

Регуляция действия генов прокариот

Организация геномов прокариот.
Системная регуляция действия генов у
бактерий, роль циклического АМФ.
Оперонные системы регуляции генов у
бактерий. Принципы негативного и
позитивного контроля действия генов.
Генетический анализ лактозного и
триптофанового оперонов.

Бактерии (эубактерии (Eubacteria), др.-греч. βακτήριον — палочка) — надцарство прокариотных (безъядерных) микроорганизмов, чаще всего одноклеточных.



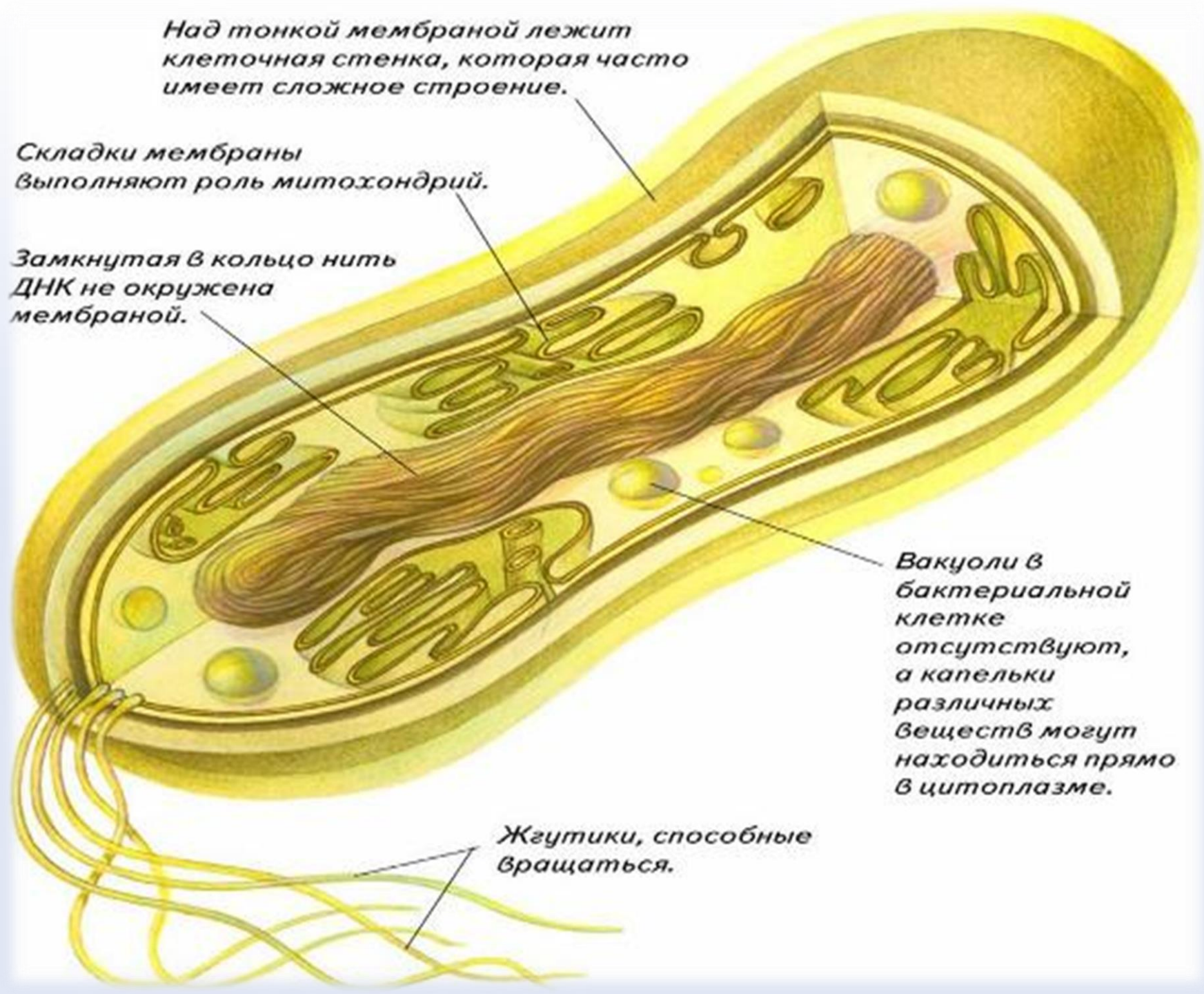
Над тонкой мембраной лежит
клеточная стенка, которая часто
имеет сложное строение.

Складки мембраны
выполняют роль митохондрий.

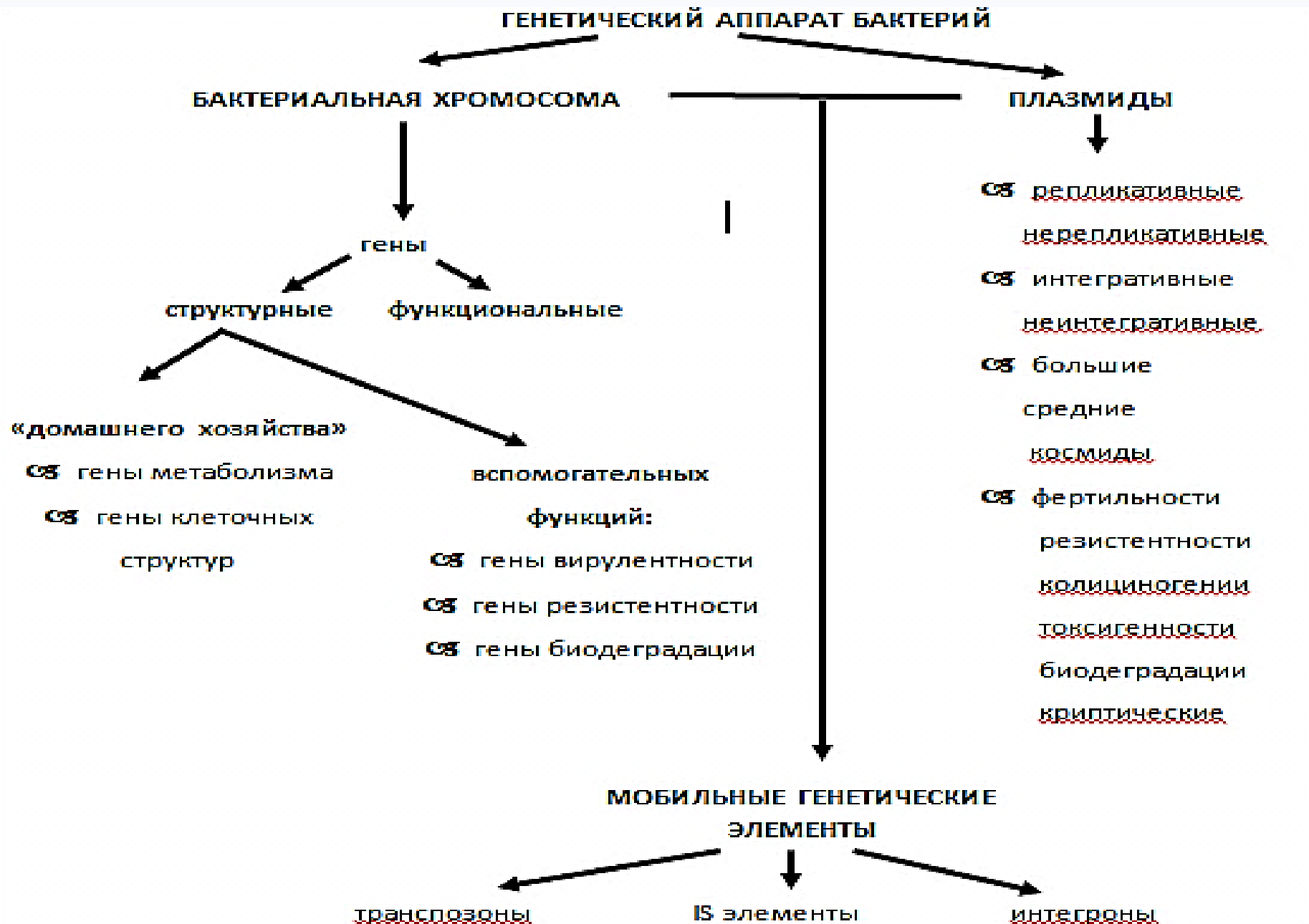
Замкнутая в кольцо нить
ДНК не окружена
мембраной.

Вакуоли в
бактериальной
клетке
отсутствуют,
а капельки
различных
веществ могут
находиться прямо
в цитоплазме.

Жгутики, способные
вращаться.



ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА БАКТЕРИЙ.

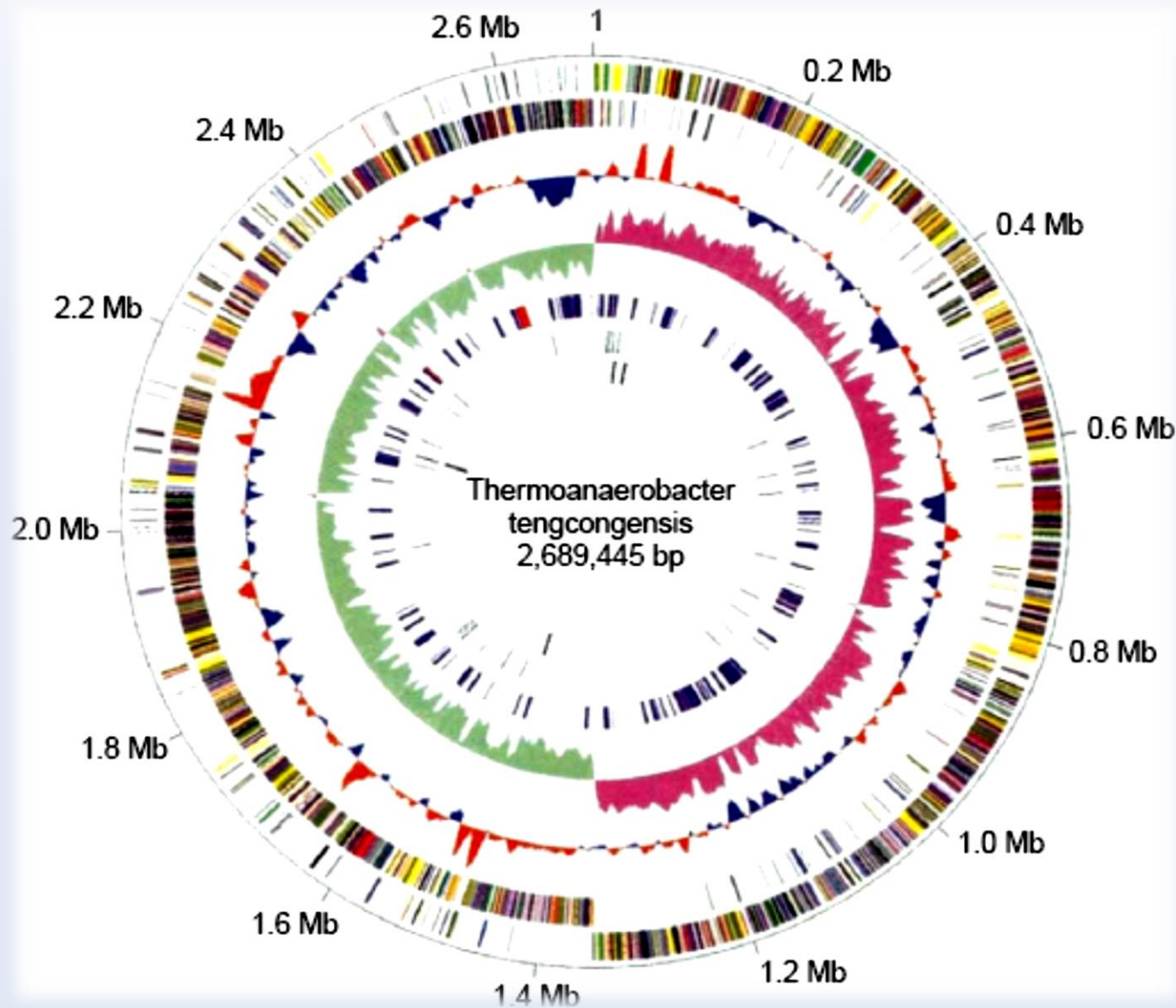


1. Гены «домашнего хозяйства»:

а) гены, отвечающие за биохимические процессы в клетке (метаболизм аминокислот, углеводов, энергии, липидов, ко-факторов и витаминов, сложных углеводов и липидов, нуклеотидов);

б) гены, отвечающие за биологические процессы клетки (подвижность клеток, обработку информации из внешней среды, транспорт веществ через мембраны, сигнальную трансдукцию, обработку генетической информации, репликацию и репарацию, развитие и деградацию, транскрипцию, трансляцию).

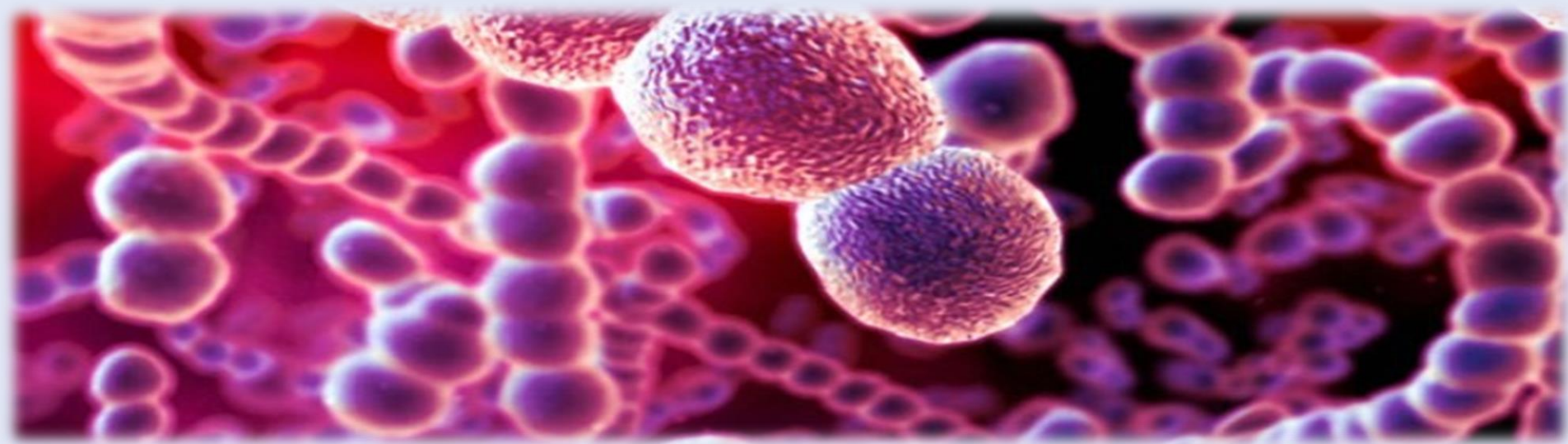
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ КАРТА ГЕНОМА БАКТЕРИИ



- **«гены домашнего хозяйства»** - **конститутивные** – постоянно включены: они функционируют постоянно.
- **«гены роскоши»** - **индуцибельные** - функционируют в определенных условиях, они могут включаться (индукция) и выключаться (репрессия).

2. Гены добавочных/вспомогательных функций:

- а) вирулентности;
- б) устойчивости к антибиотикам;
- в) деградации редких субстратов (углеводородов нефти, пластфикаторов, хлорфенолов и т.д.).



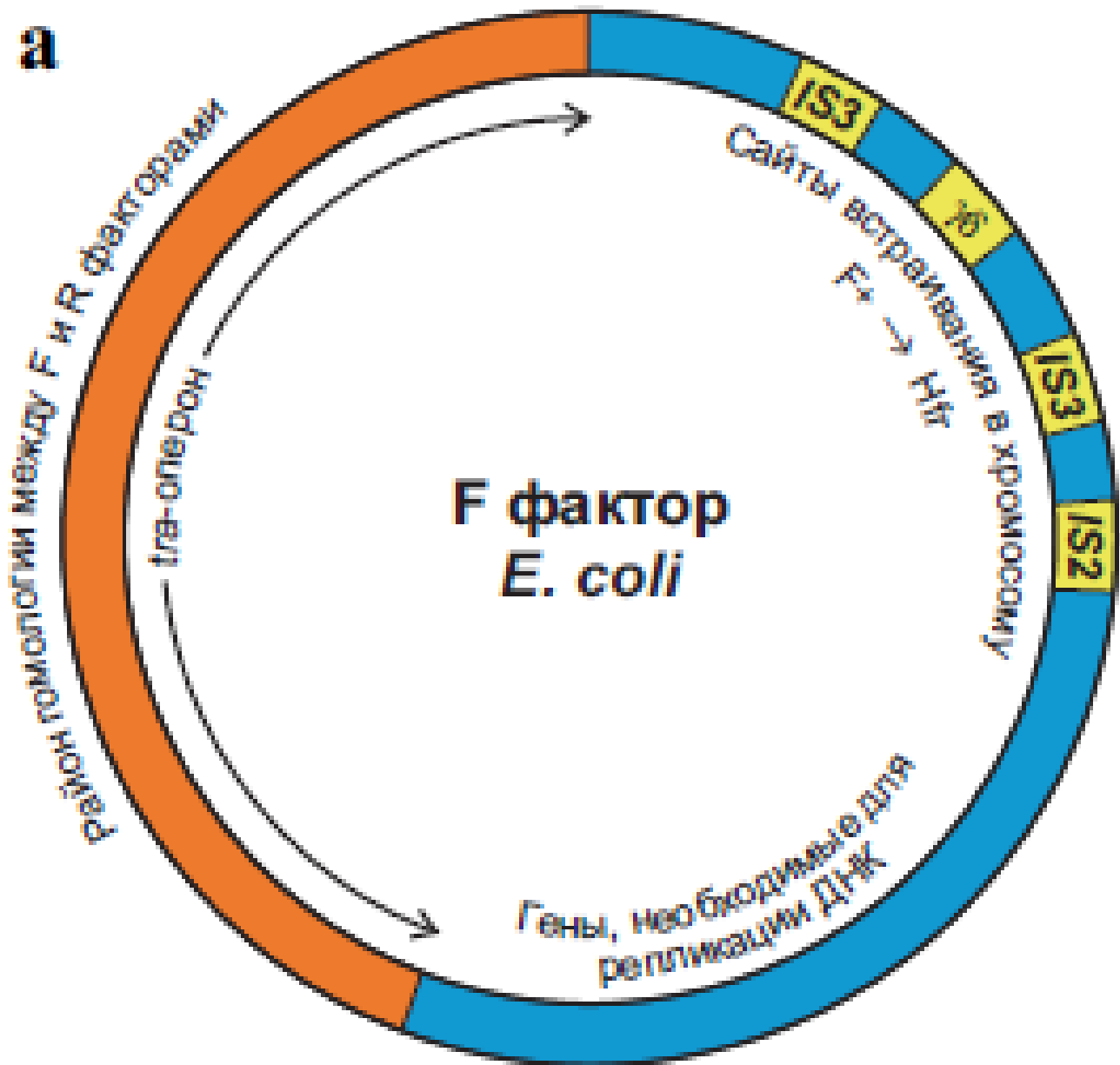
ПЛАЗМИДЫ



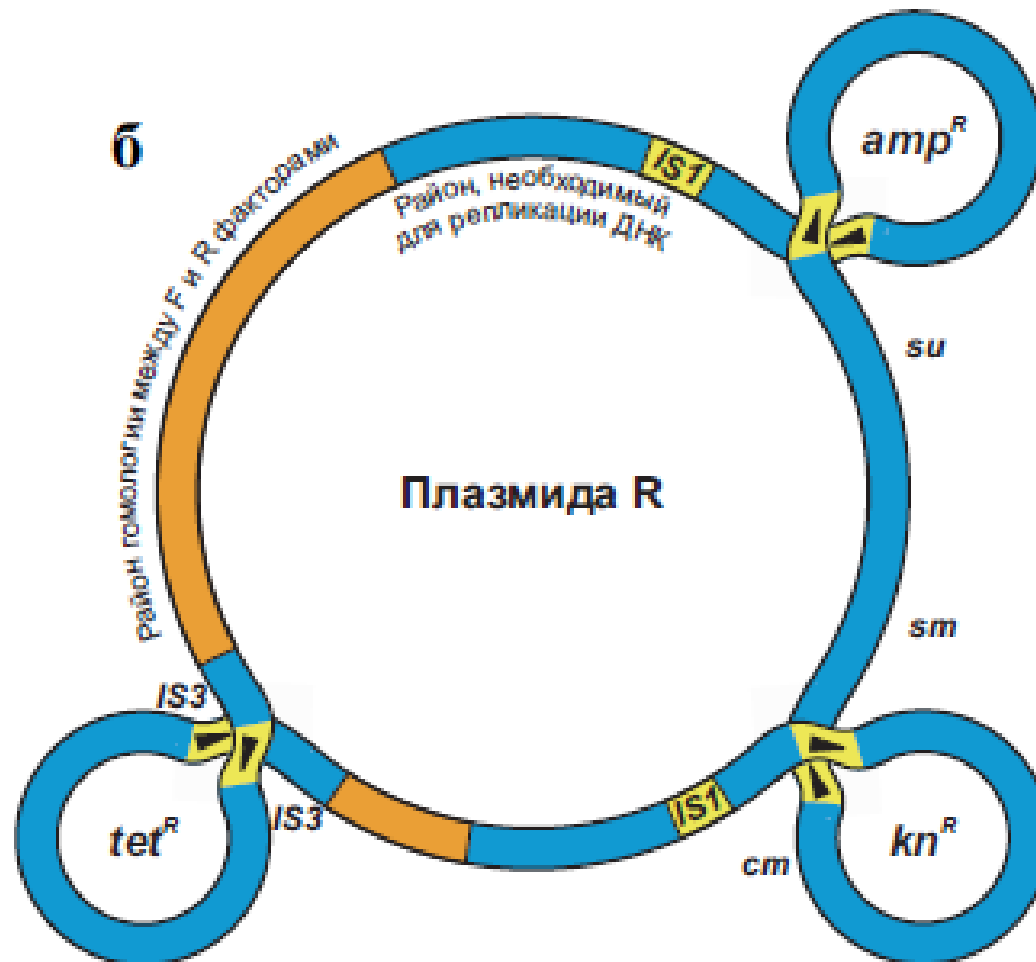
-это внехромосомные факторы наследственности, представляющие собой небольшие кольцевые двухцепочечные молекулы ДНК, способные к автономной репликации.

В одной клетке может быть несколько плазмид, совокупность которых называют **плазмотипом**.

Плазмиды могут интегрировать в бактериальную хромосому, тогда их называют **эписомами**.



Транспозон несущий ген устойчивости к ампицилину (amp^R)

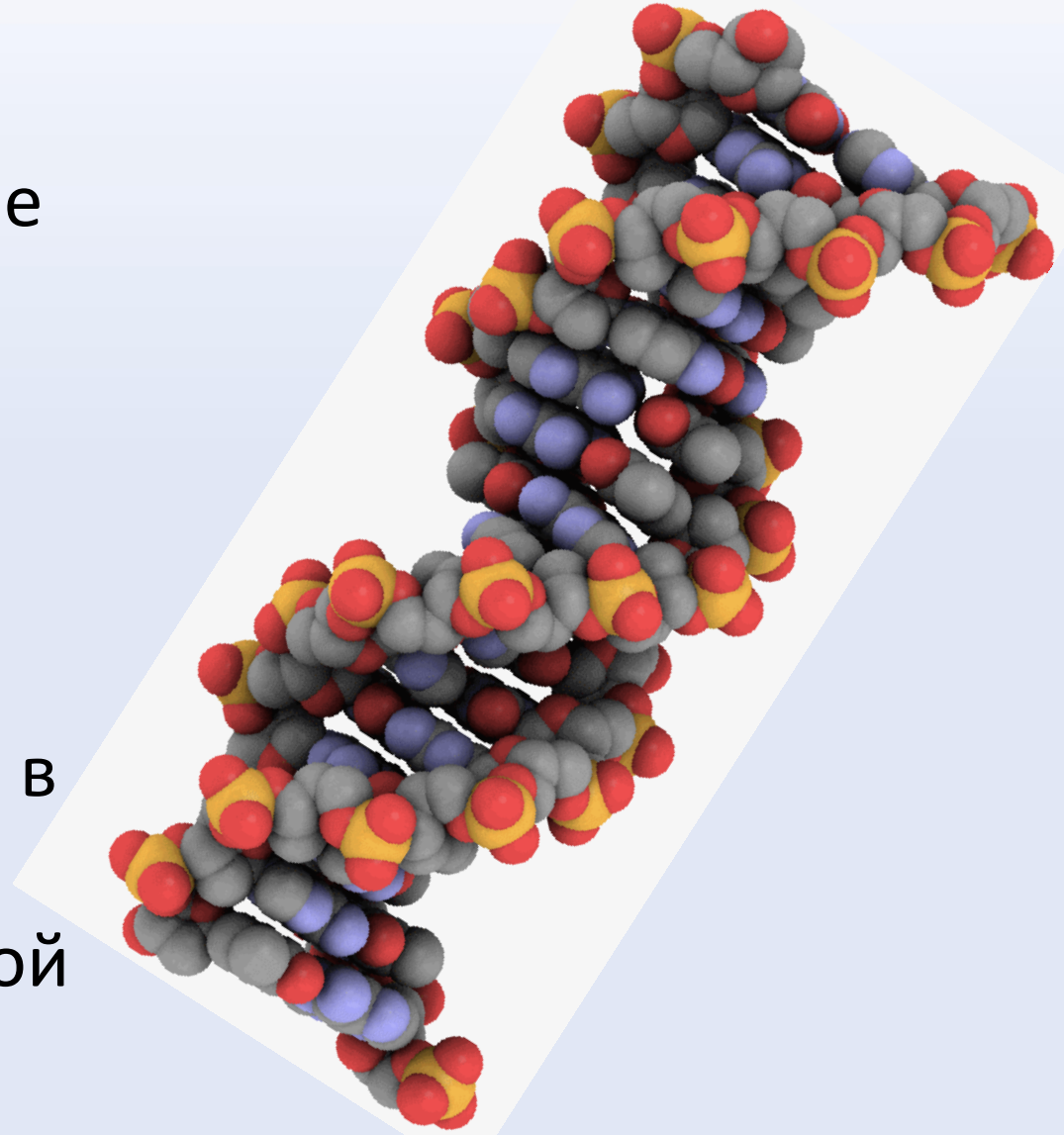


Транспозон несущий ген устойчивости к тетрациклину (ter^R)

Транспозон несущий ген устойчивости к канамицину (kn^R)

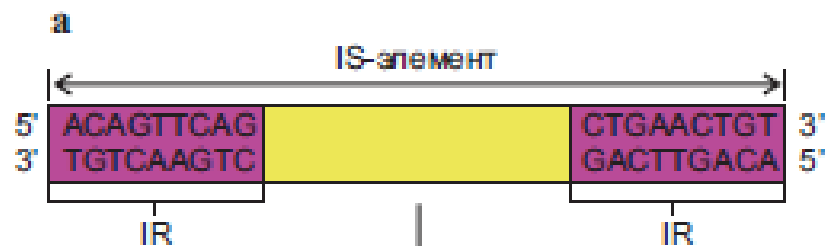
Мобильные генетические элементы

Мобильные генетические элементы (прыгающие гены) - участки ДНК, способные к транспозиции, или случайному перемещению, из одного места в другое: в пределах одной молекулы ДНК, из одной ДНК в другую.



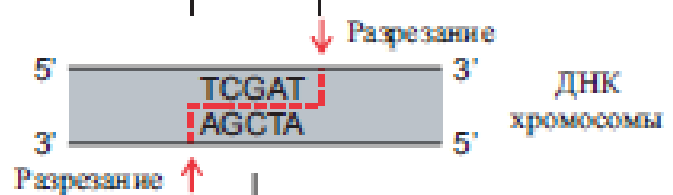
ПОДВИЖНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ

- IS элементы,
- транспозоны,
- интегроны.



Встраивание IS-элемента
в ДНК хромосомы

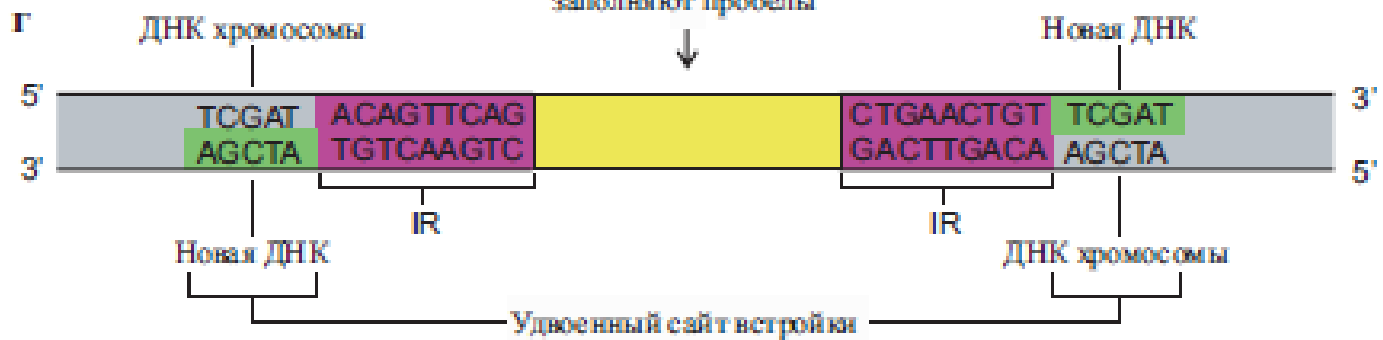
Сайт встройки

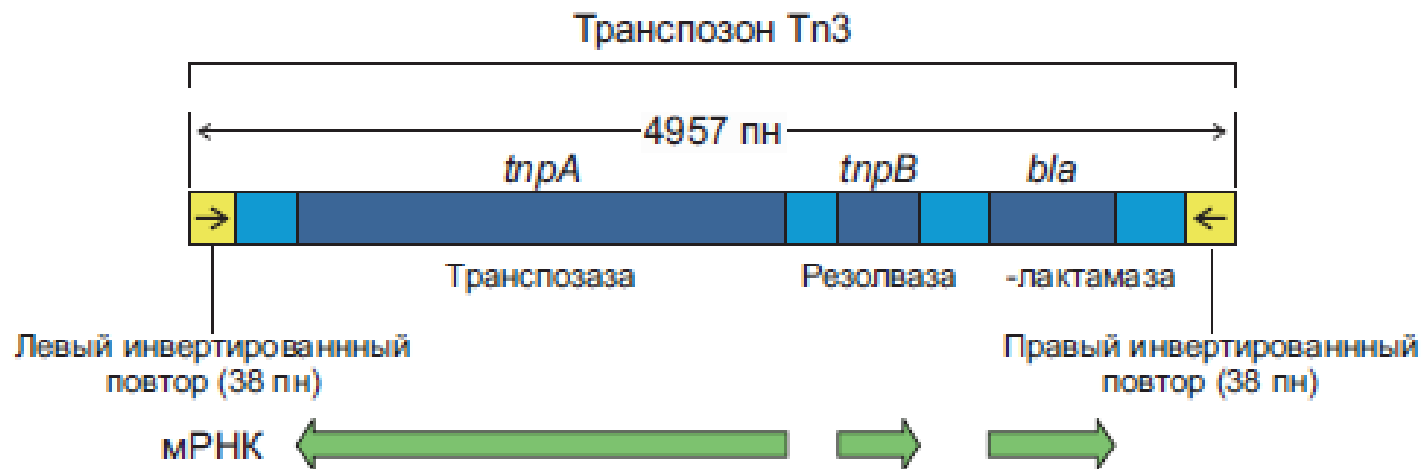
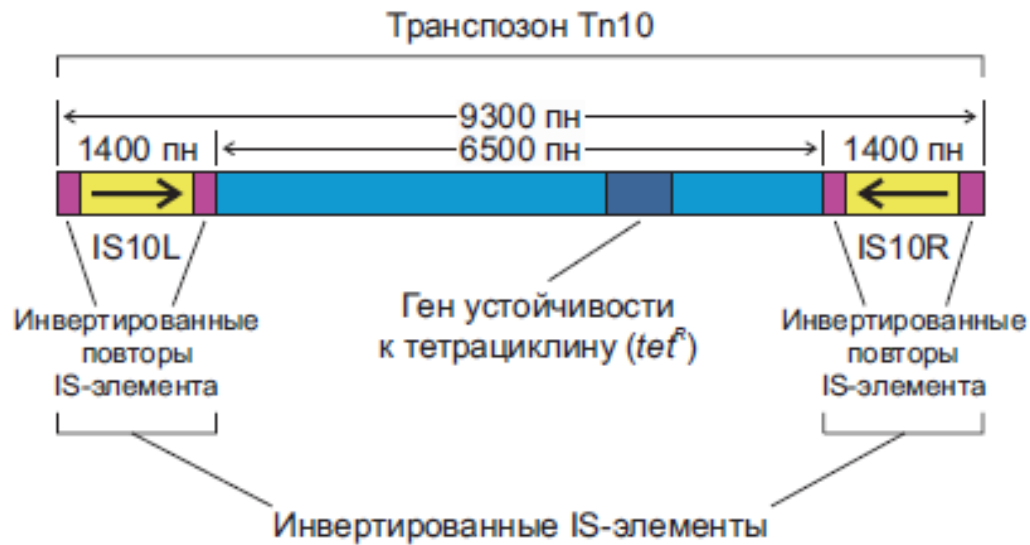


Встроенный IS-элемент



ДНК-полимераза и лигаза
заполняют пробелы





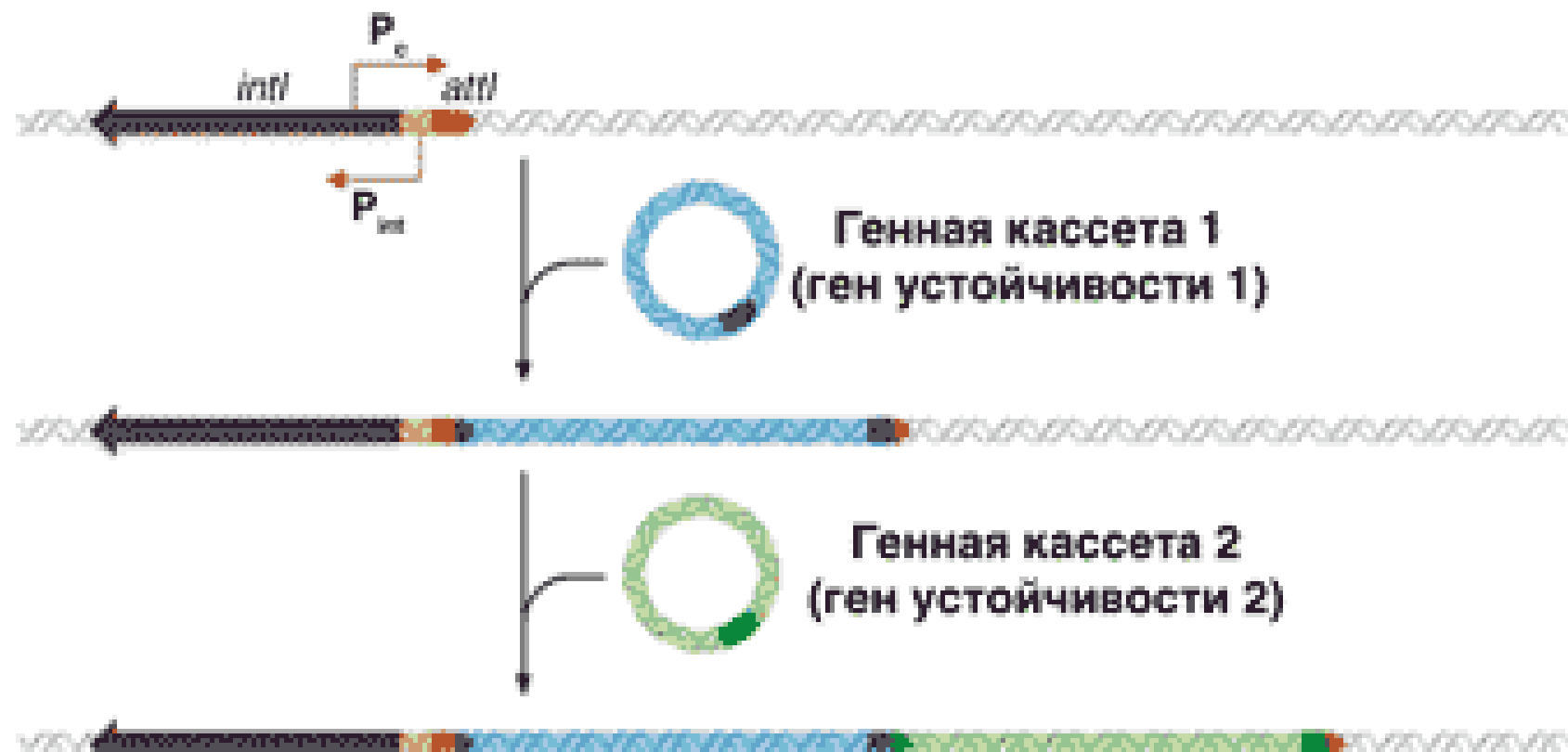
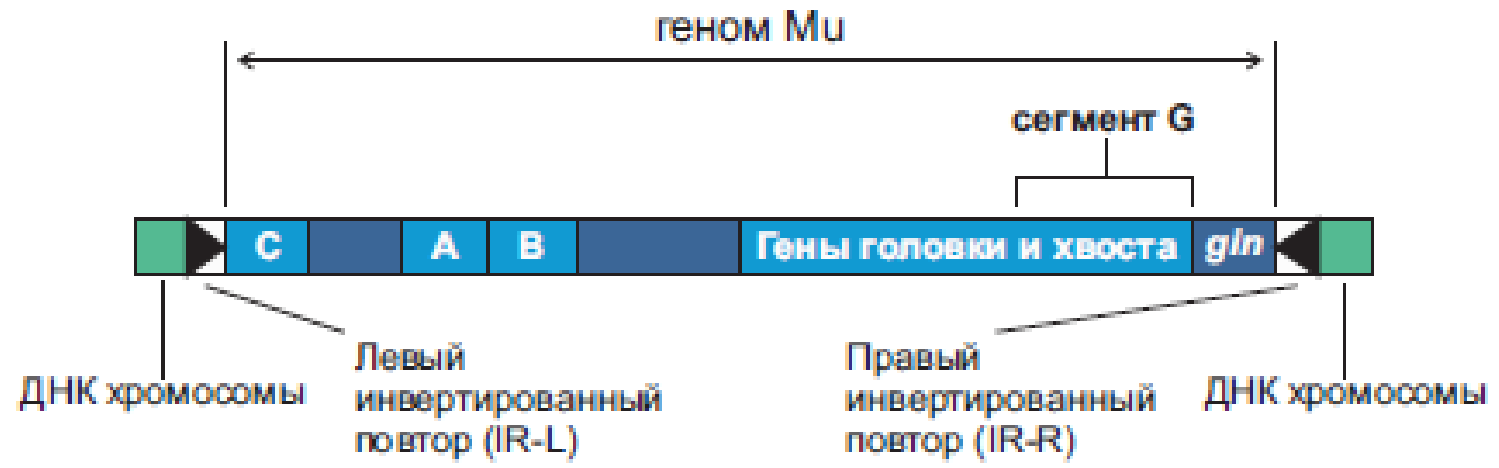
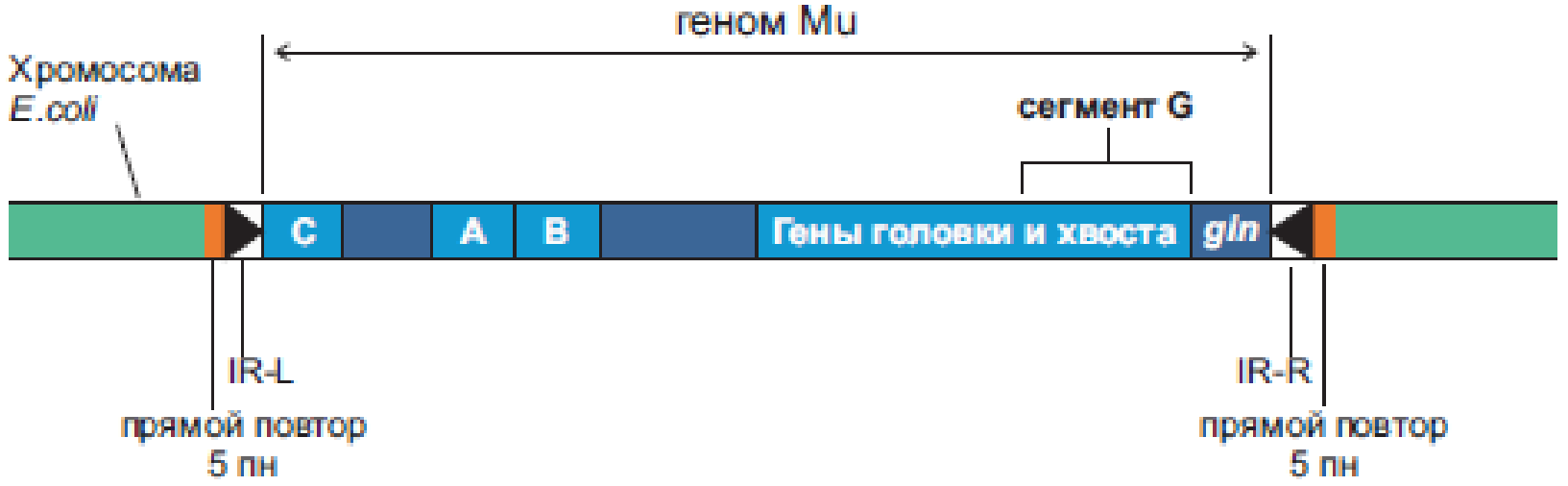


Рис. 4. Структура интегрона и механизм встраивания генов.
 В состав интегрона входит ген интегразы (*intI*) с промоторами P_{int} и P_c на 3'-конце гена и участком встраивания (*attI*). Закольцованные интегразой кассеты генов встраиваются через рекомбинацию в указанный сайт, формируя структуру типа оперона. Далее происходит интенсивная транскрипция R-генов с эффективного P_c -промотора (Stokes, Hall, 1989)

в



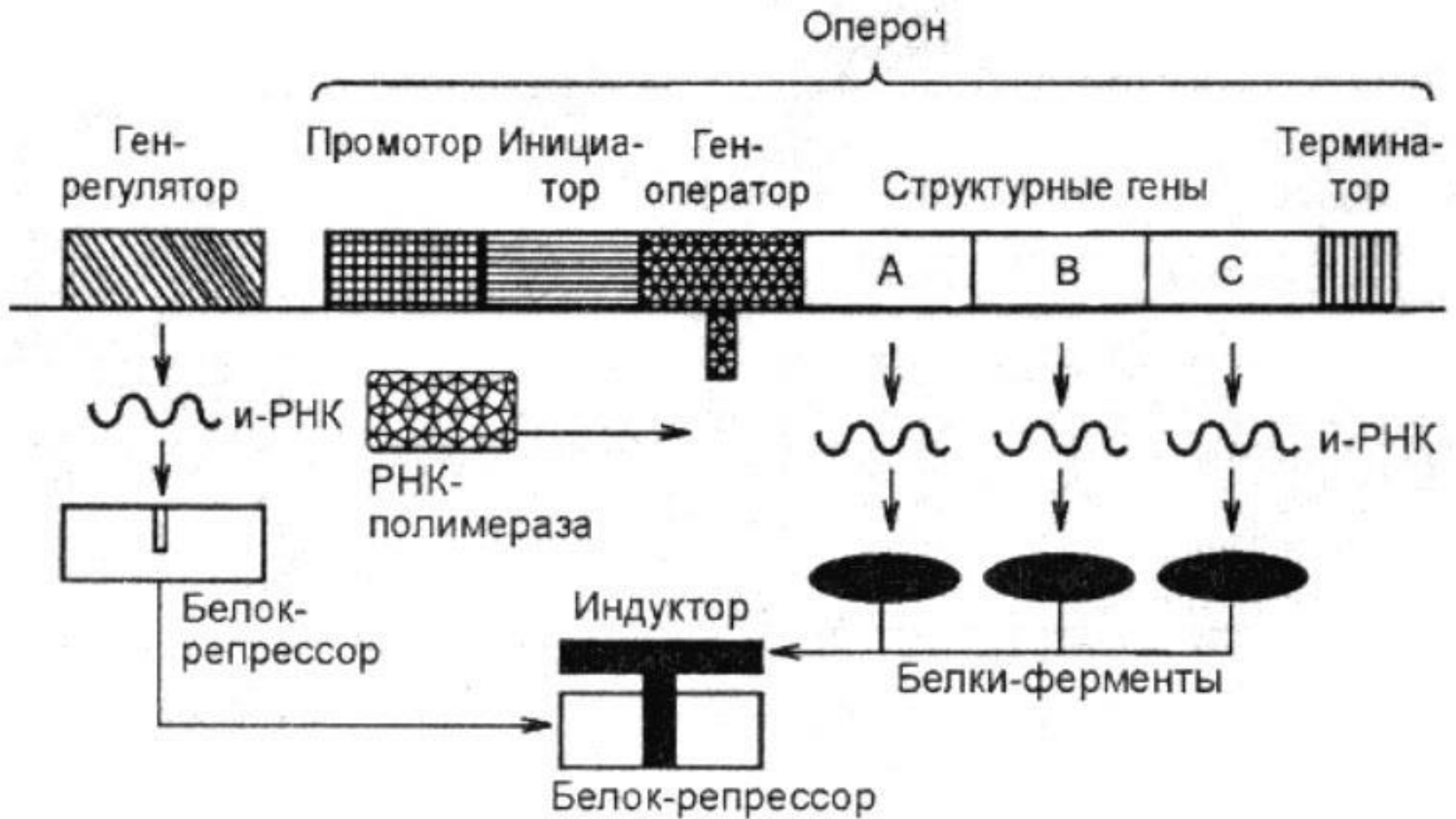
б



- **Опероном** называют группу функционально связанных между собой генов. Белки, кодируемые генами одного оперона, – это, как правило, ферменты, катализирующие разные этапы одного метаболического пути. Транскрипция генов оперона ведет к синтезу одной общей молекулы иРНК.

- Транскрипционная активность входящих в оперон генов регулируется специальным геном-регулятором, или регуляторным геном (**ген R**).
- Ген R кодирует синтез специфического белка-репрессора. **Репрессор** – аллостерический белок, имеющий два центра связывания: один центр узнает **оператор**, другой – взаимодействует с **эффектором или индуктором**.

Оперонный принцип организации генов



Опероны:

- **Индукцибельные** ответственны за катаболизм лактозы, арабинозы, галактозы и других углеводов
- **Репрессибельные** - ответственны за синтез аминокислот аргинина, гистидина и триптофана

Регуляция активности оперонов прокариот

Вид контроля	Воздействие индуктора	Результат
Негативная регуляция	Индуктор инактивирует белок-репрессор	Транскрипция идет
	Индуктор активирует белок-репрессор	Транскрипция не идет
Позитивная регуляция	Индуктор активирует белок-активатор	Транскрипция идет
	Индуктор инактивирует белок-активатор	Транскрипция не идет

Лас-оперон

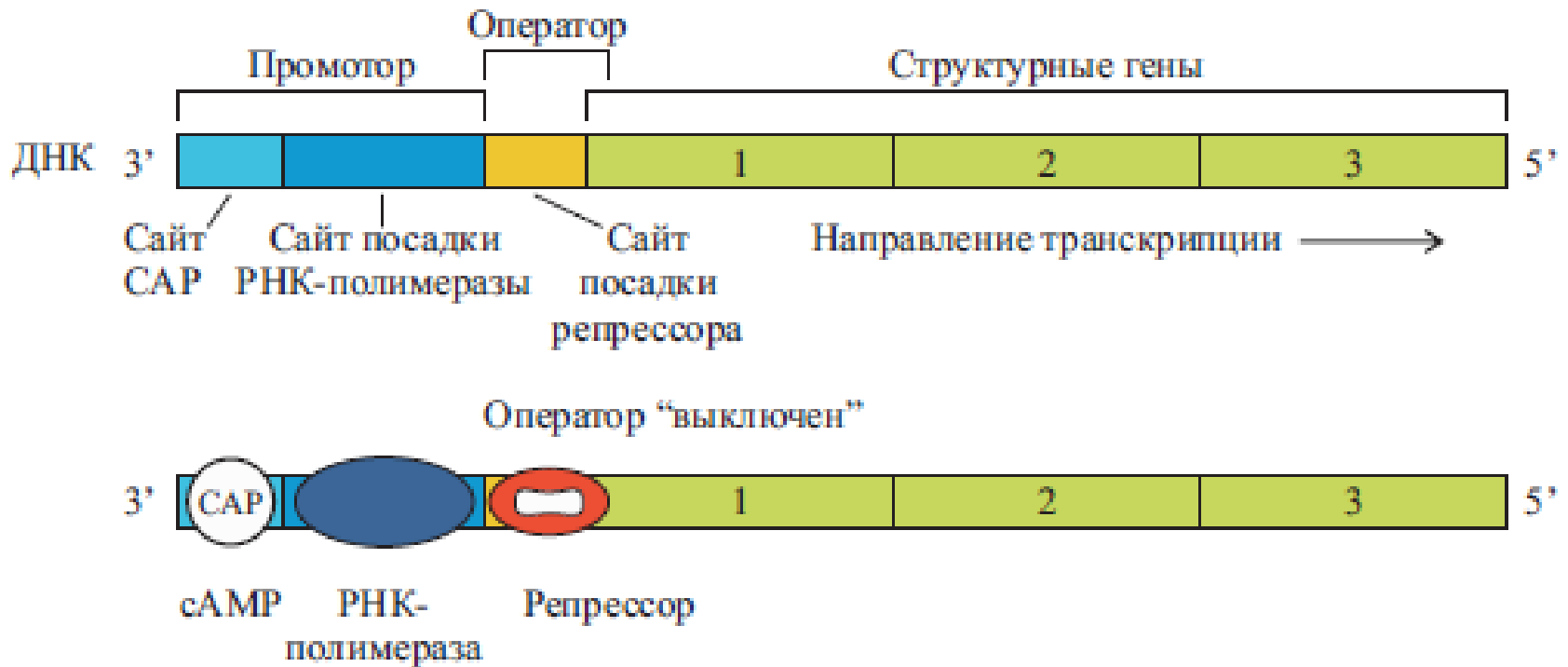
- **кодирующая** область - 3 структурных гена, ответственными за синтез ферментов
- **промоторно-операторная** область – оператор и промотор
- **терминатор**

Оператор - небольшой участок ДНК, с которым связывается **белок-репрессор**, блокируя инициацию (начало) транскрипции

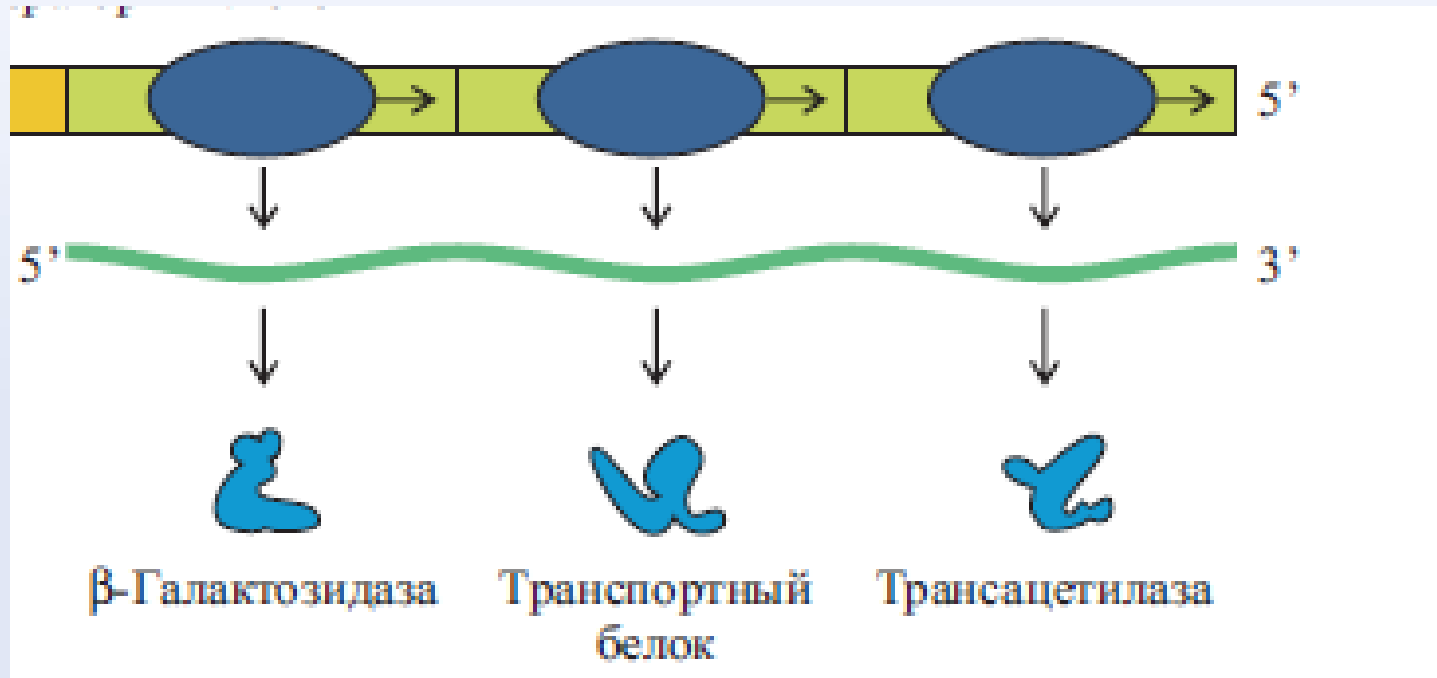
Промотор – это небольшой участок ДНК перед оператором - место связывания ДНК-зависимой РНК-полимеразы (транскриптазы) и комплекса **САР-цАМФ** (САР – специфический белок; в свободной форме является неактивным активатором; цАМФ – циклоаденозинмонофосфат – циклическая форма аденозинмонофосфорной кислоты).

Оператор и промотор в некоторой степени перекрываются.

- Если репрессор присоединен к оператору, то РНК-полимераза не может двигаться вдоль молекулы ДНК и синтезировать иРНК.



Структурные гены кодируют три фермента Z, Y, A, необходимые для расщепления лактозы (молочного сахара) на глюкозу и галактозу.



Молочный сахар лактоза – менее ценный продукт, чем глюкоза, поэтому:

- в присутствии глюкозы оперон выключен
- при отсутствии глюкозы оперон активен

Для регуляции работы оперона необходимы еще два гена:

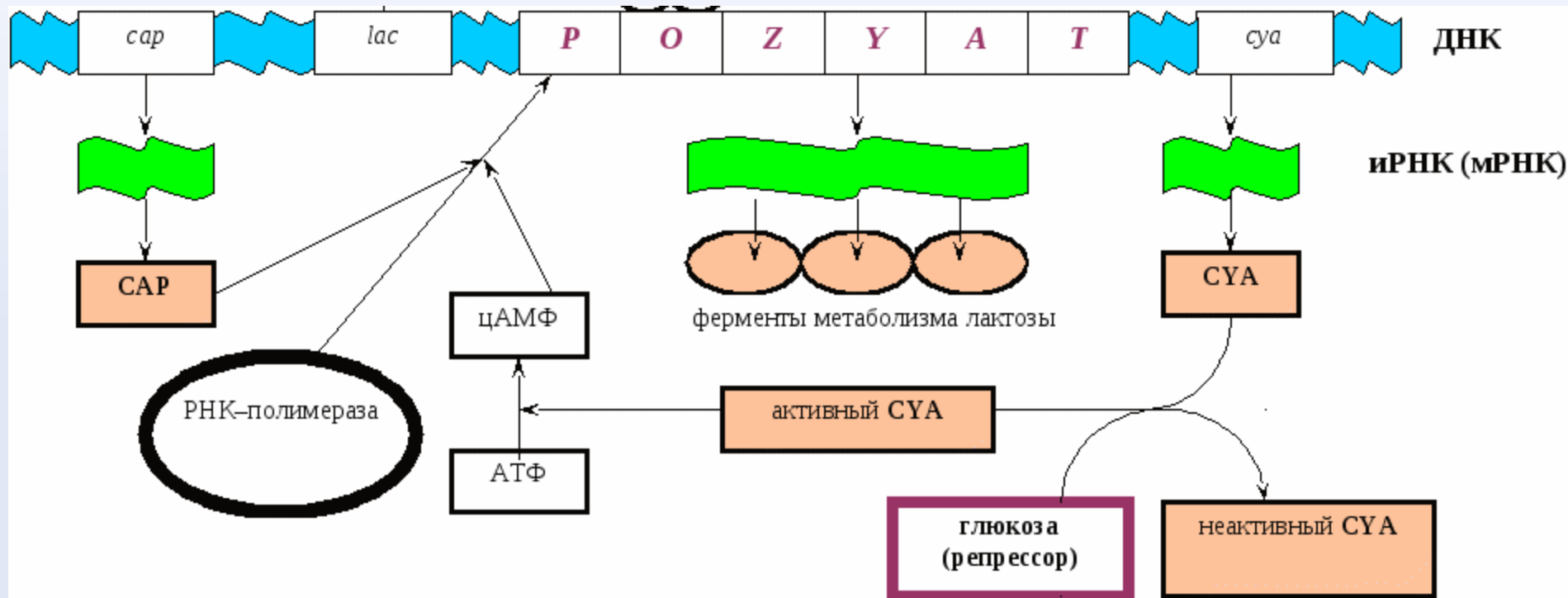
- **ген, кодирующий белок–репрессор,**
- **ген, кодирующий белок СУА.**

Белок СУА катализирует образование цАМФ из АТФ.

Если в клетке имеется глюкоза, то белок СУА вступает с ней в реакцию и переходит в неактивную форму.

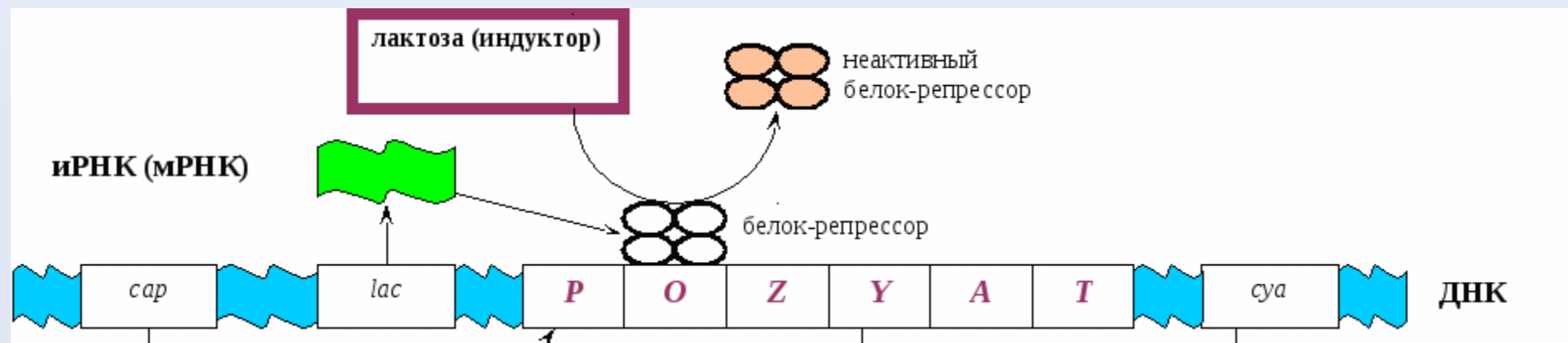
Таким образом, глюкоза блокирует синтез цАМФ и делает невозможным присоединение РНК-полимеразы к промотору.

Итак, глюкоза является репрессором.



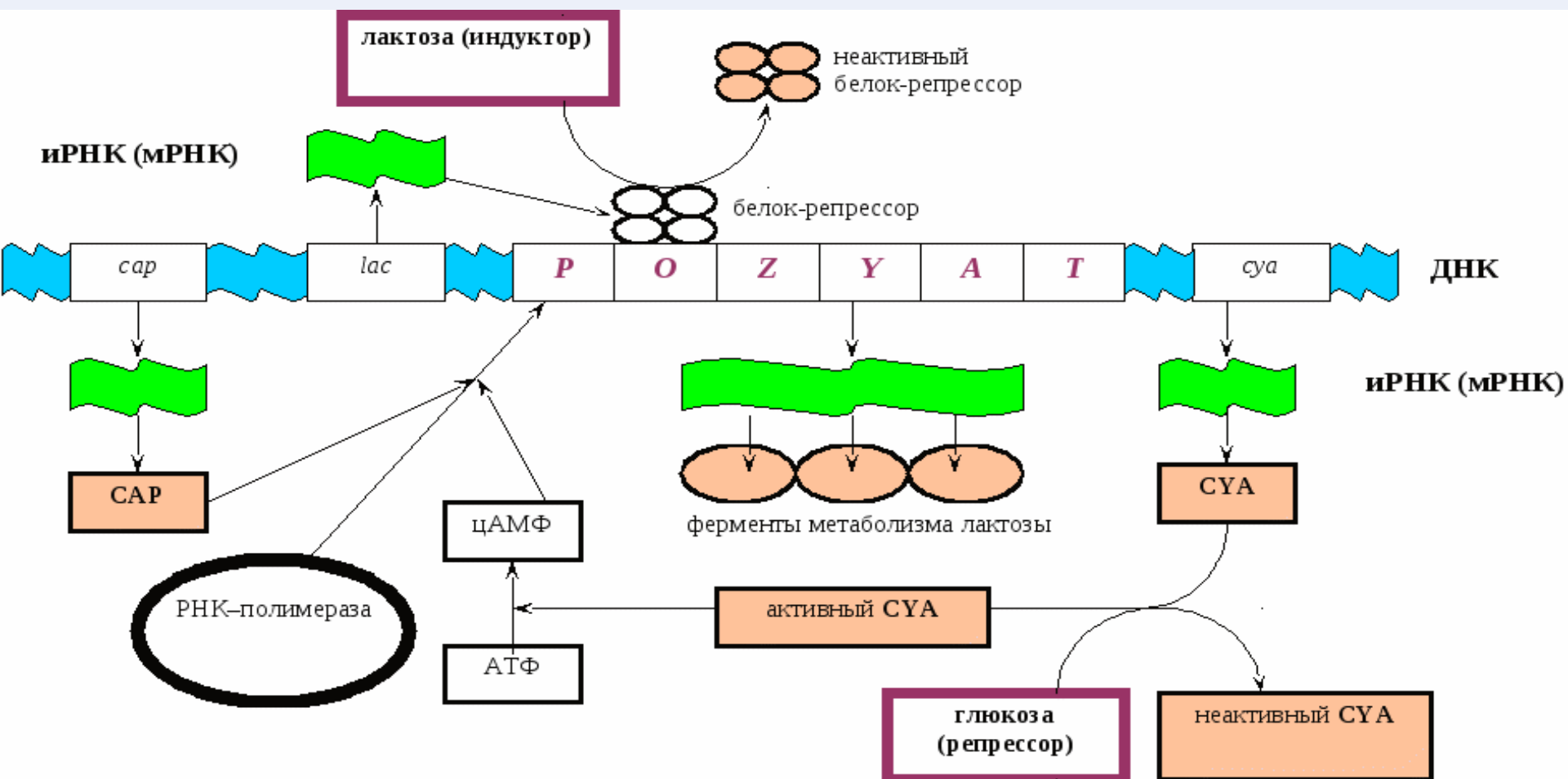
- Если же в клетке имеется лактоза, то она взаимодействует с белком–репрессором и превращает его в неактивную форму.

лактоза является индуктором

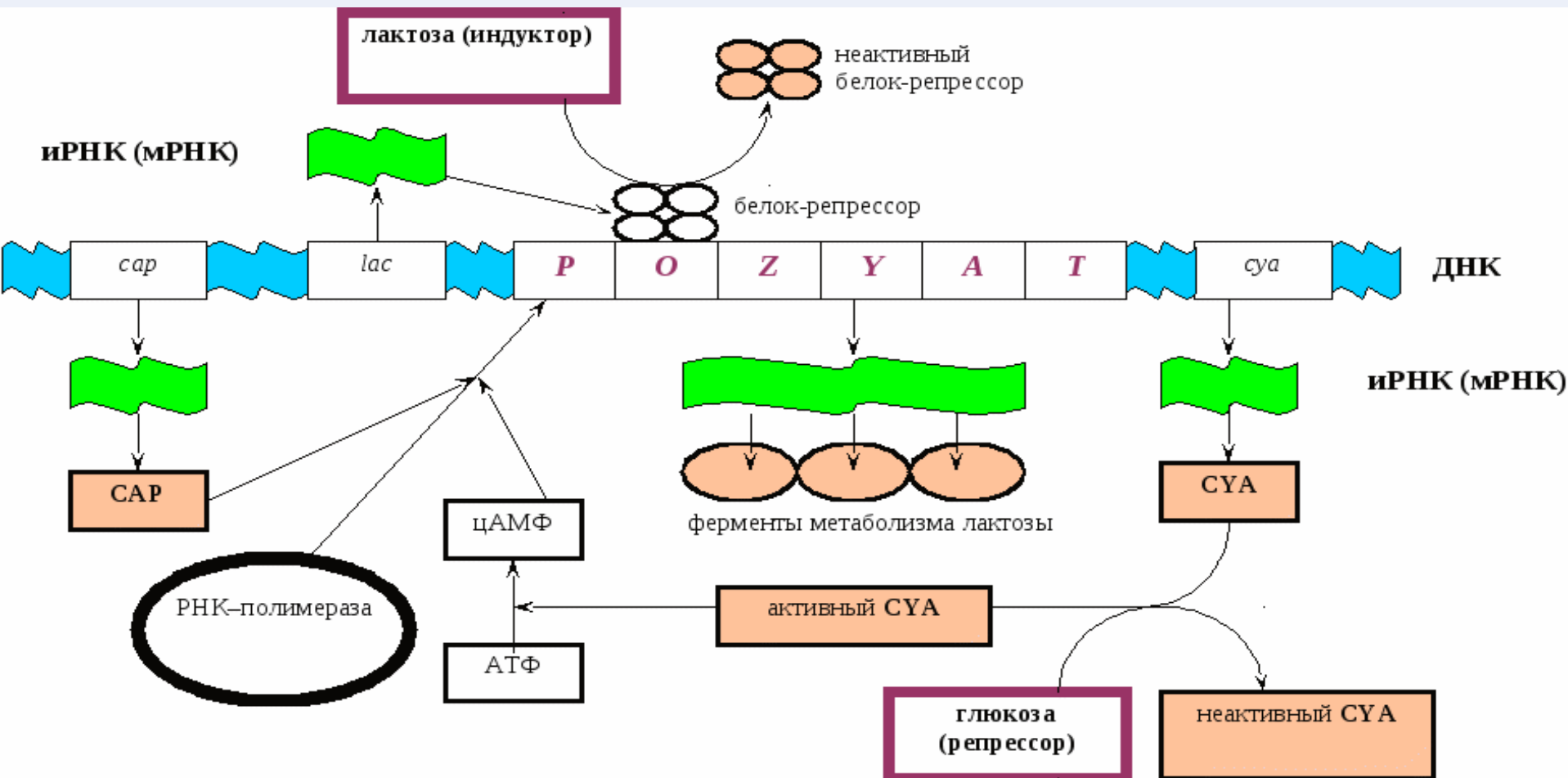


при наличии в клетке **лактозы** и **глюкозы** белок–репрессор отщепляется от оператора и открывает путь РНК-полимеразе. Однако РНК-полимераза не может присоединиться к промотору, поскольку глюкоза блокирует синтез цАМФ.

Оперон не работает, структурные гены выключены.



Если в клетке имеется **только лактоза**, то белок–репрессор связывается с лактозой, отщепляется и открывает путь РНК-полимеразе. В отсутствие глюкозы белок СYA катализирует синтез цАМФ, и РНК-полимераза присоединяется к промотору. **Оперон работает, структурные гены транскрибируются.**



Таким образом, лактозный оперон находится
под двойным контролем!!
индуктора (лактозы) и репрессора (глюкозы)

Триптофановый оперон

- Транскрипция структурных генов достигается только при отсутствии в клетке **конечных продуктов или эффекторов** этих биосинтетических путей – **корепрессоров**.
- Регуляторные белки – **апорепрессоры**.

Синтез ферментов репрессибельного оперона включается посредством **дерепрессии структурных генов**.

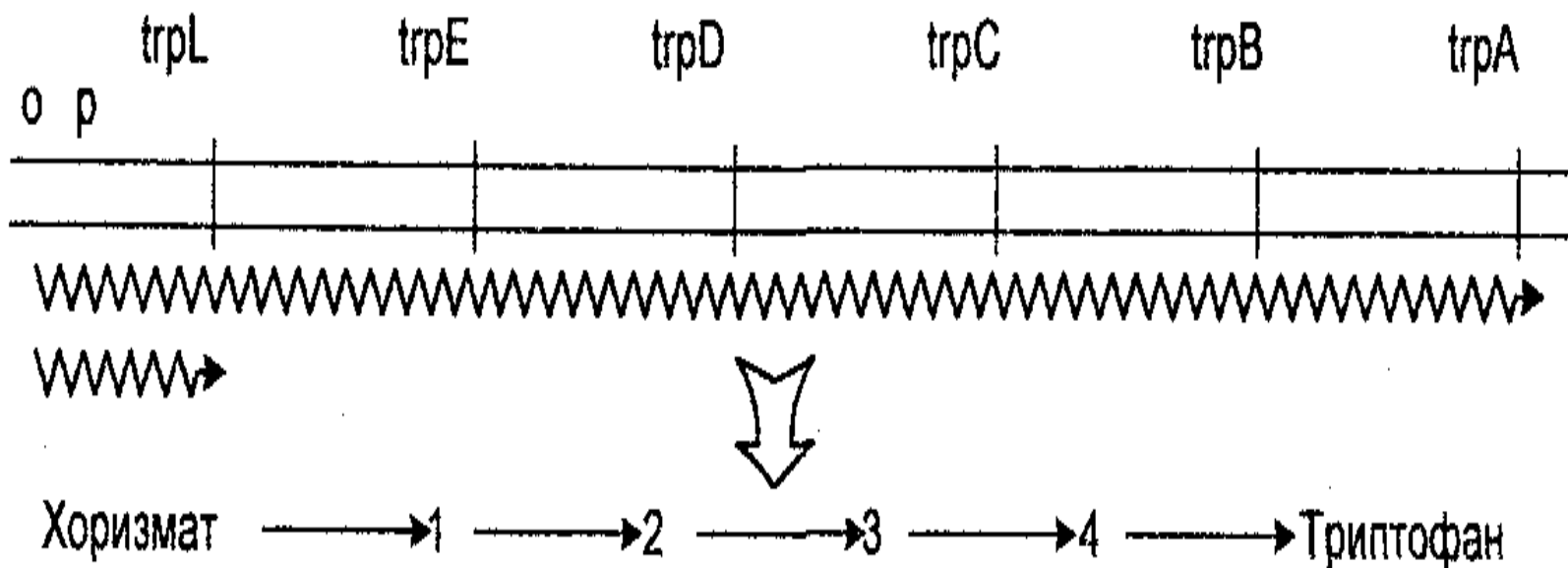
Триптофановый оперон *E. coli*

Структурные гены (trpE, D, C, B, A),

Регуляторные гены

- промоторно-операторная область (P – промотор, O – оператор)
- ген-регулятор (trpR)
- T - терминатор
- ген trpL - лидер-аттенюатор

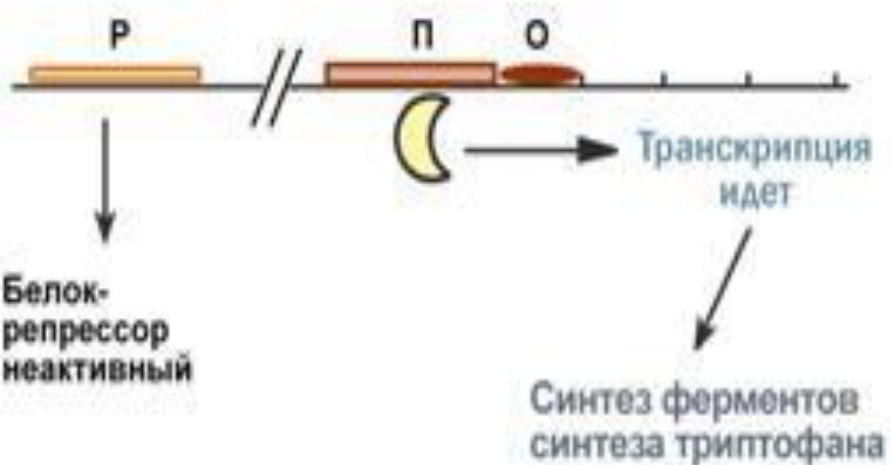




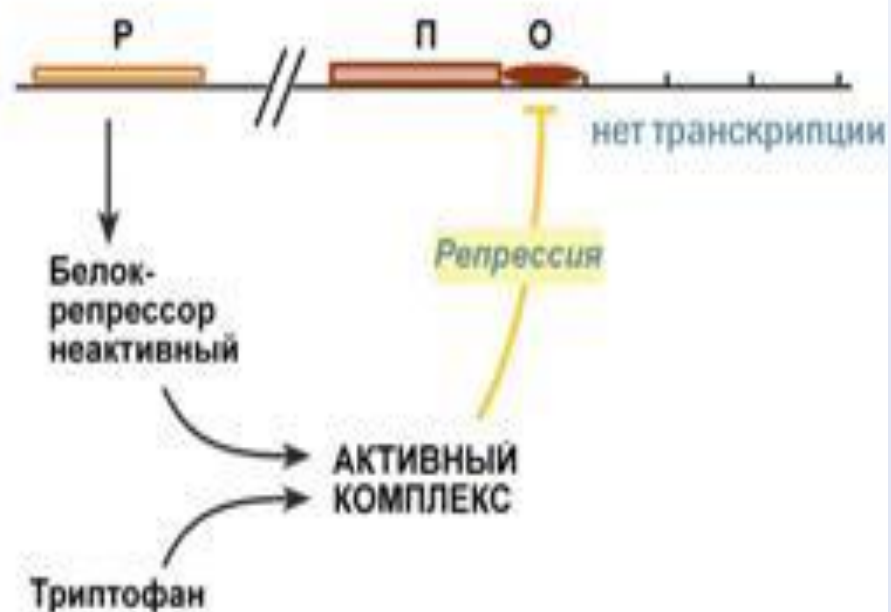
1. Антранилат
2. Фосфорибозилантранилат
3. Фениламино-дезоксирibuлоза-фосфат
4. Индолглицерол фосфат

- Регуляция триптофанового оперона регулируется двумя способами: с помощью белка-репрессора (репрессия), а также с помощью особой последовательности – аттенюатора.

Отсутствие триптофана



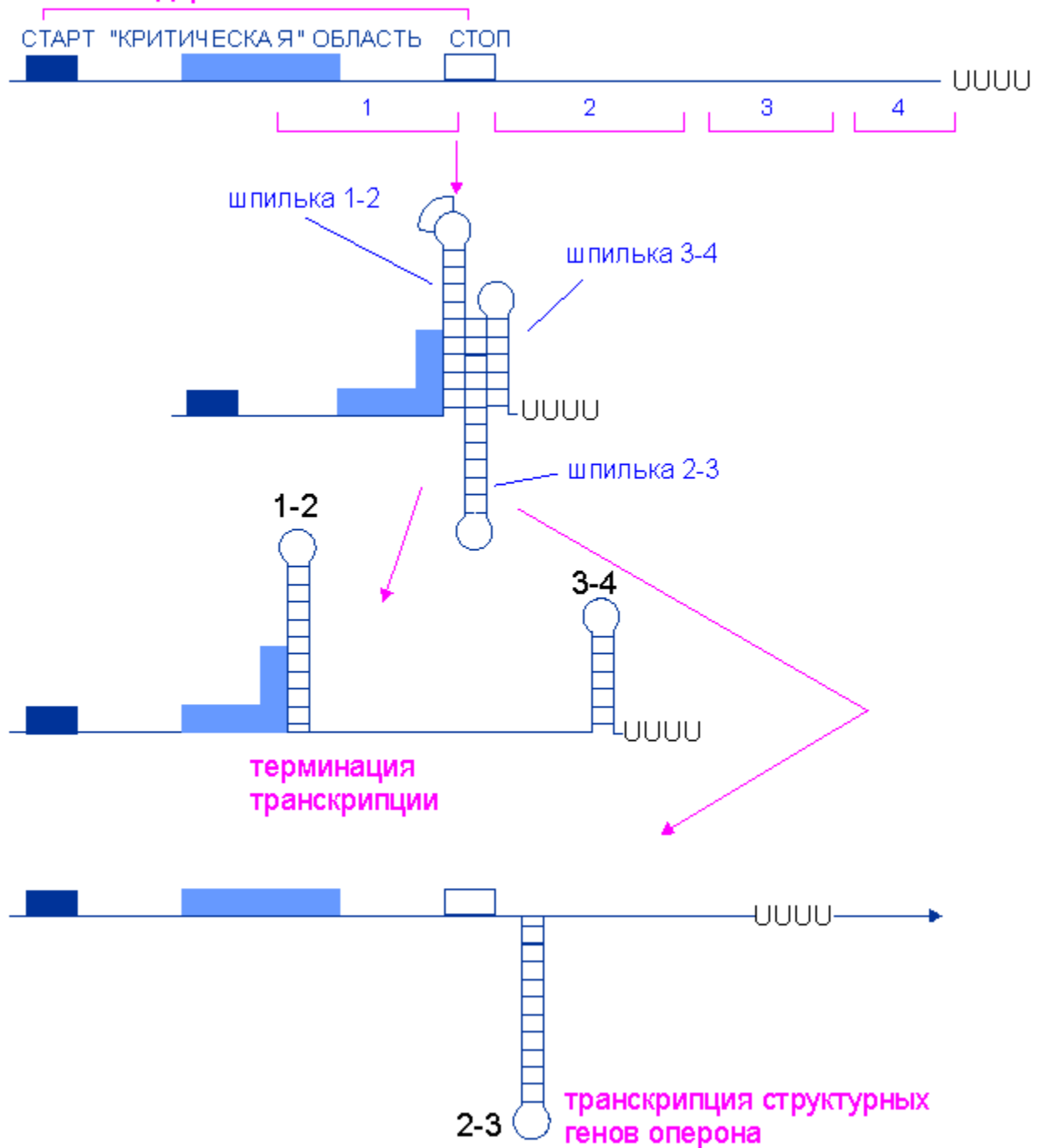
Наличие триптофана



- У прокариот процессы транскрипции и трансляции не разделены во времени и пространстве, как у эукариот, и идут одновременно: **пока РНК-полимераза синтезирует мРНК, синтезированный участок этой мРНК транслируется рибосомой.**
- **Лидерная последовательность** после оператора - 162 п. н., кодирует **лидерный пептид**. В состав лидерной последовательности входит особая **аттенюаторная последовательность (аттенюатор)**, которая, влияя на вторичную структуру синтезируемой мРНК, способна вызывать преждевременную терминацию транскрипции.

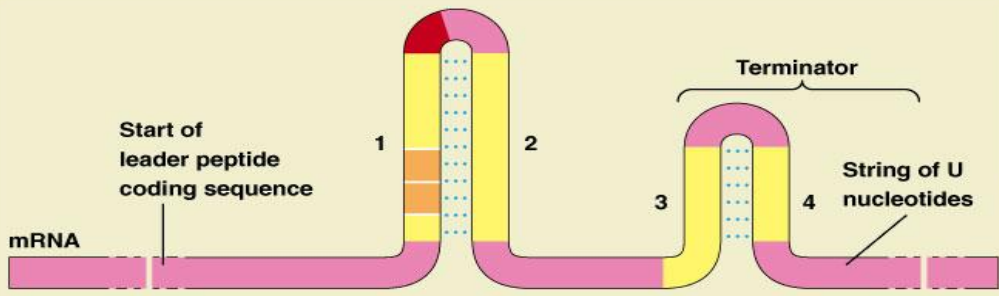
- Атенюатор имеет 4 области с обращёнными повторами. Транскрипция аттенюатора приводит к образованию шпилек в мРНК. Возможны 3 варианта шпилек, а именно между последовательностями: 1-2, 2-3, 3-4. При этом образование шпильки 1-2 блокирует образование шпильки 2-3, а образование шпильки 2-3, в свою очередь, препятствует образованию шпильки 3-4. **Только шпилька 3-4 является терминаторной, то есть при её образовании РНК-полимераза с высокой вероятностью диссоциирует от ДНК, и транскрипция прерывается.**

лидерная область РНК

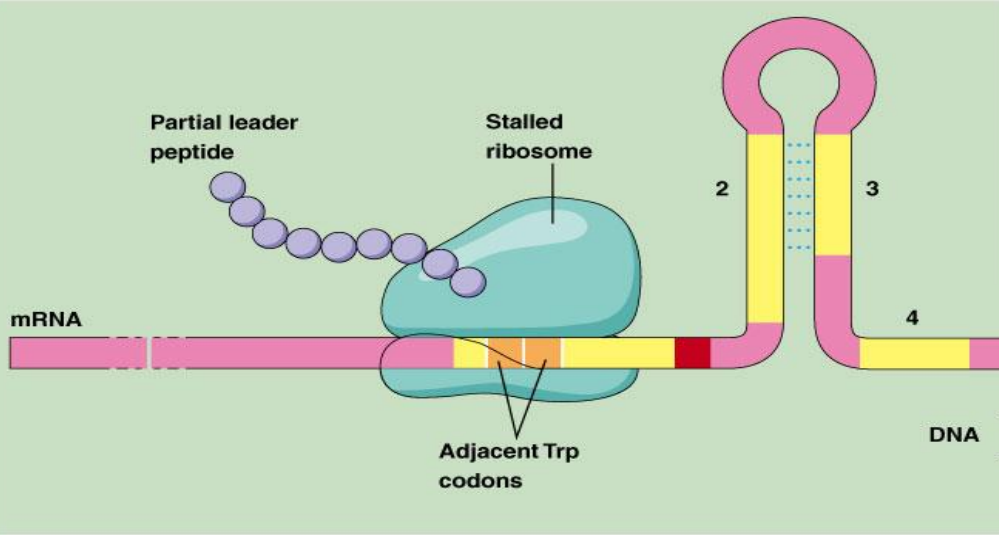


- Лидерный пептид содержит 2 располагающихся друг за другом триптофановых остатка. В условиях нехватки триптофана рибосома начинает «зависать» на триптофановых кодонах. Останавливаясь на двух триптофановых кодонах, рибосома закрывает первую из 4 областей обращённых повторов. Из-за этого образуется шпилька 2-3, а терминаторная шпилька 3-4 не образуется, и транскрипция продолжается дальше в область структурных генов.

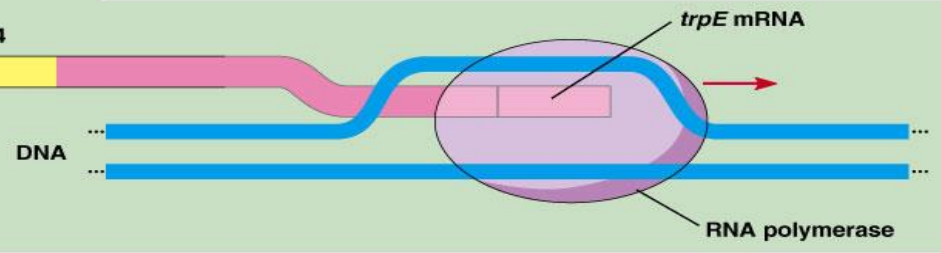
- Если же концентрация триптофана высока, то «зависания» рибосомы на триптофановых кодонах не происходит: необходимый комплекс триптофанил-тРНК находится быстро. В этом случае рибосома закрывает уже не одну первую, а две первые области обращённых повторов. Остаются свободными области 3 и 4, из-за чего формируется терминаторная шпилька 3-4, а значит, транскрипция останавливается.



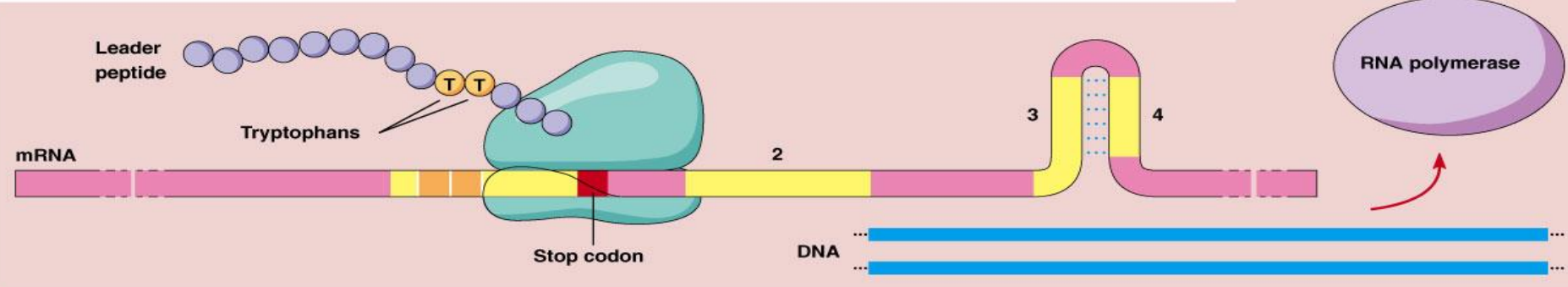
(a) The most stable secondary structure for *trp* leader mRNA. Attenuation depends on the ability of regions 1 and 2 and regions 3 and 4 of the *trp* leader sequence to base-pair, forming hairpin secondary structures. The 3–4 hairpin structure acts as a transcription termination signal.



(b) When tryptophan is scarce the ribosome stalls, allowing a 2–3 “antiterminator” hairpin to form. The ribosome stalls when it encounters the two tryptophan (Trp) codons due to a shortage of tryptophan-carrying tRNA molecules. The stalled ribosome blocks region 1, so a 1–2 hairpin cannot form. Instead an alternative 2–3 hairpin is created, which prevents formation of the 3–4 termination hairpin. Therefore RNA polymerase can move on to transcribe the entire operon.



(c) When tryptophan is plentiful the ribosome continues, allowing the 3–4 transcription termination signal to form. The moving ribosome completes translation of the leader peptide and pauses at the stop codon, blocking region 2. As a result, the 3–4 structure forms and terminates transcription near the end of the leader sequence.



Таким образом, и в случае индукции путем негативной регуляции (Lac-оперон), и в случае репрессии синтеза ферментов (Trp-оперон) взаимодействие репрессора с оператором приводит к подавлению транскрипции соответствующих структурных генов. Различие заключается в том, что при индукции путем негативной регуляции эффектор (индуктор), взаимодействуя с репрессором, понижает сродство репрессора к оператору, а в случае репрессии эффектор (корепрессор) повышает это сродство.

Благодарю за внимание