



Молекулярная биология

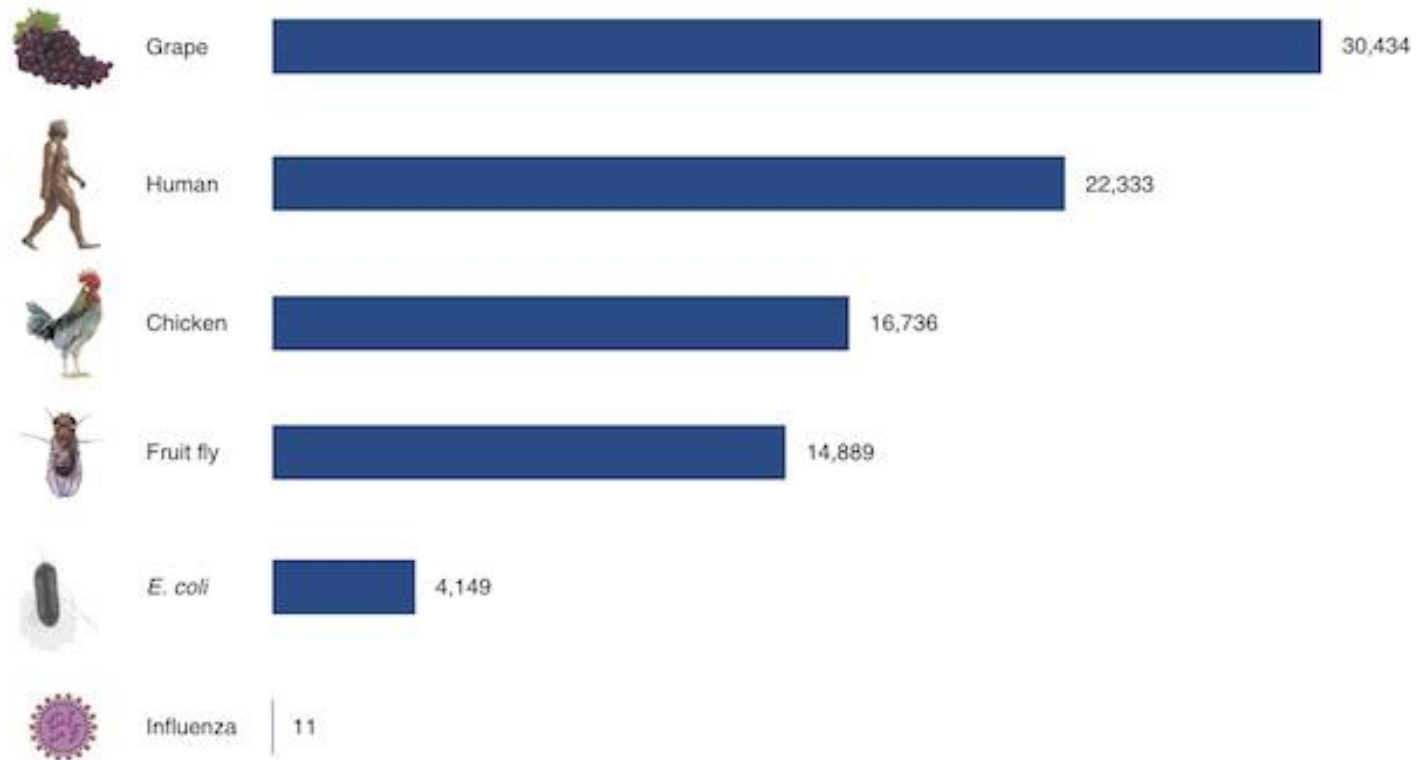
Лекция 12. Регуляция.

Скоблов Михаил Юрьевич

Часть 1. Регуляция активности генов у прокариот

Парадокс количества и сложности:

“Эволюционное качество” достигается не количеством генов, а их регуляцией.



Типы регуляции активности генов у прокариотов

*Репрессия и индукция синтеза белков у прокариотов реализуют принципы **адаптации** к меняющимся условиям существования и клеточной экономии: ферменты появляются в клетках, когда в них существует потребность, и перестают вырабатываться, если потребность исчезает.*

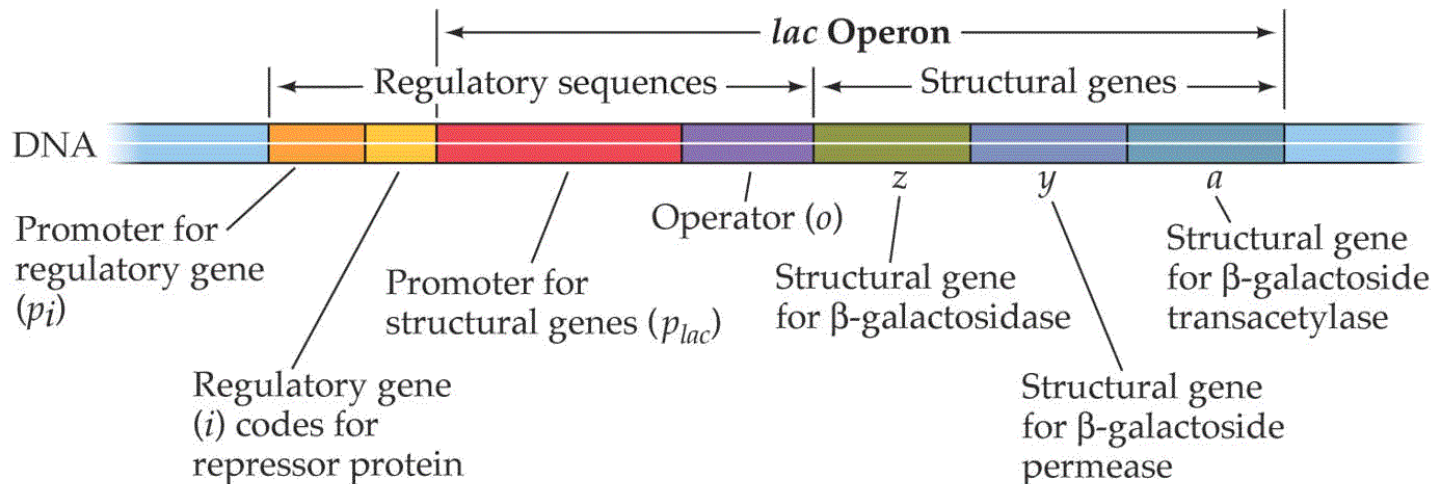
Экспрессируемые гены можно поделить на следующие категории:

- **конститутивные**, присутствующие в клетках в постоянных количествах независимо от метаболического состояния организма
- **индуцируемые**, их концентрация в обычных условиях мала, но может возрастать в 100 раз и более, если, например, в среду культивирования клеток добавить субстрат такого фермента;
- **репресслируемые**, т.е. ферменты метаболических путей, синтез которых прекращается при добавлении в среду выращивания конечного продукта этих путей.

Регуляция транскрипции у прокариот

- **Оперон** — функциональная единица генома у прокариот, в состав которой входят цистроны (гены, единицы транскрипции), кодирующие совместно или последовательно работающие белки и объединенные под одним (или несколькими) промоторами.
- Опероны по количеству цистронов делят на моно-, олиго- и полицистронные, содержащие, соответственно, только один, несколько или много цистронов (генов).
- Концепцию оперона для прокариот предложили в 1961 году французские ученые Жакоб и Моно, за что получили Нобелевскую премию в 1965 году.

Структура лактозного оперона



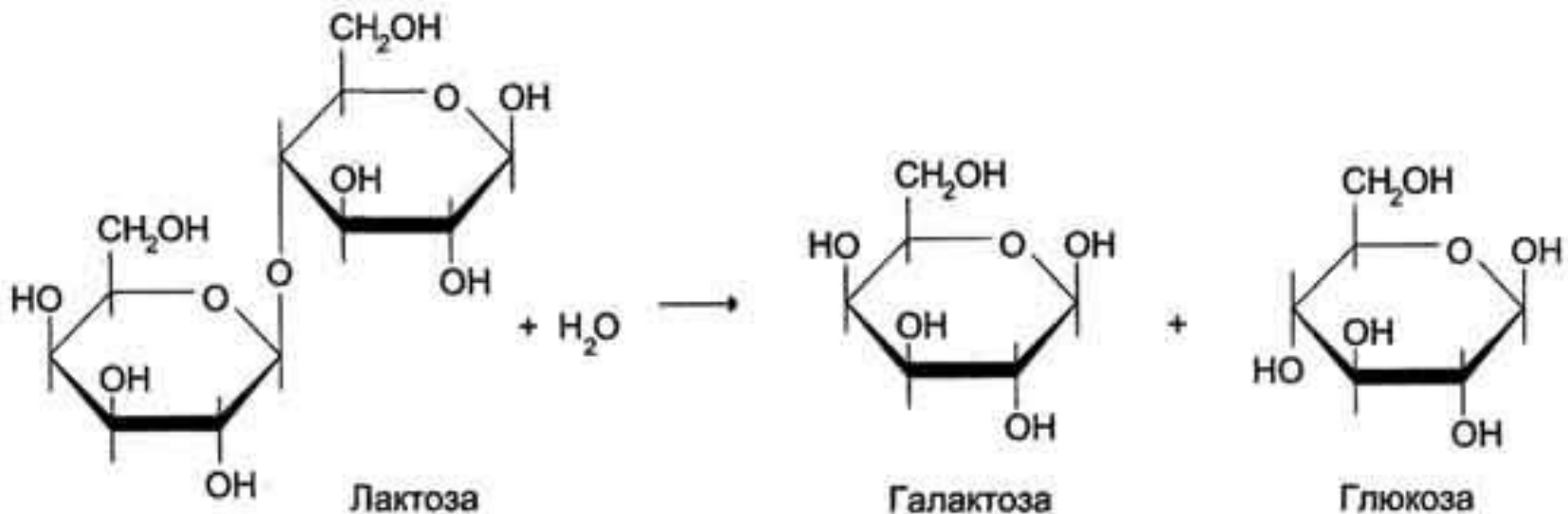
Франсуа Жакоб



Жак Люсьен Моно

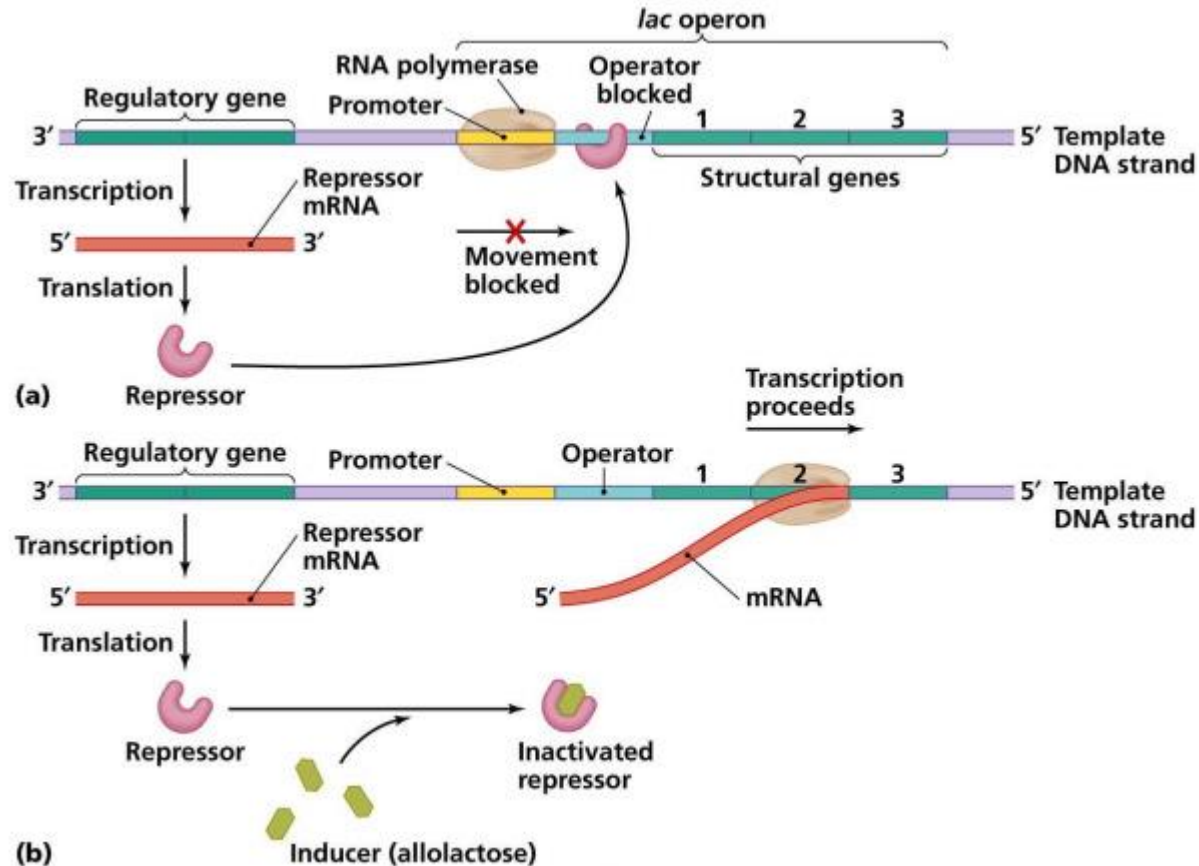
Механизм работы лактозного оперона

- Клетки *E. coli* обычно растут на среде, используя в качестве источника углерода глюкозу.
- Если в среде культивирования глюкозу заменить на дисахарид лактозу, то клетки адаптируются к изменившимся условиям, начав синтез трёх белков, обеспечивающих утилизацию лактозы.
- Один из этих белков - фермент β -галактозидаза, катализирующий гидролитическое расщепление лактозы до глюкозы и галактозы

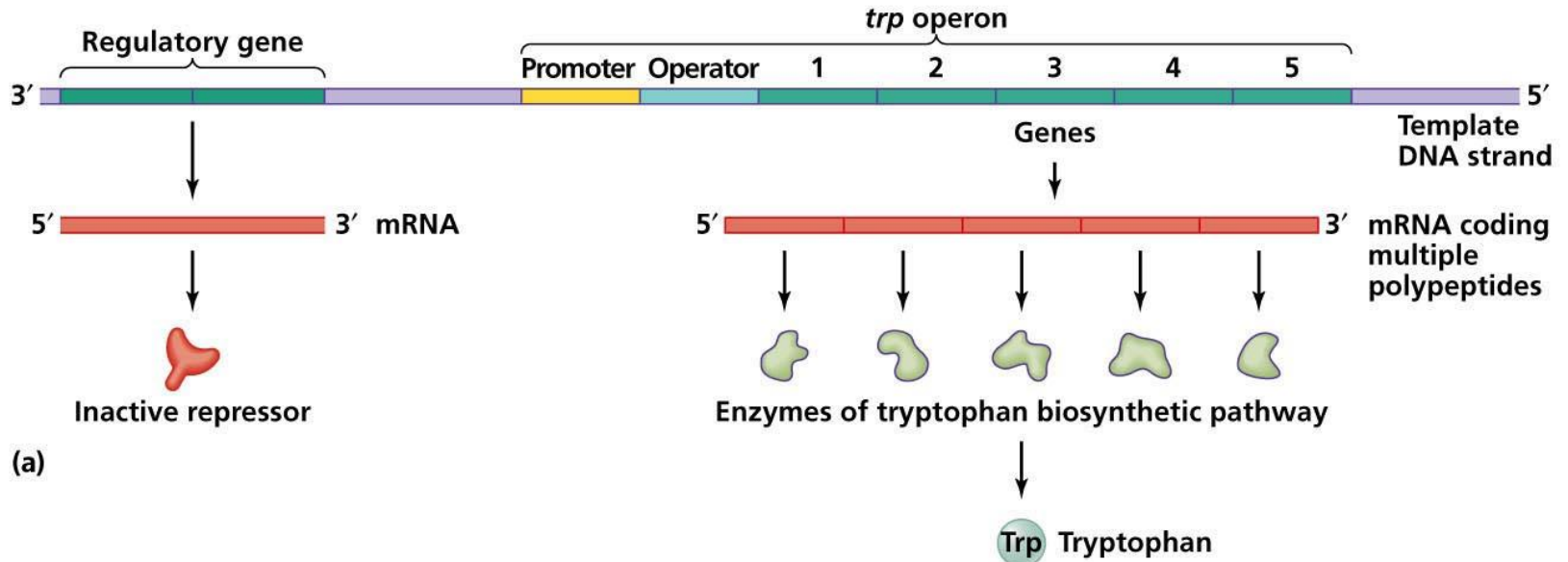


Механизм работы лактозного оперона

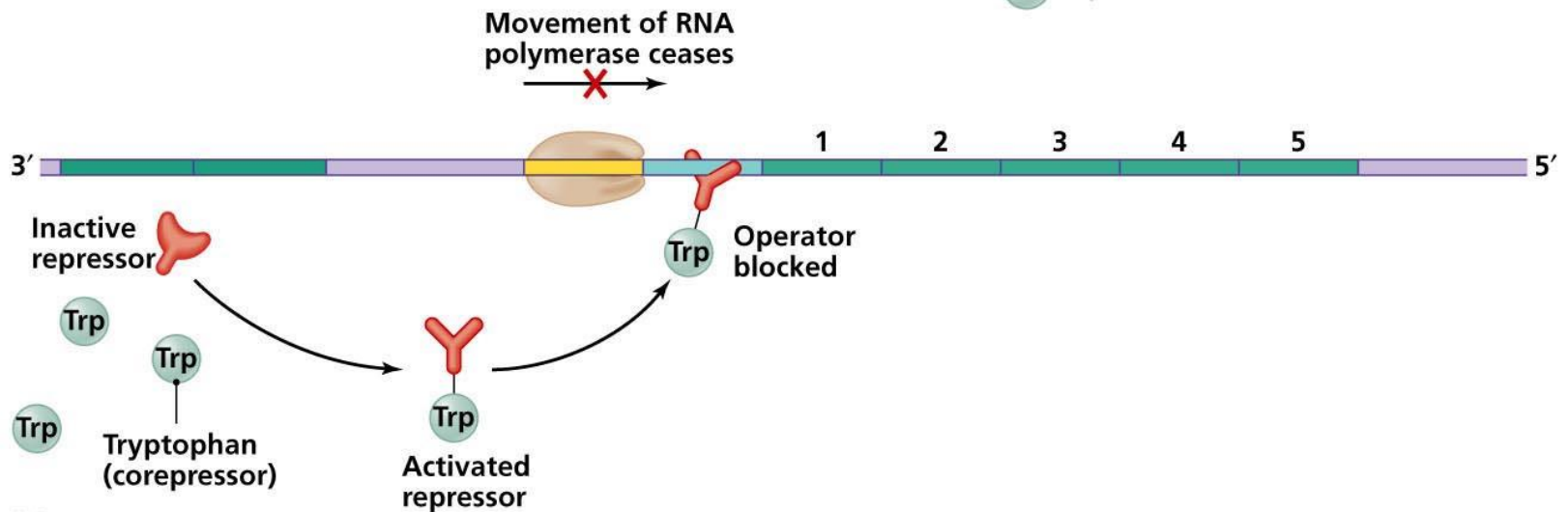
- a) В отсутствие индуктора (лактозы) белок-репрессор связан с оператором. РНК-полимераза не может присоединиться к промотору, транскрипция структурных генов оперона не идёт
- b) В присутствии лактозы белок-репрессор присоединяет её, изменяет свою конформацию и теряет сродство к оператору. РНК-полимераза связывается с промотором и транскрибирует структурные гены.



Репрессия синтеза белков. Триптофановый оперон.



(a)



(b)

Репрессия синтеза белков. Триптофановый оперон.

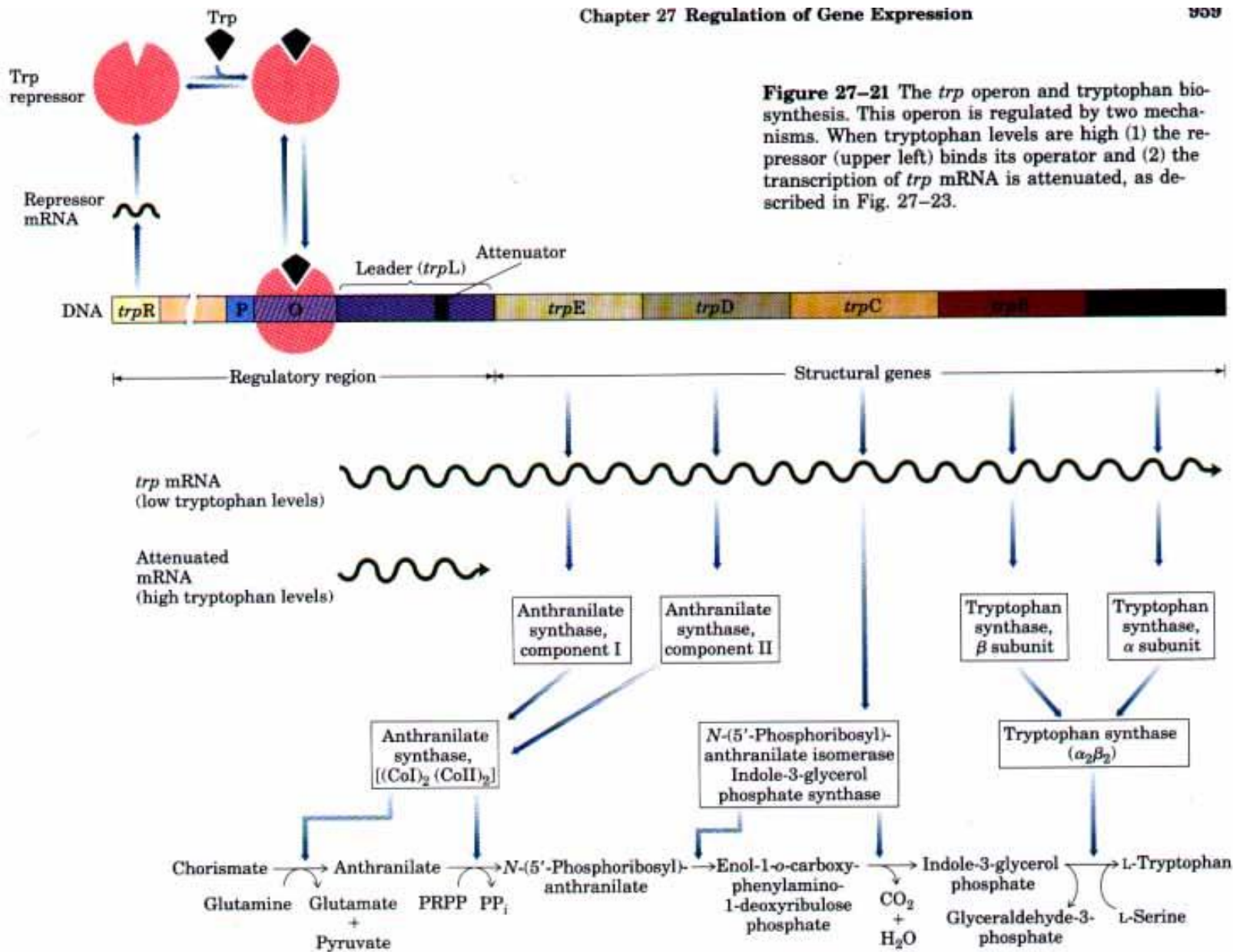
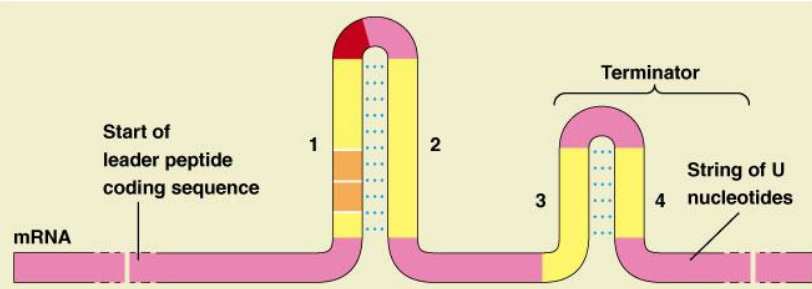


Figure 27-21 The *trp* operon and tryptophan biosynthesis. This operon is regulated by two mechanisms. When tryptophan levels are high (1) the repressor (upper left) binds its operator and (2) the transcription of *trp* mRNA is attenuated, as described in Fig. 27-23.

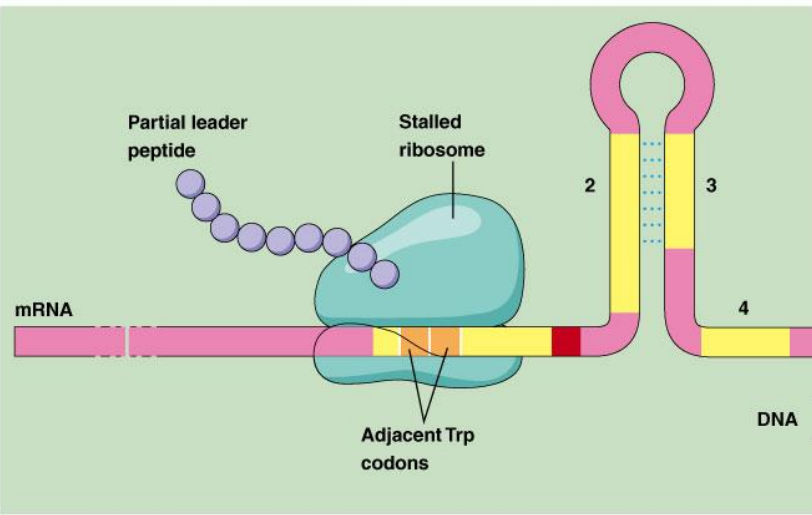
Репрессия синтеза белков. Триптофановый оперон.

- Выше описана система регуляции триптофанового оперона по принципу вкл/выкл.
- Эта система реагирует на различные концентрации триптофана, изменяя скорость синтеза ферментов биосинтеза в 700-кратном диапазоне
- Как только репрессия ослабляется и начинается транскрипция, скорость транскрипции регулируется вторым более тонким регуляторным процессом называемым **транскрипционная аттенюация** (*transcription attenuation - транскрипционное ослабление*).
- Транскрипционная аттенюация описана как процесс, в котором транскрипция инициируется как обычно, но резко останавливается перед транскрибирующимся опероном генов.
- Частота, с которой транскрипция «ослабляется» зависит от имеющейся концентрации триптофана.
- Основой данного механизма, разработанной Чарльзом Янофски, является очень сильная связь между транскрипции и трансляции у бактерий.

Репрессия синтеза белков. Триптофановый оперон.

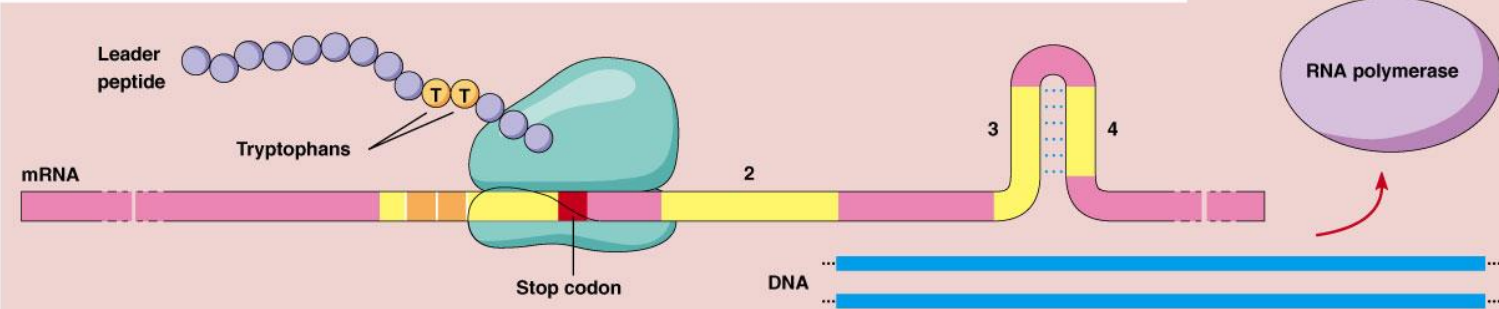


(a) The most stable secondary structure for *trp* leader mRNA. Attenuation depends on the ability of regions 1 and 2 and regions 3 and 4 of the *trp* leader sequence to base-pair, forming hairpin secondary structures. The 3–4 hairpin structure acts as a transcription termination signal.



(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 termination hairpin is created, which prevents formation of the 3–4 termination hairpin. Therefore RNA polymerase can move on to transcribe the entire operon.

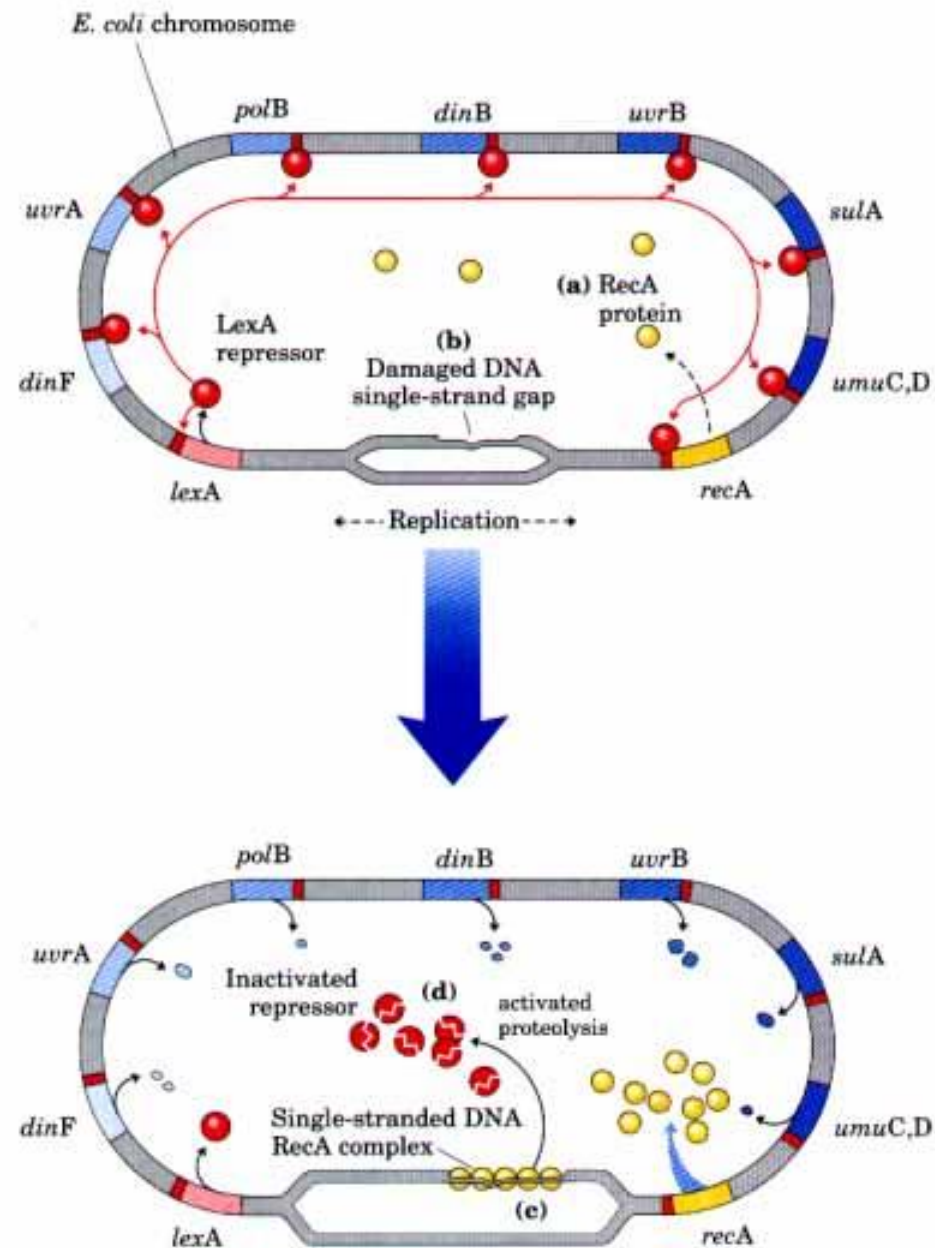
(c) When tryptophan is plentiful the ribosome continues, allowing the 3–4 transcription termination signal to form. The moving ribosome completes translation of the leader peptide and pauses at the stop codon, blocking region 2. As a result, the 3–4 structure forms and terminates transcription near the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



В лидерном пептиде фенилаланинового оперона среди 15 остатков 7 остатков фенилаланина, а в лидерном пептиде гистидинового оперона — 7 подряд остатков гистидина.

Клеточный SOS-ответ

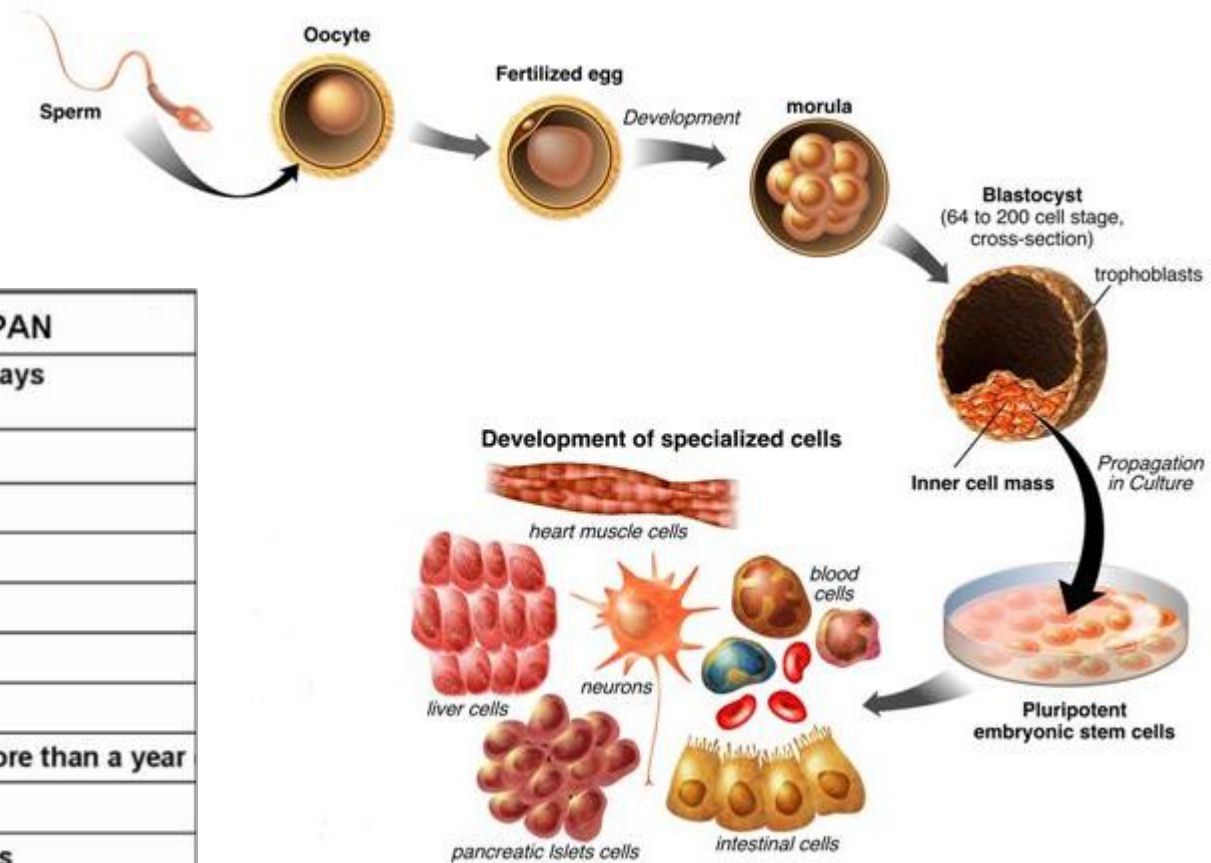
- SOS-ответ представляет собой индуцируемую реакцию клеток на резкую остановку синтеза ДНК, вызванную повреждением ДНК, голоданием клетки или другими стрессовыми факторами.
- Это реакция клетки на критическое состояние, приближающее ее к гибели.
- Ключевыми регуляторными элементами являются
 - Репрессор LexA регулирующий транскрипцию всех SOS генов
 - Белок RecA способный связываться с одноцепочечной ДНК
 - Комплекс RecA-ssDNA приводит к индукции SOS ответа, способствуя удалению LexA путём его авторасщепления на два белковых фрагмента



Часть 2. Регуляция активности генов у эукариотов

Зачем нужна регуляция эукариотам?

В организме человека имеется более 200 различных типов клеток, существенно различающихся по структуре и функциям

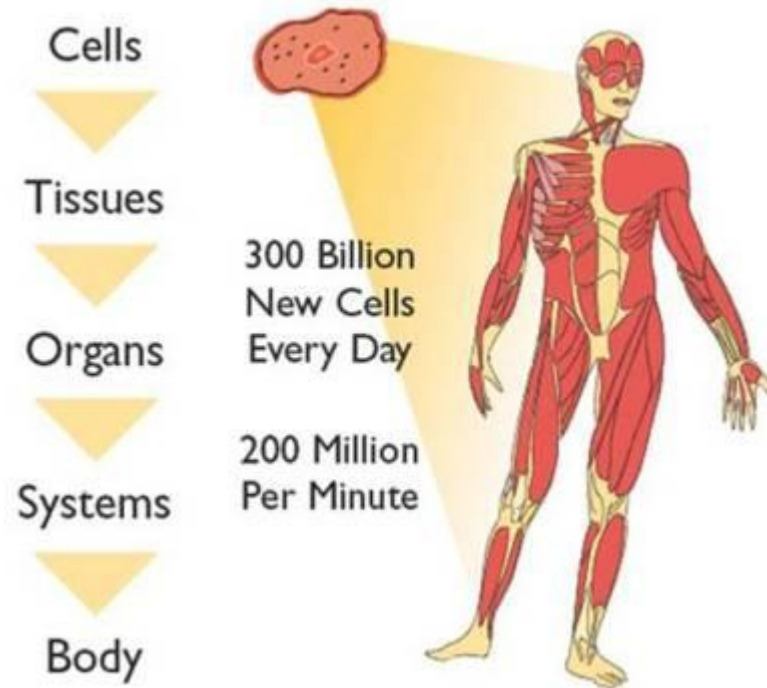


CELL TYPE	LIFESPAN
Granulocytes: eosinophils, basophils, neutrophils	10 hours to 3 days
Stomach lining cells	2 days
Sperm cells	2 to 3 days
Colon cells	3 to 4 days
Epithelia of small intestine	Up to 1 week
Platelets	10 days
Skin epidermal cells	2 to 4 days
Lymphocytes	2 months to more than a year
Red blood cells	4 months
Macrophages	Months to years
Endothelial cells	Months to years
Pancreas cells	1 year or more
Bone cells	25 to 30 years

Зачем нужна регуляция эукариотам?

Количество клеток в организме человека

— около 100.000.000.000.000 (100 триллионов , или 10^{14}).

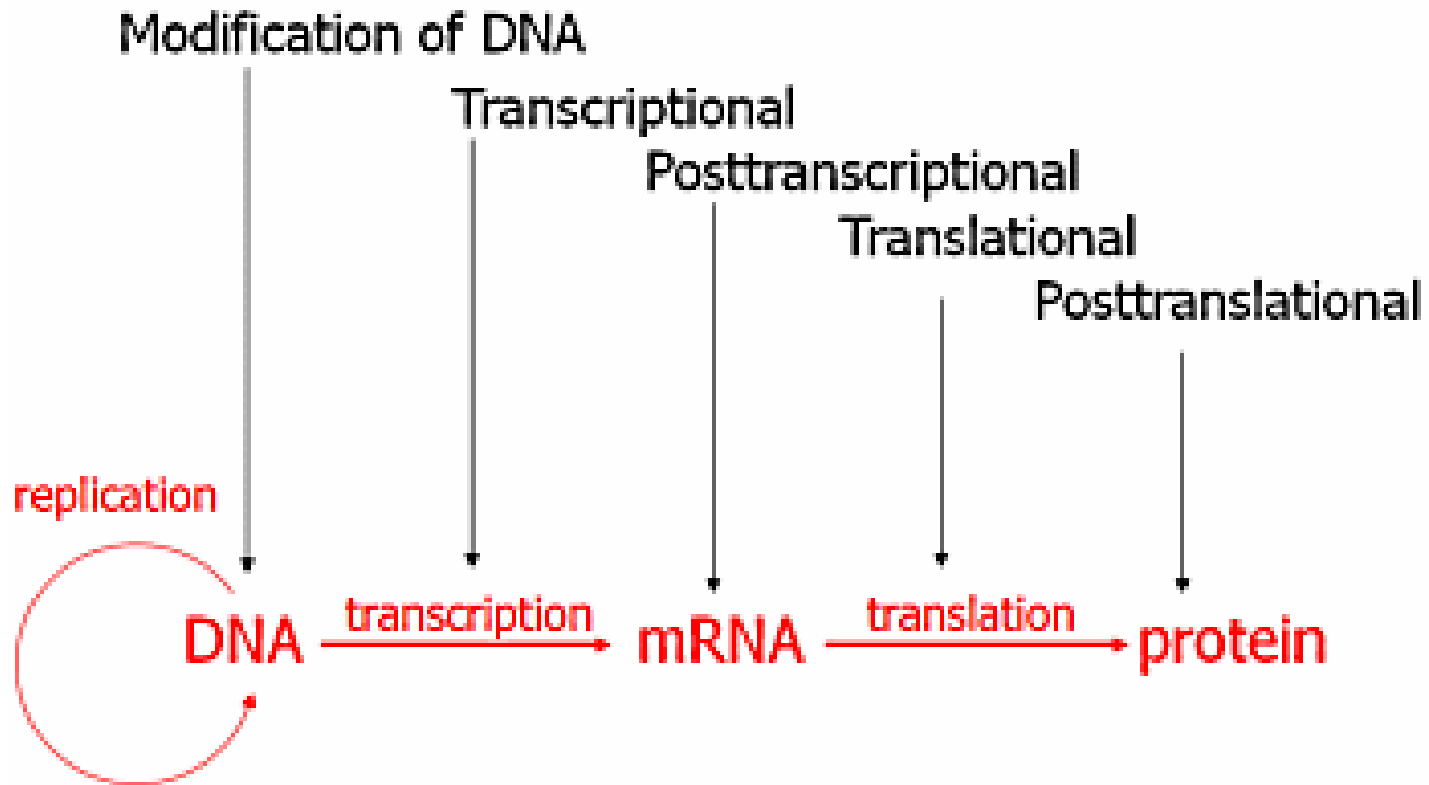


- При рождении человека в мозгу насчитывается около 14 миллиардов клеток.
- Это количество не увеличивается до самой смерти.
- После того, как человеку исполняется 25 лет, ежедневно происходит сокращение количества клеток мозга на 100 тысяч.

Разница между прокариотами и эукариот

	Прокариоты	Эукариоты
Структура генома	Простая, в основном кольцевой геном	Организован в хромосомы, нуклеосомная структура определяет доступность ДНК
Размер генома	Относительно небольшой	Относительно большой
Локализация транскрипции и трансляции	Совмещённая	Ядерная транскрипция и цитоплазматическая трансляция
Организация генов	Оперонная	Оперонов в эукариотах не найдено. Каждый ген имеет собственный промотор и регулирующие элементы
Статус транскрипции по умолчанию	Вкл	Выкл

Типы регуляции экспрессии генов эукариот



Транскрипционная регуляция экспрессии генов эукариот

Транскрипционная регуляция включает в себя механизмы предотвращающие синтез мРНК.

Организация и статус хроматина

- Модификации гистонов
- ДНК-метилирование

Транскрипционные факторы

- Энхансеры
- Сайленсеры
- Инсуляторы

Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов эукариот

Посттранскрипционная регуляция включает в себя механизмы контролирующие или регулирующие мРНК после синтеза.

- **Альтернативный сплайсинг**
- **Скорость транспорта мРНК через ядерную мембрану**
- **Время жизни мРНК**

Трансляционная регуляция экспрессии генов эукариот

- **Трансляционная регуляция** включает в себя механизмы предотвращающие синтез белка.
- Как правило, очень часто речь идет о белковых факторах необходимых для трансляции
 - **Предотвращение рибосом от связывания с мРНК**
 - **Факторы инициации трансляции**

Посттрансляционная регуляция экспрессии генов эукариот

- **Посттрансляционная регуляция** включает в себя механизмы действующие на белок после его синтеза.
- **Активация белков**
 - Некоторые белки не активны после синтеза, они должны пройти посттрансляционные модификации
 - Много белков активируются после фосфорилирования
- **Feedback Control**
 - Некоторые ферменты в метаболических путях могут быть негативно ингибированы продуктами этого же пути
- **Деградация белков**

Модификации ДНК

1. Амплификация генов
2. Перестройка генов
(иммуноглобулиновые гены)
3. Транспозоны

