# Лекция 6

Начало регуляции

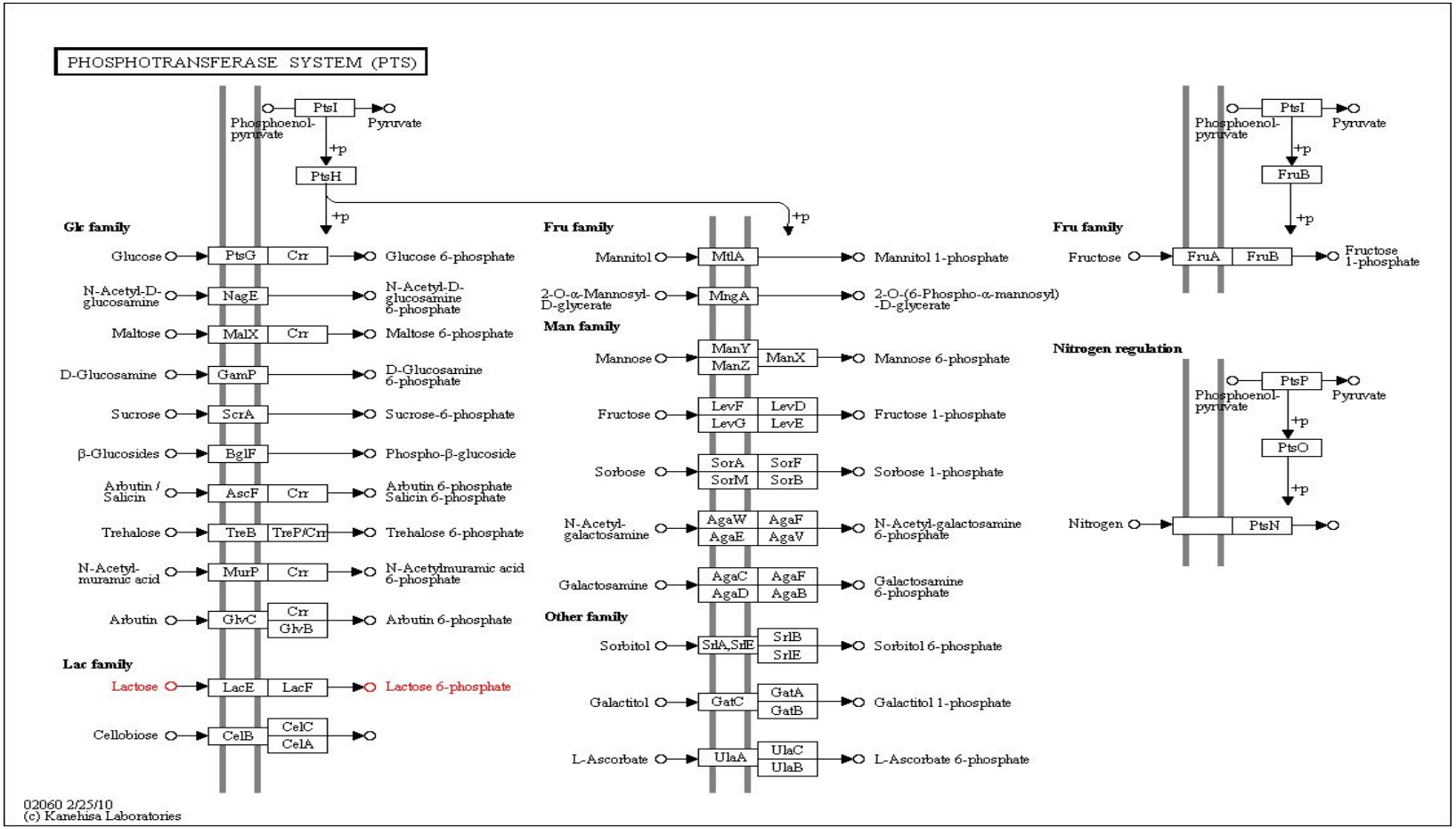
Основные регуляторные события (механизмы) регуляции

- Геном
- Транскриптом
- Протеом
- Метаболом
- Орган
- Организм
- Популяция
- Биосфера

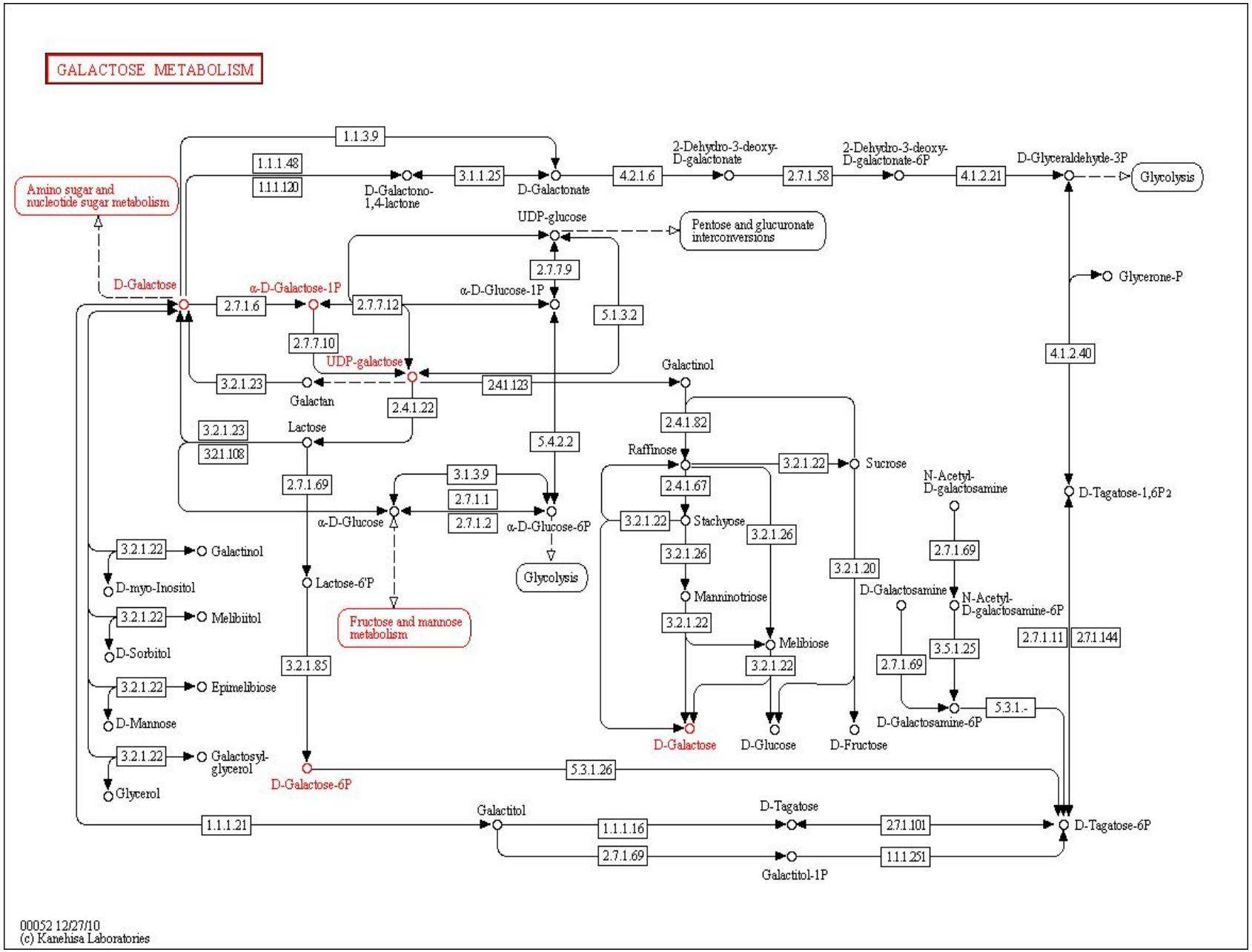
# Геном (прокариоты)

- Оперонная структура (Lac-оперон)
- Независимое расположение генов
- Наличие внутри оперона дополнительных регуляторных элементов
- Разнообразие структур – аттенюаторов, мест посадки репрессоров, шпилек-палиндромов, фрагментов генов, кодирующих антисмысловые молекулы РНК

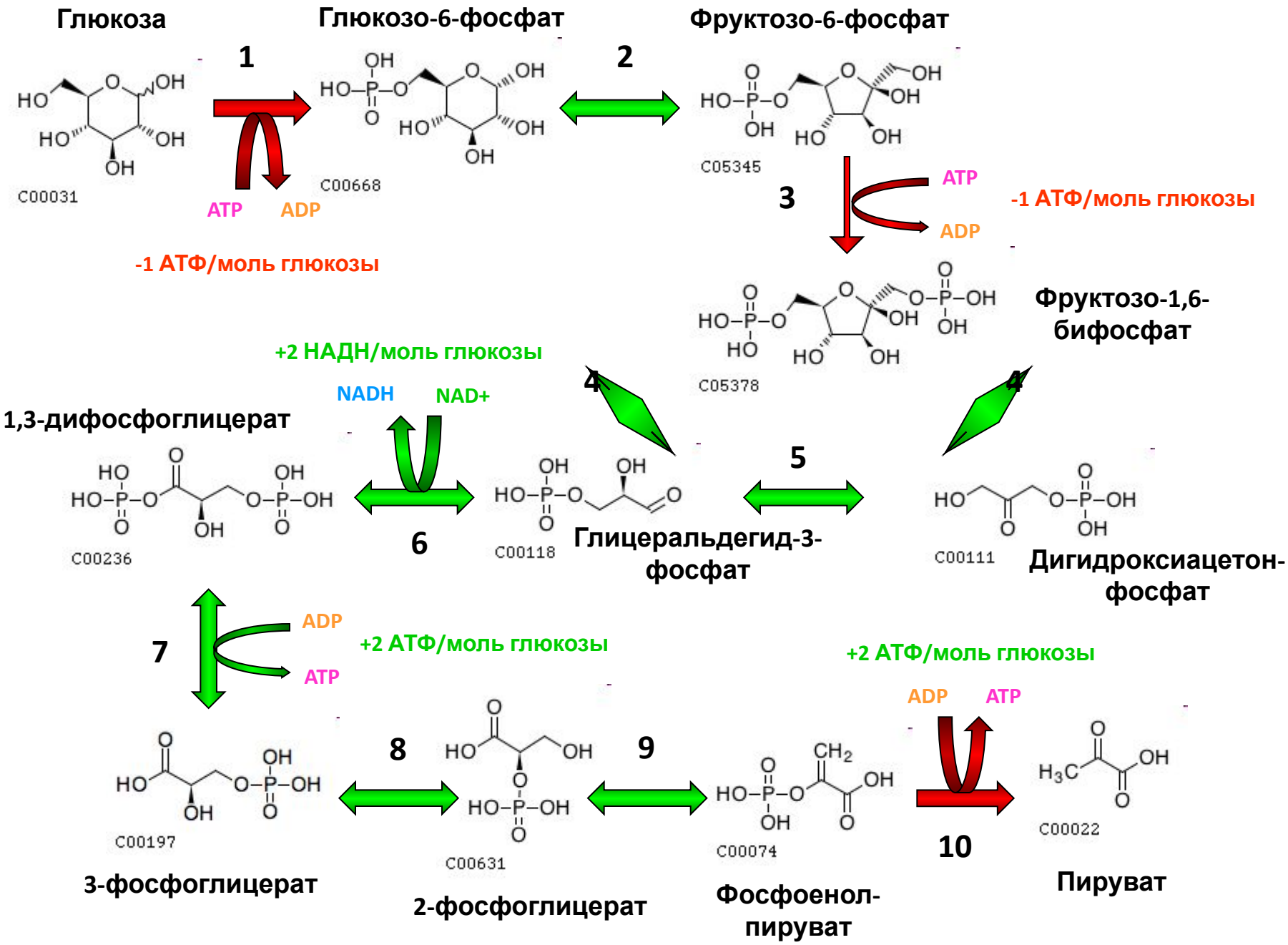
# Транспорт сахаров (лактозы)



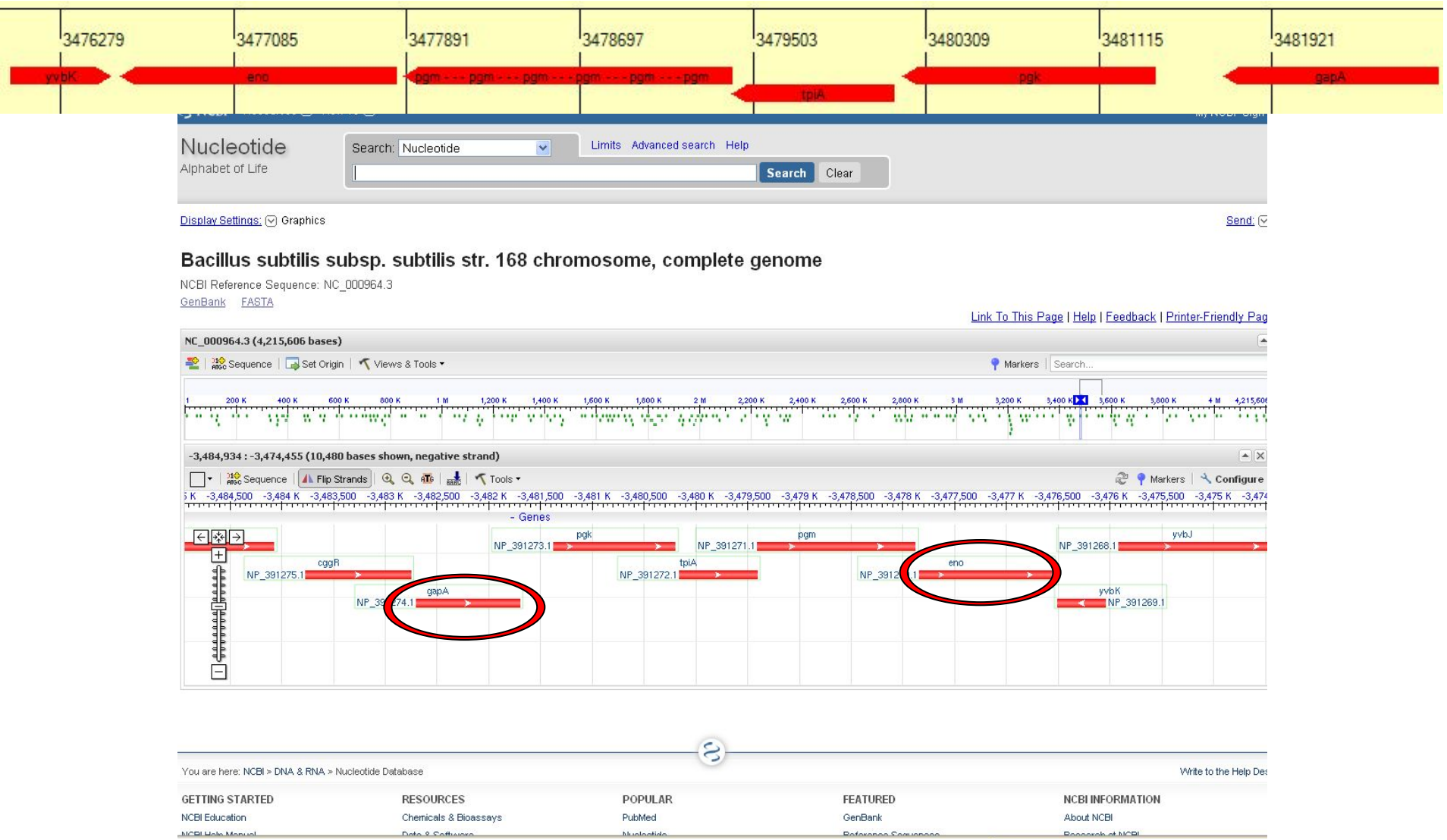
www.kegg.org



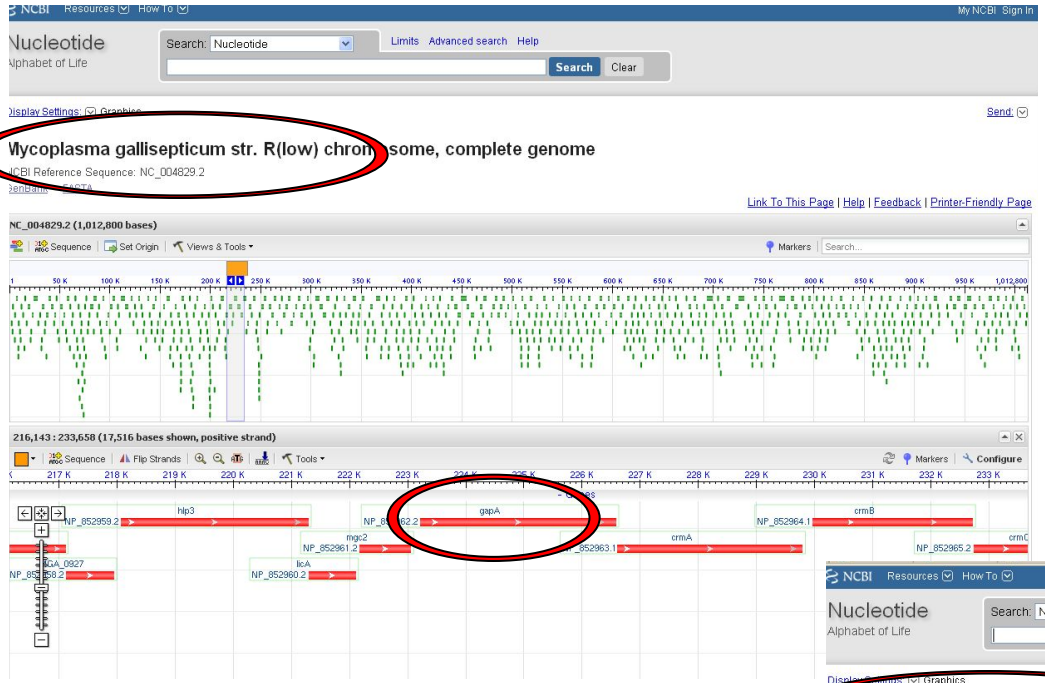

00052 12/27/10
(c) Kanehisa Laboratories


Глюкоза
C00031
1
ATP
ADP
Глюкозо-6-фосфат
C00668
2
Фруктозо-6-фосфат
C05345
3
ATP
ADP
-1 АТФ/моль глюкозы
-1 АТФ/моль глюкозы
Фруктозо-1,6-бифосфат
C05378
4
4
+2 НАДН/моль глюкозы
NADH
NAD+
1,3-дифосфоглицерат
C00236
6
Глицеральдегид-3-фосфат
C00118
5
Дигидроксиацетон-фосфат
C00111
7
ADP
ATP
+2 АТФ/моль глюкозы
+2 АТФ/моль глюкозы
ADP
ATP
C00197
3-фосфоглицерат
8
C00631
2-фосфоглицерат
9
C00074
Фосфоенол-пируват
10
C00022
Пируват

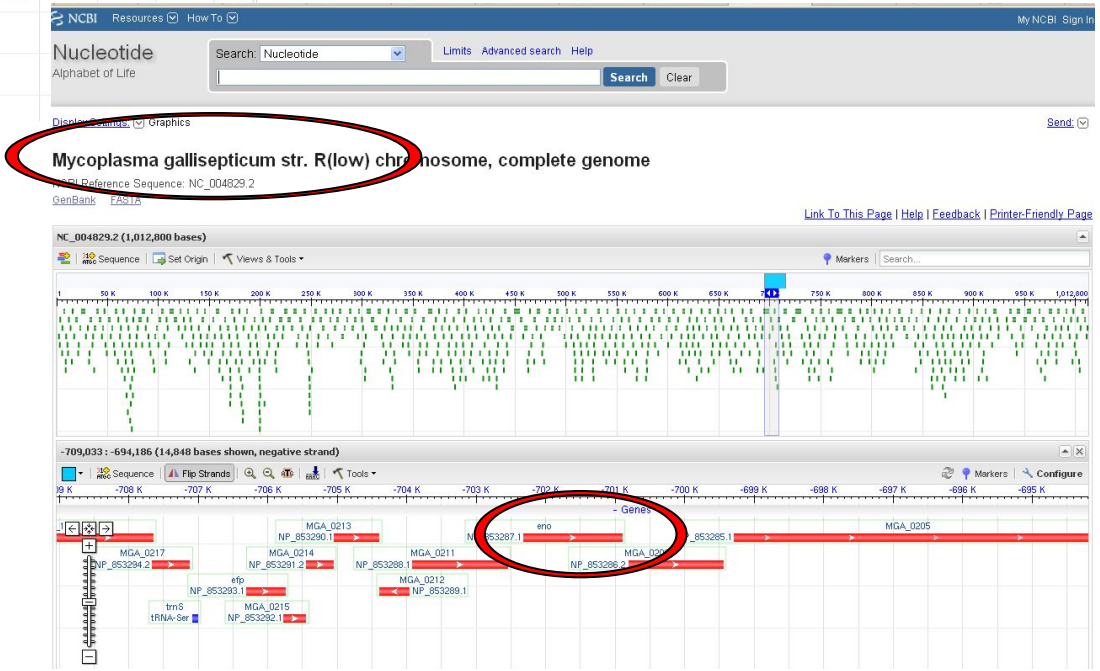
# Расположение генов гликолиза(*gapA* и *eno*) у прокариот *Bacillus subtilis* (оперонное расположение)



# Расположение генов гликолиза(*gapA* и *eno*) у прокариот *Mycoplasma gallisepticum* (дискретное расположение)

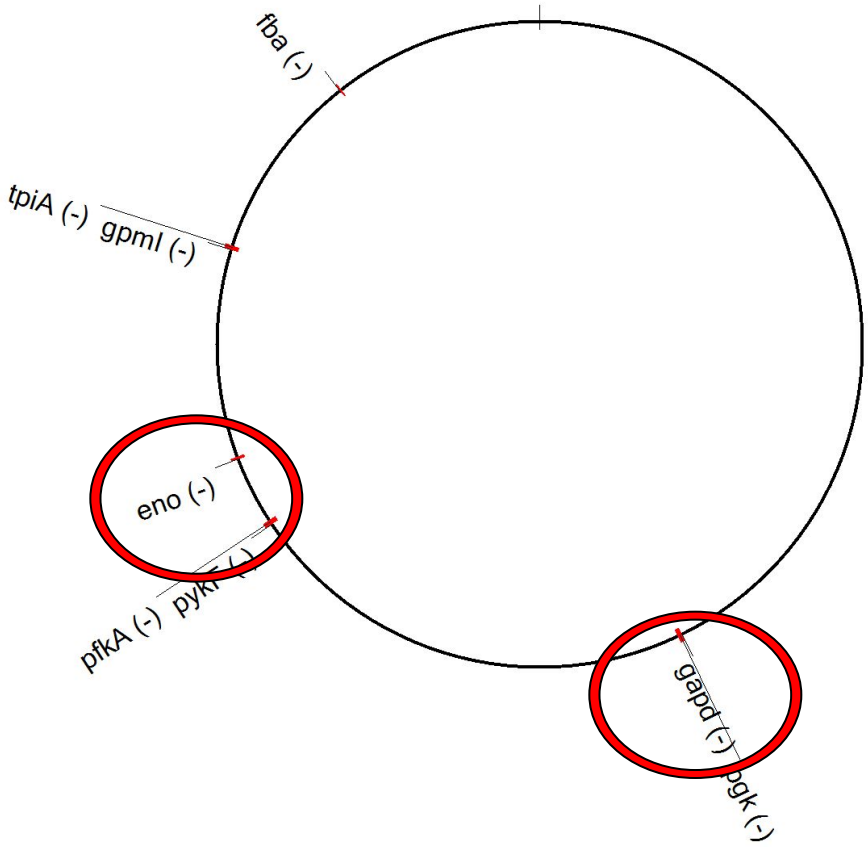



gapA



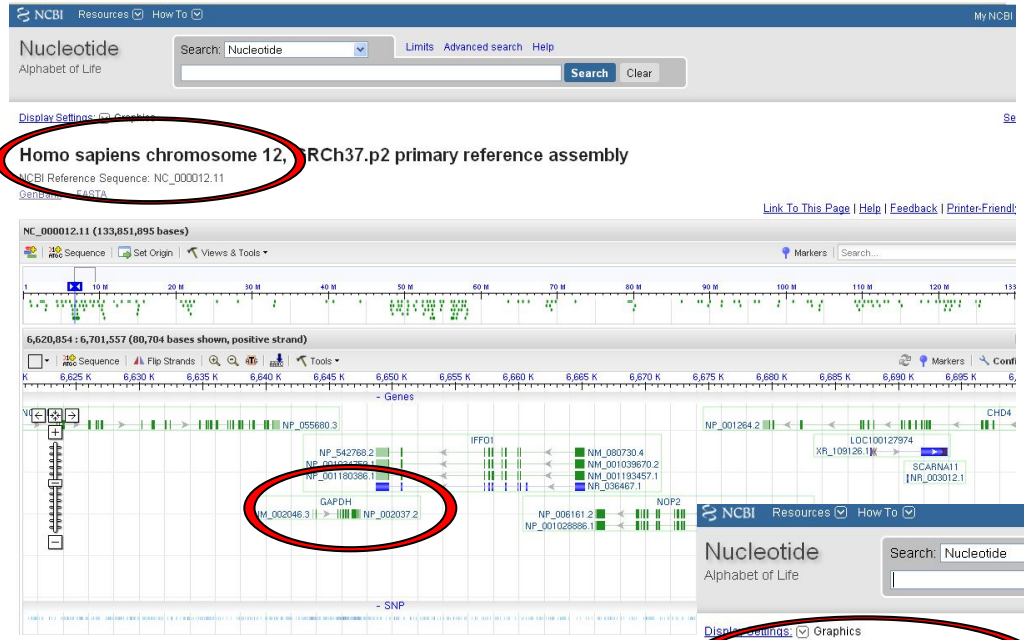

Enolase

Расположение генов гликолиза(*gapA* и *eno*) у прокариот *Mycoplasma gallisepticum* (дискретное расположение)

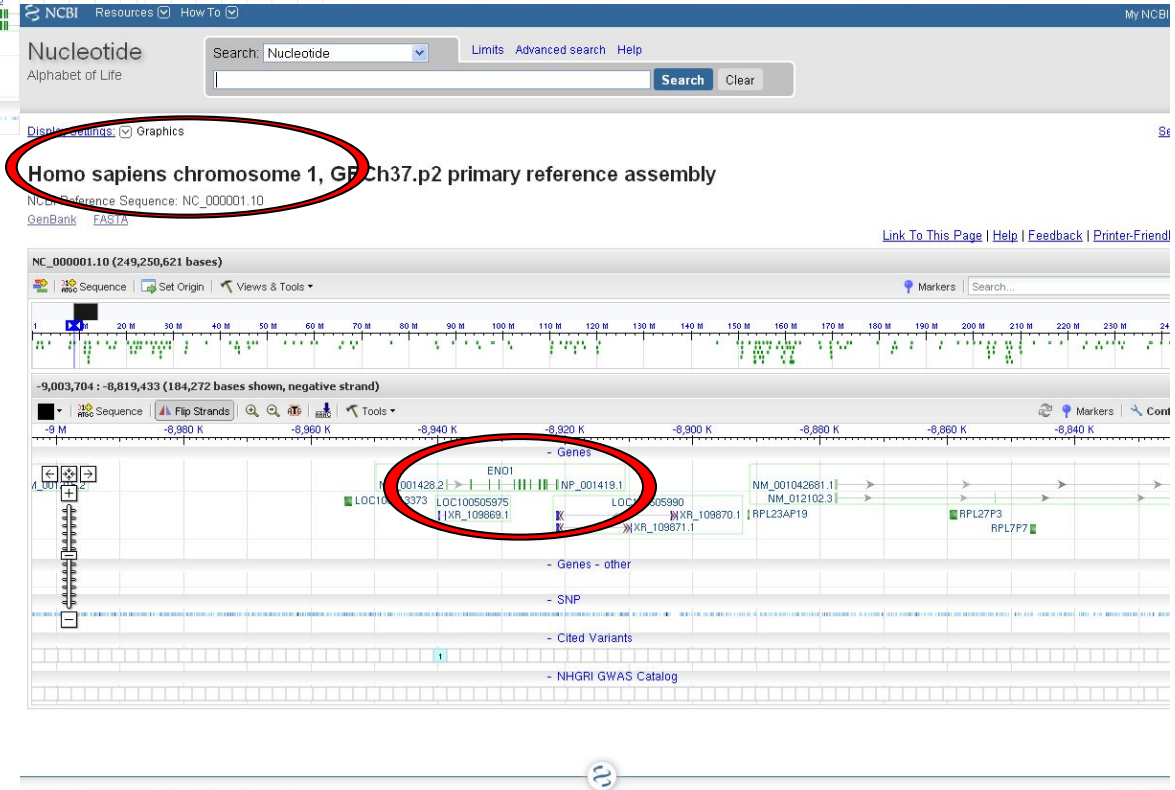


# Расположение генов гликолиза(*GAPDH* и *ENO*) у эукариот *Homo sapiens*

GAPDH



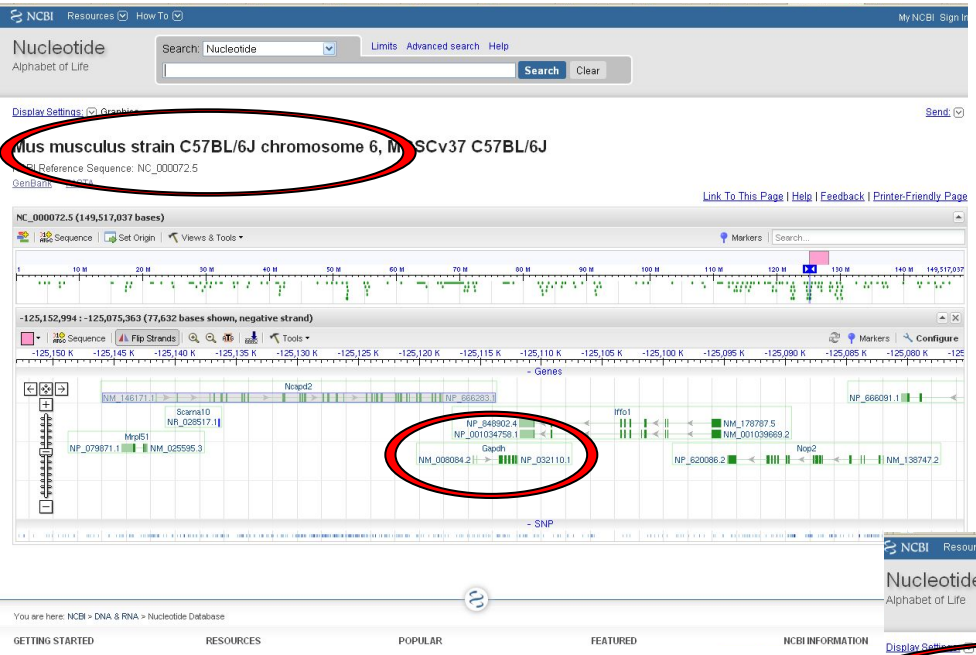

Enolase



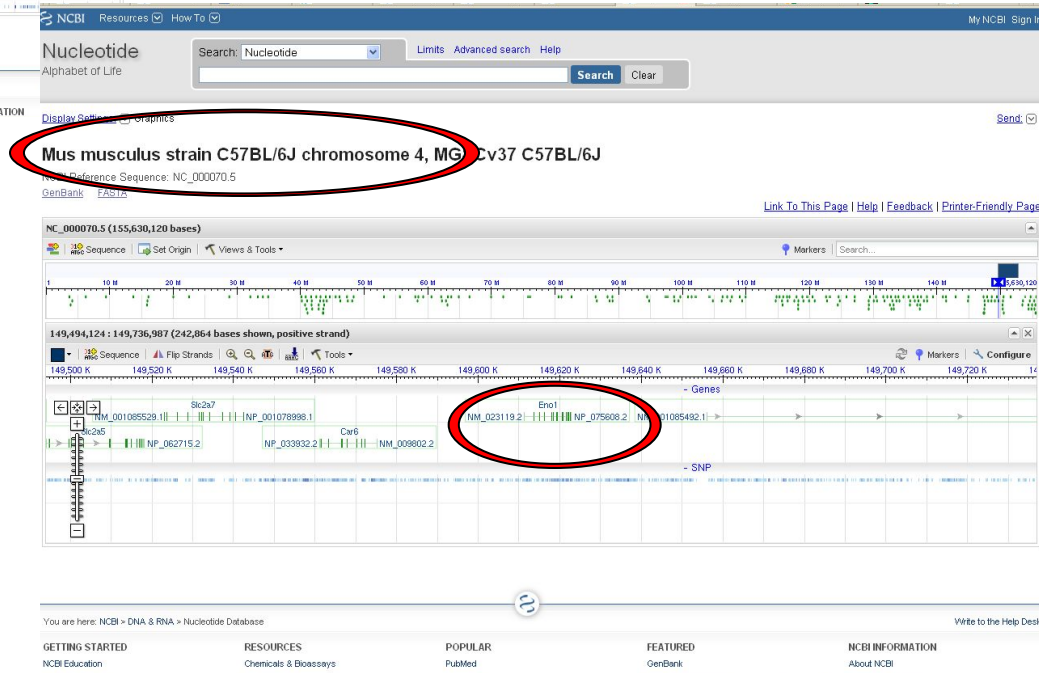
# Расположение генов гликолиза(*GAPDH* и *ENO*) у эукариот

## *Mus musculus*

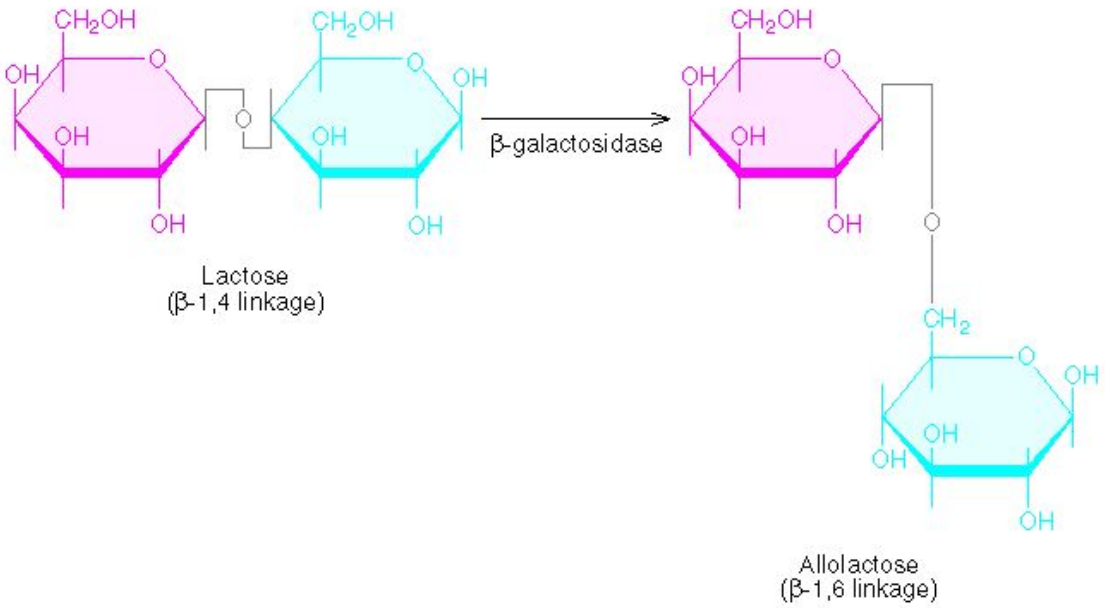
GAPDH



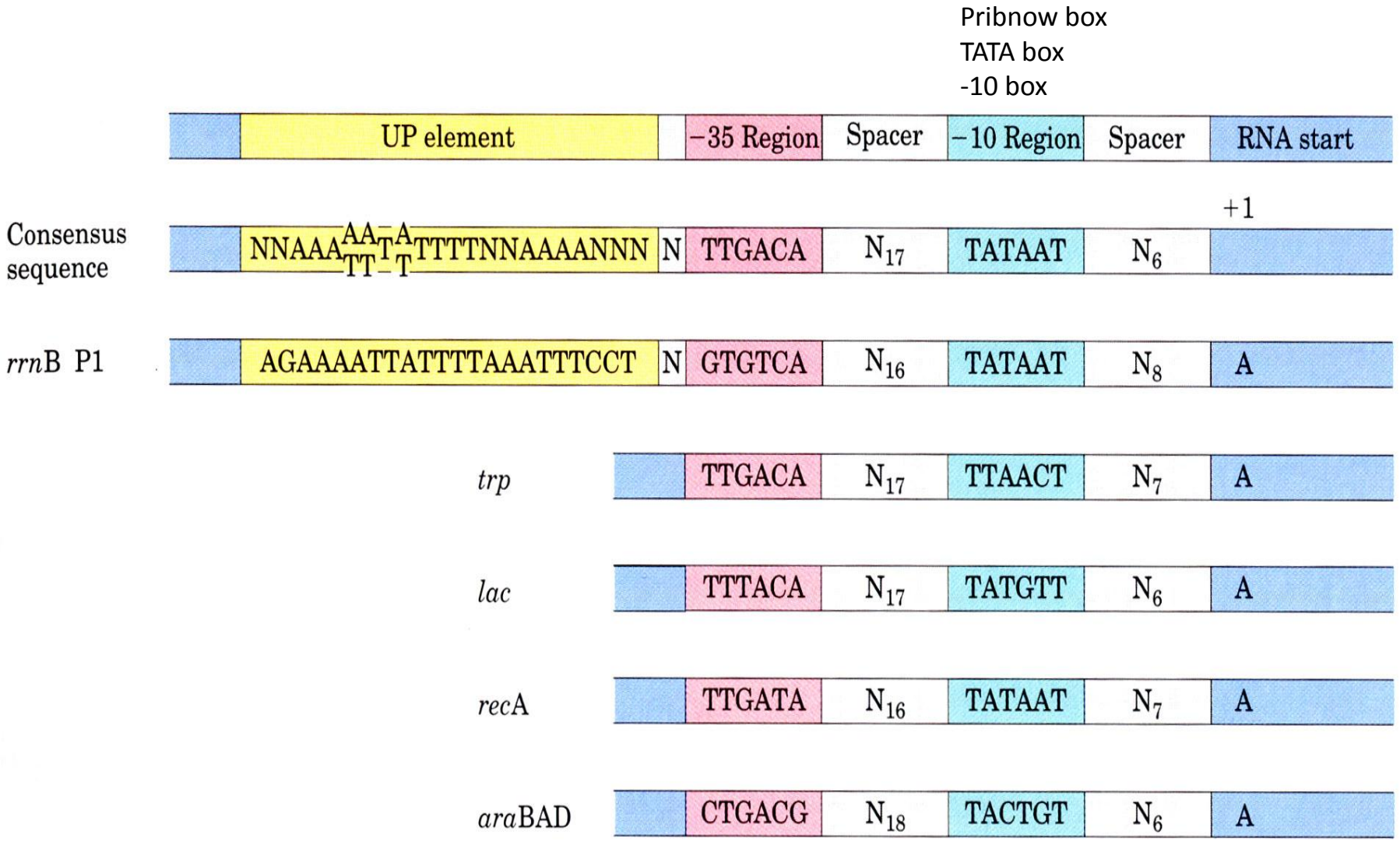

Enolase



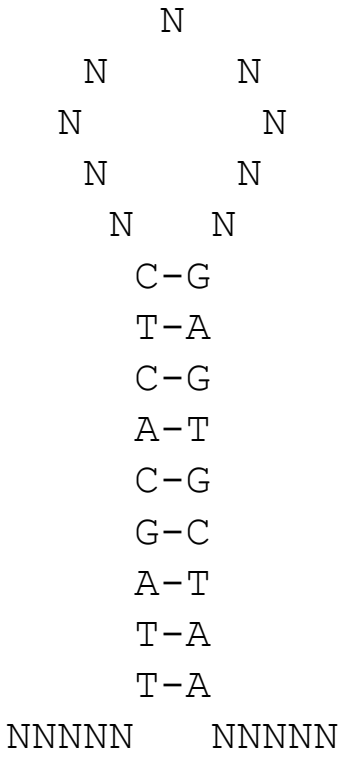
индуктор


CH2OH
OH
O
OH
OH
CH2OH
O
OH
OH
OH
β-galactosidase
CH2OH
OH
O
OH
OH
O
CH2
O
OH
OH
OH
OH
Lactose
(β-1,4 linkage)
Allolactose
(β-1,6 linkage)

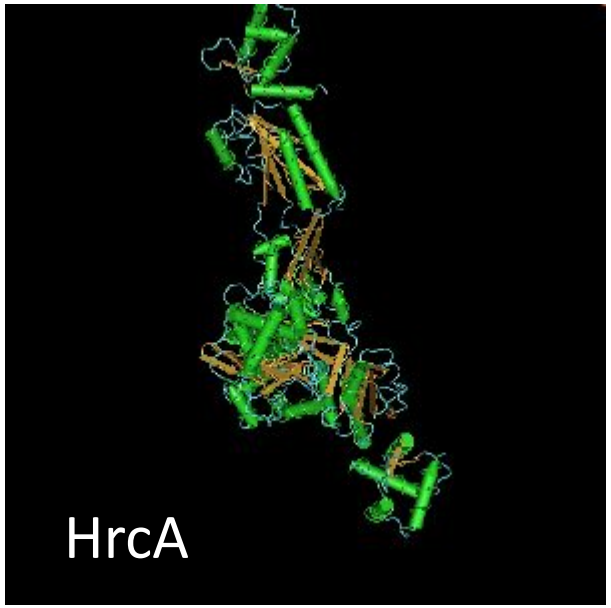
# Структура промоторов E. Coli

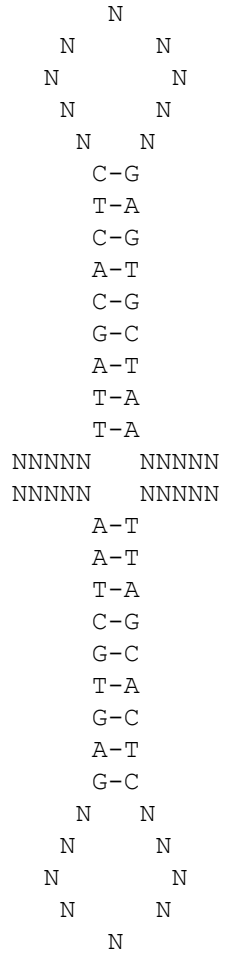



**Сильные промоторы**: хорошее соответствие консенсусу и правильный спейсинг
**Слабые промоторы**: существенные отличия от консенсуса в -35 and -10 районах




# CIRCE



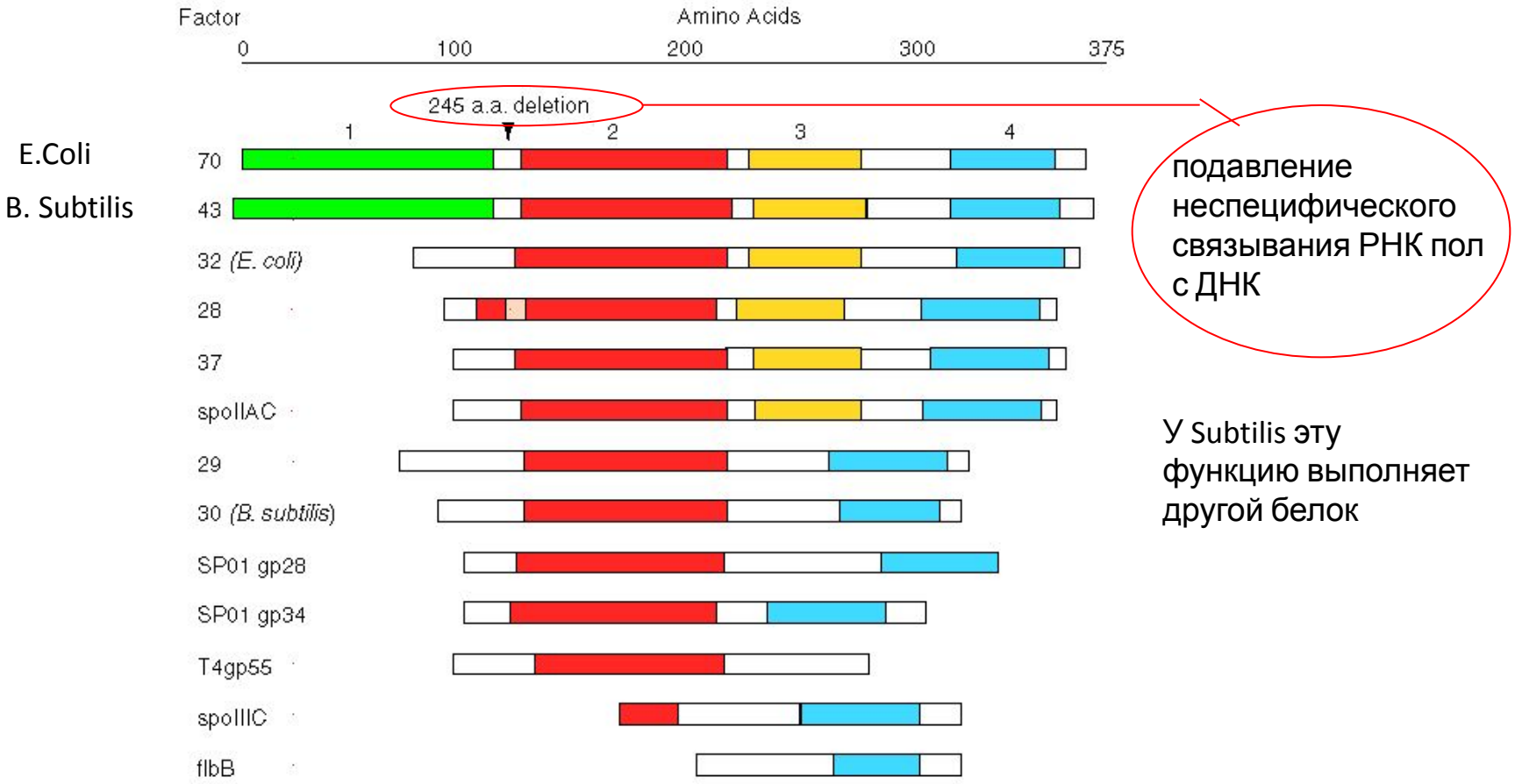




**TTAGCACTC---NNNNNNNNN---GAGTGCTAA**

9 9 9

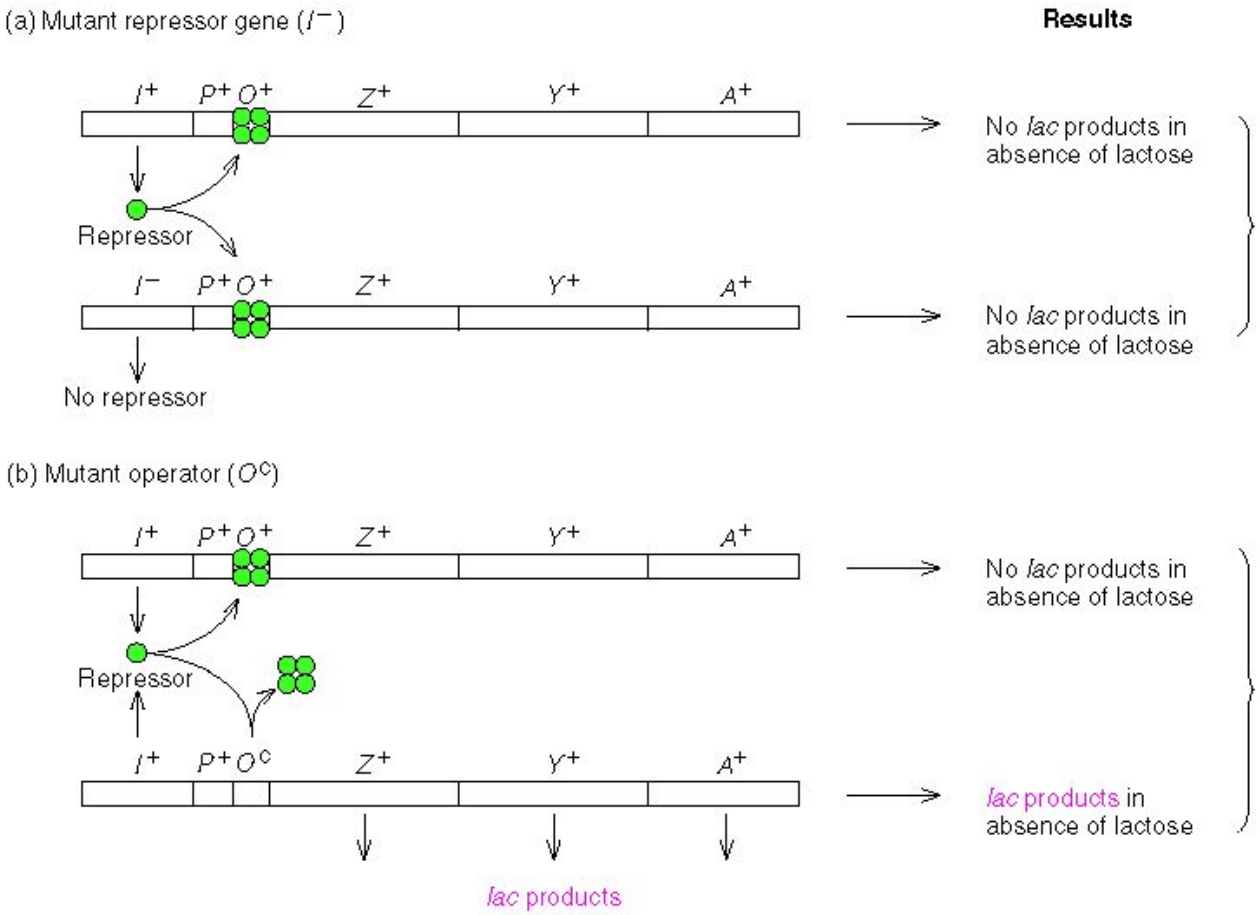
сигма фактор определяет специфичность связывания РНК порлимеразы с промоторами

Сравнение аминокислотных последовательностей ряда сигма факторов выявило наличие четырех консервативных участков
участок 1 – подавление неспецифического связывания свободного сигма фактора с ДНК
участок 2 (наиболее консервативный) – связывание с -10 боксом промотора
участок 3 - (факультативный) связывание с -10 боксом промотора
участок 4 – связывание с -35 боксом промотора



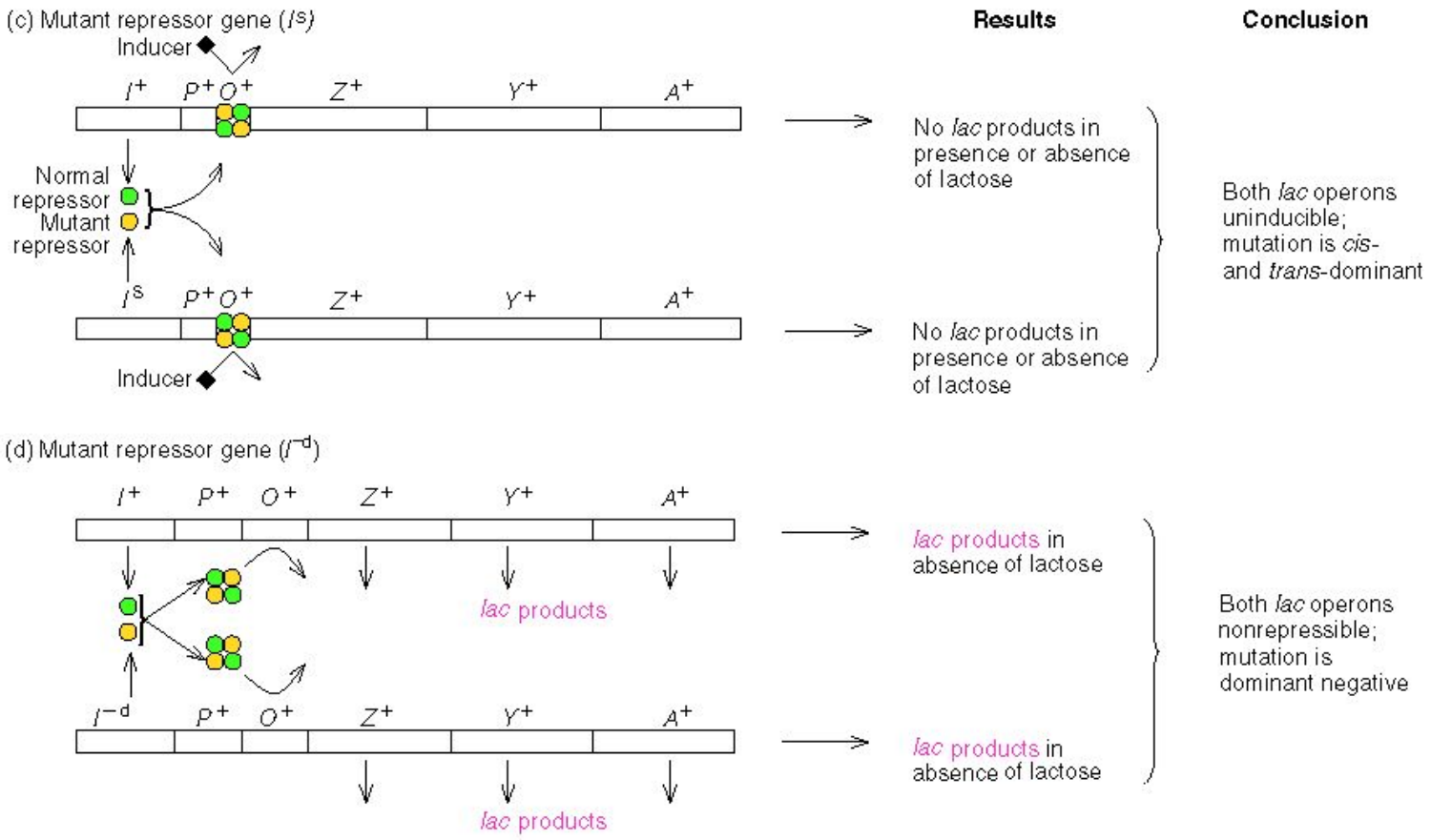
| сигма фактор | узнаваемые промоторы | структура промотора | |
|---|---|---|---|
| | | **-35 бокс** | **-10 бокс** |
| σ70 | Большинство генов | TTGACAT | TATAAT |
| σ32 | Гены, активирующиеся при тепловом шоке | TCTCNCCCTTGAA | CCCCATNTA |
| σ28 | Гены подвижности и хемотаксиса | CTAAA | CCGATAT |
| σ38 | Гены стационарной фазы и ответа на стрессы | ? | ? |
| | | **-24 Region** | **-12 Region** |
| σ54 | Гены метаболизма азота | CTGGNA | TTGCA |

Работа lac-оперона в клетках, содержащих нормальный геном и частичную копию генома с мутациями в lac-опероне и регуляторных генах (merodiploids)

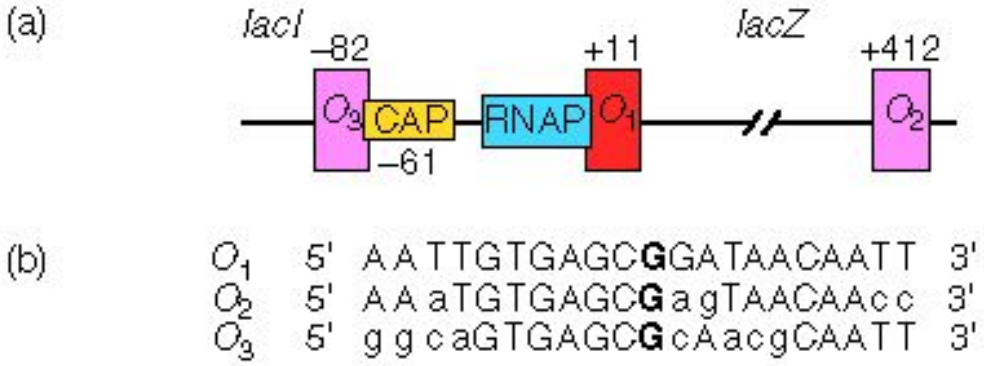



**есть репрессор, работающий in trans**

**есть cis-регуляторный элемент, мутации в котором препятствуют связыванию trans-репрессора**

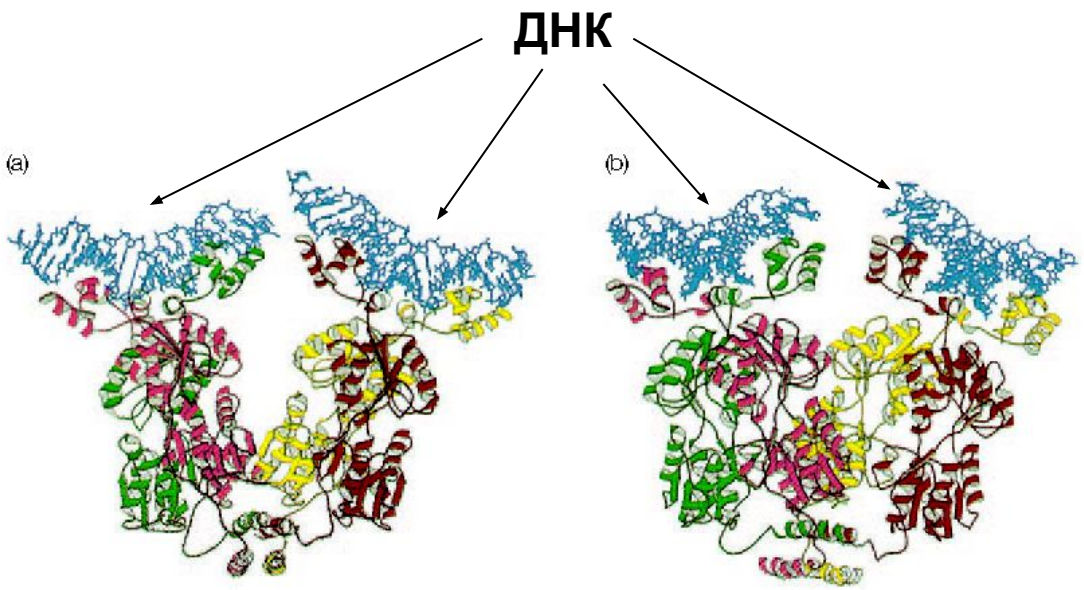



Репрессор состоит из нескольких субъединиц. Мутации, затрагивающие одну субъединицу, влияют на способность всего репрессора связываться с индуктором, либо с оператором




Наряду с главным оператором (O1) в лактозном опероне есть два «вспомогательных» оператора (O2 и O3). Уровень репрессии значительно снижается, если делетировать одновременно O2 и O3

тетрамер репрессора связывается одновременно с двумя участками узнавания на молекуле ДНК



Репресор не препятствует связыванию РНК полимеразы с промотором

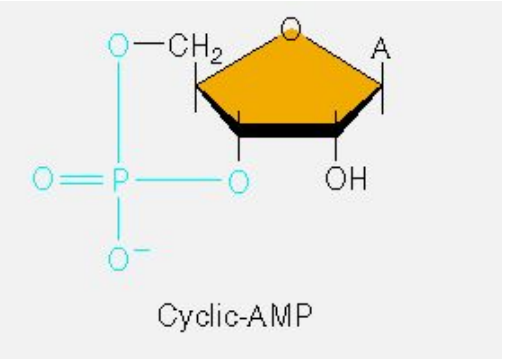
Репрессия осуществляется на этапе перехода от открытого комплекса к элонгации

**Почему lac-оперон не работает, когда в среде есть и глюкоза и лактоза?**

Катаболитная репрессия ?

В действительности - активация

CAP – Catabolite Activator Protein
(активатор катаболитных оперонов)
Работает в комплексе с цикло-АМФ,
уровень которого существенно
повышается при недостатке глюкозы



Cyclic-AMP

CAP активирует целый ряд оперонов, обеспечивающих синтез ферментов, необходимых для использования альтернативных продуктов питания (*gal*, галактозный оперон; *ara*, арабинозный оперон)

CAPстимулирует образование открытого комплекса
Участок связывания CAP находится перед промотором и содержит TGTGA последовательность

Lac промотор и многие другие катаболитные промоторы являются очень слабыми. -35 бокс в этих промоторах сильно отличается от консенсуса

Существуют мутанты lac промотора, которые обеспечивают транскрипцию без CAP активатора

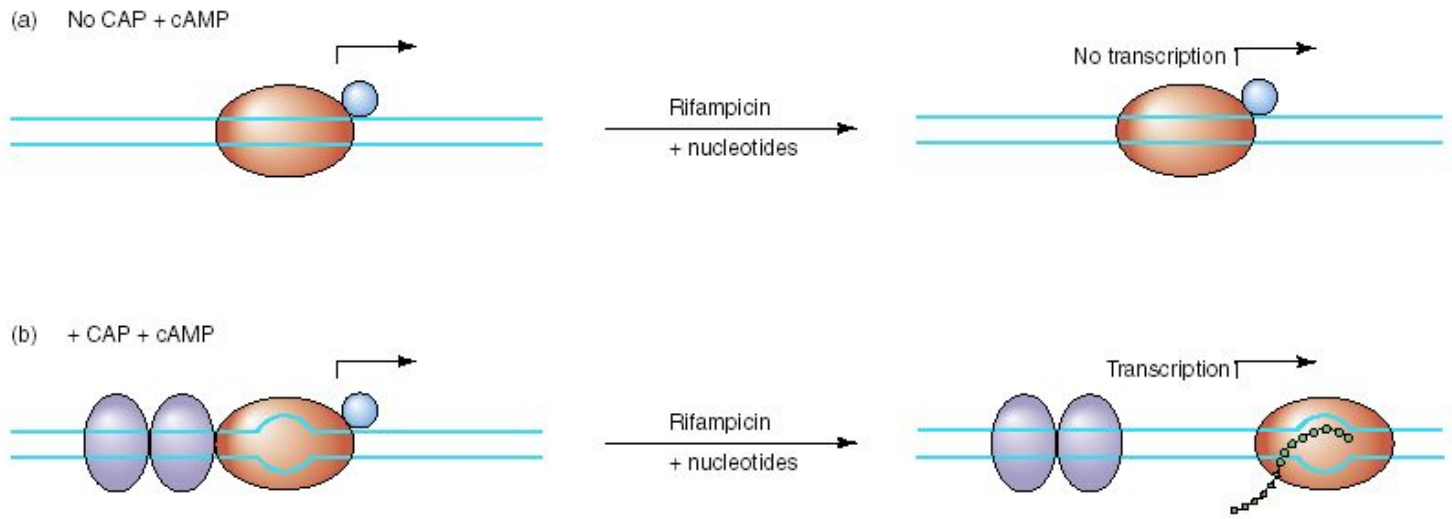
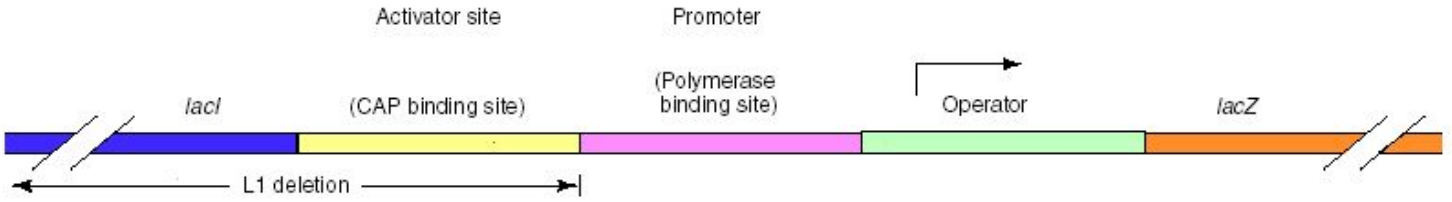
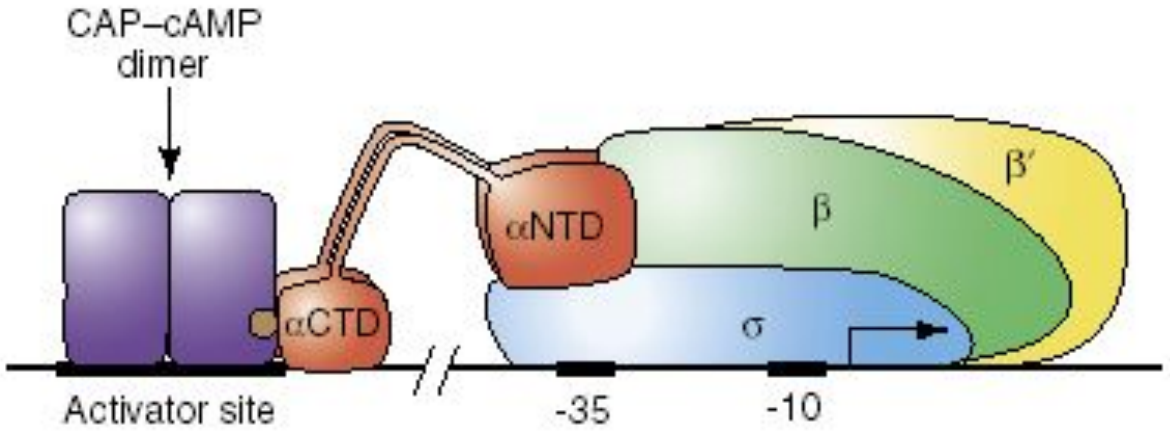


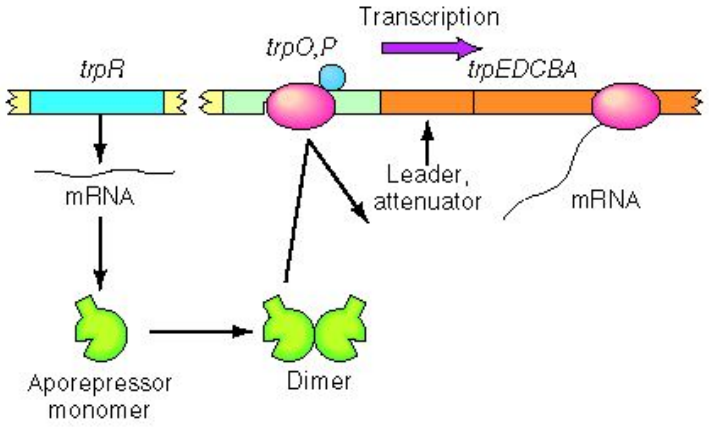

**Figure 7.15 CAP plus cAMP allow formation of an open promoter complex.** (a) When RNA polymerase binds to the *lac* promoter without CAP, it forms a closed promoter complex. This is susceptible to inhibition when rifampicin is added along with nucleotides, so no transcription occurs. (b) When RNA polymerase binds to the *lac* promoter in the presence of CAP and cAMP (purple), it forms an open promoter complex. This is not susceptible to inhibition when rifampicin and nucleotides are added at the same time because the open promoter complex is ready to polymerize the nucleotides, which reach the polymerase active site before the antibiotic. Once the first phosphodiester bond forms, the polymerase is resistant to rifampicin inhibition until it reinitiates. Thus, transcription occurs under these conditions, demonstrating that CAP and cAMP facilitate formation of an open promoter complex. The RNA is shown in green.




CAP–cAMP
dimer
αNTD
β
β′
αCTD
σ
Activator site
-35
-10

# Анаболитные опероны

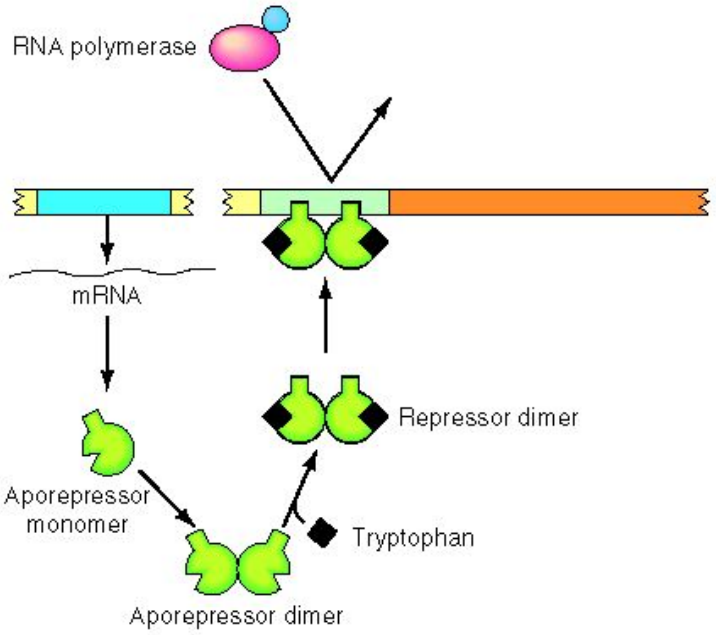
Должны активироваться в условиях недостатка тех веществ, в синтезе которых участвуют кодируемые опероном ферменты




(b) High tryptophan: repression

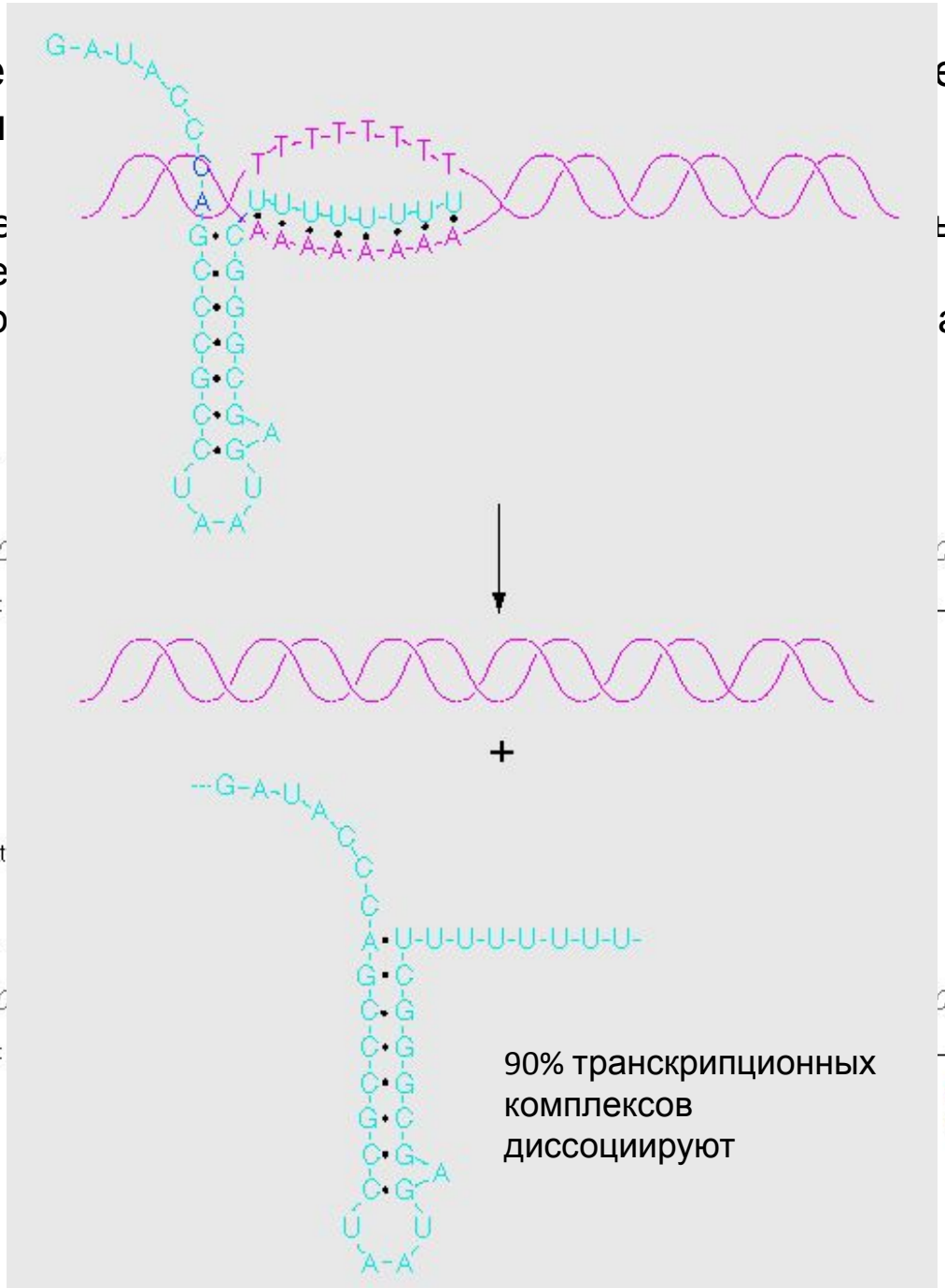
триптофановый оперон:

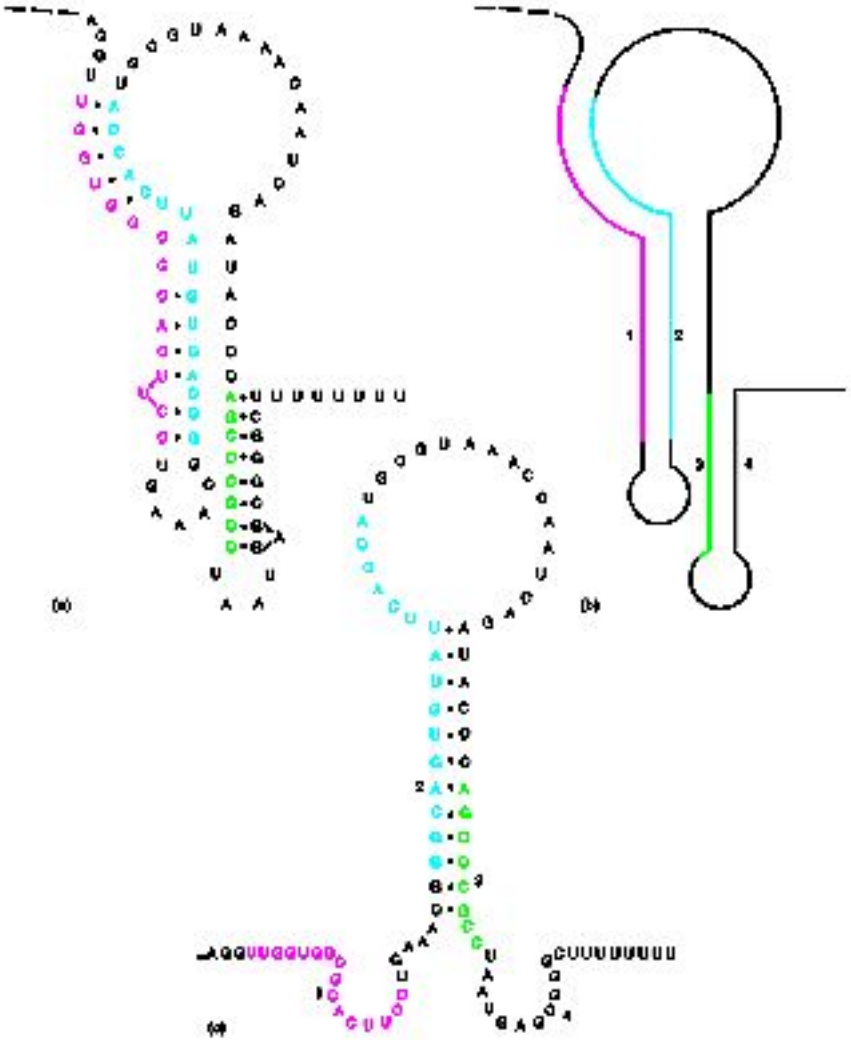
триптофан (**корепрессор**) связывается с неактивной формой репрессора, превращая ее в активную



Преждевреме еспечивает
дополнительн

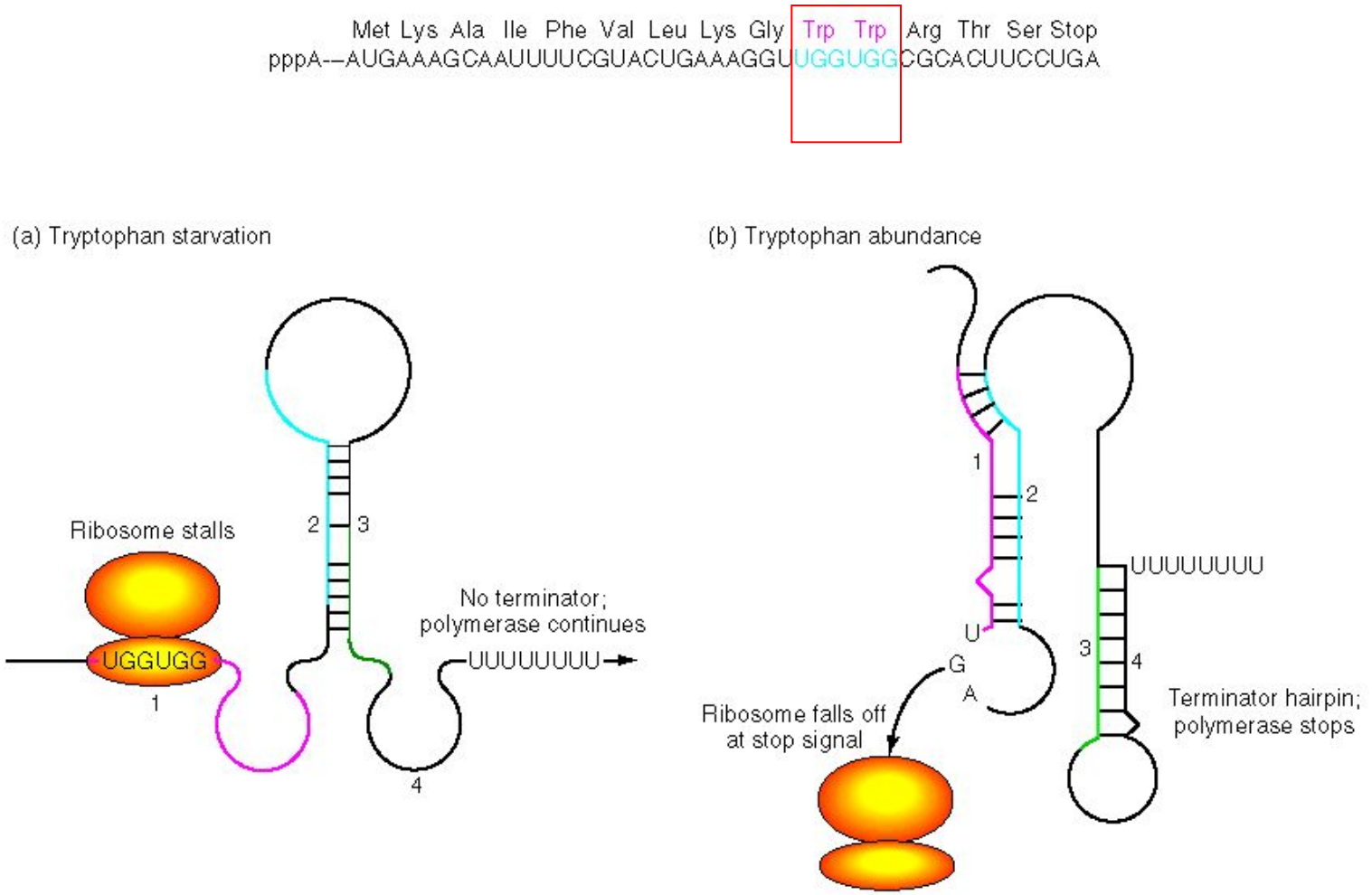
В начале опе ываемый
лидерный пе
После этой р анскрипции




(a)
(b)
1
2
3
4

# У прокариот транскрипция и трансляция могут происходить одновременно

При отсутствии триптофана рибосома задерживается на лидерной последовательности. Это смещает равновесие в сторону большой шпильки




Регулируемые терминаторы транскрипции есть и в других анаболитных оперонах
В гистидиновом опероне лидер содержит 7 кодонов гистидина