

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 ATG شروع کننده 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 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 و ۵/۳۳ درصد بزرگتر از ۱۰۰۰ جفت باز 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 وسیع تری از منطقه اطراف uATG توالی‌های قبل و بعد از آن به صورت اسید آمینه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیش تر 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 به ترتیب 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 uATGها 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 uATGها 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 آرآیدوپسیس 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 الیگونوکلوئوتیدهای دقیق به منظور یافتن ATG آغازین را تسهیل می‌سازد.

مواد و روش‌ها

ابتدا توالی 5'UTR در ژن‌های مختلف انسان، گوسفند و گیاه آرآیدوپسیس 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 سه‌گانه 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 ATGها شروع کننده در نقطه 5'UTR باعث می‌شود ORFهای 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 uORFها در ترجمه پائین دست، به وسیله مکانیسمی وابسته به توالی اسیدآمینو کد شده موثر هستند. پروتئین‌های تولید شده توسط uORFها در موجودات پروکاریوتی و یوکاریوتی نقش مهمی در کنترل مکانیسم‌های ترجمه دارند. در ژن‌های ویژه مقاومت به آنتی بیوتیک باکتری‌ها محصول‌های پپتیدی uORFها 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. به‌عنوان مثال

¹ Cap binding complex

² PADP

³ Upstream ORF (uORF)

⁴ Shine-Dalgarno

⁵ *Escherichia coli*

⁶ Gene finding

⁷ Rapid amplification of cDNA end

این شرایط به پایداری هر چه بیشتر mRNA کمک می‌کند، این پایداری توسط پپتیدهای کوچکی که ORFهای بالادستی قبل از ORF اصلی (uORF) تولید می‌کند، صورت می‌گیرد. 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.

در مورد توالی‌های انسانی کوتاه‌ترین توالی مربوط به آنزیم‌های چرخه گلیکوژنز، پپتیدهای ضد میکروبی و گیرنده‌های آلفا در سطح سلولی است و طویل‌ترین توالی مربوط به تولید لئوسیت T است. در مورد گیاهان کم‌ترین توالی مربوط به پروتئین کیناز وابسته به کلسیم، پروتئین گیرنده‌های نوری و پروتئین القاء کننده تولید اکسین بوده و این در حالی است که بیش‌ترین توالی مربوط به تنظیم‌کننده و رونویسی‌کننده ژن‌های هموباکس^۱ در آراییدوپسیس و داکسی‌هایپوسین سنتاز^۲ هستند.

ارتباط طول توالی و تعداد uATG با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که داده‌های مربوطه در سطح ۹۵ درصد معنی‌دار ($P \text{ value}=0.18$) و مقدار ضریب همبستگی $R^2=0.95$ بدست آمد، یعنی هر چه توالی 5'UTR بزرگ‌تر باشد تعداد uATG در آن بیش‌تر است و احتمال اینکه ماشین ریبوزوم از آن عبور کند بیش‌تر شده و در نتیجه تعداد uORF‌هایی که ایجاد می‌شود افزایش می‌یابد. بدین ترتیب تولید پلی پپتیدهای کوچک تنظیمی که برای کنترل بیان ژن و تغییرهای پس از ترجمه لازم است فراهم می‌شود نتایج تجزیه داده‌ها تأیید کننده این وضعیت است. تفاوت اصلی بین شروع ترجمه در باکتری و یوکاریوت‌ها این است که در باکتری‌ها، کمپلکس شروع ترجمه مستقیماً در محل کدون شروع در نقطه آغاز سنتز پروتئین ساخته می‌شود، ولی در یوکاریوت‌ها 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 یوکاریوت‌ها با دم پلی A آغاز می‌گردد

cornell.edu/individual/vivo/individual5124، به تجزیه و تحلیل توالی‌ها اقدام گردید. برای نمایش هم ردیفی بین اسیدهای آمینه از نرم افزار <http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi> و در تبدیل توالی نوکلئوتیدی به آمینواسیدی از نرم افزار <http://www.expasy.ch/tools/dna.html> استفاده شد، تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار Excel و SPSS صورت گرفت.

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'UTR‌ها زیر ۱۰۰ جفت‌باز، ۲۴ درصد بین ۱۰۰ تا ۲۰۰ جفت‌باز، ۳۶ درصد بین ۲۰۰ تا ۵۰۰ جفت‌باز، ۸ درصد بین ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ جفت‌باز، ۵/۳۳ درصد بزرگ‌تر از ۱۰۰۰ جفت‌باز بودند. این نتایج نشان می‌دهند که هر چه طول توالی 5'UTR بزرگ‌تر باشد محصول ژنی که تولید می‌شود در بافت‌های پیچیده‌تر بیان می‌شود. در توالی‌های بررسی شده در گوسفند ژن‌هایی که دارای 5'UTR بزرگ‌تری بودند در بافت‌های دستگاه گوارش، مغز، تخمدان و ژن گلوبین آلفا و کم‌ترین طول مربوط به غشای سلولی (گلیکو پروتئین‌های موجود در آن)، ماتریکس خارج سلولی و گلوبول‌های سفید هستند و در مورد ژن‌های گیاهانی که 5'UTR آن‌ها دارای uATG بودند اغلب محصول‌های ژنی، پروتئین‌هایی تنظیمی بودند که در همانندسازی و افزایش راندمان ترجمه نقش اساسی داشتند و در مورد انسان محصول‌های ژن‌هایی که در 5'UTR آن‌ها دارای uATG بودند طویل‌ترین توالی مربوط به تولید لئوسیت T بوده، در حالی که کوتاه‌ترین توالی مربوط به آنزیم‌های چرخه گلیکوژنز، پپتیدهای ضد میکروبی و گیرنده‌های آلفا سطح سلولی بودند. یکی از وظایف 5'UTR ایجاد پایداری در mRNA است. بسته به طول ژن‌ها، mRNA‌هایی با طول‌های مختلف به وجود می‌آید. در بیش‌تر موارد ژن بزرگ‌تر دارای mRNA بزرگ‌تر بوده و ژن کوچک‌تر دارای mRNA کوچک‌تری است. در این تحقیق طول ژن‌ها و طول ORF مربوط به mRNA بررسی نشده اما اغلب ناحیه‌ی با طول ORF بیش‌تر دارای 5'UTR بزرگ‌تری بوده که موید uATG بیش‌تری خواهد بود.

¹ Light-regulated homeobox 1

² Deoxyhypusine synthase

در جدول‌های ۲ و ۳ 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 5' 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 آرابیدوپسیس 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	۱۰۲۳	۸
Ovis	DQ679798	۵۴	۱	Homo	L33075. 1	۴۶۷	۹
Ovis	DQ886530	۱۴۷	۳	Homo	AF159295. 1	۱۰۰۳	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 بیش تر شامل اسید آمینه سرین، ترئونین، لوسین و گلوتامیک اسید و دومین اسید آمینه قبل از متیونین آغازگر ATG آغازین به ترتیب بیش تر شامل اسید آمینه سرین، پرولین، لوسین و لیزین است. همچنین سرین، گلوتامیک اسید، آلانین و فنیل آلانین به ترتیب بیش ترین اسید آمینه سوم قبل از اسید آمینه متیونین آغازگر را شامل می شوند (جدول ۴).

در بررسی اسیدهای آمینه انسان، گوسفند و آراییدوپسیس، قبل و بعد از متیونین های uATG نتایج نشان داد که اولین اسید آمینه بعد از متیونین uATG به ترتیب بیش تر مربوط به اسید آمینه لیزین، سرین، آرژنین و والین و دومین اسید آمینه بعد از متیونین uATG به ترتیب بیش تر مربوط به اسید آمینه لوسین، آلانین، آرژنین و فنیل آلانین است. سومین اسید آمینه بعد از متیونین uATG به ترتیب بیش تر 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 آمینه ی قبل از متیونین آغازگر نشان داد که در جایگاه اولین اسید آمینه قبل از ATG آغازگر، اسید آمینه هایی با کم ترین حجم مولکولی قرار گرفته که به ترتیب بیش ترین تعداد شامل ۱۰۵، ۱۱۹، ۱۳۱ و ۱۴۶ گرم بر مول هستند، اسید آمینه های قبل از

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

mRNA انسان، گوسفند و آراییدوپسیس

موقعیت 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 و +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	-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 و +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 می شود به عنوان معیار قرار گرفت. سه اسید آمینه قبل و بعد از متیونین آغازین، مورد تجزیه قرار گرفت که به ترتیب جایگاه های اول، دوم و سوم بعد و قبل از متیونین نام گذاری 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 بیش تر مربوط به اسید آمینه لوسین، آلانین، لیزین و ترئونین و سومین اسید آمینه بعد از متیونین آغازگر به ترتیب بیش تر مربوط به اسید آمینه سرین، گلیسین، لوسین و آرژنین

جدول ۴- موقعیت جایگاه های اسید آمینه ها و در صد های محاسبه شده هر جایگاه

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

در مورد دامها، به ویژه گوسفند به علت عدم توالی یابی کامل ژنوم، اطلاعات کامل و قابل اطمینانی در دسترس نیست و نیاز به بانک اطلاعاتی قوی تری است تا بتوان نظریات قابل قبولی را ارائه داد. به طور 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 مهندسی 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 در موجودات مختلف بوده که تاکنون چنین مقایسه‌ای صورت نگرفته است.

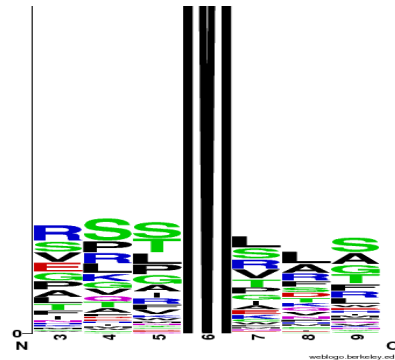
سپاسگذاری

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.

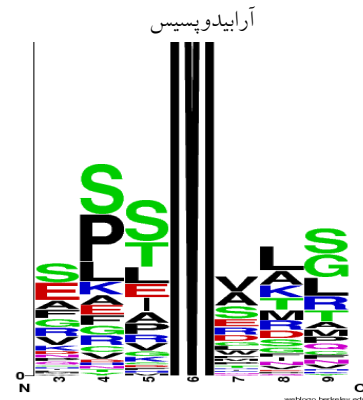
منابع

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 به ترتیب بیشترین تعداد اسید آمینه حجم مولکولی ۱۰۵، ۱۱۹، ۱۴۶ و برای سومین جایگاه به ترتیب 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 محصولات 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 به صورت مناطق محافظت شده باقی مانده است، مشابه این نتایج در ژنوم موش نیز به دست 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, Quaadvlieg 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.