

Экспрессия генов и механизмы регуляции



Регуляция прокариот



- Регуляция метаболизма, поведения, морфологии бактерий осуществляется с помощью контроля *экспрессии генов*.
- Прокариоты способны быстро меняться в ответ на условия среды, переключая работу многих гены и оперонов.
- Для адаптации и экономии ресурсов экспрессия должна строго регулироваться.
- Регуляция экспрессия эукариот сложнее в сравнении с прокариотами и включает больше точек контроля.

Регуляция прокариот



- Контроль осуществляется на уровне *инициации и элонгации транскрипции, трансляции и посттрансляции*.
- *Археи* схожи с бактериями по организации генома, однако их регуляторные механизмы имеют большое сходство с *эукариотическими* организмами.

Регуляция прокариот



- Примеры: Почвенный микроорганизм *Bacillus subtilis* при понижении концентрации питательных веществ запускает процессы споруляции. Патогенные организмы при попадании в организм хозяина приспосабливаются к температуре и высокой концентрации питательных веществ.
- Хромосома *Escherichia coli* кодирует 4500 белков, однако не все они экспрессируются. Некоторые участки экспрессируются постоянно, некоторые – раз за генерацию.

Уровни регуляции в трех доменах жизни



- Механизмы транскрипции и трансляции схожи у всех живых организмов.
- Бактерии **не содержат** гистонов (за исключением некоторых археобактерий), их ДНК более доступна для РНК-полимеразы, в то же время Эукариоты имеют дополнительные этапы регуляции, связанные с изменением структуры хроматина.
- Молекулы РНК у эукариот моноцистронны, требуется обработка иРНК (кэпирование, полиаденилирование, вырезание интронов). У прокариот транскрипция и трансляция происходят совместно.

Регуляция у Бактерий

Уровень регуляции	Субстрат регуляции	Эффект регуляции
Транскрипция	Ген (ДНК)	Регуляторные белки запускают транскрипцию
		Аттенюация, метаболиты – обрыв транскрипции
Трансляция	иРНК	Репрессорные белки останавливают трансляцию. Антисмысловые РНК тормозят начало трансляции.
Посттрансляция	Полипептид	Малые молекулы связываются (нековалентно) с белками, продукты метаболических путей (ингибирование по типу «обратной связи»).
		Ковалентные модификации (обратимые – фосфорилирование и необратимые – удаление аминокислот).

Регуляция у Архей

Уровень регуляции	Субстрат регуляции	Эффект регуляции
Транскрипция	Ген (ДНК)	Регуляторные белки запускают транскрипцию
		Уровень компактизации хроматина может влиять на запуск транскрипции.
Трансляция	иРНК	Антисмысловые РНК тормозят начало трансляции.
Посттрансляция	Полипептид	Малые молекулы связываются (нековалентно) с белками, продукты метаболических путей (ингибирование по типу «обратной связи»).
		Ковалентные модификации (обратимые – фосфорилирование и необратимые – удаление аминокислот).

Регуляция у Эукариот

Уровень регуляции	Субстрат регуляции	Эффект регуляции
Транскрипция	Ген (ДНК)	Регуляторы транскрипции
		Уровень компактизации хроматина может влиять на запуск транскрипции.
		Метилирование ДНК (обычно ингибирует)
Обработка иРНК	Пре-иРНК	Альтернативный сплайсинг, редактирование иРНК.
Трансляция	иРНК	Фосфорилирование факторов трансляции.
		Регуляторные белки связываются с РНК.
		Антисмысловые РНК тормозят начало трансляции.
Посттрансляция	Полипептид	«Обратная связь» и ковалентные модификации.

История открытия регуляции



- 1900г. Эмиль Дюкло обнаружил способность *Aspergillus niger* продуцировать фермент гидролизующий сахарозу только в присутствии субстрата.
- Также в 1909г. Ф.Динерт обнаружил, что дрожжи содержат фермент галактозидазу только на среде с галактозой.
- 1930г. Х.Картстрём предложил разделить ферменты на 2 класса: адаптивные и конститутивные.
- 1942г. Жак Моно обнаружил что аналоги галактозидазы также вызывают продукцию фермента. Концентрация и скорость роста не влияли на индукцию синтеза фермента, который синтезировался вновь в клетке а не формировался из предшественника под действием галактозы.

История открытия регуляции



- Позже Ледерберг, Моно, Жакоб и Парди обнаружили наличие гена, синтезирующего продукт ингибирующий запуск синтеза галактозидазы.
- 1961г. Жакоб и Моно назвали этот продукт репрессором, предположив его белковую природу. Комплекс оператора (сайта структурного гена, запускающего синтез фермента) и генов которые он контролирует назвали *оперон*.
- 1967г. У.Гилберт и Б. Мюллер-Хилл изолировали репрессор, доказали его белковую природу.

Регуляция прокариот



Исследования *E. coli* показали, что у бактерий существуют ферменты 3 типов:

- **конститутивные**, присутствующие в клетках в постоянных количествах независимо от метаболического состояния организма (например, ферменты гликолиза);
- **индуцируемые**, их концентрация в обычных условиях мала, но может возрасти в 100 раз и более;
- **репрессируемые**, т.е. ферменты метаболических путей, синтез которых прекращается при добавлении в среду выращивания конечного продукта этих путей.

Лактозный оперон



- При выращивании *E.coli* на среде с лактозой, содержание лактозы достигает 3000 молекул на клетку, без лактозы – 3 молекулы. Фермент галактозидаза расщепляет лактозу на галактозу и глюкозу.
- Галактозидаза – *индуцибельный фермент*, кодируется *индуцибельными генами*. Лактоза – *индуктор*.
- *Промотор* – связывает РНК-полимеразу. Регуляторный элемент – участок ДНК, примыкающий к промотору и связывающий белок-регулятор (активатор или репрессор).

Лактозный оперон

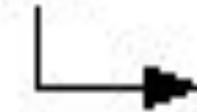


Operator

P

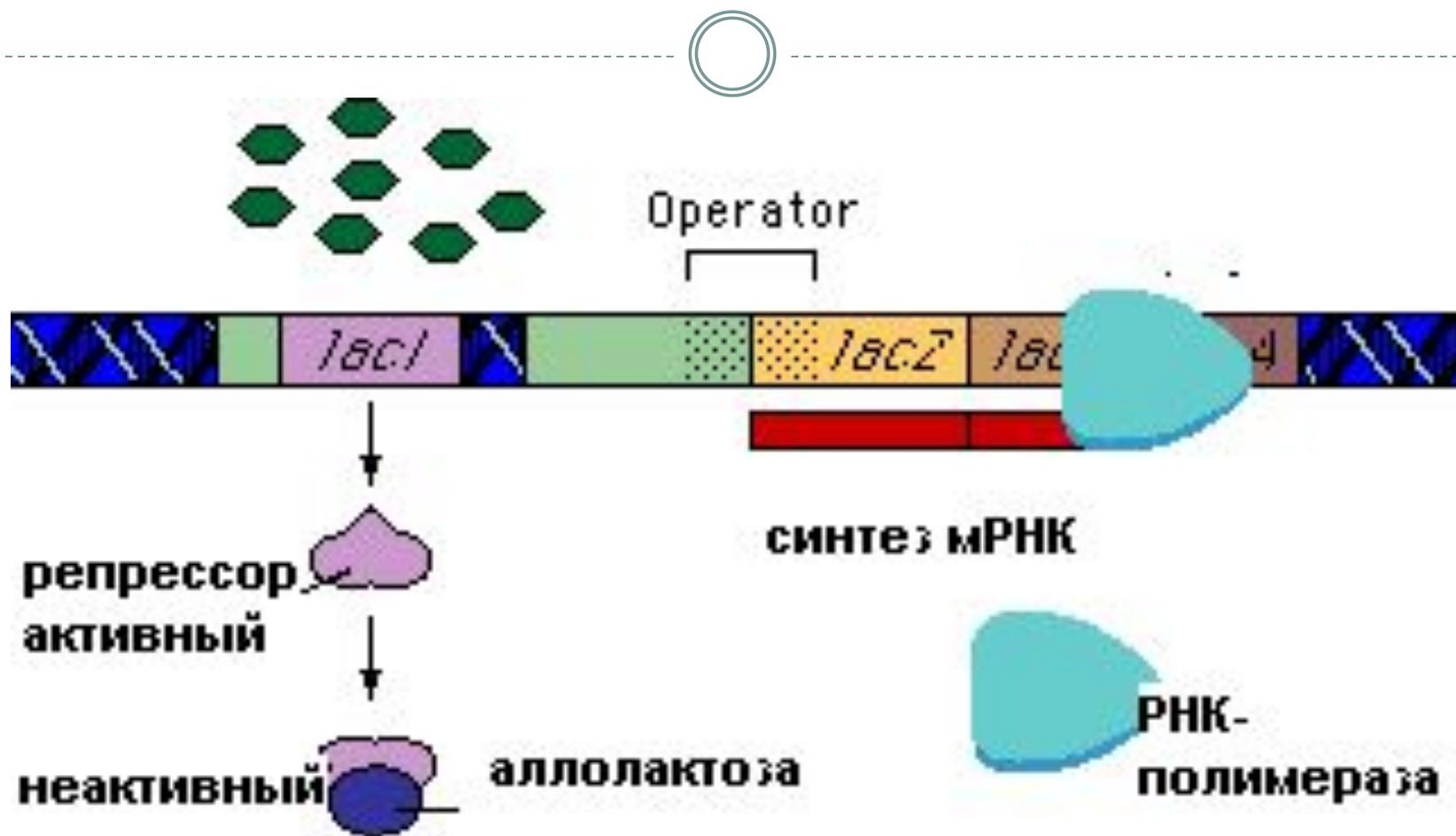


белок-регулятор



нет транскрипции

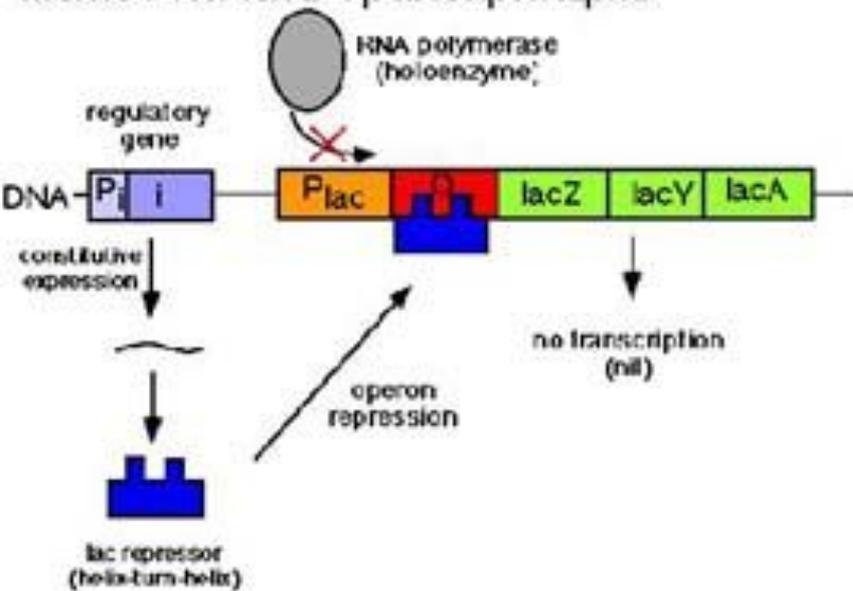
Лактозный оперон



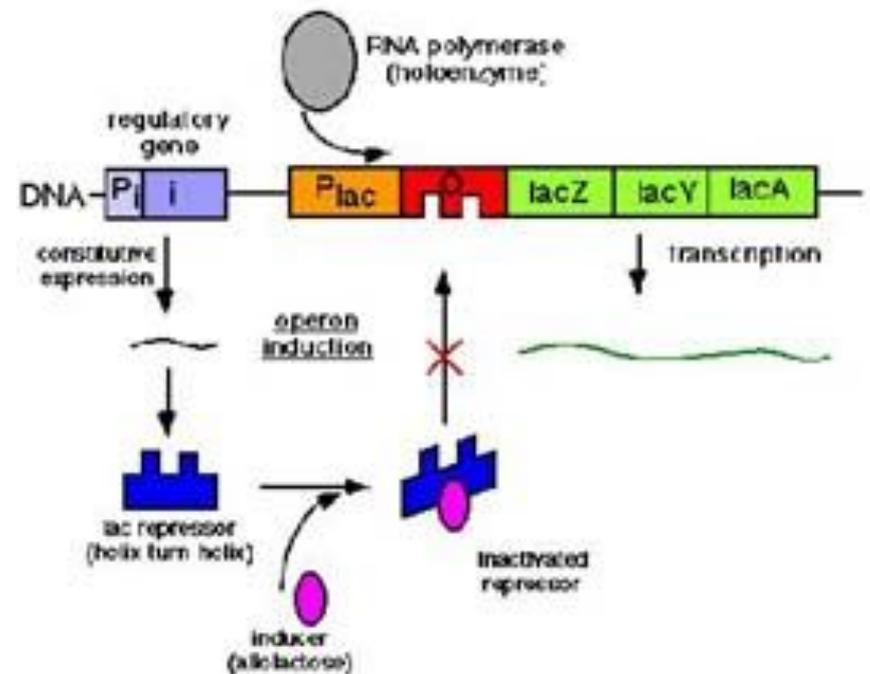
Регуляция активности генов: *lac*-оперон бактерии *E.coli*

гены метаболизма лактозы работают, когда лактоза есть в клетке

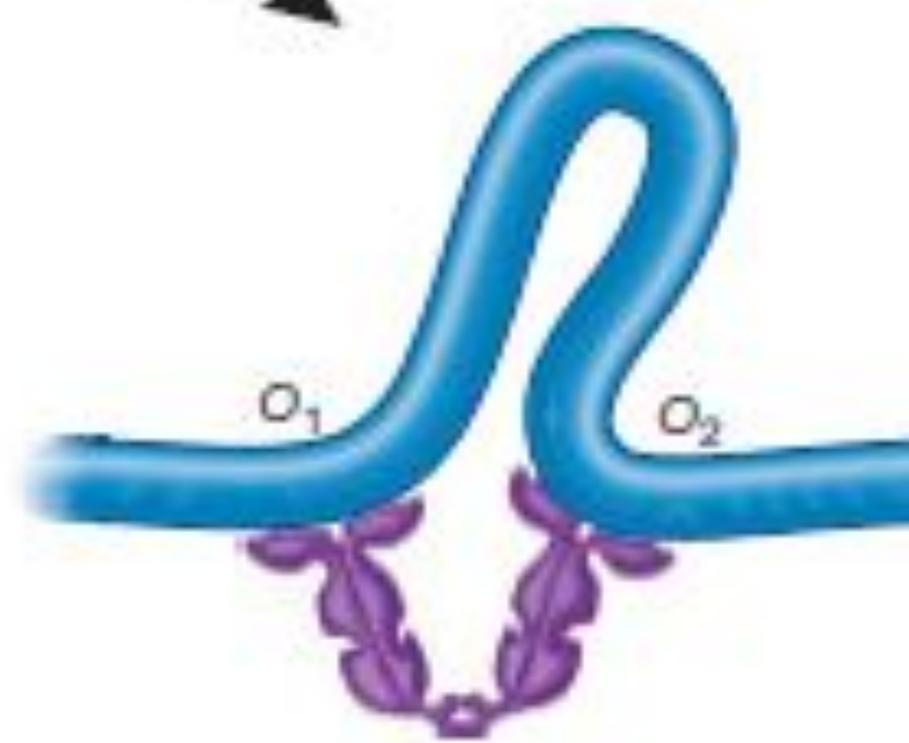
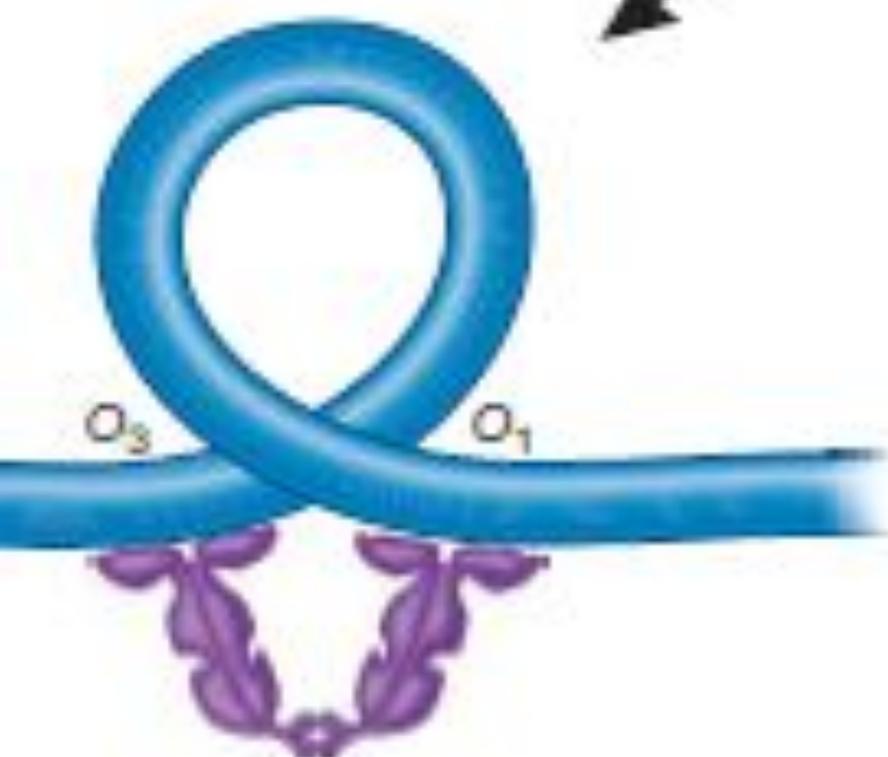
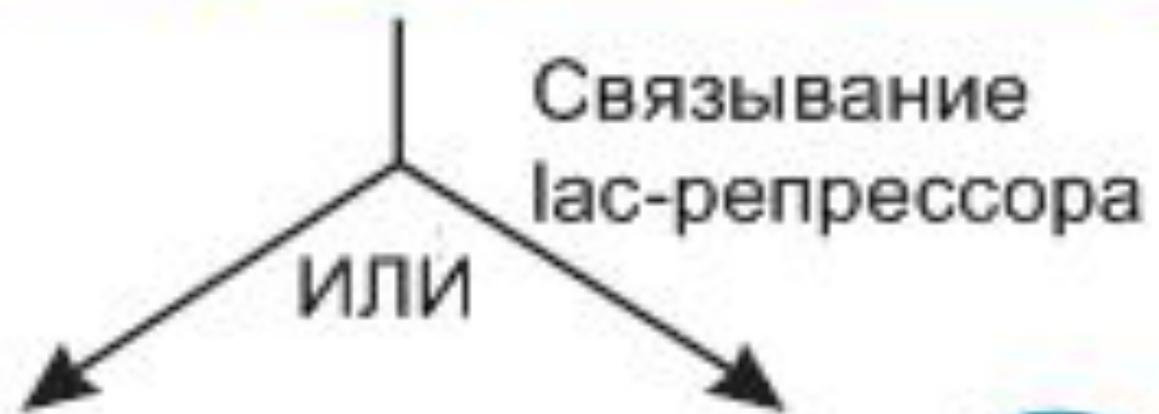
В отсутствии лактозы белок-репрессор связывается с оператором. РНК-полимераза не может начать транскрипцию



Лактоза инактивирует белок-репрессор и он теряет средство к оперону. Транскрипция возможна.



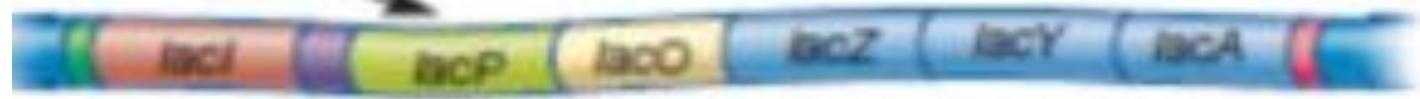
Оперон - группа генов, транскрибируемых с одного промотора.



lac -репрессор (тетрамер)



РНК-полимераза



Транскрипция



иРНК



полицистронная
иРНК



β-галактозидаза

галактозидаза-
трансацетилаза

лактопермеаза



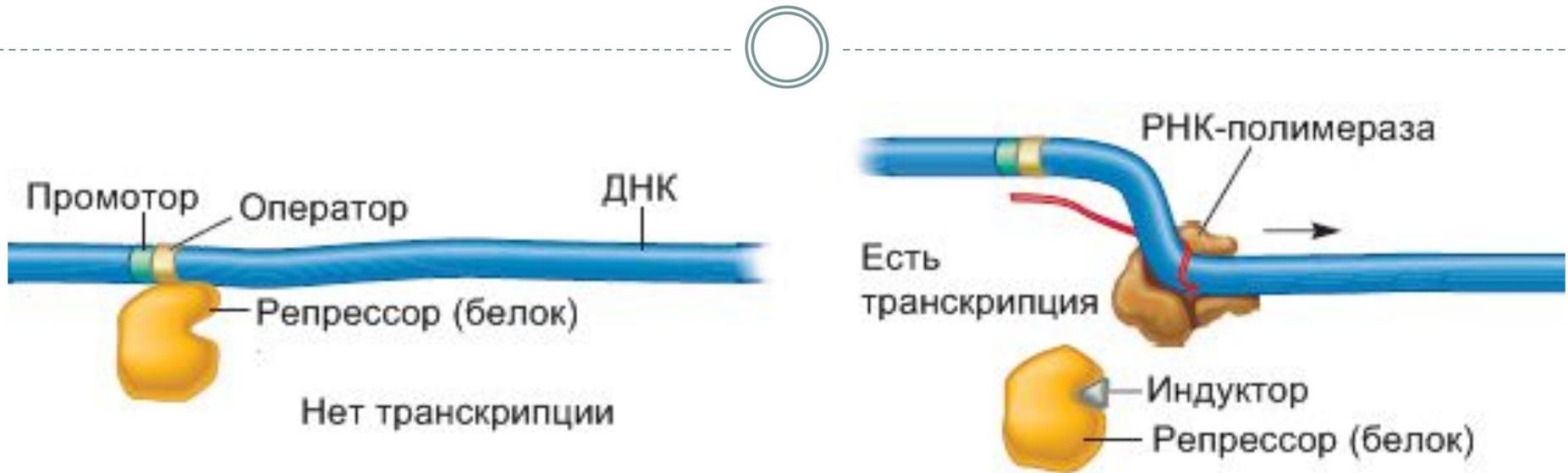
Аллолактоза





Стратегия контроля	Функция	Регуляторный элемент	Регуляторный белок	Эффектор	Нет транскрипции	Есть транскрипции
Отрицательный (индуцибельный)	Катаболизм	Оператор	Репрессор	Индуктор	Репрессор	Репрессор + индуктор
Отрицательный (репрессибельный)	Анаболизм	Оператор	Апорепрессор	Корепрессор	Апорепрессор + корепрессор	Активатор
Положительный (индуцибельный)	Катаболизм	Сайт активации	Апоактиватор	Коактиватор	Апоактиватор	Апоактиватор + коактиватор
Положительный (репрессибельный)	Анаболизм	Сайт активации	Активатор	Ингибитор	Активатор + ингибитор	Активатор

Отрицательный контроль индуцибельных генов



- Пример: лактозный оперон.
- В отсутствии индуктора, репрессорный белок блокирует транскрипцию. При появлении индуктора, комплекс (репрессор+индуктор) теряет способность связываться с ДНК, РНК-полимераза получает доступ к промотору.

Отрицательный контроль репрессибельных генов



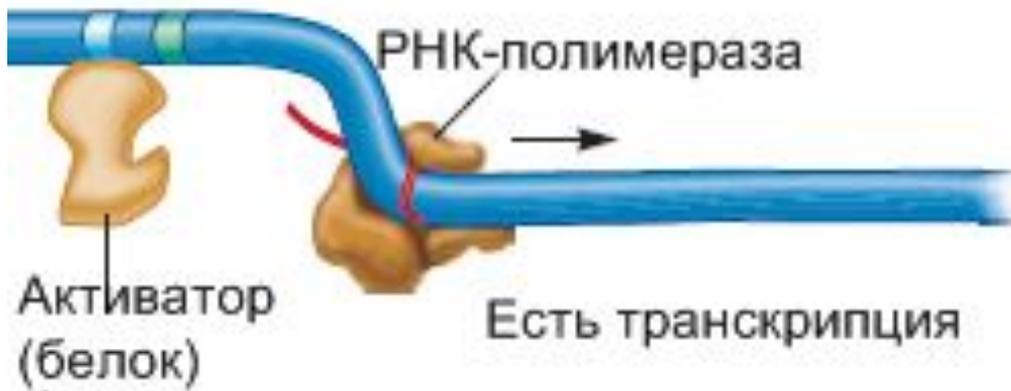
- Пример: оперон синтеза триптофана.
- В отсутствие корепрессора белок-репрессор не способен связываться с ДНК, транскрипция идет нормально.
- Корепрессор (триптофан) связывается с репрессором, который блокирует оператор.

Положительный контроль индуцибельных генов



- Пример: оперон деградации арабинозы.
- Активаторный белок (апоактиватор) способен связываться с сайтом активации на ДНК только в комплексе с индуктором (арабиноза).

Положительный контроль репрессибельных генов



- Пример: оперон синтеза лейцина.
- Активаторный белок связывается с ДНК и запускает транскрипцию. Ингибитор присоединяется к активатору и делает его неспособным связаться с ДНК.

Особенности белков-активаторов



- На оперон могут воздействовать одновременно специфический и общий активаторы.
- Активаторы не являются особой группой белков.. Многие метаболические ферменты являются активаторами.
- Пример: репаративный белок Ada устраняет алкильные группы. Алкильные (метильные) группы переносятся на сам белок, его метилированная модификация (meAda) – служит активатором транскрипции собственного гена.