

Регуляция экспрессии генов в развитии

...of all factors that regulate gene expression, such as transcription factors, enhancers, and silencers, are encoded in the DNA sequence. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression.

Chemically, DNA consists of a sugar-phosphate backbone and a nitrogenous base. The sugar-phosphate backbone is composed of deoxyribose sugar and phosphate groups. The nitrogenous base is composed of a purine or pyrimidine ring system. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression.

...of all factors that regulate gene expression, such as transcription factors, enhancers, and silencers, are encoded in the DNA sequence. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression.



...of all factors that regulate gene expression, such as transcription factors, enhancers, and silencers, are encoded in the DNA sequence. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression.

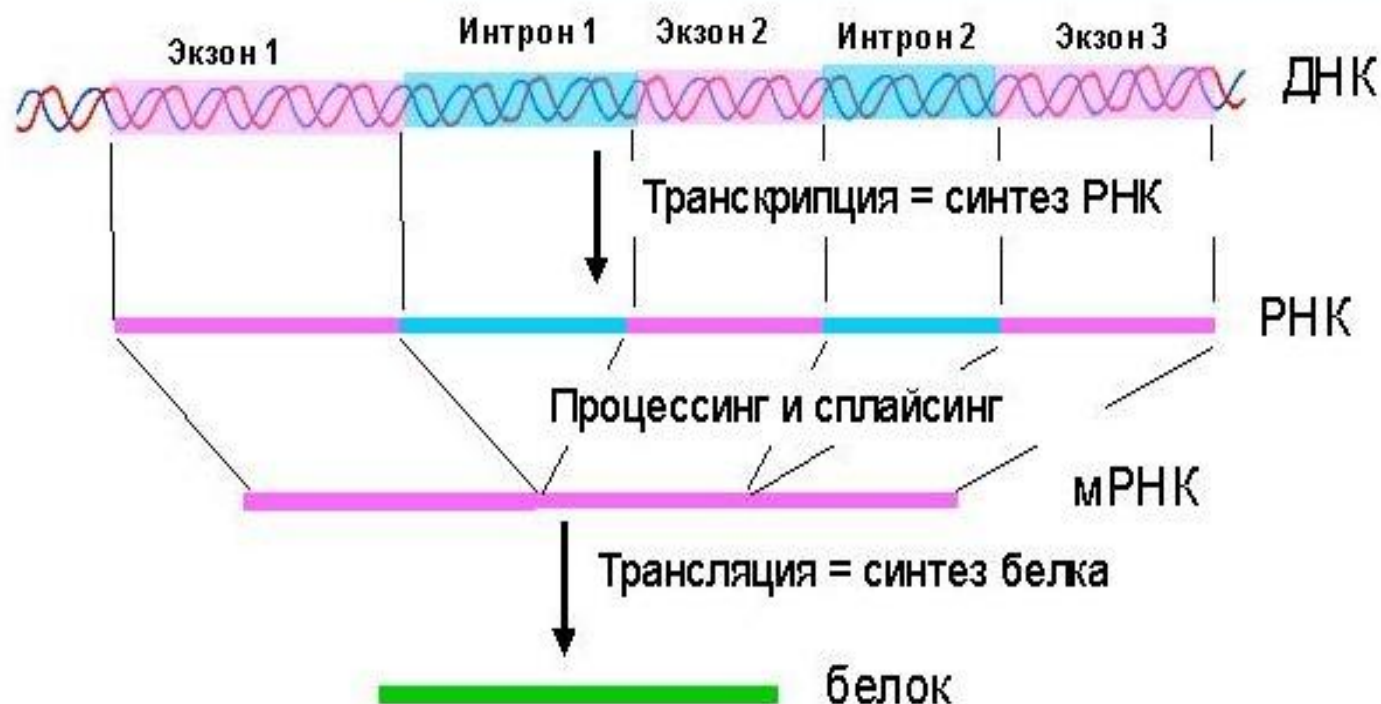
...of all factors that regulate gene expression, such as transcription factors, enhancers, and silencers, are encoded in the DNA sequence. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression.

...of all factors that regulate gene expression, such as transcription factors, enhancers, and silencers, are encoded in the DNA sequence. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression. The DNA sequence is the primary determinant of gene expression, and the DNA sequence is the primary determinant of gene expression.

Экспрессия генов



- фундаментальный процесс, лежащий в основе жизнедеятельности организма. Он включает в себя ряд последовательных молекулярных стадий: подготовка матрицы хроматина, транскрипция ДНК, созревание мРНК и формирование рибонуклеопротеиновых частиц, их внутриклеточный транспорт и трансляция на рибосомах. Каждая из указанных стадий контролируется определенным набором факторов - молекулярных машин, которые обычно представлены мультисубъединичными белковыми комплексами. Взаимодействие и согласованное привлечение различных факторов обеспечивает координацию отдельных этапов в единый процесс и точный контроль активности генов.



Экспрессия генов - последовательность реакций на пути от гена к белку = процесс передачи информации от ДНК к белку.

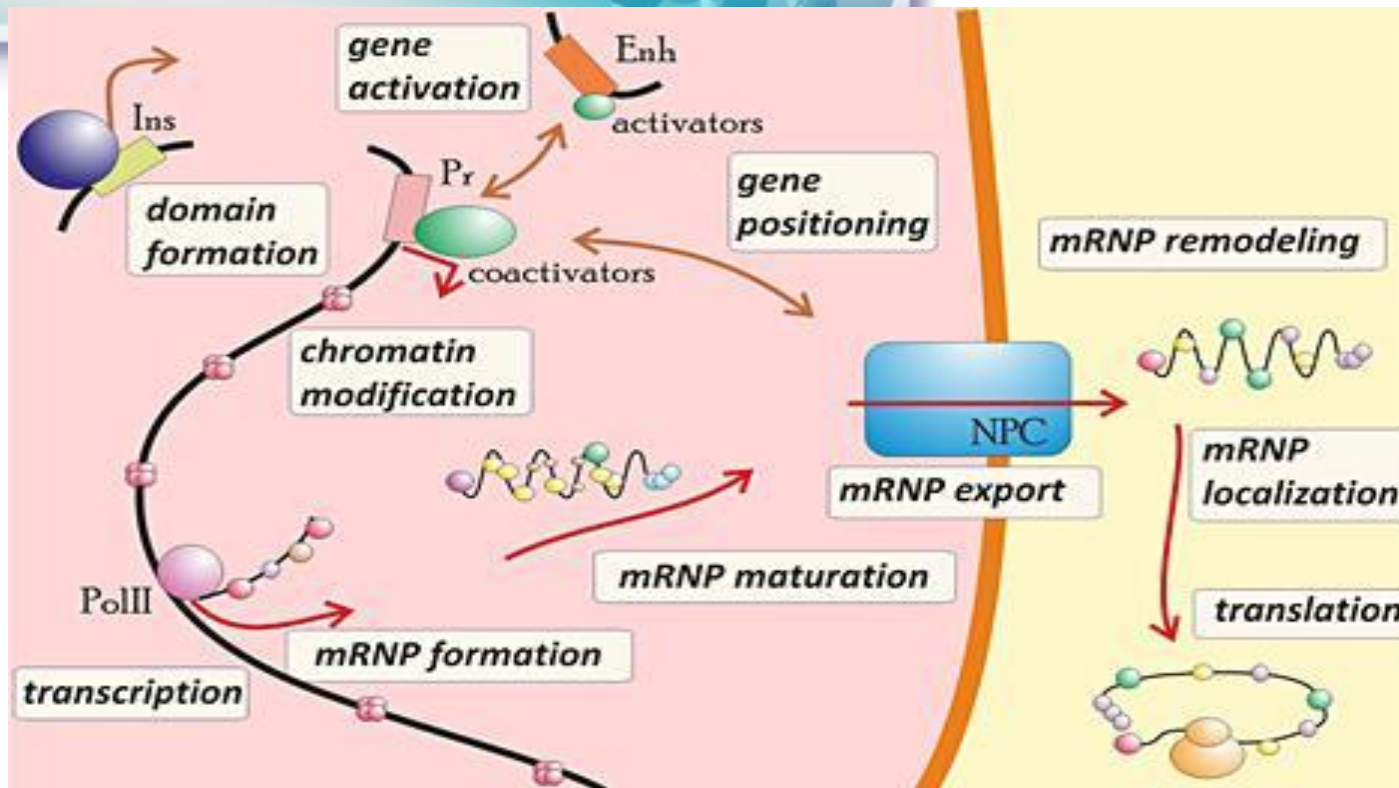
Транскрипция - синтез РНК. Образуется незрелая РНК, содержащая участки, соответствующие экзонам и интронам

Процессинг - вырезание участков, соответствующих интронам,

Сплайсинг - сшивание участков РНК, транскрибируемых с экзонов в результате чего образуется матричная РНК

Трансляция - синтез белка в цитоплазме клетки при участии рибосом

Основные этапы процесса экспрессии гена



Активность гена контролируется регуляторными элементами, энхансерами (Enh) и инсуляторами (Ins). Инсуляторы формируют домен активной транскрипции на хроматиновой фибрилле. Энхансер привлекает активаторы, которые обеспечивают последующее привлечение коактиваторов на промотор (Pr), модификацию и ремоделирование структуры хроматина и запуск активной транскрипции. Активность гена также определяет его локализацию внутри ядра. РНК-полимераза II синтезирует мРНК, которая формирует рибонуклеопротеиновые частицы (мРНП). мРНП созревают в нуклеоплазме и экспортируются в цитоплазму. Состав мРНП изменяется в цитоплазме, они транспортируются внутри клетки и транслируются.



- Известно, что гены определяют структуру всех молекул, из которых состоят клетки живых организмов, контролируют все метаболические процессы и содержат программу развития организма.
- В каждый момент времени любая клетка, от бактериальной до человеческой, использует лишь часть своих генов для синтеза определенных продуктов.
- Невозможна ситуация, когда все гены клетки работают одновременно. Мы говорим, что те гены, которые экспрессируются - *включены*, а те, которые не экспрессируются – *выключены*. Это означает, что экспрессия генов регулируется.



- В то же время известно, что в ходе индивидуального развития многоклеточного организма из оплодотворенной яйцеклетки образуются разнообразные типы клеток, входящих в состав определенных тканей. Но все клетки, как правило, несут *один и тот же набор генов*. В основе этого лежит *выборочное* использование генов, то есть *регуляция* генов.
- Но разных стадиях дифференцировки клетки, руководствуясь лишь отчасти внешними сигналами, избирательно используют тот или иной набор генов, что определяет пути их развития.



- Экспрессия гена регулируется не только в ходе онтогенеза, но также и в течении жизни дифференцированной клетки. Например, клетки кожи под действием солнечного ультрафиолетового облучения вырабатывают пигмент меланин. Структура гена, отвечающего за синтез пигмента, не изменяется в ответ на обучение, просто внеклеточный сигнал – ультрафиолетовые лучи включает этот ген.

Регуляция работы генов у прокариот



Схема регуляции транскрипции у прокариот была предложена Ф. Жакобом и Ж. Моно в 1961 году на примере лактозного оперона.



Ж.Моно



Ф.Жакоб

Метаболизм лактозы в клетке *E.coli*

LacZ: β -галактозидаза

расщепляет лактозу на глюкозу и галактозу.

LacY: β -галактозидпермеаза переносит лактозу через мембрану клетки.

LacA: тиогалактозидтрансацилаза ацетилирует галактозу.

Lactose metabolism in *E. coli*

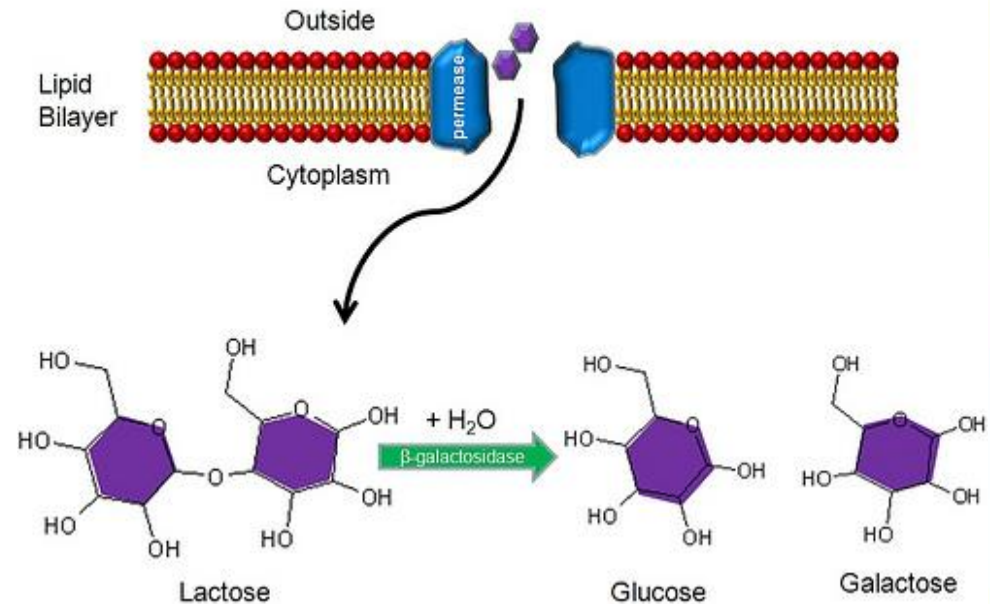
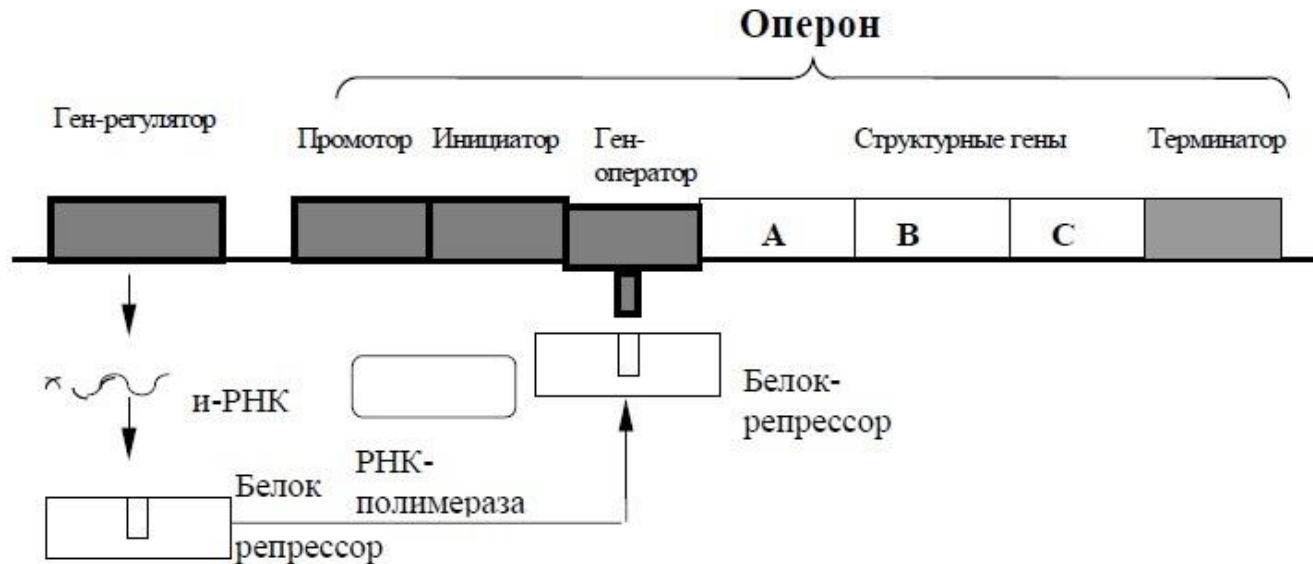


Схема регуляции транскрипции у прокариот (Оперон "не работает«)

Слайд 10



Оперон – группа тесно сцепленных генов, находящихся под контролем общего промотора и общего оператора и транскрибируемых как единая мРНК.

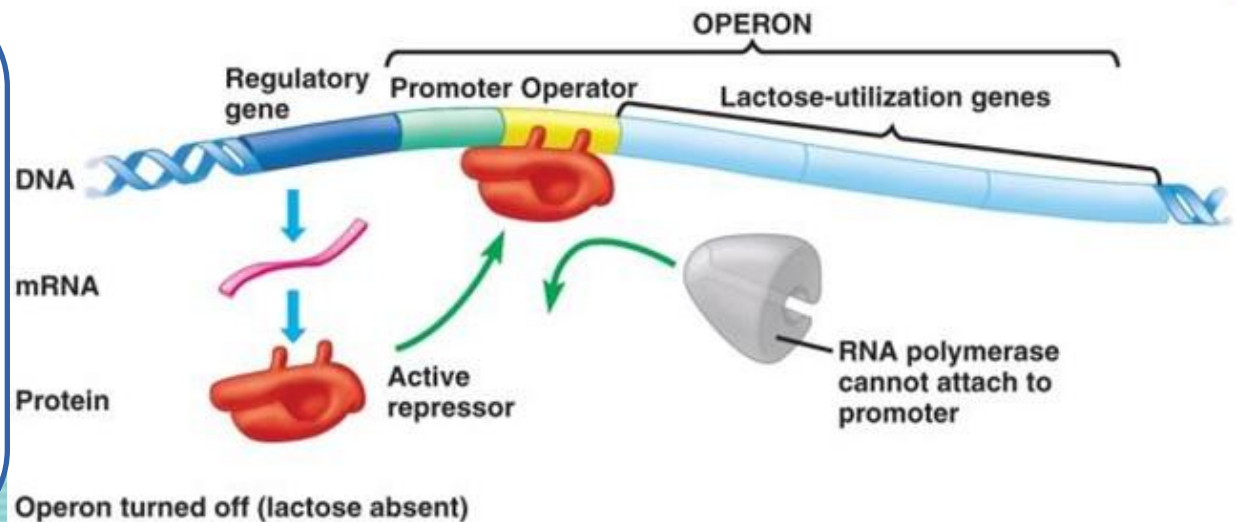
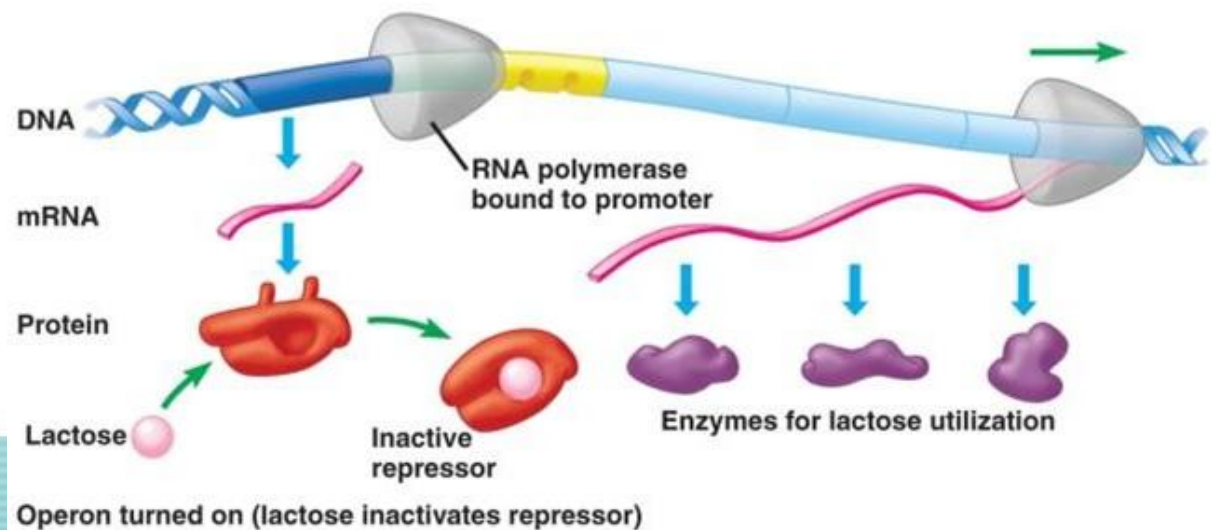
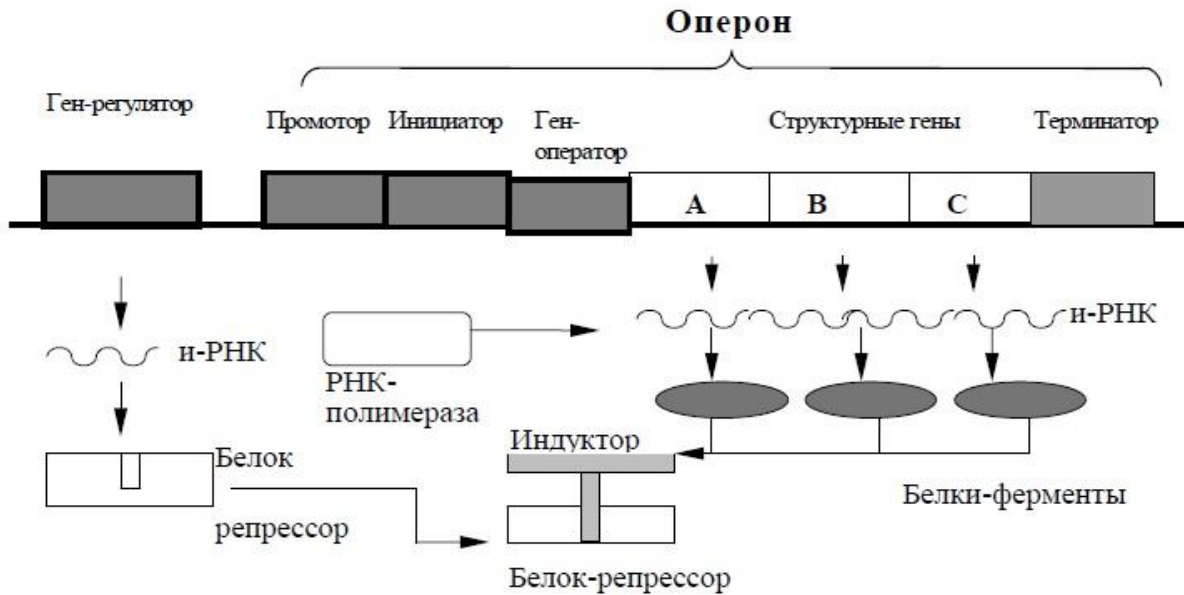


Схема регуляции транскрипции у прокариот (Оперон "работает")

Слайд 11



Регуляция транскрипции генов прокариот

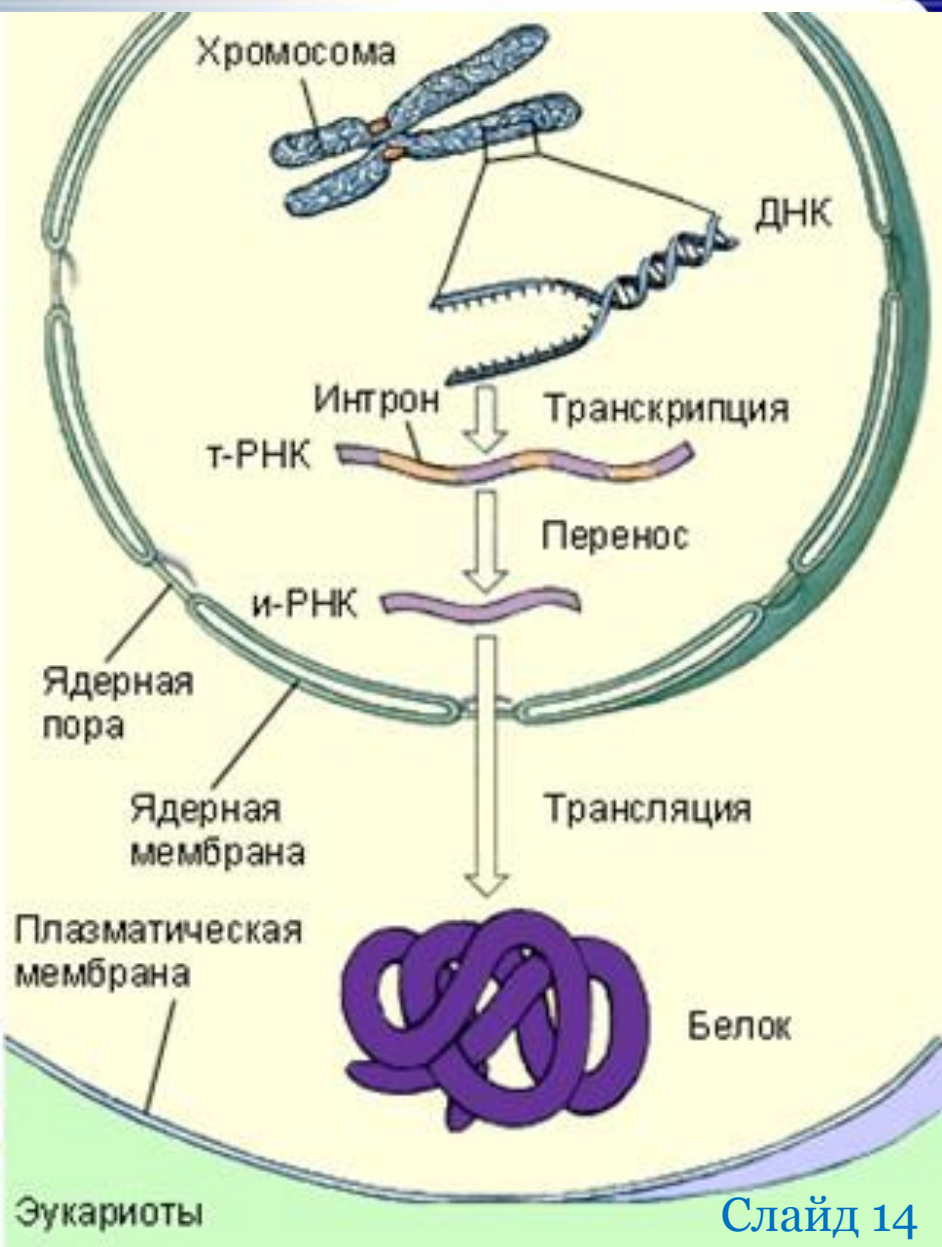
- Осуществляется с помощью регуляторных белков.
- Регулируемые гены содержат в лидерной части гена дополнительные элементы, с которыми связываются регуляторные белки.
- Регуляция может быть негативной (осуществляется белками-репрессорами) или позитивной (осуществляется белками-активаторами).



В регуляции могут принимать участие низкомолекулярные соединения

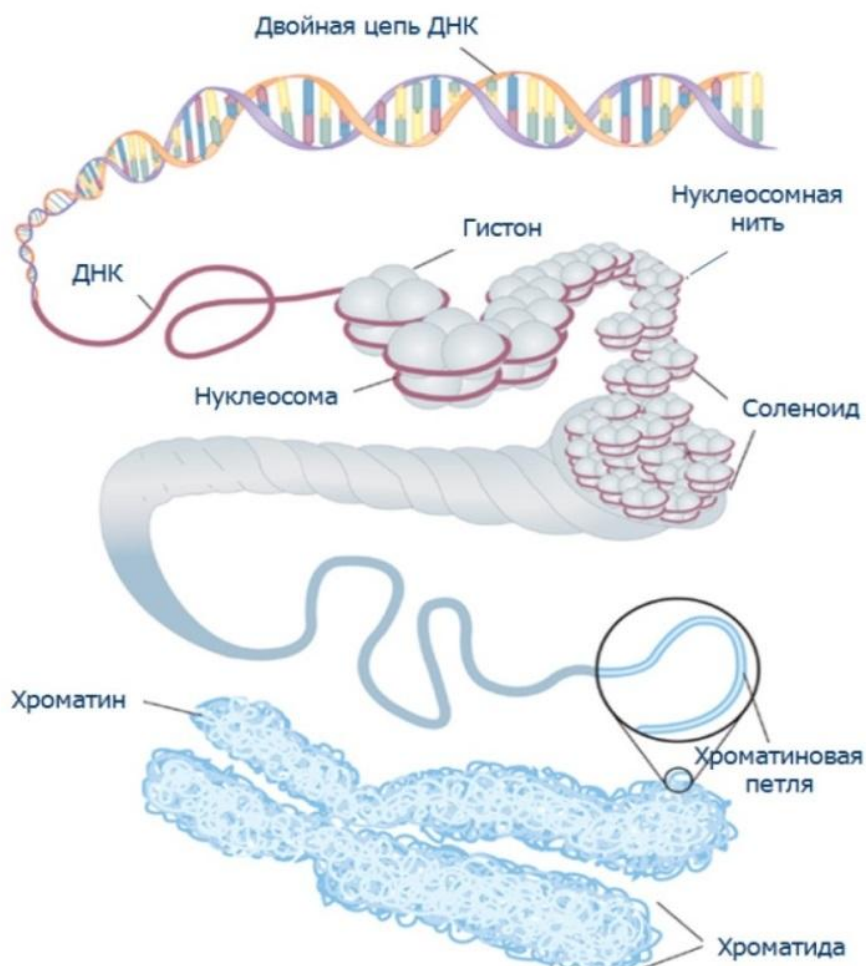
Индуктор – небольшая молекула, которая запускает транскрипцию в результате взаимодействия с регуляторным белком - репрессором. Такая система регуляции называется индуцибельной.

Корепрессор – небольшая молекула, которая запускает репрессию в результате взаимодействия с неактивным белком-репрессором, который переходит в активную форму. Такая система регуляции называется репрессибельной.



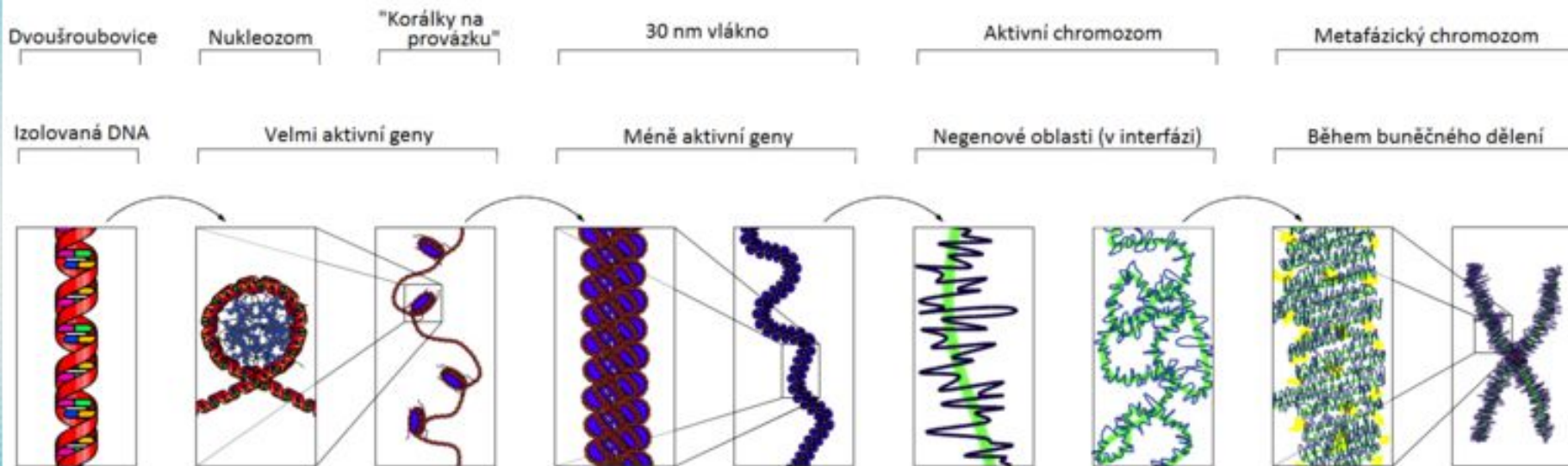
Экспрессия у прокариот и эукариот

Организация хроматина

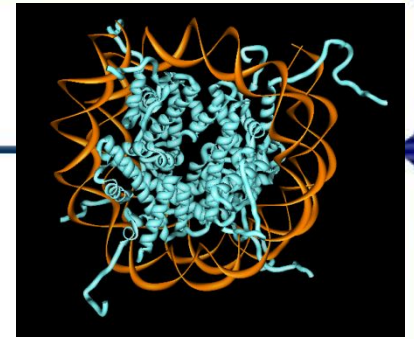


В ядрах дифференцированных клеток хроматин имеет такую укладку, что только небольшое число генов (часто менее 1%) доступно для транскрипции. Различают участки гетерохроматина, в которых ДНК упакована очень компактно и недоступна для транскрипции, и участки эухроматина, имеющие более рыхлую укладку и способные связывать РНК-полимеразу. В разных типах клеток в область эухроматина попадают разные гены, а это означает, что в разных тканях транскрибируются разные участки хроматина.

Структура хроматина

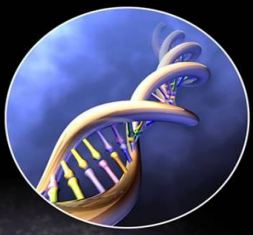


Стойкая репрессия генов гетерохроматина



обеспечивается:

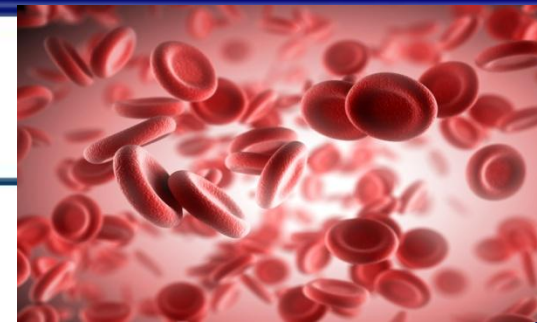
- пространственной укладкой ДНК, при которой гетерохроматин находится в высококонденсированном состоянии;
- метилированием дезоксицитидина ДНК-метилазами в 5'-CG-3' последовательностях ДНК. Эта модификация сильно меняет конформацию хроматина и препятствует активной транскрипции;
- связыванием с гистонами и образованием нуклеосом, которые также снижают транскрипционную активность ДНК.



Разный набор и количество белков в эукариотических клетках может регулироваться:

- изменением количества структурных генов;
- перестройкой генов в хромосомах;
- эффективностью транскрипции разных участков генома;
- характером посттранскрипционных модификаций первичных транскриптов;
- на уровне трансляции;
- с помощью посттрансляционных превращений вновь синтезированных полипептидных цепей.

Изменение количества генов



Амплификация (или увеличение числа) генов используется организмом в том случае, когда возникает необходимость увеличить синтез определённого генного продукта.

Утрата генетического материала - довольно редкий способ регуляции. Наиболее яркий пример потери всех генов за счёт разрушения ядра - процесс созревания эритроцитов.



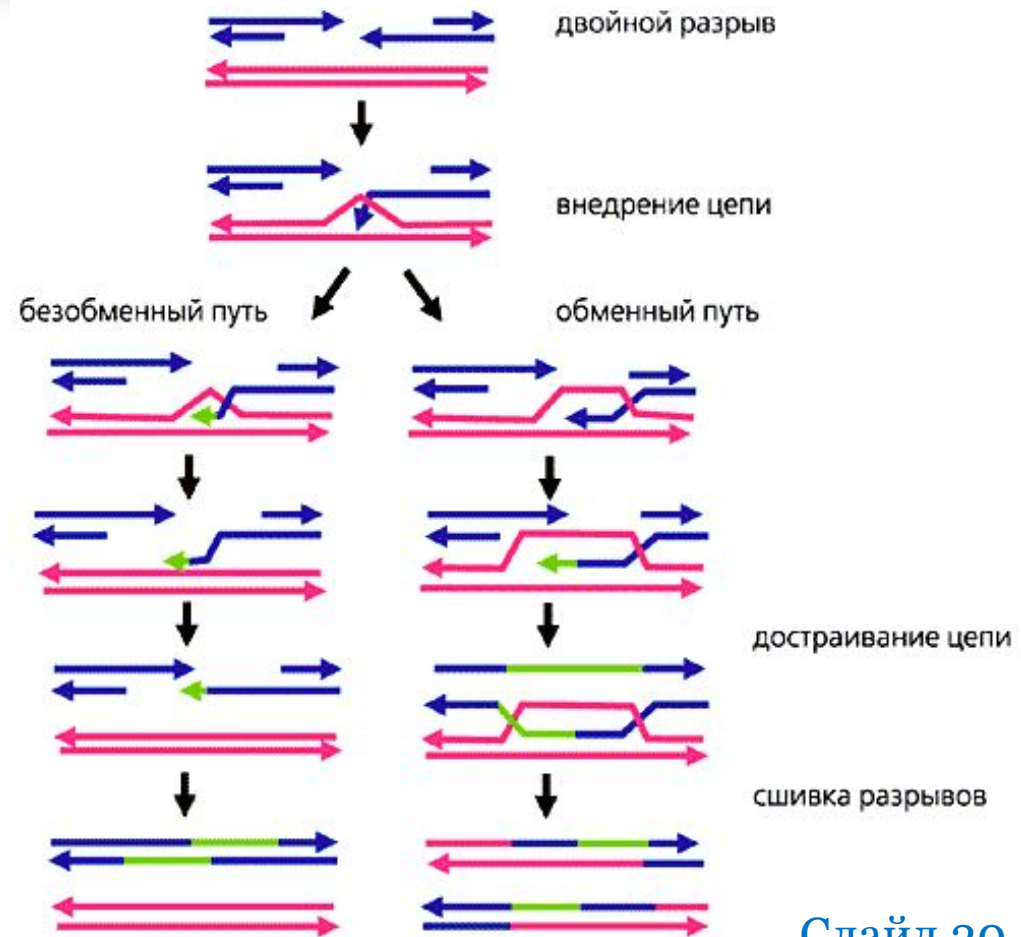
Перестройка генов. У высших организмов, так же как и у прокариотов, отмечают процесс обмена, перемещения генов между хромосомами или внутри хромосомы, объединение генов с образованием изменённой хромосомы, которая после таких структурных изменений способна к репликации и транскрипции. Этот процесс получил название "**генетическая рекомбинация**".

Генетическая рекомбинация



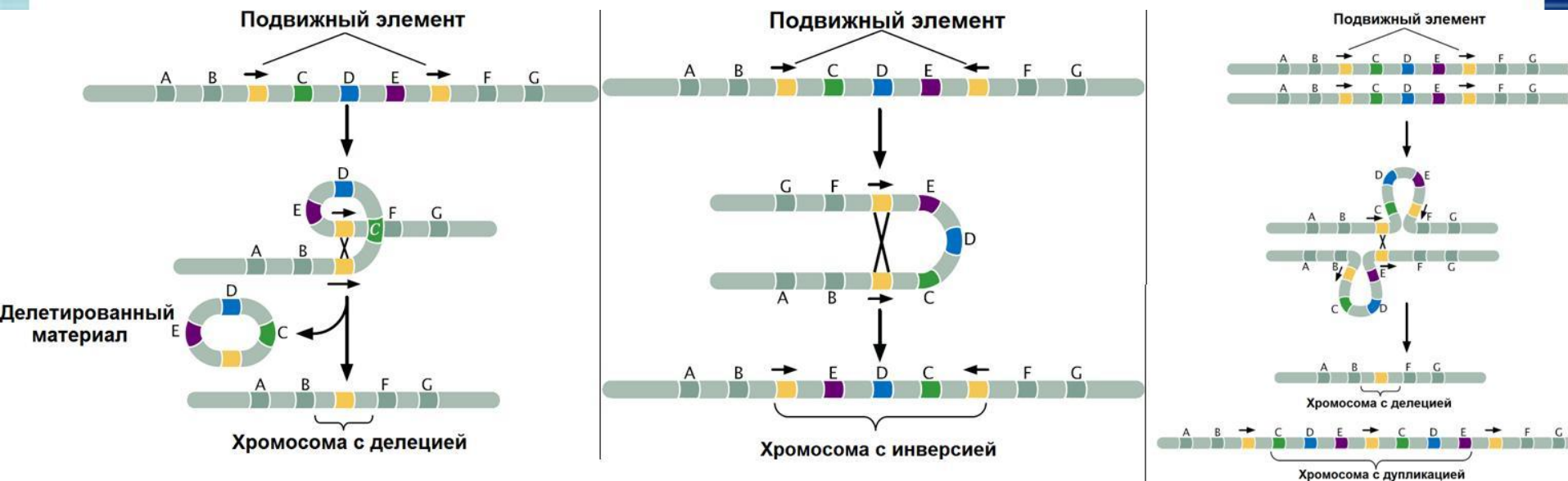
У эукариотов рекомбинации наблюдают:

- при половом слиянии яйцеклетки и сперматозоида;
- при перемещении подвижных генетических элементов - транспозонов, в состав которых входят отдельные гены или группа генов, с исходной позиции в какое-либо другое место той же или другой хромосомы;
- при формировании в лимфоцитах "библиотеки" генов, кодирующих антитела или иммуноглобулины.



Рекомбинация в результате МГЭ (мобильных генетических элементов)

Слайд 21



Идентифицировано более 100 различных белков, способных взаимодействовать со специфическими регуляторными последовательностями ДНК, влияя главным образом на процесс сборки транскрипционного комплекса и скорость транскрипции.

Слайд 22

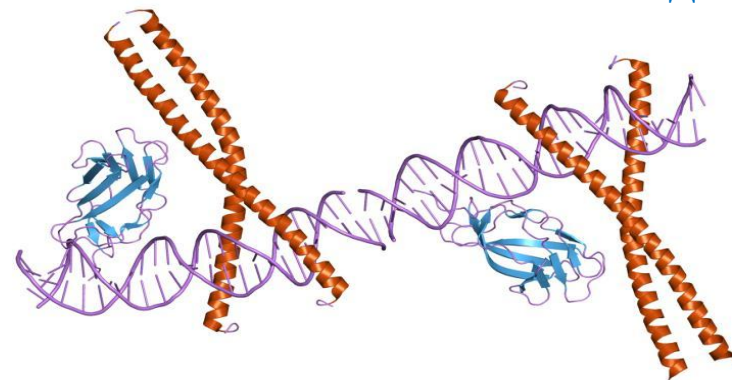
Эти белки имеют один или несколько доменов, обеспечивающих выполнение регуляторных функций.

ДНК-связывающие домены, ответственные за узнавание и связывание регуляторных факторов со специфическими участками на молекуле ДНК;

Домены, активирующие транскрипцию за счёт связывания с белками основного инициаторного комплекса: транскрипционными факторами, коактиваторами и РНК-полимеразой;

Антирепрессорные домены, благодаря которым белки способны взаимодействовать с гистонами нуклеосом и освободить транскрибируемые участки ДНК от связи с этими ингибиторными структурами;

Домены, связывающие лиганды, присоединение которых к белку изменяет его конформацию и обеспечивает связывание с молекулой ДНК.





Георгиев Георгий Павлович

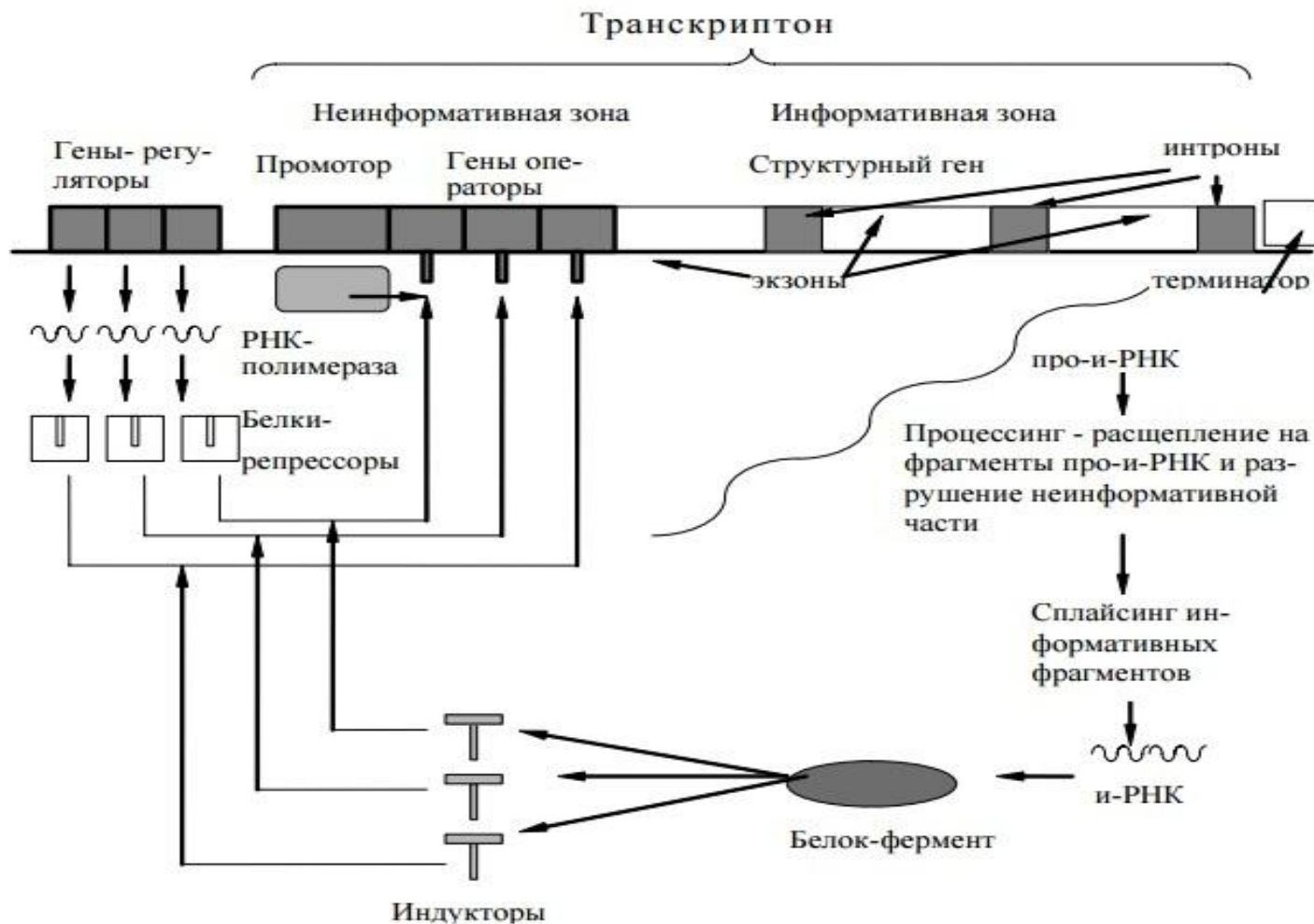
(род. 1933)

— советский и российский ученый биохимик и молекулярный биолог, академик РАН. Основатель и директор Института биологии гена РАН. Открыл мобильные генетические элементы у животных.

Схема регуляции транскрипции у эукариот разработана Георгием Павловичем Георгиевым в **1972** году.

Схема регуляции транскрипции у эукариот

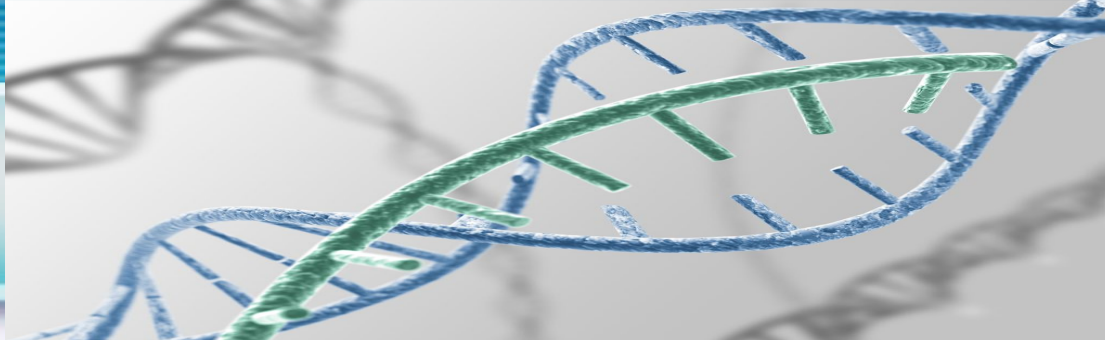
Слайд 24



Принцип регуляции (обратная связь) сохраняется, но механизмы ее более сложные. Единица транскрипции у эукариот называется **транскриптоном**. Он состоит из неинформативной (акцепторной) и информативной (структурной) зон. **Неинформативная зона** начинается **промотором** с **инициатором**. Далее следуют группа **генов-операторов**, за которыми расположена информативная зона. **Информативная зона** образована структурным геном, разделенным на **экзоны** (информативные участки) и **интроны** (неинформативные участки). Заканчивается транскриптон **терминатором**.

Регуляция экспрессии генов на посттрансляционном уровне многообразна

1. Стабильность полипептидов в клетках зависит от протеаз, играющих важную регуляторную роль. Они осуществляют процессинг при их секреции и транспорте через мембраны, превращают неактивные пре-белки в активные белки, отщепляют N-концевой формилметионин и т.д.
2. Протеазы гидролизуют нефункциональные, денатурированные, испорченные в процессе работы белки и мультиферментные комплексы.
3. Специальные белки-шапероны обеспечивают правильную третичную структуру белков.
4. Специальные ферментные системы осуществляют модификацию белков, добавляя или удаляя химические группы. Эти изменения в структуре и функции белков являются чувствительным методом клеточной регуляции. Реакции модификации включают фосфорилирование, ацетилирование, метилирование, аденилирование, рибозилирование, убиквитинирование и т.д. В большинстве случаев модификация белков является обратимой.



Эукариотические клетки содержат три различные РНК-полимеразы

РНК-полимераза I – синтез рибосомных РНК (рРНК).

РНК-полимераза II – синтез матричной РНК (мРНК) и большую часть небольших ядерных РНК (snРНК).

РНК-полимераза III – синтез транспортных РНК (тРНК) и 5S-рибосомной РНК (5SRНК).

Энхансеры и сайленсеры

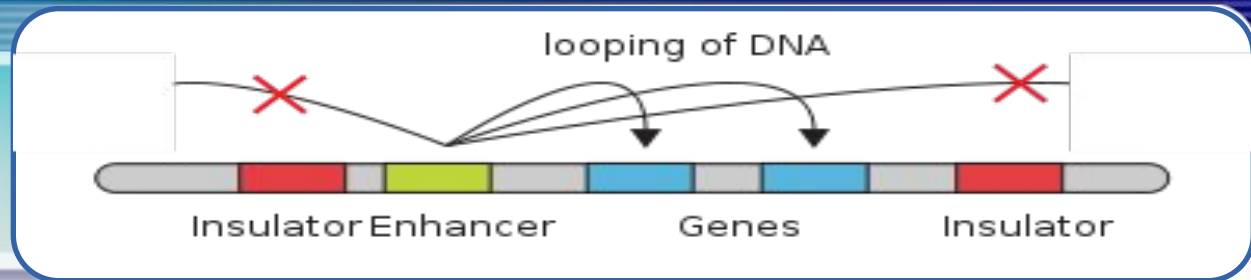
Энхансеры - участки ДНК вне промотора.

Связываются с различными факторами транскрипции и усиливают транскрипцию определенных генов.

Энхансеры могут располагаться на расстоянии до 10 тпн от промотора, а также после него.

Сайленсеры - регуляторные элементы ДНК, ингибирующие транскрипцию с использованием белков-репрессоров. При этом происходит прямое подавление инициации транскрипции путем разрушения транскрипционного комплекса на промоторе

Инсуляторы



— последовательности ДНК, особые регуляторные элементы, которые обладают способностью блокировать сигналы, исходящие от окружения. Эта функция инсуляторов включает две активности.

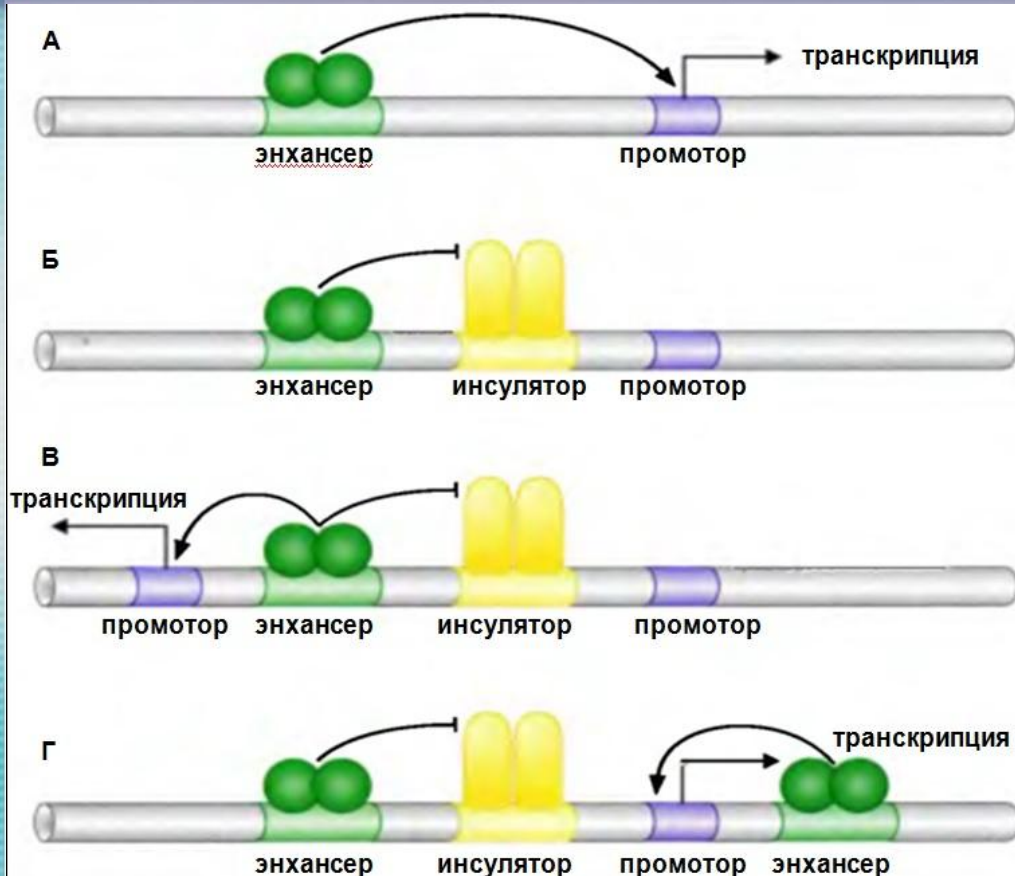
Во-первых, они блокируют взаимодействие между энхансером и промотором, если находятся между ними. Введение инсулятора между При этом инсулятор выполняет только разделительную функцию и не влияет на активность энхансера и промотора по отдельности.

Во-вторых, инсулятор выполняет барьерную функцию для распространения конденсации Х. Показано, что инсуляторы могут разделять два участка Х, различающиеся по степени компактизации.

Энхансеры не обладают специфичностью действия, следовательно, у эукариот существуют механизмы, обеспечивающие невозможность активации генов в ненужном месте или в неправильное время энхансерами соседнего гена.

Инсуляторы представляют собой сайты связывания специфических инсуляторных, белков.

Инсуляторы блокируют активность энхансеров



А – показан промотор, регулируемый активаторами, связанными с энхансером.

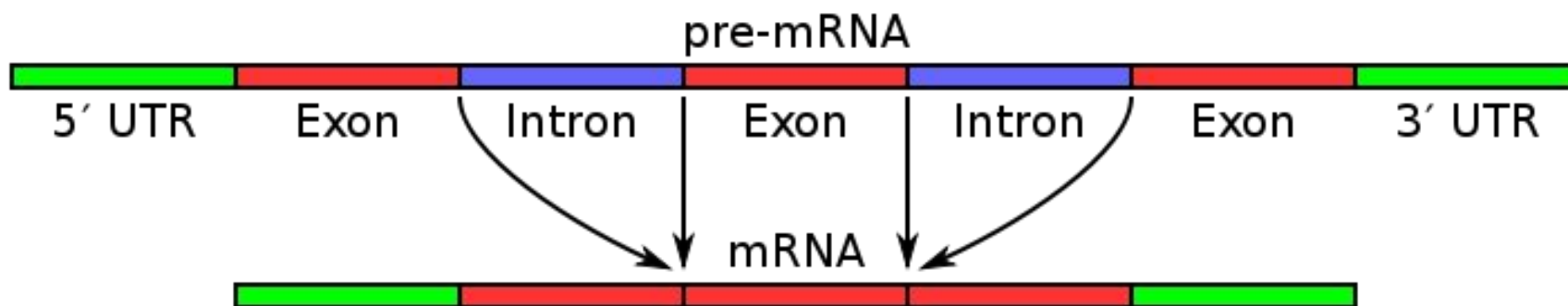
Б – между промотором и энхансером расположен инсулятор, который блокирует действие активаторов.

В – энхансер может активировать другой промотор в близлежащей области.

Г – промотор может активироваться за счет действия энхансера, расположенного в нижележащей последовательности.

Сложные взаимодействия регуляторных элементов с участием инсуляторов обеспечивают многообразие нюансов экспрессии генов.

СПЛАЙСИНГ



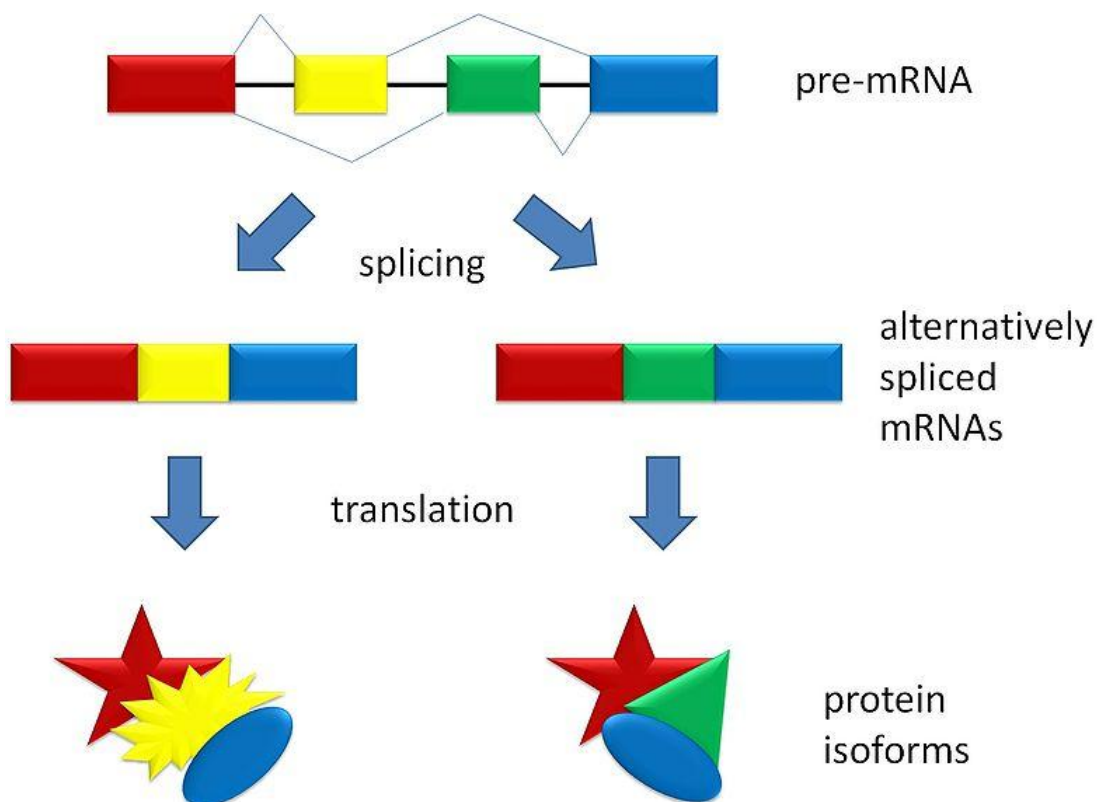
Большинство генов эукариот состоят из **ЭКЗОНОВ** и **ИНТРОНОВ**. В процессе сплайсинга интроны вырезаются, а экзоны сшиваются, образуя зрелую РНК.

Процесс удаления из пре-РНК интронов и соединение в одну последовательность экзонов называется **сплайсингом**

Альтернативный сплайсинг

Процесс, позволяющий индивидуальным генам продуцировать множество различных активных белковых изоформ.

Процесс, в котором из одной пре-матричной РНК могут образовываться различные зрелые транскрипты, благодаря включению разных экзонов.



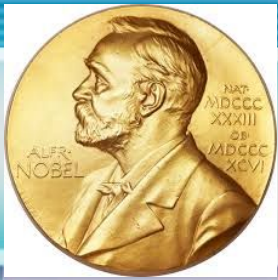
РНК-интерференция (RNA silencing)

РНК-интерференция (RNA silencing) – это подавление экспрессии генов у эукариот (замалчивание генов) на посттранскрипционном уровне, индуцированное короткими интерферирующими РНК (small interfering RNA, siРНК).

Малые РНК

- разрезание матричной РНК (mРНК)
- репрессия трансляции
- ремоделирование хроматина

**регуляция экспрессии генов на
транскрипционном и
посттранскрипционном уровнях**



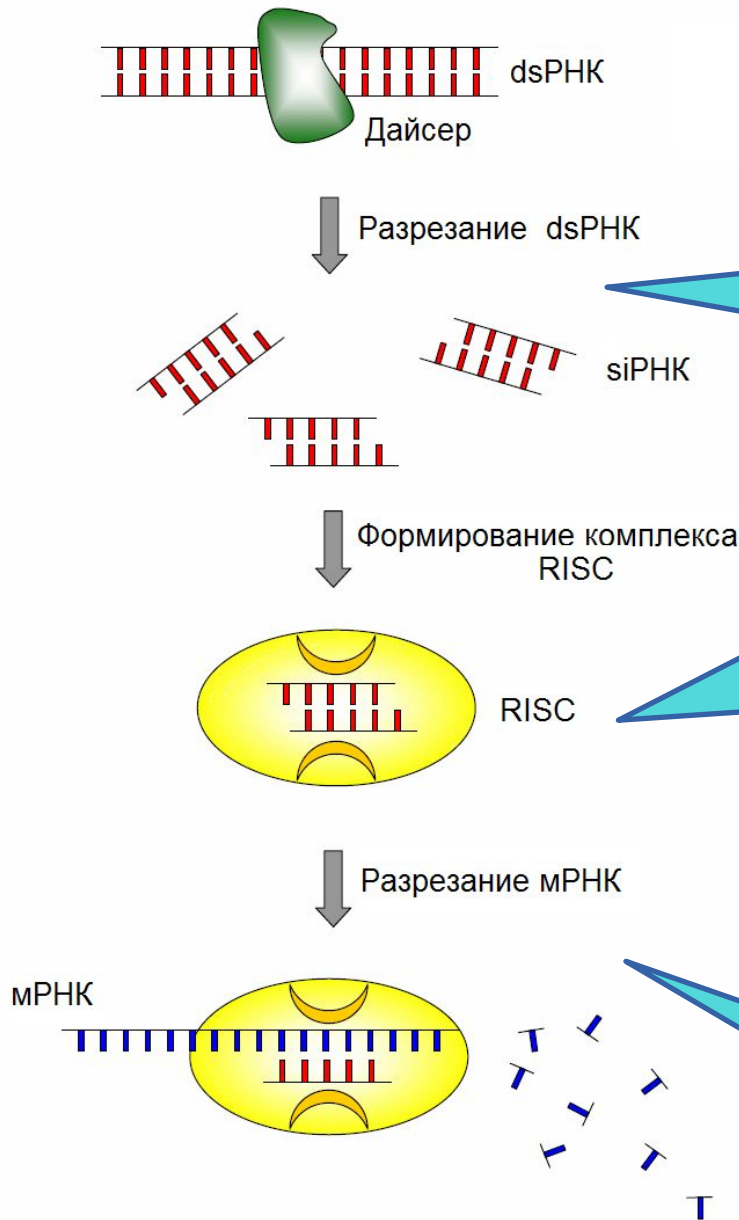
Крэйг Меллоу



Эндрю Файер

Нобелевская премия по физиологии и медицине
в **2006** г.

за открытие РНК-интерференции –
замалчивание генов двунитовой ДНК
(gene silencing)



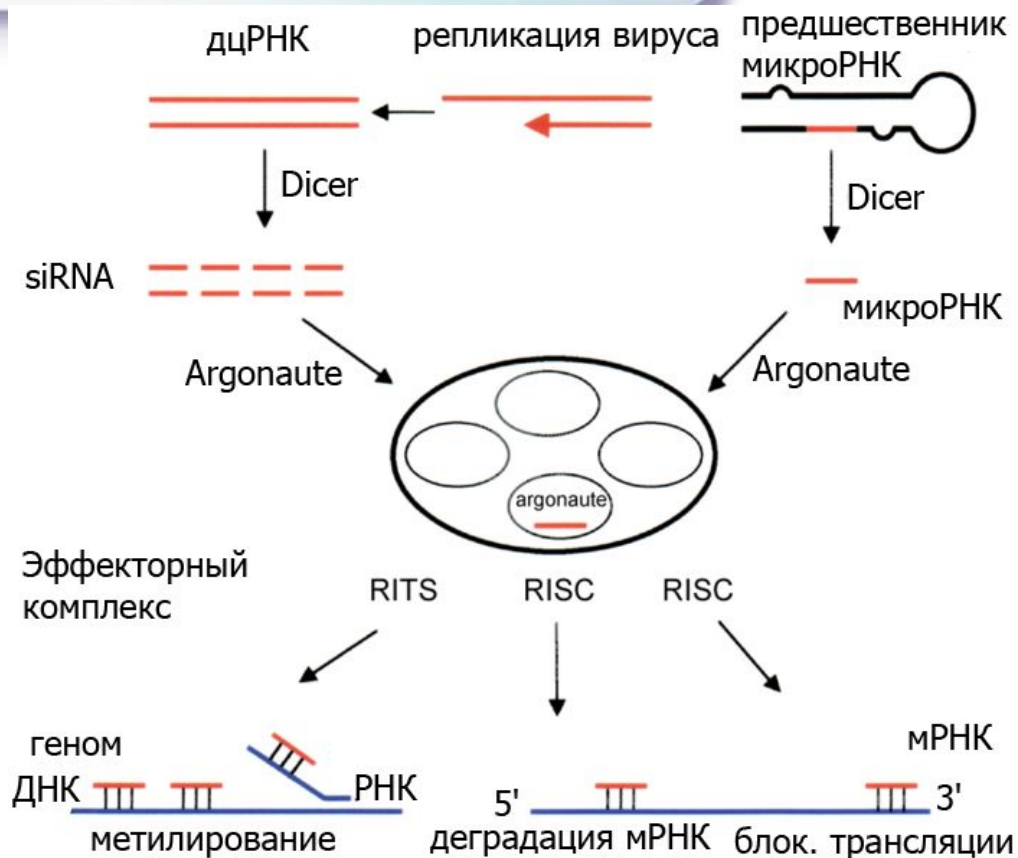
Появление в клетке dsРНК вызывает каскад событий, известный как РНК-интерференция.

1. Фермент Дайсер связывается с dsРНК и разрезает её на короткие фрагменты в 21-23 п.н. – siРНК (short interfering RNA).

2. siРНК связываются с ферментативным комплексом RISC (RNA-induced silencing complex), который использует одну её нить (комплементарную мРНК) для связывания с мРНК.

3. Нуклеазная активность комплекса RISC деградирует мРНК.

Механизм RNAi



- 1) Фермент Dicer разрезает двуцепочечную РНК.
- 2) Образованные при этом siРНК или микроРНК попадают в RNA-induced silencing complex (RISC)
- 3) RISC разрушает мРНК и предотвращает трансляцию

Основные свойства РНК-интерференции

- Специфичность (подавляется экспрессия только того гена, нуклеотидная последовательность которого полностью соответствует нуклеотидной последовательности вводимой dsРНК).
- РНК-интерференция реализуется на посттранскрипционном уровне (фрагменты dsРНК, соответствующие последовательностям промотора или интрона не вызывали РНК-интерференцию).
- Эффект РНК-интерференции, возникший в каком-либо участке тела *C. elegans* может распространяться по всему организму и передаваться по наследству потомкам.

РНК-интерференцию обнаружили у большинства эукариотических организмов

в частности у
простейших, кишечнополостных, насекомых, грибов,
растений, млекопитающих

Биологическая роль РНК-интерференции

защита от ДНК- и РНК-содержащих вирусов (растения)

подавление активности мобильных генетических элементов

Посттранскрипционное замолкание генов (PTSG; мишень РНК)

контроль развития организма

участие в детерминации клеток

Транскрипционное замолкание генов (TSG; мишень ДНК)

изменение структуры гетерохроматина (РНК-зависимое метилирование)

МикроРНК : регуляция экспрессии генов

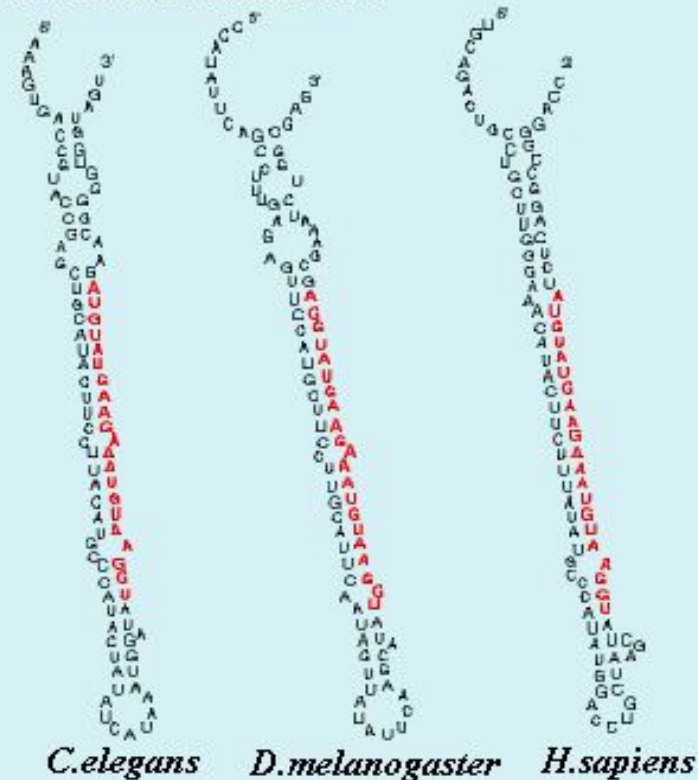
микроРНК (miRNA)

- Консервативны у отдаленных видов.
- В процессированной форме представляют собой одноцепочечные РНК длиной около 22 нуклеотидов.
- Комплементарно (или частично комплементарно) связываются с мРНК, что приводит к ее разрушению или к ингибированию трансляции.

miR-1 :

5'PO₄-UGGAAUGUAAAAGAAGUAUGUA-он 3'

Предшественники *miR-1*



Кластер генов *mir*
D.melanogaster



Хромосома 2 г

Кластер генов *mir*
H.sapiens



Хромосома 13

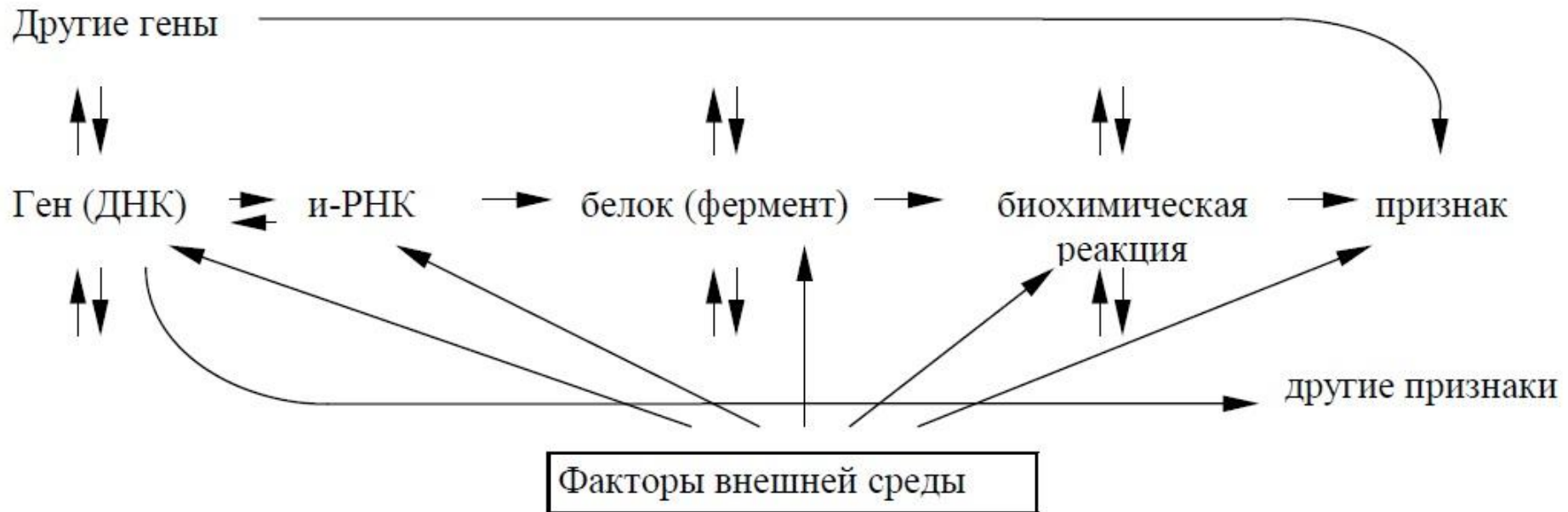
микроРНК:

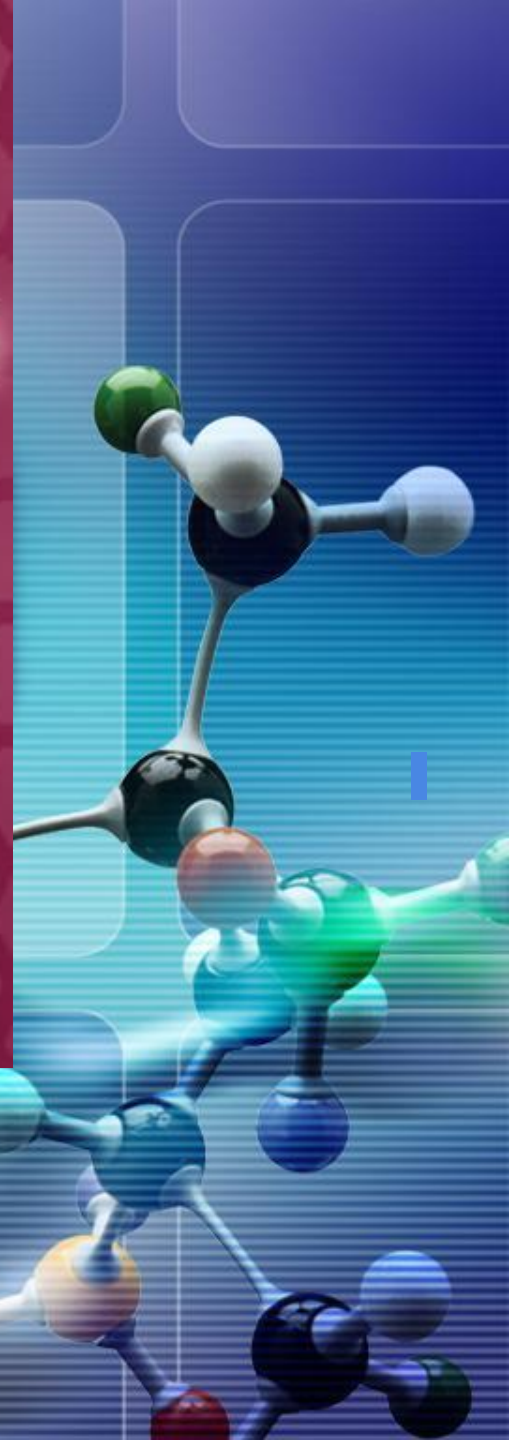
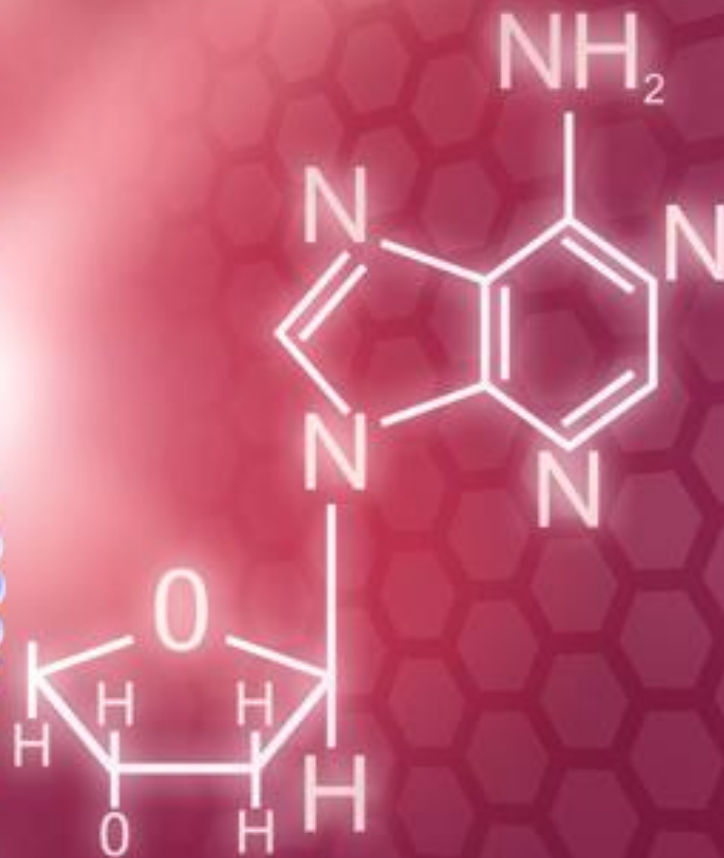


особенности структурной и геномной организации

- Одинаковая последовательность может кодироваться разными генами.
- Гены миРНК чаще всего располагаются между белок-кодирующими генами.
- Могут располагаться в интронах белок-кодирующих генов. Транскрипция происходит параллельно с транскрипцией пре-мРНК данного гена.
- Гены миРНК организованы в кластеры, транскрибируемые как мультицистронные РНК-продукты.

Схема реализации генетической информации





Спасибо за внимание!