





**Методология селекции
мутантов с дефектами
экспрессии генов и регуляции
обмена веществ**



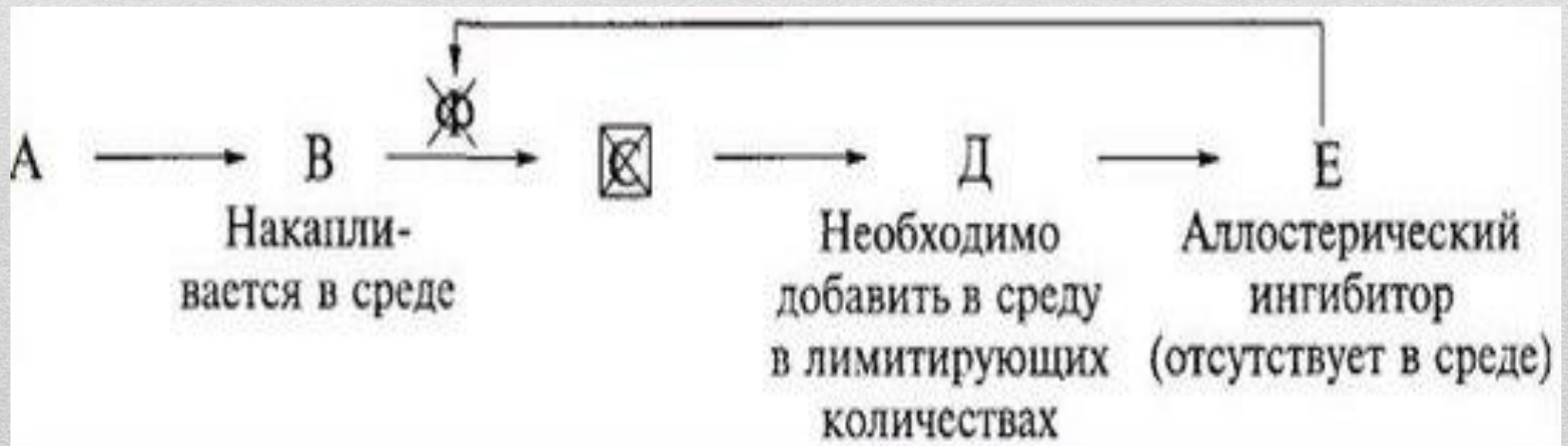
Уровень экспрессии структурных генов в той или иной степени может быть изменен в результате мутаций, осуществляемых по различным участкам оперона. Мутации по участкам цистрона, детерминирующим структуру аллостерического центра фермента, могут привести к изменениям в конформации белка, которые делают молекулу энзима нечувствительной к концентрации конечного продукта. Это обеспечивает возможность образования в клетке избыточного количества целевого продукта.


Мутации в гене - регуляторе приводят к утрате способности белка-репрессора связываться с индуктором или оператором. Таким образом, исчезает эффект катаболитной экспрессии, а индуцибельные ферменты становятся конститутивными, т.е. их экспрессия не зависит от присутствия в среде субстрата. Мутанцы по гену - оператору не могут связывать нормальный репрессор и так же приобретают способность к конститутивной репрессии структурных генов. Мутанцы с дефектами регулярной области оперона называются регуляторными, их функция - биосинтез конститутивных ферментов.




Выключение механизма ретроингибирования происходит, если мутации приводят к дефекту (разрыв) в последовательности биохимических реакций образования конечного продукта. Из-за отсутствия или выключения фермента (Ф) катализирующего промежуточную стадию процесса в среде накапливается не конечный продукт, а промежуточный целевой метаболит.

Мутанты с ограниченной способностью к образованию конечных продуктов называются ауксотрофными - благодаря отсутствия ингибитора(конечного продукта) использование субстрата и рост микроорганизма продолжается но лишь при условии добавления в среду в лимитирующих количествах вещества продукта блокирования реакции:






На практике высокопродуктивные организмы часто обладают двумя видами мутации и являются ауксотрофно-регуляторными мутантами.



Для отбора мутантов с дефектами экспрессии генов и регуляции обмена веществ используют эффективные методы селекции:

- Получение мутантов, устойчивых к структурным аналогам целевого продукта.
 - Выделение ревертантов из ауксотрофных мутантов. У таких мутантов восстановлена способность к синтезу конечного продукта. Однако механизмы ретроингибирования у них не функционирует вследствие изменения пространственной структуры ключевого фермента.
-



Знание механизмов регуляции обмена веществ в клетке необходимо для сознательного управления процессами биосинтеза целевых продуктов и создание организмов – сверхпродуцентов.

Спасибо за
внимание.
