

ТЕМА № 5: ОСНОВНІ ШЛЯХИ РЕГУЛЯЦІЇ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ

ПЛАН:

1. Рівні контролю генної експресії.
2. Контроль регуляції транскрипції білками-регуляторами.
3. Лактозний оперон *E. Coli*.
4. Регуляція експресії генів транскрипційними факторами
5. Метилування ДНК
6. Регуляція експресії генів у еукаріот одним білком-регулятором
7. Інактивація Х-хромосоми
8. Ефект положення мозаїчного типу у дрозофіли.
9. Комбінаційна регуляція активності гену
10. Перебудова послідовності ДНК, що приводить до включення та виключення генів у бактерії *Salmonella*
11. Переключення генів
12. Пряме наслідування стану експресії гену в ході реплікації ДНК

1. РІВНІ КОНТРОЛЮ ГЕННОЇ ЕКСПРЕСІЇ.

Морфологія і функція у різних типів клітин, що входять до складу вищого організму, часто досить сильно відрізняються. Наприклад, нейрон і лімфоцит ссавця мало схожі один на одного, тому важко собі уявити їх власниками одного і того ж генома. Диференціювання клітин визначається зміною експресії генів. Різні типи клітин багатоклітинного організму відрізняються один від одного тим, що синтезують і накопичують різні набори молекул РНК і білків. Ці процеси відбуваються без необоротних змін в ДНК.

Експресія генів – це регуляція реалізації генетичної інформації на рівні синтезу РНК та білків.

Контроль генної експресії:

- у прокаріотичних організмах регулюється експресія генів у відповідь на зовнішні умови;
- в еукаріотичних клітинах регулюється експресія генів для підтримки гомеостазу в організмі

Якщо відмінності між клітинами різних типів обумовлені тим, які білки експресуються в них, важливо знати, на якому рівні здійснюється контроль білкового синтезу. На шляху, що веде від ДНК до білка, цей контроль може реалізуватися практично на будь-якому етапі. Основними «контрольними точками» можуть бути:

Рівні контролю генної експресії

1. Контроль на рівні транскрипції (контролюється час і характер транскрипції гена)
2. Контроль на рівні процесінгу первинного транскрипту.
3. Контроль відбору зрілих мРНК для їх транспорту в цитоплазму.

4. Контроль на рівні деградації - виборча дестабілізація певних типів мРНК в цитоплазмі.
5. Контроль на рівні трансляції - відбір у цитоплазмі мРНК для трансляції на рибосомах.
6. Контроль на рівні активності білка - селективна активація, інактивація або компартаментация молекул білка після їх синтезу.

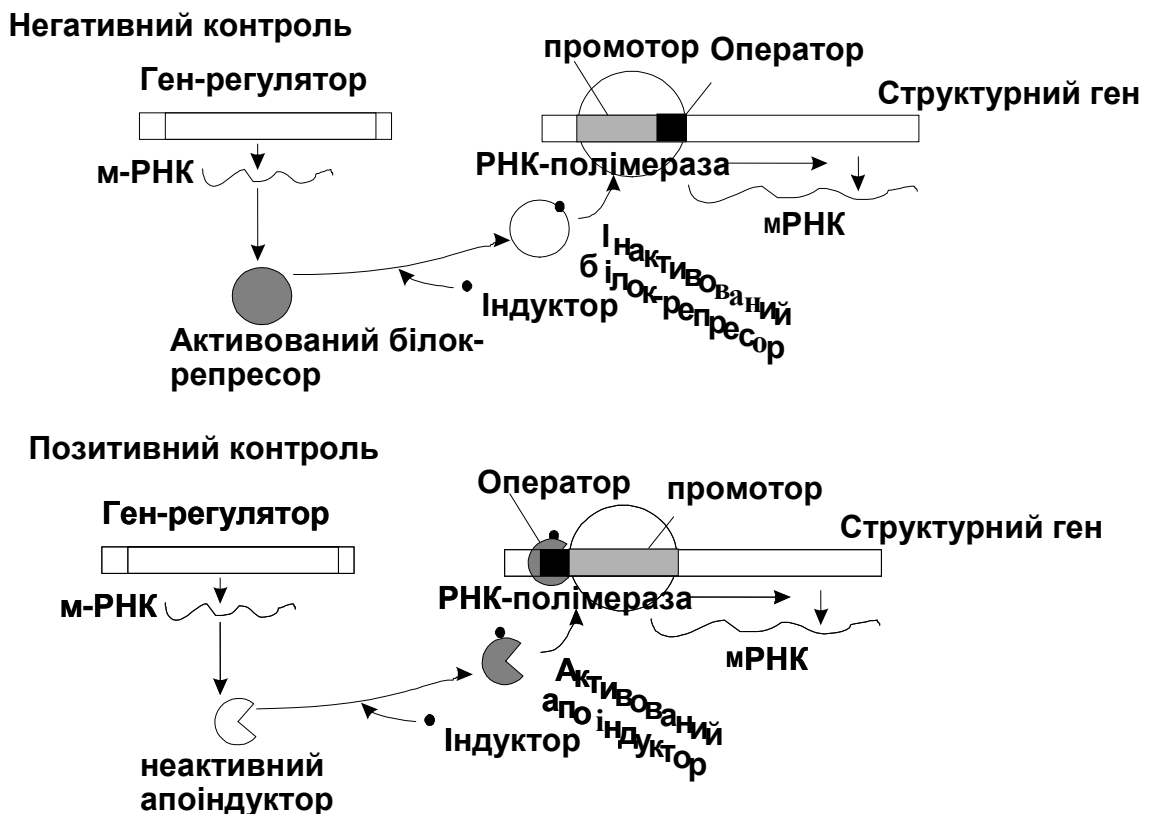
Для більшості генів найбільш важливий контроль на рівні транскрипції.

2. КОНТРОЛЬ РЕГУЛЯЦІЇ ТРАНСКРИПЦІЇ БІЛКАМИ-РЕГУЛЯТОРАМИ

Клітини містять велику кількість сайт-специфічних ДНК-зв'язуючих білків, основна функція яких полягає у включенні або виключенні генів. Кожний з цих білків-регуляторів пізнає певні послідовності ДНК, довжиною 8-15 нуклеотидів. Приєднання таких білків до ДНК може або викликати транскрипцію розташованого поруч гена (**позитивна регуляція**), або пригнічити її (**негативна регуляція**).

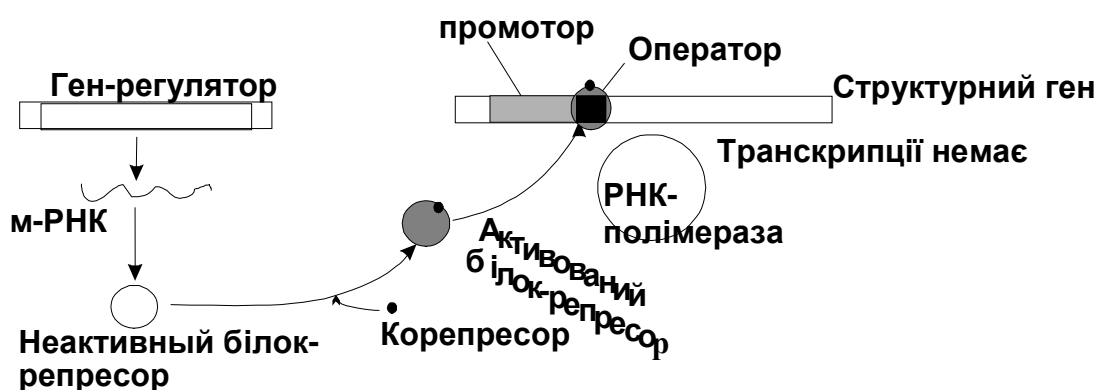
Різні типи клітин багатоклітинного організму мають різні білки-регулятори, в результаті кожний тип клітин транскрибує свій власний набір генів.

Індукція транскрипції

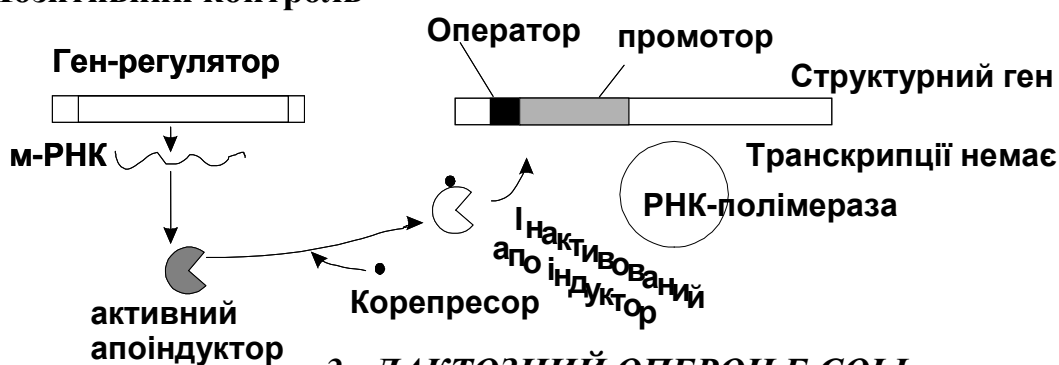


Репресія транскрипції

Негативний контроль



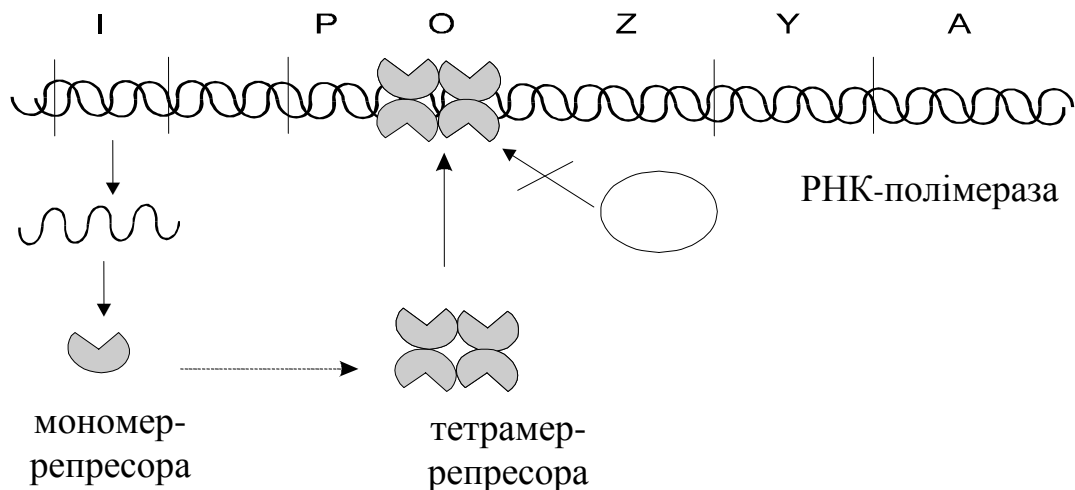
Позитивний контроль



3. ЛАКТОЗНИЙ ОПЕРОН *E. COLI*

У складі лактозного оперону *E. Coli* знаходяться структурні гени Z, Y, A, які кодують синтез трьох різних білків-ферментів, які беруть участь в утилізації лактози - дисахариді, на якому ростуть клітини бактерій. Так, β - галактозидаза (Lac Z) расщеплює лактозу до глюкози та галактози, галактозидпермеаза (Lac Y) забезпечує активний транспорт лактози із зовнішнього середовища у клітину, роль трансацетилаз (Lac A) точно не встановлена. В структурі оператора є також ділянка-активатора необхідна для прикріплення білка-активатора, промотор (для РНК-полімераза), оператор для прикріплення білка-репресора та термінатор.

А. Репресія лактозного оперону



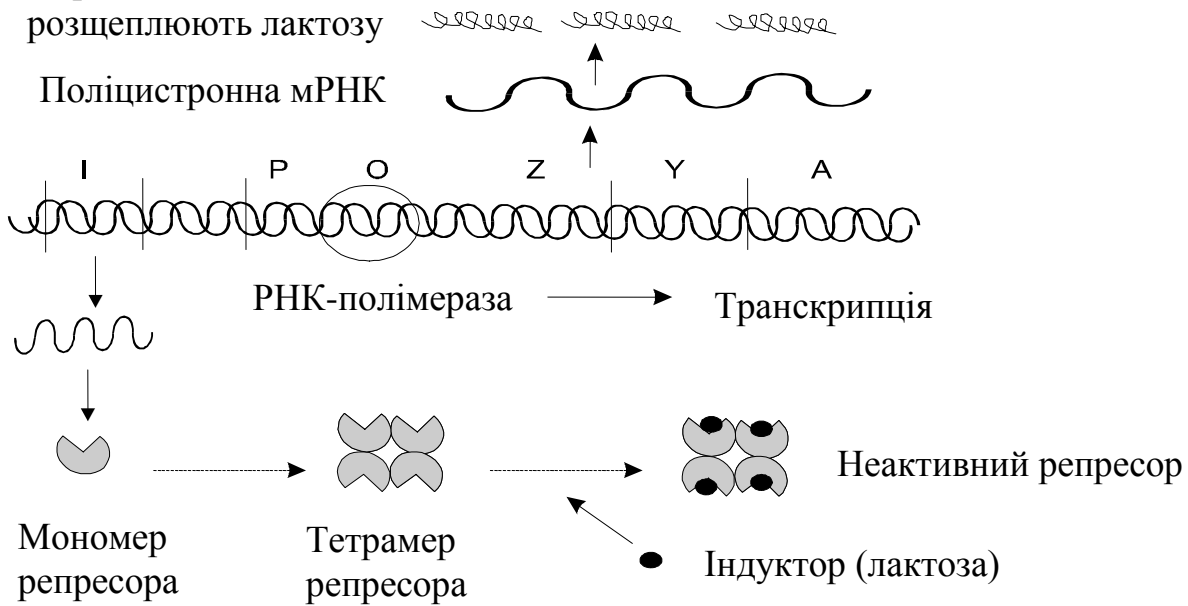
Репресор блокує транскрипцію структурних генів Z, Y та A.

Б. Активация лактозного оперону

Ферменти, що

розщеплюють лактозу

Поліцистронна мРНК

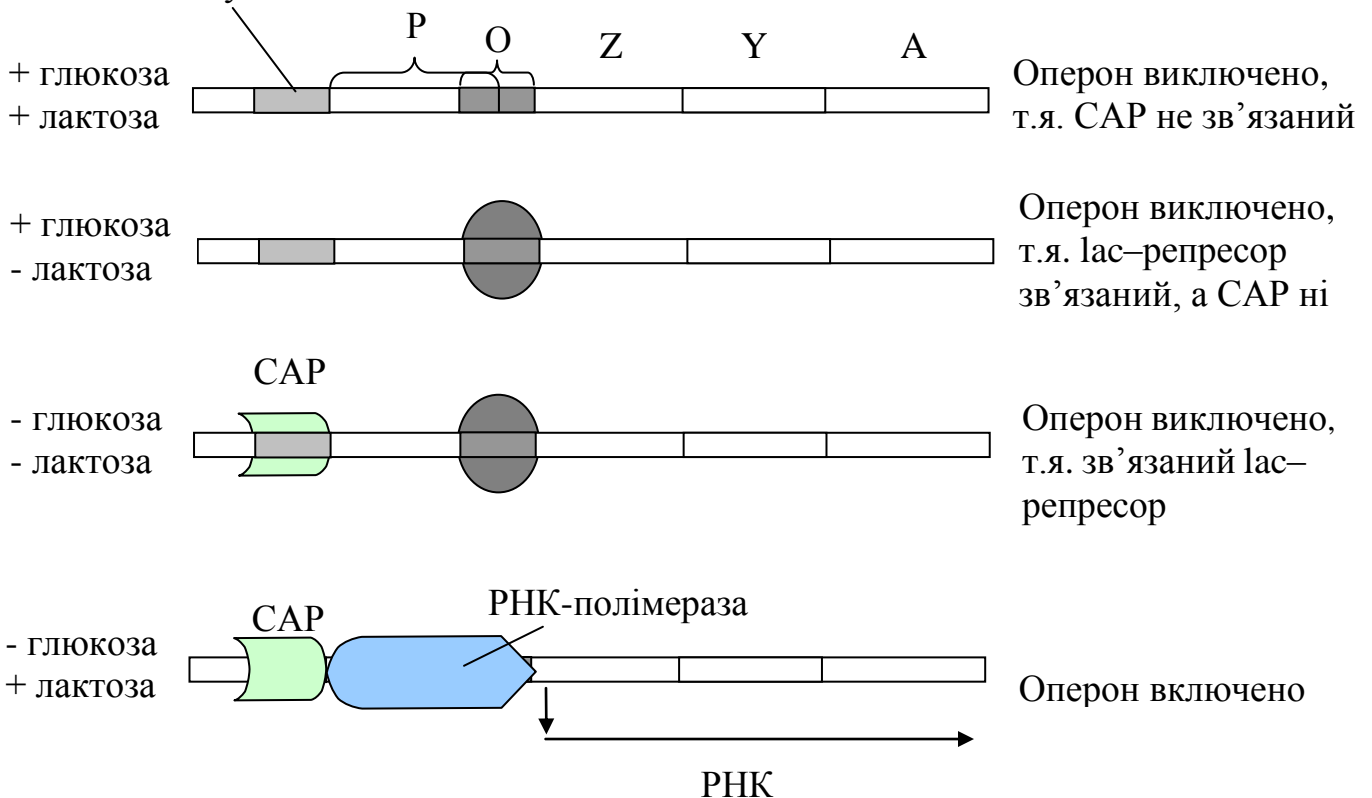


Лактоза виступає в якості індуктора транскрипції генів Z, Y та A, що супроводжується синтезом відповідних ферментів.

При відсутності лактози в бактеріальній клітині синтезується активний білок-репресор під контролем гена-регулятора, в якого є свій промотор та термінатор. Активний репресор – це алостеричний тетрамерний білок, який з'єднується з оператором, блокуючи ініціацію транскрипції в стартовій крапці гену, яку повинна здійснювати РНК-полімераза.

Поява лактози у середовищі призводить до її приєднання до білка-репресора, який змінює конфігурацію, інактивується та губить здатність з'єднуватись з оператором. Для активації транскрипції лактозного оперону потрібне приєднання білка-активатора – **САР-білка** (білок-активатор катаболізму), який приєднується на ділянку перед промотором. Пов'язування САР-білка регулюється глюкозою.

Сайт пов'язування САР



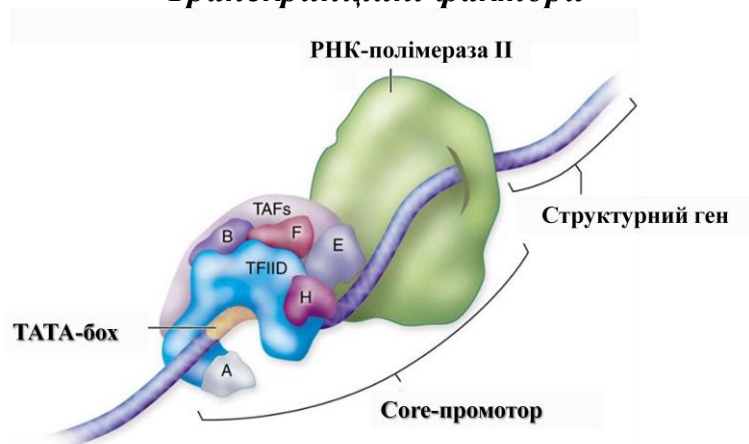
Пов'язування CAP-білка з промотором відбувається якщо CAP з'єднується з цАМФ, концентрація якої зростає, якщо у зовнішньому середовищі немає глюкози. Якщо рівень глюкози зростає, то концентрація цАМФ значно знижується, що приводить до активації лактозного оперону.

4. РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ ТРАНСКРИПЦІЙНИМИ ФАКТОРАМИ

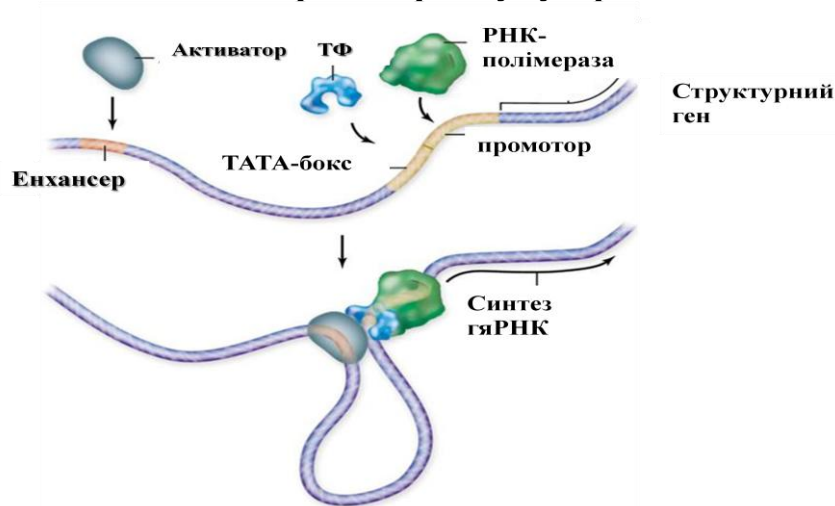
Експресію генів еукаріотів регулюють транскрипційні фактори.

1. **Загальні фактори транскрипції**, необхідні для ініціації транскрипції та належного зв'язування РНК-полімерази з ДНК.
2. **Спеціальні транскрипційні фактори**, які стимулюють транскрипцію в деяких клітинах або у відповідь на сигнали.

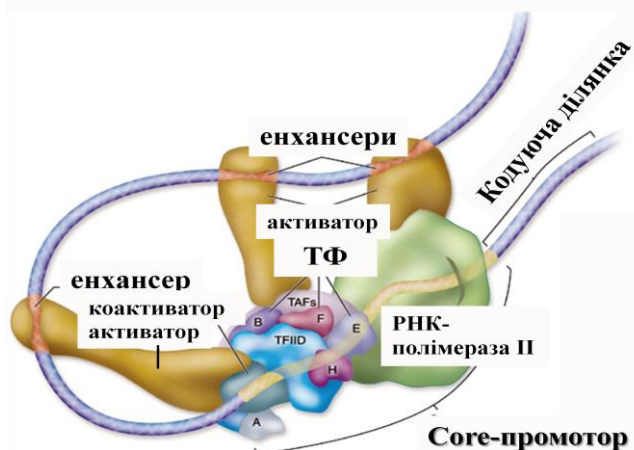
Транскрипційні фактори



Енхансер-контроль у еукаріотів



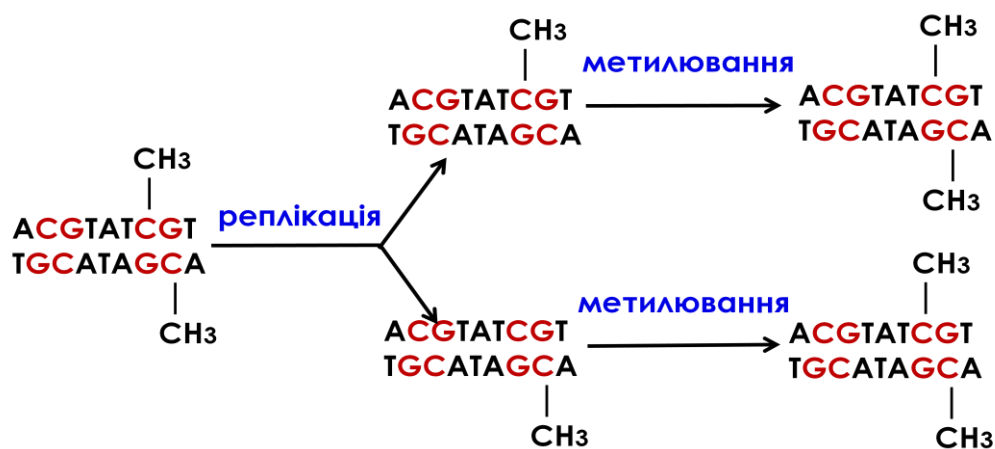
Вплив декількох енхансерів на експресію генів

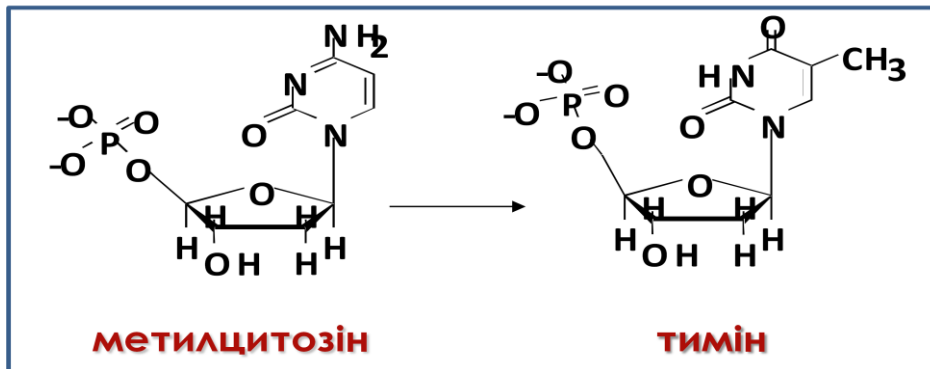
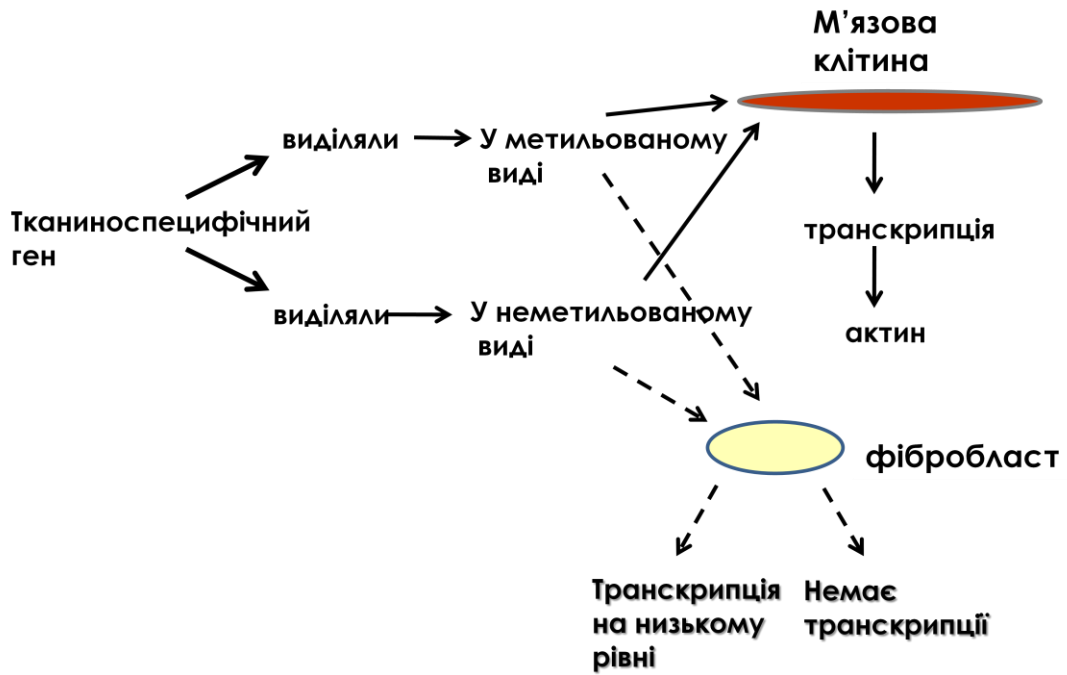


5. МЕТИЛЮВАННЯ ДНК

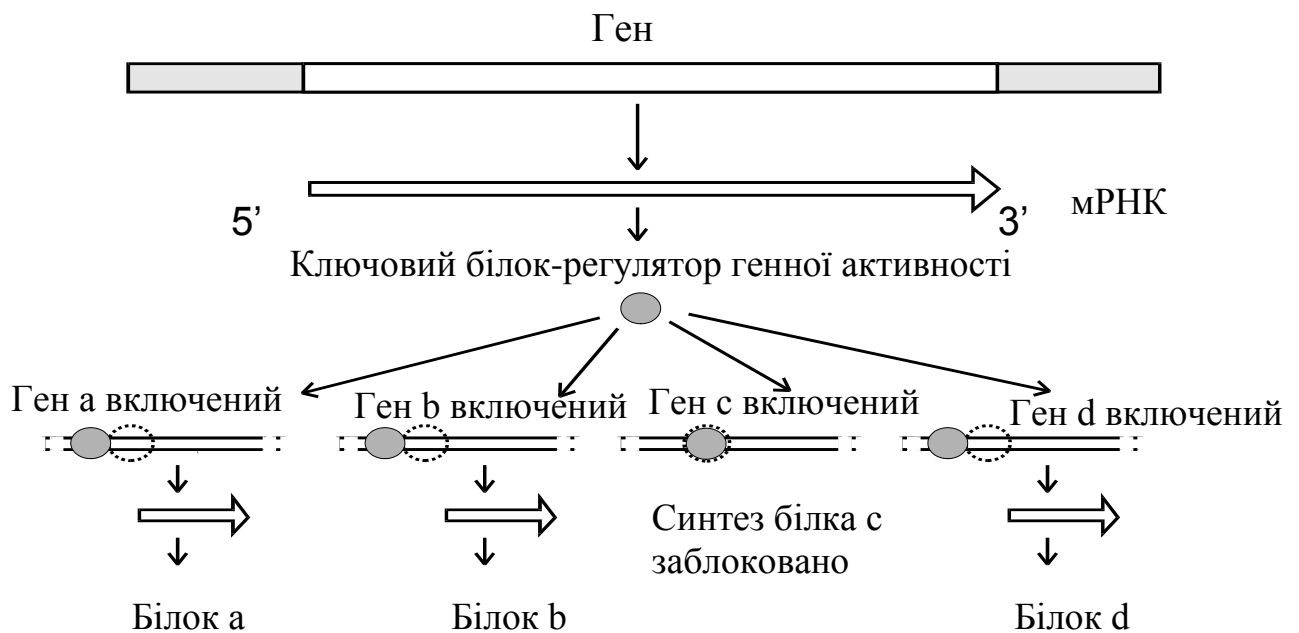
Метилювання ДНК - приєднання метильної групи до С5-атому цитозинів, розташованих в CG-острівцях (областях, багатих CG-динуклеотидами). Здійснюється ферментами метилтрансферазами.

Метилювання CG-острівців в промоторі призводить до інактивації гена (порушується взаємодія з факторами транскрипції, збільшується ступінь конденсації хроматину).

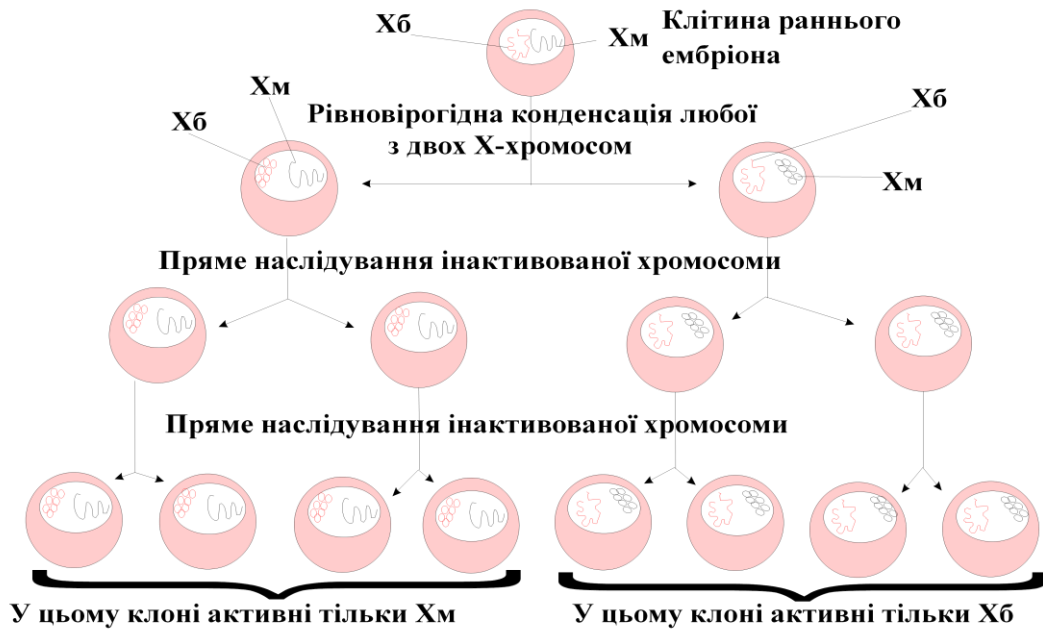




6. РЕГУЛЯЦІЯ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ У ЕВКАРІОТ ОДИМ БІЛКОМ-РЕГУЛЯТОРОМ

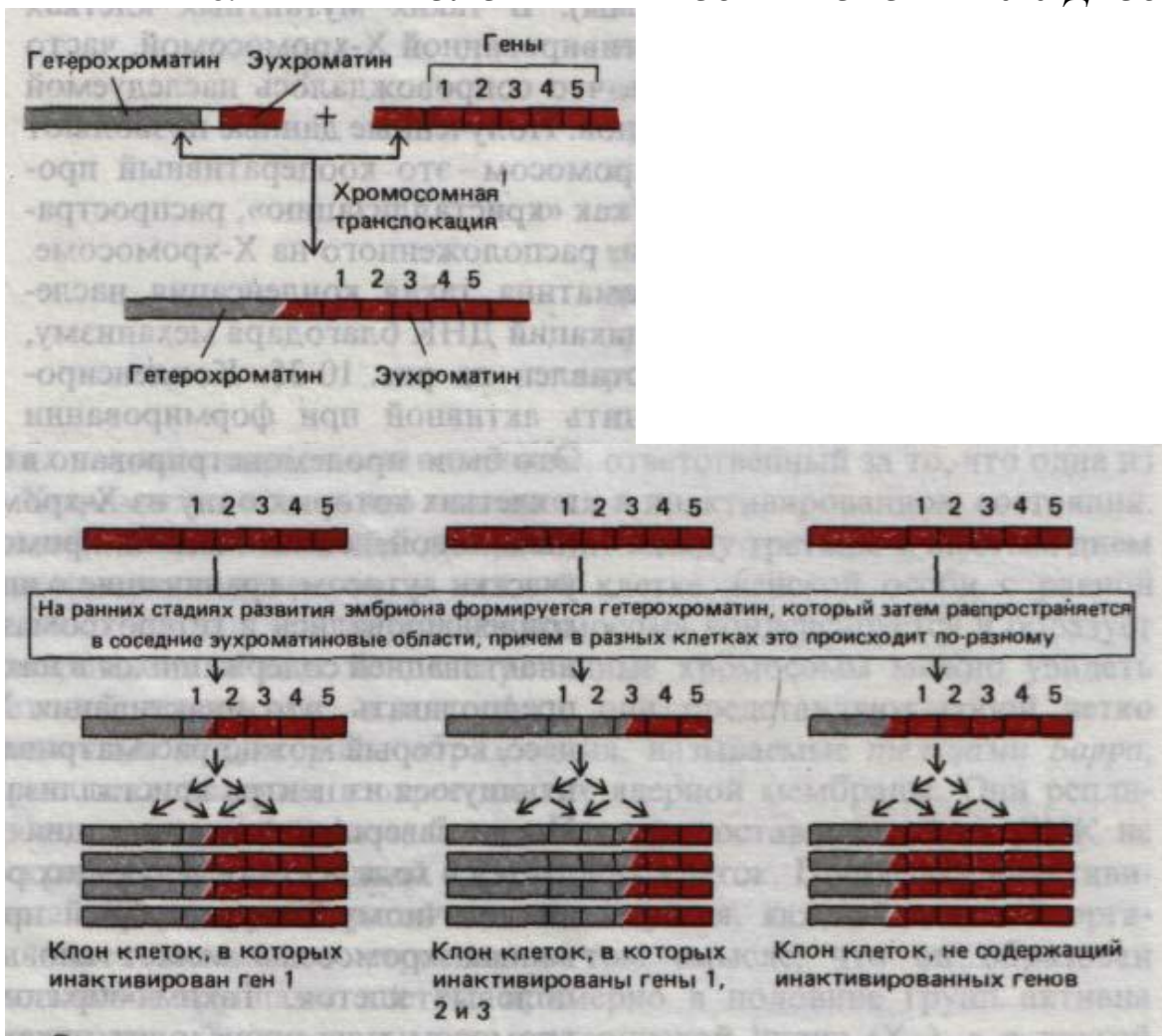


7. ІНАКТИВАЦІЯ Х-ХРОМОСОМИ



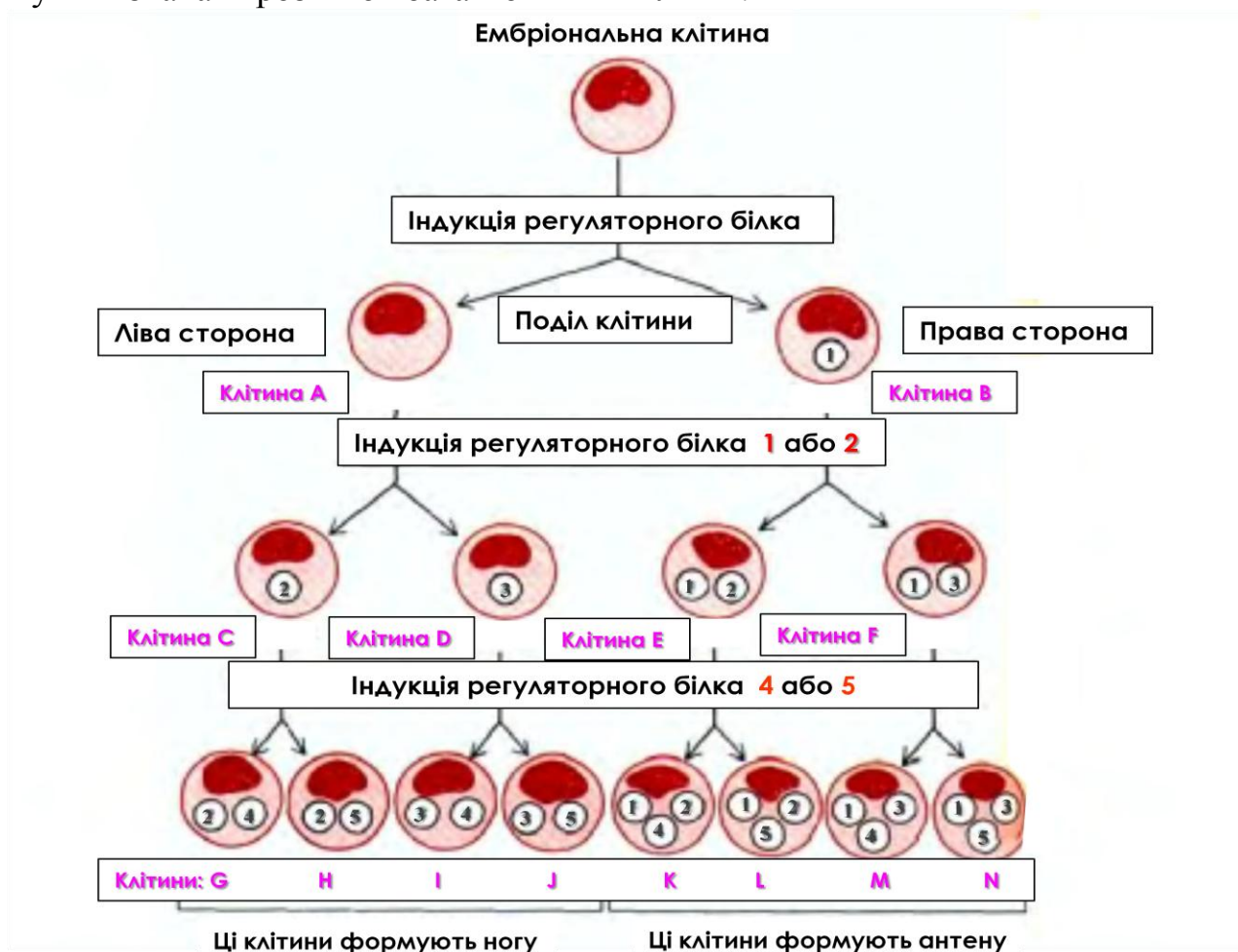
Клональне наслідування інактивованої Х-хромосоми в клітинах жіночого організму

8. ЕФЕКТ ПОЛОЖЕННЯ МОЗАІЧНОГО ТИПУ У ДРОЗОФІЛИ



9. КОМБІНАЦІЙНА РЕГУЛЯЦІЯ АКТИВНОСТІ ГЕНУ

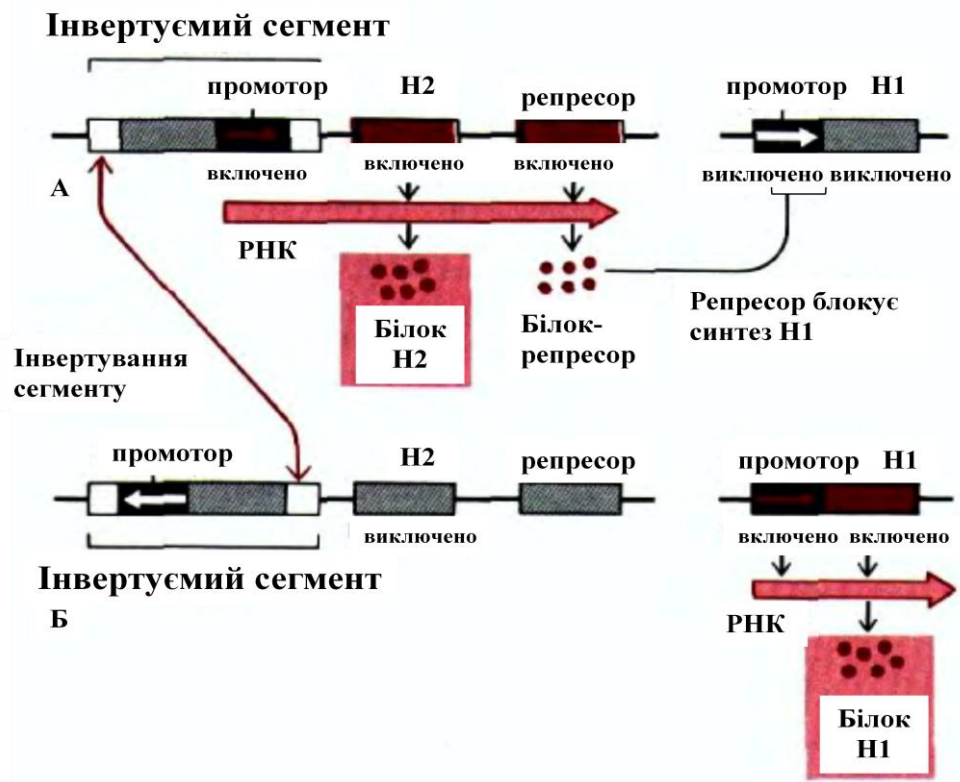
Комбінації декількох регуляторних білків, які контролюють активність генів, можуть визначати розвиток багатьох типів клітин.



Ця спрощена схема припускає, що після кожного поділу клітини відбувається вибір на користь синтезу одного з двох білків-регуляторів (позначених пронумерованими кружечками). Одна материнська клітина дає початок двом типам клітин А і В, що різняться лише тим, що в одній з них відбувається синтез регуляторного білка 1, а в іншій – ні. В ході подальшого розвитку цих клітин в деяких з них з'являються регуляторні білки 2 і 3, а потім 4 і 5. В результаті формуються 8 типів клітин (вони позначені буквами від G до N), що характеризуються різними поєднаннями п'яти регуляторних білків. Додавання ще двох білків-регуляторів (6 і 7) призведе утворення на наступній стадії 16 типів клітин. Ще 10 подібних стадій у сумі нададуть 10000 різних клітинних типів – і все це за рахунок взаємодії тільки 25 регуляторних білків.

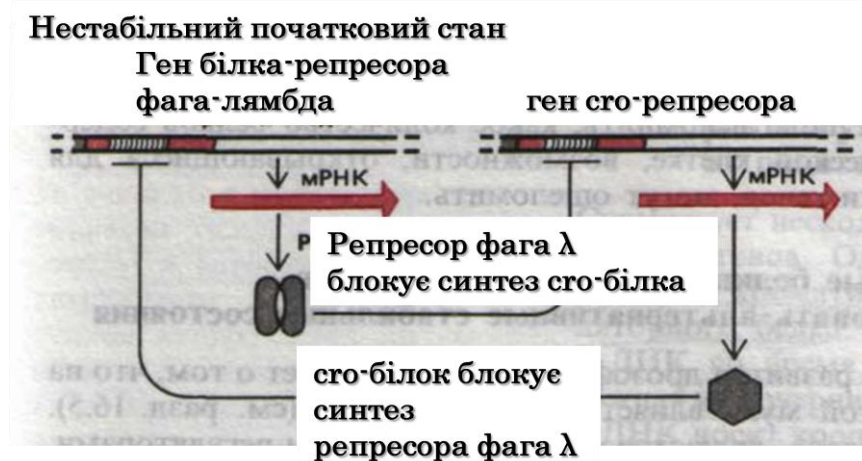
Комбінаційна регуляція гена набагато складніша цієї схеми тому, що різні регуляторні білки взаємодіють один з одним. Навіть у бактерій для включення одного-єдиного гену іноді буває необхідна взаємодія двох різних регуляторних білків. У вищих еукаріот транскрипція будь-якого гена зазвичай вимагає спільної дії цілого кластера активаторних білків. Наприклад, білок 2 при взаємодії з активаторним білком 1 може включати в клітині Е інший набір генів, ніж той, який він включає в клітині С.

10. ПЕРЕБУДОВА ПОСЛІДОВНОСТІ ДНК, ЩО ПРИВОДИТЬ ДО ВКЛЮЧЕННЯ ТА ВИКЛЮЧЕННЯ ГЕНІВ У БАКТЕРІЇ *SALMONELLA*

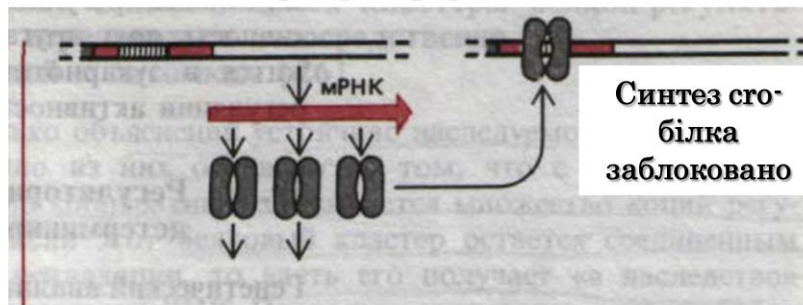


11. ПЕРЕКЛЮЧЕННЯ ГЕНІВ

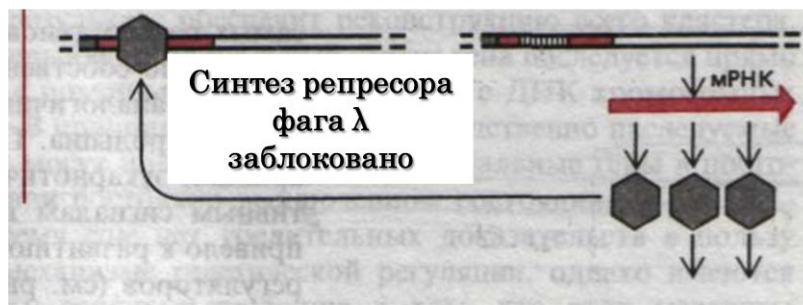
Регуляторна система, яка визначає поведінку бактеріофага лямбда в хазяйських клітинах *E. coli*:



Стабільний стан 1: синтезується тільки репресор фага λ

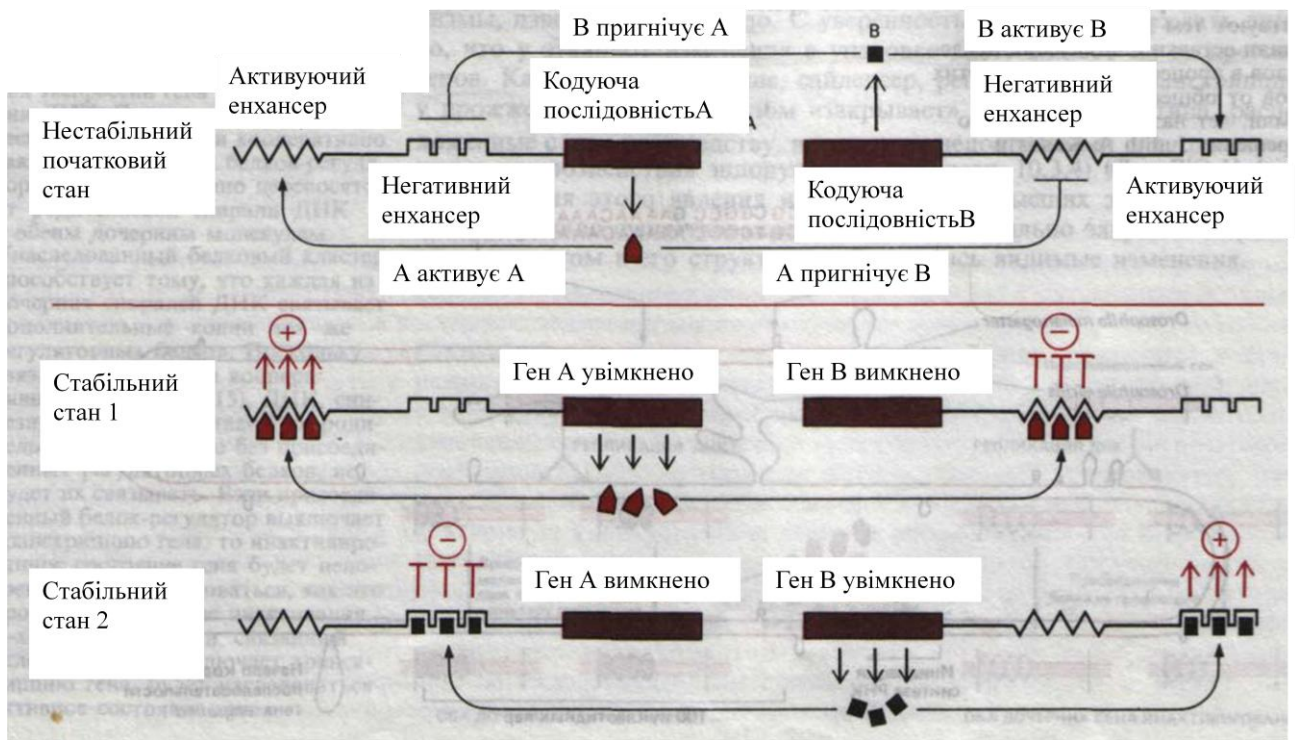


Стабільний стан 2: синтезується тільки cpo-білок



У стабільному стані 1 (лізогенний стан) синтезуються великі кількості білка-репресора фага λ . Цей регуляторний білок вимикає синтез ряду білків бактеріофага, включаючи cpo-білок. У результаті фагова ДНК вбудовується в хромосому *E. coli* і автоматично дуплікується разом з нею по мірі зростання бактерії. У стабільному стані 2 (літичний стан) синтезуються великі кількості cpo-білка. Цей регуляторний білок вимикає синтез білка-репресора фага λ . У результаті утворюється багато фагових білків, вірусна ДНК вільно реплікується в клітинах *E. coli*, формуються нові частки бактеріофага, що призводить до загибелі клітини. Кооперативна та конкурентна взаємодія між репресором λ і cpo-білком сприяє переключенню за типом «все або нічого» між цими двома станами

Два головних білка-регулятора сприяють молекулярному переключенню у евкаріот (на прикладі дрозофіли)



12. ПРЯМЕ НАСЛІДУВАННЯ СТАНУ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНУ В ХОДІ РЕПЛІКАЦІЇ ДНК

