



ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА
КАФЕДРАСЫ

Молекулалық генетика

ДӘРІС 11. ПРОКАРИОТТЫҚ ГЕНДЕР ЭКСПРЕССИЯСЫНЫҢ РЕТТЕЛУІ

Лектор: PhD, қауымдастырылған
профессор Тайпақова С.М.

Жоспар

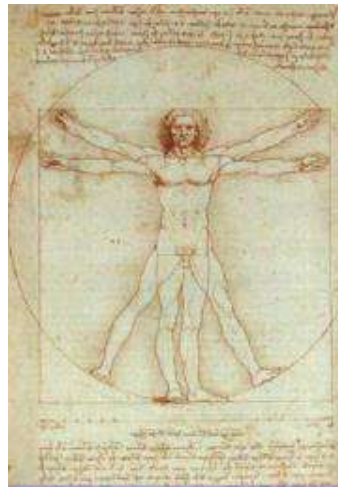
- С-парадоксы - мөлшер мен күрделіліктің парадоксы
- Прокариоттарда ген экспрессиясының реттелуі. Оперон моделі
- *E. coli* лактозалық опероны
- *E. coli* триптофан опероны

Күрделі организмдердің ең күрделі геномдары болуы керек пе?



Amoeba dubia

Простейший организм – амеба
имеет размер генома 670



человек – 3,2
млрд.н.п



180 Мб



18 000 Мб

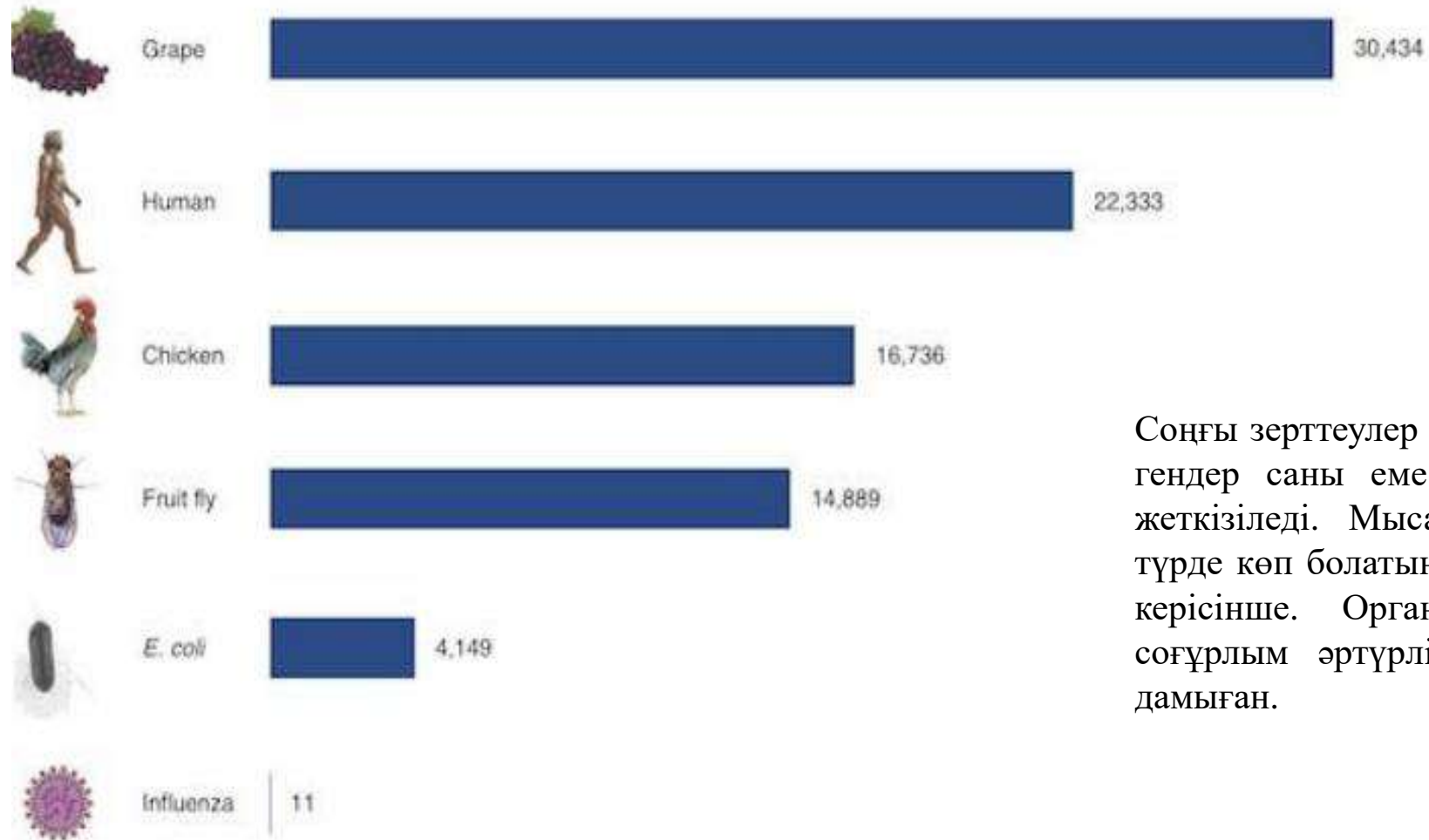
- Күрделі организмдердің ең күрделі геномдары болуы керек екені айтпаса да түсінікті, бірақ бұл дұрыс емес.
- Бір жасушалы амебалардың геномдары адамдарға қарағанда 200 есе үлкен, шын мәнінде олардың геномы белгілі геномдардың ішіндегі ең үлкені.
- Ал бір-біріне өте ұқсас түрлерде геном күрт ерекшеленуі мүмкін. Бұл оғаштық **C-парадоксы** ретінде белгілі.

С-парадокс

Группы организмов	Средний размер генома, п.о.
Мелкие вирусы	$1,0 \times 10^4$
Микоплазмы	$1,6 \times 10^6$
Бактерии	$2,0 \times 10^6$
Грибы	$4,7 \times 10^7$
Насекомые	$2,3 \times 10^9$
Моллюски	$1,6 \times 10^9$
Костистые рыбы	$1,4 \times 10^9$
Амфибии бесхвостые	$2,7 \times 10^9$
хвостатые	$3,6 \times 10^{10}$
Рептилии	$1,5 \times 10^9$
Птицы	$1,2 \times 10^9$
Млекопитающие	$2,6 \times 10^9$
Человек	$3,0 \times 10^9$
Растения голосеменные	$1,6 \times 10^{10}$
Покрытосеменные	$2,7 \times 10^{10}$
Лилия <i>Lilium longiflorum</i>	$1,8 \times 10^{11}$

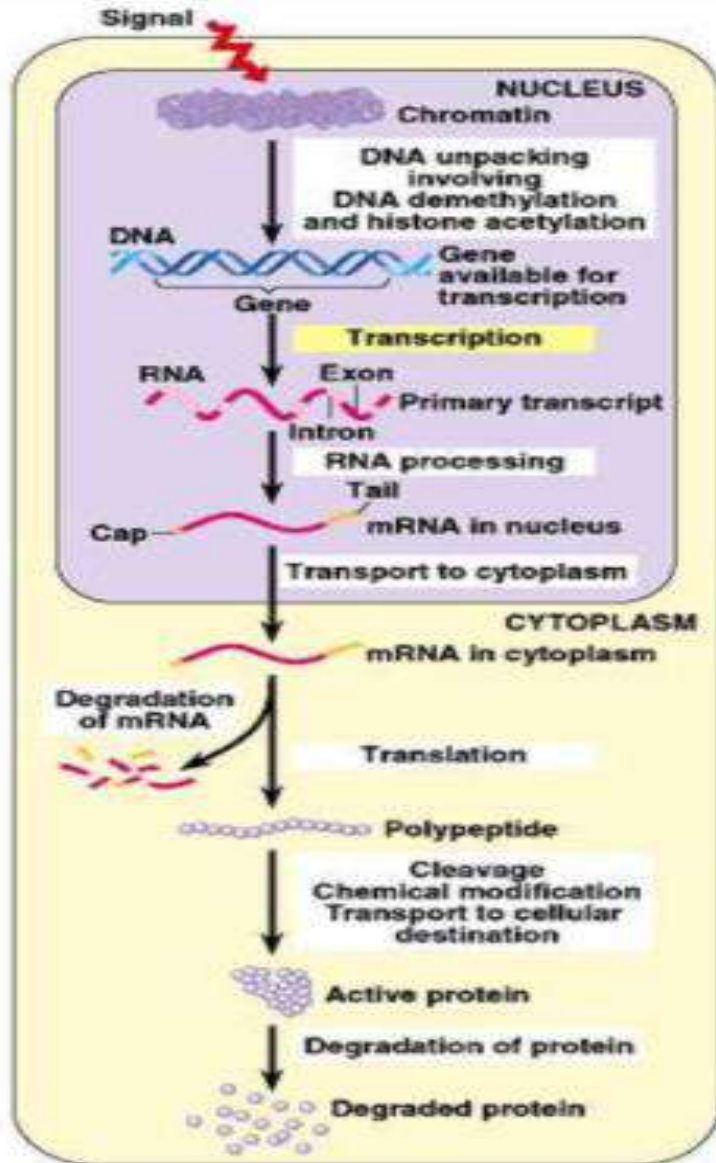
- **С-парадоксы** – геномның физикалық мөлшері мен организмдердің күрделілігі арасындағы корреляцияның болмауы. Гаплоидты геномдағы ДНҚ мөлшері латынның С символымен белгіленеді, мұндағы «С» «тұрақты» (ағылшынша constant) немесе «сипатты» (ағылшынша characteristic) дегенді білдіреді, өйткені бұл мөлшер организмдердің бір түрі ішінде тұрақты. Бірақ түрлер арасында С мәні прокариоттарда да, эукариоттарда да кеңінен вариацияланады.
- 1978ж. Т.Кавалье-Смит эукариоттарда геномның нуклеотидтер тізбегінің аз ғана бөлігі транскрипцияланатынын байқады. Кодтамайтын нуклеотидтер тізбегіне қатысты эукариоттық геномның елеулі дәрежедегі артықтық құбылысы генетикада «С-парадокс» ретінде белгілі.
- Эукариоттық ядролық геномдардың мөлшері әдетте ДНҚ пикограммаларымен (пкг) өлшенеді ($1 \text{ пкг} = 10^{-12} \text{ г}$). Мөлшері бойынша кіші прокариоттық геномдар әдетте дальтондармен, салыстырмалы атомдық немесе молекулалық салмақ бірліктерімен өлшенеді. Одан да кішірек геномдардың мысалы органеллалар мен вирустар геномдарының өлшемдері, сондай-ақ ДНҚ фрагменттерінің өлшемдері көбінесе негіз жұптармен (bp) немесе килобазалармен ($1 \text{ кб} = 1000 \text{ bp}$) көрсетіледі. Шатаспау үшін болашақта өлшемдерді тек негіз жұптарында бағалаймыз.

Мөлшер мен күрделіліктің парадоксы



Соңғы зерттеулер көрсеткендей, «эволюциялық сапа» гендер саны емес, олардың реттелуі арқылы қол жеткізіледі. Мысалы, гендер саны салыстырмалы түрде көп болатын қарапайым организмдер бар және керісінше. Организм неғұрлым күрделі болса, соғұрлым әртүрлі деңгейде гендік реттеу жүйесі дамыған.

Гендердің белсенділігін реттеу



Кез келген ағзаның барлық жасушаларында, олар қандай қызмет атқарса да, осы организмге тән гендердің толық жиынтығы бар. Сонымен бірге, кез келген организмде әртүрлі ұлпалар мен мүшелердің жасушалары әртүрлі сипаттамалармен және оларда болатын белоктар жиынтығымен ерекшеленетіні белгілі. Бір жасушаның өзінде оның дамуының әртүрлі кезеңдерінде әртүрлі белоктар синтезделеді және қызмет етеді. Демек, толық генетикалық ақпаратқа ие бола отырып, әрбір жасуша дамудың белгілі бір кезеңінде оның қазіргі уақытта қажет бөлігін ғана пайдаланады, өнімдерін жасуша өз функцияларын орындау үшін нақты сол уақытта қажет ететін гендер ғана транскрипцияланады. Сондықтан жасушада қандай гендер және қандай ретпен экспрессиялану керектігін («жүзеге асыру»), яғни өнім беру – РНҚ немесе ақуыз) анықтайтын механизмдер болуы керек. Белок синтезін реттеудің ең көп тараған механизмі геннің экспрессия деңгейін анықтайтын транскрипцияның реттелуі болып табылады. Бұл механизм бактерияларда егжей-тегжейлі зерттелген, бірақ эукариоттық жасушалар бірдей принципті пайдаланады.

Прокариоттарда ген белсенділігінің реттелу түрлері

- Прокариоттарда белок синтезінің репрессиясы мен индукциясы тіршіліктің өзгермелі жағдайларына бейімделу және жасушаның энергия үнемдеу принциптерін жүзеге асырады: ферменттер жасушаларда қажеттілік болған кезде пайда болады, ал қажеттілік жойылса, өндірілуін тоқтатады.
- **Прокариот жасушаларында белоктардың үш түрі табылды:**
- **конститутивті**, организмнің тіршілік ету жағдайларына қарамастан жасушаларда тұрақты мөлшерде болады. Бұл жасушалардың өміршеңдігін қамтамасыз ететін «тұрмыстық» белоктар (биологиялық тотығу, мембраналық, АТФ синтезі, және нуклеин қышқылдары синтезінің ферменттері);
- **индуцибелді**, олардың концентрациясы жасушаға осы ақуыздар қажет болғанда ондаған немесе мыңдаған есе артуы мүмкін;
- **репрессияланатын**, олардың синтез жылдамдығы жасушаның сәйкес ақуыздарға қажеттілігі азайған жағдайда тежелуі мүмкін.

Прокариоттарда ген экспрессиясының реттелуі. Оперон моделі

- 1961 жылы ішек таяқшасының жасушаларында лактозаның ыдырауына қатысатын фермент – β -галактозидаза синтезінің индукциясын зерттегенде, ішек таяқшасы жасушалары глюкоза бар ортада өскенде жасушада β -галактозидазаның 10нан аз молекуласы болатыны анықталды. Егер ортада глюкоза лактозаға ауыстырылса, онда бірнеше минуттан кейін белок синтезінің индукциясы байқалады, ал лактозаны утилизациялау ферменттерінің концентрациясы жүздеген есе артады.

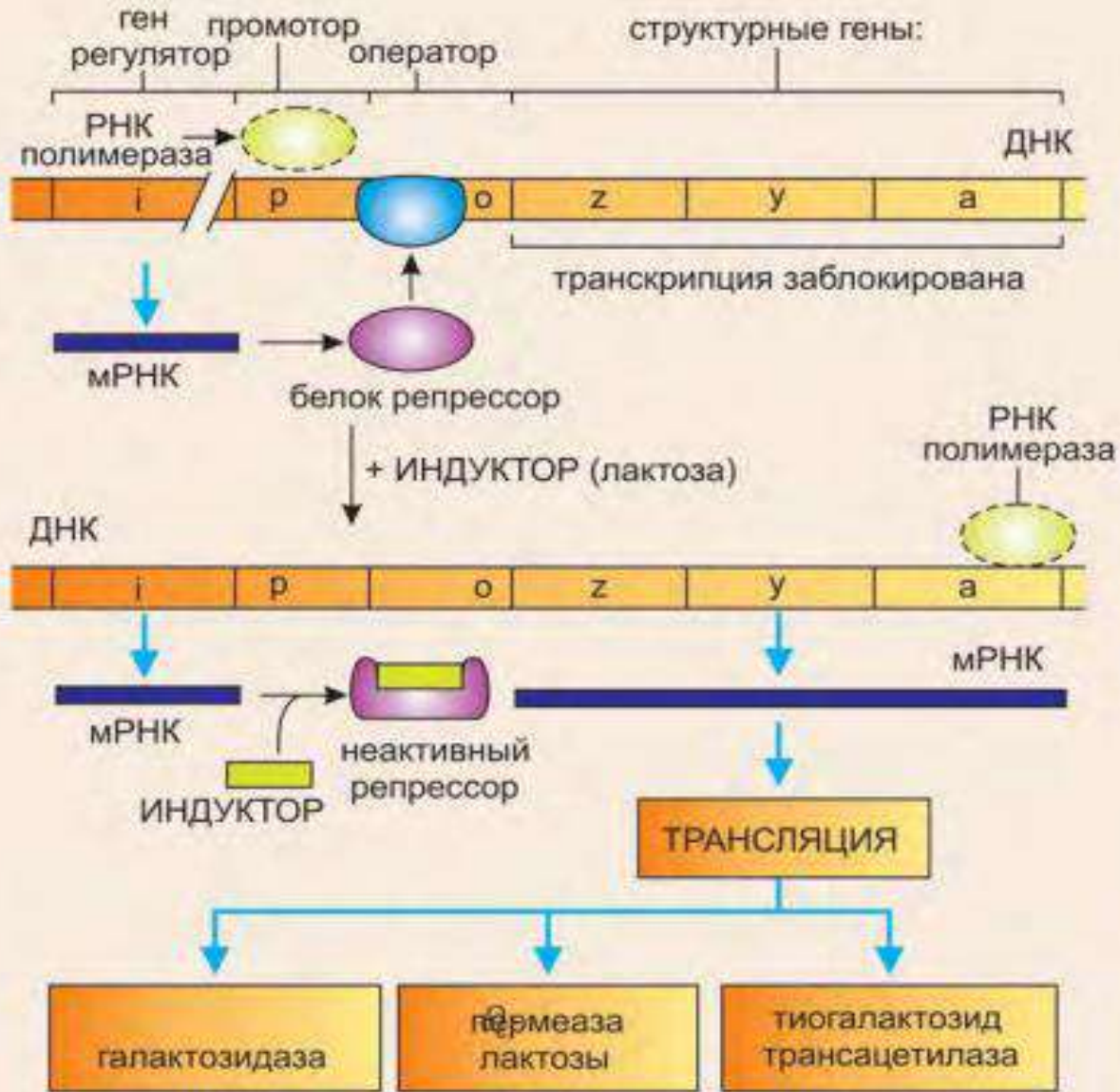


Рис. 3.24. Структура и функционирование лактозного оперона *E. coli*

Е. СОІ ЛАКТОЗАЛЫҚ ОПЕРОНЫ

- **Оперон** - жалпы промотор астындағы прокариоттық гендер тобы. Бұл гендердің барлығы бір ортақ мРНҚ молекуласына транскрипцияланады.
- Бірнеше белоктар туралы ақпаратты қамтитын мРНҚ **полицистрондық** деп аталады.
- Бір белок туралы ақпарат бар ДНҚ немесе РНҚ бөлімі **цистрон** деп аталады.
- Прокариоттарға арналған оперон концепциясын 1961 жылы француз ғалымдары Жакоб пен Моно ұсынды, сол үшін 1965 жылы Нобель сыйлығын алды.

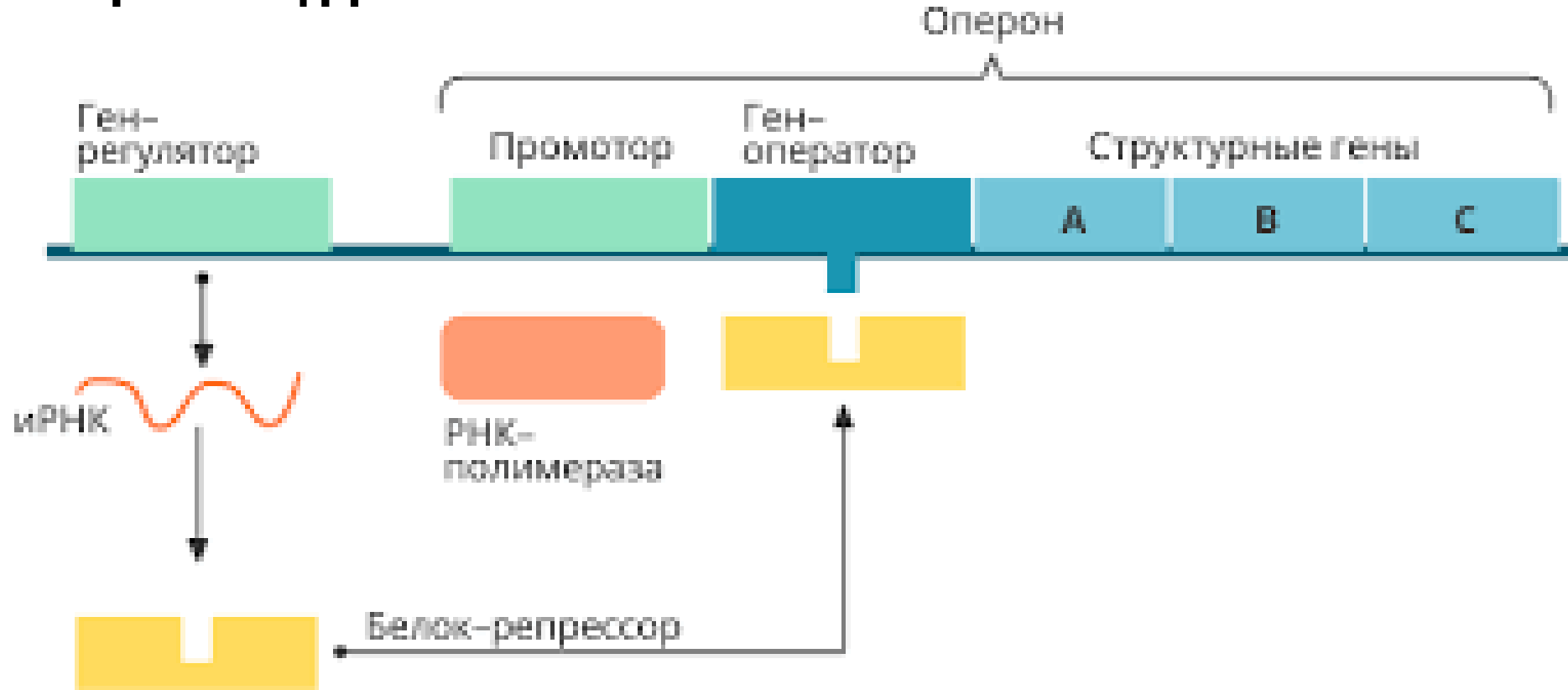


Франсуа Жакоб



Жак Люсьен Моно

Оперон құрылысы



Оперон реттеуші аудан: РНҚ полимеразаны бекітуге арналған (**P_{lac}**) **промотордан** басталады. Келесі бөлім, **оператор (O)** промотормен қабаттасып жатады. Реттеуші **белок-репрессор** онымен байланыса алады. Репрессор промоторды блоқтайды және осылайша геннің транскрипциясын болдырмайды. Белок-репрессор өзі әдетте оперонның бөлігі болып табылмайтын арнайы **реттегіш генмен (P_i)** кодталады. Оператордан кейін үш ферменттің **құрылымдық гендері** келеді. Оперон РНҚ-полимераза қозғалысын және оперонның транскрипциясын тоқтататын **терминатормен** аяқталады.

Оперон белсенділігін реттеу принципі

Оперон белсенділігін реттеу принципі мынада: белок-репрессордың операторға жақындығына ферменттері осы оперонмен кодталатын реакциялар тізбегінің метаболиттері әсер етуі мүмкін.

Осыған байланысты оперондардың екі түрі ажыратылады.

1 Индукцияланатын оперондар

2 Репрессиялық оперондар

Индукцибелді оперон:

- бақыланатын реакциялар тізбегінің бастапқы субстраты (So) реттегіш болып табылады;
- бұл субстрат болмаған кезде белок-репрессордың операторға жақындығы жоғары, сондықтан РНҚ-полимераза оперон гендерін транскрипциялай алмайды (оперон «өшірілген»);
- жасушада So метаболитінің жинақталуымен оның белгілі бір мөлшері белок-репрессормен байланысады, соңғысының операторға жақындығын төмендетеді; оперонды «қосады» және So затының ыдырауын қамтамасыз ететін ферменттер синтезделеді.
- Көріп отырғанымыздай, оперонның So затымен реттелуі тікелей оң қатынастың мысалы болып табылады: бастапқы субстрат ақыр соңында оның метаболизмінің реакцияларын ынталандырады.

Репрессибелді оперон:

- бақыланатын реакциялар тізбегінің соңғы өнімі (P_n) реттегіш болып табылады;
- бұл өнім болмаған жағдайда белок-репрессордың операторға жақындығы төмен; сондықтан РНК полимераза оперонның гендерін транскрипциялайды - оперон «қосылады» және P_n затының түзілуіне ықпал ететін ферменттер синтезделеді;
- P_n жинақталуымен оның белгілі бір мөлшері белок-репрессормен байланысады және соңғысының операторға жақындығын арттырады - оперон «өшеді», сәйкес ферменттердің синтезі және P_n метаболитінің түзілуі тоқтайды.
- Мұнда, алдыңғы жағдайдан айырмашылығы, біз теріс кері байланыс түрі бойынша реттеуді көреміз: метаболит, сайып келгенде, оның пайда болуына әкелетін реакцияларды тежейді.

Конститутивтік гендер және белоктар

Көптеген гендер **конститутивті**, яғни олар әрқашан белсенді күйде болады және олардың транскрипция жылдамдығы селективті реттеуге жатпайды. Мұндай гендер жасушаға үнемі қажетті белоктарды (соның ішінде ферменттерді) кодтайды. Бұл белоктар (сонымен қатар гендер) конститутивтік деп те аталады. *Escherichia coli* үшін мұндай ақуыздарға, мысалы, глюкоза алмасуының ферменттері жатады. Бірақ әртүрлі конститутивтік гендердің транскрипция жылдамдығы сәйкес келмеуі мүмкін.

Мұның бірнеше себептері болуы мүмкін.

а) Олардың бірі **промоторлардың РНҚ-полимеразаға әртүрлі жақындығы** немесе промоторлардың әртүрлі «күші» болып табылады. Кейбір конститутивтік гендерде промотордың РНҚ-полимеразаға жақындығы жоғары («күшті»). Сондықтан мұндағы РНҚ-полимераза молекулалары промотормен жиі байланысады, сондықтан бір уақыт бірлігінде мРНҚ көшірмелерінің көп саны түзіледі. Басқа гендердің промоторларының РНҚ-полимеразаға жақындығы төмен. Тиісінше, бұл ферменттің молекулалары сирек байланысады және мРНҚ көшірмелері әлдеқайда аз түзіледі.

б) **Екінші ықтимал себеп РНҚ-полимеразаның өзінде жатыр.**

Бактерия жасушасының өмір сүруінің әртүрлі жағдайында әртүрлі промоторларды танитын сигма факторлары қалыптасады. Осылайша, ерекше сигма факторлары қарапайым жағдайларға, азоттық аштыққа, жылу соққысына және споралану жағдайына сәйкес келеді. Осы жағдайлардың әрқайсысында РНҚ-полимераза кейбір гендердің промоторларымен байланысады және басқа гендердің промоторларымен байланыспайды.

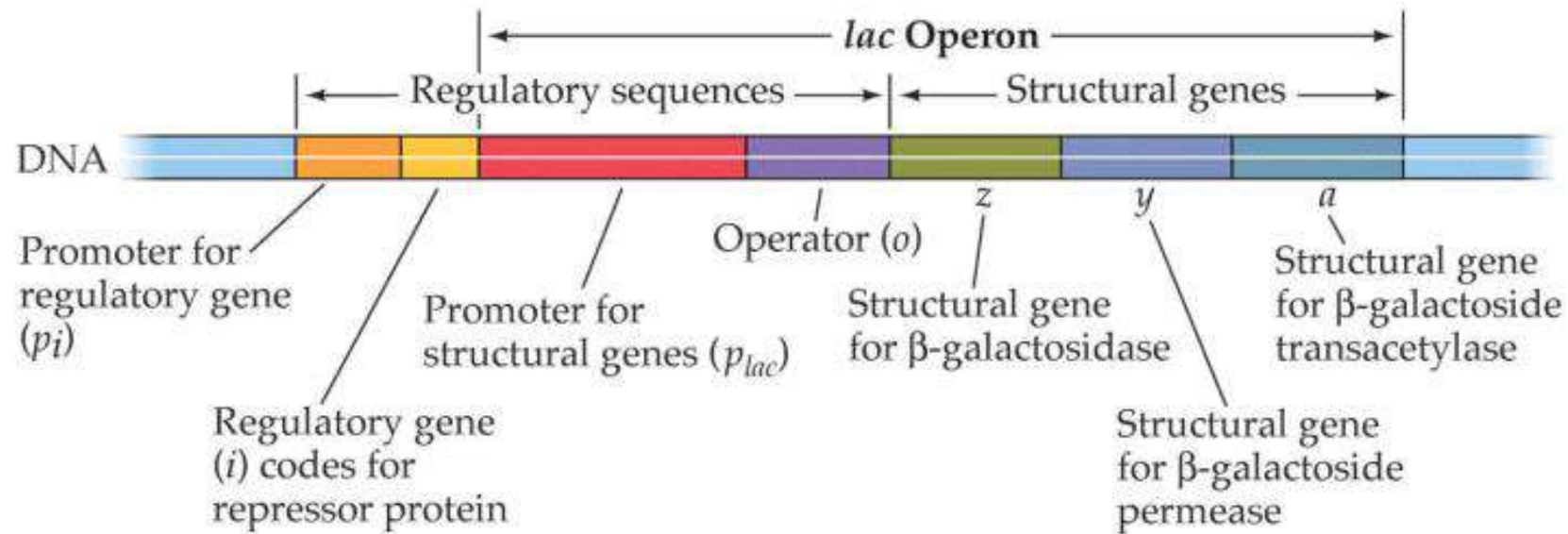
Осылайша, бактерияларда ген экспрессиясын реттеудің екі негізгі әдісі қолданылады:

- РНҚ-полимеразаның промоторлармен байланысуын реттеу (промотордың табиғатына, РНҚ-полимеразаның сигма-факторының табиғатына, сондай-ақ лактоза опероны мысалында көретініміздей, арнайы CAP ақуызына байланысты);- байланысқан РНҚ
- полимеразаның промотордан құрылымдық гендерге қозғалысын реттеу («таза» оперондық реттеу механизмінде).

ГЕНДІК БЕЛСЕНДІЛІКТІ РЕТТЕУДЕГІ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ЕМЕС ФАКТОРЛАР

- Транскрипция сатысында ген экспрессиясын реттеуге генетикалық факторлармен қатар генетикалық емес факторлар, **эффекторлар** қатысады. Оларға реттеуші белоктармен әрекеттесетін және олардың операторлардың нуклеотидтер тізбегімен байланысу қабілетін өзгертетін белокты емес табиғаттағы заттар жатады.
- Осындай әрекеттесу нәтижелеріне қарай эффекторлар транскрипцияны бастайтын **индукторлар** және оны болдырмайтын **корпрессорлар** болып бөлінеді.
- **Индукторлар** белок-репрессорларды инактивациялап, операторлармен байланысуына жол бермеуі мүмкін немесе белок-активаторлардың (апоиндукторлардың) олармен байланысу қабілетін арттырып, РНҚ полимеразаының промотормен байланысуын жеңілдетуі мүмкін. Реттеуші белоктарға осындай әсер ету нәтижесінде реттелетін гендер белсенді түрде транскрипцияланады.
- **Корепрессорлар** апоиндукторларды модификациялап операторлармен байланысу қабілетін жоюы немесе белсенді емес күйдегі репрессорларды белсендіруі мүмкін. Эффектордың реттеуші ақуыздармен бұндай әрекеттесуінің салдары РНҚ-полимеразаының промотормен байланысуының мүмкін еместігі және транскрипцияның жүрмеуі болып табылады.

Лактоза опероны индукцияланатын оперонның мысалы



Лактоза опероны (*lac operon*) үш құрылымдық геннен, промотордан, оператордан және терминатордан тұрады. Оперонның құрамына белок-репрессорды кодтайтын реттеуші ген де кіреді (бірақ ол геномның басқа бөлігінде орналасқан және лактоза оперонымен ортақ промоторы жоқ).

Лактоза оперонының құрылымдық гендері – *lacZ*, *lacY* және *lacA*:

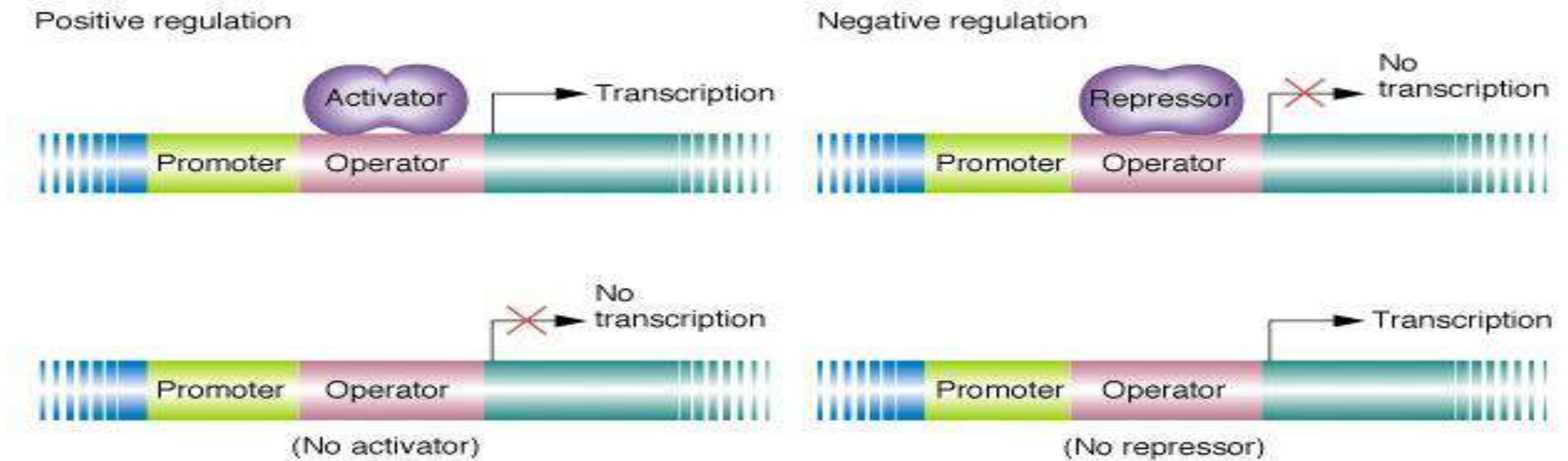
lacZ дисахарид лактозаны глюкоза мен галактозаға ыдырататын β -галактозидаза ферментін кодтайды,

lacY жасушаға лактозаны тасымалдайтын мембраналық тасымалдаушы ақуызды β -галактозидпермеазаны кодтайды.

lacA ацетил тобын ацетил-КоА-дан β -галактозидтерге тасымалдайтын фермент β -галактозидтрансацилазаны кодтайды.

Лактозаның катаболизмі тек *lacZ* және *lacY* гендерінің өнімдерін қажет етеді; *lacA* ген өнімінің рөлі анық емес.

Реттеу механизмдері



- Нақты реттеуші элементтердің әсерінен геннің экспрессия деңгейі жоғарылағанда реттеу *оң* не *позитивті* деп аталады.
- Егер геннің экспрессия деңгейі төмендесе, онда *теріс* не *негативті* реттеу туралы айтады.
- Теріс реттеуге «делдал» ретінде қатысатын реттеуші элемент немесе молекула *теріс реттегіш* деп аталады;
- оң реттеуді жүзеге асыратын элементтер *позитивті реттеушілер* болып табылады.

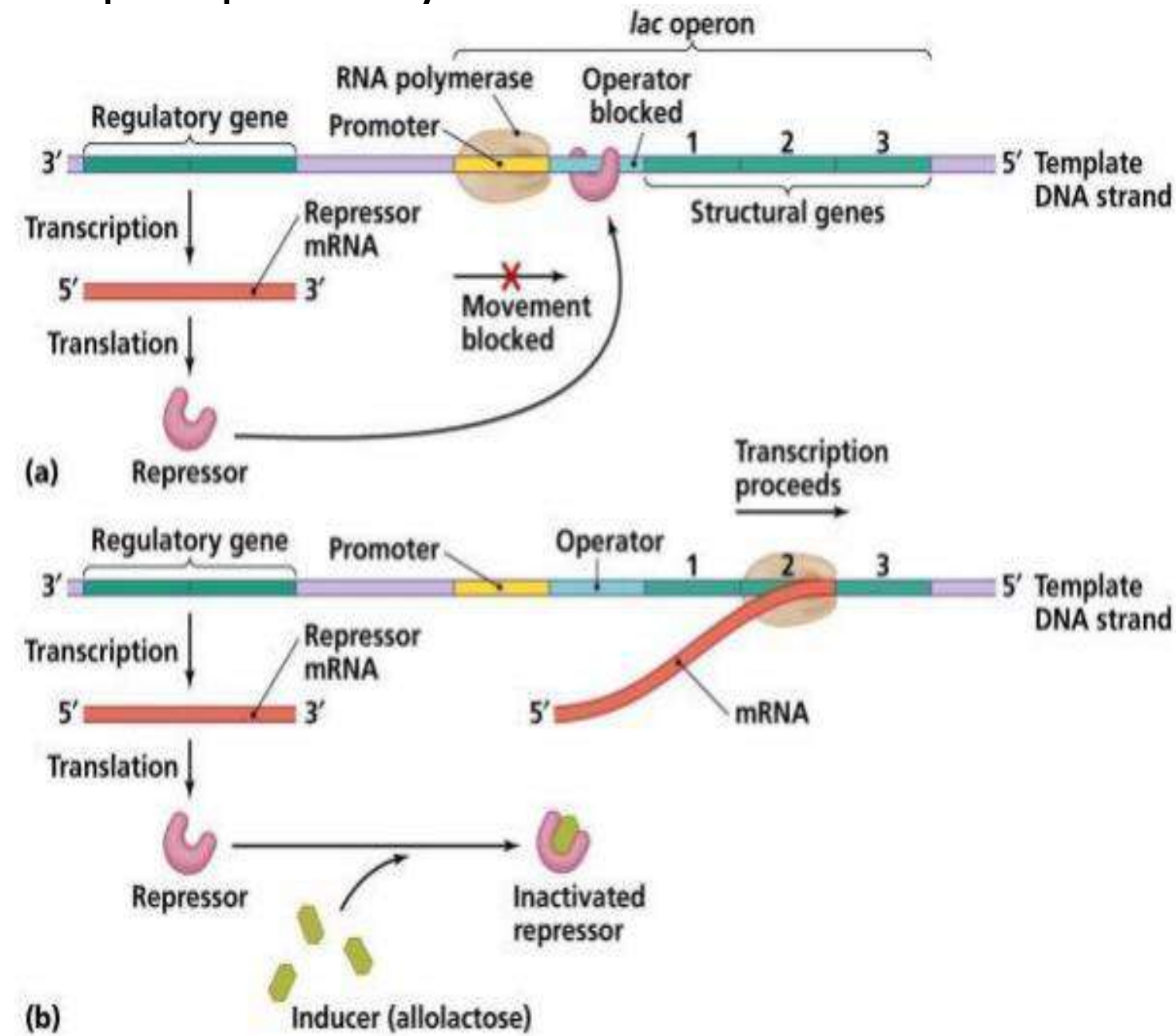
Теріс реттеу механизмі



Лас-оперон индукциясының механизмі қазіргі уақытта жақсы түсінілген. Лас-оперонның қалыпты ген-регуляторының экспрессиясы тұрақты жылдамдықпен белок-репрессор суббірліктерін өндіруінде көрінеді. Лас-репрессор молекуласы төрт бірдей суббірліктерден тұрады.

Репрессор ген-регулятордың өнімі болып табылады және сәйкес оператор локусына жоғары жақындығы бар

Теріс реттеу механизмі



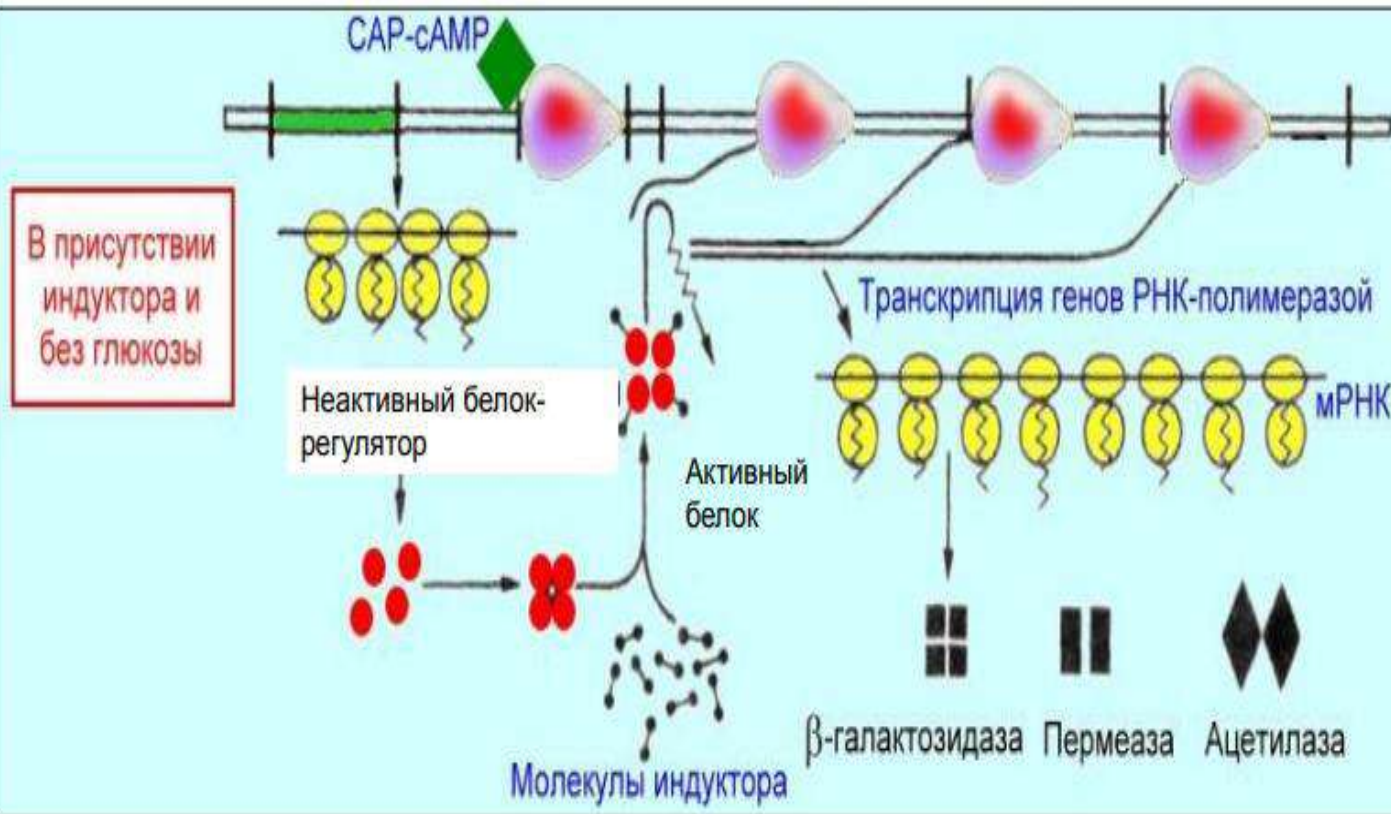
Лактоза болмаған жағдайда белок-репрессор оператормен байланысады және РНҚ-полимеразаның ДНҚ бойымен қозғалуына жол бермейді. Операторға қосыла отырып, репрессор Z, Y және A құрылымдық гендерінің транскрипциясын болдырмайды. Осылайша, репрессор теріс реттегіш болып табылады; оның қатысуымен Z, Y және A гендерінің экспрессиясы басылады. Белок-репрессор молекулаларының жасушаға түсетін индукторлық молекула - лактозаға жақындығы бар. Ортада индуктор, лактоза пайда болып, белок-репрессорға қосылғанда, соңғысы конформациясын өзгертіп, операторға жақындығын жоғалтады. РНҚ-полимераза промотормен байланысады, құрылымдық гендер транскрипцияланады және бір полицистрондық мРНҚ молекуласы синтезделеді, оның құрамында үш ақуыз: β -галактозидаза, пермеаза және жасушалардың лактозаны кәдеге жарату үшін қажетті галактозид трансацетилаза туралы ақпараты бар. **Индукцияның бұл түрі теріс деп аталады.**

Катаболиттік репрессия

Глюкоза болған жағдайда лактозаның, арабинозаның және басқа екіншілік қанттардың катаболизміне қажетті гендердің экспрессиясы катаболиттік репрессия деп аталатын реттеуші механизммен шектеледі. *E. coli* жасушаларын жалғыз көміртегі көзі ретінде лактоза мен глюкоза қоспасы бар ортада өсіргенде, алдымен глюкоза қолданылады. Ортада глюкоза таусылғаннан кейін лактоза оперонының индукциясы өткенше жасушаның өсуі уақытша тоқтайды.

Егер жасушадағы глюкозаның концентрациясы метаболизмді сақтау үшін жеткілікті болса, лактозаны пайдаланудың биологиялық мәні жоқ болғандықтан, лактоза оперонының белсендіруі болмайды. Тиісінше, глюкоза көп мөлшерде лактоза болған жағдайдың өзінде де лактоза оперонының белсендірілуіне жол бермейді.

Позитивті реттеу



Лактоза оперонындағы (және оған ұқсас оперондарда) промоторлық аймақ әдеттегіден кеңірек және тек РНҚ-полимеразаны ғана емес, сонымен қатар арнайы ақуызды - САР (catabolite gene activator protein), ақуыз катаболизмінің активаторын байланыстыруға қабілетті. САР болмаған жағдайда РНҚ-полимераза лактоза оперонының промоторымен өте нашар байланысады, ал САР промотордың құрылымын өзгертіп, оның РНҚ-полимеразаға жақындығын күрт арттырады. Негізінде, САР эукариоттардағы жалпы транскрипция факторларына ұқсас бактерияларда рөл атқарады. САР-тің промотормен байланысуы тек САР циклдік АМР (сАМР) комплекске біріктірілгенде болады.

Соңғысы аденилатциклаза ферментінің әсерінен АТФ-дан түзіледі. Жасушадағы глюкозаның концентрациясы төмендеген кезде аденилатциклаза ферменті белсендіріледі, ол АТФ циклдік түрге - сАМР (жасуша аштық сигналы) айналуын катализдейді. Глюкоза болмаған жағдайда аденилатциклазаның белсенділігі жоғары және жасушада сАМР жеткілікті концентрациясы бар, сондықтан САР промоторымен байланысып оның РНҚ-полимеразамен жеңіл байланысуына алып келеді. Бұл жағдайларда оперонның белсенділігі оператордың бос немесе бос еместігіне, яғни сыртқы ортада лактозаның болуына байланысты. Егер глюкоза бар болса, онда аденилатциклазаның белсенділігі төмендейді, соның салдарынан промотор САР-сыз қалады және РНҚ-полимеразаға жақындығын іс жүзінде жоғалтады. Глюкоза аденилатциклаза ферментінің ингибиторы болып табылады және сАМР молекуласының АМР-ге айналуын катализдейтін фермент - фосфодиэстеразаны белсендіреді. Лактоза опероны жұмыс істемейді, ал глюкоза қоректік субстрат ретінде пайдаланылады.

Лактозаны қорытуға арналған ферменттер *E. coli* жасушасында екі жағдайда синтезделеді:

1. лактозаның болуы;
2. глюкозаның жетіспеушілігі.

Лактозаның концентрациясына байланысты лактоза оперонының жұмысын реттеу теріс кері байланыс принципі бойынша жүреді:

лактоза неғұрлым көп болса, оның катаболизміне арналған ферменттер соғұрлым көп (оң тура байланыс);

ферменттер неғұрлым көп болса - соғұрлым лактоза аз, неғұрлым лактоза аз болса - соғұрлым аз ферменттер өндіріледі (қос теріс кері байланыс)



**+ ГЛЮКОЗА
+ ЛАКТОЗА**



Оперон **выключен**, т.к. отсутствует активатор CAP

**+ ГЛЮКОЗА
- ЛАКТОЗА**



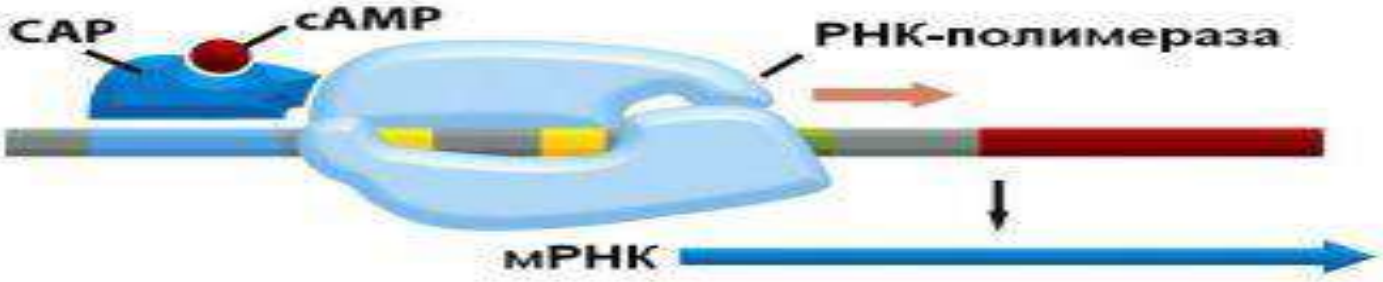
Оперон **выключен**, т.к. отсутствует активатор CAP и присутствует репрессор

**- ГЛЮКОЗА
- ЛАКТОЗА**



Оперон **выключен**, т.к. присутствует репрессор

**- ГЛЮКОЗА
+ ЛАКТОЗА**



Оперон **ВКЛЮЧЕН**

Триптофан опероны

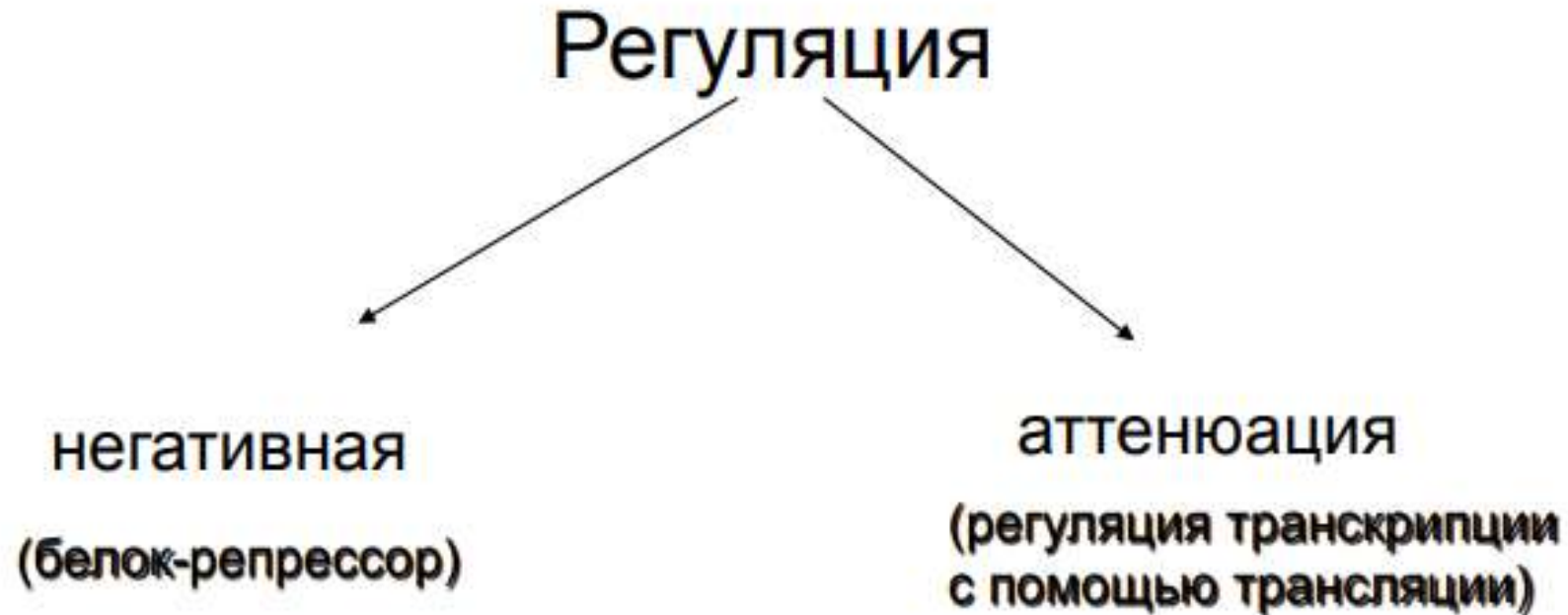
Триптофан опероны репрессивті оперонның мысалы болып табылады.

Триптофан опероны, лактоза опероны сияқты, реттеудің қосарлы механизміне ие.

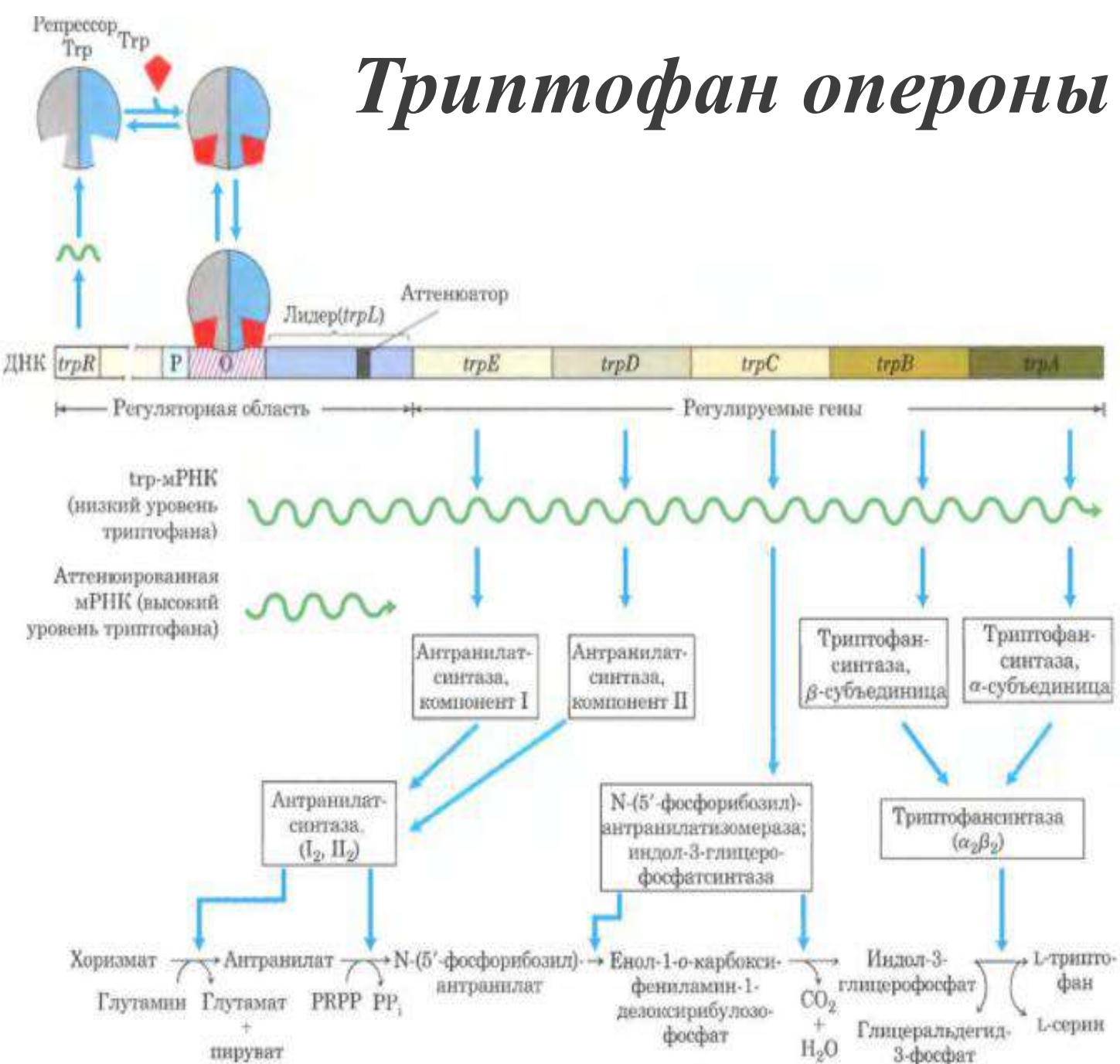
Біріншіден, әдеттегідей, оператор бойымен РНҚ-полимеразаның қозғалысы реттеледі.

Екінші (және аса сезімтал) реттеу объектісі РНҚ-полимеразаның промотормен байланысуы емес, аттенюатордағы транскрипцияның аяқталуы болып табылады.

Әдетте, аттенюаторы бар оперондар репрессибилді болып келеді және қажетті компоненттің синтезін (анаболизмін) бақылайды, мысалы, сирек амин қышқылдары: триптофан, гистидин, фенилаланиннің.

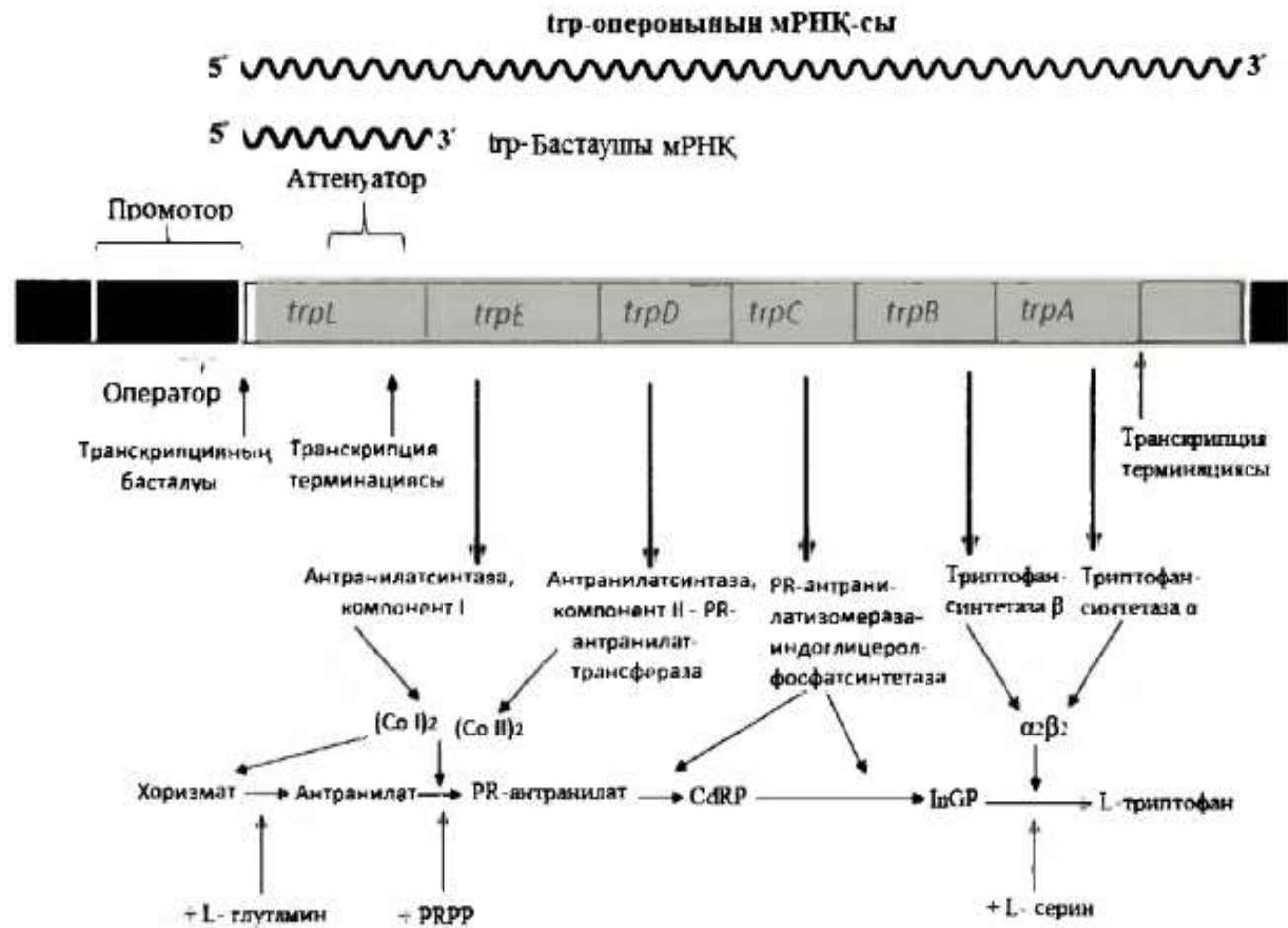


Триптофан опероны



Триптофан опероны құрамында хоризматты триптофанға айналдыруға қажетті төрт ферментті кодтайтын 5 цистрон бар. *trp* оперон мРНК-ның жартылай ыдырау периоды небәрі үш минутты құрайды, сондықтан жасуша осы амин қышқылына деген өзгермелі қажеттіліктерге тез жауап бере алады.

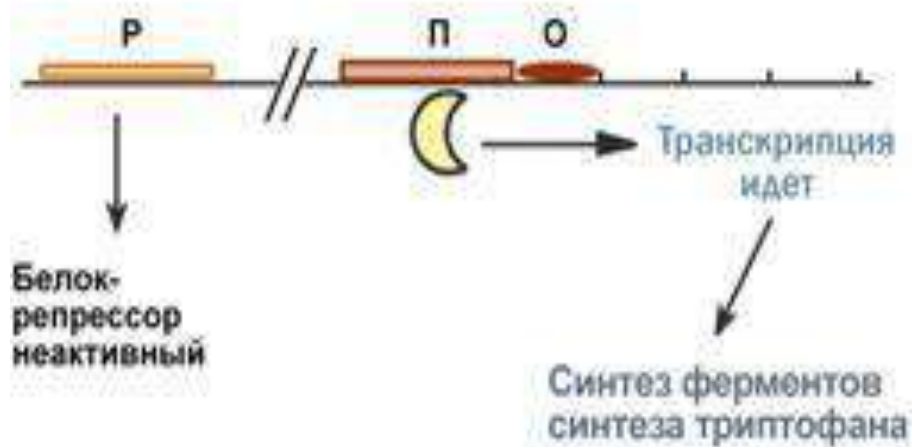
Триптофан *E.coli*-де бес түрлі белоктан тұратын ферменттік комплекспен катализденетін бірінен соң бірі қатар келетін бес түрлі реакцияның нәтижесінде хоризм қышқылынан синтезделеді. Ферментативтік реакциялардың бұл тізбегі *Trp* оперонды құрайтын бес құрылымдық генмен кодталады **TrpA** және **trpB** гендері өз кезегінде **альфа** және **ветта** триптофансинтетаза суббірліктерін анықтайды. **trpE** және **trpD** гендерінің өнімдері бірігіп, антрацилсинтетаза ферментін түзеді, ал **trpC** гені индолглицерофосфатсинтетаза ферментін кодтайды. *Trp* оперонымен кодталатын белоктар бірлескен түрде шамамен бірдей мөлшерде промотормен транскрипцияланатын ұзындығы 7000 нуклеотидтен тұратын полицистронды мРНК, трансляциясы кезінде пайда болады. Ортада бактерияның өсуіне жеткілікті мөлшерде триптофан болған жағдайда *E.Coli* клеткасы өте аз мөлшерде триптофан биосинтезіне қажет ферменттерді түзе алады. Алайда клеткада экзогенді триптофан жоқ болса, барлық бес ферменттің де біршама қарқынды синтезі басталады.



7.5-сурет. *E.coli*-дің триптофан опероны. *TrpL*, *trpE*, *trpD*, *trpC*, *trpB* және *trpA* құрылымдық гендерінің өнімдері әрі олардың көмегімен катализденетін реакциялар. Қысқартылған сөздер: PR – фосфорибозил, PRPP – фосфорибозилпирофосфат, CdRP – карбоксифениламинодезоксирibuлозафосфат, InGP – индолглицерофосфат [Сингер, Берг, 1998. – С. 178]

Триптофан оперонының реттелуі

Отсутствие триптофана

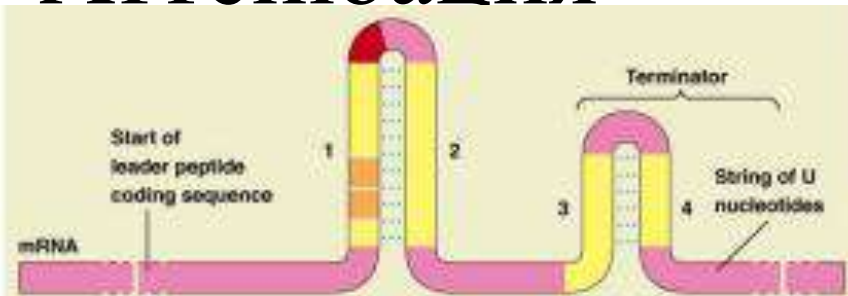


Наличие триптофана

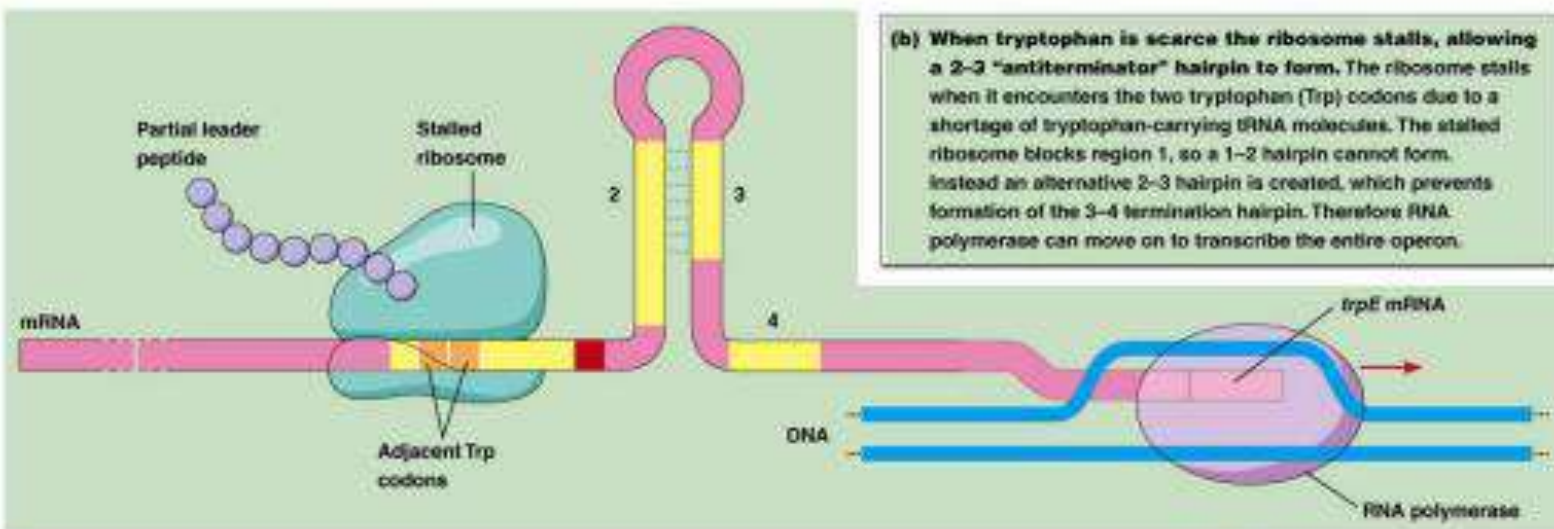


- Trp-репрессоры гомодимер болып табылады, 107 амин қышқылы қалдықтарынан тұратын әрбір суббірлігі (сұр және көк) ДНҚ-мен спираль-бұрылу-спираль (1PDB 1D 1TRO) мотивтері арқылы байланысады.
- Триптофан көп болған кезде ол Trp-репрессорымен байланысады және оның конформациясын өзгертеді, бұл репрессорға trp-операторымен байланысып, trp-оперонының экспрессиясын блоктауға мүмкіндік береді. trp операторының орны промотормен қабаттасып жатады, сондықтан репрессорды байланыстыру РНҚ полимераза байланысын блоқтайды. Бұл реттеу түрі соңғы өніммен репрессиялану деп аталады. Жасушадағы триптофан концентрациясының ауытқуымен осы биосинтетикалық жолдың ферменттерінің синтезінің жылдамдығы 700 еседен астам өзгереді.

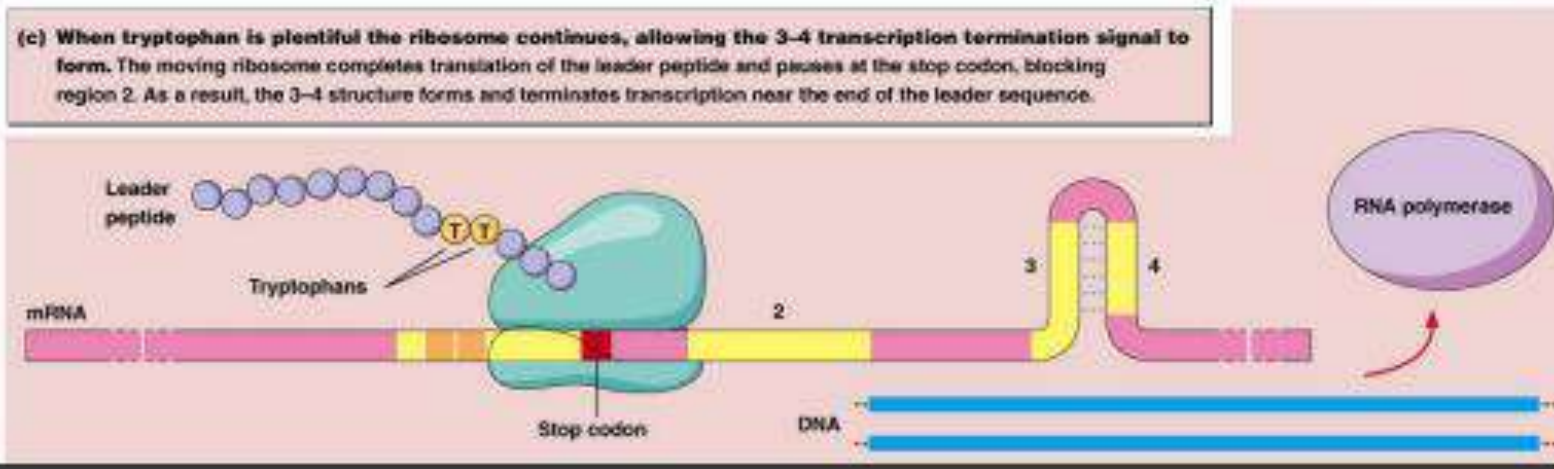
Аттенуация



(a) The most stable secondary structure for *trp* leader mRNA. Attenuation depends on the ability of regions 1 and 2 and regions 3 and 4 of the *trp* leader sequence to base-pair, forming hairpin secondary structures. The 3-4 hairpin structure acts as a transcription termination signal.



(b) When tryptophan is scarce the ribosome stalls, allowing a 2-3 "antiterminator" hairpin to form. The ribosome stalls when it encounters the two tryptophan (Trp) codons due to a shortage of tryptophan-carrying tRNA molecules. The stalled ribosome blocks region 1, so a 1-2 hairpin cannot form. Instead an alternative 2-3 hairpin is created, which prevents formation of the 3-4 termination hairpin. Therefore RNA polymerase can move on to transcribe the entire operon.



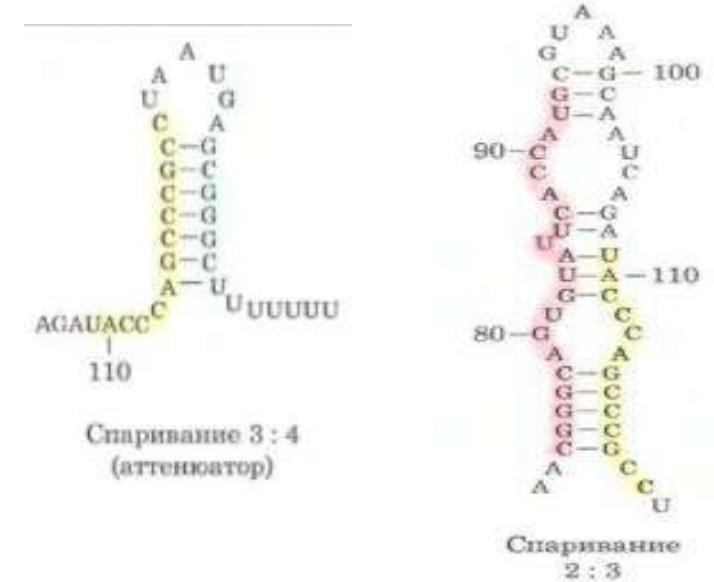
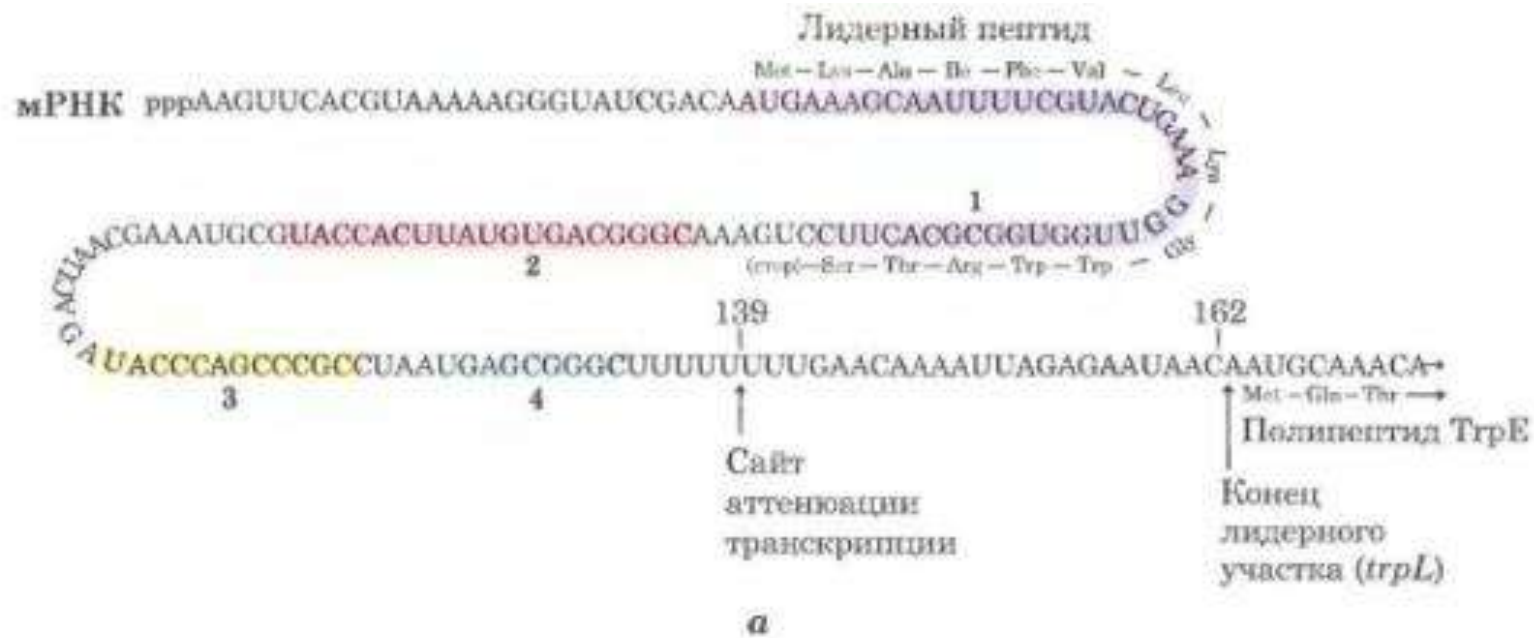
(c) When tryptophan is plentiful the ribosome continues, allowing the 3-4 transcription termination signal to form. The moving ribosome completes translation of the leader peptide and pauses at the stop codon, blocking region 2. As a result, the 3-4 structure forms and terminates transcription near the end of the leader sequence.

Осы типтегі оперондарда промоутер мен оператордан кейін **лидерлік бөлім** орналасқан; ол **аттенуатормен** аяқталады. Бұл бөлімнің транскрипциясы процесінде мРНҚ-ның **лидерлік аймағы** түзіледі. Соңғысы рибосоманы бірден байланыстырады және **лидерлік пептидтің (ЛП)** түзілуімен трансляцияны бастайды. Оның **14 амин қышқылы қалдығының ішінде 2 триптофан қалдығы** болады.

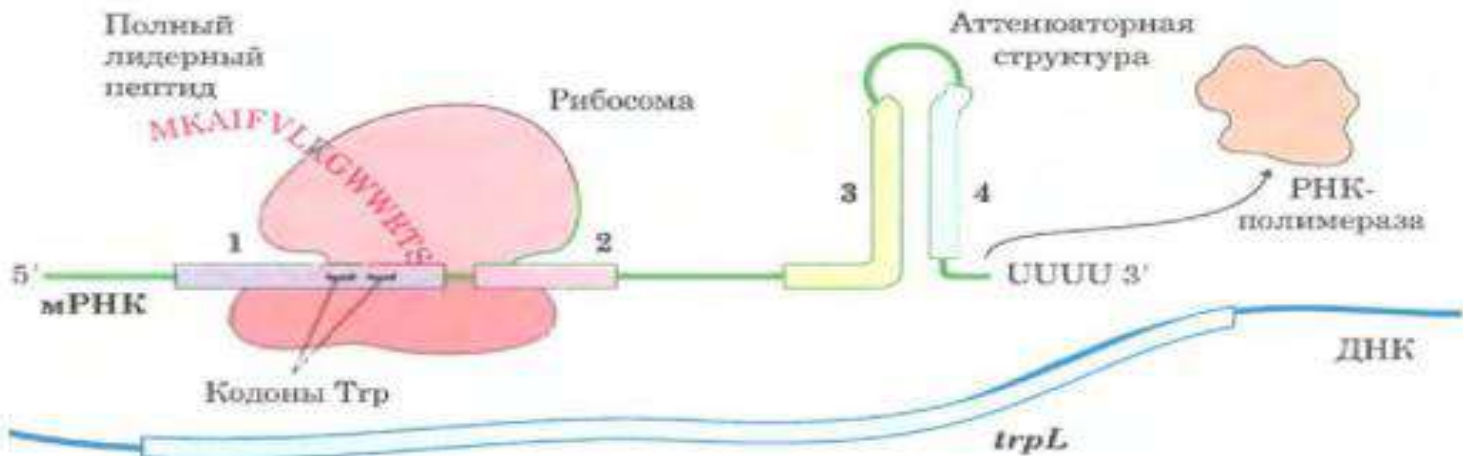
Жасушада триптофан жеткілікті болған кезде ЛП синтезі кідіріссіз жүреді: оны түзетін рибосома РНҚ-полимеразадан қалыспайды. РНҚ полимеразасы аттенуаторға жеткенде, транскрипцияның аяқталуы туралы сигнал іске қосылады: РНҚ полимераза ДНҚ-дан диссоциацияланып, гендер транскрипцияланбайды.

Керісінше, **жасушадағы триптофан концентрациясы төмен болса**, онда рибосома ЛП синтезінде кешігеді және РНҚ-полимеразадан артта қалады. Бұл ДНҚ немесе мРНҚ лидерлік тізбегінің конфигурациясын аттенуатордағы трансляцияның аяқталуы туралы сигнал жұмыс істемейтіндей етіп өзгертеді. РНҚ полимераза осы «қауіпті» учаске арқылы өтіп, гендерді транскрипциялайды. Демек жасушадағы триптофанның қорын толықтыруға қажетті ферменттер белсенді түрде синтезделеді.

Аттенюация механизмі

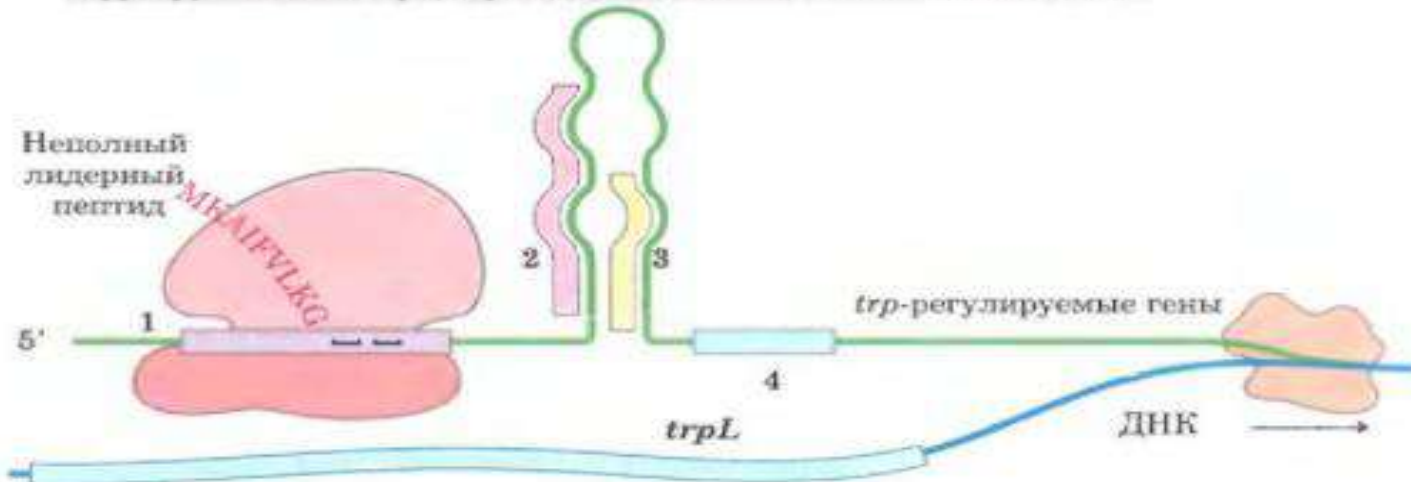


trp-оперонының аттенюация механизмі мРНҚ-ның 5' соңындағы бірінші геннің инициациялық кодонының алдында орналасқан 162-нуклеотидтік лидерлік аймағындағы төрт реттілікпен кодталатын сигналдарды пайдаланады. Лидерлік аймақтың ішінде 3- және 4- реттілікті қамтитын аудан **аттенюатор** деп аталады. Бұл тізбектердің негіздері жұптасып одан кейін бірден U қалдықтарының сериясы жалғасатын G = C-қа бай шпилькалы (сабақ пен ілмек) құрылым түзеді. *Аттенюатор транскрипция терминаторы қызметін атқарады*. 2-ші реттілік 3-ші ретпен де жұптаса алады. Онда аттенюатор түзілмейді, ал триптофан биосинтезінің ферменттерінің гендері қалыпты түрде транскрипцияланады; 3 және 2 тізбегінің жұптасуы арқылы құрылған ілгек те транскрипцияға кедергі жасамайды.



Когда уровень триптофана высокий, рибосома быстро транслирует последовательность 1 (открытая рамка считывания, кодирующая лидерный пептид) и блокирует последовательность 2 до того, пока не транскрибируется последовательность 3. Продолжающаяся транскрипция приводит к аттенуации на подобной терминатору структуре аттенуатора, образованной последовательностями 3 и 4.

Триптофан – сирек кездесетін амин қышқылы (Ішек таяқшасы ақуызының 100 амин қышқылы қалдығында 1 триптофан қалдығы бар), триптофан тапшылығы жағдайында W-tRNA^{Trp}•EF-Tu•GTP кешенінің жасушаішілік концентрациясы өте төмен болады және рибосома триптофан кодондарында «кідіре» бастайды, өйткені сәйкес комплексті тез «табу» мүмкін емес.



Когда уровень триптофана низкий, рибосома приостанавливается на кодонах Trp в последовательности 1. Спаривание последовательностей 2 и 3 предотвращает аттенуацию, потому что теперь последовательность 3 недоступна для образования аттенуаторной структуры с последовательностью 4. Структура 2 : 3, в отличие от аттенуатора из пары 3 : 4, не предотвращает транскрипцию.