

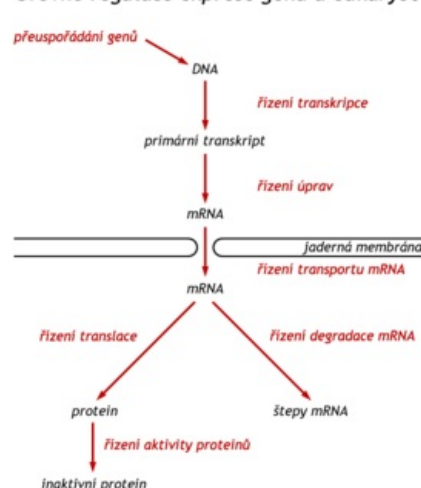
Řízení genové exprese a proteosyntézy u eukaryot

Regulace exprese genů eukaryotických buněk je mnohem obtížnější experimentálně přístupná a tudíž hůře prostudována než regulace u bakterií. Eukaryotické mechanismy jsou složitější. Přes tyto nesnáze výzkum posledních let objasnil několik regulačních principů na různých úrovních genové exprese. Ukázalo se, že jsou analogické jako u prokaryot, jen poněkud více kombinované. U eukaryot jsou k dispozici další úrovně regulace.

Regulace na úrovni uspořádání genů

Geny pro rRNA jsou v genomu zastoupeny mnohonásobně, u některých druhů i v mnoha stech kopiích. Během časně embryogeneze je v oocytu třeba v krátké době vytvořit velké množství ribosomů, a tak se geny pro rRNA v genomu dokonce zmnožují – **amplifikují** (u žaby za těchto okolností zaujmou tři čtvrtiny buněčné DNA). Tato amplifikace na úrovni genu je při syntéze rRNA žádoucí, neboť v tomto případě již nenásleduje další úroveň amplifikace, jakou při expresi genů pro proteiny představuje translace. Většina genů kódujících syntézu bílkovin se v genomu vyskytuje v jediné kopii. Existují však výjimky časté např. v nádorových buňkách. Je to známo o onkogenech myc a c-ras. *In vitro* se v nádorových buňkách podařilo amplifikovat gen pro reduktázu kyseliny tetrahydrofolové po podání jejího inhibitoru metotrexátu. Buňky se tak staly rezistentnějšími k účinku uvedeného kancerostatika. Dalším mechanismem regulace proteosyntézy na úrovni DNA je přeuspořádání genů (**rearrangement**) během diferenciací buněk. Je tomu tak v buňkách syntetizujících imunoglobuliny. Buňka tak může v průběhu odpovědi na antigen „přepnout“ syntézu jednoho typu Ig na jiný typ.

Úrovně regulace exprese genů u eukaryot



Úrovně regulace exprese genů u eukaryot

Regulace na úrovni transkripce

Indukce syntézy proteinů je možná stejně jako u bakterií též v eukaryotických buňkách. **Exogenní induktory** působí v tomto smyslu zejména na buňky vystavené výkyvům ve skladbě prostředí (hepatocyty, enterocyty). Při dietě bohaté na proteiny jaterní buňka reaguje indukcí syntézy arginasy, po podání některých léků se v hepatocytech indukuje syntéza enzymů mikrosomálního oxygenasového systému. V živočišných buňkách nejde o regulaci operonových systémů, uspořádání genů a vznikající mRNA jsou v tomto případě odlišné; v eukaryotických buňkách jsou geny přerušovány introny, tvoří se polygeny, nýbrž monogeny mRNA. U eukaryot převažuje pozitivní regulace. V současné době jsou intenzivně studovány **zesilovače transkripce (enhancery)**, které jsou v jaderných buňkách asi častější, než u bakterií. Jsou to sekvence DNA vzdálené i tisíce pb od promotoru.

Byly zjištěny též u DNA virů a retrovirů (součást U3 oblasti v úseku LTR). Na tyto sekvence se navazují regulační proteiny a tím se zvýší aktivita „slabého“ promotoru. Na rozdíl od promotoru zesilovač působí po směru, ale i proti směru transkripce (jestliže je umístěn až za promotorem). Vazba regulačního proteinu na promotor pomáhá vytvořit klíčku DNA, přičemž se enhancerový protein naváže ještě na oblast promotoru. Jsou popsány i sekvence DNA, jejichž funkcí je naopak potlačení transkripce (**silencers**).

Mezi regulační proteiny vázající se na enhancery patří **receptory steroidních hormonů** a **receptory hormonů štítné žlázy**. Tyto lipofilní látky snadno pronikají plazmatickou membránou do cytosolu, kde se vážou na bílkovinné receptory, komplex je pak přenesen do jádra a zde je navázán na příslušný enhancer. Tyto hormony jsou tedy endogenními induktory syntézy určitých mRNA a proteinů. I když je mezi regulací transkripce prokaryot a eukaryot řada rozdílů, **principy, kterými regulační proteiny řídí zahájení transkripce** jsou analogické. Lze je shrnout takto:

1. Regulační protein se váže na své vazebné místo na promotoru (DNA) a je v přímém kontaktu s RNA-polymerasou (např. induktor lac-operonu).
2. Protein se naváže na úsek DNA vzdálenější od promotoru a odtud interaguje s RNA-polymerasou (např. regul. protein bakteriální glutaminsyntetasy).
3. Regulační protein se váže přímo na RNA-polymerasu (např. σ -faktor u bakterií).
4. Regulační protein se váže na DNA dále od promotoru a současně na jiný regulační protein navázaný na promotor (receptor steroidních hormonů u eukaryot nebo regulace prokaryotického arabinosového operonu).

Je třeba si uvědomit, že regulační proteiny mohou na zahajování transkripce působit pozitivně i negativně (zpomalovat ji) a že se několik faktorů (dokonce kladných a záporných) může ve stejné chvíli na stejném promotoru (a enhanceru) kombinovat a že jak kladné tak záporné působení regulačního proteinu může být modifikováno (přidáním další proteinové podjednotky, kovalentní modifikací, třeba fosforylací, vazbou určité ligandy apod.). Kombinace všech těchto faktorů na jednom promotoru v daném čase pak dává výslednou intenzitu v zahajování syntézy RNA. Stejně jako u bakterií je též u eukaryot známo řízené přerušení a ukončení transkripce.

Regulace postranskripčních úprav pre-mRNA

V některých systémech se uplatňuje **alternativní sestřih**. Primární transkript (pre-mRNA) je sestřihován několika způsoby. Gen pro kalcitonin se překrývá s genem pro neuropeptid příbuzný s kalcitoninem (CGRP). Má exony 1, 2, 3, 4, 5. Po sestřihu v buňkách štítné žlázy v mRNA zůstanou exony 1, 2, 3, kdežto v gangliových buňkách se zachovávají exony 1, 2, 4, 5. Stejný mechanismus rozhoduje, zda-li buňka produkující IgM bude tvořit membránový (receptorový) typ a nebo sekreční typ tohoto imunoglobulinu.

Regulace na úrovni translace

Příkladem těchto mechanismů je řízení syntézy hemoglobinových jednotek. Syntéza je regulována dostupností hemu. Jedna z proteinkinas inaktivuje eukaryotický iniciační faktor eIF-2 tím, že fosforyluje jeho α -podjednotku. Fosforylovaný eIF-2 nemůže vyměnit GDP za GTP a přijmout novou Met-tRNAi na iniciační komplex. Navíc se na faktor ireversibilně naváže protein GEF (guanyl nucleotide exchange factor, neboli eIF-2B), který katalyzuje výměnu GTP – GDP na nefosforylovaném eIF-2. Faktoru GEF je v buňce mnohem méně než eIF-2, takže k úplnému zastavení translace stačí, když je fosforylováno 30 % eIF-2. Popsaná blokáda translace je odstraňována hemem, který inhibuje kinázu fosforylující eIF-2. Globinové řetězce se syntetizují jen v přítomnosti hemu, což je z energetického hlediska žádoucí a výhodné. Uvedený mechanismus regulace translace je využíván i v jiných buňkách a řízen jinými efekty než hemem. Interferon např. inhibuje translaci v buňkách infikovaných virem.

Řízení rychlosti degradace mRNA

Některé regulační proteiny se vážou na mRNA a zpomalují její degradaci nukleasami. Příkladem budiž protein, který zpomaluje syntézu transferinového receptoru tím, že se váže na 3'-konec příslušné mRNA. Železo uvolňuje tento regulační protein z vazby na nukleovou kyselinu, mRNA se rychleji degraduje a tím ubývá receptorů, které by umožňovaly přijmout nežádoucí nadbytek železa do buňky.

Regulace funkce proteinu kotranslačními a postranslačními úpravami

Již v průběhu translace je nehotový peptidový řetězec modifikován. K těmto **kotranslačním úpravám** patří odštěpení signálního peptidu (u bakterií deformylace methioninu), vznik disulfidových můstků, konformace řetězce, vznik terciární struktury a připojení oligosacharidových zbytků. Po dokončení syntézy proteinového řetězce pokračují jeho chemické úpravy (**kovalentní modifikace**), které umožňují jeho funkci, neboť zajistí správné umístění proteinu v membráně, vznik jeho kvarterní struktury, vznik a modifikaci aktivního centra enzymu apod. K těmto postranslačním úpravám řadíme **glykosylaci** bílkoviny, která mj. zajistí orientaci molekuly, rozpustnost, umístění molekuly v buňce (targeting) a potřebnou kinetiku jejího odbourávání. Z některých peptidových řetězců **se vyšťepí peptid** a teprve takto vzniklé řetězce mohou zaujmout funkční konformaci (proinsulin – insulin). Tímto způsobem se aktivují též některé proteasy (pepsinogen – pepsin, trypsinogen – trypsin). Charakteristickým jevem eukaryotické proteosyntézy je možnost vzniku **polyproteinového prekursoru**, dlouhého řetězce, který je postranslačně štěpen proteasami ve funkční proteiny a peptidy (např. pro-opiomelanokortin (POMC)) se štěpí na několik funkčních hormonů (ACTH, lipotropiny, endorfiny, hormony stimulující melanocyty aj.). Také některé virové proteiny vznikají z polyproteinů. Aktivita jiných proteinů včetně enzymů se mění po **fosforylaci** jejich serinových, threoninových nebo tyrosinových zbytků (katalyzováno proteinkinázami). Proteiny se též **acetylují**, (histony), **ADP-ribosylují** (regulační proteiny).

K postranslačním dějům, dokončujícím vznik proteinů a vyšších systémů, patří **sestavování (assembly) podjednotek** v bílkoviny s definovanou kvarterní strukturou (hemoglobin, aspartát-karbamylasa). Často probíhají podle určitého programu, podle kterého se jednotlivé složky **postupně** syntetizují a **postupným** připojováním k takovému nadmolekulárnímu útvaru vytvářejí vazebná místa pro další komponenty. Tak vznikají virové částice (viriony), a buněčné organely (např. ribosomy). Jednotlivé složky jsou při tomto sestavování obvykle spojovány **nekovalentními vazbami**.

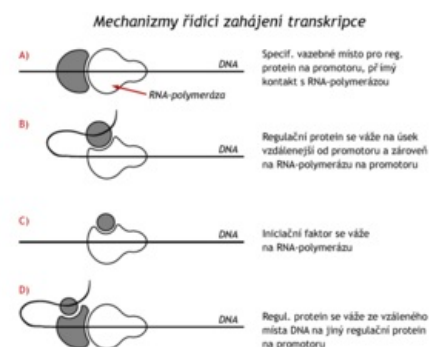
Odkazy

Související články

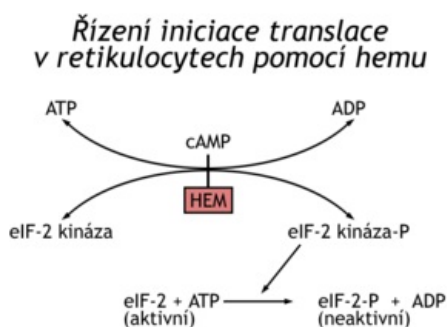
- Řízení genové exprese a proteosyntézy
- Řízení genové exprese a proteosyntézy u prokaryot
- Gen
- Transkripce
- Translace

*Další kapitoly z knihy **ŠTÍPEK, S.: Stručná biochemie uchování a exprese genetické informace**:*

Struktura nukleových kyselin: Základní složky nukleových kyselin • Primární struktura nukleových kyselin • Řetězec nukleové kyseliny lze štěpit neenzymovou nebo enzymovou hydrolýzou • Metody sekvencování •



Mechanismy řídicí zahájení transkripce



Řízení iniciace translace v retikulocytech pomocí hemu

Sekundární a vyšší struktura nukleových kyselin: Sekundární struktura DNA • Denaturace a reasociace řetězců nukleových kyselin, molekulární hybridizace • Sekundární struktura RNA • Topologie DNA; • Interakce DNA s proteiny, struktura chromosomu • Bakteriální chromosom • Eukaryotické chromosomy • DNA mitochondrií

Biosyntéza nukleových kyselin: Replikace DNA • Transkripce

Biosyntéza polypeptidového řetězce - translace: Transferové RNA (tRNA) • Aktivace aminokyselin, syntéza aminoacyl-tRNA • Funkce ribozómů v translaci • Translace u prokaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace translace • Elongace peptidů • Terminace translace • Inhibitory bakteriální translace • Translace u eukaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace eukaryotické translace • Elongace eukaryotické translace • Terminace eukaryotické translace • Inhibitory eukaryotické translace

Genetický kód

Biosyntéza nukleových kyselin a proteosyntéza v mitochondriích: Replikace mitochondriální DNA • Mitochondriální transkripce • Mitochondriální translace

Řízení genové exprese a proteosyntézy: Řízení genové exprese a proteosyntézy u prokaryot • Regulace na úrovni transkripce • Regulace sigma-faktory • Jacobův-Monodův operonový model • Regulační význam cAMP u bakterií • Variace operonového řízení genů • Tryptofanový a arabinosový operon • Řízení terminace transkripce • Regulace bakteriální proteosyntézy na úrovni translace • Řízení genové exprese a proteosyntézy u eukaryot • Regulace na úrovni uspořádání genů • Regulace na úrovni transkripce • Regulace posttranskripčních úprav pre-mRNA • Regulace na úrovni translace • Řízení rychlosti degradace mRNA • Regulace funkce proteinu kotranslačními a posttranslačními úpravami

Posttranslační úpravy a targeting proteinů: Signální sekvence polypeptidu, volné a vázané ribozómy • Posttranslační glykosylace proteinů • Targeting nezávislý na glykosylaci proteinů • Targeting mitochondriálních proteinů • Targeting jaderných proteinů • Rozhodovací mechanismus k destrukci nefunkčních proteinů • Receptorem zprostředkovaná endocytóza

Biochemie virů: Reprodukce DNA virů • Reprodukce RNA virů • Interferony

Biochemie genového inženýrství: Štěpení DNA na definovaném místě řetězce • Účinné dělení fragmentů DNA elektroforézou • Identifikace restrikčních fragmentů • Syntéza umělé DNA • Pomnožení a exprese izolovaného nebo umělého genu v hostitelské buňce

Zdroje

- ŠTÍPEK, Stanislav. *Stručná biochemie : Uchování a exprese genetické informace*. 1. vydání. Medprint, 1998. 92 s. s. 62–67. ISBN 80-902036-2-0.