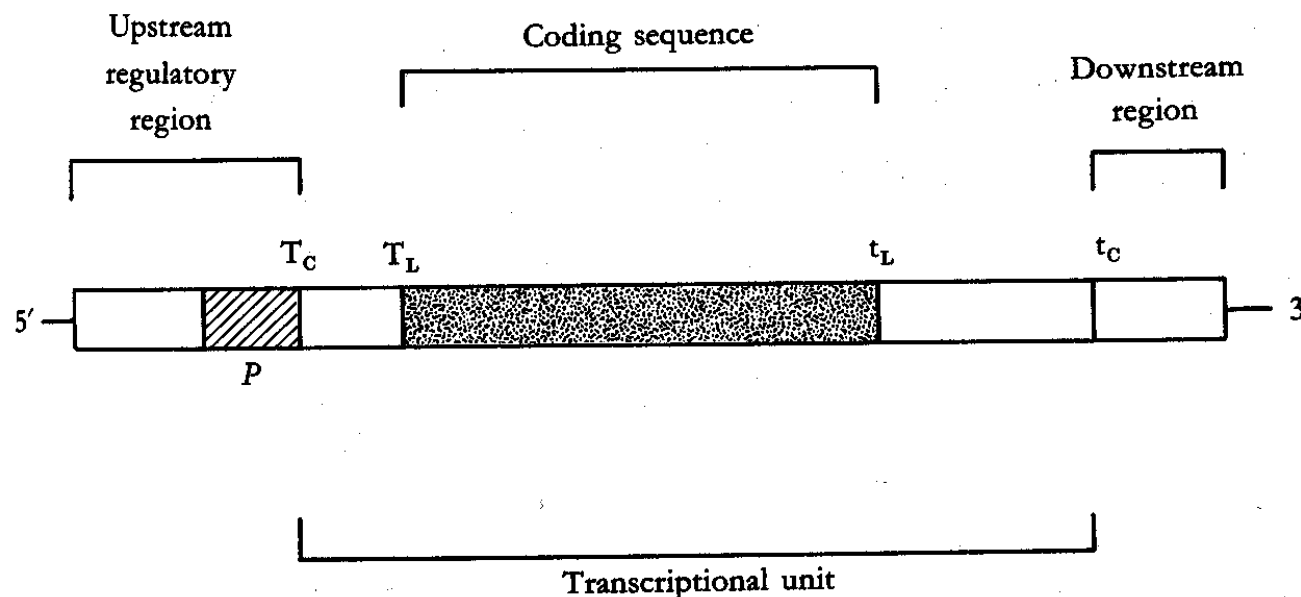


Контрол на транскрипцията.
Прокариоти - Оперони.
Еукариоти.

Доц. Милена Атанасова, д.б.
Ръководител сектор “Биология”
МУ-Плевен

Организация на гена

Gene organisation 15



- Транскрипционната единица продуцира РНК молекула и започва с транскрипционен старт (T_C) и стоп сайт (t_C). Състои се от:
- кодиращата последователност - структурни гени
- регулаторната област в левия край, където се разполагат контролиращи елементи, такива като енхансери или оператори, както и промотора (*P*), който е място за свързване на РНК-полимераза, за да започне процеса на транскрипция.

Прокариотна регулация

- Контролът на транскрипцията:
 - **Положителен/позитивен** – стимулира се транскрипцията при свързване на **активатор** към ДНК
 - **Отрицателен/негативен** – редуцира се процесът при свързване на **репресори** в сегменти от ДНК молекулата **оператори**

Регулация при прокариотите

- Прокариотните клетки често реагират на промените на заобикалящата ги среда с промени в генната експресия.
- Гени, кодиращи елементи, участващи в свързани метаболитни процеси са организирани в **оперони**.
- Опероните са форма на транскрипционен контрол.
- Някои оперони се **индуцират** при нужда от продуктите на гените, които съдържат.
- Някои се **репресират** ако продуктите на гените им не са необходими.

Регулация при прокариотите

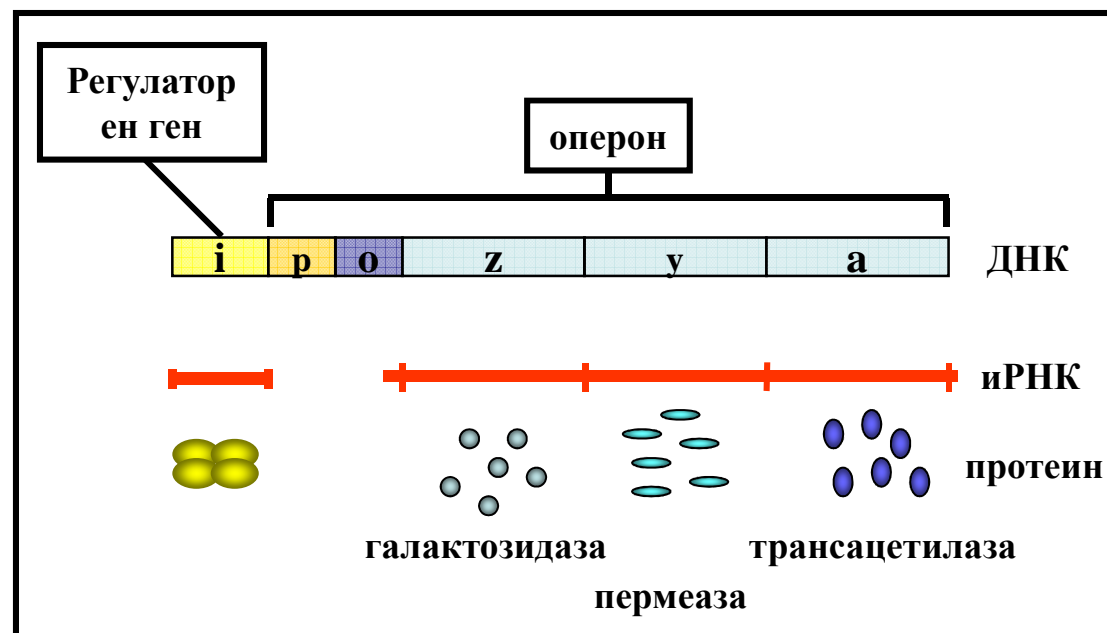
- ***lac* оперона** – първият изследван и описан (Jacob and Monod -1959) – съдържа гени за ензими, участващи в използването на лактозата като енергиен източник.
- Регулаторните секвенции включват **CAP свързващо място, промотор, и оператор.**
- Кодиращата част съдържа гени за 3 ензима: **β -галактозидаза, пермеаза, и трансацетилаза**

Индуцируеми гени – Модел за оперон

- Определение: Гени, чиято експресия се **включва/индуцира** от някои субстанции
- Лактозата индуцира експресията на *lac* гените
 - Антибиотиците индуцират експресията на ген за резистентност
 - Катаболитните пътища се осъществяват от индуцируеми гени

Лактозен оперон

- **Структурни гени**
 - *lac z*, *lac y*, & *lac a*
 - Промотор
 - Полицистронна иРНК
- **Регулаторен ген**
 - Репресор
- **Оператор**
- **Оперон**
- **Индуктор - лактоза**



- **Индуктор-лактоза**

- липса

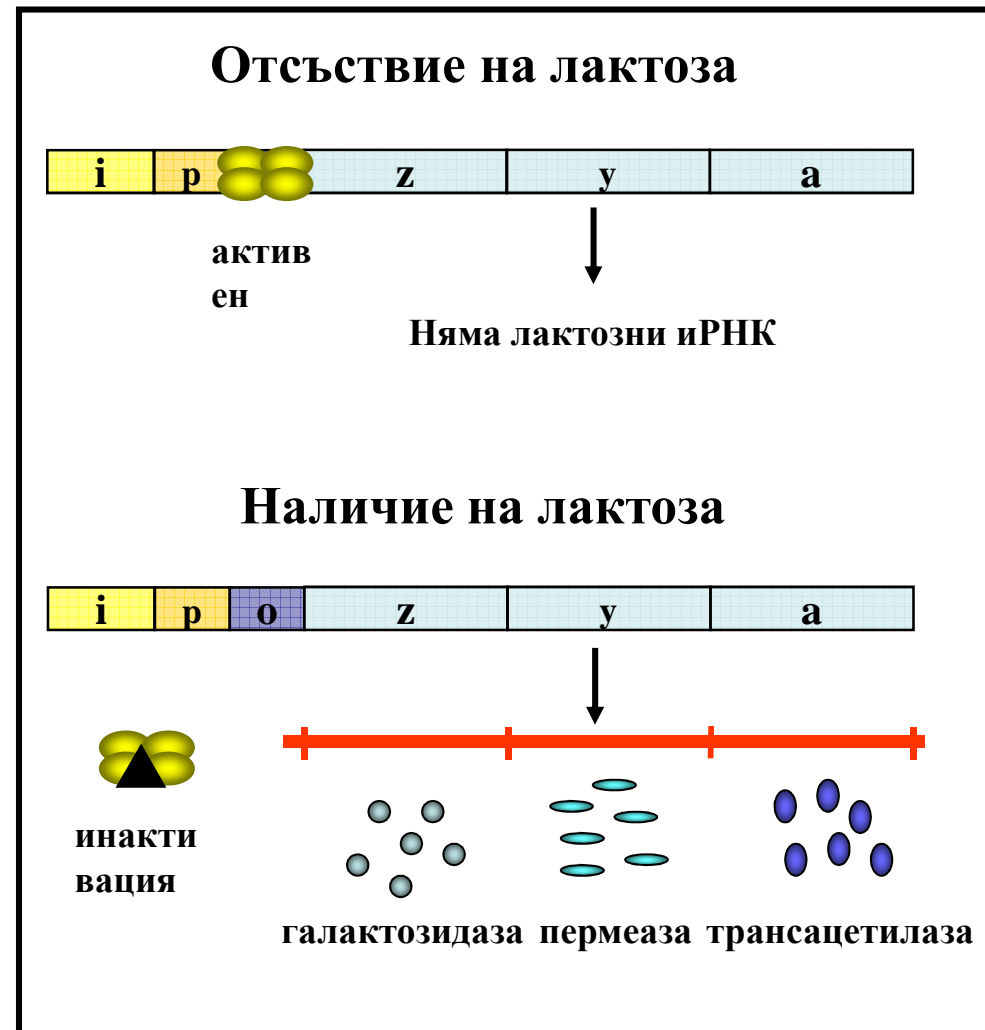
- Активен репресор свързан с оператора
 - Няма експресия

- наличие

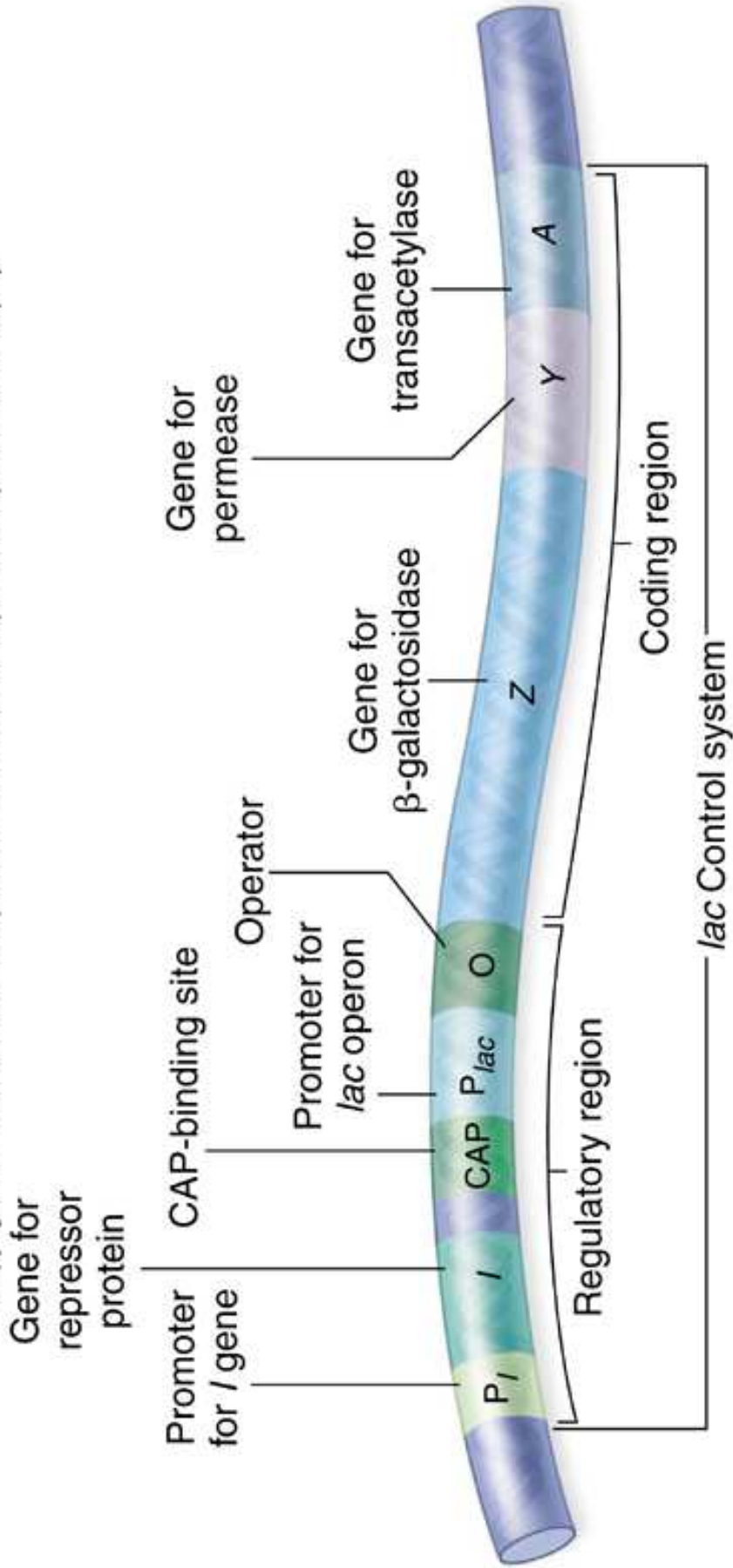
- Инактивиране на репресора при свързване с лактозата
 - експресия

- **Негативен контрол** – система при която активната субстанция (репресорът) **изключва** функцията

Лактоза

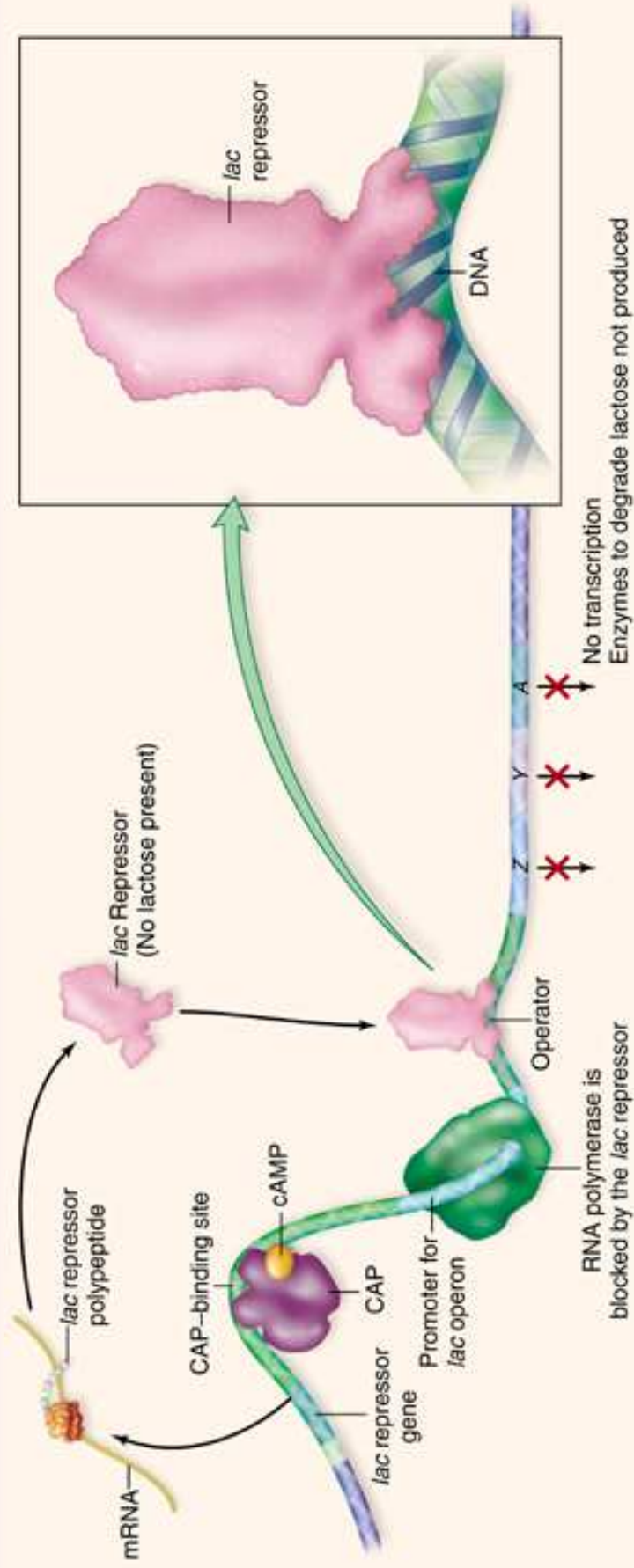


Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

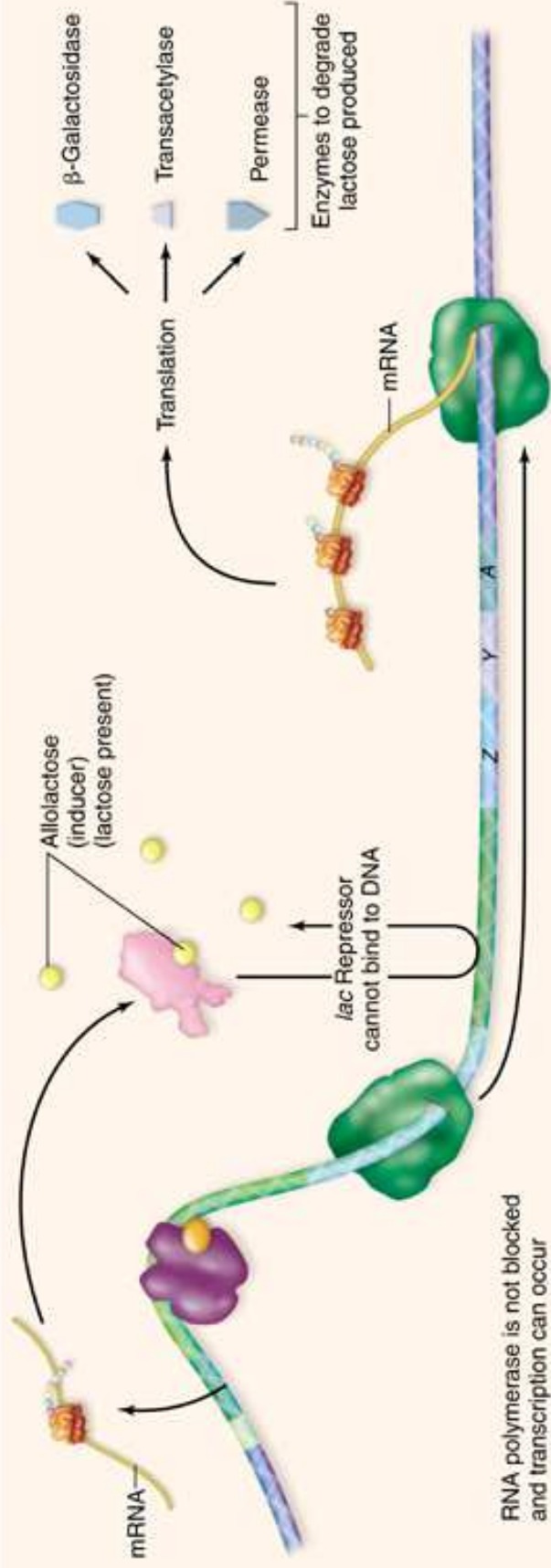
lac Operon Is "Repressed"



a.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

lac Operon Is "Induced"



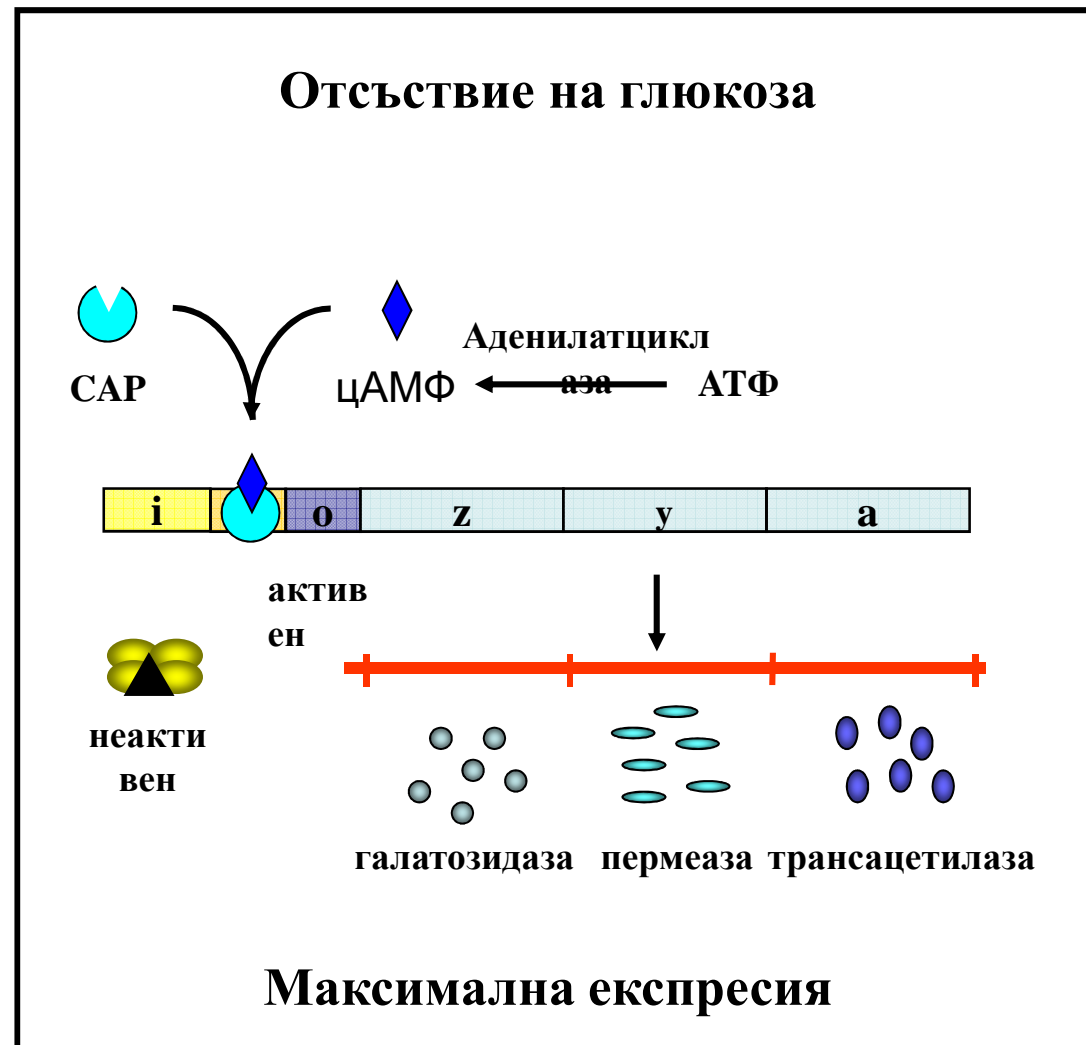
b.

Регулация при прокариоти

- В присъствие на глюкоза и лактоза бактериите предпочитат глюкозата като енергиен източник.
- Глюкозата предотвратява индукцията на *lac* оперона.
 - Свързването на комплекса **CAP – цАМФ** към **CAP** свързващото място е необходимо за **индукция** на *lac* оперона
 - При високи нива на глюкозата цАМФ намалява
 - глюкоза → ниски нива на цАМФ → няма индукция

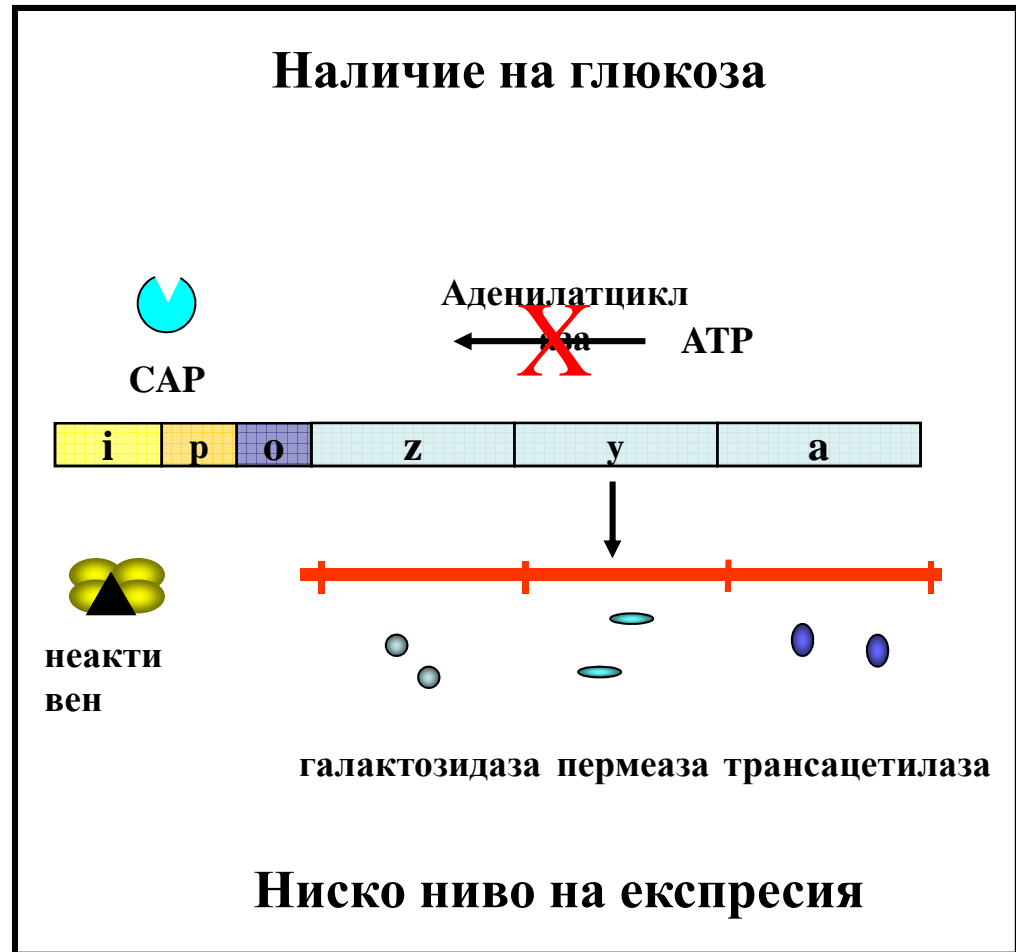
Механизъм на катаболитна репресия

- цАМФ
- CAP протеин
- CAP- цАМФ комплекс
 - Активация на промотора
- Позитивен контрол - система при която активната субстанция (CAP-цАМФ) **включва** функцията



Механизъм на катаболитна репресия

- Глюкоза↑:цАМФ↓
- CAP протеин
- Няма CAP-цАМФ комплекс
 - Няма промоторна активация



Репресирuеми гени – Модел на оперон

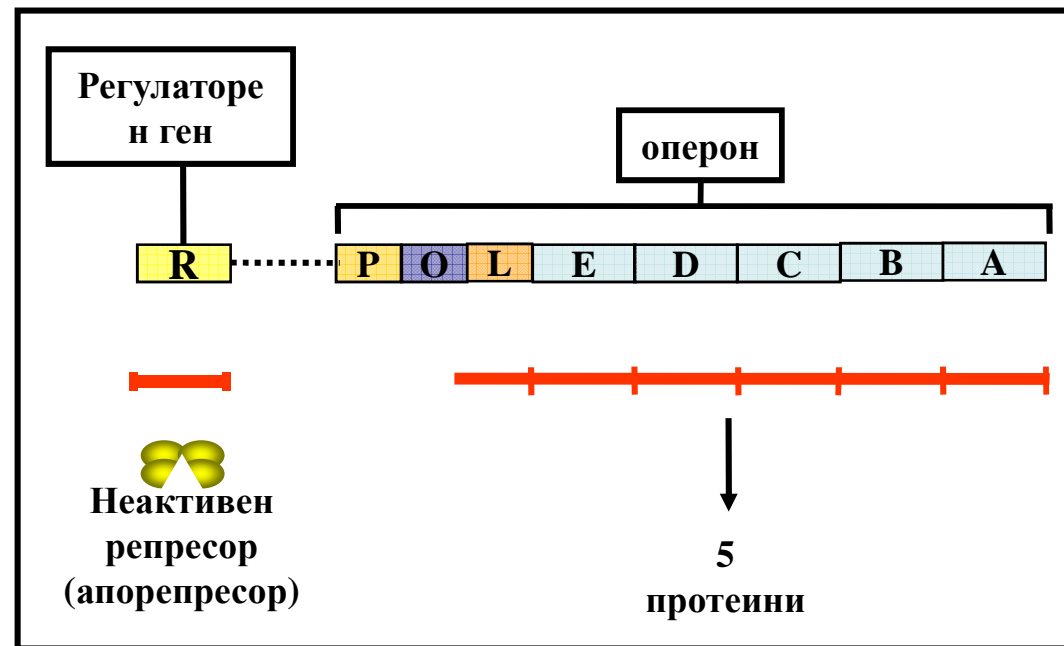
- Определение: Гени, чиято експресия се **изключва** в присъствието на някаква субстанция (**корепресор**).
 - Триптофанът репресира гените в *trp*.
- Синтетични/анаболитни пътища
 - Корепресорът обикновено е крайния продукт на анаболитния път.

Регулация при прокариоти

- ***trp* оперонът** съдържа гени за биосинтеза на триптофан.
- Оперонът не се експресира когато клетката съдържа достатъчно количество от триптофана.
- Оперонът се експресира когато нивата на триптофан в клетката са ниски.

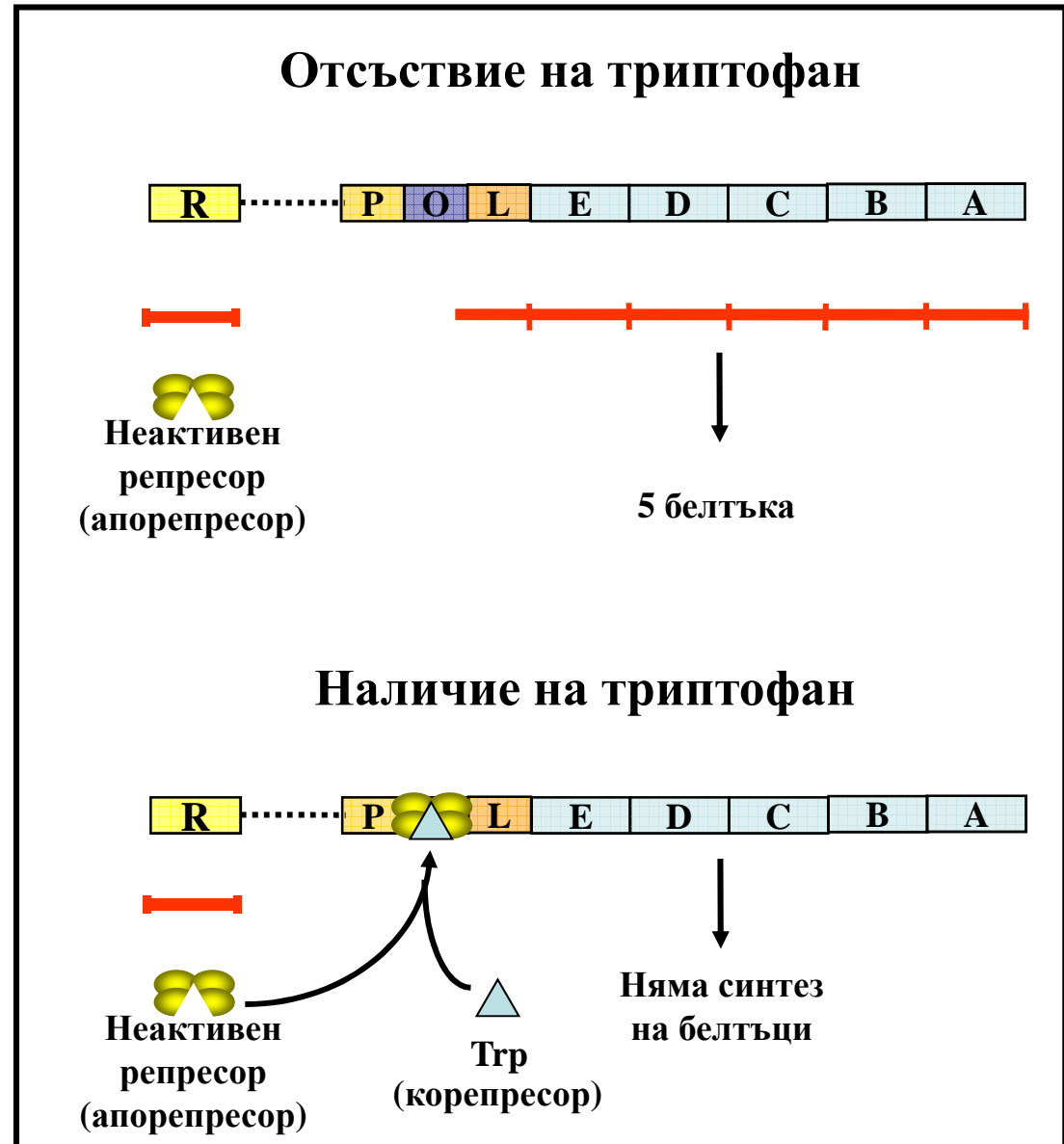
Триптофанов оперон

- **Структурни гени**
 - *trp E, trpD, trpC*
trpB & trpA
 - Имат общ промотор
- **Регулаторен ген**
 - апорепресор
 - неактивен
- **оператор**
- **лидер**
- **оперон**
- **корепресор**
 - триптофан



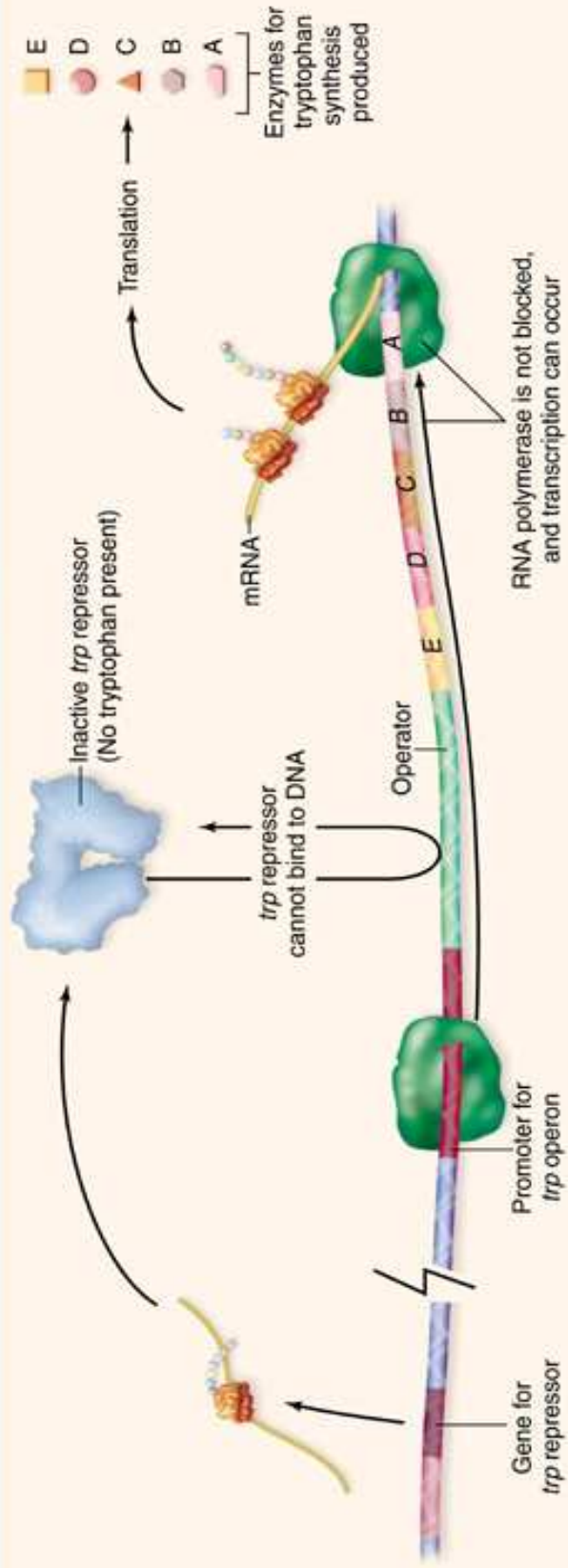
Триптофанов оперон

- Корепресор-триптофан
 - Отсъствие на триптофан
 - Експресия на гените
 - Наличие на триптофан
 - Активен репресор
 - Гените не се експресират
- **Негативен контрол** системата произвежда репресор, който изключва оперона
- Роля на триптофана като корепресор



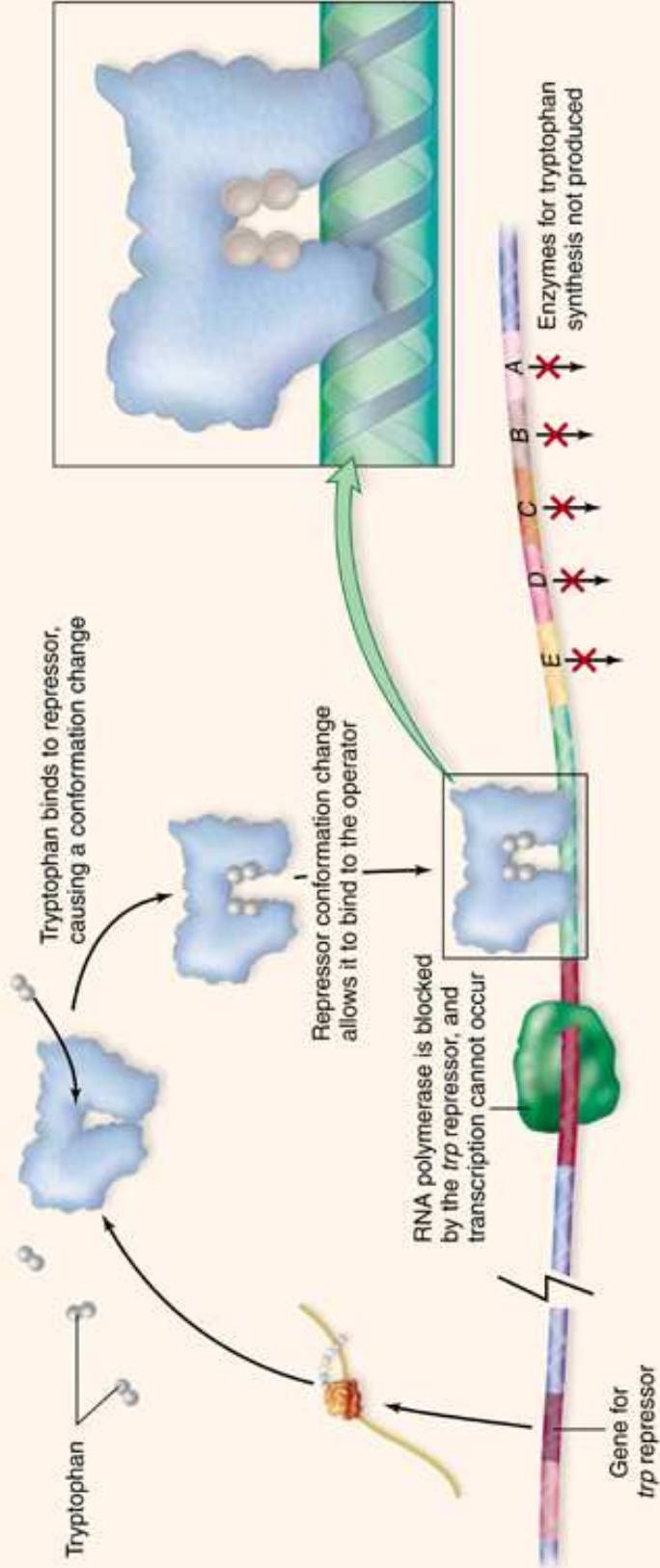
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Tryptophan Absent, Promoter Activated



a.

Tryptophan Present, Promoter Repressed



b.

Структура на еукариотните хромозоми

- Еукариотната ДНК е пакетирана под формата на хроматин.
- Хроматиновата структура е директно свързана с контрола на генната експресия.
- Хроматиновата структура започва на ниво организация на ДНК в нуклеозоми.
- Нуклеозомите могат да блокират достъпа на РНК полимераза II до промоторите.
- Еухроматин и хетерохроматин

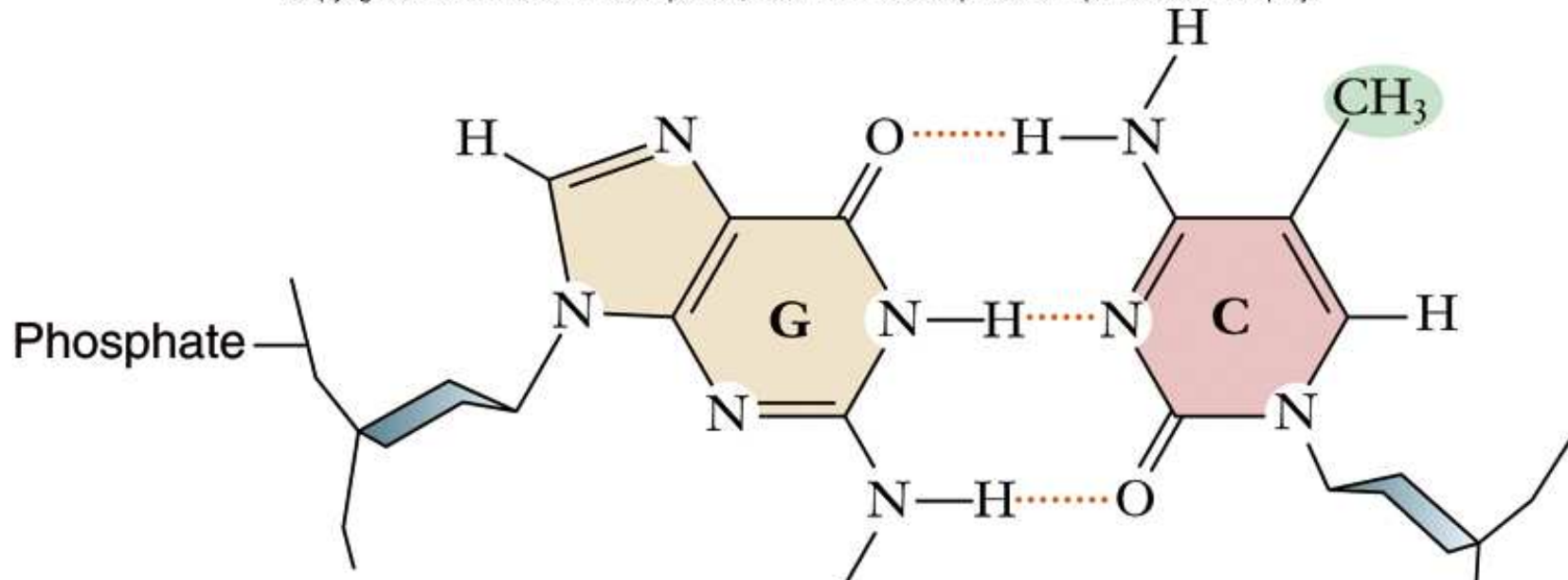
Контрол на транскрипцията при еукариоти

- **Епигенетичен контрол:** Отнася се за промени в начина на експресия на гените, а не на промени в подреждането на нуклеотидите в рамките на гена или генома. Включва ацетилиране, метилиране, фосфорилиране на хистоновите протеини.
- **Метилиране** (добавяне на $-CH_3$) на ДНК или на хистоновите протеини има значение за контрола на генната експресия.
- Групи от метилирани цитозинови нуклеотиди се свързват към протеини, пречици на активаторите да се свържат с ДНК.
- Метилирането на хистоновите протеини се свързва с инактивация на хроматина (не се наблюдава експресия в метилираните области).

Метилиране

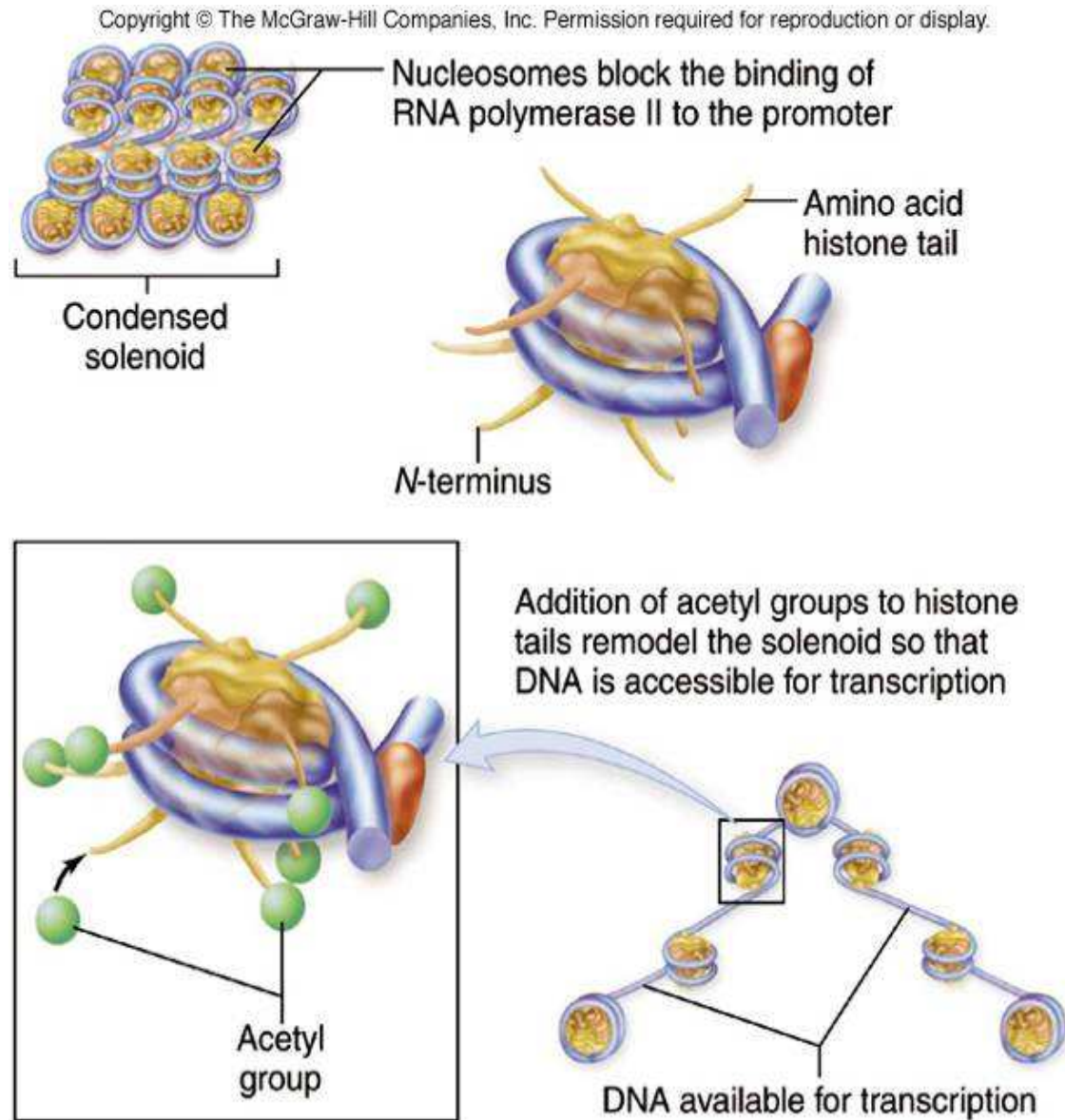
- При бозайниците майчиният и бащиният хаплоиден набор са неравностойни: при някои гени се експресира само алелът, получен от бащата, при други – от майката. Явлението се нарича **геномен импринтинг** (imprinting, англ. – отпечатване) и се основава на унаследяване на типа метилиране от родителя.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Ацетиране

- **Ацетирането** на хистоните прави ДНК достъпна за транскрипция.



Контрол при еукариоти

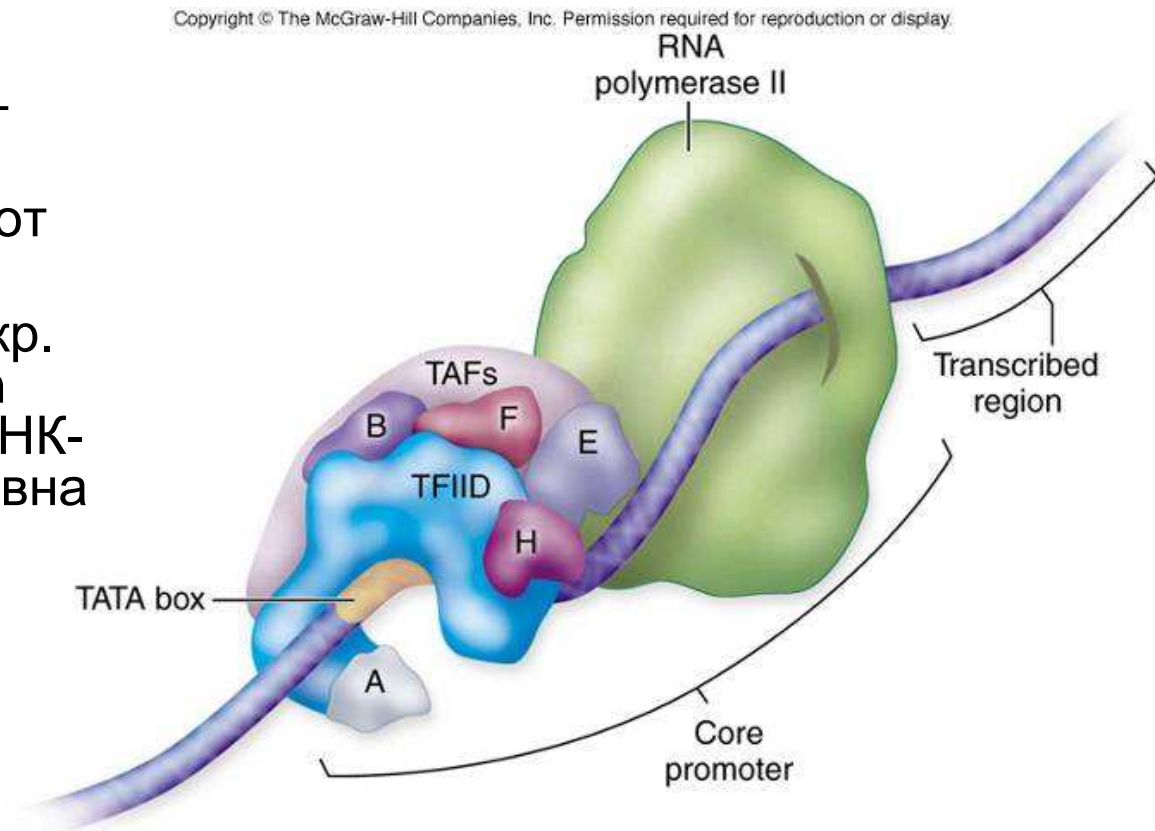
- Контрол при Инициация на транскрипцията: най-важния контрол. Специфичните фактори, упражняващи контрол, са силата на промотора, наличието или отсъствието на енхансери и взаимодействието между множество активаторни протеини.
- **Транскрипционни фактори ТФ**.
 - **Главни ТФ** - необходими са при инициация
 - Изискват се за свързването на РНК пол към ДНК
 - **Специфични ТФ** увеличават транскрипцията в определени клетки в отговор на сигнали.
- **Енхансери** – ДНК последователности към които се свързват специфични ТФ (**активатори**) за да се увеличи нивото на транскрипция.

Транскрипционни фактори

- РНК-полимеразите не разпознават самите промотори.
- Първо с промотора специфично се свързва белтък, наречен **транскрипционен фактор**.
- След това РНК-полимеразата се присъединява към комплекса транскрипционен фактор – промотор.
- напомнят прокариотните сигма-фактори.
- разлика: сигма-факторите разпознават промотора само ако са свързани с корензима, еукариотните транскрипционни фактори разпознават промотора **сами** и едва тогава се свързват с РНК-полимеразата.

Транскрипционни фактори

- няколко транскрипционни фактори, всеки от които разпознава определен набор от промотори и “мобиализира” една от РНК-полимеразите.
- Означават с TF (съкр. от англ. transcription factor), номера на РНК-полимеразата и главна латинска буква за конкретния фактор, например TFIIIA.



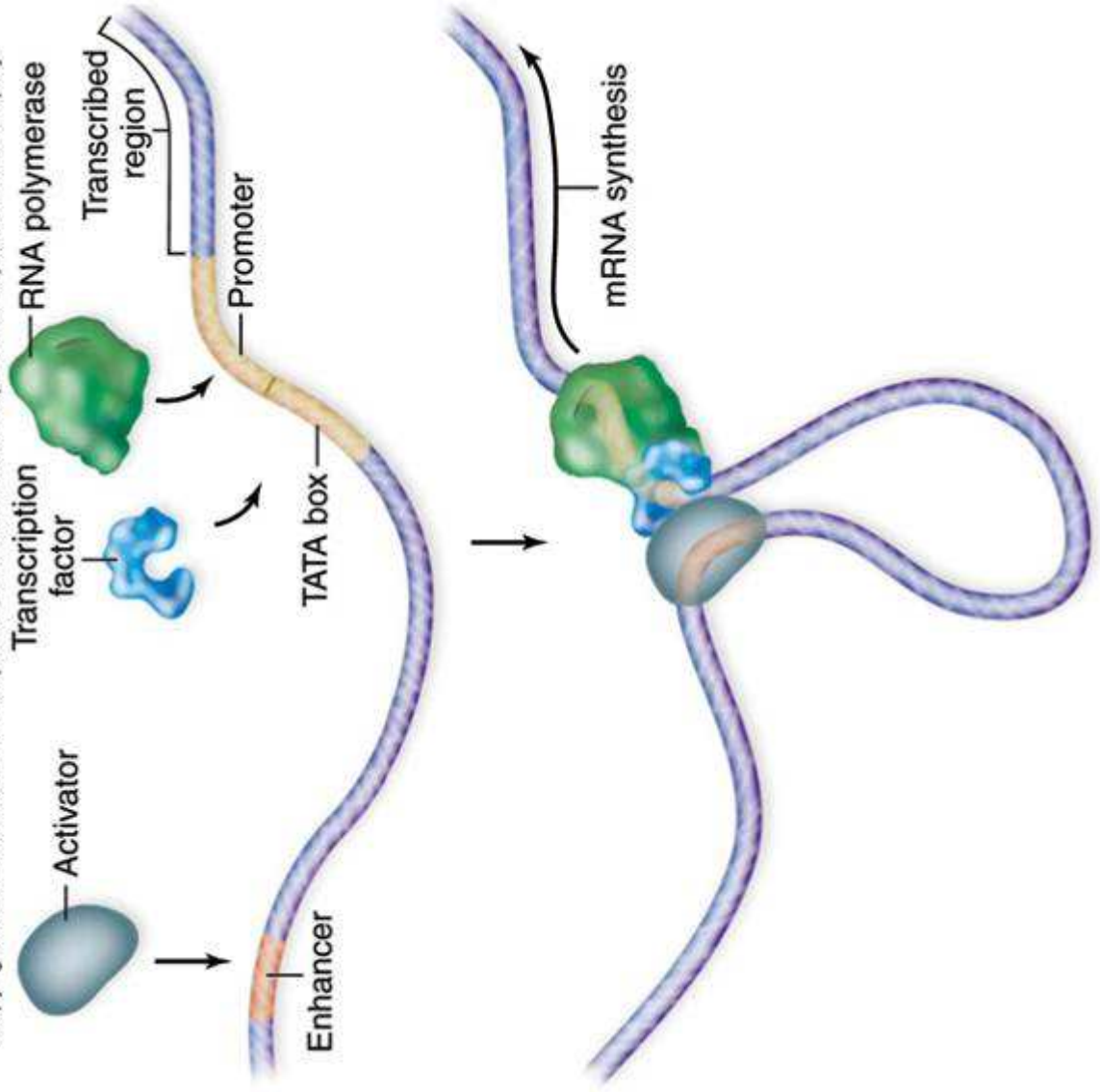
Енхансери

- Цис-регулаторни последователности (enhance, англ. – усилвам)
- Активират даден промотор от разстояние над 100 нд в коя да е посока и запазват активността си, ако се обърнат на 180 градуса
- Повечето енхансери са на няколко хиляди нд от промотора си. При огъване се оказват точно до него
- Бактериите също имат такава регулация, но за малък брой гени и обикновено тези прокариотни последователности се описват, без да се наричат енхансери.
- При еукариотите, почти всички изучени гени имат по 1 – 2 енхансера.

Регулаторни протеини

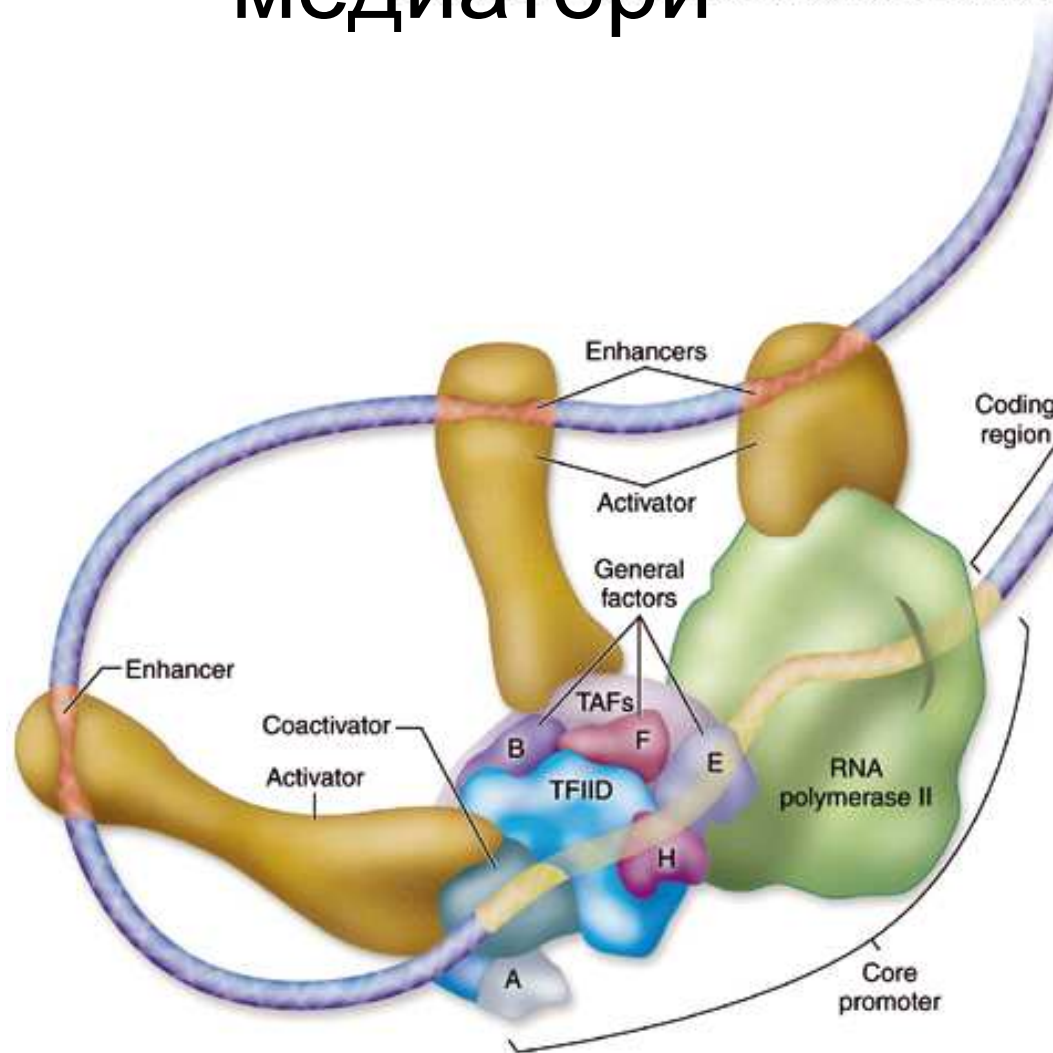
- Цис-регулаторните последователности могат да бъдат причина за **ефект на положението**. Ако даден ген се премести без някои от тях, той може да се транскрибира по нов начин или изобщо да не се транскрибира, независимо, че пак е в еухроматинова област.
- Освен това генът може да се повлияе от чужди регулаторни последователности, които е намерил на новото си място.
- Цис-регулаторните последователности са къси, но често се “разхвърляни” по дълги участъци и действат от голямо разстояние. Затова типът на експресията се запазва само ако генът се пренесе с много ДНК от двете страни (понякога са нужни над 10 000 нд).

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Коактиватори и медиатори

- Коактиватори и медиатори необходими са за да функционират ТФ - Свързват ги към други части на транскрипционния апарат.



Activators

These regulatory proteins bind to DNA at distant sites known as enhancers. When DNA folds so that the enhancer is brought into proximity with the initiation complex, the activator proteins interact with the complex to increase the rate of transcription.

Coactivators

These transcription factors transmit signals from activator proteins to the general factors.

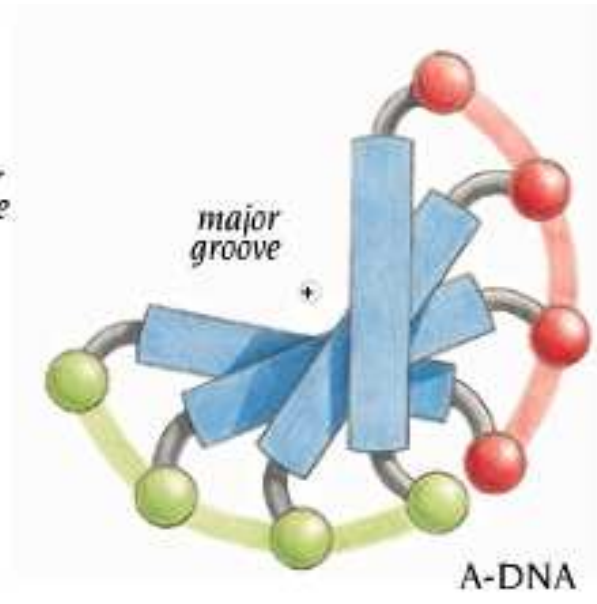
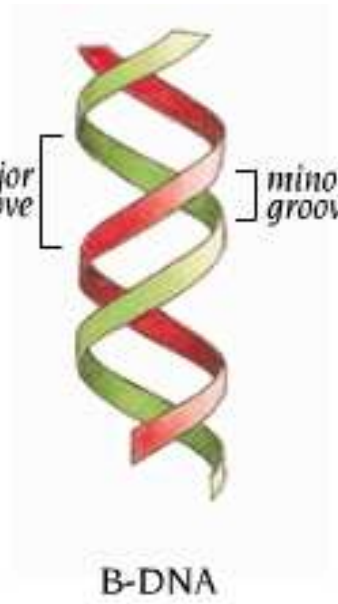
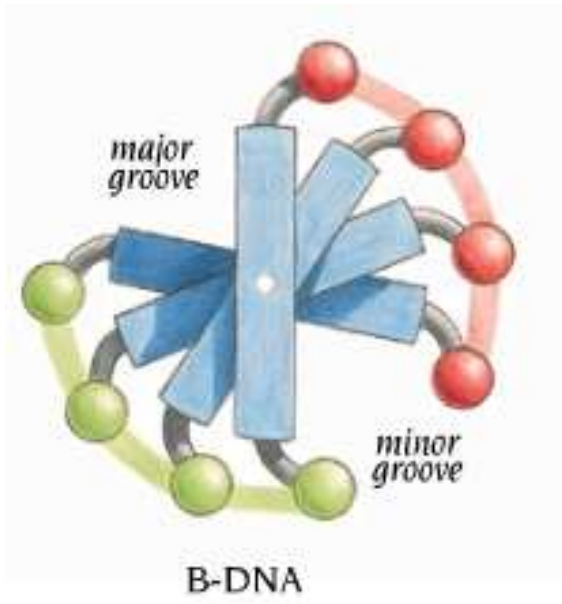
General Factors

These transcription factors position RNA polymerase at the start of a protein-coding sequence and then release the polymerase to initiate transcription.

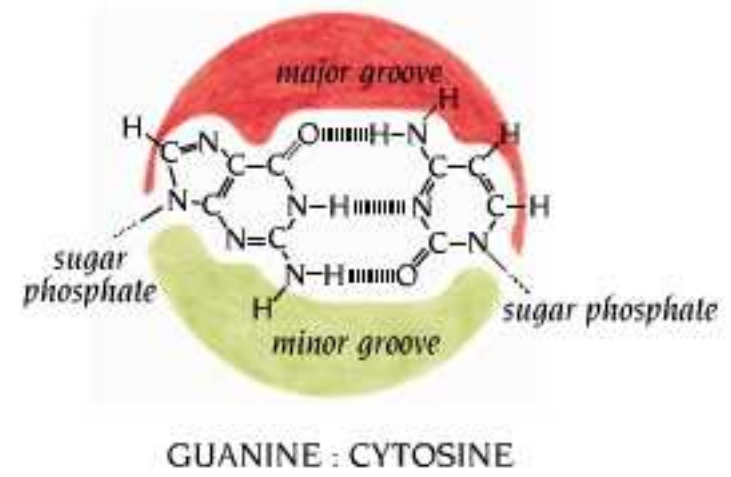
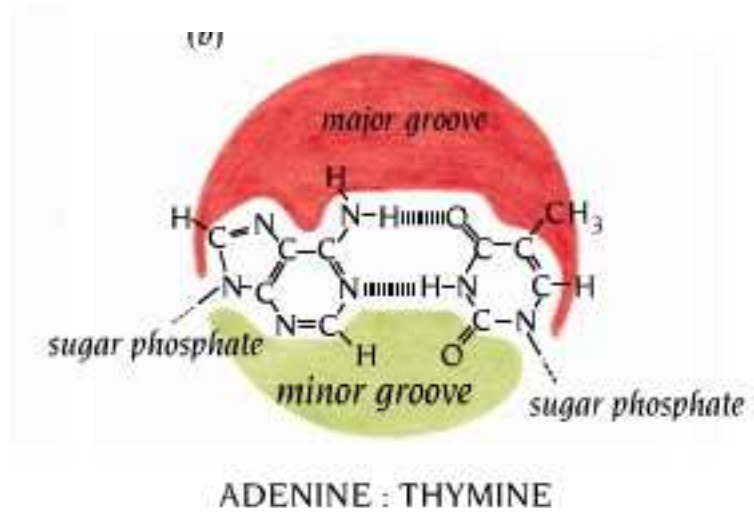
Регулаторни протеини

- **Регулаторни протеини** свързват се към ДНК за да блокират или да стимулират транскрипцията, в зависимост от това как взаимодействат с РНК полимеразата.
 - Достигат базите на ДНК като навлизат в **голямата бразда** на молекулата
 - Свързват се с ДНК чрез **ДНК-свързващи домени**
- Няколко **ДНК-свързващи домени**
 - **Спирала-завой-спирала** – и при прокариоти
 - **Хомеодомен**
 - **Цинкови пръсти**

Малка и голяма бразда на ДНК молекулата

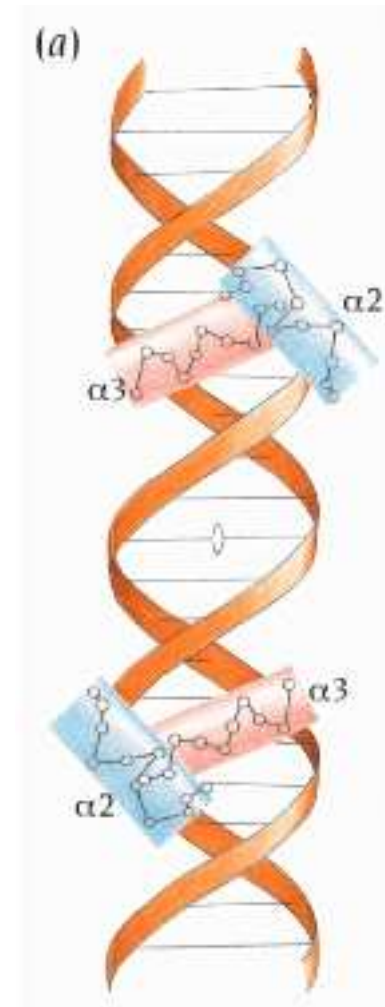


© 1999 GARLAND PUBLISHING INC.
A member of the Taylor & Francis Group

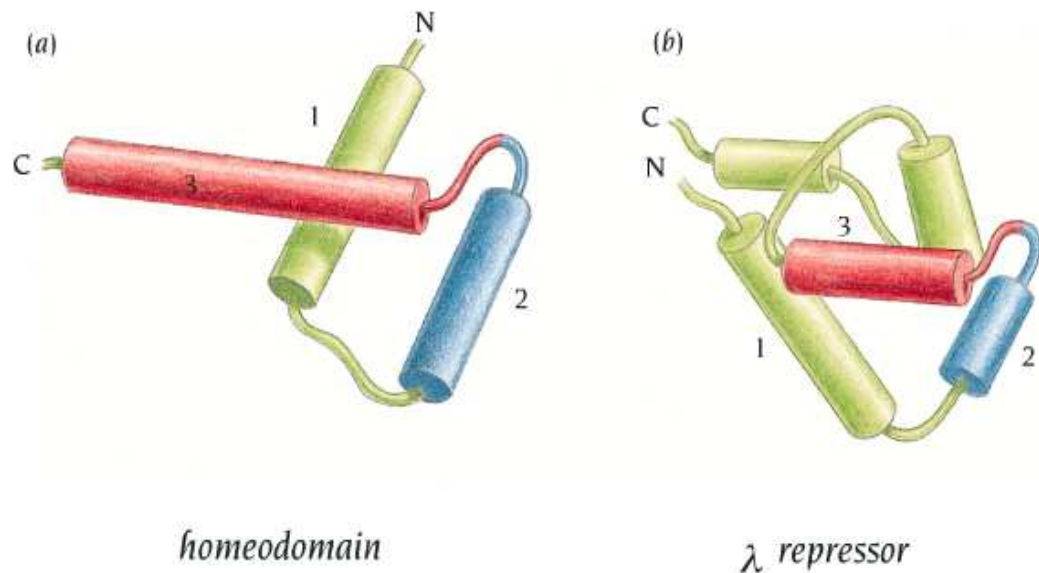


Спирала-завой-спирала домен

- Най-честия ДНК свързващ домен при прокариоти, наблюдава се при много транскрипционни репресори и активатори
- Една от спиралите, ДНК-разпознаващата, се свързва в голямата бразда
- Спирала-завой-спирала домена често е димерен, с две спирали, разпознаващи две съседни ДНК последователности
Защо димерни?
 - 1) Димерът се свързва към ДНК по-здраво от мономера
 - 2) Чрез промяна на относителната позиция на мономерите, активността на димера може да бъде включвана и изключвана



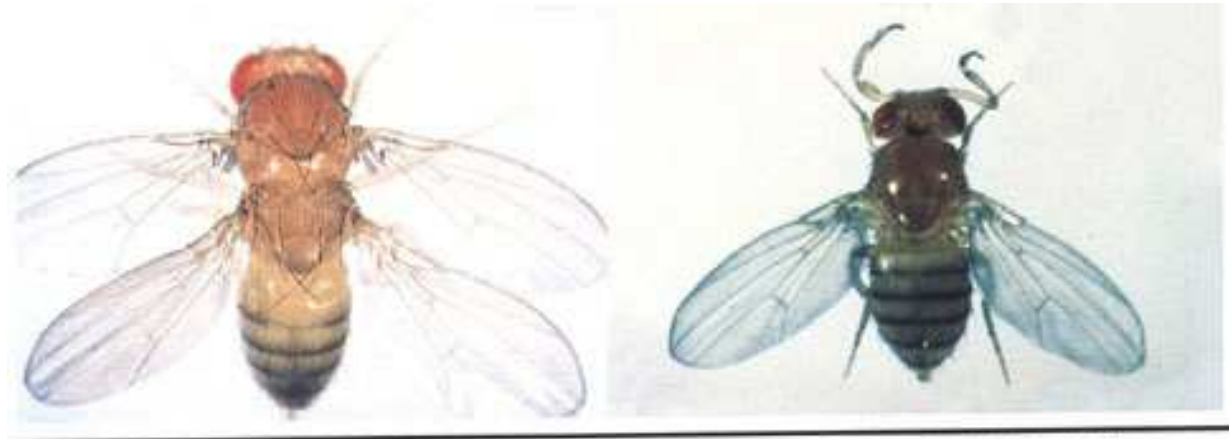
Хомеодомени



- Последователности от 60 АК остатъка, които функционират като ДНК свързващи домени за ТФ
- Изградени от 3 спирали, като спирали 2 и 3 образуват спирала-завой спирала домен подобни на тези при прокариотите
- Спирала 3 е най-дълга и се свързва в голямата бразда на ДНК

Хомеодомени

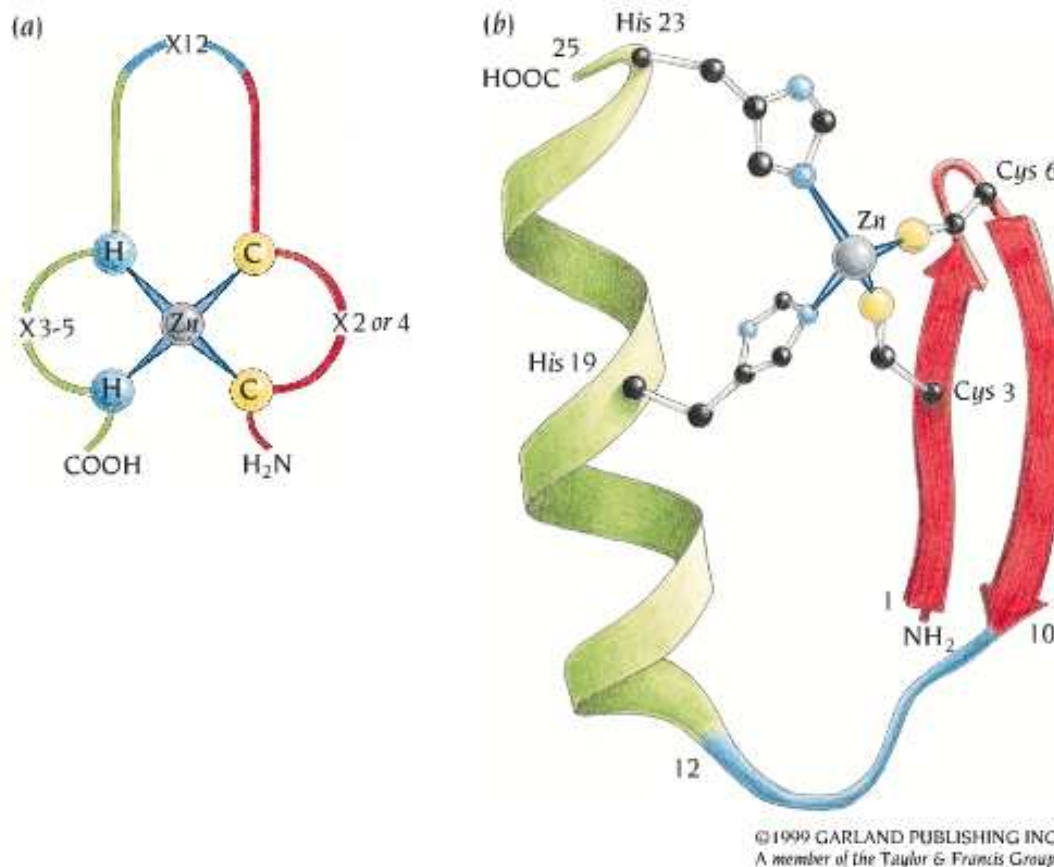
- За пръв път идентифицирани при *Drosophila*, при които мутантни хомеодомени причиняват т.нар. Хомеотични трансформации – странни аномалии на развитието – крака от главата, два чифта криле.



Flies with 4 wings (left) or legs on the head (right)-- Homeotic transformations that alter the identities of body segments

Благодарение на хомеотичните мутации вече са "уловени" редица регулаторни гени от върха на йерархията. Установено е, че те имат обща консервативна последователност, дълга 180 нд. Тя се нарича **хомеоблок/бокс**, а съответната част от белтъка – **хомеодомен**. Хомеодоменът съдържа мотива спирала-завой-спирала. Гени с хомеоблок са открити при всички изследвани многоклетъчни животни от мшести до бозайници. Те се откриват и при растенията и също направляват развитието им.

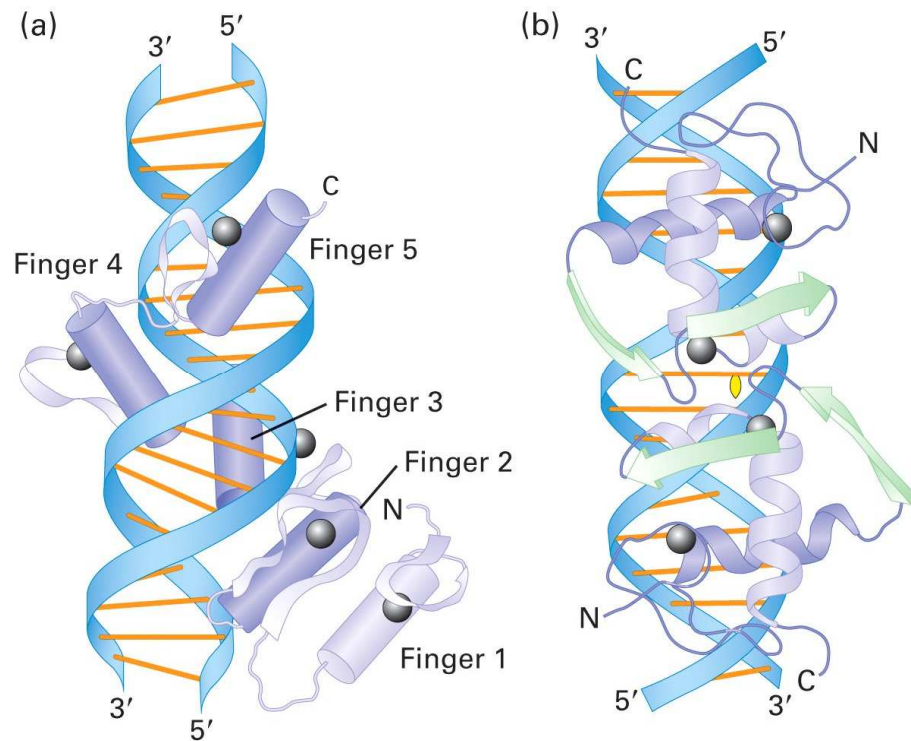
Цинкови пръсти



Всеки пръст е част от полипептидна верига, прихваната в двата си края от цинков атом за поддържане на формата. Част от примката образува бета-лист, а друга част – къса алфа-спирала.

Пръстът стърчи и може да се пъхне в голямата бразда на двойната спирала. Няколко пръста, подредени един до друг, осигуряват специфично разпознаване.

Цинкови пръсти



- Цинкови пръсти имат например рецепторите за стероидните хормони (половите хормони и хормоните на надбъбречната кора). Тези рецептори са ДНК-разпознаващи белтъци, за които съответните хормони са алостерични активатори.

Постранскрипционен контрол

- Контролът на генната експресия обикновено се осъществява на ниво инициация на транскрипцията
- Но съществува контрол и след транскрипцията, чрез следните механизми:
 - РНК интерференция
 - Алтернативен сплайсинг
 - РНК поправка
 - иРНК разграждане

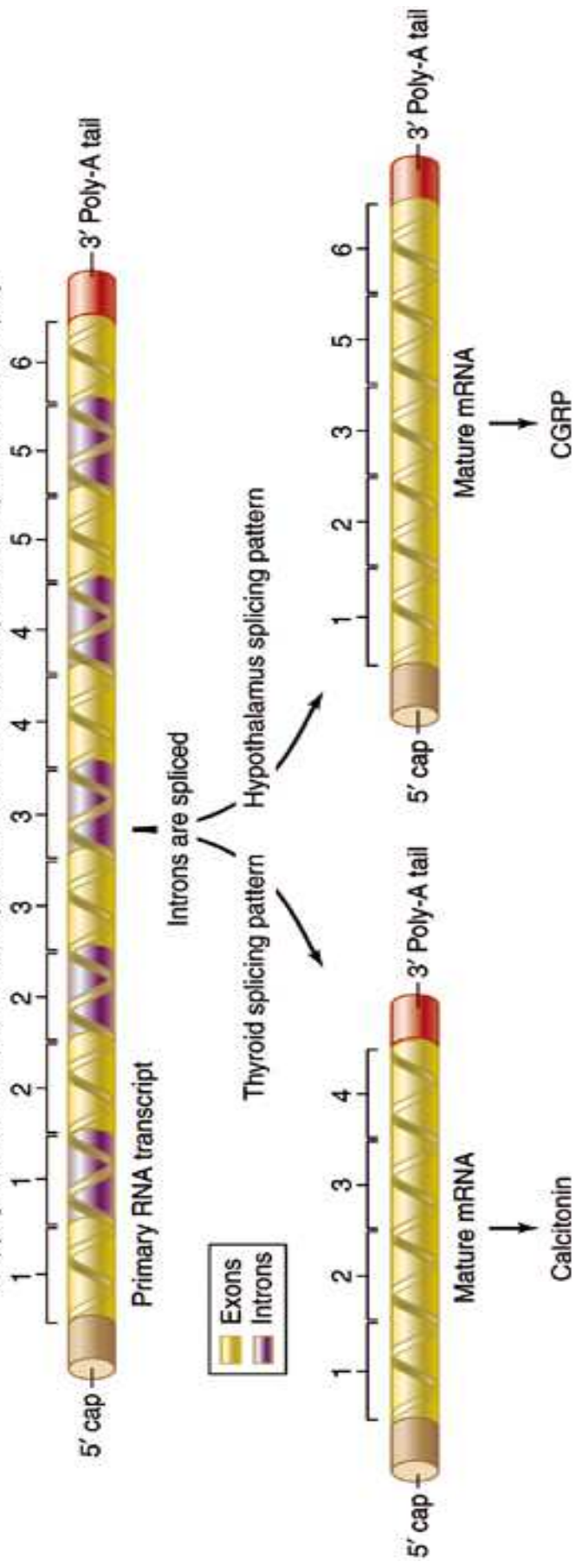
Посттранскрипционен контрол

- При **РНК интерференцията** участват малки РНК молекули
- Ензим **Dicer** нарязва двойноверижната РНК на малки парченца
 - **микро-РНКите** се свързват комплементарно към РНК и не позволяват трансляция
 - **Малките интерфериращи РНК** разграждат някои иРНК преди трансляция

Посттранскрипционен контрол

- Интроните се изрязват от първичният транскрипт и се формира зряла РНК, която може да се транслира.
- При **алтернативният сплайсинг** се разпознават различни места за изрязване в различните тъкани.
- Зрелите иРНК във всяка тъкан са съставени от различни екзони, и съответно се транслират различни полипептидни продукти от един и същ ген.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Посттранскрипционен контрол

- В резултат на **РНК поправката** се синтезират иРНК, които не са напълно копие на структурните гени в генома.
- Напр.
 - аполипопротеин В съществува в 2 изоформи
 - Едната изоформа е резултат от поправката на иРНК и създаването на стоп кодон
 - РНК поправката е тъканно-специфична

Стабилност на транскриптите

- За разлика от прокариотните РНКи, чиито полуживот е от 1 до 5 мин, еукариотните РНКи се различават по стабилността си. Някои нестабилни транскрипти имат последователности (предимно, но не задължително, в 3'-не-транслируемият си край), които са сигнал за бърза деградация.
- Полуживотът на зрелите иРНК зависи от гена, неговото разположение и тъканта в която се експресира.
- Количеството протеин, резултат от експресията на даден ген, зависи от полуживота на иРНК молекулата.

RESOURCE MATERIAL

- <http://www.cod.edu/people/faculty/fancher/genetics/Operons.doc>
- <http://themedicalbiochemistrypage.org/gen-e-regulation.html>