

# Регуляция метаболизма у бактерий

Существуют 2 способа регуляции метаболизма у бактерий:

- 1) *на уровне активности ферментов*, или регуляция активности ферментов;
- 2) *на уровне генов*, или регуляция синтеза ферментов.



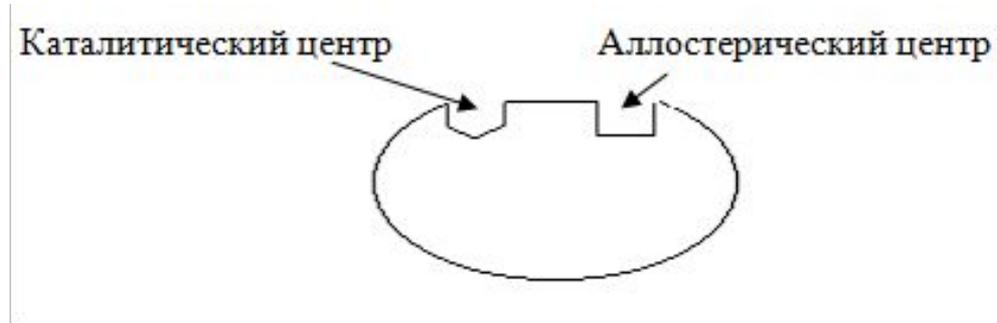
# Регуляция активности ферментов

*Аллостерические ферменты* – белки с высокой молекулярной массой, состоящие в большинстве случаев из нескольких субъединиц одного или разного типа.

Каждая субъединица содержит, как правило, каталитический центр, который связывается с субстратом, и регуляторный или аллостерический центр.



## Субъединица аллостерического фермента



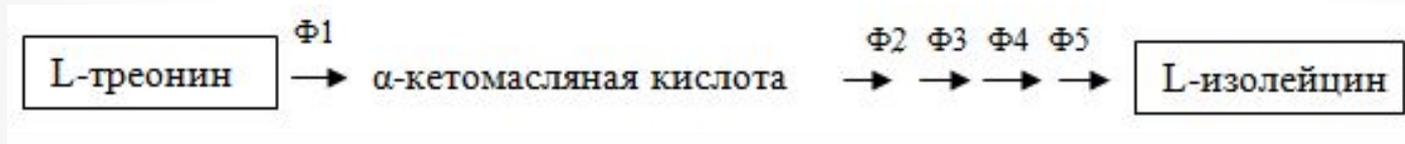
Наиболее простой случай аллостерической регуляции – регуляция конечным продуктом активности первого или ключевого фермента неразветвленного биосинтетического пути.

Если конечный продукт накапливается в избытке, он подавляет активность первого фермента.

Этот процесс называется *ретроингибированием*, или ингибированием по принципу обратной связи. Примером такого типа регулирования является ингибирование биосинтеза изолейцина.



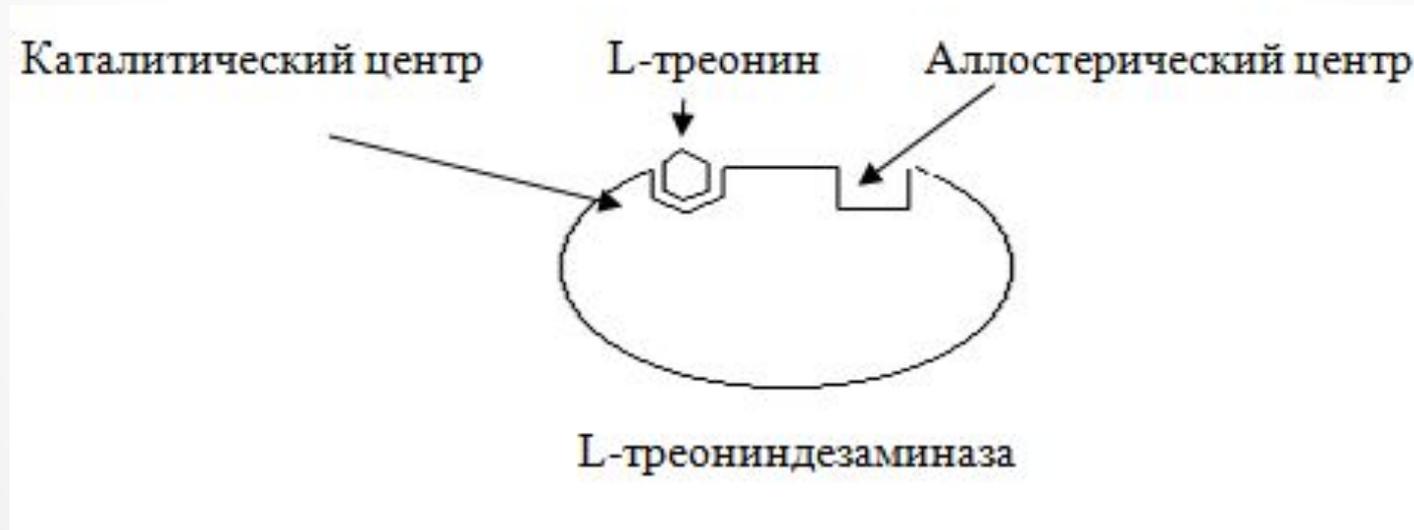
Превращение L-треонина в L-изолейцин включает пять ферментативных реакций:



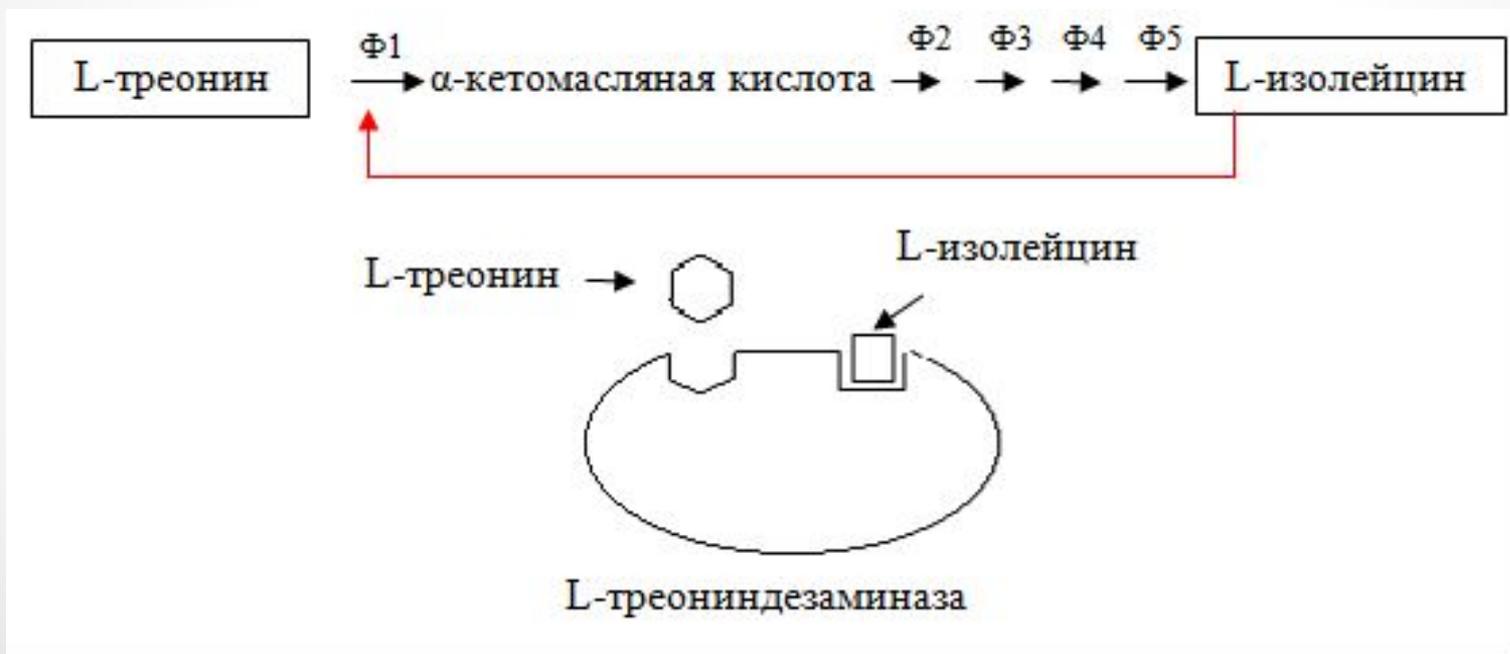
Первый фермент на пути синтеза L-изолейцина L-треониндезаминаза является аллостерическим и ингибируется только L-изолейцином.

На поверхности молекулы L-треониндезаминазы имеется два вида участков:

- каталитический – для связывания субстрата (L-треонина) и
- регуляторный – для связывания эффектора (L-изолейцина):



При накоплении в клетке L-изолейцина он связывается с аллостерическим центром фермента L-треониндезаминазы, подавляя его активность, и синтез L-изолейцина прекращается:



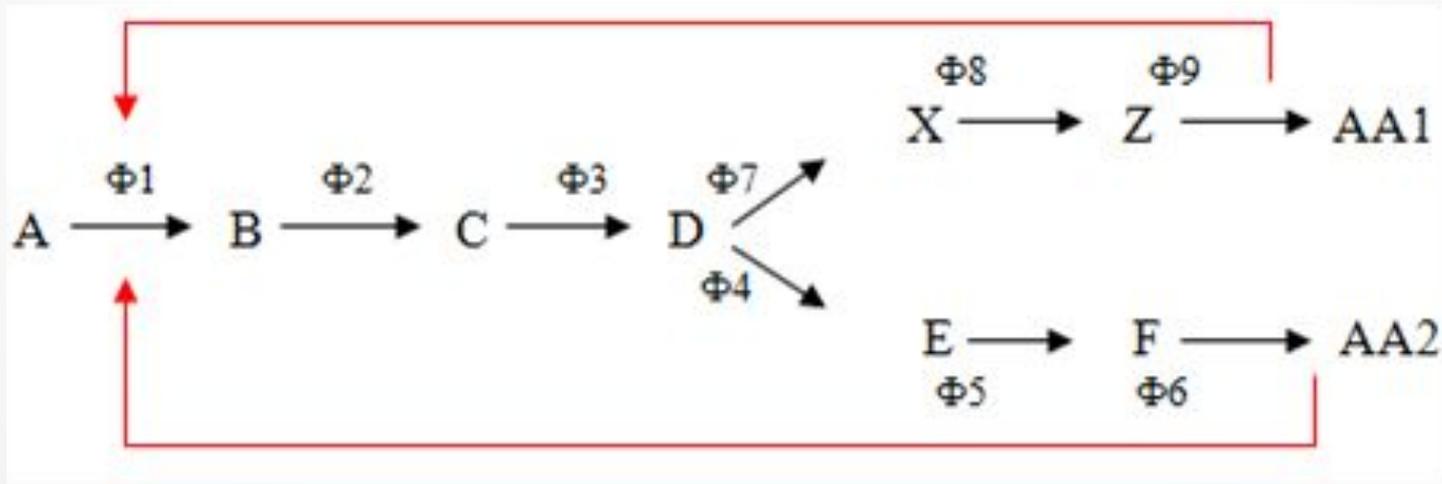
В разветвленных метаболических путях активность аллостерических ферментов регулируется сложнее, так как от активности первого фермента зависит биосинтез нескольких конечных продуктов.

Ингибирование активности этого фермента может происходить двояко:

- *мультивалентное ингибирование* – необходимо связывание с аллостерическими центрами всех конечных продуктов. Каждый конечный продукт (эффектор) по отдельности, связавшись со «своим» аллостерическим центром, не меняет активности фермента.

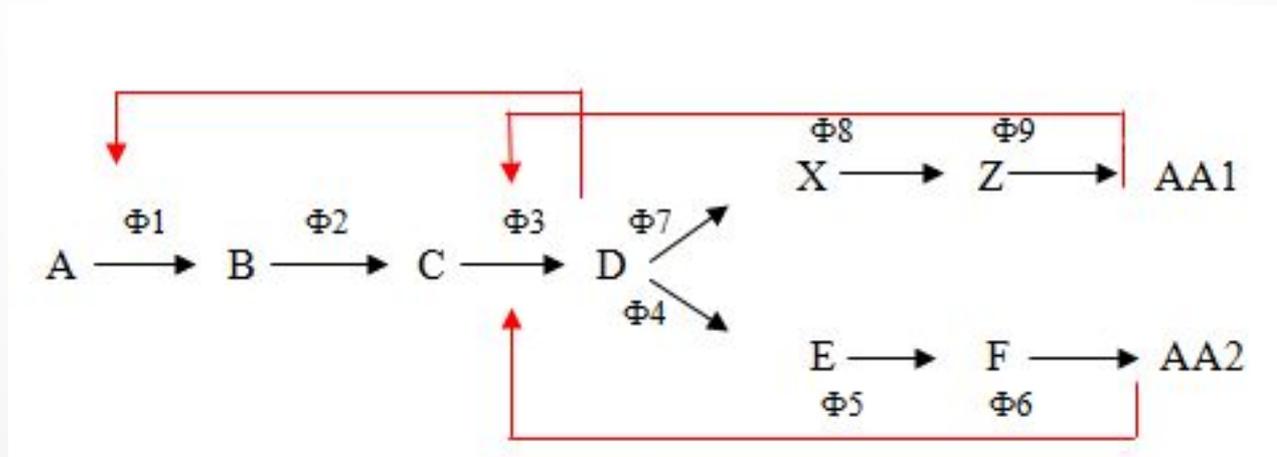


- *кумулятивное, или аддитивное ингибирование* – присоединение к ферменту одного конечного продукта частично снижает его активность, с присоединением каждого последующего конечного продукта эффект ингибирования нарастает:

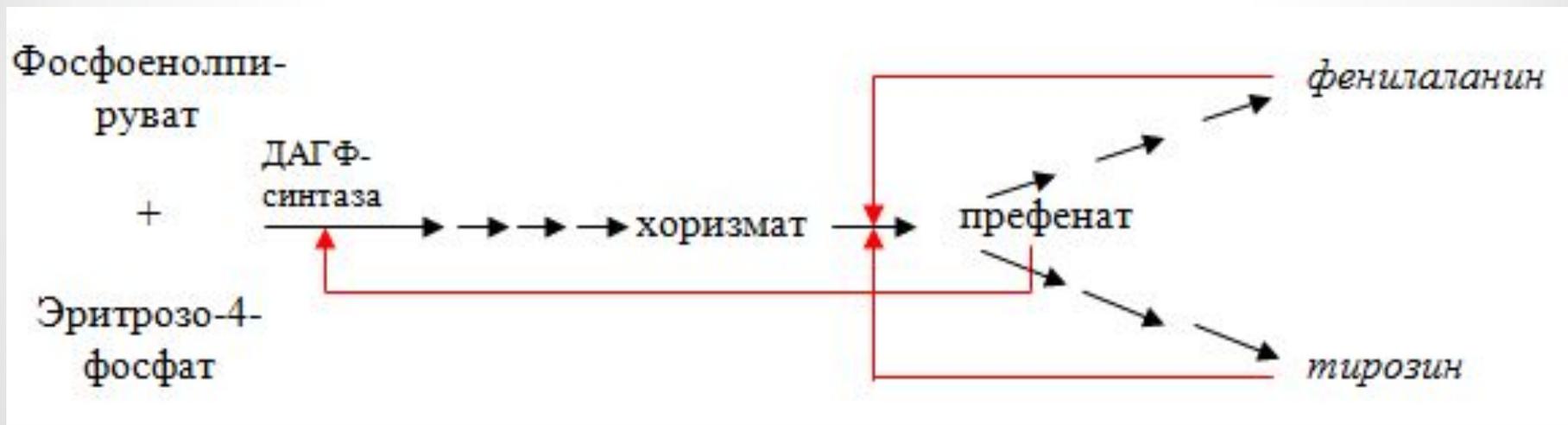


В некоторых разветвленных биосинтетических путях ингибирование первого фермента осуществляется не конечными продуктами каждой из ветвей, а промежуточным продуктом, образующимся непосредственно перед разветвлением.

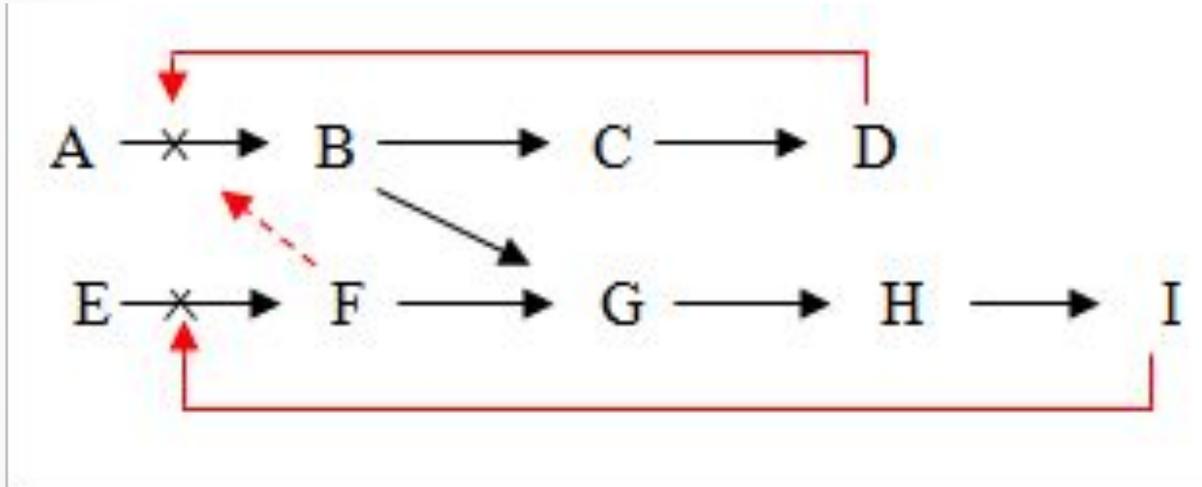
Накопление его в свою очередь контролируется конечными продуктами. Такой вид ингибирования получил название *последовательного*:



Примером такого ретроингибирования является ингибирование фермента 3-дезоксид-D-арабиногептулозо-7-фосфатсинтазы (ДАГФ-синтазы) у бактерий *B. subtilis* префенатом:



Существуют разветвленные метаболические пути, в которых регуляция осуществляется таким образом, что одновременно существуют и активация и ингибирование:



В настоящее время в селекции микроорганизмов — продуцентов аминокислот и других биологически активных продуктов используются методы получения мутантов, нечувствительных к ретроингибированию. Такие мутанты все время синтезируют нужный конечный продукт.

Регуляция активности ферментов может осуществляться путем их *ковалентной модификации*. При этом одни ферменты модифицируются под действием других ферментов, что приводит к повышению или снижению их активности.

Модификация ферментов происходит в процессе их аденилирования, фосфорилирования или ацетилирования.



Регуляцию активности ферментов таким способом можно рассмотреть на примере фермента глутаминсинтетазы, катализирующего превращение у бактерий глутамата в глутамин в реакции восстановительного аминирования.

Аминогруппа глутамина с помощью фермента глутаматсинтетазы может быть перенесена на 2-оксоглутарат.

Таким образом, глутаминсинтетаза и глутаматсинтетаза нужны бактериям для включения ионов аммония в органические соединения.

Этот процесс осуществляется в тех случаях, когда концентрация ионов аммония в среде мала (меньше 1мМ/л).



При повышении концентрации этих ионов в среде, в которой культивируются бактерии, происходит подавление синтеза фермента глутаминсинтетазы и снижение активности имеющегося фермента в клетках.

Снижение активности фермента глутаминсинтетазы происходит под действием особого аденилирующего фермента, осуществляющего его химическую модификацию.

Когда в клетках бактерий достаточно глутамина, то происходит стимулирование аденилирующего фермента и, соответственно, активность фермента глутаминсинтетазы снижается.

В результате этого синтез глутамина прекращается.



При удалении из среды ионов аммония в клетках бактерий создается недостаток глутамина и фермент глутаминсинтетаза снова становится активным в результате отщепления групп адениловой кислоты (АМФ) под действием деаденилирующей системы.



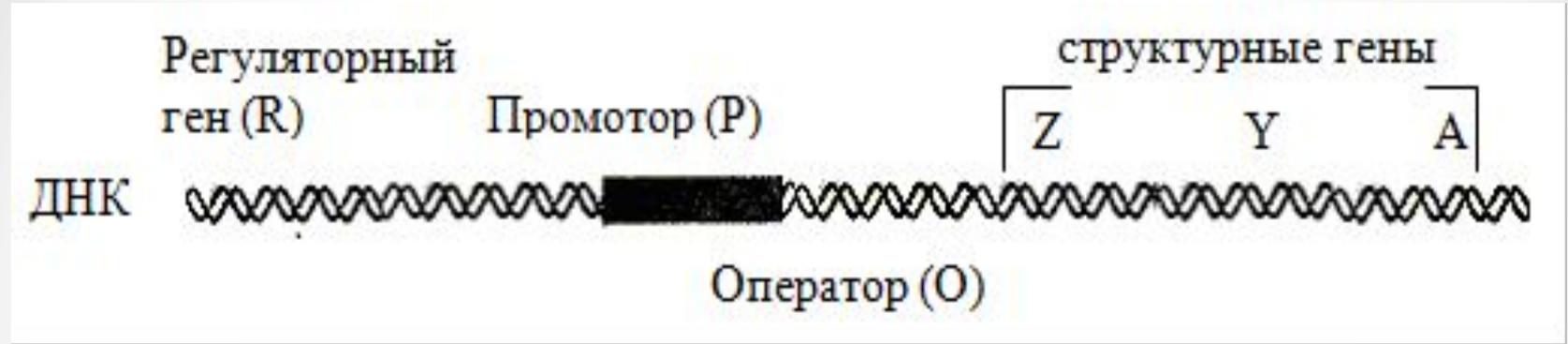
# Регуляция на уровне генов, или регуляция синтеза ферментов

Ф.Жакоб и Ж. Моно предположили, что хромосома бактерий состоит из групп отдельных генов, имеющих общую регуляцию и объединяемых в опероны.

*Опероном* называют группу функционально связанных между собой генов. Белки, кодируемые генами одного оперона, – это, как правило, ферменты, катализирующие разные этапы одного метаболического пути. Транскрипция генов оперона ведет к синтезу одной общей молекулы мРНК.



## Рассмотрим строение оперона на примере *Lac*-оперона



*Lac*-оперон состоит из кодирующей области, представленной тремя структурными генами, ответственными за синтез трех ферментов:  $\beta$ -галактозидазы,  $\beta$ -галактозидпермеазы и  $\beta$ -галактозидтрансацилазы; а также промоторно-операторной области.

**Оператор** представляет собой небольшой участок ДНК, граничащий с первым структурным геном. С оператором может связываться белок-репрессор, блокируя тем самым инициацию (начало) транскрипции.

**Промотор** – это небольшой участок ДНК перед оператором. Он служит местом связывания ДНК-зависимой РНК-полимеразы (транскриптазы) и от него начинается транскрипция ДНК.

Оператор и промотор в некоторой степени перекрываются, таким образом, что, когда репрессор связан с ДНК в области оператора, то РНК-полимераза не может связаться с промотором и транскрипция структурных генов не происходит.

Таким образом, оперон – это транскрипционная единица, координированно экспрессируемая с общего промотора и контролируемая общим оператором.

Транскрипционная активность входящих в оперон генов регулируется специальным *геном-регулятором*, или регуляторным геном (ген R), который может располагаться рядом со структурными генами или на некотором расстоянии от них.

Ген R кодирует синтез специфического белка-репрессора.

*Репрессор* – аллостерический белок, имеющий два центра связывания: один центр узнает оператор, другой – взаимодействует с эффектором или индуктором.



Для *Lac*-оперона индуктором является лактоза, которая связывается с репрессором, переводит его в неактивную форму, в результате чего репрессор отсоединяется от оператора.

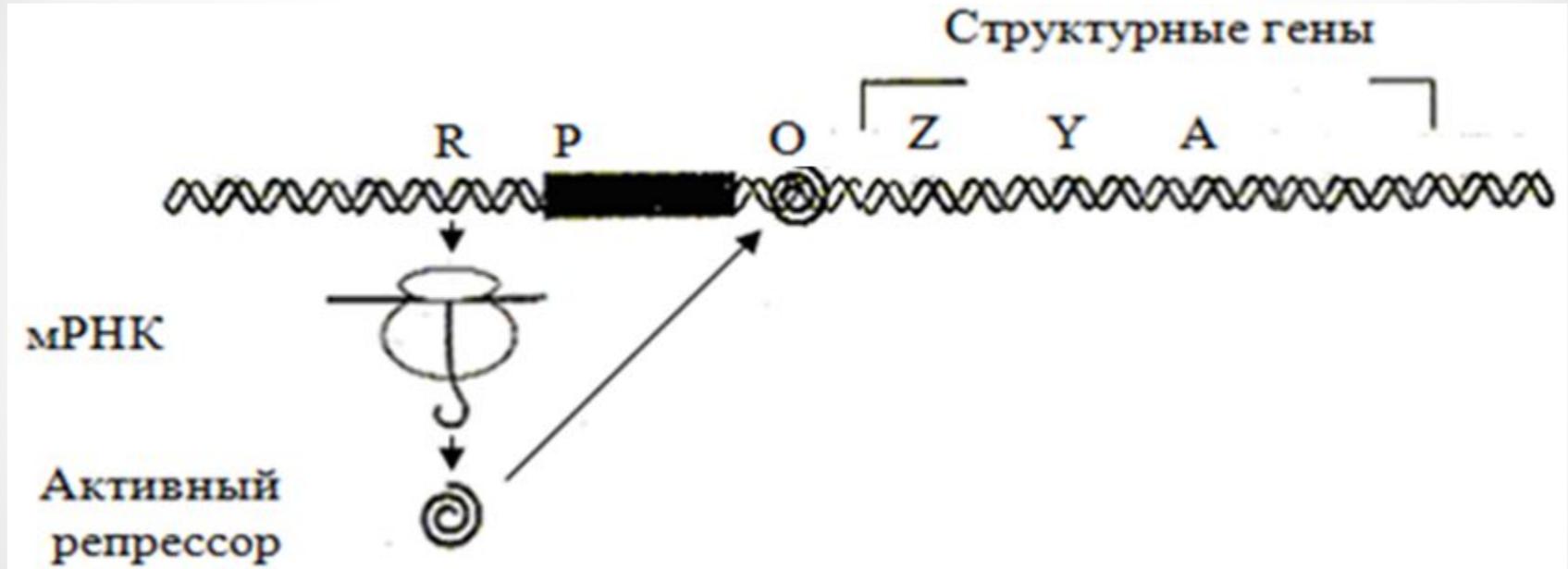
Различают *опероны индуцибельные* и *репрессибельные*.

Индуцибельные опероны ответственны за катаболизм лактозы, арабинозы, галактозы и других углеводов.

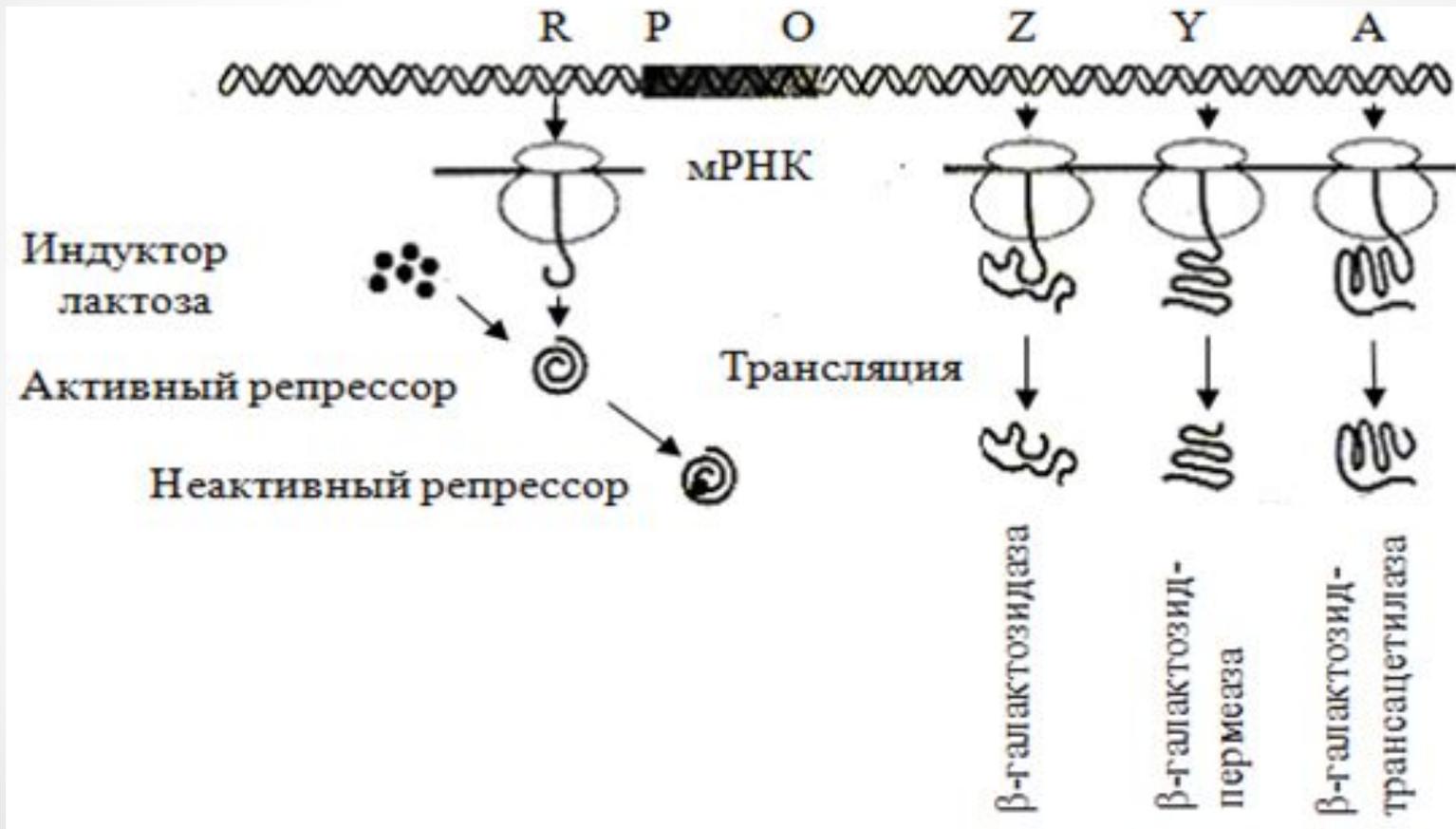
Рассмотрим работу индуцибельного оперона на примере *Lac*-оперона.



# Работа лактозного оперона бактерий *E. coli* без лактозы



# Работа лактозного оперона бактерий *E. coli* с лактозой



Репрессибельные опероны ответственны за синтез аминокислот аргинина, гистидина и триптофана.

Максимальная транскрипция структурных генов этих оперонов достигается только в отсутствие в клетке конечных продуктов или эффекторов этих биосинтетических путей.

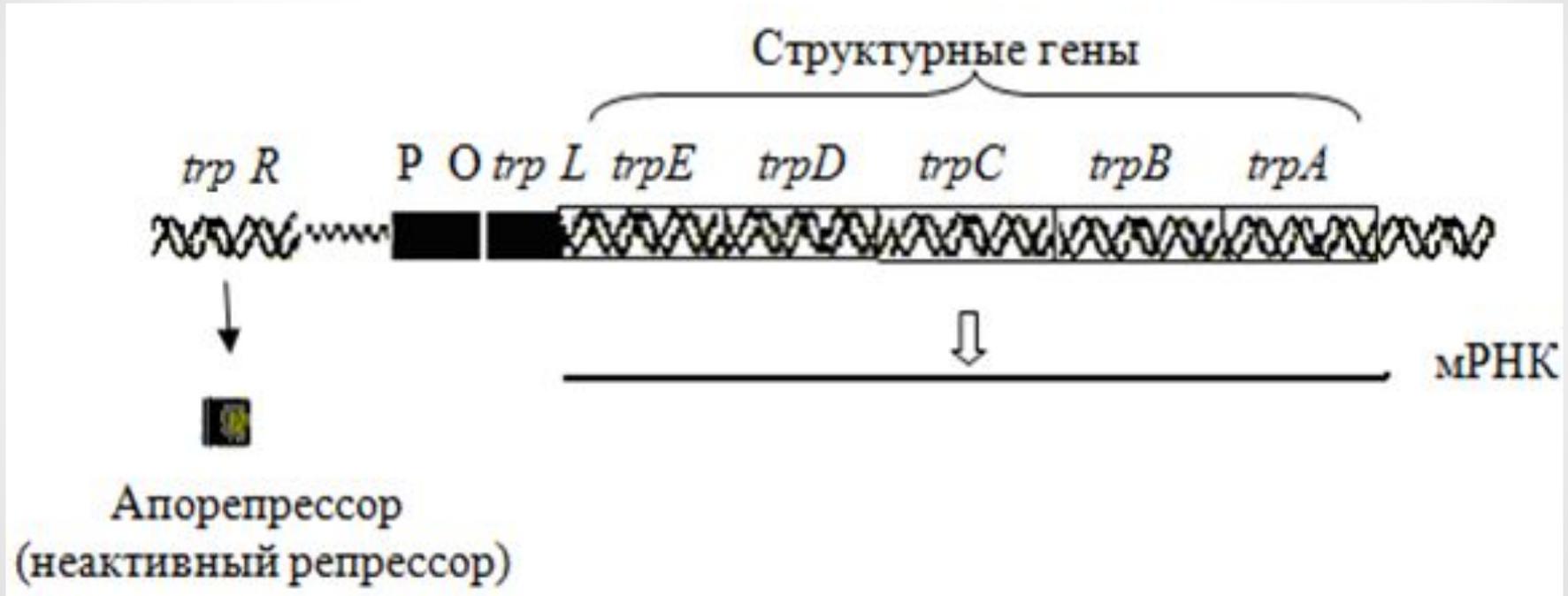
Такие эффекторы, которыми являются конечные продукты называют *корепрессорами*, а соответствующие регуляторные белки – *апорепрессорами*.

Синтез ферментов репрессибельного оперона включается посредством дерепрессии структурных генов.

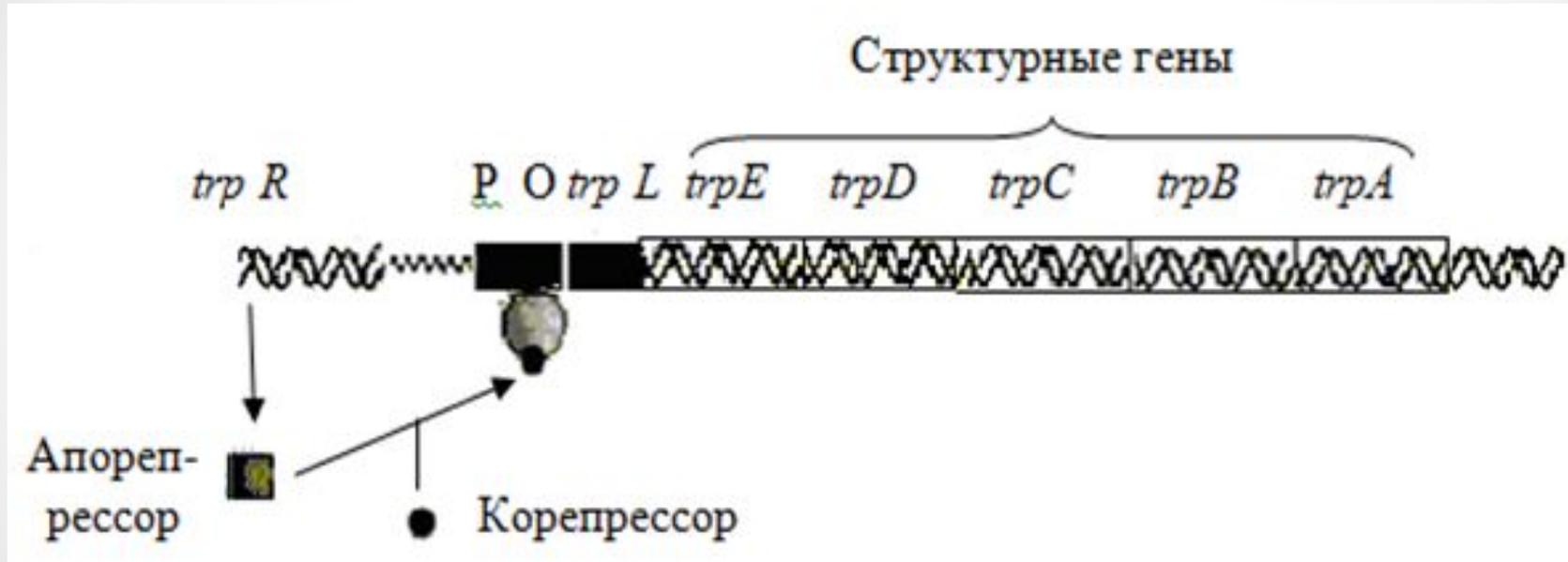
Разберем строение триптофанового оперона *E. coli*.



# Работа триптофанового оперона бактерий *E. coli* (нет триптофана)



# Работа триптофанового оперона бактерий *E. coli* (избыток триптофана)



Для того, чтобы понизить уровень транскрипции в присутствии триптофана, в еще большей степени, в клетках бактерий *E. coli* имеется дополнительный механизм регуляции транскрипции, который называется **аттенуация**, в осуществлении его принимает участие продукт гена *trpL*.

В условиях избытка триптофана только одна из десяти молекул РНК-полимеразы, начавшая транскрибирование с промотора, взаимодействует со структурными генами и продолжает транскрипцию.

Таким образом, действие аттенуатора проявляется в терминации транскрипции, а сам процесс аттенуации классифицируется как регулируемая терминация транскрипции.



Установлено, что аттенуация зависит не от самой аминокислоты триптофана, а от образования триптофанил-тРНК, т. е. активированной аминокислоты, присоединенной к транспортной РНК.

Когда происходит уменьшение внутриклеточной концентрации триптофана сначала осуществляется дерепрессия, это значит создается возможность связывания молекул РНК-полимеразы с промотором *Trp*-оперона.

При более глубоком голодании снижается уровень триптофанил-тРНК и возникают условия для преодоления аттенуатора.



Таким образом, и в случае индукции путем негативной регуляции (*Lac*-оперон) и в случае репрессии синтеза ферментов (*Trp*-оперон) взаимодействие репрессора с оператором приводит к подавлению процесса транскрипции соответствующих структурных генов.

Различие заключается в том, что при индукции путем негативной регуляции эффектор (индуктор), взаимодействуя с репрессором, понижает его сродство к оператору, а в случае репрессии эффектор (корепрессор) повышает это сродство.

Совокупность оперонов, распределенных тем или иным образом в хромосоме, но регулируемых одним и тем же аллостерическим регуляторным белком (репрессором или активатором), называют **регулоном**.



Более высокий уровень регуляции характерен для модулона.

**Модулон** – регуляторная система, в состав которой входят опероны и регулоны, которые регулируются не только своим индивидуальным регуляторным белком, но также общей регуляторной системой.

Такая регуляторная система реагирует на условия общего характера, например голодание или другие стрессовые условия, способные вызвать резкие изменения в метаболизме.

Многие клеточные регуляторные системы превосходят по сложности модулон.

Они обеспечивают протекание таких процессов, как деление, спорообразование или изменения поверхности бактериальных клеток при инфицировании организма-хозяина.

Подобные процессы затрагивают функционирование клетки в целом и требуют *регуляции на уровне мультигенных семейств*.



Однако, как и в случае эукариотических клеток в составе многоклеточного организма, регуляция одной прокариотической клетки не составляет высший уровень сложности. Клетки прокариот способны также к межклеточным внутрипопуляционным контактам и кооперативному поведению. Такое поведение обеспечивается системой *аутоиндукции*, позволяющей клеткам реагировать на плотность своей популяции.

Этот феномен получил название «кворум-сенсинг», означающее реакцию на плотность популяции. В процессе роста бактериальные клетки выделяют аутоиндуктор, накапливающийся в среде; когда его концентрация превышает пороговый уровень (обычно при высокой плотности клеток), он вызывает аутоиндукцию, т.е. активацию определенных генов.



У грамотрицательных бактерий аутоиндукторы представляют собой N-ацетилгомосеринлактоны.

Аутоиндукторы регулируют, например, такие процессы, как биолюминесценция у бактерий *Vibrio fischeri*, «роение» у бактерий *Proteus mirabilis*, вирулентность у *Pectobacterium carotovorum* и *Pseudomonas aeruginosa*, превращение нормальных клеток *Rhizobium spp.* в бактериоиды и другие типы кооперативного поведения, а также наблюдаемые в ферментерах эффекты слипания и флокуляции клеток.

