت‌باز، ۲۴ درصد بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ جفت‌باز، ۳۶ درصد بین ۲۰۰ تا ۵۰۰ جفت‌باز، ۸ درصد بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت‌باز و ۵/۳۳ درصد بزرگتر از ۱۰۰۰ جفت‌باز بودند، نتایج نشان داد یکی از دلایل عبور ماشین ریبوزوم از uATG تفاوت در توالی‌های مجاور آن با ATG شروع کننده ترجمه بوده، که سیگنالی برای شناسایی ماشین ریبوزوم است. همچنین برای نشان دادن محدوده وسیع‌تری از منطقه اطراف uATG توالی‌های قبل و بعد از آن به‌صورت اسید آمینه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیش‌تر اسید آمینه‌های قبل و بعد از متیونین از نوع اسید آمینه‌های بازی، سرین، لوسین و آلانین بیش‌ترین تعداد را دارا بوده و از نظر حجم مولکولی نیز در جایگاه‌های اول، دوم و سوم قبل از ATG آغازین اسید آمینه‌های با حجم کم‌تر بیش‌ترین تعداد را داشتند، با این حال این روال در اسید آمینه‌های بعد از ATG آغازین نظم خاصی را نداشتند. به‌طور کلی اسیدهای آمینه قبل و بعد از ATG آغازگر قطبی بوده، اما اسیدهای بعد از uATG غیر قطبی و قبل از آن قطبی بودند.

واژه‌های کلیدی

تجزیه محاسباتی،
ماشین ریبوزوم،
5'UTR
ATG
uATG

مقدمه

تنظیم ترجمه از روش‌های اصلی تنظیم بیان ژن در یوکاریوت‌ها محسوب می‌شود. این نوع تنظیم از طریق فعال نمودن یا مهار ترجمه mRNA و پردازش‌های بعد از آن صورت می‌گیرد. تفاوت اصلی بین شروع ترجمه در باکتری‌ها و یوکاریوت‌ها آن است که در باکتری‌ها کمپلکس شروع ترجمه مستقیماً در محل کدون شروع در نقطه آغاز سنتز پروتئین ساخته شده در حالی که در یوکاریوت‌ها برای تعیین نقطه شروع ترجمه از روند غیر مستقیم استفاده می‌شود. وجود توالی‌های قبل از کدون شروع و بعد از کدون ختم که به‌ترتیب 3'UTR و 5'UTR نامیده می‌شوند، نقش مهمی در تنظیم ترجمه ژن‌ها در یوکاریوت‌ها دارند.

توالی وابسته به uORF در اپرون تریپتوفان در باکتری کلی باسیل^۵ که حاوی پپتیدهای ۲۴ واحدی است بر عناصر سیس تنظیمی تاثیرگذار است (۴). محصول‌های پروتئینی ترجمه‌ی uORF پپتیدهایی هستند که سبب مهار یا تحریک ژن‌های ناحیه‌ی پایین دستی می‌گردد. همچنین مشخص شده تنوع محصول‌های ژن علاوه بر اینکه از طریق پیرایش متناوب صورت می‌گیرد، می‌تواند با انتخاب یکی از uATG ها به عنوان ATG شروع کننده با توجه به شرایط محیطی نیز انجام شود (۱۸،۲). UAG معمولاً در دسته ویژه‌ای از ژن‌ها وجود دارد که دو سوم آن‌ها از نوع انکوژن بوده و بقیه از ژن‌های کنترل رشد سلولی و تمایز زایی هستند. همچنین ژن‌هایی که نقش حیاتی در سلول دارند فاقد uAUG هستند (۱۸،۱۹). وجود uATG ها در mRNA ده درصد مهره‌داران، mRNA سه درصد مخمرها و تعداد اندکی از قارچ‌ها مشاهده شده است (۱۹،۱۶،۵). هدف از این تحقیق بررسی توالی‌های مجاور کدون uATG و پیدا کردن رابطه مناسب بین این توالی‌های محافظت شده و عملکرد تنظیمی آن‌ها در ژن‌های مربوط به گیاه آراییدوپسیس گوسفند و انسان است. یکی از دغدغه‌های علم بیوانفورماتیک مساله جستجوی ژن‌ها^۶ است، و در این تحقیق به پیدا کردن ATG اصلی پرداخته شده است، که مطالعه آزمایش‌های 5' RACE^۷ و طراحی الیگونوکلوئیدهای دقیق به منظور یافتن ATG آغازین را تسهیل می‌سازد.

مواد و روش‌ها

ابتدا توالی 5'UTR در ژن‌های مختلف انسان، گوسفند و گیاه آراییدوپسیس از بانک‌های اطلاعاتی جمع‌آوری و سپس با نرم-افزارهای مختلفی از جمله (DNA.Logo.Projects-Gorf.Blast) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore> و <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/gorf> آغازین آن‌ها بررسی شد و پس از مطالعه دقیق جدا کردن توالی 5'UTR و جستجوی uATG به کمک نرم‌افزارهای بیوانفورماتیکی http://www.bioinformatics.org/sms/orf_find.html و http://vivo.library.geneinfinity.org/sms_orffinder.html

طول این ناحیه پیش‌رو در ملکول mRNA یوکاریوتی از چندین ده نوکلئوتید تا چندین صد نوکلئوتید متغیر است و اغلب شامل نواحی است که در آن ساختمان سنجاق سری یا دیگر ساختمان‌های جفت بازی تشکیل می‌شود.

مرحله اول ترجمه در یوکاریوت‌ها، چیدمان کمپلکس پیش شروع است. این ساختمان شامل زیر واحد ۴۰S ریبوزوم، یک کمپلکس سه گانه و سه فاکتور شروع به نام‌های eIF-1، eIF-A و eIF-3 است. کمپلکس سه گانه از فاکتور شروع eIF-2 متصل به tRNA^{met} آغازگر و یک مولکول GTP ساخته شده است که کدون داخلی AUG را شناسایی می‌کند. پس از چیدمان، کمپلکس پیش شروع ناحیه 5' mRNA تماس برقرار می‌کند. در این مرحله به اتصال سر پوش^۱ نیاز است. این کمپلکس از فاکتورهای شروع eIF-4، eIF-4E و eIF-4G ساخته شده است (۶،۳). علاوه بر این، اتصال کمپلکس پیش شروع به mRNA تحت تاثیر دم پلی A واقع در انتهای 3' mRNA نیز قرار می‌گیرد. به نظر می‌رسد این میانکشی با پروتئین متصل به پلی آدنیلات^۲ که به دم پلی A متصل است، انجام می‌شود (۲۰،۱۷،۱۵،۱۱). در توالی 5'UTR در بسیاری از موجودات یک یا تعدادی ATG قبل از ATG شروع کننده ترجمه وجود دارد که ریبوزوم از آن‌ها عبور کرده تا به ATG شروع کننده ترجمه برسد. حضور ATG ها شروع کننده در نقطه 5'UTR باعث می‌شود ORF های بالادستی^۳ قبل از ORF اصلی وجود داشته باشد که از طریق ساز و کارهای مختلفی در تنظیم بیان ژن نقش دارند (۱۲،۴). بسیاری از uORF ها در ترجمه پائین دست، به وسیله مکانیسمی وابسته به توالی اسیدآمیننه کد شده موثر هستند. پروتئین‌های تولید شده توسط uORF ها در موجودات پروکاریوتی و یوکاریوتی نقش مهمی در کنترل مکانیسم‌های ترجمه دارند. در ژن‌های ویژه مقاومت به آنتی بیوتیک باکتری‌ها محصول‌های پپتیدی uORF ها به ماشین ریبوزوم و انتقال پروتئین‌ها کمک می‌کنند. همچنین این پروتئین‌ها به ارتباط توالی شاین دال گارنو^۴ (که در عملیات ترجمه در ORF موثر است) با سایر پروتئین‌های تنظیمی موثر هستند. به عنوان مثال

^۱ Cap binding complex

^۲ PADP

^۳ Upstream ORF (uORF)

^۴ Shine-Dalgarno

^۵ *Escherichia coli*

^۶ Gene finding

^۷ Rapid amplification of cDNA end

این شرایط به پایداری هر چه بیش تر mRNA کمک می کند، این پایداری توسط پپتیدهای کوچکی که ORFهای بالادستی قبل از ORF اصلی (uORF) تولید می کند، صورت می گیرد. در بررسی بین تعداد uATG در توالی 5'UTR مشخص شده که در گوسفند ژنهایی که دارای بیشترین تعداد uATG است، در دستگاه گوارش، گلوبین آلفا و مغز وجود دارند و کمترین تعداد مربوط به ماتریکس خارجی سلولی و گلیکو پروتئین غشای سلولی و گیرندههای استروژن در بافت رحم هستند.

نتایج و بحث

تجزیه محاسباتی uATG در نواحی 5'UTR مربوط به ۸۰ ژن در جدول ۱ ارائه شده است. میانگین طول توالیهای 5'UTR در انسان، گوسفند و گیاه آراییدوپسیس، به ترتیب ۳۰۸/۴۴، ۲۶۷/۰۹ و ۲۹۱/۸۳ نوکلئوتید و میانگین کل ۲۸۹/۱۲ بود. ۲۶/۶۶ درصد از 5'UTR ها زیر ۱۰۰ جفت باز، ۲۴ درصد بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ جفت باز، ۳۶ درصد بین ۲۰۰ تا ۵۰۰ جفت باز، ۸ درصد بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت باز، ۵/۳۳ درصد بزرگتر از ۱۰۰۰ جفت باز بودند. این نتایج نشان می دهند که هر چه طول توالی 5'UTR بزرگتر باشد محصول ژنی که تولید می شود در بافت های پیچیده تر بیان می شود. در توالی های بررسی شده در گوسفند ژنهایی که دارای 5'UTR بزرگتری بودند در بافت های دستگاه گوارش، مغز، تخمدان و ژن گلوبین آلفا و کمترین طول مربوط به غشای سلولی (گلیکو پروتئین های موجود در آن)، ماتریکس خارج سلولی و گلوبول های سفید هستند و در مورد ژن های گیاهانی که 5'UTR آنها دارای uATG بودند اغلب محصول های ژنی، پروتئین هایی تنظیمی بودند که در همانندسازی و افزایش راندمان ترجمه نقش اساسی داشتند و در مورد انسان محصول های ژنهایی که در 5'UTR آنها دارای uATG بودند طویل ترین توالی مربوط به تولید لئوسیت T بوده، در حالی که کوتاه ترین توالی مربوط به آنزیم های چرخه گلیکوژنز، پپتیدهای ضد میکروبی و گیرنده های آلفا سطح سلولی بودند. یکی از وظایف 5'UTR ایجاد پایداری در mRNA است. بسته به طول ژن ها، mRNA هایی با طول های مختلف به وجود می آید. در بیش تر موارد ژن بزرگتر دارای mRNA بزرگتر بوده و ژن کوچکتر دارای mRNA کوچکتری است. در این تحقیق طول ژن ها و طول ORF مربوط به mRNA بررسی نشده اما اغلب ناحیه ی با طول ORF بیش تر دارای 5'UTR بزرگتری بوده که موید uATG بیش تری خواهد بود.

در مورد توالی های انسانی کوتاه ترین توالی مربوط به آنزیم های چرخه گلیکوژنز، پپتیدهای ضد میکروبی و گیرنده های آلفا در سطح سلولی است و طویل ترین توالی مربوط به تولید لئوسیت T است. در مورد گیاهان کمترین توالی مربوط به پروتئین کیناز وابسته به کلسیم، پروتئین گیرنده های نوری و پروتئین القاء کننده تولید اکسین بوده و این در حالی است که بیش ترین توالی مربوط به تنظیم کننده و رونویسی کننده ژن های هموباکس^۱ در آراییدوپسیس و داکسی هایپوسین سنتاز^۲ هستند.

ارتباط طول توالی و تعداد uATG با استفاده از نرم افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که داده های مربوطه در سطح ۹۵ درصد معنی دار ($P \text{ value}=0.18$) و مقدار ضریب همبستگی $R^2=0.95$ بدست آمد، یعنی هر چه توالی 5'UTR بزرگتر باشد تعداد uATG در آن بیش تر است و احتمال اینکه ماشین ریبوزوم از آن عبور کند بیش تر شده و در نتیجه تعداد uORF هایی که ایجاد می شود افزایش می یابد. بدین ترتیب تولید پلی پپتیدهای کوچک تنظیمی که برای کنترل بیان ژن و تغییرهای پس از ترجمه لازم است فراهم می شود نتایج تجزیه داده ها تأیید کننده این وضعیت است. تفاوت اصلی بین شروع ترجمه در باکتری و یوکاریوت ها این است که در باکتری ها، کمپلکس شروع ترجمه مستقیماً در محل کدون شروع در نقطه آغاز سنتز پروتئین ساخته می شود، ولی در یوکاریوت ها برای تعیین نقطه شروع باید کمپلکس شروع ترجمه در ابتدای mRNA یعنی 5'cap قرار گرفته باشد تا توالی را در طول mRNA جستجو و کدون شروع را پیدا نماید. شروع ترجمه در یوکاریوت ها با دم پلی A آغاز می گردد

این شرایط به پایداری هر چه بیش تر mRNA کمک می کند، این پایداری توسط پپتیدهای کوچکی که ORFهای بالادستی قبل از ORF اصلی (uORF) تولید می کند، صورت می گیرد. در بررسی بین تعداد uATG در توالی 5'UTR مشخص شده که در گوسفند ژنهایی که دارای بیشترین تعداد uATG است، در دستگاه گوارش، گلوبین آلفا و مغز وجود دارند و کمترین تعداد مربوط به ماتریکس خارجی سلولی و گلیکو پروتئین غشای سلولی و گیرندههای استروژن در بافت رحم هستند.

¹ Light-regulated homeobox 1

² Deoxyhypusine synthase

در جدول‌های ۳ و ۲ ارائه شده است. نتایج حاصل از تجزیه‌ها نشان داد که منطقه مجاور uATG و ATG آغازین متفاوت بوده و همین امر یکی از دلایل عبور ماشین ریبوزوم از uATG و انتخاب صحیح ATG آغازین به عنوان شروع ترجمه است، همچنین محتوای AT در اطراف uATG و ATG آغازین تا حدودی متفاوت بوده که ممکن است سیگنالی برای انتخاب ماشین ریبوزوم باشد که با نظرات سایر محققین مطابقت کامل دارد (۱۳،۶).

در اکثر mRNAها ابتدا زیر واحد کوچک ریبوزومی به انتهای ۵' مولکول متصل شده و سپس طول توالی mRNA را جستجو می‌کند تا به کدون شروع برسد، این روند نیازمند تعداد زیادی فاکتور شروع است (۱۳،۶،۳،۱). در این مسیر ممکن است ماشین ریبوزوم از چندین ATG گذشته تا به ATG اصلی برسد و ترجمه از آن‌جا آغاز می‌شود و در نتیجه سبب تولید پروتئین می‌گردد (۱۲،۹،۴). نتایج تجزیه توالی 5'UTR در ۸۰ ژن مربوط به انسان، گوسفند و آراییدوپسیس و بررسی چهار توالی قبل و بعد از ATG

جدول ۱- اطلاعات تعدادی از توالی‌های 5'UTR در گونه‌های مورد بررسی

Species	GenBank accession	5'UTR length(bp)	Number uATGs Of	Species	GenBank accession	5'UTR length(bp)	Number uATGs Of
Ovis	FN432137	۲۹۸	۱	Ovis	EU938070. 1	۵۸۲	۷
Ovis	FN432138	۱۸۹	۱	Ovis	EU938069. 1	۶۲۷	۷
Ovis	AY304480	۱۰۴۷	۴	Ovis	AF411974. 1	۳۲	۱
Ovis	AM981305	۳۶	۱	Ovis	AF394223. 1	۸۶	۱
Ovis	AM981301	۷۶	۲	Homo	U18422. 1	۱۳۱	۳
Ovis	AJ005907	۷۰	۱	Homo	AY227654. 1	۲۰۷	۳
Ovis	AJ616711	۱۰۹	۲	Homo	AF117888. 1	۲۴۷	۳
Ovis	AM98130	۳	۱	Homo	U43519. 1	۲۶۲	۳
Ovis	AM981301	۷۳	۱	Homo	L13689. 1	۴۷۹	۴
Ovis	L11343	۱۴۰۶	۲۳	Homo	D32129. 1	۱۵۲۳	۸
Ovis	DQ679798	۵۴	۱	Homo	L33075. 1	۴۶۷	۹
Ovis	DQ886530	۱۴۷	۳	Homo	AF159295. 1	۱۵۰۳	۱۱
Ovis	EU938071	۲۷۸	۲	Homo	U18422. 1	۱۳۱	۳
Ovis	AJ278011	۱۰۰	۱	Homo	AY227654. 1	۲۰۷	۳
Ovis	AJ564445	۴۷	۲	Homo	AF117888. 1	۲۴۷	۳
Ovis	AJ272270	۹۹	۲	Homo	AF251046. 2	۵۸۴	۲
<i>A. thaliana</i>	X80126	۳۰۳	۷	Homo	AF089841. 1	۱۰۹	۱
<i>A. thaliana</i>	AF436825	۴۶۷	۴	Homo	AJ005371. 1	۳۵	۱
<i>A. thaliana</i>	AF324691	۱۷۴	۱	Homo	X99896. 1	۴۳	۱
<i>A. thaliana</i>	AF324696	۳۷۲	۲	Homo	L13365. 1	۵۳	۱
<i>A. thaliana</i>	AF361588	۱۹۳	۱	Homo	X63455. 1	۸۹	۱
<i>A. thaliana</i>	AF361634	۲۰۷	۱	Homo	X99895. 1	۸۹	۱
<i>A. thaliana</i>	AF361828	۴۷۹	۷	Homo	U37219. 1	۹۲	۱
<i>A. thaliana</i>	AF367263	۲۶۰	۱	Homo	AF410154. 1	۱۳۸	۱
<i>A. thaliana</i>	AF367267	۳۹۷	۳	Homo	AJ719632. 1	۱۴۵	۱
<i>A. thaliana</i>	AF367271	۳۶۰	۴	Homo	AY643746. 1	۱۵۱	۱
<i>A. thaliana</i>	AF367312	۲۴۶	۳	Homo	AY665468. 1	۱۴۷	۲
<i>A. thaliana</i>	AF367334	۲۲۳	۱	Homo	AY227651. 1	۱۶۸	۲
<i>A. thaliana</i>	AF367343	۲۹۹	۳	Homo	AY039843. 1	۱۸۷	۲
<i>A. thaliana</i>	AF372922	۱۱۲	۱	Homo	AF281049. 1	۲۱۹	۲
<i>A. thaliana</i>	AF372909	۱۳۰	۱	Homo	Y17958. 1	۳۰۸	۲
<i>A. thaliana</i>	AF375412	۳۰۳	۲	Homo	AY829434. 1	۳۳۵	۲

است. اولین اسید آمینه قبل از متیونین آغازگر ATG آغازین به- ترتیب بیش‌تر شامل اسید آمینه سرین، ترئونین، لوسین و گلوتامیک اسید و دومین اسید آمینه قبل از متیونین آغازگر ATG آغازین به ترتیب بیش‌تر شامل اسید آمینه سرین، پرولین، لوسین و لیزین است. همچنین سرین، گلوتامیک اسید، آلانین و فنیل آلانین به ترتیب بیش‌ترین اسید آمینه سوم قبل از اسید آمینه متیونین آغازگر را شامل می‌شوند (جدول ۴).

در بررسی اسیدهای آمینه انسان، گوسفند و آراییدوپسیس، قبل و بعد از متیونین‌های uATG نتایج نشان داد که اولین اسید آمینه بعد از متیونین uATG به ترتیب بیش‌تر مربوط به اسید آمینه لیزین، سرین، آرژنین و والین و دومین اسید آمینه بعد از متیونین uATG به ترتیب بیش‌تر مربوط به اسید آمینه لوسین، آلانین، آرژنین و فنیل آلانین است. سومین اسید آمینه بعد از متیونین uATG به ترتیب بیش‌تر مربوط به اسید آمینه سرین، آلانین، گلیسین و ترئونین است. نتایج همچنین نشان داد که اولین اسید آمینه قبل از متیونین uATG به ترتیب بیشتر شامل اسید آمینه سرین، ترئونین، لوسین و پرولین بوده و دومین اسید آمینه قبل از متیونین uATG آغازین به ترتیب شامل اسید آمینه سرین، پرولین، آرژنین و لوسین است. همچنین آرژنین، سرین، والین و گلوتامیک اسید به ترتیب بیش-ترین مقدار اسید آمینه را در رده سوم قبل از اسید آمینه متیونین آغازگر دارا بودند. نتایج حاصل از بررسی حجم مولکولی اسیدهای آمینه‌ی قبل از متیونین آغازگر نشان داد که در جایگاه اولین اسید آمینه قبل از ATG آغازگر، اسید آمینه‌هایی با کم‌ترین حجم مولکولی قرار گرفته که به ترتیب بیش‌ترین تعداد شامل ۱۰۵، ۱۱۹، ۱۳۱ و ۱۴۶ گرم بر مول هستند، اسید آمینه‌های قبل از

جدول ۲- فراوانی چهار نوکلئوتید قبل و بعد از ATG آغازین برای ترجمه در

mRNA انسان، گوسفند و آراییدوپسیس									
موقعیت نوکلئوتید	نوکلئوتید	-۴	-۳	-۲	-۱	+۱	+۲	+۳	+۴
A		۱۷	۳۱	۱۴	۱۸	۱۶	۲۱	۱۲	۳۷
T		۷	۵	۱۸	۶	۹	۱۷	۱۳	۱۴
G		۲۳	۲۴	۱۴	۱۹	۳۴	۱۹	۳۵	۷
C		۳۳	۱۶	۳۲	۳۳	۱۵	۱۷	۱۵	۱۷

۱- نوکلئوتید قبل از ATG +۱ نوکلئوتید بعد از ATG است. علامت مثبت (+) نشان دهنده نوکلئوتید بعد و منفی (-) نشان دهنده نوکلئوتید قبل از ATG است.

جدول ۳- فراوانی چهار نوکلئوتید قبل و بعد از uATG در منطقه 5'UTR در

mRNA انسان، گوسفند و آراییدوپسیس									
موقعیت نوکلئوتید	نوکلئوتید	-۴	-۳	-۲	-۱	+۱	+۲	+۳	+۴
A		۶۳	۸۷	۵۱	۸۰	۸۴	۵۰	۵۵	۷۸
T		۳۷	۶۳	۵۵	۴۱	۵۱	۶۱	۶۰	۵۴
G		۷۸	۶۲	۷۸	۶۹	۶۷	۷۷	۸۲	۸۲
C		۹۷	۶۰	۹۴	۸۵	۶۳	۸۳	۷۸	۶۳

۱- نوکلئوتید قبل از ATG +۱ نوکلئوتید بعد از ATG است. علامت مثبت (+) نشان دهنده نوکلئوتید بعد و منفی (-) نشان دهنده نوکلئوتید قبل از ATG است.

بعد از بررسی توالی نوکلئوتیدی، نه نوکلئوتید قبل و بعد از ATG بر روی mRNA مشخص شد، و اسید آمینه متیونین که توسط ATG کد می‌شود به عنوان معیار قرار گرفت. سه اسید آمینه قبل و بعد از متیونین آغازین، مورد تجزیه قرار گرفت که به ترتیب جایگاه‌های اول، دوم و سوم بعد و قبل از متیونین نام‌گذاری شدند. نتایج نشان داد که اولین اسید آمینه بعد از متیونین آغازگر مربوط به ATG آغازین به ترتیب بیشتر مربوط به اسید آمینه والین، آلانین، لیزین و گلوتامیک اسید و دومین اسید آمینه بعد از متیونین آغازگر به ترتیب بیش‌تر مربوط به اسید آمینه لوسین، آلانین، لیزین و ترئونین و سومین اسید آمینه بعد از متیونین آغازگر به ترتیب بیش‌تر مربوط به اسید آمینه سرین، گلیسین، لوسین و آرژنین

جدول ۴- موقعیت جایگاه‌های اسید آمینه‌ها و در صدای محاسبه شده هر جایگاه

جایگاه سوم	جایگاه دوم	جایگاه اول	جایگاه اول	جایگاه دوم	جایگاه سوم	نوبت جایگاه
سرین	لوسین	والین	متیونین	سرین	سرین	در حدود ۸۰ درصد
گلیسین	آلانین	آلانین	متیونین	ترئونین	پرولین	در حدود ۱۵ درصد
لوسین	لیزین	لیزین	متیونین	لوسین	آلانین	در حدود ۵ درصد

در مورد دام‌ها، به ویژه گوسفند به علت عدم توالی‌یابی کامل ژنوم، اطلاعات کامل و قابل اطمینانی در دسترس نیست و نیاز به بانک اطلاعاتی قوی‌تری است تا بتوان نظرهای قابل قبولی را ارائه داد. به‌طور کلی اسیدهای آمینه قبل و بعد از ATG آغازگر قطبی ولی اسیدهای آمینه بعد از uATG غیر قطبی و قبل از آن قطبی هستند.

نتایج این تحقیق همچنین به مهندسين ژنتیک و متخصصین سلولی مولکولی در مبحث طراحی ژن‌های جدید کمک خواهد کرد، و با داشتن توالی اطراف ATG آغازین و ممانعت از پدیده سرخوردن ریبوزوم بیان ژن مورد انتظارشان را داشته باشند. اگرچه تاکنون تجزیه‌های در گیاه آراییدوپسیس صوت گرفته اما مطالعه‌ای برای ژن‌های گوسفندی مشاهده نشده است. لازم به ذکر است یکی از جنبه‌های نوآوری این تحقیق مقایسه 5'UTR موجودات مختلف بوده که تاکنون چنین مقایسه‌ای صورت نگرفته است.

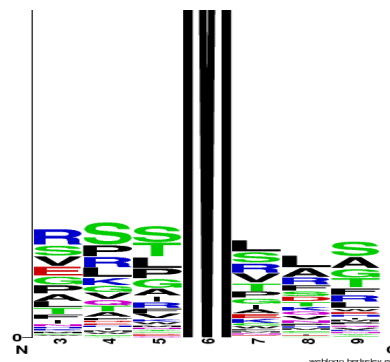
سپاسگذاری

در انجام این تحقیق از نظرها و پیشنهادهای جناب آقای دکتر صادقی و اساتید محترم دانشگاه زنجان استفاده شده که بدین وسیله از آن‌ها تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

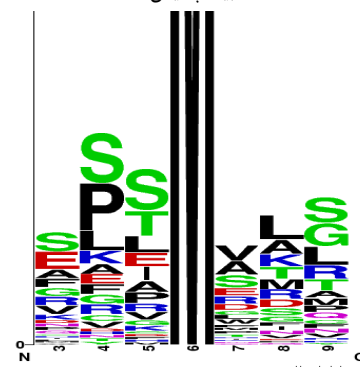
1. Conne B and Stutz A, Vassali J. D. (2000). The 3' untranslated region of messenger RNA: a molecular 'hotspot' for pathology? *Nature Medicine* 6:637-641.
2. Dever, T. E. (2002). Gene-specific regulation by general translation factors. *Cell* 108, 545-556.
3. Gallie D R. (1998). A tale of two termini: A functional interaction between the termini of an mRNA is a prerequisite for efficient translation initiation. *Gene* 216: 1-11.
4. Geballe A P and Sachs M S. (2000). Translational control by upstream open reading frames. In Sonenberg, N., Hershey, JWB and Mathews, MB (eds), *Translational Control of Gene Expression*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 595-614 pp.
5. Gehring NH and Frede U, Neu-Yilik G, Hundsdoerfer P, Vetter B, Hentze M. W, Kulozik AE. (2001). Increased efficiency of mRNA 3' end formation: a new genetic mechanism contributing to hereditary thrombophilia. *Nat. Genet.* 28:389-392.

ATG آغازگر نیز بیان‌کننده همین نتیجه بود که برای دومین جایگاه به‌ترتیب بیش‌ترین تعداد اسید آمینه حجم مولکولی ۱۰۵، ۱۱۹ و ۱۴۶ و برای سومین جایگاه به‌ترتیب بیش‌ترین تعداد اسید آمینه حجم مولکولی ۱۰۵، ۱۴۶، ۱۶۵ هستند. نتایج این مطالعه هیچ نظم خاصی را از نظر حجم مولکولی اسیدهای آمینه، تعداد متیونین آغازین در هر سه جایگاه نشان نداد (شکل‌های ۳ و ۲).



شکل ۲- سه اسید آمینه‌ی قبل و بعد از ATG آغازگر انسان، گوسفند و

آراییدوپسیس



شکل ۳- سه اسید آمینه‌ی قبل و بعد از uATG

ریکی (۲۰۰۵) و هولزینک و همکاران (۲۰۰۲) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که محتوای اطراف AUG و uAUG تا حدودی با هم متفاوت است و این وضعیت یکی از دلایل تاکید عبور ماشین ریبوزوم از uAUG است، این نتیجه با نتایج بدست آمده در این مطالعه مطابقت کامل دارد. کیو (۲۰۰۹) و لاکونو (۲۰۰۵) به نقش مهم uORF و محصول‌های حاصله از آن به عنوان عناصر *cis-acting* در تنظیم بیان ژن در انسان اشاره کردند و در مطالعه‌های تکوینی به این نتیجه رسیدند که uORF در طی تکامل به‌صورت مناطق محافظت شده باقی مانده است، مشابه این نتایج در ژنوم موش نیز به‌دست آمده است.

6. Grosset C and Chen C Y, Xu N, Sonenberg N, Jacquemin-Sablon H, Shyu A. B. (2000). A mechanism for translationally coupled mRNA turnover: Interaction between the poly (A) tail and a c-fos RNA coding determinant via a protein complex. *Cell* 103: 29-40.
7. Hulzink R J M and Peter F. M, de Groot A, Croes F, Quaedylied W, Twell D, Wullems G J, Marinus M. A. (2002). The 5'-Untranslated Region of the ntp303 Gene Strongly Enhances Translation during Pollen Tube Growth, But Not during Pollen Maturation, *Plant Physiology* 129: 342-353.
8. Iacono M and Mignone F, Pesole G. (2005). uAUG and uORFs in human and rodent 5' untranslated mRNAs. *Gene* 349: 97-105.
9. Jiang C and Schuman E. M. (2002). Regulation and function of local protein synthesis in neuronal dendrites. *Trends Biochem. Sci.* 27:506-513.
10. Kyu Young Song, and Chun Sung Kim, Cheol Kyu Hwang, Hack Sun Choi, Ping-Yee Law, Li-Na Wei, and Horace H. Loh. (2010). UAUG-mediated translational initiations are responsible for human mu opioid receptor gene expression, *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14: 1113-1124.
11. Michel Y M and Poncet D, Piron M, Kean K M, Borman A M. (2000). Cap-poly (A) synergy in mammalian Investigation of the requirements for poly (A)-mediated stimulation of translation. *J. Biol. Chem.* 275: 32268-32276.
12. Morris D R. (1997). cis-acting mRNA structures in gene-specific translation control, p. 165-180. In: Harford, JB, and Morris, DR (ed.), *RNA metabolism, and post-transcriptional gene regulation*. Wiley-Liss, Inc., New York, N. Y.
13. Raney A and Baron A C, Mize G J, Law G L, Morris D R. (2000). In vitro translation of the upstream open reading frame in the mammalian mRNA encoding S-adenosylmethionine decarboxylase. *J. Biol. Chem.* 275: 24444-24450.
14. Riki K and Bailey S J. (2005). mRNA sequence features that contribute to translational regulation in Arabidopsis. *Nucl. Acids Res.* 33:955-965.
15. Sachs A B and Varani G. (2000). Eukaryotic translation initiation: there are (at least) two sides to every story. *Nat. Struct. Biol.* 7: 356-361.
16. Tarun S Z, and Sachs AB. (1996). Association of the yeast poly (A) tail binding protein with translation initiation factor eIF-4G. *Embo. J.* 15: 7168-7177.
17. Varani G. (2001). Delivering messages from the 30 end. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 98: 4288-4289.
18. Wickens M and Anderson P, Jackson RJ. (1997). Life and death in the cytoplasm: messages from the 3'-end. *Curr. Opin. Genet.* 7: 220-232.
19. Jin Yong-Feng and Jin Hui-Qing, Zhou Ping, Bian Teng-Fei. (2005). Analysis of plant mRNA upstream open reading frames. *Chinese Journal of Agricultural Biotechnology* 2:59-66.
20. Zeng Y and Wagner E J, Cullen B R. (2002). Both natural and designed micro RNAs can inhibit the expression of cognate mRNAs when expressed in human cells. *Mol. Cell.* 9: 1327-1333.