

**Конституционные и индуцибельные ферменты.  
Транскрипционная регуляция экспрессии генов.  
Модель Джакоба и Моно.**

**Лектор: Старший преподаватель,  
Кафедры молекулярной биологии и генетики,  
PhD, Смекенов И.Т.  
Предмет: Рекомбинация ДНК**

**(Лекция 9)**

## Цель лекции

Изучить конституционные и индуцибельные ферменты, транскрипционную регуляцию экспрессии генов, а также модель Джакоба и Моно, включая элементы, такие как шайна-дальгарно и ТАТА-бокс.

### • Задачи

1. Рассмотреть различия между конституционными и индуцибельными ферментами и их роли в клеточной метаболической регуляции.
2. Изучить транскрипционную регуляцию экспрессии генов и ключевые элементы, такие как шайна-дальгарно и ТАТА-бокс.
3. Обсудить модель Джакоба и Моно, её значимость для понимания регуляции генов и механизмов работы репрессоров и активаторов.

**Ключевые слова:** Конституционные ферменты, Индуцибельные ферменты, Транскрипционная регуляция, Экспрессия генов, Модель Джакоба и Моно, Шайна-дальгарно, ТАТА-бокс.

# ГЕНОМ прокариот

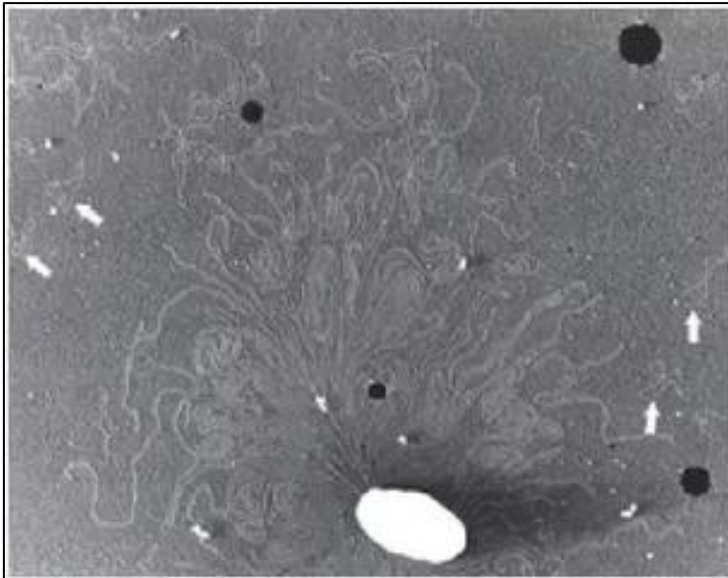


Рис. 16. ДНК из лизированной клетки *E. coli*. Белыми стрелками отмечены кольцевые молекулы плазмид. Белые и черные пятна — артефакты.

## ПРОКАРИОТЫ

1. ДНК кольцевая



2. Гены собраны в кластеры – опероны



3. Интроны отсутствуют

4. Трансляция сопряжена с транскрипцией

## ЭУКАРИОТЫ

1. Ядерная ДНК линейная



2. Опероны практически отсутствуют

3. Есть деление на экзоны и интроны



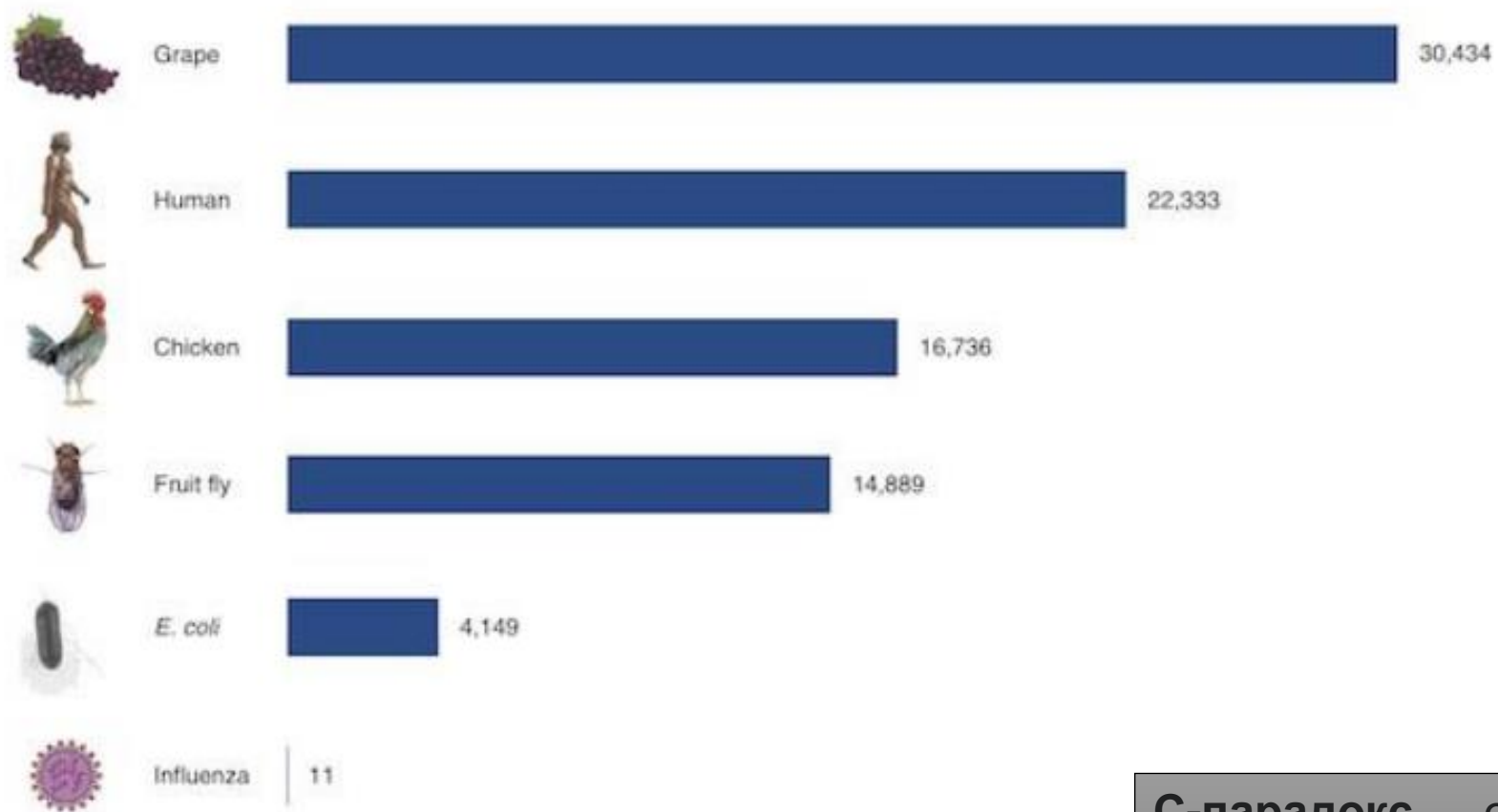
4. Сопряжение трансляции и транскрипции отсутствует

**Таблица. ДНК, гены и хромосомы некоторых организмов**

	Общая ДНК, п.н.	Число хромосом*	Примерное число генов
<i>Escherichia coli</i> (бактерия)	4 639 675	1	4 435
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (дрожжи)	12 080 000	16**	5 860
<i>Caenorhabditis elegans</i> (нематода)	90 269 800	12***	23 000
<i>Arabidopsis thaliana</i> (растение)	119 186 200	10	33 000
<i>Drosophila melanogaster</i> (плодовая мушка)	120 367 260	18	20 000
<i>Oryza sativa</i> (рис)	480 000 000	24	57 000
<i>Mus musculus</i> (мышь)	2 634 266 500	40	27 000
<i>Homo sapiens</i> (человек)	3 070 128 600	46	29 000

## Парадокс количества и сложности:

*“Эволюционное качество” достигается не количеством генов, а их регуляцией.*



**C-парадокс** — отсутствие корреляции между физическими размерами генома и сложностью организмов.

# Типы регуляции активности генов у прокариотов

- **Репрессия** и **индукция** синтеза белков у прокариотов реализуют принципы адаптации к меняющимся условиям существования и клеточной экономии: ферменты появляются в клетках, когда в них существует потребность, и перестают вырабатываться, если потребность исчезает.

Для прокариот также характерно явление **сопряжения транскрипции и трансляции**.

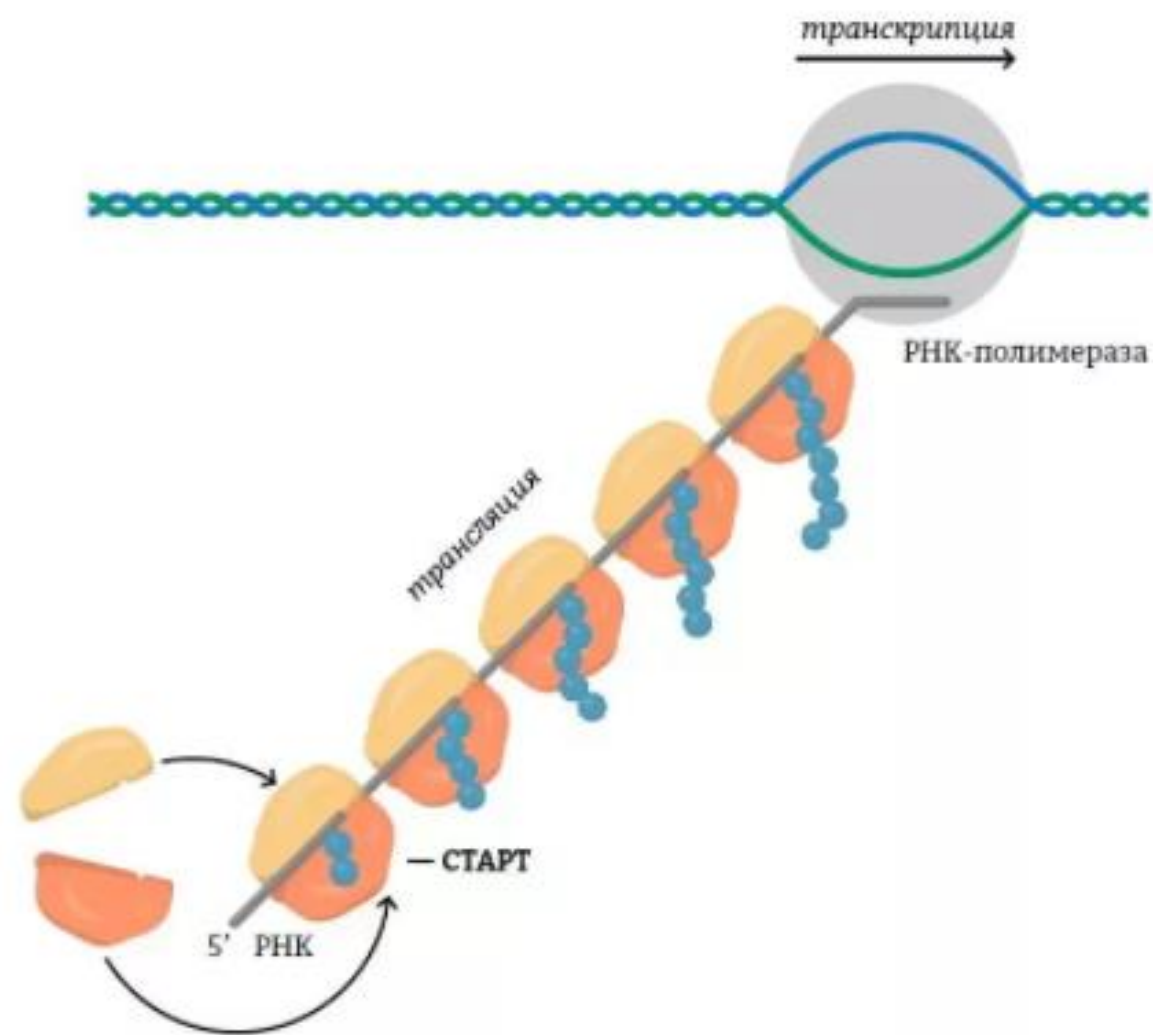


Рис. 19 Явление сопряжения транскрипции и трансляции у прокариот – изображение увеличивается

# Оперонный принцип организации генов у прокариот

## Преимущества оперонной организации генов прокариот:

- компактность
- быстрый ответ на изменения окружающей среды: синтез необходимых ферментов начинается и прекращается в любой момент.
- координация регуляции активности: все гены экспрессируются или не экспрессируются в унисон



# Экспрессируемые гены можно поделить на следующие категории:

- **конститутивные**, присутствующие в клетках в постоянных количествах независимо от метаболического состояния организма;
- **индуцируемые**, их концентрация в обычных условиях мала, но может возрасти в 100 раз и более, если, например, в среду культивирования клеток добавить субстрат такого фермента;
- **репресслируемые**, т.е. ферменты метаболических путей, синтез которых прекращается при добавлении в среду выращивания конечного продукта этих путей.

# Регуляция транскрипции у прокариот

- **Оперон** — функциональная единица генома у прокариот, в состав которой входят цистроны, кодирующие совместно или последовательно работающие белки и объединенные под одним (или несколькими) промоторами.
- **Концепцию оперона** для прокариот предложили в 1961 году французские ученые **Жакоб** и **Моно**, за что получили Нобелевскую премию в **1965** году.

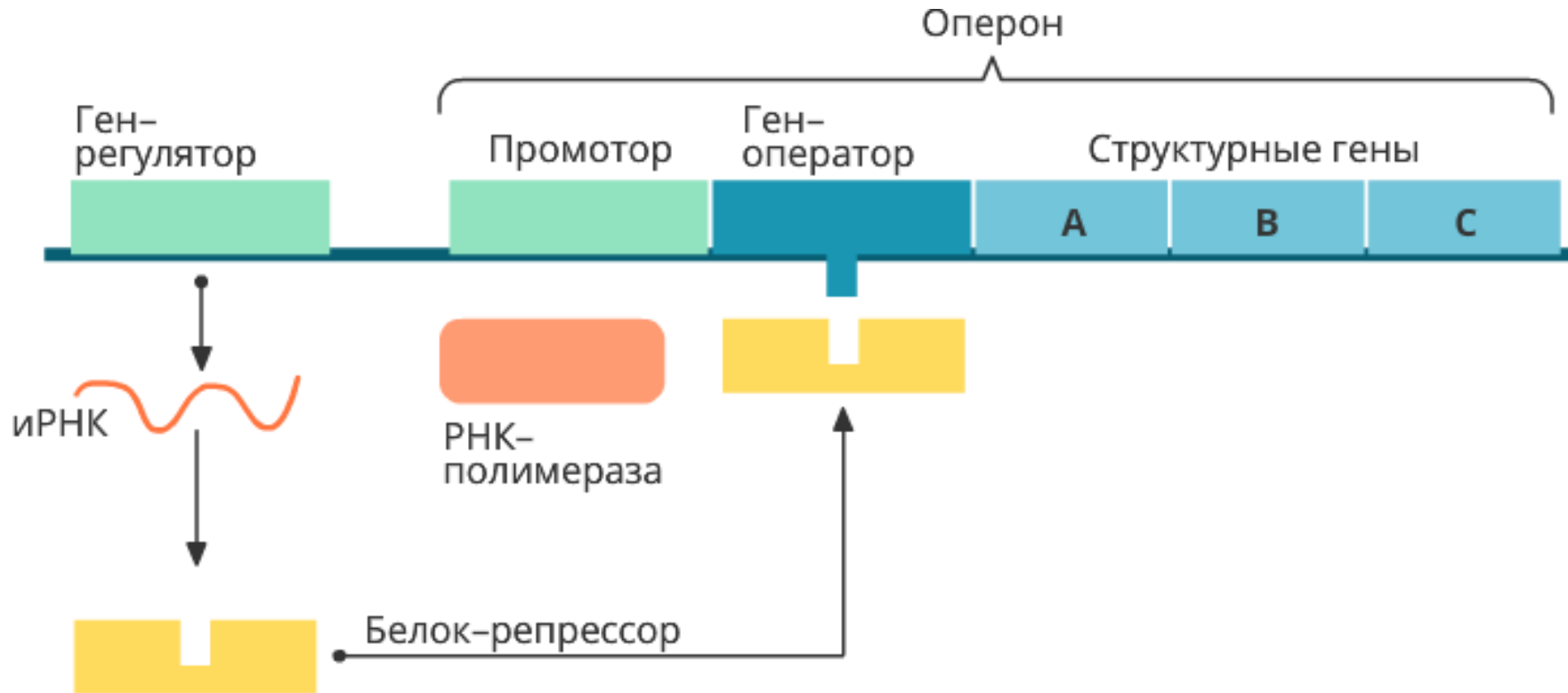


Франсуа Жакоб



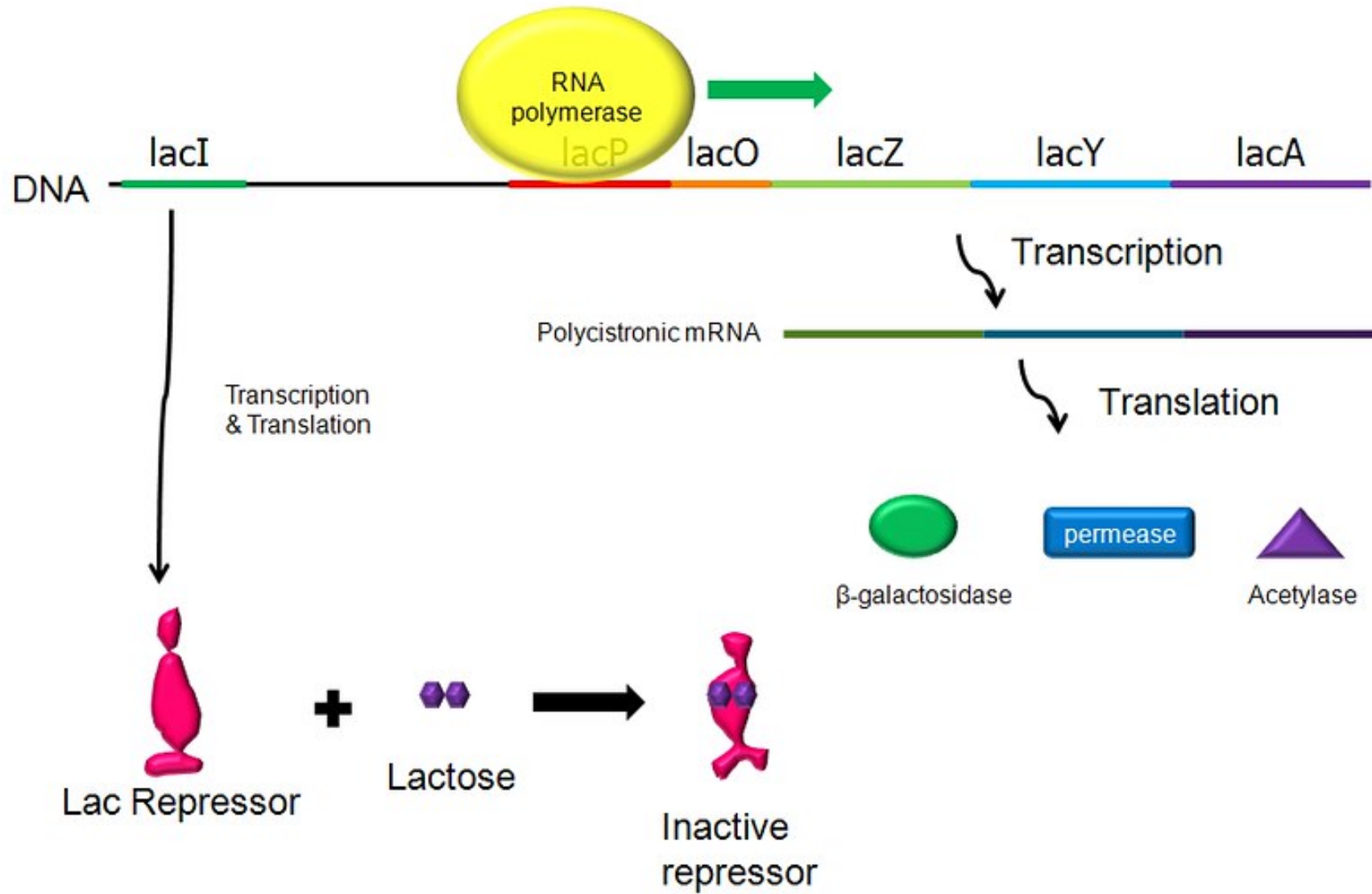
Жак Люсьен Моно

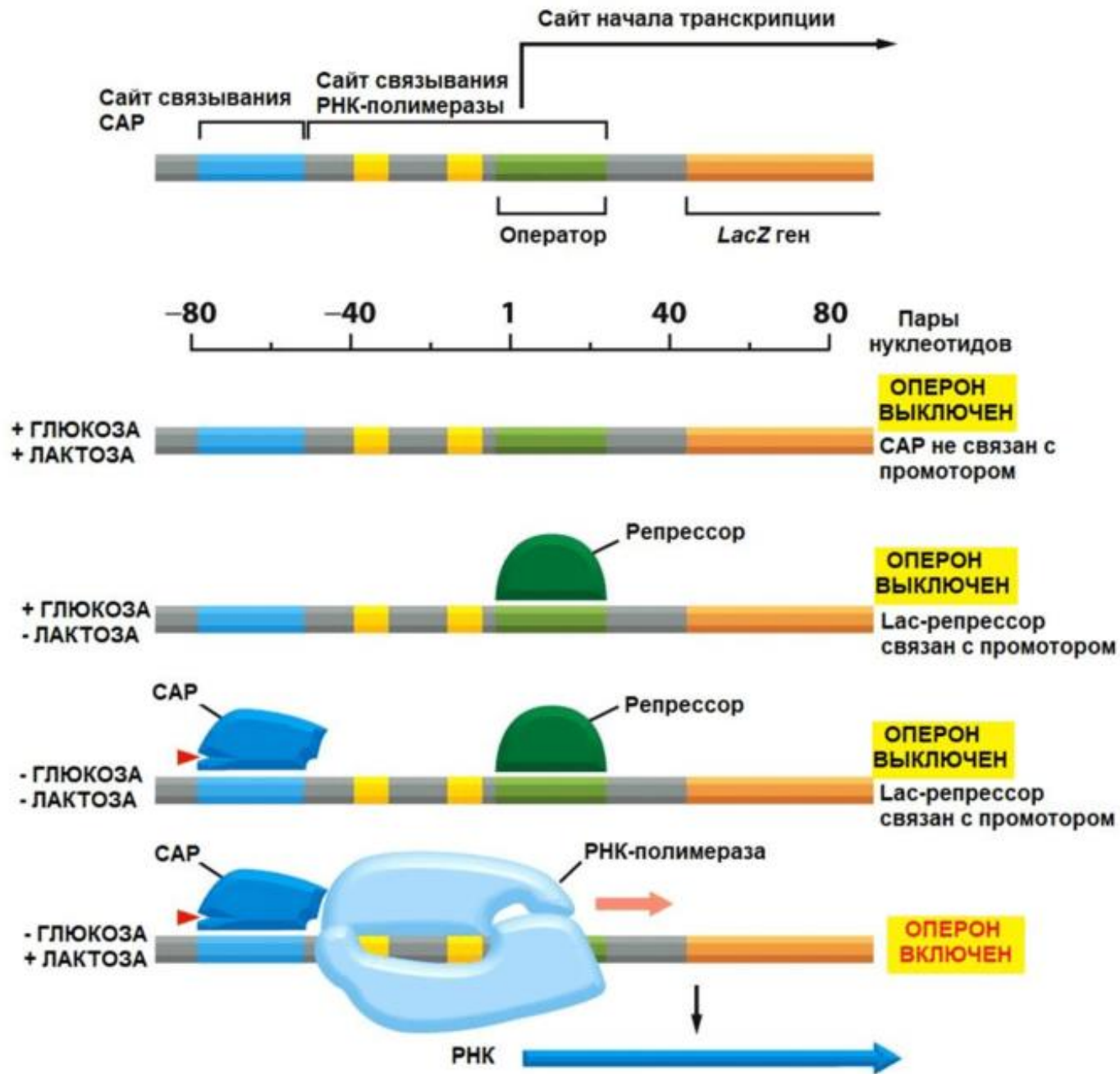
# РЕГУЛЯТОРНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ ГЕНОМА ПРОКАРИОТ



- Опероны по **количеству цистронов** делят на моно-, олиго- и полицистронные, содержащие, соответственно, только один, несколько или много цистронов (генов).

# Структура лактозного оперона



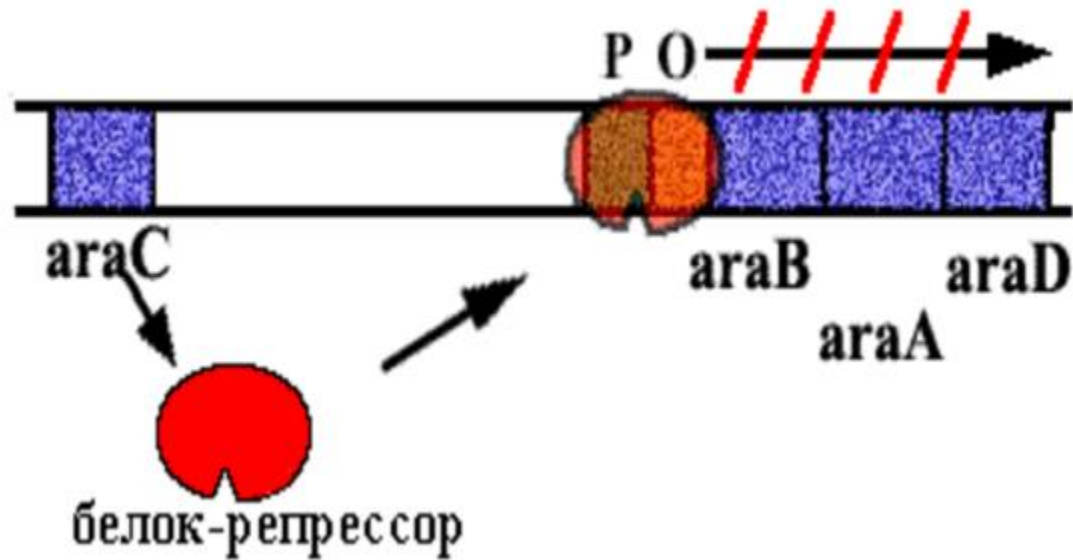


**Выделяют следующие схемы регуляции транскрипции у прокариот:**

- 1) негативная индукция (Жакобо и Моно);
- 2) позитивная индукция;
- 3) позитивная репрессия;
- 4) негативная репрессия.

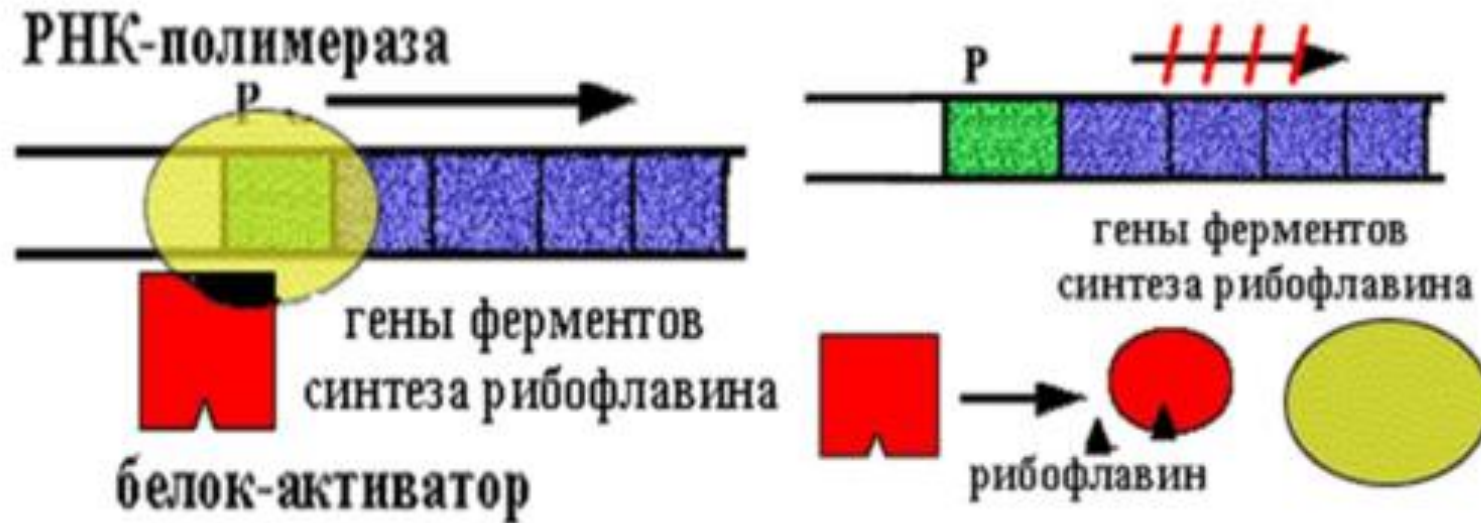
Белок-активатор **CAP**  
(Catabolite Activator Protein).

## Схема позитивной индукции — арабинозный оперой (Ага-оперон) *Escherichia coli*



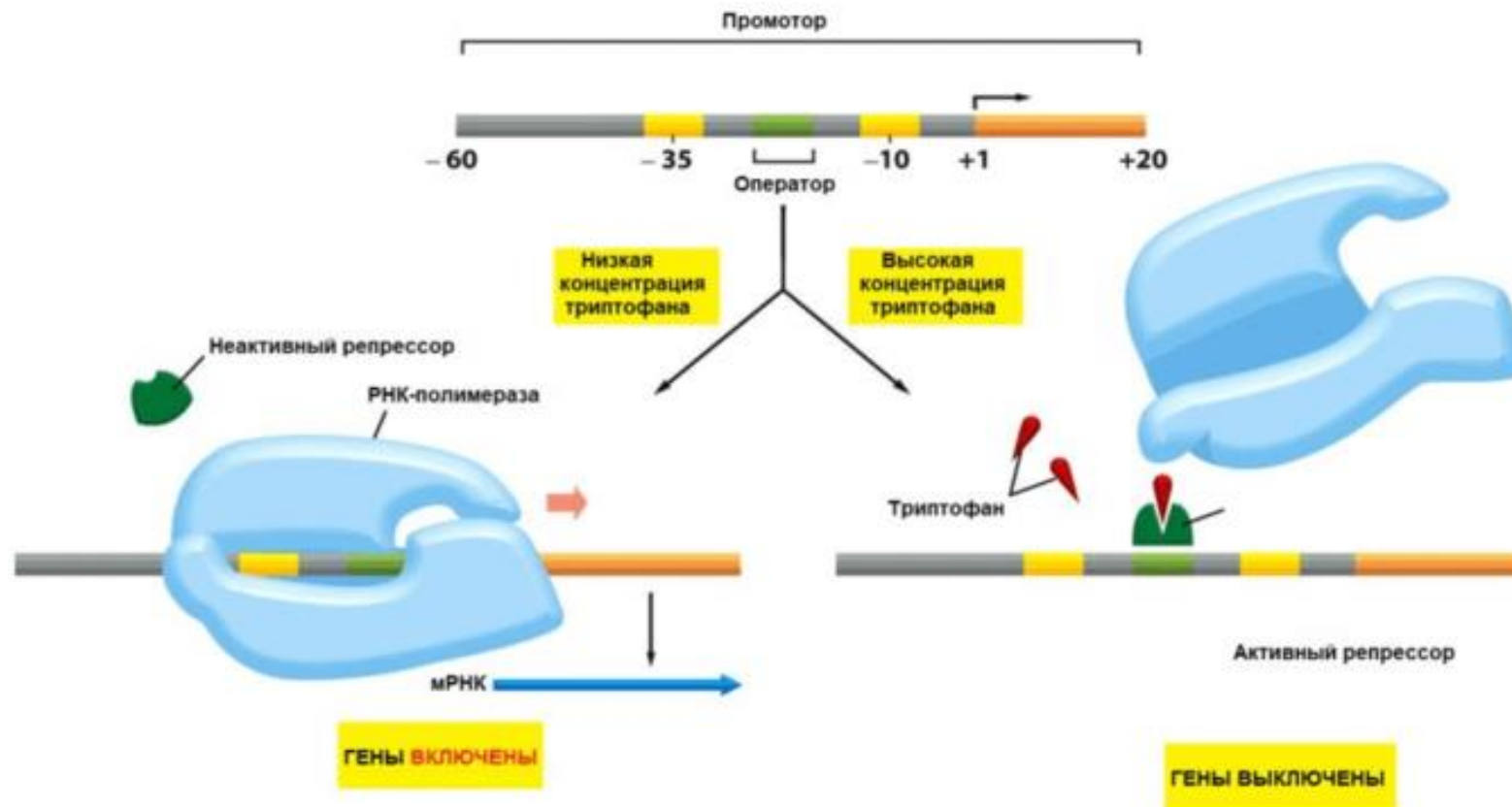
В этом опероне 3 цистрона, которые кодируют ферменты, расщепляющие сахар арабинозу. В норме оперон закрыт. Белок-репрессор связан с оператором. Когда в клетку попадает арабиноза, она взаимодействует с белком-репрессором. Белок-репрессор меняет конформацию и превращается из репрессора в активатор, взаимодействующий с промотором и облегчающий посадку РНК-полимеразы на промотор.

# Схема позитивной репрессии — оперон синтеза рибофлавина у *Bacillus subtilis*



В опероне располагаются цистроны ферментов синтеза рибофлавина. Есть белок-активатор, обеспечивающий посадку РНК-полимеразы на промотор. В норме оперон открыт. Образуется N молекул рибофлавина. N+1-ая молекула (лишняя) взаимодействует с активатором, и он теряет способность активировать посадку РНК-полимеразы на промотор.

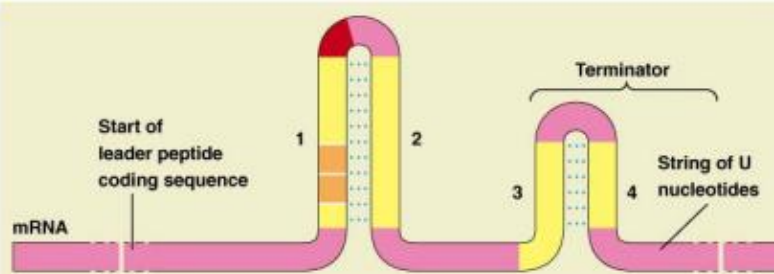
# Схема негативной репрессии — оперой синтеза триптофана у *Escherichia coli*



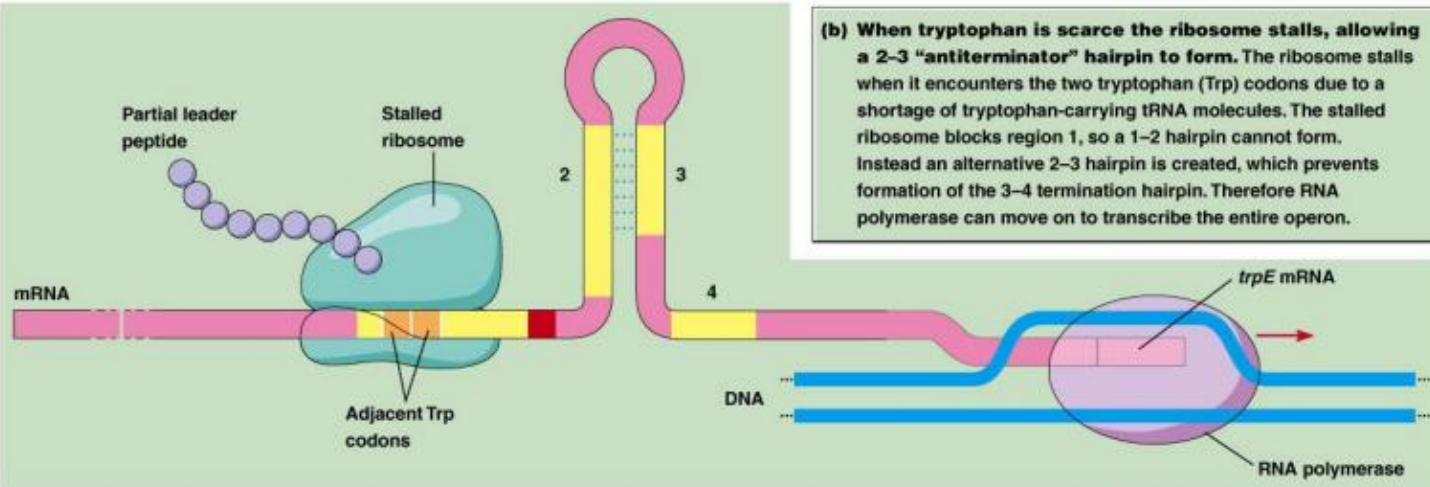
Негативная репрессия, потому что белок репрессор «выключает» оперон. В опероне имеется 5 цистронов, которые кодируют ферменты последовательной цепи реакций синтеза триптофана. В норме оперон включен. Белок-репрессор неактивен (в форме апо-репрессора), он не способен садиться на оператор. Клетке нужно  $N$  молекул триптофана.  $N+1$ -ая молекула взаимодействует с апо-репрессором. Он меняет конформацию, садится на оператор и синтез РНК прекращается.



# Репрессия синтеза белков. Триптофановый оперон.

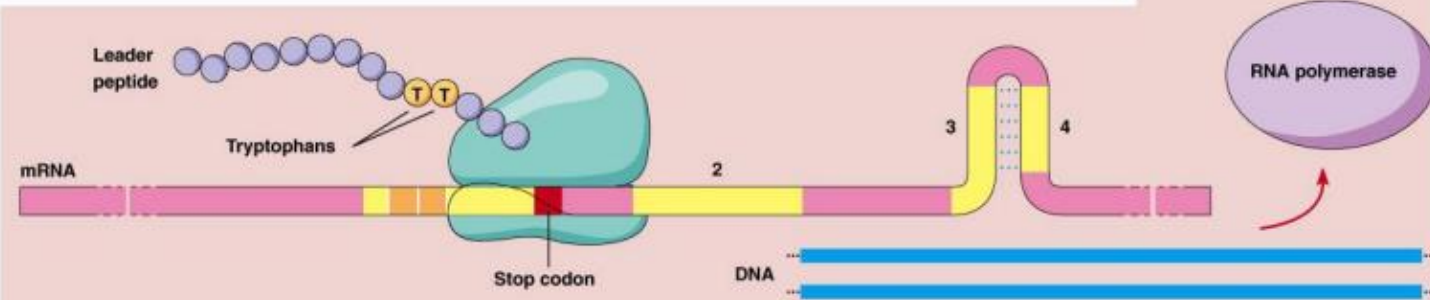


**(a) The most stable secondary structure for *trp* leader mRNA.** Attenuation depends on the ability of regions 1 and 2 and regions 3 and 4 of the *trp* leader sequence to base-pair, forming hairpin secondary structures. The 3–4 hairpin structure acts as a transcription termination signal.



**(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.



В лидерном пептиде фенилаланинового оперона среди 15 остатков 7 остатков фенилаланина, а в лидерном пептиде гистидинового оперона — 7 подряд остатков гистидина.

В большинстве структурных генов *E. coli* имеются два сайта связывания для РНК-полимеразы. Один из них обычно представляет собой нуклеотидную последовательность

ТАТААТ

АТАГТА (ТАТА-бокс, или бокс Прибнова),

а другой -

ТТГАС

ААСТГ.

ТАТА-бокс и последовательность ТТГАС расположены за 10 (область —10) и 35 (область —35) нуклеотидов до сайта инициации транскрипции соответственно (нуклеотид +1)



- Последовательность Шайна — Дальгарно — сайт связывания рибосом на молекуле мРНК прокариот, обычно на расстоянии около 10 нуклеотидов до стартового кодона AUG
- Исследована австралийскими учёными Джоном Шайном и Линн Дальгарно.
- Консенсусом является последовательность из шести нуклеотидов AGGAGG
- Комплементарная последовательность CCUCCU (анти-Шайна — Дальгарно) располагается на 3'-конце молекулы 16S рибосомной РНК. Комплементарное взаимодействие между последовательностями Шайна — Дальгарно и анти-Шайна — Дальгарно служит для помещения старт-кодона мРНК в Р-сайт рибосомы для начала биосинтеза белка
- Мутации в последовательности Шайна — Дальгарно снижают эффективность трансляции.

