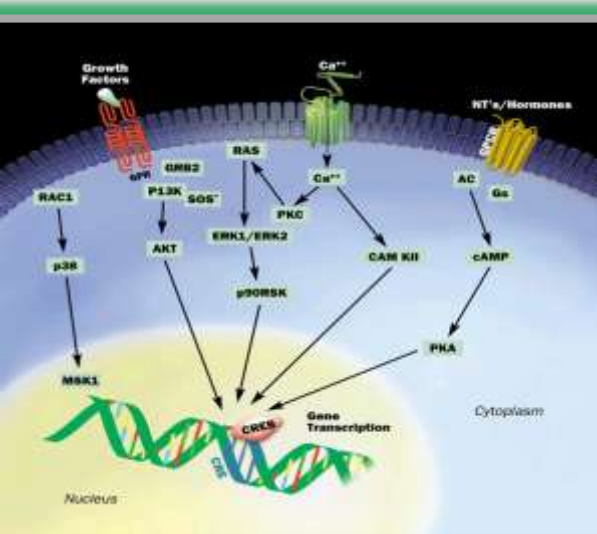


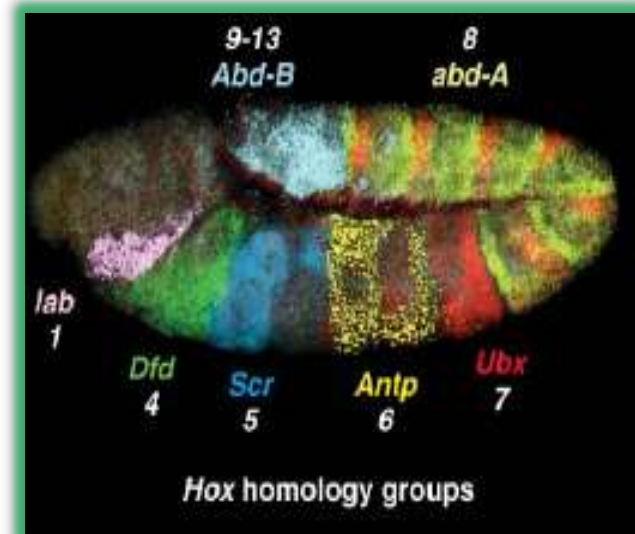
Genetikai szabályozás

Korcsmáros Tamás

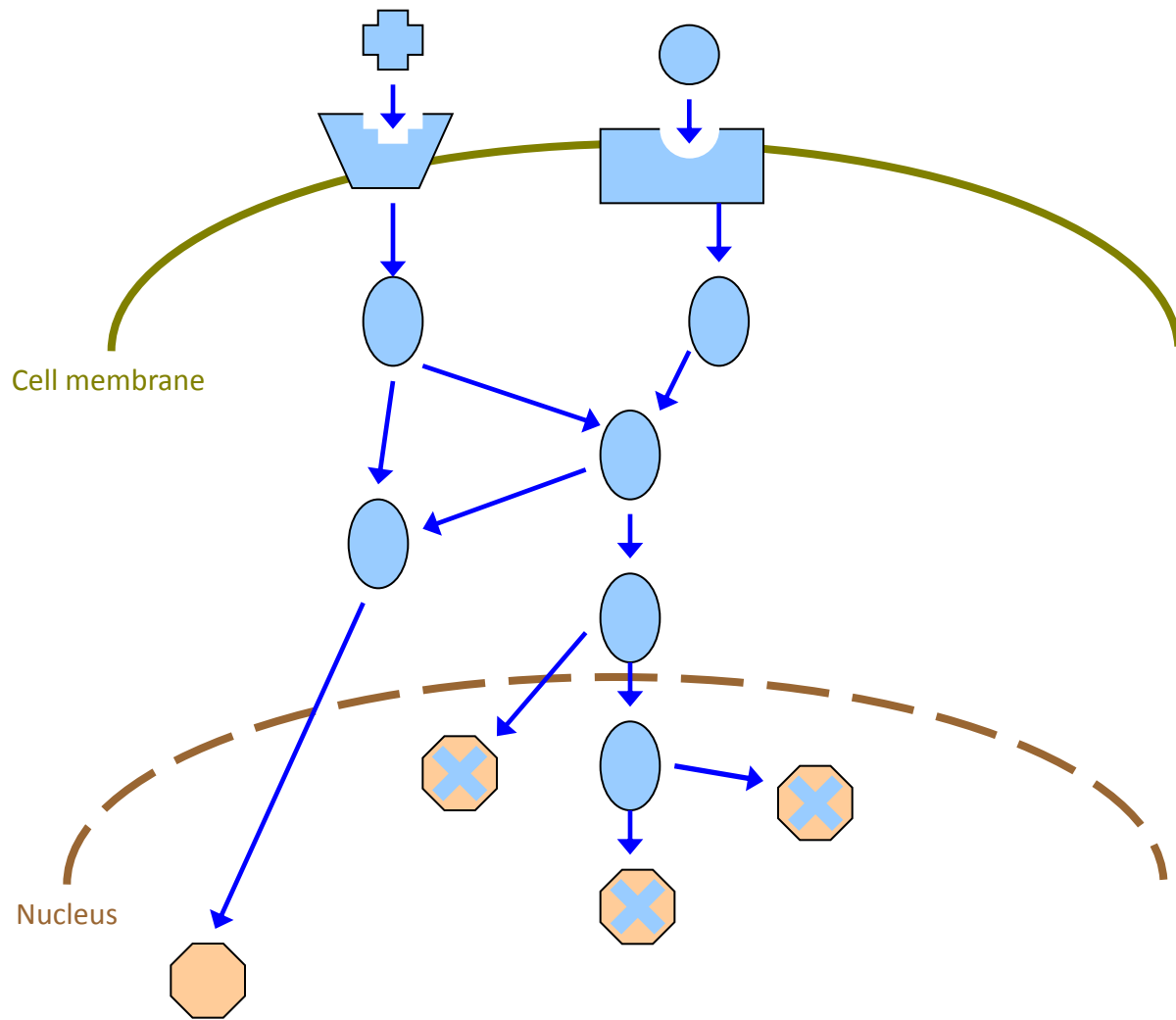


NetBio

Hálózatbiológiai-csoport
ELTE Genetikai tanszék



A jelátviteli hálózatokról még pár szó



Cell membrane

Nucleus

Legends:

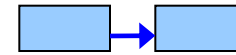


Signaling elements

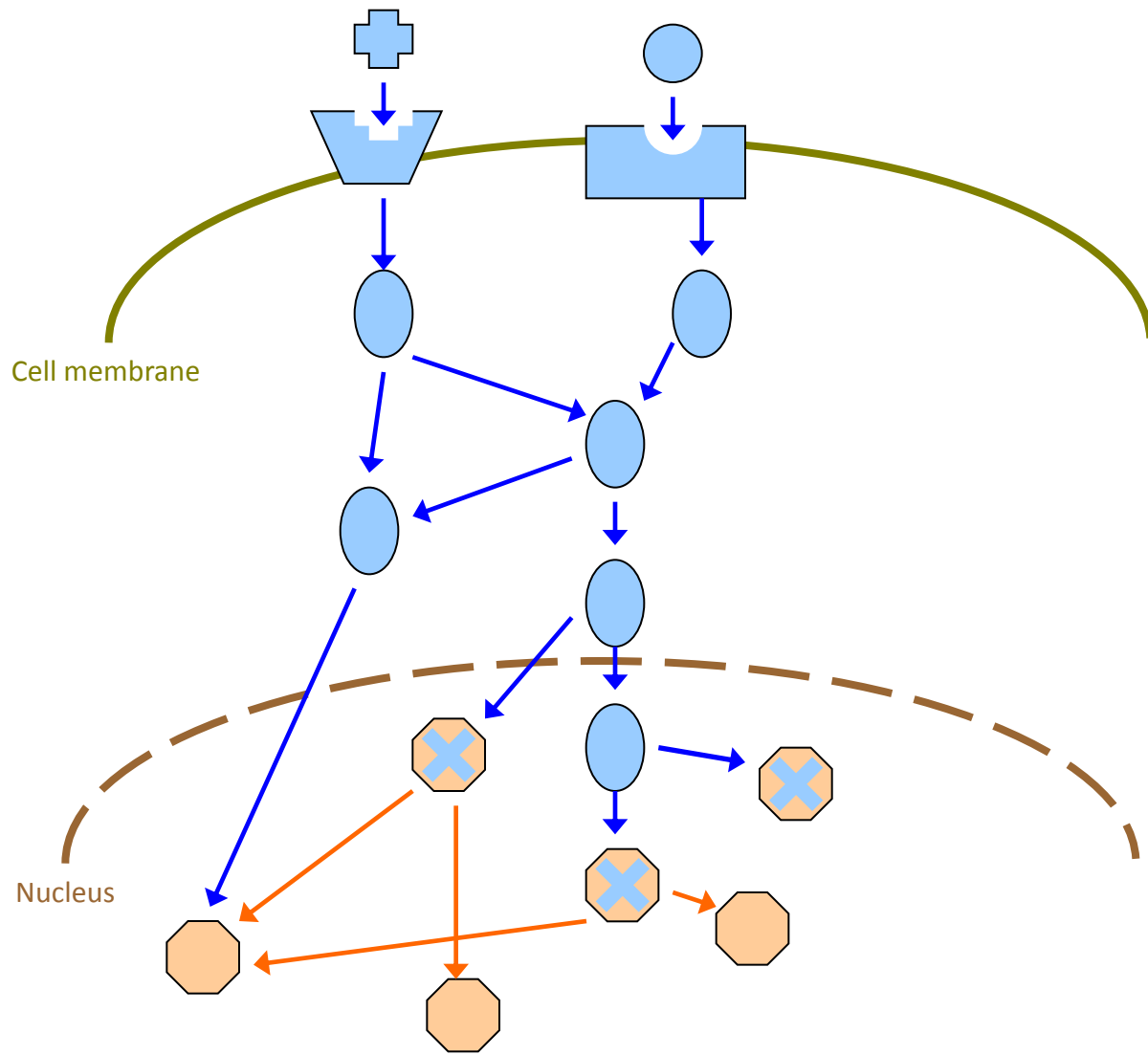


Transcription factors

Types of networks:



Network of signaling pathways



Legends:

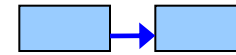


Signaling elements

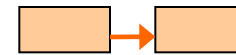


Transcription factors

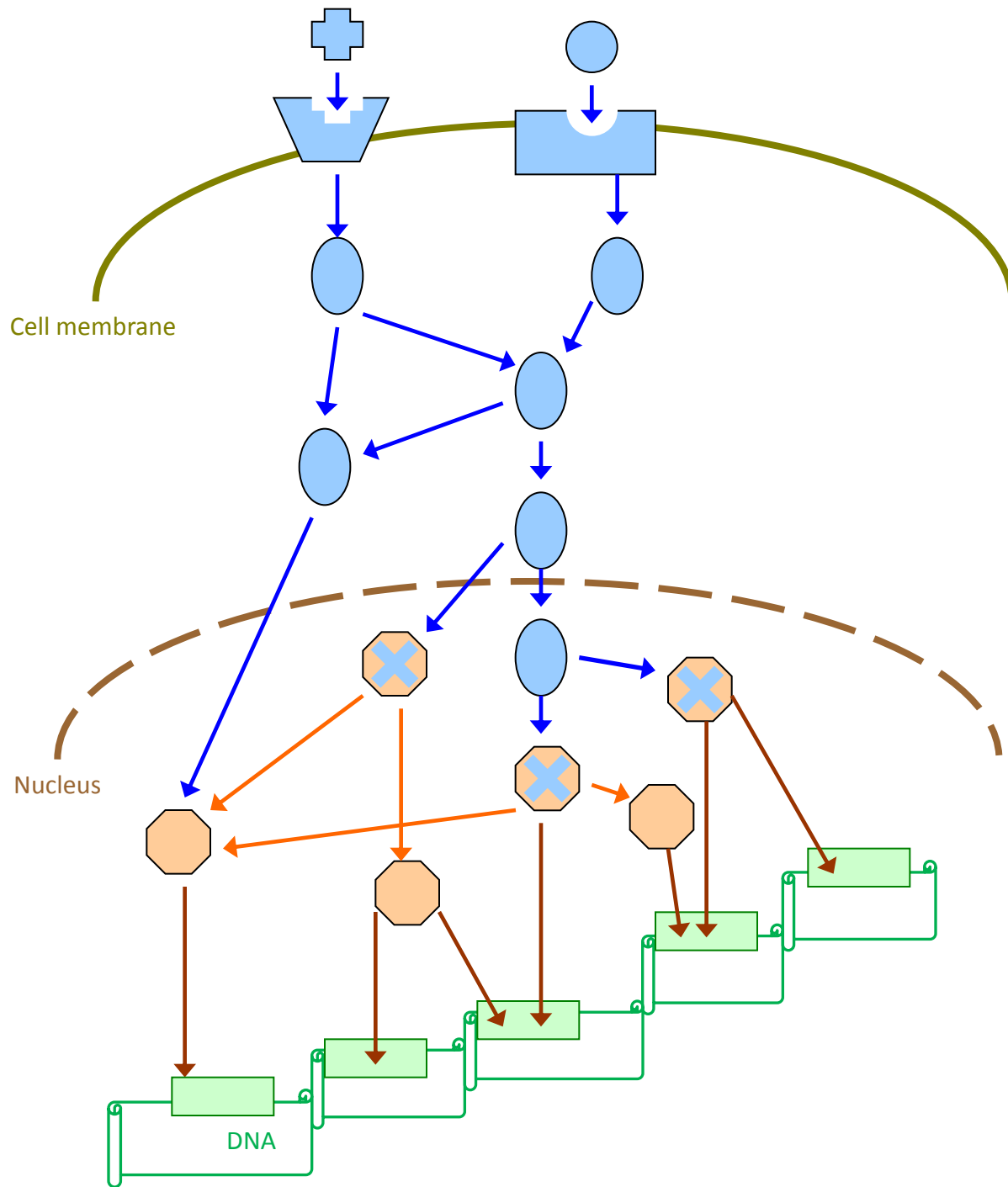
Types of networks:



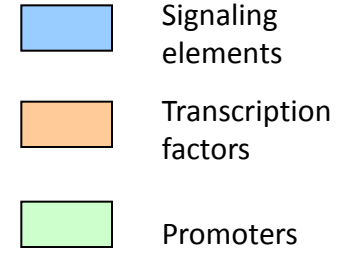
Network of signaling pathways



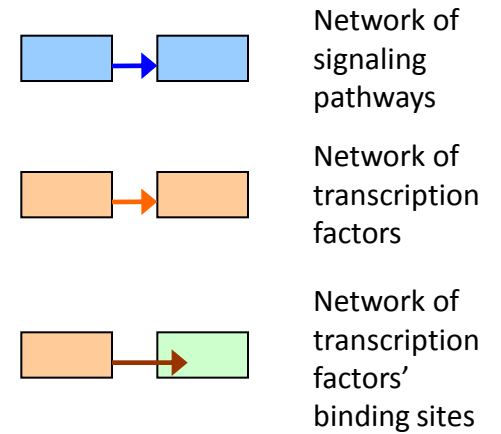
Network of transcription factors

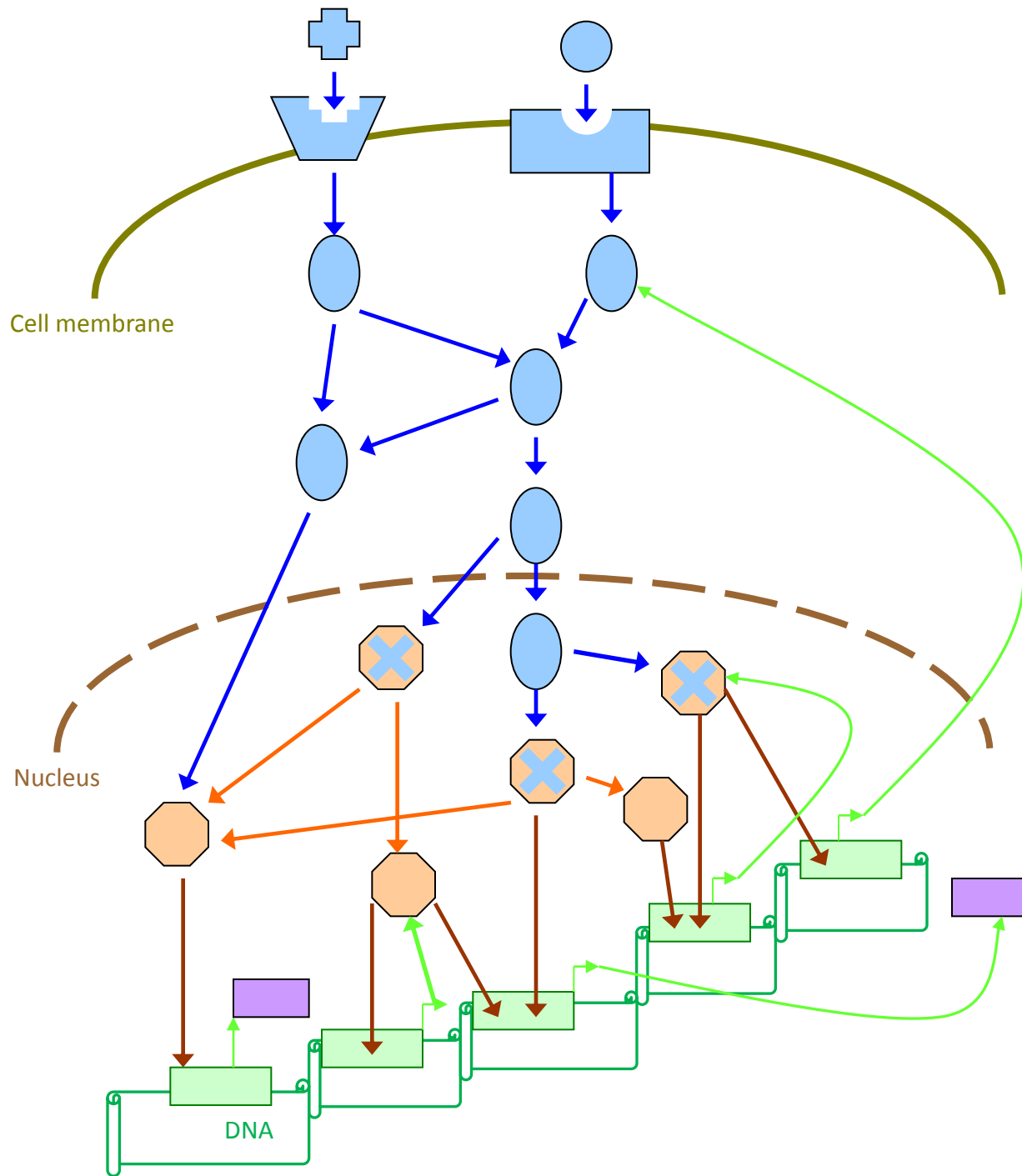


Legends:







Types of networks:

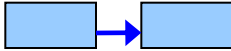
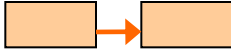
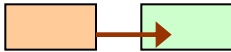
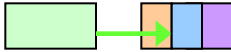


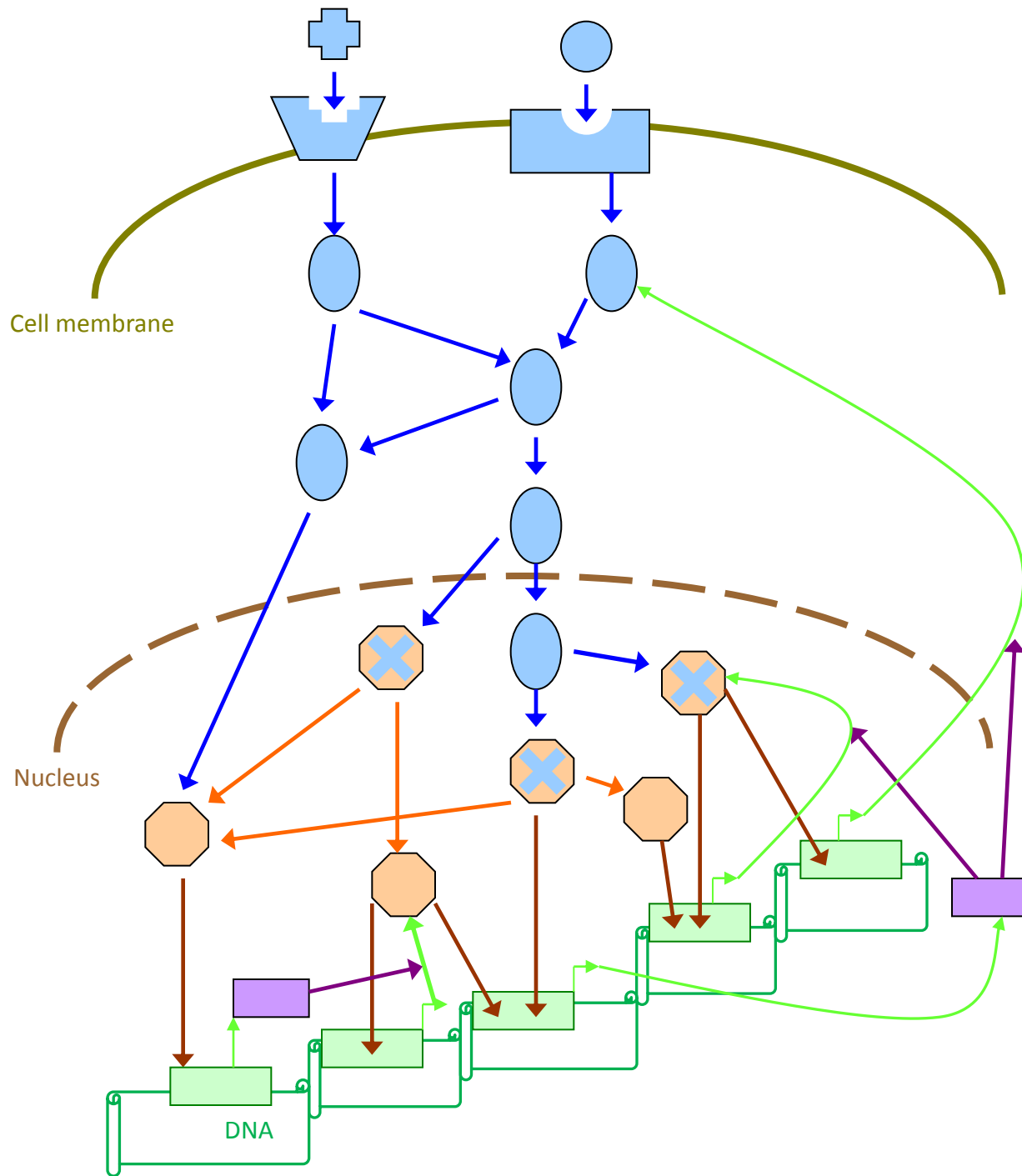


Legends:

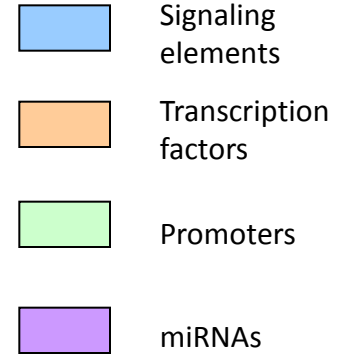
-  Signaling elements
-  Transcription factors
-  Promoters
-  miRNAs

Types of networks:

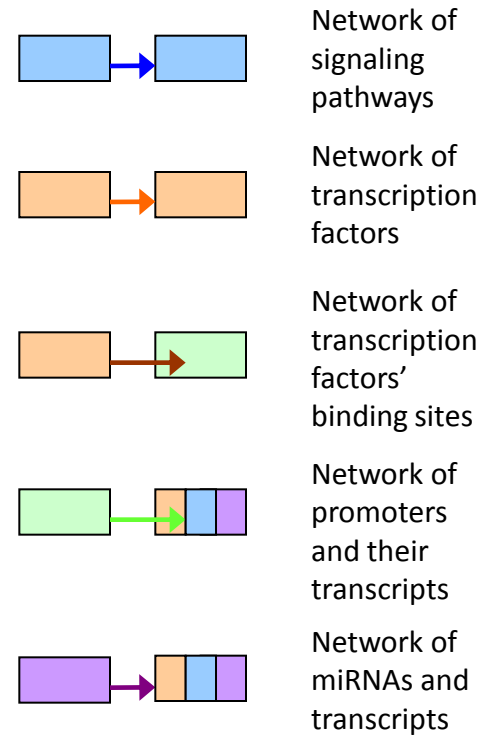
-  Network of signaling pathways
-  Network of transcription factors
-  Network of transcription factors' binding sites
-  Network of promoters and their transcripts

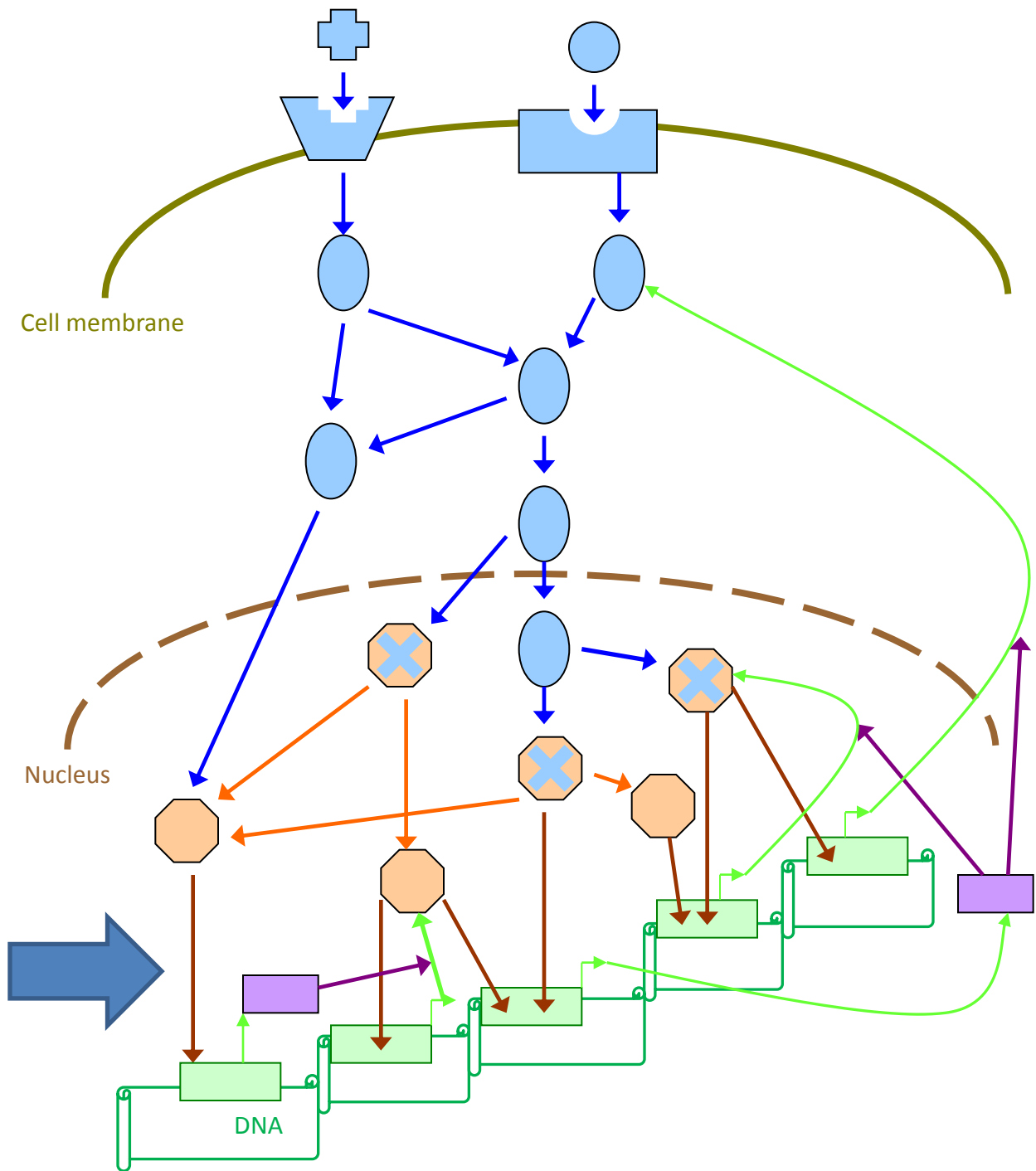


Legends:







Types of networks:

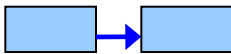
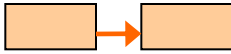
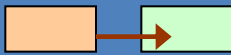
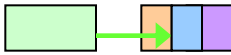
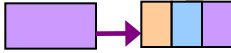


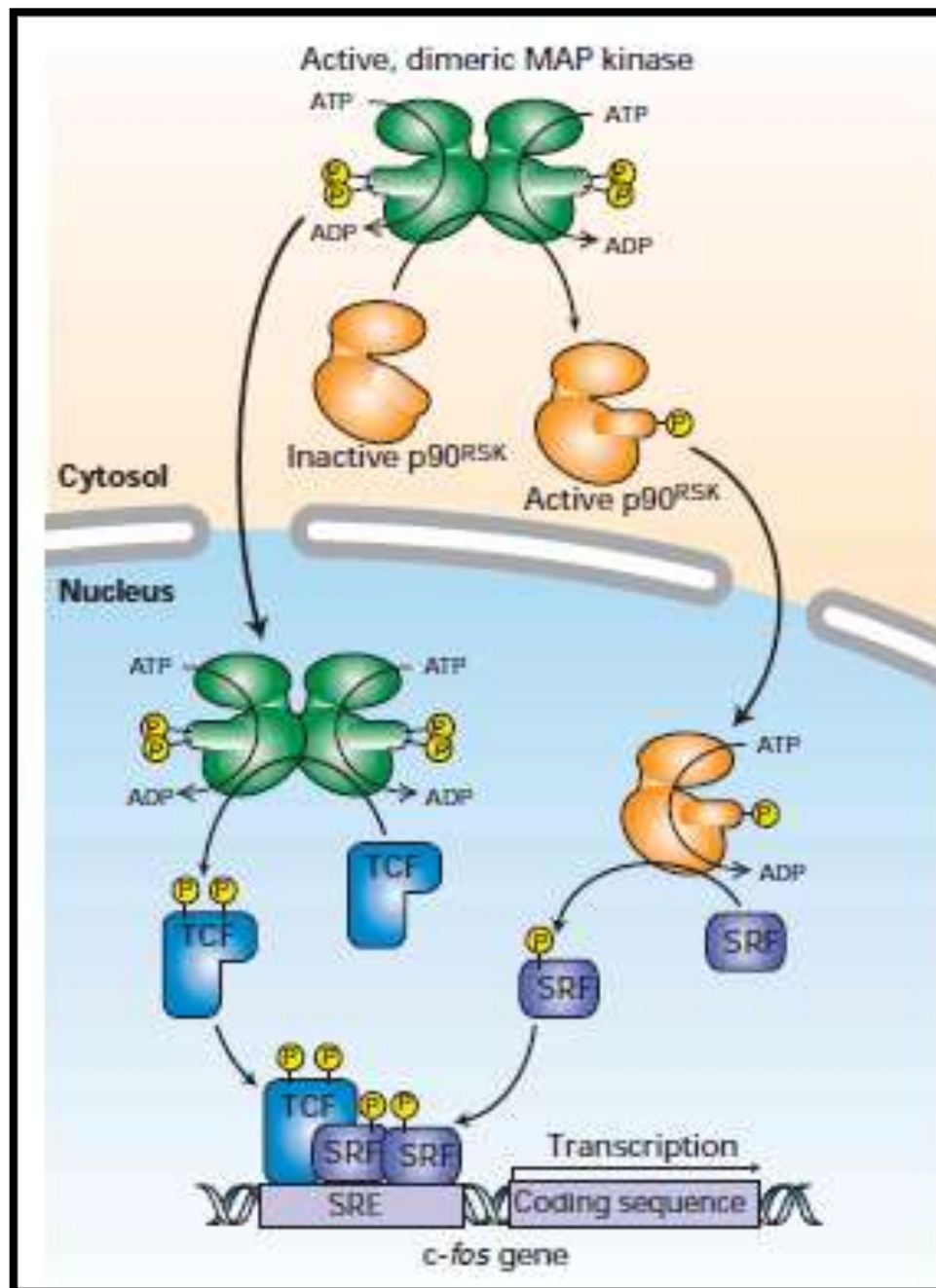


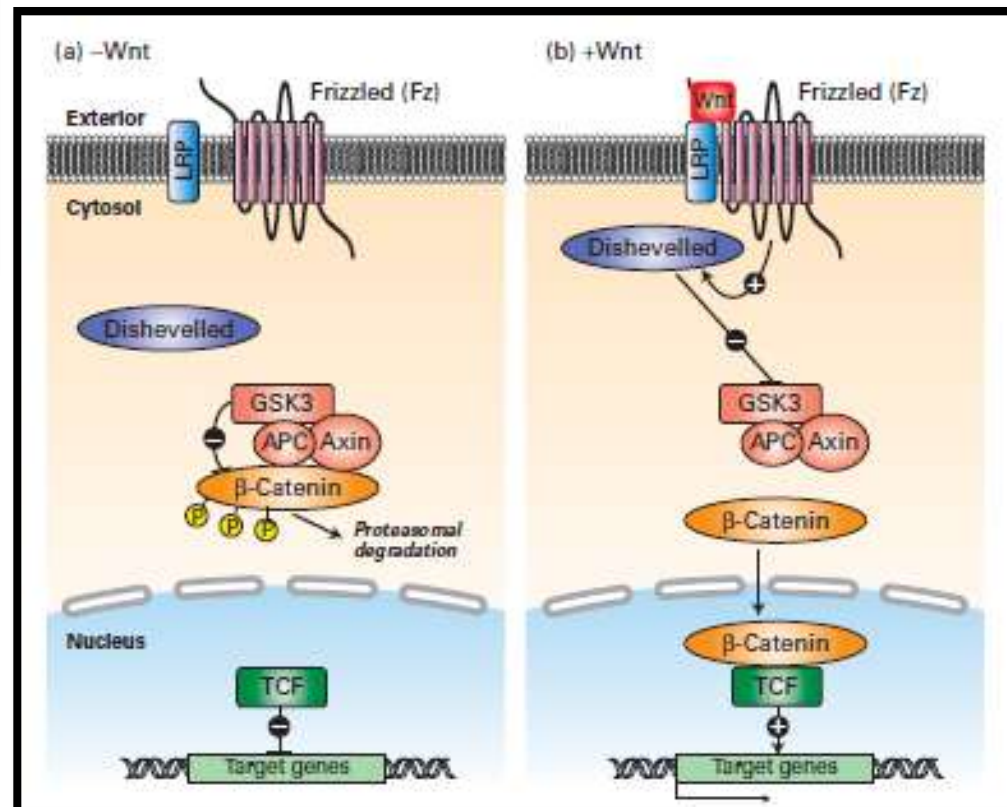
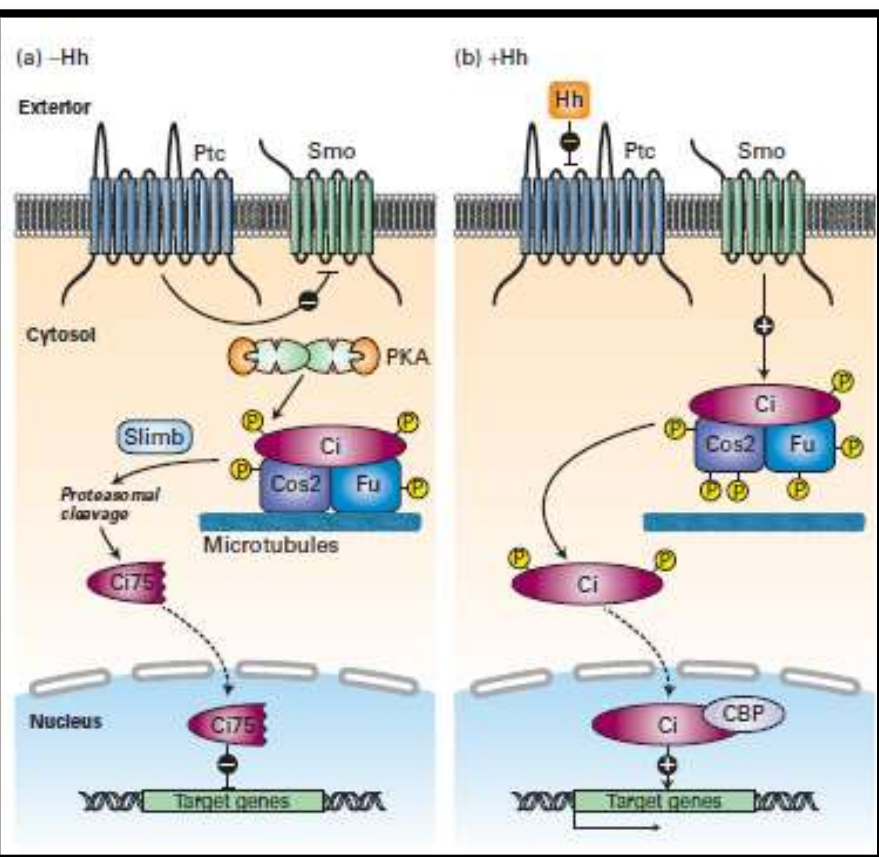
Legends:

-  Signaling elements
-  Transcription factors
-  Promoters
-  miRNAs

Types of networks:

-  Network of signaling pathways
-  Network of transcription factors
-  **Network of transcription factors' binding sites**
-  Network of promoters and their transcripts
-  Network of miRNAs and transcripts





Bármely sejtben adott pillanatban a géneknek csak egy része működik, a többi kikapcsolt állapotban van. Hogy a sejt ezt megvalósíthassa, szüksége van:

- 1. a gének ki- és bekapcsolását végző mechanizmusra**
- 2. ezen mechanizmusnak fel kell ismerni azon körülményeket, melyek egy gén ki- vagy bekapcsolását teszik szükségessé**

A génműködés szabályozása több szinten valósulhat meg

1. transzkripció ki- és bekapcsolása

2. transzkripció intenzitása

3. mRNS érésének és stabilitásának szabályozása (eukarióták)

4. transzláció intenzitása

5. fehérje poszttranszlációs módosítása

6. fehérje élettidejének szabályozása (proteaszóma)

Génműködés szabályozásának szintjei eukariótákban

Sejtmag

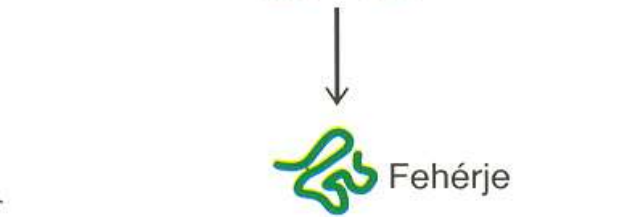
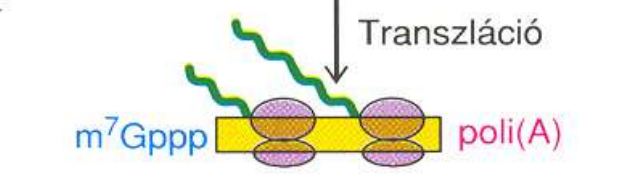
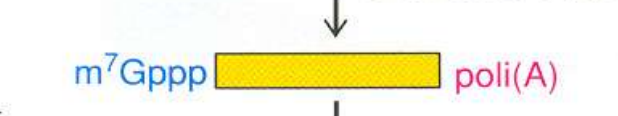
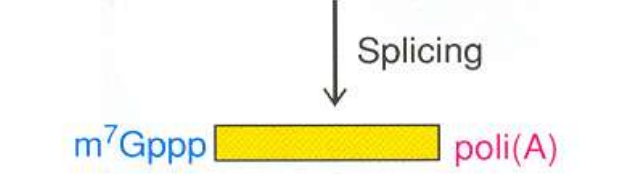
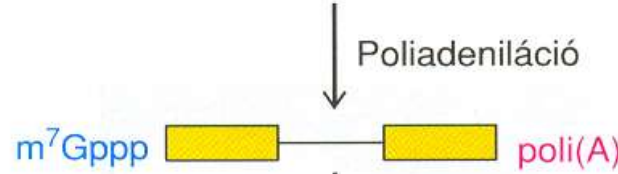
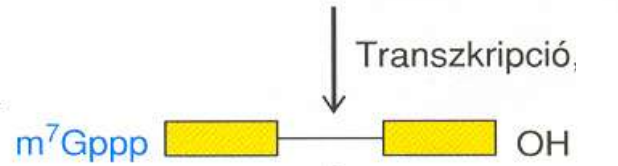
Citoplazma

Transzkripció:

Poszttranszkripció:

Transzláció:

Poszttranszláció:



DNS

elsődleges RNS transzkriptum

érett mRNS

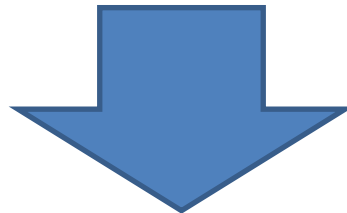
Fehérje

Oligoszacharidok (cukrok)

Transzkripció faktorok (*trans elements*) és regulációs (kötő)helyek (*cis elements*)

Cis* szabályozó elemek: promóterek, *enhancerek*, *silencerek* és *insulatorok

***Trans*-ható faktorok: transzkripció faktorok (a *cis* elemeken működnek)**



Kombinatorikus génszabályozás

Az eukarióta génszabályozás

A szöveti differenciálódás bizonyos gének irreverzibilis kikapcsolását, mások irreverzibilis bekapcsolt állapotát jelenti.

Az eukarióta gének szabályozó szakaszai jóval hosszabbak a prokariótáknál.

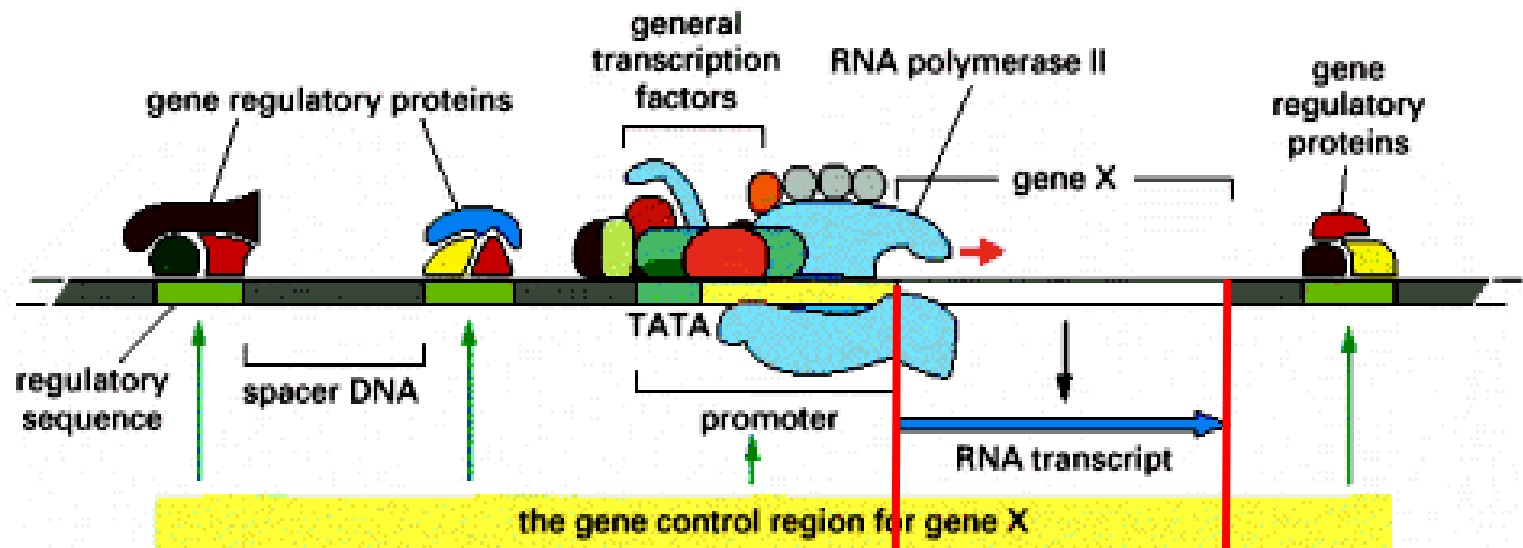
Differenciált génexpresszió

A szervezet minden sejtje azonos genetikai információt hordoz, az élőlények mégis számos eltérő sejttypusból épülnek fel. **A szöveti differenciálódás során bizonyos gének irreverzibilisen kikapcsolásra, mások irreverzibilisen bekapcsolásra kerülnek.**

Az eukarióta géneket három csoportra oszthatjuk:

- **Háztartási (*housekeeping*) gének:** minden sejtben állandó szinten, folyamatosan kifejeződnek (konstitutív expresszió, pl. sejtlégzés)
- **Adott sejt-, szövettípusra jellemző gének** (pl. plazmasejtek ellenanyag termelése)
- **Csak bizonyos körülmények között kifejeződő gének** (pl. hormonok által szabályozott gének)

Az eukarióta gének szabályozása



5' Szabályozó régió

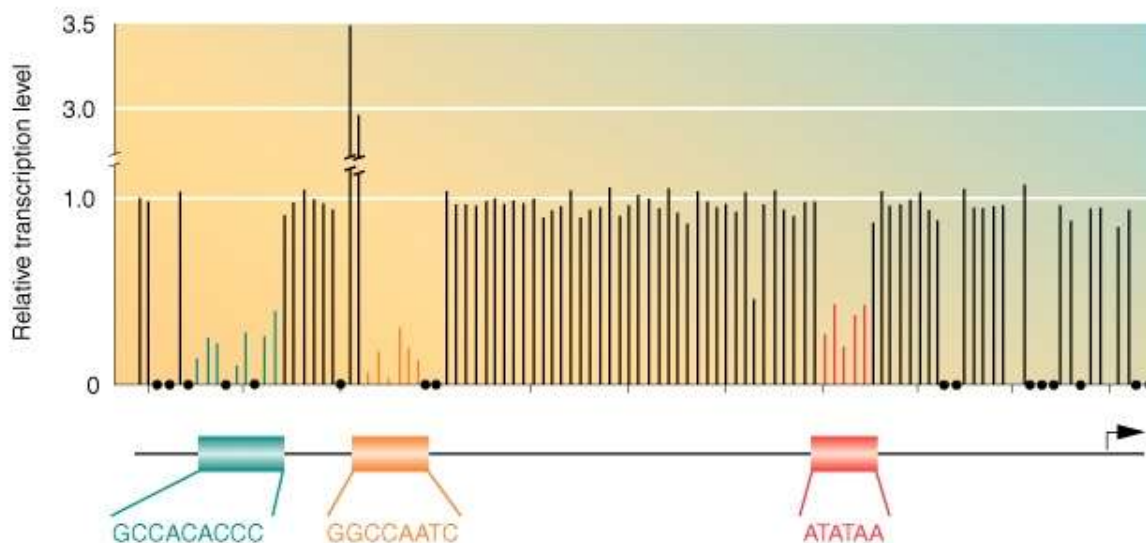
Transzkripció
egység
(exonok+
intronok)

3' Szabályozó régió

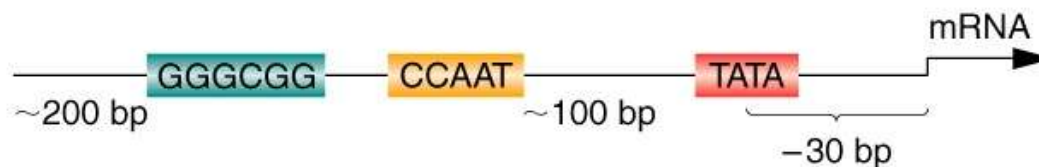
Promóter

- Ahhoz, hogy a transzkripció elindulhasson, az RNS-polimerázoknak meg kell találniuk azokat a DNS szakaszokat, ahonnan a transzkripció indul.
- Ezek a specifikus, konzervált DNS szekvenciákat tartalmazó helyek a gének kódoló régiójától *upstream* elhelyezkedő promóterek.

Az eukarióta promóter szerkezete



A mutációs analízissel azonosított konzervált szekvencia egységek mindegyikét regulátor fehérjék ismerik fel, melyek DNS kötése előfeltétele az RNS polimeráz II kötődésének.



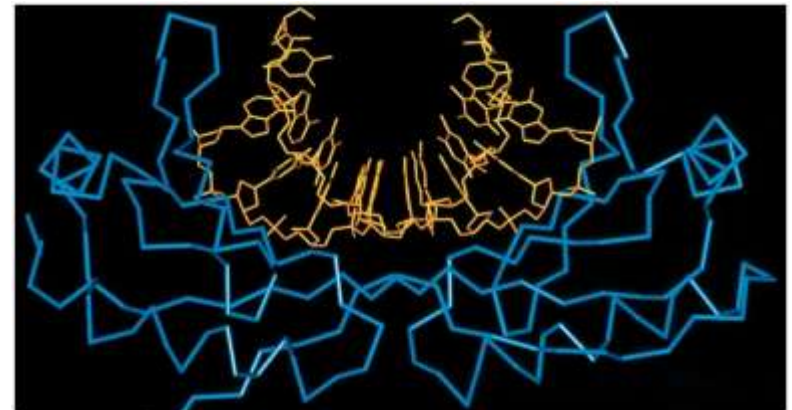
Az eukarióta promóter alapszerkezete 3 szekvencia blokkból áll a fenti elrendeződésű GC, a CAAT és a TATA boxokból.

Az RNS polimeráz II komplex összeállása

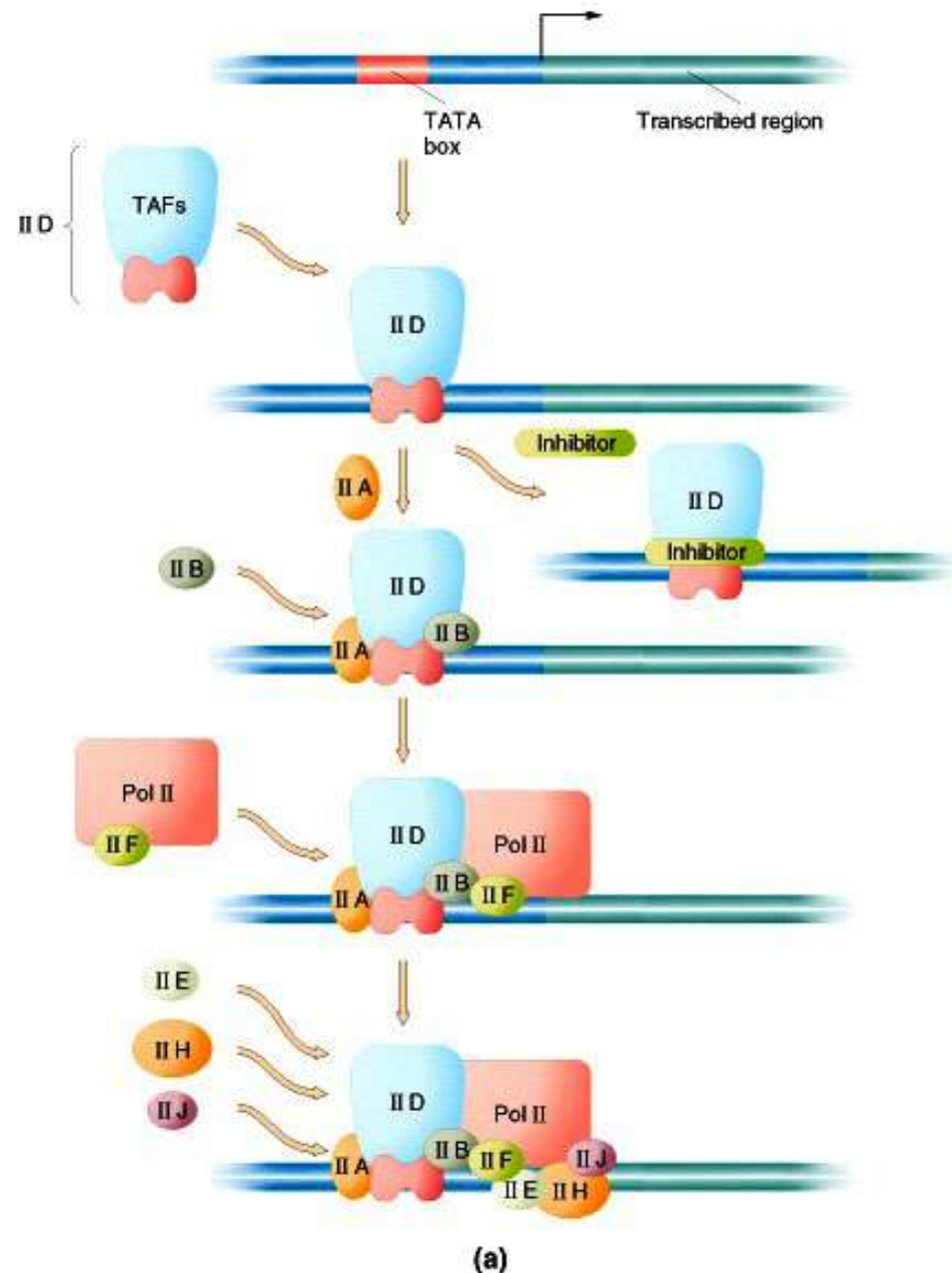
Egyedül a TATA boxon **11(!) TAF** (Trans Activating Factor) fehérje komplex kötődése szükséges az RNS Pol II kötéshez.

Ezek közül a legnagyobb a TAF IID önmagában 8 alegységből áll.

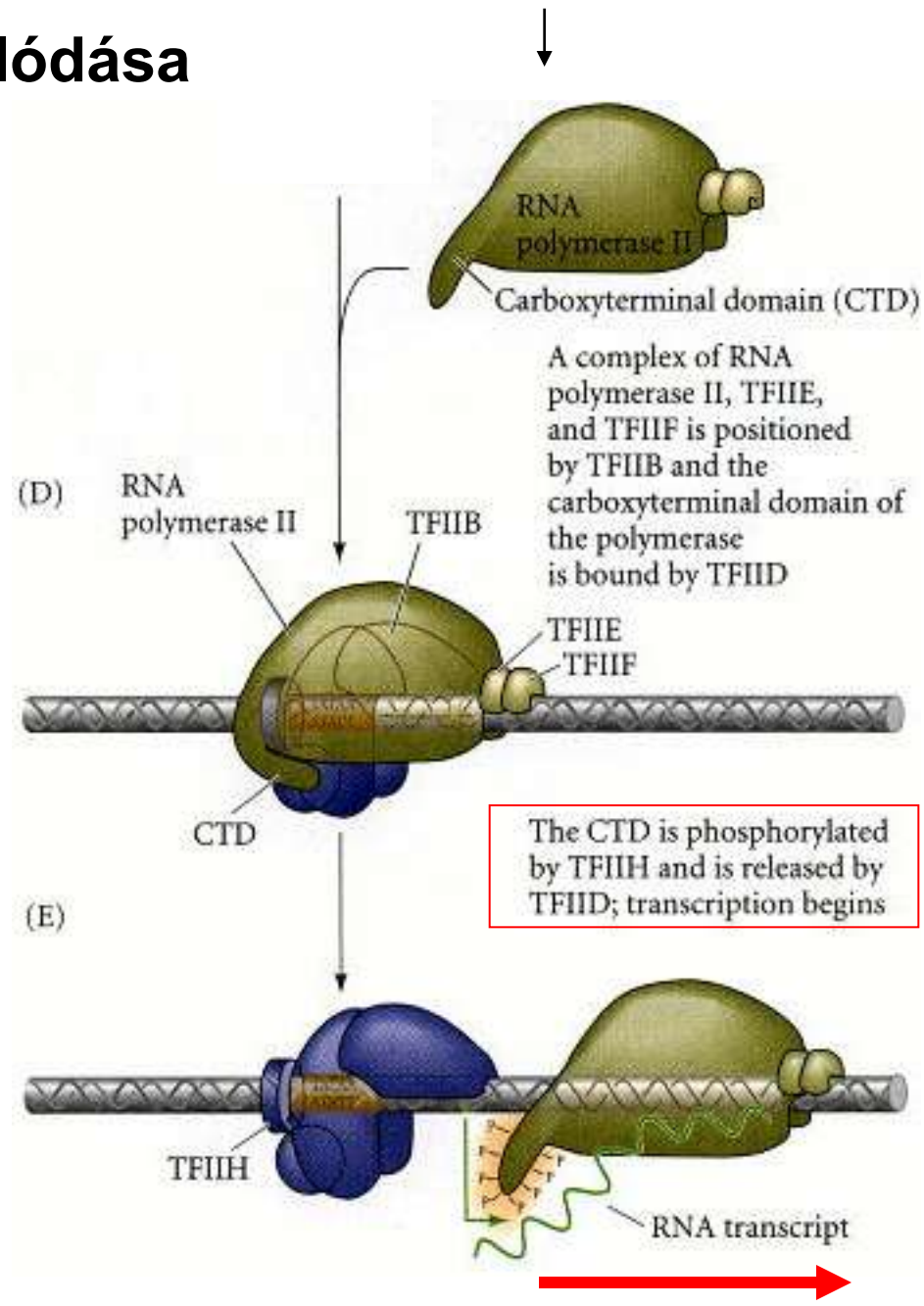
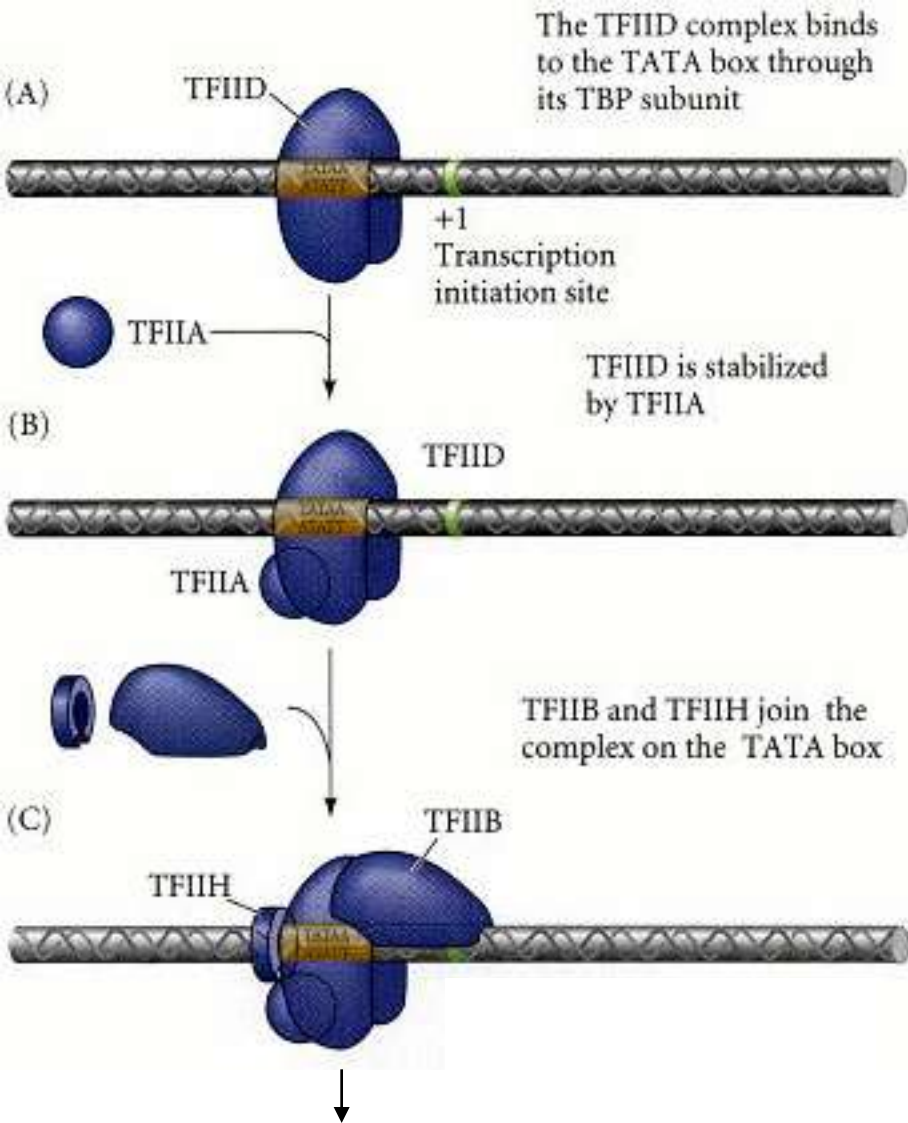
A GC és CAAT boxok hasonló méretű komplexeket kötnek.



A pirossal jelzett TATA kötő fehérje meghajlítja a DNS-t.



Az eukarióta transzkripció iniciációs komplexének formálódása



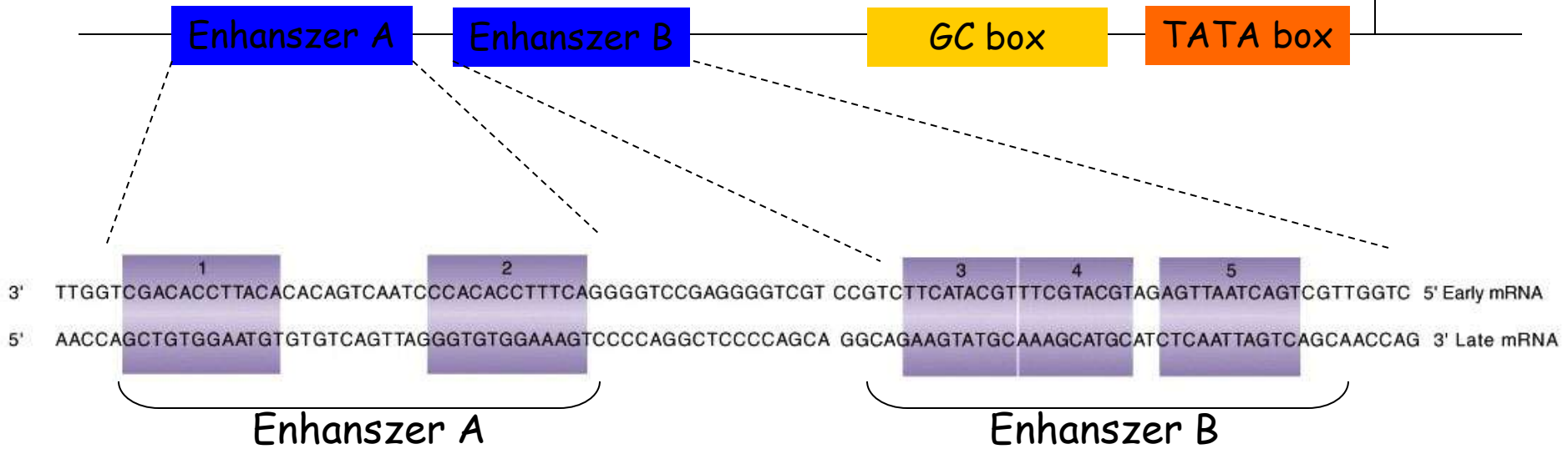
Enhanszerek

- ***Cisz szabályozó szekvenciák*, amelyek a szabályozott génnel (promóterrel) általában azonos kromoszómán helyezkednek el, fokozzák a transzkripciót**
- **Az enhanszerek távolabbi génekre is képesek hatni, nem feltétlenül szükséges, hogy a gén 5' végéhez közel helyezkedjenek el, lehetnek a gén előtt (*upstream*), a génen belül (intronok), a gén „mögött” (3' vég, 3'UTR).**
- **Az enhanszerek az időben és térben (sejttípus) eltérő transzkripció fő szabályozói.**
- **Egy adott gén szabályozásában több enhanszer is részt vehet, amelyekhez többféle transzkripciós faktor kötődhet.**
- **Az enhanszerek több elemből állnak. A különböző elemek egymással többféleképpen kombinálhatók.**
- **Ugyanazt a gént különböző sejtekben más enhanszerek kapcsolhatják be.**
- **Az enhanszerek bizonyos esetekben gátolják a transzkripciót.**

Eukarióta enhanszerek

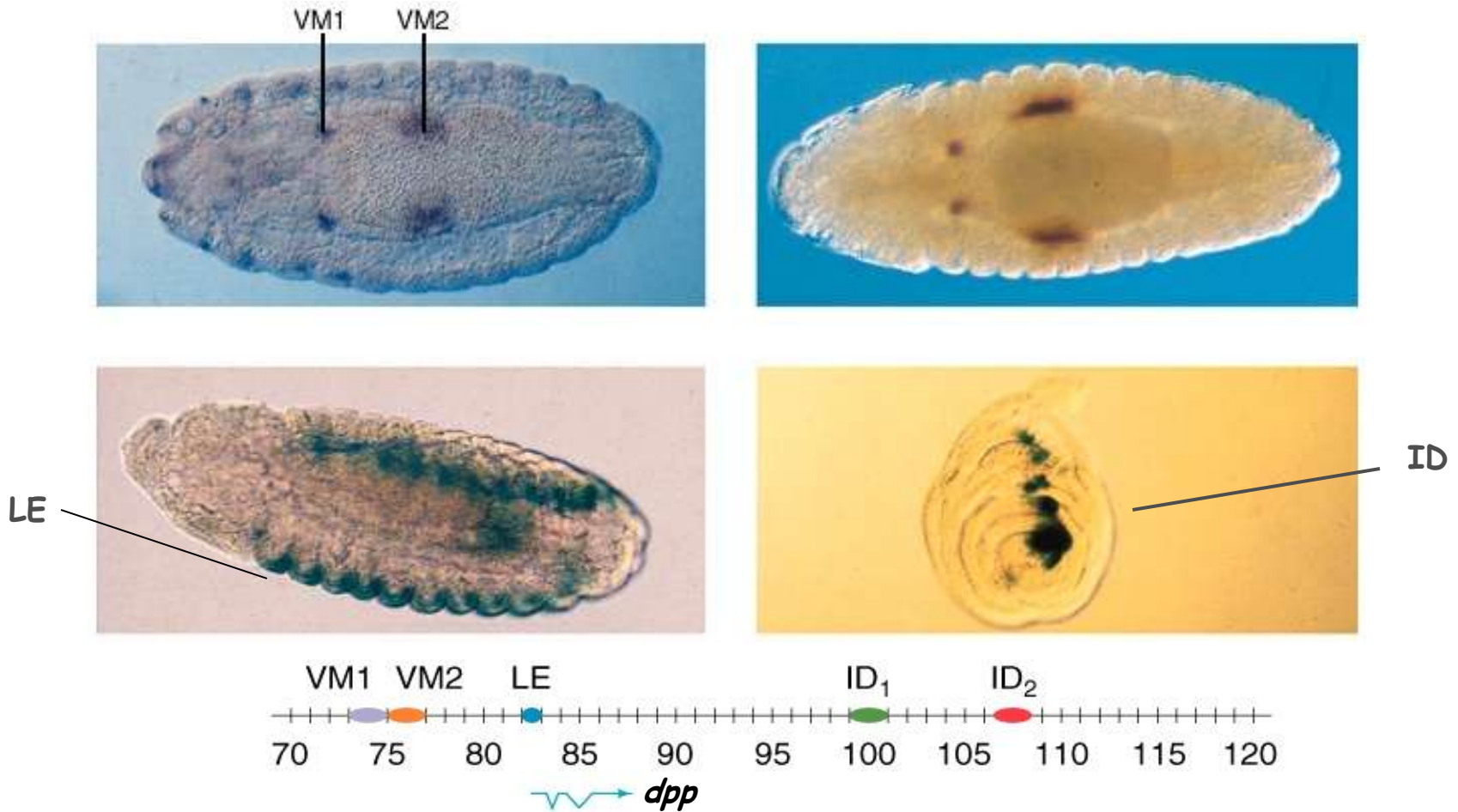
Az SV 40 vírus szabályozó elemei

korai mRNS-ek



Az eukarióta promóteről 5' irányban további szabályozó DNS elemek találhatóak, melyet enhanszernek neveznek. Az enhanszerek nagyságrendekkel befolyásolják a génkifejeződés mértékét. Az enhanszerek szerkezete, mérete és a transzkripció starthelytől való távolsága génre jellemző, akár több 100 kb is lehet. Az enhanszerek szintén konzervált szekvencia boxokat tartalmaznak melyek DNS-kötő fehérjék felismerő helyei. Az enhanszerek szövetspecifikus működésűek, ezzel teszik lehetővé az eukariótákra jellemző differenciális génszabályozást.

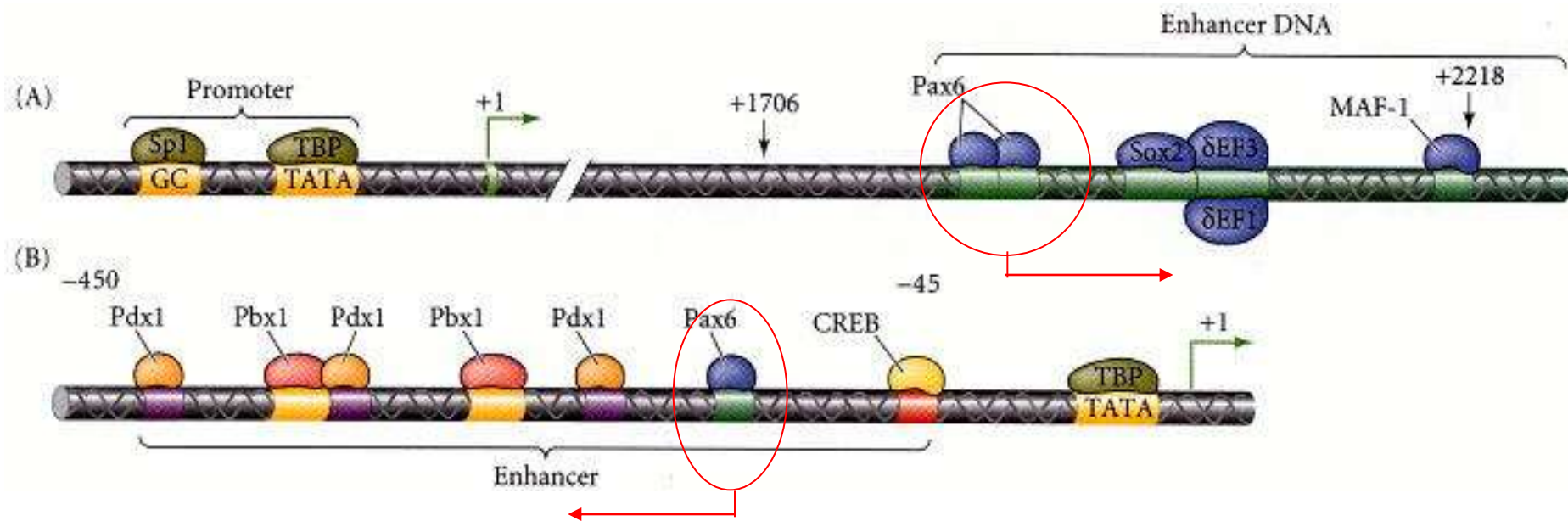
Az enhanszerek megszabják a génexpresszió térbeli és időbeli mintázatát



A muslica *dpp* génjének enhanszerei. Az 5' enhanszerek (VM) az embrió mezodermájában, az intronban lévő enhanszer (LE) a késői embrió ektodermájában, a 3' enhanszerek (ID) a lárva imágókorongjában okozzák a *dpp* receptor kifejeződését.

Enhanszer

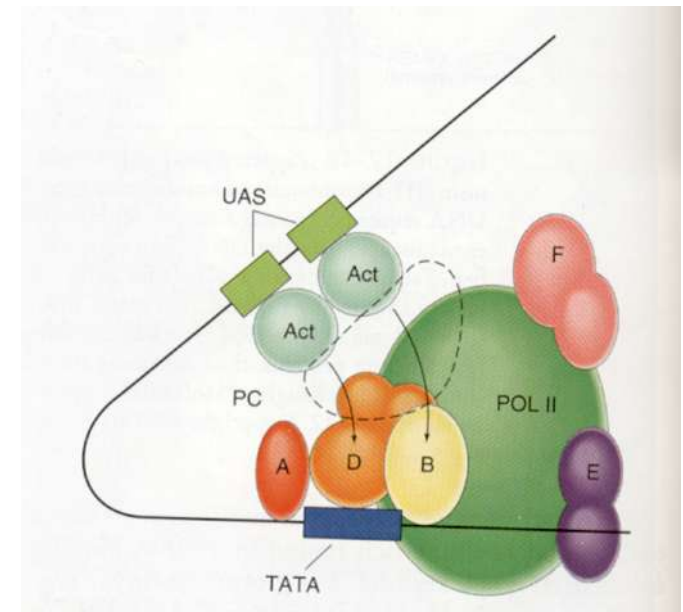
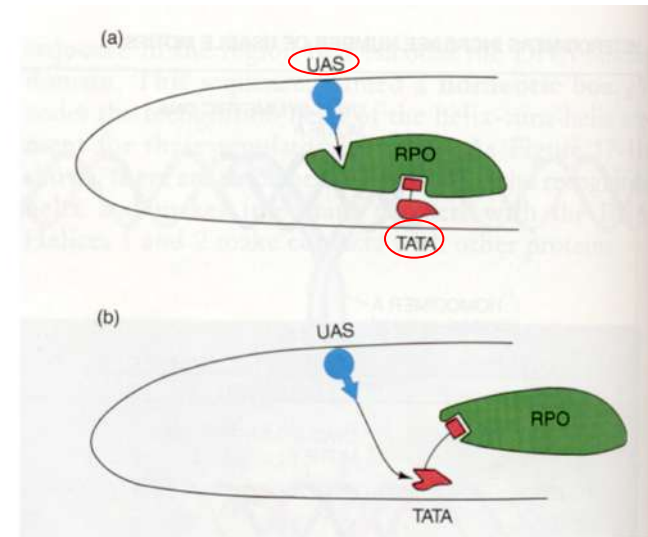
δ1 crystallin gén szabályozása: Pax6 3' irányban hat



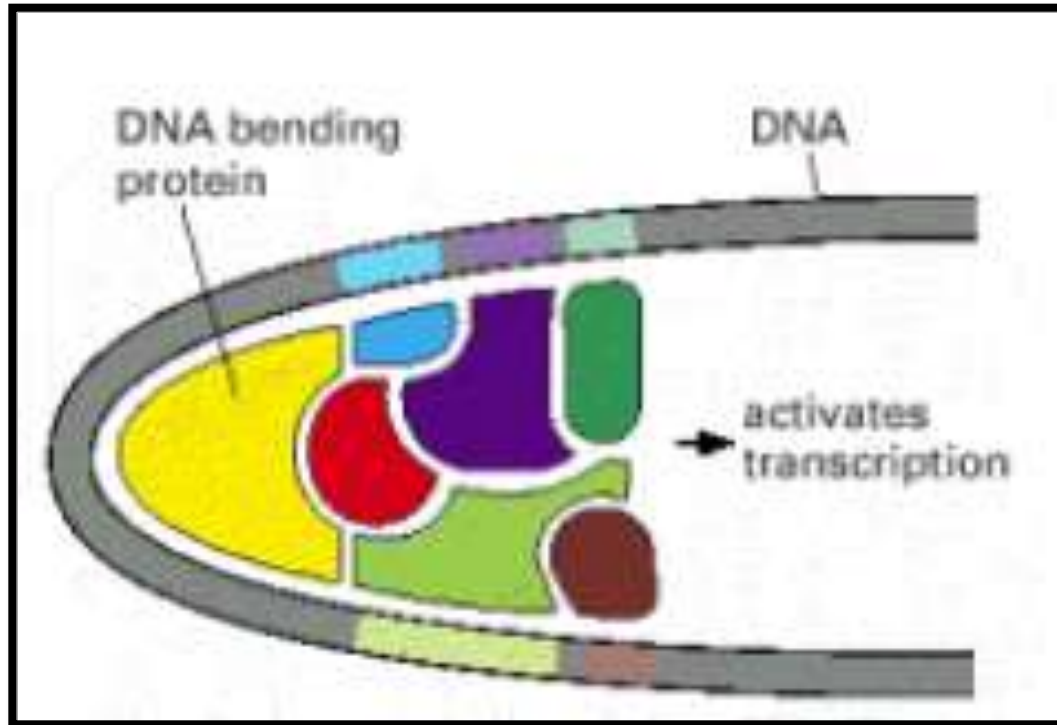
somatostatin gén szabályozása: Pax6 5' irányban hat

Ha a DNS-kötő fehérjék egymás közelségében tapadnak a DNS-molekulán, a köztük kialakuló kooperatív kölcsönhatásnak nincsenek térbeli korlátai, mivel a fehérjék általában elég nagyok és „hajlékonyak” ahhoz, hogy érintkezésbe lépjenek.

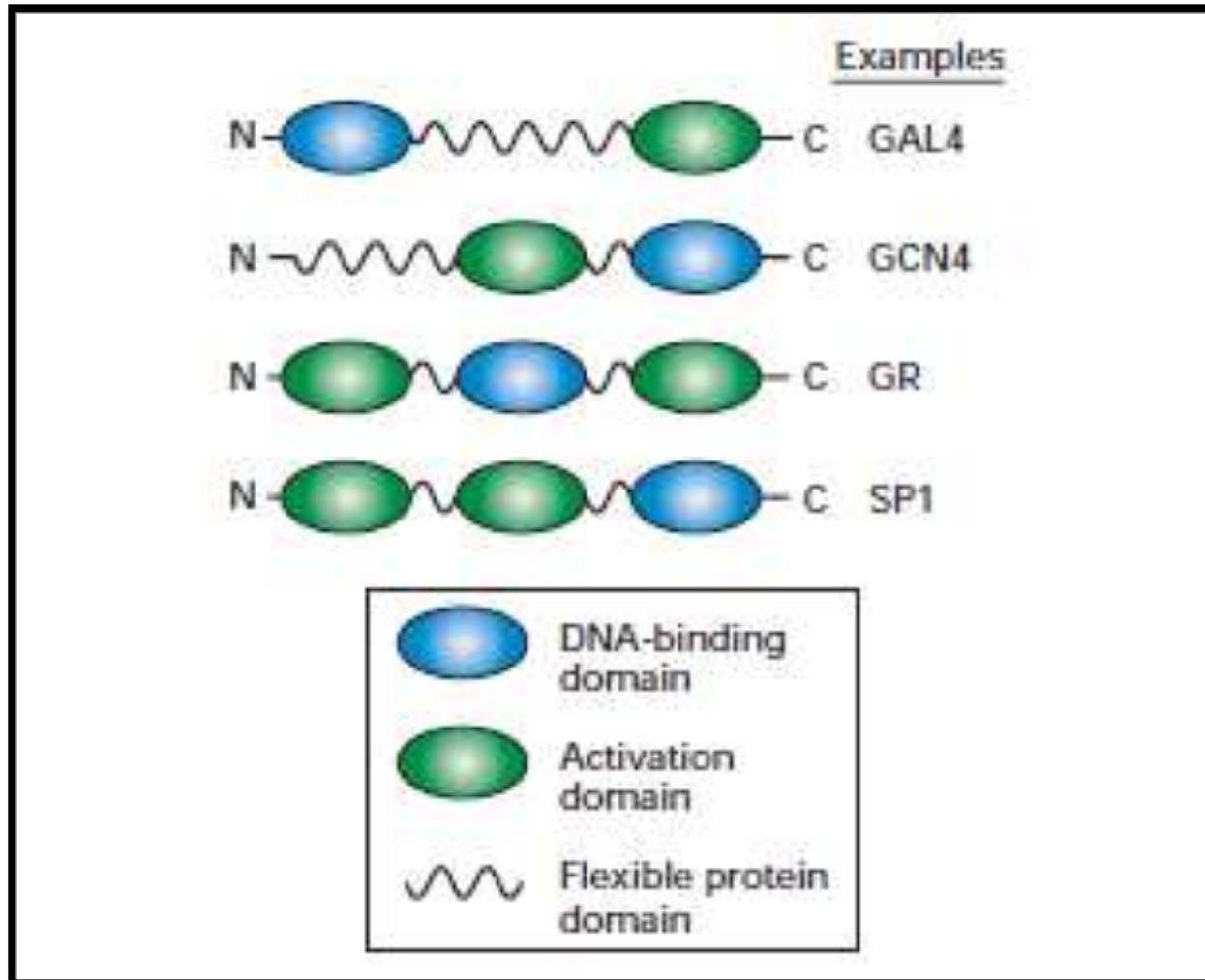
A kb. 5-6 helikális fordulatnál távolabb fekvő fehérjék között a **DNS-hurok (DNA-loop)** adja az egyetlen lehetőséget arra, hogy a fehérjék közelbe kerüljenek. Az enhanszerek és silenszerek akár többszáz bázispár távolságra is lehetnek a szabályozott géntől. Így kettőnél több szabályozó elem is egymás közelébe kerülhet.



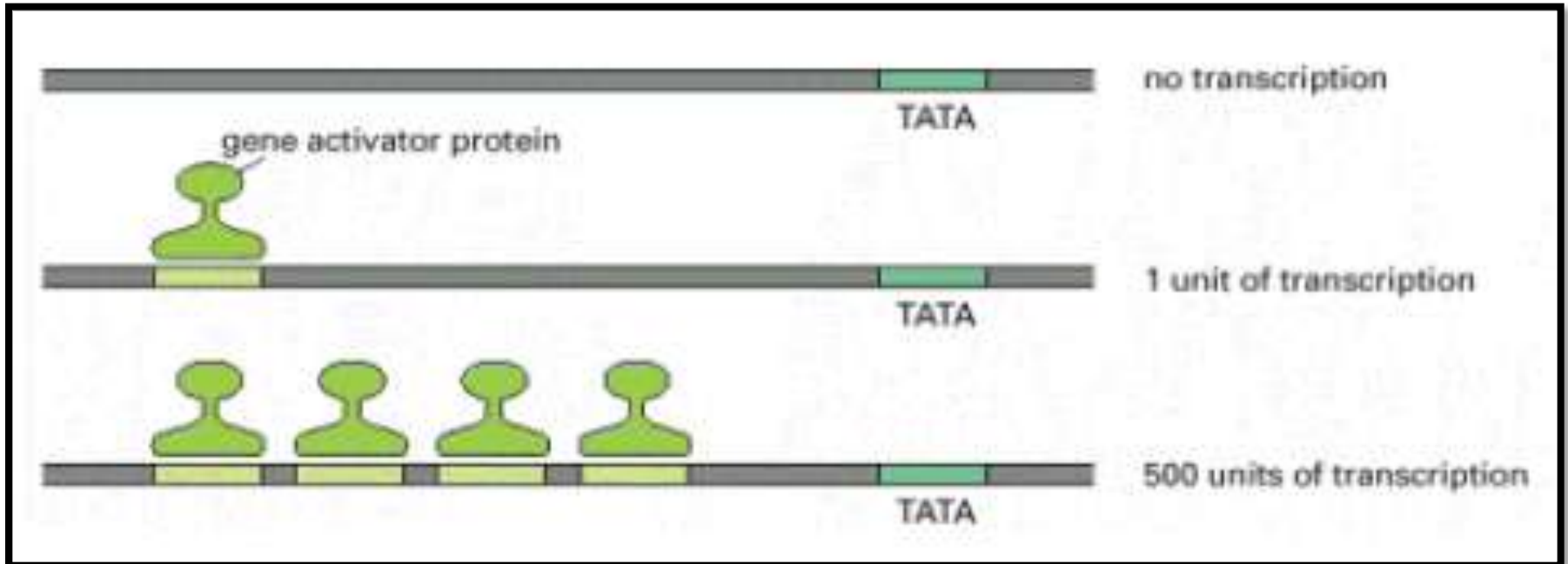
Egy *enhancesome* szerkezete



A különböző eukarióta transzkripció aktivátorok az enchancerekhez kötődnek



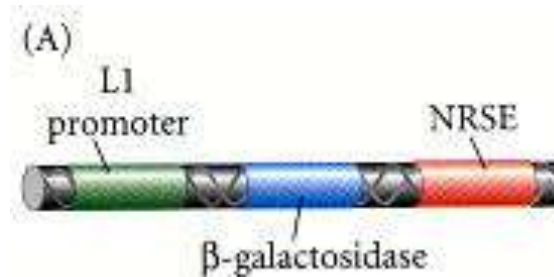
Transzkripcionális szinergia



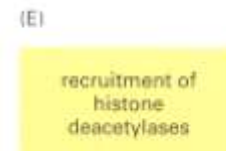
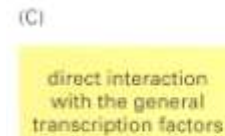
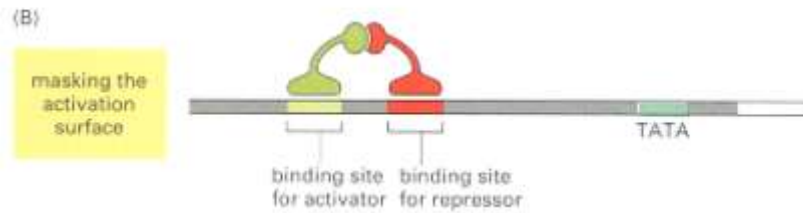
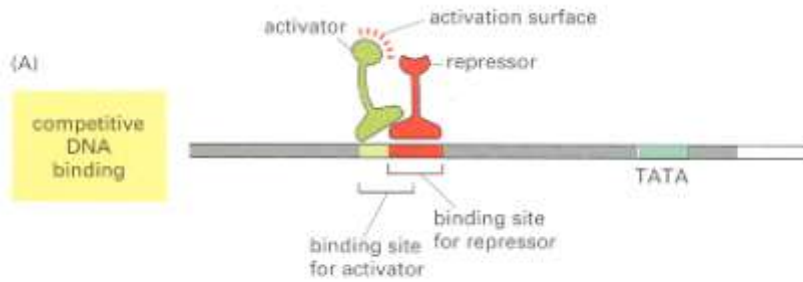
Silencer

Cisz szabályozó szekvenciák, az enhanszerekhez hasonlóan a szabályozott génnel (promóterrel) azonos kromoszómán helyezkednek el, de gátolják a transzkripciót

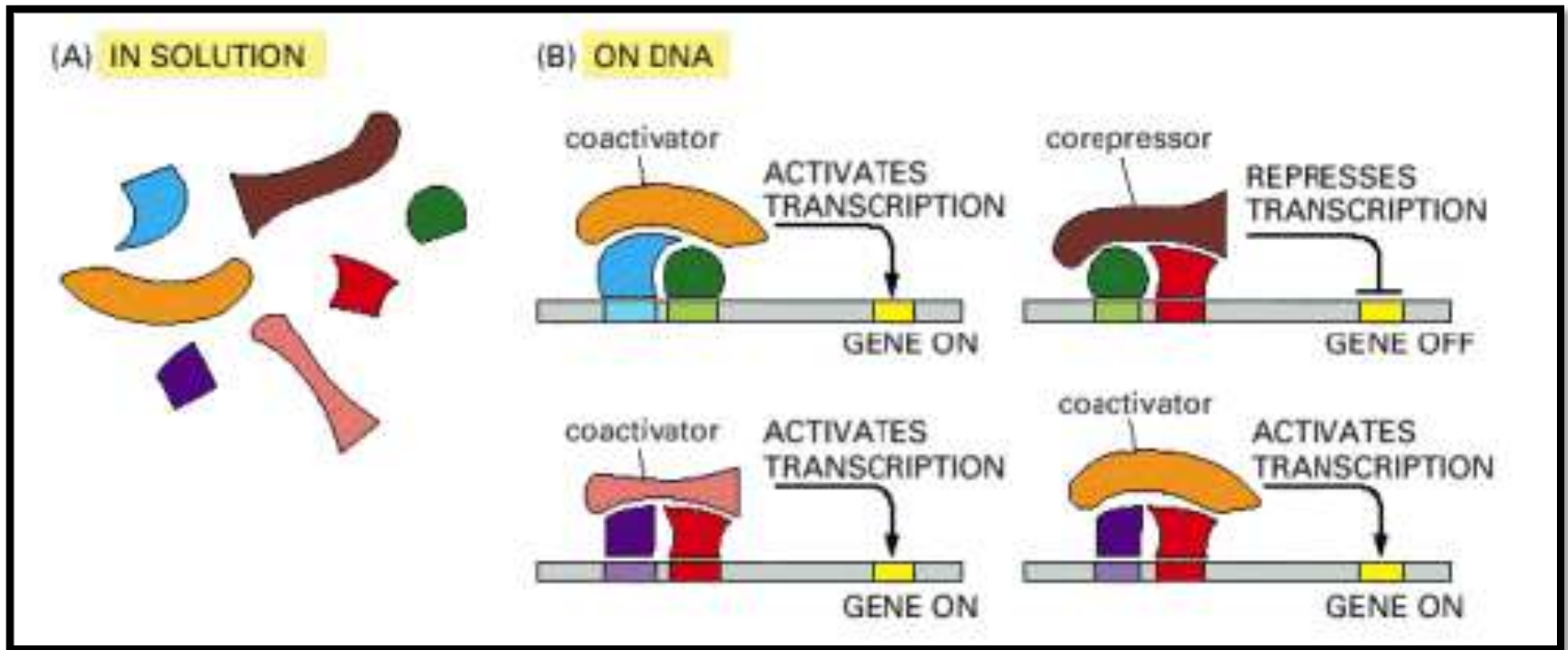
NRSE: silencer



5 lehetőség az eukarióta géneexpresszió represszálására

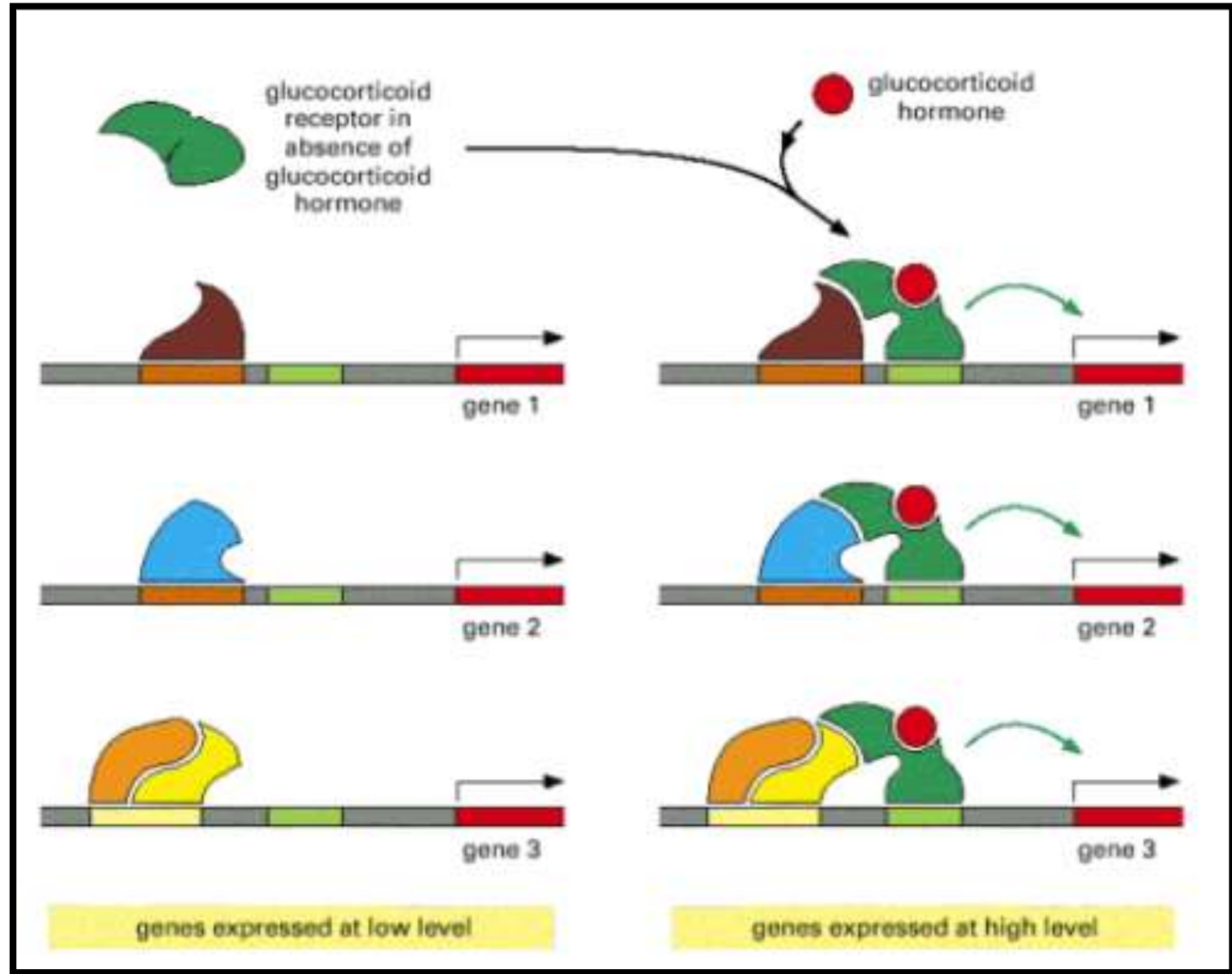


Az eukarióta szabályozó fehérjék különböző összetételű komplexekben vesznek részt



A „piros” fehérje 3 komplexben is részt vesz, amelyek közül az egyik gátol, míg a másik kettő aktivál

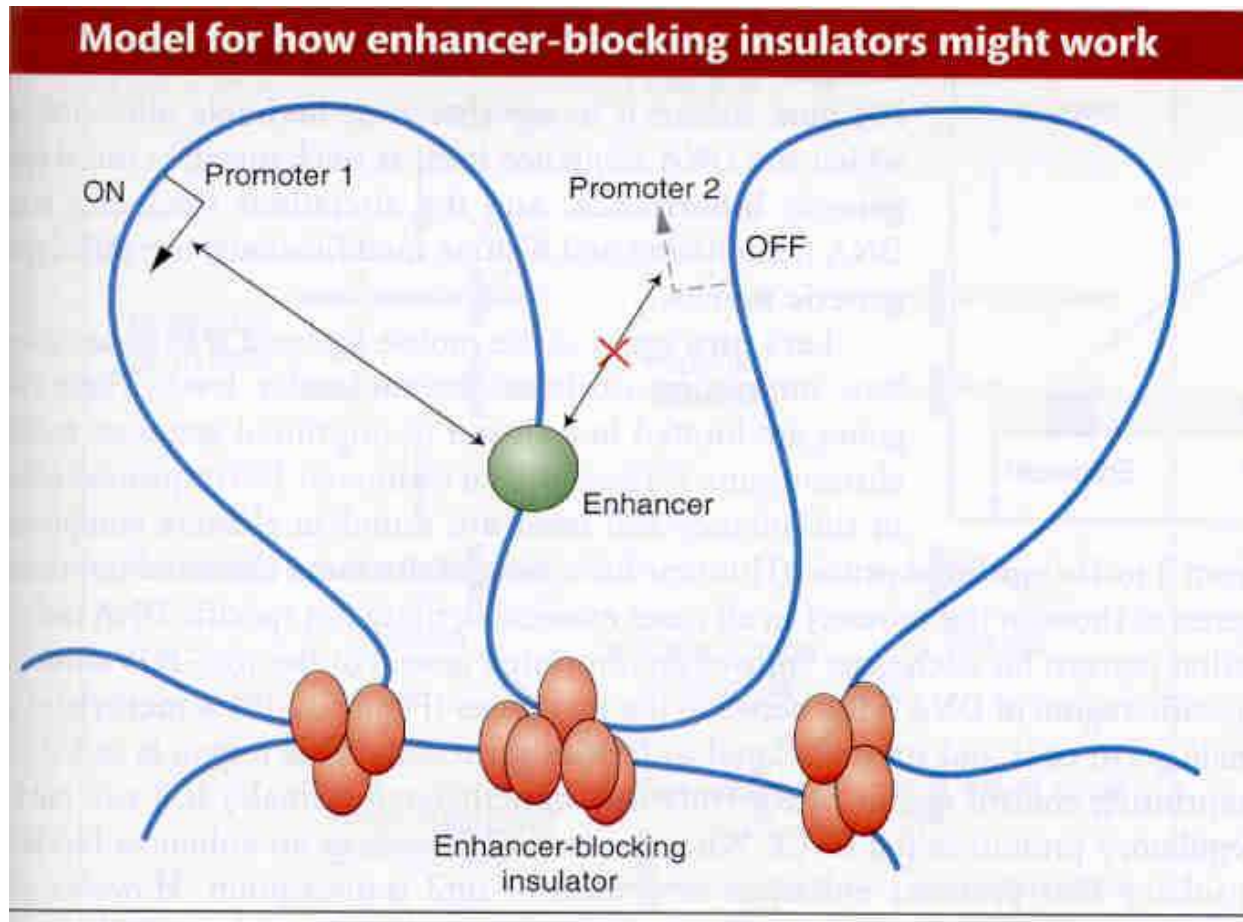
Egy szabályozó fehérje többszörös expresszió befolyásoló szerepe



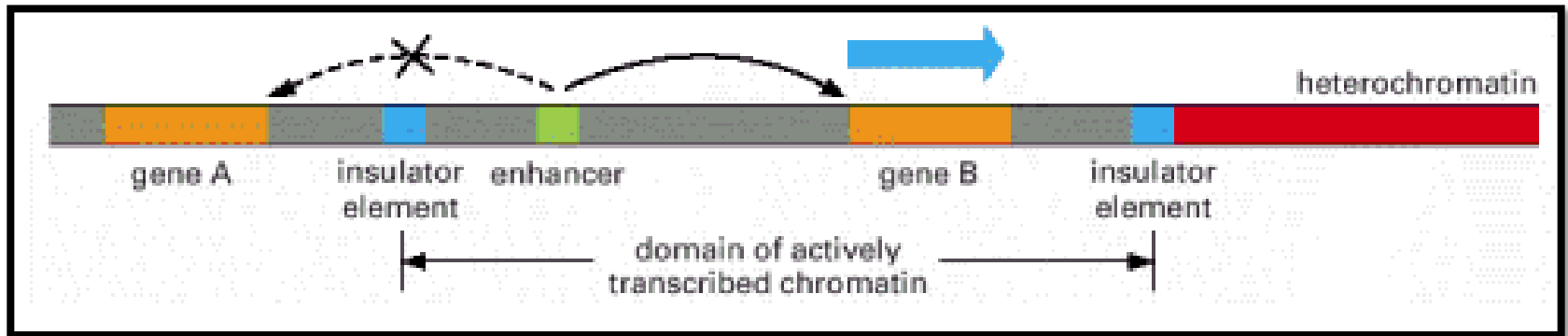
Inzulátor

- **Az *enhancerek* és a *silencerek* akár több kilobázispár távolságból is képesek hatni az adott gén kifejeződésére.**
- **Az inzulátor szekvenciák néhány tíz bázispár hosszúságú DNS-szakaszok, amelyek az *enhancer* és a promóter, vagy a *silencer* és a promóter között helyezkednek el.**
- **Funkciójuk: gátolják a gének *enhancereinek* vagy *silencereinek* hatását a szomszédos génekre.**

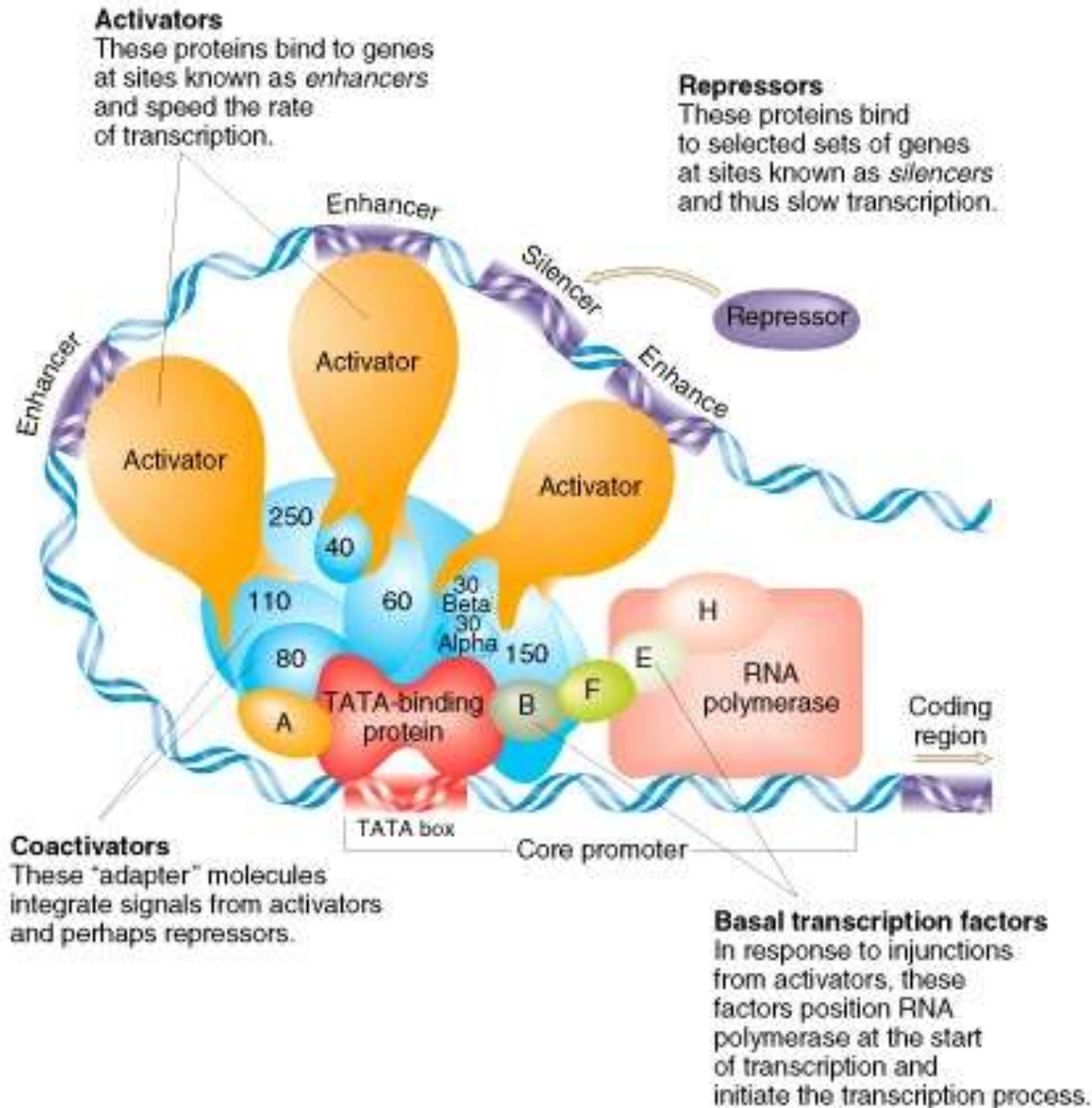
Insulator



Schematic diagram of insulators



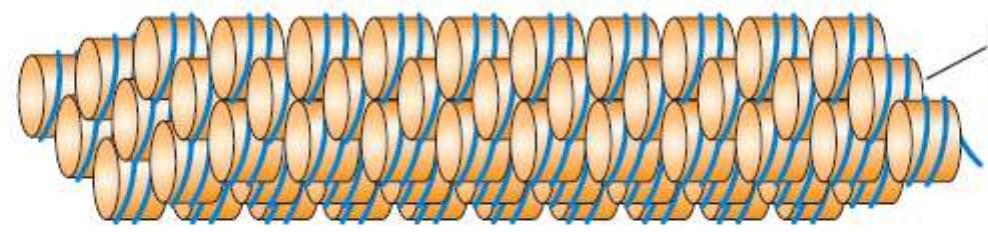
Az átírásban részt vevő elemek emlős-humán sejtekben



- A nagyszámú transzkripciós faktor négy alapcsoportra osztható:
- 1, Alap transzkripciós faktorok, melyek az RNS polimeráz kötésért felelősek
 - 2, Ko-aktivátorok, melyek az *enhancerek* „üzeneteit” közvetítik a polimeráznak
 - 3, Aktivátorok, melyek az *enhancerekhez* kötődnek
 - 4, Represszorok, melyek a *silencerekhez* kötődnek

A génkifejeződés mértéke mindezek együttes hatásának végeredménye.

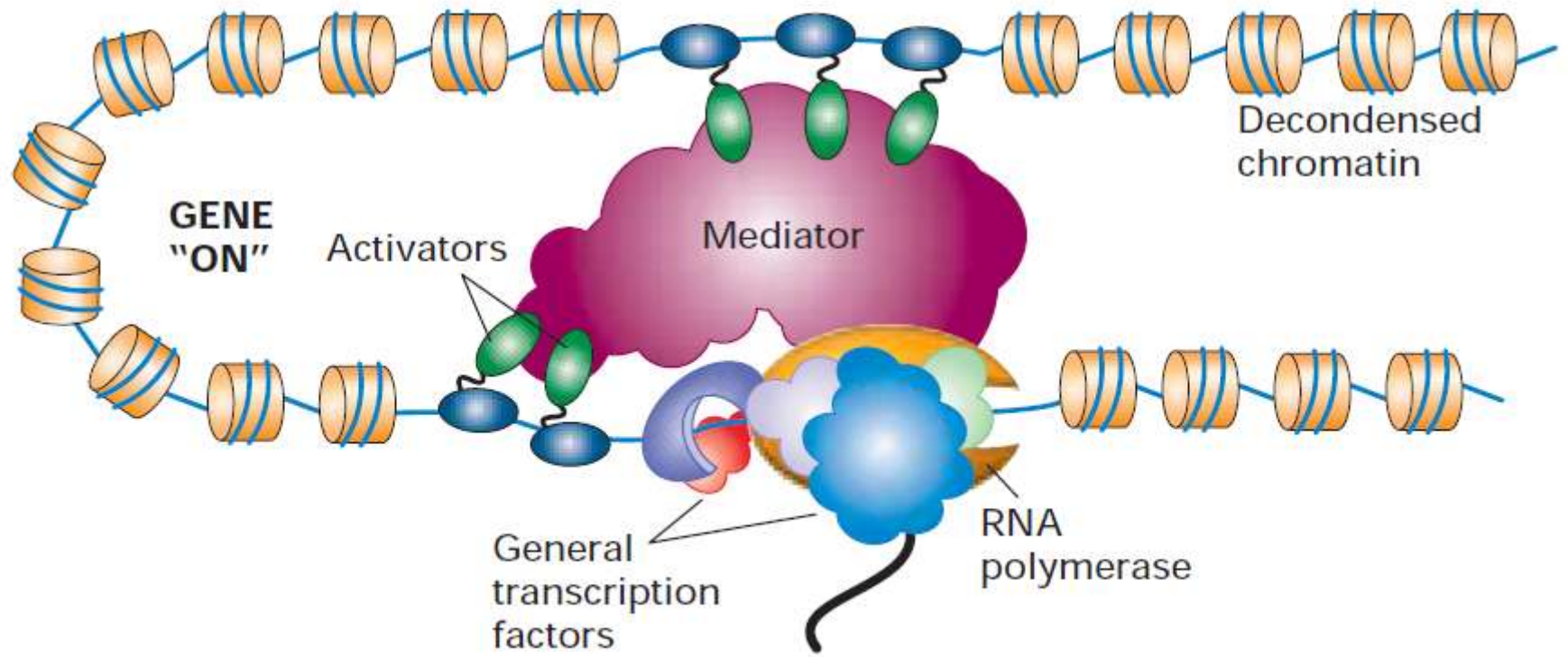
**GENE
"OFF"**



Condensed
chromatin

Repressors ↑ ↓ Activators

**GENE
"ON"**



Decondensed
chromatin

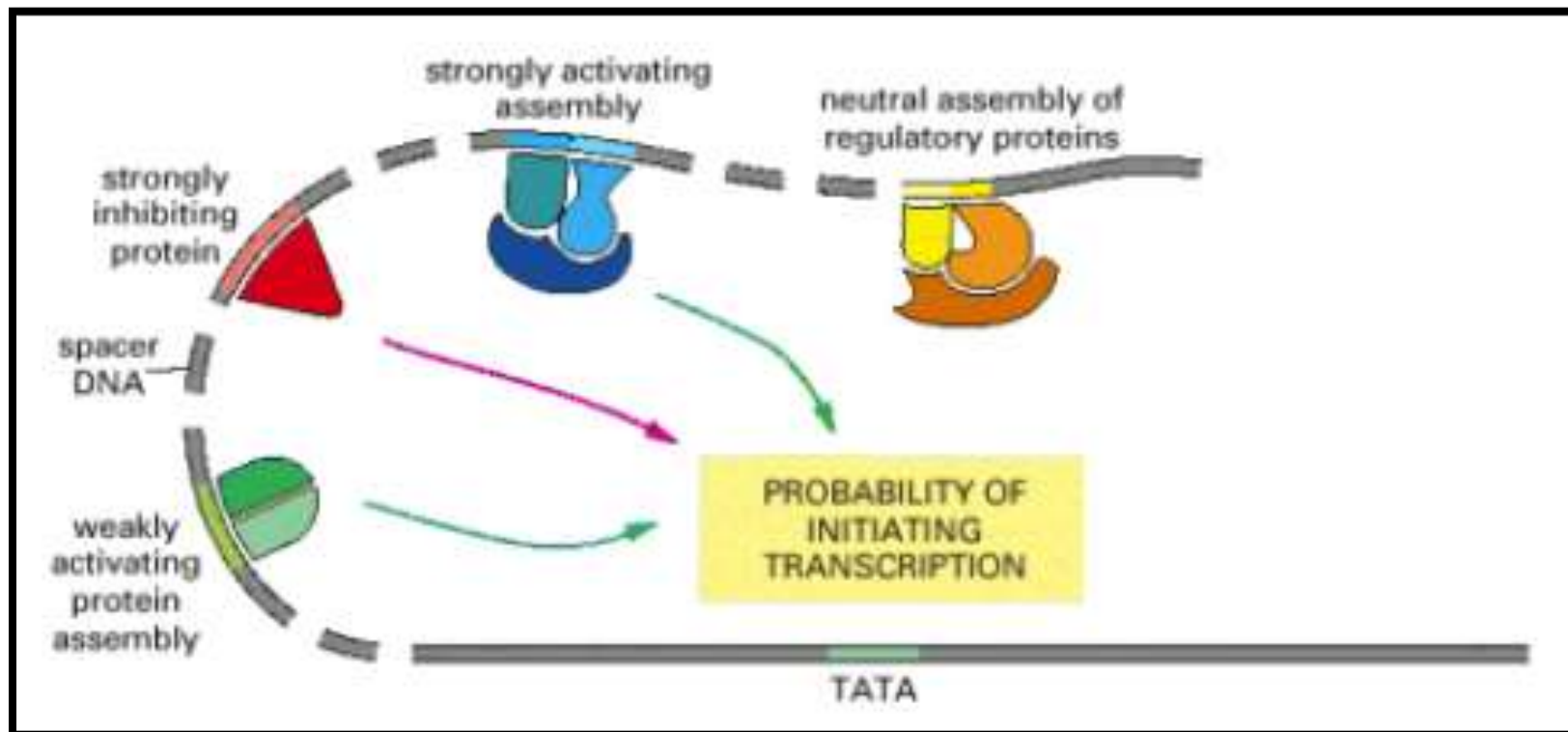
Activators

Mediator

General
transcription
factors

RNA
polymerase

A szabályozó elemek jeleinek integrálása a promóteren



Transz elemek: transzkripciós faktorok

Minden transzkripciós faktor tartalmaz DNS-kötő és fehérjekötő domént.

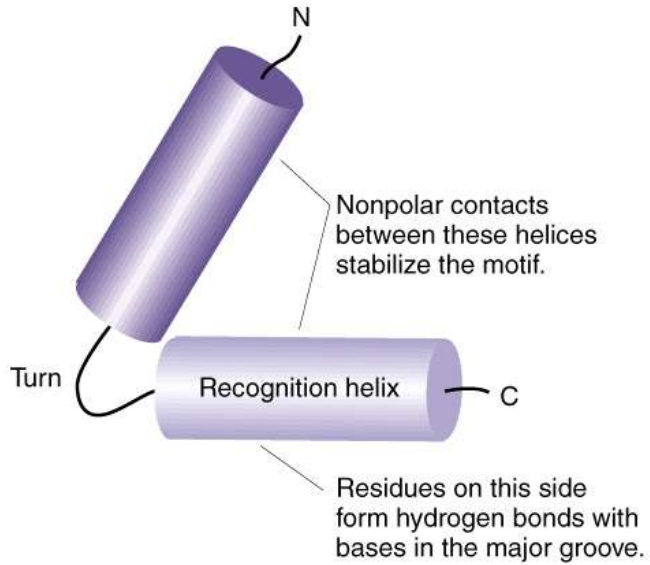
A fehérjekötő domének savas aminosav felszíneket tartalmaznak.

A DNS-kötő domének mindössze néhány, evolúciósan konzervált motívumból építkeznek:

- **helix-turn-helix**
- **cink ujj**
- **leucin cipzár**

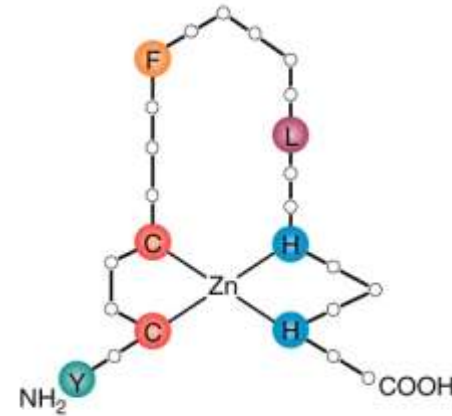
Az aktivációs domének jóval sokrétűbbek.

DNS-kötő fehérje motívumok: Helix-turn-helix, cink ujj, leucin-cipzár

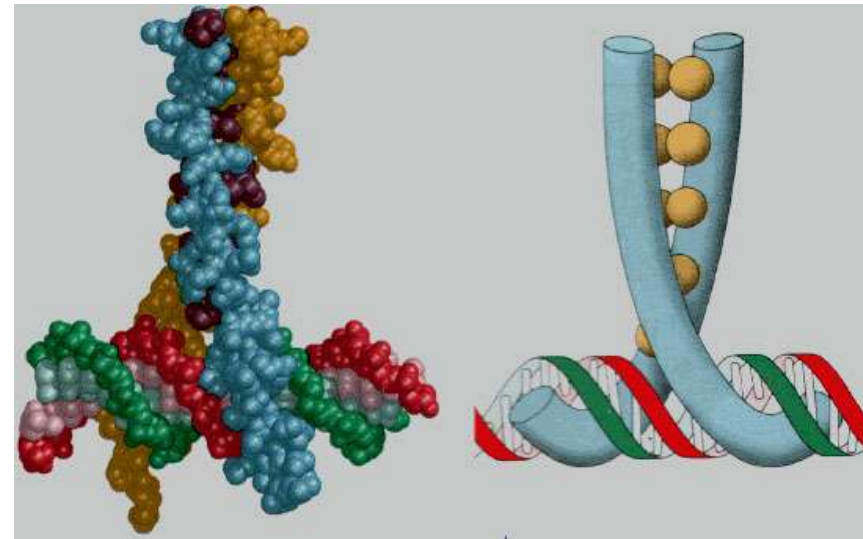


helix-turn-helix

A helix-turn-helix, a zink ujj, és a leucin cipzár alapvető DNS kötő fehérje motívumok, evolúciósan konzerváltak. Az aktivációs domének jóval sokrétűbbek.



cink ujj



leucin-cipzár

Helix-turn-helix (HTH)

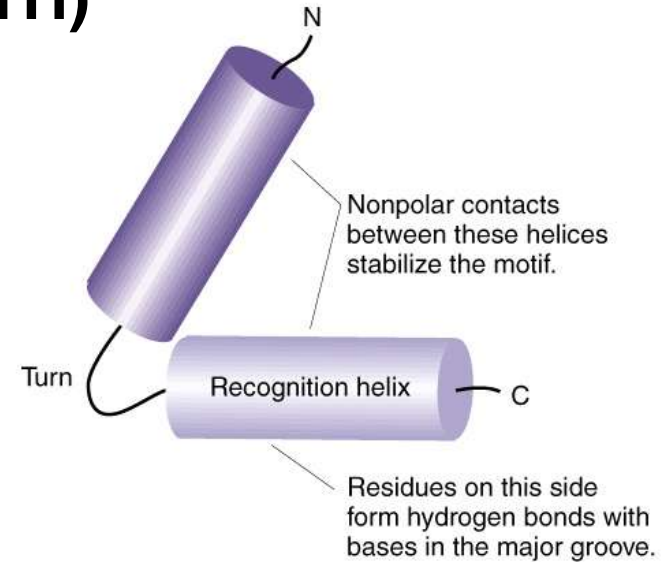
-20 aminosavból áll

-két alfa hélix (7 és 9 aminosav) és az azokat összekötő, 4 aminosavból álló csatló alkotja

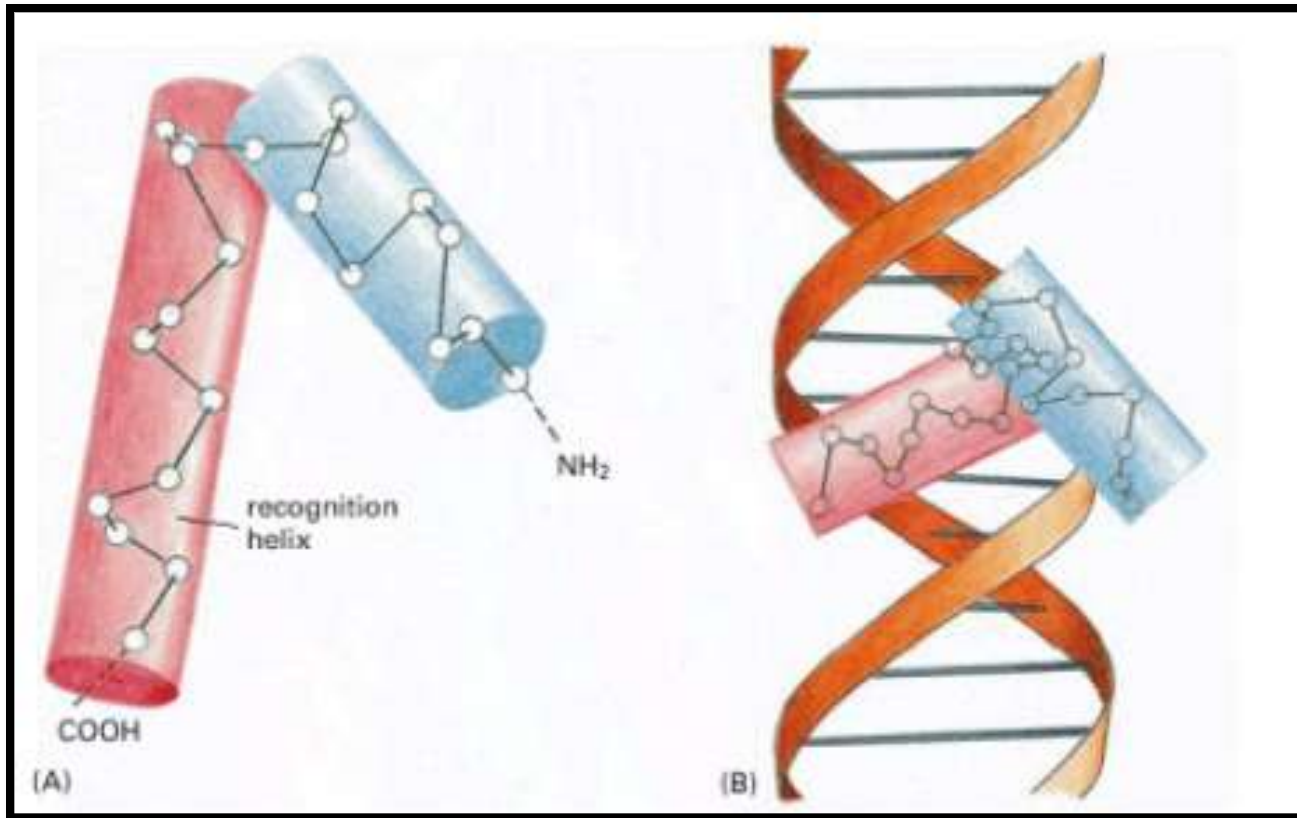
-a két alfa hélix tengelye egymásra merőleges

-prokariótákban és eukariótákban is megtalálható (fágok, baktériumok, élesztők, rovarok, gerincesek) (pl. homeotikus gének /Hox/ által meghatározott fehérjék esetén a homeobox domén része)

-főszerepet játszanak az egyedfejlődés és a differenciáció irányításában



Helix-turn-helix (HTH)



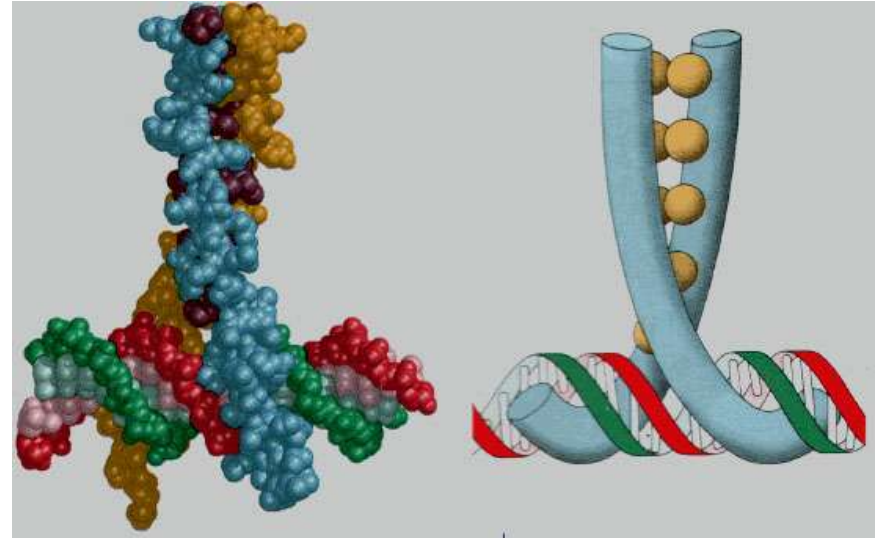
Az **első alfa hélix** a DNS kettős spirál cukor-foszfát gerincéhez kötődik (nem szekvencia specifikus), a **másik alfa hélix** a DNS nagy árkába illeszkedik. Ez utóbbit „felismerő” helixnek nevezzük.

Leucin cipzár

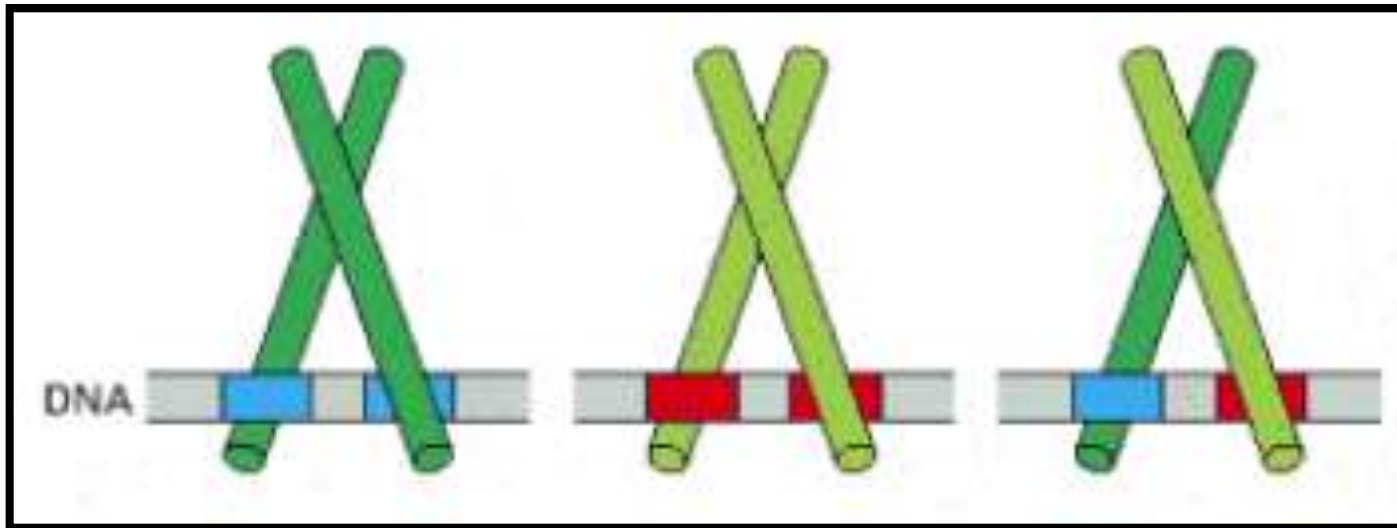
-80-90 aminosavból áll

-az N-terminális felől haladva egy alfa hélix (50-60 aminosav) és az ún. leucin cipzár rész alkotja

-az α -hélix (bázikus régió) a DNS felismerő elem, amely a DNS nagy árkába illeszkedik



Leucin cipzár fehérjék homo- és heterodimerizációja



A leucin cipzár más leucin cipzárakkal képes kapcsolatot kialakítani, így biztosítja az alegységek (monomerek) összekapcsolódását, dimerek kialakulását. Homodimerek és heterodimerek egyaránt kialakulhatnak, ezáltal növelik a transzkripciós faktorok sokféleségét

Cink ujj

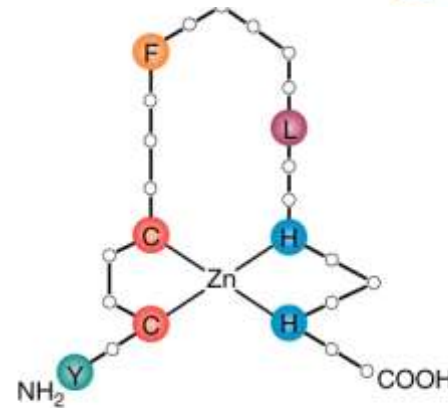
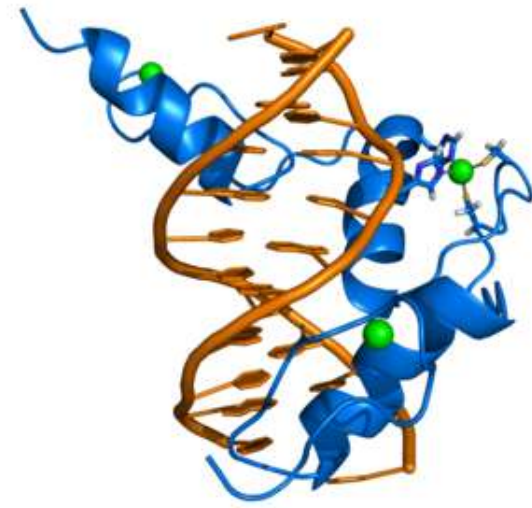
-nevét alakjáról kapta

-a cink koordinatív kötése révén jön létre a motívum

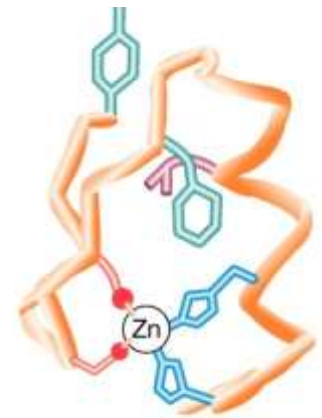
-Az N-terminális felől haladva két béta-lemez és egy α -hélix alkotja, ez utóbbi felelős a DNS felimerésért, a DNS nagy árkában ezáltal a cinkujj kettő/három szomszédos bázispárral alakít ki kötést.

-A transzkripció faktor tehát annyiszor kettő/három bázispárhoz kötődik, ahány cinkujj motívumot tartalmaz.

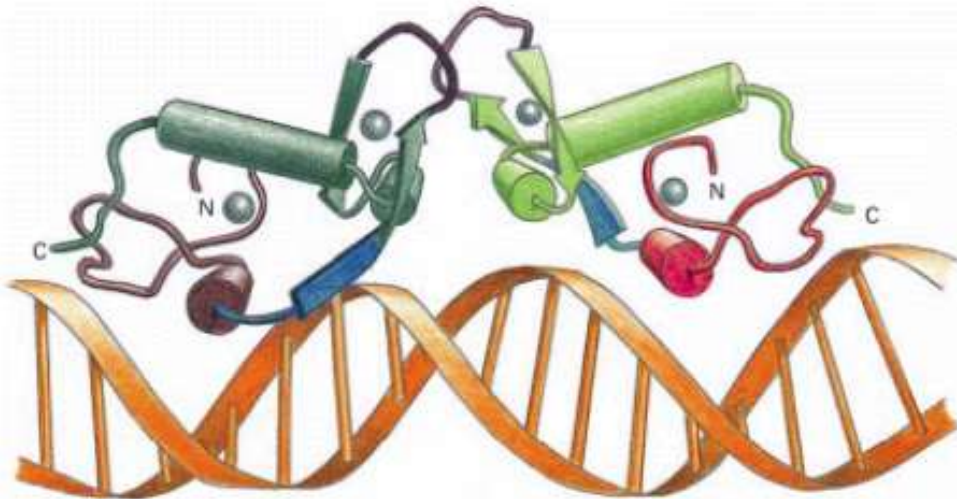
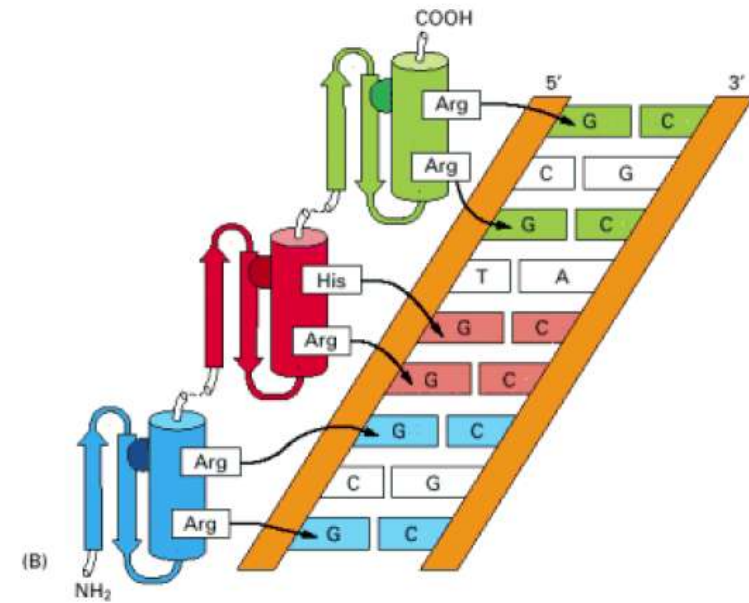
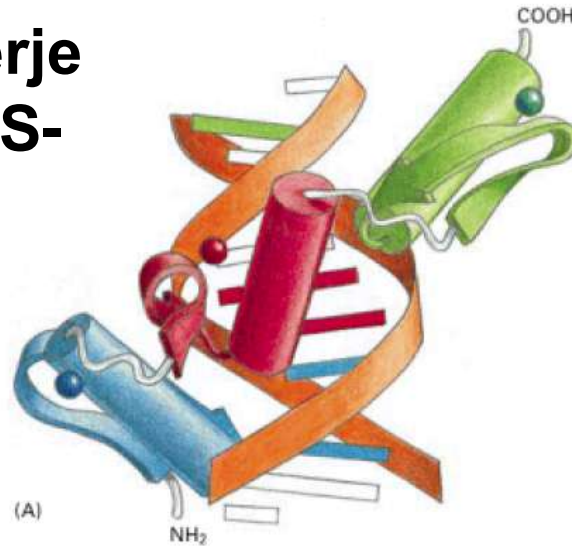
-pl. szteroid hormonok által aktivált gének szabályozó fehérjéi, muslica egyedfejlődését irányító gének szabályozó fehérjéi.



C₂H₂ zinc finger

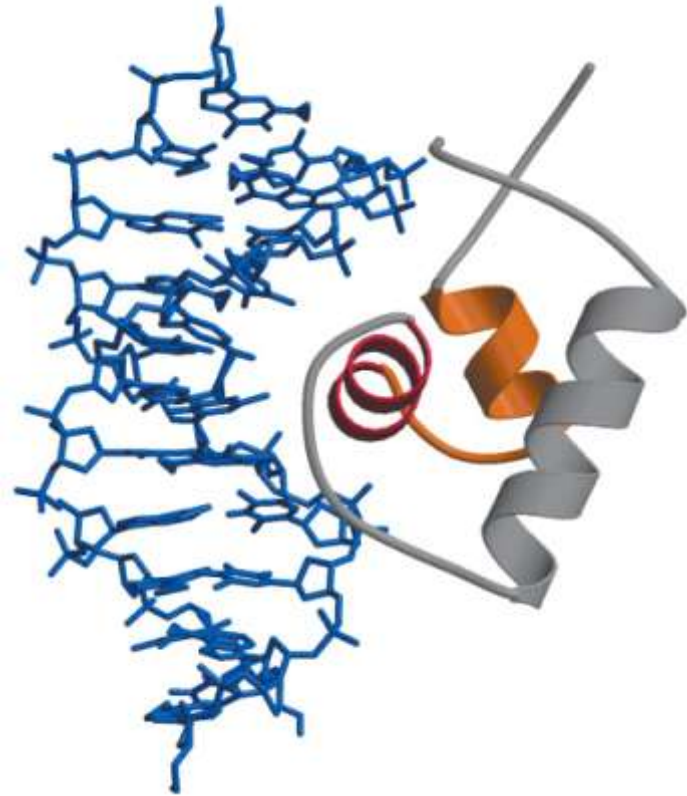


Egy 3 cink ujjat tartalmazó fehérje kötődése a DNS- hez

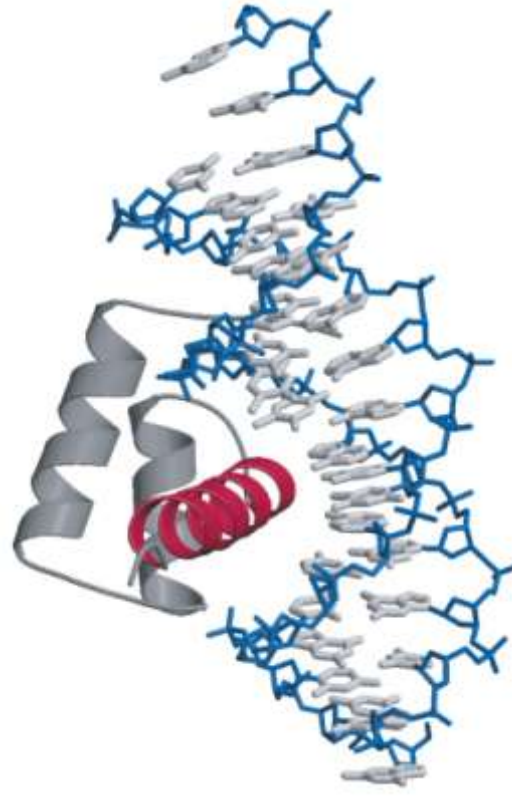


**Cink ujj dimer
fehérjék kötődése a
DNS-hez**

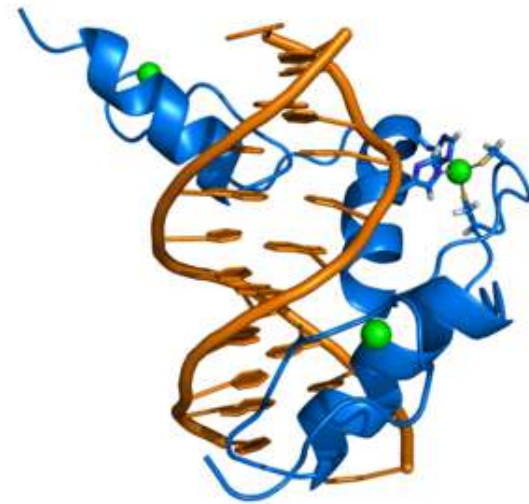
DNS-kötő fehérje domének



Helix-turn-helix
2 α -hélixből és 1 β -turn-ből áll

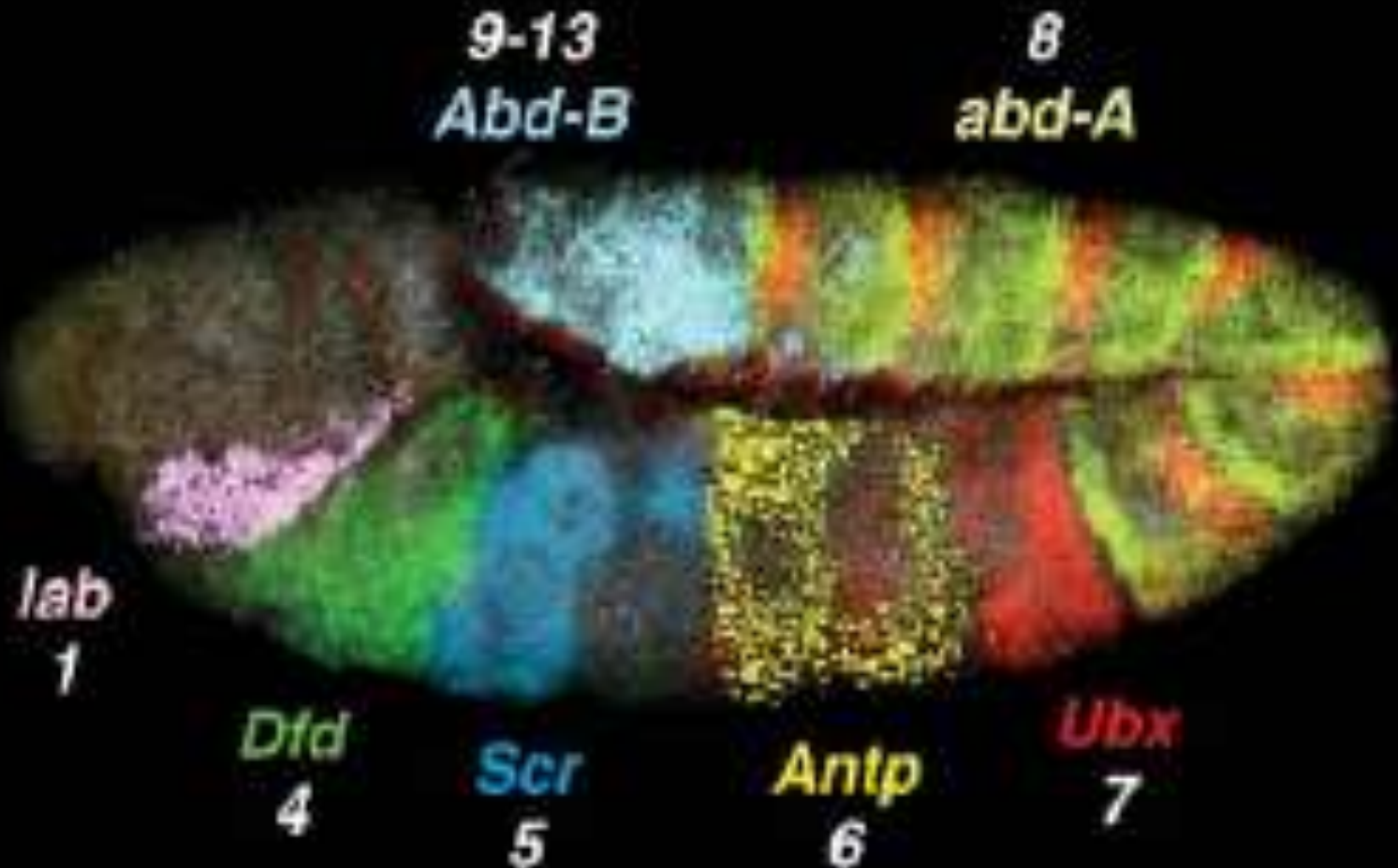


Homeodomén
3 α -hélixből áll



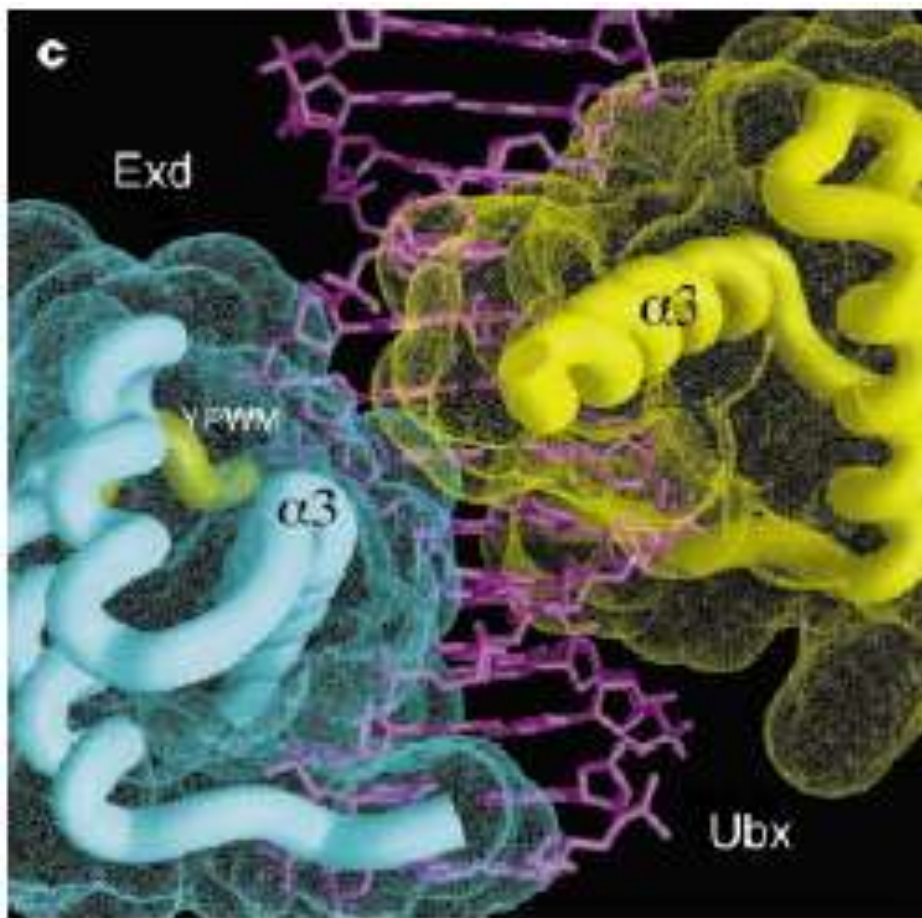
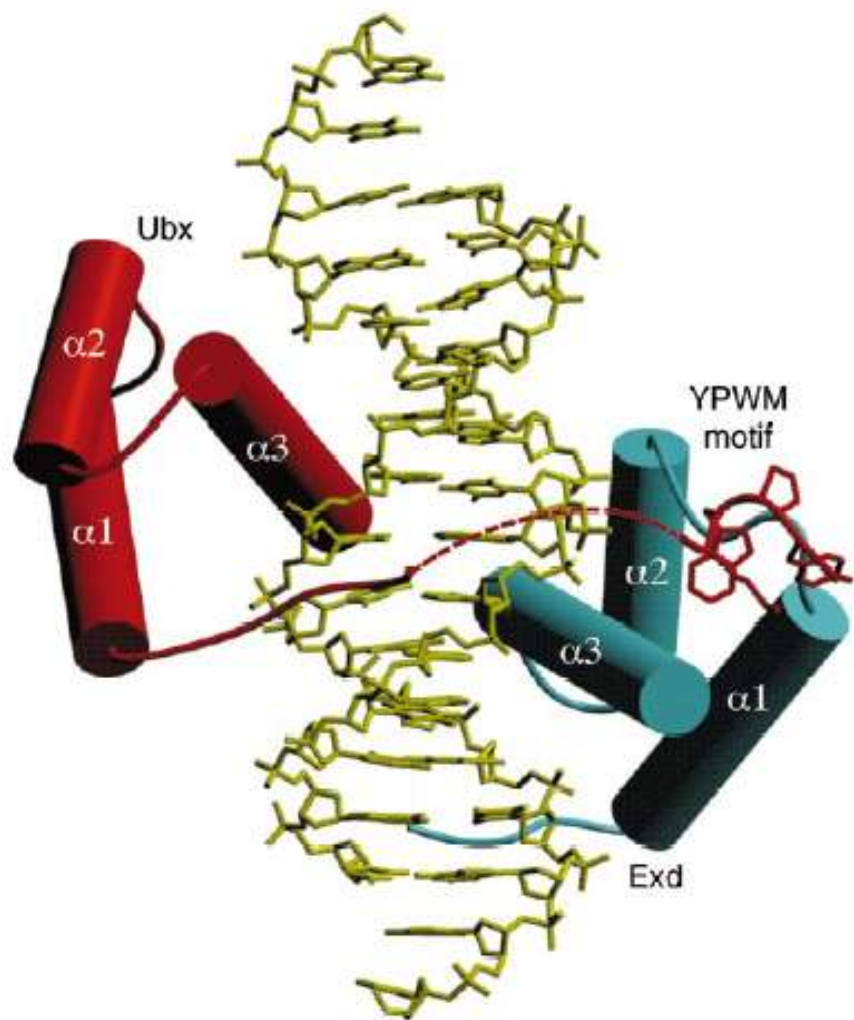
Zn Fingers
1 hurokból áll
amelyet egy Zn
ion tart össze

Hox gének – helix-turn-helix

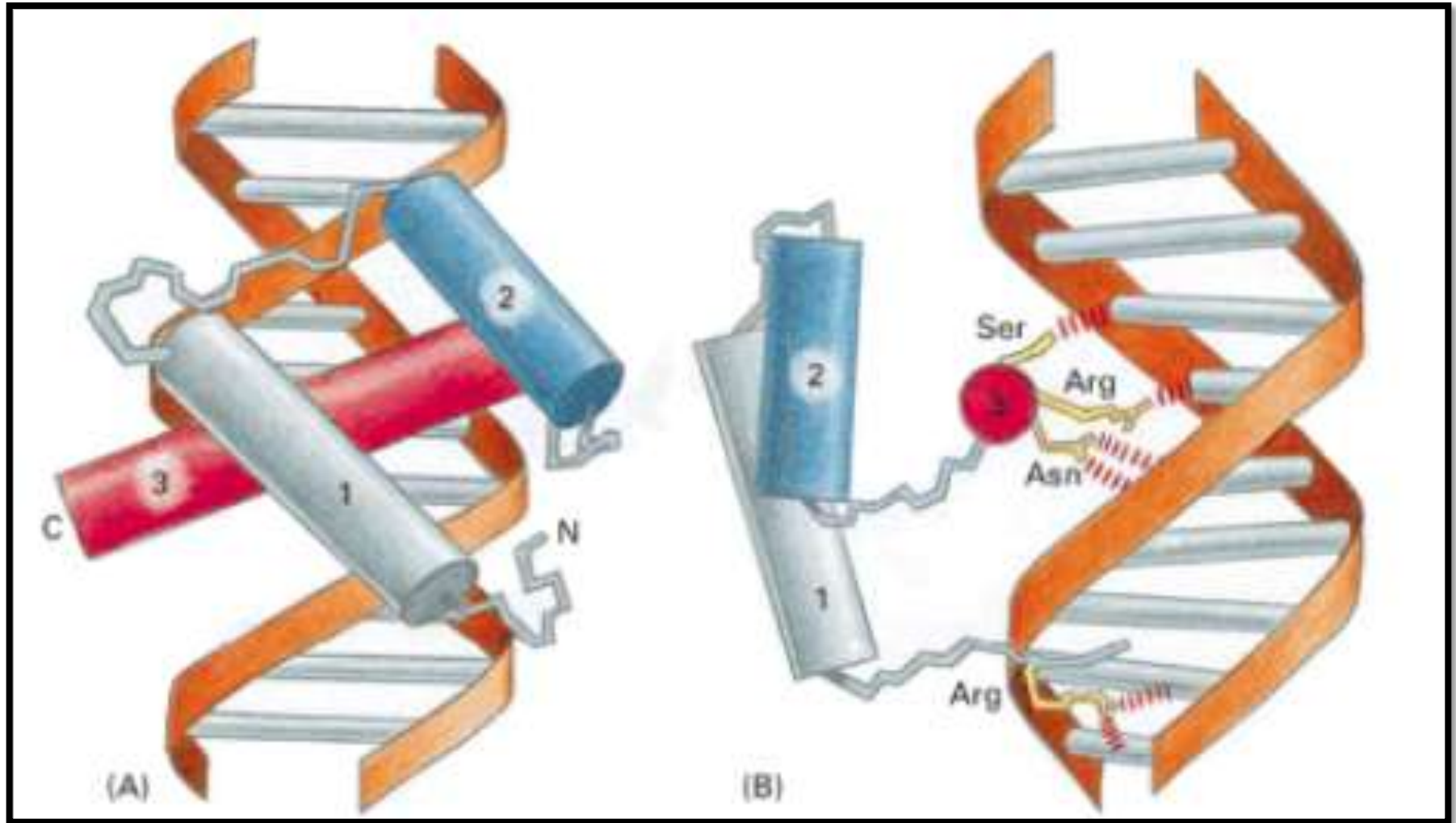


Hox homology groups

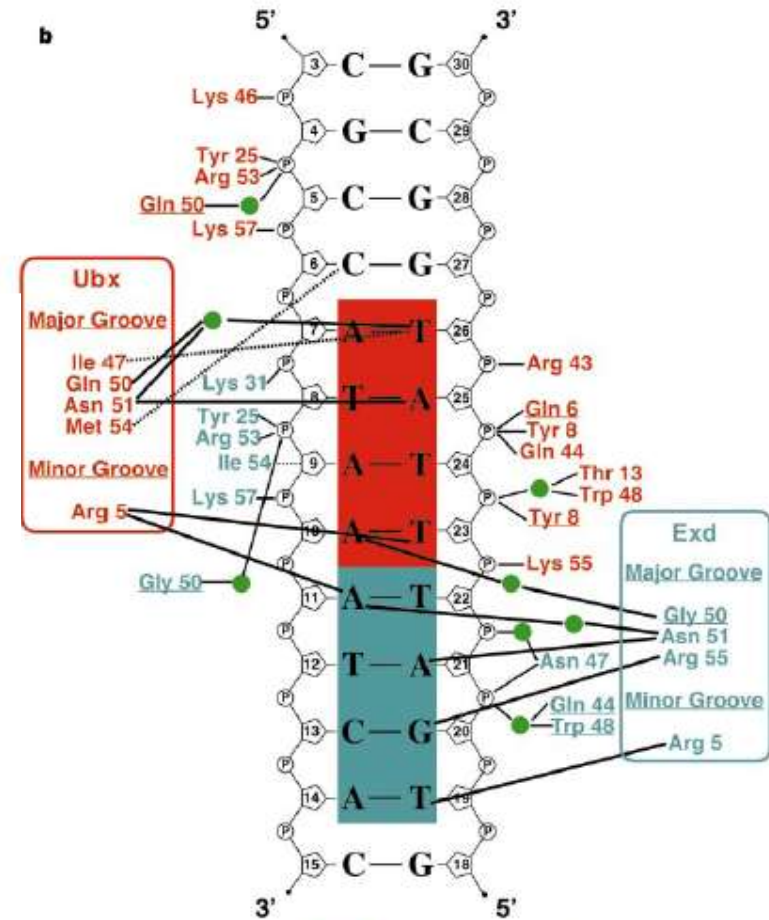
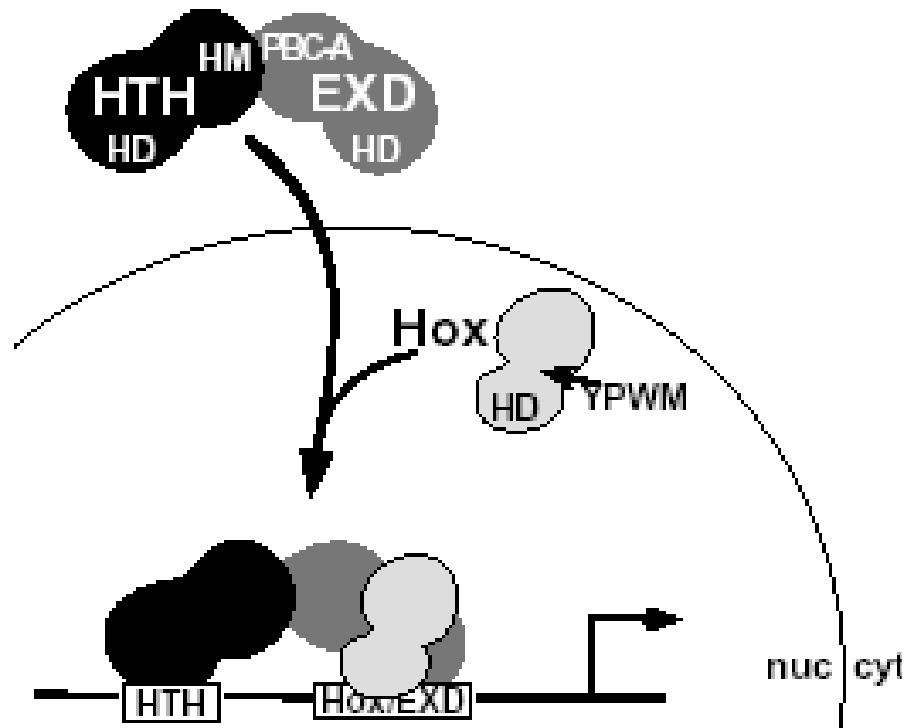
Transzkripció szabályozása: HOX-PBX/EXD protein komplexek



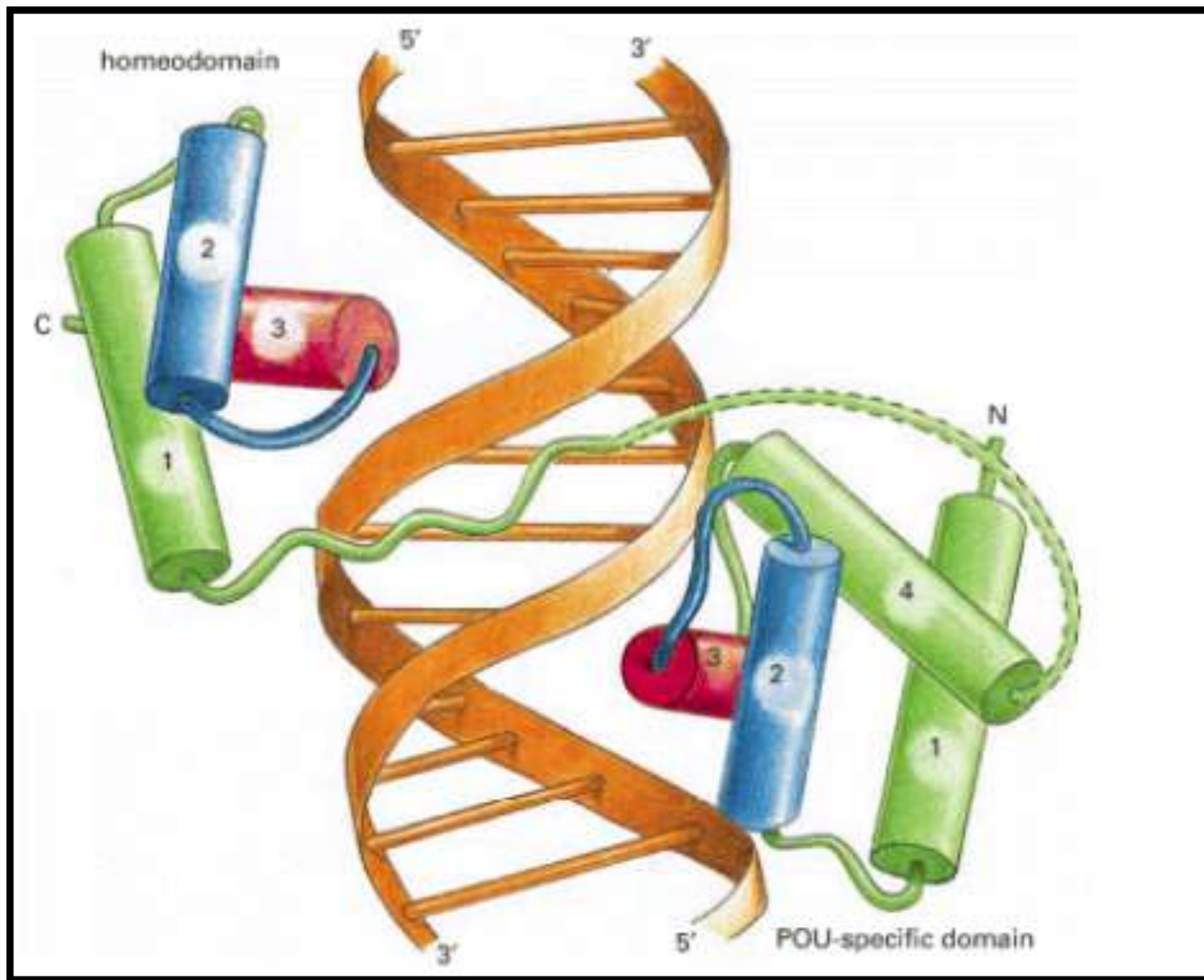
Homeodomén kötődése a DNS-hez



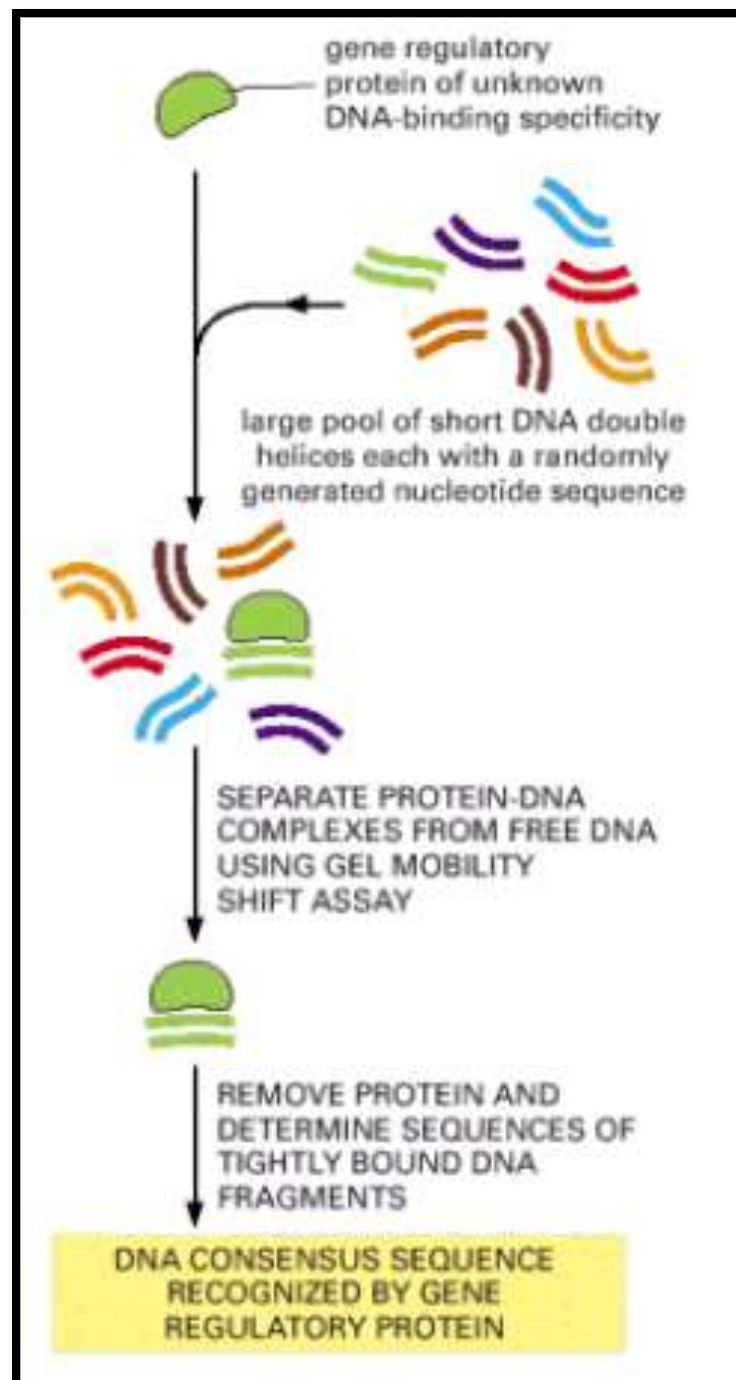
HOX-PBX/EXD komplex



Egy HTH és egy homeodóment tartalmazó fehérje kötődése a DNS-hez

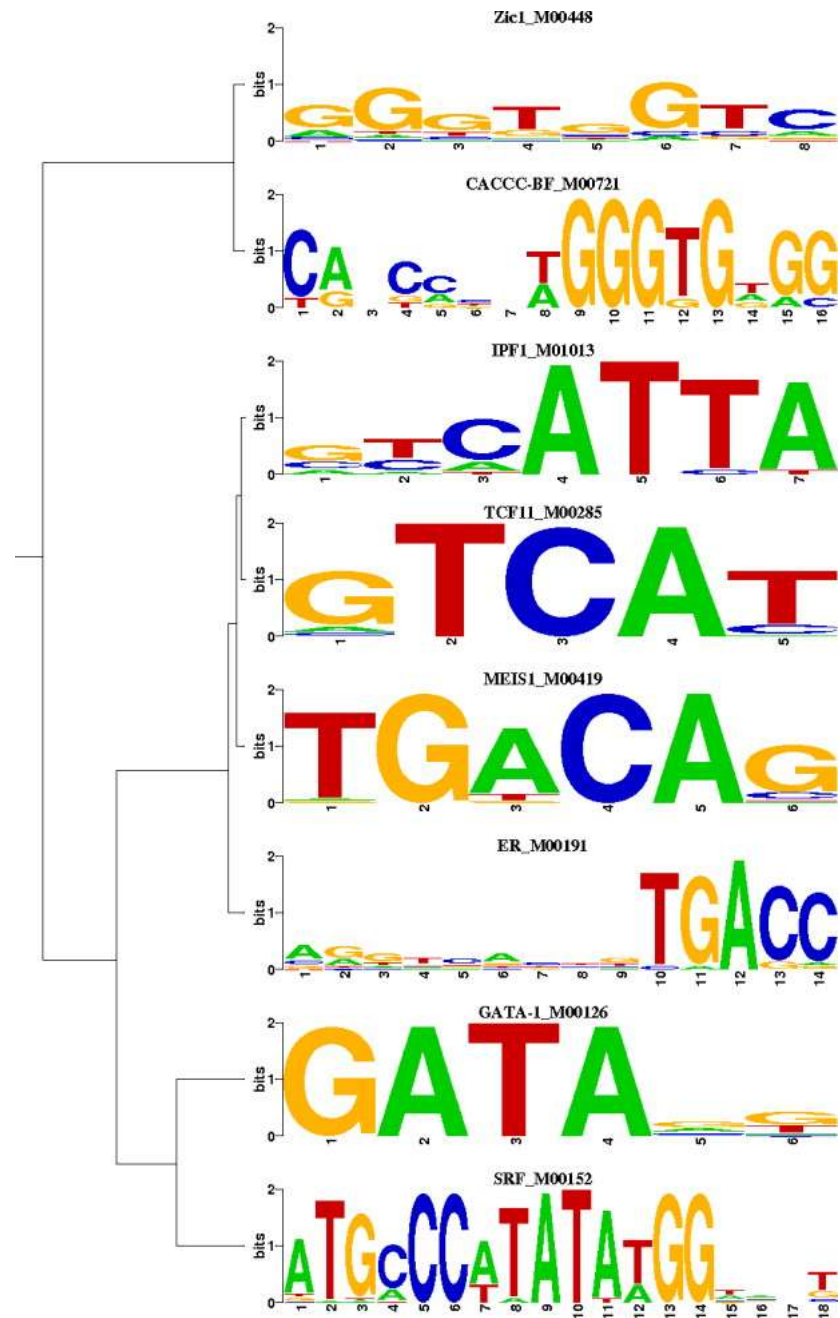


DNS-szekvencia- kötő fehérjék azonosítása

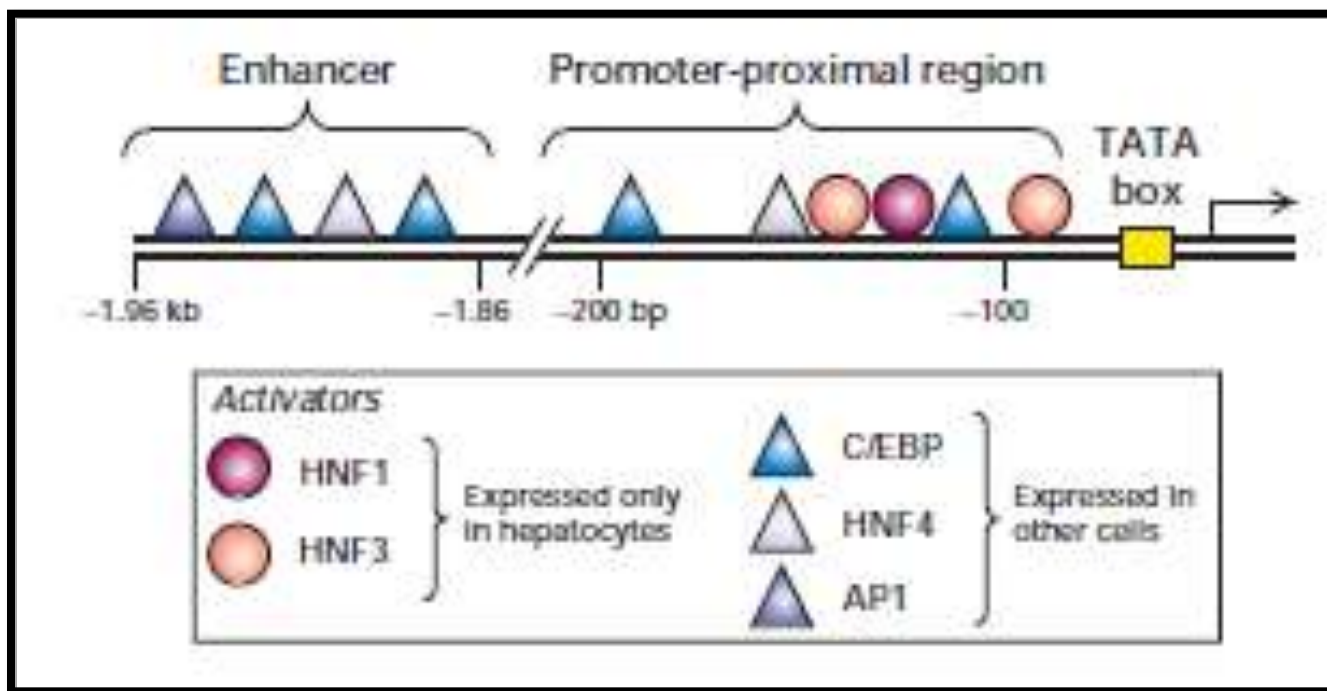


Transzkripció faktor kötőhelyek (TFBS) ábrázolása a DNS-en logóval

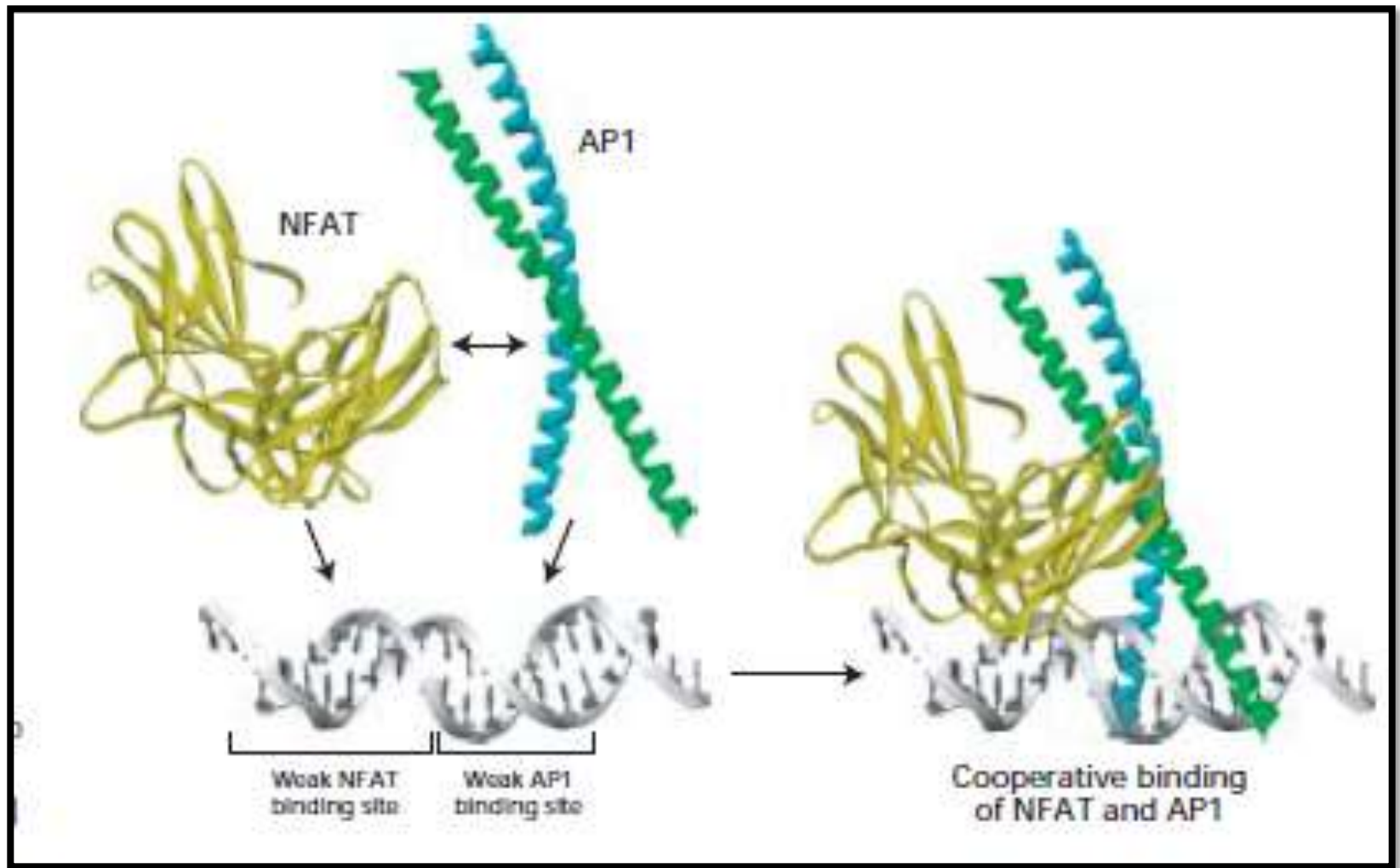
A törzsfa az
egymáshoz rokon
(hasonló) TFBS-eket
osztályozza



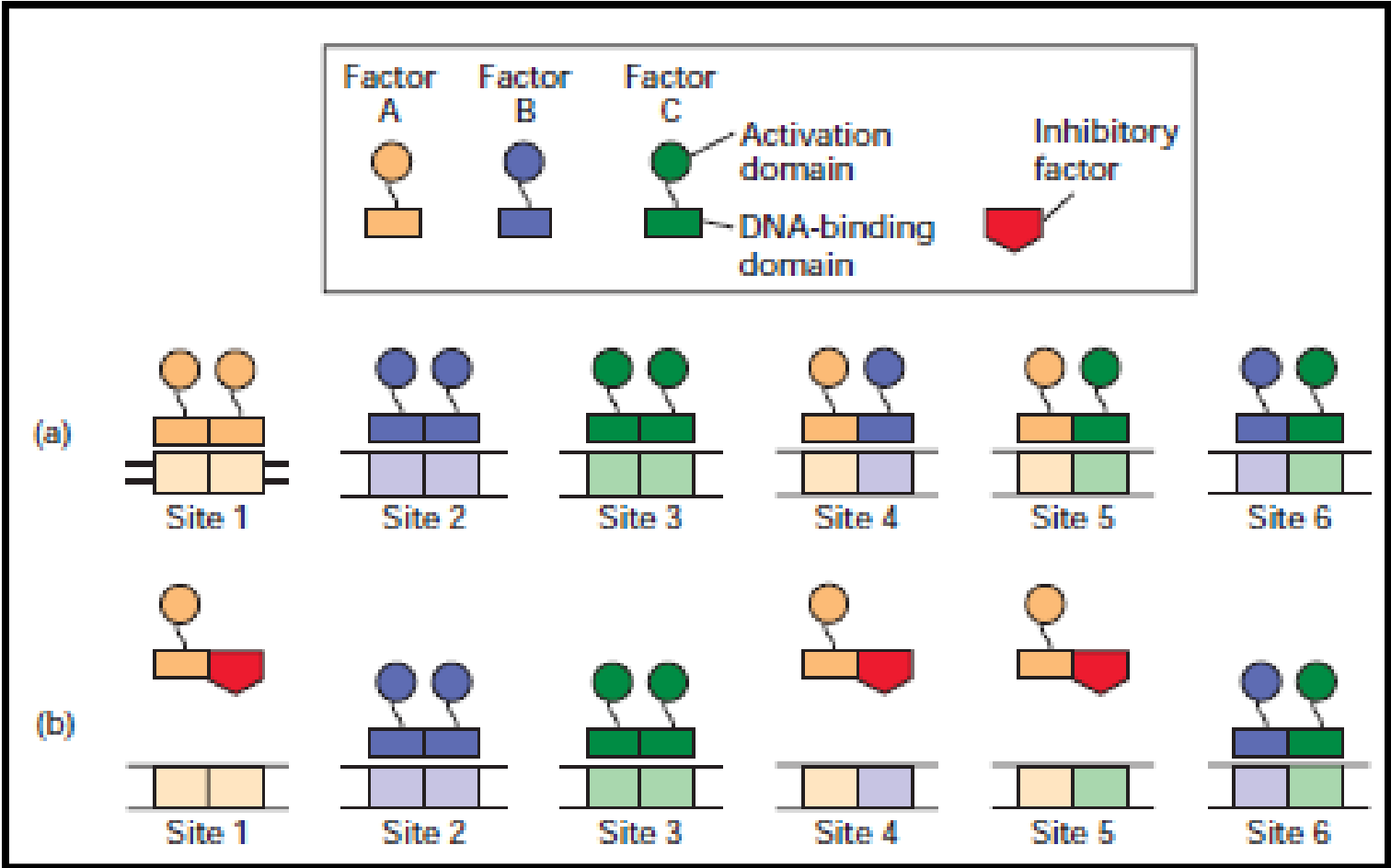
Egy gén transzkripcionális régiója



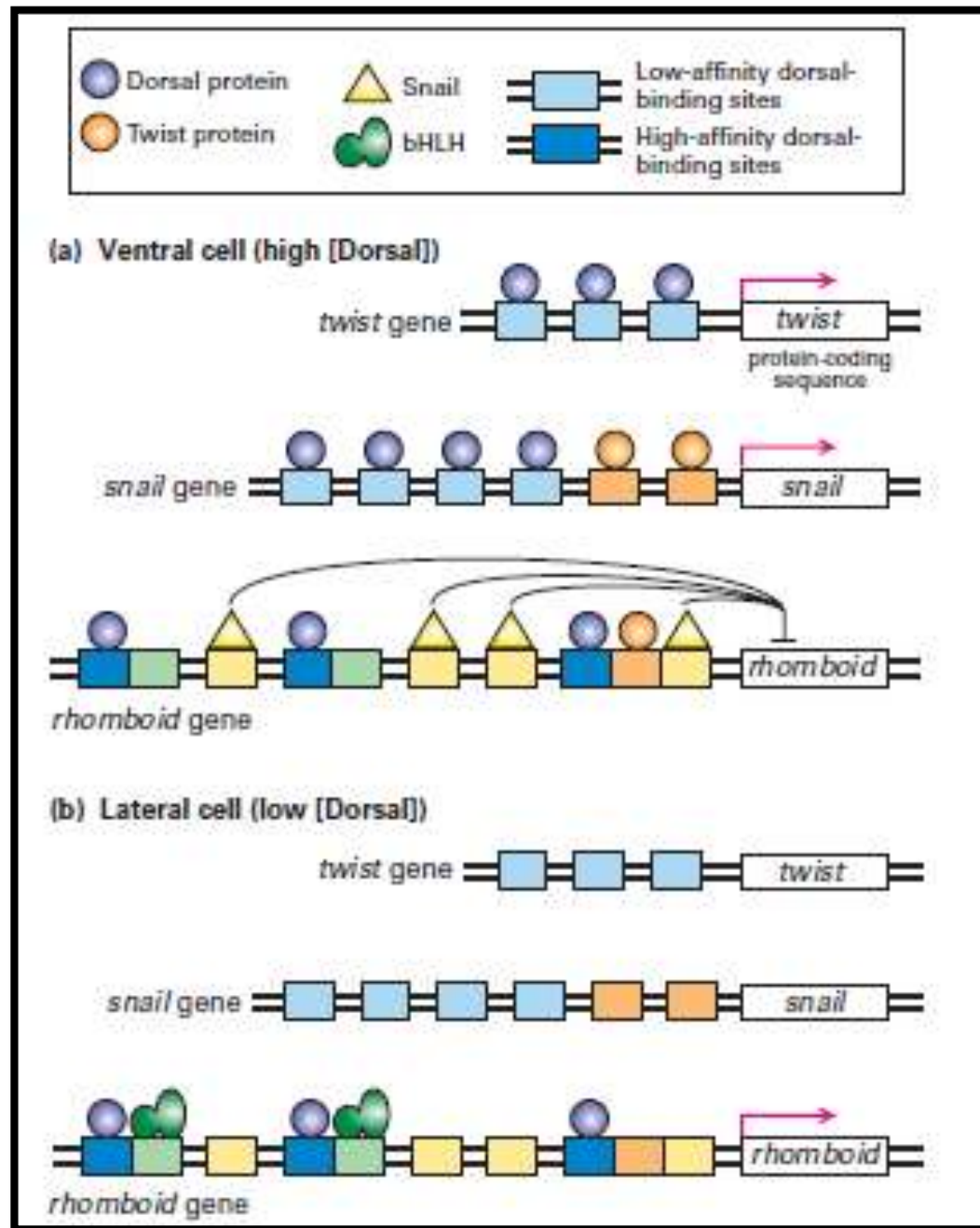
Kooperatív kötődés két transzkripciós faktor kötöt



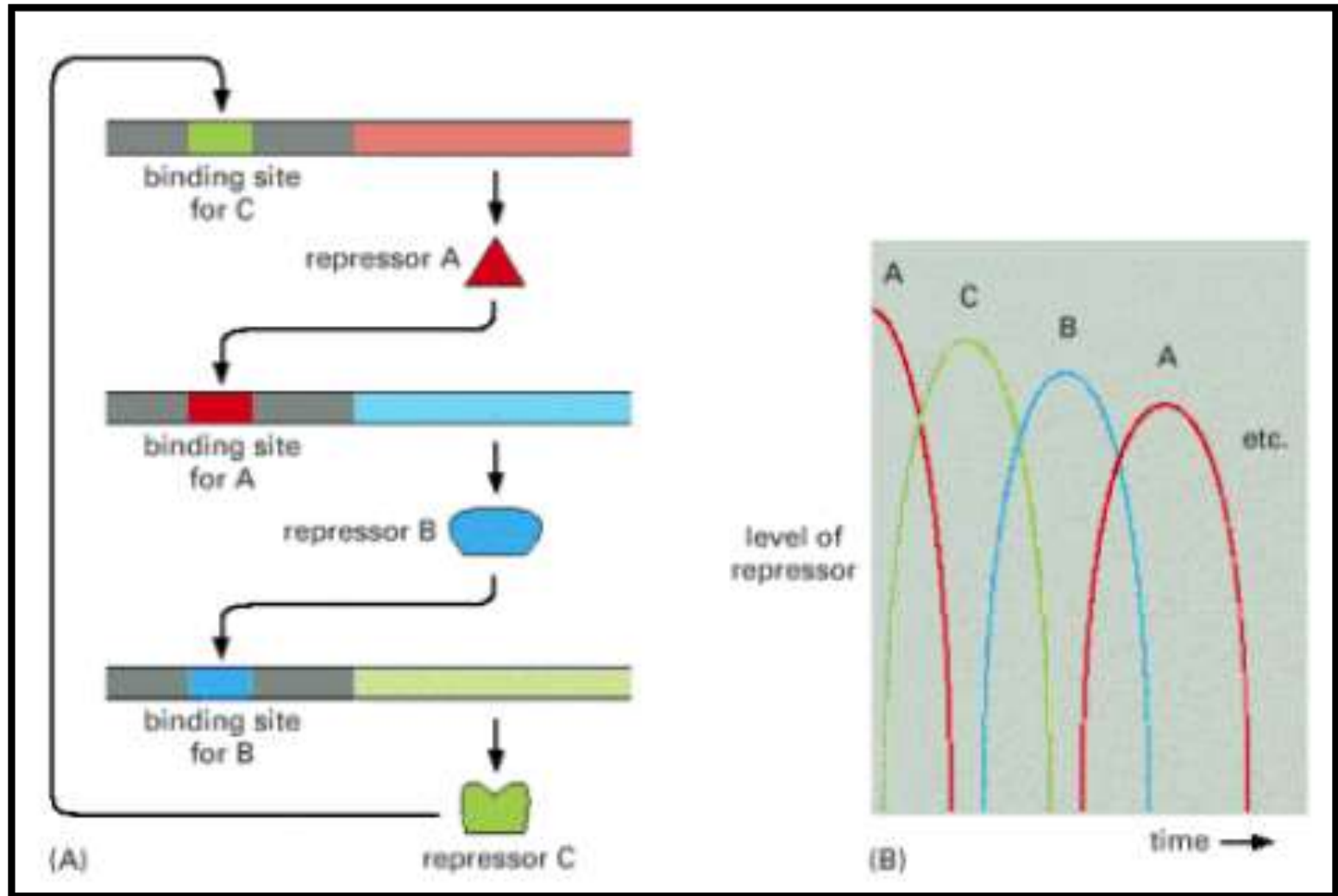
Heterodimer transzkripciós faktorok kombinációs képességei



A Dorsal transzkripciós faktor eltérő géneket aktivál a *Drosophila* két oldalán lévő koncentrációjának megfelelően

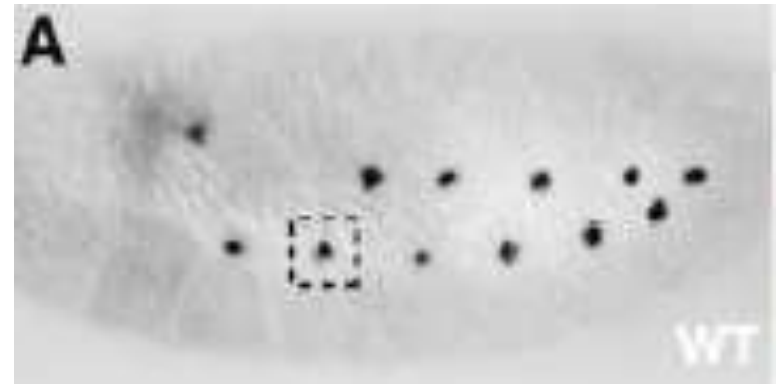


Egy génregulációs óra modellje



Génexpresszió – egy esettanulmány

***Evenskipp* (*Eve*)**
expressziója egy 10 napos
Drosophila embrióban

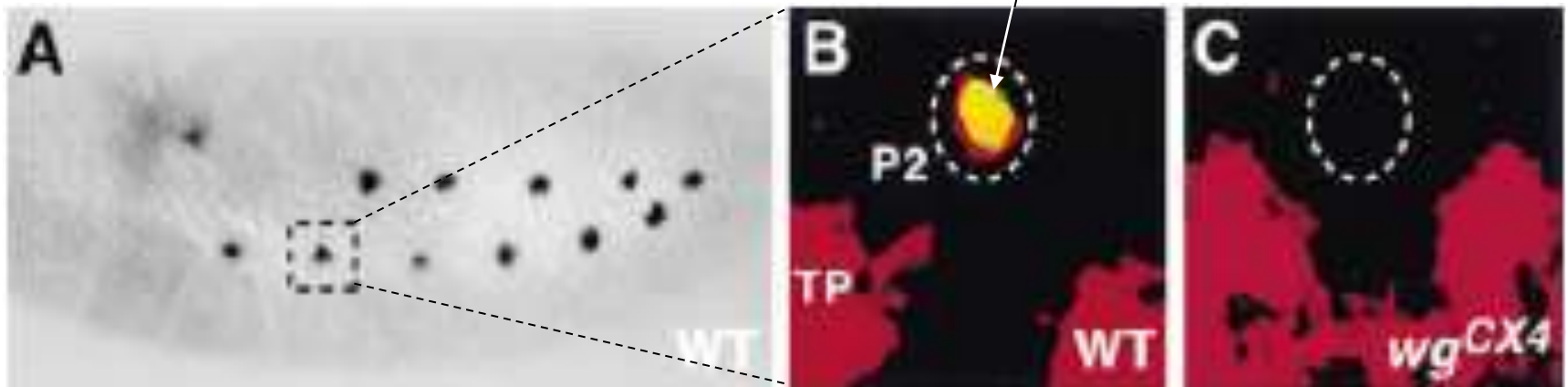


a story...

Ras Pathway Specificity Is Determined by the Integration of Multiple Signal-Activated and Tissue-Restricted Transcription Factors

Marc S. Halfon,* Ana Carmena,†
Stephen Gisselbrecht,* Charles M. Sackerson,‡
Fernando Jiménez,§# Mary K. Baylies,†
and Alan M. Michelson*[¶]

Dorsal muscle fibers (D1)
and heart progenitors



Eve expression in the hemisegments
is Wg-dependent (11 day-old embryo)

Wild-type

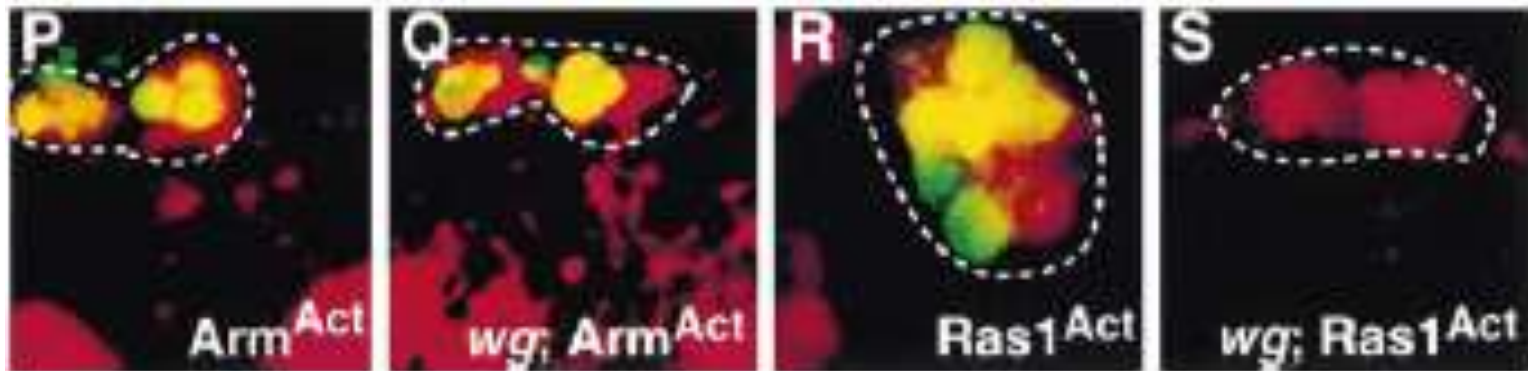
Wingless(-)

Eve – green

MAPK – red (a Ras pathway component)

Co-expression: yellow

Eve expression depends on Wg and Ras signaling

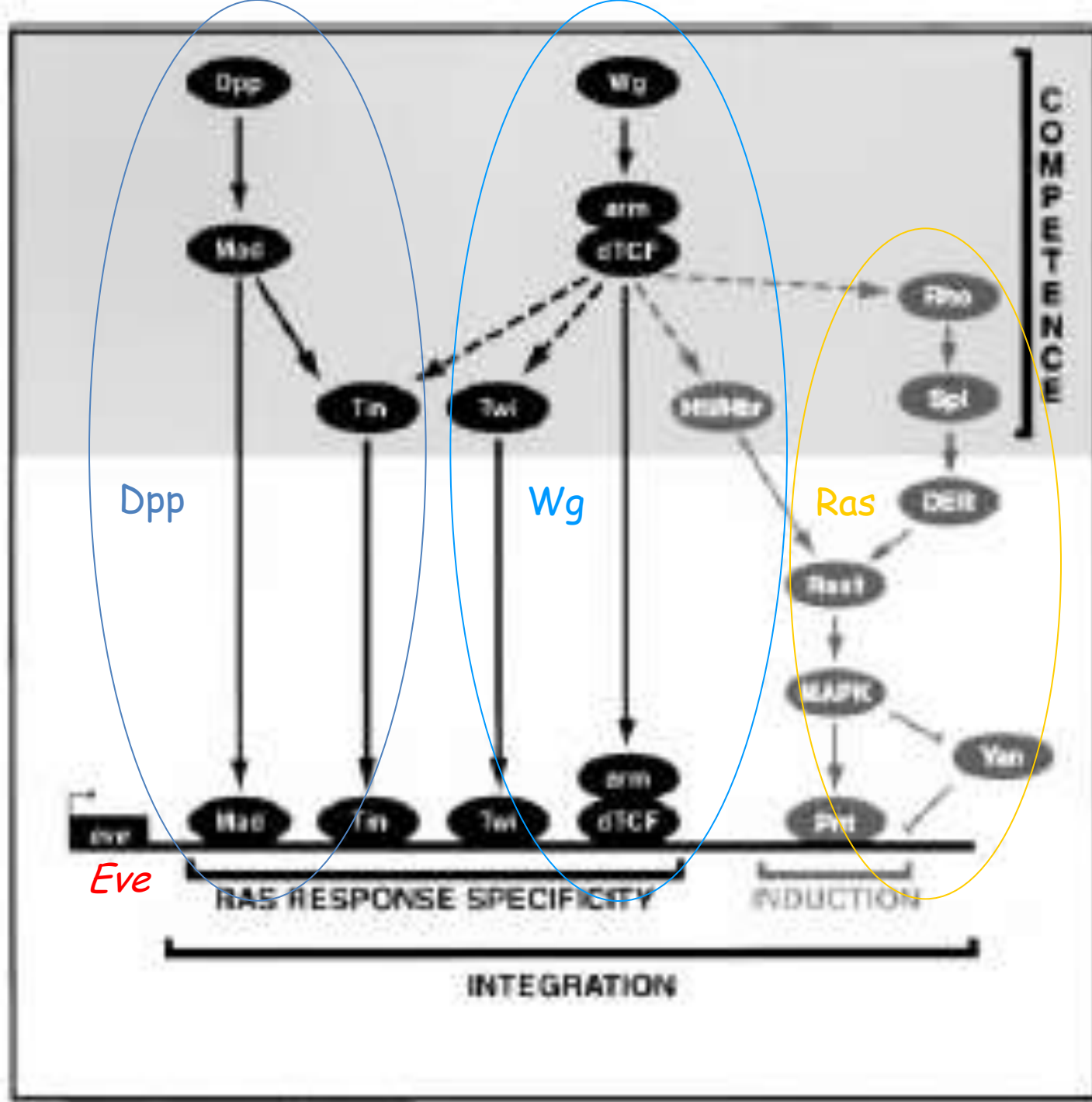


Wingless(+++)
(Wg hyperactive)

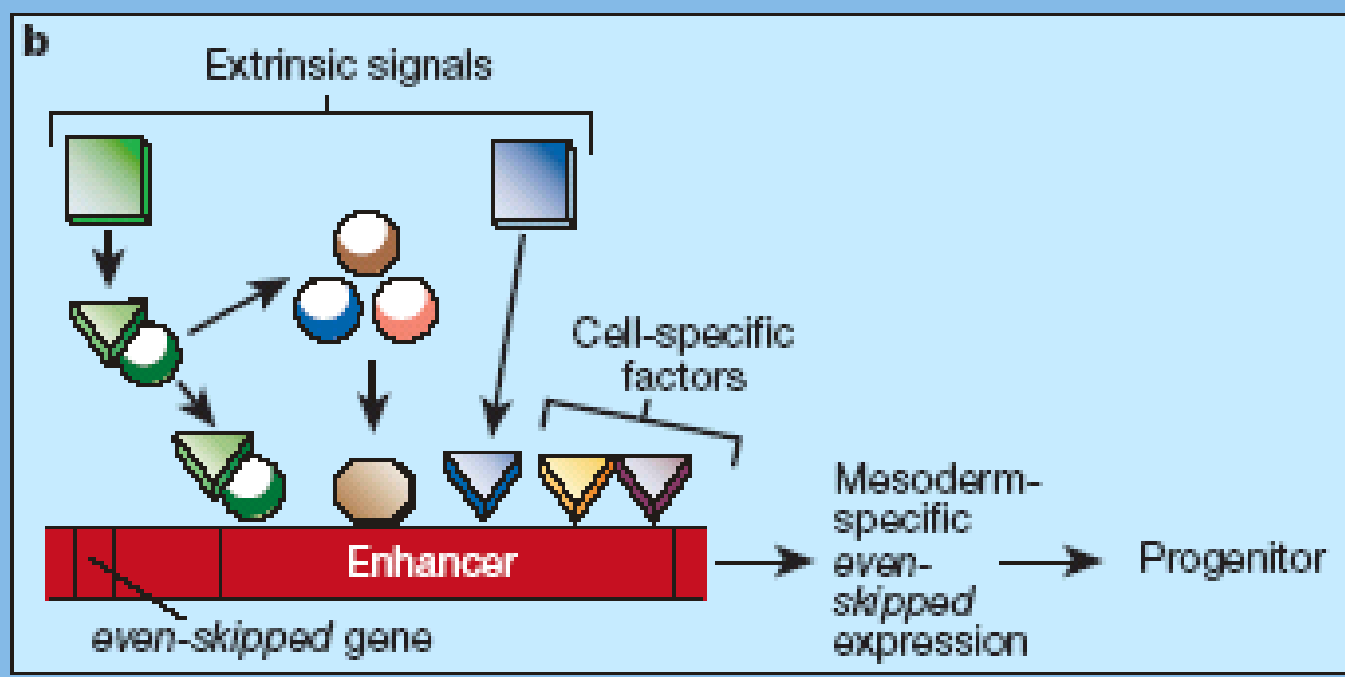
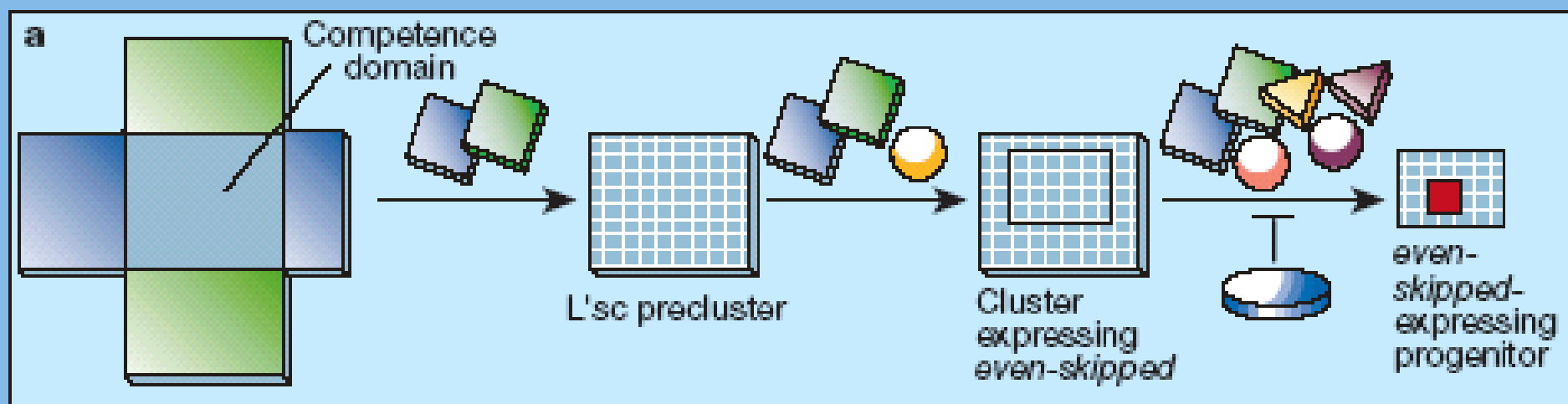
Eve – green
MAPK - red

Arm: Armadillo – a downstream component of the Wg pathway

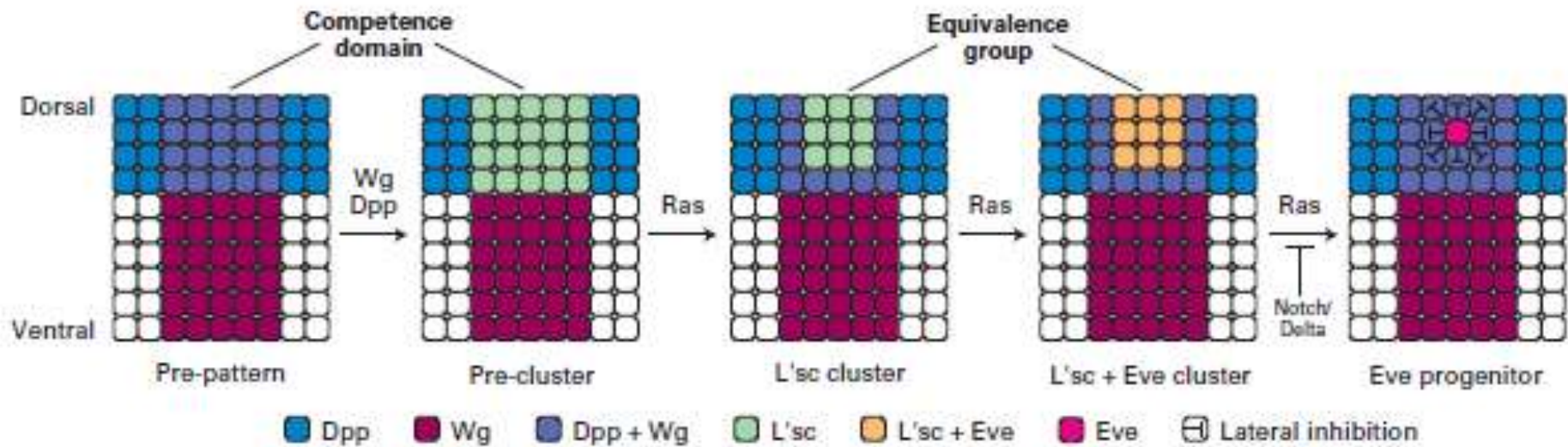
Model for developmental competence, signal interaction and Ras response specificity in the MHE



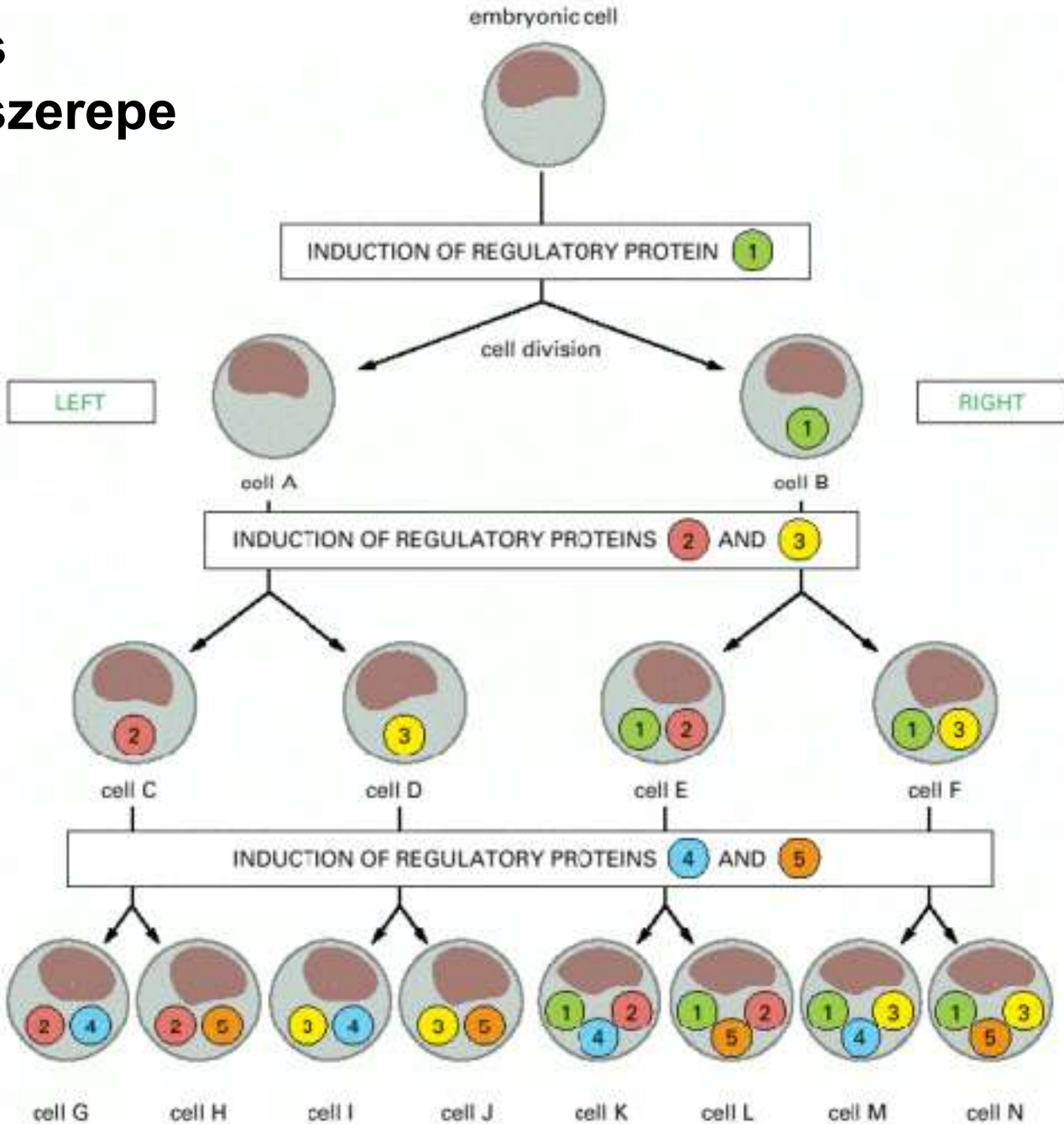
Kombinatorikus génszabályozás: promóterek a transzkripciós faktorok molekuláris integrátorai



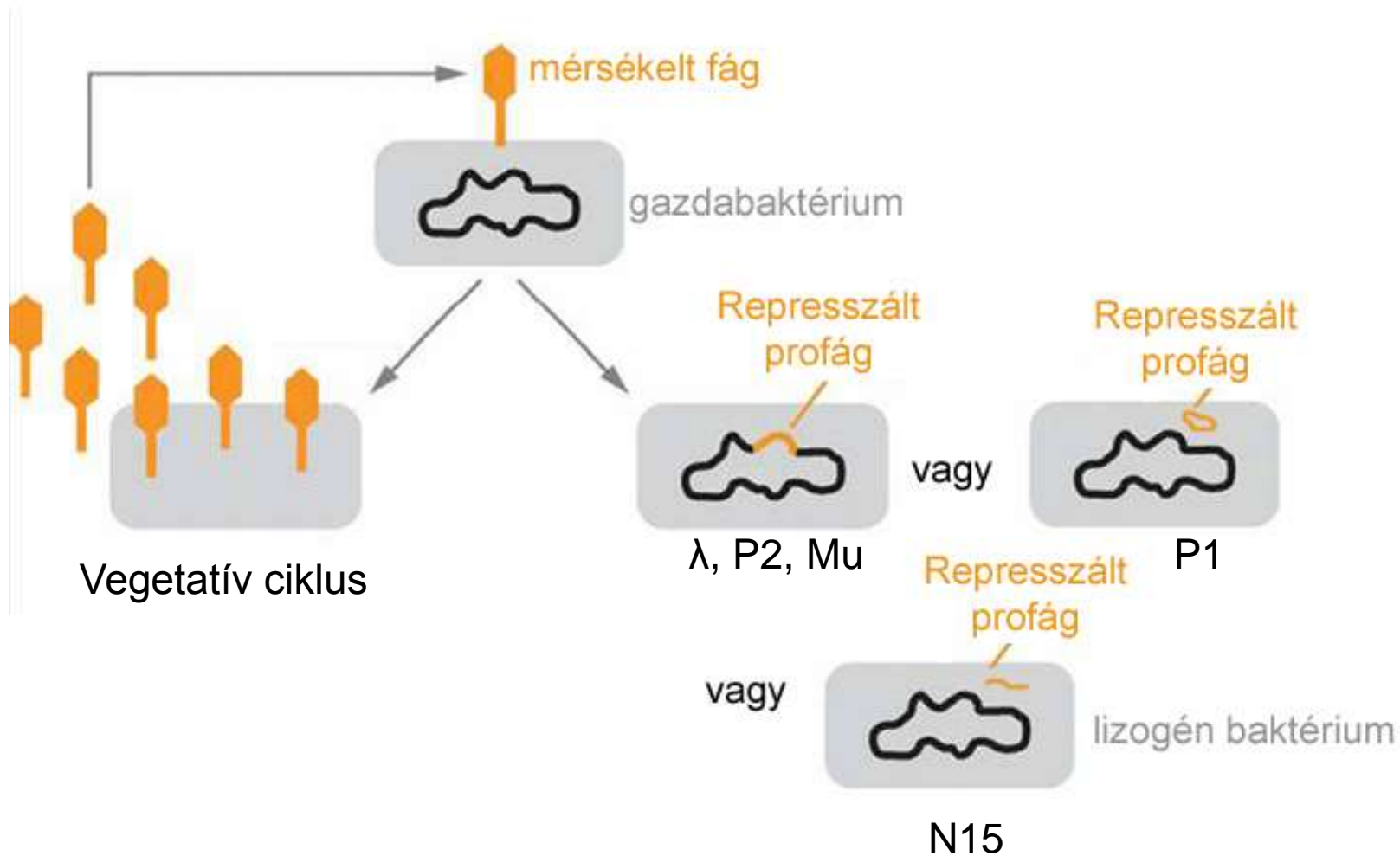
- Wingless
- Decapentagelic
- Notch/Delta
- Ras1
- Tinman
- Twist
- DER
- Htl
- Ets (Yan/Pnt)
- Armadillo
- dTCF
- HBr
- Rho
- Mad



A kombinatorikus génszabályozás szerepe sokfajta sejtípus kialakításában

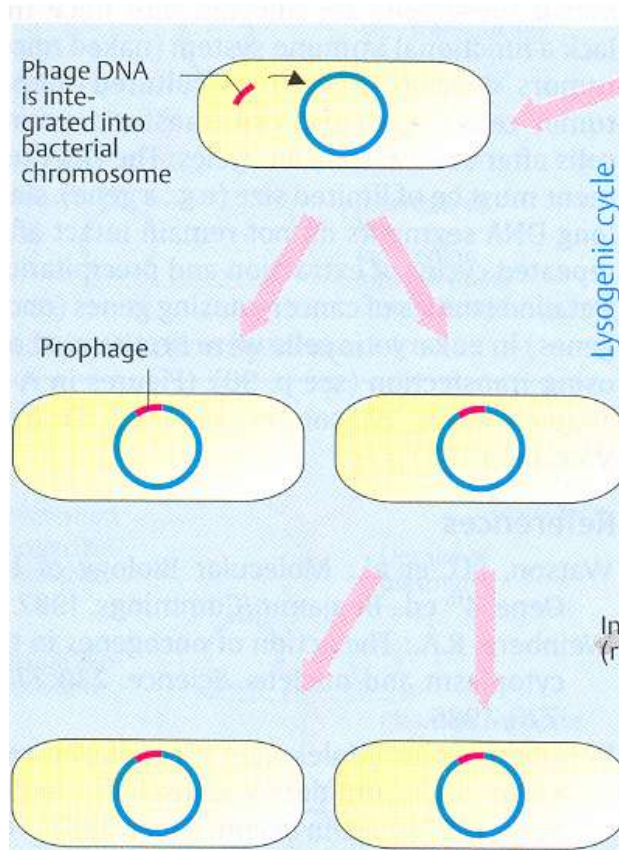


Mérsékelt bakteriofágok – lízis vagy lizogénia

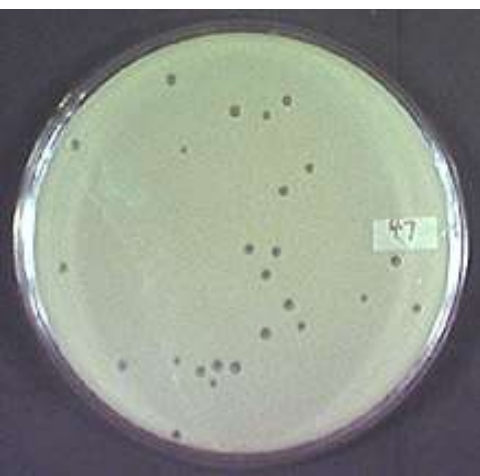
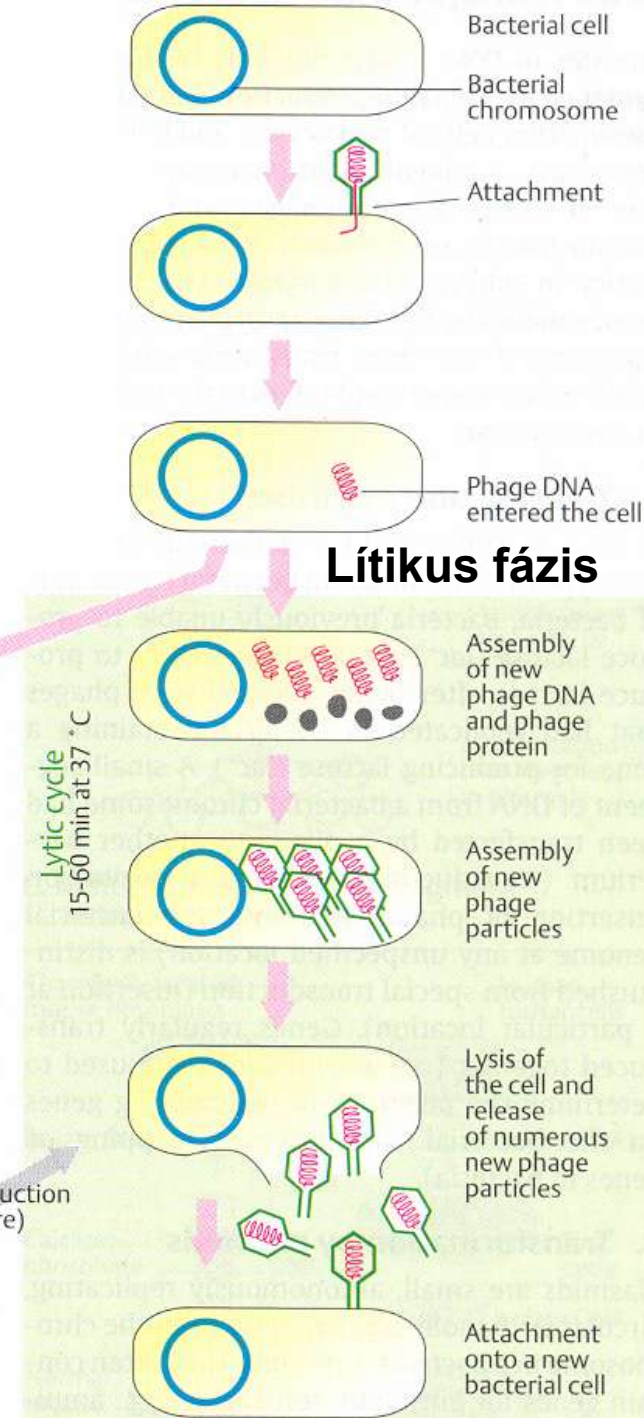


A λ fág szaporodási ciklusa

Lizogén fázis

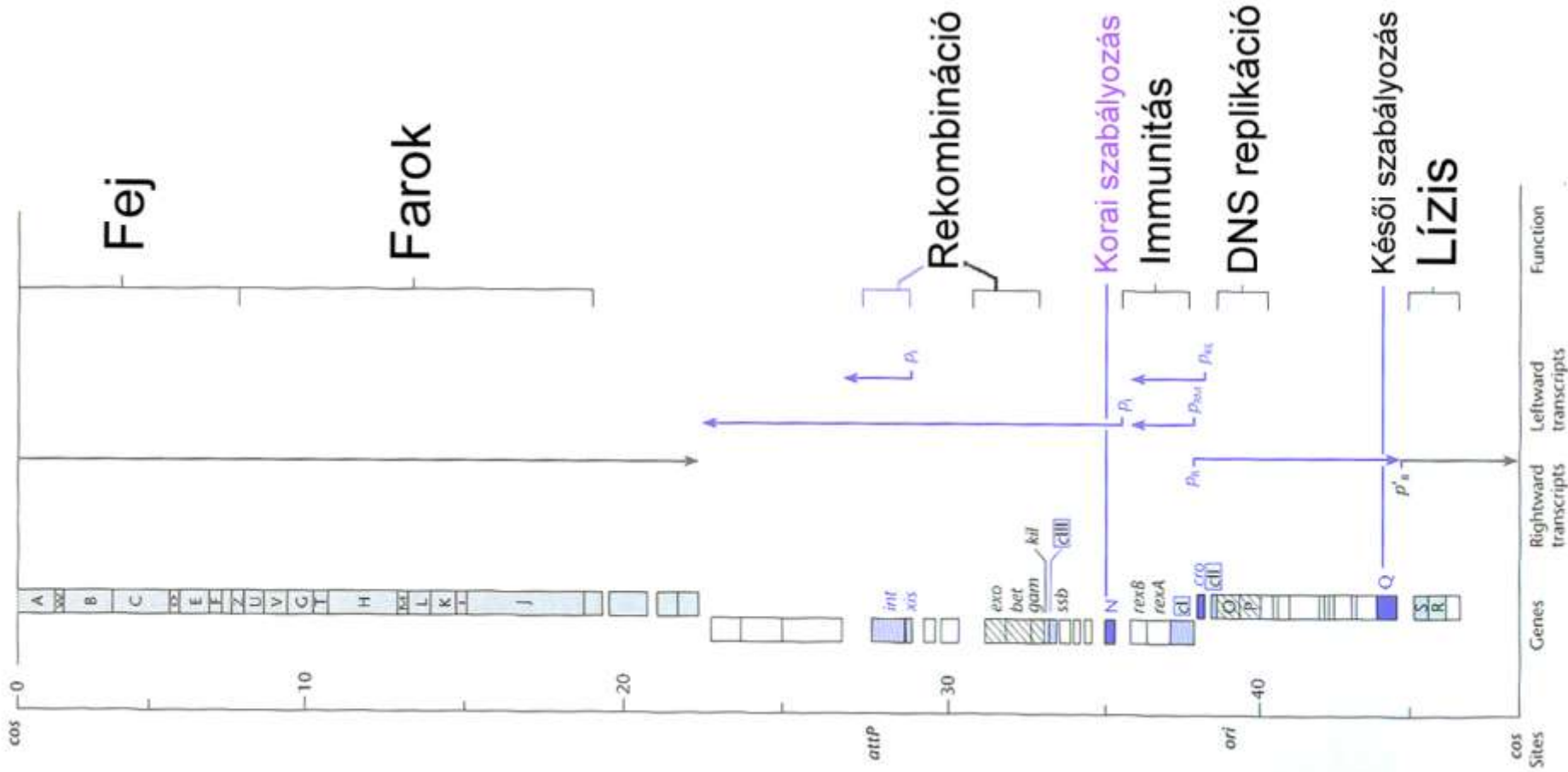


Lítikus fázis

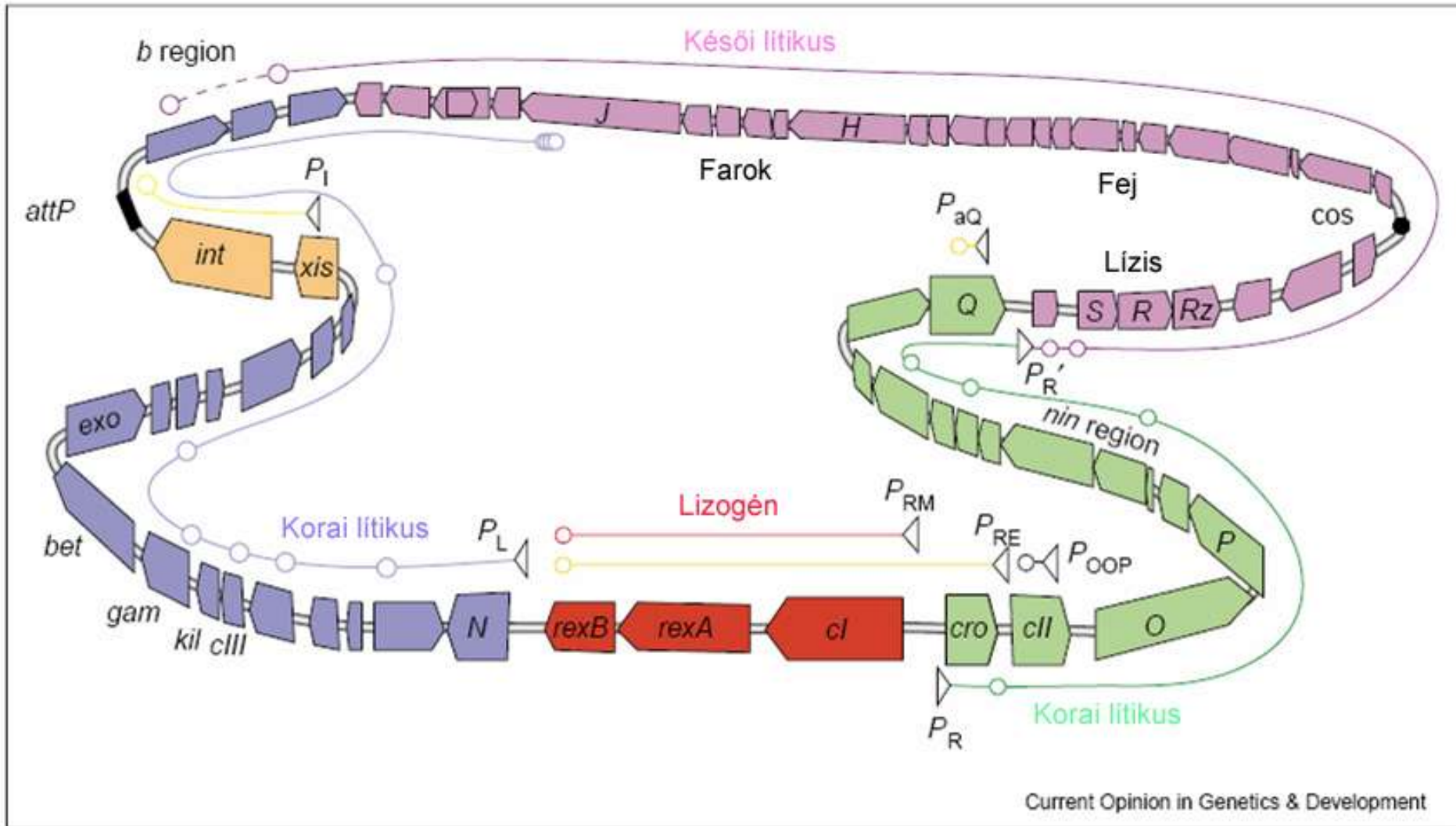


Induction (rare)

A λ fág fizikai térképe



A λ fág genomja



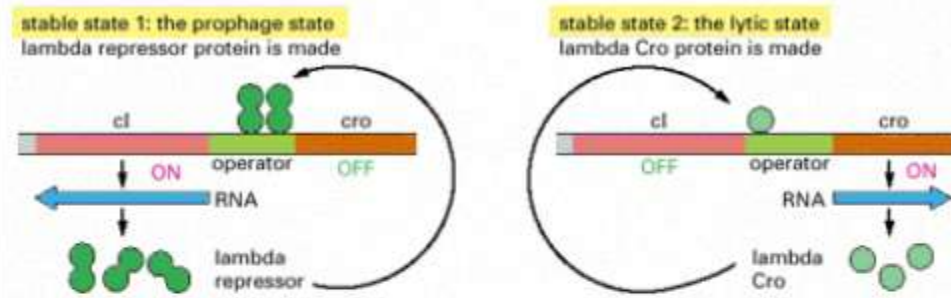
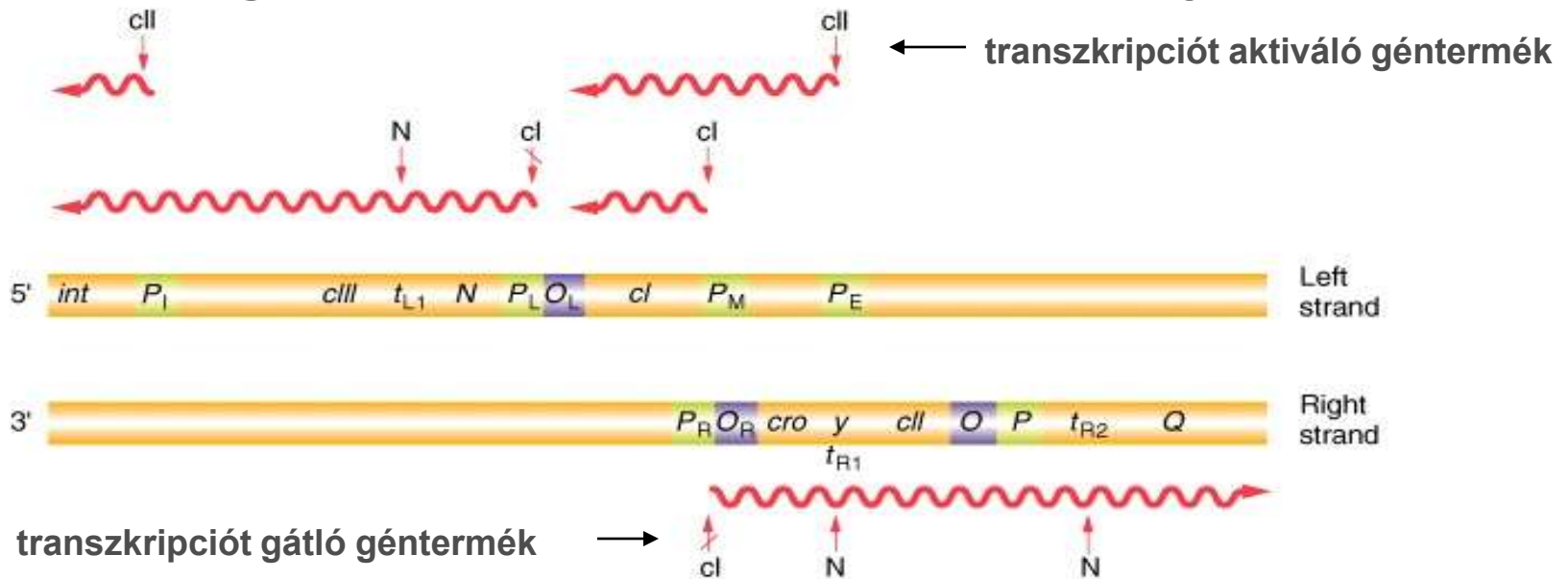


Figure 7-67. A simplified version of the regulatory system that determines the mode of growth of bacteriophage lambda in the *E. coli* host cell. In stable state 1 (the prophage state) the bacteriophage synthesizes a repressor protein, which activates its own synthesis and turns off the synthesis of several other bacteriophage proteins, including the Cro protein. In state 2 (the lytic state) the bacteriophage synthesizes the Cro protein, which turns off the synthesis of the repressor protein, so that many bacteriophage proteins are made and the viral DNA replicates freely in the *E. coli* cell, eventually producing many new bacteriophage particles and killing the cell. This example shows how two gene regulatory proteins can be combined in a circuit to produce two heritable states. Both the lambda repressor and the Cro protein recognize the operator through a helix-turn-helix motif (see [Figure 7-14](#)).

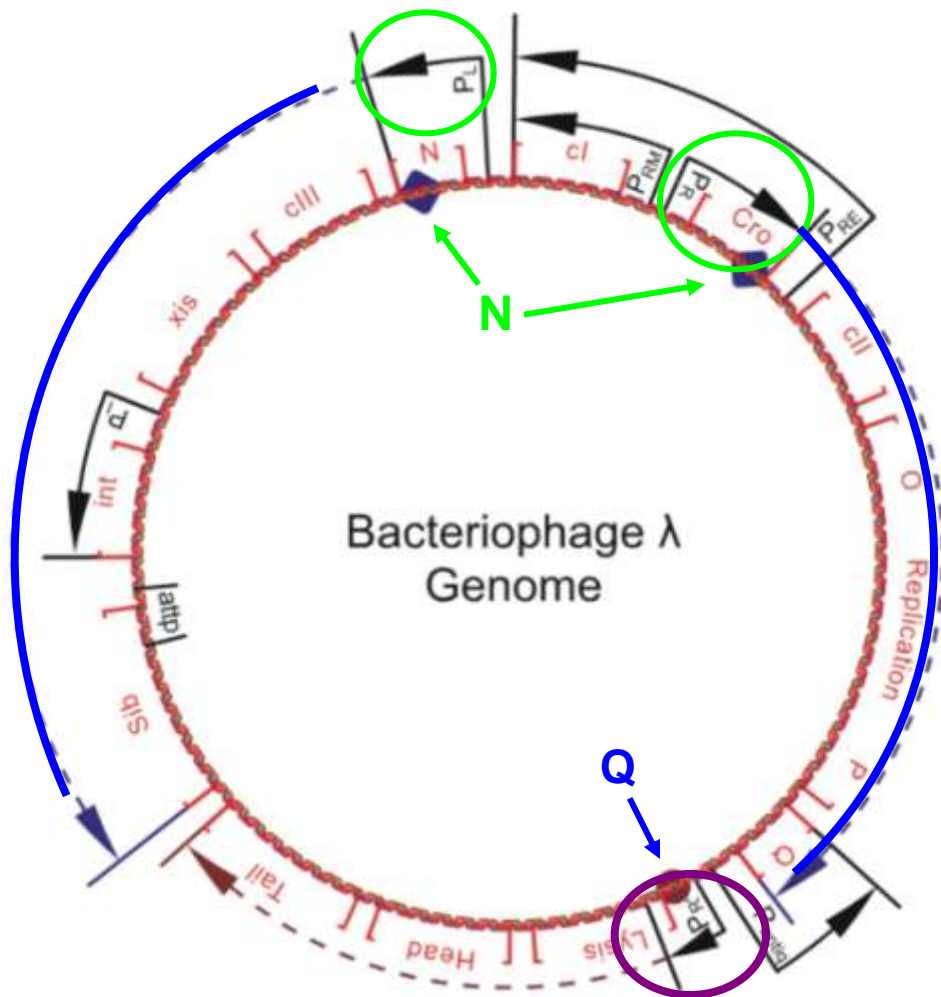
A λ fág szaporodási ciklusának szabályozása



- λ fertőzéskor két promóter lép egyszerre működésbe a jobb (P_R) és a bal (P_L).
- A két átírási irány versenye dönti el, hogy litikus vagy lizogén ciklusba lépjen-e a fág.
- A P_L által átírt első gén az N , mely egy transzkripció terminátor fehérjét kódol. Az N fehérje több jelzett ponton megszakítja a gének átírását. Ha az N fehérjének sikerül megakadályoznia a cII gén átírását, akkor a litikus ciklus indul el.
- A P_R által átírt egyik gén a cII , amely a lizogén ciklus elindításának a kulcsa. A lizogénia kialakulásához ki kell fejeződnie a cl (clear plaque) génnek. Ennek két promótere van: A P_E (establishment) a lizogénia elkezdésekor a P_M (maintenance) a lizogénia fenntartásakor aktív. A P_E promóter aktivátora a cII géntermék, a P_M promóter aktivátora a saját cl génterméke. A cl fehérje meggátolja az N gén átíródását, tehát a P_R átírás „győzelme” lizogéniát eredményez.

Génexpressziós kaszkád a vegetatív szaporodás során

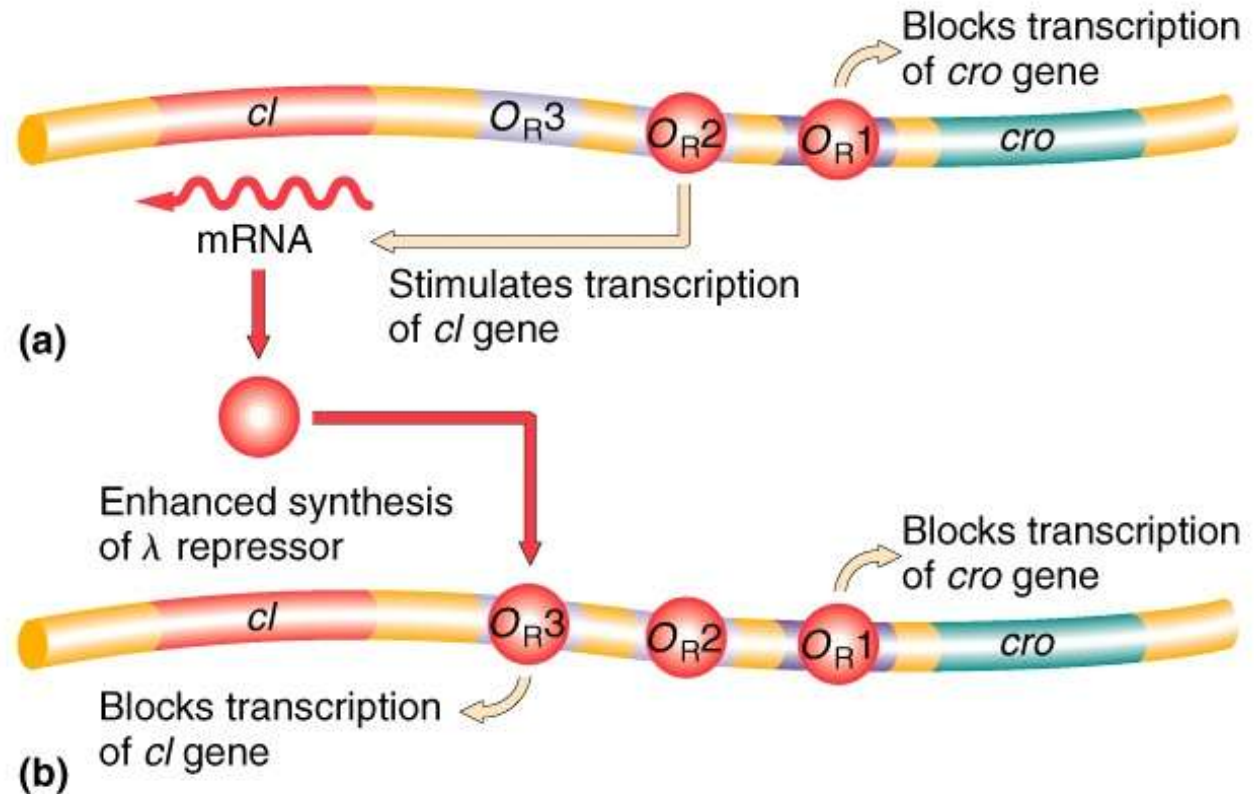
A génexpressziós kaszkád és a gének moduláris szerveződése lehetővé tesz alternatív fejlődési útvonalakat



- Korai transzkripció
- Késleltetett korai transzkripció
- Késői transzkripció

A λ fág lizogénia fenntartása

A represszor *cl* génterméke saját szintézisét irányítja a P_M promóterről. A P_M három operátorral rendelkezik, melyek következő sorrendben csökkenő affinitással kötik a *cl* fehérjét: $O_{R1} > O_{R2} > O_{R3}$.



Az O_{R1} -re kötődő represszor segíti további represszor bekötődését az O_{R2} -re, és egyben megakadályozza a *cro* gén átíródását. Ha a represszor az O_{R2} -n jelen van, az a saját mRNS-ének átírását fokozza, ezzel tovább emelve a *cl* fehérje szintjét a sejtben. Bizonyos *cl* koncentráció felett az O_{R3} is kötésbe kerül, ami meggátolja a további *cl* transzkripciót. Ha az O_{R1} kötése megszűnik, akkor a *cro* gén átíródhat. A *cro* fehérje O_{R3} -hoz kötődve megakadályozza a *cl* represszor további szintézisét, és elindulhat a litikus ciklus.