



Regulace (kontrola) genové exprese

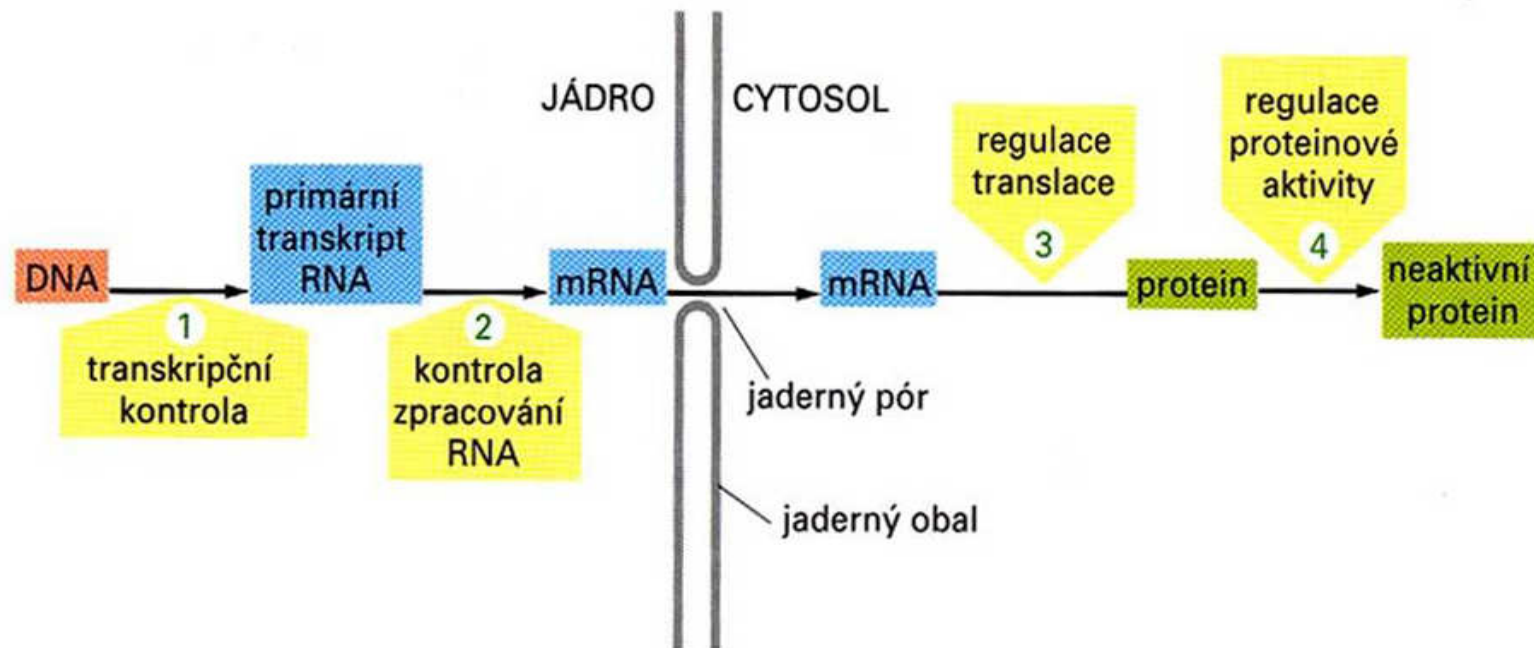
Mechanismy, zajišťující expresi genů ve správnou dobu a na správném místě (časoprostorová regulace).

Odpovědi na signály z prostředí (prokaryota) nebo signály z jiných buněk, tkání a orgánů (eukaryota)

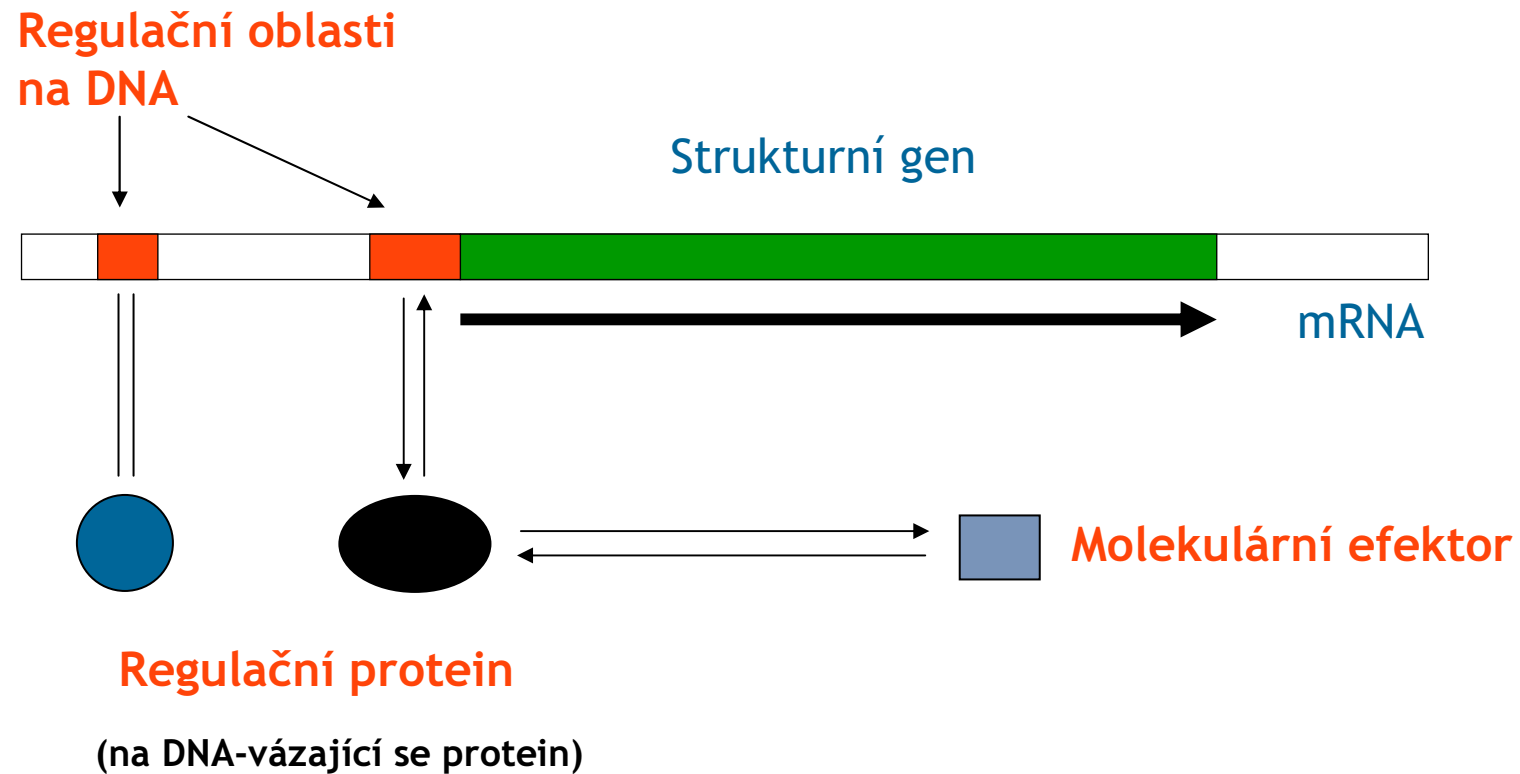
Roviny kontroly genové exprese

1. Kde a jak často je daný gen transkribován (**transkripční kontrola**)
2. Jak je primární transkript sestřižen (**kontrola posttranskripční - sestřihová**)
3. Výběr RNA, které budou transportovány z jádra do cytoplazmy (**kontrola transportu RNA**)
4. Výběr mRNA, které budou překládány na ribozomech (**translační kontrola**)
5. Selektivní destabilizace určitých mRNA v cytoplazmě (**degradace mRNA**)
6. Selektivní aktivace, inaktivace a kompartmentizace specifických proteinů poté, co byly nasyntetizovány (**kontrola proteinové aktivity - posttranslační kontrola, transport**)

Úrovně kontroly exprese genů u eukaryot

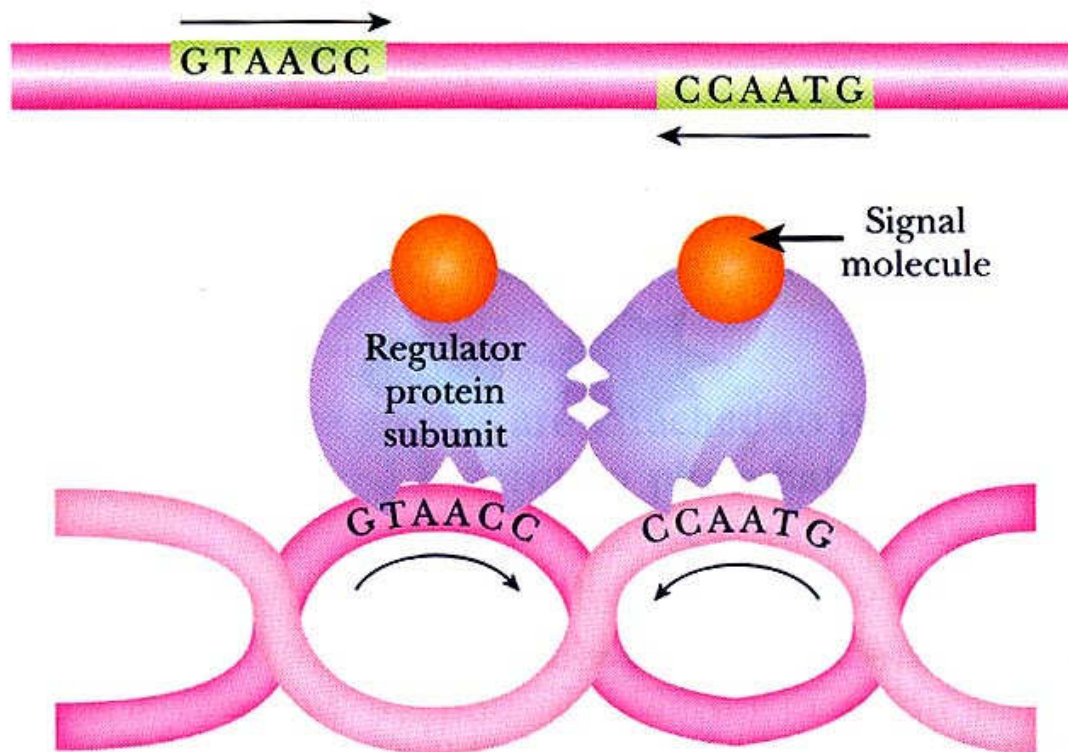


Regulace genové exprese na úrovni transkripce



Je zprostředkována interakcemi regulačních proteinů s regulačními sekvencemi na DNA

Vazba regulačních proteinů na obrácená opakování na DNA



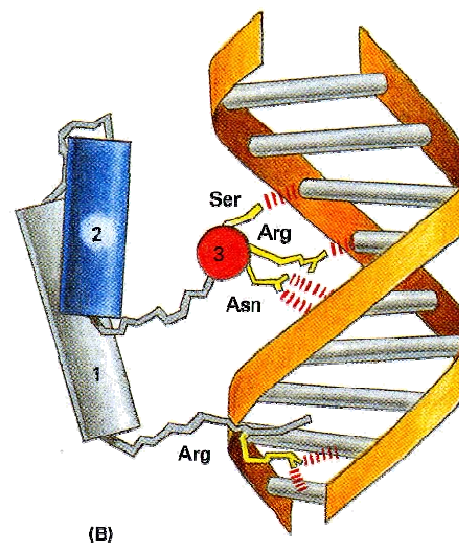
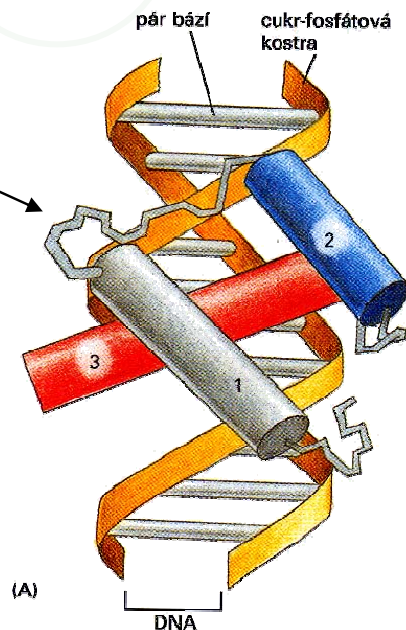
Regulační oblast
DNA obsahující
obrácená
opakování

Po vazbě signální
molekuly se regulační
protein váže na
regulační oblast

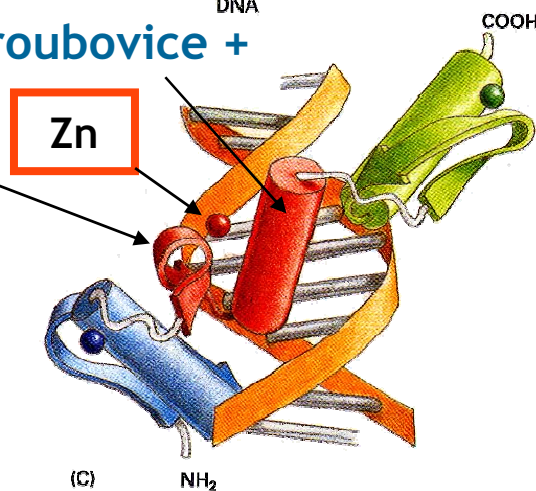
DNA-vazebné motivy proteinů (DBD domény)

Homeodoména
- tři spojené
 α -šroubovice

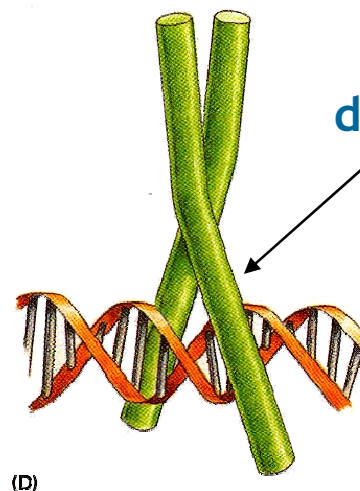
Vazba proteinu
do velkého
žlábků DNA



Zinkový prst α -šroubovice +
 β -struktura

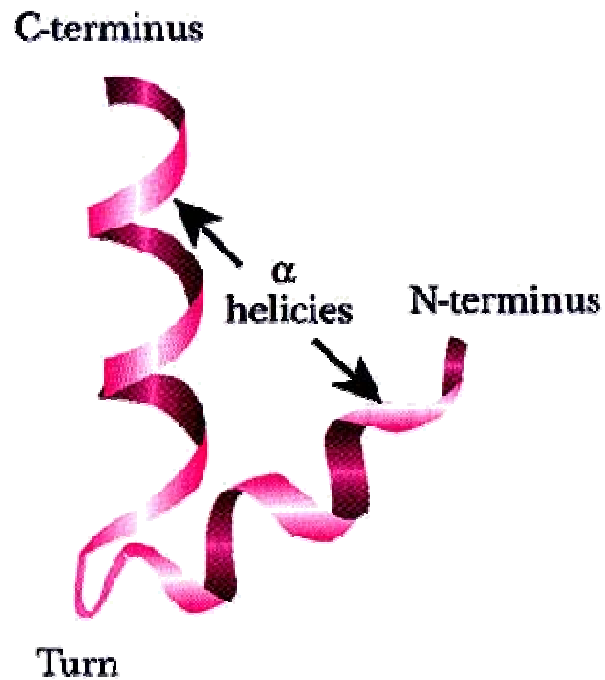


Leucinový zip
dvě α -šroubovice

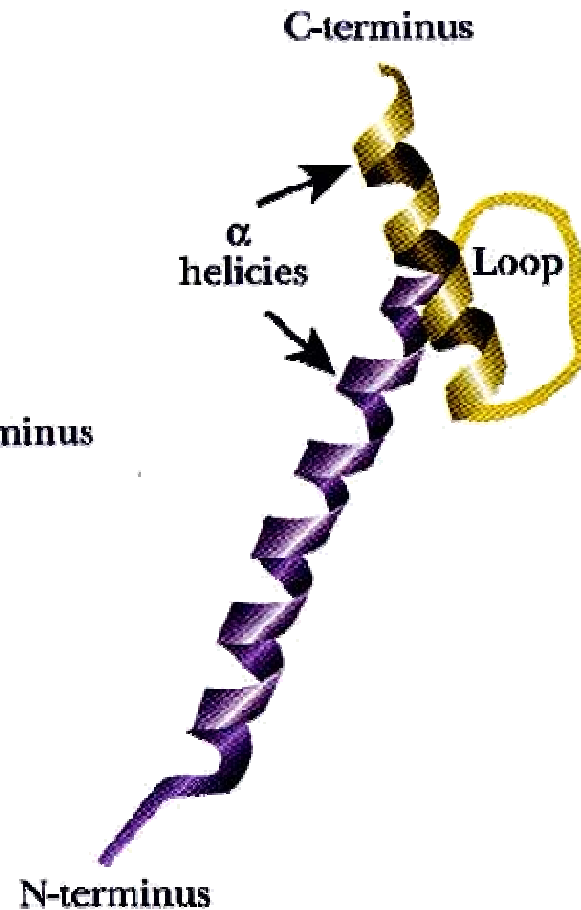


Motivy regulačních proteinů

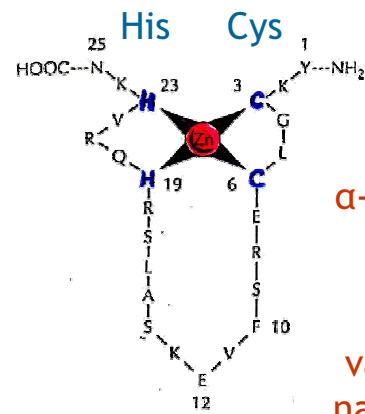
Helix-otáčka-helix
(HTH)



Helix-smyčka-helix (HLH)

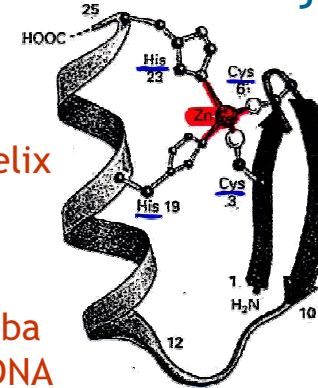


Proteiny s motivem zinkových prstů



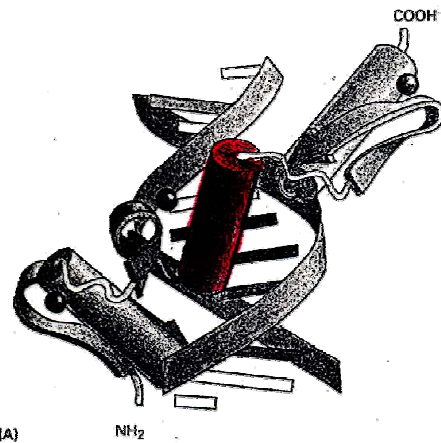
trojrozměrná struktura

α-helix
↓
vazba na DNA

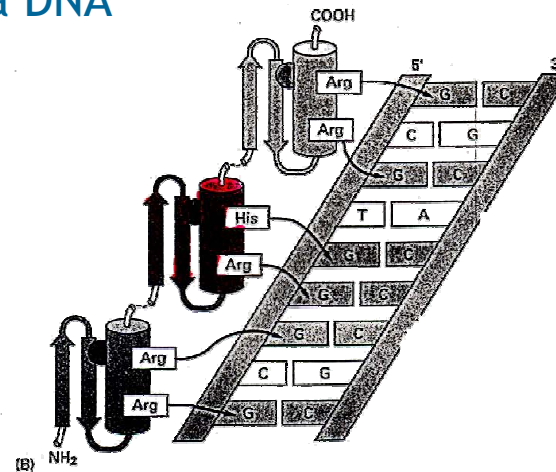


antiparalelní
β-struktura

vazba proteinu na DNA

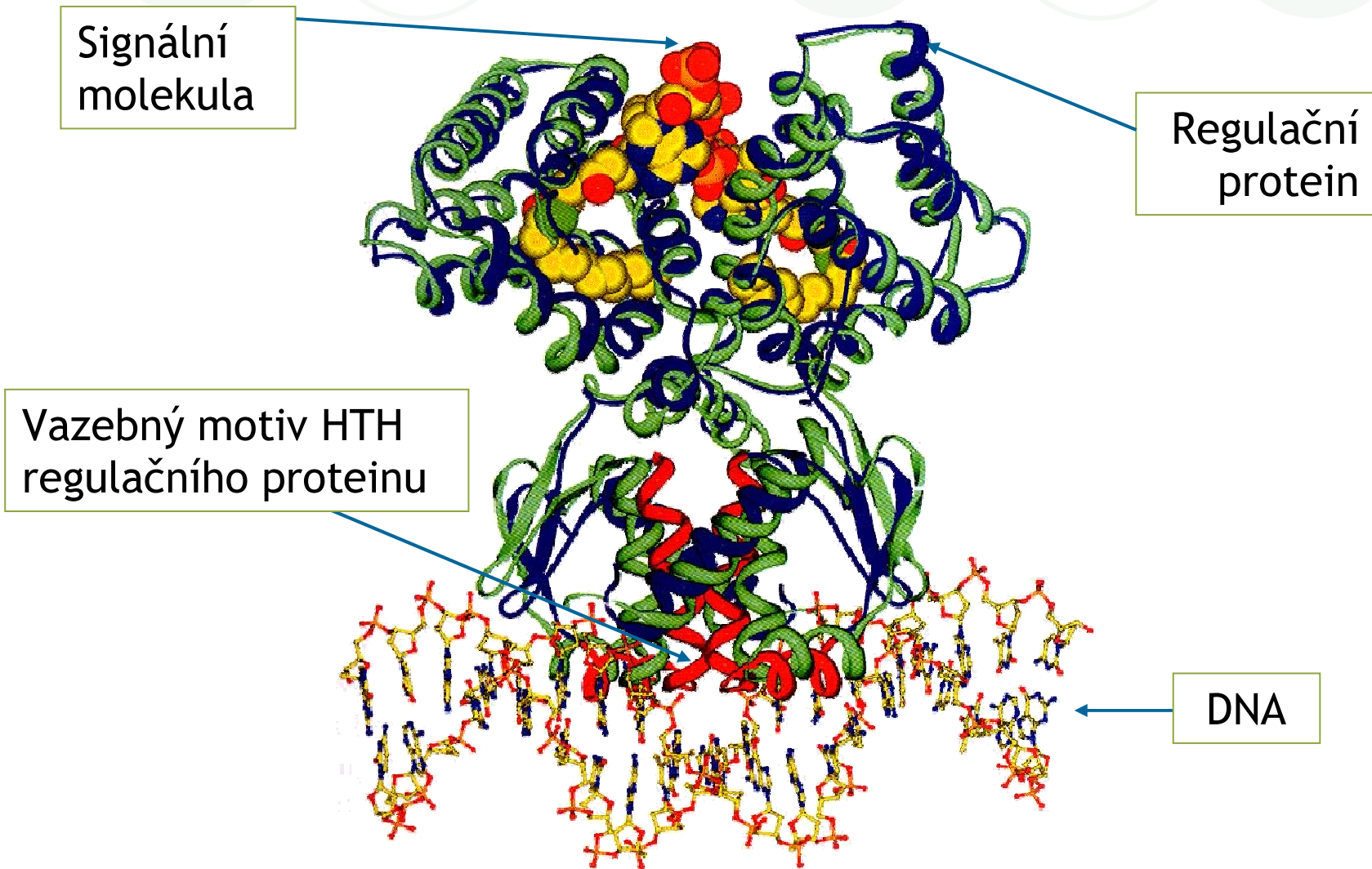


(A)

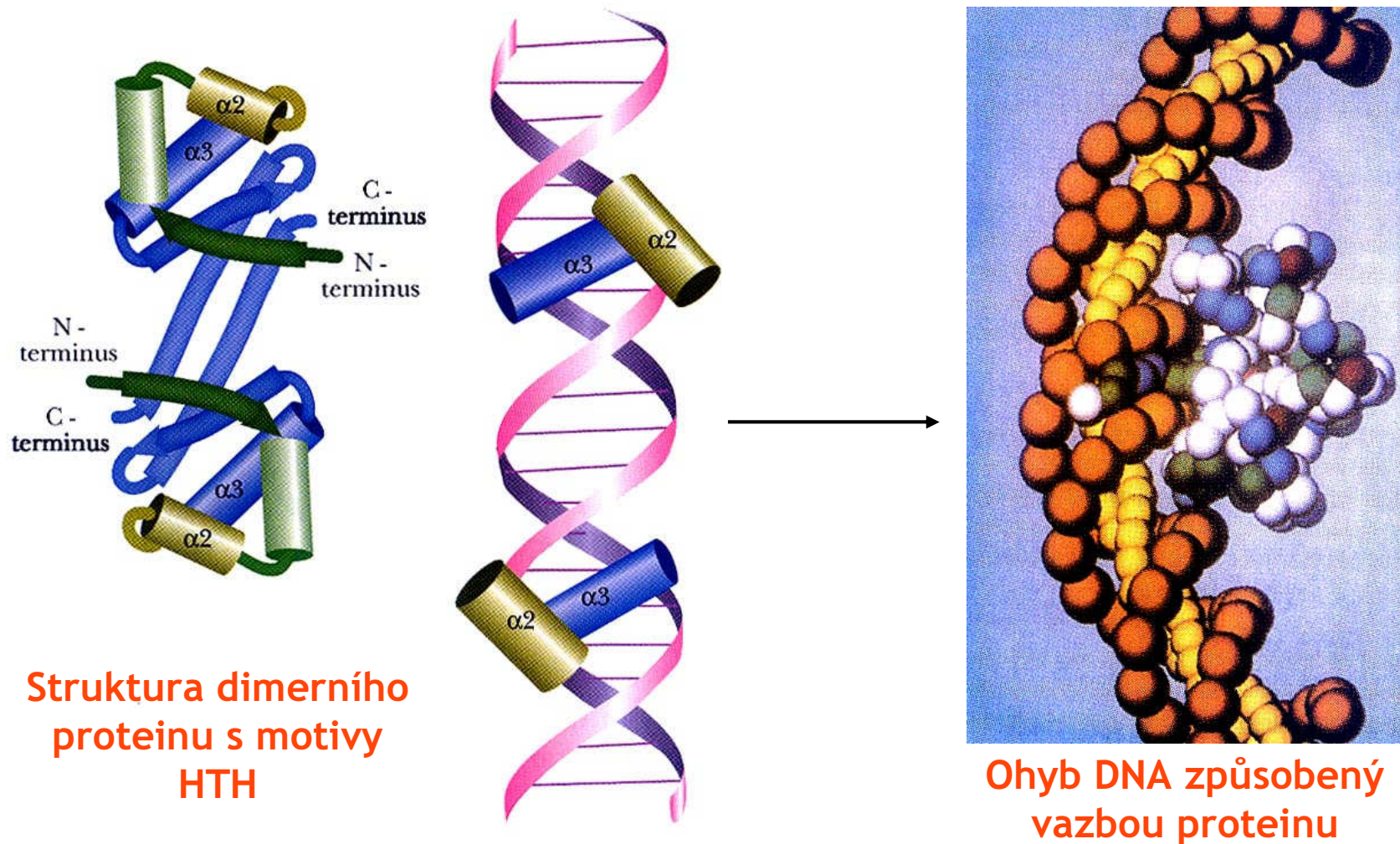


(B)

Vazba aktivovaného regulačného proteínu na DNA



Vazba regulačního proteinu na DNA

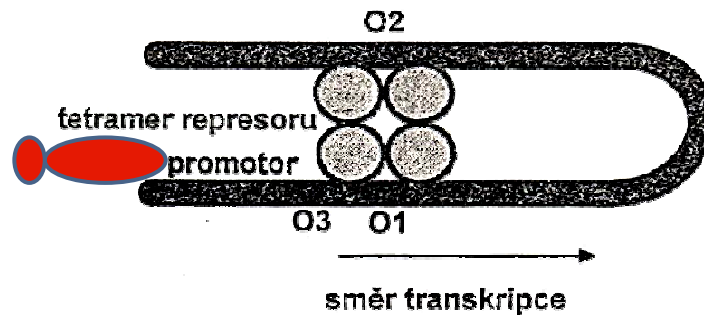
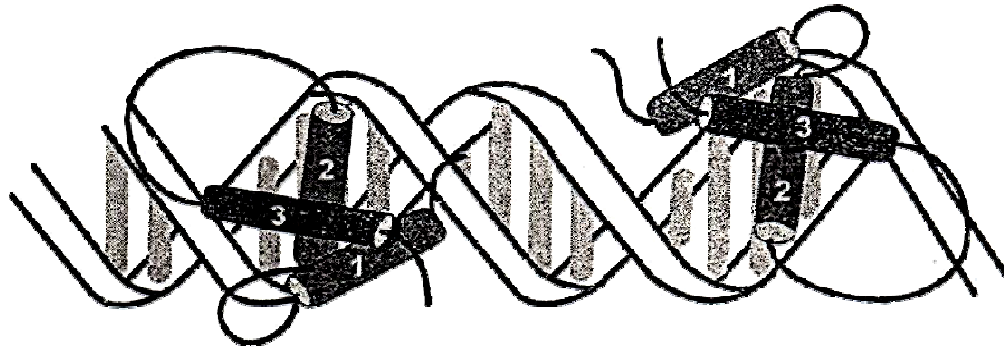


Příklad vazby regulačního proteinu na regulační oblast DNA



Šipkami je zvýrazněný přibližný palindrom.
Podobnost v palindromu se snižuje ve sledu:
O1 > O2 > O3.

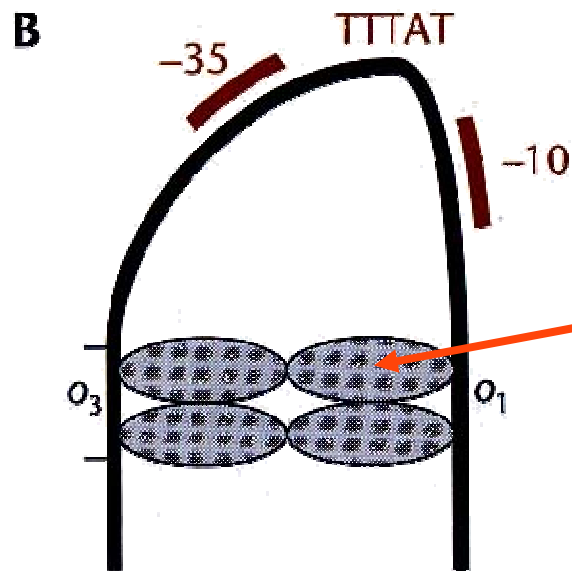
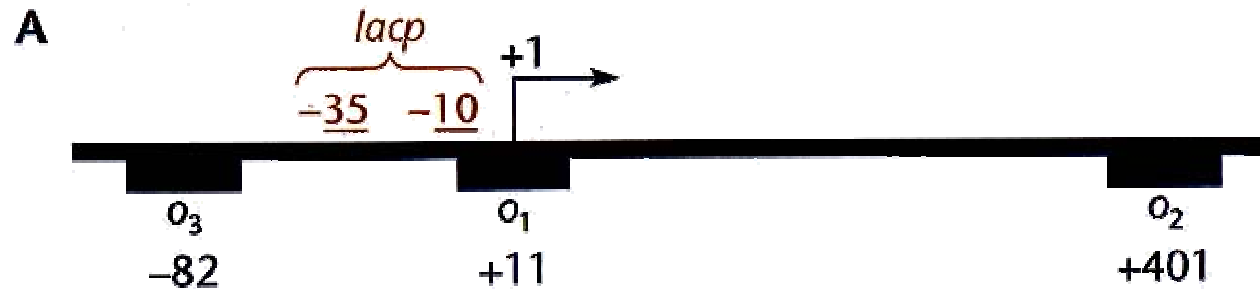
O1: A A T T G T G A G G G G A T A A C A A T T
 T T A A C A C T C G C C T A T T G T T A A



Vazba dimeru represoru laktózoového operonu na palindromatickou sekvenci operátorové podjednotky O1

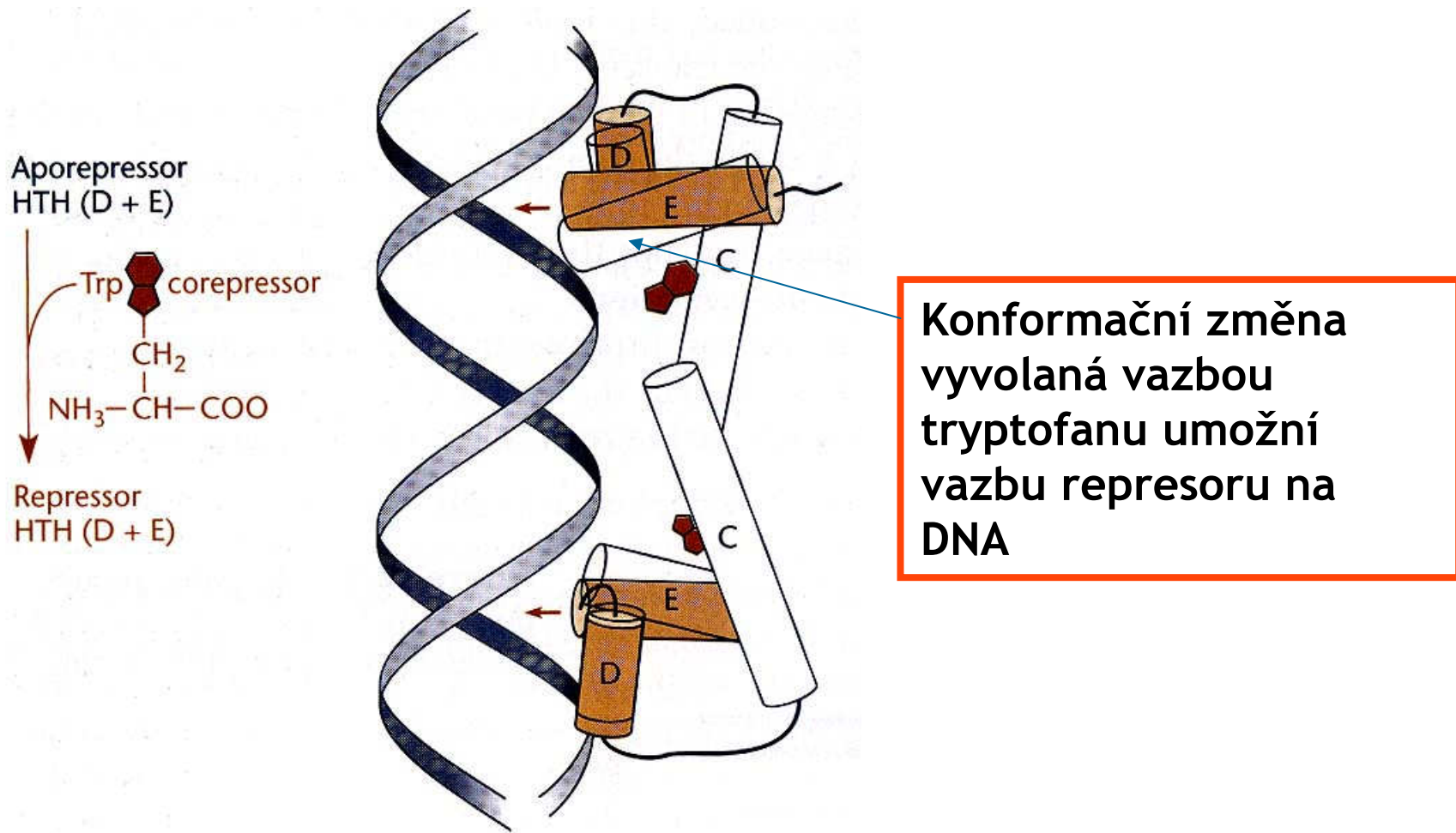
Vytvoření DNA-smyčky mezi dvěma podjednotkami operátoru

Vazba represoru LacI na sekvence operátorů lac operonu



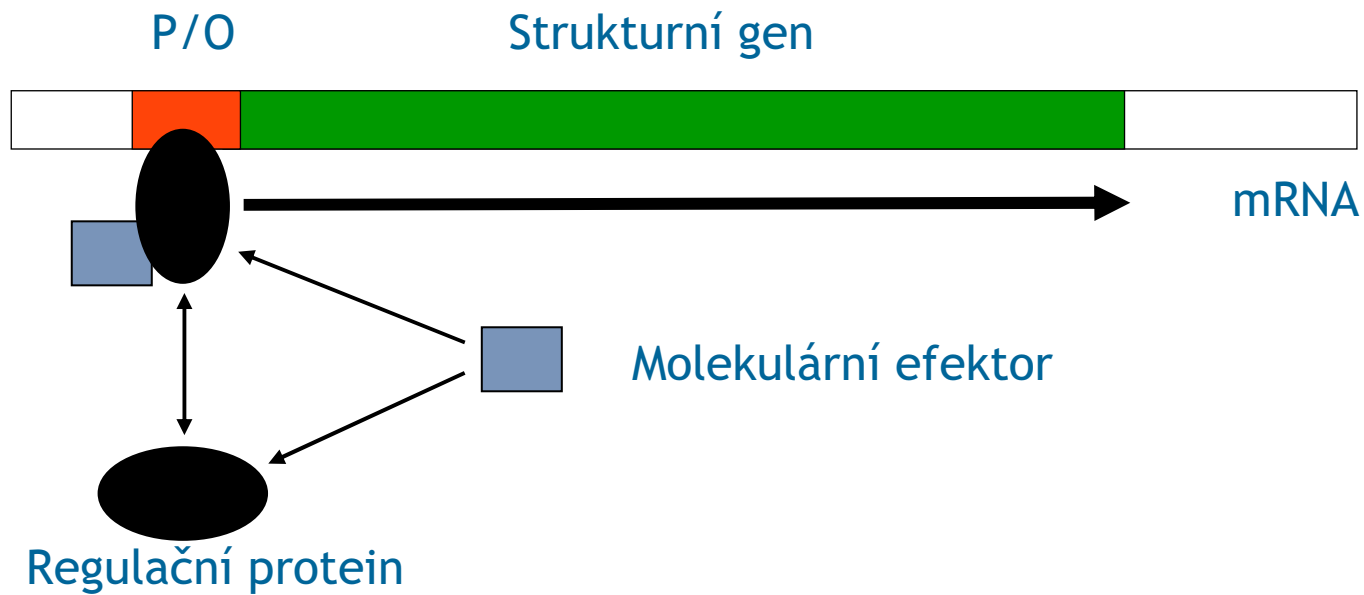
Represor ve formě tetrameru se váže k operátorům O1 a O3 (nebo O2 a O3), tím navodí ohyb DNA a znepřístupní promotor RNA-polymeráze

Konverze aporepresoru na reporesor po vazbě korepresoru



Regulace genové exprese na úrovni transkripce u prokaryot

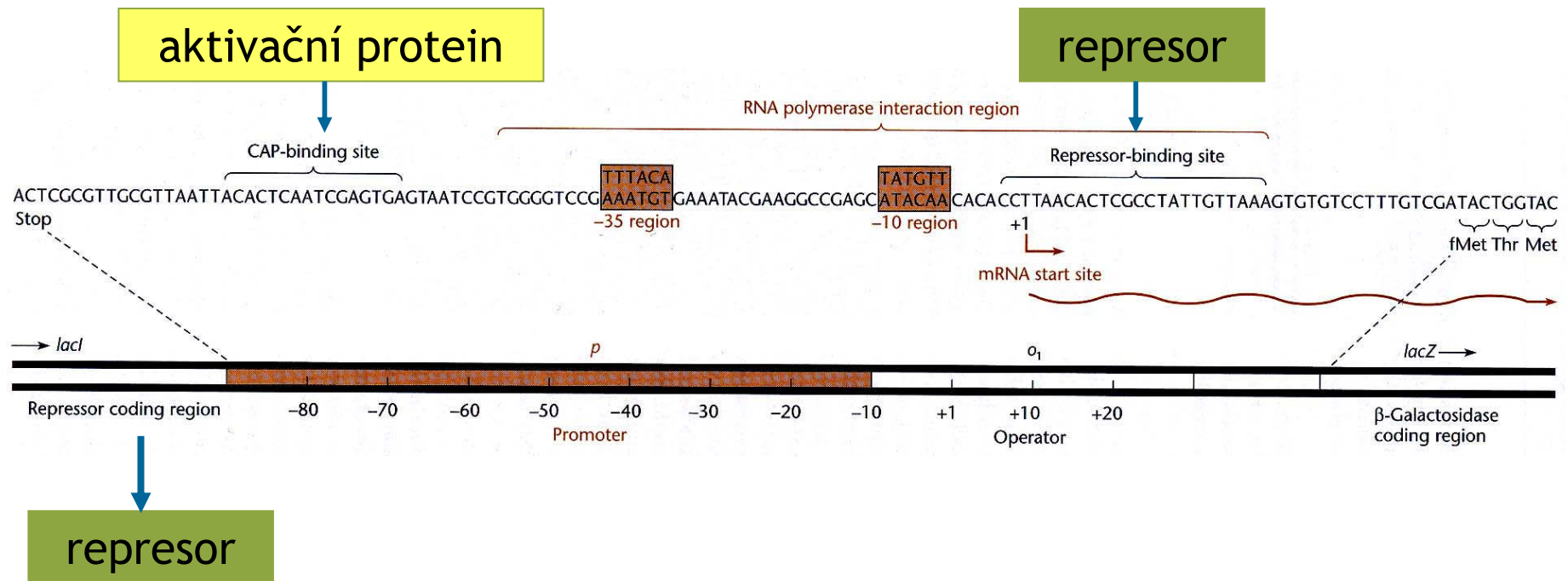
Promotor/operátor



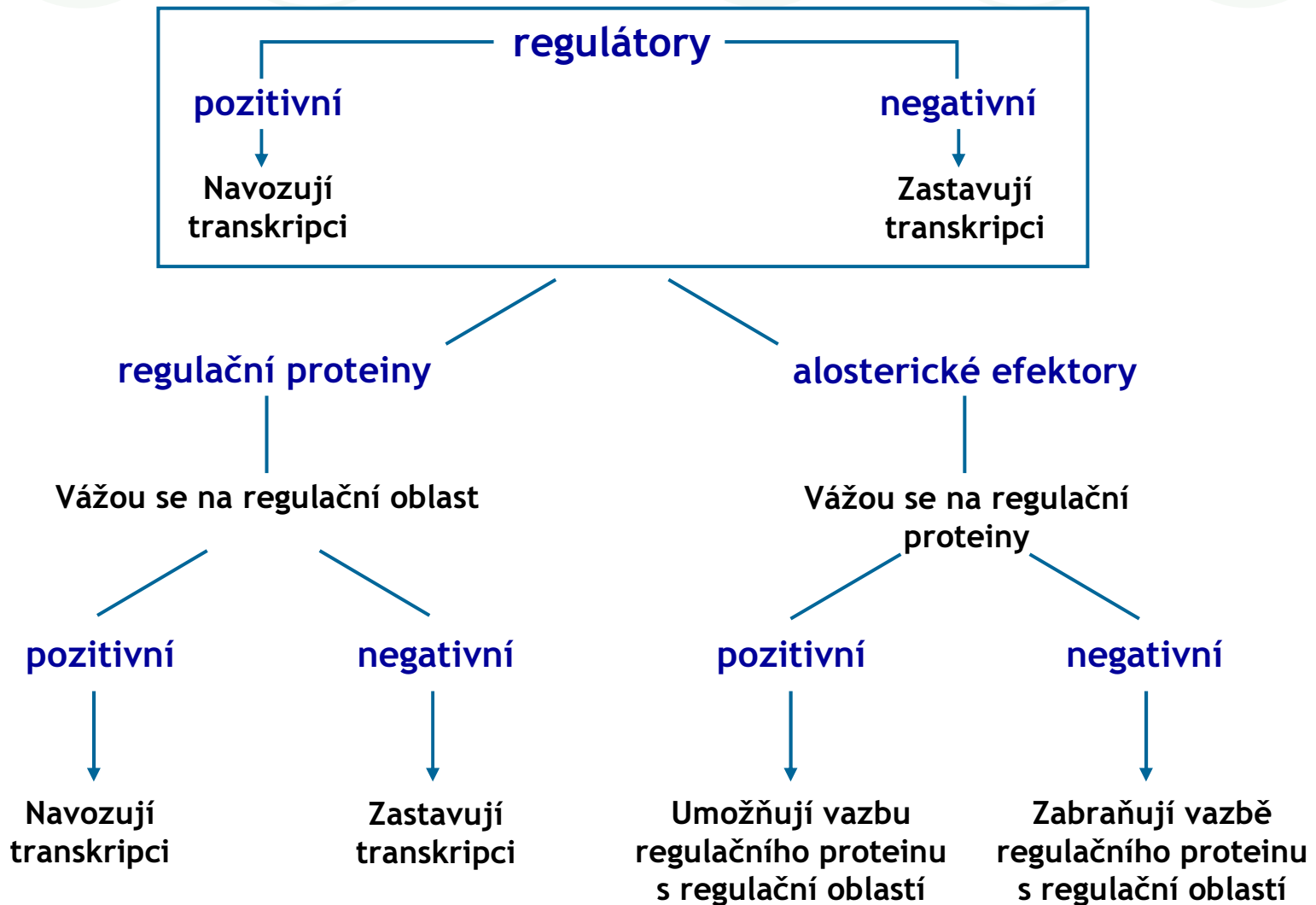
Oblast promotoru a operátoru laktózového operonu

vazba proti směru transkripce

vazba po směru transkripce



Klasifikace regulátorů



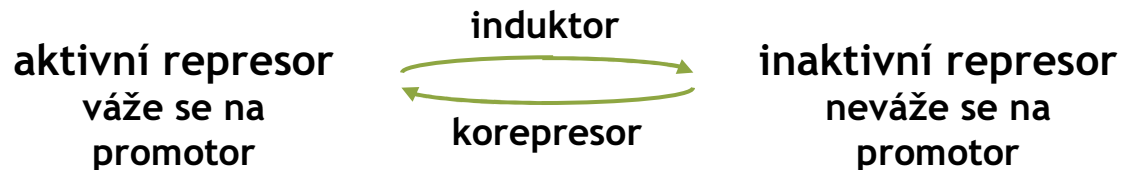
Negativní a pozitivní kontrola transkripce regulace

Negativní kontrola

Aktivní regulační protein vypíná transkripci

Regulační protein = transkripční represor

Promotor je funkční po odstranění represoru

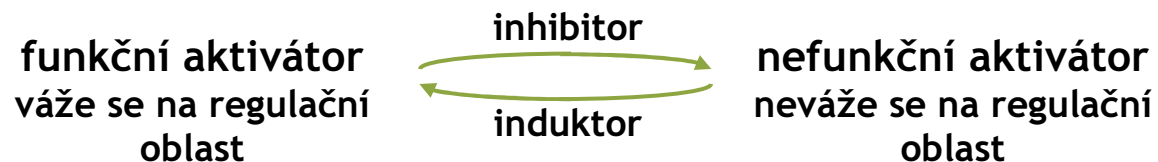


Pozitivní kontrola

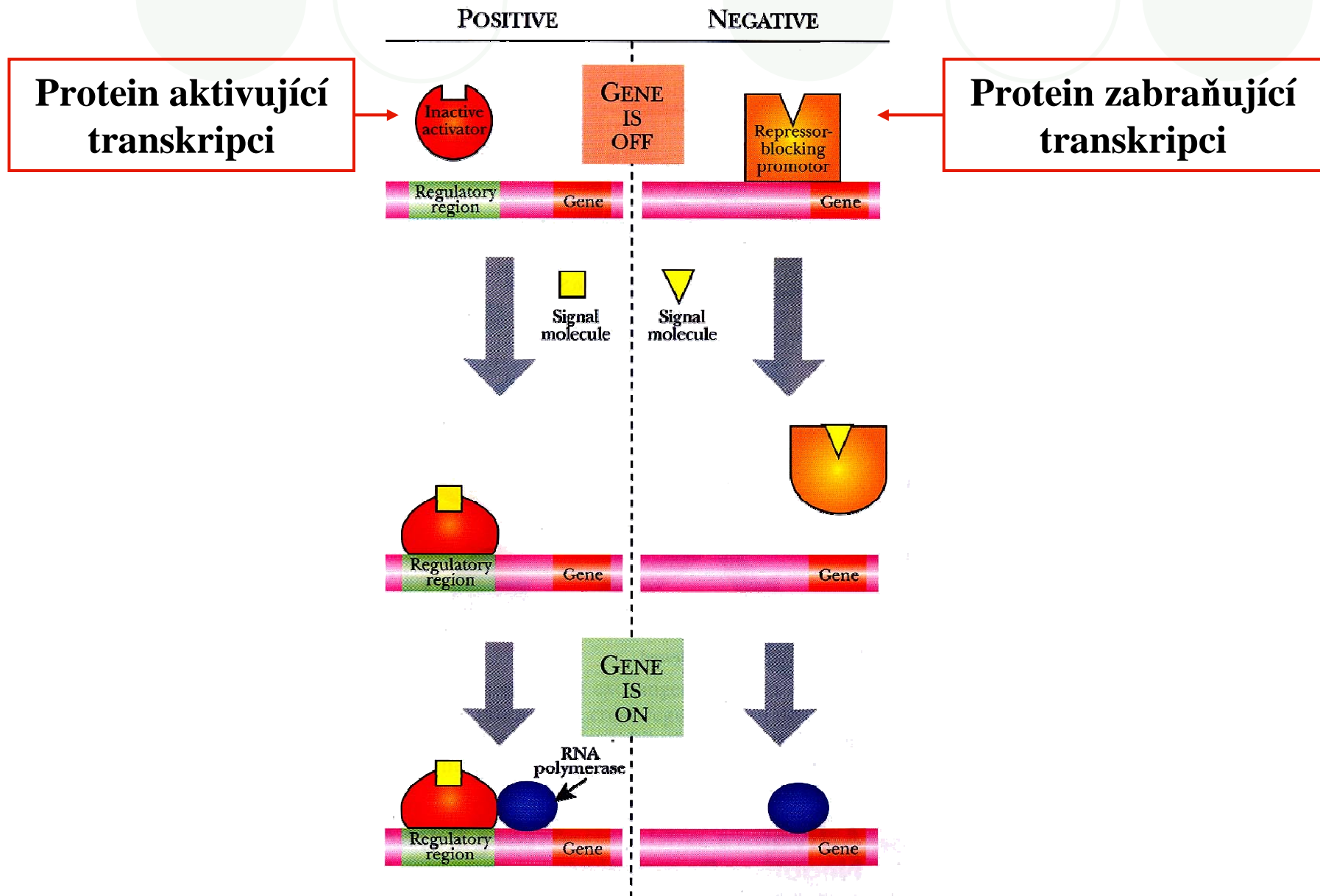
Aktivní regulační protein zapíná transkripci

Regulační protein = aktivátor transkripce

Promotor je funkční pouze po aktivaci, která umožní zahájit transkripci

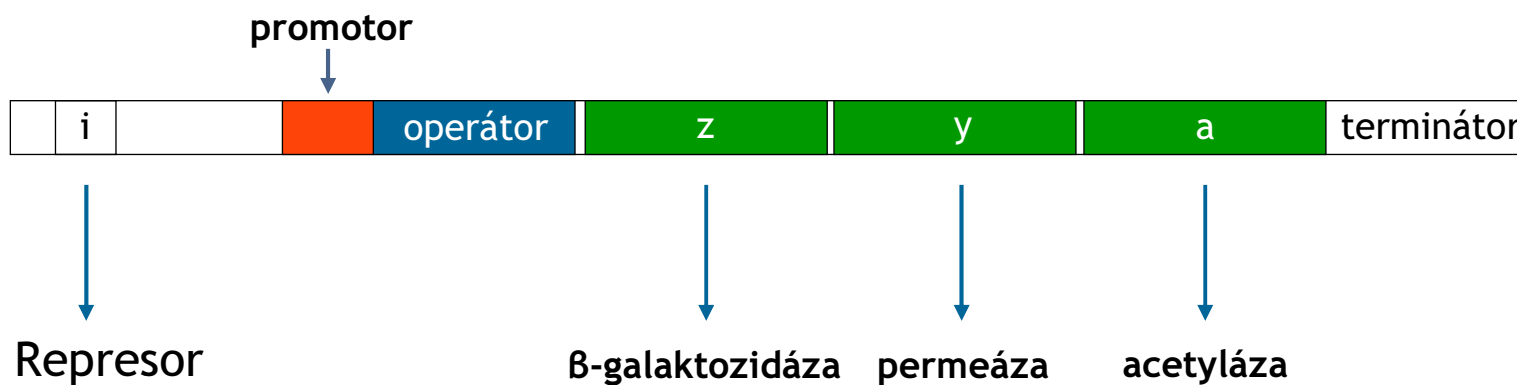


Princip pozitivní a negativní regulace transkripce



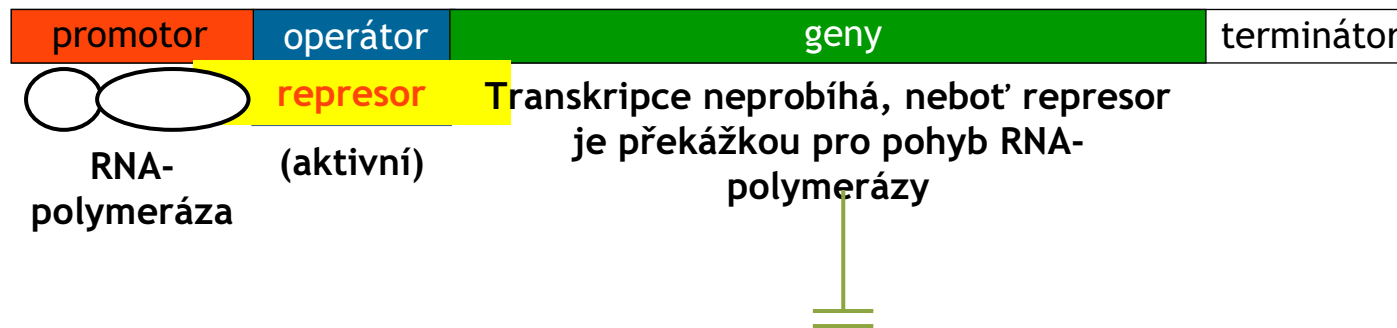
Příklad regulovatelného operonu

Laktozový operon *Escherichia coli*

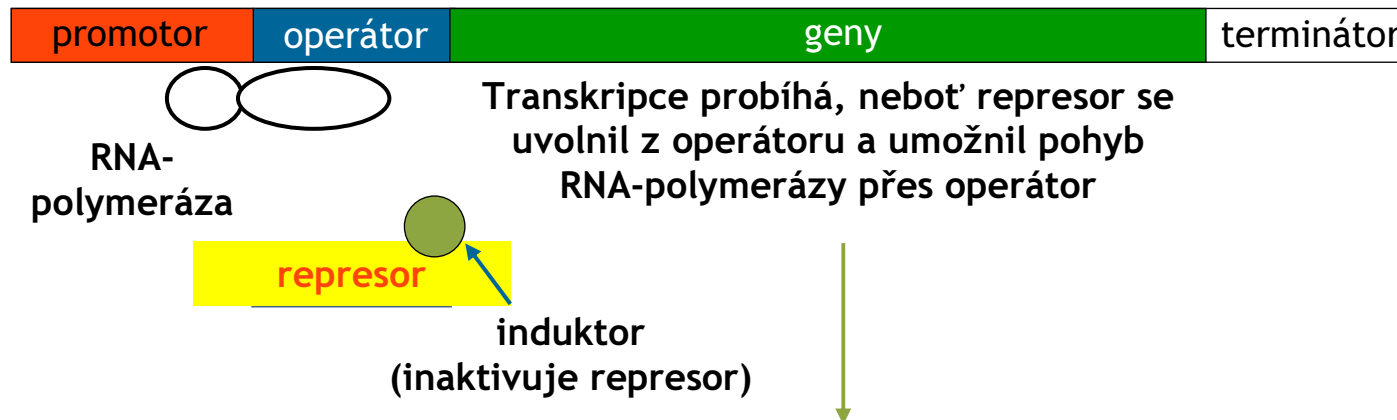


Všechny enzymy jsou indukovatelné laktózou (alolaktózou)

Negativní regulace laktóзовého operonu v rámci enzymové indukce

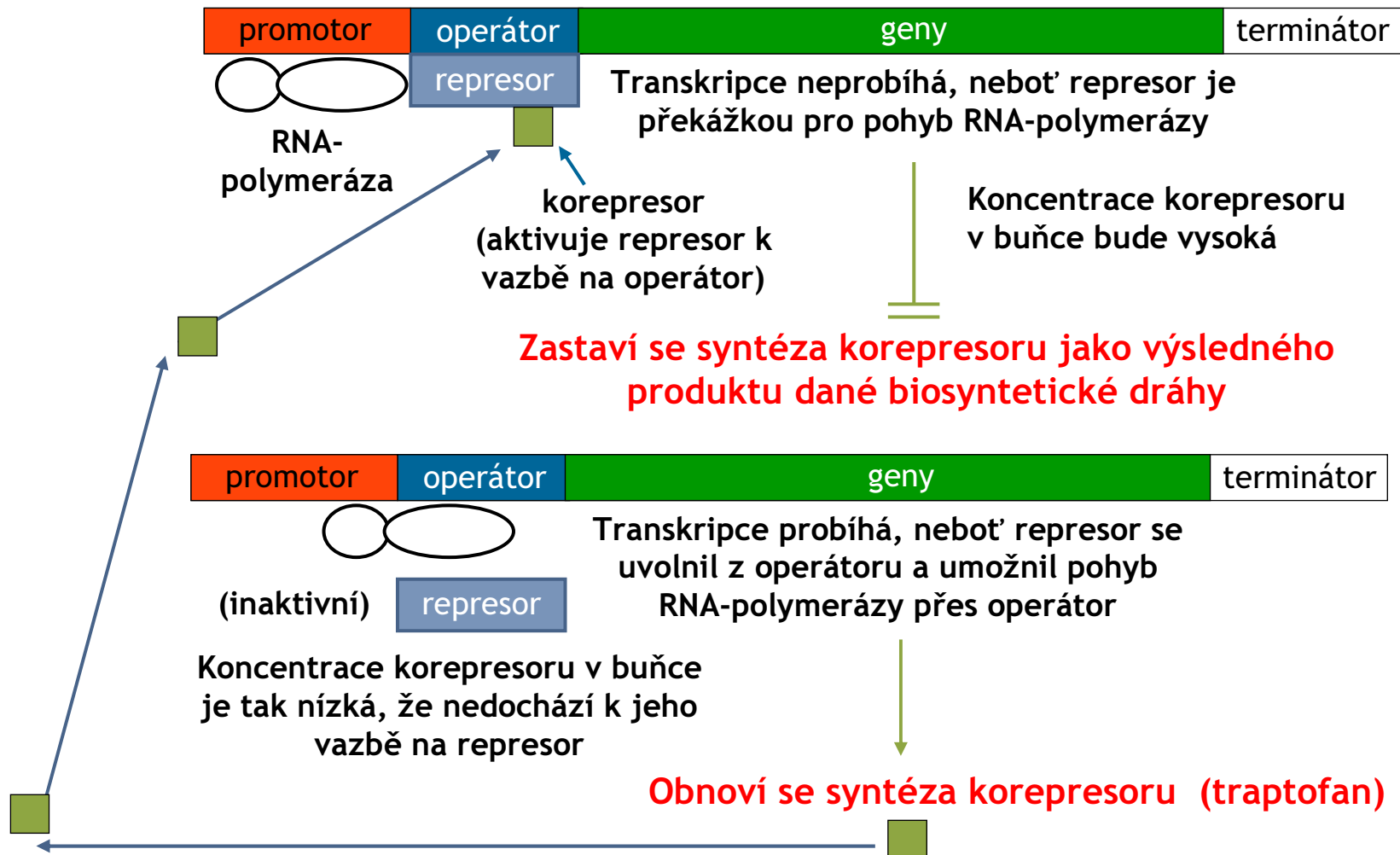


Netvoří se indukovatelné enzymy

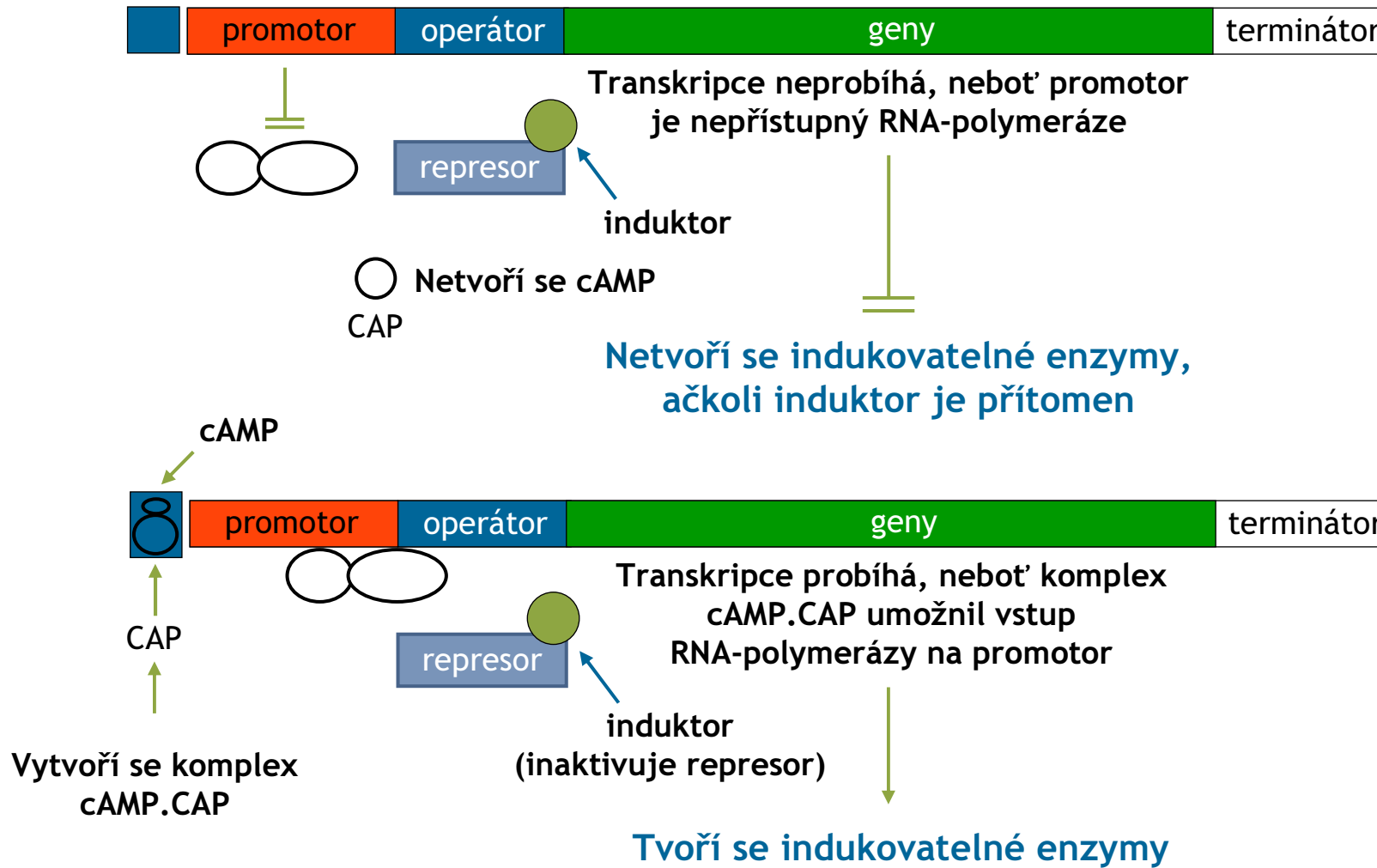


Tvoří se indukovatelné enzymy

Negativní regulace operonu (např. tryptofanového) v rámci enzymové represe



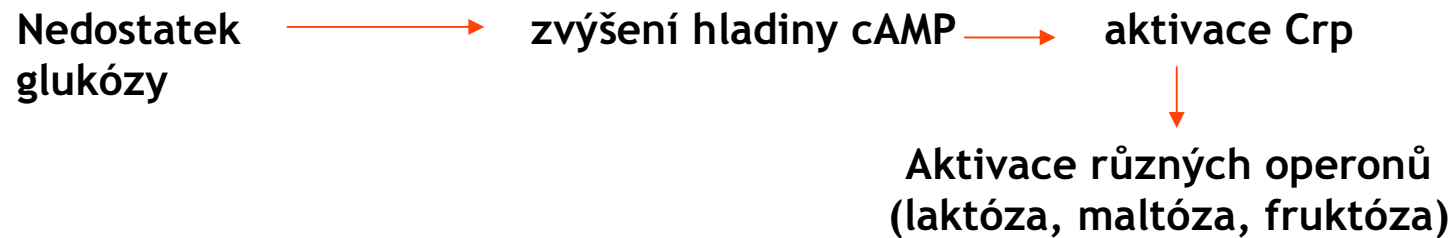
Pozitivní regulace operonu



Regulátory

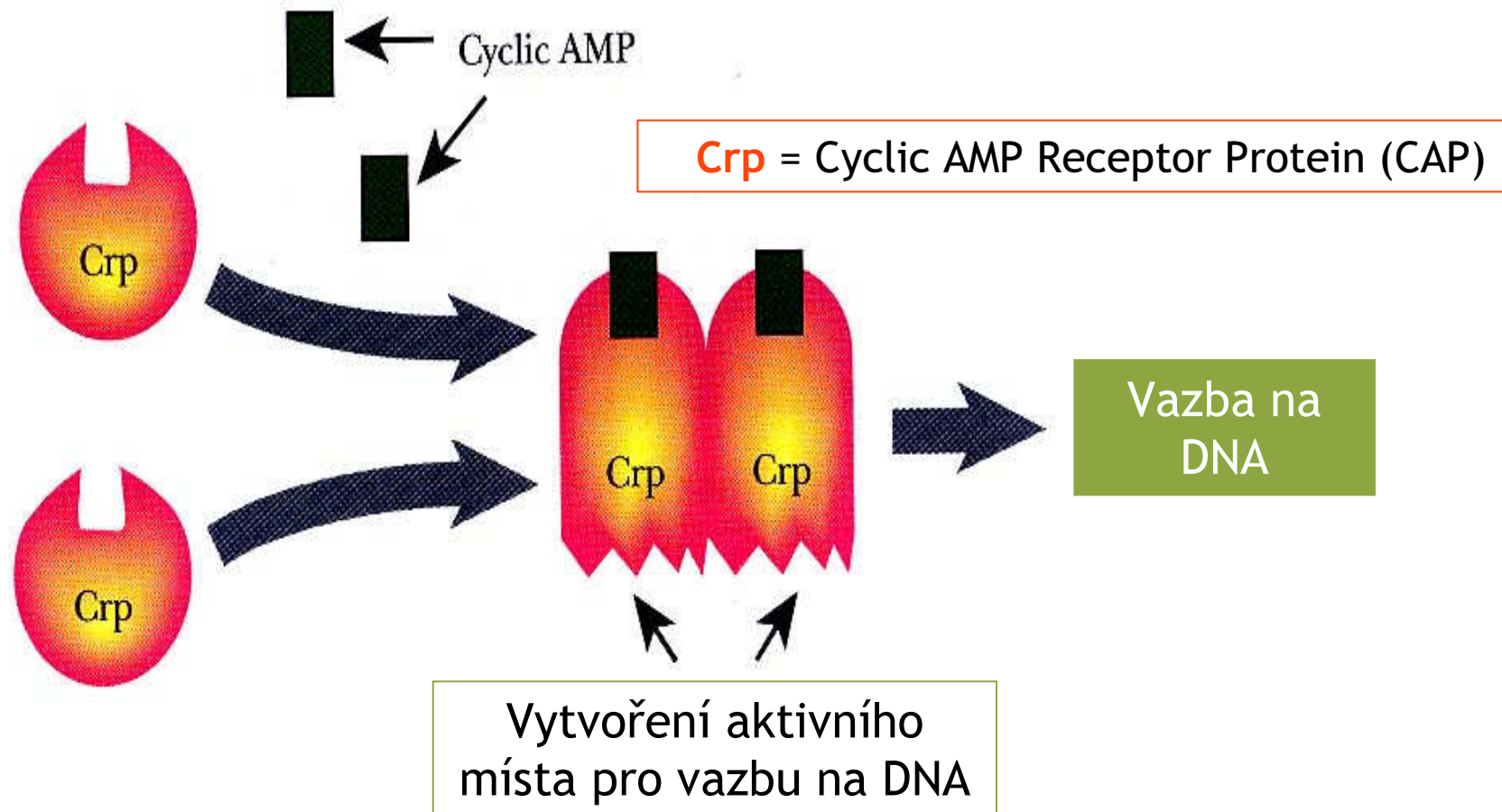
Specifický regulátor = reguluje expresi jednoho nebo mála genů
(např. laktózový represor)

Globální regulátor = regulační protein, který reguluje větší počet genů po aktivaci signálem
(např. Crp (n. CAP), cAMP-receptorový protein)

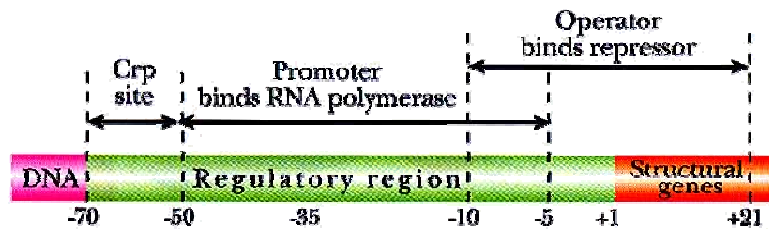


REGULON = skupina genů nebo operonů regulovaná stejným regulačním proteinem

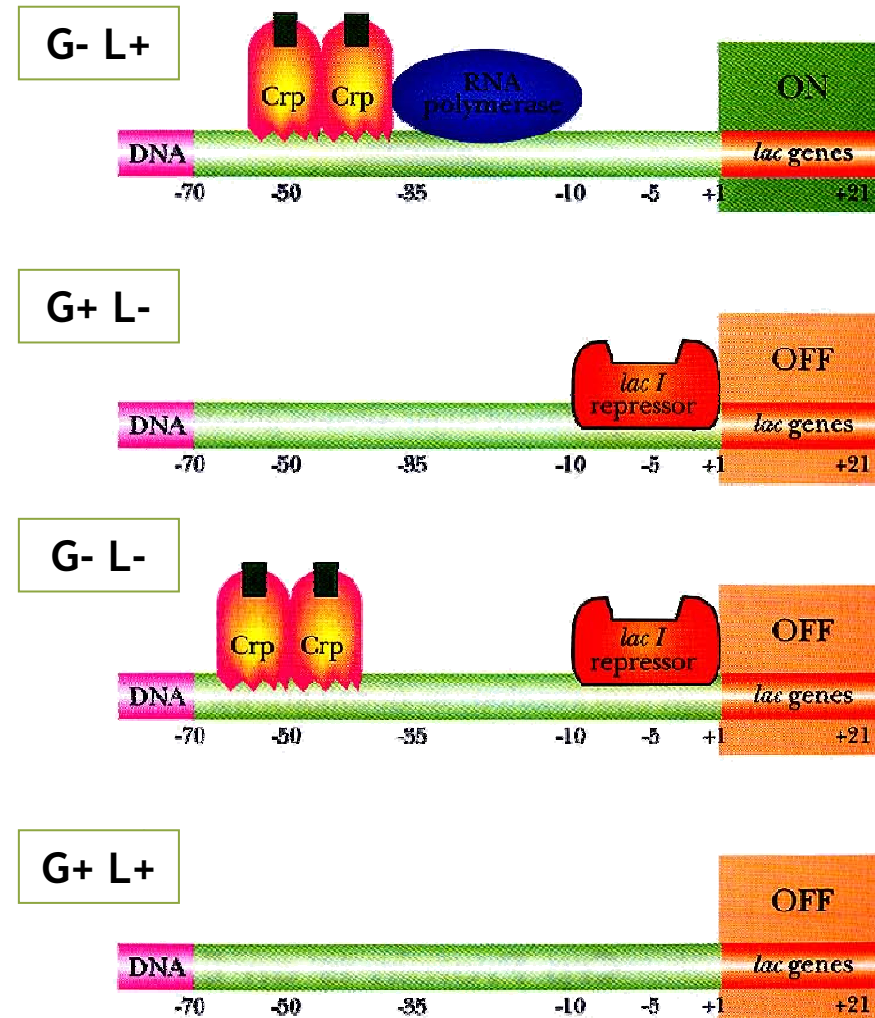
Aktivace globálního regulátoru Crp cyklickým AMP



Regulace laktóзовého operonu



Přehled vazebných míst pro regulační proteiny a RNA-polymerázu



Vztahy mezi induktorem, korepresorem, represorem a cAMP.CAP

Induktor = negativní alosterický efektor = pozitivní regulátor

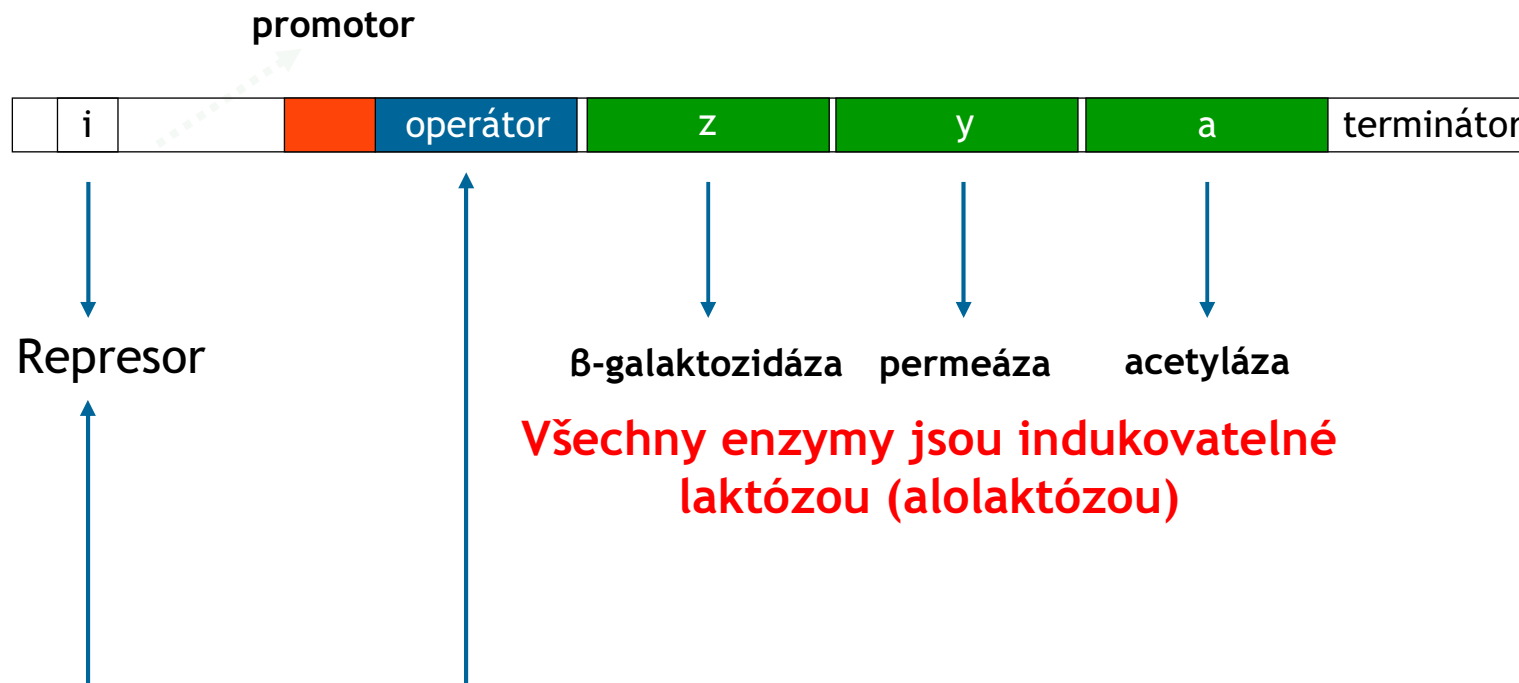
Korepresor = pozitivní alosterický efektor = negativní regulátor

Represor = negativní regulační protein = negativní regulátor

CAP = pozitivní regulační protein = pozitivní regulátor

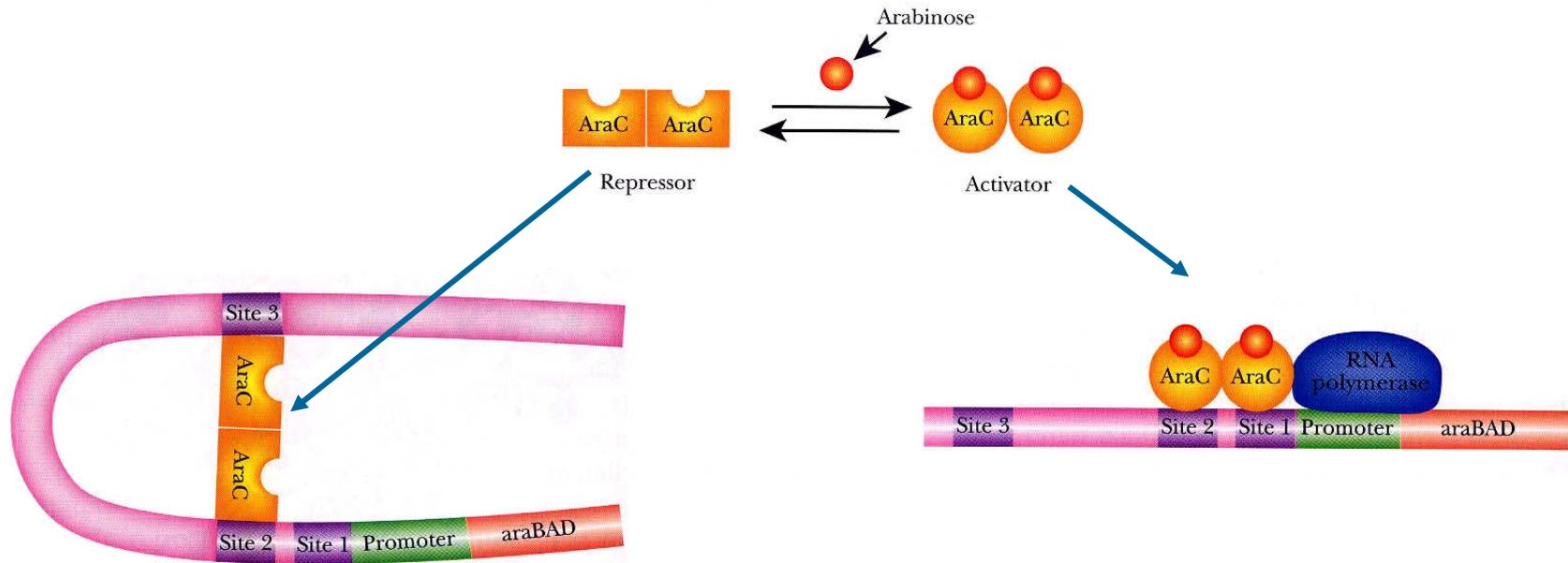
cAMP = pozitivní alosterický efektor = pozitivní regulátor

Aktivita laktóзовého operonu ovlivněná mutacemi



Mutace represoru nebo operátoru navozují změny exprese operonu

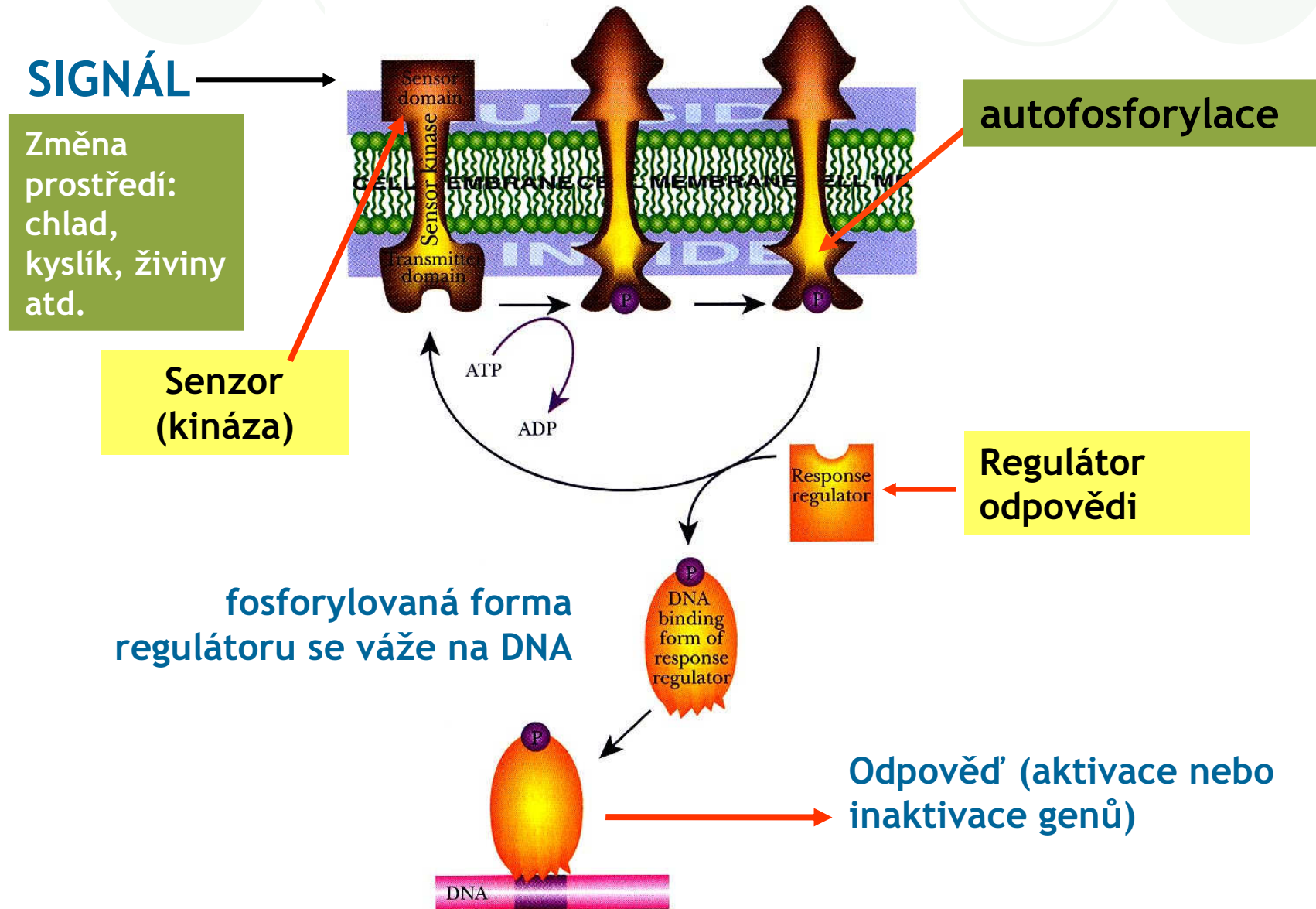
Působení regulačního proteinu AraC jako represoru nebo aktivátoru



Bez přítomnosti arabinózy se AraC váže na DNA v místech 2 a 3 a brání transkripci operonu araBAD

V přítomnosti arabinózy se AraC váže na DNA v místech 1 a 2 a umožní vazbu RNA-polymerázy na promotor

Dvoukomponentní regulační systém

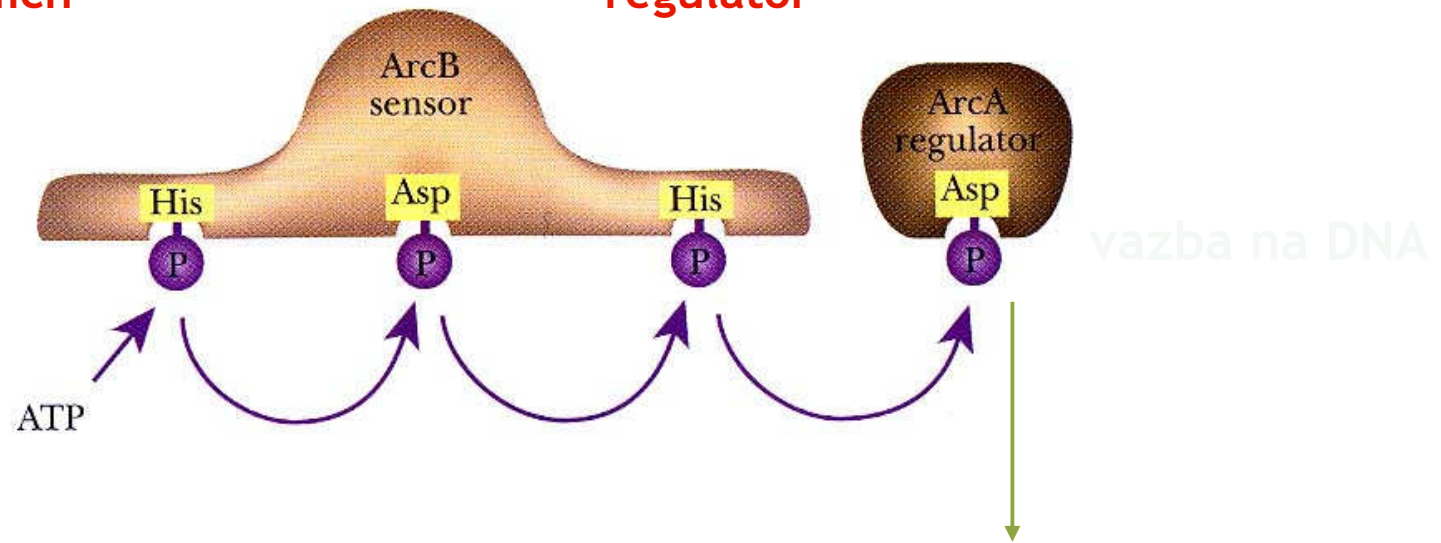


Fungování dvoukomponentního regulačního systému ArcAB

System ArcAB rozpoznává anaerobní nebo aerobní podmínky v prostředí buněk

1. Fosforylace senzoru za anaerobních podmínek

2. Přenos fosfátu ze senzoru na regulátor

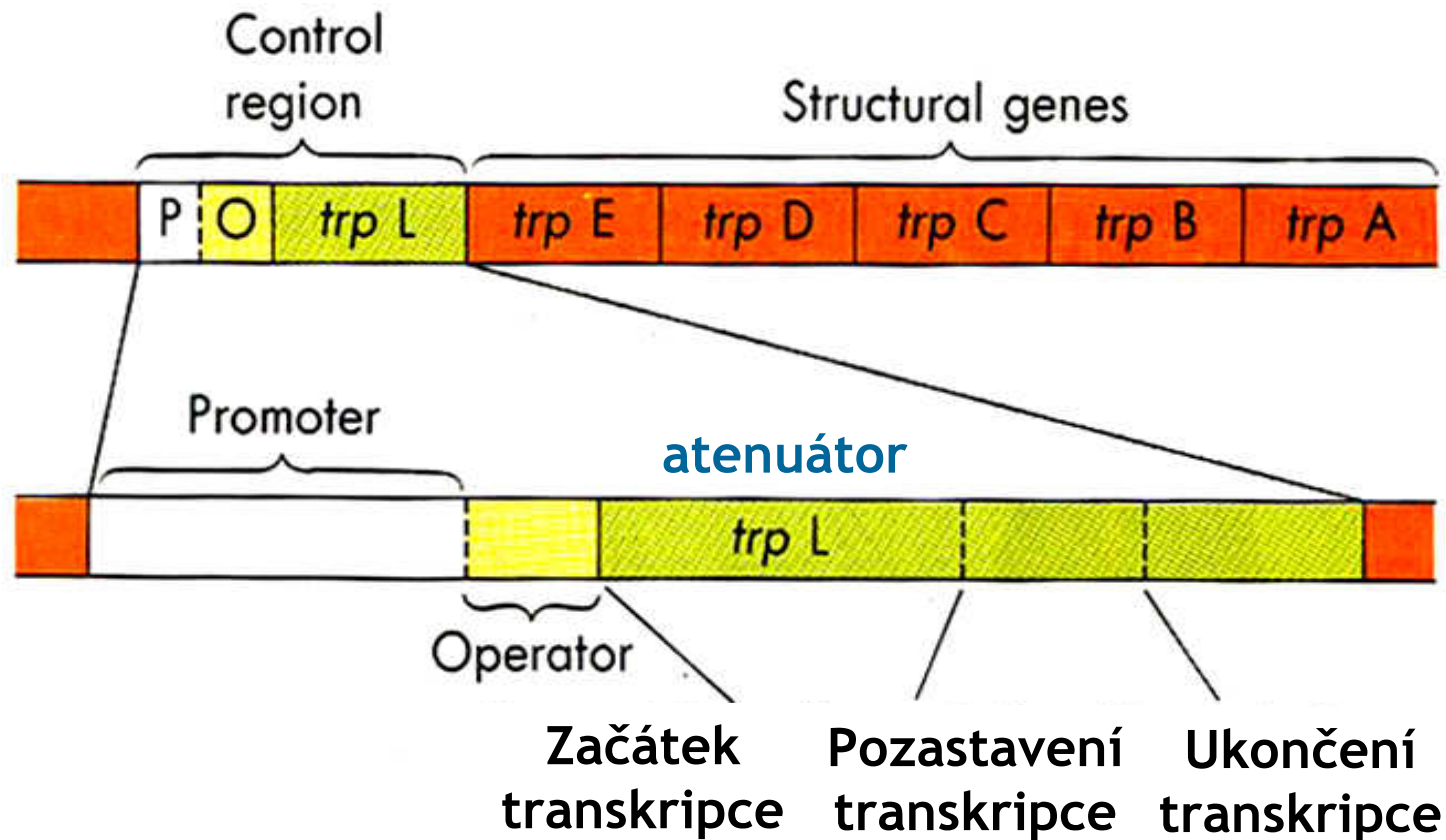


3. Represe asi 20 genů vyžadovaných pro aerobní metabolismus, zapnutí asi 6 genů vyžadovaných pro anaerobní metabolismus

TABLE 9.02Two-Component Regulatory Systems in *E. coli*

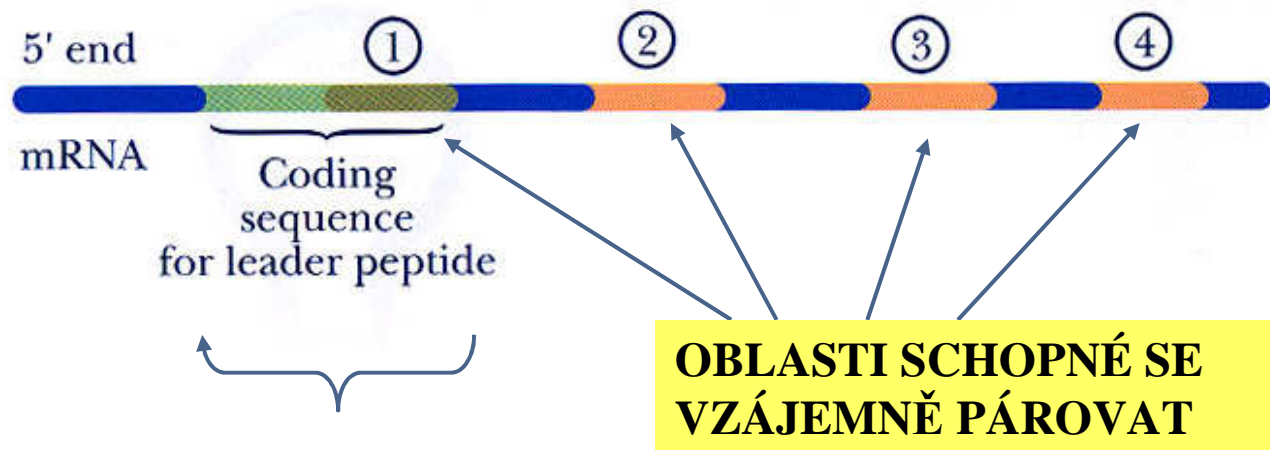
Stimulus/Function	Sensor	Regulator
Lack of oxygen	ArcB	ArcA
Osmolarity, envelope proteins	EnvZ	OmpR
Osmolarity, potassium transport	KdpD	KdpE
Phosphate deprivation	PhoR	PhoB
Nitrogen metabolism	NtrB	NtrC
Nitrate respiration	NarX	NarL
Nitrate and nitrite respiration	NarQ	NarP

Tryptofanový operon *E. coli*



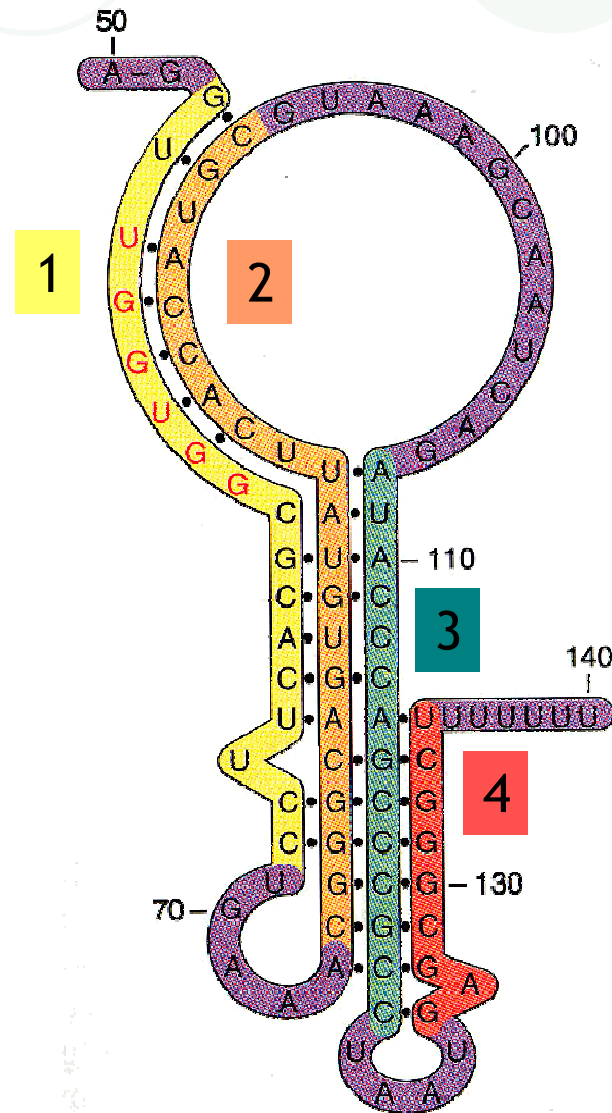
Atenuace - umístění atenuátorové sekvence v tryptofanovém operonu

A. SEQUENCE LAYOUT



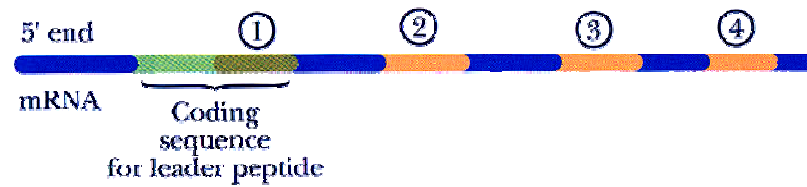
oblast vedoucí sekvence

Sekundární struktura přepisu (RNA) vedoucí oblasti tryptofanového operonu



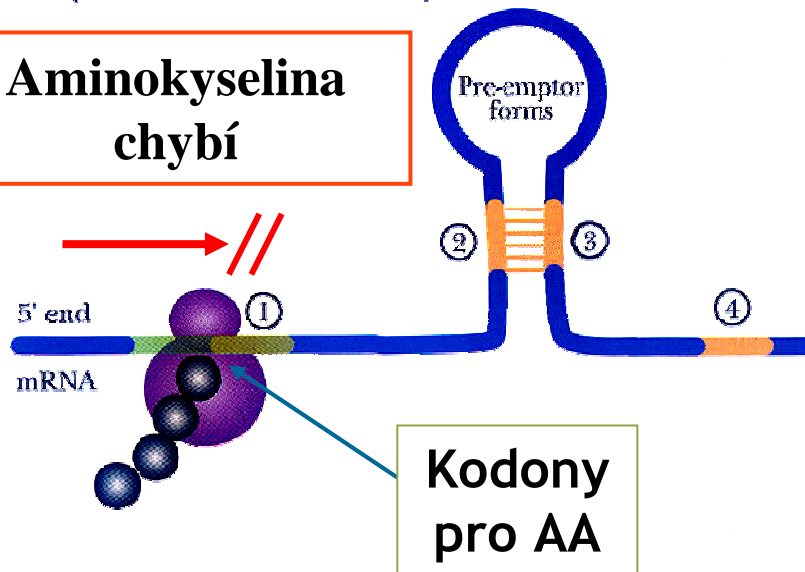
Mechanismus atenuace

A. SEQUENCE LAYOUT



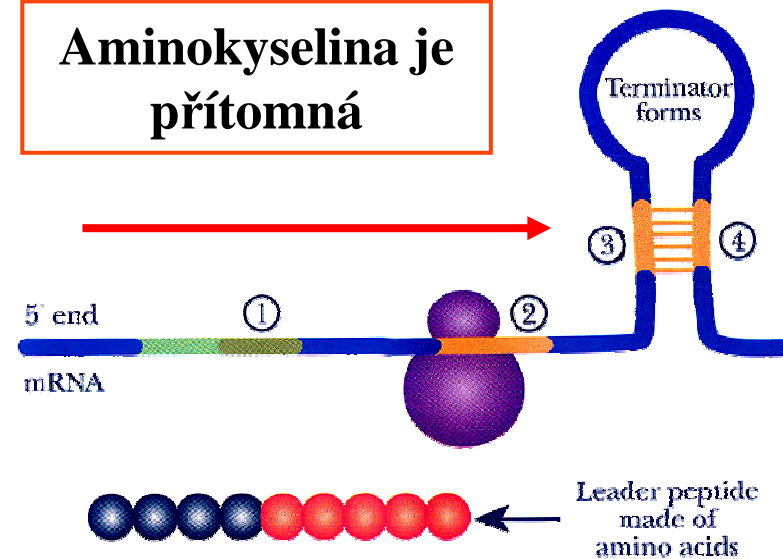
B. GENE ON (No critical amino acids)

Aminokyselina chybí

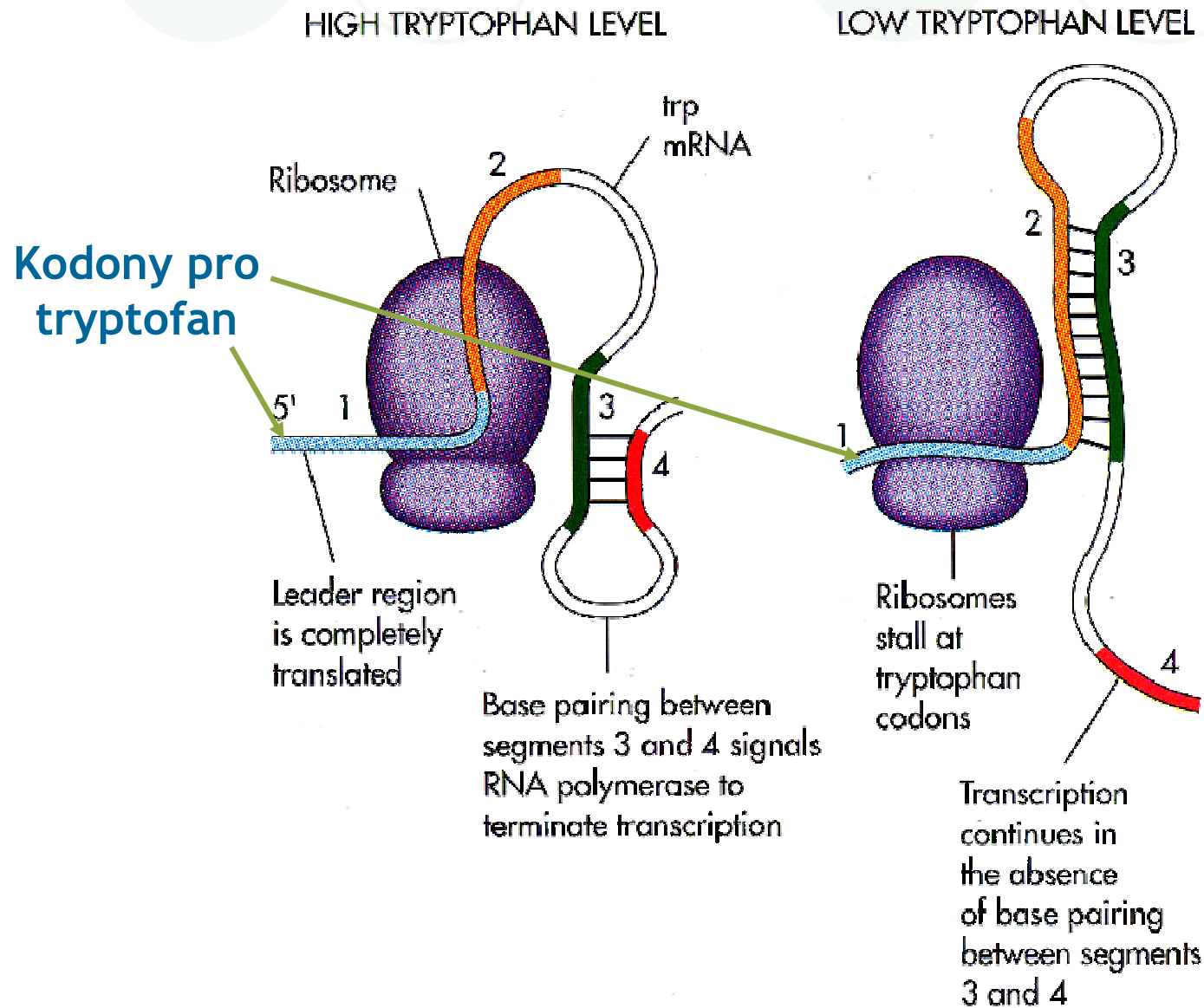


C. GENE OFF (Critical amino acid present)

Aminokyselina je přítomná



Průběh atenuace tryptofanového operonu



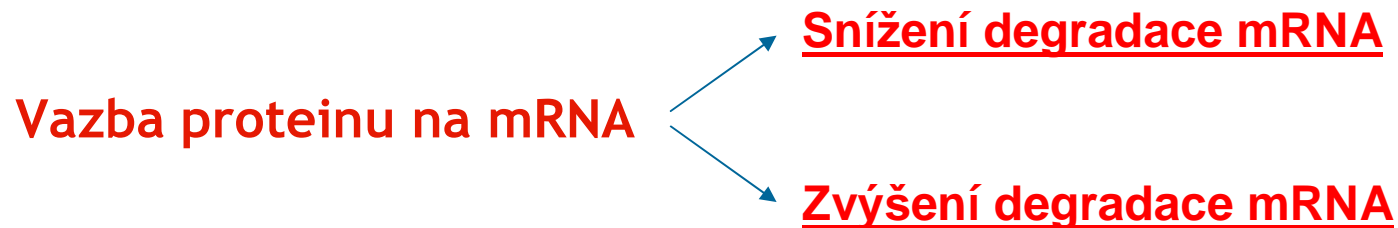
Regulace na úrovni RNA - translační kontrola

- Kontrola rychlosti degradace mRNA vazbou proteinů
- Úprava mRNA do translatovatelné podoby
- Kontrola translace mRNA regulačními proteiny
 - pozitivní nebo negativní působení
- Regulace translace prostřednictvím antisense RNA
- RNA interference
- miRNA

Regulační protein \longrightarrow DNA - - - regulace transkripce

Regulační protein \longrightarrow RNA - - - regulace translace

Působení regulačních proteinů na stabilitu molekul mRNA (ovlivnění degradace mRNA ribonukleázami)



Principy ovlivnění stability mRNA po vazbě regulačního proteinu:

1. Protein po vazbě na mRNA přímo ovlivňuje citlivost k ribonukleázám
2. Protein po vazbě na mRNA zesiluje nebo zeslabuje její vazbu na ribozom, což ovlivňuje rychlost její translace a nepřímo poločas její degradace (**vazba mRNA na ribozom ji chrání před degradací**)

Poločas molekul mRNA u *E. coli* = 2-3 min

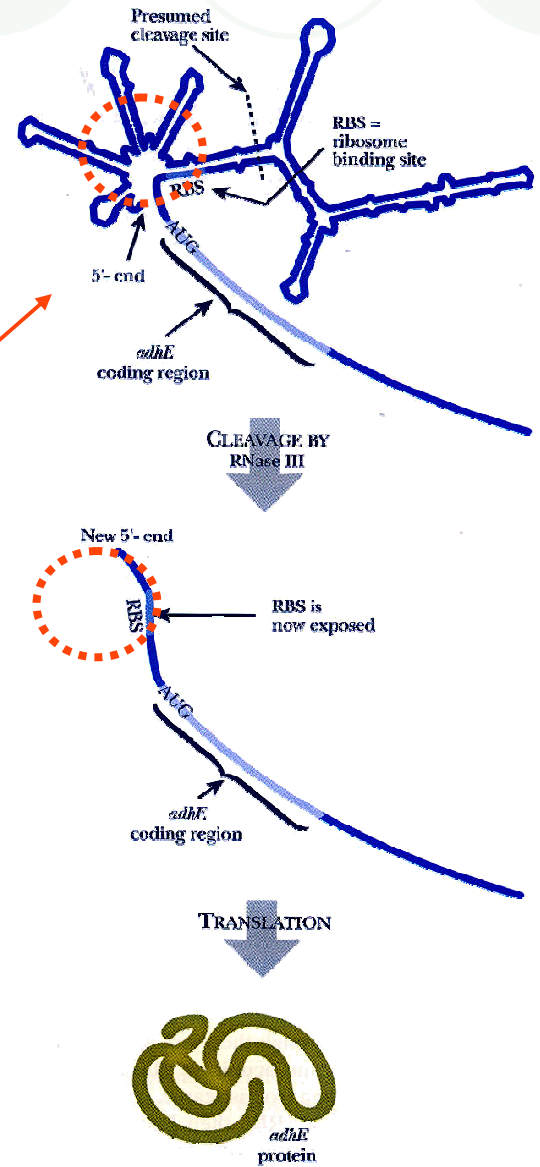
Některé molekuly mRNA musí být před translací nejdříve upraveny

Původní molekula mRNA („pre-mRNA“) genu *adhE* (kóduje alkoholdehydrogenázu u *E. coli*) má sekundární strukturu, v níž jsou RBS a AUG nepřístupny

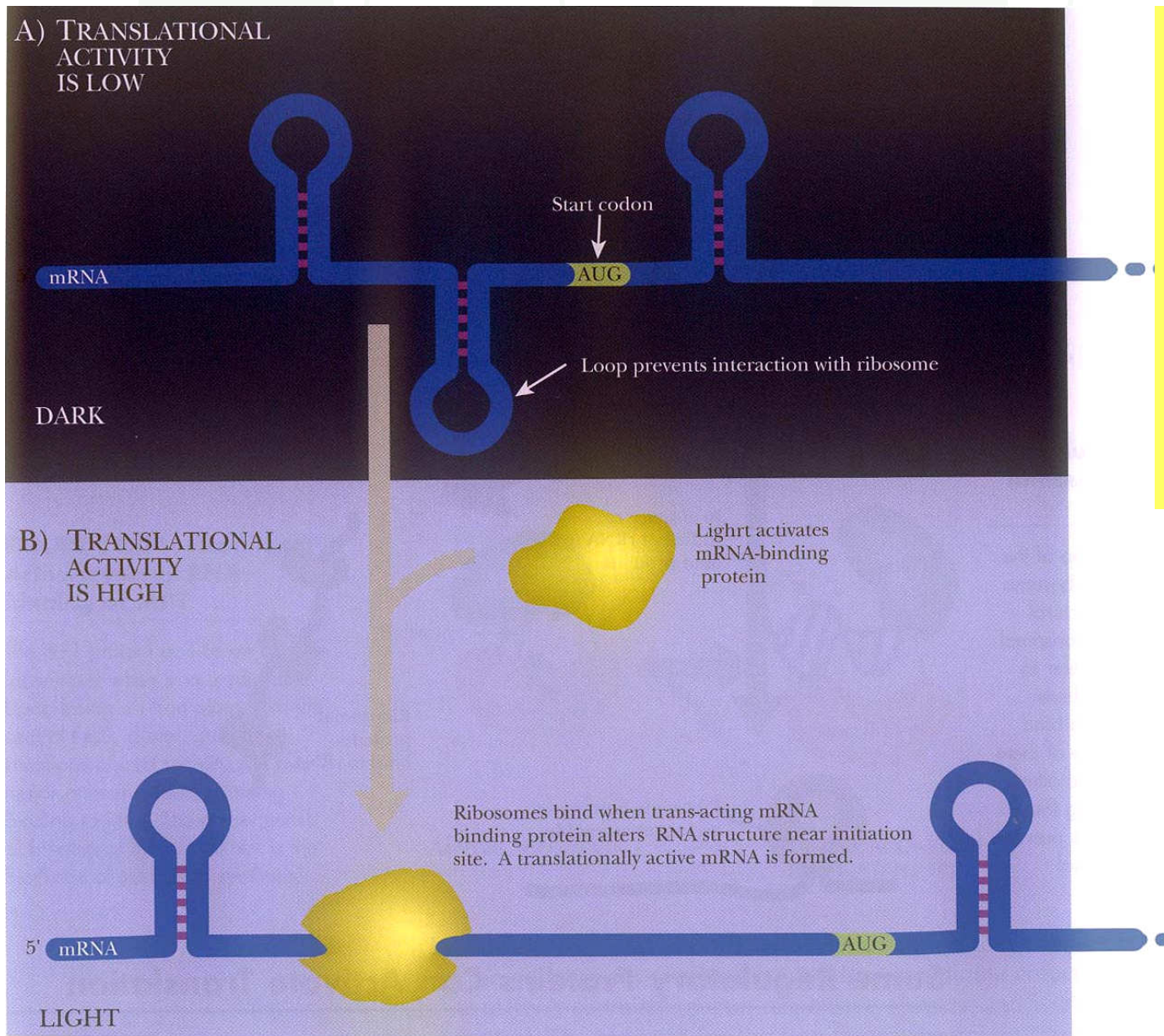
Štěpení mRNA RNázou III před RBS zpřístupní obě místa, takže jsou na ribozomu rozpoznána

RNáza III provádí posttranskripční úpravy tRNA a rRNA

U mutant postrádajících RNázu III není *adhE* mRNA translatována a buňky nejsou schopny růst anaerobně (fermentovat)

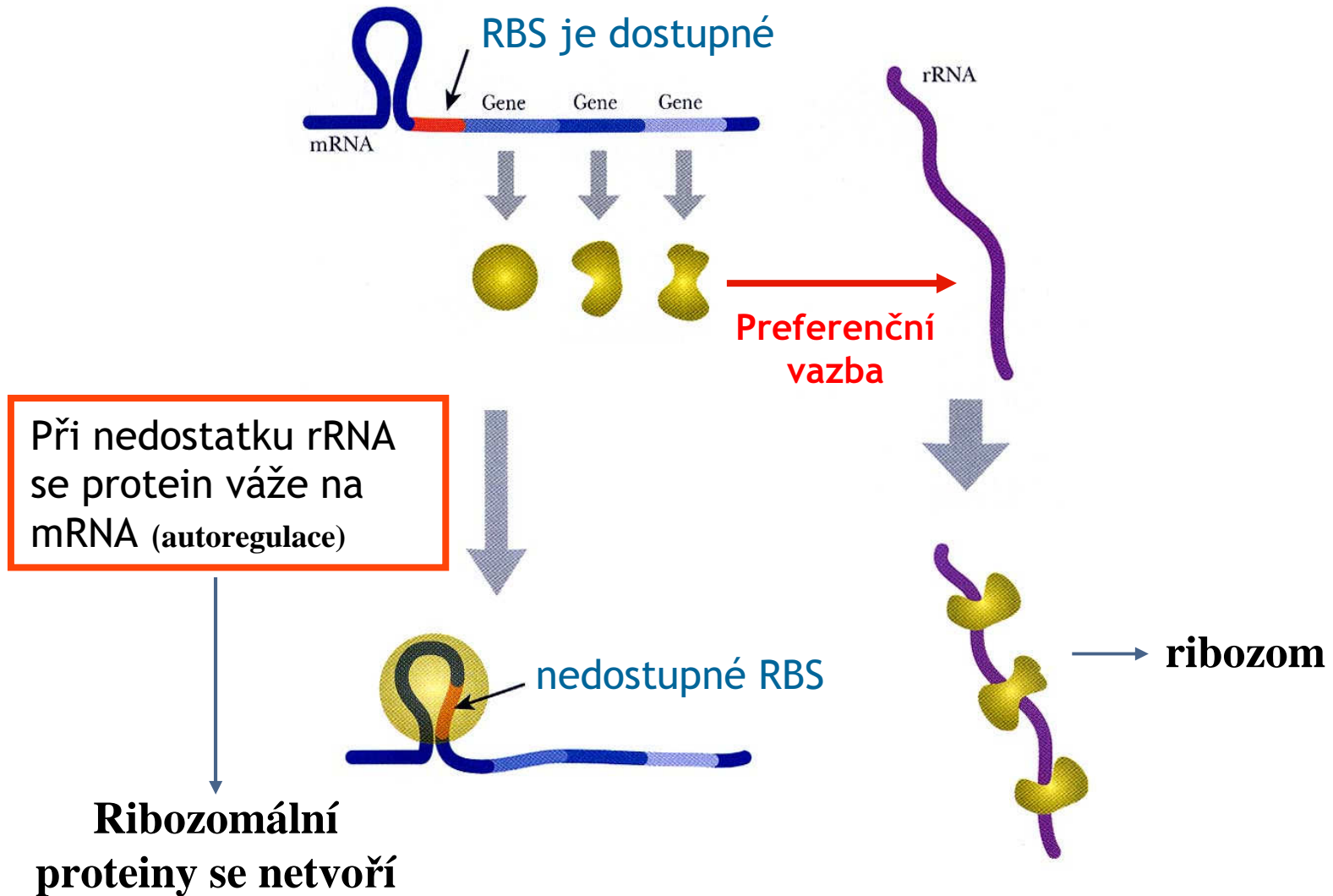


Aktivace translace chloroplastové mRNA – geny fotosyntézy

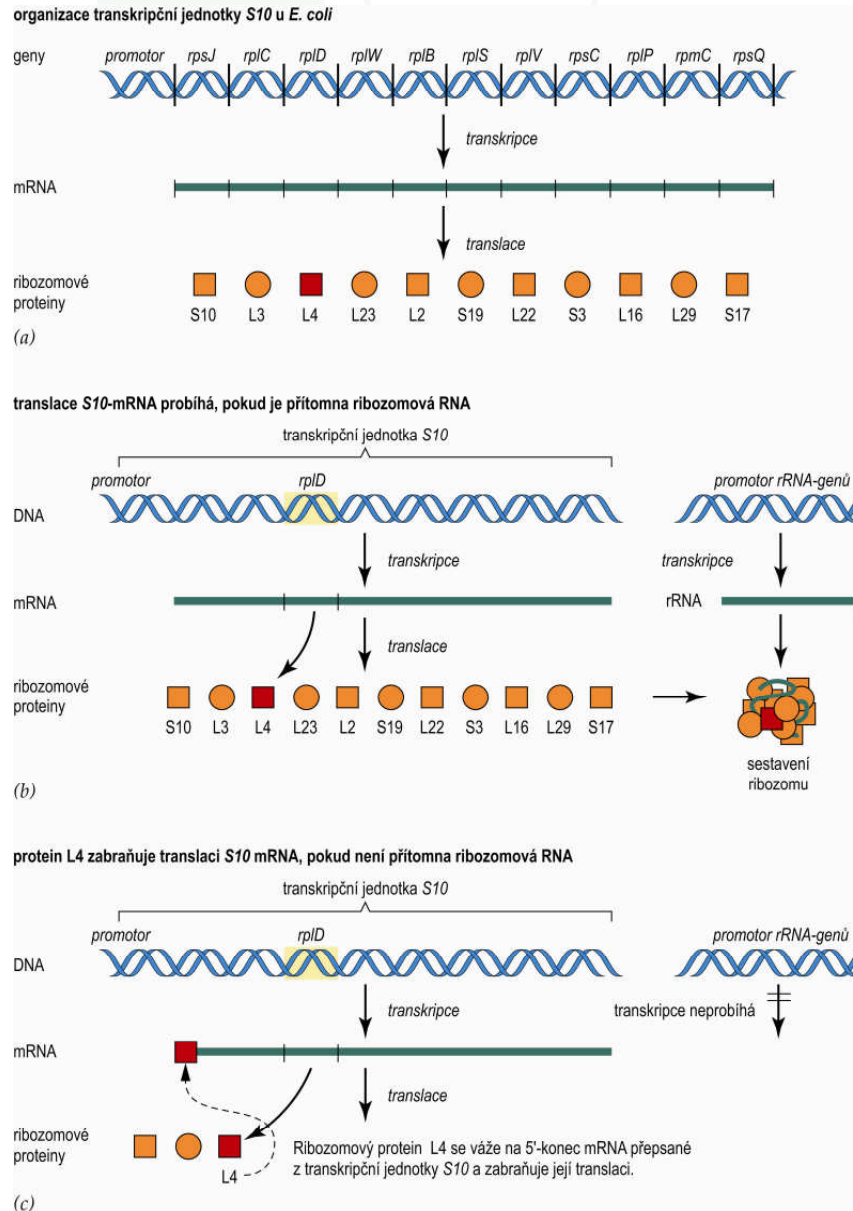


Translační aktivátor – protein cPABP – existuje ve dvou konformacích, z nichž ta, která je vzniká po aktivaci světlem, se váže na mRNA, kde mění její strukturu a umožní její vazbu na ribozom

Regulace syntézy ribozomálních proteinů u bakterií (translační úroveň)



Regulace transkripční jednotky S10 obsahující 11 genů kódujících ribozomová proteiny u *E. coli*

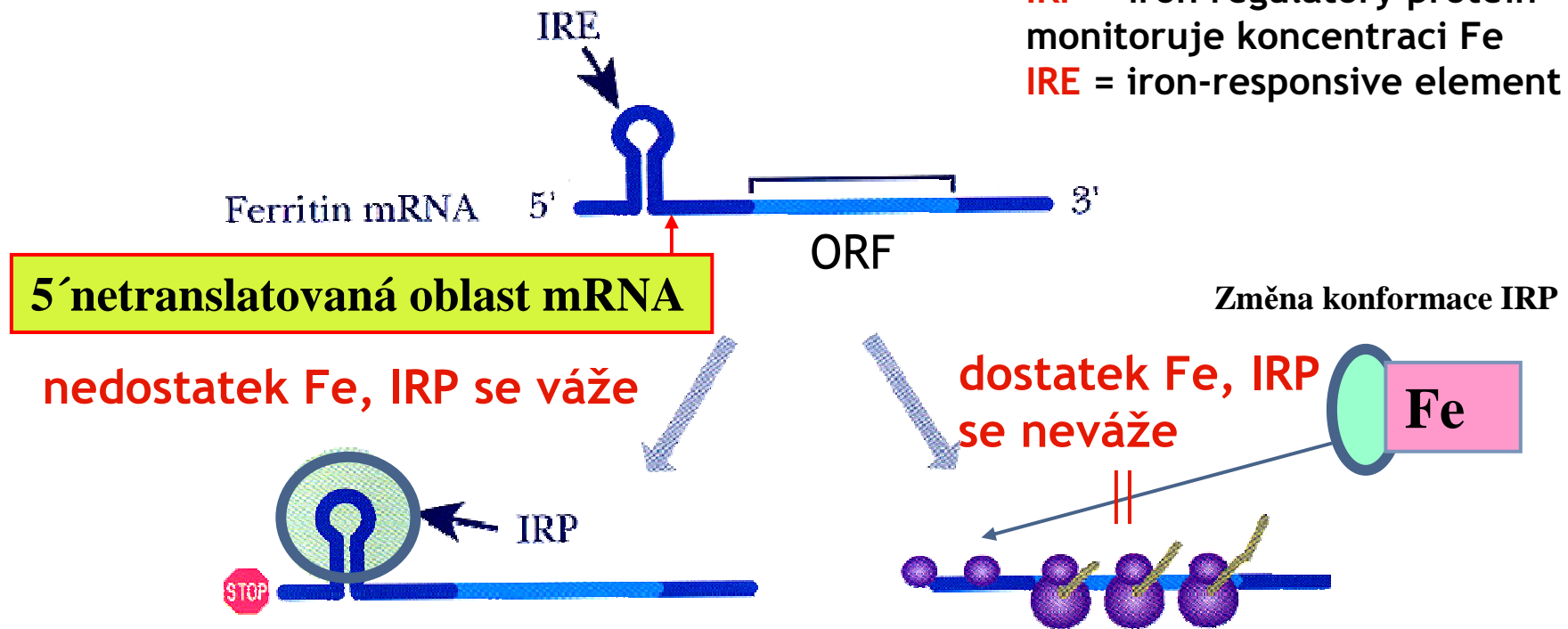


Za přítomnosti rRNA se k ní všechny proteiny vážou a vytváří ribozom

Za nepřítomnosti rRNA se protein L4 váže na mRNA a zabraňuje její translaci

Regulace translace feritinové mRNA prostřednictvím IRE (u živočichů)

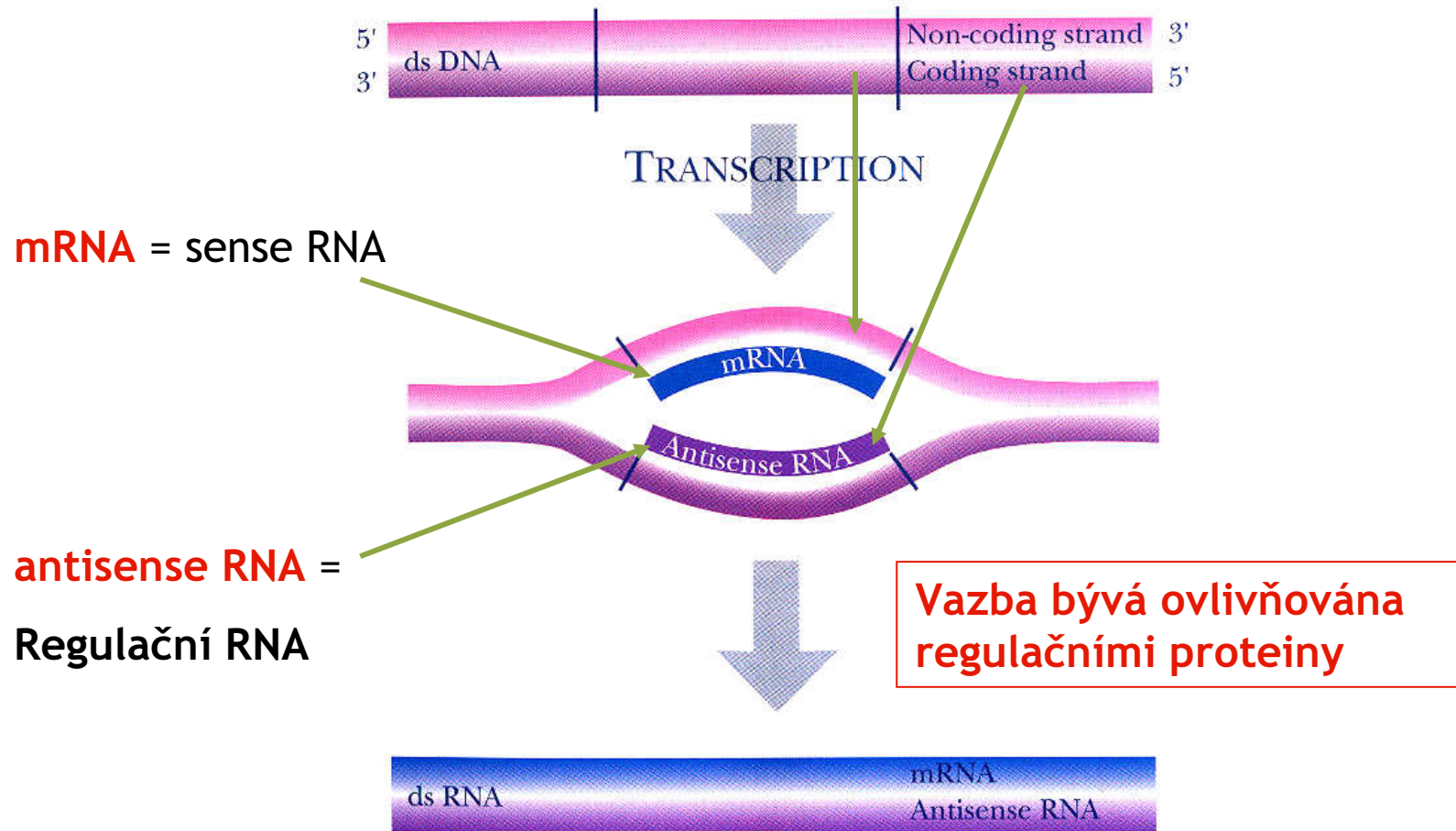
IRP = iron regulatory protein -
monitoruje koncentraci Fe
IRE = iron-responsive element



Vazba regulačního proteinu IRP na IRE, zabránění vazby malé ribozomové podjednotky na 5' konec mRNA a tím zabránění iniciace translace

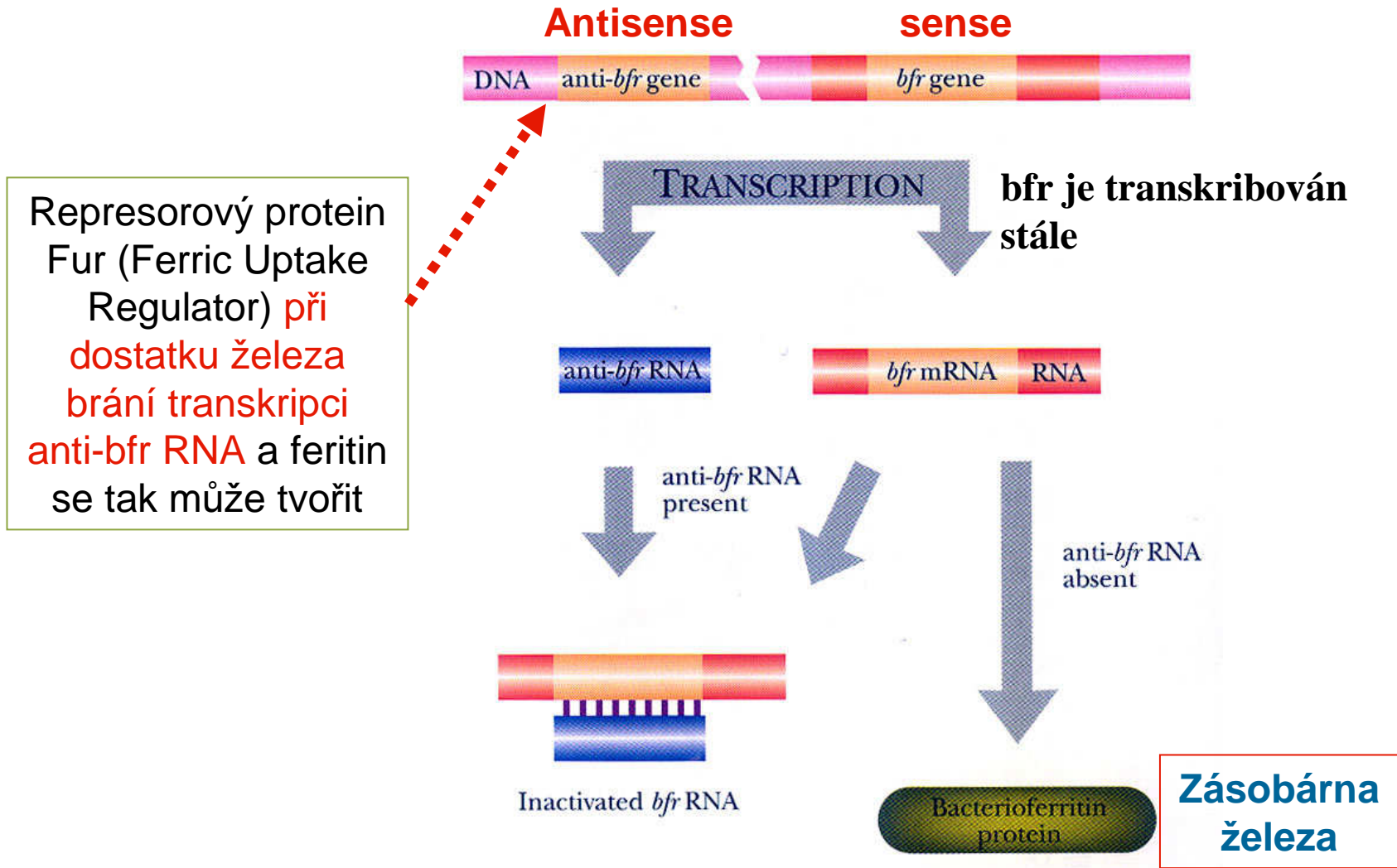
IRE je neobsazena IRP, 5' konec mRNA je přístupný, iniciace translace probíhá a tvoří se feritin

Regulace translace zprostředkovaná protismyslnou mRNA (antisense RNA)



mRNA komplementárně vázaná antisense RNA se nemůže překládat

Antisense mRNA reguluje syntézu bakterioferitinu – antisense mRNA je přepisována ze samostatného genu

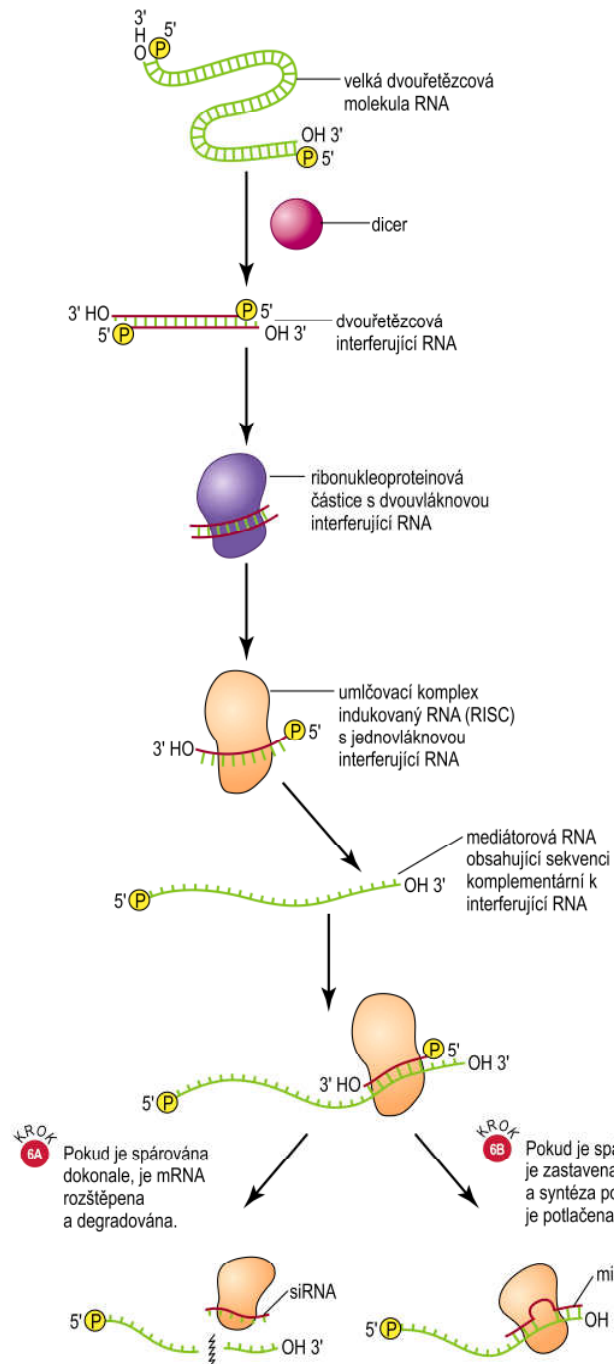


RNA interference (RNAi) = mechanismus umlčování genů, které je indukováno přítomností dvouřetězcové RNA (dsRNA)

- je sekvenčně specifická, dochází k degradaci jak dsRNA tak ssRNA (především mRNA), které jsou homologické s dsRNA, která odpověď vyvolala
- mechanismus vznikl jako obrana proti virům (ssRNA a dsRNA virům) a transpozonům - v průběhu pomnožování virů vznikají replikativní intermediáty (dsRNA), které jsou signálem pro antivirovou odpověď buňky
- RNAi je vyvolána plně komplementární dsRNA o délce alespoň 21-23 bp, delší dsRNA jsou nejdříve štěpeny na fragmenty o délce 21-23 bp nukleázou „**Dicer**“ - tyto fragmenty RNA se označují jako **siRNA (short interfering RNA, short interfering RNA, silencing RNA)** a jsou vázány proteiny komplexu **RISC (RNA-induced silencing complex)**
- komplex RISC rozpoznává a degraduje ssRNA, jejichž sekvence je stejná jako u siRNA. RISC komplex rozmotá a separuje řetězce siRNA, následně se páruje s cílovou RNA
- nukleázová aktivita RISC komplexu (označovaná jako „**Slicer**“) pak degraduje cílovou RNA.

Mechanismy podobné RNAi umlčují transkripci cílových genů změnou struktury chromatinu a navozením metylace DNA

Průběh RNA interference



KROK 1 Velká dvouvláknová molekula RNA je rozkrájena na malé, dvouvláknové interferující RNA dlouhé 21–28 párů bází.

KROK 2 Malé interferující RNA a proteiny se spojují do ribonukleoproteinových částic.

KROK 3 Malá interferující RNA je v ribonukleoproteinové částici rozpletena, aby mohla vytvořit umlčovací komplex indukovaný RNA (RISC).

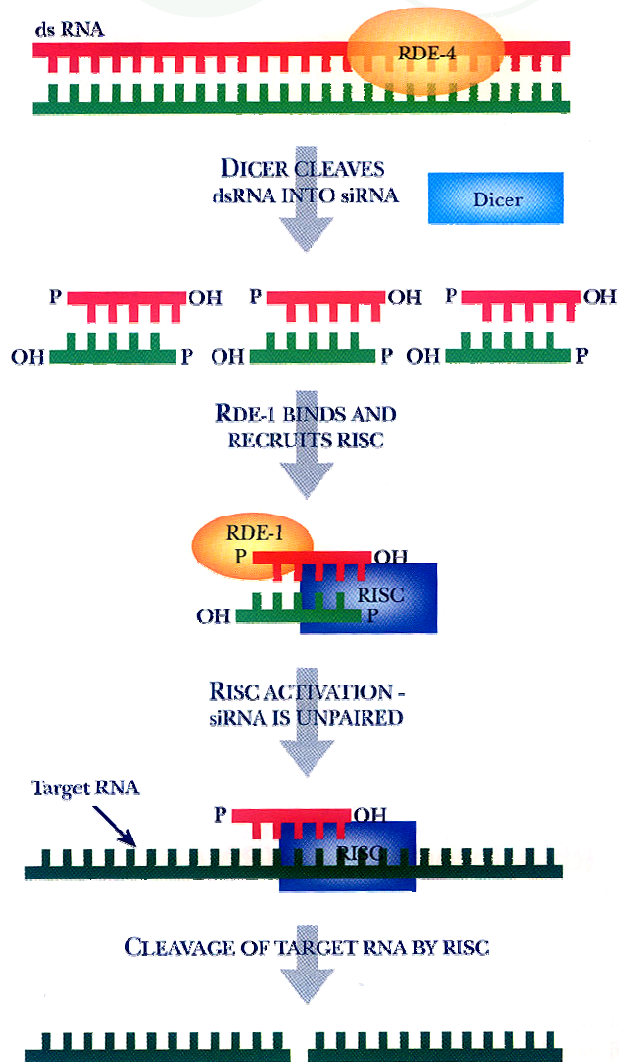
KROK 4 RISC si vybírá za cíl sekvenci v mediátorové RNA, která je komplementární k interferující RNA.

KROK 5 Interferující RNA v RISC páruje báze se svou cílovou oblastí v mediátorové RNA.

KROK 6A Pokud je spárována dokonale, je mRNA rozštěpena a degradována.

KROK 6B Pokud je spárována nedokonale, je zastavena translace mRNA a syntéza polypeptidů z mRNA je potlačena.

Mechanismus RNA interference



Rozpoznání dsRNA specifickými proteiny

Dicer rozštěpí dsRNA na **siRNA** o délce 21-23 bp s jedno- až dvoubázovými přesahy

siRNA = short interfering RNA

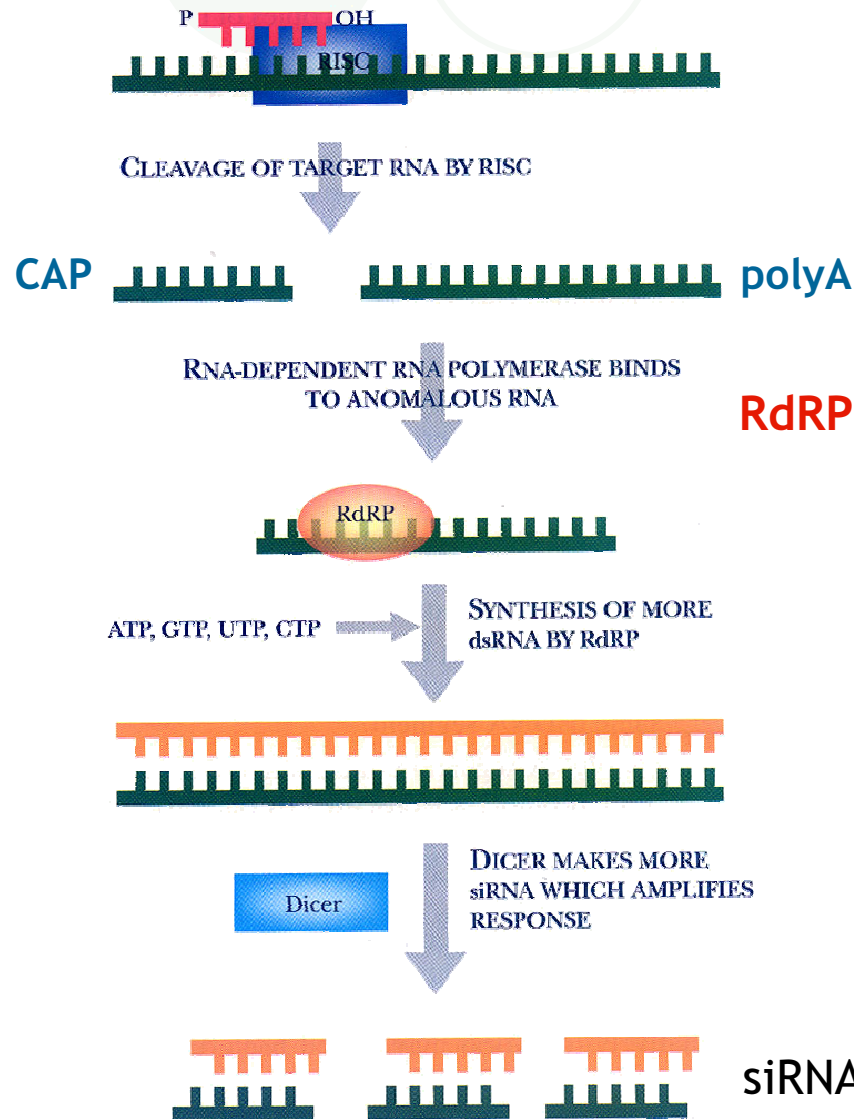
na siRNA se váže další protein, který umožní vazbu a aktivaci RISC komplexu

RISC = RNA-induced silencing complex

RISC komplex odděluje řetězce siRNA

RISC se váže na cílovou RNA a štěpí ji
Slicer = nukleázová aktivita RISC komplexu

Amplifikace RNA interference a její šíření



Slicer štěpí cílovou mRNA

Vznik abnormálních RNA

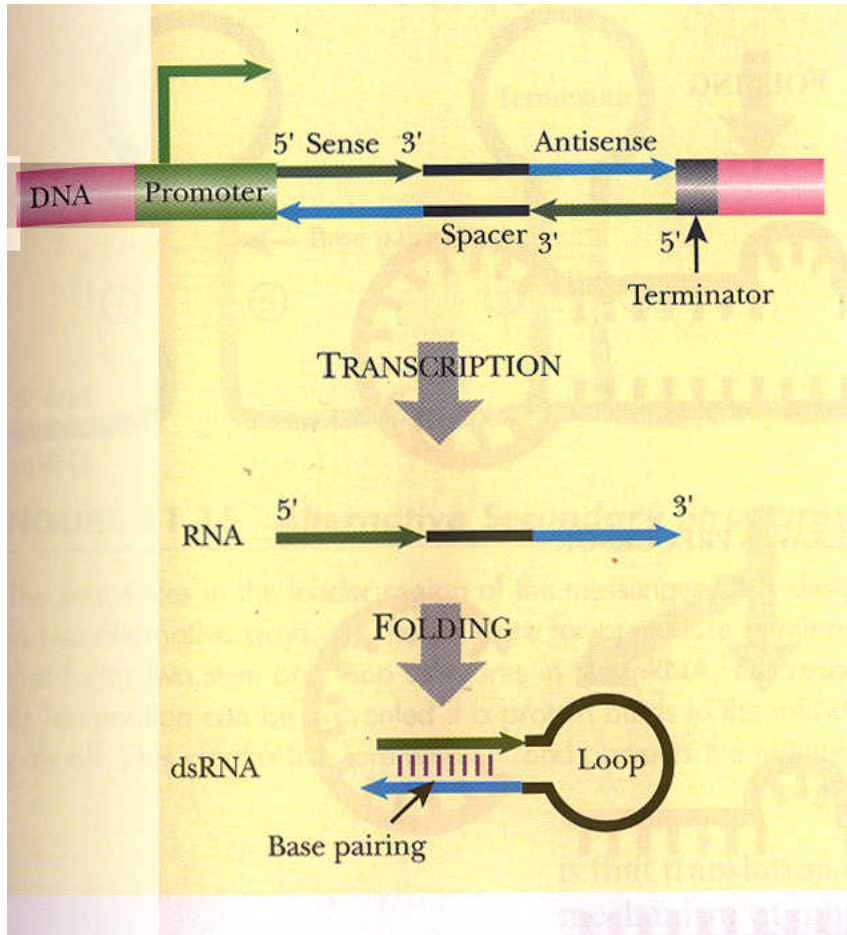
RdRP = RNA-dependentní RNA-polymeráza

Abnormální RNA slouží jako templát pro RdRP, která pak vytváří mnoho molekul dsRNA, které jsou pak konvertovány dicerem na velký počet molekul siRNA

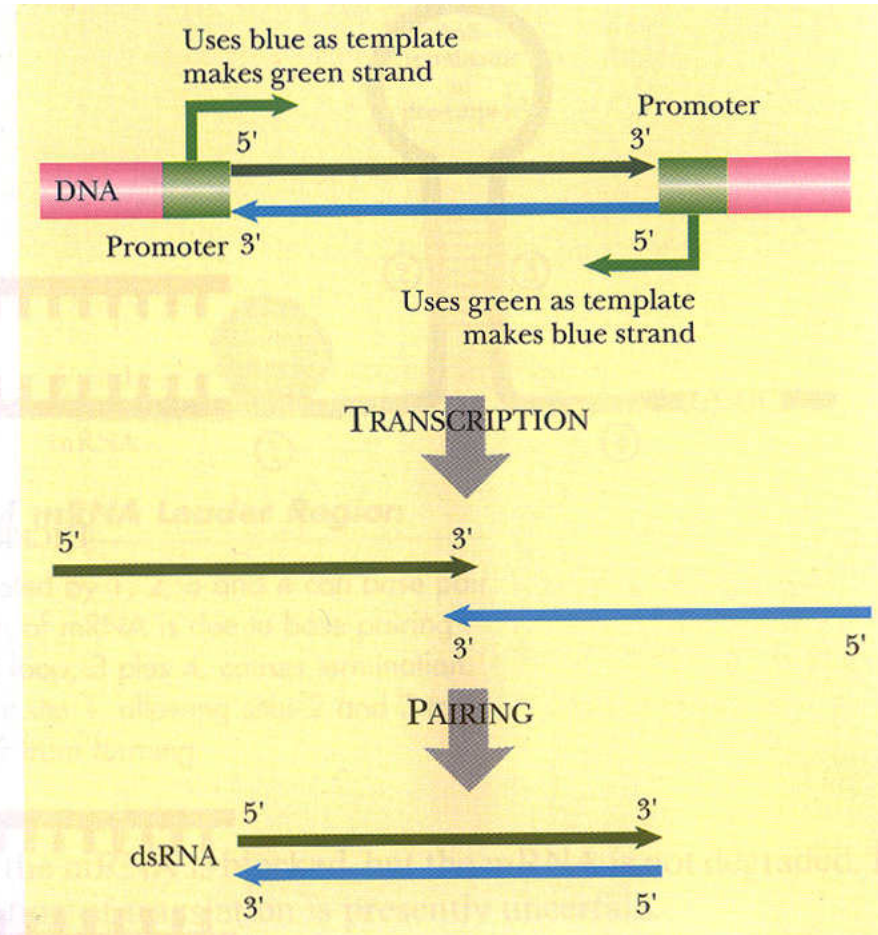
siRNA → Vazba RISC-k. → Štěpení dalších RNA

Experimentální navození RNA interference (vytvoření dsRNA)

Vytvoření sense/antisense vlásenky



Použití konstruktů se dvěma promotory



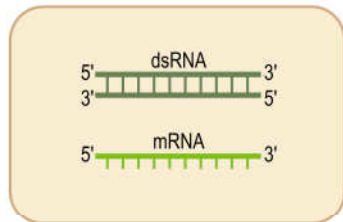
Dva postupy pro vyvolání RNAi pomocí dsRNA

zahájení RNAi syntézou a injekcí dsRNA

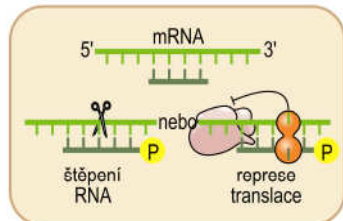
- KROK 1** Dvouřetězcová RNA obsahující požadovanou sekvenci je syntetizována *in vitro*.



- KROK 2** dsRNA je mikroinjekcí vnesena do organismu.



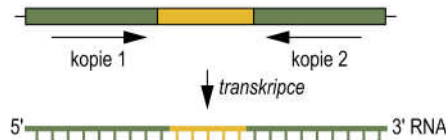
- KROK 3** Degradace mRNA nebo represe její translace pomocí umlčovacího komplexu indukovaného RNA (RISC).



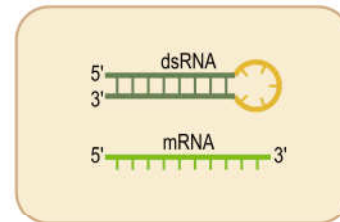
(a)

zahájení RNAi vnesením transgeneračně dědičného komplexovaného RNA

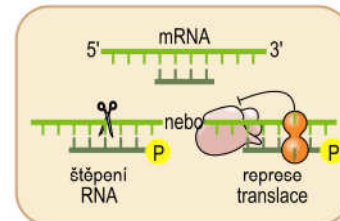
- KROK 1** Expresní genová kazeta nesoucí dvě kopie požadované sekvence v obrácené orientaci je vnesena do genomu.



- KROK 2** Komplementární sekvence v mRNA se párují a vytvářejí částečně dvouřetězcovou „vlásečkovou“ strukturu.



- KROK 3** Degradace mRNA nebo represe její translace pomocí umlčovacího komplexu indukovaného RNA (RISC).

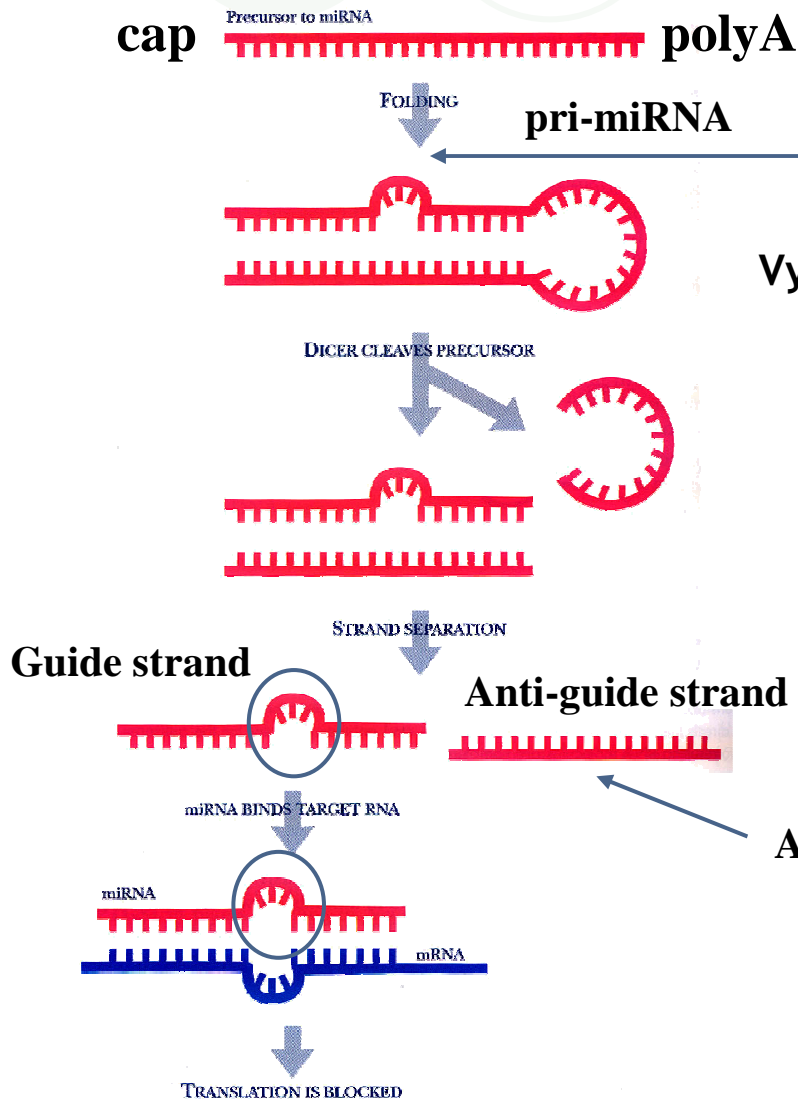


(b)

microRNA (miRNA)

- **microRNA (miRNA)** - krátké jednořetězcové molekuly RNA o délce 21-23 nt, které regulují expresi genů blokováním translace mRNA (příp. indukují její degradaci podobně jako u siRNA) - vážou se především na 3' -nepřekládanou oblast (u rostlin na kódující oblasti mRNA)
- Jsou vytvářeny geny **mir**, které jsou transkribovány, ale nepřekládají se
- Byla zjištěna u červů, hmyzu, savců a rostlin, objevena poprvé u *Caenorhabditis elegans* (small temporal RNA, stRNA), kde řídila časovou posloupnost vývoje během přeměny larvy v imago.
- Řada miRNA se účastní regulace vývoje, cílem působení jsou mRNA kódující transkripční faktory regulující expresi dalších genů, některé miRNA mají vztah k buněčnému dělení a rakovině

Micro RNA (miRNA)



Prekurzor miRNA (pre-miRNA, ~ 70 nt) vytvořený transkripční chromozomových genů **v jádře** (možný přepis obou řetězců)

nukleáza Drosha + protein Pasha („microprocessor complex“)
Vytvoření neúplné vlásenky se smyčkou pre-miRNA

Štěpení vlásenky dicerem (**v cytoplazmě**)

Vazba specifického proteinu

Separace řetězců a vznik miRISC

Argonaute protein – RNáza degradující druhý řetězec

Jeden z řetězců miRNA se váže na cílovou (komplementární) mRNA a tím blokuje její translaci



Průběh vzniku a působení miRNA - animace

Charakteristika genomu a proteomu eukaryot

- Počet genů u savců = 25 000-30 000
- Všechny buňky mají stejnou genetickou výbavu
- 200-250 typů buněk, obsahujících 20 000 různých proteinů, z nichž okolo 6 000 je tkáňově specifických
- 2 000 běžných proteinů vyskytujících se ve všech buňkách (produkty asi 10 000 provozních genů)
- jednotlivé buněčné typy vytvářejí okolo 100 pro něj charakteristických bílkovin, které se nenacházejí v jiných buněčných typech

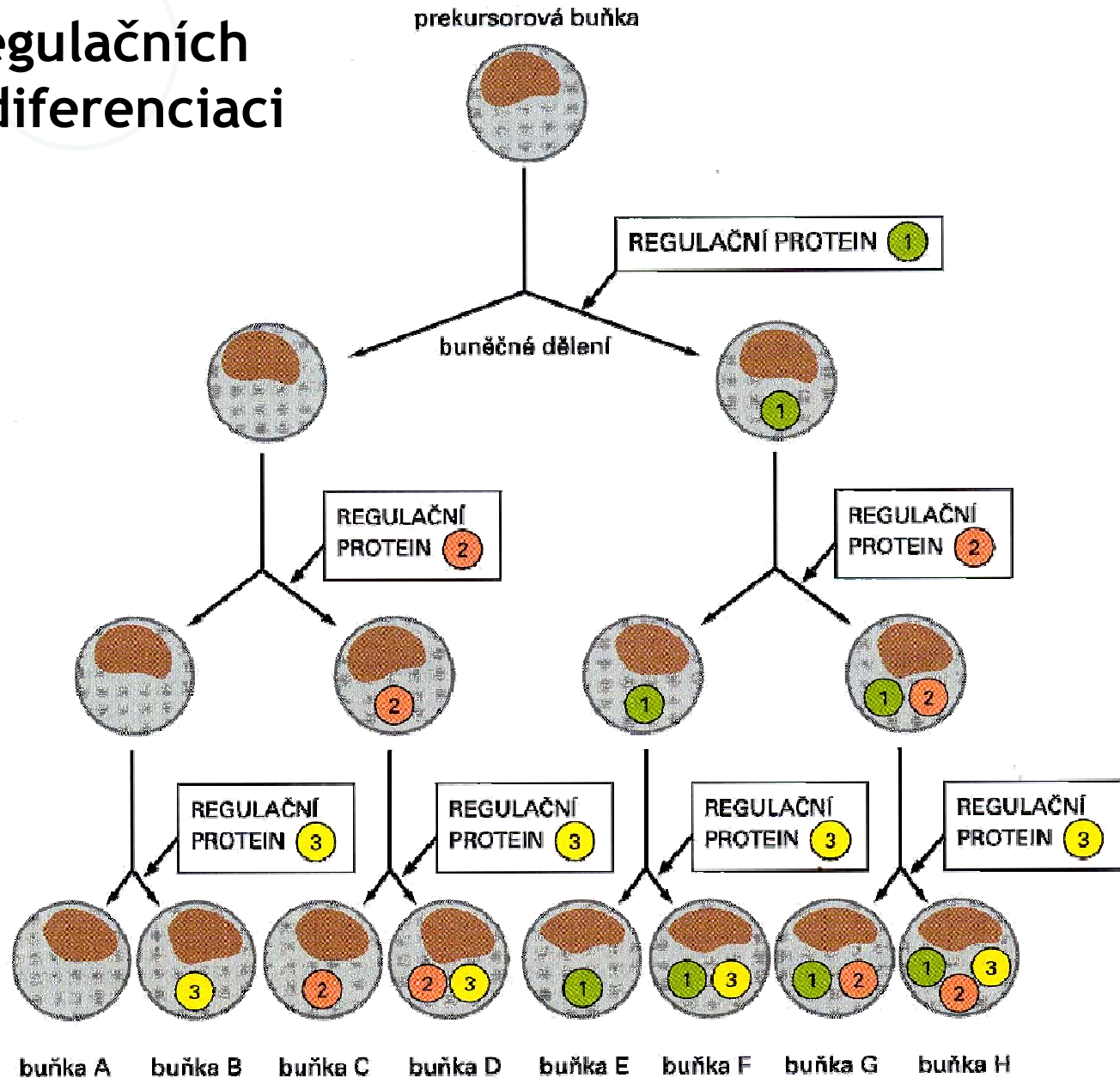
Diferenciace = zapínání a vypínání různých genů

Kombinace regulačních proteinů při diferenciaci buněk

3 regulační proteiny



8 buněčných typů



Regulace genové exprese u eukaryot

- eukaryotické geny jsou přepisovány třemi různými RNA-polymerázami (I, II a III)
- k zahájení transkripce je kromě RNA-polymerázy vyžadována účast většího počtu regulačních proteinů (transkripčních faktorů)
- většinou se jedná o pozitivní regulaci transkripce
- iniciaci transkripce ovlivňují též regulační proteiny navázané na zesilovače transkripce, které se nacházejí ve značných vzdálenostech od promotoru
- transkripce probíhá na DNA spojené s nukleozomy, které musí být ve fázi iniciace odstraněny

**ZNAČNÝ POČET GENŮ JE REGULOVÁN NA
POSTTRANSKRIPČNÍ ÚROVNI**

Transkripční aktivita eukaryotické buňky

1. **Bazální transkripce** - za účasti bazálních TF, minimální úroveň transkripce
2. **Konstitutivní transkripce** - za účasti bazálních a konstitutivních TF, umožňujících odlišnou rychlost transkripce různých genů

Obecné TF = bazální + konstitutivní → provozní geny

3. **Indukovaná transkripce** - transkripce regulovaná indukovatelnými specifickými TF, jejichž aktivita je ovlivněna podněty z vnějšího prostředí.

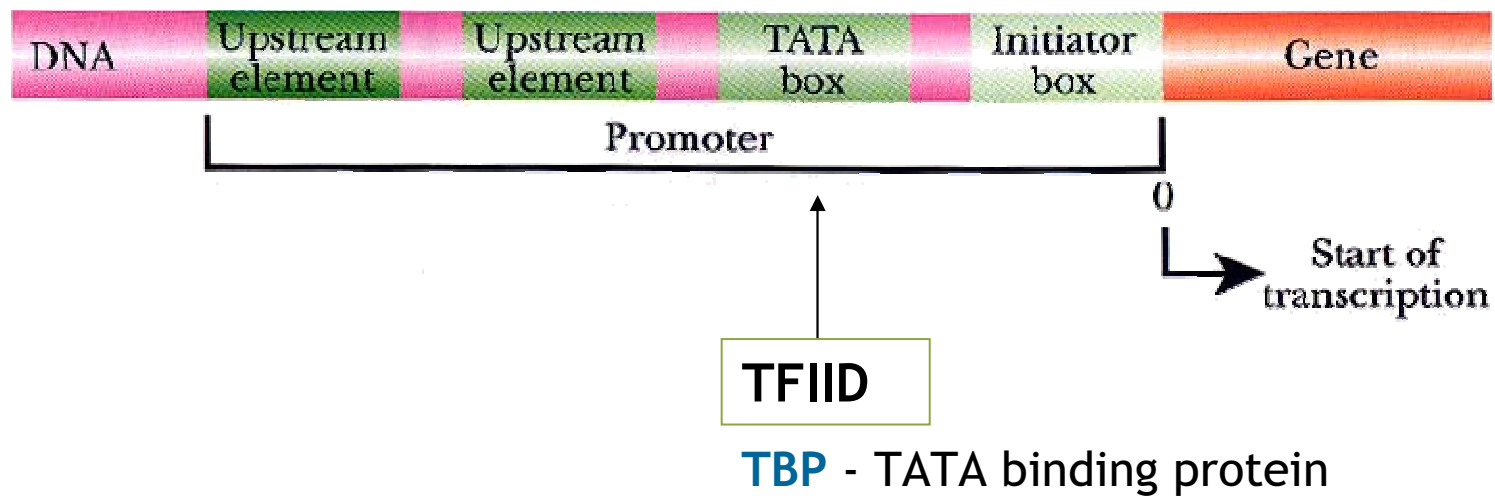
Specifické TF = buněčně a časově specifické regulační proteiny

Podmínky pro zahájení transkripce u eukaryot

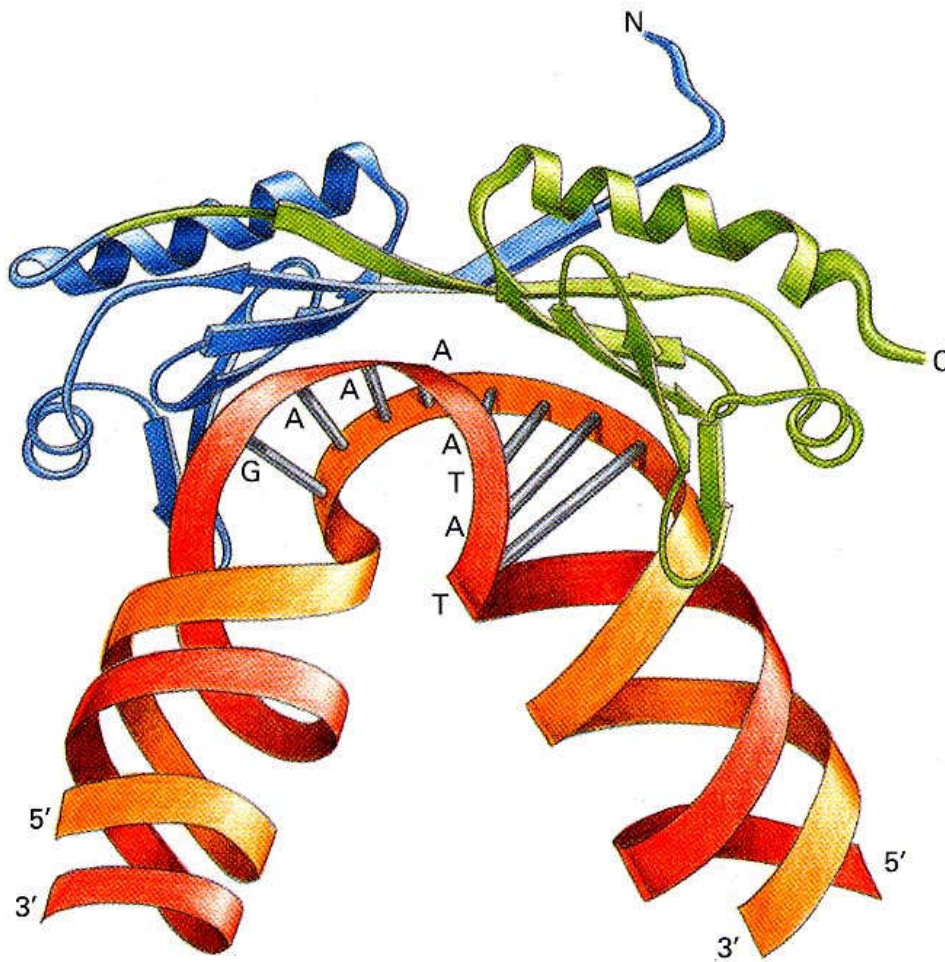
Uvedení RNA-polymerázy do aktivního stavu

- vazba TF na promotor (za účasti aktivátorů a koaktivátorů, nezbytných pro vytvoření přediniciačního komplexu)
- vazba specifických (indukovatelných) TF na zesilovače transkripce (více TF na více RE)
- vzájemná interakce TF umožňující interakci promotoru a zesilovače transkripce → **aktivní stav RNA polymerázy**

Složky eukaryotického promotoru pro RNA-polymerázu II

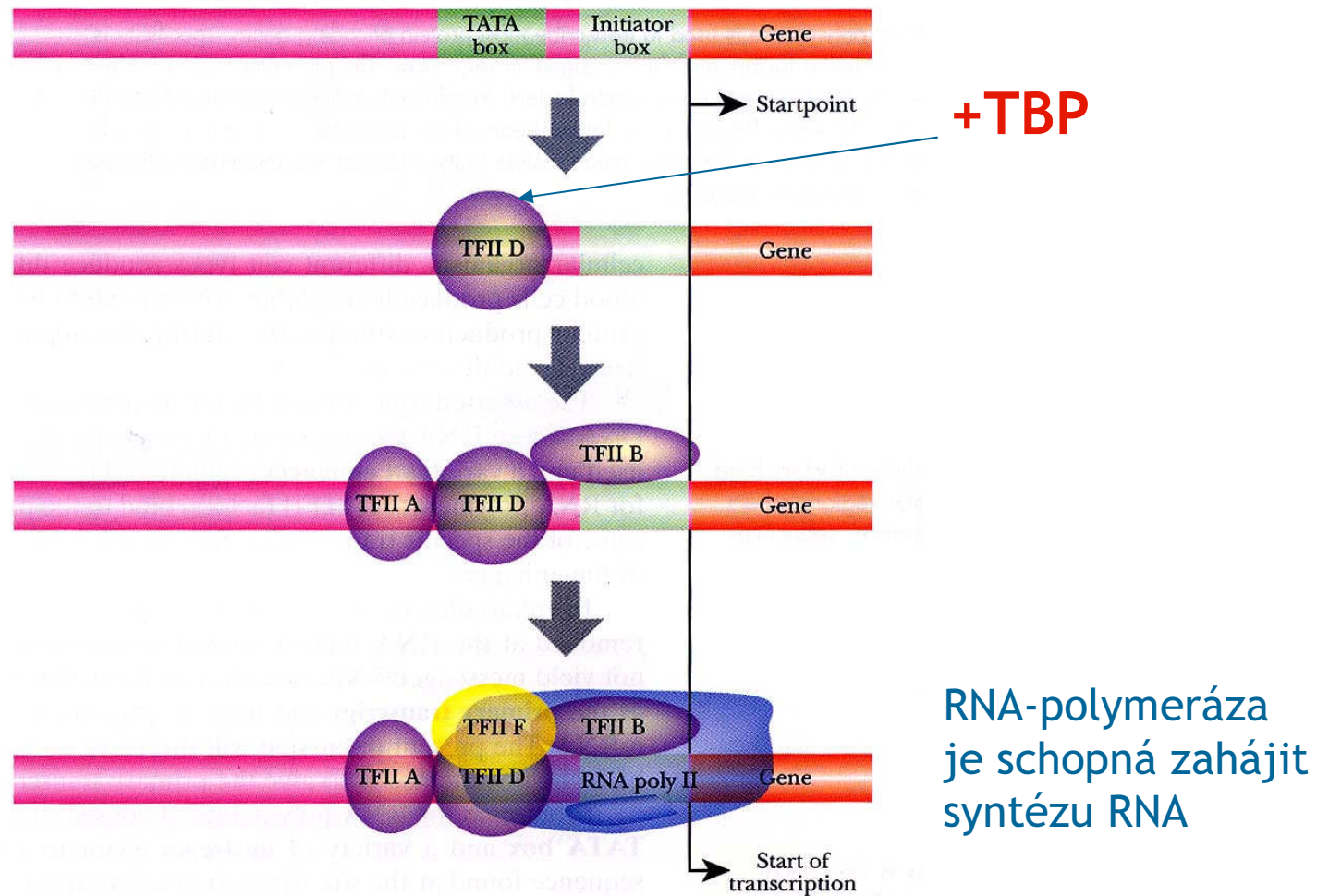


Trojrozměrná struktura TBP navázaného na TATA-box

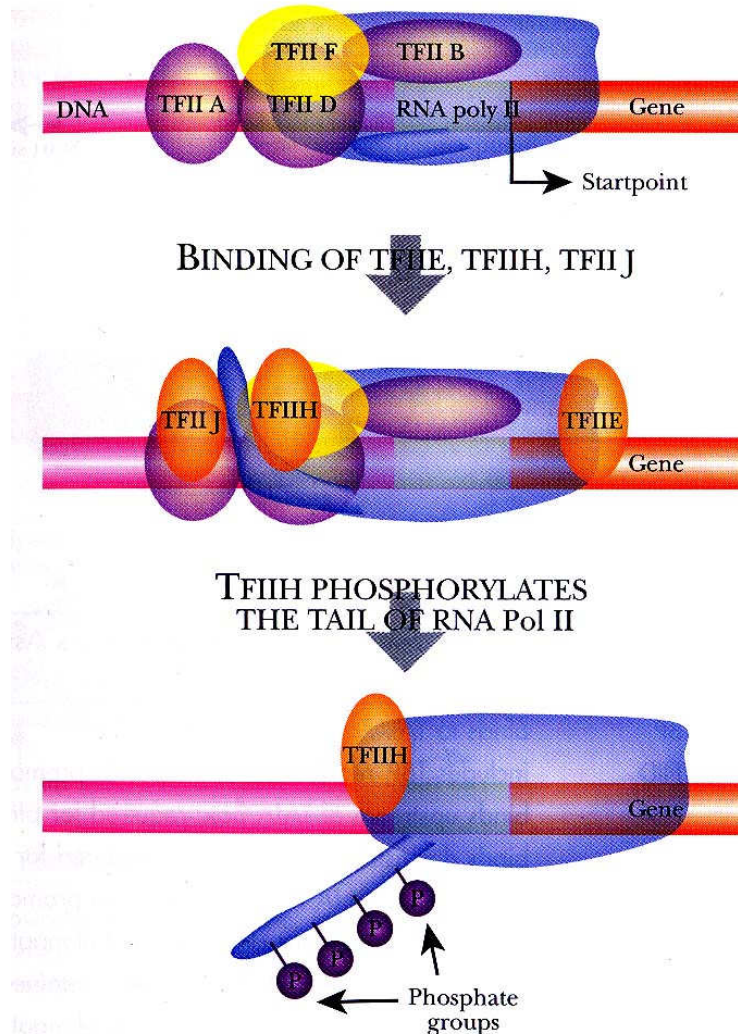


Obrázek 8-24 Trojrozměrná struktura TBP navázaného na TATA-box. TBP (TATA-vazebný protein) je podjednotkou obecného transkripčního faktoru TFIID, který je zodpovědný za rozpoznání a navázání se na sekvenci TATA-boxu v DNA (červeně). Unikátní ohnutí způsobené proteinem TBP – dvě smyčky dvojšroubovice oddělené částečně rozvinutou DNA – může sloužit jako označení promotorové sekvence pro další obecné transkripční faktory. TBP tvoří jeden polypeptidový řetězec sbalený do dvou velice si podobných domén (modře a zeleně).

Iniciační fáze transkripce u eukaryot - navázání RNA-polymerázy na promotor



Zahájení transkripce RNA-polymerázou



Vytvoření iniciačního komplexu obsahujícího přes 20 polypeptidů

Fosforylace C-konce (CTD) RNA-polymerázy transkripčním faktorem TFIIH

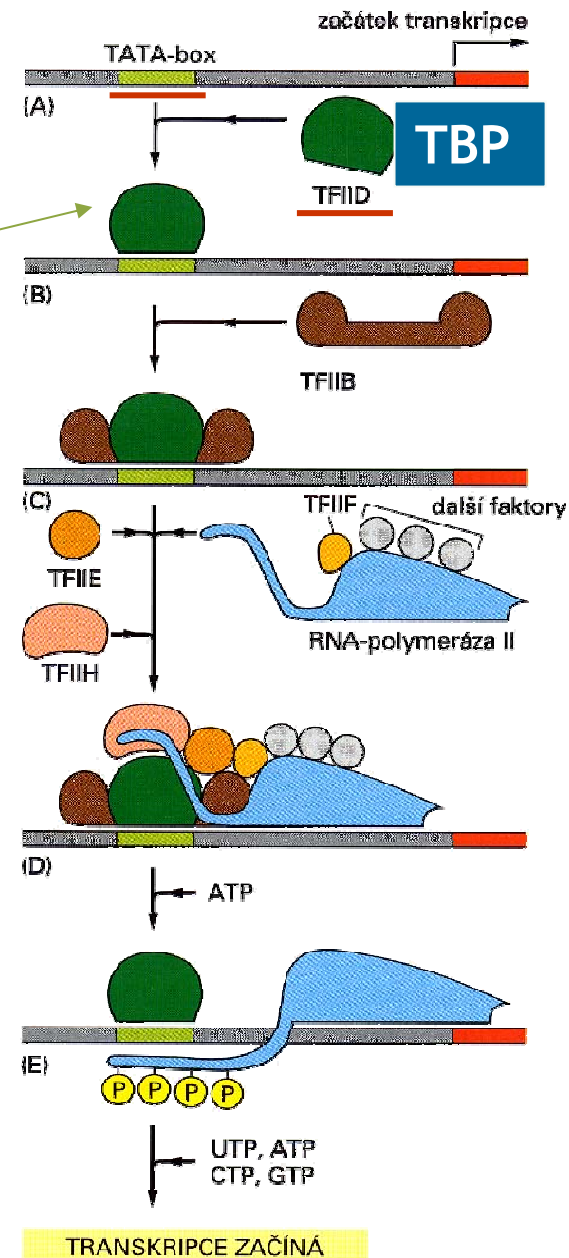
Uvolnění všech TFII vyjma TFIIH, zahájení transkripce

Iniciace transkripce RNA-polymerázou II

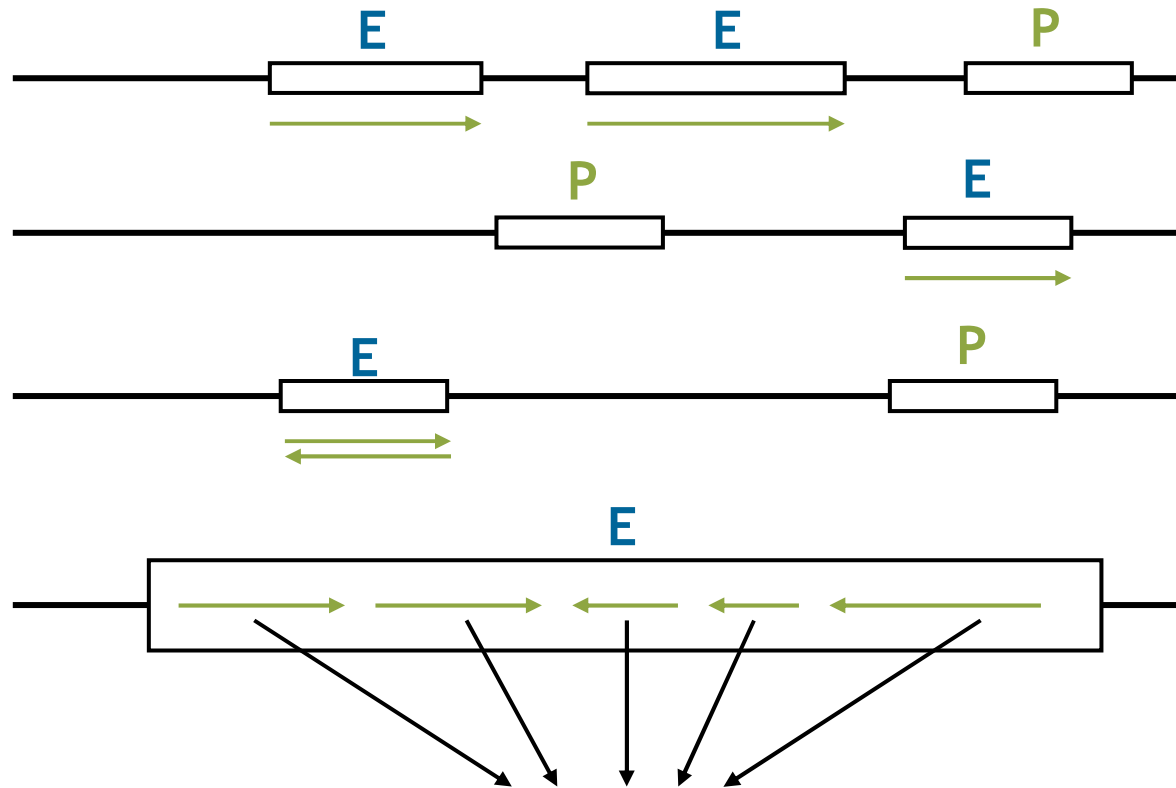
Nastává ohyb DNA

Vznik transkripčního iniciačního komplexu

Fosforylace polymerázy, její uvolnění z komplexu a zahájení transkripce

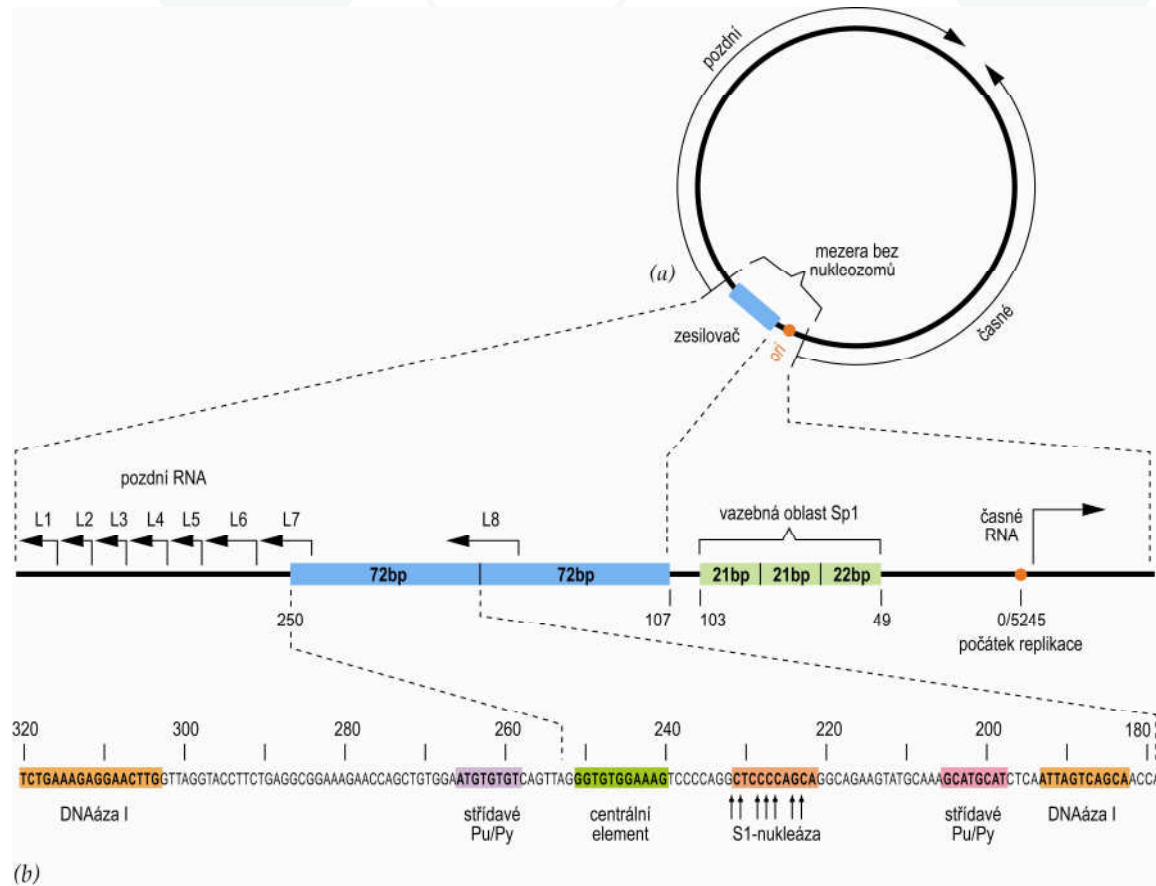


Vlastnosti zesilovače transkripce



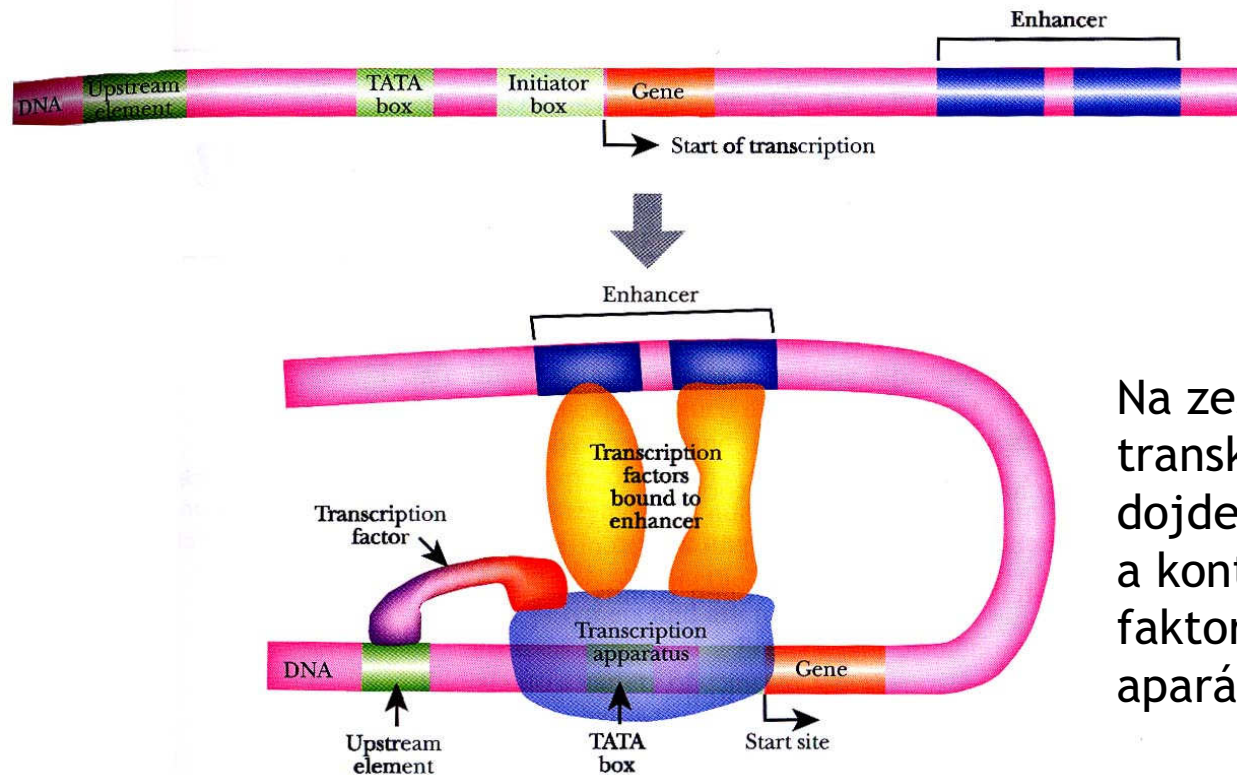
Sekvenční motivy (RE), na něž se vážou regulační proteiny (transkripční faktory)

Struktura zesilovače transkripce viru SV40



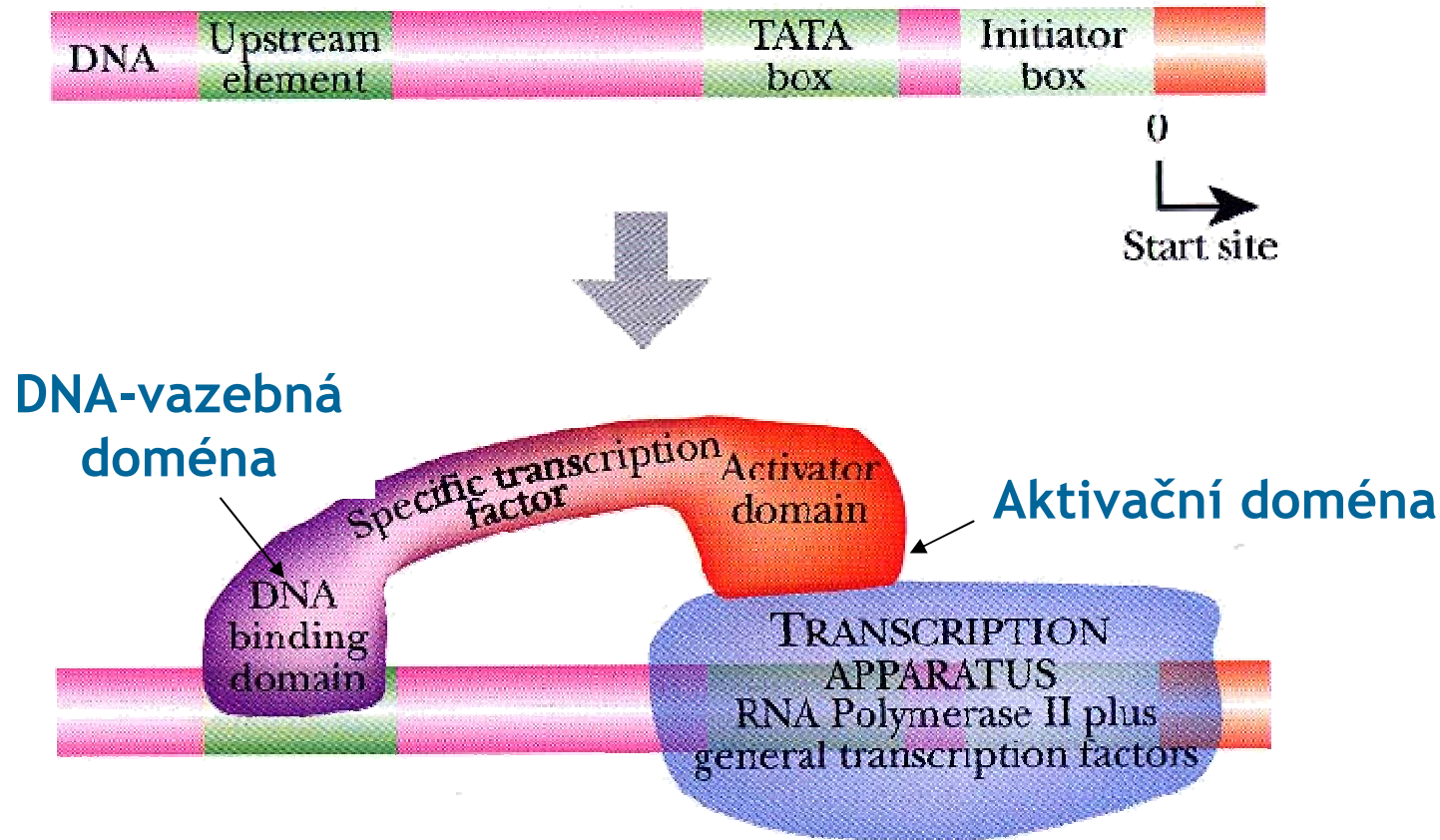
Využití zesilovače v expresních vektorech

Působení zesilovačů transkripce na velké vzdálenosti



Na zesilovač se navážou transkripční faktory, dojde k ohybu DNA a kontaktu transkripčních faktorů s transkripčním aparátem

Vzájemné interakce transkripčních faktorů

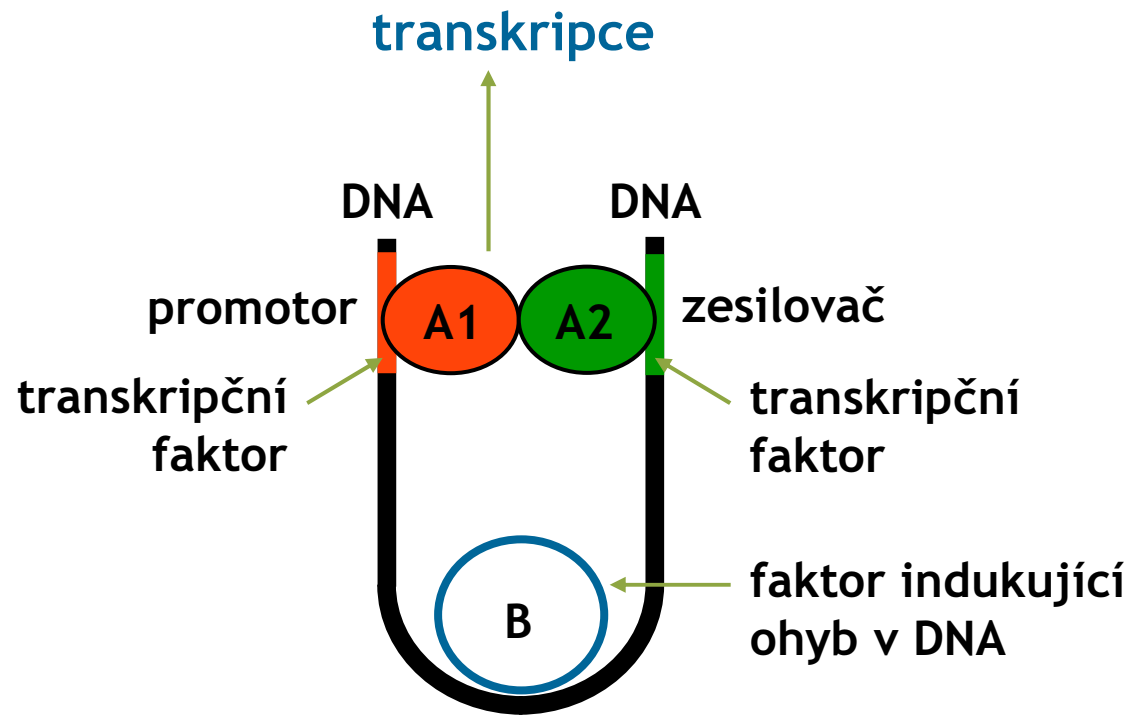


Hybridní proteiny: aktivační doména x DNA-vazebná doména

Základní rysy specifických transkripčních faktorů

1. Zajišťují odpověď na podněty signalizující nezbytnost zapnutí jednoho nebo několika genů
2. Na rozdíl od většiny proteinů jsou schopné vstoupit do jádra
3. Rozpoznávají specifické sekvence na DNA a vážou se na ně
4. Vytvářejí kontakt s transkripčním aparátem, buď přímo nebo zprostředkovaně

Schéma navození fyzikálního kontaktu promotoru se zesilovačem transkripce



Vazebná místa transkripčních faktorů a jejich interakce

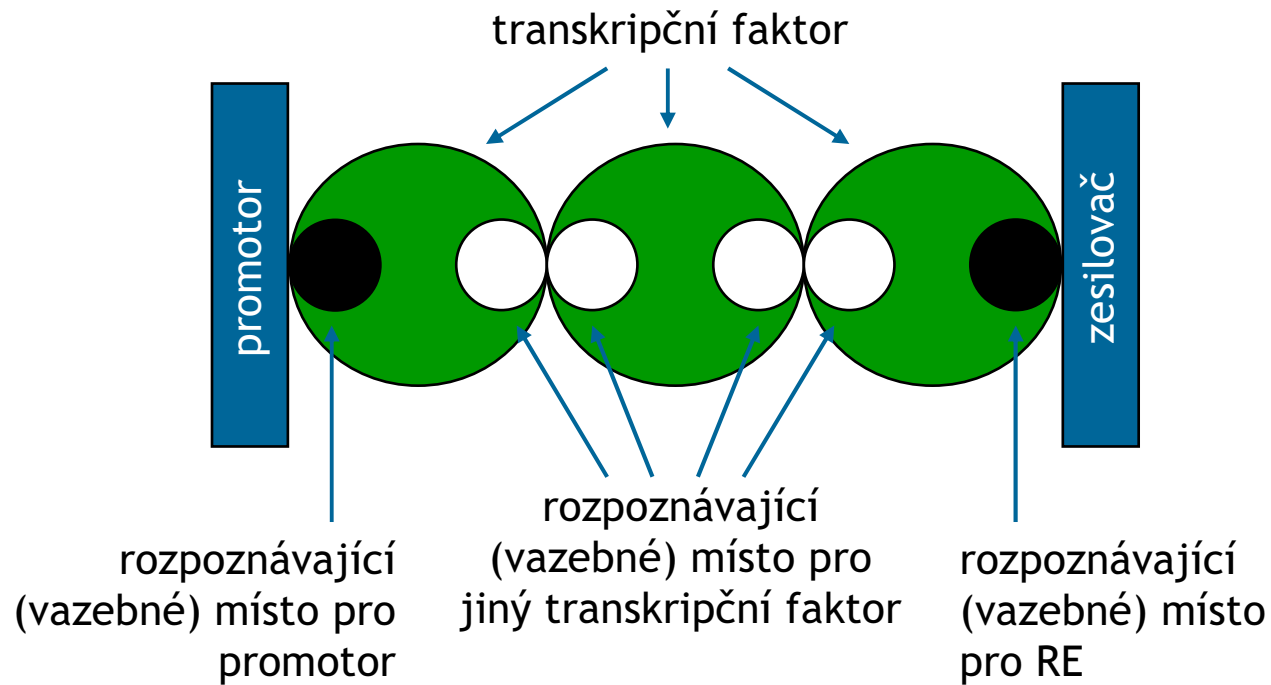
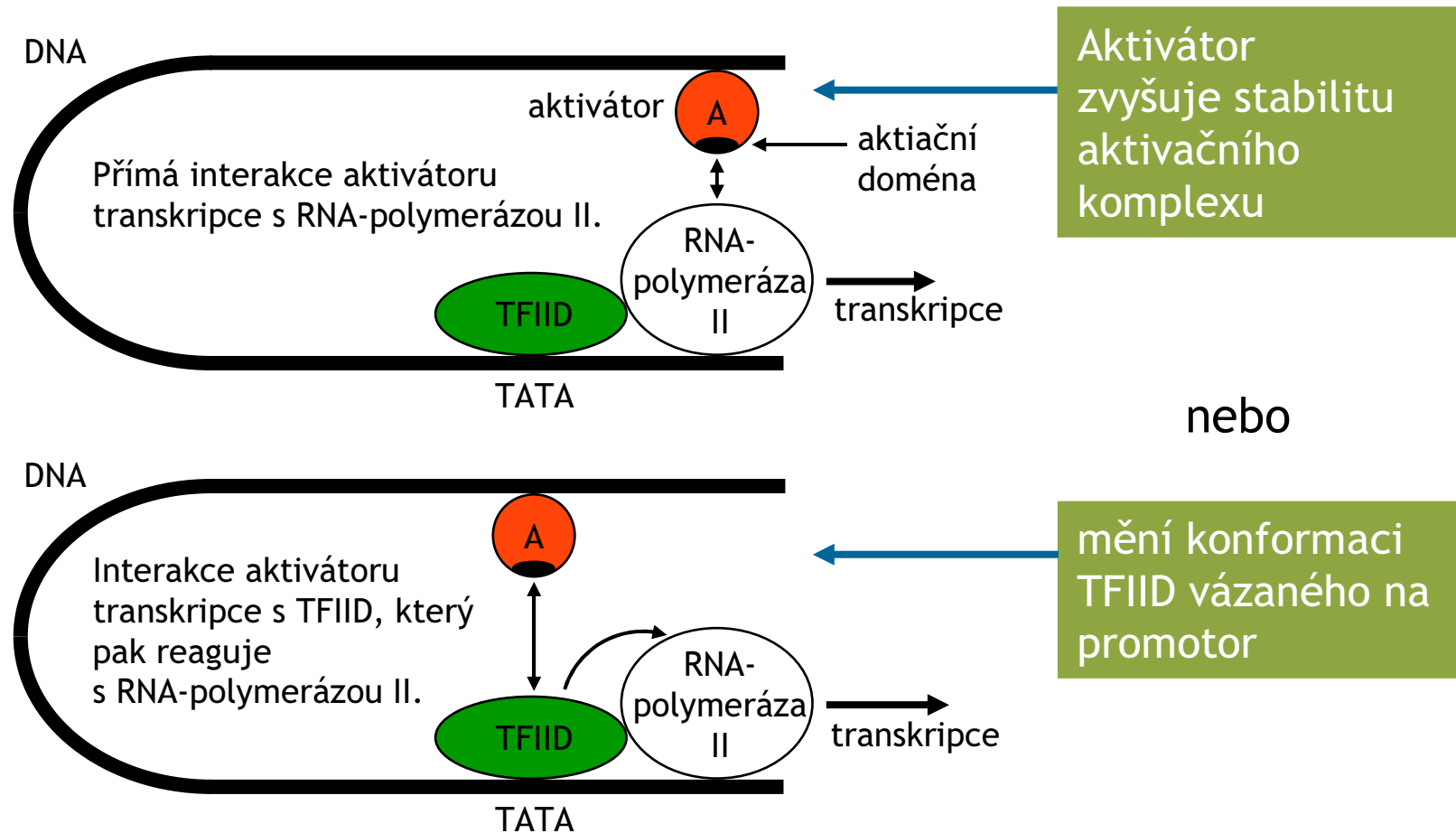
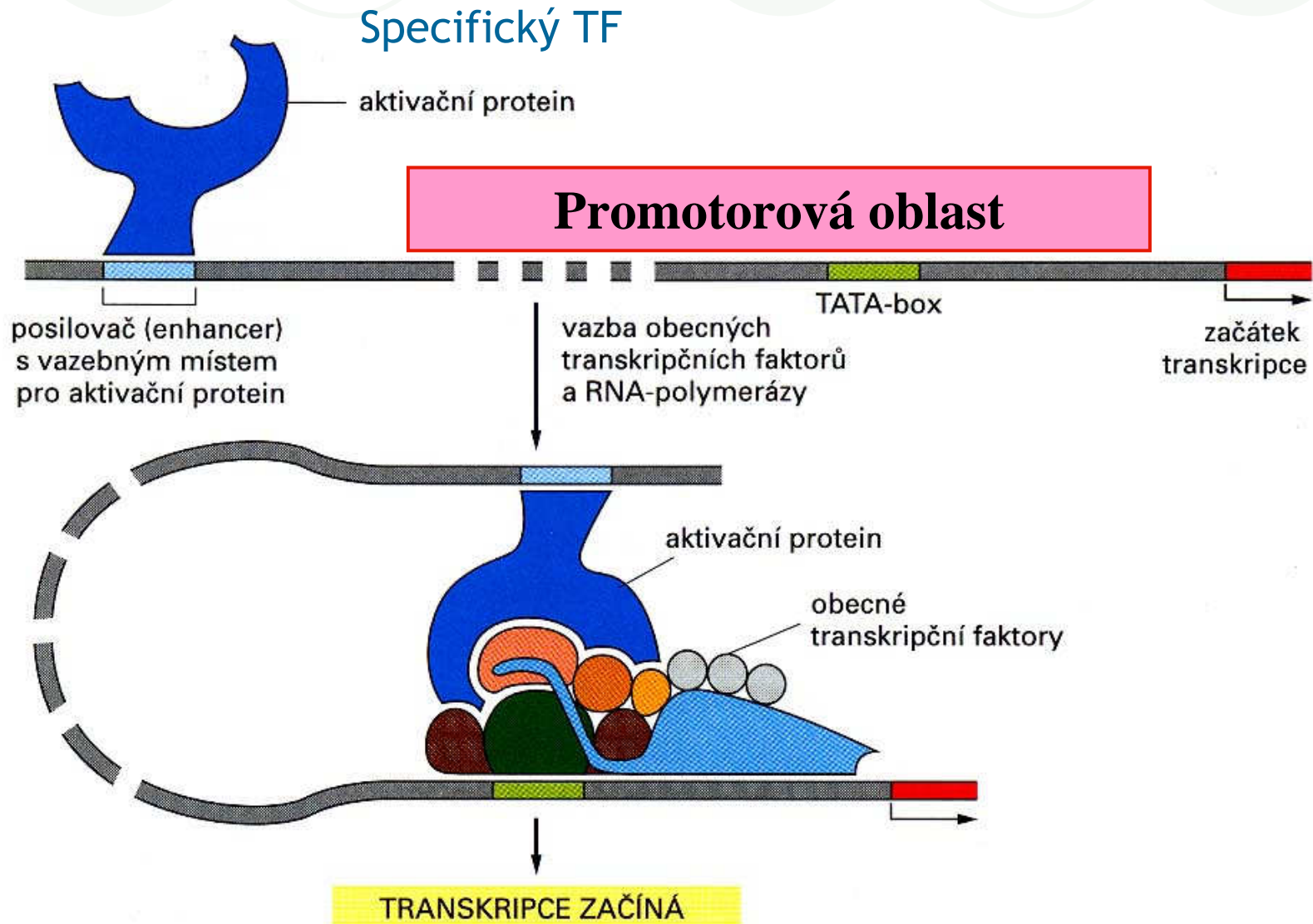


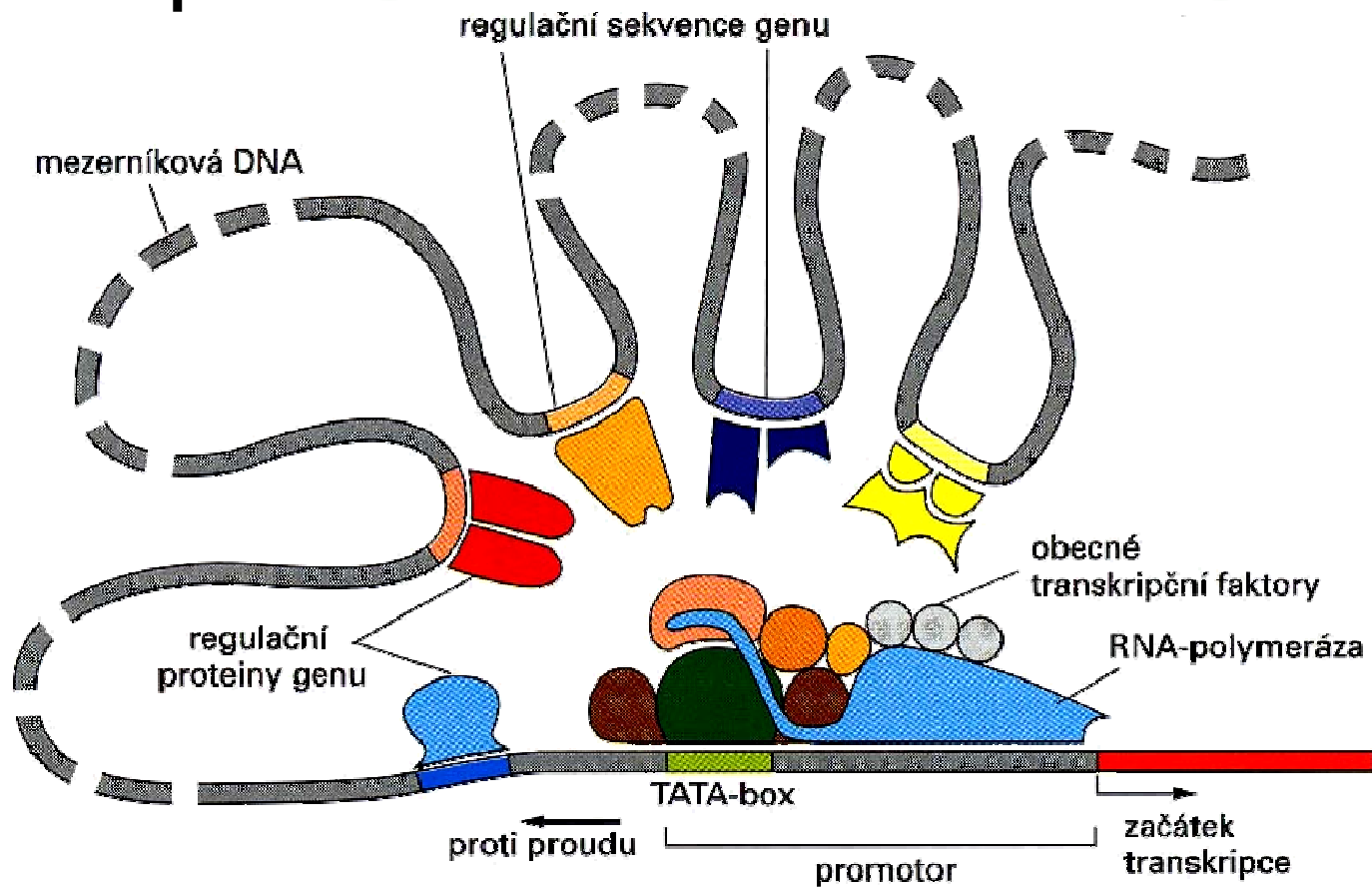
Schéma přímé a nepřímé interakce aktivátoru transkripce s RNA-polymerázou II



Model aktivace genů na dálku



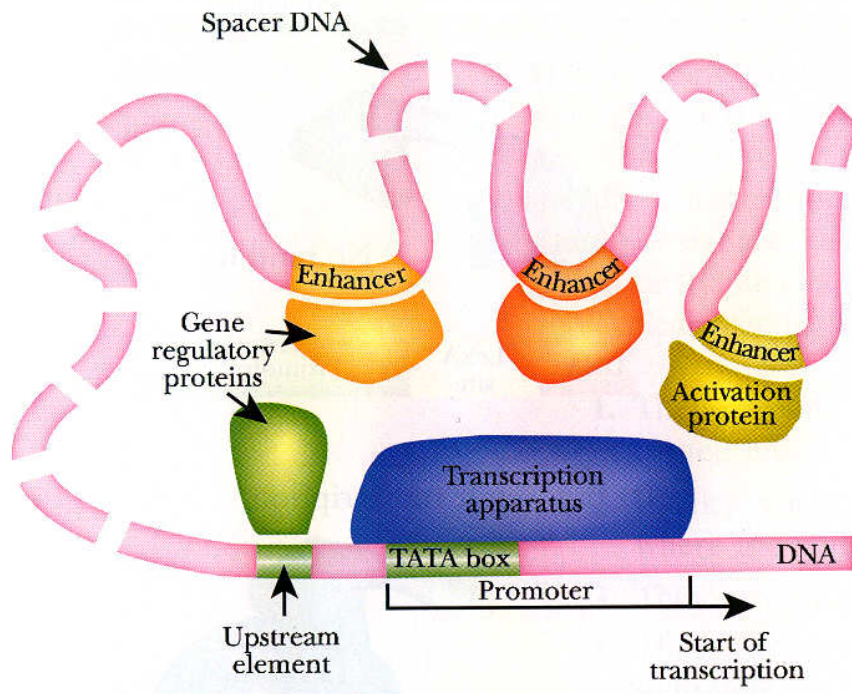
Interakce TF a vliv jejich kombinace na zahájení transkripce



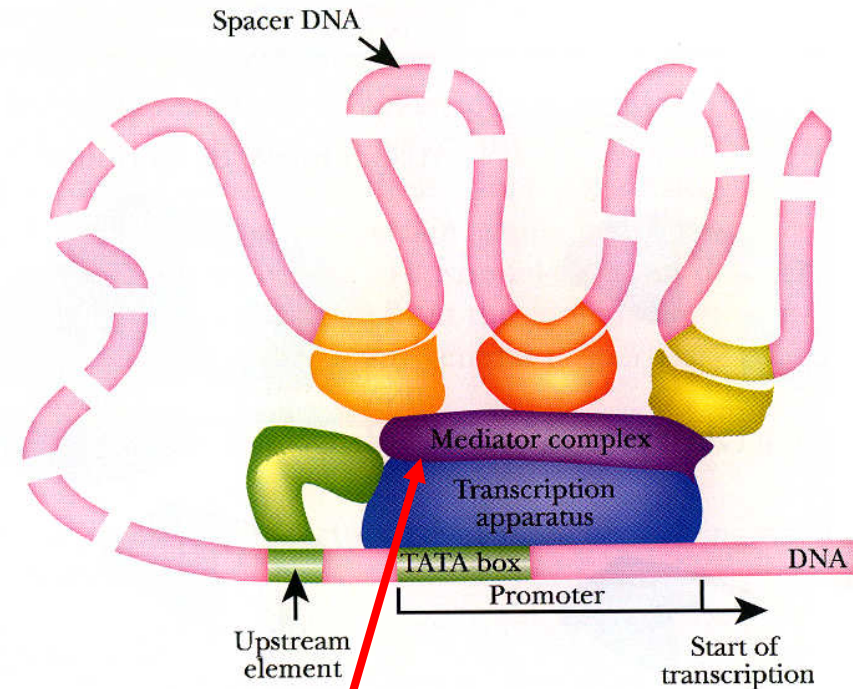
Jeden z regulačních proteinů má rozhodující vliv na zapnutí genu nebo jeho vypnutí (např. receptor pro hormon)

Působení aktivačních proteinů a mediátorového komplexu

A) NO TRANSCRIPTION



B) TRANSCRIPTION PROCEEDS



Mediátor = proteinový komplex (20 podjednotek) lokalizovaný na povrchu RNA polymerázy, kde zprostředkuje kontakt s regulačními proteiny (TF – aktivátory, represory) – tj. kombinuje signály



Způsoby aktivace transkripčních faktorů

- fosforylace TF specifickými proteinkinázami
- vazba ligandu (signálu, např. hormonu)
- odstranění inhibitoru

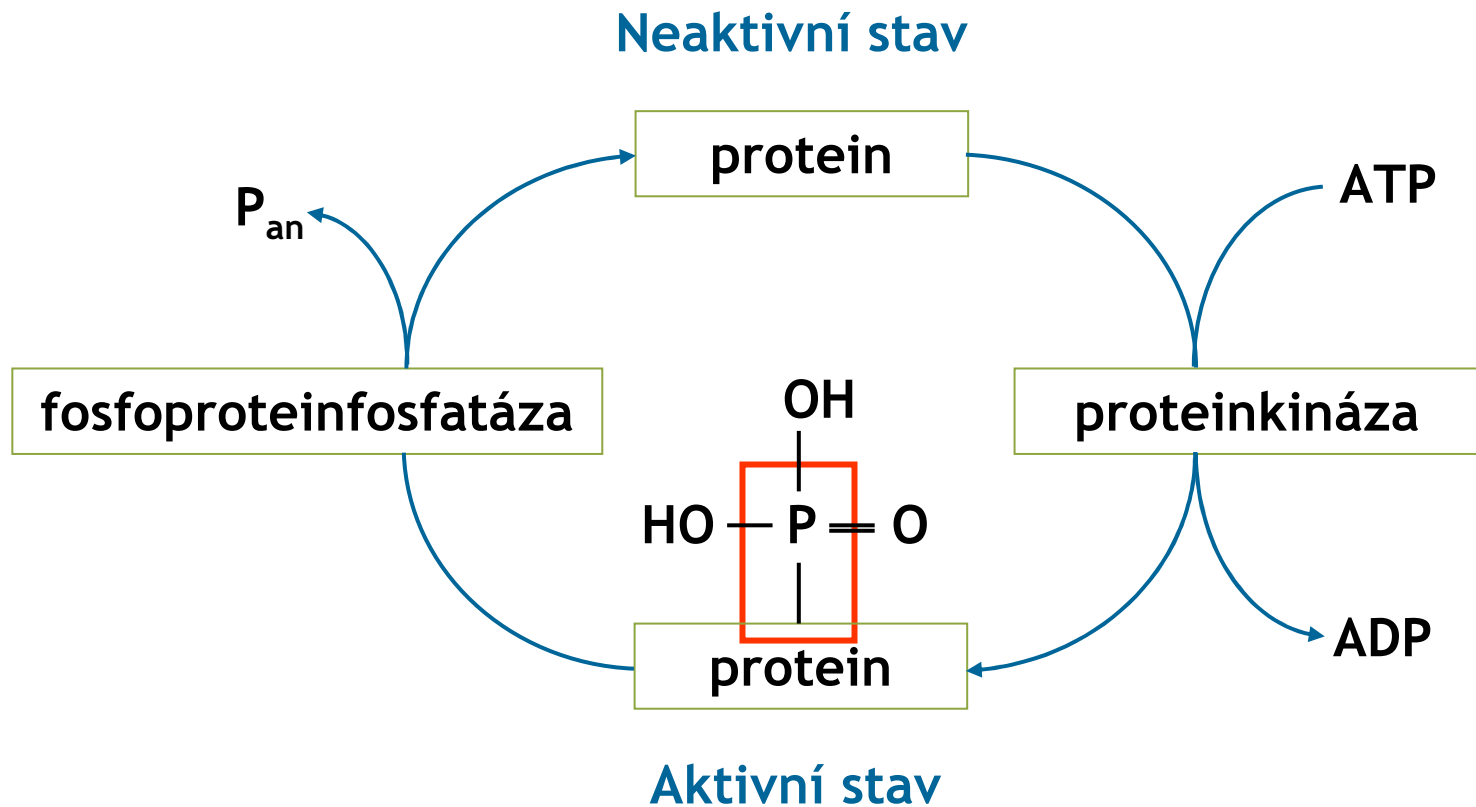
→ vazba TF na DNA, interakce TF s dalším TF

→ indukce transkripce

Specifická aktivace genů

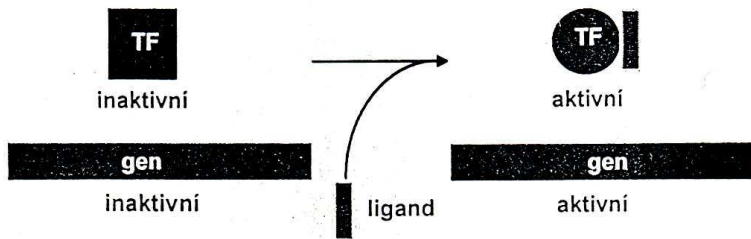
- aktivace specifického TF v buňkách určité tkáně po působení signálu
- indukce tvorby specifického TF v určité tkáni po aktivaci jeho genu působením signálu

Enzymová katalýza fosforylace a defosforylace

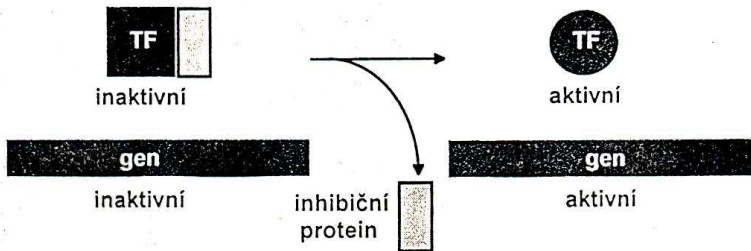


Způsoby aktivace transkripčních faktorů navozené indukčním agens

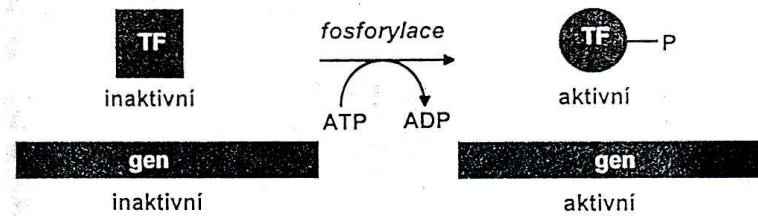
1. Konformační změna transkripčního faktoru způsobená ligandem.



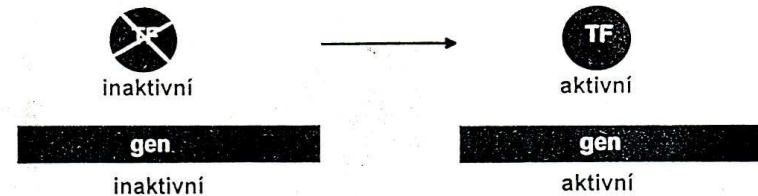
2. Konformační změna transkripčního faktoru způsobená odstraněním inhibičního proteinu.



3. Konformační změna transkripčního faktoru způsobená fosforylací.

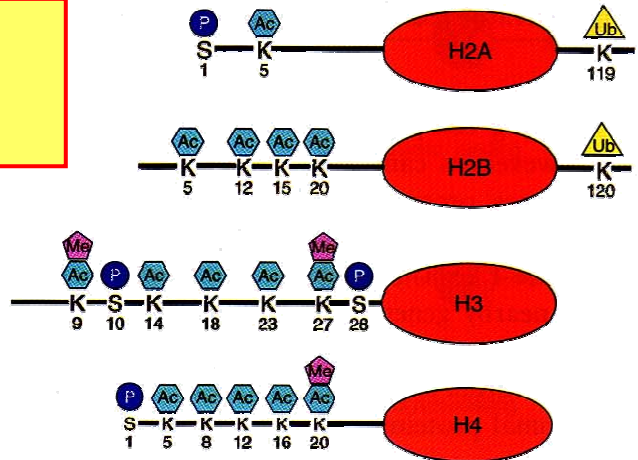


4. Stabilizace aktivní formy transkripčního faktoru proti jeho odbourání.

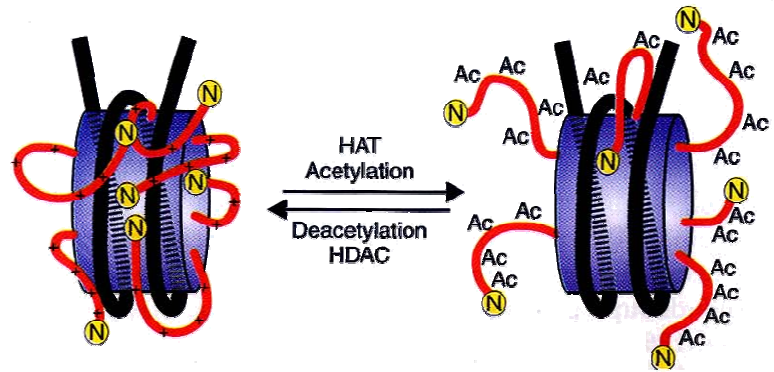
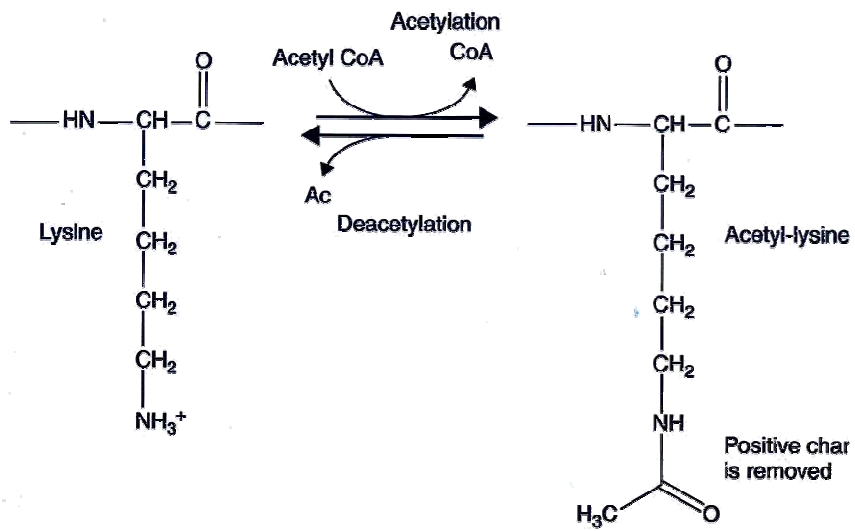


Modifikace lyzinu nebo serinu N-terminálních úseků histonů

S = serin
K = lyzin



P = fosforylace
Ac = acetylace
Me = metylace



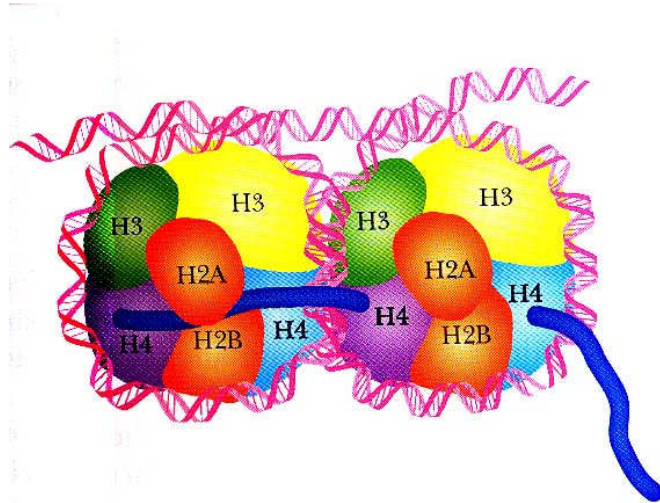
acetylace vede k rozvolnění komplexu DNA-histon

Acetylace konců histonů vede k rozvolnění nukleozomů = remodelace chromatinu

Agregovaná forma

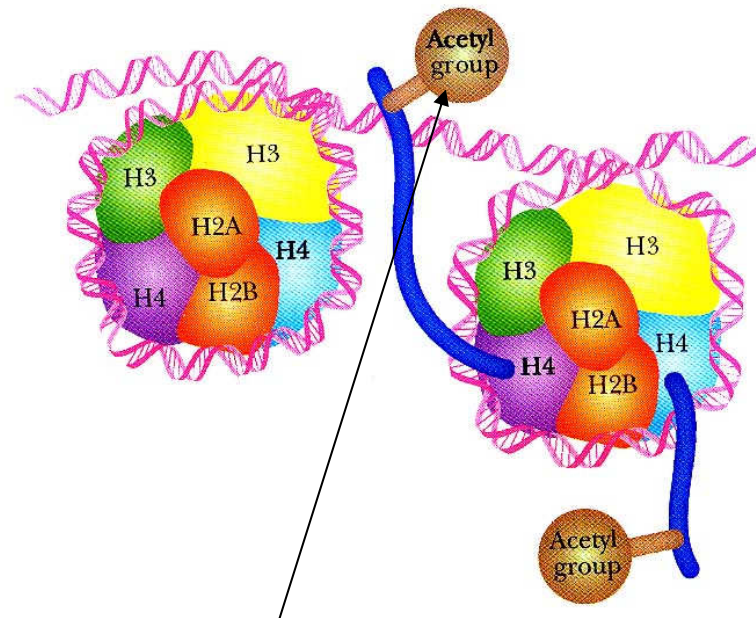
nukleozomů

Disagregovaná forma



Histony těsně vázané prostřednictvím svých N-konců

Heterochromatin



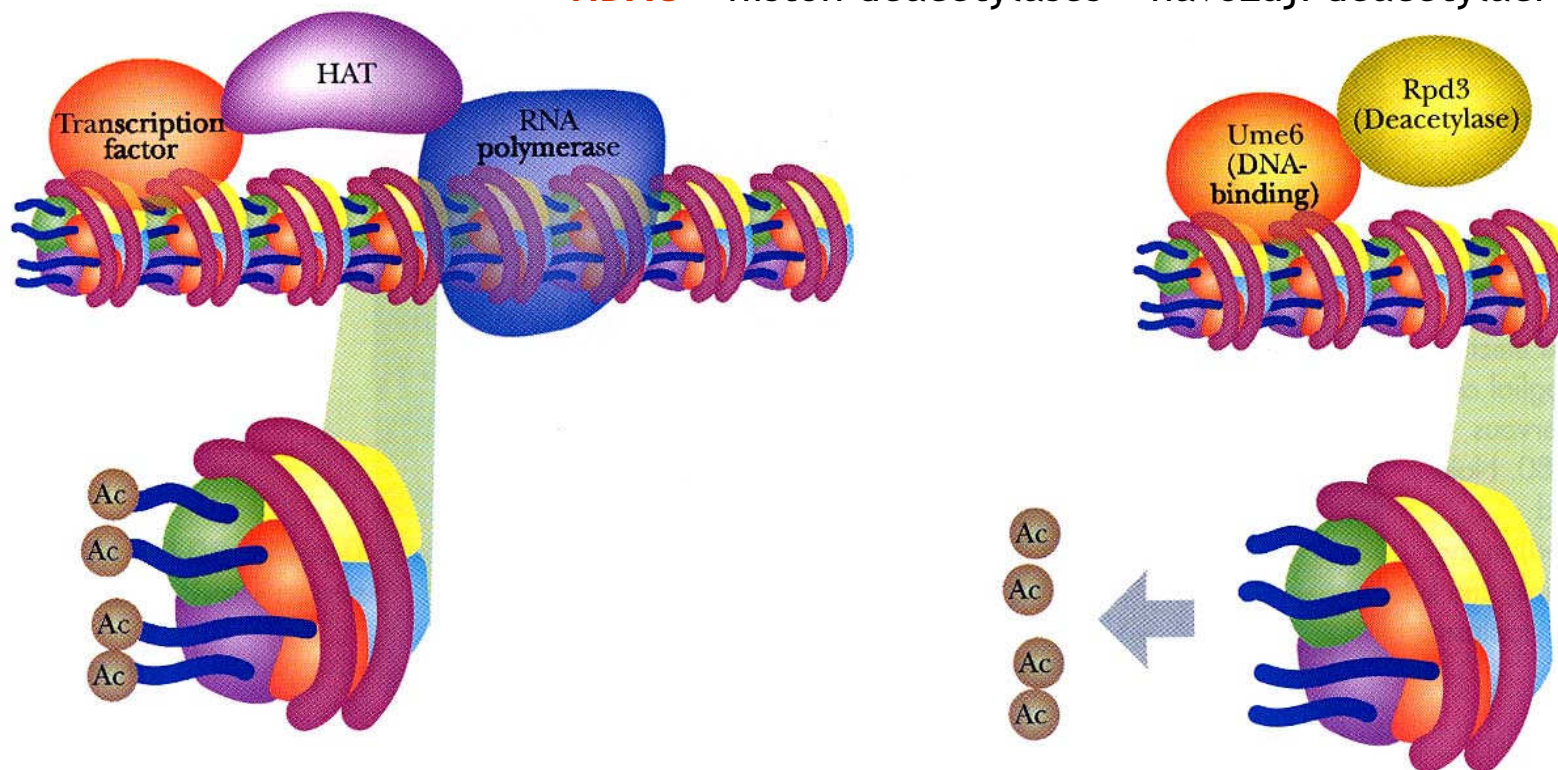
Rozvolnění nukleozomů po acetylaci konce histonu H4

Euchromatin

Enzymy podílející se na acetylaci a deacetylaci histonů

HAT = histone acetyl transferases = navozují acetylaci

HDAC = histon deacetylases = navozují deacetylaci



HAT působí jako
koaktivátor transkripce

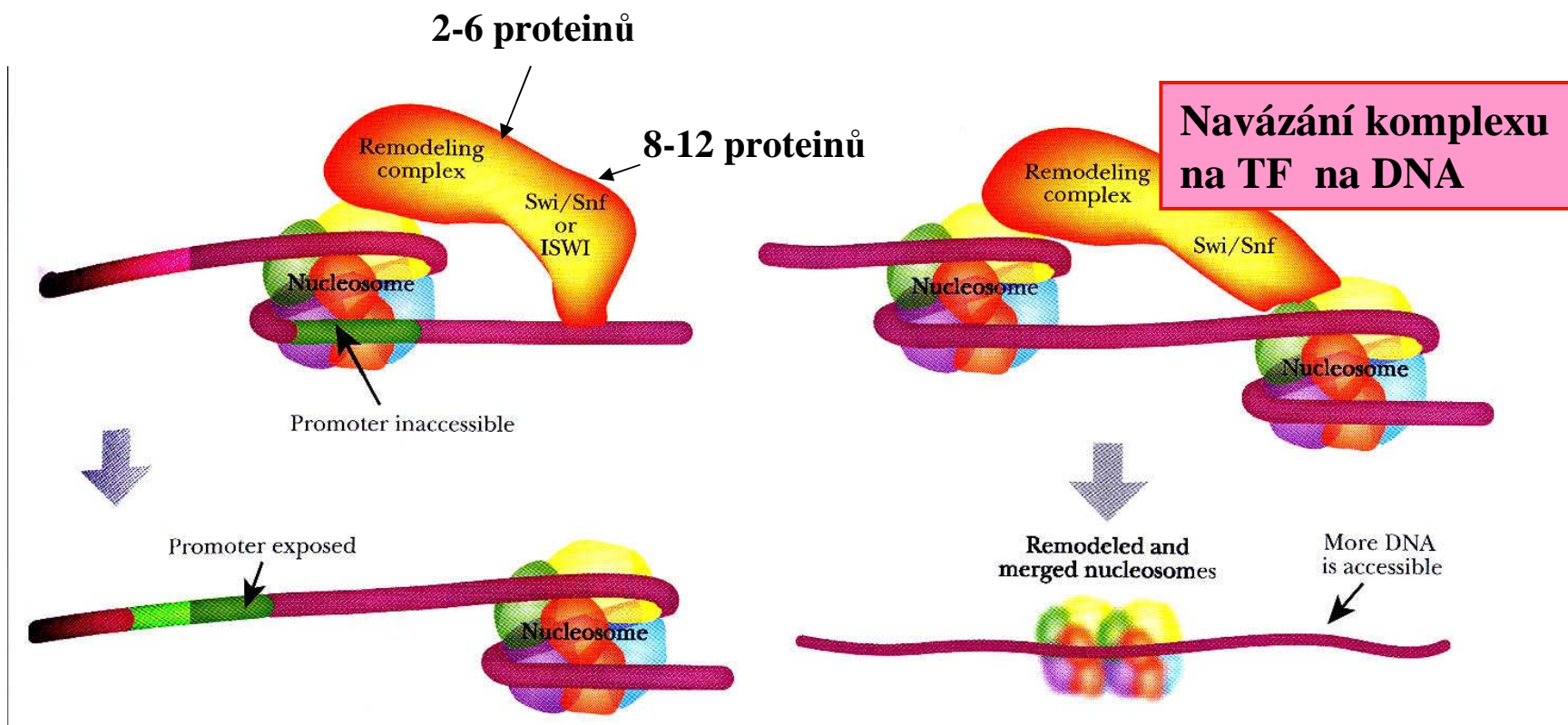
korepresor navozující deacetylaci

Koaktivátory a korepresory se na DNA nevážou přímo, ale prostřednictvím transkripčních faktorů vázaných na DNA

Působení komplexů remodelujících chromatin: dva způsoby remodelování nukleozómů

1. Posunování („sliding“) nukleozómů - nukleozomy jsou posunuty, promotory se zpřístupní

2. „Remodeling“ - nukleozomy jsou posunuty (dva se spojují), DNA je zpřístupněna transkripci

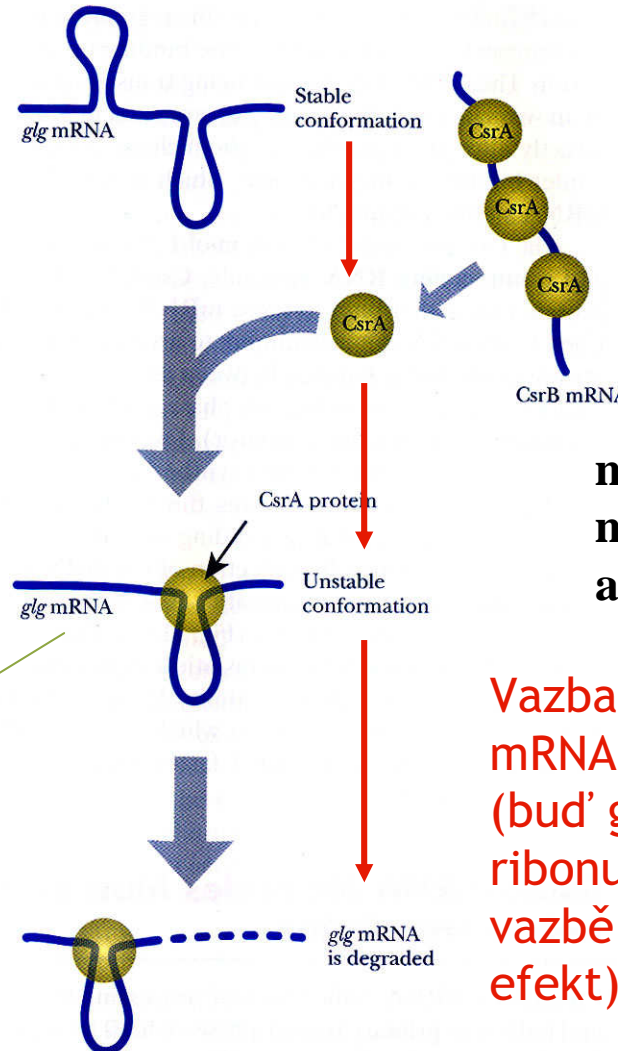


Sled událostí vedoucích k aktivaci eukaryotického genu

1. TF se váže na DNA
2. Na TF se váže histon-acetyltransferáza (HAT)
3. HAT acetyluje histony v blízkosti místa svého navázání a dochází k rozvolnění nukleozomové struktury
4. Komplexy remodelující chromatin posunují nebo remodelují nukleozomy a zpřístupňují sekvence DNA
5. Na DNA se vážou další TF
6. Na DNA se váže RNA-polymeráza
7. K iniciaci transkripce je nutný pozitivní signál: specifické TF vázající se na mediátorový komplex na promotoru

Ovlivnění rychlosti degradace mRNA regulačními proteiny

Regulační systém CsrAB u *E. coli* (carbohydrate storage regulator)



Nekódující molekula RNA (CsrB), na niž se vážou regulační proteiny (CsrA) - „dok“ („zásobárna“)

monitorování rovnováhy mezi hromaděním glykogenu a glykolýzou

Obsahuje geny pro syntézu glykogenu

Vazba CsrA urychluje rozklad *glg* mRNA, a tím brání její translaci (buď *glg* mRNA zpřístupní ribonukleázám, nebo zabráni její vazbě na ribozom, což má stejný efekt)