

Регуляция биосинтеза белка. Механизмы генетической изменчивости

*Кафедра биологической химии
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России
доцент Н.Т. Карягина, 2018 г.*

Регуляция биосинтеза белка

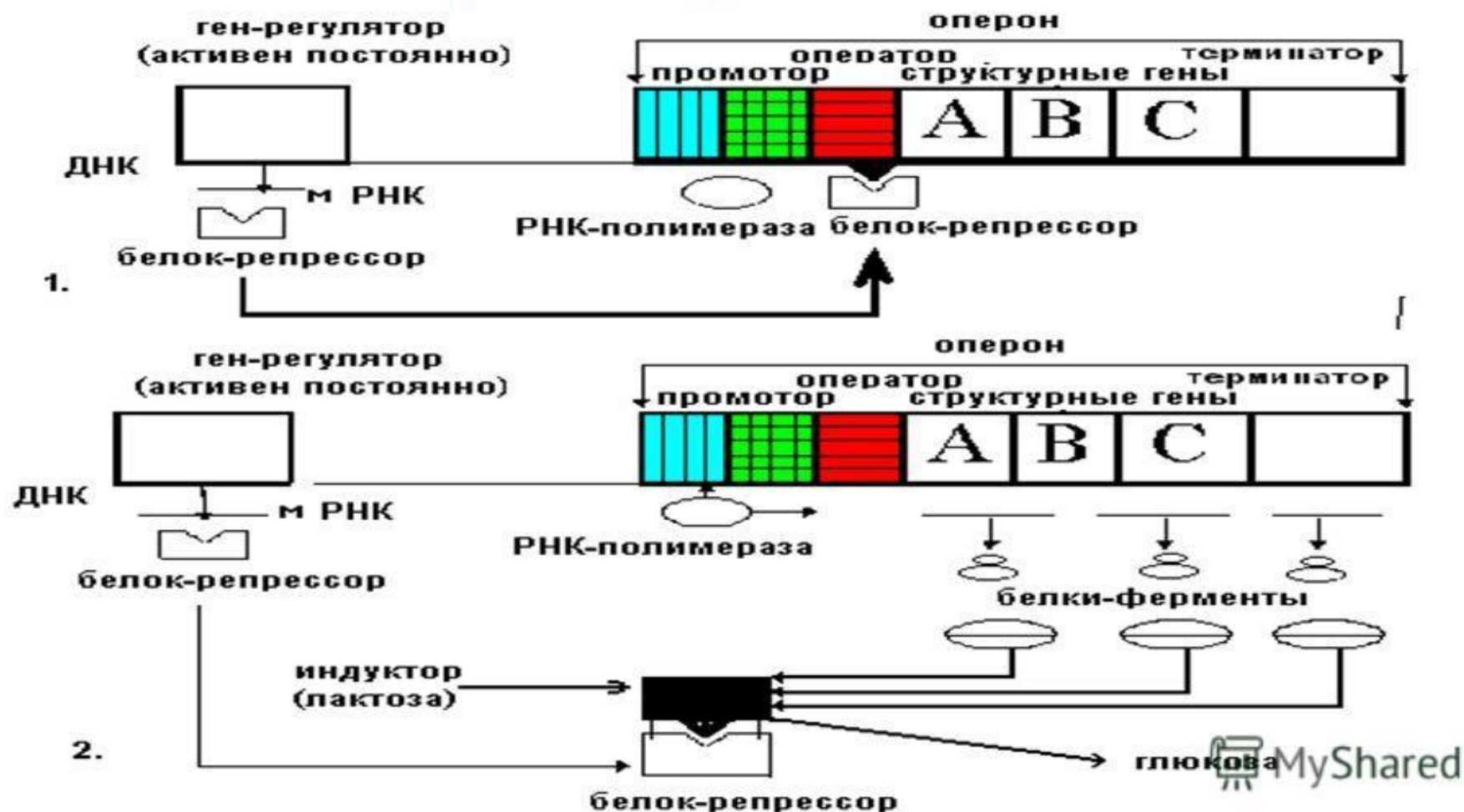
В 1961 г. французские исследователи Франсуа Жакоб и Жак Моно предложили теорию Лас-оперона, которая объясняла механизм контроля синтеза белков у прокариотов



- **Слева направо - Жакоб Франсуа, Жак Моно, Андре Львов**
- лауреаты Нобелевской премии по физиологии и медицине в 1965 г. «за открытия, касающиеся генетического контроля синтеза ферментов и вирусов».

- **Координированный одним оператором одиночный ген или группа генов образуют оперон.**
- ***Лас -оперон*** - участок ДНК, в котором закодированы ферменты, участвующие в усвоении лактозы.
- ***O (ген-оператор)*** – ген, управляющий работой структурных генов.
- ***R (ген-регулятор)*** – ген, кодирующий синтез специального ***регуляторного белка – репрессора.***

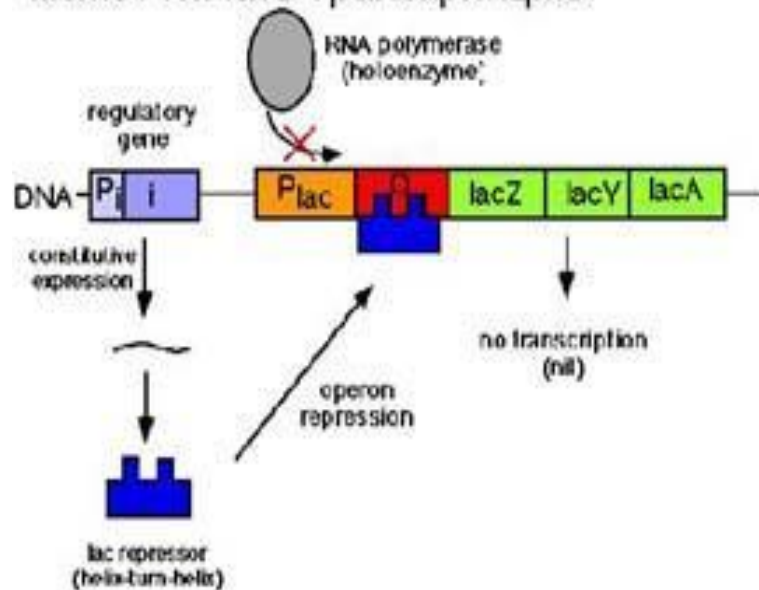
Регуляция экспрессии генов у прокариот на уровне транскрипции



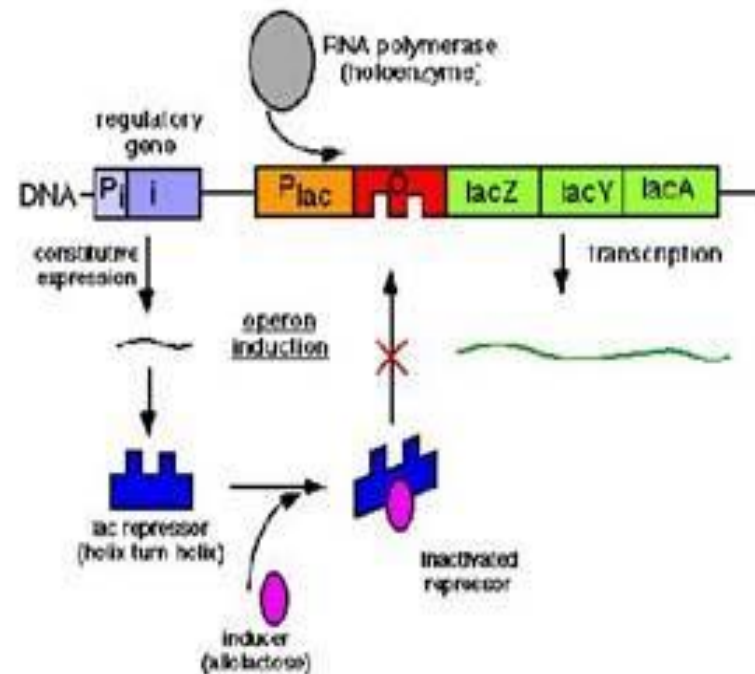
Регуляция активности генов: *lac*-оперон бактерии *E.coli*

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 сродство к оперону. Транскрипция возможна.



Оперон - группа генов, транскрибируемых с одного промотора.

- **Репрессор** блокирует **ген-оператор** → **оперон** не работает → **транскрипция мРНК не происходит** → **синтез белка не идет**
- **Способность связываться с оператором зависит от конформации репрессора, которая может быть активной или неактивной**

Лактозный оперон регулируется по механизму индукции

- **Вещества, которые инактивируют репрессор, называются *индукторами***
- **Вещества, переводящие его из неактивного состояния в активное – *корепрессорами***

- Лактоза – *индуктор*, присоединяясь к белку-репрессору, *переводит его в неактивную форму*, не способную связываться с O.
- РНК-полимераза связывается с P и транскрибирует структурные гены: S_1 , S_2 , S_3 , несущие информацию о ферментах метаболизма лактозы → *транскрипция мРНК → синтез ферментов*

**3 фермента, участвующие в
метаболизме лактозы:**

β -галактозидаза

β -галактозидпермеаза

β -галактозидтрансацетилаза

- После распада лактозы белок-репрессор переходит снова в активную форму, способную связываться с О.
- Т.к. участки О и Р перекрываются, то присоединение репрессора к О препятствует связыванию РНК-полимеразы с Р, → транскрипция мРНК не идет → синтез ферментов прекращается

ДНК всех клеток организма идентична;

>200 различных типов клеток

- **Гены «домашнего хозяйства» ~ 20%**
- **Адаптивно регулируемые гены**

Регуляция транскрипции

осуществляется при помощи

специальных регуляторных элементов

– локусов - участков генома –

энхансеров и сайленсеров

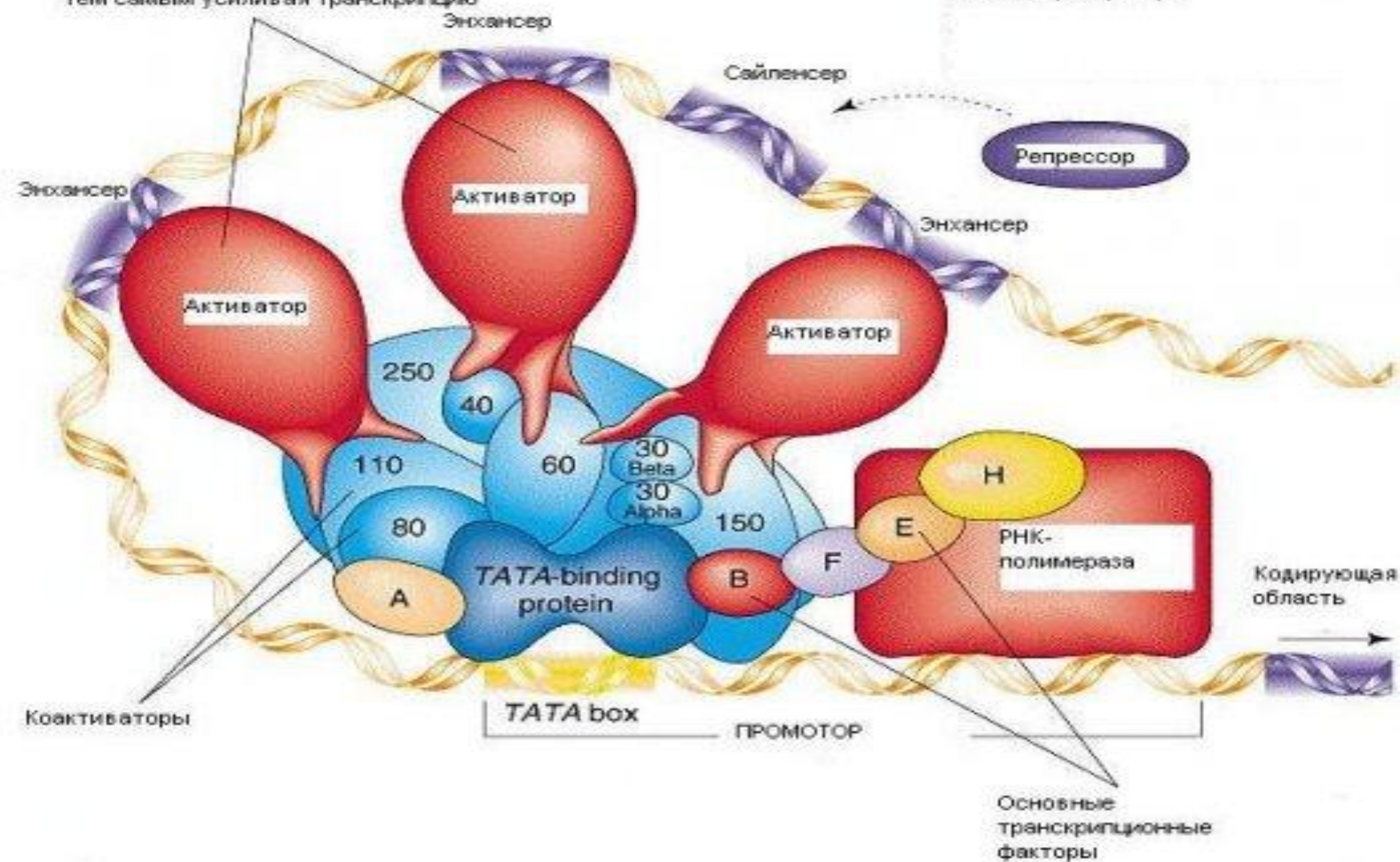
- **Энхансеры** – участки ДНК размером 10-20 пар оснований, присоединение к которым регуляторных белков активирует РНК-полимеразу и **увеличивает** скорость транскрипции
- **Сайленсеры** – таких же размеров участки ДНК, присоединение к которым регуляторных белков ингибирует РНК-полимеразу и **замедляет** транскрипцию

АКТИВАТОРЫ

Активаторы связываются с энхансерами, помогая определить какие гены являются активными и тем самым усиливая транскрипцию

РЕПРЕССОР

Репрессор связывается с сайленсером, подавляя функционирование активаторов, снижая транскрипцию



Регуляция транскрипции

***Промоторы генов эукариот
находятся
под контролем специфических
регуляторных участков на
молекуле ДНК:
ТАТА-, ЦААТ-, ГЦ-,
энхансеров, сайленсеров –
последовательностей***

*К регуляторным участкам
присоединяются*

комплексы белков

с различными лигандами:

цАМФ, стероидными

гормонами, метаболитами,

ионами металлов и т.д.

Через белки-посредники или коактиваторы
передают сигнал на основные
транскрипционные факторы и РНК-полимеразу

- С энхансерами взаимодействуют **индукторы**
- С сайленсорами - **репрессоры**
- Это сложные белки, имеющие несколько доменов:
 - 1) «узнает» локус;
 - 2) «узнает» регуляторную молекулу (фактор роста, цАМФ, стероид-рецепторный комплекс и др.);
 - 3) «узнает» факторы транскрипции в ТАТА - последовательности

- У эукариотов ведущая роль в экспрессии генов принадлежит стероидным, тиреоидным гормонам, факторам роста, инсулину, вторичным мессенджерам и т.д.

Успехи генетики, молекулярной биологии и биохимии привели к формированию в 1990-х гг. двух новых фундаментальных дисциплин -- геномики и протеомики. **Задача геномики -- установление полной генетической характеристики всей клетки.**

Геномика позволяет **определить потенциальные возможности организма** (зная последовательность нуклеотидов в каждом из генов и число генов).

Протеомика же дает возможность охарактеризовать функциональное состояние клетки на уровне ее протеома, т.е. совокупности всех ферментных и структурных белков, которые "работают" в отличие от неэкспрессирующихся генов.

- **Геном человека содержит 3,1 млрд пар нуклеотидов**
- **Только ~10% из них несут информацию**
- **В ходе выполнения проекта «Геном человека» полное секвенирование Геном человека» полное секвенирование выявило, что человеческий геном содержит 20—25 тыс. активных генов.**
- **Только 1,5 % всего генетического материала кодирует белки Только 1,5 % всего генетического материала кодирует**

Теломеры - это концевые участки линейной молекулы ДНК, которые состоят из повторяющейся последовательности нуклеотидов, не кодирующих белковые молекулы.

У человека и других позвоночных повторяющееся звено имеет формулу **TTAGGG** (буквы обозначают нуклеиновые основания).

При каждом делении клеток эти концевые участки хромосом укорачиваются.

Транспозоны — это участки ДНК организмов, способные к передвижению (транспозиции) и размножению в пределах генома. Транспозоны также известны под названием «прыгающие гены» и являются примерами мобильных генетических элементов. У человека транспозоны составляют до 45 % всей последовательности ДНК.

Ретротранспозоны не покидают исходного положения в молекуле ДНК, но могут копироваться и копии встраиваются, подобно транспозонам в новый участок.

Могут вызывать мутации и изменять экспрессию генов.

Биохимические основы изменчивости и эволюции

- Движущей силой эволюции являются **мутации** – наследуемые изменения первичной структуры ДНК, *т.е. закрепленный результат изменений в геноме (не исправленные ферментами репарации).*
- Мутации могут затрагивать различные **участки ДНК**

Механизмы возникновения

- Результат ошибок синтеза ДНК при репликации
- При репарации повреждения ДНК под влиянием внешних факторов
- В результате рекомбинаций – обмена участками ДНК м/у гомологичными хромосомами при половом размножении

Виды мутаций

- **Геномные** – изменение всего генома; изменение числа хромосом (н-р, полиплоидия, трисомия (болезнь Дауна) и др.)
- **Хромосомные** – перестройка хромосом. Участки хромосом могут изменить свое положение, потеряться или удвоиться (н-р, мышечная дистрофия Дюшенна – делеция X-хр.)
- **Генные** – изменения затрагивают один кодон или небольшой отрезок гена.

Генные или точечные мутации

1. **Замены**, при которых одно АО замещается на другое.
2. **Вставки**, обеспечивающие внедрение в ДНК одного или нескольких дополнительных НТ.
3. **Делеции** (выпадения) одного или нескольких НТ, при которых происходит укорочение ДНК.

Мутации по типу замены

- *Без изменения смысла кодона (нейтральные или молчащие)* – мутации, при к-рых замена 1 НТ в кодоне не приводит к изменению смысла кодона. Синтезируется белок без изменений.
- ЦУУ → ЦУЦ → ЦУГ → ЦУА
лей лей лей лей

Вырожденность генетического кода

- **«Миссенс-мутации»** - мутации с изменением смысла кодона, при которых замена одного АО приводит к замене АК в мутантном белке (изменение первичной структуры и свойств белка).

Н-р: **серповидно-клеточная анемия**

HbA: ГАА

HbS: ГУА

ГАГ Глу

β6

ГУГ Вал

(β6 Глу → Вал)

- **«Нонсенс мутации»** - мутации, приводящие к образованию одного из терминирующих кодонов:

УАА, УАГ, УГА

УГГ → УАГ

три → «стоп-сигнал»

Обрыв цепи → синтез фрагмента полипептидной цепи

Проявление нонсенс-мутаций зависит от их *внутригенной локализации.*

Мутации по типу вставки

- **Без сдвига «рамки считывания»** - происходит вставка лишних 3 НТ или с числом НТ, кратным 3 → удлинение белка на 1 или несколько АК.
- **Со сдвигом «рамки считывания»** - происходит вставка 1 или нескольких НТ не кратных 3 →

→ синтезируется полипептид со «случайной» последовательностью АК, т.к. изменяется смысл всех кодонов, следующих за местом мутации

Мутации по типу делеция

- *Без сдвига «рамки считывания»* - происходит выпадение 3 НТ или с числом НТ, кратным 3 → происходит укорочение белка на 1 или несколько АК.
- *Со сдвигом «рамки считывания»* - происходит выпадение 1 или нескольких НТ не кратных 3 →

→ синтезируется полипептид со «случайной» послед-ю АК, т.к. изменяется смысл всех кодонов, следующих за местом мутации

→ *функционально неактивные белки*

- Частота мутаций 10^{-5} - 10^{-6} на 1 гамету за каждое поколение
- Может варьировать для разных генов от 10^{-4} (для генов с высокой скоростью мутаций) до 10^{-11} (для наиболее устойчивых)

Мутагенные факторы

1 - физические

Лучистая энергия (УФО, рентген., γ -излучение, позитроны, нейтроны)

УФО → образование ковалентных связей между остатками тимина в ДНК
→ появление тиминовых димеров → ДНК, не способные к репликации.

Сущ-ет **система репарации** - группа ферментов, вырезающих тиминовые димеры, к-рые кодируются **9 генами**.

При повреждении любого из этих генов - **нарушение репарации ДНК** после УФО → заболевание ***пигментная ксеродерма***

- **Фоновое излучение** (космическое) - под его воздействием происходит отщепление АО. За сутки человек теряет $\sim 50 \cdot 10^3$ АО

2 - химические

- **АО в ДНК могут подвергаться различным воздействиям формамида (HCONH_2), свободных радикалов, альдегидов, полициклических углеводородов, табачного дыма, тяжелых металлов, выхлопных газов и т.д.**

3 - биологические

- **Под воздействием вирусов
(н-р, герпеса)**