

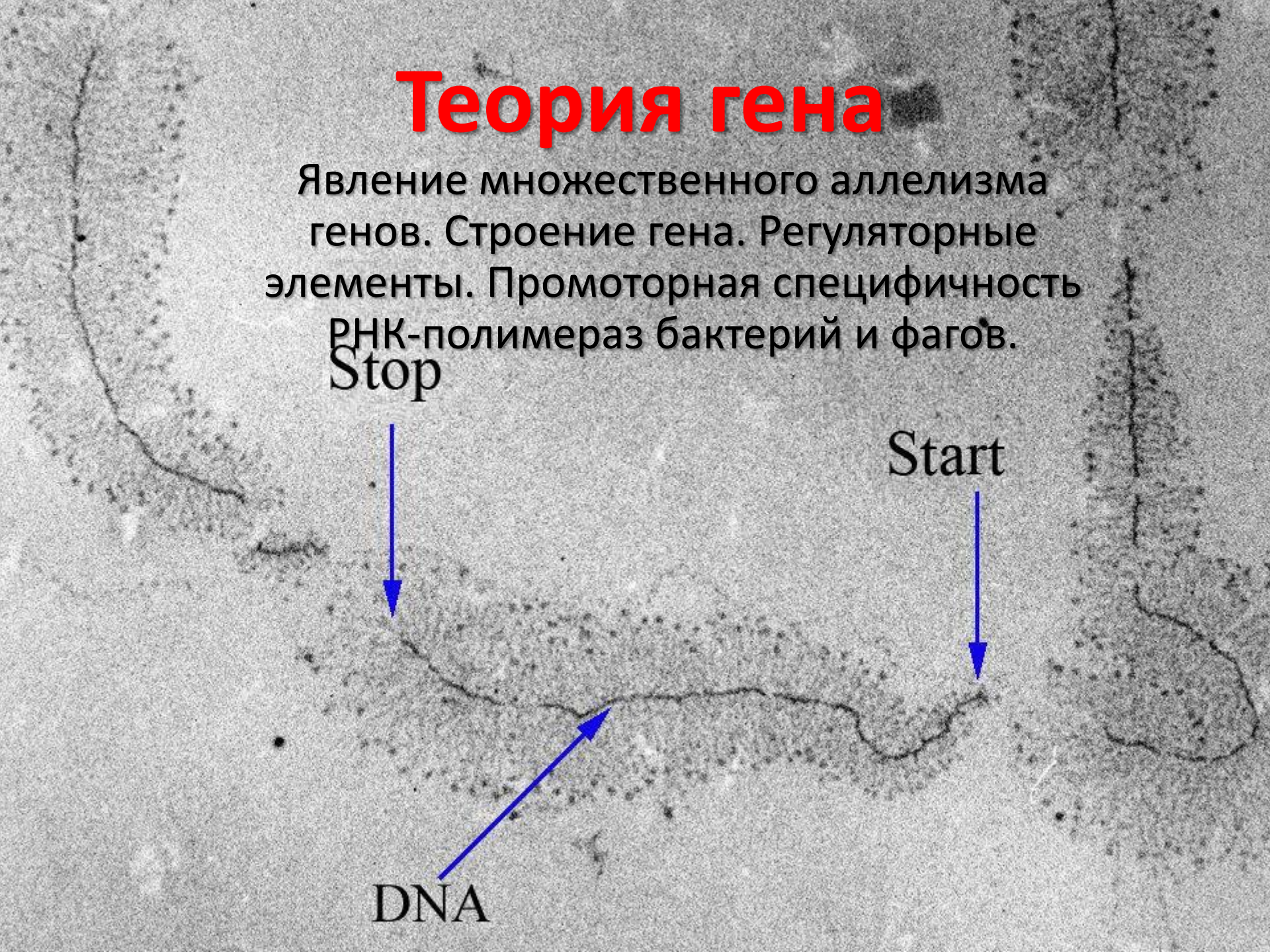
Теория гена

Явление множественного аллелизма генов. Строение гена. Регуляторные элементы. Промоторная специфичность РНК-полимераз бактерий и фагов.

Stop

Start

DNA



Теория гена

- **ГЕН** - единица генетического материала; участок молекулы ДНК (у некоторых вирусов – РНК), определяющий (кодирующий) возможность развития какого-либо признака.

Теория гена

- Ген – функционально неделимая единица, т. е. один ген, как правило, отвечает за один элементарный признак.
- Таким признаком на молекулярном уровне это может быть молекула белка или РНК, а на уровне организма, например, цвет семян гороха или цвет глаз человека.

ТЕОРИЯ ГЕНА. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ.

1. Ген занимает определенный участок (локус) в хромосоме.
2. Ген (цистрон) - часть молекулы ДНК, которая имеет определенную последовательность нуклеотидов, представляет собой функциональную единицу наследственной информации. Количество нуклеотидов, которые входят в состав различных генов, разная.
3. Внутри гена могут происходить рекомбинации и мутации.
4. Существуют структурные и функциональные гены.

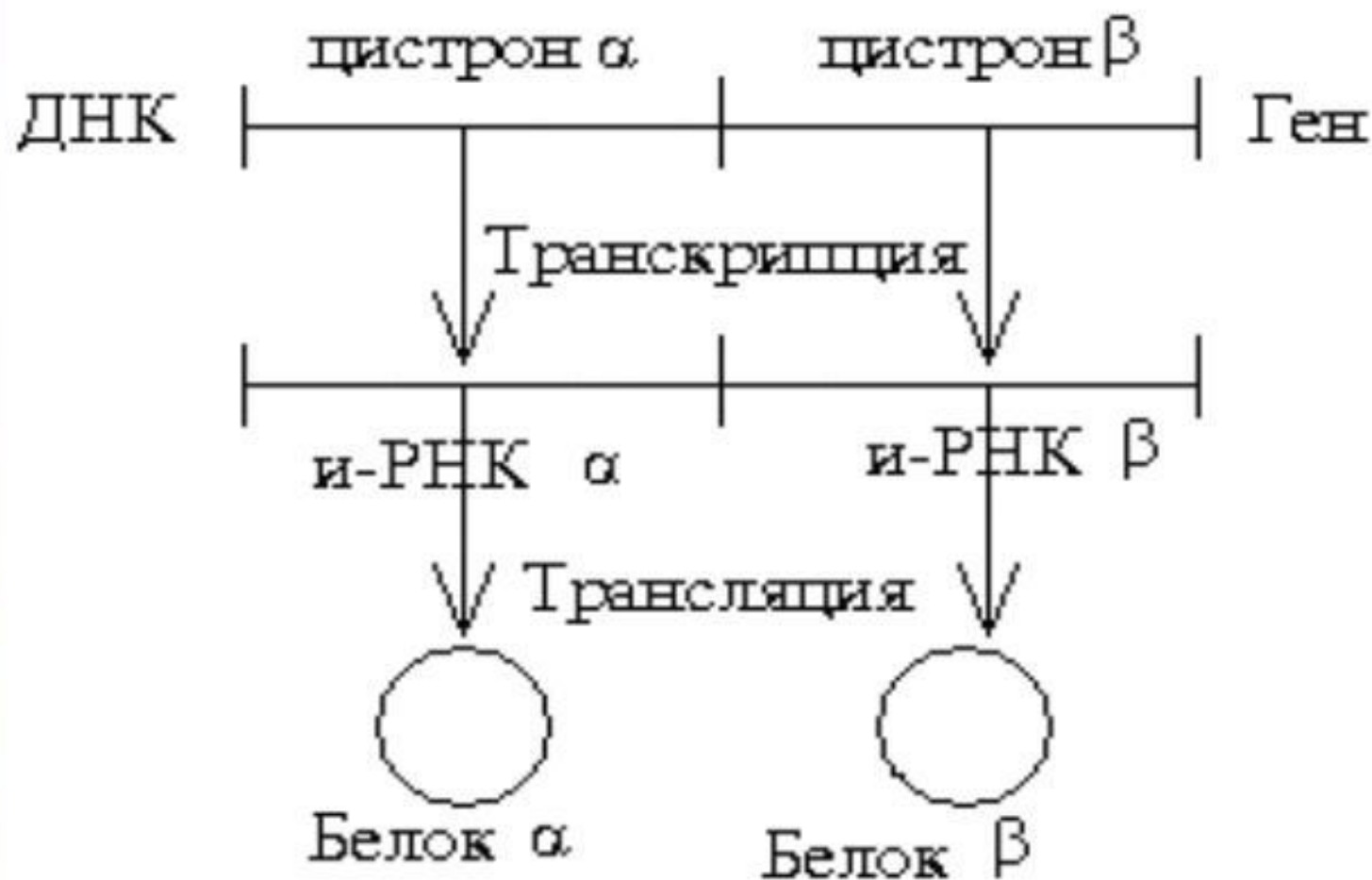
ТЕОРИЯ ГЕНА. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ.

5. Структурные гены кодируют синтез белков.
6. Функциональные гены контролируют и направляют деятельность структурных генов.
7. Расположение триплетов из нуклеотидов в структурных генах совпадает с последовательностью аминокислот в полипептидной цепи, который кодируется данным геном.
8. ДНК способна к репарации, поэтому не все повреждения гена ведут к мутации.
9. Генотип состоит из отдельных генов (дискретный), но функционирует как единое целое. На функцию генов влияют факторы как внутренней, так и внешней среды.

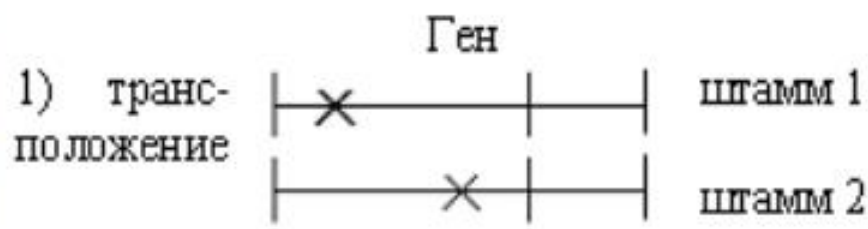
- Наименьшей единицей функции является часть гена – **цистрон**, а не весь ген.
- Внутри одного гена может быть несколько цистронов

- **Цистрон** – синоним гена
- 1 **цистрон** – 1 полипептидная цепь
- 1 **мутон** – единица мутации (= 1 п.н.)
- 1 **реконтон** – единица рекомбинации (=1п.н.)

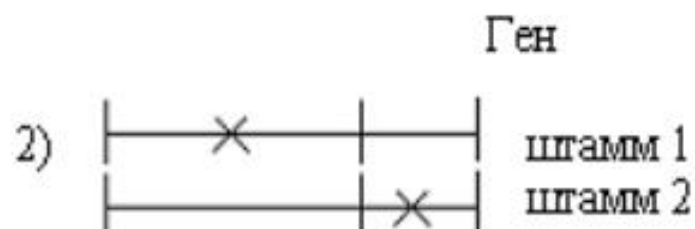
Цистронная организация гена



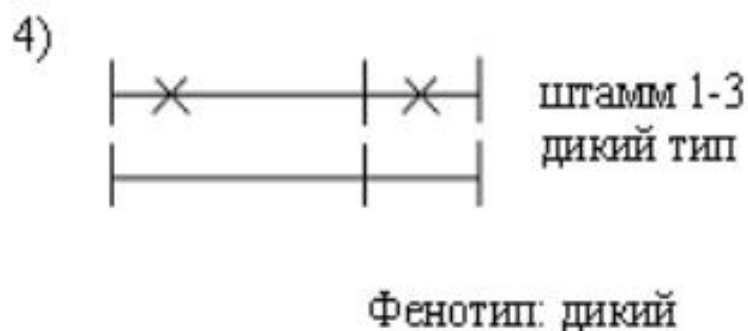
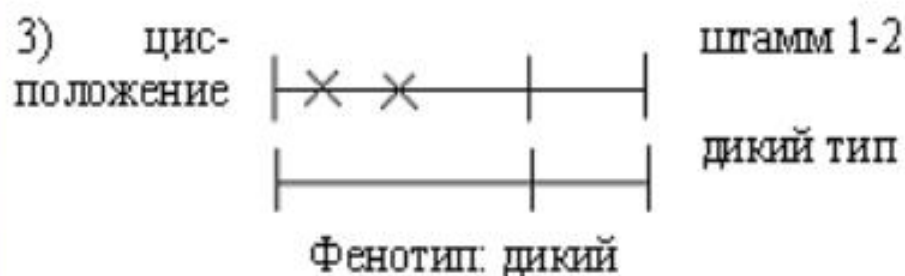
Цис – транс – тест для определения типа мутаций



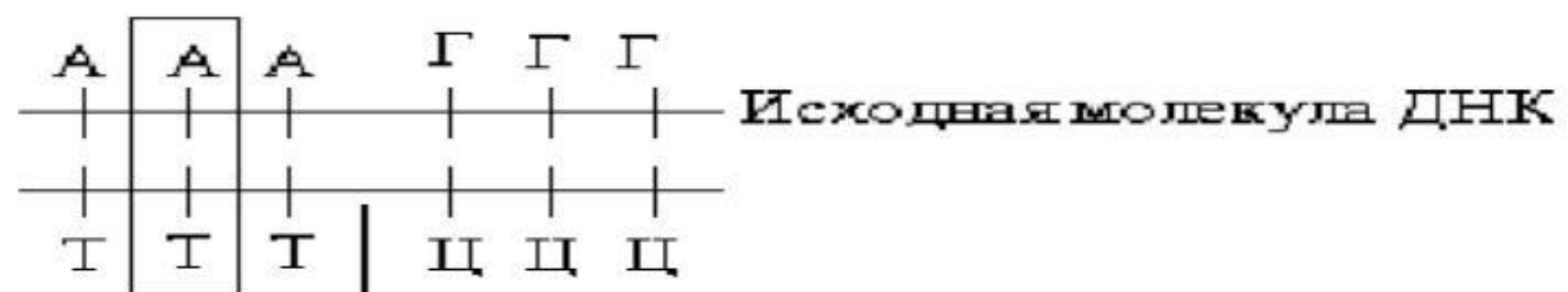
Мутации расположены в одной и той же группе комплементации
Фенотип: мутантный



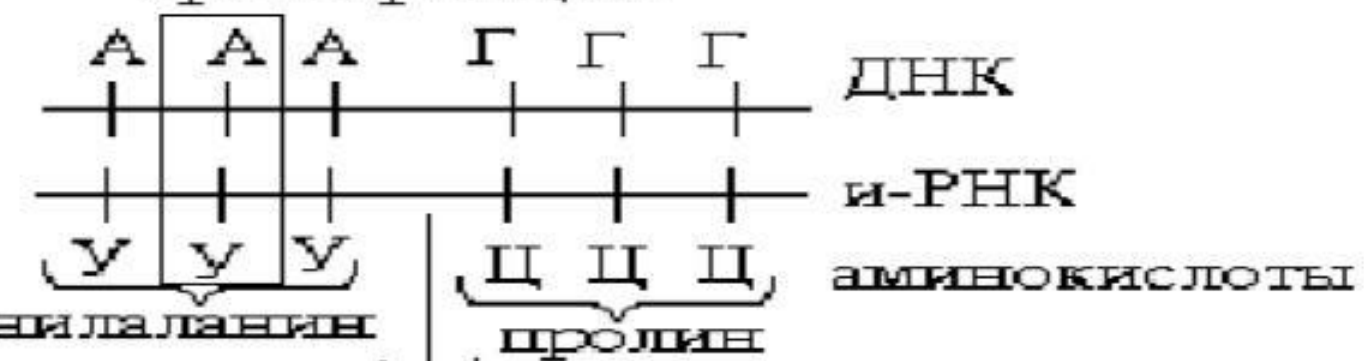
Мутации расположены в разных группах комплементации
Фенотип: дикий



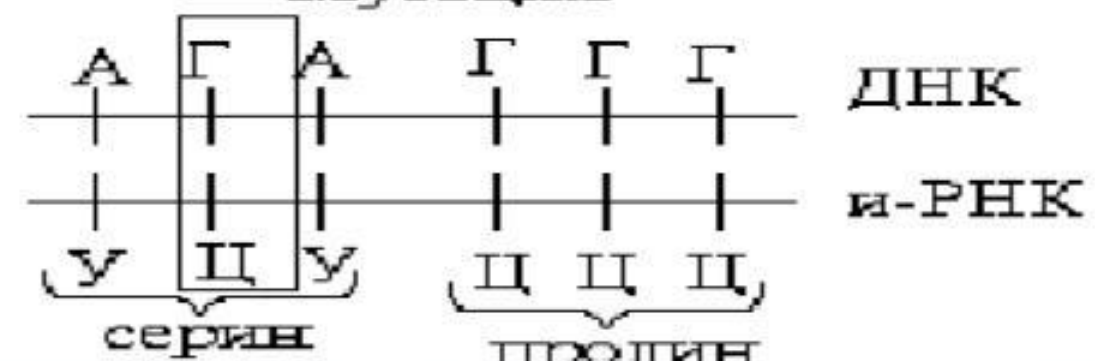
Механизм возникновения мутации внутри гена путем замены одного нуклеотида



Транскрипция



Мутация



Аллели

- это гены

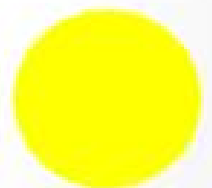
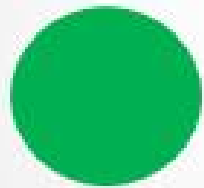
1. находящиеся в одинаковых местах гомологичных хромосом и
2. отвечающие за развитие разных проявлений одного признака.

Доминантный аллель, проявляется всегда, подавляет проявление других аллелей. Обозначается заглавной буквой.

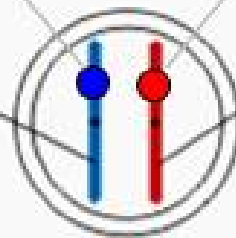
Рецессивный аллель, определяет подавляемый признак, проявляется только в отсутствии доминантного. Обозначается строчной буквой.

a, зеленый цвет семян

A, желтый цвет семян

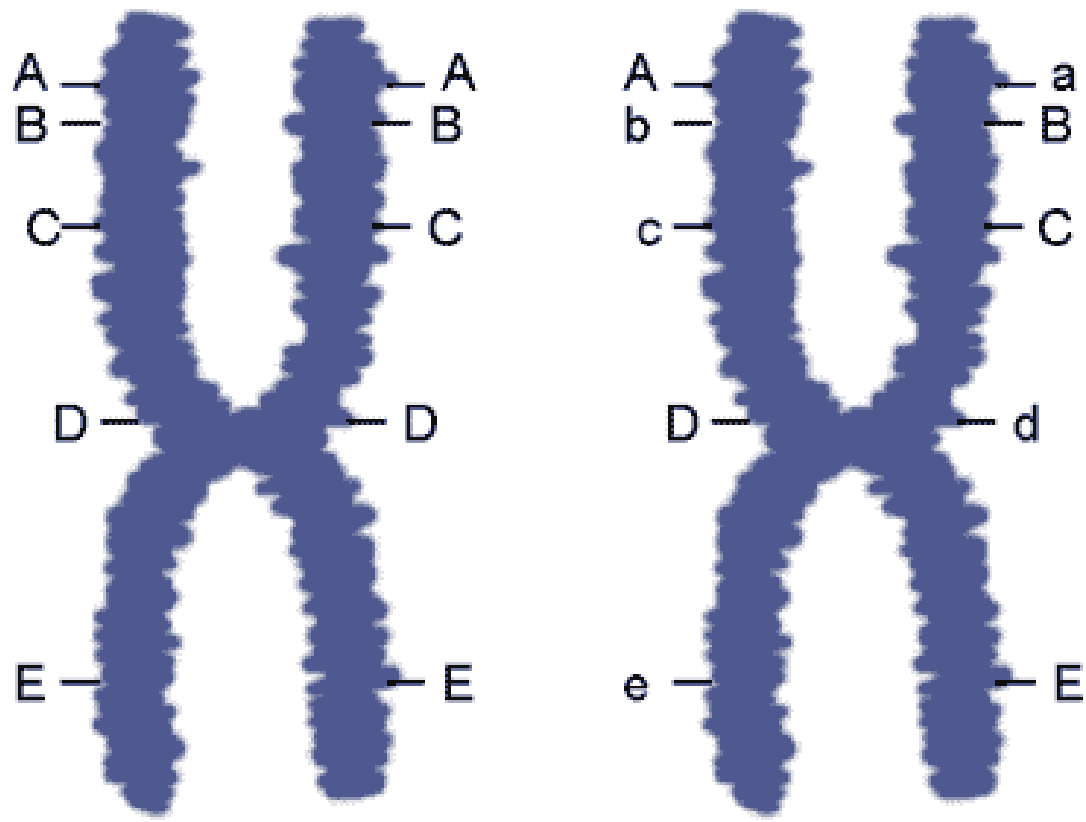


материнская
хромосома



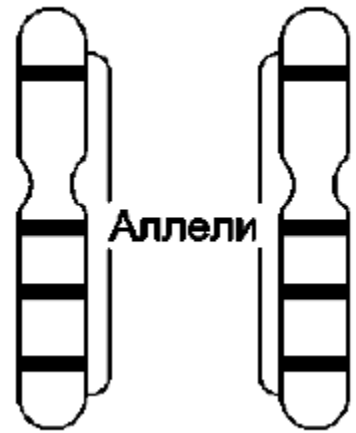
отцовская
хромосома

Гомологичные хромосомы



Белок

A ← ген A
 b ← ген b
 C ← ген C
 d ← ген d



Белок

ген A → A
 ген B → B
 ген C → C
 ген D → D

Множественный аллелизм

- Ген может мутировать неоднократно, в результате возникает несколько аллельных генов, определяющих многообразие вариантов признака.
- Возникновение серии аллельных генов - множественный аллелизм (аллеломорфизм)

Генетическая гетерогенность –
наличие в популяции разных аллелей
генов (множественный аллелизм)

Генетический полиморфизм – наличие
отдельных аллелей с частотой выше
1 %, т.е. с частотой заведомо более
высокой, чем частота спонтанных
мутаций



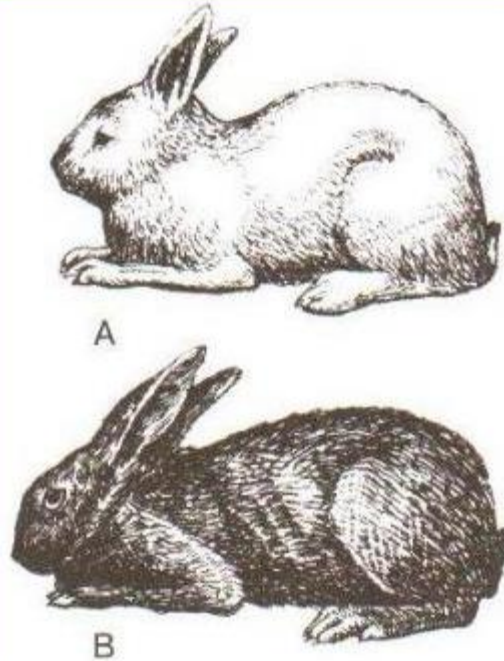
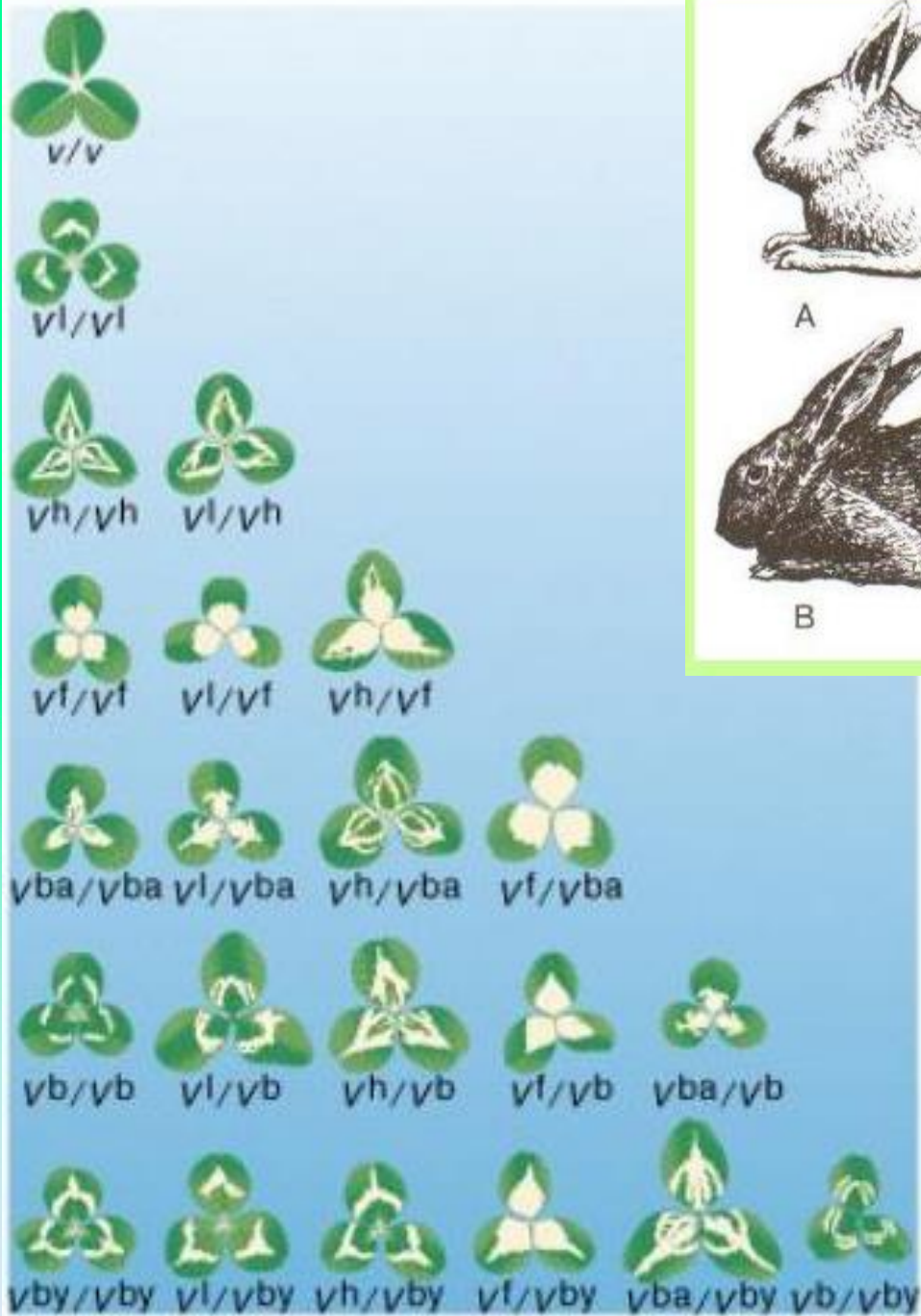
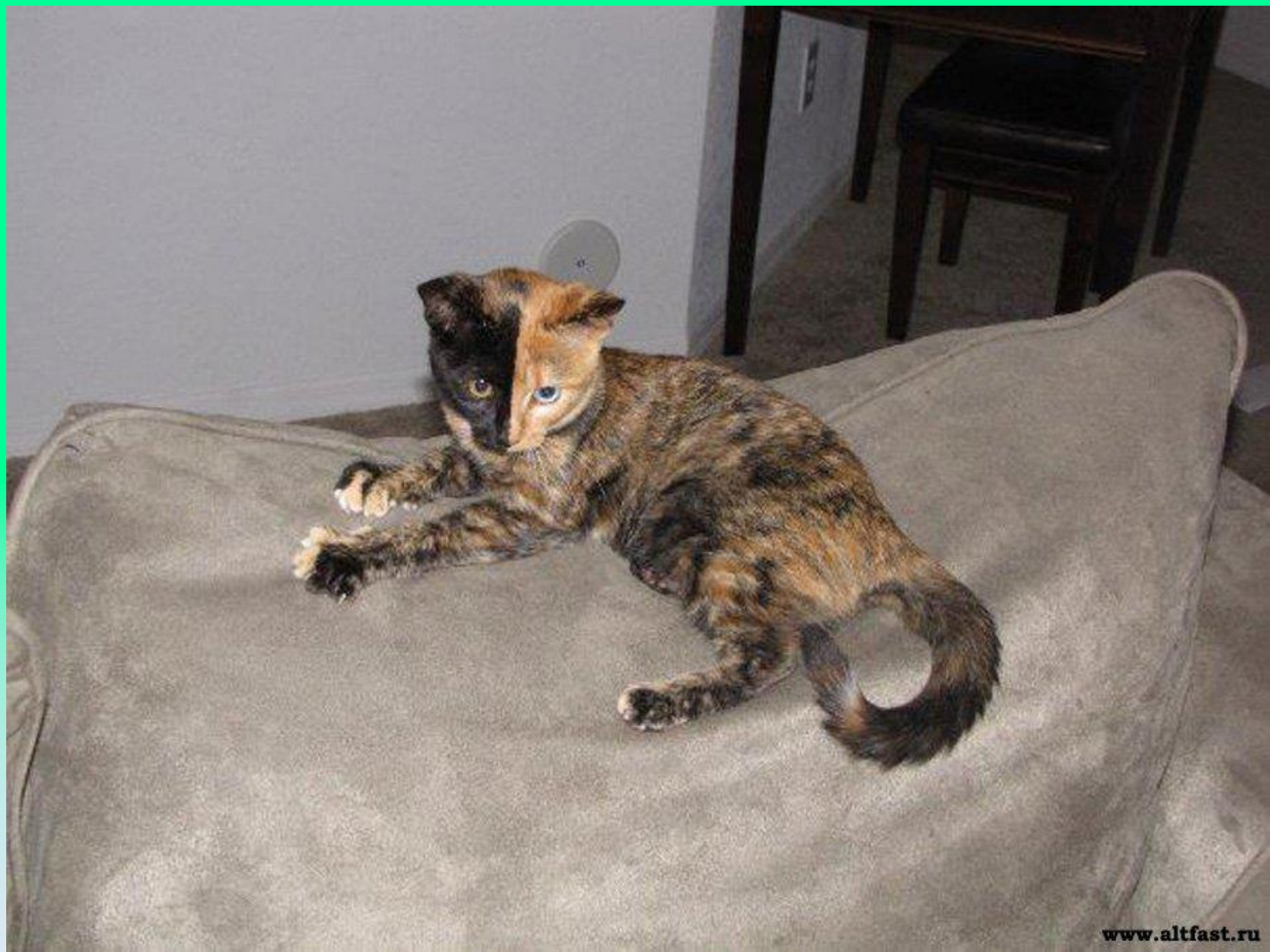


Рис. 9.2. Множественные аллели у кроликов:
 А — альбинос,
 Б — гималайский,
 В — кролик со сплошной (темной) окраской

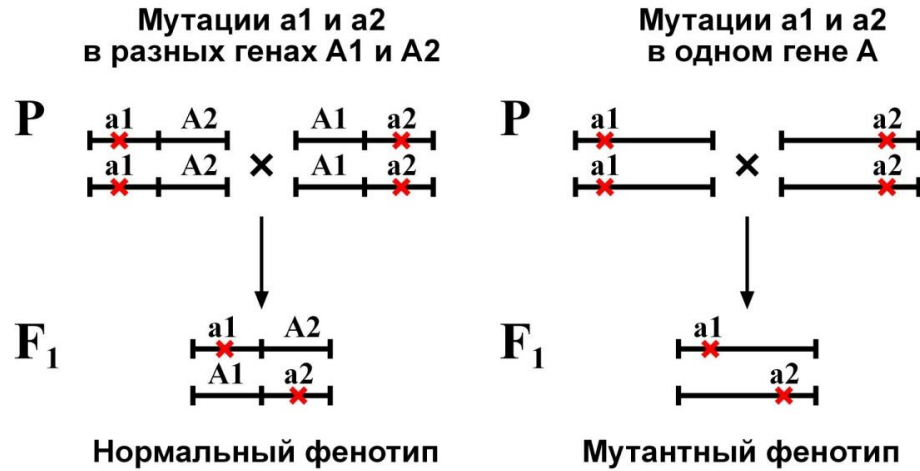
Почему у человека 4 группы крови

Фенотипы		Генотипы
I	O	$I^O I^O$ гомозигота
II	A	$I^A I^A$ гомозигота
		$I^A I^O$ гетерозигота
III	B	$I^B I^B$ гомозигота
		$I^B I^O$ гетерозигота
IV	AB	$I^A I^B$ гетерозигота

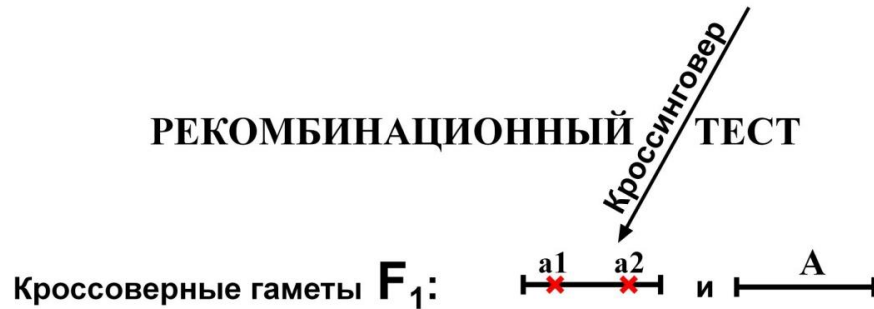


ТЕСТЫ НА АЛЛЕЛИЗМ, РАЗРАБОТАННЫЕ Т. МОРГАНОМ

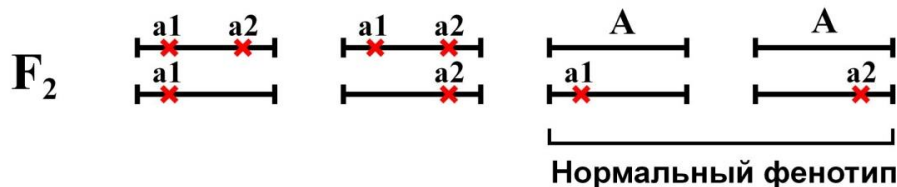
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ТЕСТ



РЕКОМБИНАЦИОННЫЙ ТЕСТ



Скрещивание особей **F₁** между собой.
Если произошел кроссинговер, в **F₂** появятся особи:



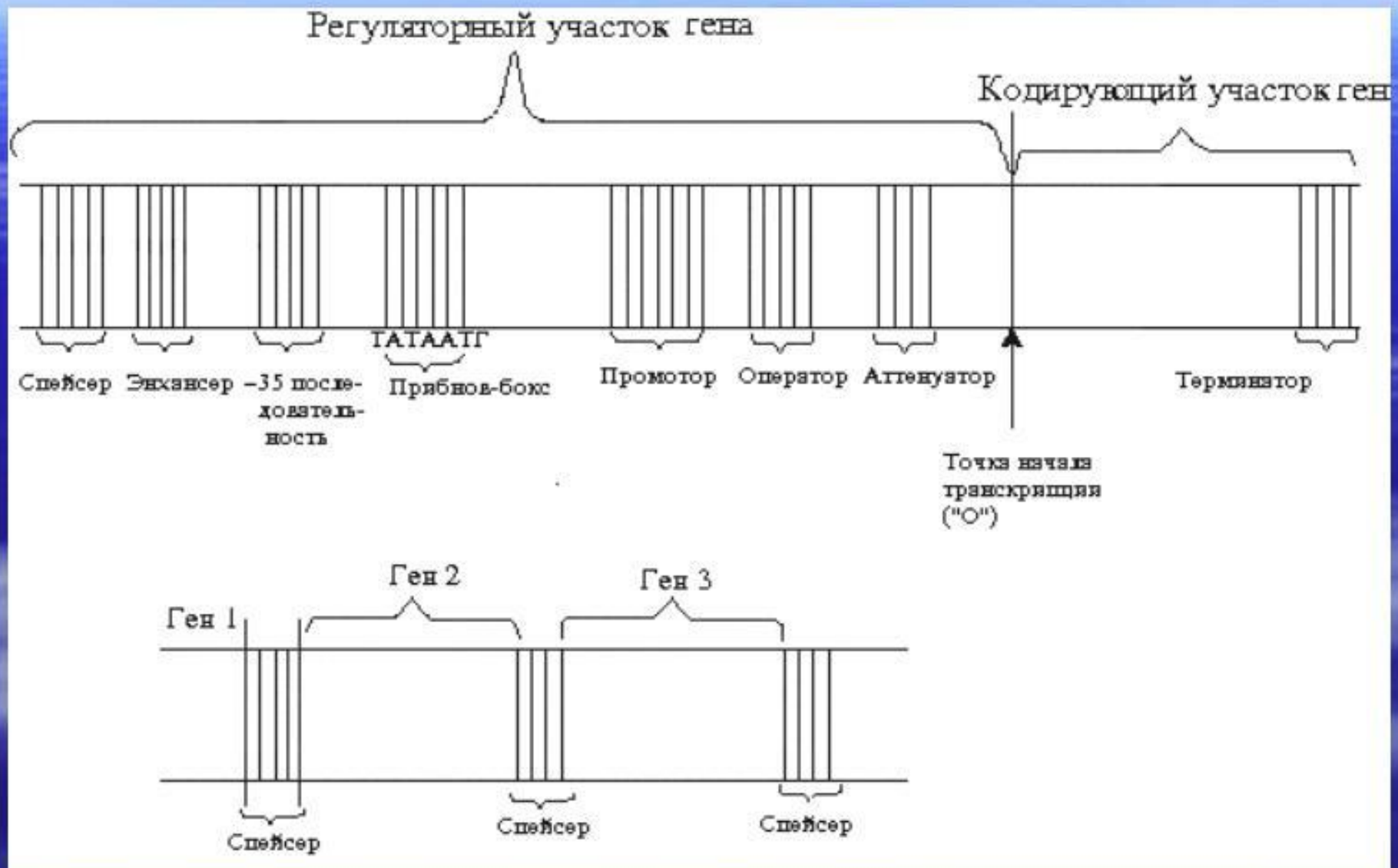
Строение гена

- Ген состоит из 2-х основных элементов:
- 1)регуляторной части (не транскрибируется)
- 2)собственно кодирующей части
- Точка начала транскрипции –сайт «О»
- Все п.н. левее от «О» - минус посл-ти
- Все п.н. правее от «О»- плюс посл-ти

Регуляторная часть гена

- Промотор – на 5' конце (инициация транскрипции)
- Оператор-сайт связи с белком-репрессором
- Эnhансеры-усиливают скорость транскрипции
- Сайленсеры-снижают скорость транскрипции
- Аттенуаторы-запускают или останавливают транскрипцию
- Спейсеры-некодирующие посл-ти
- Терминатор – на 3' конце (терминация транскрипции)

Молекулярная организация гена прокариот (схематически)



Промотор прокариот

- Промотор имеет 2 консервативные последовательности:
- 1) бокс Прибнова или -10 последовательность. Состоит из 6 или 7 пар оснований
- 2) -35 последовательность. Состоит из 9 нуклеотидов.

Консервативные последовательности

(b) Strong *E. coli* promoters

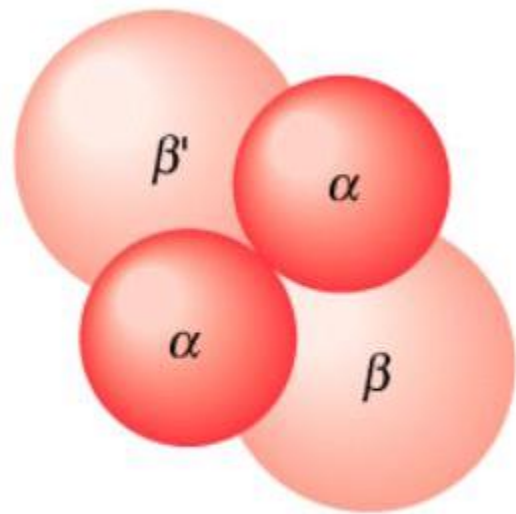
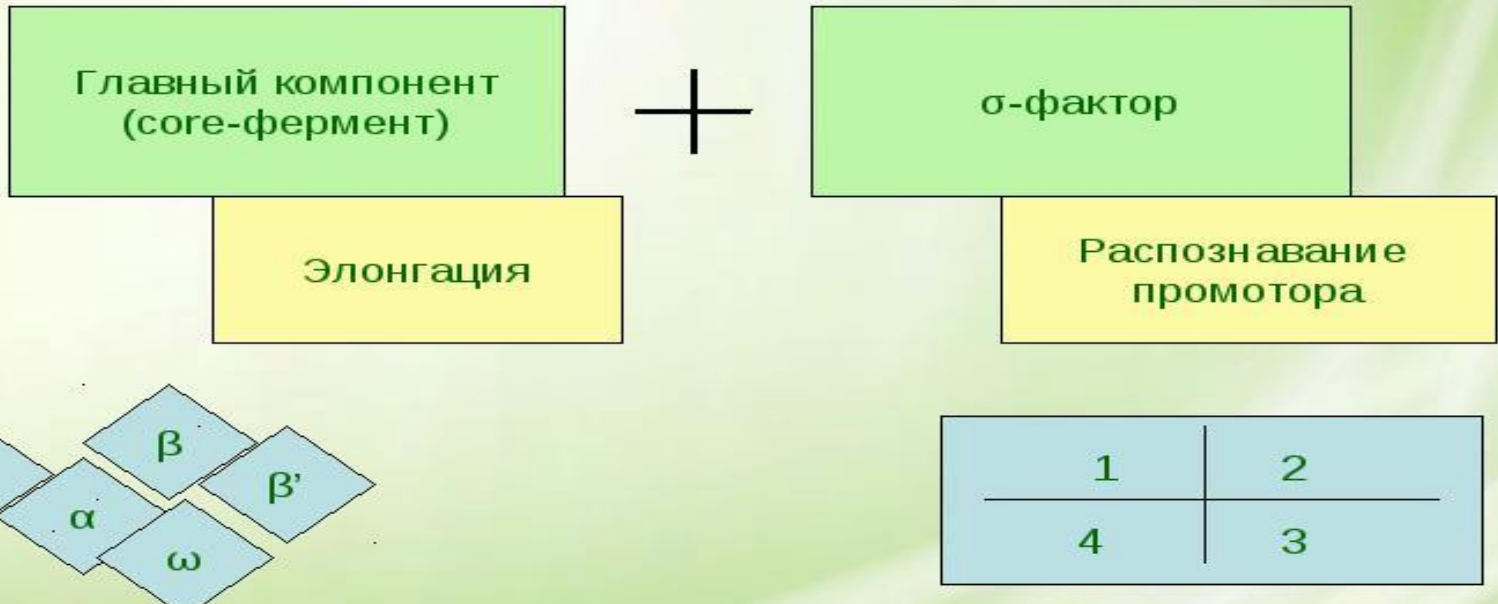
tyr tRNA	TCTCAACGTAACAC	TTTACAGCGGCG	CGTCATTTGATATGAT	GC•GCCCCG	GCTTCCCGATAAGGG
rrn D1	GATCAAAAAAATAC	TTGTGCAAAAAA	T TGGGATCCCTATAAT	GCGCCTCCG	TTGAGACGACAACG
rrn X1	ATGCATTTTTCCGC	TTGTCTTCCTGA	GCCGACTCCCTATAAT	GCGCCTCCA	TCGACACGGCGGAT
rrn (DXE) ₂	CCTGAAATTCAGGG	TTGACTCTGAAA	GAGGAAAGCGTAATAT	AC•GCCACC	TCGCGACAGTGAGC
rrn E1	CTGCAATTTTTCTA	TTGCGGCCCTGCG	GAGAACTCCCTATAAT	GCGCCTCCA	TCGACACGGCGGAT
rrn A1	TTTTAAATTTCTC	TTGTCAAGGCCGG	AATAACTCCCTATAAT	GCGCCACCA	ACTGACACGGAACAA
rrn A2	GCAAAAAATAAATGC	TTGACTCTGTAG	CGGGAAGGCGTATTAT	GC•ACACC	CGCGCCGCTGAGAA
λ P _R	TAACACCGTGCGTG	TTGACTATTTTA	CCTCTGGCGGTTGATAAT	GG••TTGCA	TGTACTAAGGAGGT
λ P _L	TATCTCTGGCGGTG	TTGACATAAATA	CCACTGGCGGTTGATACT	GA••GCACA	TCAGCAGGACGCAC
T7 A3	GTGAAACAAAACGG	TTGACAACATGA	AGTAAACACGGTACGAT	GT•ACCACA	TGAAACGACAGTGA
T7 A1	TATCAAAAAGAGTAT	TTGACTTAAAGT	CTAACCTATAGGATACT	TA•CAGCCA	TCGAGAGGGACACG
T7 A2	ACGAAAAACAGGTA	TTGACAACATGAAG	TAAACATGCAGTAAGAT	AC•AAATCG	CTAGGTAACACTAG
fd VIII	GATACAAATCTCCG	TTGTACTTTTGT	TCGCGCTTGGTATAAT	CG•CTGGG	GTCAAAGATGAGTG

-35
-10
+1
→

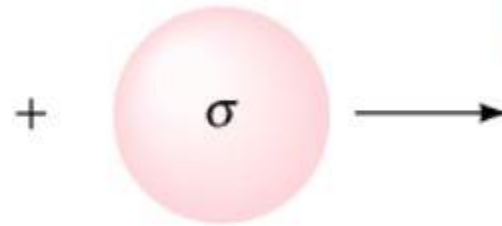
(c) Consensus sequences for all *E. coli* promoters



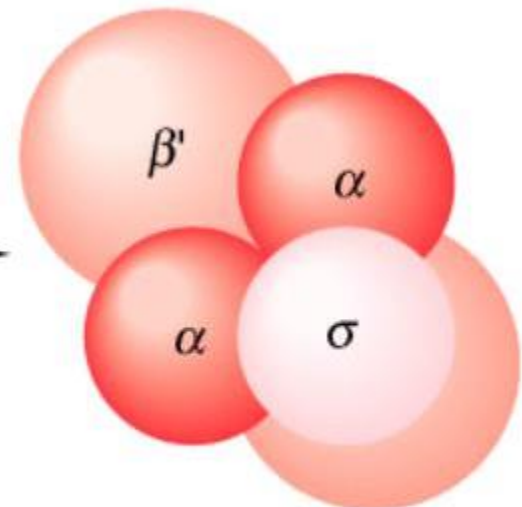
РНК-полимераза



Core enzyme



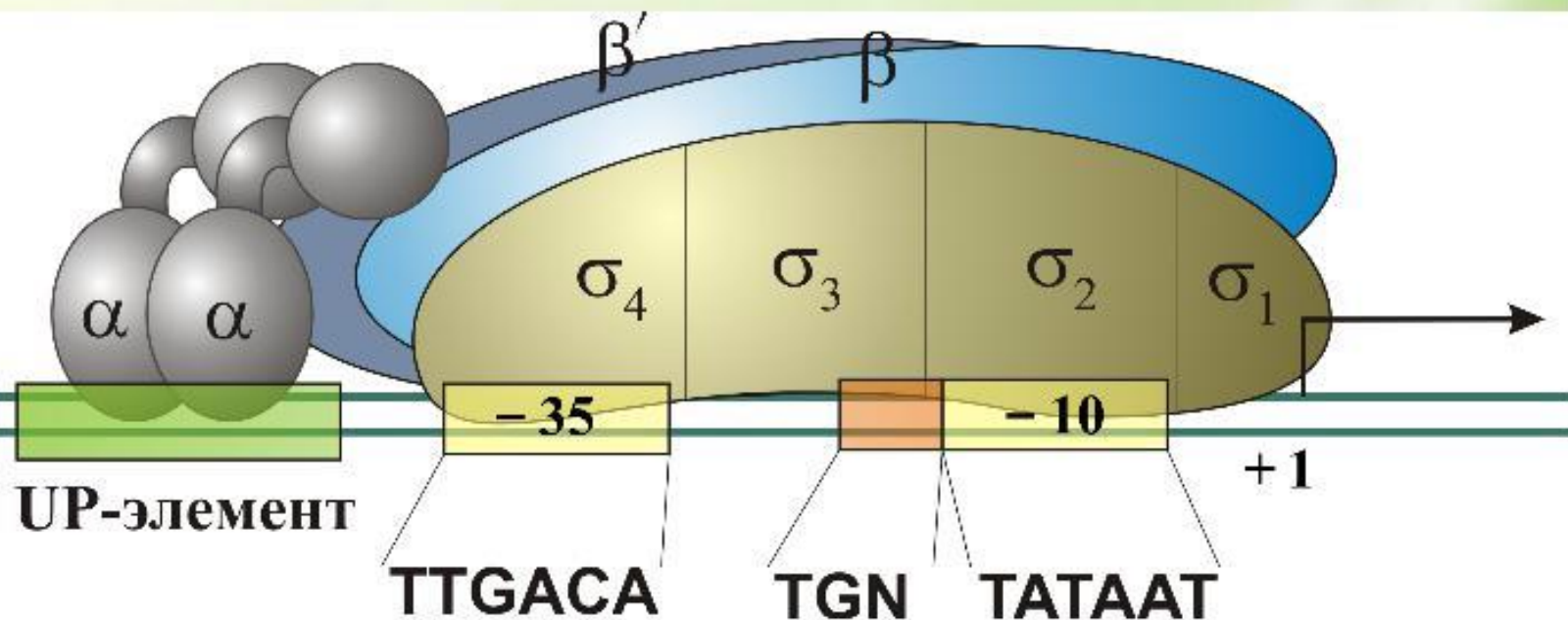
Sigma factor



Holoenzyme

Субъединицы β и β'

- формируют активный центр фермента
- Связываются:
 - с матричной цепью ДНК
 - с новосинтезированной РНК

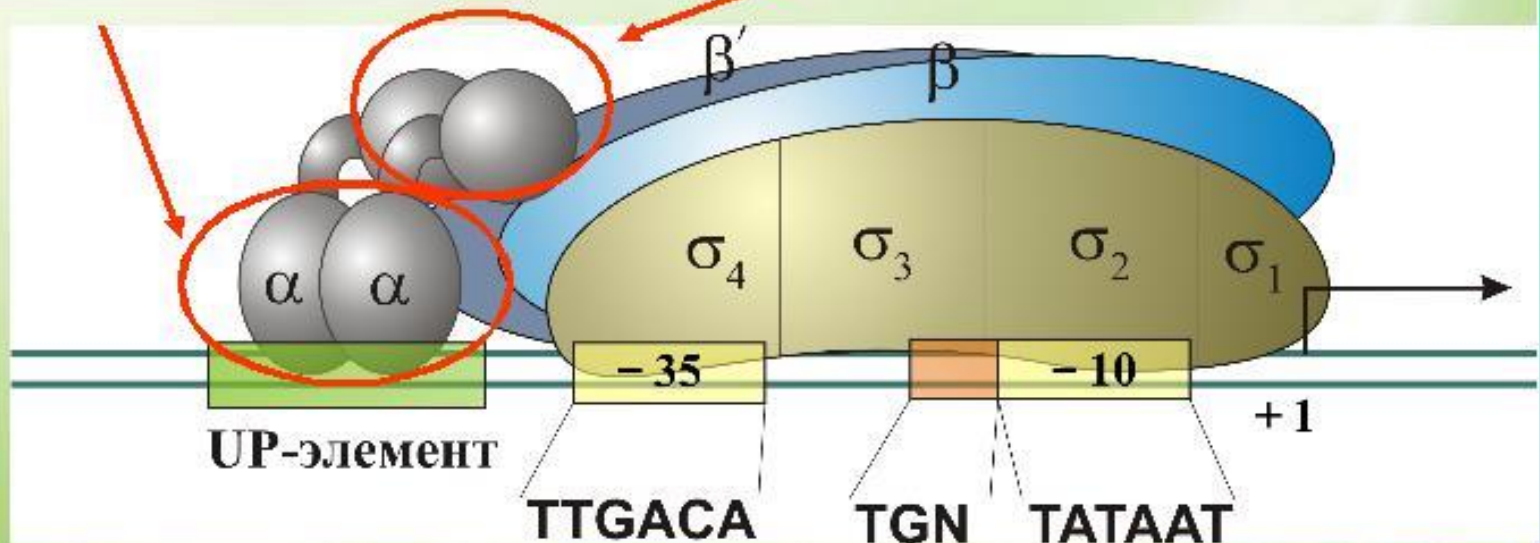


Субъединицы α

- 2 домена и линкерная область (ок. 20 ак)

С-концевые домены:
-связывание с ДНК
-взаимодействие с факторами

Н-концевые домены:
-димеризация α
-связывание с β β'



σ -фактор

- распознавание промоторной последовательности
- привлечение на промотор главного элемента РНК-полимеразы
- расплетание дуплекса ДНК в области старта транскрипции.

Мультидоменный белок:

1

2

3

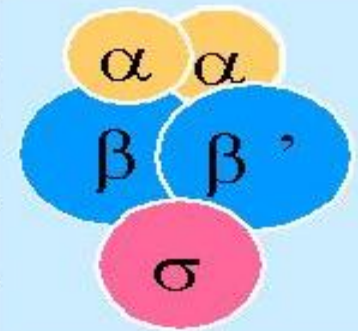
4

?

распознавание промотора

- Основной σ -фактор ($\sigma 70$)
- Альтернативные σ -факторы

субъединица	Мол. масса	Количество	Локализация	Функция
альфа	40.000	2	РНК полимераза	Сборка фермента
бета	155.000	1	РНК полимераза	Связывание нуклеотидов
бета'	160.000	1	РНК полимераза	Связывание с матрицей
сигма	32-92.000	1	сигма фактор	Связывание с промотором

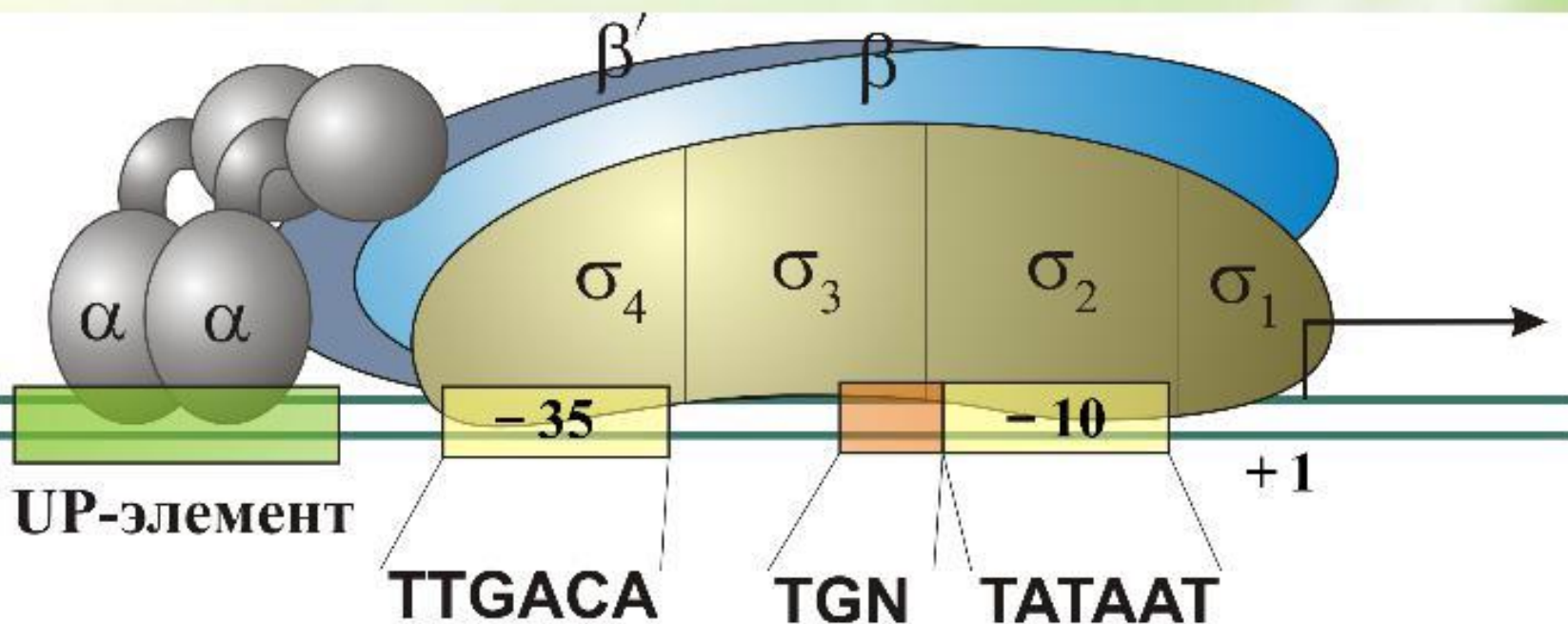


E.coli имеет несколько сигма факторов , специфичных для различных ситуаций, которые распознают промоторы разных групп генов

ситуация	Мол. Масса сигма фактора	«-35» последовательность	спейсер	«-10» последовательность
общая	70.000	TTGACA	16-18 п.о.	TATAAT
тепловой шок	32.000	CCCTGAA	13-15 п.о.	CCCGATNT
отсутствие азота	54.000	CTGGNA	6 п.о.	TTGCA
хемотаксис	28.000	CTAAA	15 п.о.	GCCGATAA

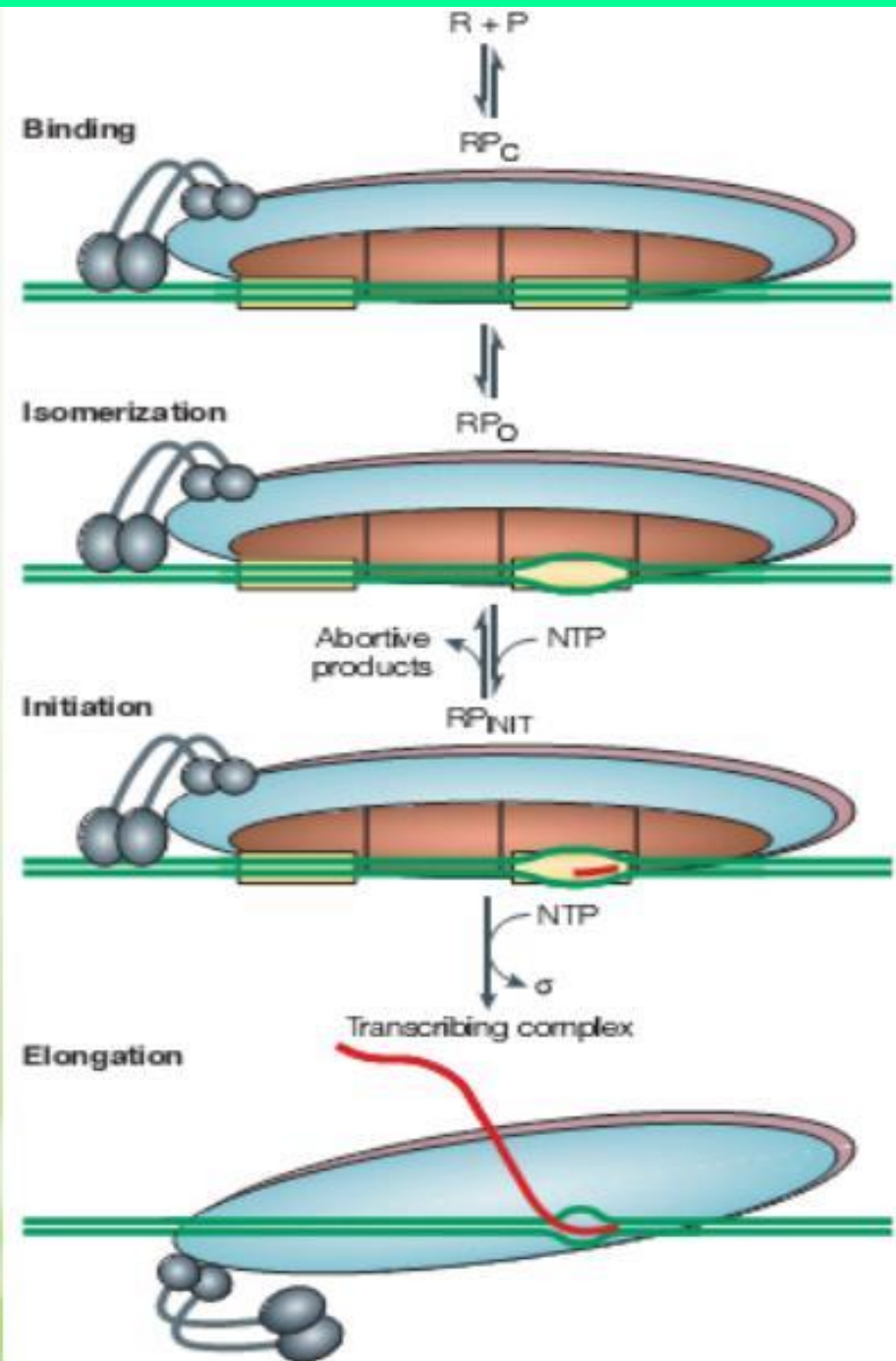
Последовательность промотора

UP-элемент	последовательно сть -35	удлиненный -10 сайт	последовательно сть -10
-	TTGACA	TGN	TATAAT
С-концевой домен α -субъединиц	домен 4 σ -фактора	домен 3 σ -фактора	домен 2 σ -фактора



Этапы транскрипции

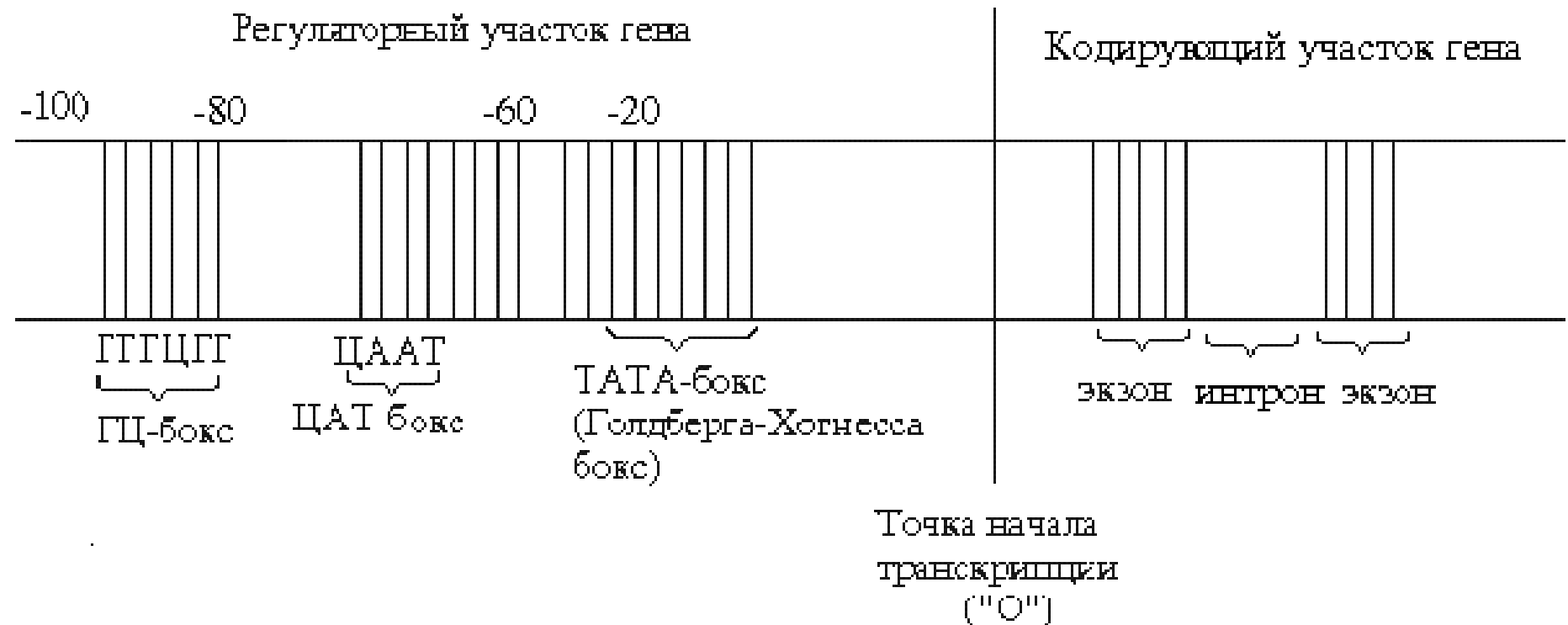
- ДНК (2ая спираль) + σ -фактор + главный компонент РНК-полимеразы = закрытый промоторный комплекс
- Расплетание ДНК – открытый промоторный комплекс
- Инициация транскрипции – образование первых звеньев цепи РНК
- От РНК-полимеразы отделяется σ -фактор
- Элонгация



Промотор эукариот

- 1.Голдберга-Хогнесса бокс или ТАТА-бокс (наименее активный, соединяется через транскрипционные факторы с РНК-П)
- 2.ЦААТ бокс или ЦАТ бокс
- 3.ГЦ бокс или последовательность ГГГЦГГ (два последних влияют на эффективность транскрипции)

Структурная организация гена эукариот



РНК-полимераза II

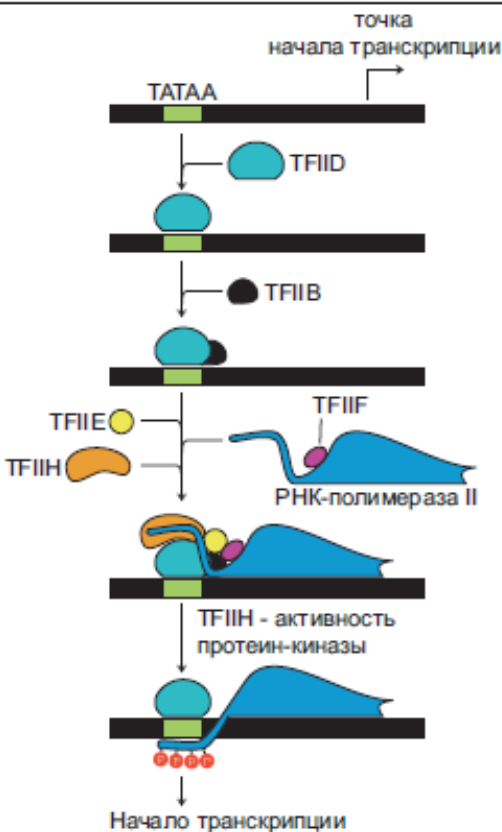


Рис. 7.39. Белковый состав регуляторных зон генов эукариот. Образование комплекса из РНК-полимеразы II и общих факторов транскрипции (TFIID, TFIIIB, F, E, и H). В присутствии АТФ TFIIH фосфорилирует РНК-полимеразу II. Фосфорилирование происходит в зоне длинного полипептидного "хвоста", в результате чего молекула полимеразы изменяет конформацию, становится готовой к транскрипции и освобождается от всех факторов транскрипции, кроме TFIID (Из: Alberts et al., 1994, p. 421)

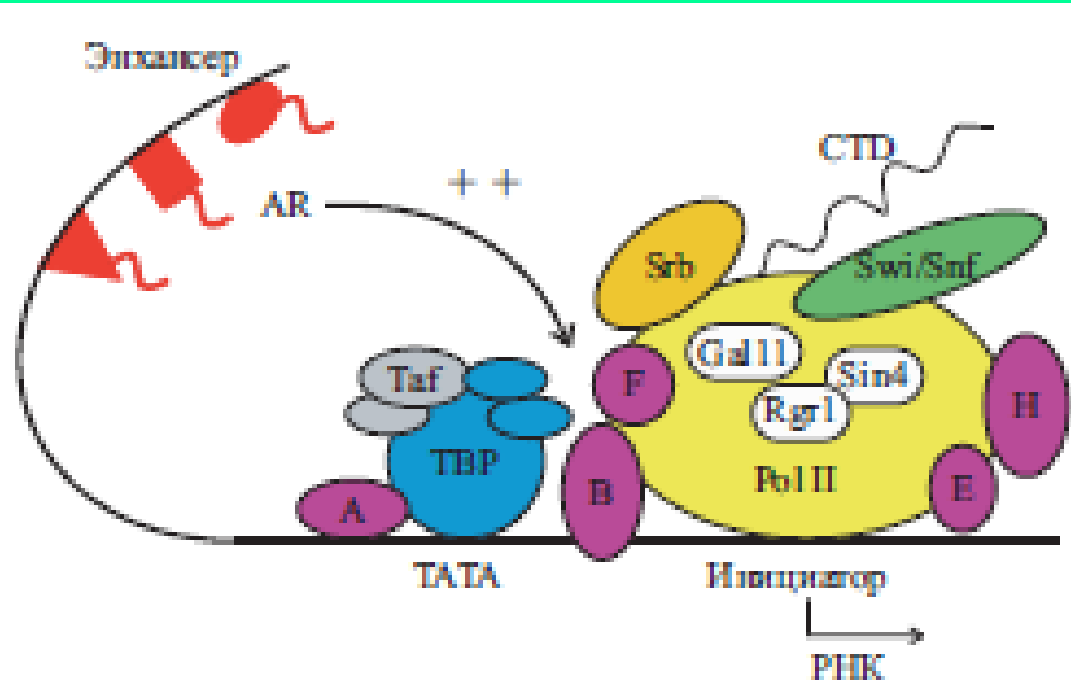


Рис. 7.40. Белки в типичном промоторе эукариот (Из: Struhl, 1996)

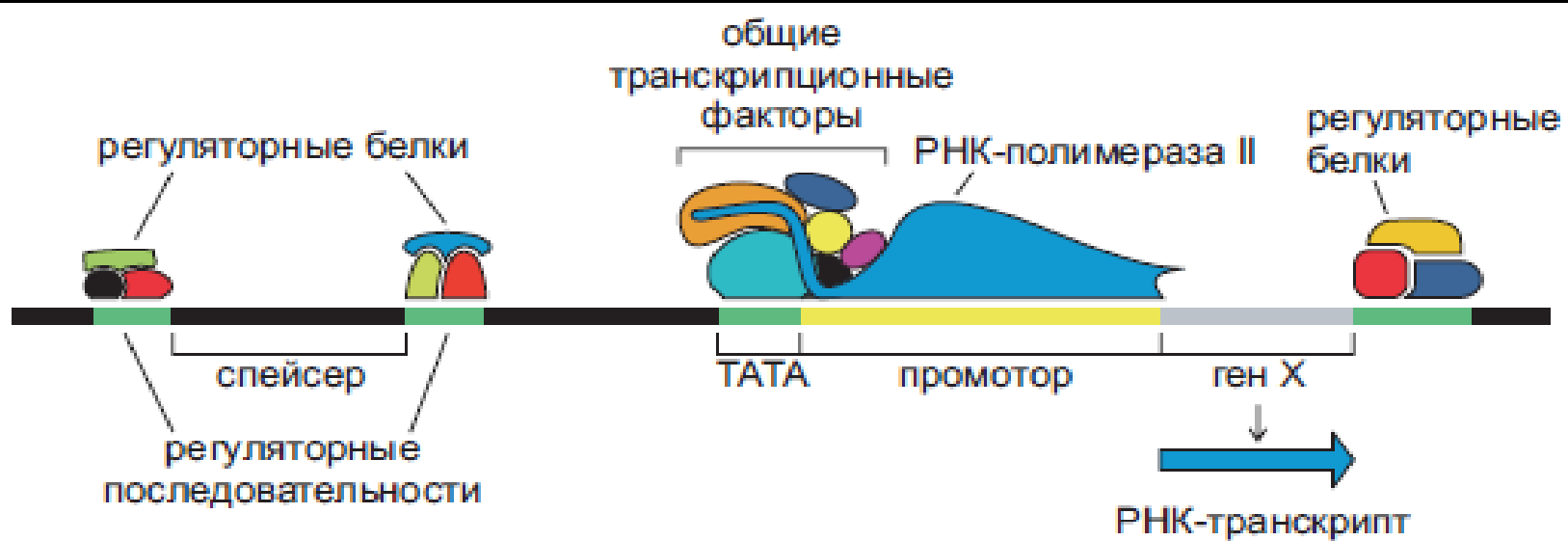


Рис. 41. Схема организации контролирующего района типичного гена эукариот, состоящего из регуляторных последовательностей и промотора

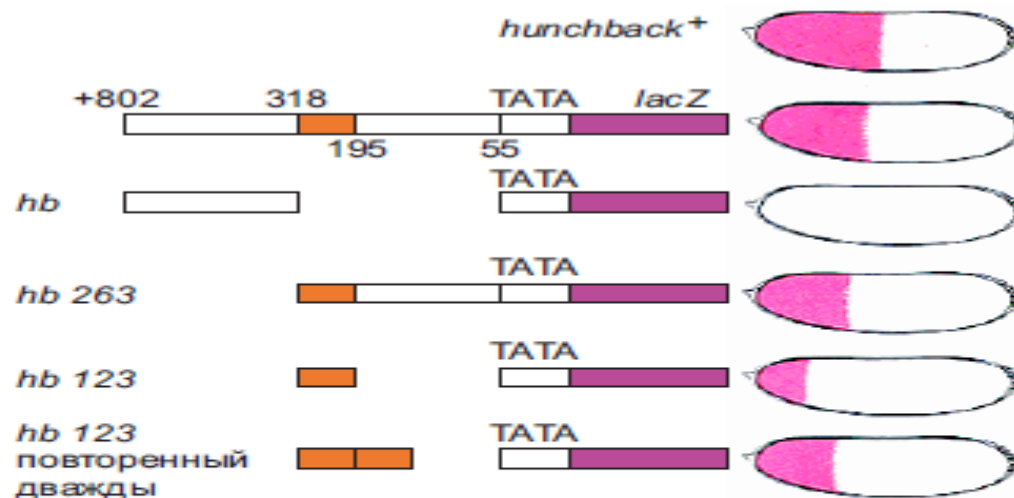


Рис. 7.47. Локализация регуляторной зоны гена *hunchback* с помощью гена-репортера *lacZ*. (Из: Lawrence, 1992, стр. 53). В верхней строке красным цветом показано распределение продукта гена *hunchback*⁺ в передней части эмбриона. Строки 2-6 показывают, как изменяется распределение продукта гена *lacZ* при удалении той или иной части регуляторной зоны. Цифры +805, 318, 195, 55 обозначают порядковый номер нуклеотида, считая нулевым первый нуклеотид гена *lacZ*

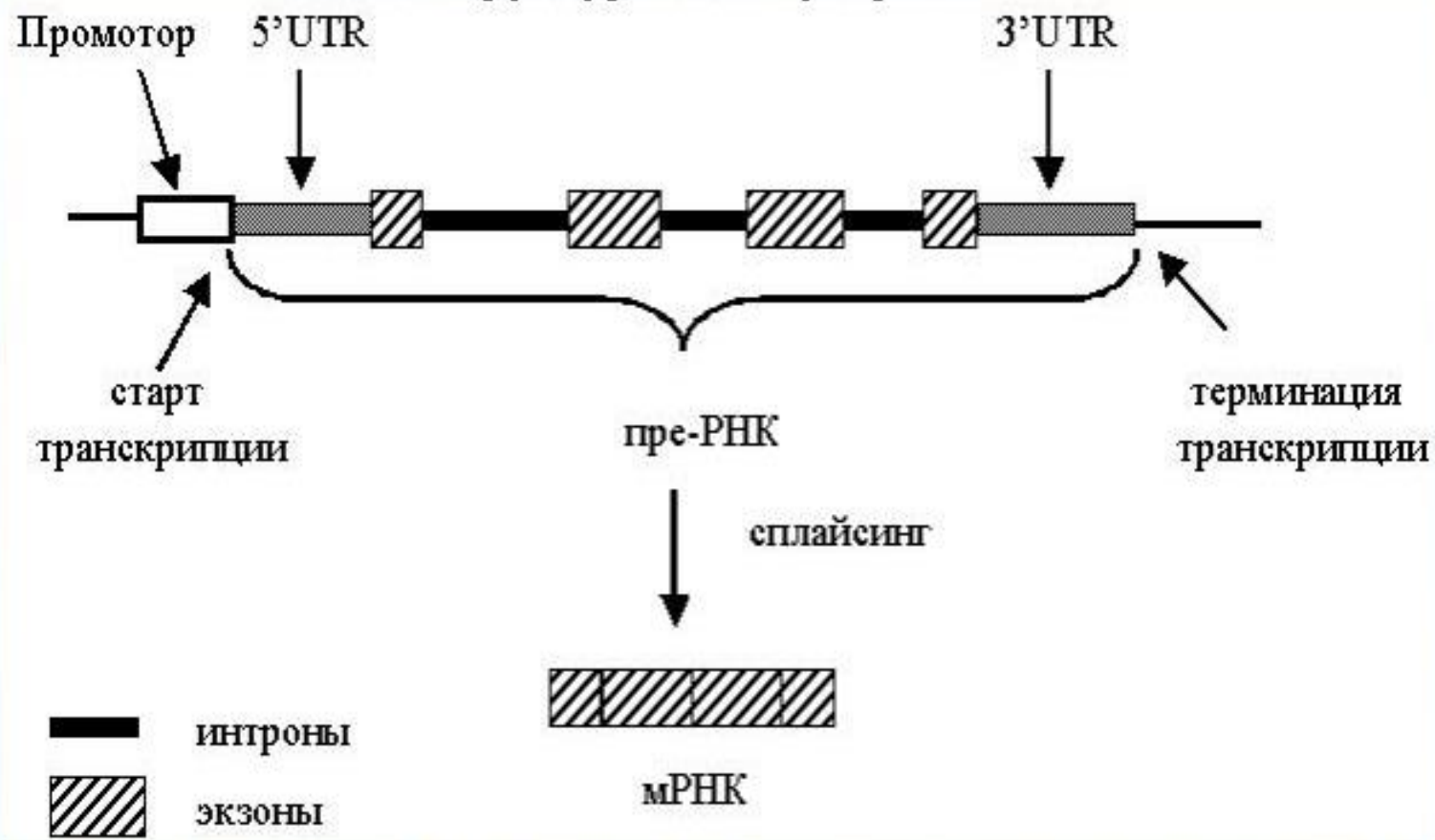
Кодирующая часть гена

- 1. нетранслируемая 5' последовательность
- 2. кодирующая последовательность (состоит из кодонов)
- 3. нетранслируемая 3' последовательность

- Кодирующая часть гена у прокариот:
- Только экзоны

- Кодирующая часть гена у эукариот:
- Экзоны и интроны

Общая структура гена эукариот



Строение генов эукариот, в отличие от прокариот, характеризуется наличием экзон-интронной структуры. В состав первичного транскрипта – пре-мРНК входят как экзоны, так и интроны (некодирующие районы). В процессе сплайсинга интроны вырезаются из пре-мРНК. Оставшиеся же части – экзоны – объединяются в зрелую матричную РНК (мРНК), которая может транслироваться в белок.

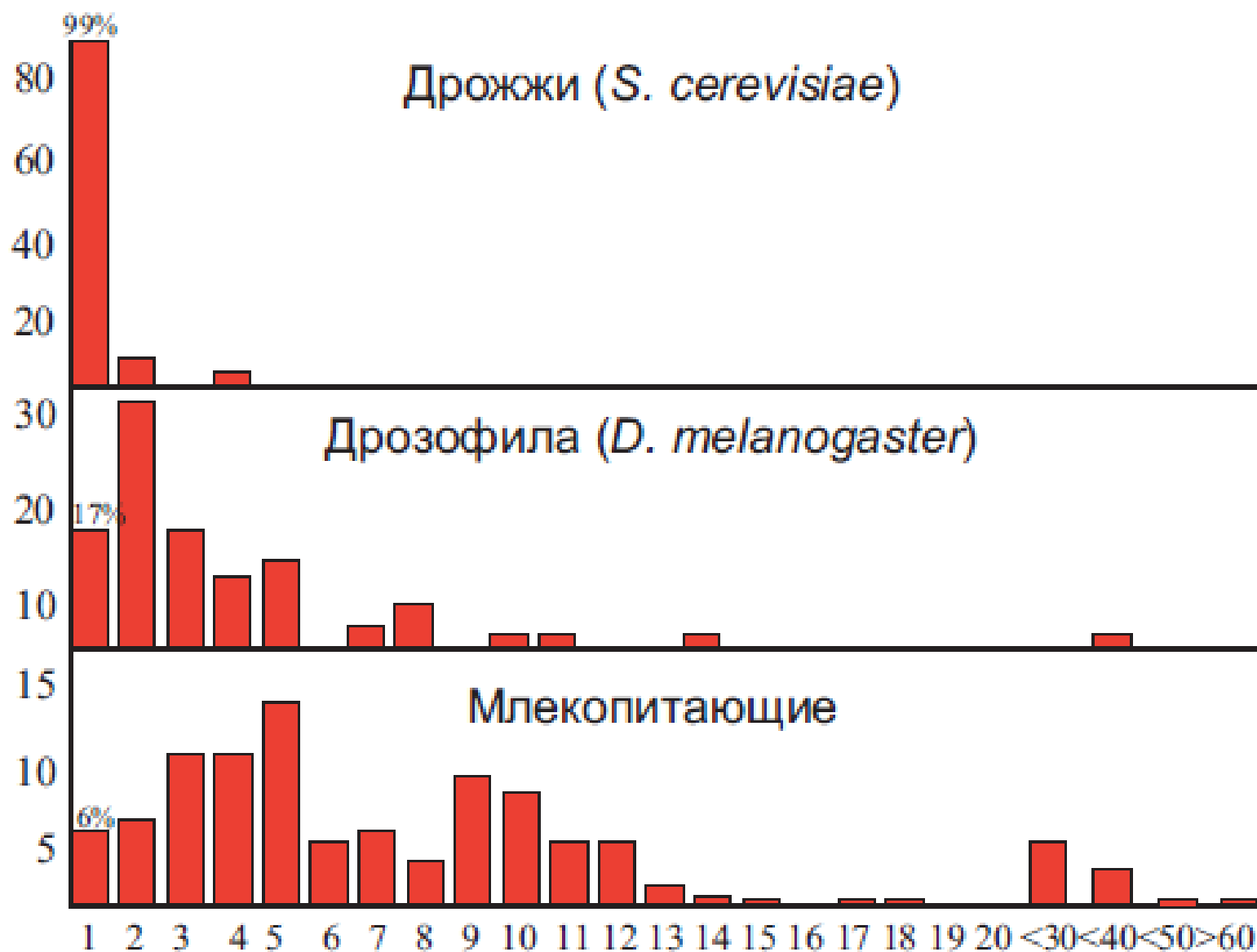
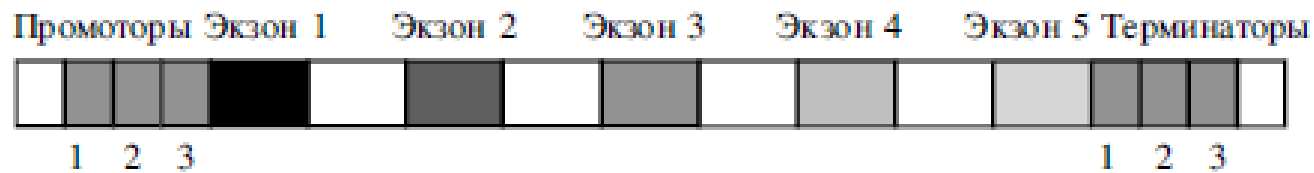
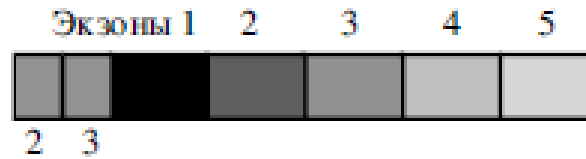


Рис. 7.53. Распределение частот генов имеющих различные числа экзонов (Из: Lewin, 1994, р. 684). Ось абсцисс: число экзонов в одном гене. Ось ординат: частота встречаемости таких генов (%)



Использование альтернативных промоторов



Промоторы



Использование альтернативных терминаторов



Терминаторы

Альтернативный сплайсинг



Терминатор

2

Рис. 7.57. Схема возможных вариантов альтернативного сплайсинга (Из: Lewin, 1994, р. 688)

Перекрываваемость гена

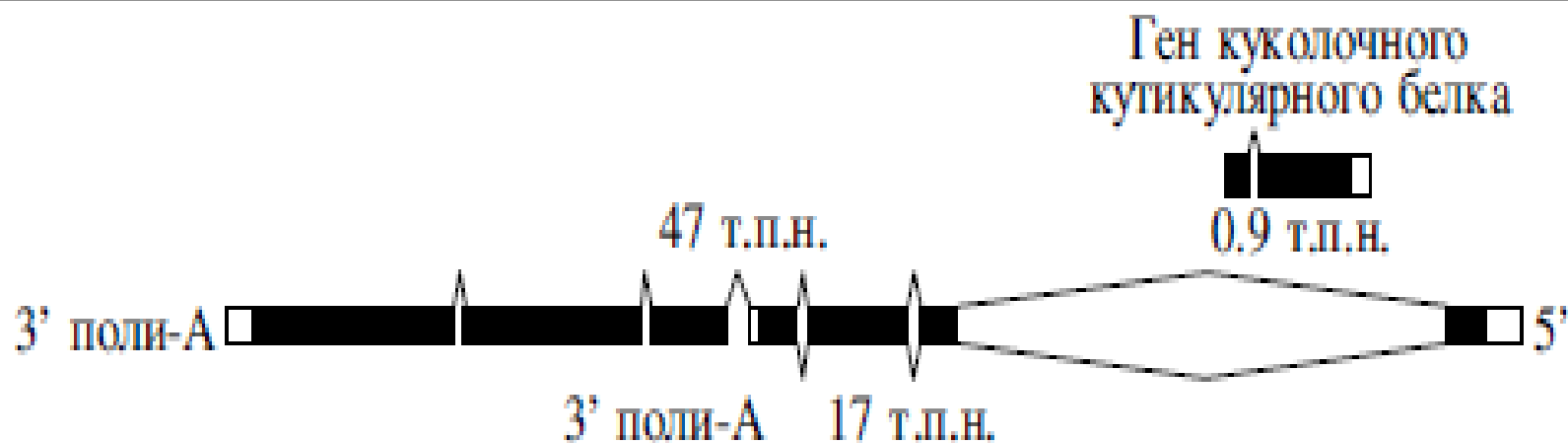
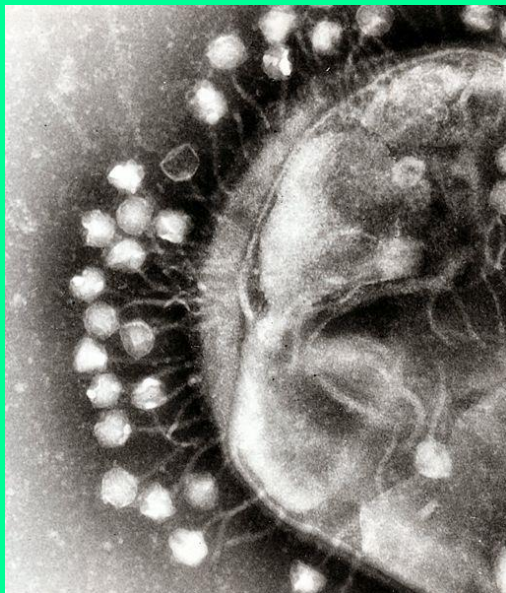
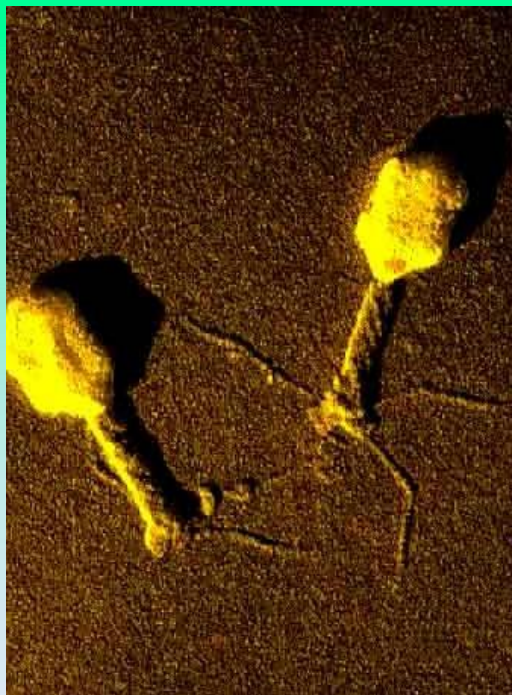
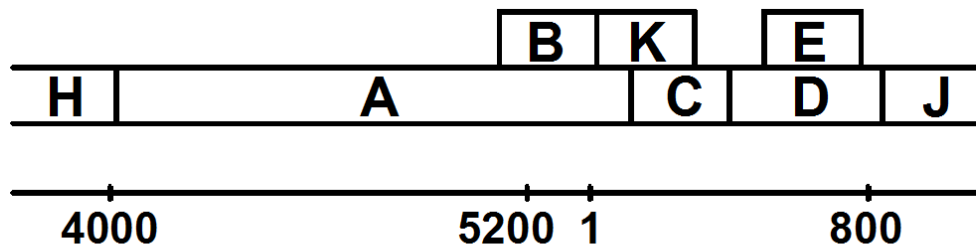


Рис. 7.61. Экзон-интронная карта гена *Gart* и расположенного в его интроне гена кукольного кутикулярного белка дрозофилы (Из: Жимулев, 1994, стр. 147)



Участок хромосомы ~2000 н. бактериофага
ФХ174 в районе гена А. Геном ФХ174
имеет размер 5386 н.



Конец гена А

5' - АТГА - 3'

Начало гена С

Конец гена Е

Начало гена J

5' - GAAGGAGTGATGТААТGTСТААА - 3'

Конец гена D

GTTTATGGTACG

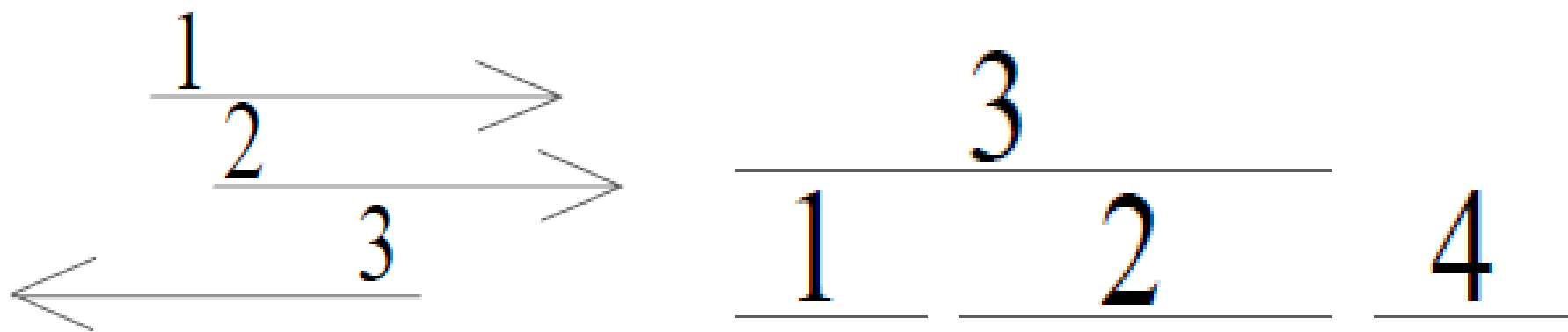


Табл. 7.2. Соотношение длины гена и матричной РНК в зависимости от числа экзонов (Из: Lewin, 1994, p. 687)

Виды	Среднее число экзонов	Средняя длина гена (т.п.н.)	Средняя длина мРНК (т.п.н.)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	1.6	1.6
Грибы	3	1.5	1.5
<i>Caenorhabditis elegans</i>	4	4.0	3.0
<i>Drosophila melanogaster</i>	4	11.3	2.7
Куры	9	13.9	2.4
Млекопитающие	7	16.6	2.2

Благодарю за внимание