



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

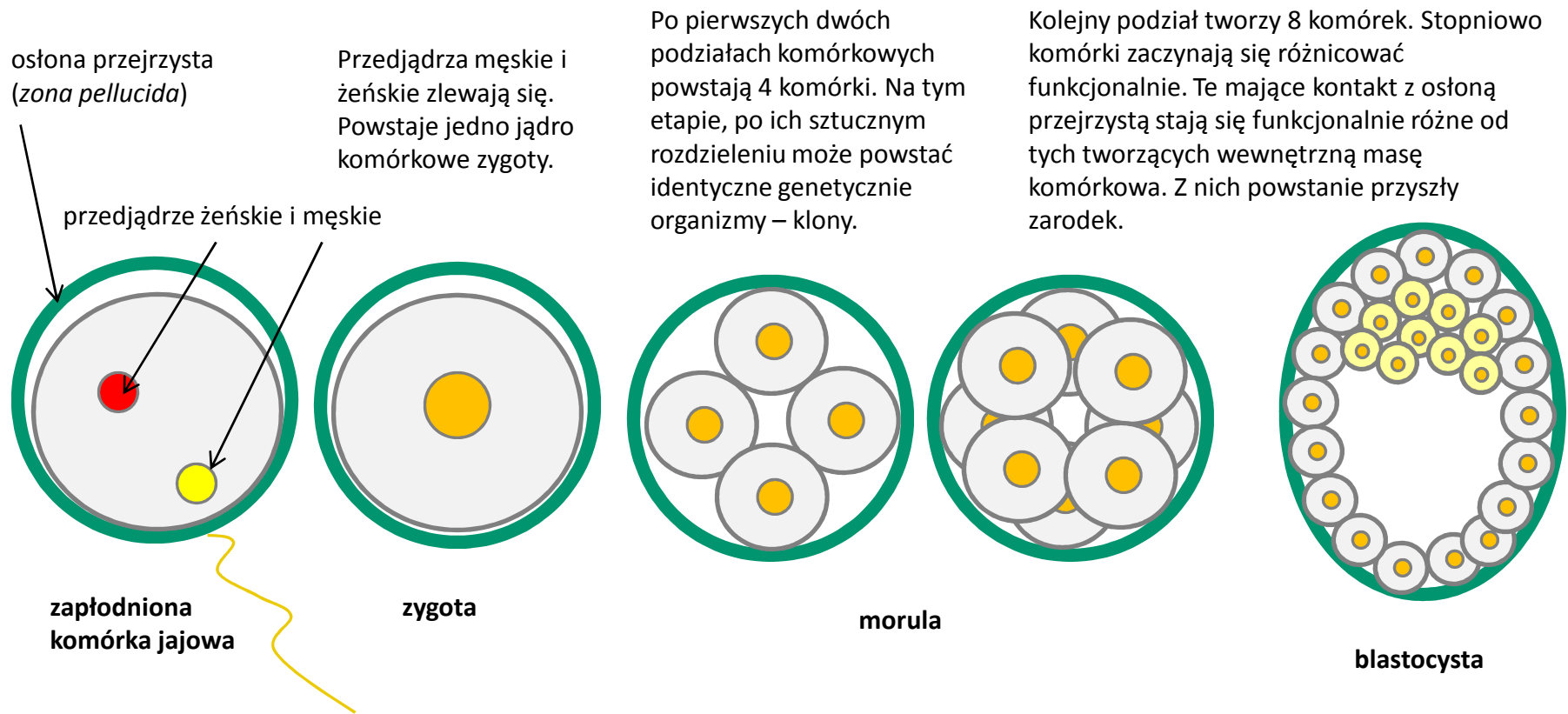
UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



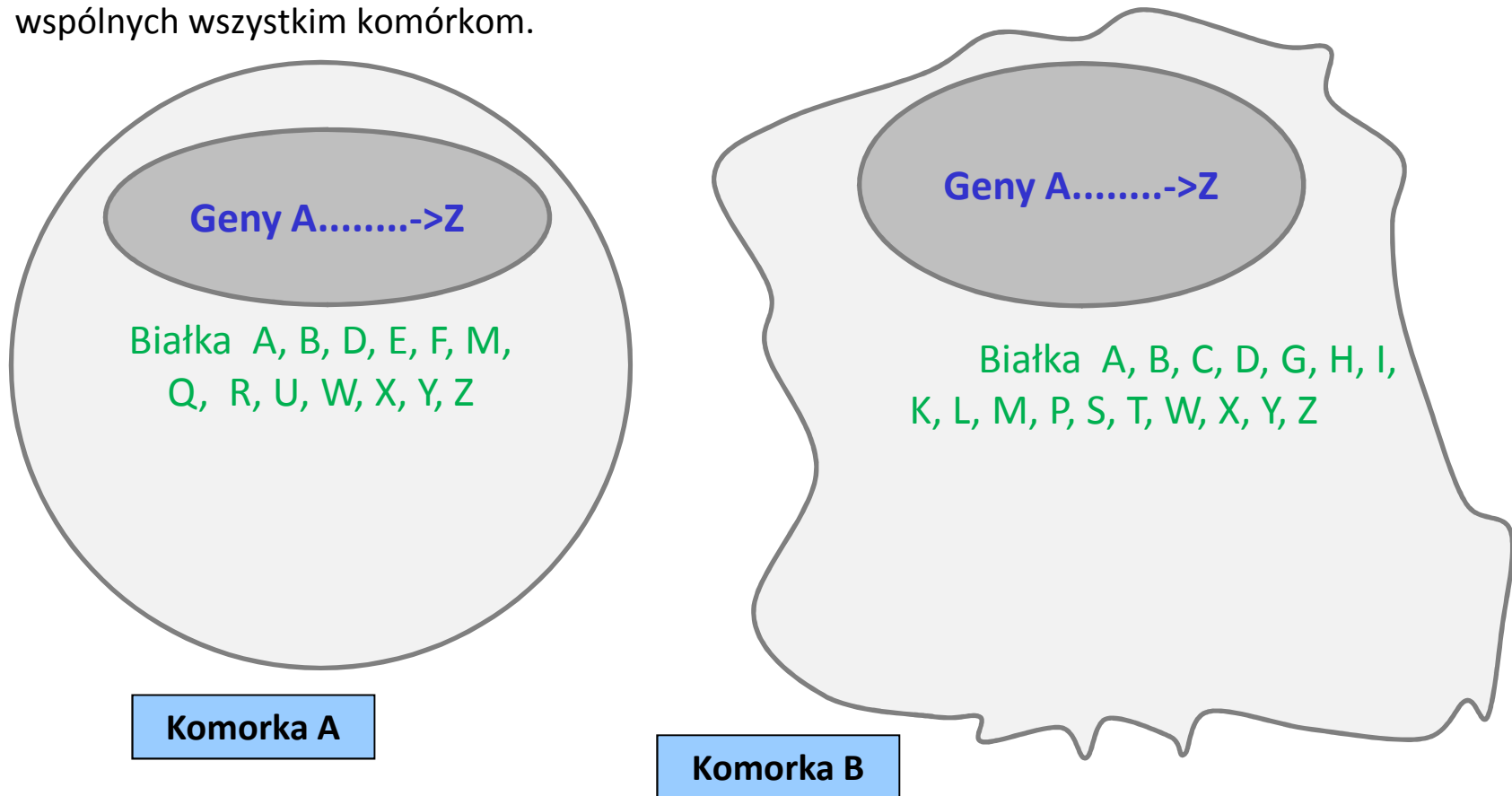
Regulacja ekspresji genów

Materiały dydaktyczne współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

Problem: jak sprawić aby z jednej komórki powstał wielokomórkowy organizm składający się z komórek o znacznej różnicy w budowie i funkcji?

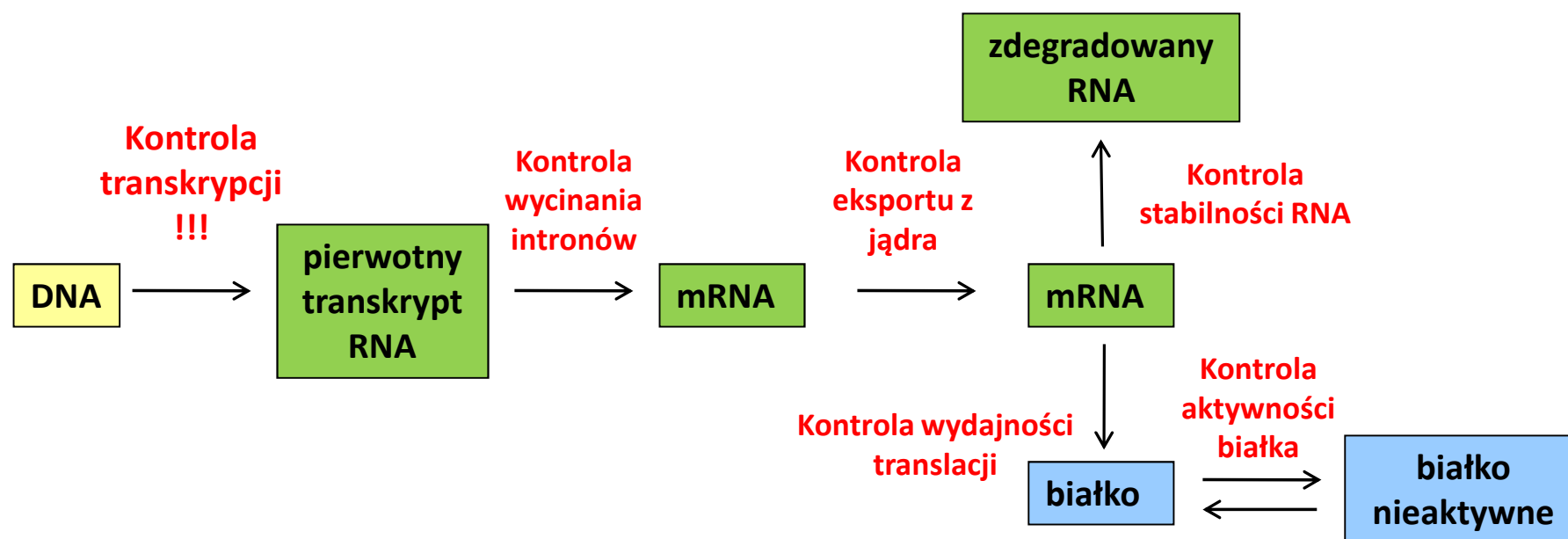


O fenotypie (budowie i funkcji) komórki decydują przede wszystkim produkowane w komórce białka zarówno strukturalne jak i enzymatyczne. Wszystkie komórki organizmu powstałe z zygoty mają w jądrze komórkowym identyczny zestaw genów. Jednak z jakiegoś powodu te identyczne geny generują powstanie w ludzkim organizmie ponad 200 typów różnych komórek. Dzieje się tak między innymi dlatego, że w poszczególnych typach komórek transkrypcji ulegają inne zestawy genów. Znaczna część badań współczesnej biologii dotyczy poznania mechanizmów powstawania tej zróżnicowanej ekspresji genów. Niektóre geny, zwane *housekeeping genes*, są aktywne we wszystkich komórkach ponieważ decydują o utrzymaniu podstawowych funkcji życiowych wspólnych wszystkim komórkom.

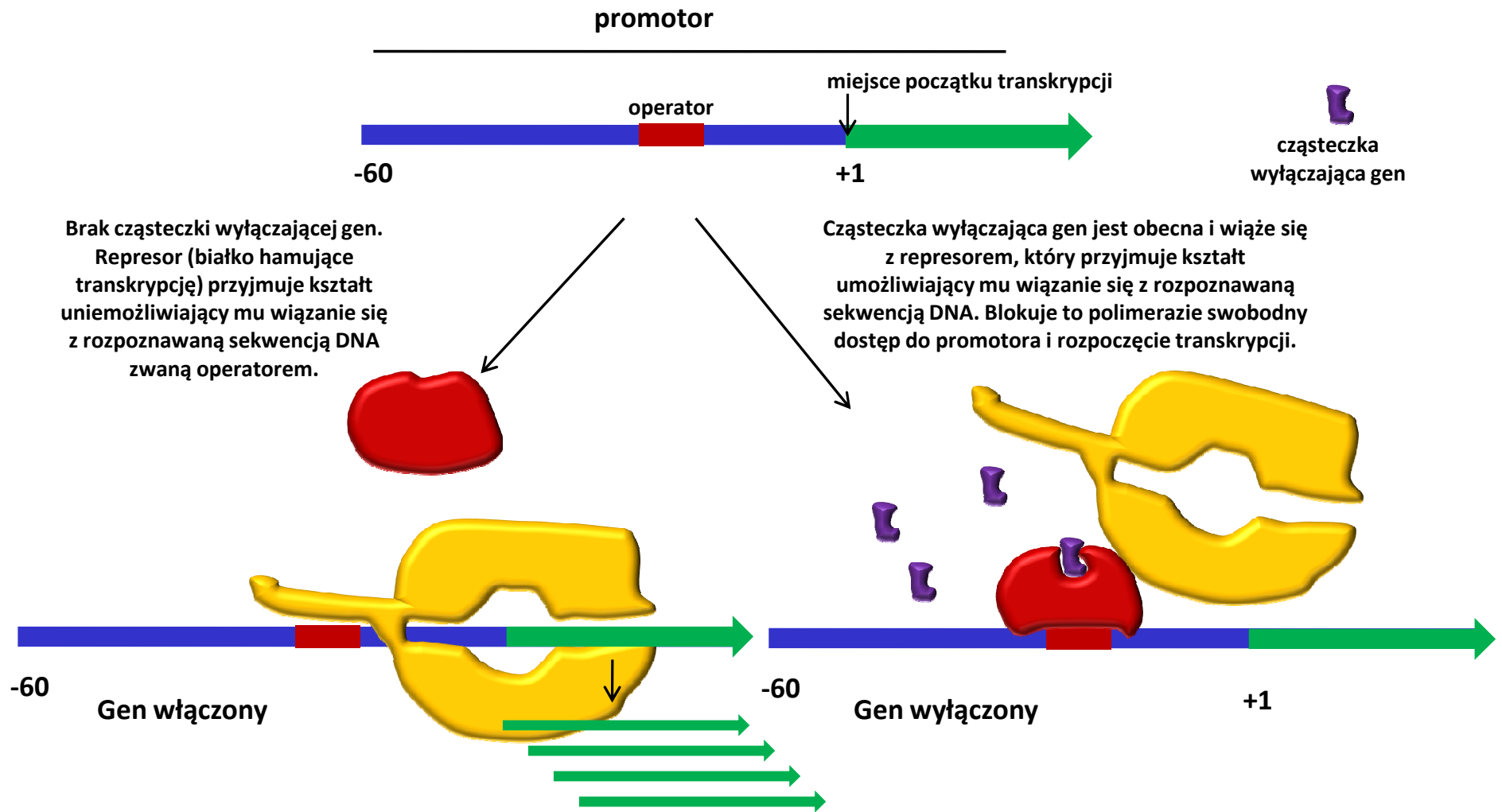


Bardzo często środowisko podpowiada komórce, które geny uaktywnić, a które wyciszyć. Środowisko należy rozumieć bardzo szeroko, np. dla jednych komórek środowiskiem są inne komórki. W organizmie tworzy się dynamiczna sieć wzajemnych zależności komórek.

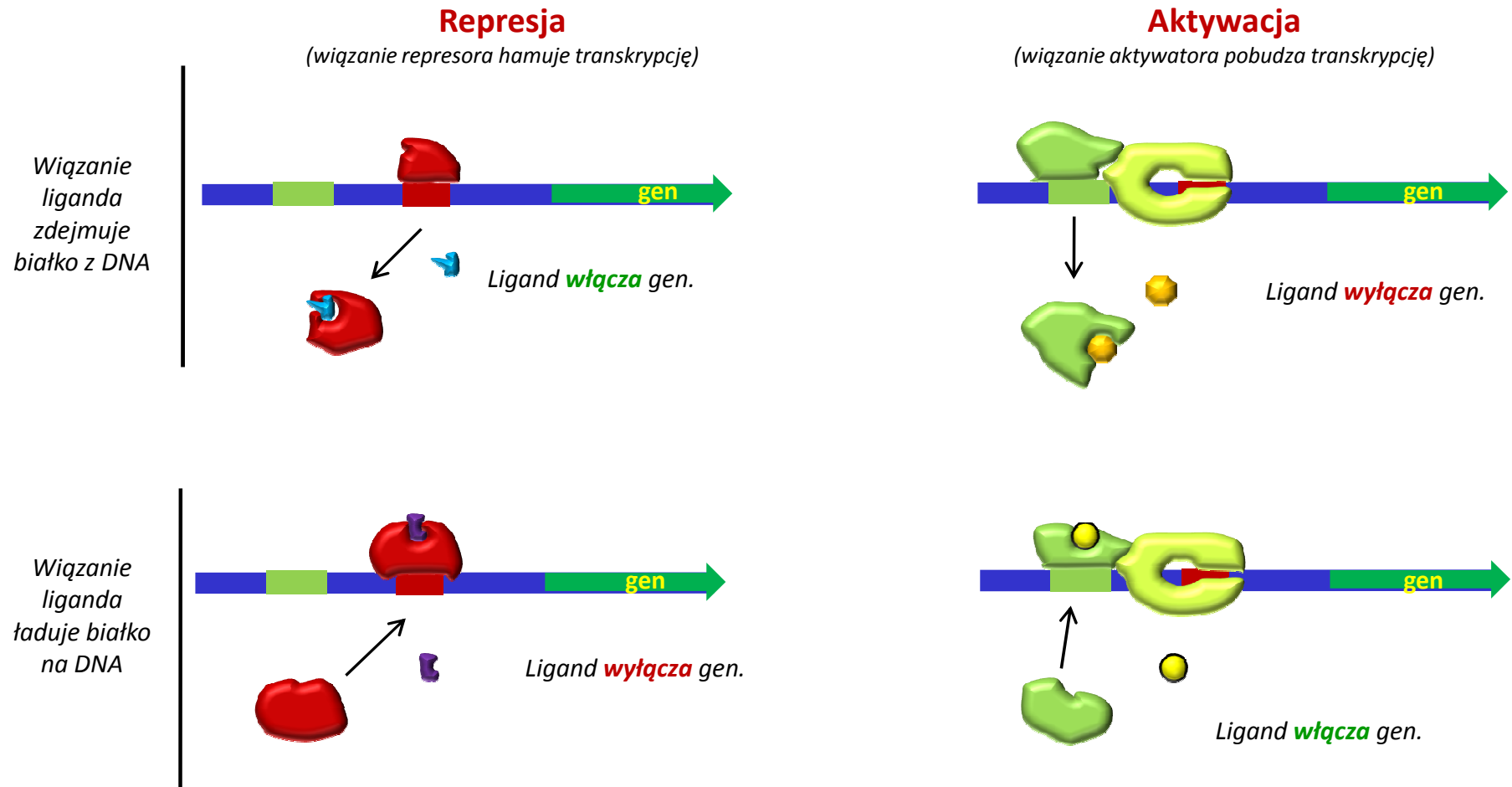
Regulacja ekspresji genu (czyli to czy gen jest wyciszony czy aktywny) odbywa się na bardzo wielu poziomach. Jednym z nich jest poziom regulacji ilości cząsteczek mRNA produkowanych w procesie transkrypcji.



Schemat budowy promotora bakteryjnego oraz zasada negatywnej regulacji ekspresji genu przez represor. Przykład tego jak środowisko (w którym jest bądź brak liganda) może włączać lub wyłączać gen.

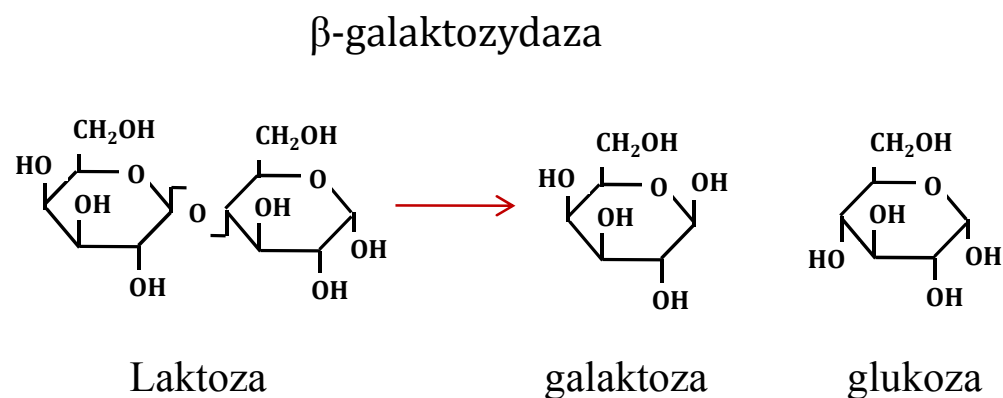


Schemat pozytywnej i negatywnej regulacji ekspresji genu przez aktywator i represor.



Regulację ekspresji genu z udziałem aktywatorów i represorów dobrze poznano na przykładzie **operonu laktozowego** i pałeczki okrężnicy *Escherichia coli*.

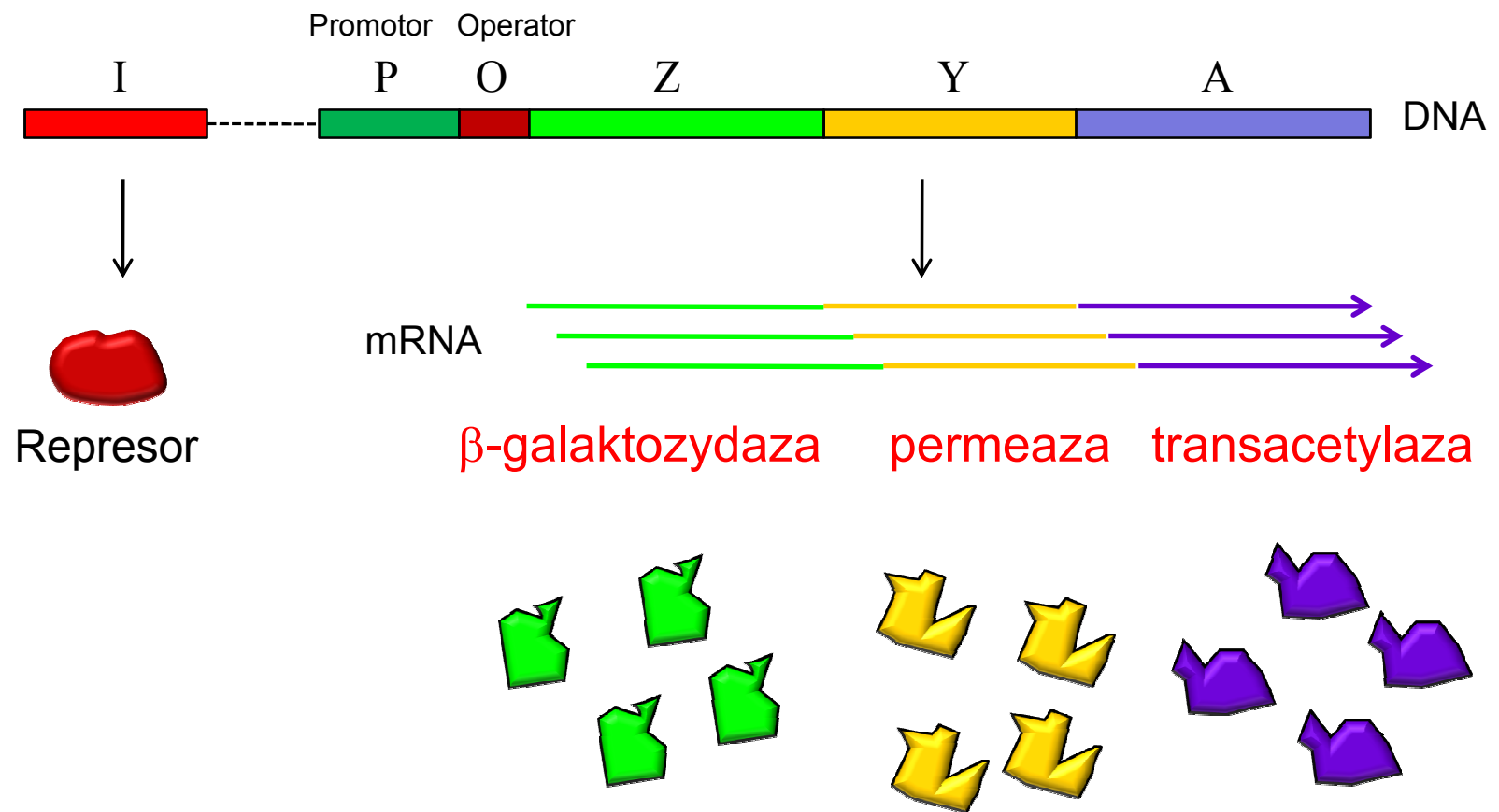
- Gdy w środowisku jest glukoza i laktoza najpierw wykorzystywana jest glukoza. Enzymy potrzebne do metabolizmu laktozy są wyłączane. Gdy glukoza zostaje zużyta wyłączane są enzymy metabolizmu glukozy a włączane są enzymy metabolizmu laktozy.



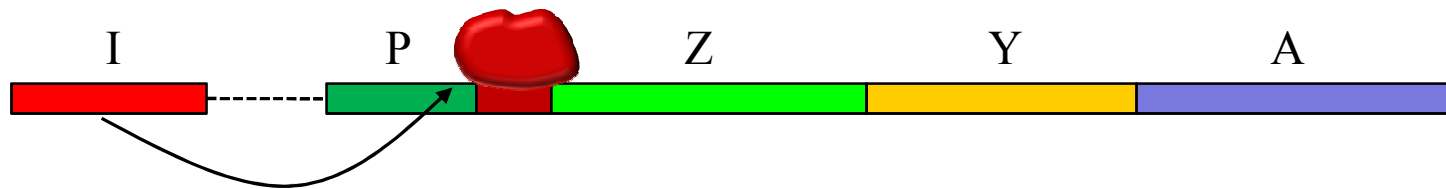
Schemat enzymatycznego rozpadu laktozy.

Enzym: **β -galaktozydaza** kodowany przez gen **LacZ**

Operon to funkcjonalna jednostka genetyczna zawierająca geny strukturalne i elementy regulatorowe:



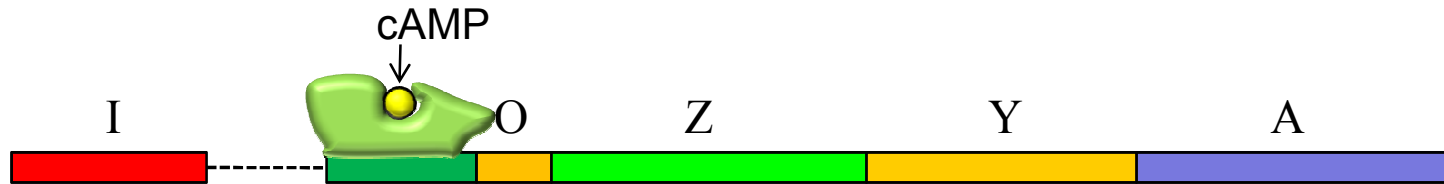
Dwa, skrajne stany operonu laktozowego: wyłączony gdy dostępna jest glukoza i brak laktozy w środowisku oraz włączony gdy brak glukozy w środowisku a dostępna jest laktoza.



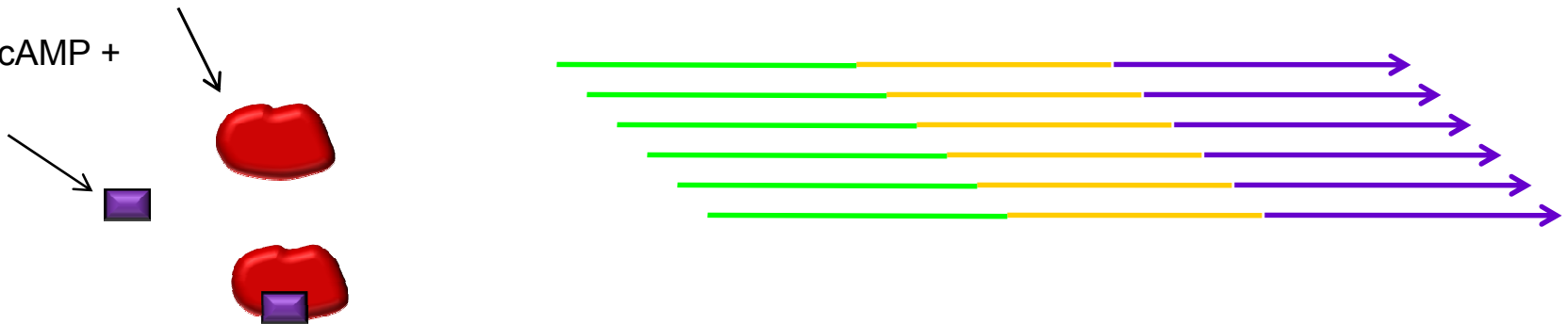
Glukoza +, cAMP -
Lactoza -



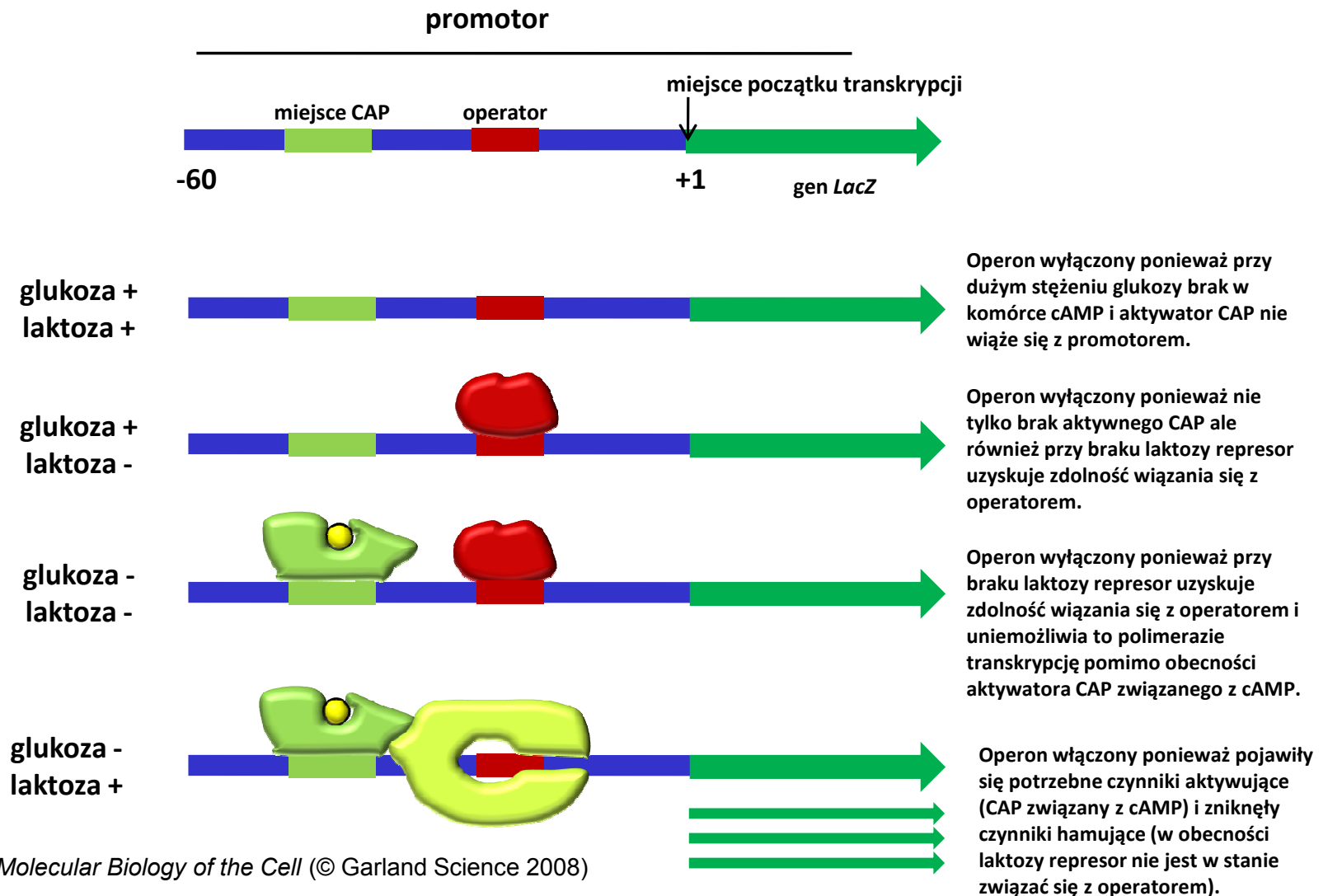
Aktywator CAP wiąże się z promotorem tylko w obecności wysokiego stężenia cAMP stanowiącego sygnał braku glukozy.



Glukoza -, cAMP +
Lactoza +

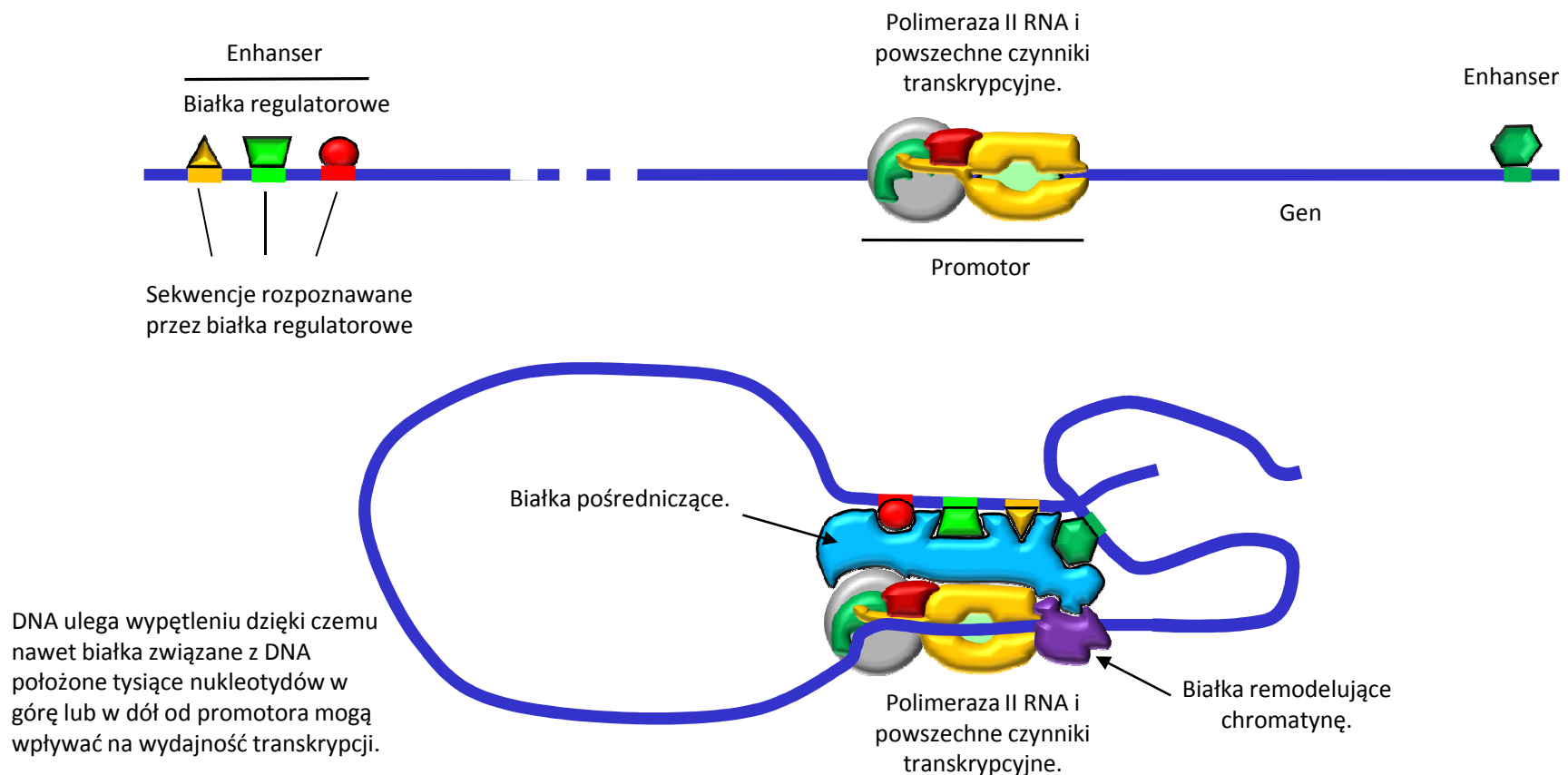


Stany operonu laktozowego. Dzięki działaniu aktywatora (CAP) czułego na glukozę i represora czułego na laktozę możliwe jest włączanie operonu tylko podczas optymalnej kombinacji składników odżywczych w środowisku.

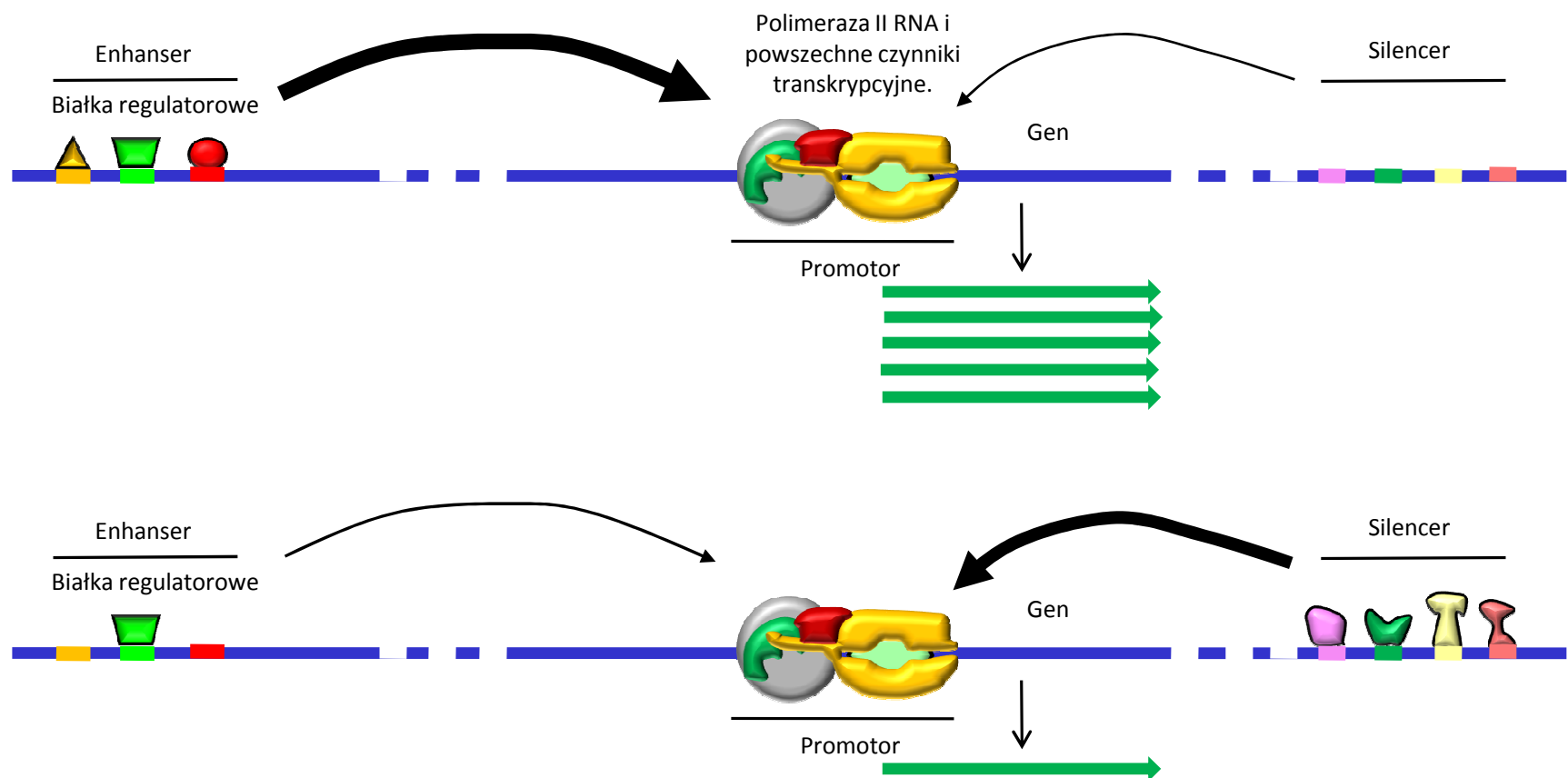


Na podstawie: *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

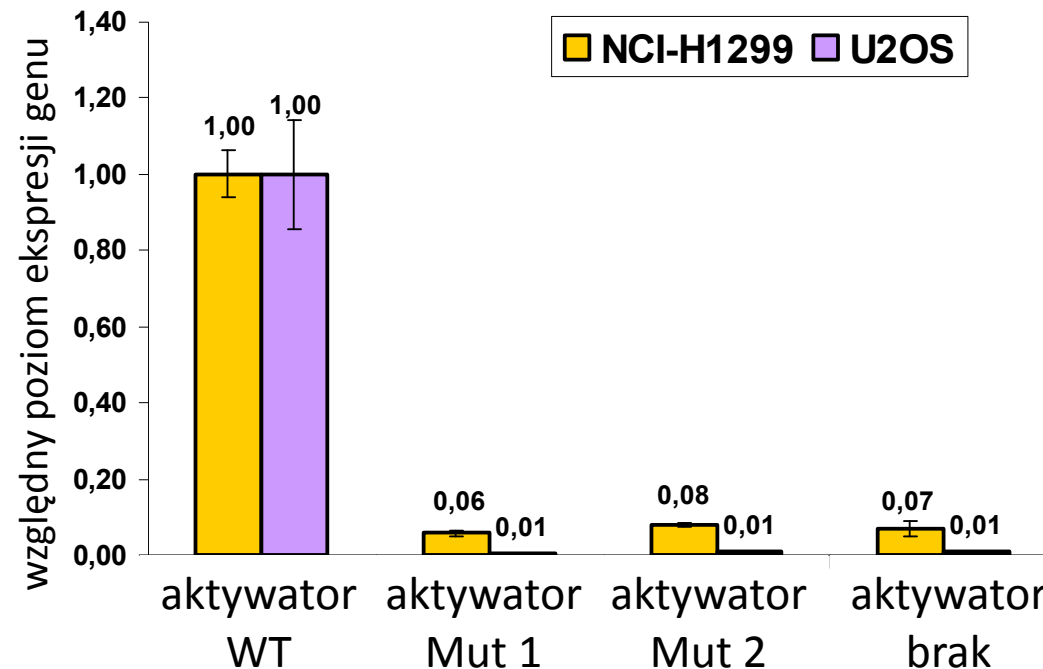
W komórkach eukariotycznych występują sekwencje regulatorowe działające na dużą odległość kilkaset lub kilka tysięcy nukleotydów od promotora. Mogą one być zlokalizowane zarówno powyżej jak i poniżej promotora i działają w orientacji prostej lub odwróconej, mogą działać pobudzająco i wtedy noszą nazwę enhanserów (wzmacniaczy, ang. *enhancer*) lub wyciszająco (ang. *silencer*).



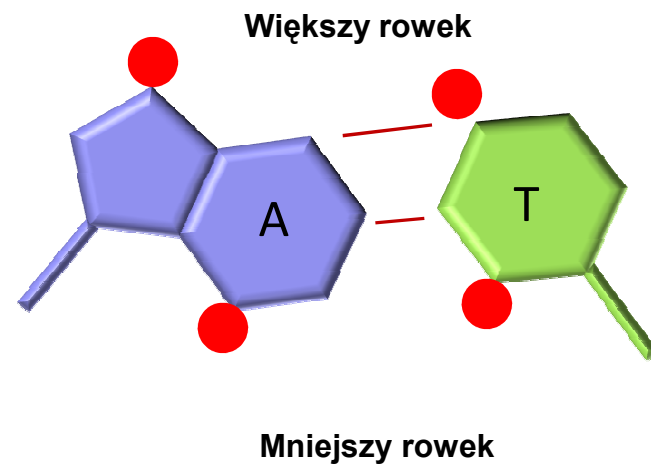
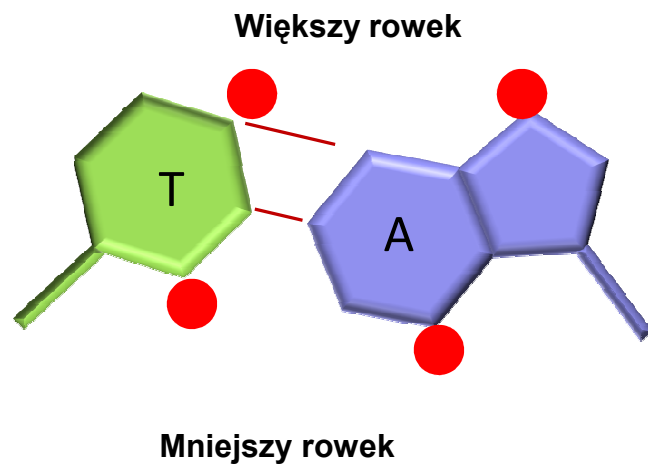
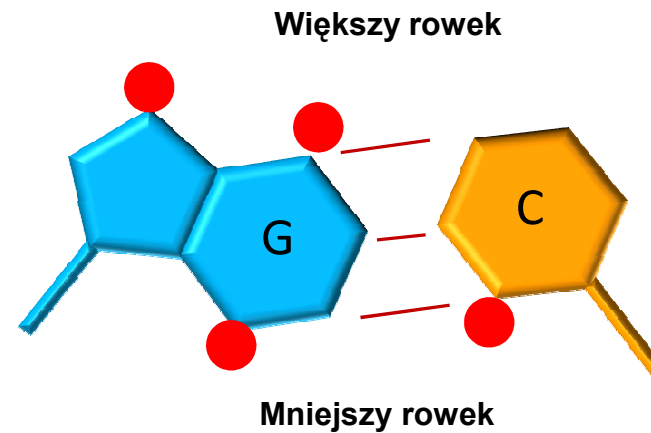
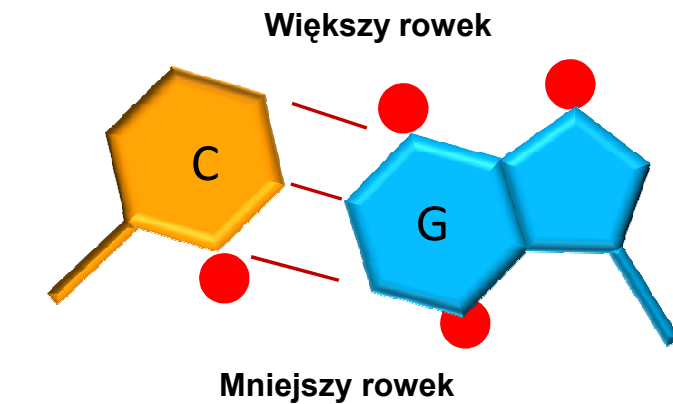
Aktywność transkrypcyjna genu jest wypadkową sygnałów aktywujących i hamujących transkrypcję. Te sygnały z kolei zależą od tego czy aktywatory bądź białka wyciszające ekspresję są związane z enhancerami lub silencerami. W ten sposób tworzy się bardzo skomplikowana sieć sygnalizacyjna decydująca między innymi o ilości białka produkowanego przez dany gen.



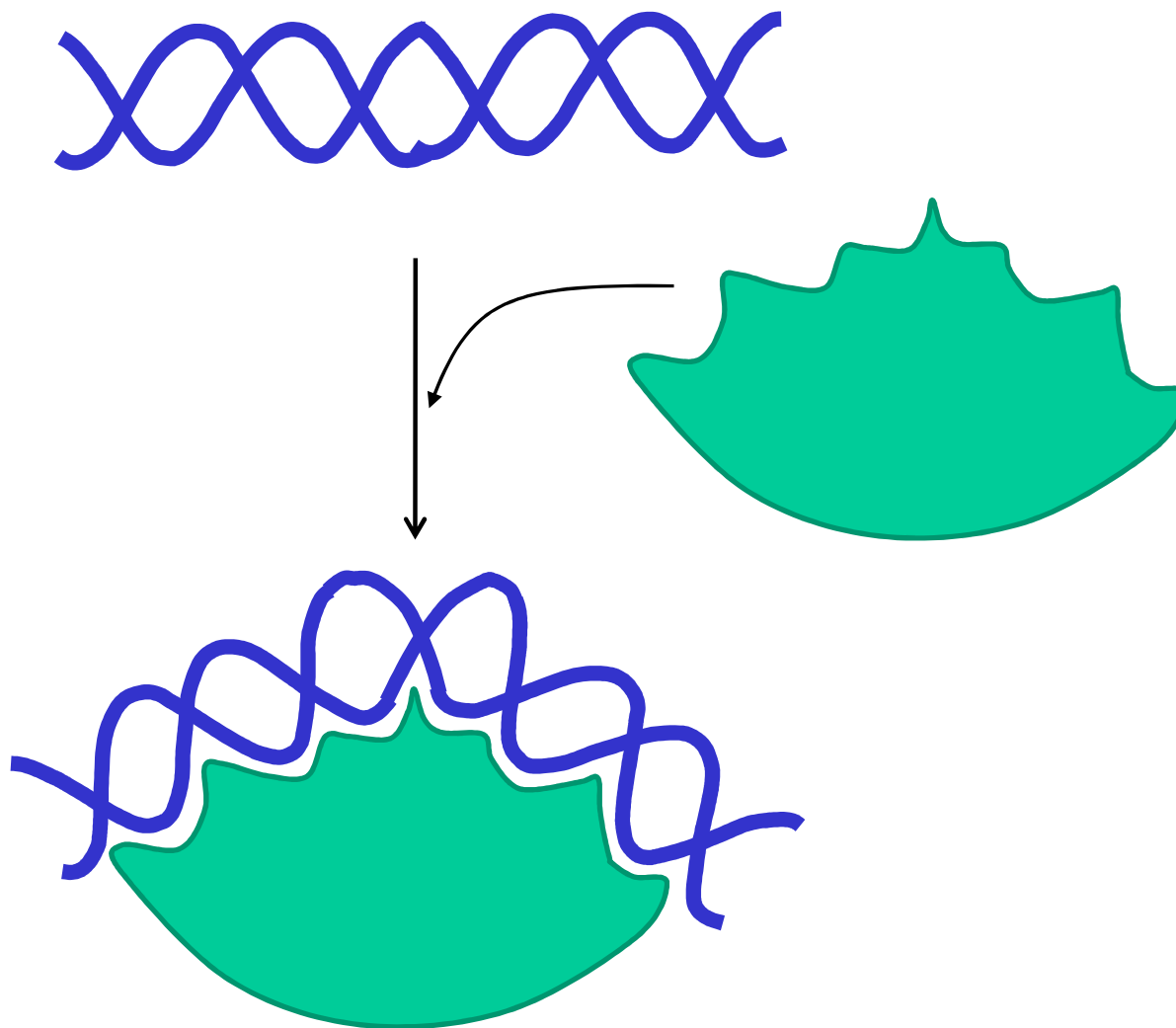
Przykład wpływu aktywatora na ekspresję genu w dwóch różnych typach komórek (NCI-H1299 i U2OS). Dodanie do komórek poprawnego (WT) aktywatora powoduje kilkudziesięciu do 100 krotny wzrost ekspresji genu. Dodanie aktywatora w którym wystąpiły mutacje w domenie wiążącej DNA powoduje utratę aktywności.



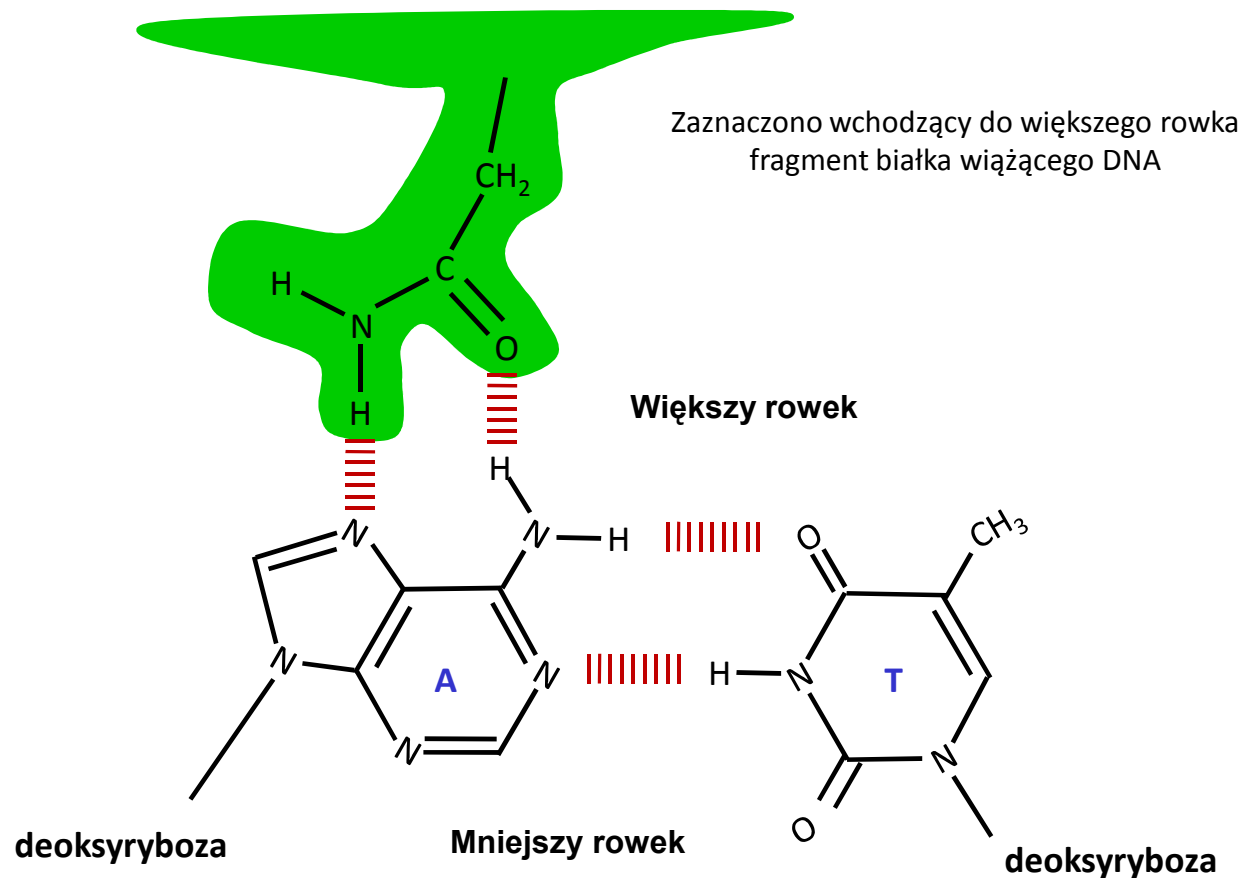
Każda sekwencja DNA stanowi unikalny układ donorów i akceptorów zdolnych do tworzenia wiązań wodorowych w obrębie szerszego i wąskiego rowka w DNA.



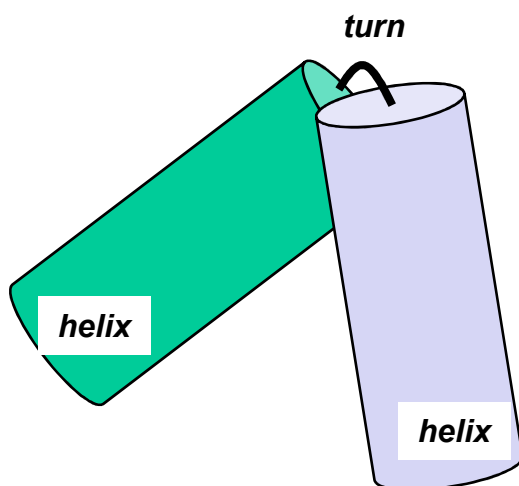
Czasami oddziaływanie z białkiem wymusza zmianę kształtu cząsteczki DNA np. silne wygięcie podwójnej helisy.



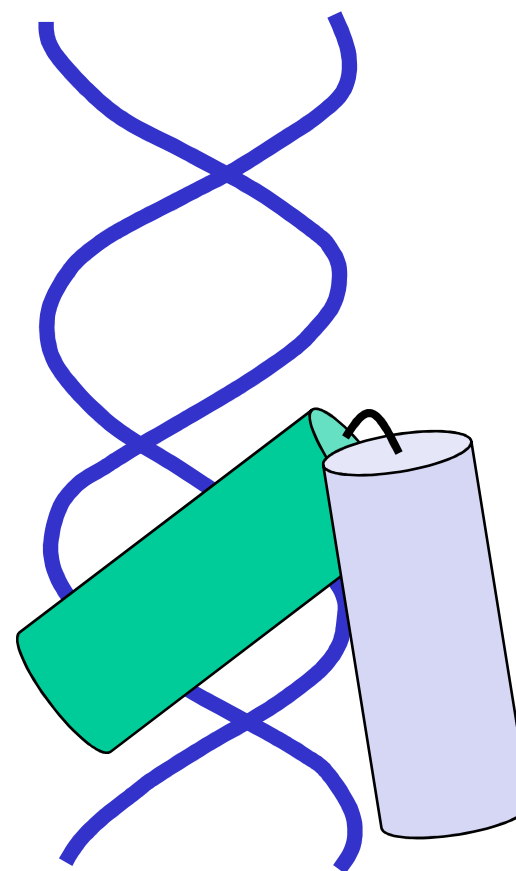
Schemat wiązania białka regulatorowego z DNA. Przedstawiono tylko jedno z połączeń odbywających się poprzez wiązania wodorowe. Zwykle połączeń jest kilkanaście im więcej połączeń tym większa siła oddziaływania. Swoiste oddziaływanie z białkiem regulatorowym zapewnia jedynie ściśle określona sekwencja DNA.



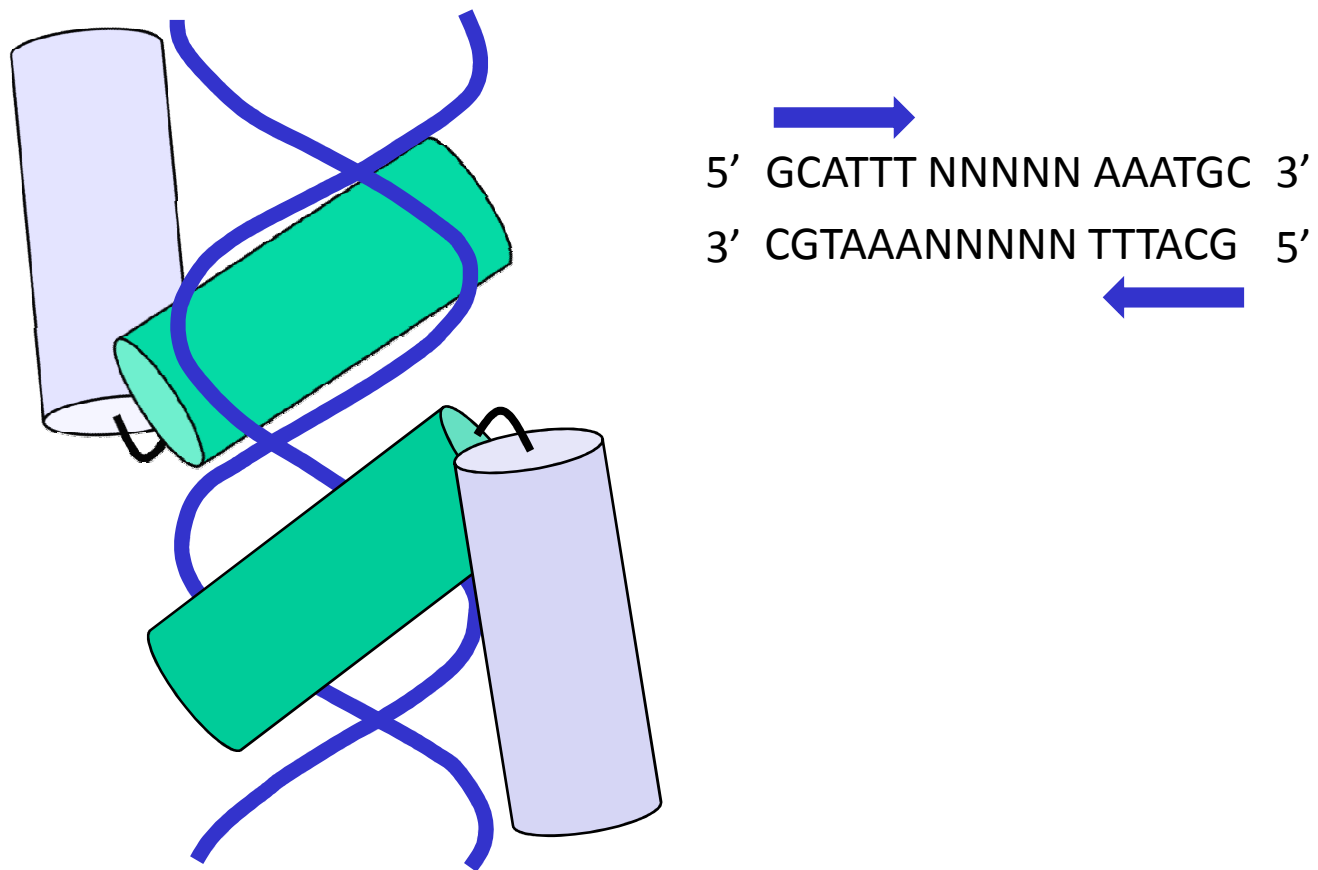
Schemat najczęściej występującego białkowego motywu wiążącego DNA – motyw: helisa-skręt-helisa (ang. *helix-turn-helix*). Helisa rozpoznawcza uczestniczy w swoistym dla sekwencji wiązaniu z DNA wpasowując się w szerszy rowek DNA.



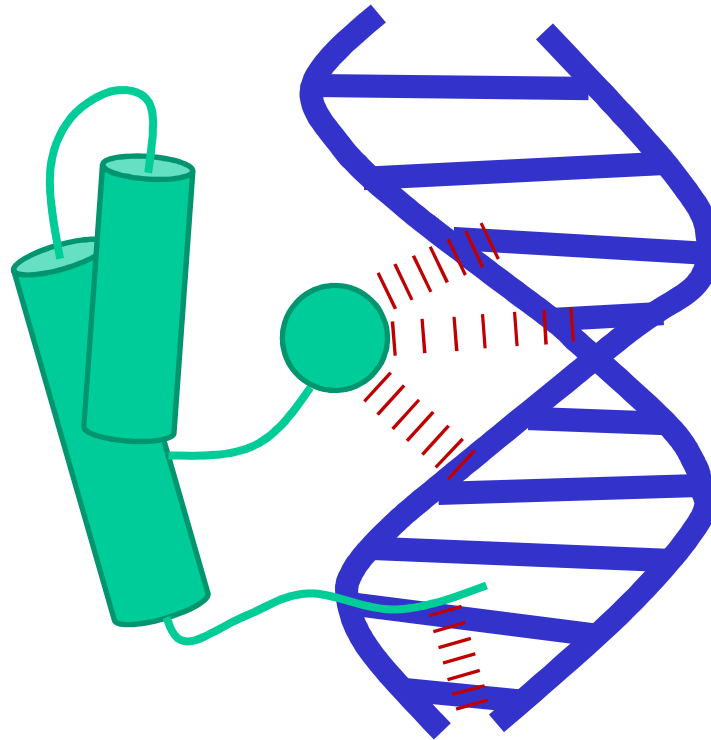
Dwie a helisy połączone krótką sekwencją aminokwasową. N zielono zaznaczono helisę kontaktującą się z DNA.



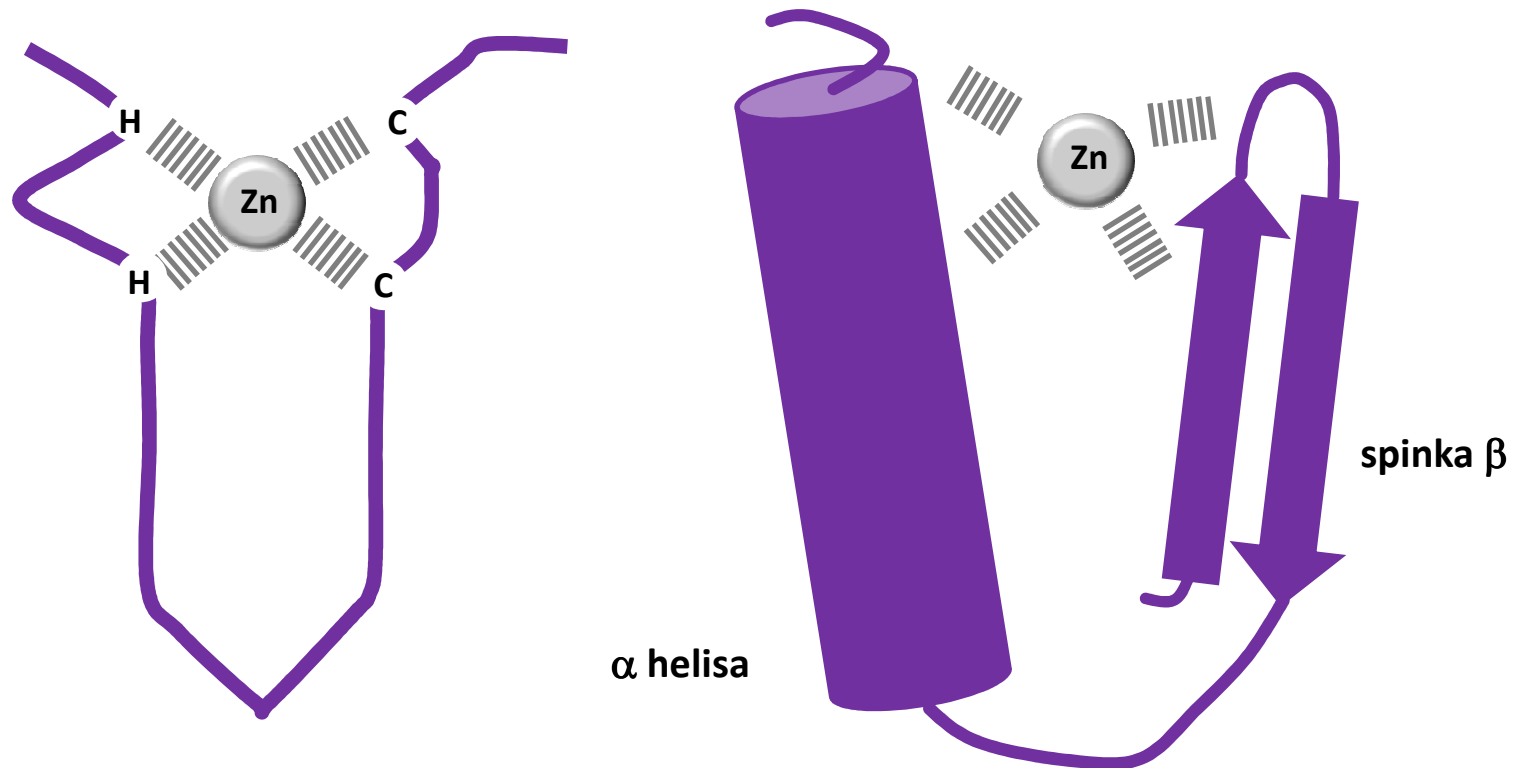
Białka tworzące układ HTH często wiążą się z DNA jako dimer
sekwencja wiążąca białko musi również cechować się symetrią.



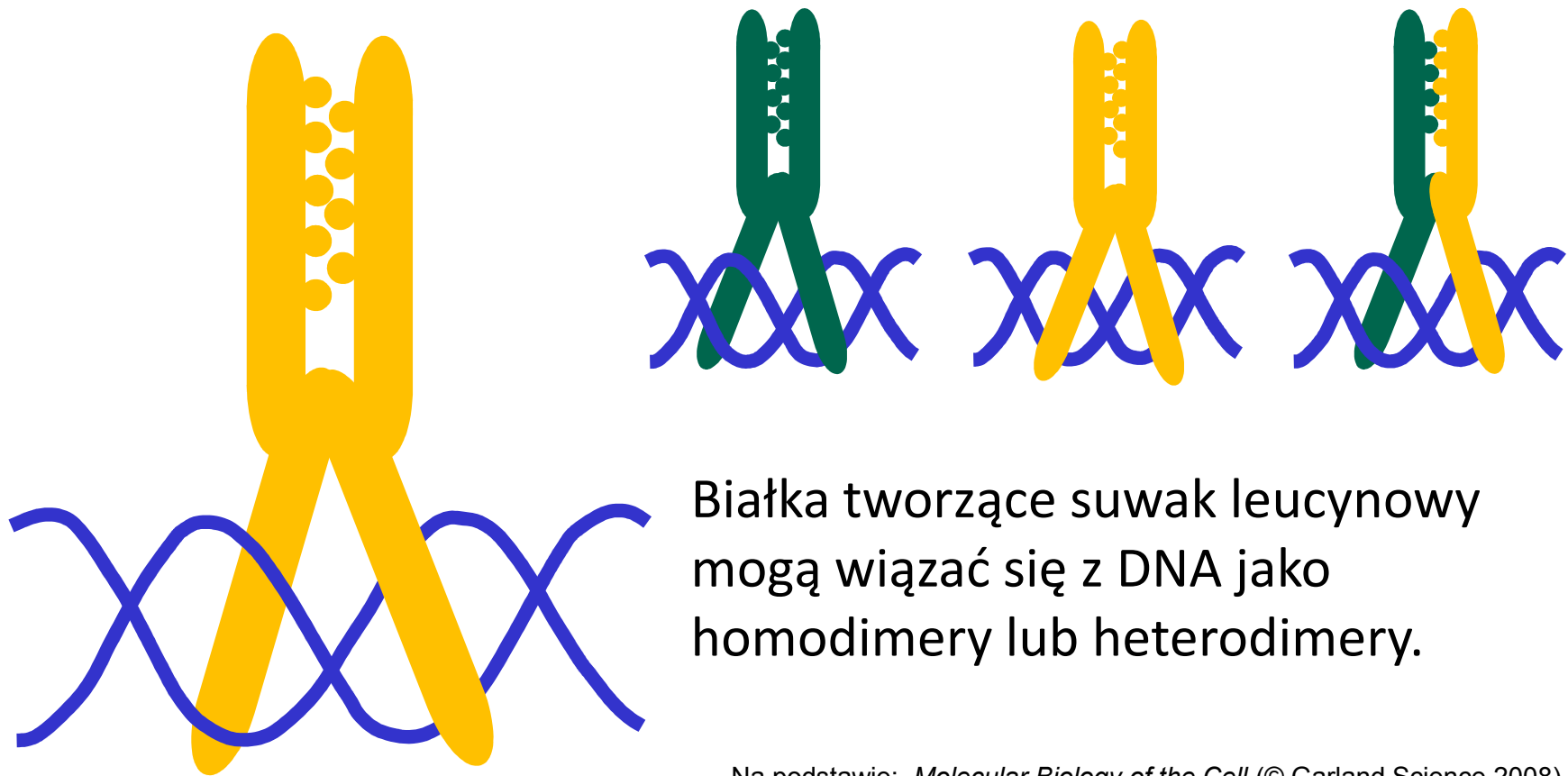
Przykładem motywu HTH jest homeodomena występująca w białkach regulatorowych wielu organizmów. Rysunek przedstawia schemat wiązania helisy rozpoznawczej z zasadami w szerszym rowku DNA. Do helisy 1 dołączone jest ruchome ramię tworzące kontakt w węższym rowku DNA.



Motyw palca cynkowego (ang. *zink finger*). Zbudowany z α helisy i spinki β złączonych atomem cynku. Palec cynkowy jest utrzymywany przez łańcuchy boczne dwóch cystein (C) i dwóch histydyń (H). Palce cynkowe występują najczęściej grupami. Z szerszym rowkiem DNA wiążą się aminokwasy tworzące α helisę.

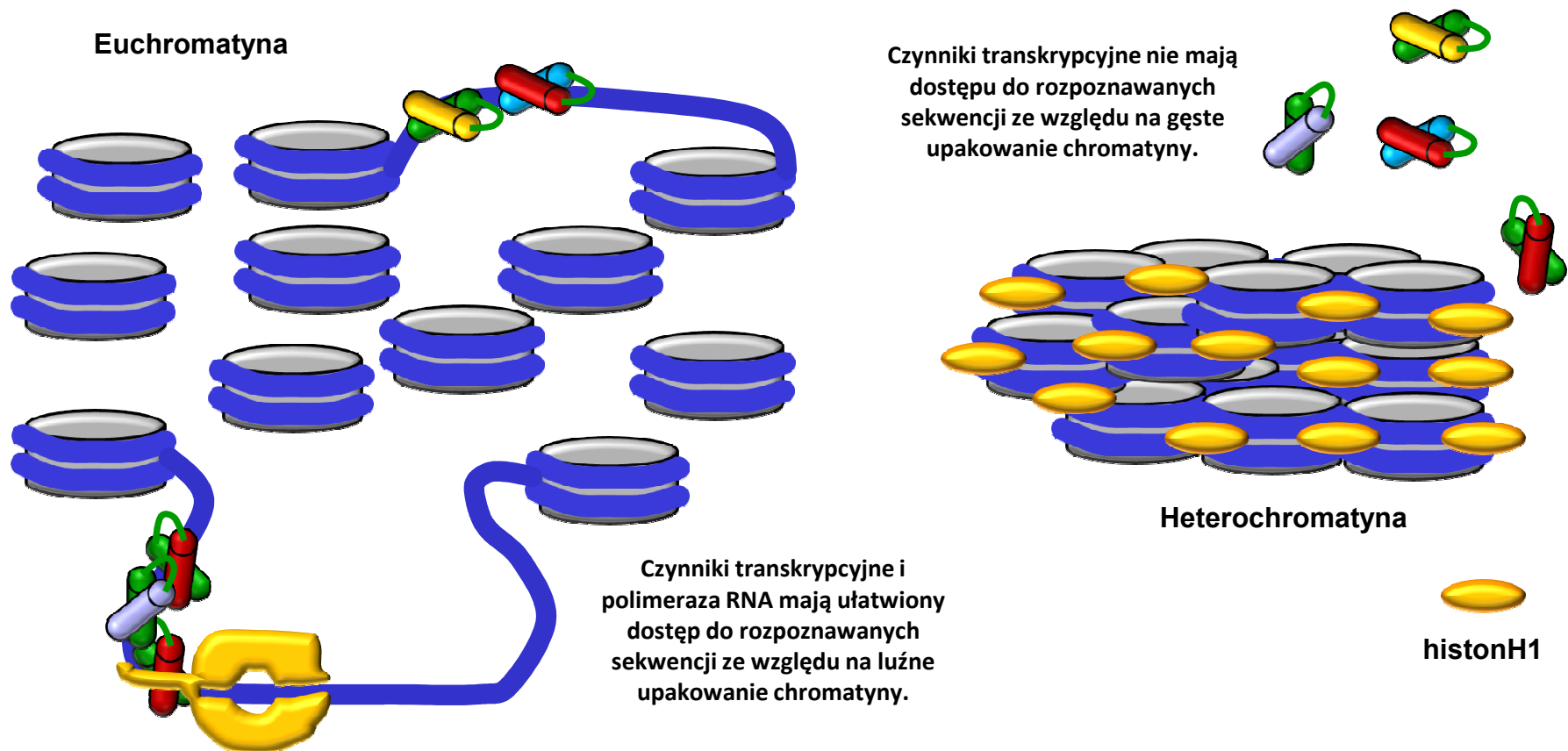


Motyw suwaka leucynowego (ang. *leucin zipper*) tworzą dwa odrębne łańcuchy polipeptydowe tworzące a helisy. Część a helisy odpowiada za wiązanie się z DNA, druga część odpowiada za wzajemne połączenie się łańcuchów polipeptydowych hydrofobowymi oddziaływaniami łańcuchów bocznych leucyny.

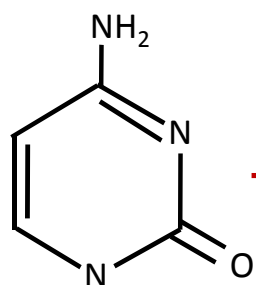


Białka tworzące suwak leucynowy mogą wiązać się z DNA jako homodimery lub heterodimery.

U eukariotów wiązanie białek regulatorowych z DNA odbywa się w obecności histonów. Białka regulatorowe mogą indukować stan chromatyny. Stan chromatyny może z kolei decydować o dostępności DNA dla białek regulatorowych.

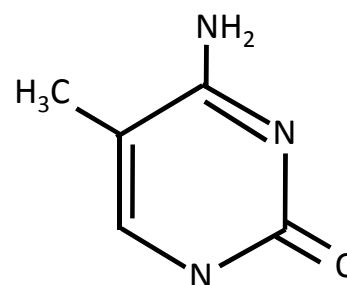


Wyciszeniu ekspresji genów często towarzyszą modyfikacje kowalencyjne chromatyny. Jedną z nich jest metylacja cytozyny w obrębie par CpG promotorów genów. Wzór metylacji zostaje zachowany pomimo replikacji DNA dzięki aktywności enzymów metylujących DNA – metylaz.

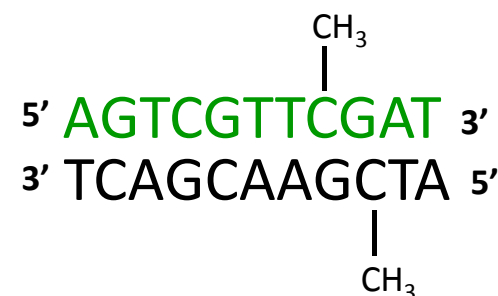
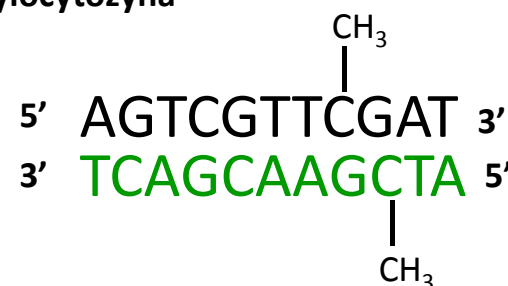
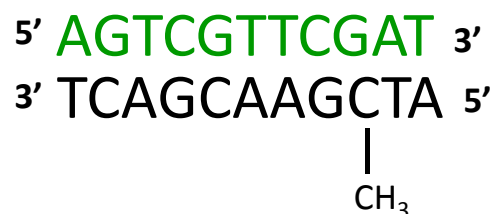
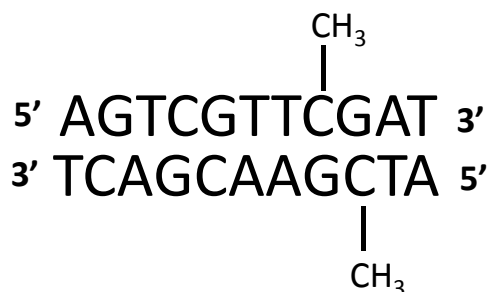


cytozyna

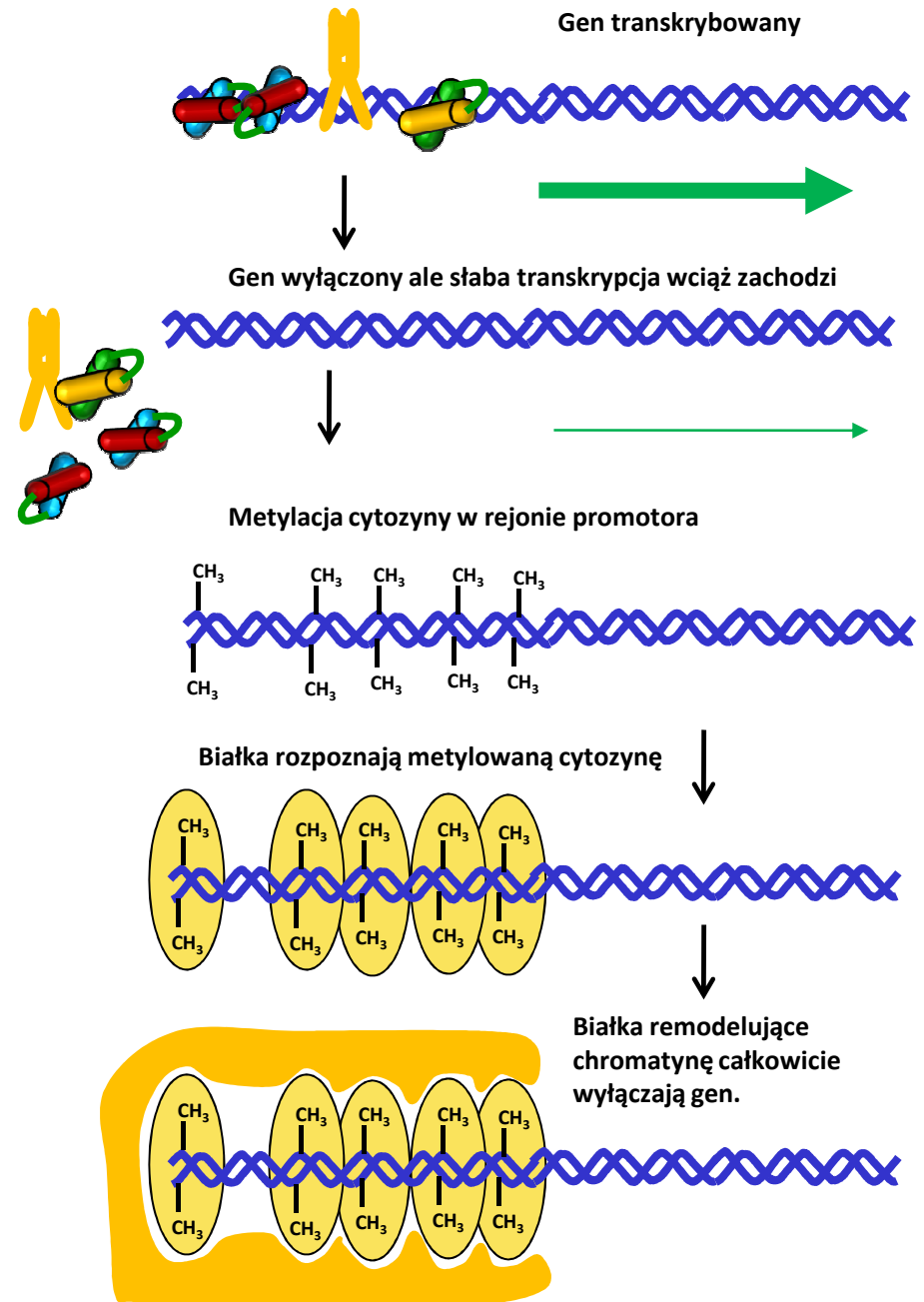
Enzymatyczna
metylacja



5-metylocytozyna

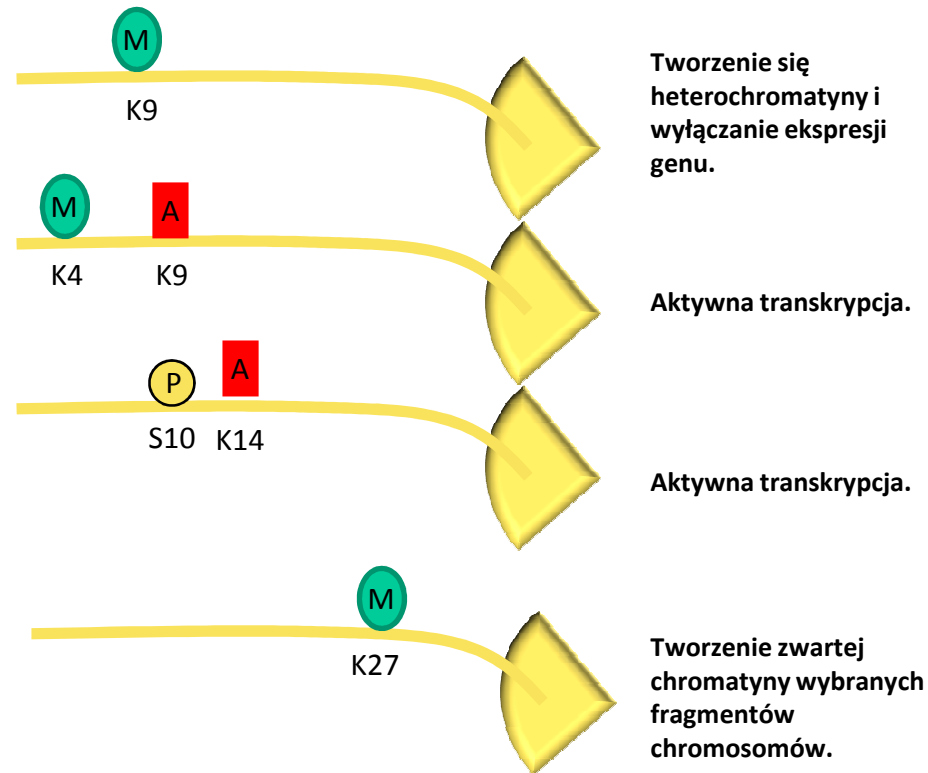


Metylacja najczęściej służy do całkowitego wyciszenia transkrypcji genu, który wstępnie został wyłączony poprzez utratę białek regulatorowych. Metylacja wywołuje zmianę struktury chromatyny uniemożliwiającą ponowne związanie białek regulatorowych. Ponadto niemożliwa staje się nawet bardzo słaba transkrypcja genu. Dla większej przejrzystości na ilustracji nie zaznaczono histonów, które również podlegają modyfikacjom podczas „wyłączania” i „włączania” chromatyny.



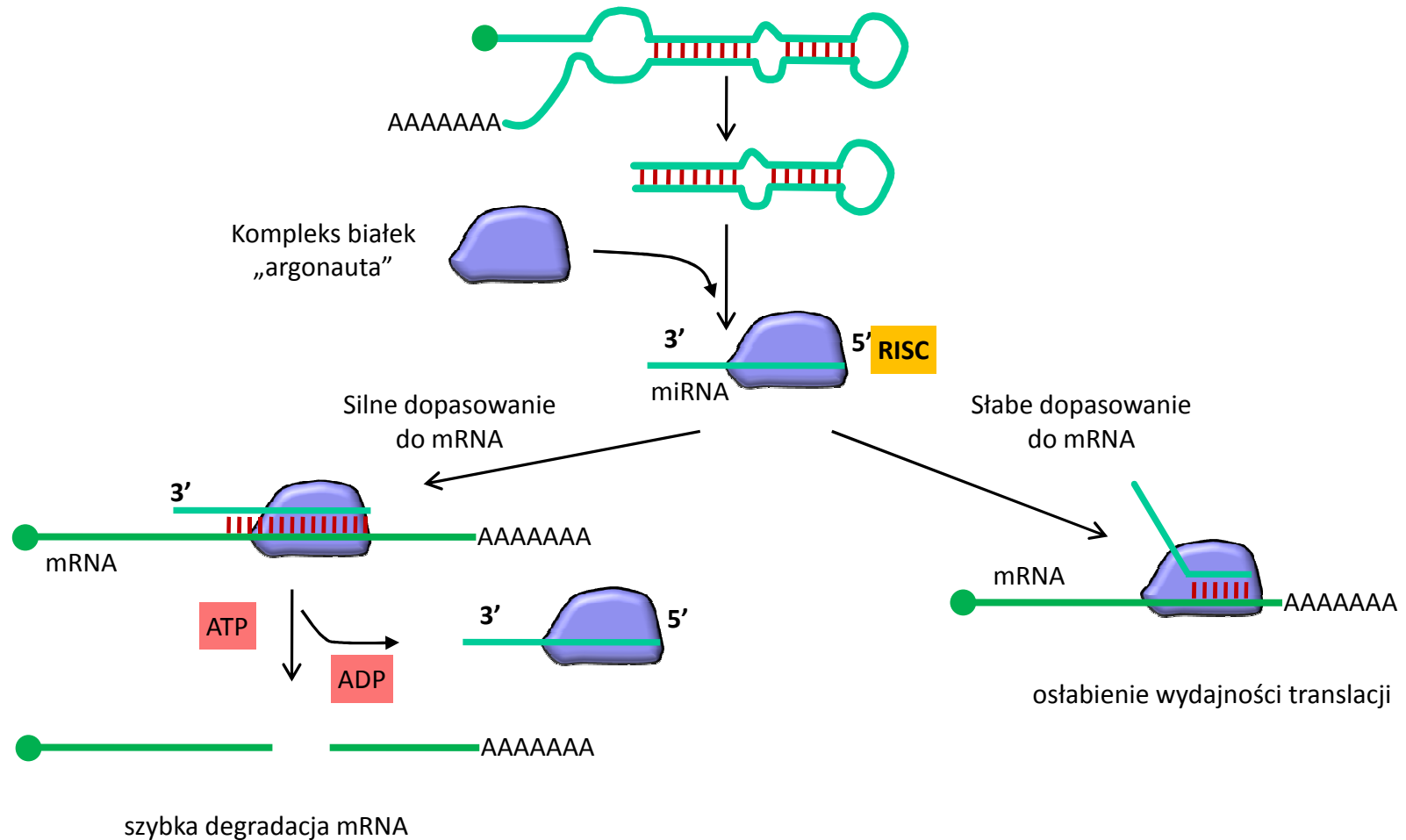
Acetylacja histonów w nukleosomach sprawia, że DNA nawinięty na nukleosomy staje się łatwiej dostępny dla innych białek np. białek regulatorowych lub czynników transkrypcyjnych. Regulując acetylację histonów można regulować poziomem ekspresji genu.

„Kod histonowy”



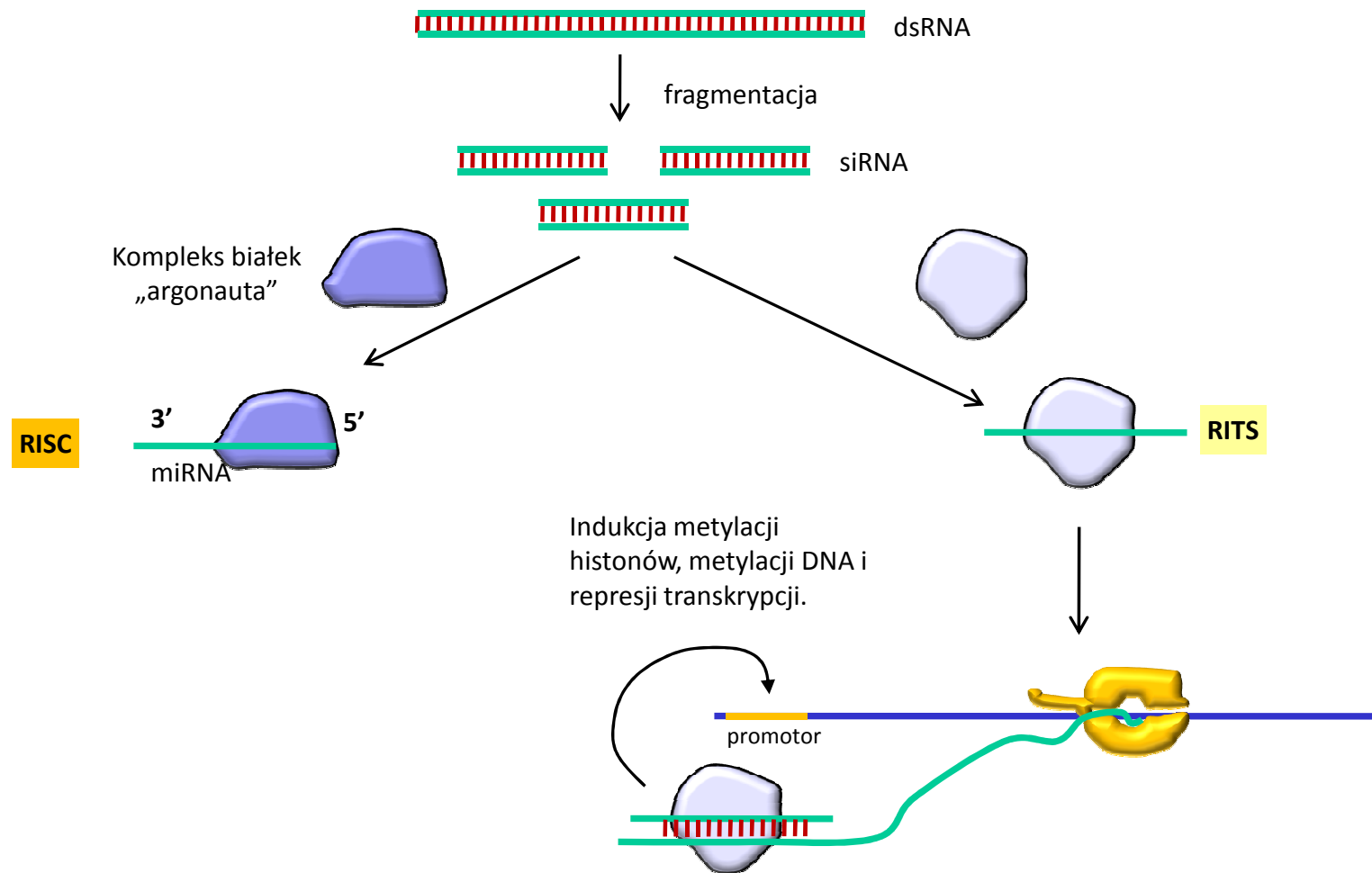
Dostępność chromatyny jest regulowana również przez inne modyfikacje histonów, np. metylację. W wyciszaniu chromatyny biorą również udział tzw. białka heterochromatynowe.

Małe, niekodujące transkrypty są ważnym elementem systemu regulacji ekspresji genów. Np. mikro RNA (miRNA) regulują co najmniej 1/3 genów kodujących białka. Dłuższe transkrypty są cięte w cytozolu na właściwe miRNA przez enzym zwany „Dicer”. Mikro RNA tworzy rybonukleoproteinowy kompleks zwany RISC (*RNA-induced silencing complex*). Gdy miRNA znajdzie komplementarną cząsteczkę mRNA wiąże się z nią i w zależności od stopnia parowania mRNA ulega szybkiej degradacji lub też powstrzymana zostaje jego translacja.



Na podstawie: *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Indukcja heterochromatyny przez cząsteczki siRNA. RITS – *RNA-induced transcriptional silencing* (wyciszanie transkrypcji indukowane siRNA).





KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Materiały dydaktyczne współfinansowane ze
środków Unii Europejskiej w ramach
Europejskiego Funduszu Społecznego.
