

UNIT - I

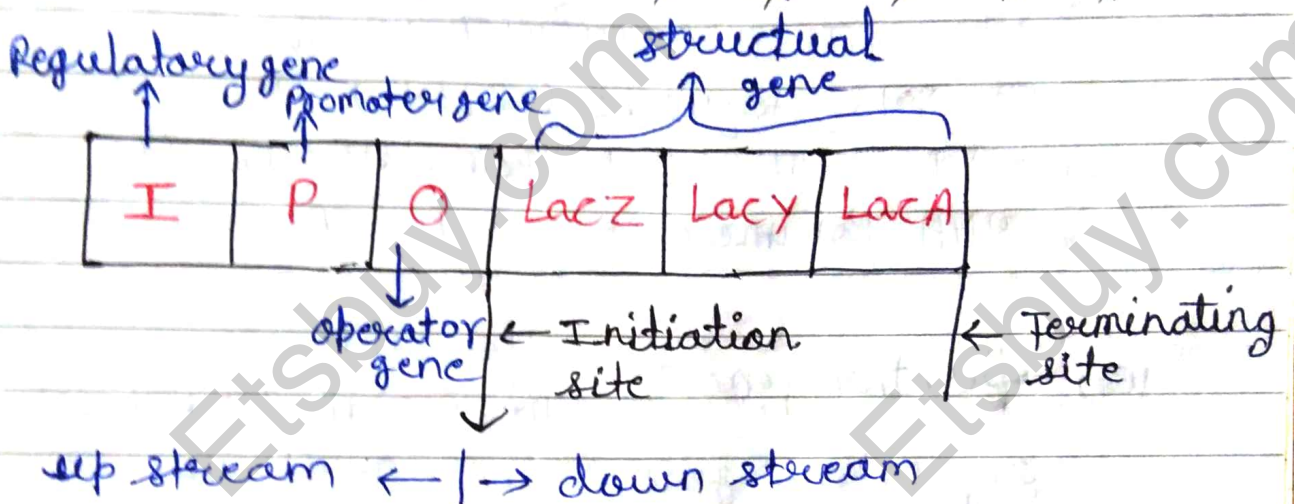
APCO

Date: _____

Page: _____

Genetic Code, वासन-क्रिड द्विकोशी model, structure of chromatin, Replication, Type of RNA, DNA

संश्लेषण व repairing [zoology] [B.sc Ist year]



Controlling gene area → Expressing gene area

लैक ऑपेरॉन के मुख्य दो भाग होते हैं —

-
- (i) up stream
- (ii) down stream

(i) up stream :- ऑपेरॉन का यह ऐसा भाग होता है, जिसमें Controlling Gene / नियंत्रण करने वाले जीन पाये जाते हैं। अतः इस भाग को नियंत्रणकारी (Regulatory) भाग कहा जाता है। इसमें लैक ऑपेरॉन के लिए निम्न जीन उपस्थित होते हैं —

(a) Regulatory gene (I) :- यह lac operon में पाया जाने वाला ऐसा जीन होता है जिसमें चार पॉलीपेप्टाइड श्रृंखलाएं मौजूद होती हैं। ये लैक ऑपेरॉन के लिए नियंत्रणकारी प्रोटीन बनाता है। यह प्रोटीन operator gene से जुड़ा होता है।

Date : _____
Page : _____

जिससे operon चालू या बंद हो सकता है। lac operon बंद हो जाता है।

(b) Promoter gene (P) : — यह Regulatory जीन के सामने स्थित होता है। एवं इस पर अभिज्ञान (Recognition site) अनुक्रम व बंधक sequence (अनुक्रम) व m-RNA प्रारंभन स्थित होता है। Promoter gene पर हमेशा RNA Polymerase जुड़ता है।

(c) operator gene : — यह जीन promoter के बाद उपस्थित होता है। एवं इस पर Regulatory gene के द्वारा बनाया गया Protein बंधन बनाती है।

(2) Down stream : — लेक ऑपेरॉन में downstream में मुख्यतः तीन जीन पाये जाते हैं। ये तीनों जीन m-RNA बनाते हुए प्रोटीन बनाते हैं। एवं इंसुलिन के उत्पादन को नियंत्रित करते हैं।

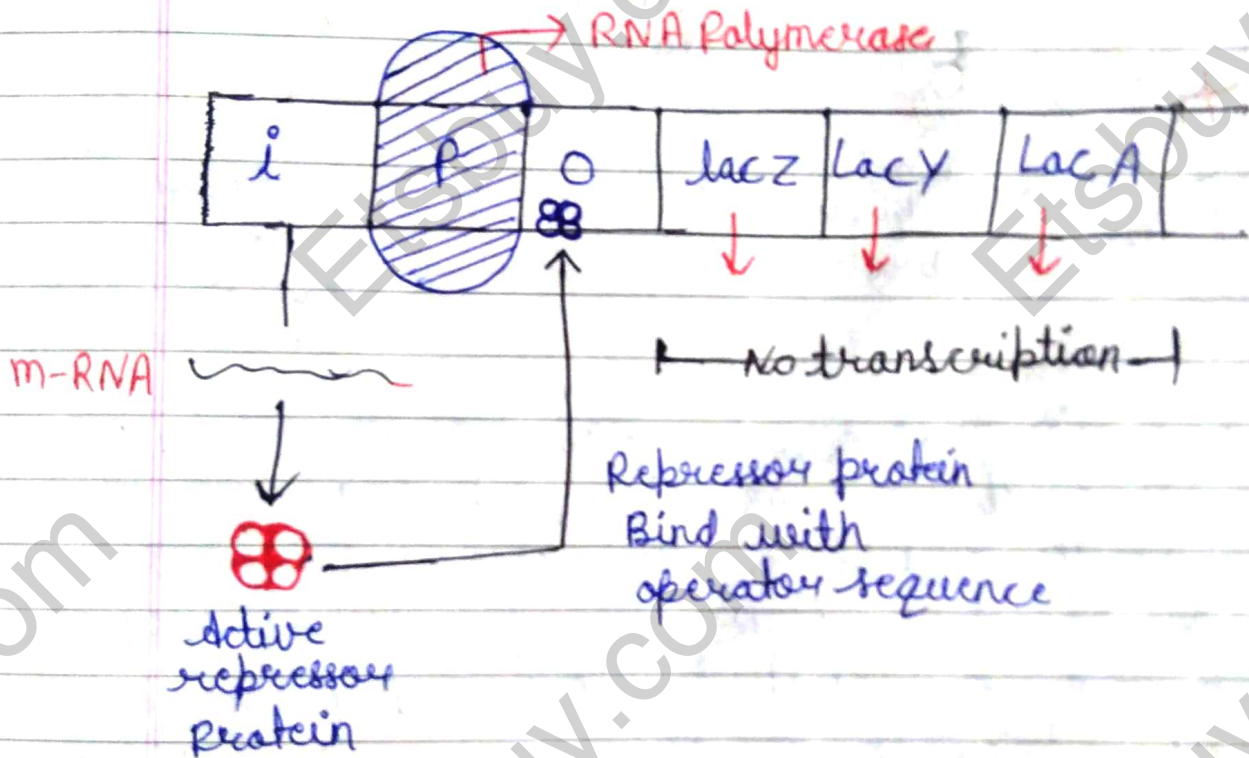
(a) Lac Z gene : — यह जीन ऐसा m-RNA बनाता है जिससे बाद में β -glucosylase Enzyme बनाता है। जो lactose को glucose व galactose में तोड़ता है।

(b) Lac Y gene : — यह रूड ऐसा m-RNA बनाता है, जो बाद में परमिट्रप नामक संयोजक बनाता है जिसका कार्य इंसुलिन सिल्ली की lactose के लिए परागम्यता बढ़ाना है।

(c) Lac A gene:— यह जीन ऐसा m-RNA बनाता है जो भविष्य में trans acetylase नामक Enzyme बनाता है। यह Enzyme β -glucosylase रूप परमिएन Enzyme की lactose अपाचय में मदद करता है।

Regulation of operon:—

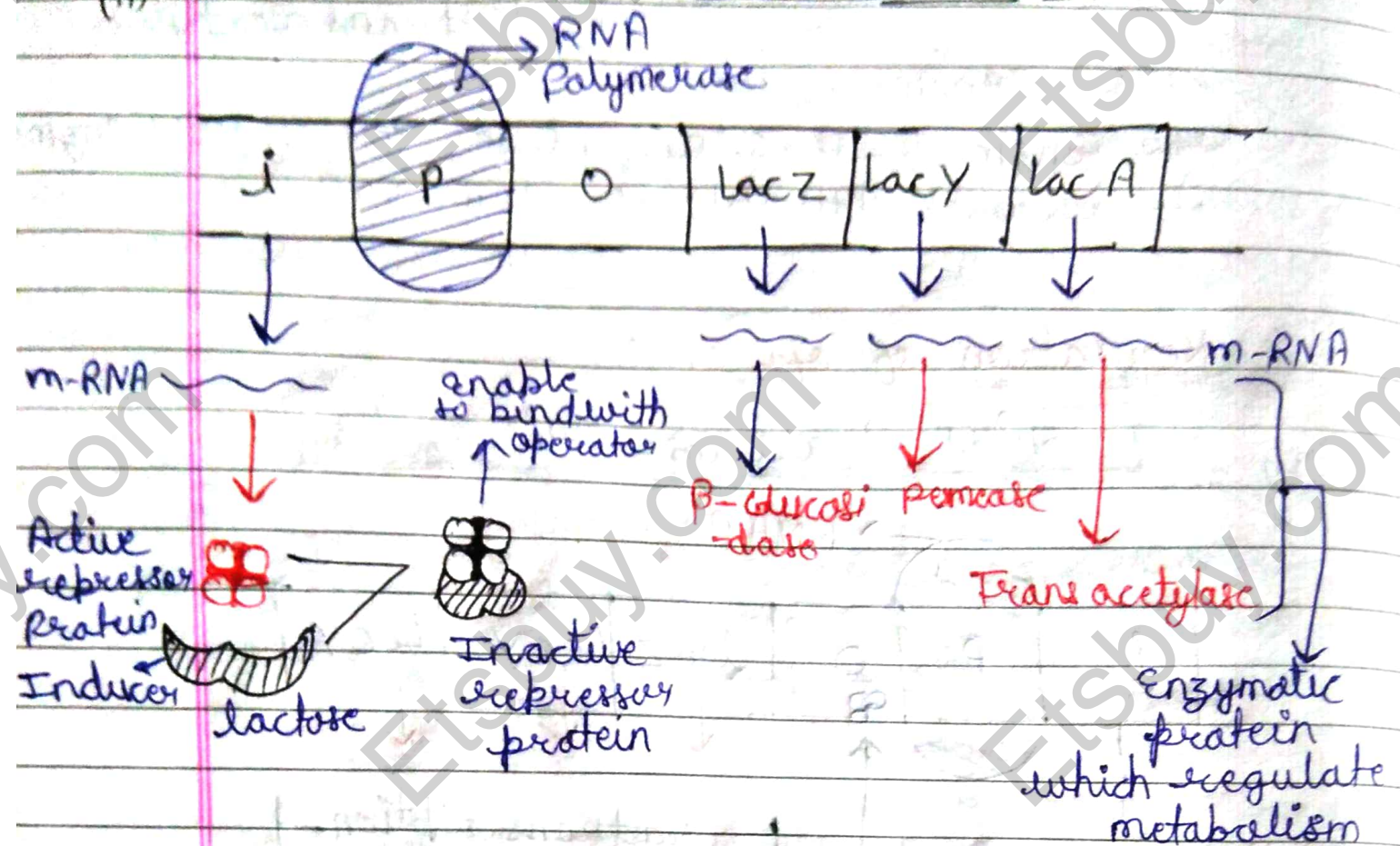
(i) जब कोशिका में Glucose उपस्थित हो:—



→ जब कोशिका में Glucose उपस्थित होता है तब कोशिका को lactose तोड़ने की आवश्यकता नहीं होती है। उस वक़्त में regulatory gene के द्वारा बनने वाला सक्रिय दमनकारी protein operator के साथ जुड़ जाता है। तब transcription को रोक देता है।

२२ जब किसी operon में बना हुआ दमनकारी protein उसी operon के transcription को रोक देता है तो इस प्रकार का Regulation negative regulation कहलाता है।”

(iii) जब कोशिका में ग्लूकोज अनुपस्थित होता है।



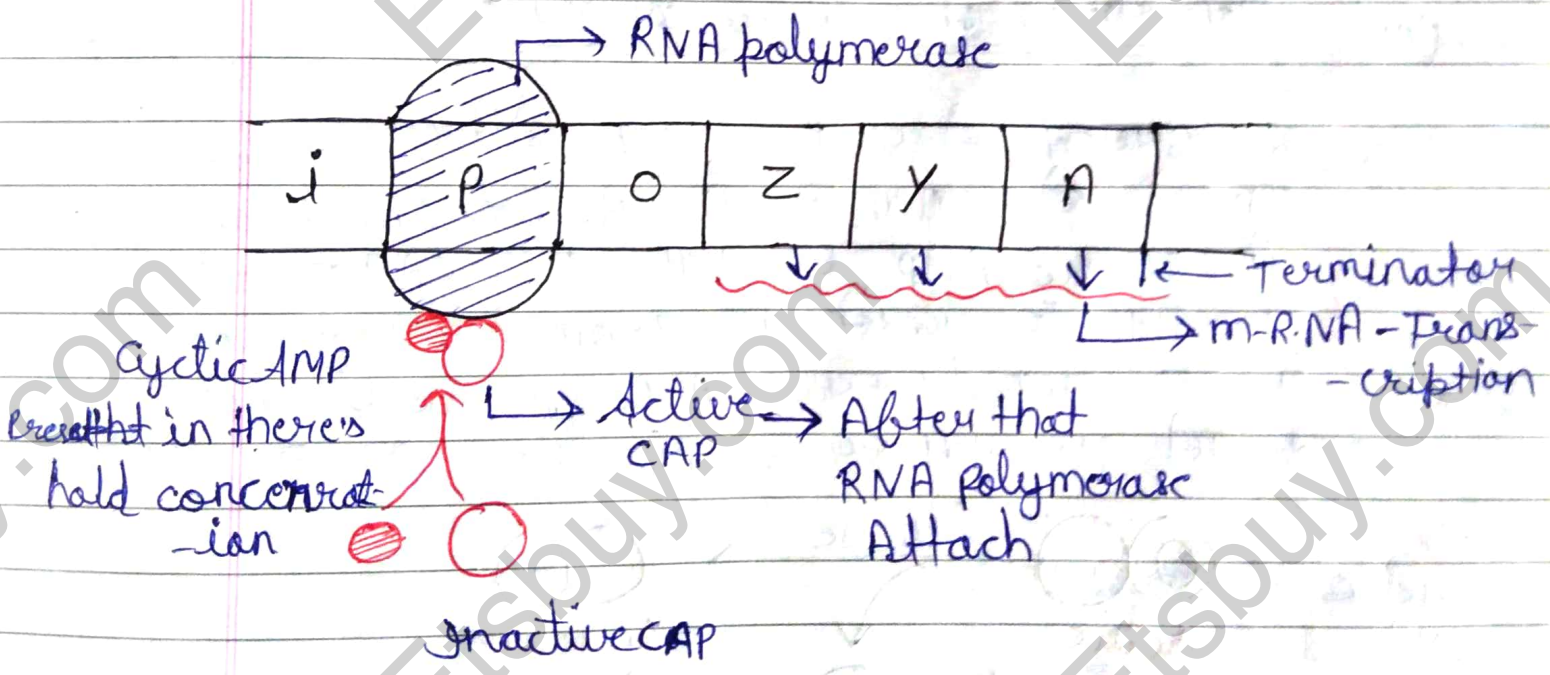
→ जब कोशिका में Glucose नहीं होता तब लैक्टोज रूप होता है तो उस वक़्त में Lactose का अणु सक्रिय दमनकारी protein के साथ जुड़कर उसे निष्क्रिय कर देता है। जिससे वह operator से जुड़ने में असमर्थ हो जाती है। तब RNA Polymerase polymerisation के द्वारा Transcription करता है तब m-RNA का निर्माण होता है। यह m-RNA संबंधित Enzyme बनाता है जो कोशिका में उपापचय का कार्य करते हैं।

(१) ऑपेरॉन का धनात्मक नियंत्रण :- लैक्टो ऑपेरॉन में उपापचय से संबंधित ऑपेरॉन विभिन्न उपापचय जैसे - Galactose, Arabinose आदि के विघटन के लिए Enzyme बनाते हैं ये Enzyme संबंधित उपापचय Enzyme

की तीस देते हैं। एवं उसे Glucose में बदल देते हैं।
 अर्थात् ये ऑपरॉन उन कर्षा स्रोतों के उपयोग से
 संबंधित संज्ञात्म बनाता है। जिनका उपयोग तभी होता
 है, जब जीवाणु क्षीरिका में Glucose खाम हो जाए।
 ये सभी operation Cyclic AMP के माध्यम से प्रभावित
 होते हैं। Cyclic AMP CAP (Catabolic Activator
 Protein) के माध्यम से कार्य करता है। उत्पादकपी
 संवेदी ऑपरॉनों में अनुवर्तन तभी होता है
 जब CAP प्रोमोटर के एक क्षेत्र से जुड़ता है।

Note - Promoter पर CAP Binding site पायी जाती है।

ii) जब क्षीरिका में Glucose उपलब्ध नहीं होता :-



→ जब क्षीरिका में Glucose तथा अन्य सरल अणु
 कर्षा देने के लिए नहीं होते हैं तब क्षीरिका
 जटिल उत्पादकपी को अर्थात् करने से संबंधित
 Enzyme बनाती है। जिसमें क्षीरिका में यह निश्चित
 देखी सांद्रता में Cyclic AMP की आवश्यकता
 होती है। यह AMP Glucose की अनुपस्थिति में

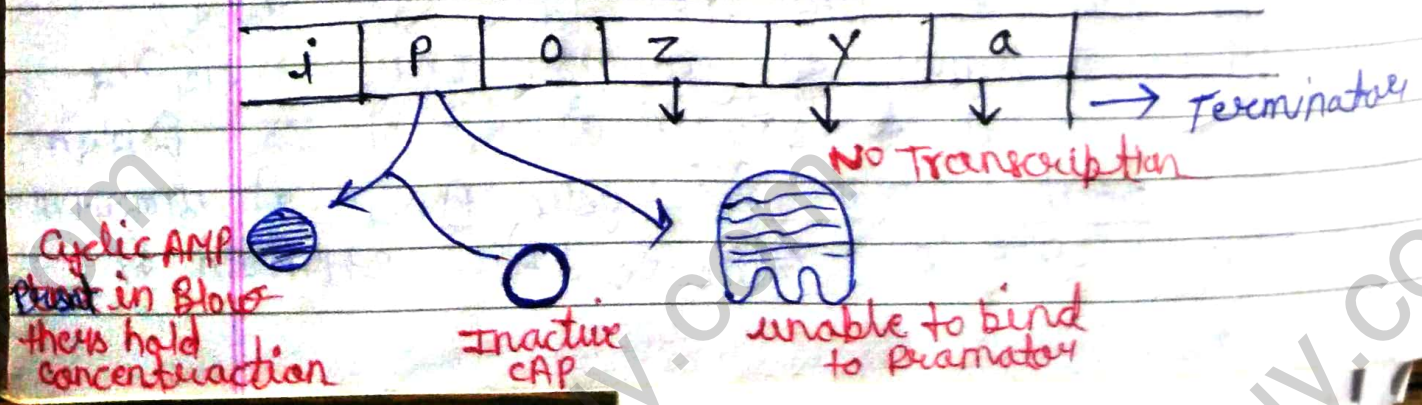
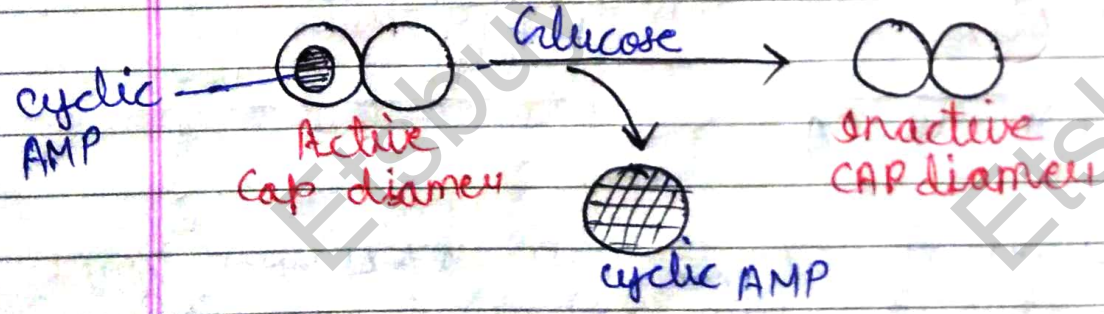
Date: _____
Page: _____

CAP diameer के साथ जुडकर उसे activate कर देता है। यह Active CAP Promoter पर जुड जाता है। जिससे Promoter पर RNA Polymerase के जुडने के लिए अनुकूलन उत्पन्न होते हैं। अतः RNA Polymerase Promoter पर जुड जाता है। एवं संरचनात्मक जीनों से mRNA बनने लगता है।

Note:- यहाँ operon में बना हुआ CAP protein operon में जुडकर Transcription को चालू कर देता है। अतः यह operon को धनात्मक नियमन कहलाता है।

iii) जब शैरिका में Glucose उपलब्ध हो:-

जब उपपचयी का अपघटन हो जाता है। एवं शैरिका में Glucose उपलब्ध हो जाता है, तो Active CAP Diameer से Cyclic AMP हट जाता है एवं CAP Inactive हो जाता है। जिससे यह Promoter sequence से हट जाता है। एवं RNA Polymerase Promoter से नहीं जुड पाता एवं Transcription बंद हो जाता है।



① Attenuation (क्षीणीकरण) :-

अनुलेखन रिकार्डों में क्षीणीकरण पाया जाता है। यह एक अनुक्रम होता है जो अनुलेखन रिकार्ड के शुरु में स्थित समापन अनुक्रम होता है जो RNA Polymerase को आगे बढ़ने से रोकता है। समापन स्थली पर Hair pin loop का निर्माण होता है। जो क्षीणीकरण अनुक्रम का लाक्षणिक गुण होता है। क्षीणीकरण ही प्रक्रिया Hair pin loops के बनने का नियंत्रण करती है। किसी भी Hair pin loop का बनना विशेष अमीनो अम्ल की उपस्थिति या अनुपस्थिति पर निर्भर करता है। यदि संबंधित अमीनो अम्ल कोशिका में पर्याप्त मात्रा में उपस्थित नहीं होता तो RNA अनुलेखन के क्षीणीकरण sequence में केश पिन loop नहीं बनता। यानी जब RNA Polymerase अनुलेखन करता हुआ समापन स्थल से आगे चला जाता है।

लेकिन यदि संबंधित अमीनो अम्ल cell में पर्याप्त सांद्रता में उपस्थित रहता है तो RNA अनुलेखन के क्षीणीकरण sequence में hair pin loop बनता है। इसके कारण RNA polymerase समापन स्थल से आगे नहीं बढ़ पाता। क्षीणीकरण से संबंधित e-coli में अनेक operon पाए जाते हैं जैसे -

his - operon

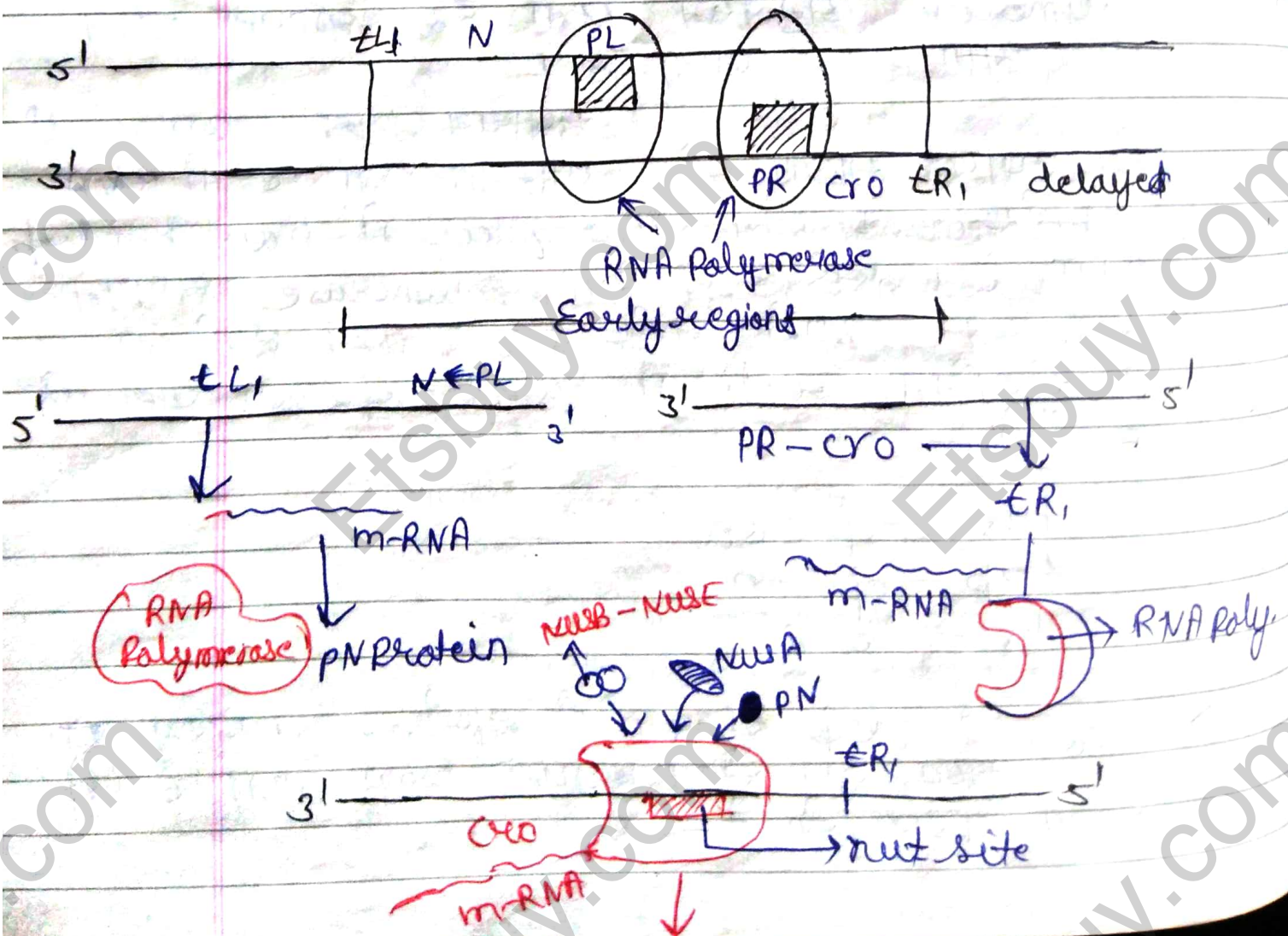
trp - operon

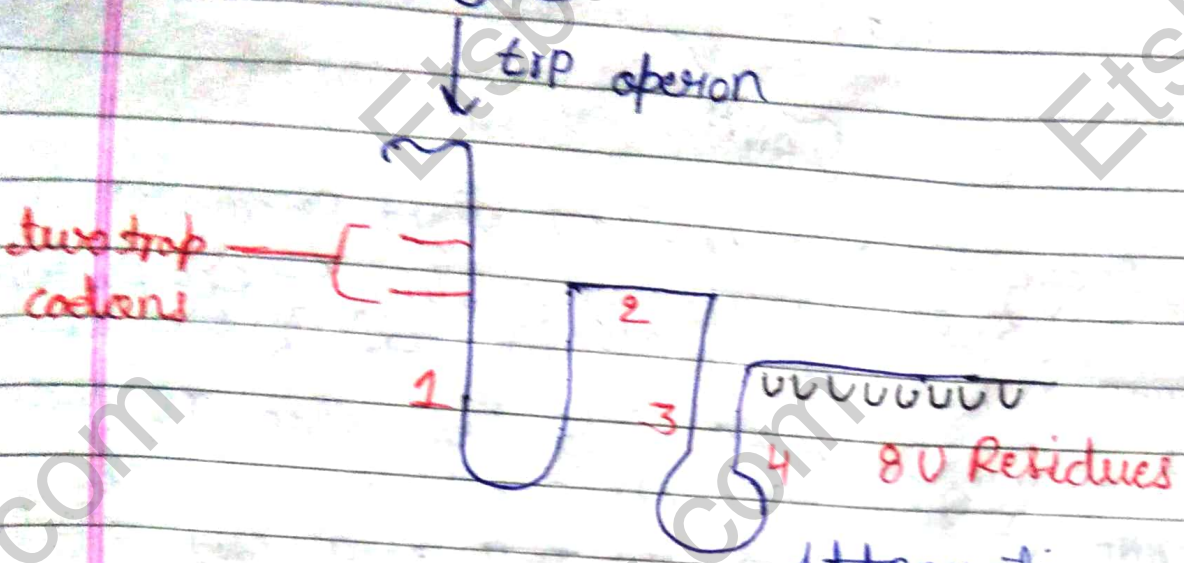
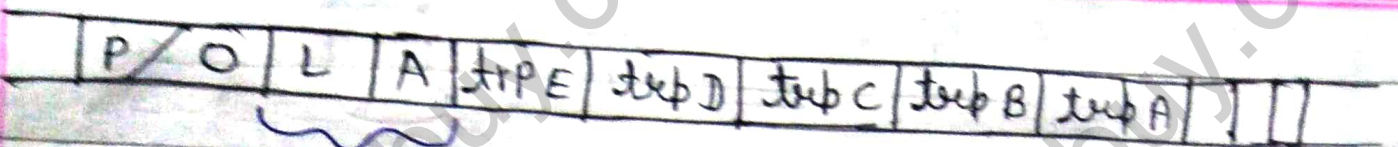
thr - operon

→ e-coli के trp-operon में क्षीणीकरण अनुक्रम को मुख्य रूप से अध्ययन किया गया है जो मिम्न प्रकार से है -

प्रति समापन प्रक्रिया में RNA Polymerase का इस प्रकार से समापन होता है जिससे वह समापन अनुक्रमों की पहचान नहीं पाता एवं समापन क्रम से भाग भी अनुत्पन्न चापू रखता है। RNA Polymerase में यह परिवर्तन उससे विरोध प्रोटीन की "Anti Termination factor" कहते हैं।

जब λ -वैरिफॉफेज *E. coli* को संक्रमित करता है तो उसके *cavely gene* सबसे पहले अभिव्यक्त होते हैं तथा उसके बाद विलंबित (delayed) जीन अभिव्यक्त होते हैं। तथा सबसे बाद में Late जीन अभिव्यक्त होते हैं तथा सबसे बाद में Late जीन अभिव्यक्त होते हैं। किन्हे निम्न प्रकार से समझा जा सकता है —

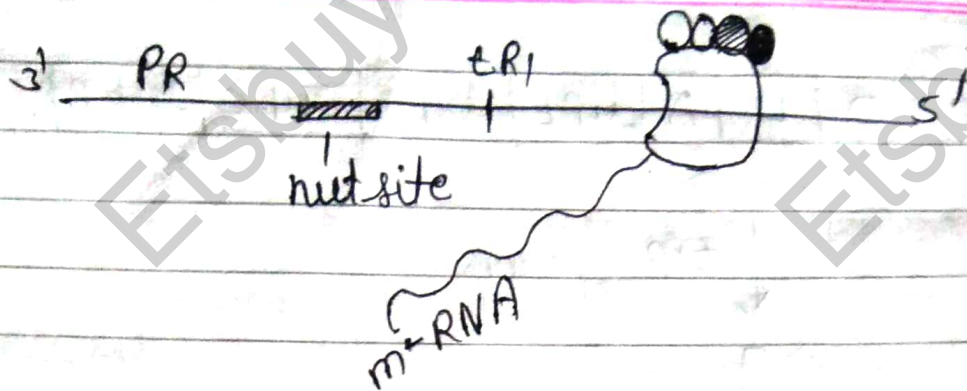




Attenuation:

→ E-coli Bacteria में ट्रिप्लेट कोड ऑपरॉन में leader (L) अनुक्रम डीडी आगे की ओर अनुक्रम पाया जाता है। L व A के द्वारा बने हुए RNA में चार क्षेत्र पाए जाते हैं जिन्हें क्रमशः 1, 2, 3 व 4 से चिह्नित किया गया है। सम्भावित: ऐसा देखा गया है 1, 2 क्षेत्र अपना पूरा पुग्मन करता है। जबकि क्षेत्र 3 व 4 के बीच पुग्मन होने से डेश पिन loop का निर्माण होता है जिसके तुरन्त बाद 8 पूरसित क्षारक उपस्थित होते हैं। यह संरचना की ओर क्षेत्र बनाती है। क्षेत्र 1 के शुरु में ट्रिप्लेट कोड डी डी डी डी स्थित होते हैं, यहां से अनुवादन तब तब आगे बढ़ता जाएगा जब तक क्षेत्र 2 के शुरु में स्थित समापन codon पर नहीं पहुंच जाता। लेकिन क्षेत्र 3 व 4 में डेश पिन loop बनने के कारण ट्रिप्लेट ऑपरॉन का अनुवादन यही रुक जाता है।

Anti termination (प्रति समापन) :-



1 - Phage का DNA Left एवं Right Promoter
 के द्वारा क्रमशः pN Protein एवं Cro Protein
 बनाता है। इन दोनों प्रोटीनों को बनने के लिए क्रमशः
 Left Termination 1 एवं Right Termination तक बना
 m-RNA चाहिए। लेकिन किसी भी Termination
 के आगे पाये जाने वाला DNA अनुक्रम
 Delayed या Late gene के लिए RNA बनाने का
 अर्थ करता है। एवं उसके लिए
 प्रतिसमापन डारक को आवश्यकता होती है।

Left Promoter के द्वारा बनाया गया
 pN Protein Right Promoter पर DNA अनुक्रम में
 स्थित nut site
 की पहचान रखता है एवं यह अस्थायी रूप से
 nut site से बंधित हो जाता है।

जब Right Promoter Cro Protein
 के लिए m-RNA बना रहा होता है उस दौरान जब
 RNA Polymerase Nut site पर पहुँचता है तब
 NusA, NusB, NusE संलग्न डारक (Attachment
 factors) की उपस्थिति में pN Protein RNA
 Polymerase पर जुड़ जाता है जिससे RNA Polymerase
 रूपांतरित होकर ER1 को नहीं पहचान पाता
 है। एवं m-RNA का संश्लेषण करते हुए आगे निकल
 जाता है एवं इसे ही anti Termination
 कहते हैं।

Date : _____
Page : _____

Reverse transcriptase and its application -

Reverse transcriptase जैसे विषाणुओं में पाया जाता है। जिनका genetic material RNA होता है। ये विषाणु Reverse transcriptase enzyme की मदद से RNA से वापस DNA बनाते हैं। इसी कारण इन विषाणुओं को परत वापस (Retro viruses) कहा जाता है।
Ex - HIV virus

Note ⇒ कुछ दूसरे विषाणु जैसे होते हैं जिनमें genetic material RNA नहीं होता है। उन्हें Retro viruses नहीं कहते हैं। जैसे - क्षीरवाइरस का विषाणु।

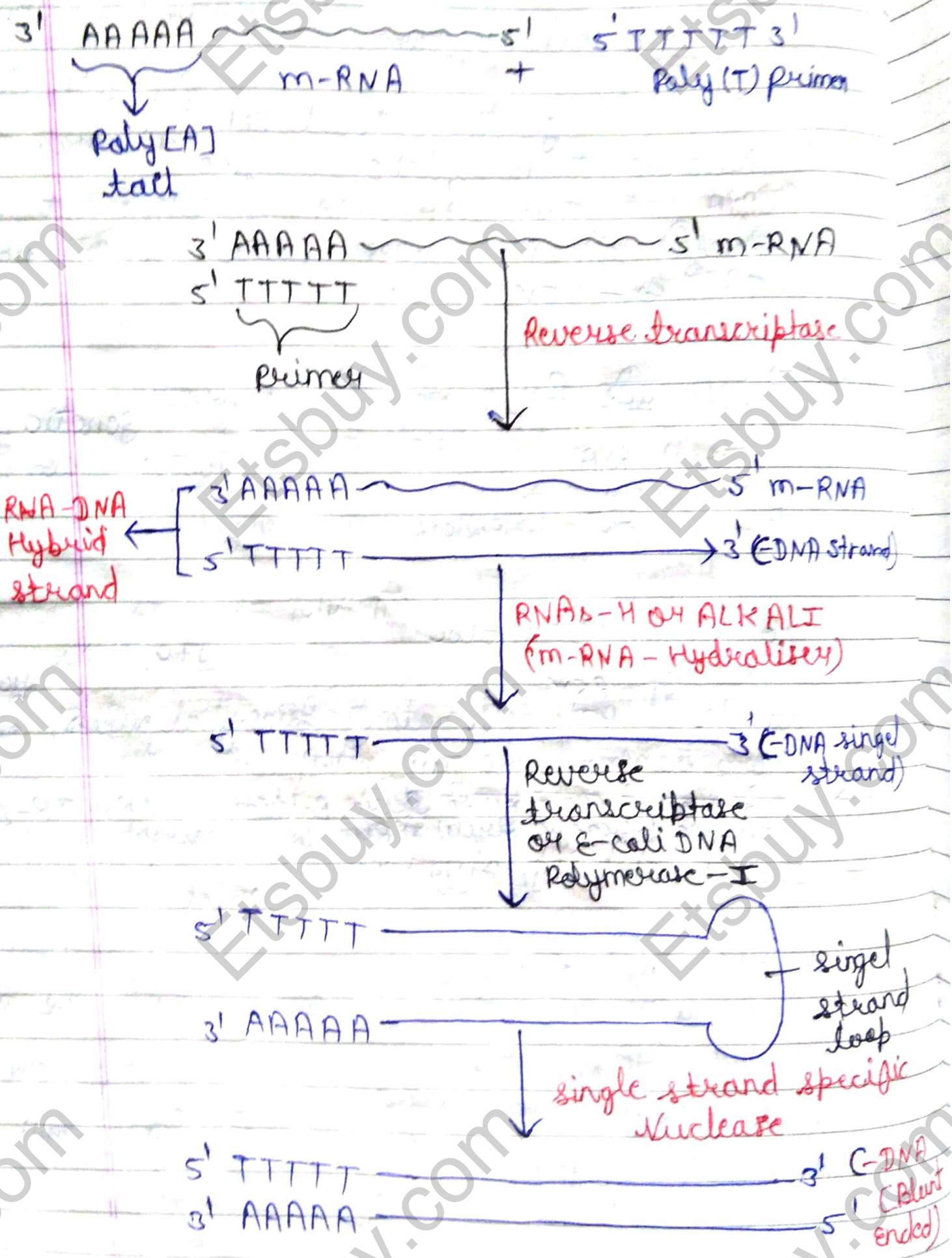
Reverse transcriptase की खोज =

1970 में Dr. Howard Temin ने RSV (Respiratory Syncytial virus) में Reverse transcriptase की खोज की।

- उनके साथ ही स्वतंत्र रूप से David Baltimore ने RSV व R-MLV (murine leucemia virus) में Reverse transcriptase की खोज की।
- 1975 में दोनों को संयुक्त रूप से Nobel दिया गया।

सामान्यतः इससे पहले Central Dogma की मान्यता थी। लेकिन बाद में यह स्वीकार कर लिया गया कि यह enzyme कोडित होते हैं तथा reverse transcription के दौरान ये काम reverse में आते हैं। यह enzyme RNA से वापस DNA बना लेता है।

Process of Reverse Transcription:



ऐसा वापरस जिसका जीनोम RNA से बना होता है वह किसी कोशिका में उपेक्षा के बाद अपने आप की अनुकूलित करने के लिए अपने RNA से DNA का निर्माण करता है। जिसे **Reverse Transcription** (प्रतिलिखित प्रतिक्रिया) कहते हैं। जिसके निम्न चरण हैं —

- सर्वप्रथम यह एक RNA से एक DNA खंड बनाता है। जिसके लिए यूरेरिपोट एवं प्रोटेरिपोट कोशिकाओं में कुछ मिनटों पापी जाती है। यदि RNA से DNA यूरेरिपोट cell में बन रहा होता है तो RNA के स्ट्रैंड पर पहले से Poly A tail पाया जाता है। और ऐसा यदि प्रोटेरिपोट कोशिका में होता है तो RNA में पहले से Poly A tail नहीं पाया जाता एवं एक अन्य Enzyme क्रिया के द्वारा RNA में Poly A tail जोड़ा जाता है।
- Poly-A Tail युक्त RNA के 3' end सिरे पर RNA Polymerase की उपस्थिति में Poly T Primer 5' end सिरे पर जुड़कर DNA का संश्लेषण करता है।
- जब DNA का संश्लेषण RNA के 3' तक हो जाता है तो DNA एवं RNA संश्लेषित अणु का निर्माण होता है। जिस पर RNAse H की क्रिया होती है जिससे RNA नष्ट हो जाता है। एवं केवल एक DNA स्ट्रैंड शेष बचता है।
- इसके 3' सिरे पर हाइड्रोक्सिल गिरा पाए जाने के कारण RNA Polymerase की आवश्यकता नहीं होती है। स्वयं Reverse Transcriptase Enzyme ही RNA Polymerase के समान कार्य करता है।

Date: _____
Page: _____

स्व loop बनाते हुए 3' सिरे पर नए न्यूक्लियोटाइडों को जोड़ता हुआ DNA के खंड का पूरक की तरह उपयोग कर DNA संश्लेषण करता है। इस प्रकार से स्वयं पर लिपटा हुआ एकल स्ट्रैंड वाला DNA एन बन जाता है।

→ इसके बाद single strand specific nuclease enzyme loop को फाटकर अलग कर देता है। स्व Double stranded DNA का निर्माण हो जाता है।

इस प्रकार से बना हुआ DNA complementary C-DNA / पूरक DNA कहलाता है। जिसमें निम्न गुण होते हैं —

- (i) इस DNA में Intercan नहीं पाए जाते।
- (ii) यह DNA कम अणुभार वाला होता है।
- (iii) इसे vector के साथ आसानी से जोड़ा जा सकता है।

Application of Reverse transcriptase :-

जैव प्रौद्योगिकी में Reverse transcriptase enzyme की खोज के बाद आणविक क्षेत्र में विकास अपनी चरम सीमा पर पहुंच गया। स्व Reverse transcriptase के निम्न अनुप्रयोग सामने आए —

- (1) RNA से DNA बनाया जा सकता है अतः central dogma का सिद्धांत गतत साबित हो गया।

(Reverse transcriptase)
(2)

R.T. के द्वारा बना DNA सामान्य DNA से छोटा होता है। अतः पाहक में आसानी से स्थानान्तरित किया जा सकता है।

Trans. + location → विस्थान विस्थापन

APCO

Date: _____

Page: _____

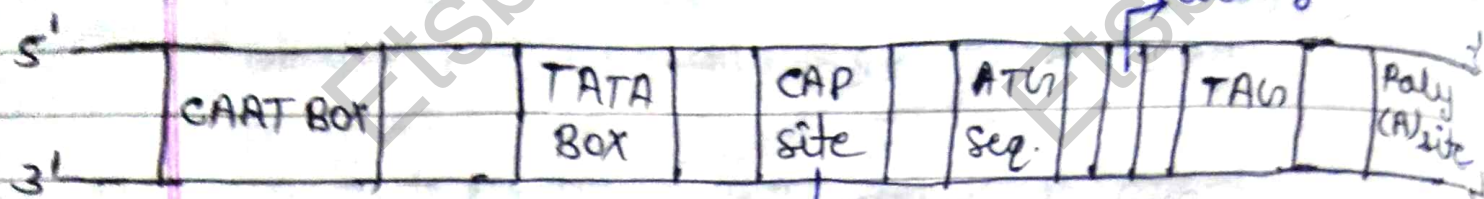
3. इस स्वरूप से बने हुए DNA में छूनाएँ सतत होती हैं। अर्थात् केवल Exon पाए जाते हैं।
4. c-DNA Library बनायी जा सकती है।
5. विभिन्न क्षान्वांशिक रोगों का अध्ययन कर उन्हे रोका जा सकता है।
6. जीन अभिव्यक्ति का गहनता के साथ अध्ययन किया जा सकता है।

Gene Expression in Eukaryotic cells: — प्रोकेरियोटिक

Cell में केन्द्र संगठित पाया जाता है। अतः जीवद्रव्य विभक्त होता है। इस कारण से Gene Expression की प्रक्रिया Prokaryotic cells से अलग होती है। यहाँ DNA से RNA का संश्लेषण Nucleus / केन्द्र में होता है जब RNA का निर्माण हो जाता है। उसके बाद इसे संबंधित Protein संश्लेषण के लिए कोशिकाद्रव्य में भेजा जाता है, जिसे Translocation कहते हैं। Translocation के बाद जीन की अभिव्यक्ति सम्पन्न होती है।

Note: प्रोकेरियोट कोशिकाओं में RNA Synthesis समाप्त भी नहीं होता है उससे पहले ही Protein संश्लेषण शुरू हो जाता है। इसलिए प्रोकेरियोट cells की अभिव्यक्ति Prokaryotic cells से घीमी होती है।

Structure of Eukaryotic Gene: —



Regulatory sequence ← → Excessive seq.

- Promoter seq.

- Enhancer seq.

- Silencer seq.

11) प्रीमोटर अनुक्रम :- इस पर RNA Polymerase binding site होती है।
 अतः इस पर RNA Polymerase जुड़ता है जिसके कारण Transcription शुरू होता है।

Note :- RNA Polymerase-II के लिए काम करने वाले Promoter में CAAT Box एवं TATA Box अनिवार्य रूप से पाए जाते हैं। ये RNA Polymerase के अभिज्ञान स्थल का कार्य करते हैं।

12) Enhancer sequence :- ये अनुक्रम जीन की अभिव्यक्ति को, हाइड्रॉक्सिल, परिवर्धन विशिष्ट, उद्दीपन विशिष्ट बनाने का कार्य करते हैं एवं जीन Expression (अभिव्यक्ति) को तेज कर देते हैं।

(13) Silencer sequence :- ये अनुक्रम enhancer sequence के पूरक होते हैं। ये enhancer sequence के प्रभाव को silent/इसम कर देते हैं।

(14) CAP site :- यह अनुक्रम transcription की starting site को बताता है।

(15) leader sequence :- यह ऐसे अनुक्रम होते हैं जो अभिव्यक्त होने वाले जीन के शुरु में पाए जा सकते हैं। इनका transcription होता है लेकिन translation नहीं होता है। अतः ये केवल प्रोटीन संश्लेषण के लिए मार्गदर्शक का कार्य करते हैं।

(16) ATG Codon :- यह RNA में AUG codon बनाता है। जो translation की शुरु करने का कार्य होता है।

(17) Coding sequence :- जो जीन अभिव्यक्त होते हैं। उनमें एडान्तर क्रम में expressive व unexpressive DNA अनुक्रम पाए जाते हैं। जो m-RNA बनाने के दौरान exons व introns बनाते हैं। इनमें से exons लक्षणीय से निर्धारित करने वाले होते हैं।

(18) TAG, TAA, TGA codon :- ये ऐसे अनुक्रम होते हैं जो m-RNA में stop कोडोन में बदल जाते हैं। प्रायः gene में एक कोडोन से संबंधित अनुक्रम पाया जाता है।

10) Poly A site :- इस अनुक्रम में बहुत सारे सदिनी भासक एक अनुक्रम बनाते हैं। यह अनुक्रम Transcription Termination का signal देता है।

यूकैरियोटिक जीन की अभिव्यक्ति में जटिलता के कारण :-

11) यूकैरियोटिक जीन की कोशिका में केन्द्रक पाया जाता है। एवं m-RNA का निर्माण केन्द्रक में होता है।
अतः m-RNA का Translocation cytoplasm में होने के बाद ही Translation शुरू हो पाता है।

12) m-RNA पर m-RNA के रूप में बनता है।

13) m-RNA में Intron व Exon पाए जाते हैं।
अतः RNA splicing की आवश्यकता होती है।

14) Crease मौनोसिस्ट्रॉमिक होते हैं। अतः केवल एक प्रोटीन बनाते हैं।

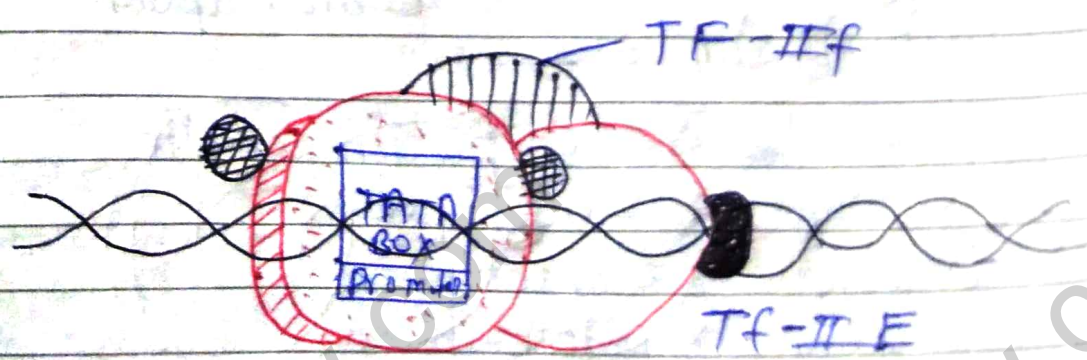
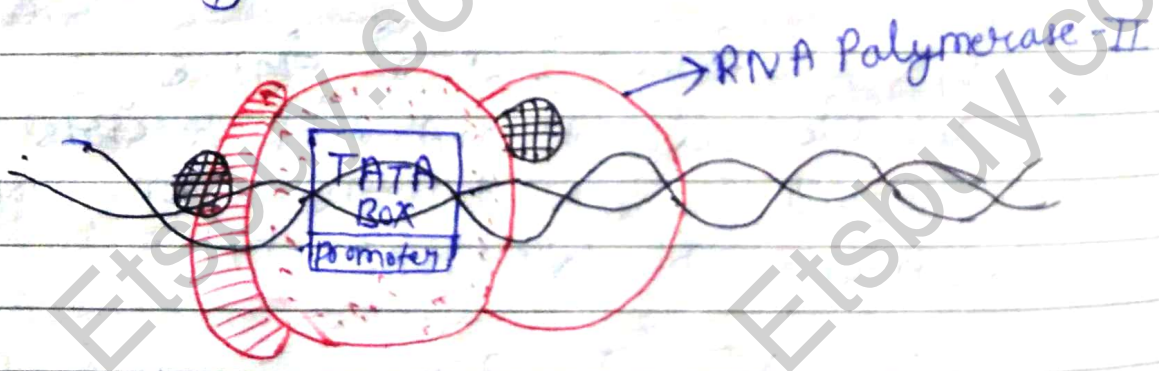
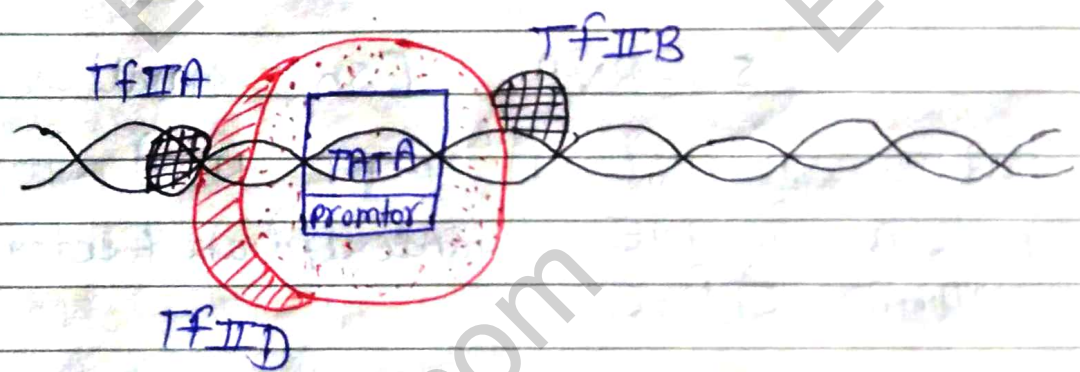
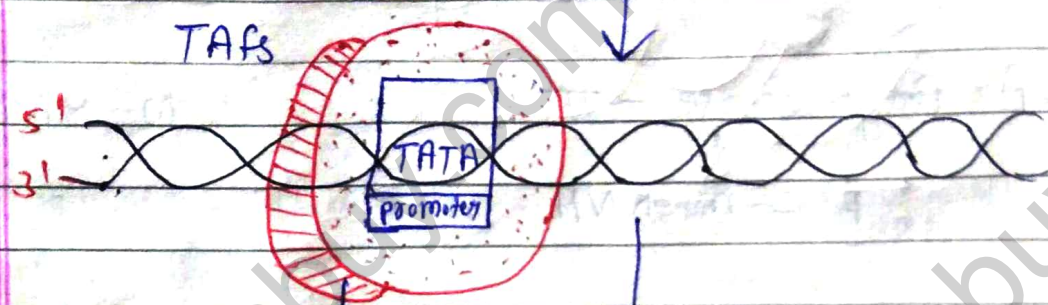
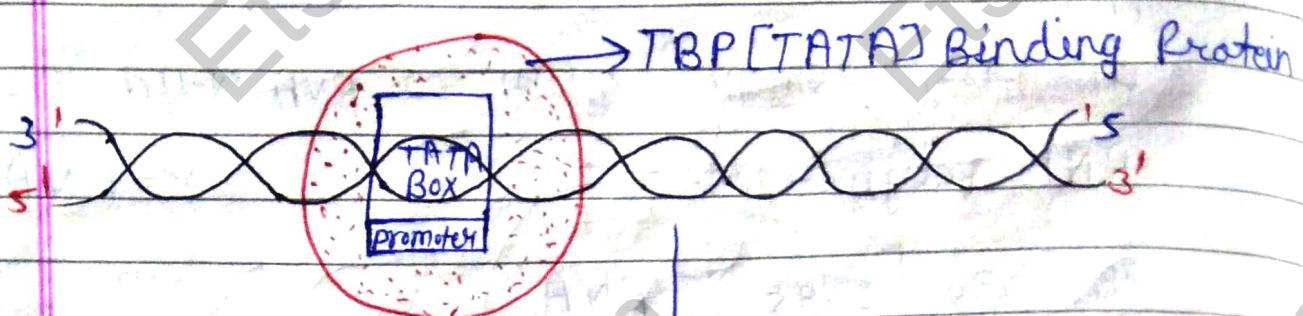
उपरोक्त सभी कारणों से अभिव्यक्ति के लिए विभिन्न प्रकार के Regulatory अनुक्रमों की जरूरत होती है।

Transcription in Eukaryot Cells :- यूकैरियोट

कोशिका में DNA से RNA का निर्माण केन्द्रक में सम्पन्न होता है। एवं बनने वाले समस्त RNA केन्द्रक में ही बनते हैं। लेकिन इनका निर्माण अलग-2 DNA Dependent RNA Polymerase संयंत्रों के द्वारा नियंत्रित होता है।

Date: _____
Page: _____

ii) Formation of Pre Initiation Complex:



- TBP
- ↓
- TFIID
- ↓
- TFIIA
- ↓
- TFIIB
- ↓
- TFIIF
- ↓
- TFIIE
- ↓
- TFIIH

APCO

Date: _____

Page: _____

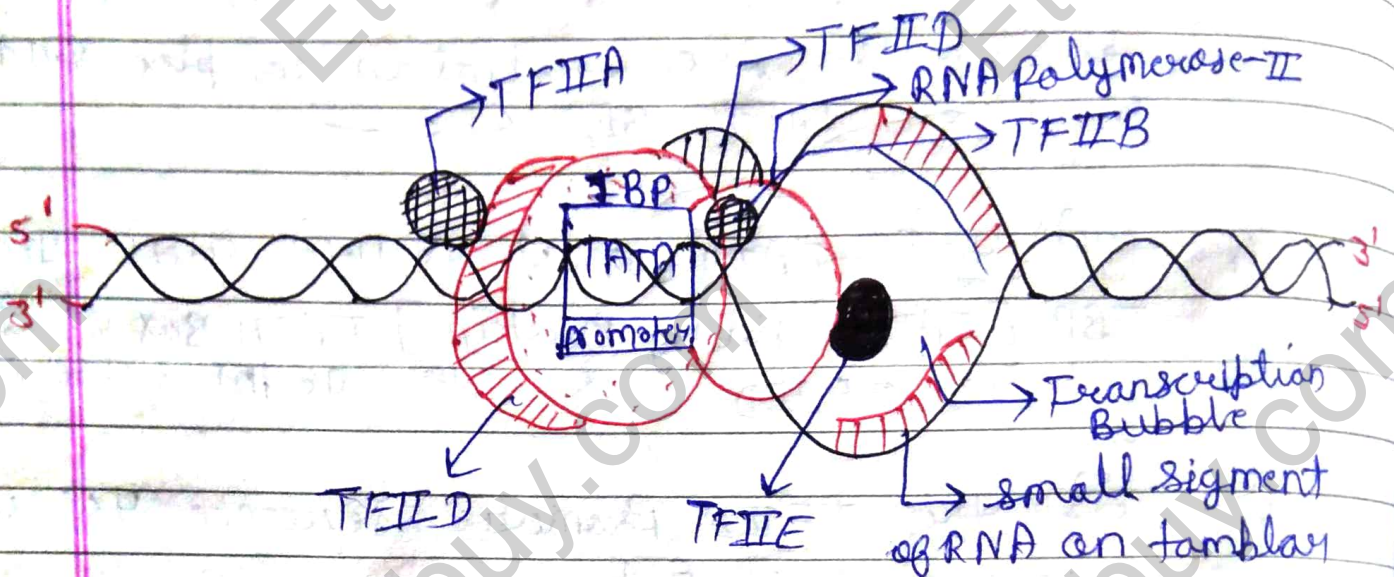
→ प्रोक्सीरिपोर्ट कोशिकाओं में RNA Transcription Promoter sequence पर विभिन्न प्रकार के Transcription factors के जुड़ने से शुरु होता है ये सभी अनुसूचित कारक मिलकर Pre Initiation complex बनाते हैं।
जिनका क्रम निम्न अनुसार है —

- (i) सबसे पहले TATA Box को पहचानने वाली प्रोटीन TBP [TATA Binding Protein] TATA Box से जुड़ती है जिस पर TFIIID के लिए पहचान स्थल होता है।
- (ii) इसके बाद TFIIID Promoter sequence पर up stream में जुड़ता है।
- (iii) इसके बाद क्रमशः TFIIA, TFII B, TFII F, TFII E एवं सबसे अन्त में TFII H जुड़ता है।
- (iv) जैसी ही TFIIID पर TFIIA व B जुड़ जाते हैं तो इसके बाद RNA Polymerase II Promoter sequence पर जुड़ता है।

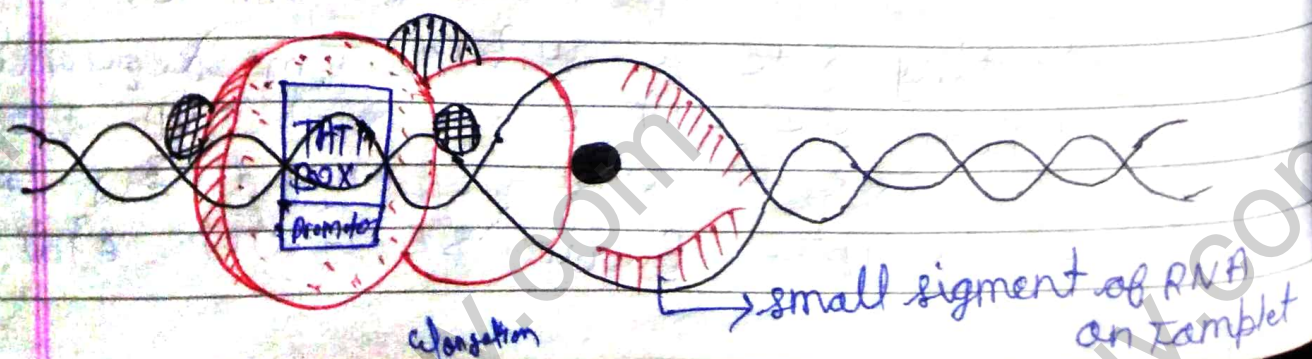
v) TFII F Promoter पर इस प्रकार जुड़ता है कि वह RNA Polymerase-II व Promoter के मध्य सेतु बनाने का कार्य करता है।
इस प्रकार से Pre Initiation closed complex का निर्माण होता है। इसके बाद Transcription factor-II H के द्वारा हैतीडेज activity की जाती है जिससे starting site पर उपस्थित Inr sequence में H₂ Bond टूट जाते हैं एवं दोनों DNA स्ट्रैंडों पर एक-दूसरे से अलग-2 हो जाती है। एवं Transcription Bubble का निर्माण होता है।

Date: _____
Page: _____

एव Pre initiation closed complex / Pre initiation open complex में बंद जाता है।



(iii) Initiation of RNA Transcription: जैसे ही Pre initiation open complex बनता है तो टेम्पलेट strand पर Ribose Nucleotide की स्ट्रॉन्गों आकर जुड़ने लगती हैं। एव जब 15-20 Nucleotide जुड़ जाते हैं तब इसे RNA Transcription की शुरुआत माना जाता है। जैसे ही RNA का एक छोटा टुकड़ा बन जाता है। तब उसके बाद RNA-Polymerase II promoter sequence से भागे बिसक जाता है। TF-II F के अलावा सभी Transcription factors promoter sequence पर ही रह जाते हैं। TFII RNA Polymerase के साथ भागे बढ़ता हुआ elongation (बीचीकरण) का करता है।



(iii) Elongation of Transcription:-

आने वाले न्यूक्लिओटाइड्स -
 - एच 3'-5' phospho di ester linkage enzyme की उपस्थिति में हाइड्रोक्सिल समूह के साथ बंधन बनाते हुए लगातार DNA Template पर जुड़े जाते हैं।
 सामान्यतः Transcription Bubble में 25 न्यूक्लिओटाइड्स उपस्थित होते हैं। लेकिन इनमें से 8-10 न्यूक्लिओटाइड्स उपस्थित होते हैं। लेकिन इनमें ही DNA Template पर जुड़े होते हैं। RNA Polymerase enzyme DNA strand पर आगे बढ़ता है। जिससे लगातार विडोइलन होने से Transcription Bubble आगे बढ़ता रहता है। सेव पीछे से DNA पुनः अपनी पूर्व स्थिति में कुंडलित होता जाता है।

Note:-

एक बार राइबोज न्यूक्लिओटाइड्स जुड़ने के बाद RNA Polymerase II के द्वारा Pevove reading की जाती है। अर्थात् इस बात की पहचान की जाती है कि राइबोज न्यूक्लिओटाइड्स DNA कोड का पूरा अनुक्रम है या कि कोई गलत न्यूक्लिओटाइड्स जुड़ता है तो इसे इसी समय ठीक कर दिया जाता है।

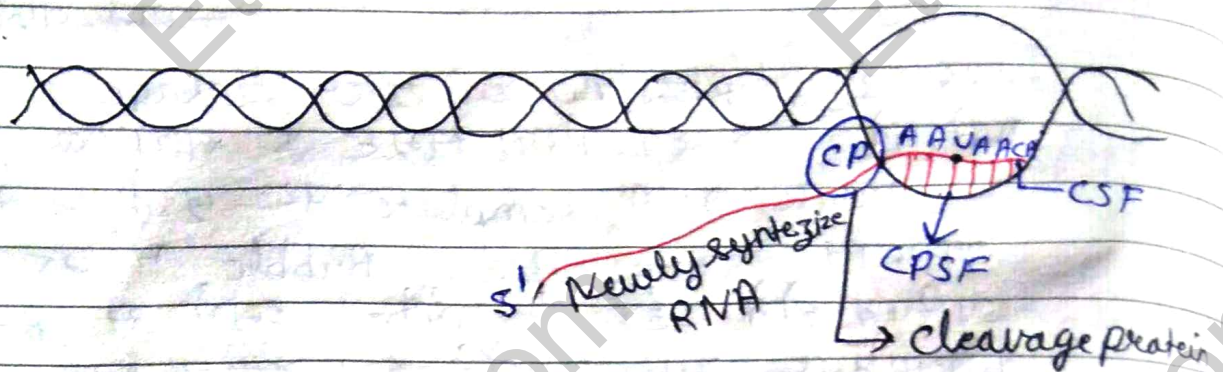
→ इस प्रकार से elongation की प्रक्रिया आगे बढ़ते हुए Terminator sequence पर पहुँच जाती है।

(iv) Termination of Transcription:-

जैसे ही RNA synthesis या RNA संश्लेषण Terminating point पर पहुँचता है तो उस locus (स्थिति) पर ही Terminating sequence पाए जाते हैं।

CPSF [Cleavage polyadenylation specific Factor]
 CSF [Cleavage stimulating sequence]

PCO
 Date: _____
 Page: _____



(ii) AAUAA

(iii) GA - Rich region

AAUAA CPSF की तथा GA-rich region CSA की Termination sequence पर जोड़ता है जिससे इस cleavage factor सक्रिय हो जाता है जो EndoRiboNuclease enzyme को सक्रिय कर देता है।
 यह EndoRiboNuclease RNA को काट देता है।
 एवं RNA विमुक्त हो जाता है।

Note:-

बनने वाला m-RNA Pre-m-RNA होता है जिसमें Intron व Exon पाए जाते हैं जो RNA processing के द्वारा व्यवस्थित करके Pre m-RNA से m-RNA बनने के दौरान Intron को निशान्त है।

Pre m-RNA Processing:- यूकेरियोट कोशिका में जब Transcription सम्पन्न हो जाता है तो प्रथम बना हुआ RNA hnRNA (hetero Nuclear RNA) या Pre m-RNA कहलाता है।

यूकेरियोटिक Transcription में RNA Polymerase-II की प्रयोग हुआ है। अतः बना हुआ RNA Pre m-RNA कहलाता है।

पहले m-RNA सीधे ही प्रोटीन संश्लेषण में भाग नहीं लेता उससे पहले इससे (Pre-m-RNA) में कुछ बदलाव किए जाते हैं। जिससे पहले m-RNA परिपक्व m-RNA में बदल जाते हैं जो Protein synthesis में भाग लेने योग्य होता है। इस प्रकार Pre-m-RNA से mature mRNA बनने की प्रक्रिया RNA processing कहलाती है। जिसके मुख्य तीन भाग होते हैं।

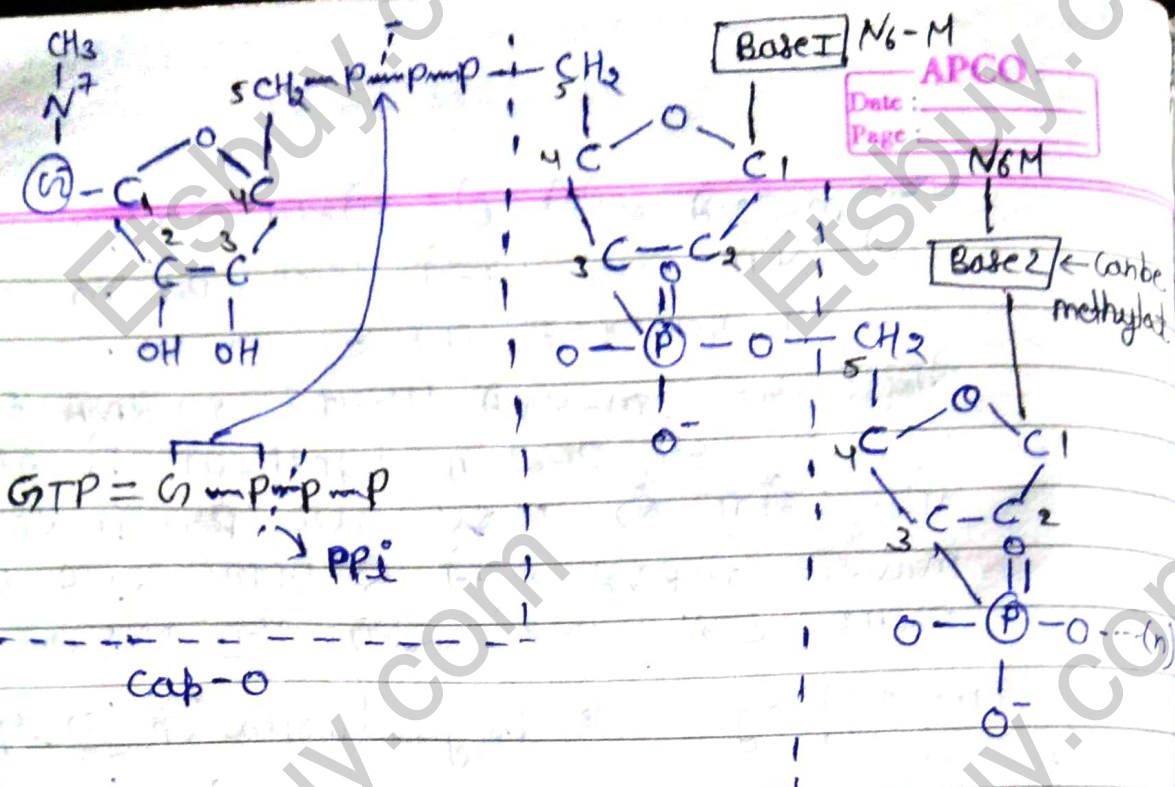
(1) Capping (2) Poly-adenylation (3) Splicing

(1) Capping: — Eukaryotic cell में यह प्रक्रिया है जिसमें m-RNA के 5' सिरे पर सम्पन्न होती है। जिसमें 7- मिथाइल गुवानोसीन ट्राई फॉस्फेट m-RNA के 5' सिरे पर ट्राई फॉस्फेट ब्रिज (Bridge) बनाता है, जिसे Capping कहा जाता है।

→ Capping Transcription के शुरु होने के कुछ समय बाद ही कोरिडा के केंद्र में नए बने RNA के 5' सिरे पर सम्पन्न होती है इसके निम्न फायदे हैं —

- ये भी Nuclease Enzyme m-RNA के 5' सिरे से अपघटन नहीं कर पाता है।
- Capping, RNA को Nucleoplasm को Cytoplasm में जाने का Signal देती है।
- Capping के बाद Transcription तेजी से होता है।

जबकि hn-RNA 20-30 Nucleotide वाला बन जाता है तो सामान्यतः 5' सिरे पर 3 Nucleotide तक Capping की प्रक्रिया सम्पन्न होती है जिसकी व्यवस्था निम्न प्रकार से है —



Cap-I

Cap-II

- Capping में गुवांनोसीन द्वारा -P, RNA के पहले Nucleotide के 5' सिरे, स्वयं के 5' सिरे के द्वारा जुड़ जाता है। इसके बाद पहले Nucleotide के N-Base का मिथाइलेशन हो जाता है एवं इस प्रकार से आगे मिथाइलेशन हो सकता है।

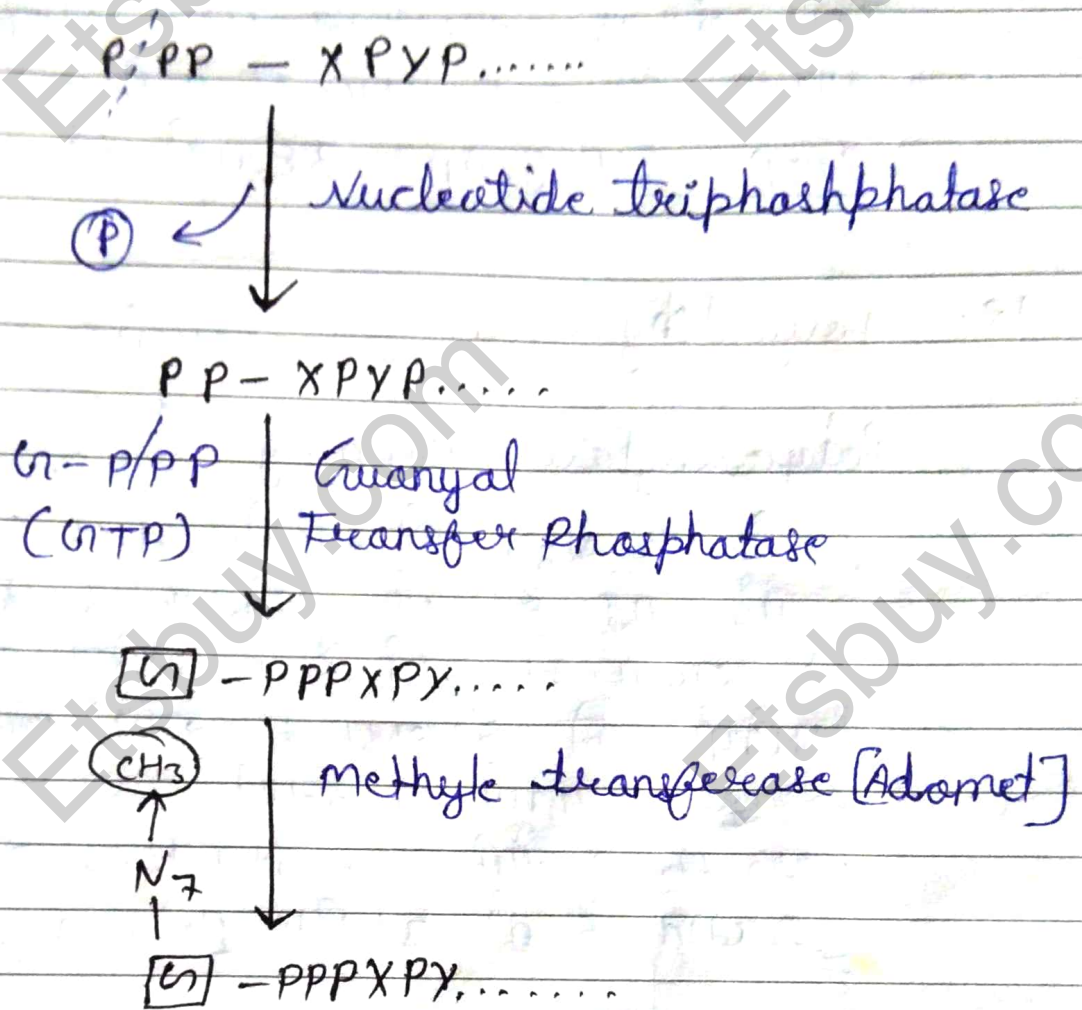
Note:- 7-methyl GTP जब पहले Nucleotide से जुड़ता है तो उसे Cap-0 कहा जाता है। एवं जब पहले N₂-Base का Methylation हो जाता है तो Cap-0 का N-Base methylation सम्मिलित रूप से Cap-I कहनाता है। इसी प्रकार से आगे Base-2 का methylation होता है तो Cap-I + methylation सम्मिलित रूप से Cap-2 कहनाता है।

7 Meg GTP + 1st Nucleotide = Cap-0

Cap-0 + 1st Base methylation = Cap-1

Cap-1 + 2nd Base methylation = Cap-2

Process of Capping :-



→ यह प्रक्रिया निम्न तीन चरणों में सम्पन्न होती है। सबसे पहले Nucleotide triphosphatase enzyme की उपस्थिति में नए बने RNA के 5' सिरे से एक phosphate समूह हट जाता है।

इसके बाद Guananyl Transfer Phosphatase की उप. में GTP को जोस्फेट समूह स्वतंत्र करता है। तथा ग्वानोसीन मोनो फास्फेट के रूप में स्वयं के 5' सिरे से RNA के 5' सिरे पर बंधन बनाता है। इस प्रकार से नए बने RNA के 5' सिरे पर GTP की CAP बनती है।

इस चरण में methyl transferase enzyme की उपस्थिति में guanine पर उपस्थित 7 नंबर के नाइट्रोजन पर मैथिल समूह जुड़ जाता है। इस प्रकार से बनी हुई cap 7 methyl GTP हैप [CAP] कहलाती है।

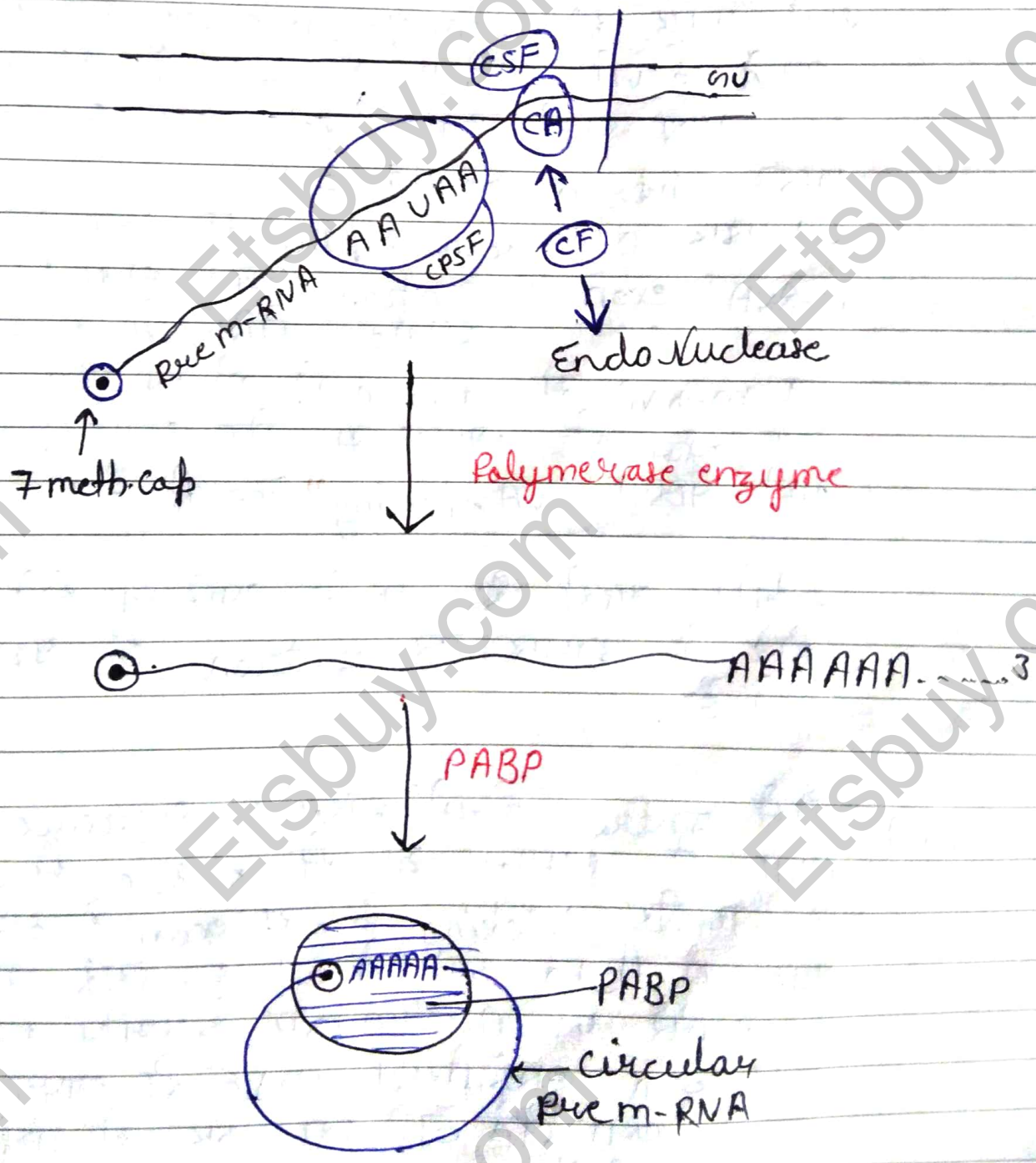
12) Polyadenylation:- यूडेरियोट कोशिकाओं में Polyadenylation capping है। जिसमें RNA के 5' सिरे पर बहुत सारे एडिनीन द्वारा बने न्यूक्लिओटाइड जोड़े जाते हैं। ये न्यूक्लिओटाइड सामान्यतः 100-200 की संख्या में होते हैं। एडिनिन अलग-अलग जातिपा की कोशिका में इनमें भिन्नता पाई जाती है। कुछ जातिपा में इनकी संख्या 700 तक होती है। जब ये एडिनोसिन न्यूक्लिओटाइड 3' सिरे पर जुड़ जाते हैं तो 3' सिरे Poly-A-tail कहलाता है। यूडेरियोट कोशिकाओं की यह विशेषता होती है। जैसे ही m-RNA का अनुलेखन होता है वैसे ही Poly-A-tail बन जाती है।

पॉलीएडिनाइलेशन की प्रक्रिया:- जैसे ही m-RNA का

Transcription terminal point पर पहुँचता है, तो cleavage factor के द्वारा CA अनुक्रम के ठीक भाग से RNA खंड को काट दिया जाता है। संप पॉलीमरेज संयोजन के द्वारा एडिनोसिन ट्राइ फास्फेट को तोड़कर AMP के रूप में बार-बार 3' सिरे पर जोड़ा जाता है। इस प्रकार से 3' सिरे पर Poly A Tail बन जाती है।

Date: _____
Page: _____

- **exo Nuclease enzyme** बार-बार **triming** (किनारे पर से काटना) करता है, तो एडिनिन की कटता है। मुख्य RNA अनुक्रम सुरक्षित रहता है। इसे भासाया जब **Poly-A-tail** बन जाती है तो **PABP (Polyadenylation Binding Protein)** RNA के 3' व 5' सिरे को जोड़कर RNA को **Circular** बना देती है जिससे **exo Nuclease** क्रिया नहीं कर पाता।



13) RNA splicing :-

यूकैरियोट कोशिकाओं में DNA पर सूचनाएं expressive व unexpressive tag के रूप में पायी जाती हैं। अर्थात् सूचनाएं असतत होती हैं, जब transcription होता है, तो expressive tag ऐसा RNA खंड बनाते हैं जो भविष्य में protein कोड करने का कार्य करता है। यह खंड Exon कहलाता है।

इसी प्रकार से unexpressive tag ऐसे RNA खंड बनाते हैं जो भविष्य में protein को कोड करने का कार्य नहीं करते हैं। इस प्रकार के RNA खंड खंड Intron कहलाते हैं।

इस प्रकार से transcription में बना हुआ pre-m-RNA Exon व Intron युक्त होता है।

यूकैरियोट कोशिकाओं के केंद्रक में इस m-RNA से Intron को निष्कात दिया जाता है। एवं Exon को आपस में जोड़ दिया जाता है। यही प्रक्रिया "RNA splicing" कहलाती है।

एडिनिन-साइटोसिन के क्रम के उपस्थित होने या नहीं होने के आधार पर Intron दो प्रकार के होते हैं -

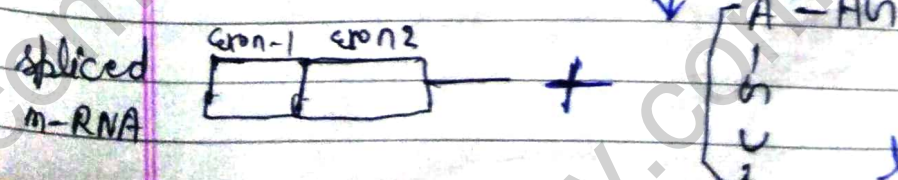
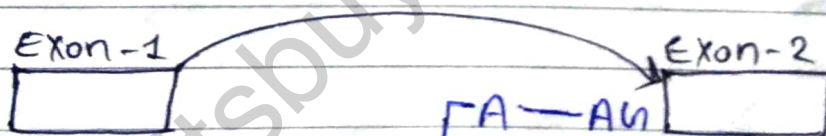
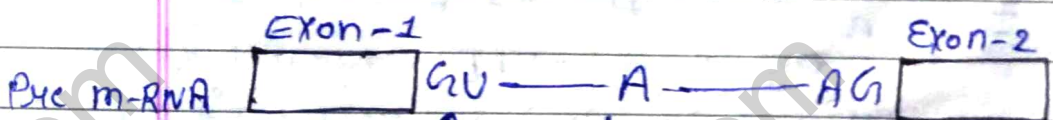
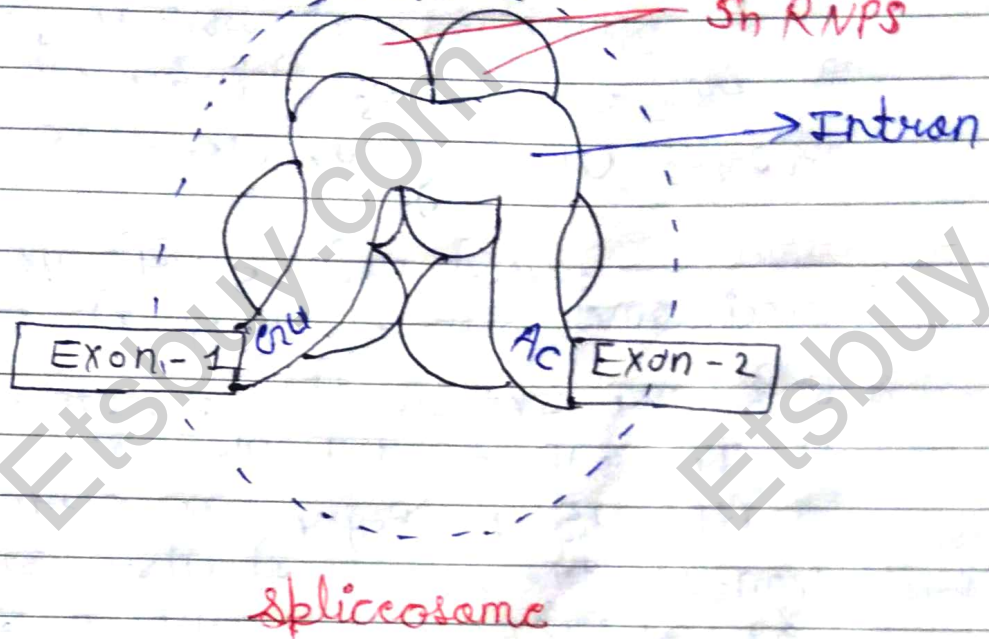
[A] ऐसे Intron जिनमें एडिनिन sequence नहीं पाया जाता वे सामान्य रूप से 5' site से Gu region के नजदीक Nicking के द्वारा Exon के हाइड्रॉक्सिल समूह से मुक्त कर देते हैं। एवं इसके बाद Intron के 3' सिरे पर OH अनुक्रम के समीप कट जाते हैं तथा Exon हाइड्रॉक्सिल समूह से वापस di-ester बंधन बना लेते हैं। इस प्रकार से सभी Intron निष्कात जाते हैं।

APCO

Date: _____

Page: _____

(B) जब Intron में खिनीन sequence पाया जाता है तो इस प्रकार के Intron में spliceosome नामक घनित का निर्माण होता है जो Intron को Lariat Note बनाने हुए निकालती है। जिसकी खिपा निम्न प्रकार से है—



Lariat form (Intron)

Pre m-RNA में पाए जाने वाले सभी Intron
 5' sequence से शुरू होते हैं। 5' cap पर
 समाप्त होते हैं। 5' sequence
 की उपस्थिति के कारण spliceosome को बनाने
 वाले सभी कारक Intron पर जुड़ जाते हैं।
 जिसमें लगभग 150 की संख्या में प्रोटीन होते
 हैं। 5' cap Sn-RNPs होते हैं। जो क्रमशः
 SnRNPs U1, U2, U4, U5 और U6 होते हैं।

spliceosome सबसे पहले 5' सिरे पर पाए जाने
 वाले 5' Region को काटता है।
 इसके बाद Intron को Lariat Note के रूप
 में बदल देता है। तथा अंत में Intron के
 3' सिरे पर 3' Region पर काटता है तथा
 Exon-1 को Exon-2 से जोड़ने का कार्य करता
 है। 3' सिरे पर कट लगने के बाद Lariat
 Exon Intron के-इक में नष्ट हो जाता है।
 5' cap सतत अनुक्रम के रूप
 में जुड़कर परिपक्व m-RNA में बदल जाते हैं।
 अब यह m-RNA Protein Synthesis
 के लिए तैयार होता है।

Aman Singh