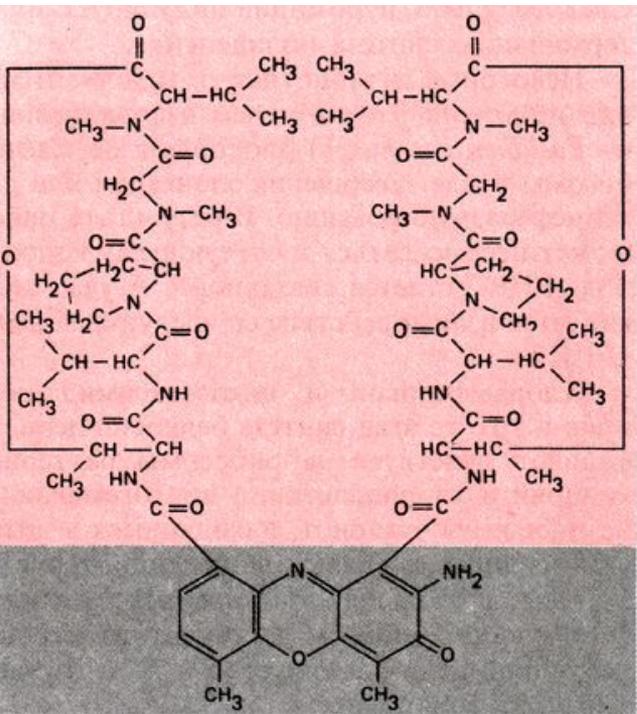


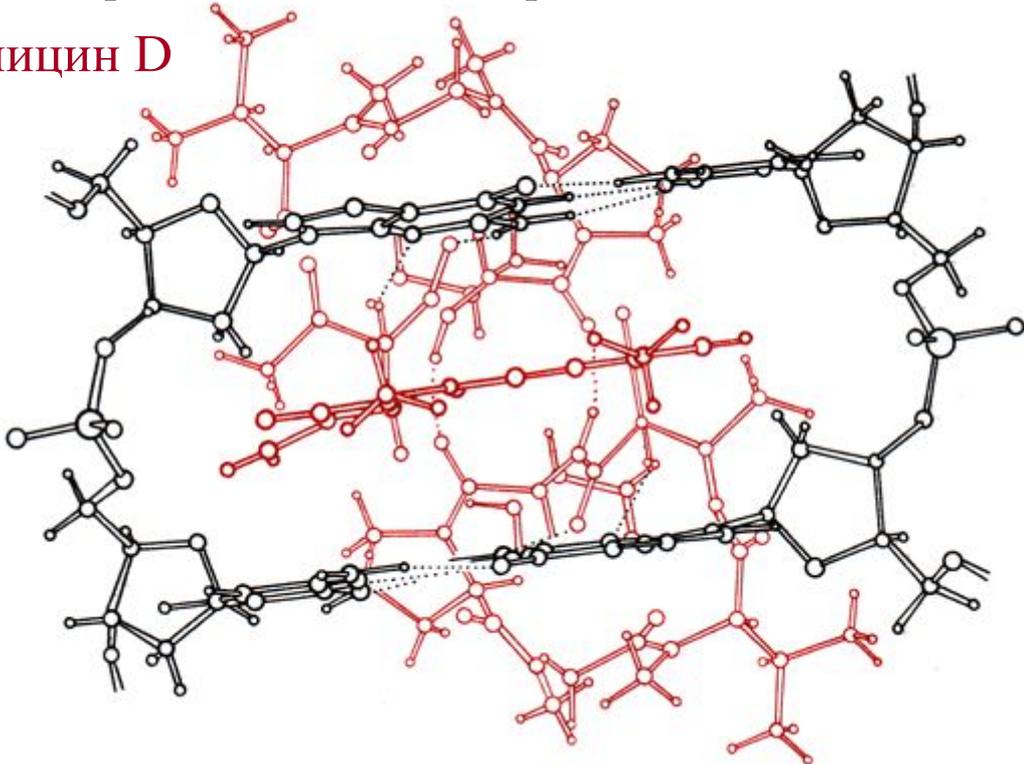
ИНГИБИТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ

Иггибитор	Действие
Актиномицин D	Ингибирует все РНК-полимеразы. При концентрации актиномицина, приводящей к блокированию транскрипции, репликация ДНК не замедляется
Рифамицин и рифампицин	Блокирует транскрипцию у прокариот, но не влияют на транскрипцию у эукариот. Блокирует инициацию синтеза РНК, связываясь с β -
Стрептолидигин α-	Если синтез РНК уже инициирован, то процесс элонгации оказывается нечувствительным к антибиотикву. Блокирует элонгацию, но не инициацию синтеза РНК. Из трех эукариотических РНК-полимераз наиболее чувствительна к α -полимераза I не ингибируется совсем, а РНК-полимераза III ингибируется только при высоких концентрациях антибиотика



Актиномицин D

- L- метилвалин
- Саркозин
- L- пролин
- D- валин
- L- треонин
- Феноксазоновое кольцо



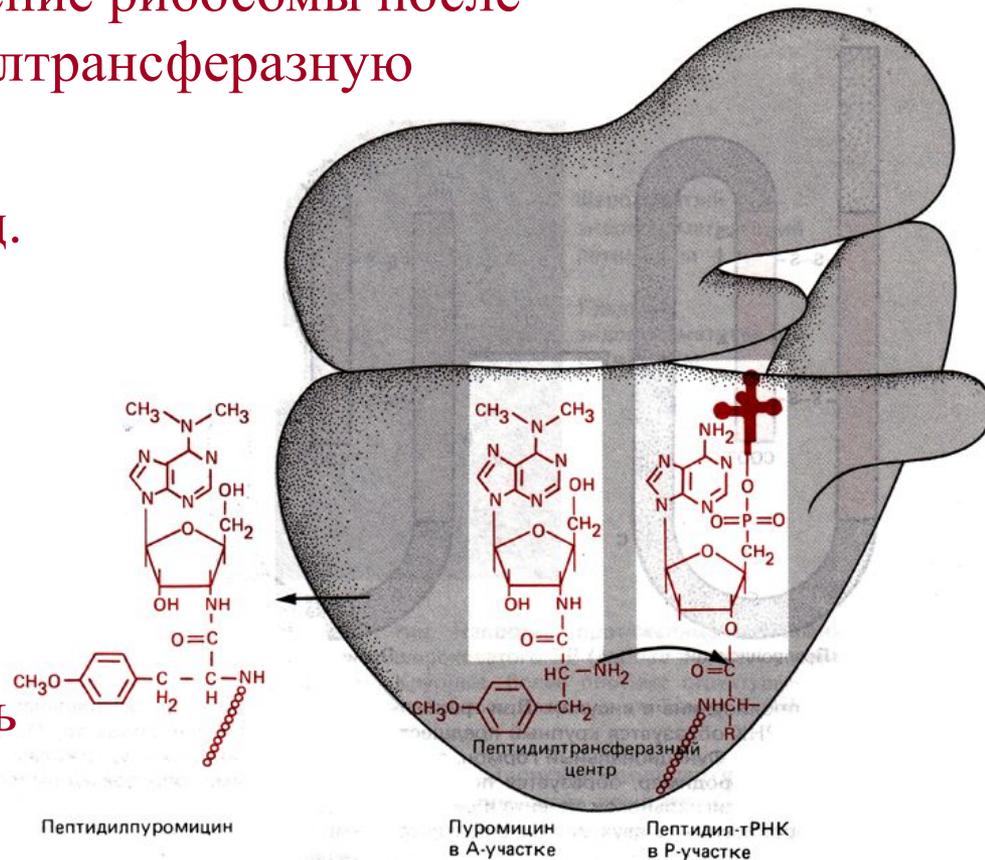
Стрептомицин как большинство других аминогликозидов, связывается только с S12-белком 30S-субчастицы бактериальных рибосом

Пурамицин блокирует синтез полипептидов на рибосомах как у про-, так и у эукариот, имитируя действие аминоксил-тРНК

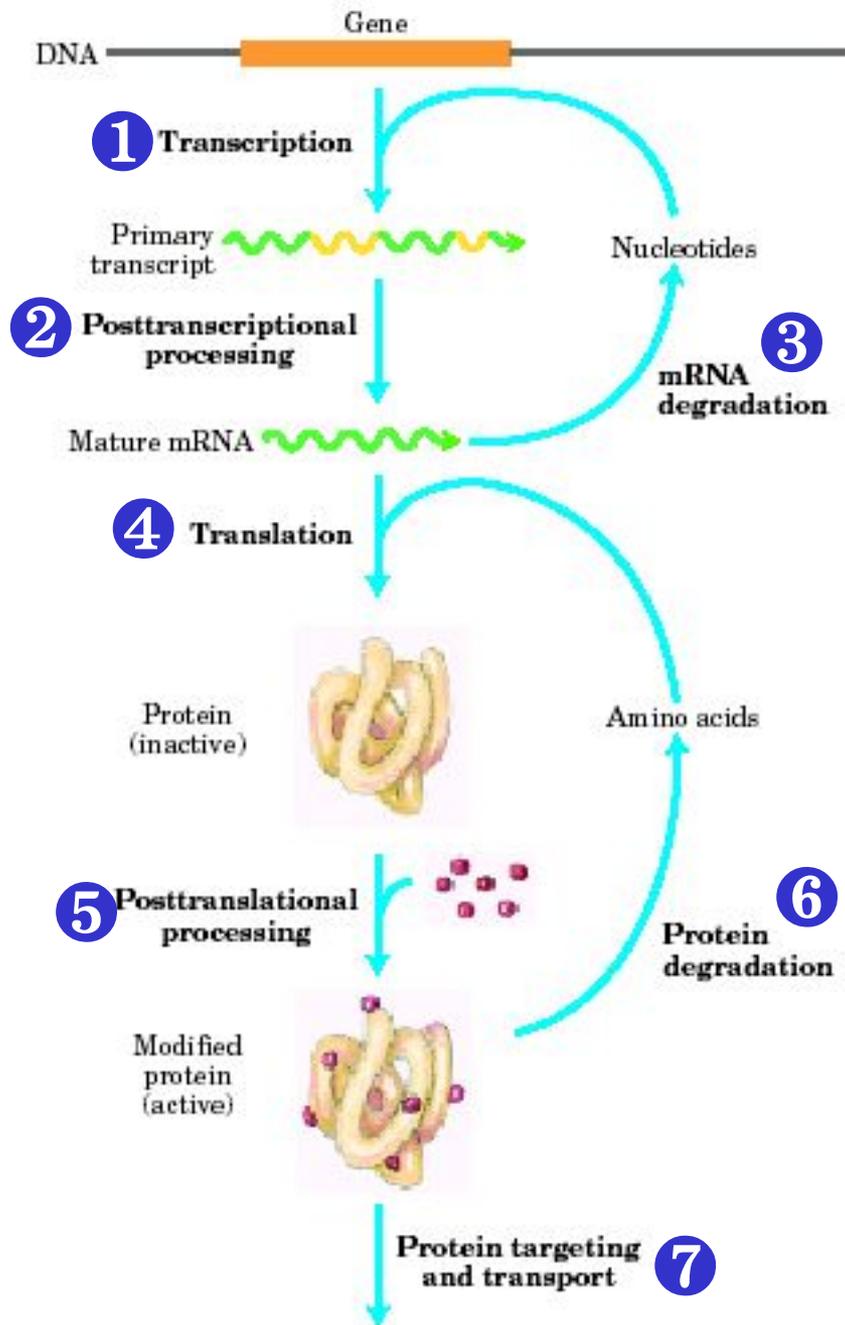
Эритромицин блокирует перемещение рибосомы после завершения элонгации или пептидилтрансферазную реакцию

Хлорамфеникол и циклогексимид.

Хлорамфеникол действует на рибосомы бактерий, митохондрий и хлоропластов, а циклогексимид - только на рибосомы эукариот, находящиеся в цитоплазме. Оба соединения влияют на пептидилтрансферазную активность больших субчастиц рибосом.



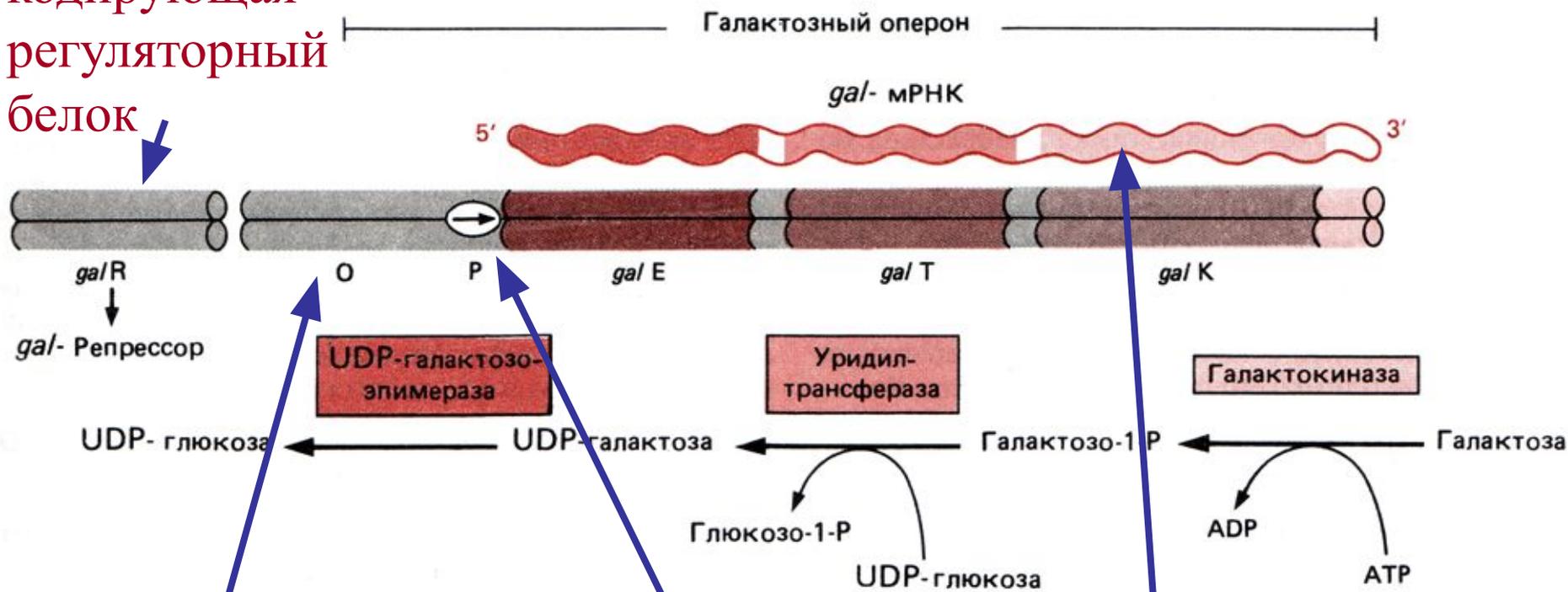
РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ



- 1 Синтез первичного РНК транскрипта (транскрипция)
- 2 Посттранскрипционная модификация мРНК
- 3 Деградация мРНК
- 4 Синтез белка (трансляция)
- 5 Посттрансляционная модификация белка
- 6 Транспорт белка
- 7 Деградация белка

Оперон – единица координированной транскрипции генов прокариот.

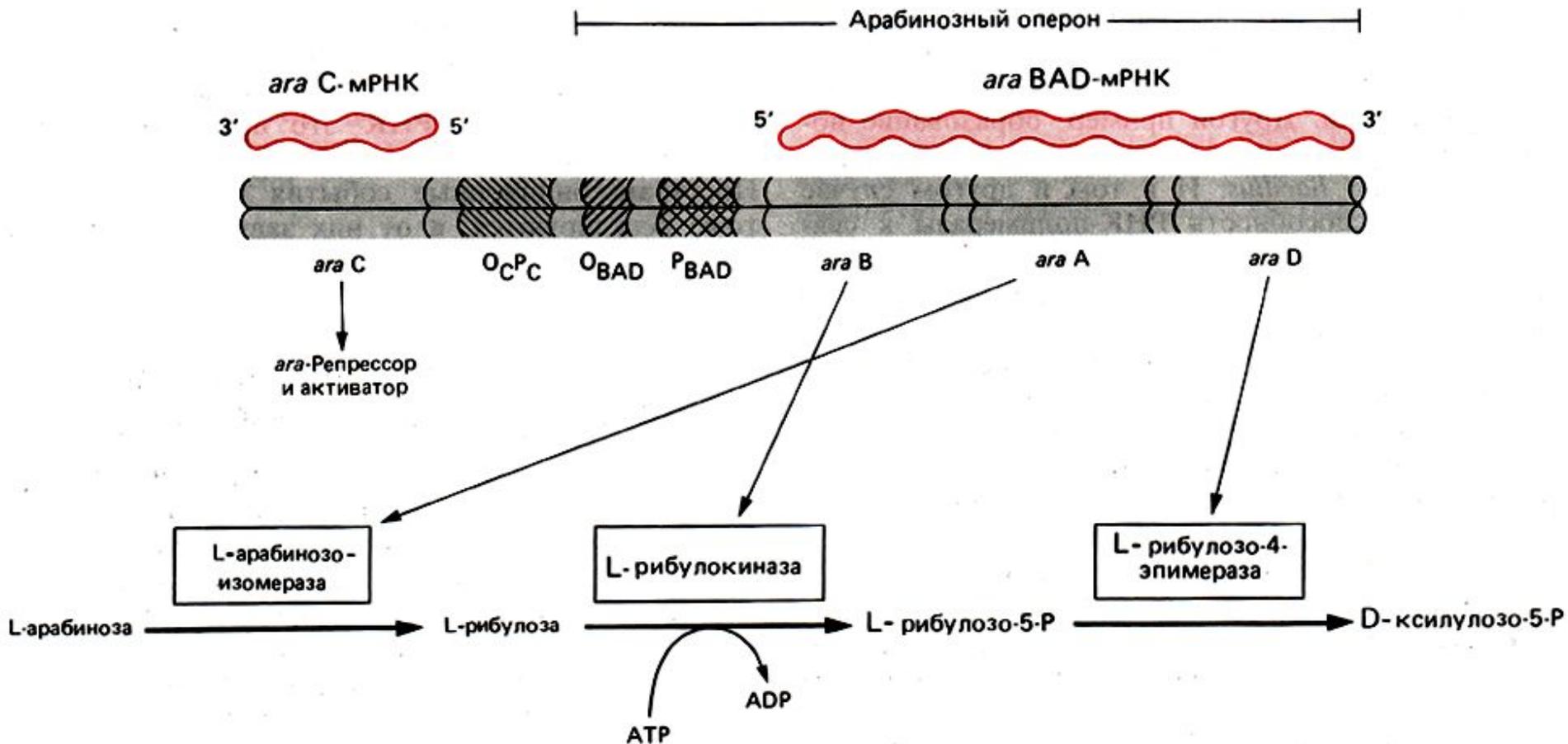
Область,
кодирующая
регуляторный
белок



Оператор - регуляторный сегмент гена (участок связывания с белком-репрессором)

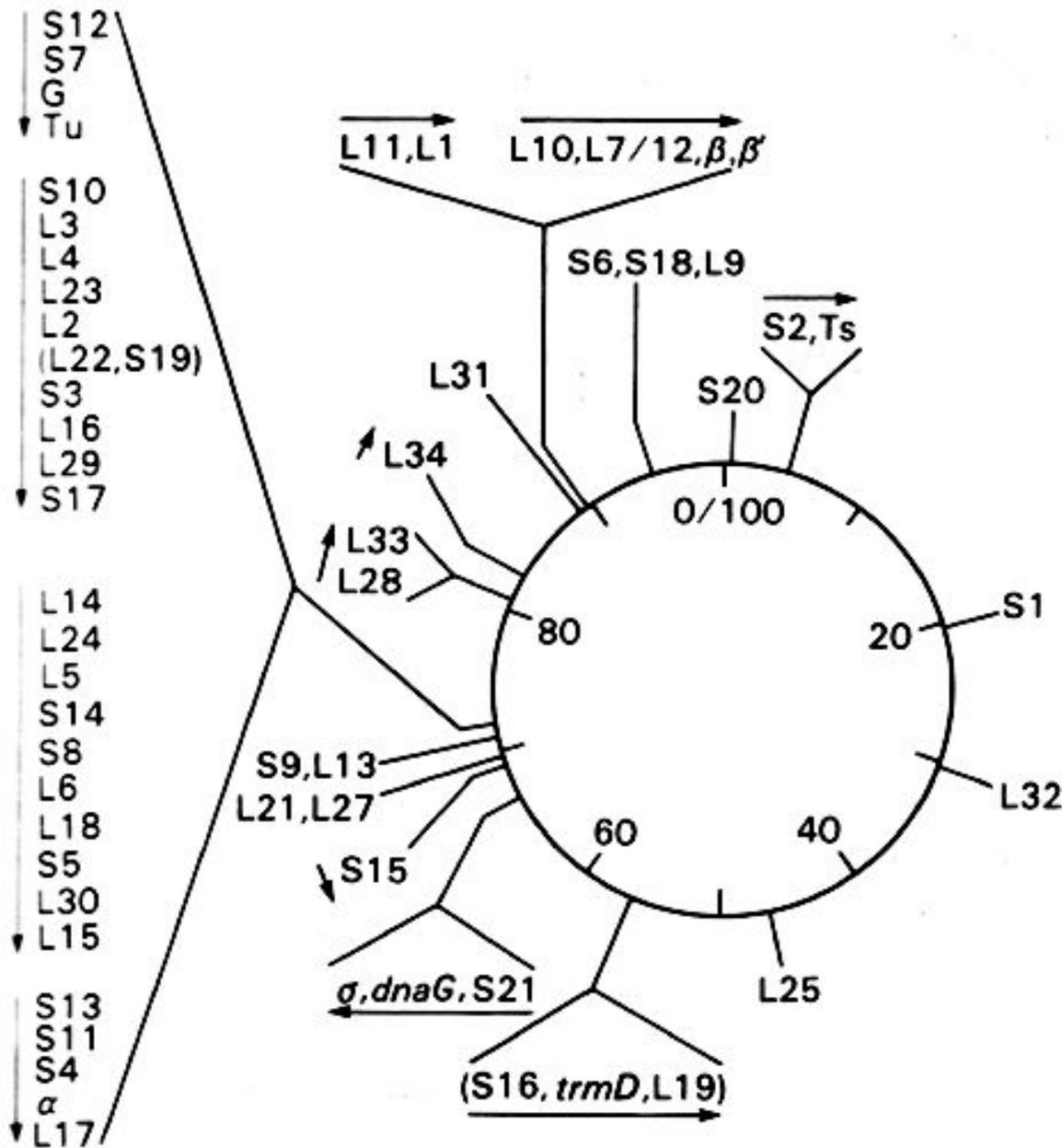
Промотор

Полицистронный
(или полигенный)
транскрипт



Негативная регуляция инициации транскрипции, или репрессия, осуществляется белками репрессорами, которые связываются с операторами

Позитивная регуляция инициации транскрипции может осуществляться специфических белков-активаторов с нуклеотидными последовательностями, расположенными в области промотора



Положение на генетической карте *E. coli* генов, кодирующих рибосомные белки.

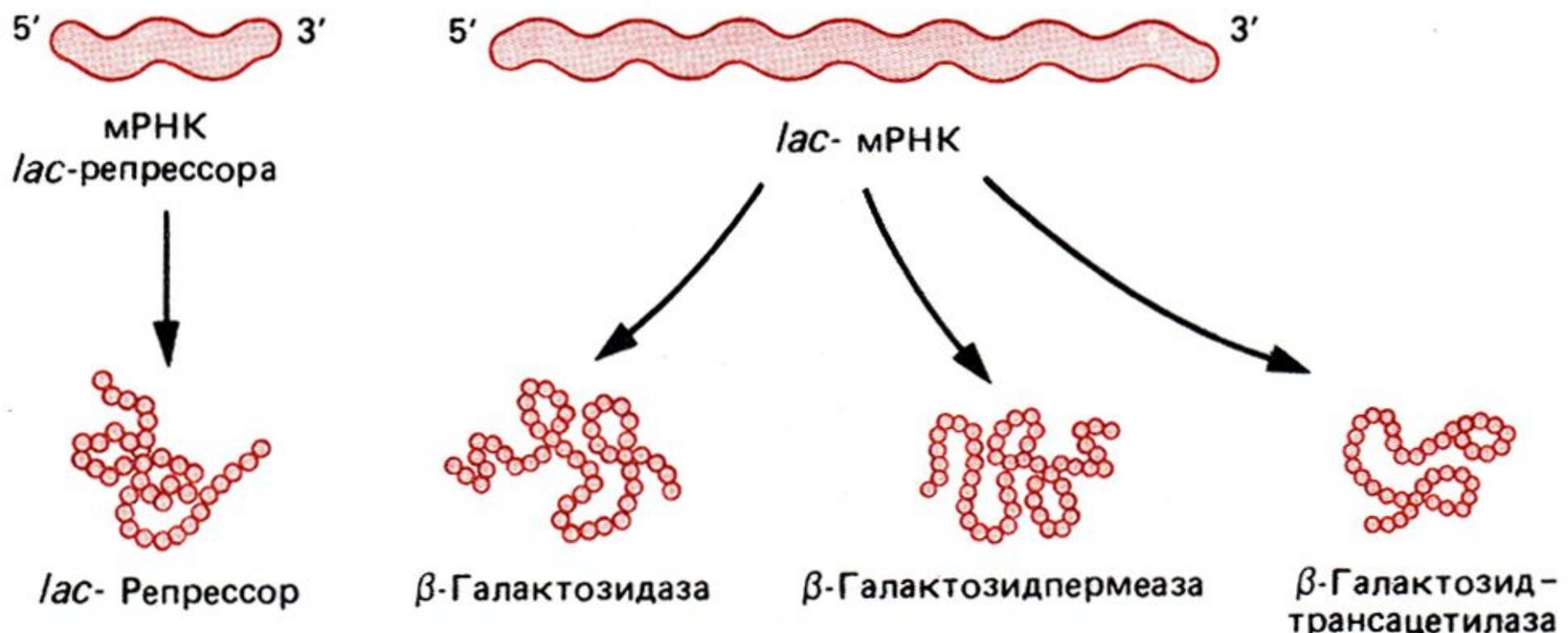
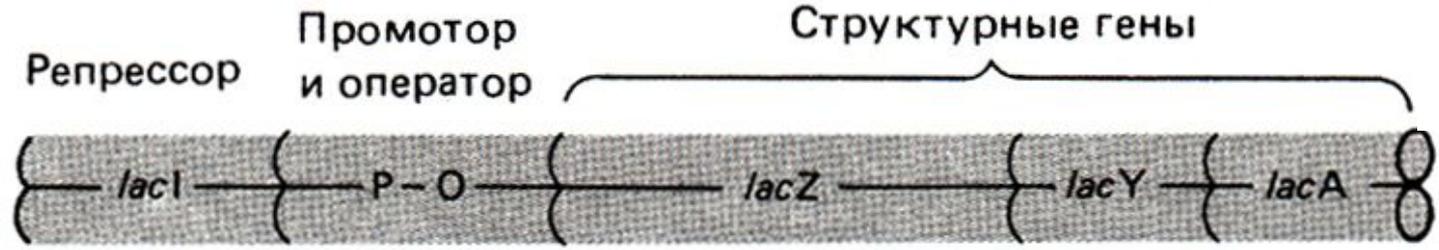
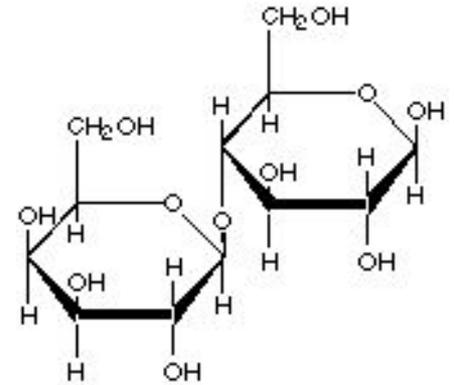


François Jacob



Jacques Monod, 1910-1976

Регуляция экспрессии лактозного оперона *E. coli*



93 РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ЛАКТОЗНОГО ОПЕРОНА E. COLI

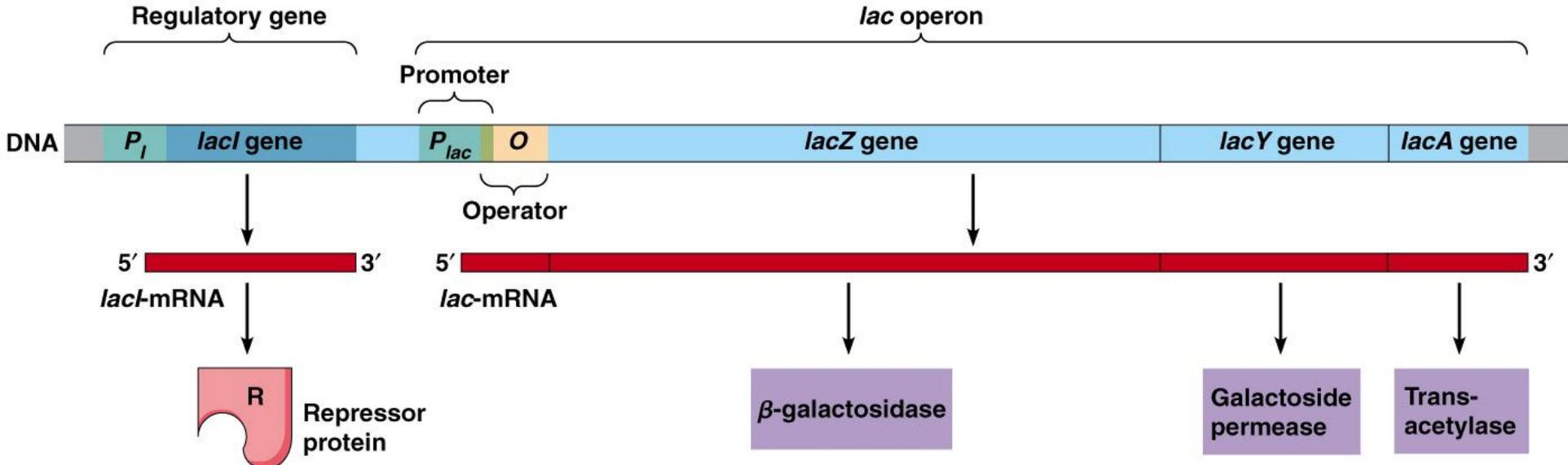
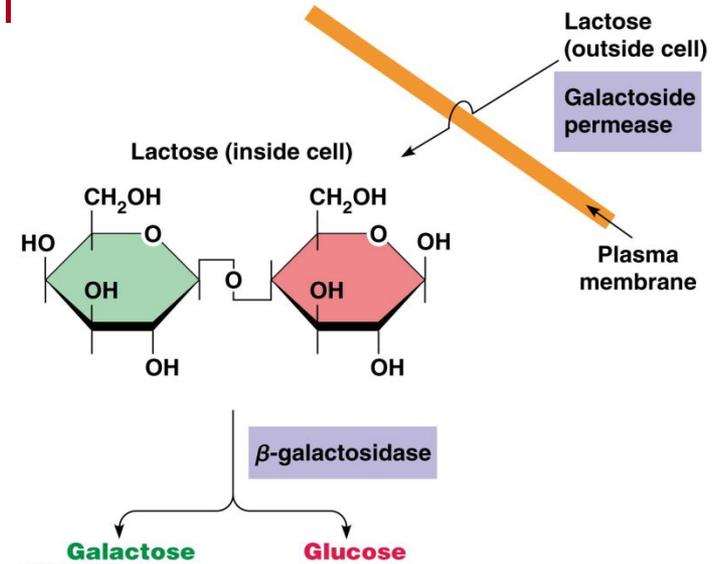
Оперон – единица координированной транскрипции генов

Нобелевская премия

прокариот



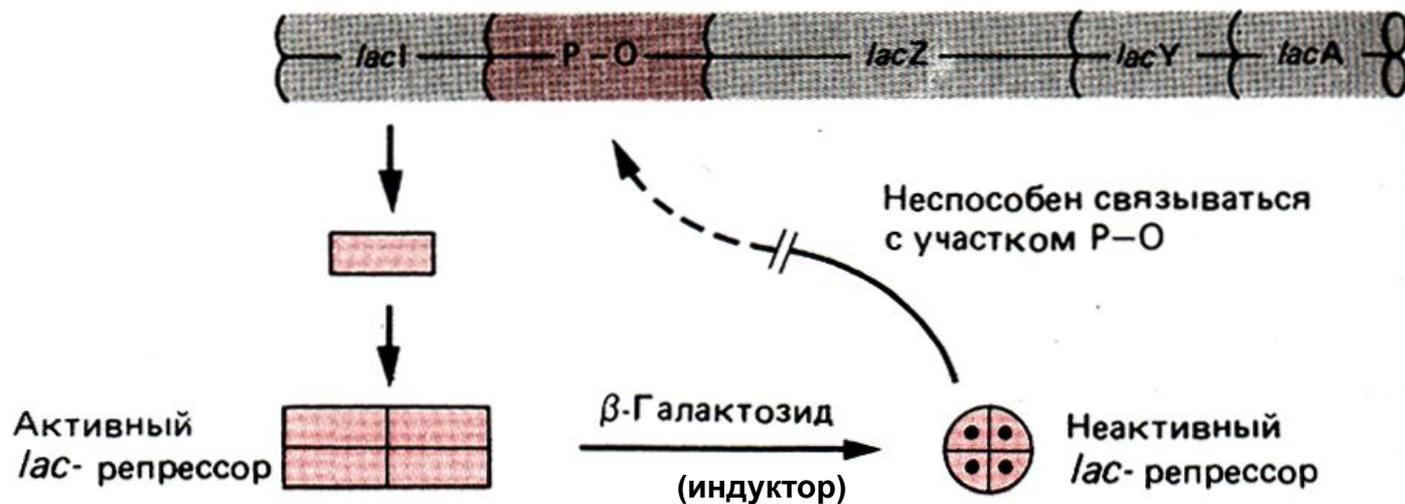
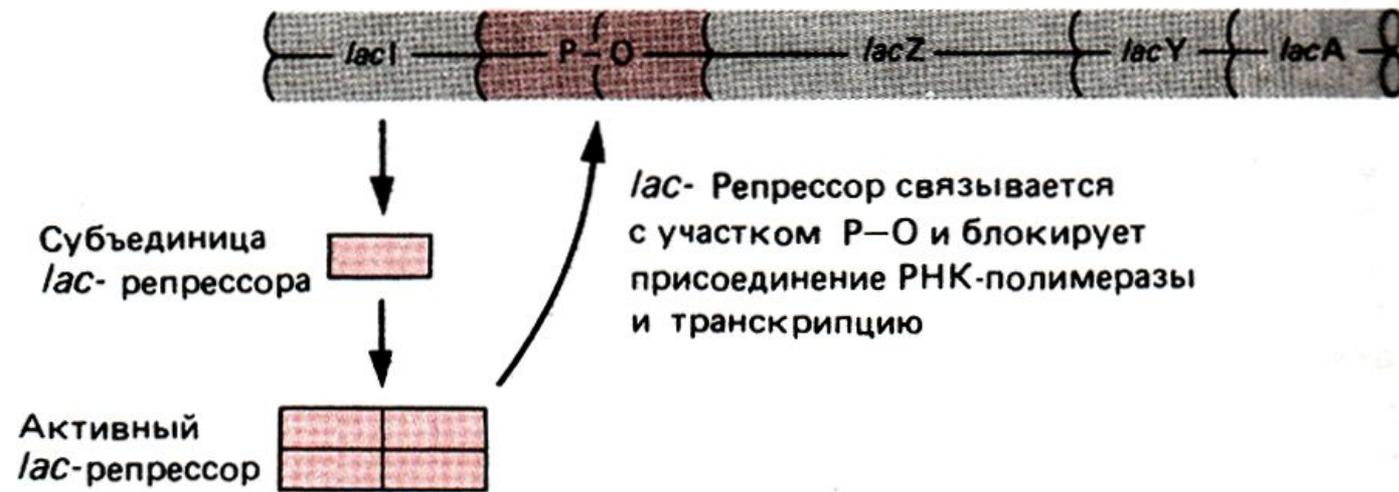
Jacques Monod and Francois Jacob



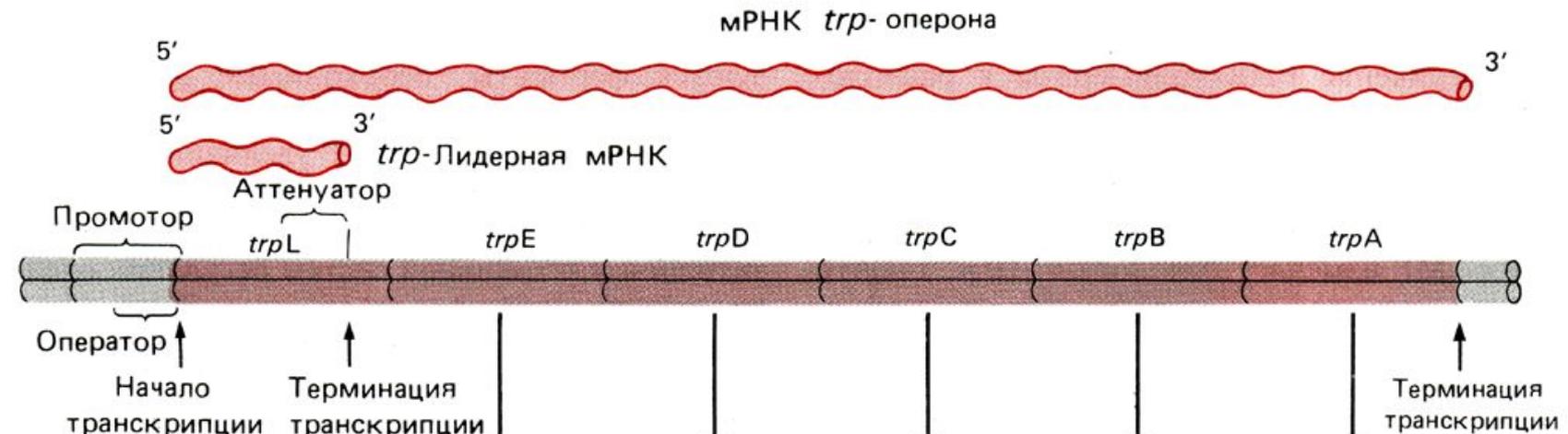
Оператор – регуляторный сегмент гена – участок связывания с белком-репрессором

Регуляция экспрессии лактозного оперона *E. coli*

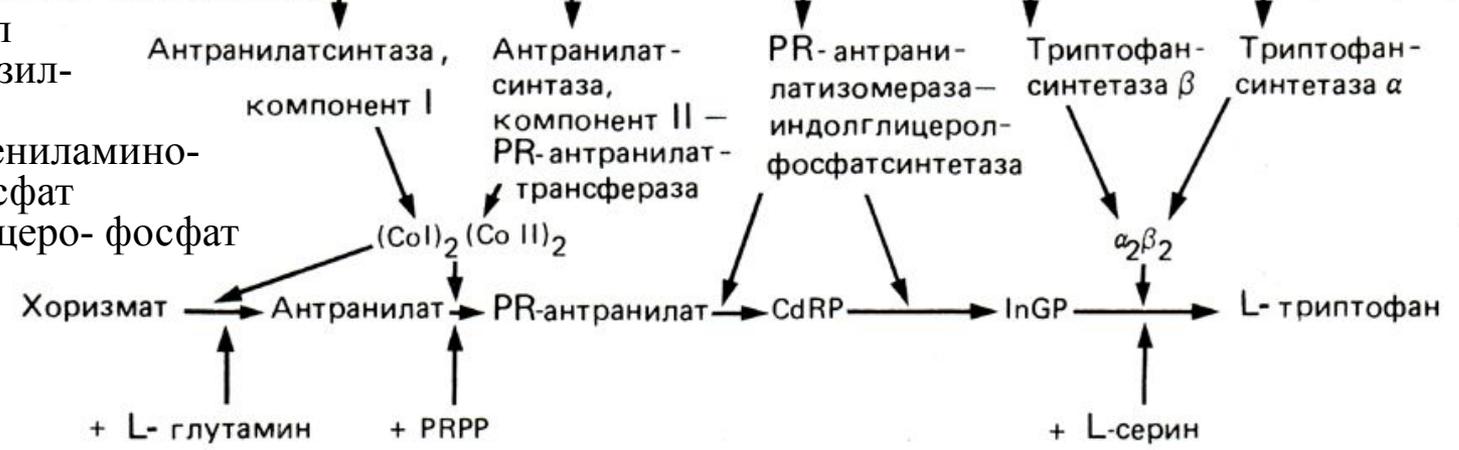
Негативная регуляция



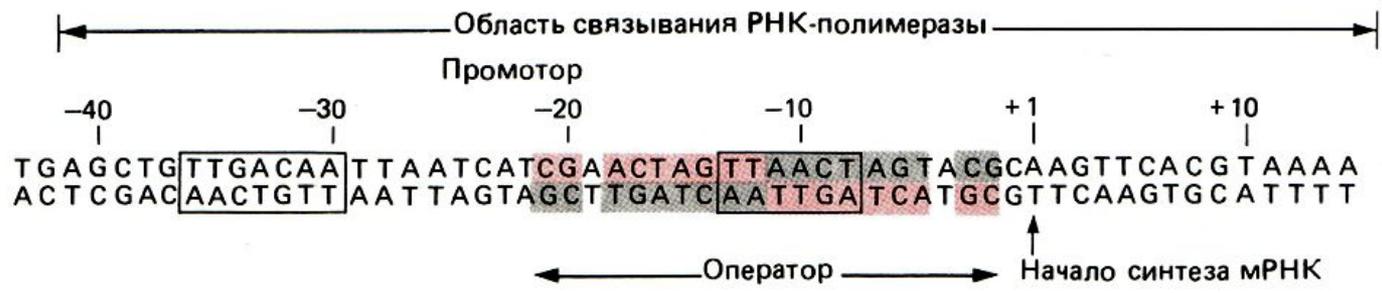
Регуляция экспрессии триптофанового оперона *E. coli*



PR - фосфорибозил
 PRPP - фосфорибозил-пирофосфат
 CdRP - карбоксифениламино-дезоксирбулозофосфат
 InGP - индолилглицеро- фосфат

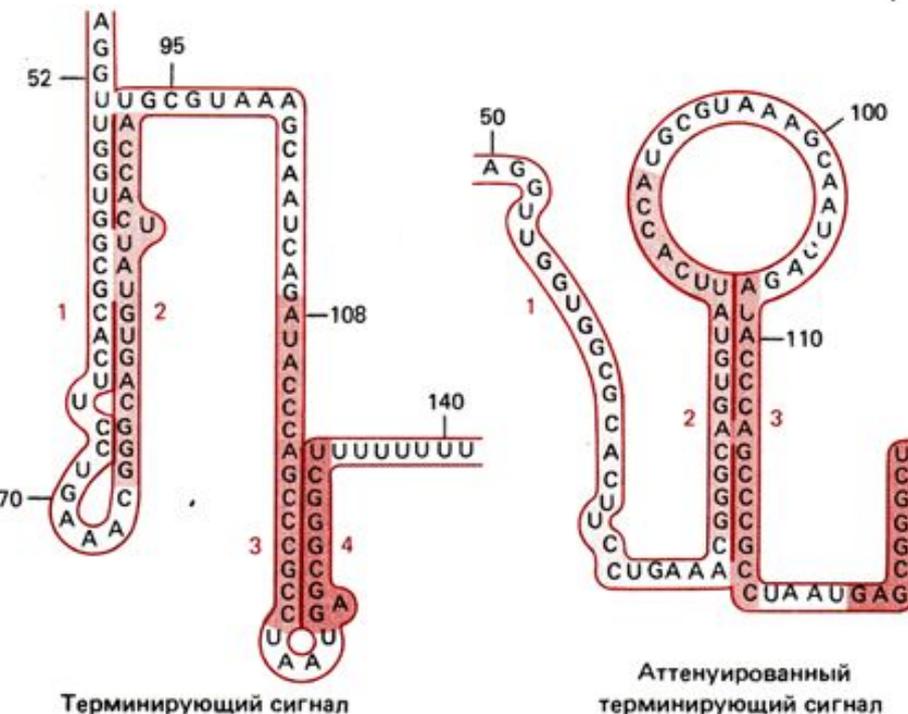
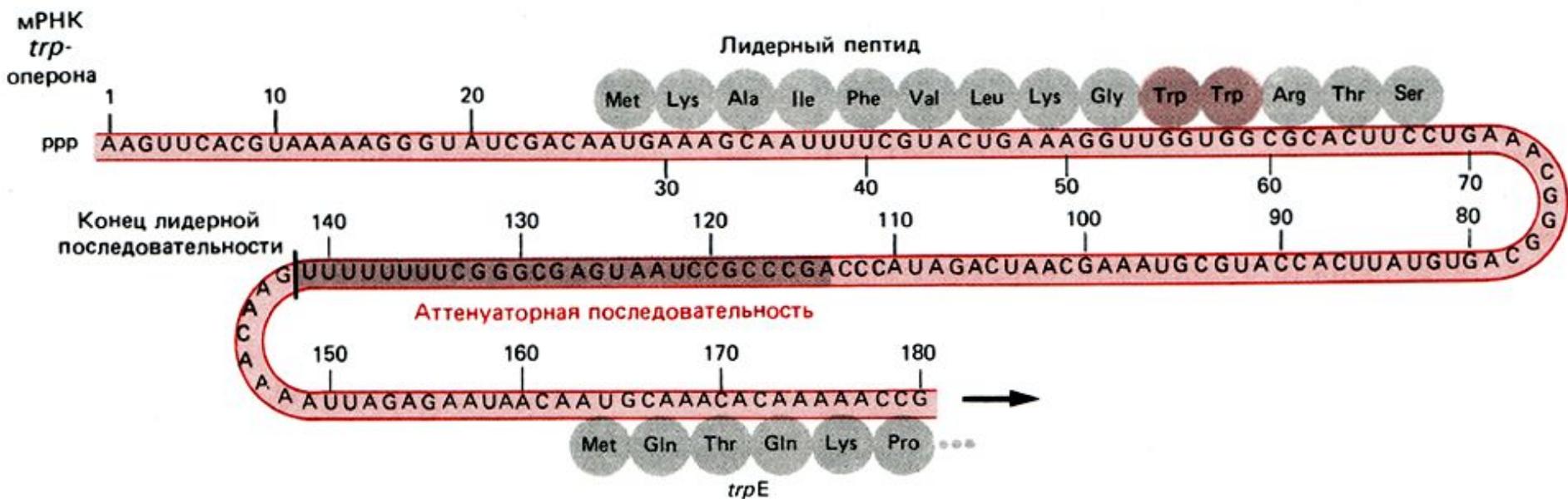


Репрессия триптофанового оперона



Связывание комплекса *trp*-репрессор-Trp с оператором препятствует присоединению РНК-полимеразы к промотору

Аттенуация экспрессии триптофанового оперона



attenuation (LingvoGeneral-E)

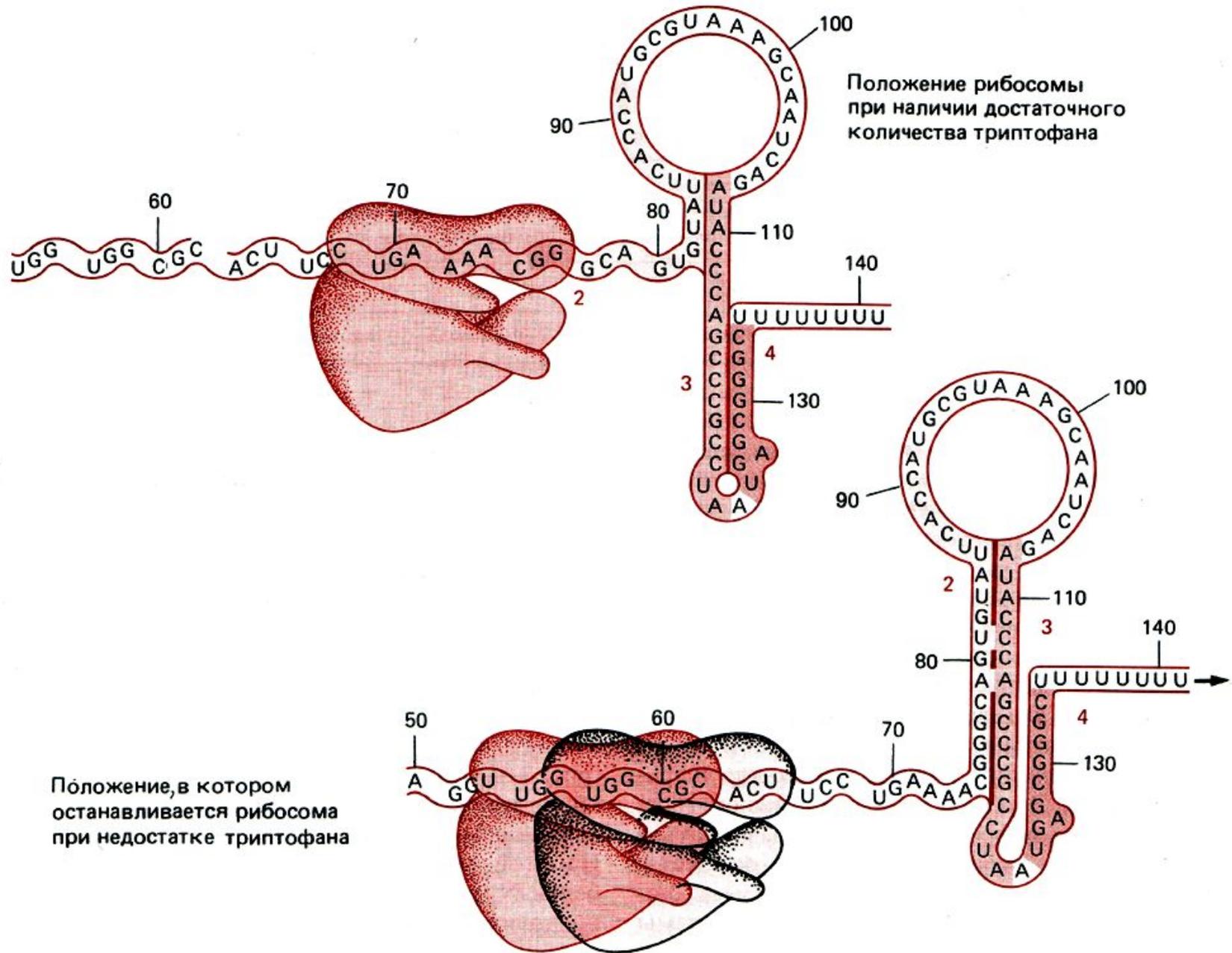
[ə.tenju'eɪj(ə)n]

существительное

- 1) истощение; ослабление
- 2) разжижение
- 3) phys. tech. затухание
- 4) (attr.)

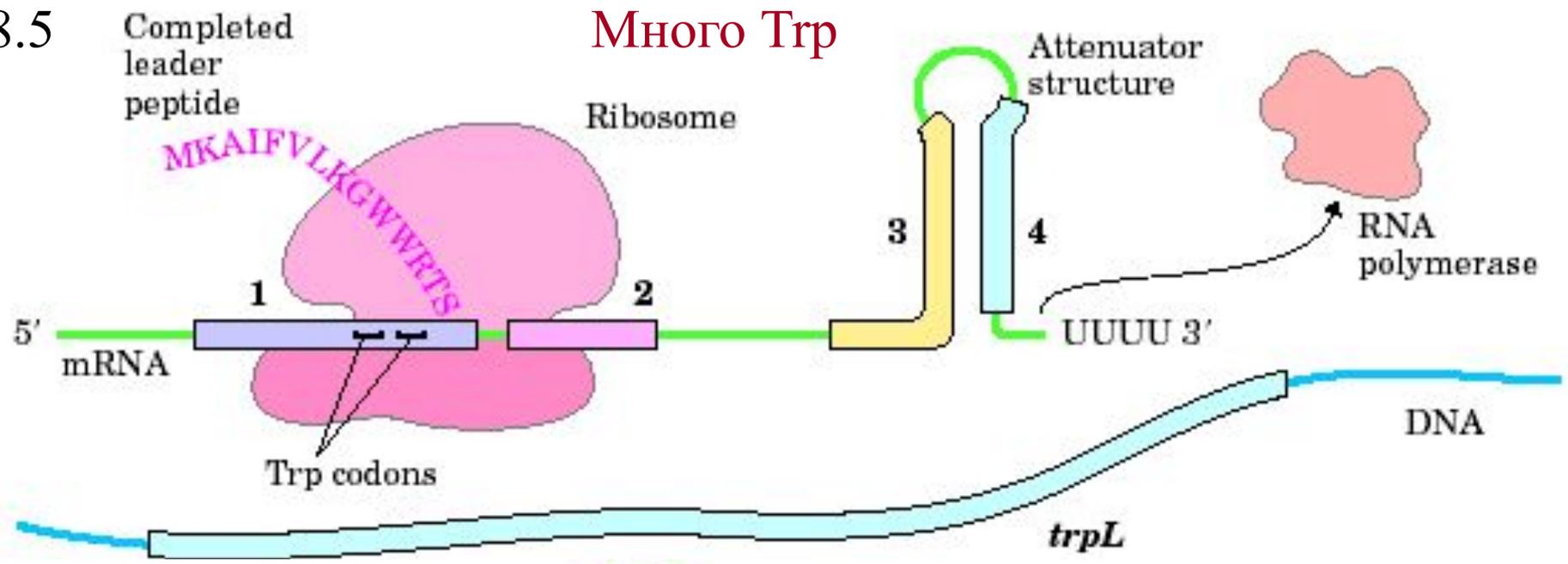
attenuation constant радио коэффициент затухания

Аттенуация экспрессии триптофанового оперона

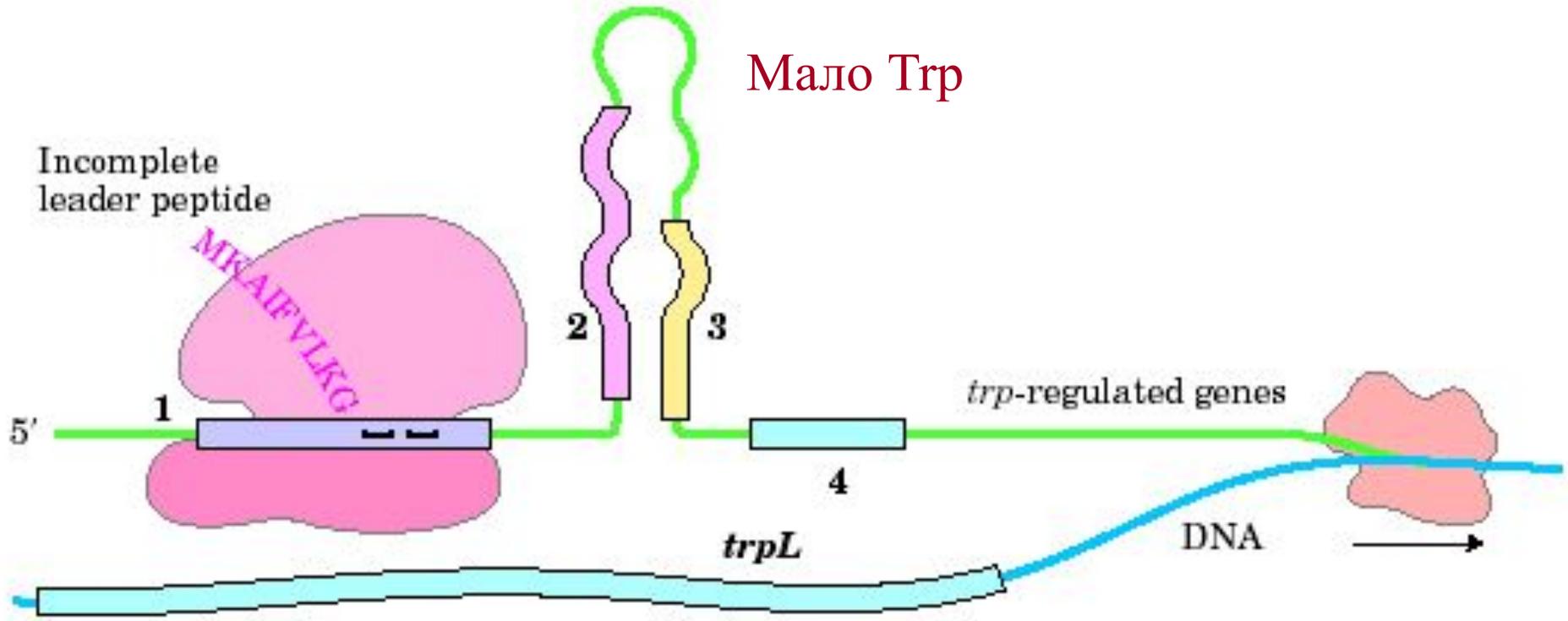


98.5

Много Трп



Мало Трп



Некоторые опероны, лидерные последовательности которых содержат многократно повторенные кодоны для аминокислот, регулирующих работу данного оперона

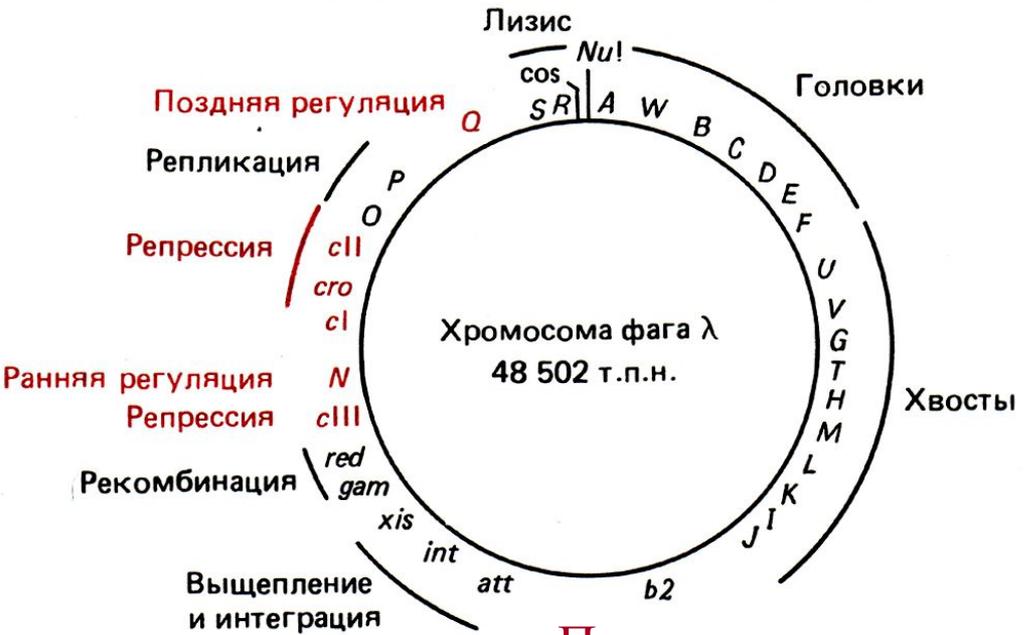
Оперон	Лидерная пептидная последовательность	Аминокислоты-регуляторы
<i>his</i>	Met-Thr-Arg-Val-Gln-Phe-Lys-His-His-His-His-His-His-His-Pro-Asp	His
<i>pheA</i>	Met-Lys-His-Ile-Pro-Phe-Phe-Phe-Ala-Phe-Phe-Phe-Thr-Phe-Pro	Phe
<i>leu</i>	Met-Ser-His-Ile-Val-Arg-Phe-Thr-Gly-Leu-Leu-Leu-Leu-Asn-Ala-Phe-Ile-Val-Arg-Gly-Arg-Pro-Val-Gly-Gly-Ile-Gln-His	Leu
<i>thr</i>	Met-Lys-Arg-Ile-Ser-Thr-Thr-Ile-Thr-Thr-Thr-Ile-Thr-Ile-Thr-Thr-Gly-Asn-Gly-Ala-Gly	Thr, Ile
<i>ilv</i>	Met-Thr-Ala-Leu-Leu-Arg-Val-Ile-Ser-Leu-Val-Val-Ile-Ser-Val-Val-Val-Ile-Ile-Ile-Pro-Pro-Cys-Gly-Ala-Ala-Leu-Gly-Arg-Gly-Lys-Ala	Leu, Val, Ile

бактериофага λ

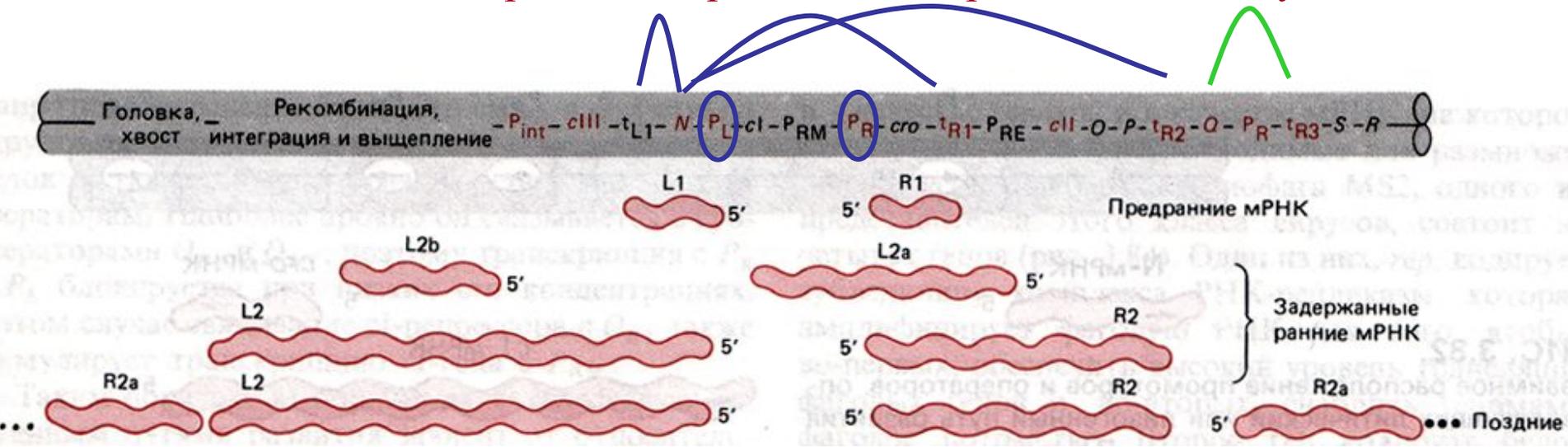
Кольцевая форма генома бактериофага λ

У бактериофага λ, есть два альтернативных способа существования - **ЛИТИЧЕСКИЙ** и **ЛИЗОГЕННЫЙ**.

Форма вирусного генома интегрированная в хромосому клетки-хозяина называется **профагом**.

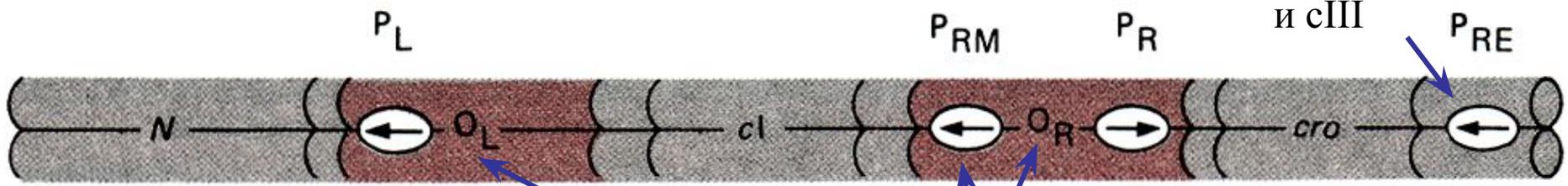


Порядок экспрессии генов при литическом пути

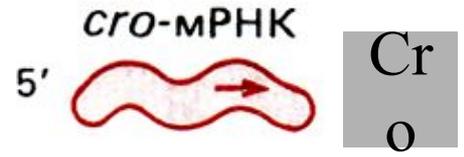


Литический или лизогенный путь развития?

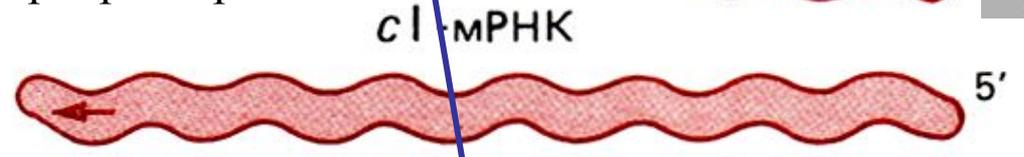
Активируется белками cII и cIII



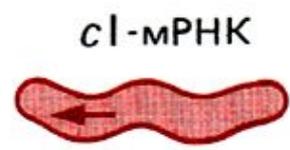
Операторные последовательности - сайты связывания репрессора cI и антирепрессора Cro



Связываясь с операторными сайтами cI подавляет экспрессию с промоторов PL и PR, что делает предпочтительным лизогенный путь



Переключение на литический путь зависит от антирепрессорных и активаторных свойств Cro

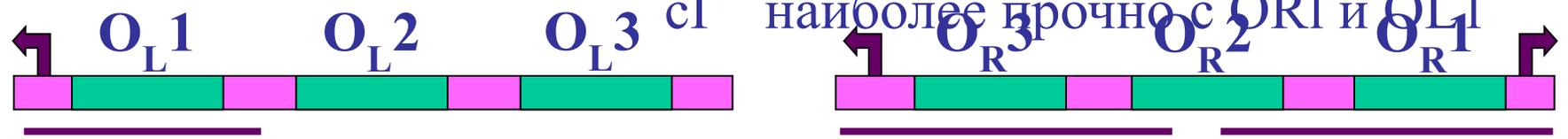


Лизогения поддерживается благодаря транскрипции небольших количеств cI-мРНК с промотора PRM

Cro, и cI связываются со всеми субоператорными сегментами, но относительное сродство их к этим сегментам различно

Cro OL3>OL2>OL1
OR3>OR2,OR1

наиболее прочно с OR1 и OL1



PL Участок связывания РНК-полимеразы

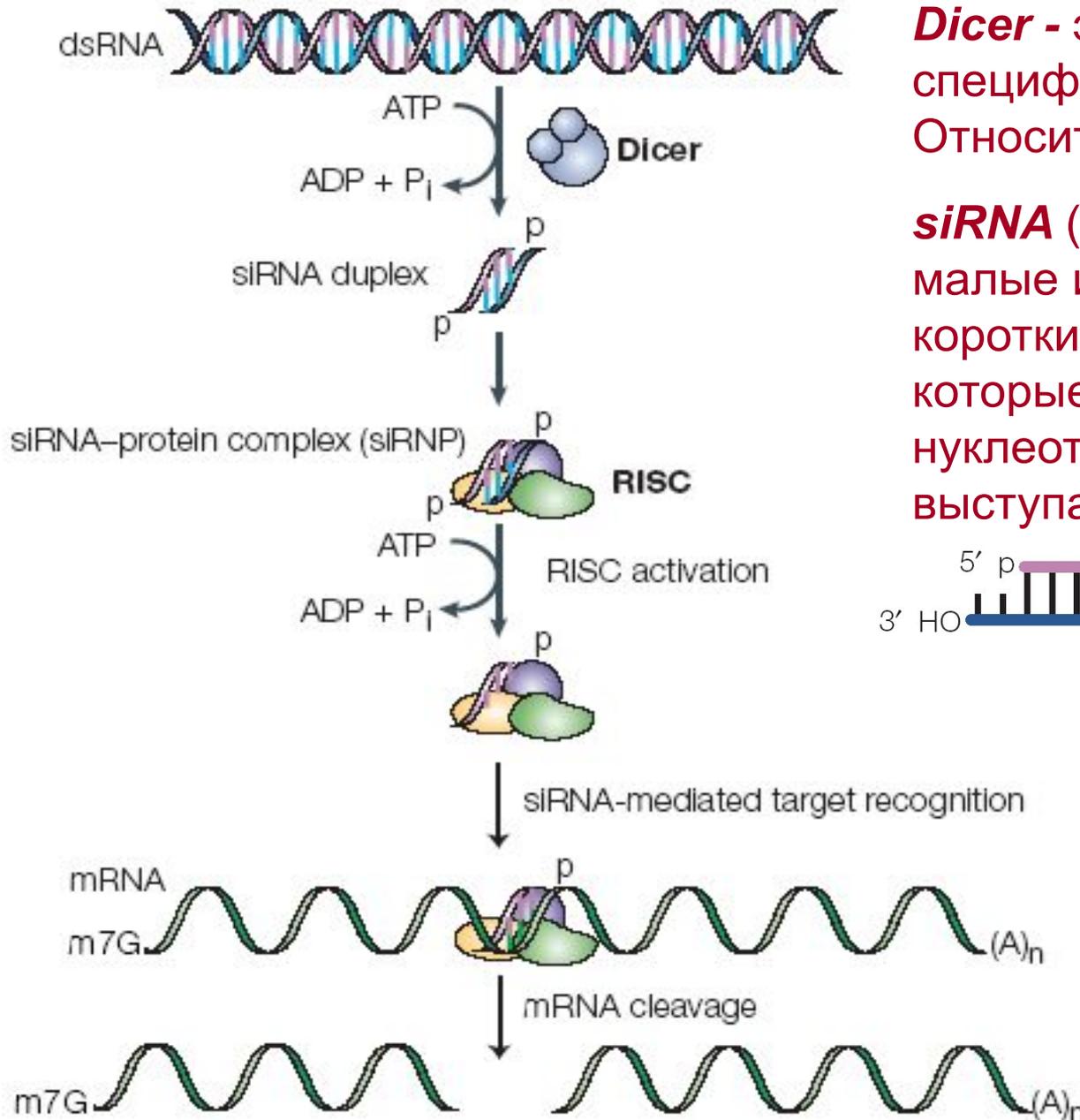
PRM PR

P_{int} – активируется белком cII

P_{RE} = promoter for
repression
establishment

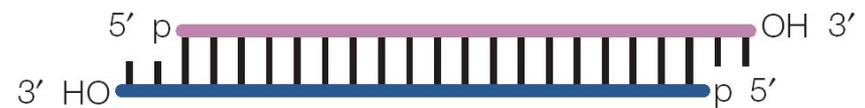
P_{RM} = promoter for
repression
maintenance

РНК ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ



Dicer - эндонуклеаза специфичная к дцРНК. Относится к семейству РНКаз III

siRNA (small interfering RNAs) - малые интерферирующие РНК – короткие (21-23-nt) дцРНК, которые характеризуются 2-нуклеотидными 3'-концевыми выступами.



RISC (RNAi silencing complex) - рибонуклеиновый комплекс. Включает нуклеазу **Slicer** (белок **Argonaute2, Ago2**)



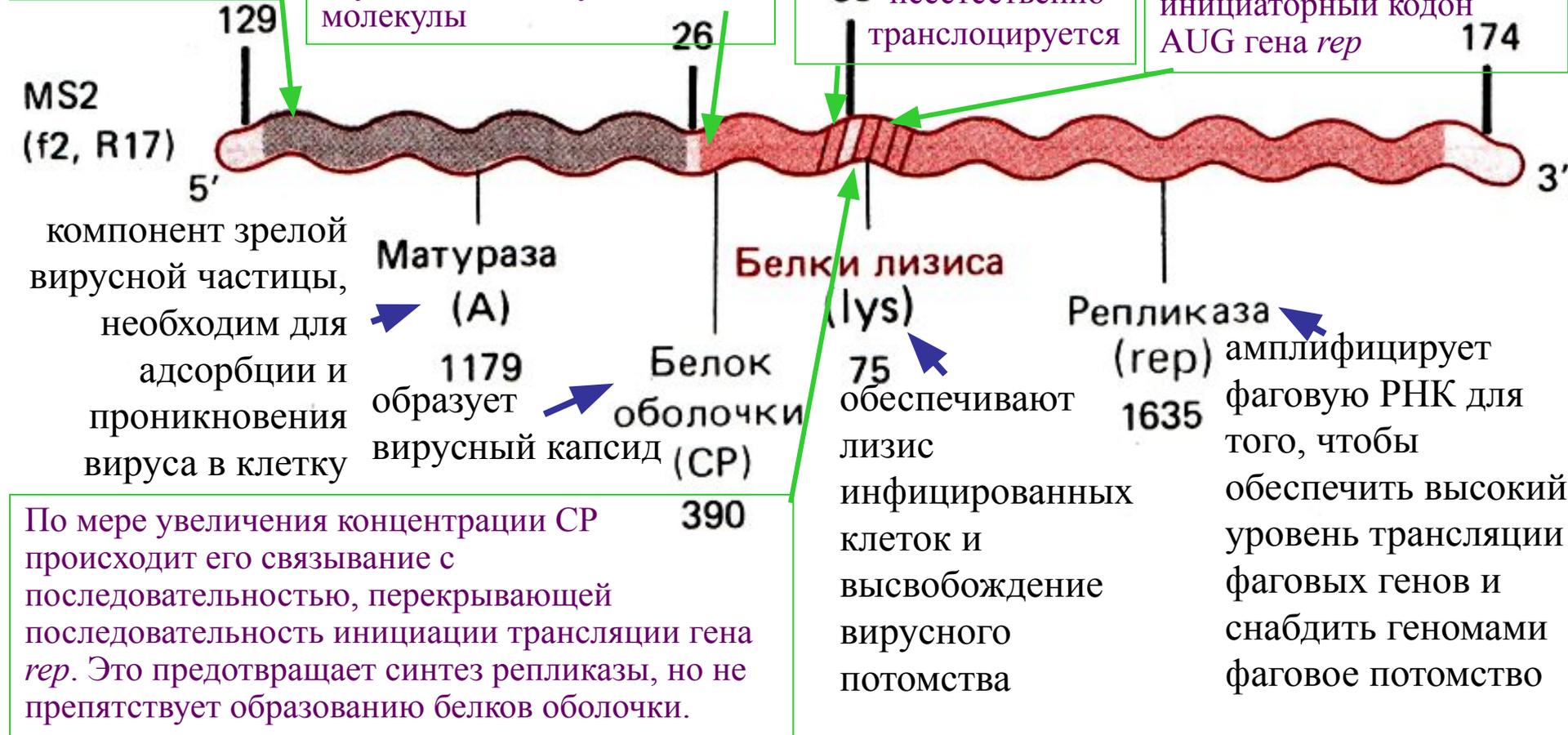
Бактериофаги E. coli - MS2, R17 и Qβ

ген *A* транслируется один раз - в момент синтеза 5'-конца РНК

для рибосом доступен только инициаторный кодон AUG гена *CP*, соответствующие участки генов *A*, *lys* и *rep* находятся в двухцепочечных участках молекулы

Для трансляции *Lys*-кодирующей последовательности рибосома "неестественно" транслируется

При трансляции *CP*-кодирующей последовательности рибосома разворачивает РНК и экспонирует инициаторный кодон AUG гена *rep*



По мере увеличения концентрации *CP* происходит его связывание с последовательностью, перекрывающей последовательность инициации трансляции гена *rep*. Это предотвращает синтез репликазы, но не препятствует образованию белков оболочки.

При нормальной инфекции *CP* присутствует в клетке в больших количествах, *Rep* и *Lys* - в значительно меньших, а *A* представлен только несколькими молекулами

Контроль по типу обратной связи, при котором продукт регулирует экспрессию собственного гена, называется **аутогенной регуляцией**

Порядок расположения генов, кодирующих рибосомные белки, факторы белкового синтеза и субъединицы РНК-полимеразы. Гены этих белков распределены по мРНК, транскрибируемыми с различных оперонов¹⁾

Оперон	Белки, кодируемые полицистронной мРНК (начиная с 5'-конца мРНК)	Белок-регулятор	Инициаторная последовательность, с которой связывается регулятор
<i>str</i>	S12 <u>S7</u> EF-G EF-Tu	S7	S7
<i>spc</i>	L14 L24 <u>L5</u> S14 S8 L6 L18 S5 L30 <u>L15</u> L30	S8	L5
<i>S10</i>	<u>S10</u> L3 L2 L4 L23 S19 L22 S3 S17 L16 L29	L4	S10
α	<u>S13</u> S11 S4 α L17	S4	S13
<i>L11</i>	<u>L11</u> L1	L1	L11
<i>rif</i>	<u>L10</u> L7/12 β β'	L10	L10

¹⁾ мРНК представлены в виде набора кодируемых ими белков. Первый белок соответствует 5'-концу мРНК. Белки, гены которых регулируются координированно, подчеркнуты сплошной линией, а соответствующие белки-регуляторы указаны в 3-й колонке.

