
بسم الله الرحمن الرحيم

تنظیم بیان ژن

دکتر آسیه صادقی

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

گروه بیوشیمی

مقدمه

- راه اصلی تطابق با شرایط مختلف: تغییر در بیان ژن ها
- پروتئین های مختلف تعیین کننده عملکرد متفادت سلولها
- غلظت سلولی یک پروتئین تحت تنظیم هفت فرایند:
  - رونویسی mRNA
  - پردازشmRNA
  - تخریبmRNA
  - سنتز پروتئین
  - تغییر پروتئین بعد از ترجمه
  - انتقال پروتئین به مقصد مورد نظر
  - تخریب پروتئین

تنظیم بیان ژن

- اصول تنظیم رونویسی ژنها
- تنظیم بیان ژن در باکتریها
- تنظیم بیان ژن در یوکاریوتها

قسمت اول

اصول تنظیم بیان ژنها

تنظیم بیان ژن

دسته بندی ژنها از نظر میزان بیان ژن

- ژنهای خانه دار (houskeeping) دارای بیان ثابت
- ژنهای قابل القاء (Inducible) دارای بیان تنظیم شده

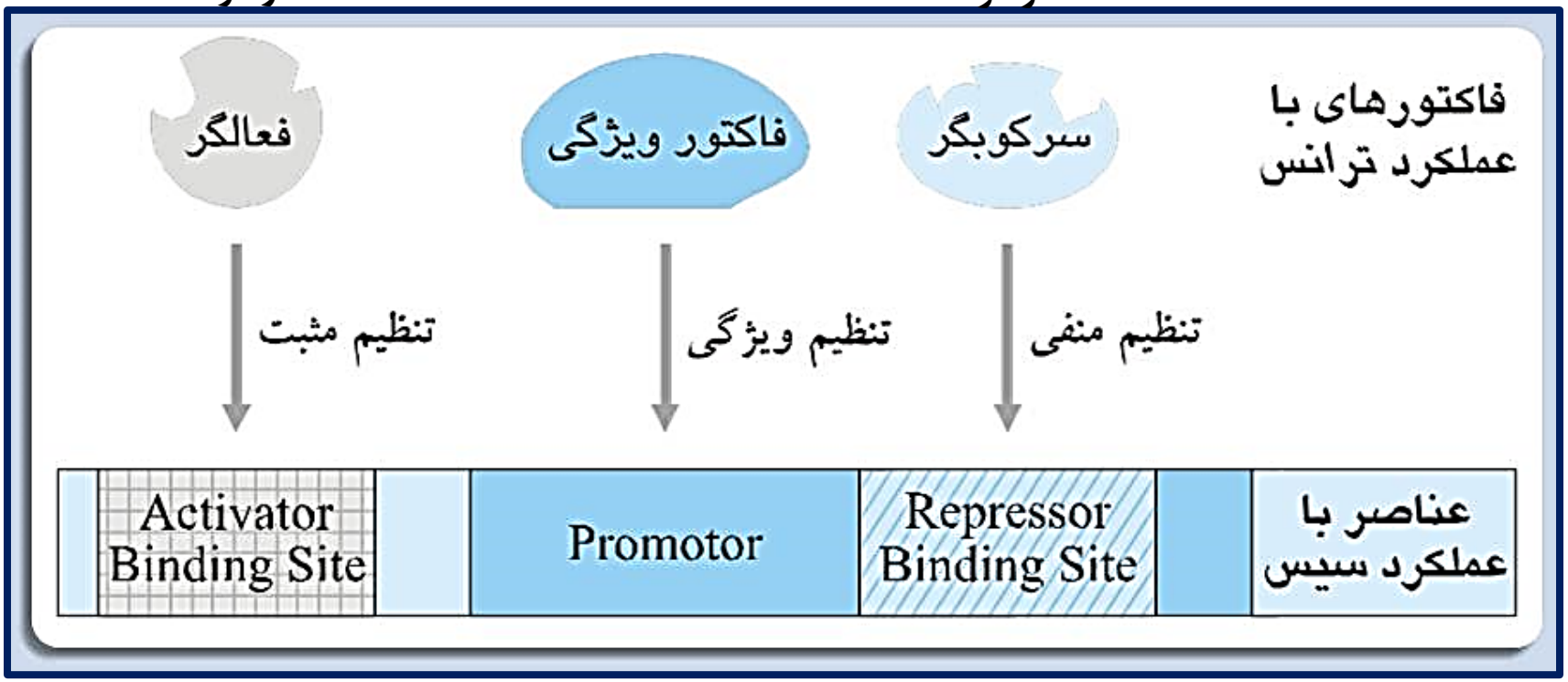
نقش پروموترها در تنظیم بیان ژن

- اولین مرحله رونویسی: اتصال RNAپلیمراز به پروموتر
- تفاوت در پروموترها سبب تفاوت در تعامل RNAپلیمراز با پروموتر

عوامل شرکت کننده در تنظیم بیان ژن

در باکتریها
معمولتر است

در یوکاریوتها
معمولتر است



- فعالیت سرکوبگرها و فعالگرها تحت تاثیر افکتورهای تنظیمی قرار می گیرد.
- فاکتور ویزگی مسئول هدایت RNAپلیمراز به پروموتر ژن می باشد
- جایگاه اتصال سرکوبگر در باکتریها اپراتور و جایگاه اتصال فعالگر inhancer نام دارد

افکتورهای تنظیمی

مولکولهایی هستند که شرایط داخل و خارج سلول را منعکس می کنند
متابولیت ها یا مشتقات متابولیتی، هورمون یا پیامهای مولکولی

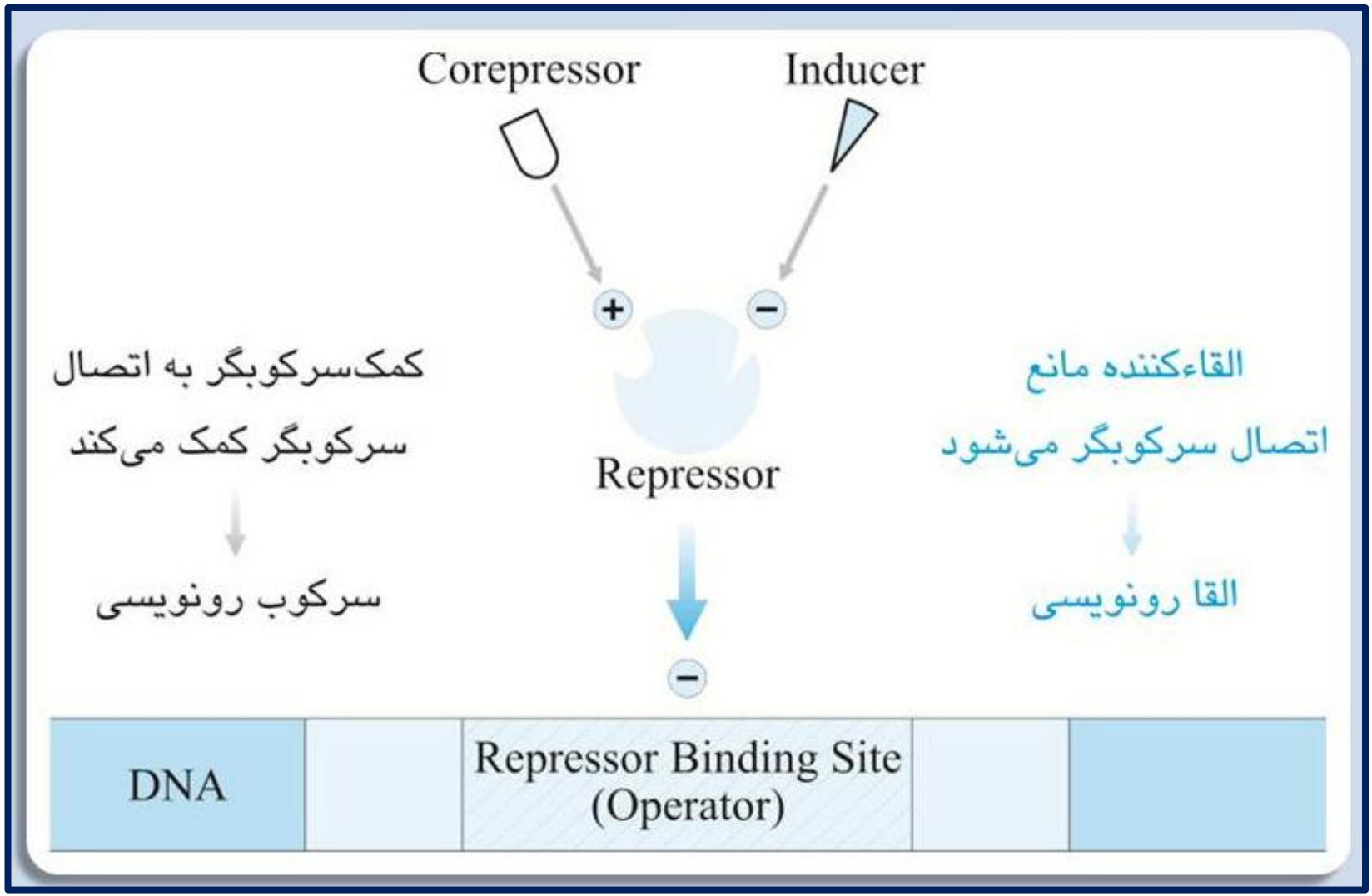
۱- **کمک سرکوبگر:** با اتصال به سرکوبگر تمایل آن را برای اتصال به توالی تنظیمی افزایش می یابد و رونویسی سرکوب می شود (سرکوبگر به تنهایی تمایلی برای توالی تنظیمی ندارد)

۲- **القاء کننده**: افکتوری است که با اتصال به سرکوبگر مانع فعالیت آن می شود (سرکوبگر به تنهایی تمایل بالایی برای توالی تنظیمی دارد)

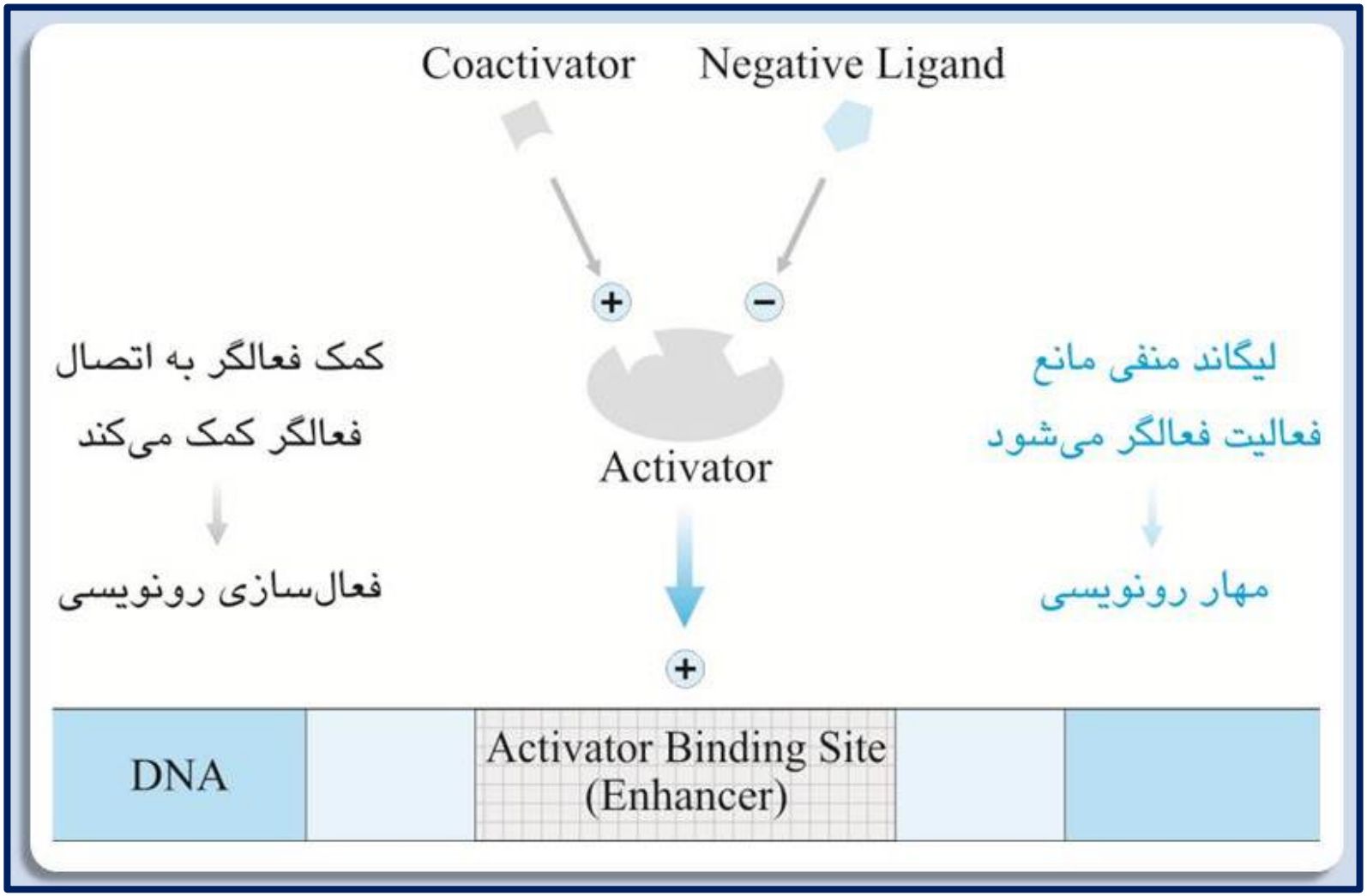
۳- **کمک فعالگر:** با اتصال به فعالگر تمایل آن را برای اتصال به توالی تنظیمی افزایش می دهد (فعالگر به تنهایی تمایلی برای توالی تنظیمی ندارد)

۴- **افکتور منفی** با اتصال به فعالگر تمایل ان را به توالی تنظیمی کاهش می دهد (فعالگر به تنهایی تمایل بالایی برای توالی تنظیمی دارد)

تنظیم منفی


Corepressor
Inducer
+
−
کمک‌سرکوبگر به اتصال
سرکوبگر کمک می‌کند
سرکوب رونویسی
Repressor
القاءکننده مانع
اتصال سرکوبگر می‌شود
القا رونویسی
−
DNA
Repressor Binding Site
(Operator)

تنظیم مثبت


Coactivator
Negative Ligand
+
−
کمک فعالگر به اتصال
فعالگر کمک می‌کند
فعال‌سازی رونویسی
Activator
لیگاند منفی مانع
فعالیت فعالگر می‌شود
مهار رونویسی
+
DNA
Activator Binding Site
(Enhancer)

تنظیم رونویسی از طریق دسترسی به توالی های پروموتر

- بسته بندی مولکولهای DNA به شکل کروماتین در یوکاریوتها

قسمت دوم

تنظیم بیان ژن در پروکاریوتها

اپرون

مجموعه توالی هایی که در بیان و تنظیم بیان چندین ژن **مرتبط** دخالت دارند و شامل:

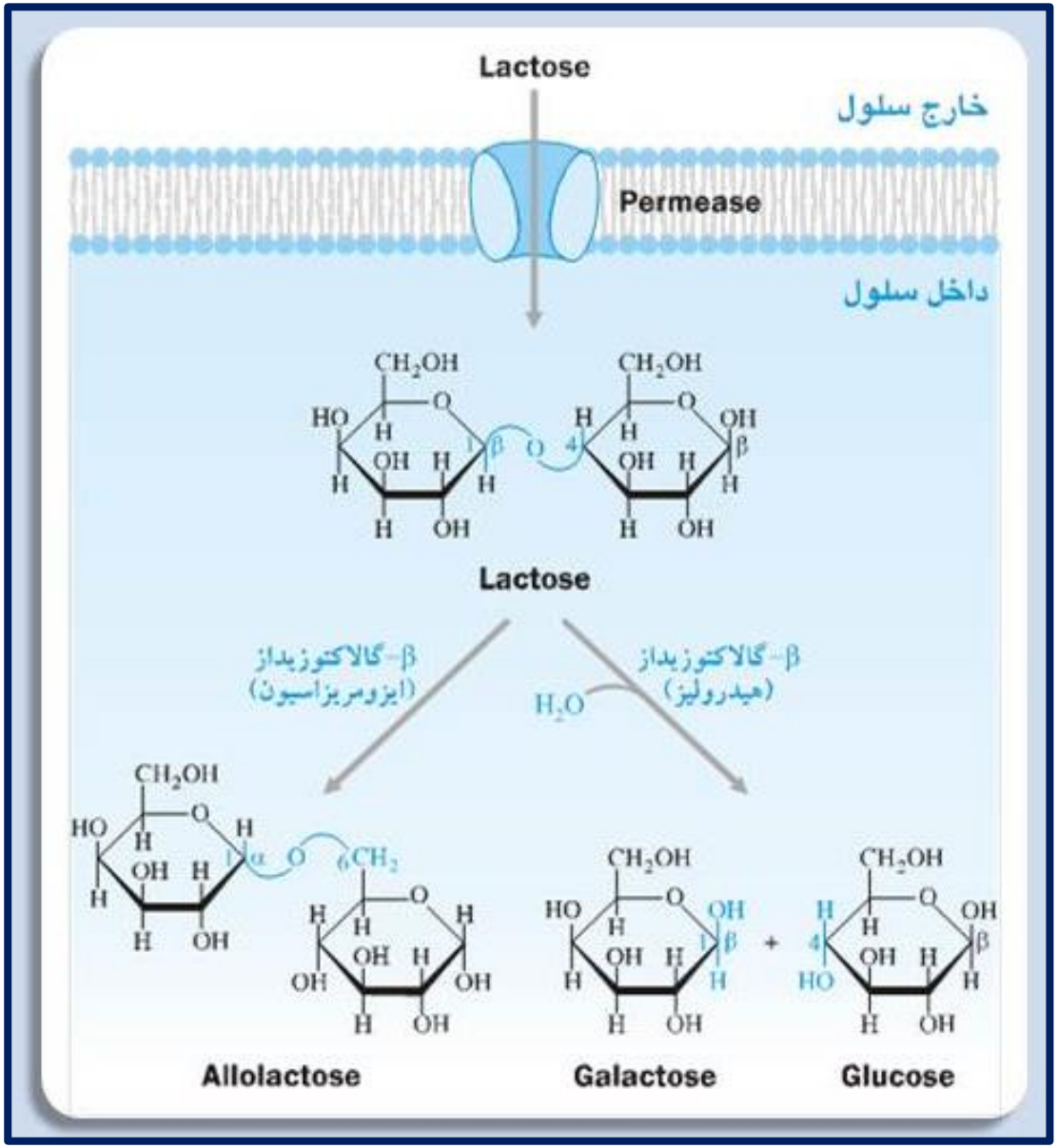
- ژن های ساختاری: پلی سیسترونی که با استفاده از یک پروموتر به شکل یک مولکول mRNA (کد کننده پروتئین) رونویسی می شوند
- ژن های تنظیمی: کد کننده پروتئین های تنظیمی با داشتن پروموتر **مجزا** به طور مستقل رونویسی می شود
- توالی های تنظیمی: جایگاه اتصال پروتئین های تنظیمی سرکوبگر و فعالگر



مکانیسمهای تنظیمی در پروکاریوتها

- مکانیسمهای القاء، کمک فعالگری و کمک سرکوبگر: در یوکاریوتها و پروکاریوتها
- مکانیسم تضعیف: نیازمند همزمانی رونویسی با ترجمه، فقط در پرو

متابولیسم لاکتوز در E.coli



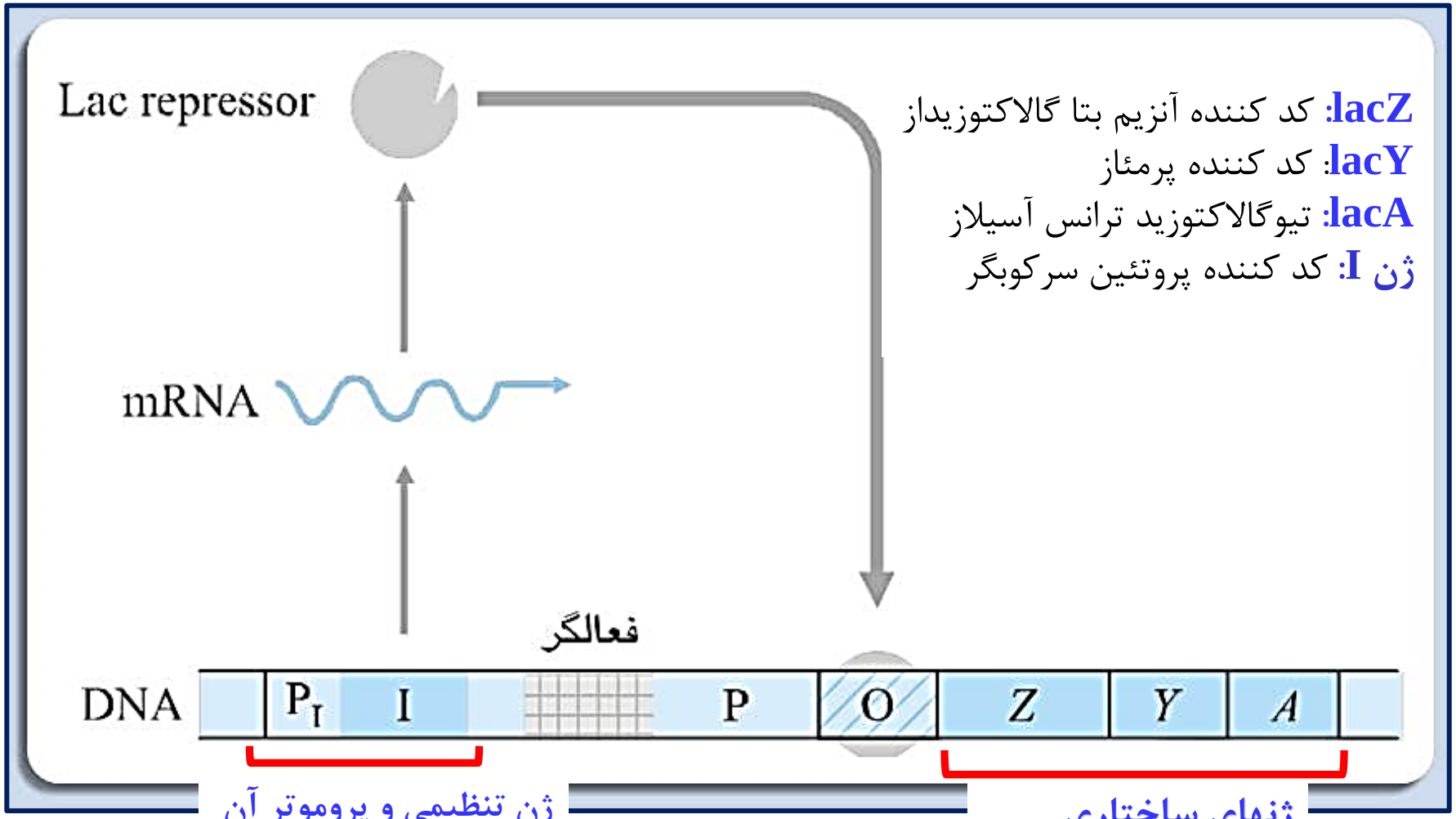
باکتری ترجیحا از گلوکز به عنوان منبع انرژی استفاده می کند.

اما اگر گلوکز کم باشد از سایر سوخت ها مانند لاکتوز هم استفاده می کند

پرمئاز: انتقال دهنده برای ورود لاکتوز به داخل سلول

آلولاکتوز: القاء کننده

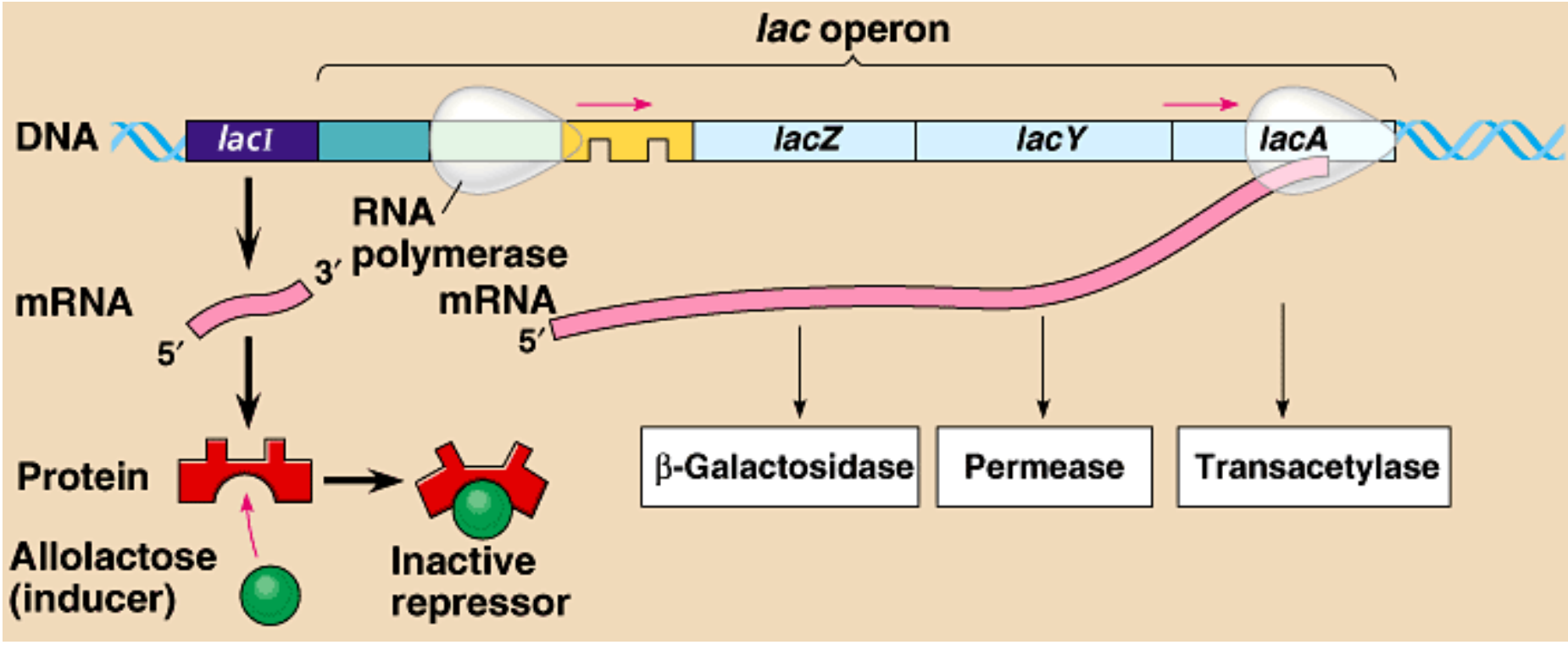
اپران lac



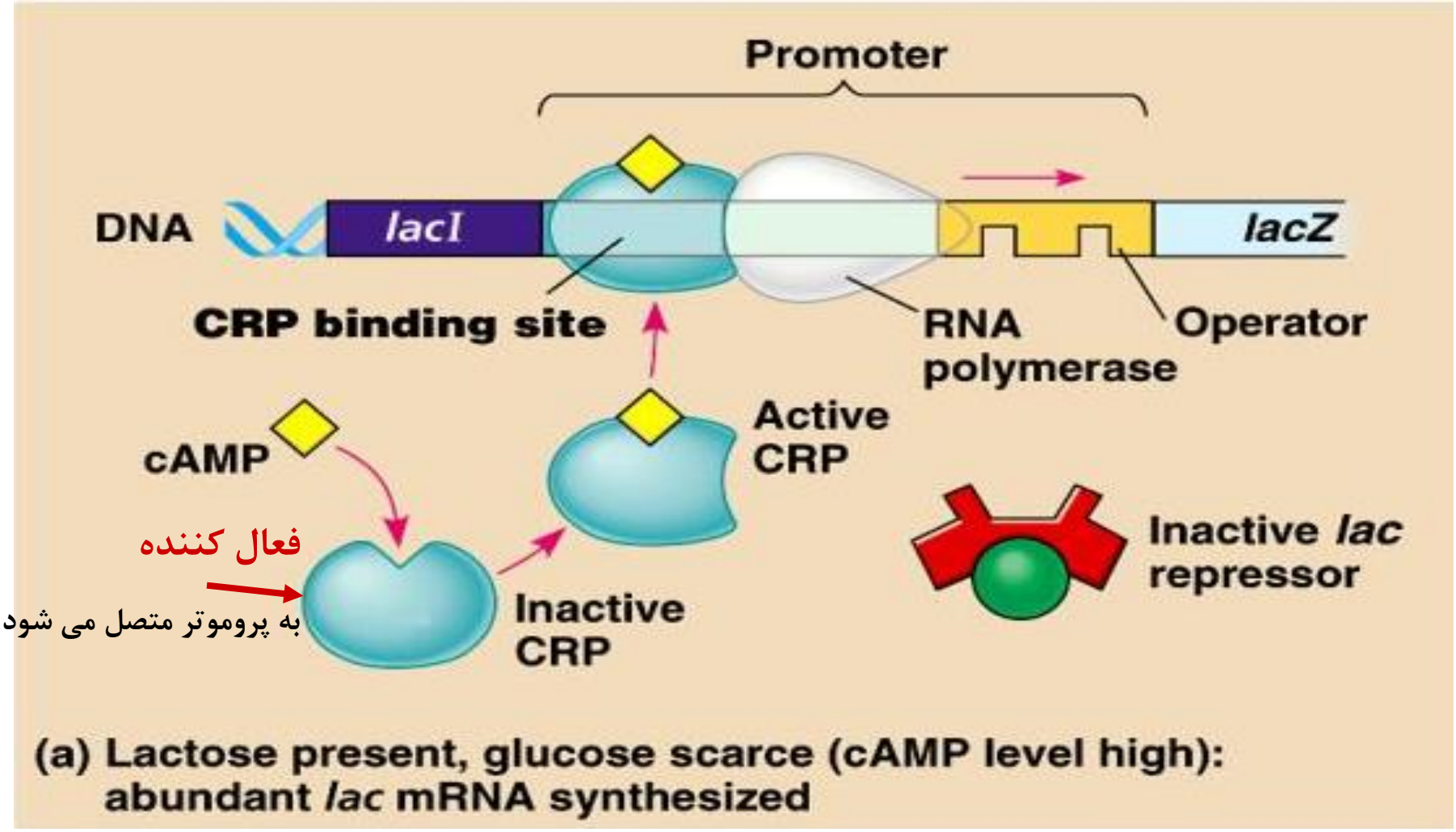
lacZ: کد کننده آنزیم بتا گالاکتوزیداز
lacY: کد کننده پرمئاز
lacA: تیوگالاکتوزید ترانس آسیلاز
ژن I: کد کننده پروتئین سرکوبگر

تیوگالاکتوزید ترانس آسیلاز: در دفع و سم زدایی آنالوگ های غیر قابل متابولیسم بتا-گالکتوزیدها نقش دارد.

تنظیم منفی اپران Lac

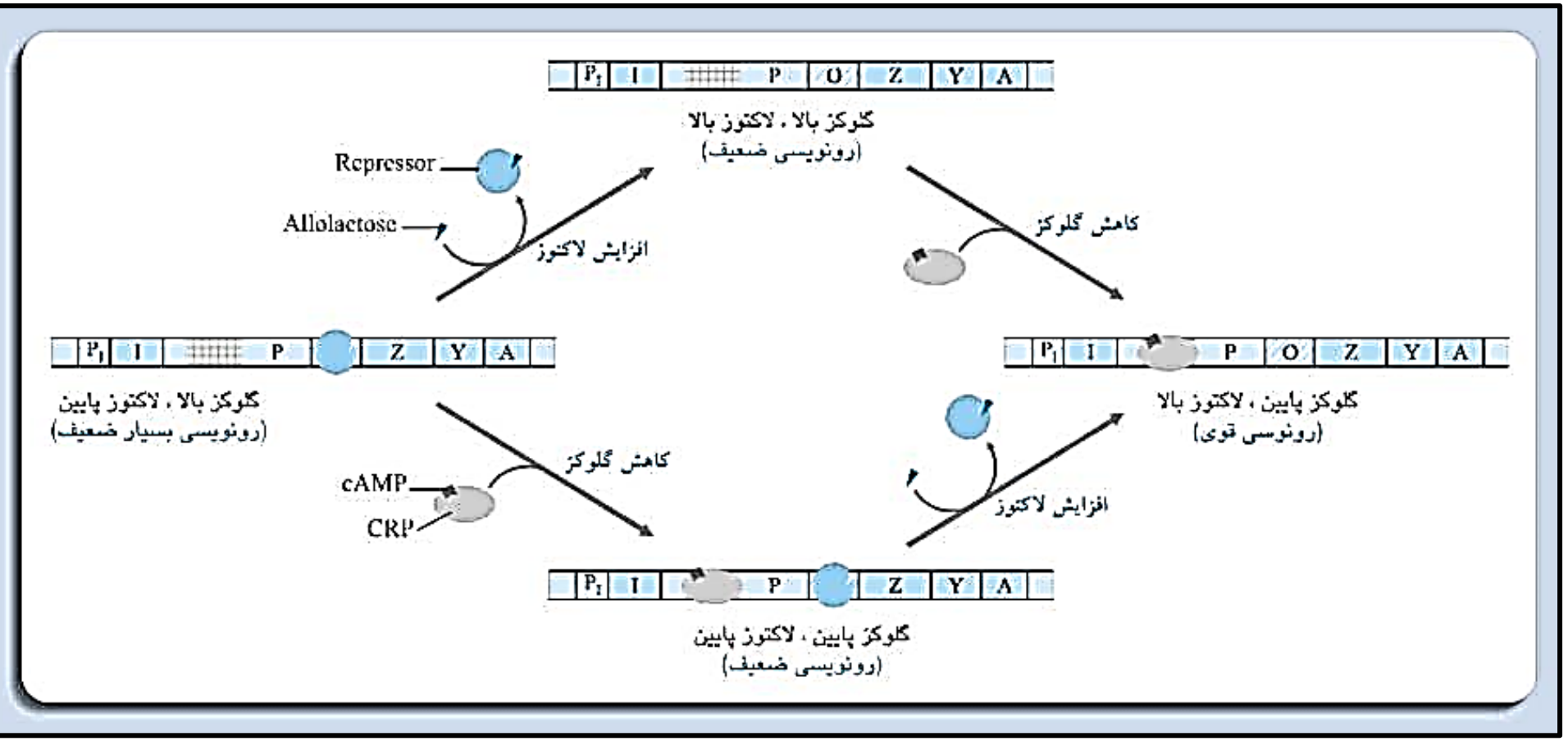


تنظیم مثبت اپران lac



CAP(Catabolite gene activator protein) or CRP (cAMP receptor protein)

تنظیم رونویسی اپران lac



خلاصه ای از تنظیم اپرون lac

Glucose	cAMP	Lactose	Expression of *lac* operon
+	↓	-	No mRNA
+	↓	+	Slow mRNA synthesis
-	↑	-	No mRNA
-	↑	+	Rapid mRNA synthesis

- Negative regulation: *lac* repressor
- Positive regulation: CAP-cAMP
- ↑ glucose → ↓ cAMP

اپرون trp

باکتری E. Coli قادر به سنتز تریپتوفان می باشد اما فقط در زمانی که تریپتوفان در محیط نباشد.

دارای پنج ژن ساختاری

ژن تنظیمی آن، trpR، سرکوبگری را کد می کند که تمایل چندانی به اپراتور ندارد.

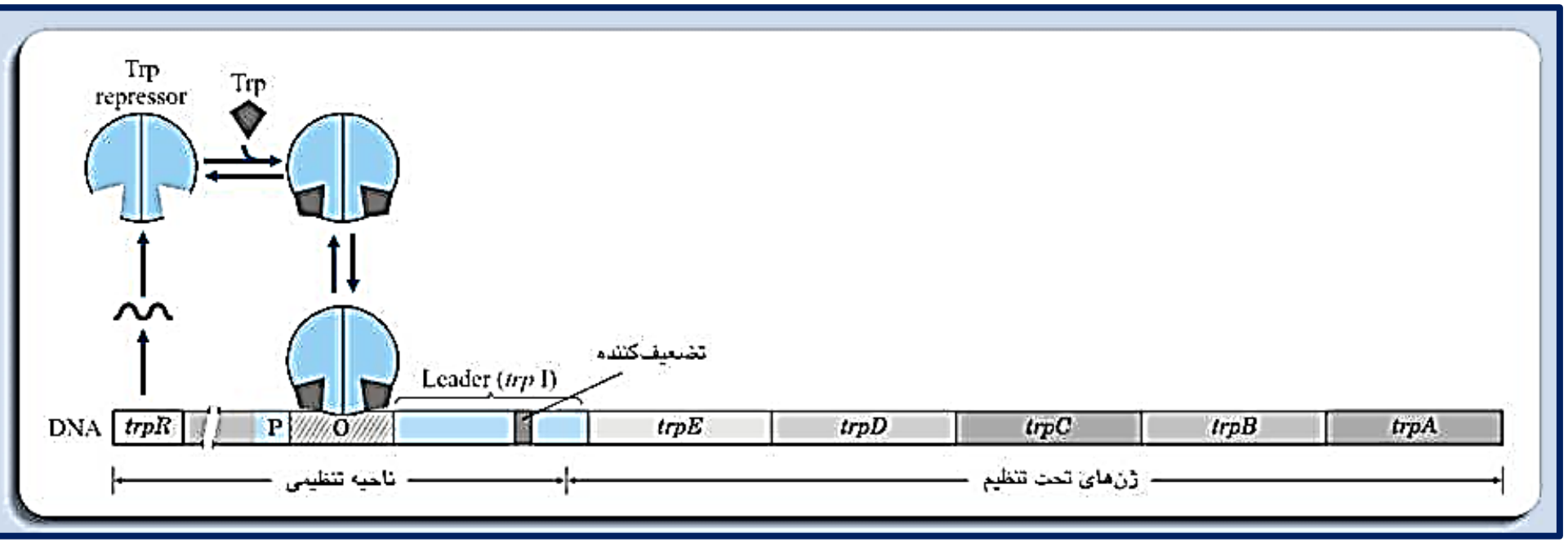
مکانیسم های تنظیم:

کمک سرکوبگری

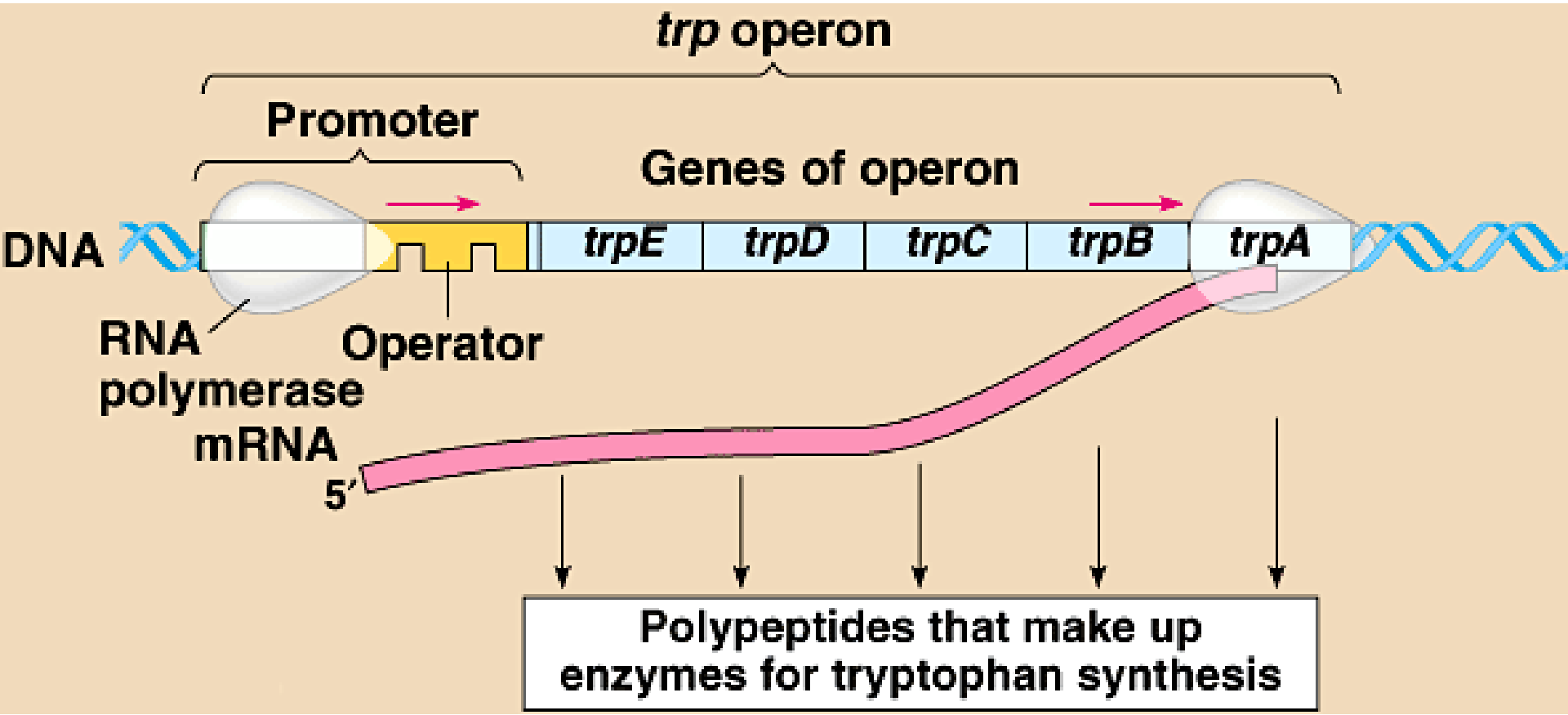
تضعیف (نیازمند همزمنی ترجمه و رونویسی، فقط در باکتریها)

مکانیسم کمک سرکوبگری: در حضور تریپتوفان (به عنوان کمک سرکوبگر)، و اتصال آن به سرکوبگر تمایل آن به اپراتور افزایش یافته و تولید تریپتوفان سرکوب می شود.

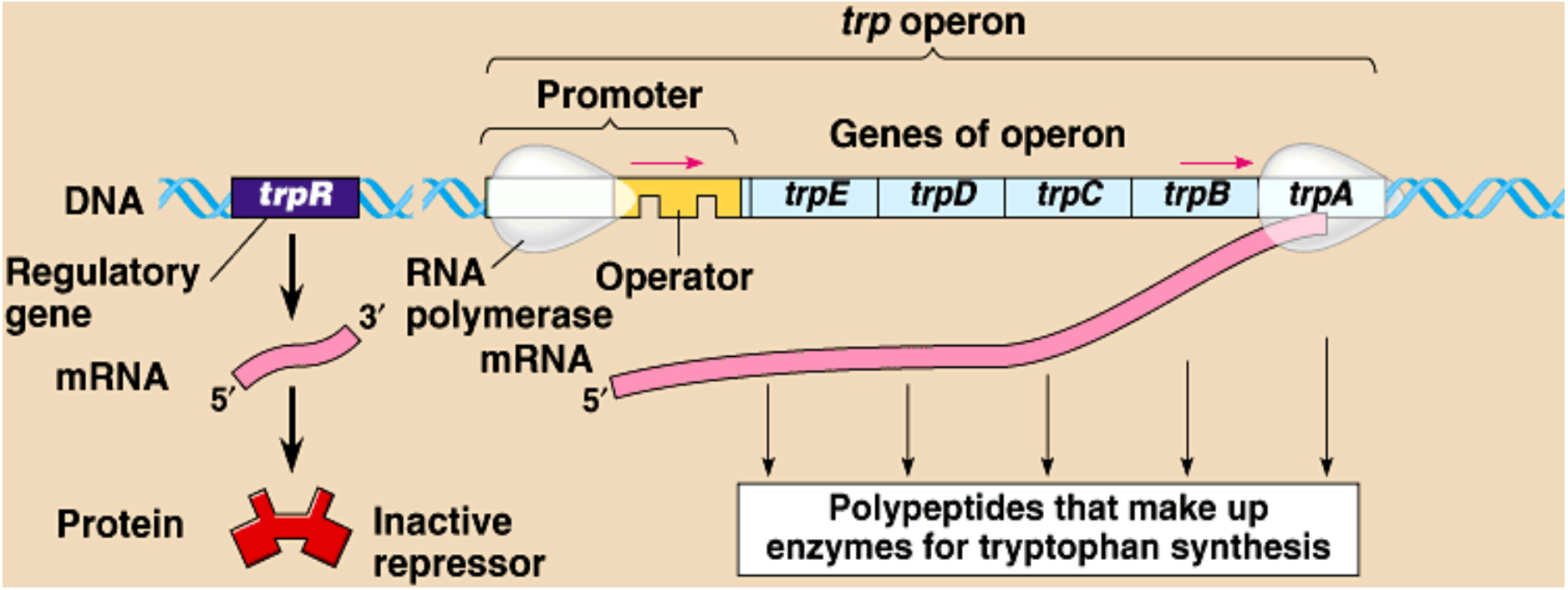
اپرون trp


Trp repressor
Trp
تضعیف‌کننده
Leader (trp l)
DNA
trpR
P
O
trpE
trpD
trpC
trpB
trpA
ناحیه تنظیمی
ژن‌های تحت تنظیم

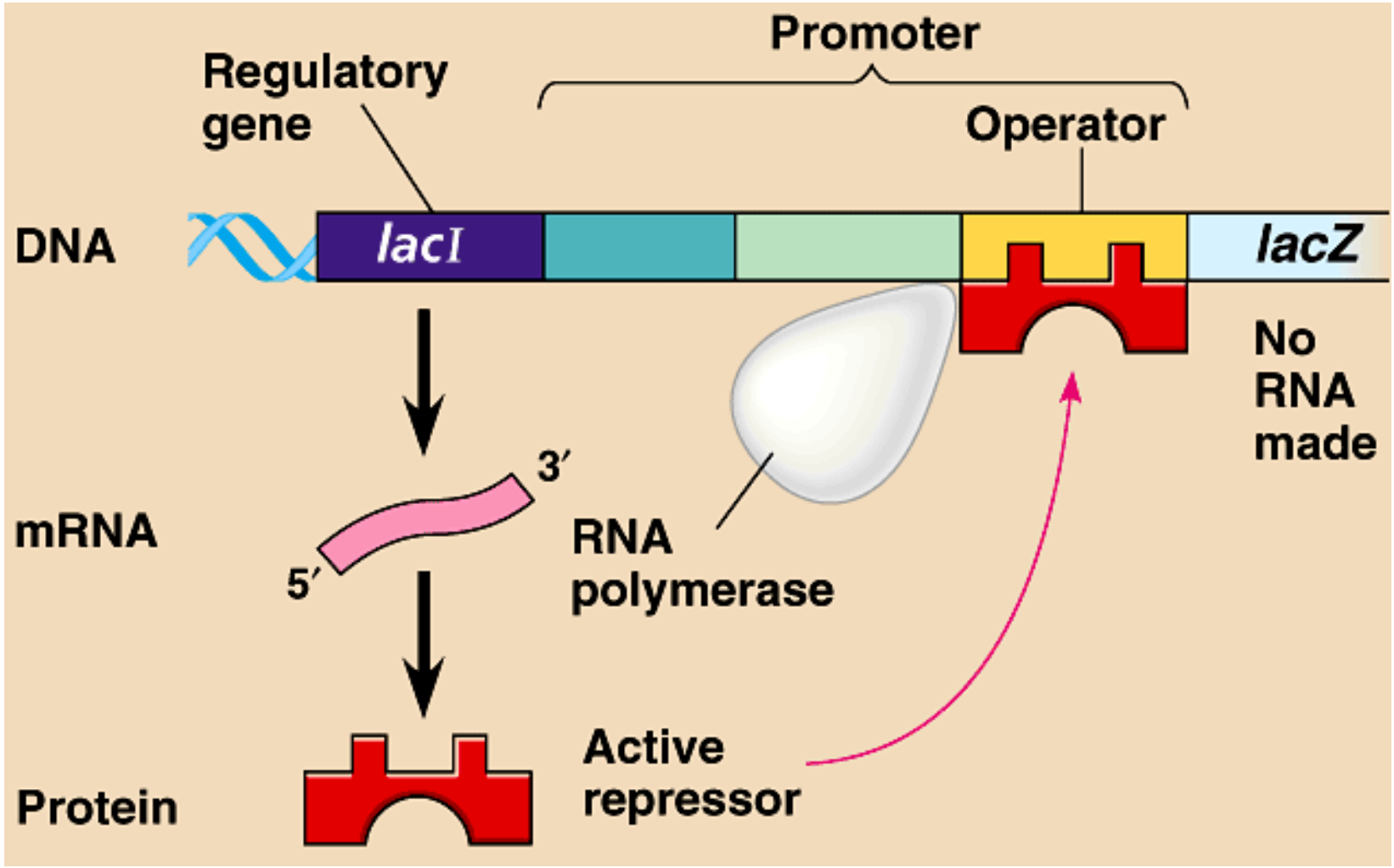
اپرون trp


trp operon
Promoter
Genes of operon
DNA
trpE
trpD
trpC
trpB
trpA
RNA polymerase
Operator
mRNA
5′
Polypeptides that make up enzymes for tryptophan synthesis

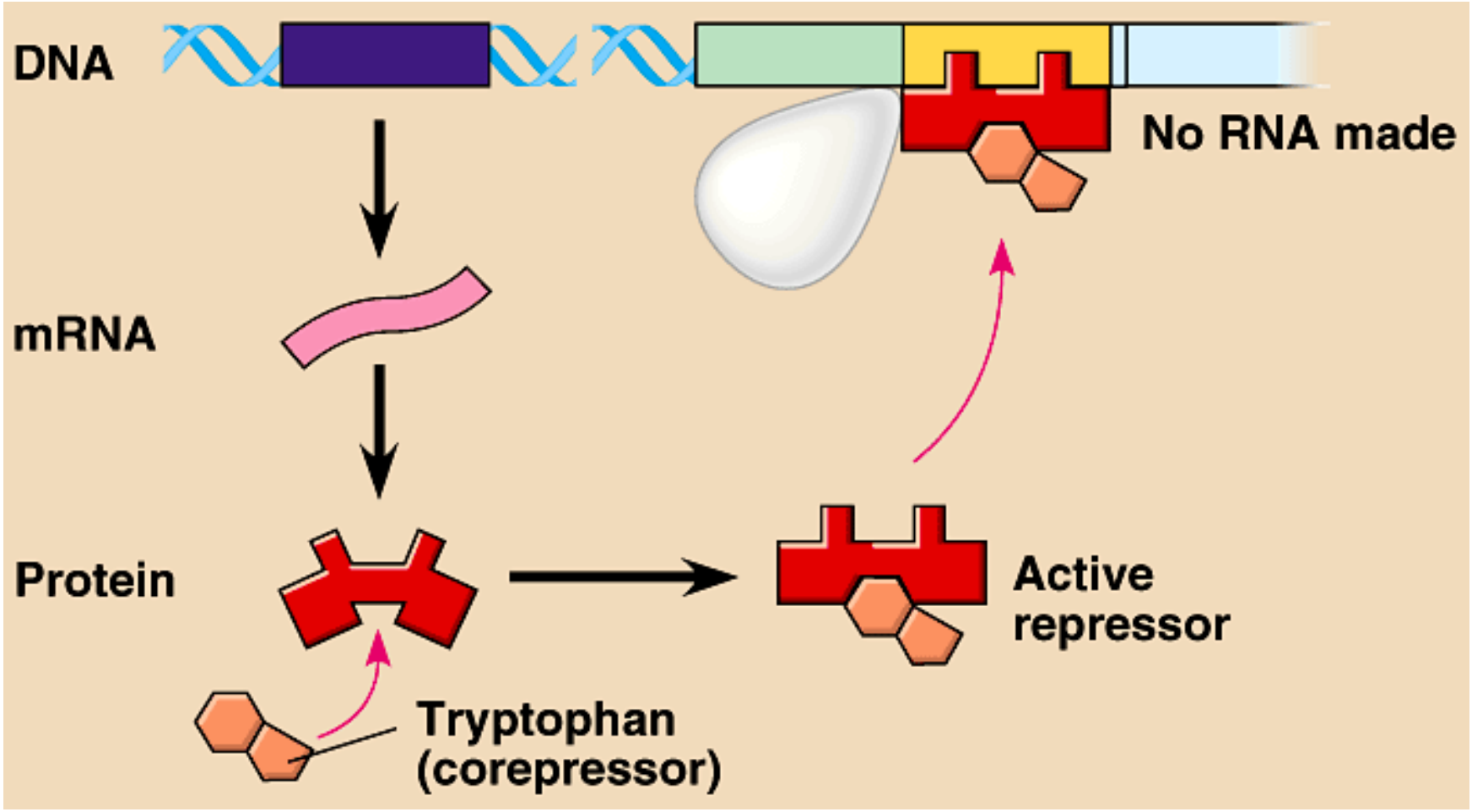
اپرون trp

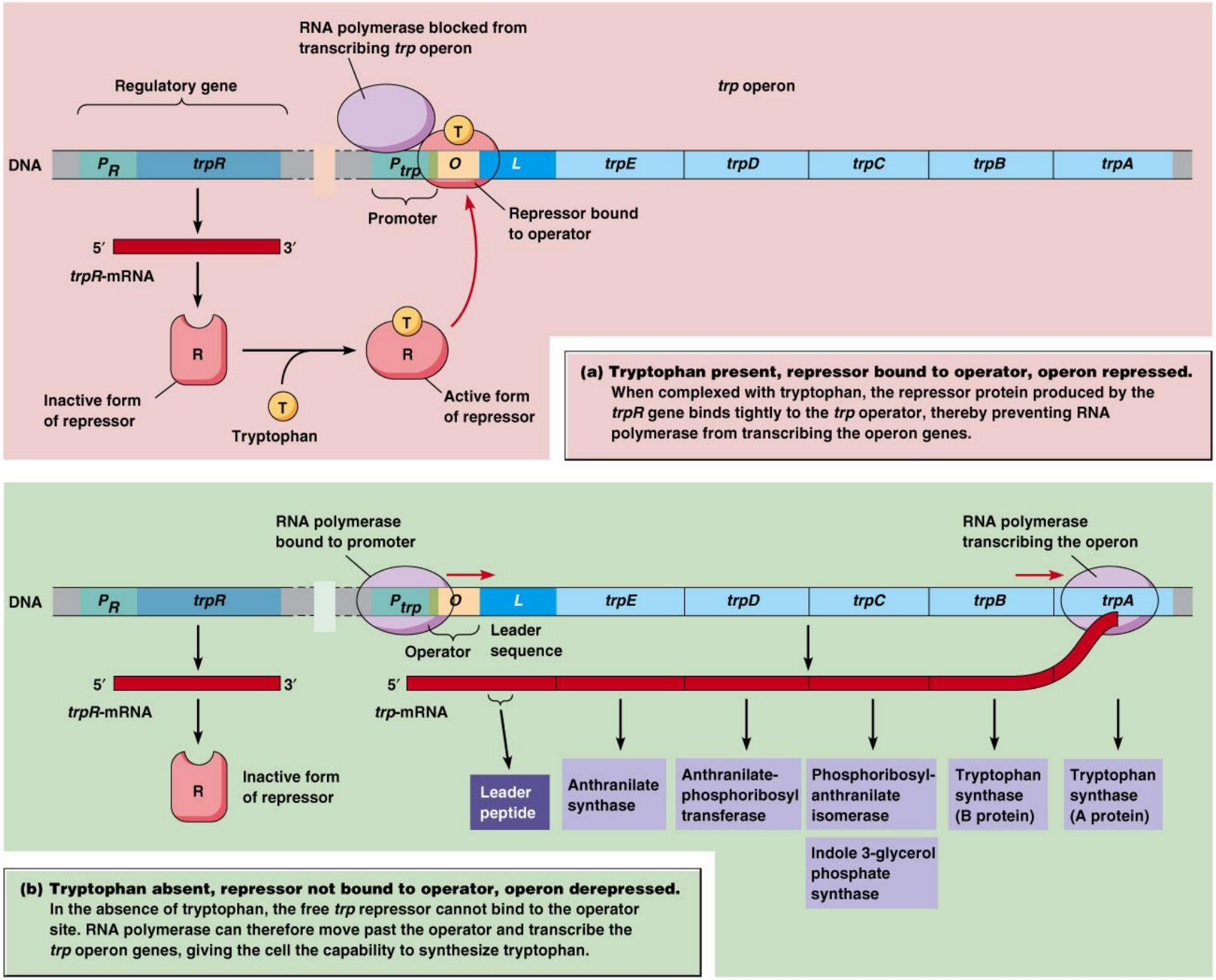

trp operon
Promoter
Genes of operon
DNA
trpR
trpE
trpD
trpC
trpB
trpA
Regulatory gene
RNA polymerase
Operator
3′
mRNA
5′
mRNA
5′
Protein
Inactive repressor
Polypeptides that make up enzymes for tryptophan synthesis

اپرون trp


Promoter
Regulatory gene
Operator
DNA
lacI
lacZ
No RNA made
3′
mRNA
5′
RNA polymerase
Active repressor
Protein

اپرون trp


DNA
No RNA made
mRNA
Protein
Active
repressor
Tryptophan
(corepressor)



© 2012 Pearson Education, Inc.

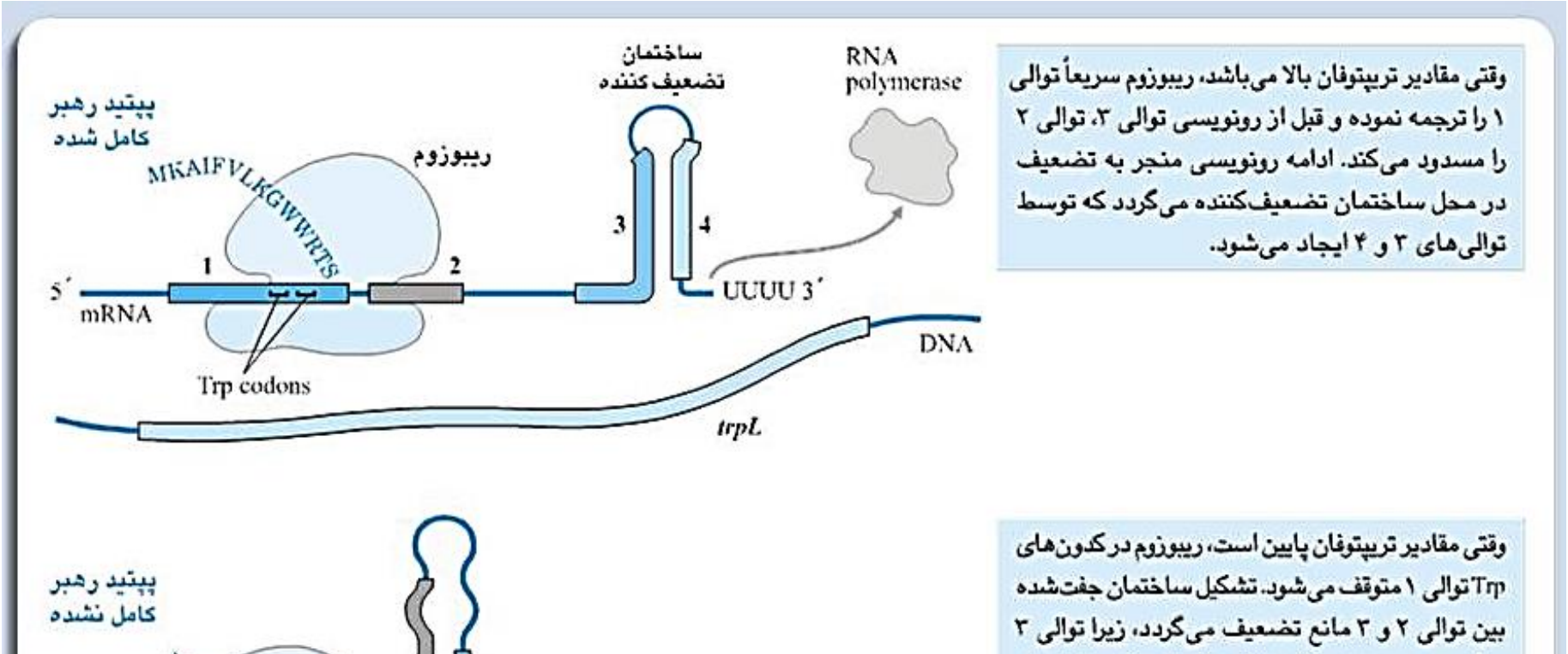
تنظیم رونویسی اپرون trp (مکانیسم تضعیف)

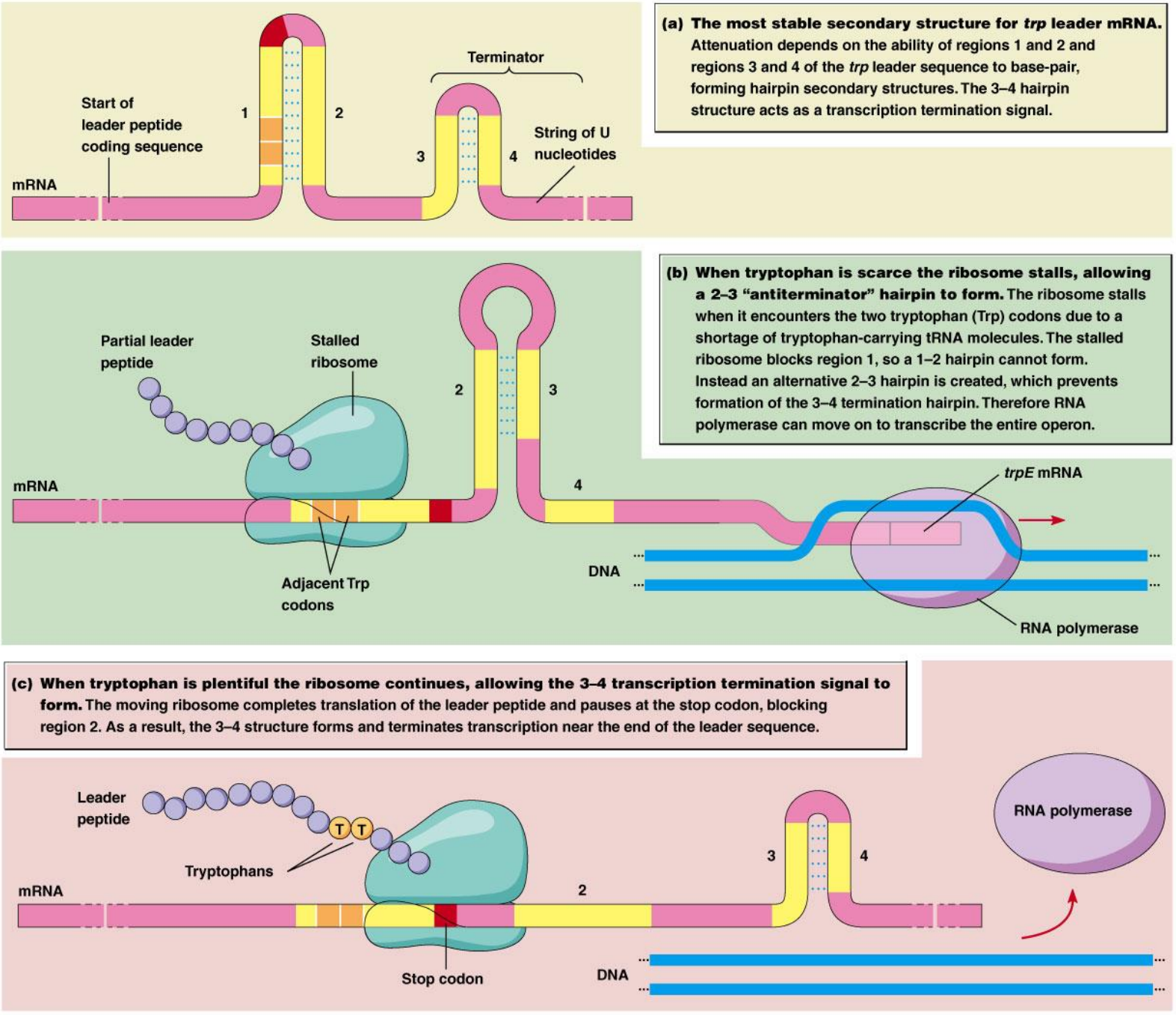
- قسمت ابتدایی رونوشت mRNA که توای رهبر نام دارد به چهار قطعه ۱، ۲، ۳ و ۴ تقسیم می شود
- قطعه یک پپتید کوچکی به نام پپتید رهبر را کد می کند که درای دو کدن تریپتوفان می باشد.
- قطعه ۳ می تواند با ۲ و ۴ تولید سنجاق کند اما فقط سنجاق ۳:۴ است که پیام ختم رونویسی می باشد.

تنظیم رونویسی اپرون trp (مکانیسم تضعیف)

وقتی تریپتوفان بالا می باشد، ریبوزم سریعا توالی ۱ را ترجمه نموده و قبل از رونویسی توالی ۳ توالی ۲ را مسدود می کند. ادامه رونویسی منجر به تضعیف در محل ساختمان تضعیف کننده می گردد که توسط توالی های ۳ و ۴ ایجاد می شود.

وقتی مقادیر تریپتوفان پایین است. ریبوزوم در کدون های Trp توالی ۱ متوقف می شود. تشکیل ساختمان جفت شده بین ۲ و ۳ مانع تضعیف می گردد. زیرا توالی ۳ دیگر در دسترس قرار ندارد تا با توالی ۴ ایجاد ساختمان تضعیف کننده را بنماید. ساختمان ۲:۳، بر خلاف تضعیف کننده ۳:۴، مانع رونویسی نمی شود.





(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.

© 2012 Pearson Education, Inc.

قسمت سوم

تنظیم بیان ژن در اوکاریوتها از طریق:

دسترسی به DNA

رونویسی

پردازش

ترجمه

تنظیم دسترسی به DNA

- **اوکرماتین و هتروکروماتین**
- بازسازی کروماتینی
- اطلاعات اپی ژنتیکی
- محتویات و نوع هیستون
- تغییر کوالان هیستون
- تغییر کوالان DNA
- ازدیاد ژنی

اوکروماتین و هتروکروماتین

- **اوکروماتین:** کروماتینی که از لحاظ رونویسی فعال است و با شدت کمتری بسته بندی شده و کم رنگتر است.

  جایگاههای فوق حساس:
  - دسترسی راحتتر به آنها
  - حساسیت بیشتر به آندونوکلئازها
  - غالبا در فرادست ژن ها

- **هتروکروماتین:** کروماتینی که از لحاظ رونویسی غیرفعال است و با شدت بسته بندی شده و پر رنگتر است.
  - **هتروکروماتین ذاتی (Constitutive): همیشه متراکم و غیر فعال، در نواحی سانترومری و تلومری**
  - **هتروکروماتین اختیاری (Faculative): گاهی متراکم و غیر فعال و گاهی غیر متراکم و فعال، مانند کروکوزوم X**

مقایسه ساختار شیمیایی اوکروماتین با هتروکروماتین

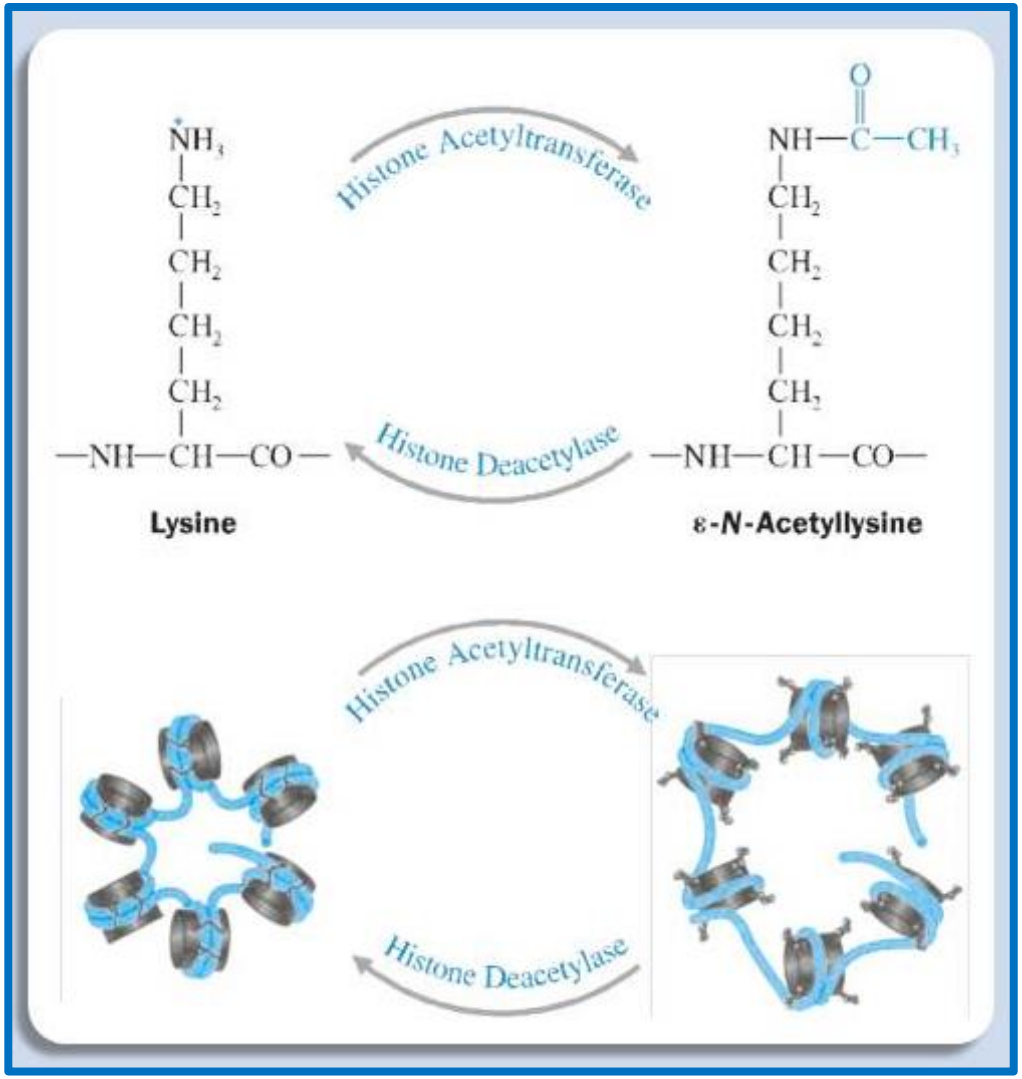
- **بازسازی کروماتینی** (Chromatin remodling): تغییرات شیمیایی هیستون ها و توالی های DNA در جهت تنظیم بیان ژن ها را بازسازی کروماتینی گویند

- **اطلاعات اپی ژنتیک:** اطلاعاتی که از یک نسل به نسل دیگر انتقال می یابند ولی در توالی نوکلئوتیدی کد نمی شوند:
  - تغییر هیستون ها و واریانت های آنها
  - تغییر کوالانس توالی DNA

- **محتویات و نوع هیستون ها:**
  - کاهش هیستون H1 ←کاهش بسته بندی DNA ← افزایش رونویسی
  - واریانت های هیستونی H3.3 و H2AZ ← کاهش تراکم رونویسی و افزایش دسترسی به DNA

- **تغییر کوالانس هیستون ها:**
  - **استیلاسیون: باعث افزایش رونویسی**
  - **متیلاسیون**
  - **اوبی کویتینیلاسیون**
  - **ساموئیلاسیون**

تغییر کوالان هیستون



- استیلاسیون توسط هیستون استیل ترانسفرازها نظیر P300 و CBP
- داستیلاسیون توسط هیستون داستیلازها
- **سندرم روبینشتین – تای بی**: جهش در CBP

تغییر کوالان DNA

متیلاسیون

- در جزایر CpG، بر روی سیتوزین های هر دو رشته (بیشتر در نواحی پروموتری) ←کاهش رونویسی
- نقش در سرطان زایی
- ۵- آزاسیتیدین ← مهار DNA متیلاز← درمان لوسمی

ازدیاد ژنی

- افزایش محصول پروتئینی ژنها:
  - ۱- رونویسی تکراری ژنها
  - ۲- ترجمه تکراری ژنها
- افزایش تعداد ژنهای آنها (rRNA و tRNA)

ازدیاد ژنی برای مقابله با عوامل دارویی (داروی شیمی درمانی متوتروکسات مهار کننده دی هیدروفولات ردوکتاز می باشد، ازدیاد ژن دی هیدروفولات ردوکتاز)

تنظیم رونویسی در یوکاریوتها

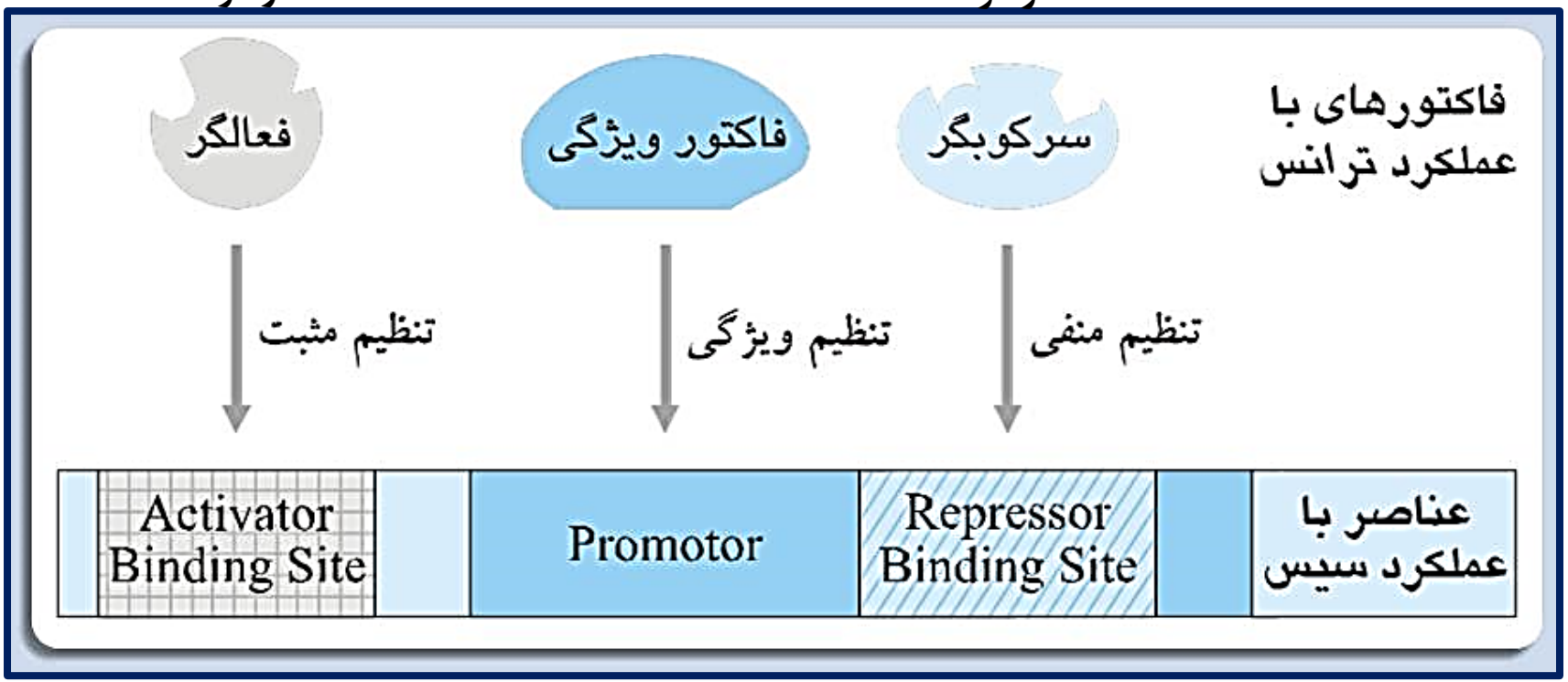
غالبا تنظیم مثبت چرا؟

- ۱- نیاز به تعداد زیاد سرکوبگر
- ۲- به دلیل بسته بندی DNA

عوامل شرکت کننده در تنظیم بیان ژن

در یوکاریوتها
معمولتر است

در باکتریها
معمولتر است

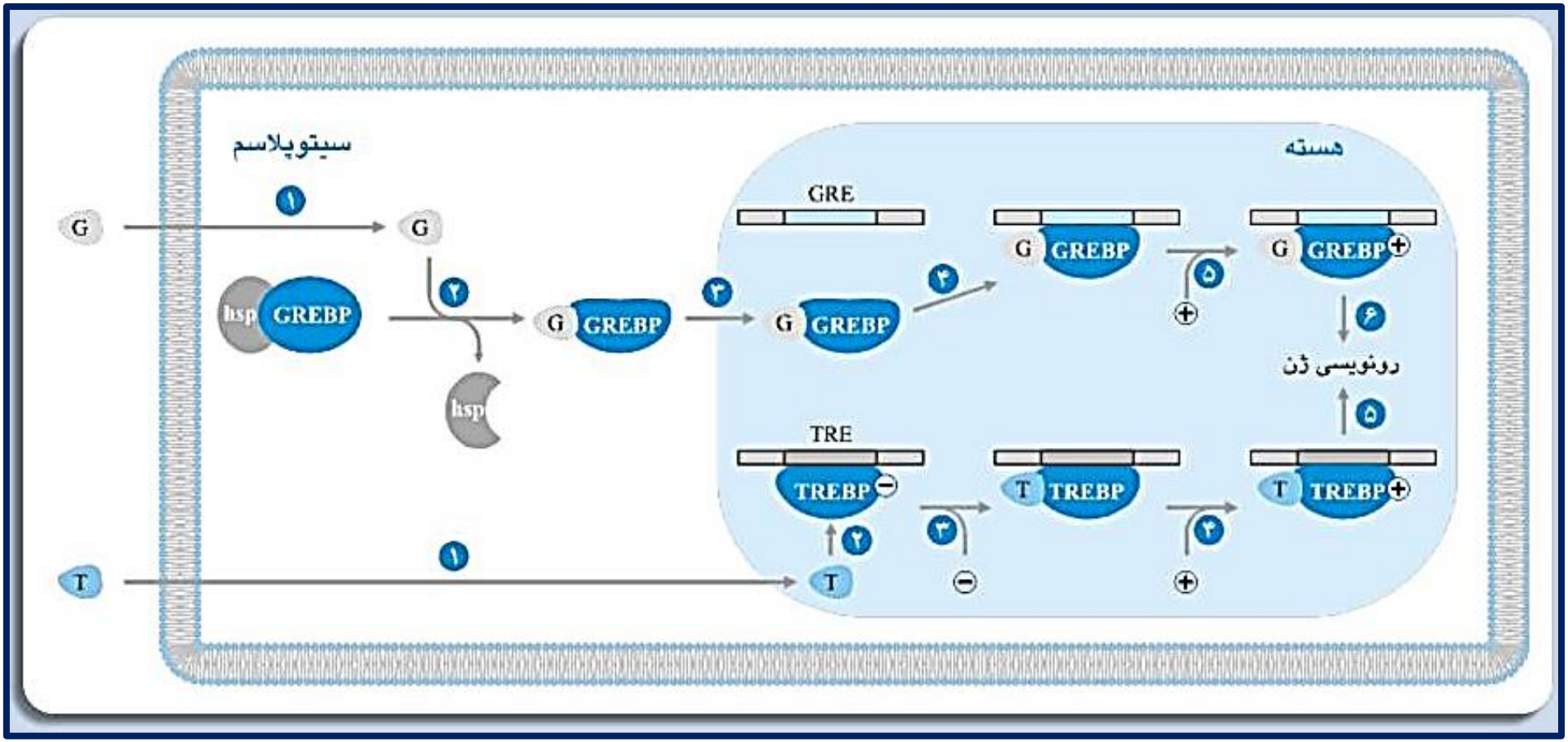


فعالیت سرکوبگرها و فعالگرها تحت تاثیر افکتورهای تنظیمی قرار می گیرد.

تنظیم رونویسی: اجزاء اصلی

- ✓**عنصر پاسخ (RE)** (عنصر با فعالیت سیس معمولا در انتها ۵ ژن تحت تنظیم)
- ✓**پروتئین اتصال به عنصر پاسخ** (REBP) (فاکتور با فعالیت ترانس به RE متصل می شود)
  - تحت تاثیر وضعیت کونفورماسیون و فسفریلاسیون آن
- ✓لیگاند (هورمون، پیامبر دوم، متابولیت یا یون فلزی)
  - گیرنده داخل سیتوپلاسم: هورمون های گلوکوکورتیکوئیدها و مینرالوکورتیکوئیدها
  - گیرنده داخل هسته ای: پروژسترون، استرادیول، آندروژن، ویتامین D، اسید رتینوئیک و هورمون تیروئیدی

تنظیم رونویسی توسط هورمون های دارای گیرنده درون سلول



G: هورمون گلوکوکورتیکوئیدی/گیرنده سیتوپلاسمی آن به صورت کمپلکس با پروتئین شوک حرارتی می باشد

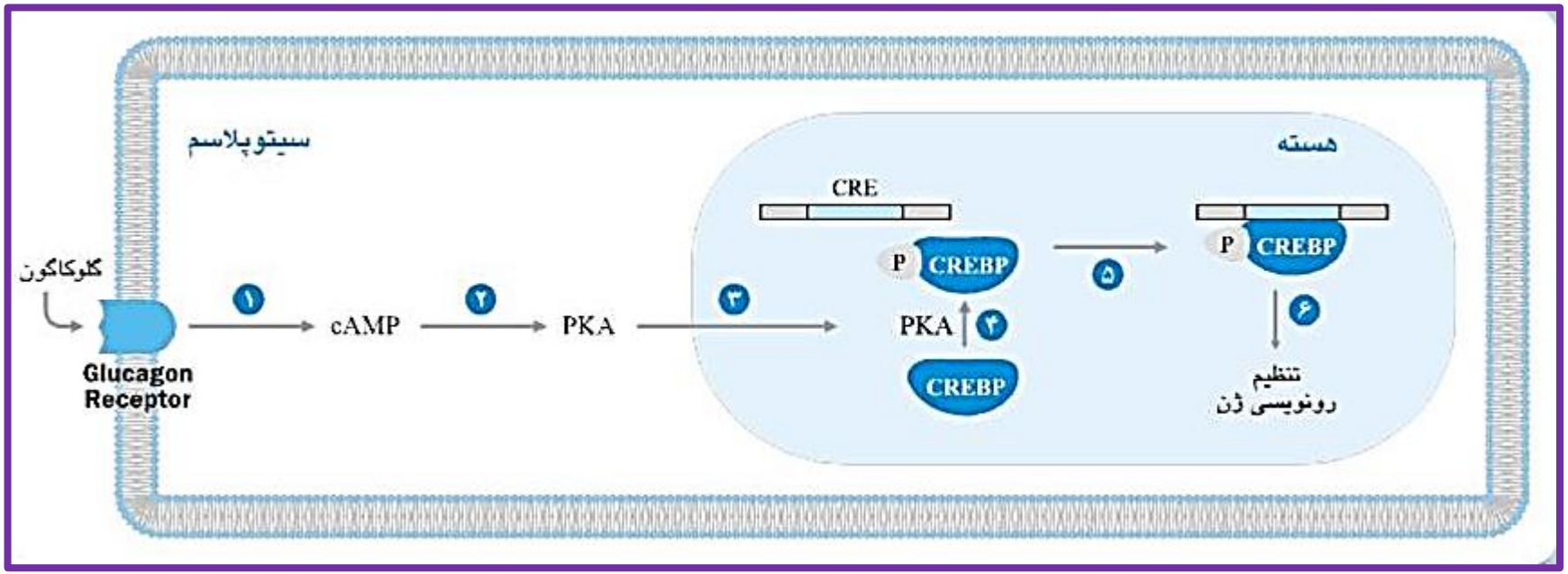
T: هورمون تیروئید/ گیرنده آن در نبود T در کمپلکس با کمک سرکوبگر و متصل به TRE بوده و مانع رونویسی می شود

– : کمک سرکوبگر + : کمک فعالگر

تنظیم بیان ژن توسط هورمون های دارای گیرنده خارج سلولی

هورمون های انسولین، گلوکاگون و اپی نفرین دارای گیرنده سطح سلولی می باشند

- CREBP هنگامی فسفریله شد به CRE متصل می شود.



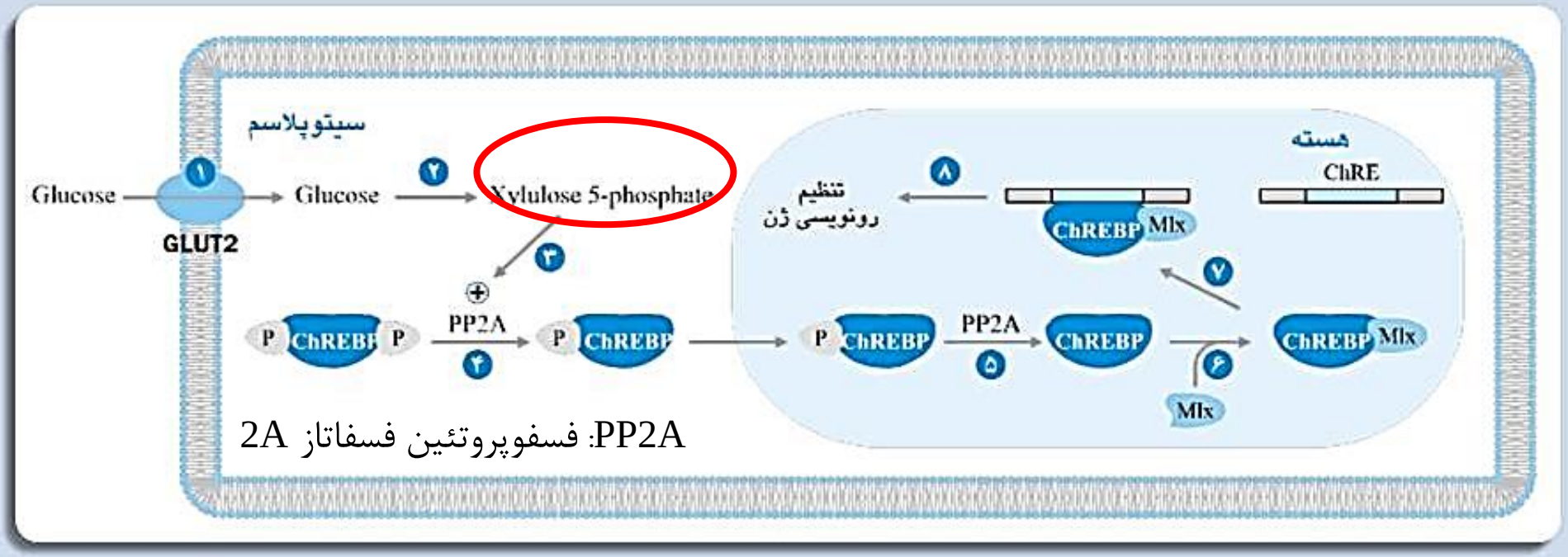
تنظیم بیان ژن توسط رژیم غذایی پرکربوهیدرات در سلولهای کبدی
(تنظیم رونویسی توسط متابولیت درون سلولی گزیلوز ۵- فسفات)

گزیلوز تبدیل کربوهیدراتهای مازاد به اسیدهای چرب را تحریک می کند

ChREBPاتصال گزیلوز ۵- فسفات به

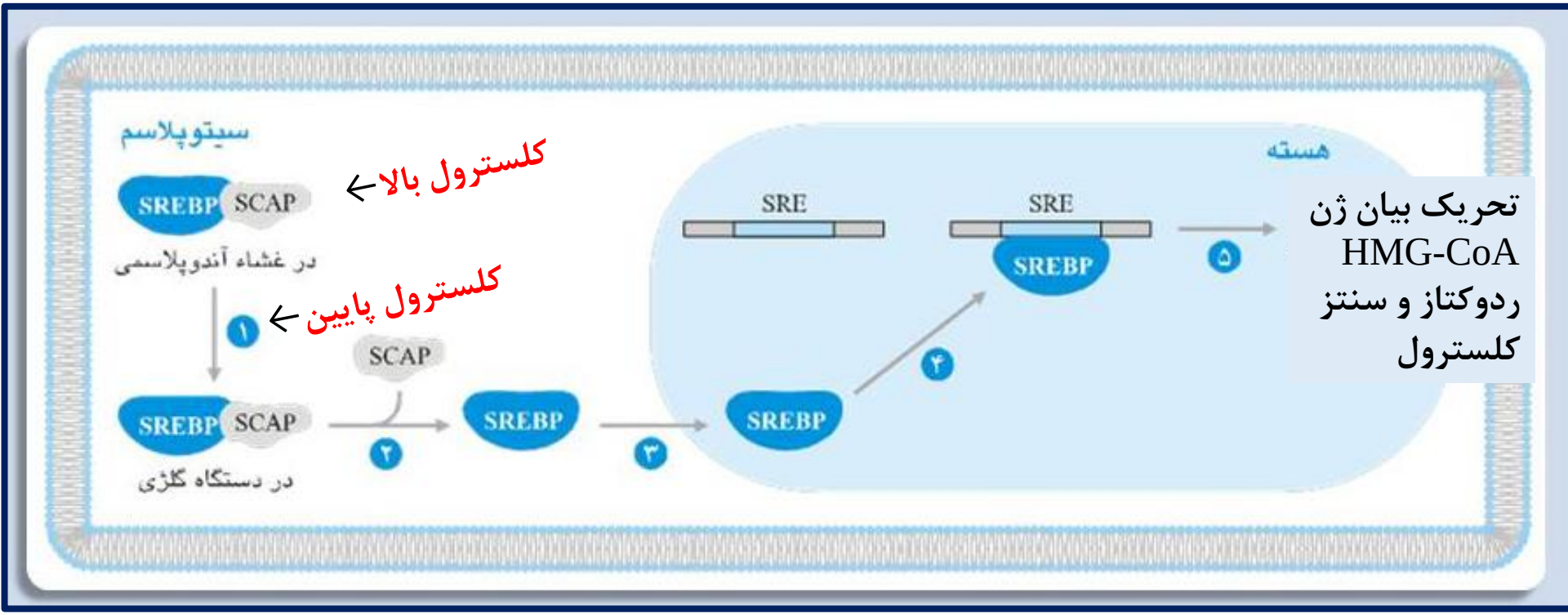
اتصال کمپلکس ChREBP-Mlx به ChRE سبب افزایش رونویسی از آنزیمهای پیرووات کیناز، استیل کوآ کربوکسیلاز و اسید چرب سنتتاز

گلوکاگون سبب فسفریلاسیون و غیر فعال شدن ChREBP می گردد



تنظیم رونویسی توسط متابولیت های درون سلولی/کلسترول

SREBP: پروتئین اتصالی عنصر تنظیم استرول
SCAP: پروتئین فعال کننده تجزیه کننده SREBP (SREBP cleavage activating protein)



تنظیم رونویسی توسط متابولیت های درون سلولی اسیدهای چرب

- گیرنده های فعال شونده توسط عامل تکثیر پراکسی زوم (PPAR)
- تنظیم متابولیسم لیپیدها و کربوهیدرات ها در پاسخ به تغییر لیپید غذایی
- نقش در تنظیم وزن بدن
- نقش در درمان دیابت

PPAR: Peroxisome proliferator-activated receptors

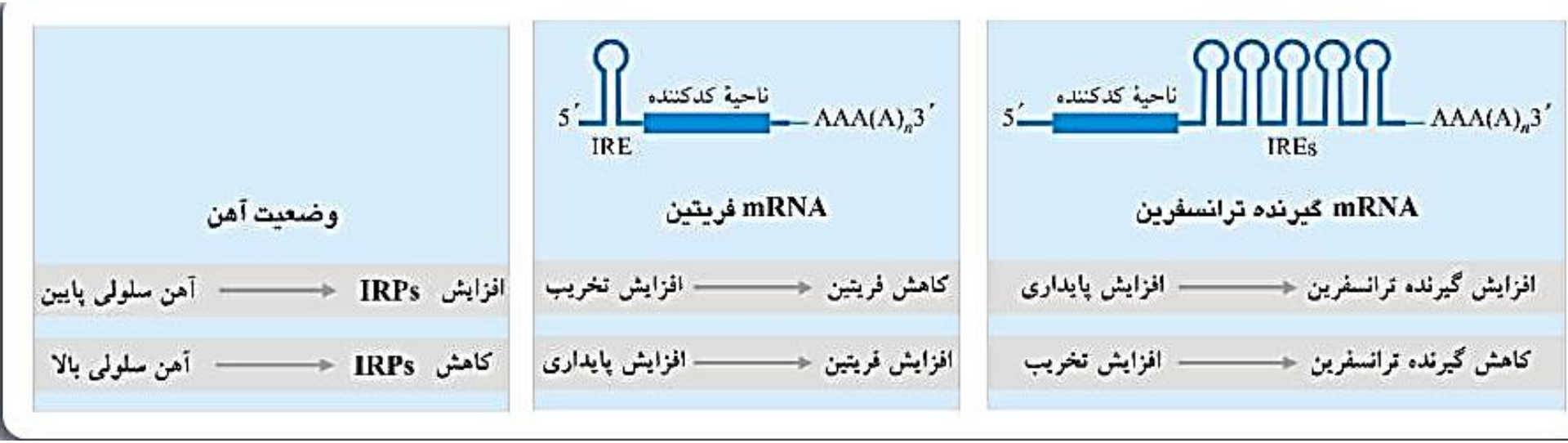
تنظیم پردازش

- ایجاد کلاهک در انتهای ۵ و دم پلی A در انتهای ← پایداری mRNA و افزایش ترجمه
- ایجاد ساختمان ساقه – قوس در انتهای ۳ مولکولهای mRNA هیستونها (فاقد دم پلی A)، گیرنده ترانسفرین و فریتین
- استفاده از جایگاههای متفاوت
  - شروع رونویسی
  - اسپلایسینگ
  - پلی آدنیلاسیون

تنظیم ترجمه: فاکتورهای شروع ترجمه

- فسفریلاسیون eIF-2 ←کاهش سنتز پروتئین
- پروتئین های اتصالی eIF-4E (4E-BPs) با اتصال به eIF-4E آن را غیر فعال می کند
- فسفریلاسیون eIF-4E و 4EBPs ← افزایش ترجمه

تنظیم ترجمه: تنظیم پایداری مولکولهای mRNA



- IRPs: پروتئین های تنظیم آهن (Iron regulatory proteins)
- IREs: عناصر پاسخ به آهن (Iron response elements)
- IRPs به IREs متصل می شوند اما دو اثر متضاد دارد افزایش تخریب mRNA فریتین و افزایش پایداری و ترجمه گیرنده ترانسفرین