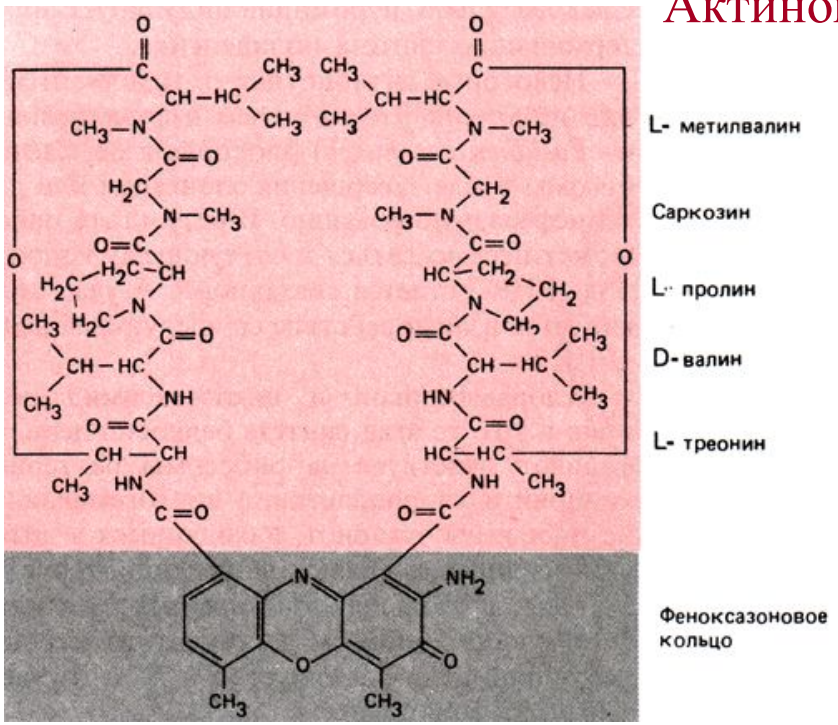
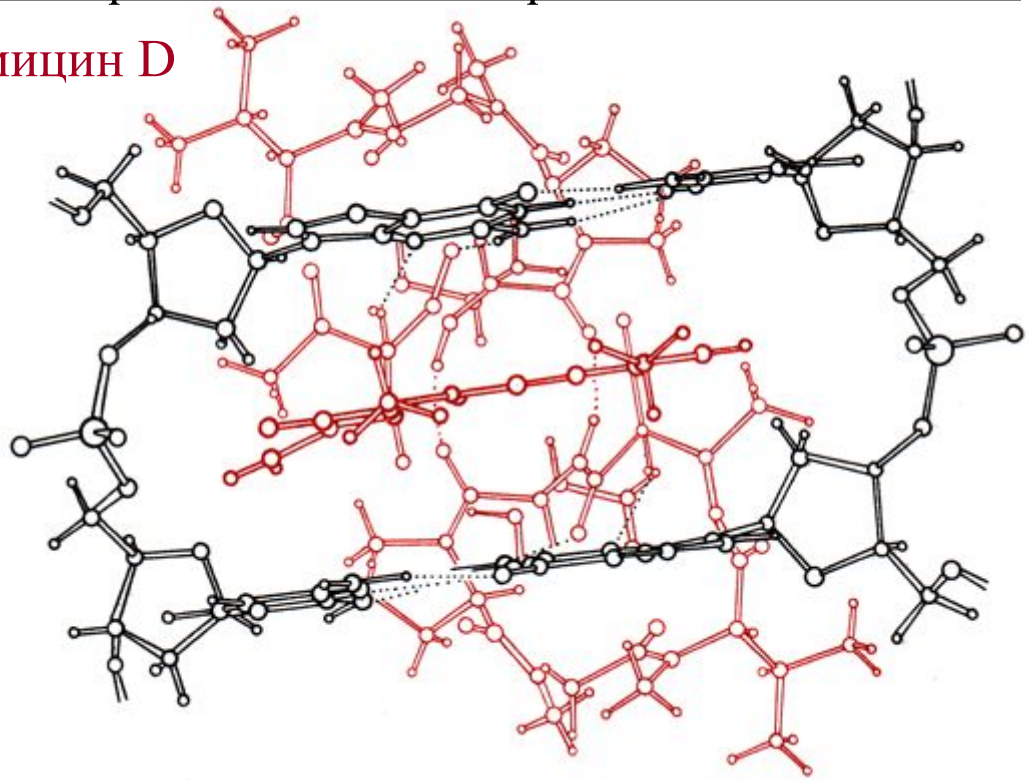
ИНГИБИТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ

Игибитор	*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- Если синтез РНК уже инициирован, то процесс элонгации оказывается нечувствительным к антибиотику.
Стрептолидигин α-	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



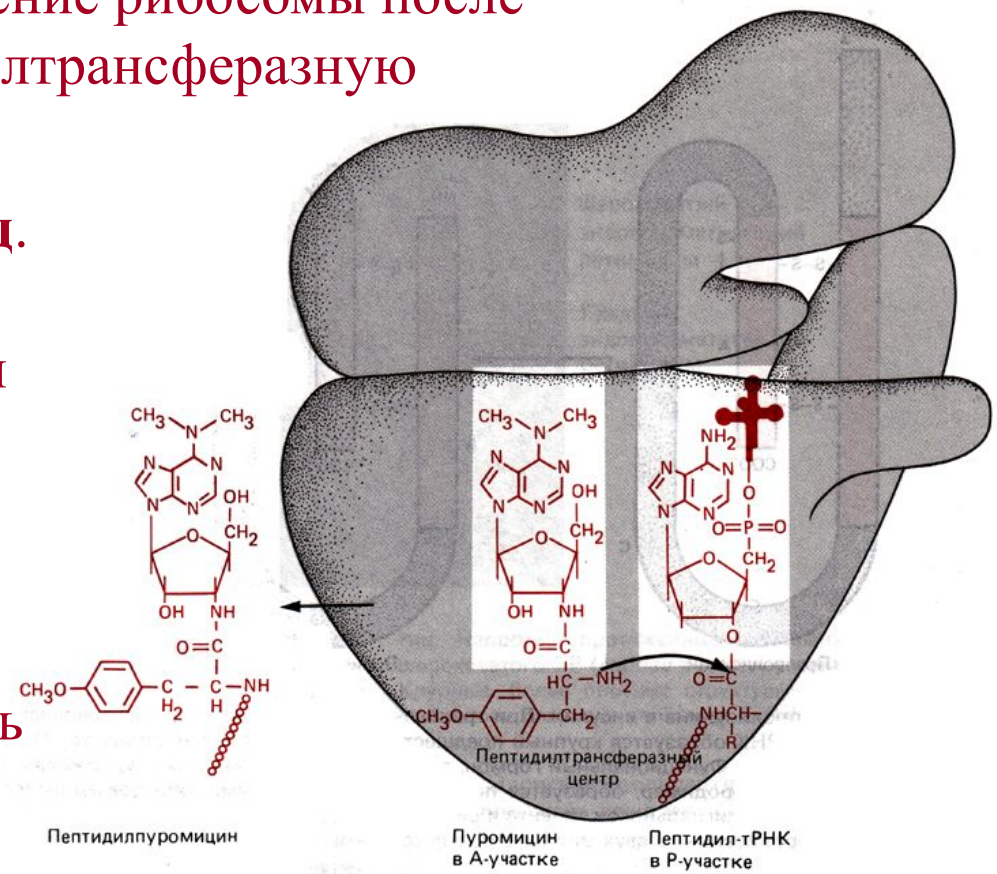
ИНГИБИТОРЫ ТРАНСЛЯЦИИ

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

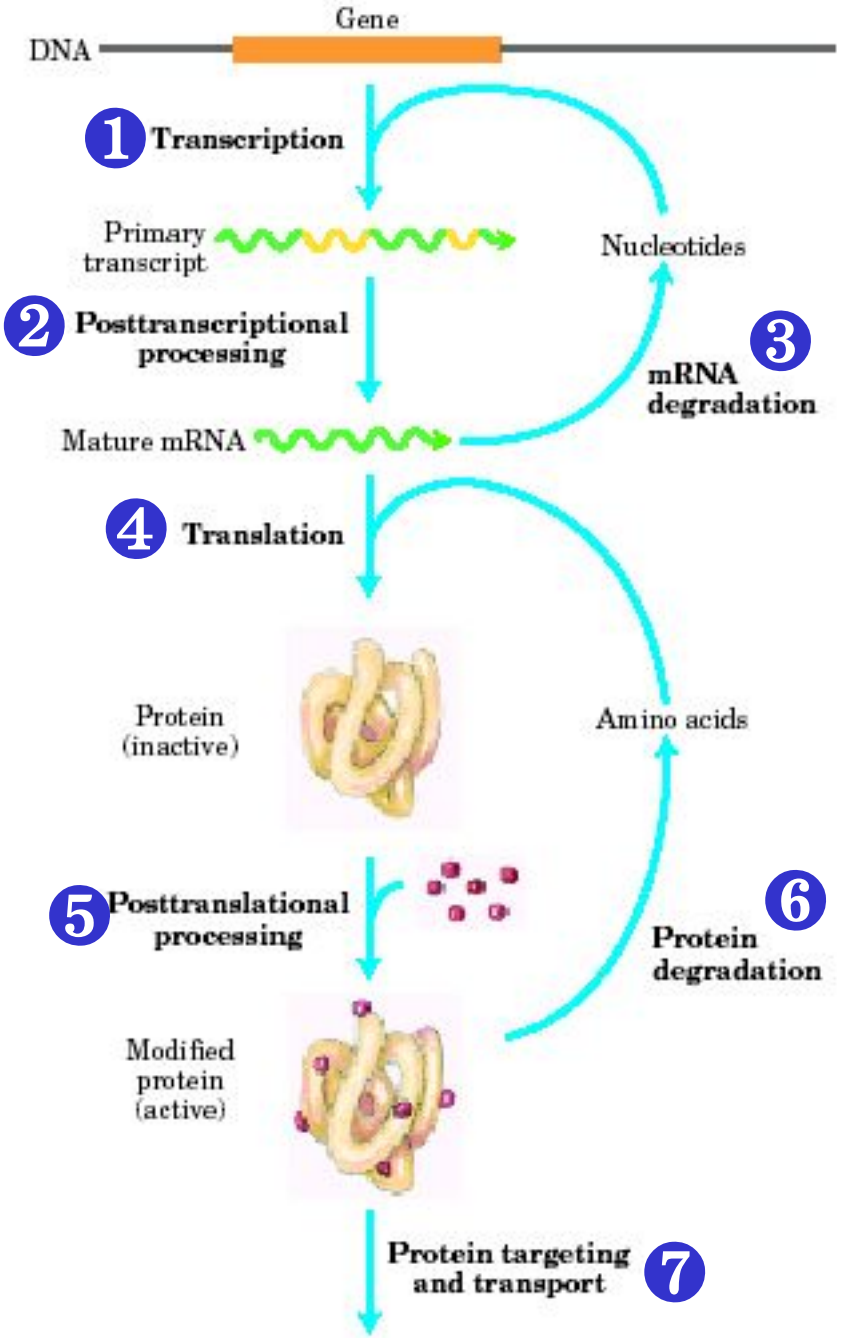
Пуромицин блокирует синтез полипептидов на рибосомах как у про-, так и у эукариот, имитируя действие аминоацил-тРНК

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



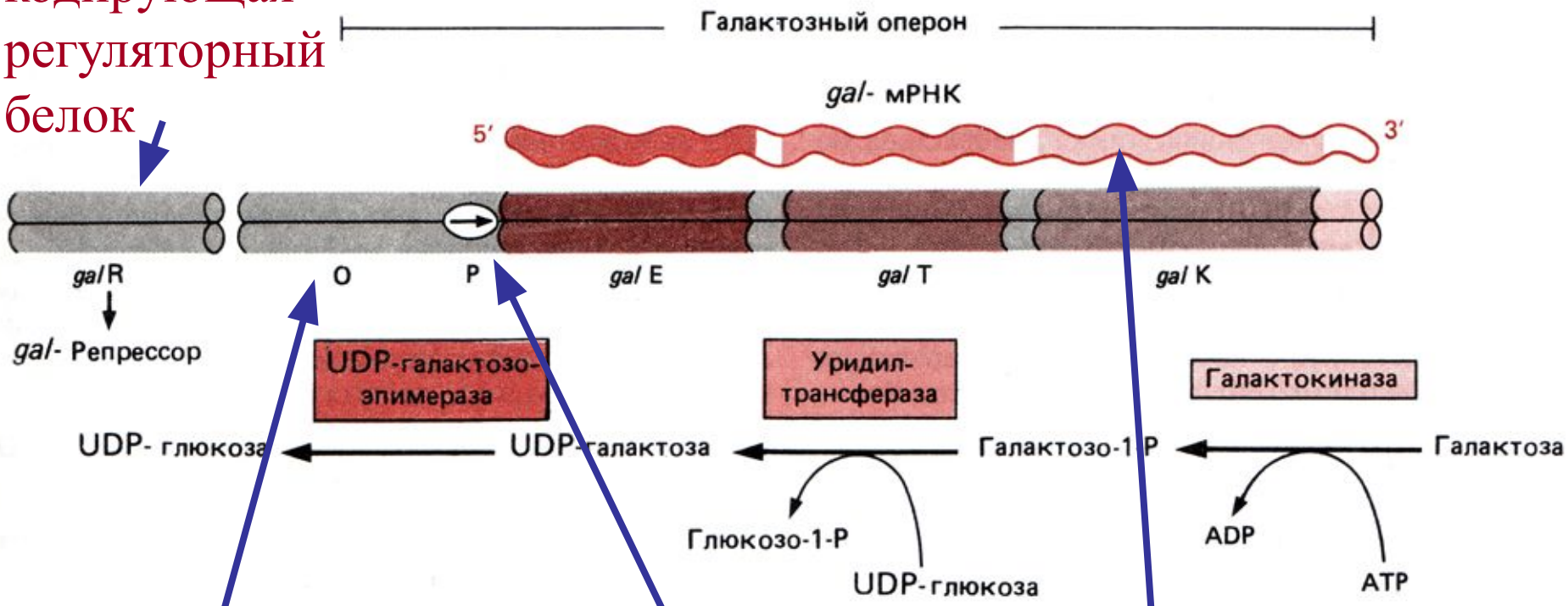
1. Синтез первичного РНК транскрипта (транскрипция)
2. Посттранскрипционная модификация мРНК
3. Деградация мРНК
4. Синтез белка (трансляция)
5. Посттрансляционная модификация белка
6. Транспорт белка
7. Деградация белка

РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ

Согласованная регуляция экспрессии прокариотических генов

Оперон – единица координированной транскрипции генов прокариот.

Область, кодирующая регуляторный белок

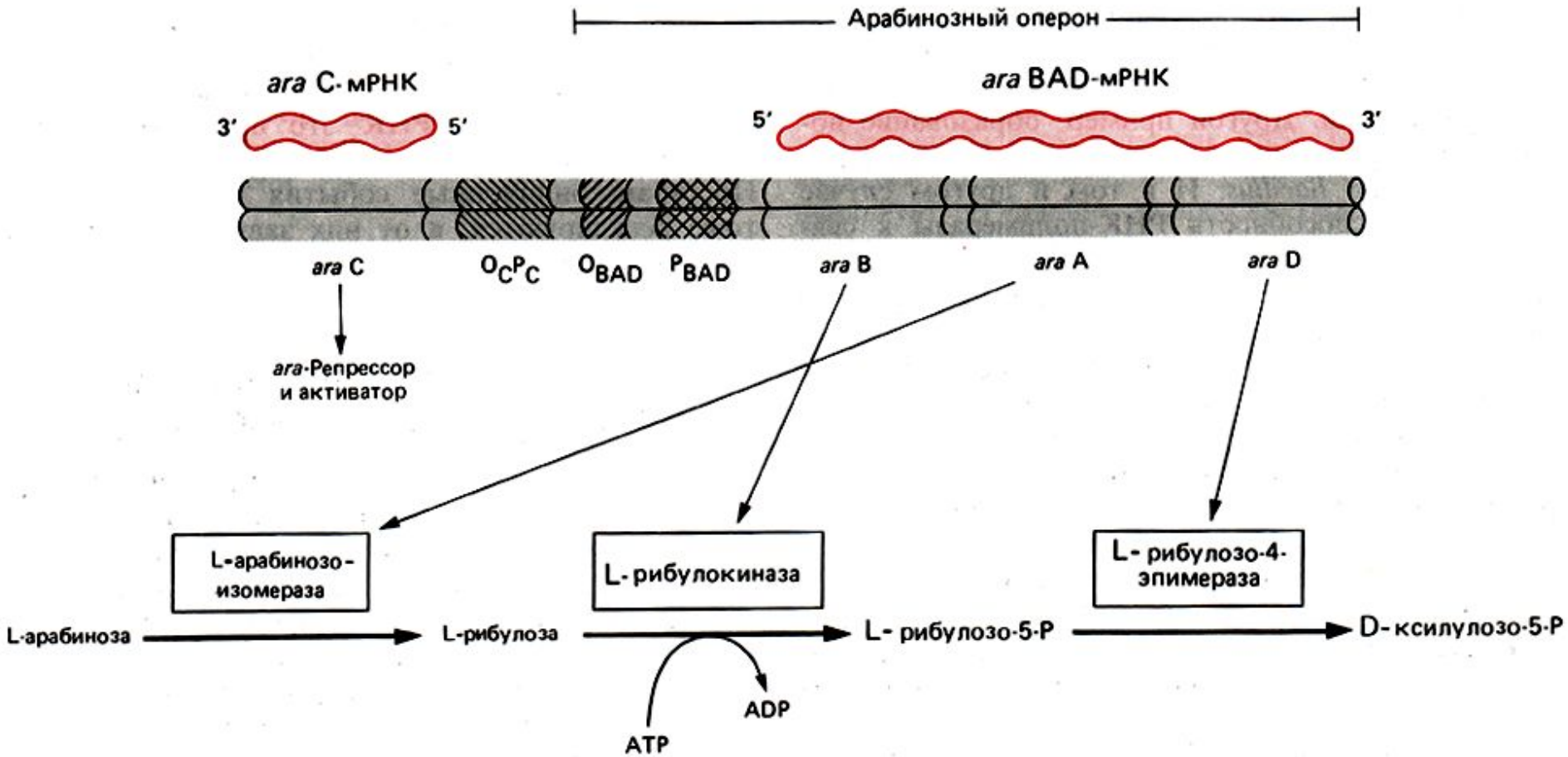


Оператор - регуляторный сегмент гена (участок связывания с белком-репрессором)

Промотор

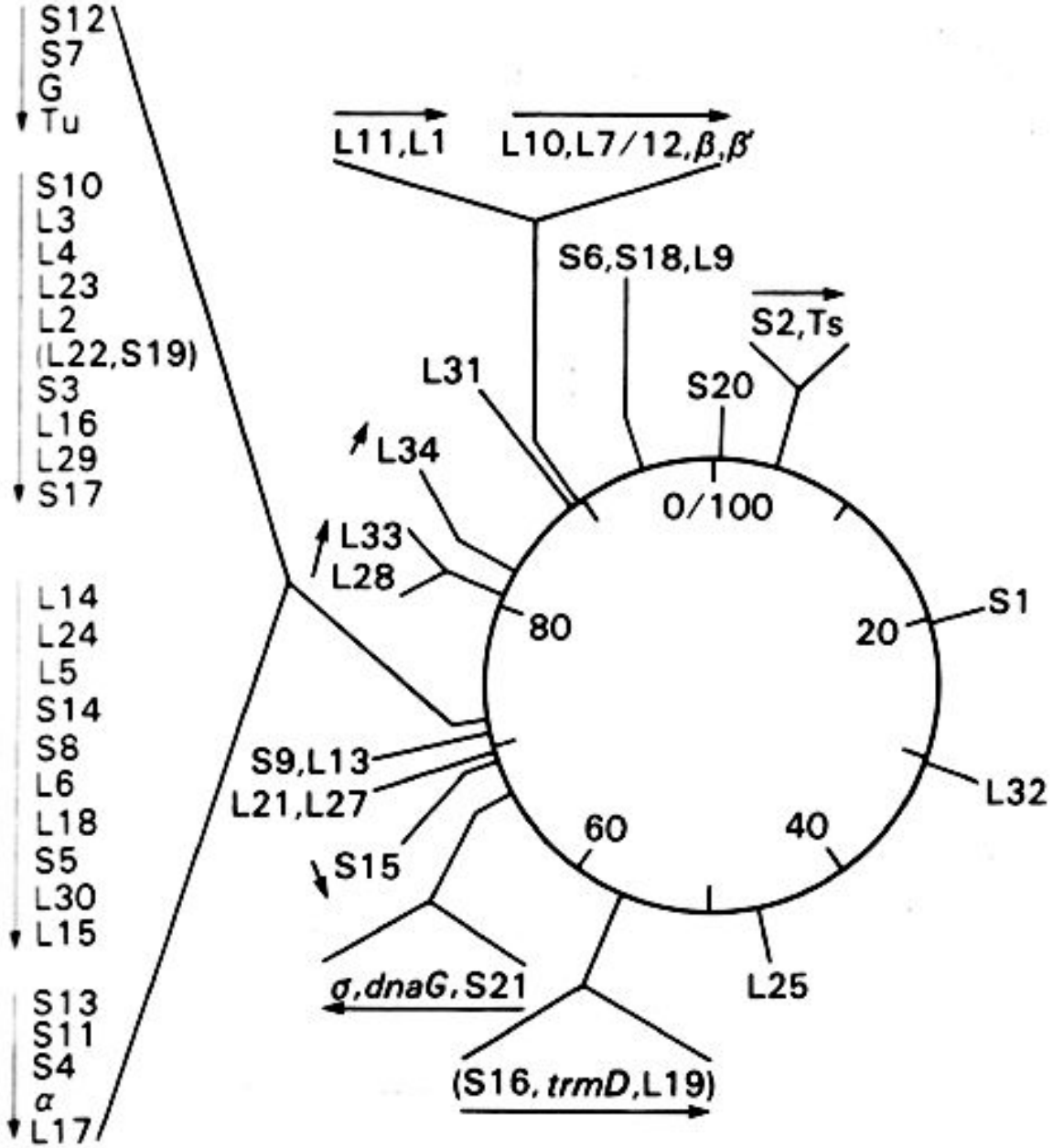
Полицистронный (или полигенный) транскрипт

Согласованная регуляция экспрессии прокариотических генов



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

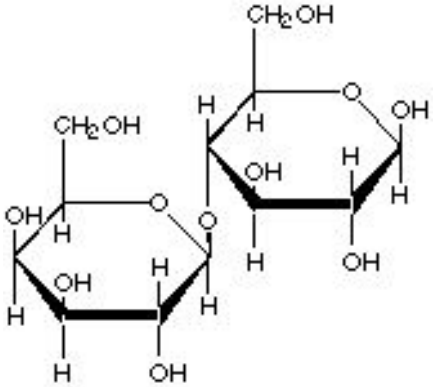


Положение на генетической карте *E. coli* генов, кодирующих рибосомные белки.

Регуляция экспрессии лактозного оперона E. coli

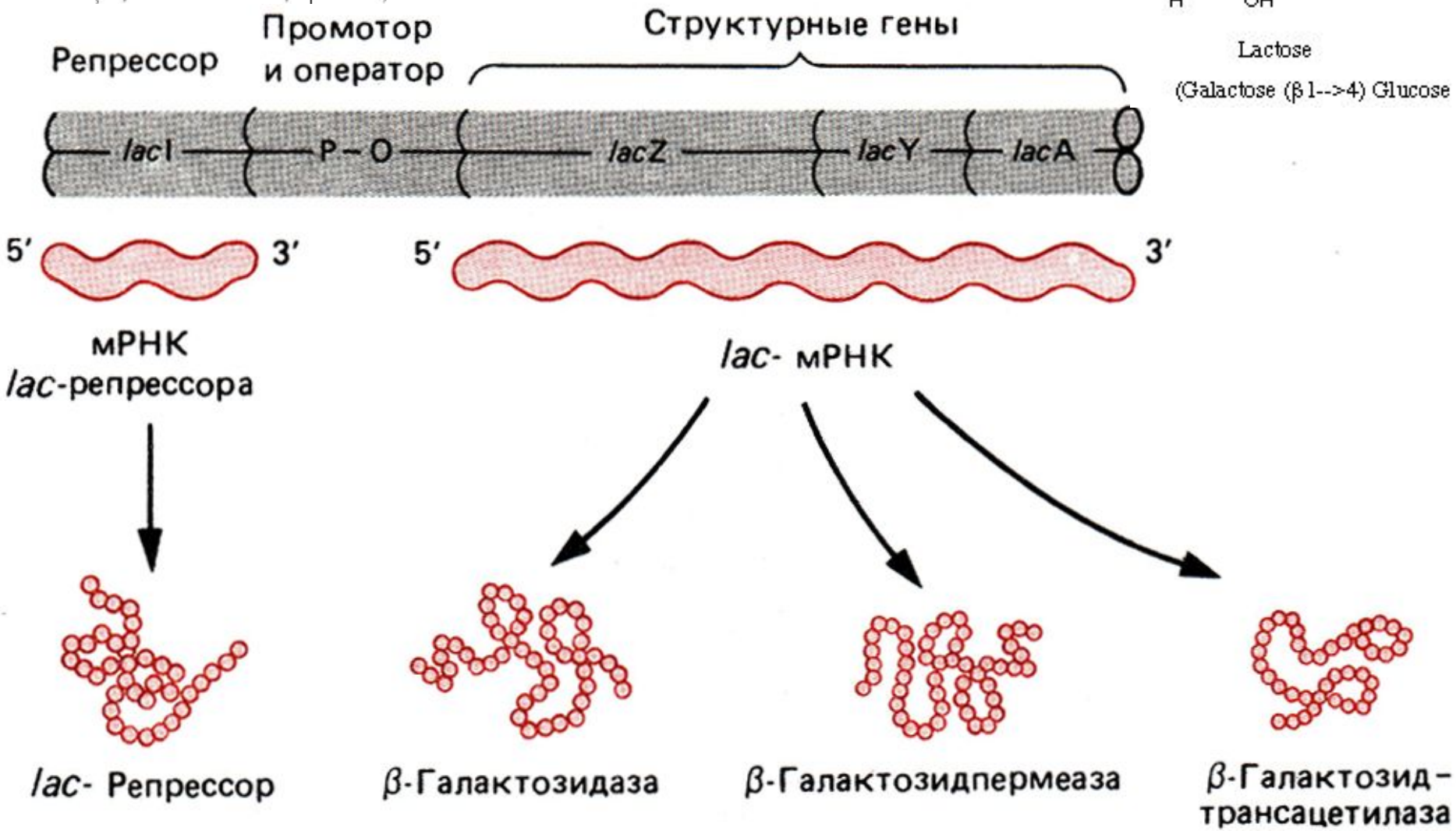
François Jacob

Jacques Monod, 1910–1976



Lactose

(Galactose (β1-->4) Glucose

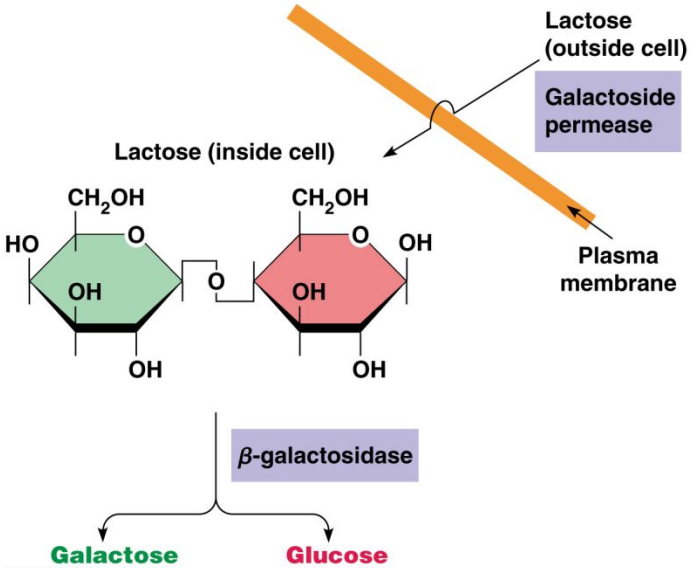


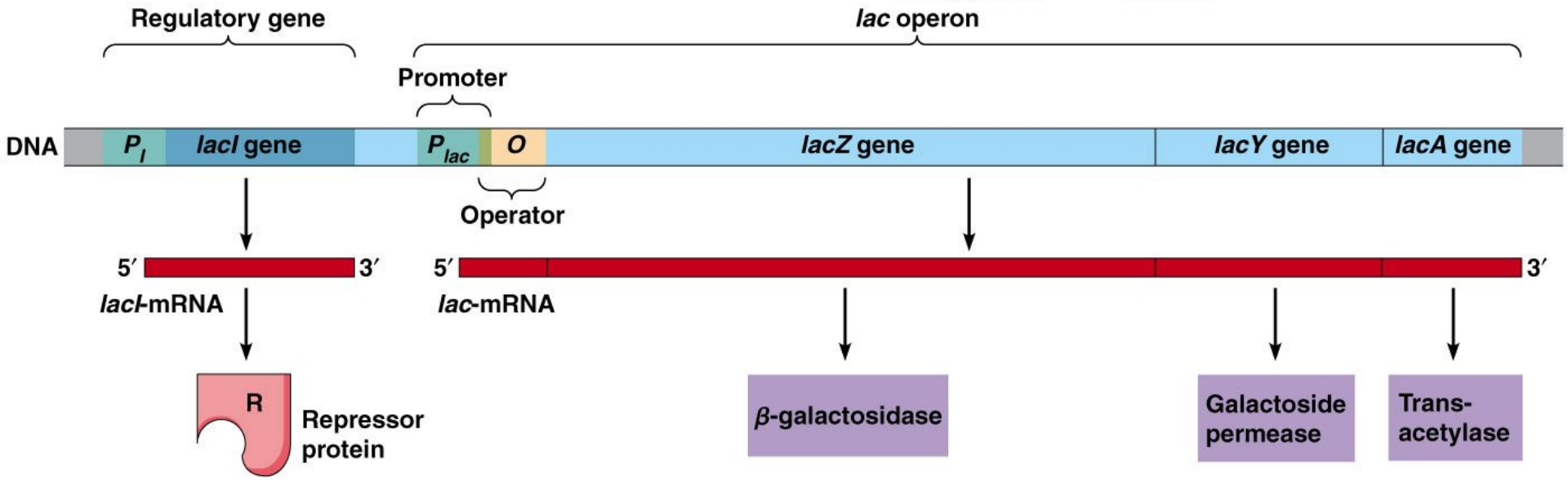
РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ЛАКТОЗНОГО ОПЕРОНА E. COLI

Оперон – единица координированной транскрипции генов прокариот

Нобелевская премия

Jacques Monod and Francois Jacob

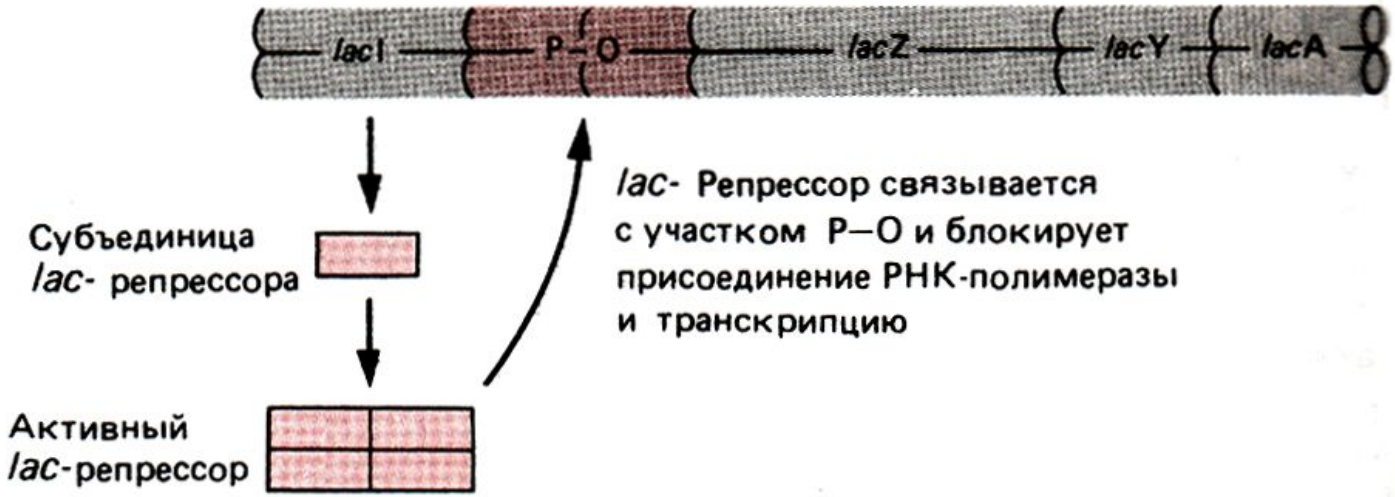


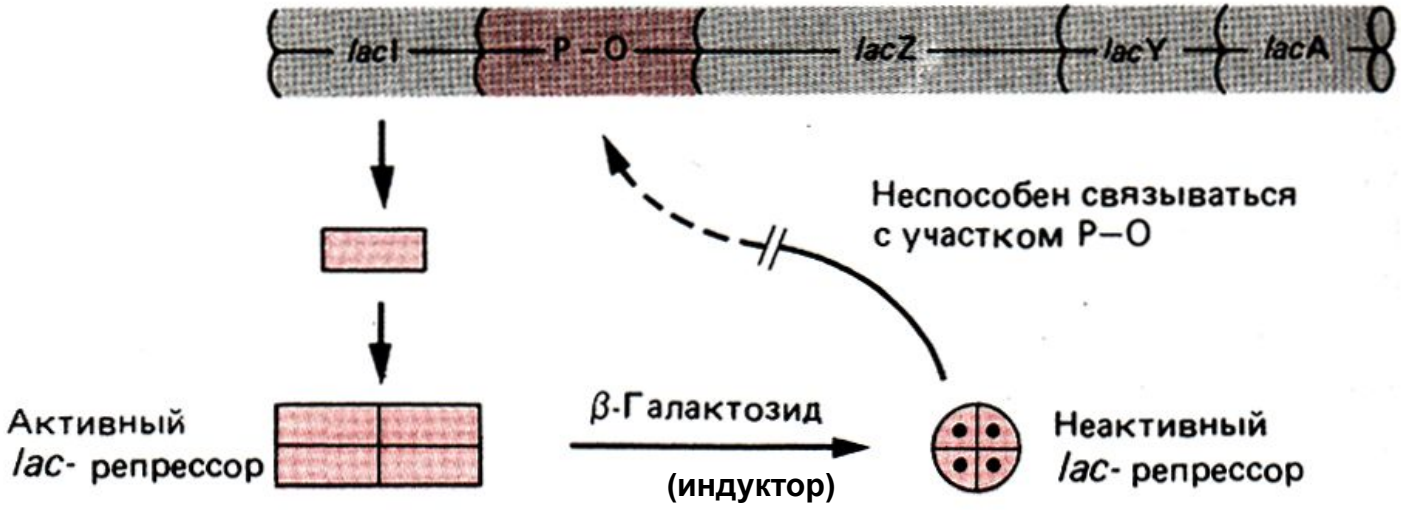


Оператор – регуляторный сегмент гена – участок связывания с белком-репрессором

Регуляция экспрессии лактозного оперона E. coli

Негативная регуляция

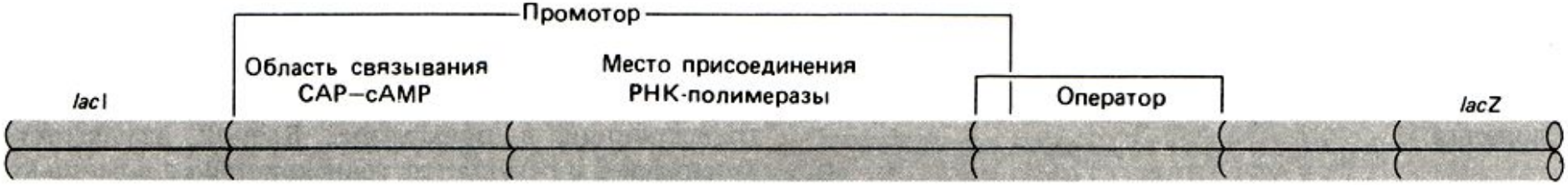


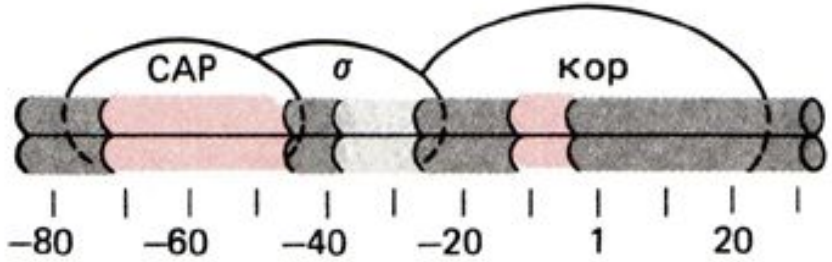


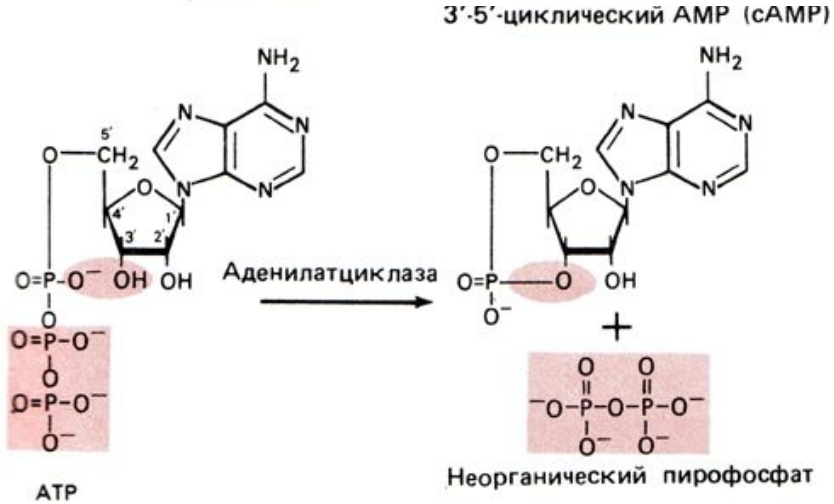
G

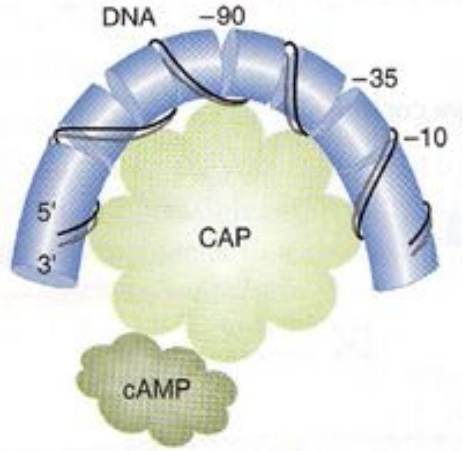
Регуляция экспрессии лактозного оперона E. coli

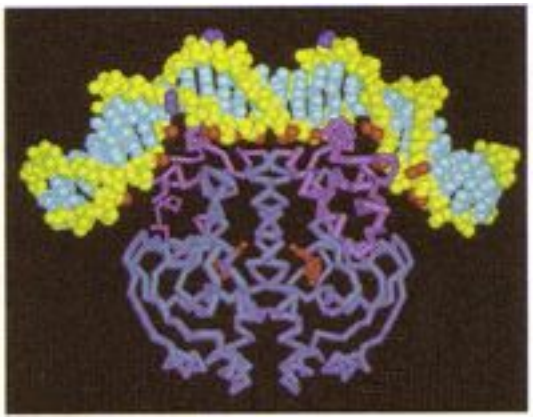
Позитивная регуляция











CAP – белок-активатор катаболизма (**c**atabolite **a**ctivator **p**rotein). Другое название CRP – **c**AMP **r**eceptor **p**rotein.

Регуляция экспрессии триптофанового оперона E. coli

мРНК *trp*- оперона

5′ 3′

5′ 3′ *trp*-Лидерная мРНК

Аттенуатор

Промотор *trp*L *trp*E *trp*D *trp*C *trp*B *trp*A

Оператор

Начало транскрипции

Терминация транскрипции

Терминация транскрипции

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

Антранилатсинтаза, компонент I

Антранилат-синтаза, компонент II — PR-антранилат-трансфераза

PR-антрани-латизомераза—индолглицерол-фосфатсинтетаза

Триптофан-синтетаза β

Триптофан-синтетаза α

$(Co\,I)_2$ $(Co\,II)_2$

$\alpha_2\beta_2$

Хоризмат → Антранилат → PR-антранилат → CdRP → InGP → L- триптофан

+ L- глутамин + PRPP + L-серин

Репрессия триптофанового оперона

Область связывания РНК-полимеразы

Промотор

−40 −30 −20 −10 +1 +10

TGAGCTG TTGACAA TTAATCATCGAACTAGTTAACTAGTACGCAAGTTCACGTAAAA
ACTCGAC AACTGTT AATTAGTAGCTTGATCAATTGATCATGCGTTCAAGTGCATTTT

Оператор Начало синтеза мРНК

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

Аттенуация экспрессии триптофанового оперона

мРНК *trp*-оперона

Лидерный пептид

Met Lys Ala Ile Phe Val Leu Lys Gly Trp Trp Arg Thr Ser

ppp AAGUUCACGUAAAAAGGGUAUCGACAAUGAAAGCAAUUUUCGUACUGAAAGGUUGGUGGCGCACUUCCUGAAACGG

Конец лидерной последовательности

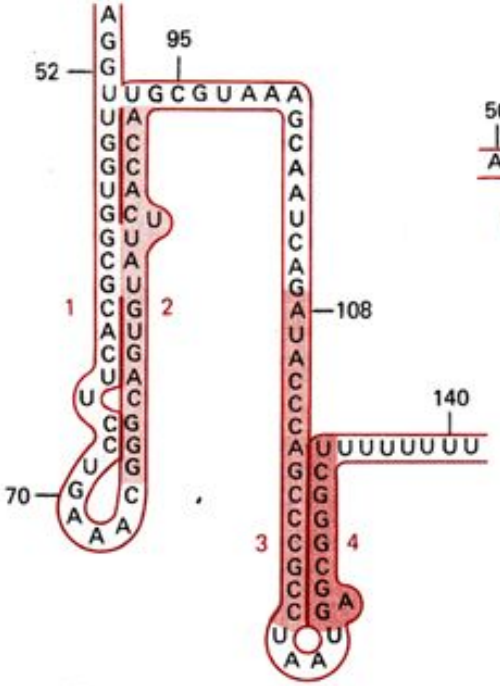
UUUUUUUUCGGGCGAGUAAUCCGCCCGACCCAUAGACUAACGAAAUGCGUACCACUUAUGUGAC

Аттенуаторная последовательность

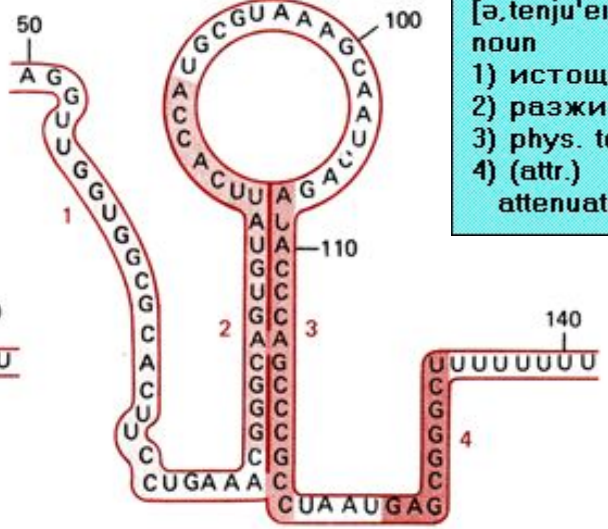
AUUAGAGAAUAACAAUGCAAACACAAAAACCG

Met Gln Thr Gln Lys Pro ...

*trp*E



Терминирующий сигнал

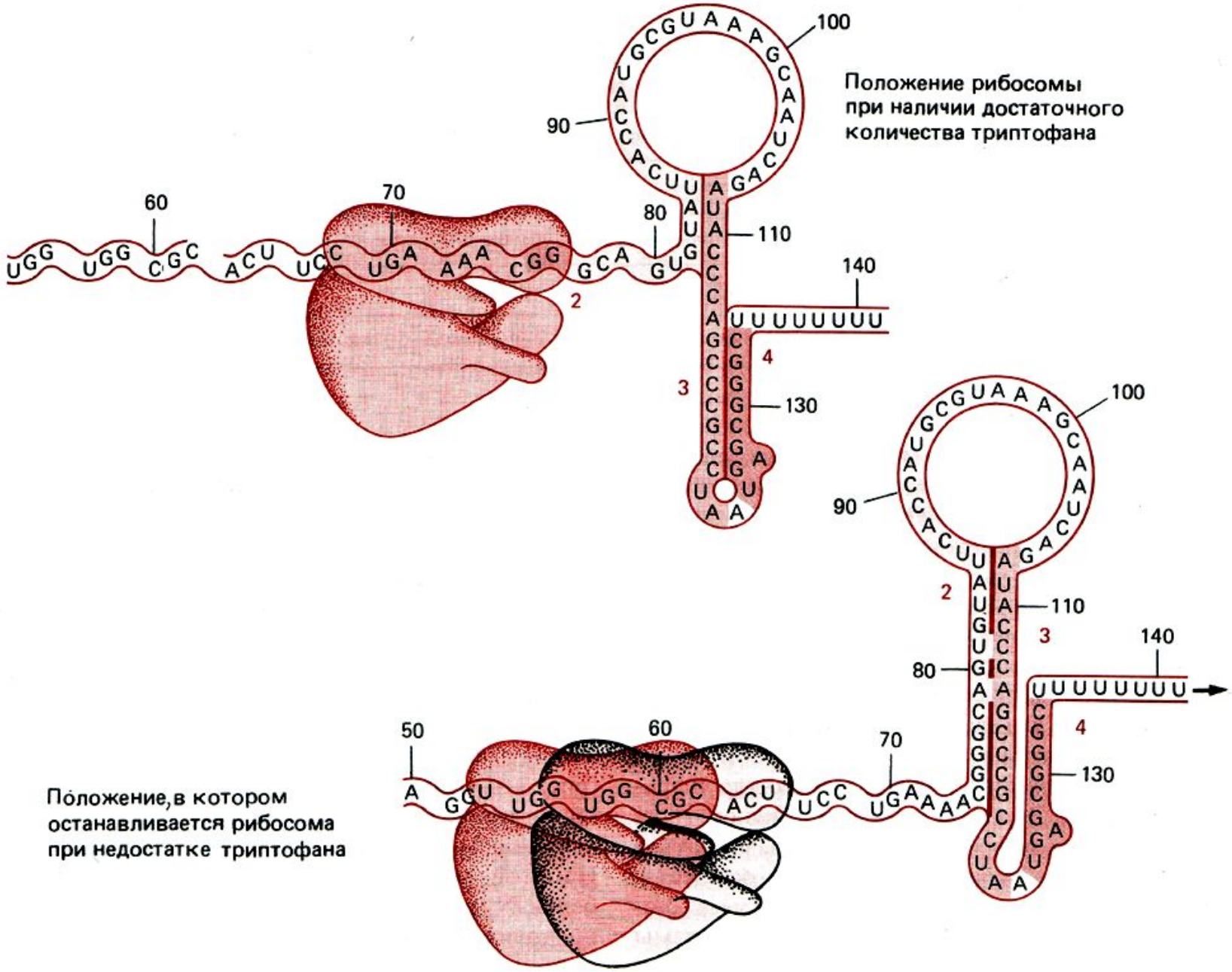


Аттенуированный терминирующий сигнал

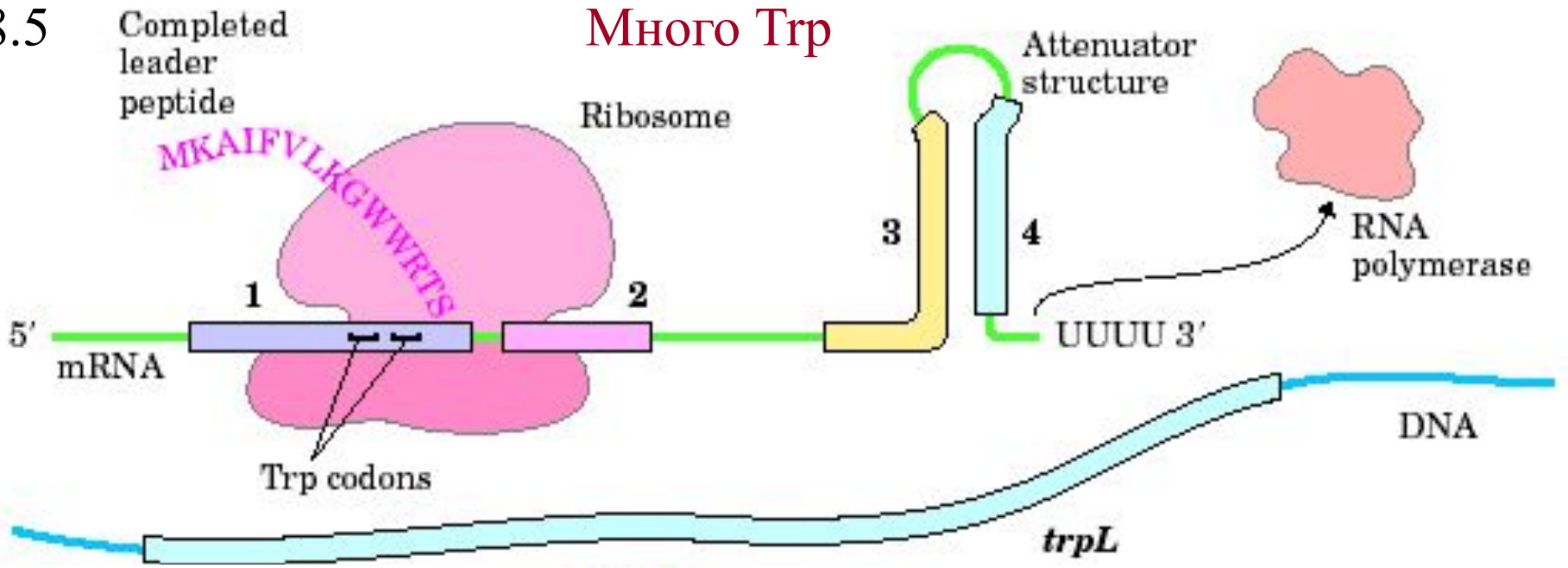
attenuation (LingvoGeneral-E)

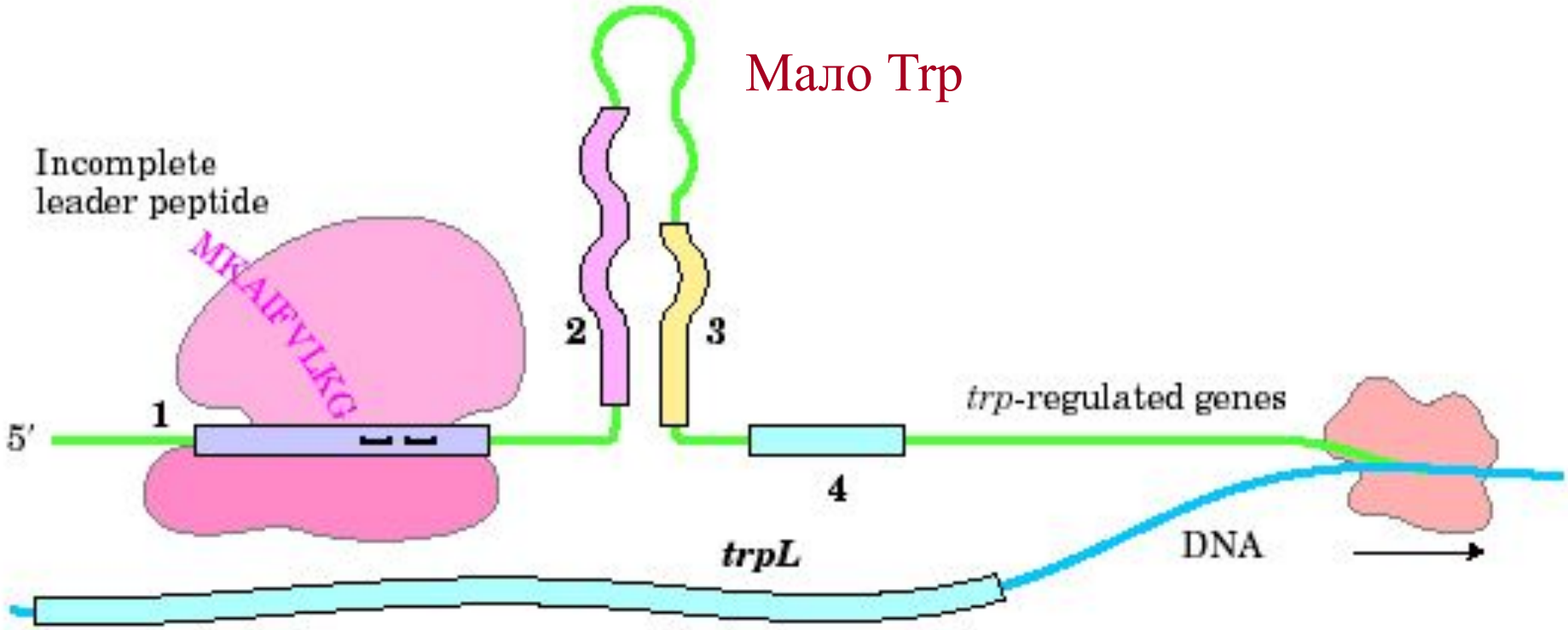
[ə,tenju'eɪʃ(ə)n]
noun
1) истощение; ослабление
2) разжижение
3) phys. tech. затухание
4) (attr.)
attenuation constant radio коэффициент затухания

Аттенуация экспрессии триптофанового оперона



98.5


Много Trp
Completed leader peptide
MKAIFVLKGWWRTS
Ribosome
Attenuator structure
3
4
RNA polymerase
1
2
5′
mRNA
UUUU 3′
DNA
Trp codons
trpL

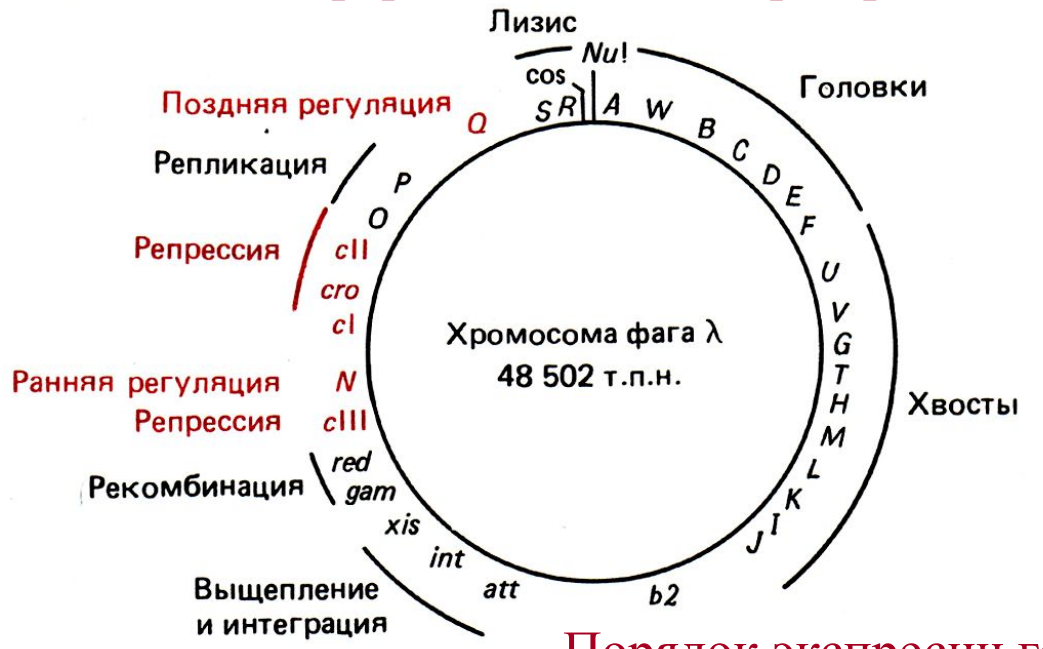

Мало Trp
Incomplete leader peptide
MKAIFVLKG
2
3
1
5′
trp-regulated genes
4
trpL
DNA

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

Оперон	Лидерная пептидная последовательность	Амино-кислоты-регуляторы
his	Met–Thr–Arg-Val–Gln–Phe-Lys–His–His-His–His-His–His- His–Pro–Asp	His
pheA	Met–Lys–His-Ile–Pro-Phe–Phe-Phe–Ala-Phe–Phe-Phe–Thr-Phe–Pro	Phe
leu	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
thr	Met–Lys–Arg-Ile–Ser -Thr–Thr-Ile–Thr -Thr–Thr-Ile–Thr-Ile–Thr-Thr–Gly–Asn–Gly–Ala–Gly	Thr, Ile
ilv	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

Временная регуляция генной экспрессии в жизненном цикле бактериофага λ

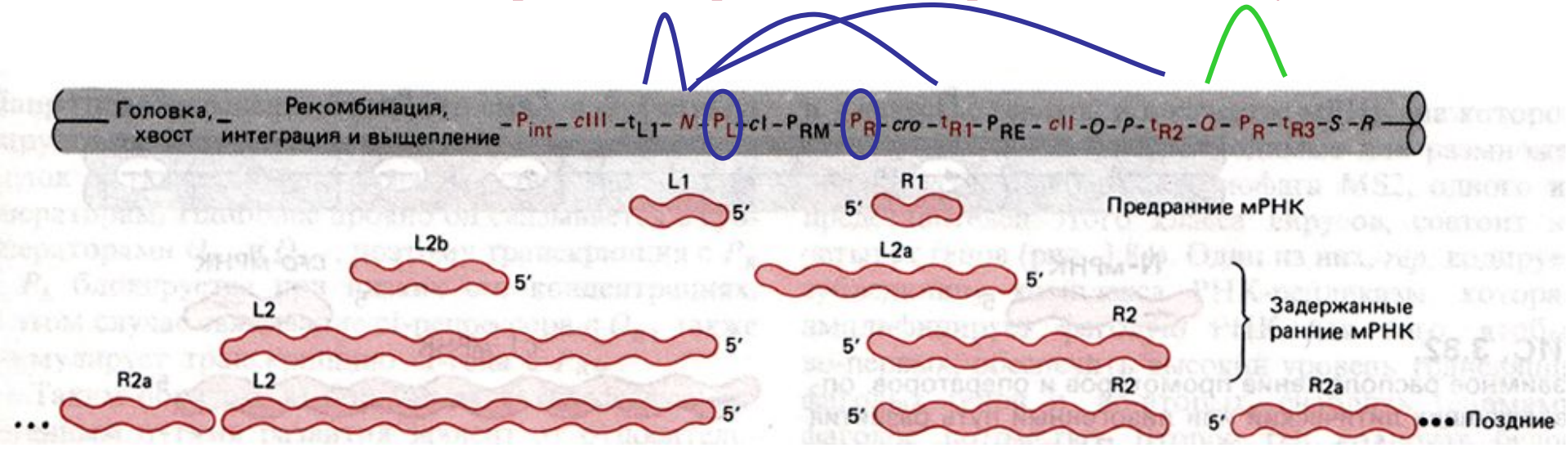
Кольцевая форма генома бактериофага λ



У бактериофага λ, есть два альтернативных способа существования - **литический** и **лизогенный**.

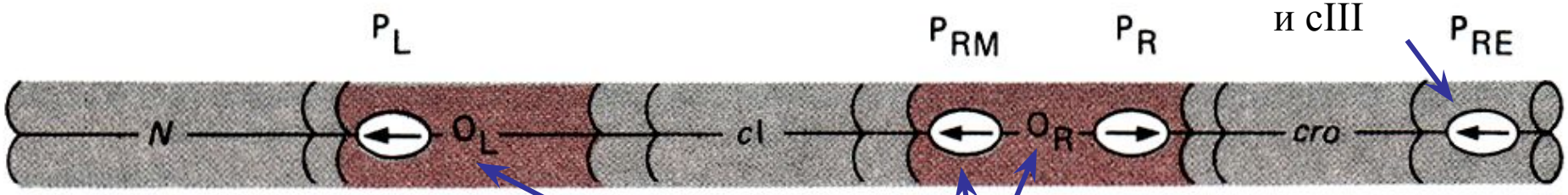
Форма вирусного генома интегрированная в хромосому клетки-хозяина называется **профагом**.

Порядок экспресии генов при литическом пути

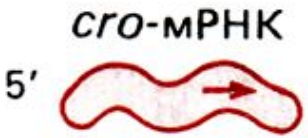


Литический или лизогенный путь развития?

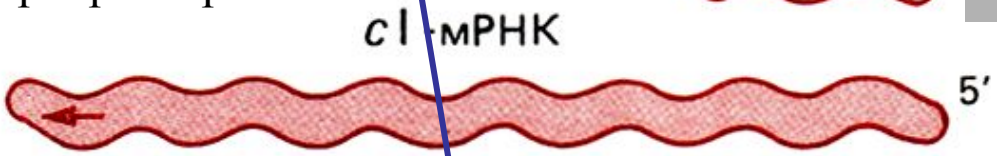
Активируется белками cII и cIII

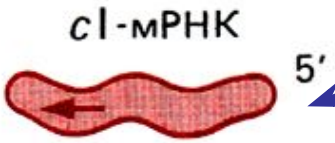


Операторные последовательности - сайты связывания репрессора cI и антирепрессора Cro



Cro





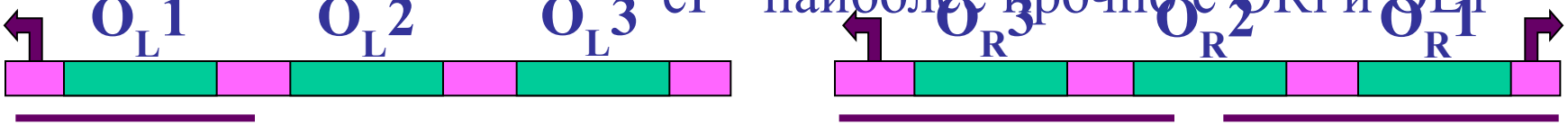
Связываясь с операторными сайтами cI подавляет экспрессию с промоторов P_L и P_R, что делает предпочтительным лизогенный путь

Переключение на литический путь зависит от антирепрессорных и активаторных свойств Cro

Лизогения поддерживается благодаря транскрипции небольших количеств cI-мРНК с промотора P_{RM}

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

Cro OL3>OL2>OL1
OR3>OR2,OR1
cI наиболее прочно с OR1 и OL1



P_L ← Участок связывания РНК-полимеразы → P_{RM} → P_R

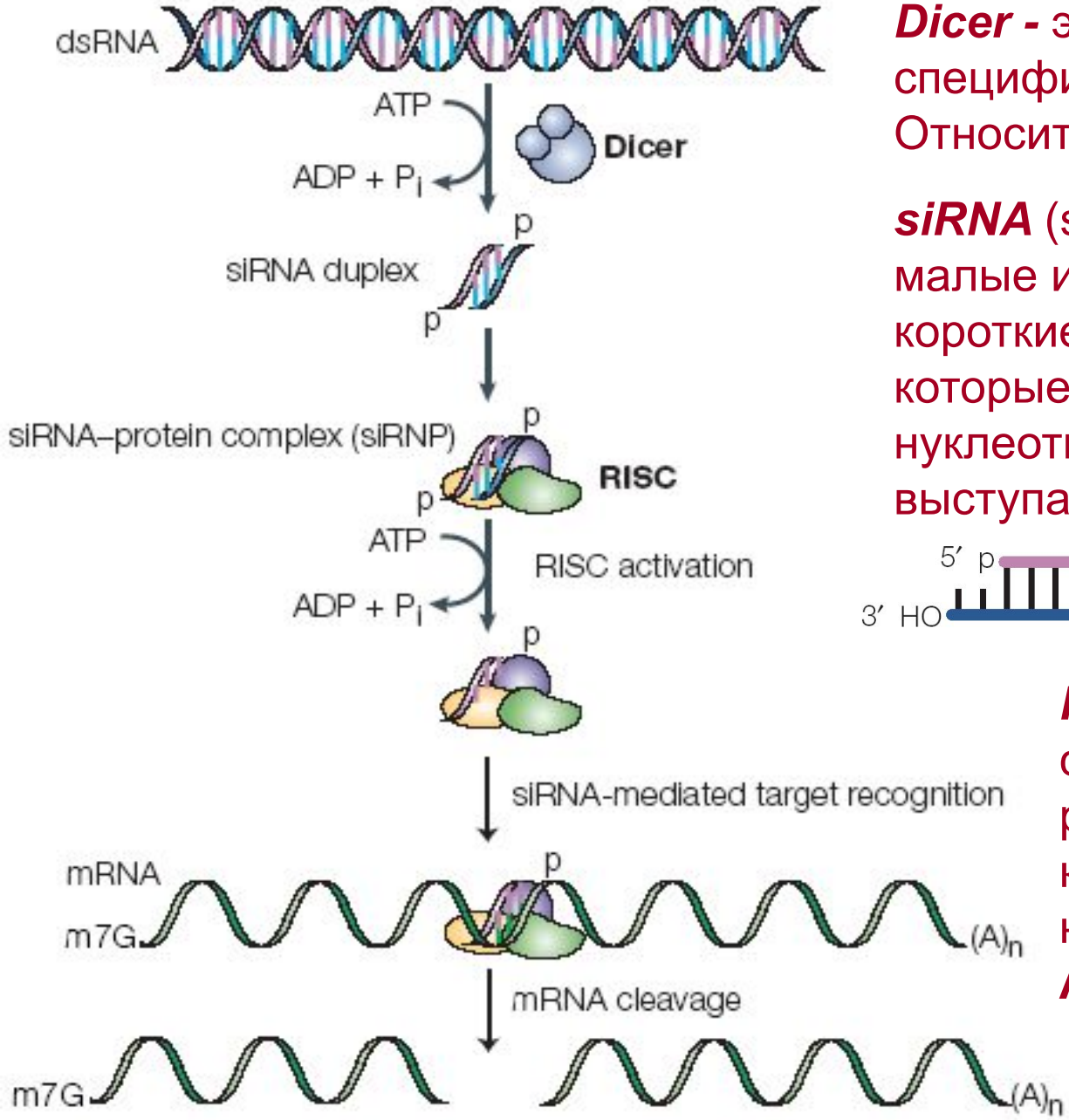
Pint – активируется белком cII

P_{RE} = promoter for repression establishment

P_{RM} = promoter for repression maintenance

Регуляция экспрессии на посттранскрипционном уровне

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**)

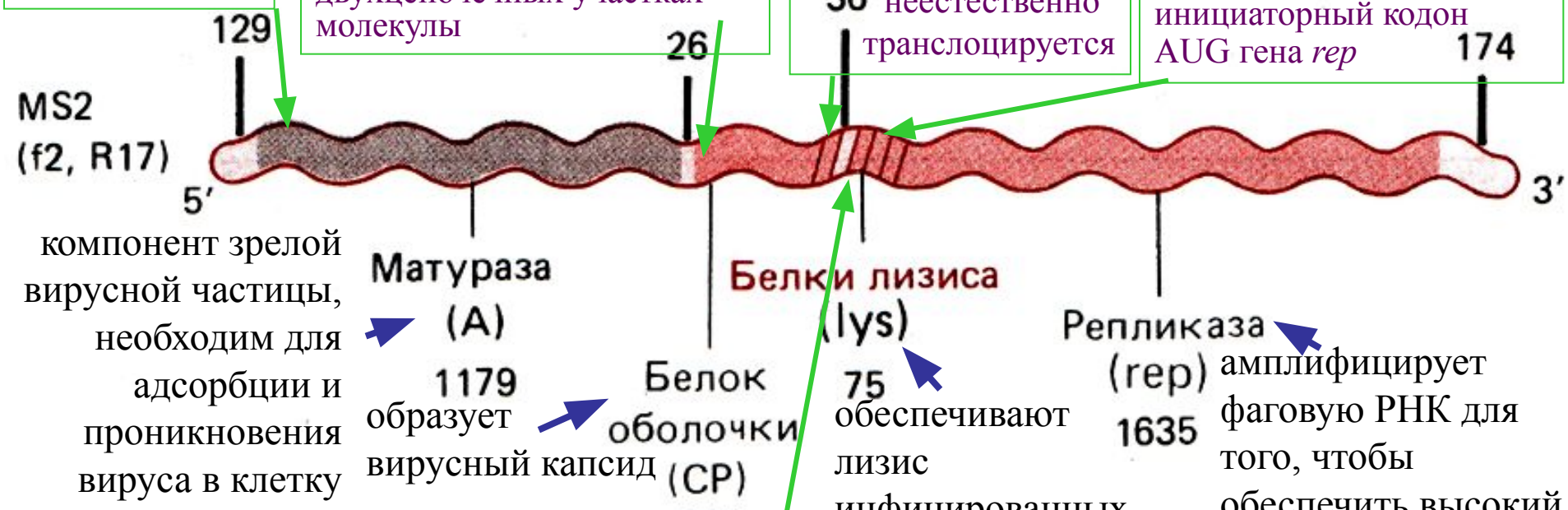
Бактериофаги E. coli - MS2, R17 и Qβ

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" транслоцируется

При трансляции CP-кодирующей последовательности рибосомы разворачивают РНК и экспонируют инициаторный кодон AUG гена *rep*



компонент зрелой вирусной частицы, необходим для адсорбции и проникновения вируса в клетку

образует вирусный капсид

обеспечивают лизис инфицированных клеток и высвобождение вирусного потомства

амплифицирует фаговую РНК для того, чтобы обеспечить высокий уровень трансляции фаговых генов и снабдить геномами фаговое потомство

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**

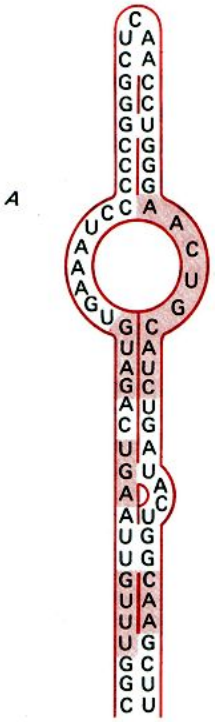
Порядок расположения генов, кодирующих рибосомные белки, факторы белкового синтеза и субъединицы РНК-полимеразы. Гены этих белков распределены по мРНК, транскрибируемым с различных оперонов[1)]

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

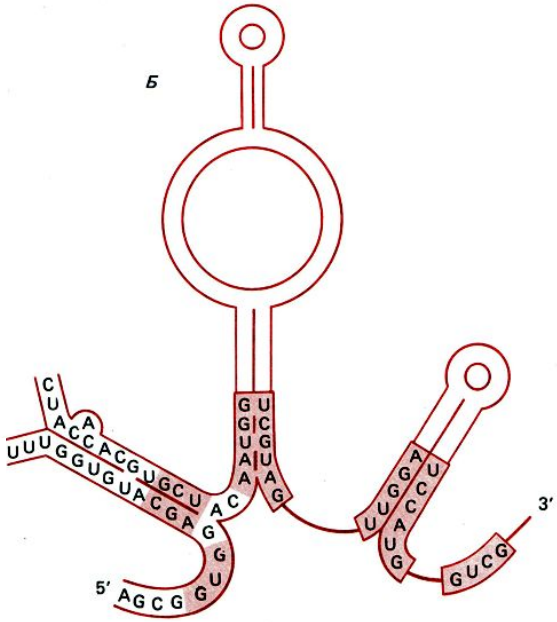
[1)] мРНК представлены в виде набора кодируемых ими белков. Первый белок соответствует 5′-концу мРНК. Белки, гены которых регулируются координированно, подчеркнуты сплошной линией, а соответствующие белки-регуляторы указаны в 3-й колонке.

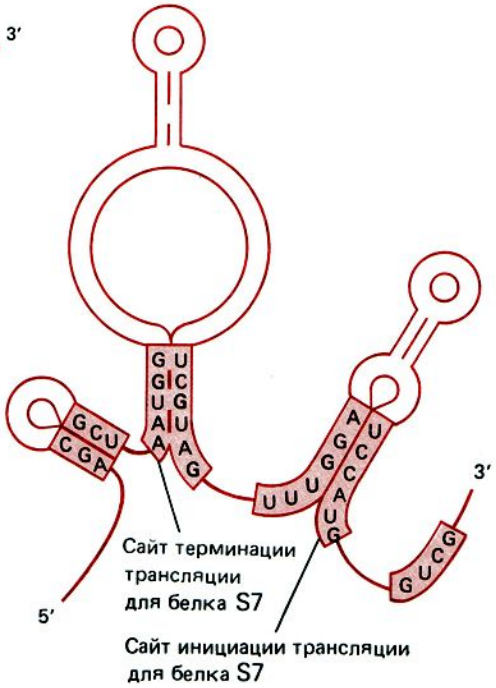
Синтез белков аппарата трансляции

Свободная рРНК регулирует синтез рибосомных белков



Участок связывания белка S8 с 16S- рРНК



Участок связывания белка S7 с 16S-рРНК

мРНК белка S8