سیگنال مشابه، پاسخ متفاوت

تنظیم بیان ژن در سلولها وابسته به فعال شدن فاکتورهای نسخه برداری است.این فاکتورهای نسخه برداری در سلولهای متفاوت و یا محلهای متفاوت سبب بیان ژنهای متفاوتی می شوند. این سوال که چطور یک سیگنال مشابه، در سلول‌های مختلف موجب پاسخ‌های مختلفی می‌شود در حوزه‌های مختلف علوم زیستی از جمله ایمونولوژی مورد توجه است. در واقع سیگنال‌ها (که نهایتا به فاکتورهای رونویسی ختم می‌شوند) بیان ژن را به شکل متناسب با سلول تنظیم می‌کنند.
یک فاکتور رونویسی مشابه در سلولهای مختلف ، باعث بیان ژنهای متفاوتی می شود: سلولهای T، B ،NK،ماست سل، ماکروفاژ و حتی سلولهای غیر ایمنی مثل اندوتلیال و ... همه در زمان فعال شدن می توانند از NFκB استفاده کنند ولی محصول نهایی فعال شدن NFκB پروتئین متفاوتی خواهد بود.
یکی از حیرت‌انگیزترین مثال‌ها دراین زمینه، ماکروفاژی است که از طریق TLR و با بیان NFκB فعال شده است ولی بسته به این که در کدام بافت حضور دارد، نتیجه تا حدی متفاوت است. پیامهایی که ماکروفاژها می توانند به آنها پاسخ دهند، بسیار متنوع است و نوع پاسخهایی که ماکروفاژها می دهند نیز، می تواند بسیار متفاوت باشد. این تفاوت در پاسخ هم به نوع محرک و هم محل بافت بستگی دارد.
چطور با استفاده از تعداد محدودی فاکتور رونویسی ، انواع فعالیتها شکل میگیرد؟ بخشی از پاسخ سوال در این نهفته است که محرکها بیشتر اوقات سبب فعال شدن دسته ای از ژنها می شوند، نه فقط یک ژن خاص، و این موضوع سبب می شود که ژنهای فعال شده از طریق محرکهای گوناگون با هم، هم پوشانی داشته باشند. ولی روشهای دیگری نیز برای تنظیم این پدیده وجود دارد که اینجا به ان اشاره ای میشود.

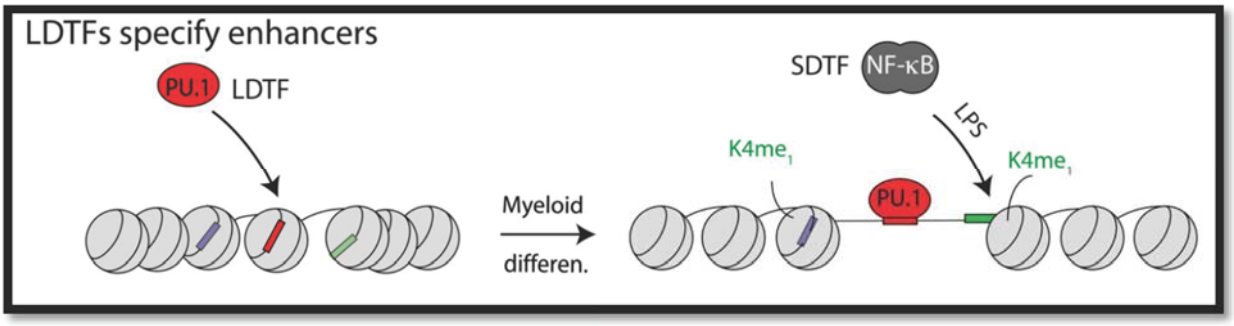
فاکتورهای رونویسی

فاکتورهای رونویسی می توانند در چند مرحله بر تنظیم پاسخ سلول اثر داشته باشند و بر این اساس به سه دسته تقسیم بندی می شوند:

۱- فاکتورهای رونویسی تعیین کننده رده (**LDTF**) (Lineage determining transcription factors):
این فاکتورها در مرحله تمایز سلول عمل کرده و عناصر تنظیمی (regulatory elements) فانکشنال را برای کل ژنوم آن سلول معین می کنند.
تحقیقات نشان می دهد که همان فاکتورهای رونویسی که برای تمایز به یک رده خاص لازم هستند، معمولا بعد از تمایز هم بصورت متصل به اکثر (یا همه) نواحی تنظیمی روی ژن قرار دارند.
LDTF ها معمولا مشابه با فاکتورهای رونویسی پیشگام (pioneer) عمل می کنند و می توانند به فرمهایی از DNA (مانند توالیهای داخل نوکلئوزومها) متصل شوند که سایر فاکتورهای رونویسی نمی توانند. البته در حین تمایز سلول ، ممکن است نواحی ژنومی به شکلهای دیگری (مثل فواصلی از CpG غیر متیله) جهت آغاز رونویسی نشانگذاری شوند و دیگر نیازی به اتصال به نواحی خاص DNA نباشد.
مثال - فاکتورهای رونویسی PU.1، CEBP، Runx1 و IRF8 از فاکتورهای رونویسی تعیین کننده رده میلوئید هستند:
در ماکروفاژها فاکتورهای رونویسی PU.1 ، C/EBPα و C/EBPβ تقریبا در همه نواحی تقویت کننده (enhancer) (که شناخته شده اند) یافت می شوند. معمولا هم این چند فاکتور رونویسی در فواصل نزدیک به هم (در حدود ۱۰۰ جفت باز) قرار دارند.

فاکتورهای رونویسی مرتبط با سیگنال (**SDTF**) (Signal-dependent transcription factors):
این فاکتورها بعد از فعال شدن با سیگنال مناسب، می توانند به برخی از عناصر تنظیمی که توسط LDTFها معین شده، متصل شوند و سبب بیان ژن هدف شوند.
در واقع پس از آنکه LDTFها، محل‌های اتصال را در ژن تعیین کردند (در زمان نمو یا تمایز)، SDTFها به آنها متصل شده و بیان ژن‌های مورد نظر را فعال می‌نمایند.
SDTFهای مهم در ماکروفاژها مثل NFκB، IRF و CREB هستند و به محل‌هائی که LDTFهامشخص کرده‌اند (قاعدتا تعدادی از کل جایگاهها) متصل می‌شوند. (شکل۱)

بنابراین نتیجه جالب این خواهد بود که فعال شدن این فاکتورها در سلولهای مختلف، می تواند سبب بیان پروتئینهای مختلفی شود.



شکل۱ – در رده میلوئید PU.1 یک فاکتور رونویسی تعیین کننده رده است که روی نواحی متعددی از ژنوم قرار می گیرد و فاکتور رونویسی مربوط به سیگنال بعدا در آن منطقه امکان اتصال دارد.

فاکتورهای رونویسی آماده‌ساز (Priming transcription factors):

این فاکتورها نقش آماده کردن ژن برای بیان دارند (می توان گفت تاحدی بین دو نوع قبل عمل میکنند) . به طوریکه بعد از اینکه LDTFها به برخی عناصر تنظیمی متصل شدند، این فاکتورها بدون اینکه خودشان به تنهائی ژن را فعال کنند محل را آماده اتصال SDTFها می کنند. البته گاهی در نقش خاموش نگهدارنده ژن عمل می کنند، به طوریکه باید از ژن جدا شوند تا فاکتورهای رونویسی SDFT توانایی اتصال یابند.

این فاکتورهای رونویسی خودشان تعیین کننده رده نیستند ولی قبل از فعال شدن سلول به جایگاه‌های متعدد متصل هستند (بدون رونویسی). از جمله این فاکتورها که بیان گسترده ای دارند می توان به JunB، IRF4 و ATF3 اشاره کرد.

در بسیاری موارد فاکتورهای رونویسی آماده ساز (که زیرواحد یا عضو دیگری از خانواده فاکتور رونویسی اولیه هستند) سبب آماده نگهداشتن جایگاه برای اتصالSDTF ها می شوند.

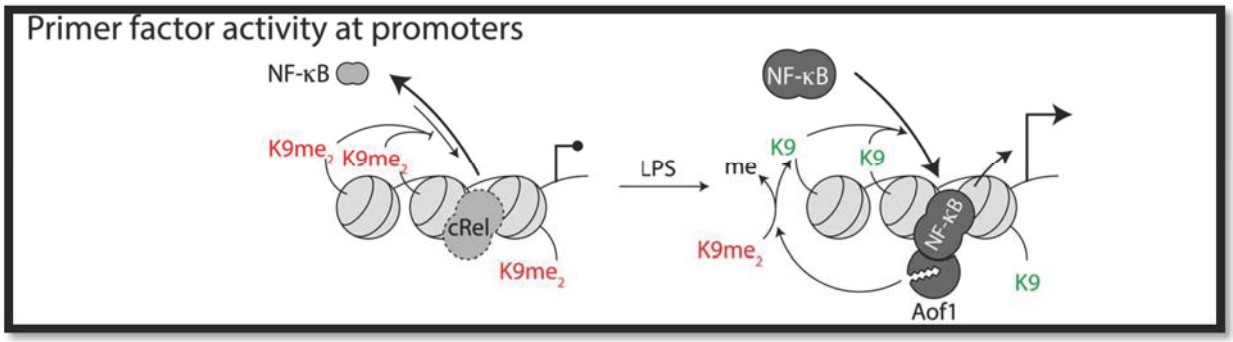
ولی در برخی موارد هم دیده شده که نقشهای بیشتری دارند به طوریکه هم می توانند به برخی کوفاکتورها متصل شده و شرایط را برای اتصال SDTFها مهیاتر کنند. به عنوان مثال فاکتور آماده ساز C-REL سبب فراخوانی Aof1 می شود که Aof1 باعث دمتیله شدن لیزین ۹ و در نتیجه فراهم شدن شرایط اتصال NFκB می شود. (شکل۲)

در برخی موارد نیز این فاکتورها بر خلاف نقش فعال کنندگی، نقش خاموش کننده ژن را دارند و زمانی که برداشته شوند، SDTFها می توانند اتصال یابند.

به طور مثال در سلول تحریک نشده، c-Jun غیرفسفریله میتواند موجب فراخوان کمک-بازدارنده (کو-رپرسور) NcoR به ژنهای هدف AP1 شودو فسفریلاسیون c-Jun بعد از وقوع محرک باعث می شود کمک-فعال کننده (کو-اکتیواتورها) را به آن ناحیه ژن متصل شود.

هومودایمر p50 باعث فراخوان کمک-بازدارنده SMRT شده پروموترهای NFκB را غیرفعال می کند.

لازم به ذکر است که شرایط مختلف (مقدار یا اتصال به سایر کوفاکتورها) می تواند باعث شود برخی فاکتورهای رونویسی نقش‌های متعددی داشته باشند.



شکل۲ – وجود متیلاسیون در جایگاه لیزین۹ سبب مهار اتصال NFκB به ژن می شود ولی اتصال cREL باعث فراخوان Aof1 و در نتیجه دمتیله شدن جایگاه لیزین۹ می شود که این عمل سبب توانایی اتصال NFκB به ژن می گردد.

افزایشگرها (enhancer)

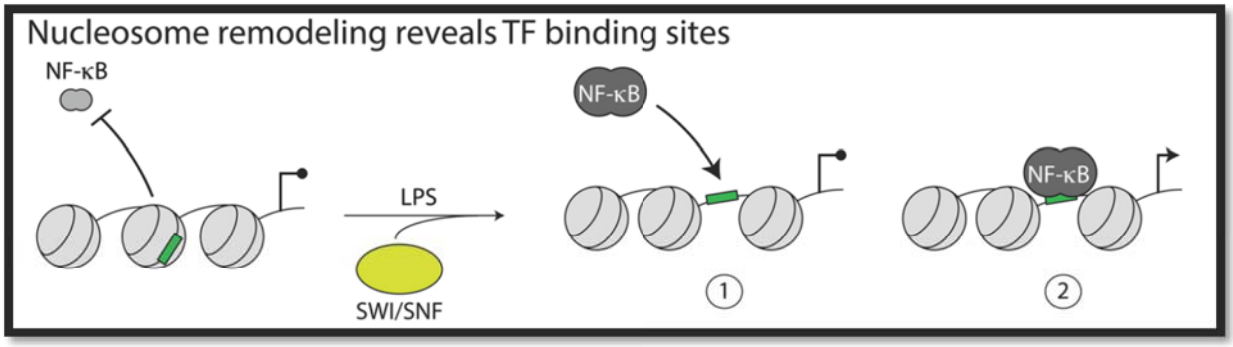
معمولا SDTFها مستقیما به پروموترها متصل می شوند در حالیکه LDTFها، بیشتر اختصاصی برای افزایشگرها هستند. محل افزایشگرها در کروماتین نشانههائی دارد مثل H3K4me1 که نشان دهنده افزایشگر فعال یا آماده است. محرکها می توانند باعث شوند نواحی بدون علامت در ژنوم علامت دار شوند یا برخی از آنها نشانههای فعال بودن خود را از دست بدهند.

ارتباط کروماتین با تنظیم بیان ژن در میلوئیدها

بجز موارد ذکر شده، بیان ژن به ساختار کروماتین هم وابسته است. به طوریکه موقعیت نوکلئوزوم و اصلاحات هیستونی سبب تنظیم بیان ژن می شود.

موقعیت نوکلئوزوم

DNA پیچیده شده در نوکلئوزوم به سختی برای اکثر فاکتورهای رونویسی قابل دسترسی است (مگر مواردی مثل فاکتورهای رونویسی پیشگام). ولی بازسازی نوکلئوزومها سبب مهیا شدن اتصال فاکتورهای رونویسی به ژن می گردد. (شکل۳)



شکل ۳- در حالت اول موقعیت نوکلئوزوم سبب مهار اتصال NFκB به ژن می شود ولی وجود محرک سبب بازسازی مجدد نوکلئوزوم می گردد به طوریکه جایگاه رونوسی در دسترس NFκB قرار می گیرد.

اصلاحات هیستونی (modification)

اصلاحات هیستونی بیشتر در انتهای N هیستونها که از سطح نوکلئوزوم بیرون زده است انجام می شود. معمولا فعال کنندهها به بسیاری از این اصلاحات هیستونی متصل می شوند ولی مواردی هم دیده شده که با خاموش کردن ژن همراه، تنها اتصال آنزیمهای هیستون دمتیلاز می تواند موجب بیان مجدد ژن شود.
متیلاسیون نواحی H3K9 ، H3K27 و H4K20 با تنظیم بیان ژن میلوئیدها در ارتباط است.

RNAهای غیرکدکننده (non-coding RNA- ncRNA)

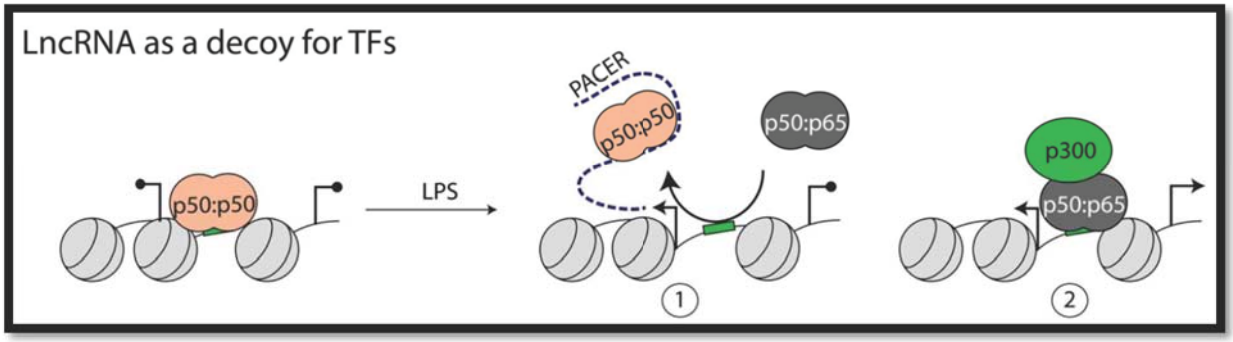
بر خلاف تصورات قبلی این RNAها می توانند در تنظیم بیان ژن در شرایط فیزیولوژیک یا پاتولوژیک نقش داشته باشند همچنین نقش آنها دراصلاحات کروماتینی، فعالیتهای رونویسی، پیرایش، بازده RNA و سرعت ترجمه ثابت شده است.

RNAهای غیرکدکننده (ncRNA) به دو دسته اصلی تقسیم می شوند: زیربنائی و تنظیمی.

ncRNAهای زیربنائی در سلولها به طور مداوم بیان می شوند و شامل RNAهای ریبوزومی، RNAهای انتقالی، RNAهای کوچک هسته ای و هستکی هستند.

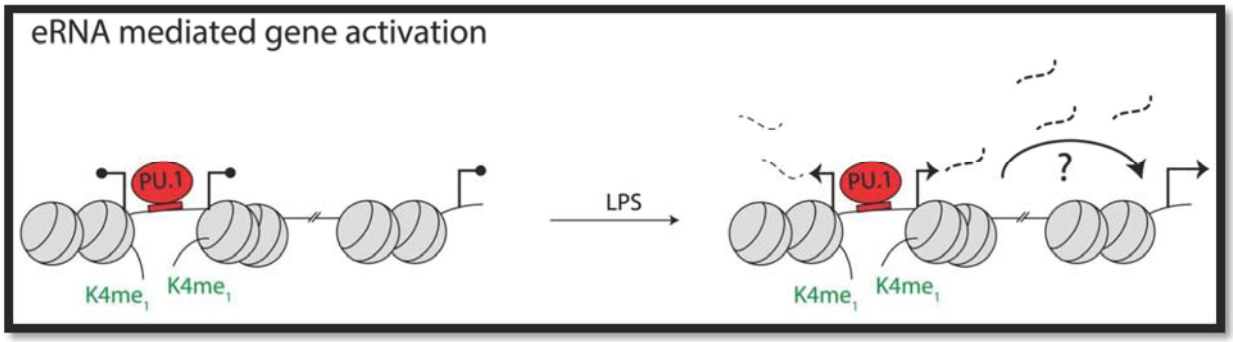
ncRNAهای تنظیمی بسته به زمان و محل متفاوت‌اند و بر اساس طول به سه دسته تقسیم می شود: بلند (بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید)، متوسط (بین ۳۰-۲۰۰ نوکلئوتید) و کوتاه (۲۰-۳۰).

اکثر ncRNAهای تنظیمی مربوط به ncRNAهای بلند (یا lncRNA) هستند (تا کنون بیش از ۹۰۰۰ از این RNAها شناخته شده اند). ژنهای سازنده آنها از نظر ساختار و الگوی اصلاحات هیستونی مشابه با ژنهای سازنده پروتئین هستند ولی lncRNAها معمولا بیان کمی دارند و موقعیت هسته ای آنها متفاوت است. بسیاری از آنها به پروتیئنها متصل شده، ریبونوکلئوپروتئین تشکیل می دهند که در کنترل ژنها مشارکت دارند (اعمالی مانند بازتنیدن کروماتینی، رونویسی، پیرایش، و تخریب mRNA و از طریق سیگنال، تله، راهنما، یا داربست) (شکل۴).



شکل۴- نقش lncRNA در مهار هموداِیمر P50:P50 و فعال کردن هتروداِیمر P50:P62 و در نهایت بیان ژن COX-2

یک زیرگروه از آنها به نام eRNA (enhancer RNA) از نواحی افزایشگر رونویسی شده بین ۱۰۰-۹۰۰۰ نوکلئوتید هستند که پیرایش نمی شوند، پایدار نیستند و باعث فعال شدن رونویسی می شوند (شکل۵).



شکل۵- نقش eRNA در فعال کردن بیان ژن

PARها (promoter associated RNA) هم از ۱۶-۳۶ تا ۲۰۰ نوکلئوتید بوده و در گروه متوسط قرار می گیرند. و بیان آنها نشان دهنده پروموتر فعال و مرتبط با فعالیت RNA pol-II است.

ncRNAهای کوچک به سه دسته اصلی تقسیم می شوند به نام میکرو RNA (miRNA) ، RNAهای کوچک مداخله گر (siRNA) و RNAهای برهم کنش کننده با piwi (piRNA) که معمولا با هیبرید شدن در تخریب RNAها یا مهار ترجمه نقش دارند. miRNAها در تنظیم فعالیتهای زیادی در سلول مشارکت دارند، siRNAها بیشتر در سلولهای بنیادی دیده می شوند و piRNAها در خاموش کردن اپی ژنتیک یا بعد ترجمه ای رتروترانسپوزونها و عناصر ژنتیکی دیگر در زرم سل‌ها مهم هستند.