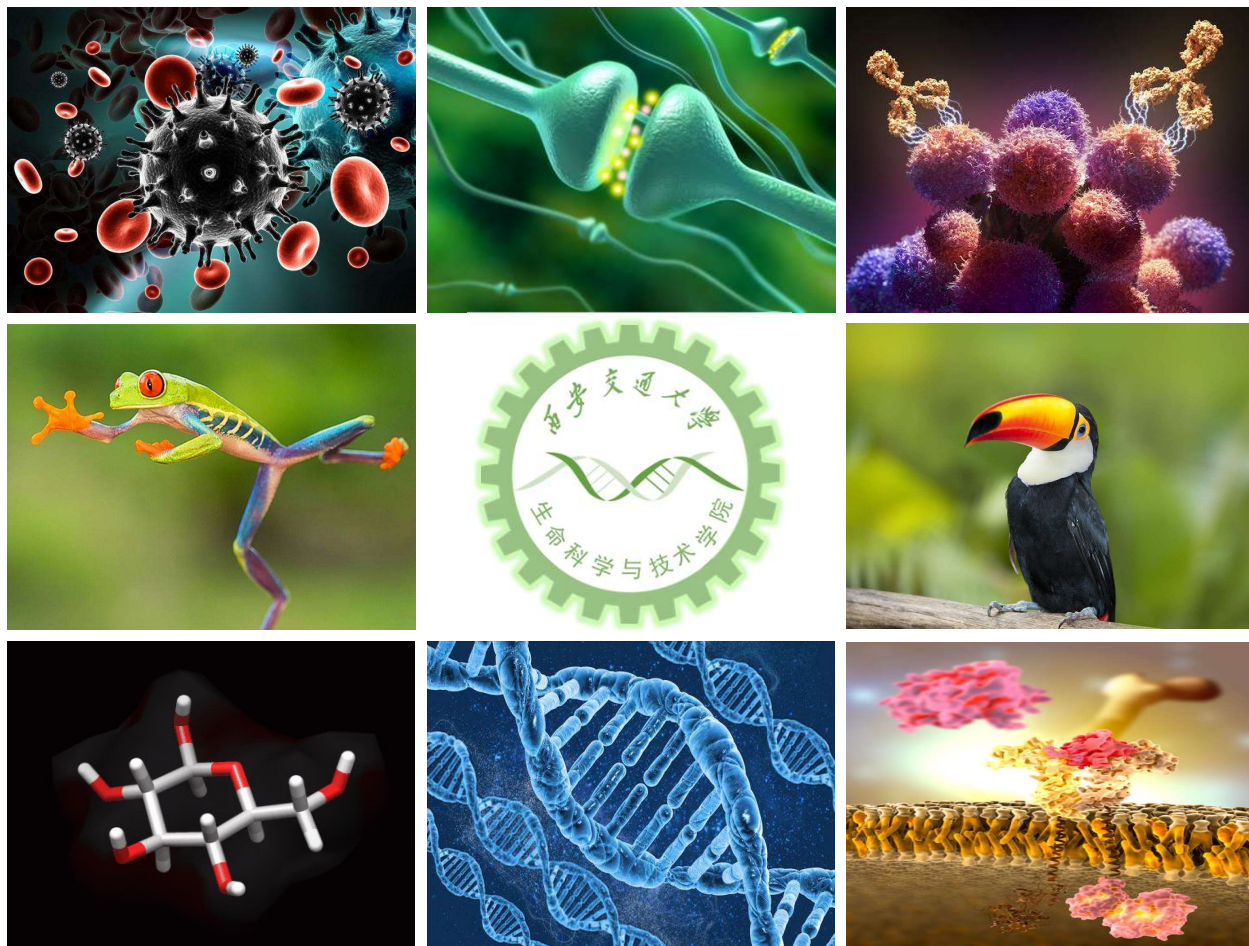




西安交通大学
XI'AN JIAOTONG UNIVERSITY

生命科学基础 I

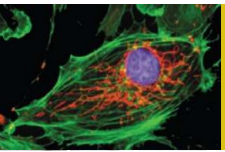


Chapter 5 细胞遗传信息的 表达及调控

冯怡

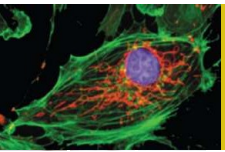


生命科学与技术学院
School of Life Science and Technology



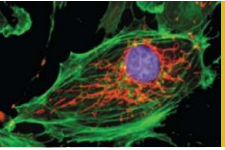
基因表达调控的生物学意义

- ❖ 在一定调节机制控制下，基因通过转录和翻译产生其蛋白质产物，或转录后直接产生RNA产物。
- ❖ 围绕基因表达过程中发生的各种各样的调节方式都统称为基因表达调控
- ❖ 基因表达调控包括在DNA水平、转录水平、转录后水平和翻译水平，但**转录水平的调节**是最有效、最经济的方式，也是**最主要的调节方式**



基因表达调控的生物学意义

- ❖ **原核生物的基因表达调控多以操纵子为单位进行，即将功能相关的基因组织在一起，同时开启或关闭基因表达**
- ❖ **基因调控的模式分为两大类：正调控和负调控**



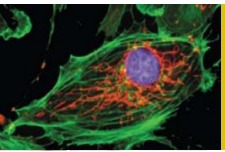
结构基因和调节基因

❖ **结构基因 (Structural genes) :**

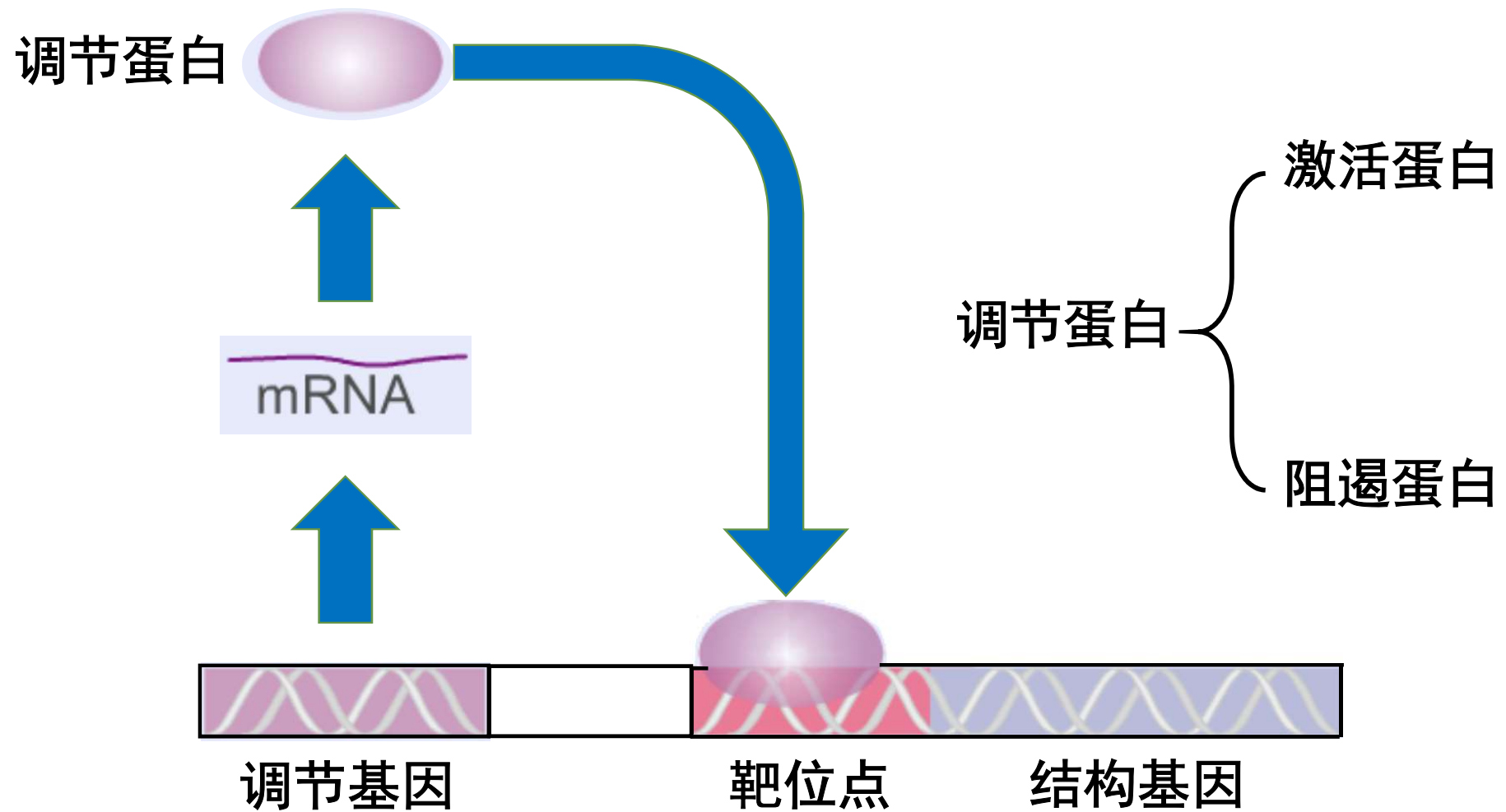
编码有功能产物的 (RNA或蛋白质) 的基因

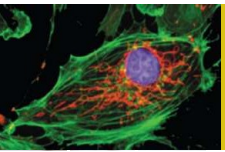
❖ **调节基因 (Regulatory genes) :**

编码那些控制其他基因表达的RNA或蛋白质的基因

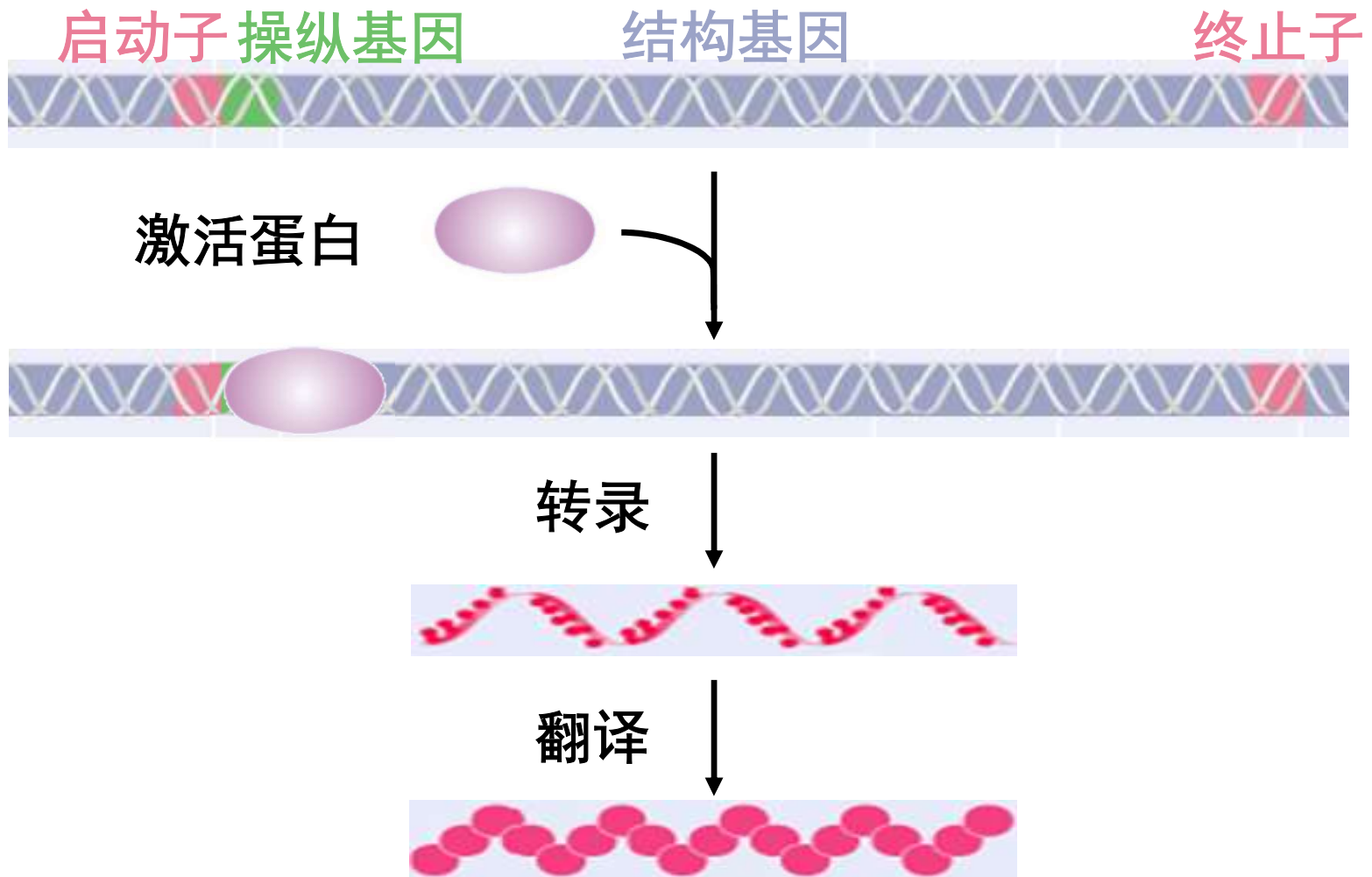


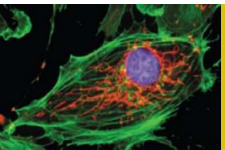
结构基因和调节基因



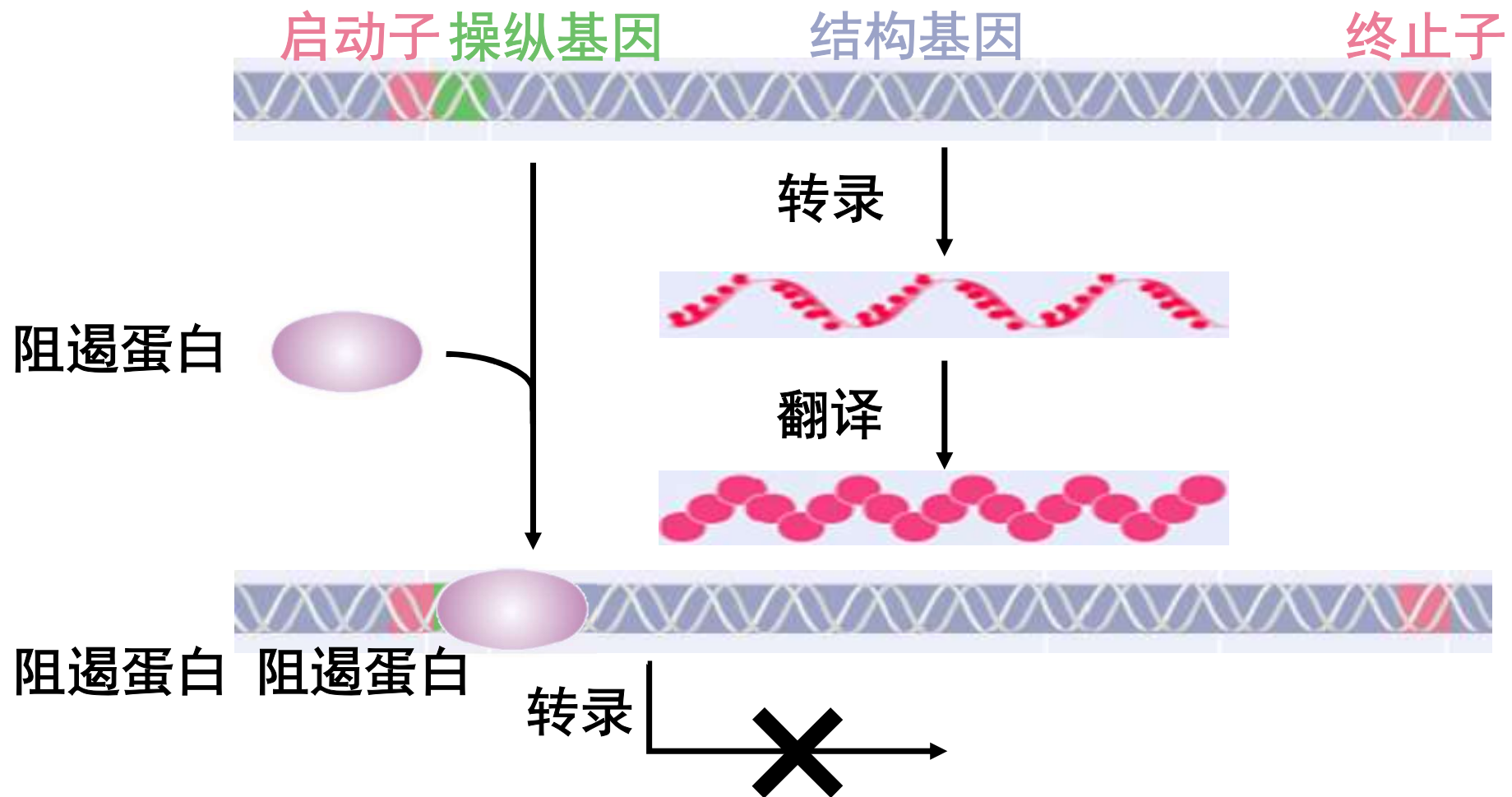


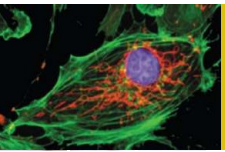
正调控





负调控

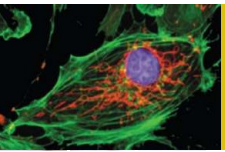




原核生物基因表达调控的类型

❖ 原核生物基因表达调控分为：

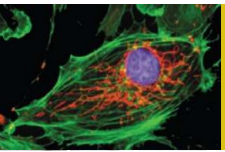
- **正调控 (Positive regulation)**：如果在没有调节蛋白存在时基因是关闭的，加入这种调节蛋白后基因活性就被增强或开启，这样的调控为正调控。
- **负调控 (Negative regulation)**：在没有调节蛋白存在时基因是表达的，加入这种调节蛋白后基因表达活性降低或被关闭，这样的调控为负调控。



激活蛋白与阻遏蛋白

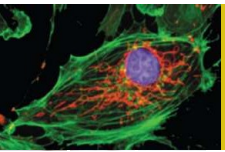
❖ 参与基因表达调控的调节蛋白分为：

- 与缺乏调节蛋白时比较，若调节蛋白使靶基因的表达水平上升，该调节蛋白称为**激活蛋白 (Activator)**
- 与缺乏调节蛋白时比较，若调节蛋白使基因的表达水平下降，甚至关闭，该调节蛋白称为**阻遏蛋白 (Repressor)**



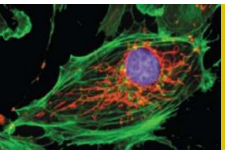
诱导与阻遏

- ❖ **诱导 (Induction)** : 在特定环境信号作用下, 相应的基因被激活, 基因表达产物增加, 则称为这种基因是可诱导的
- ❖ **阻遏 (Repression)** : 在特定环境信号作用下, 相应的基因被抑制, 基因表达水平下降或基因关闭, 则称为这种基因是可阻遏的

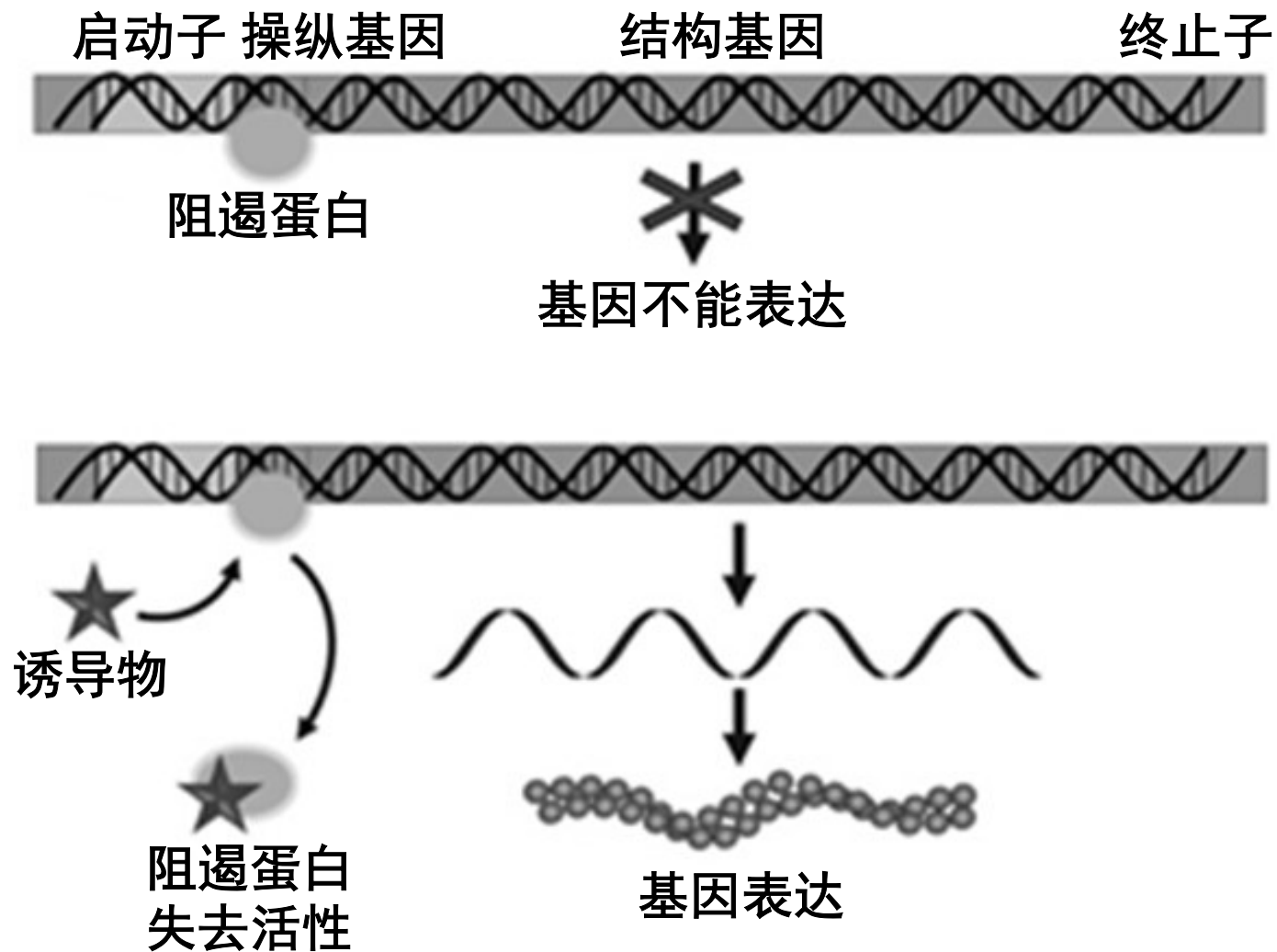


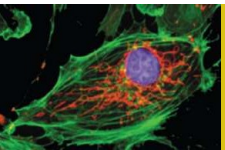
诱导物与辅阻遏物

- ❖ 某些特定的物质能与调节蛋白结合，使调节蛋白的空间构像发生变化，从而改变其对基因转录的影响，这些特定物质可称为**效应物 (Effector)**，分为：
 - **诱导物 (Inducer)**：使激活蛋白激活或使阻遏蛋白失活的小分子，从而实现诱导
 - **辅阻遏物 (Co-repressor)**：使激活蛋白失活或使阻遏蛋白激活的小分子，从而实现阻遏

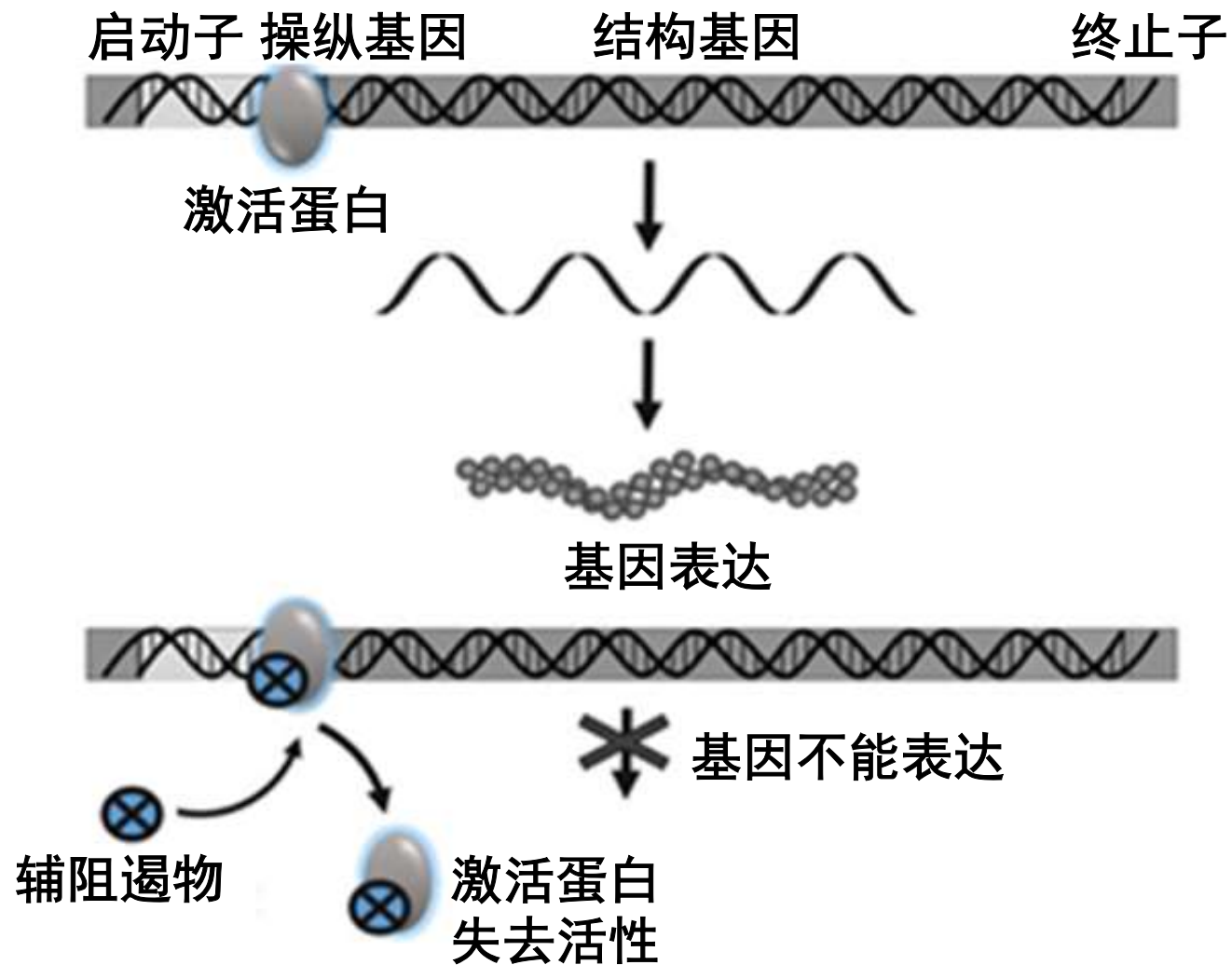


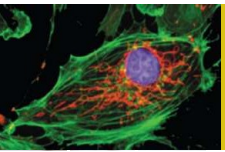
诱导物诱导结构基因表达





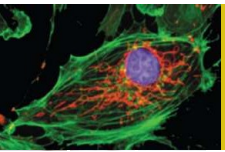
辅阻遏物抑制结构基因表达





原核生物结构基因表达的四种调控类型

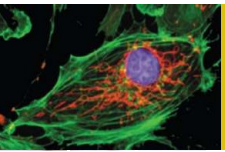
- ❖ 可诱导的正调控系统
- ❖ 可阻遏的正调控系统
- ❖ 可诱导的负调控系统
- ❖ 可阻遏的负调控系统



可诱导的正调控与可阻遏的正调控

❖ 正调控分为：

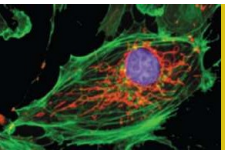
- **可诱导的正调控系统：**无活性的激活蛋白在诱导物的作用下，转变为有活性的激活蛋白，能与操纵基因结合，从而开启结构基因的转录
- **可阻遏的正调控系统：**激活蛋白可与操纵基因结合，促进结构基因的转录，但当其与辅阻遏物结合后，不能启动结构基因的转录



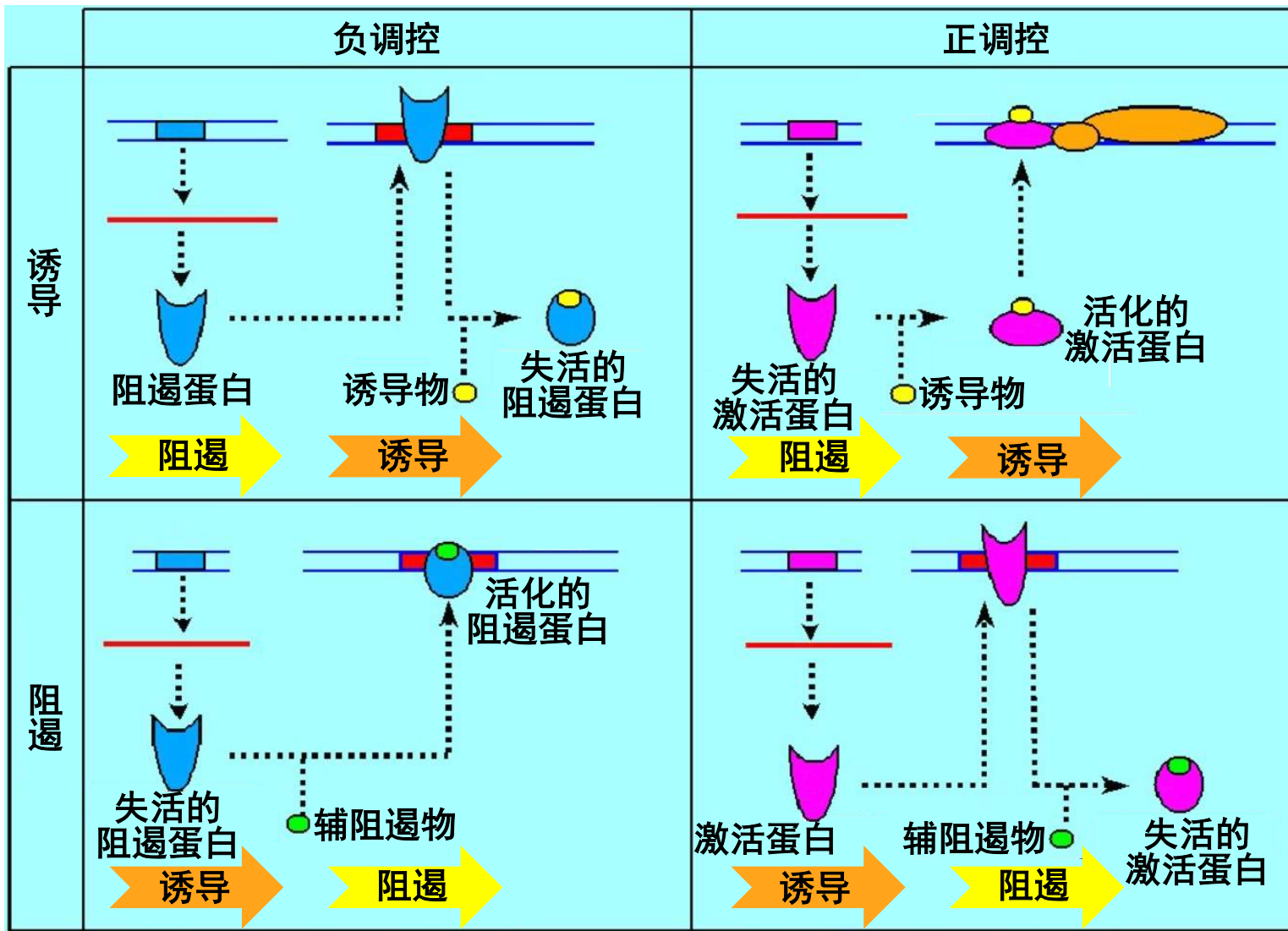
可诱导的正调控与可阻遏的正调控

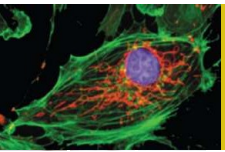
❖ 负调控可分为：

- **可诱导的负调控系统：**阻遏蛋白与操纵基因结合，可阻止结构基因的转录，但有诱导物时，诱导物的结合使阻遏蛋白失活，从而解除对结构基因转录的抑制
- **可阻遏的负调控系统：**无活性的阻遏蛋白不影响结构基因的转录，但与辅阻遏物结合后，转变为有活性的阻遏蛋白，抑制结构基因的转录



原核生物结构基因的四种表达调控类型

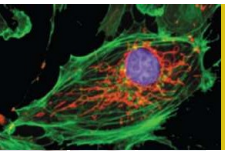




大肠杆菌乳糖操纵子



- ❖ 1961年 Francois Jacob and Jacques Monod (Pasteur Institute, Paris, France) 提出了操纵子学说
- ❖ 1965年，获得诺贝尔生理医学奖



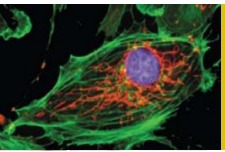
大肠杆菌乳糖操纵子



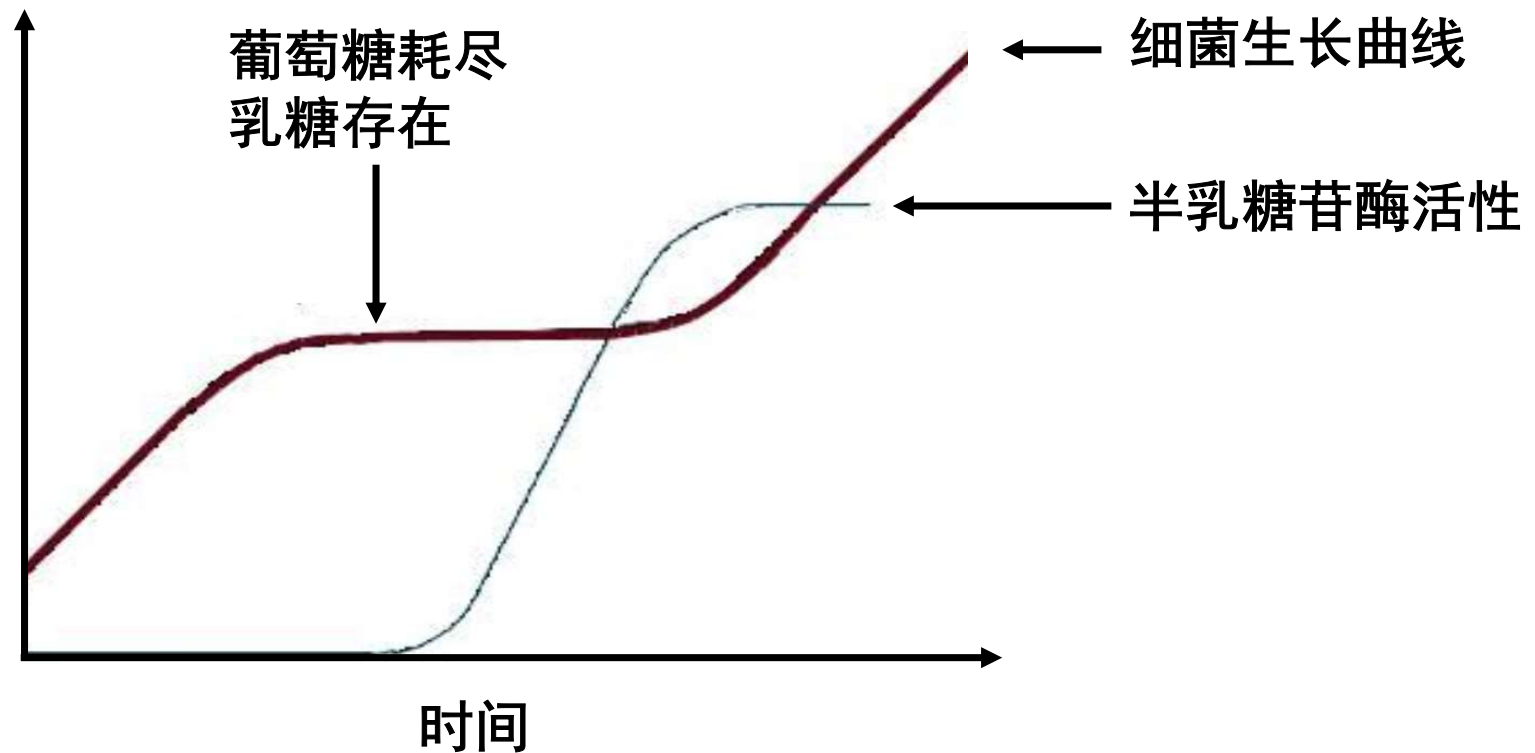
Jacques Monod, 1910-1976

❖ 1940年, Monod发现, 大肠杆菌在含葡萄糖和乳糖的培养基上生长时:

- 细菌先利用葡萄糖, 葡萄糖耗尽后, 才利用乳糖
- 在糖源转变期, 细菌的生长会出现停顿, 即产生 “二次生长曲线”



大肠杆菌二阶段生长现象

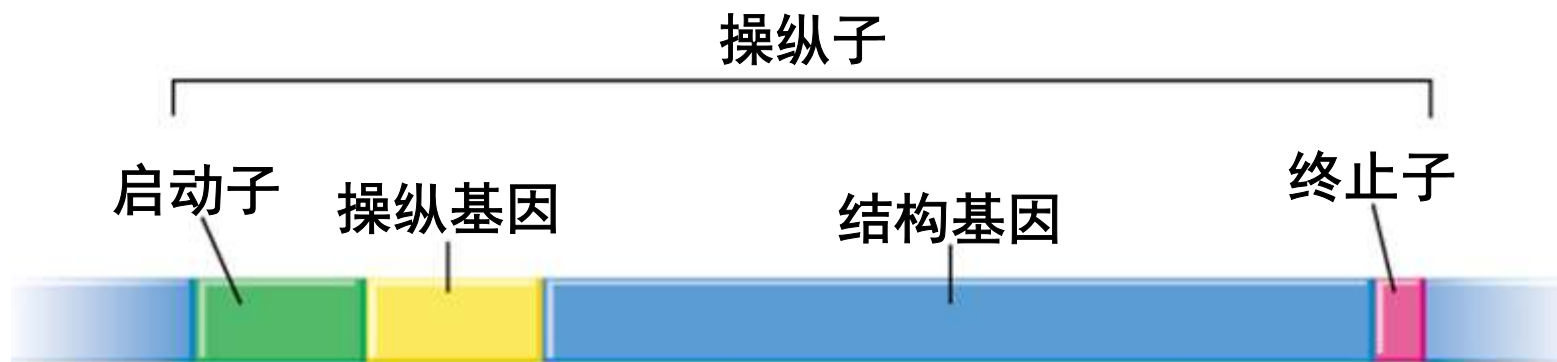


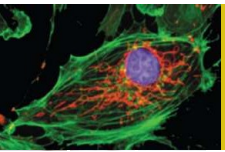
- 乳糖对半乳糖苷酶的合成有诱导作用
- 葡萄糖对半乳糖苷酶的合成有抑制作用

操纵子

❖ **操纵子 (Operon)**：操纵子是细菌基因表达和调节的单位，包括结构基因和DNA上能被调节蛋白辨认的控制元件，包括：

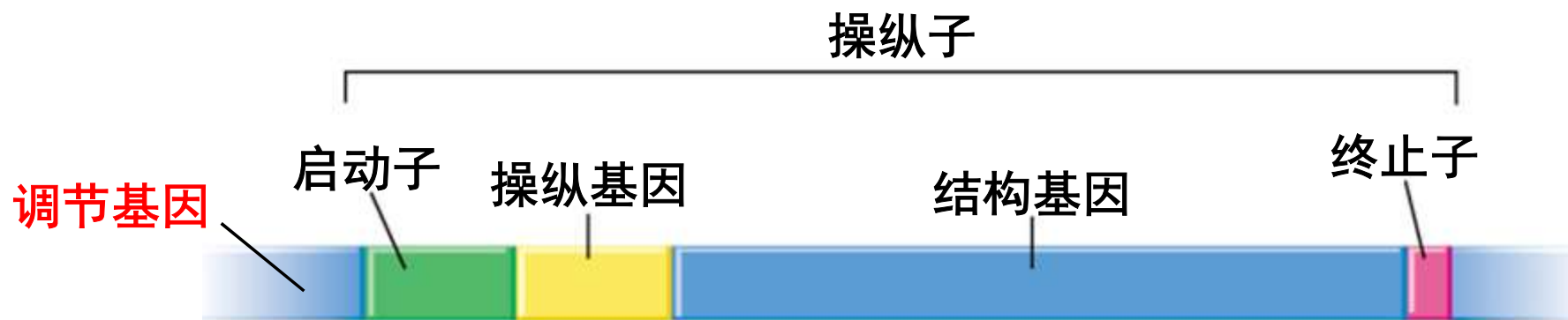
- **启动子 (Promoter)**：启动结构基因转录的一段核苷酸序列
- **操纵基因 (Operator)**：可结合调节蛋白的一段核苷酸序列
- **结构基因 (Structural genes)**：编码蛋白质或RNA的基因
- **终止子 (Terminator)**：标注转录终止的一段核苷酸序列



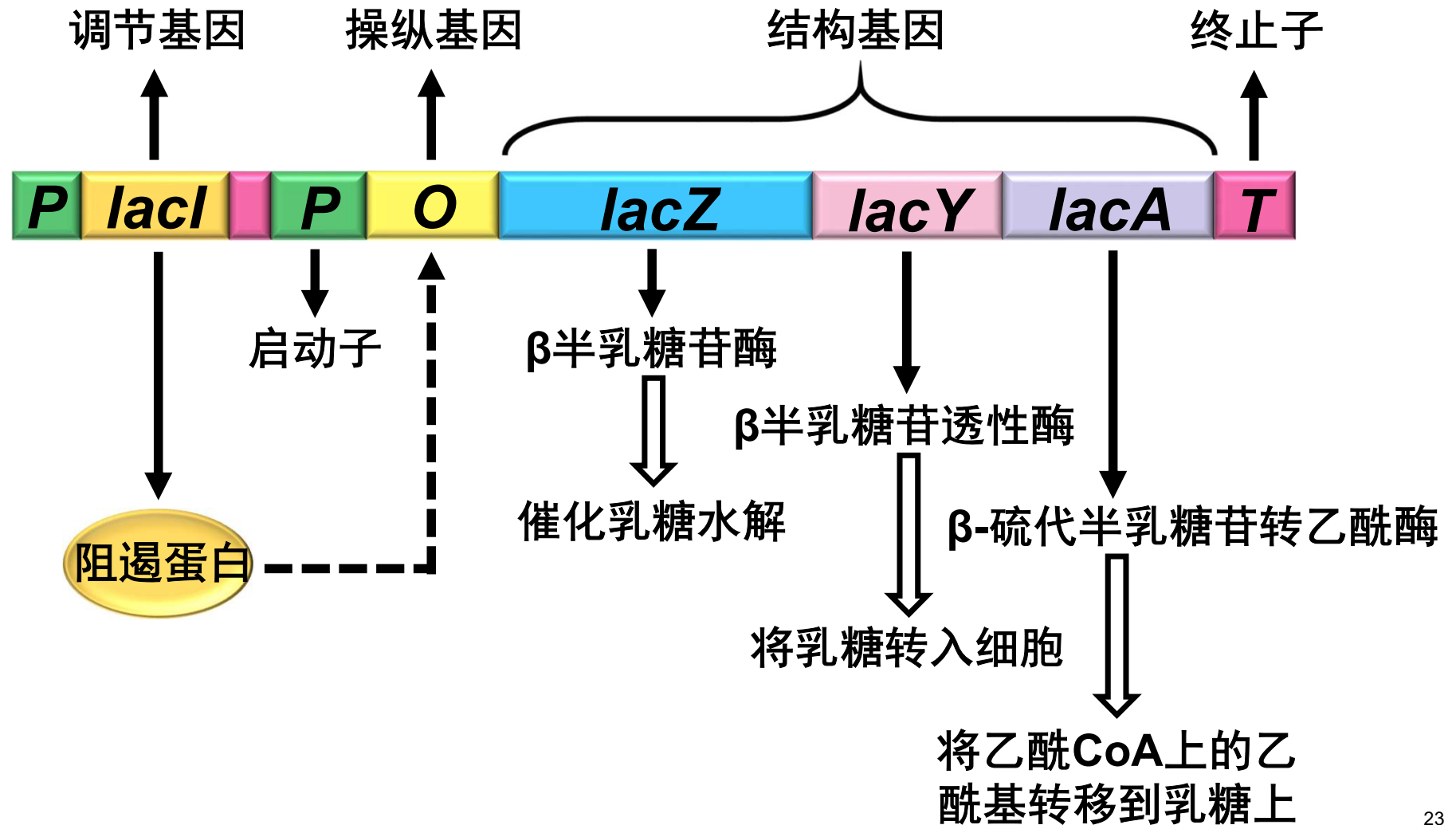


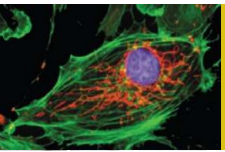
操纵子

- ❖ 操纵子可通过阻遏蛋白关闭
- ❖ 阻遏蛋白通过与操纵基因结合，阻断RNA聚合酶进行基因的转录
- ❖ 阻遏蛋白是**调节基因 (Regulator gene)** 的编码产物，调节基因是参与其他基因表达调控的编码基因



大肠杆菌乳糖操纵子 (lac Operon) 结构





结构基因

❖ *lacZ*基因编码β-半乳糖苷酶 (β-galactosidase) :

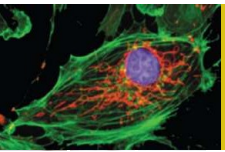
- 由500kd的四聚体构成，可以切断乳糖（是一种半乳糖苷）的半乳糖苷键，产生半乳糖和葡萄糖

❖ *lacY*基因编码β半乳糖苷透性酶 (Galactoside permease) :

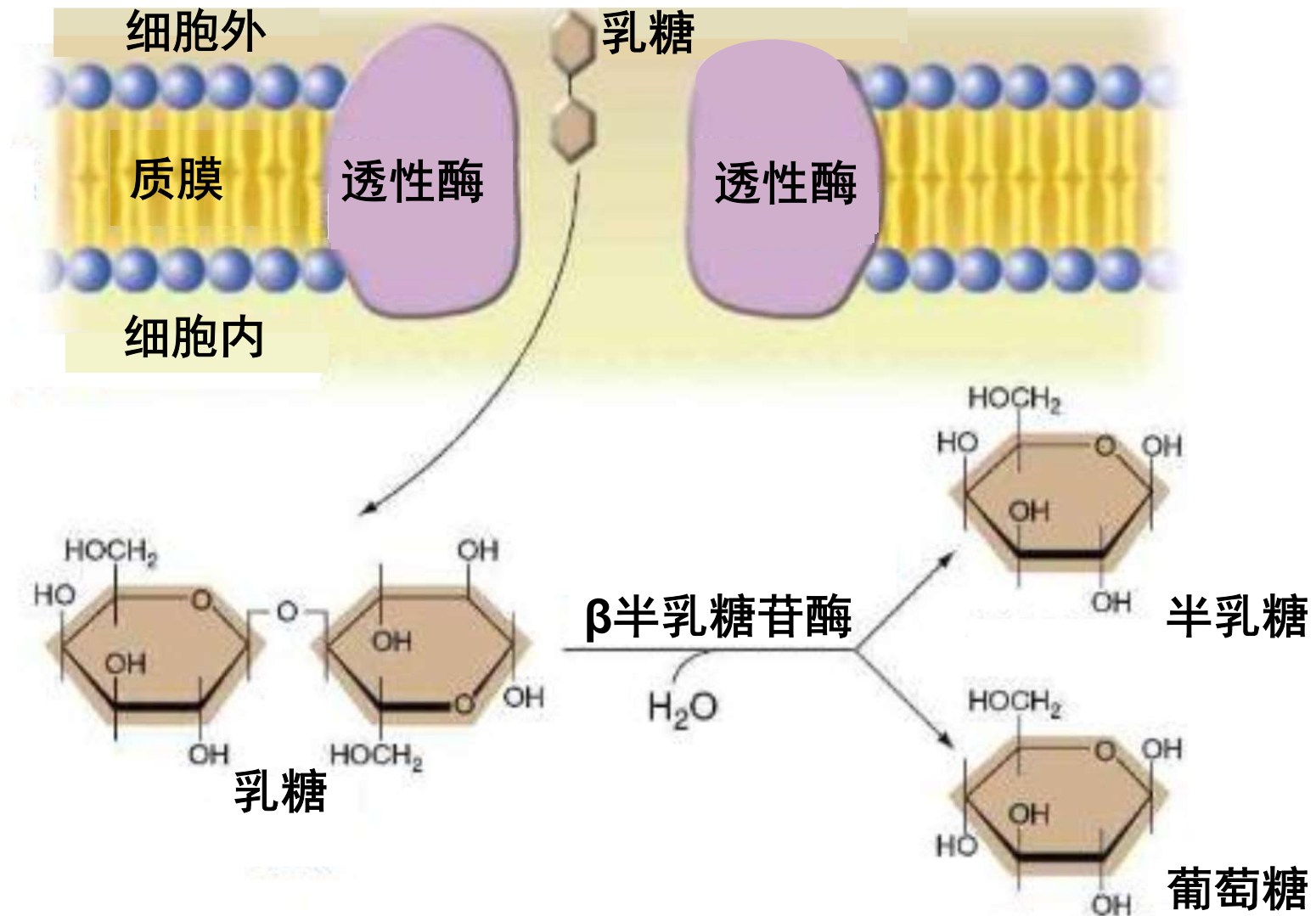
- 是一种分子量为30kD膜结合蛋白，它构成转运系统，将乳糖运入到细胞中

❖ *lacA*基因编码β硫代半乳糖苷转乙酰酶 (Thiogalactoside transacetylase) :

- 将乙酰-辅酶A上的乙酰基转移到乳糖上，形成乙酰半乳糖

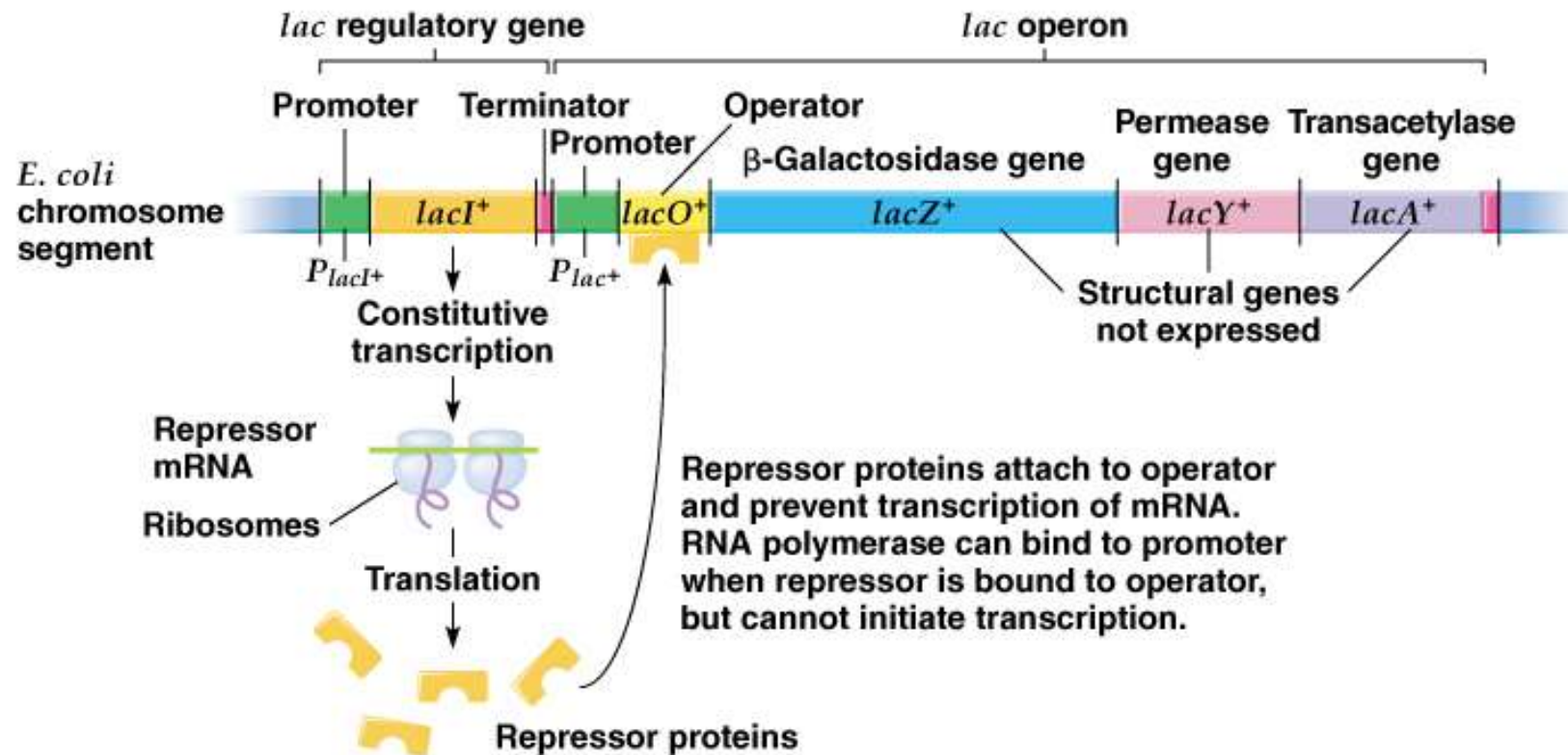


大肠杆菌利用乳糖

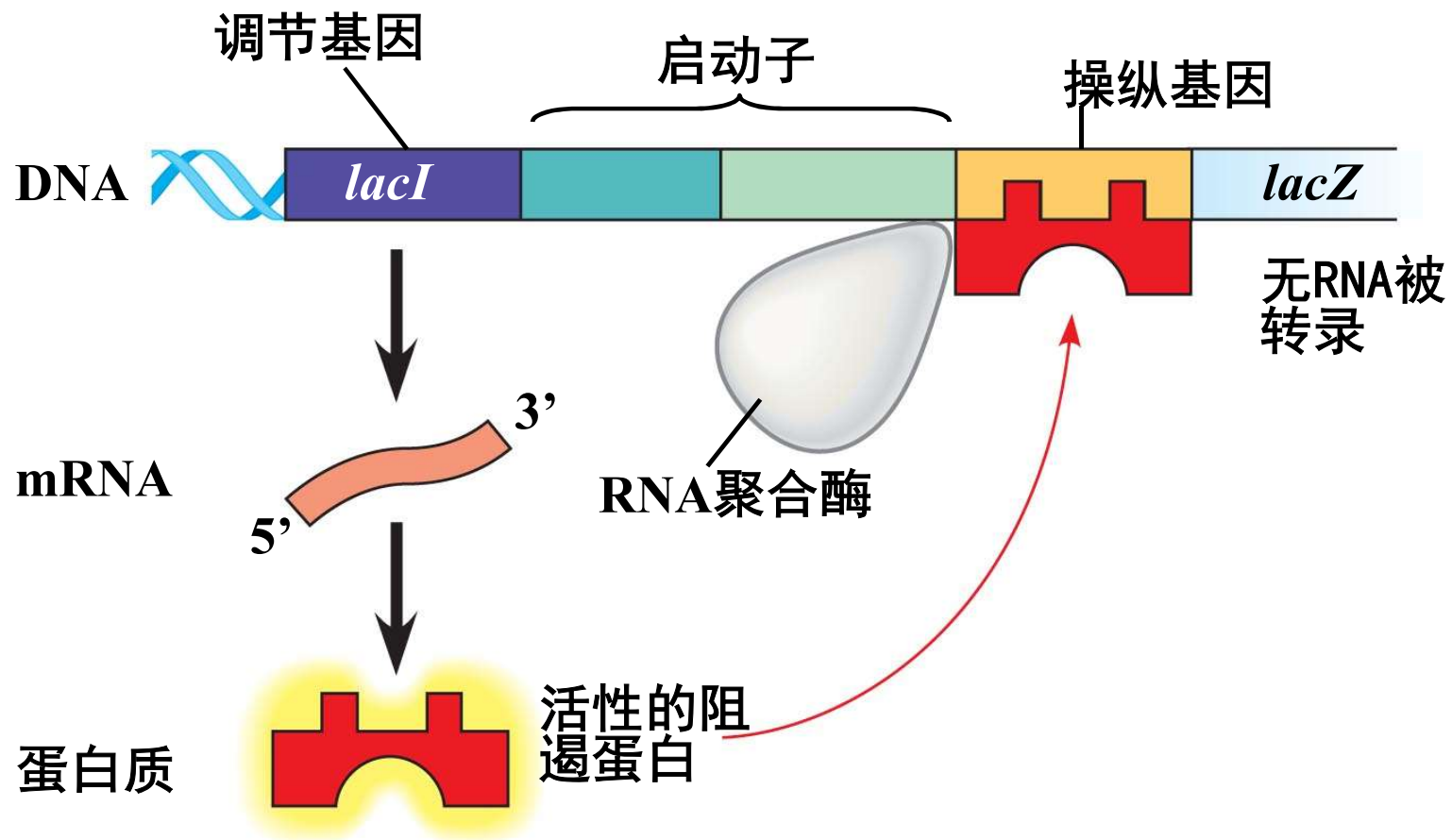


大肠杆菌乳糖操纵子：可诱导的负调控

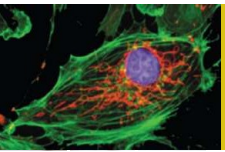
- ❖ 没有乳糖时，调节基因表达的阻遏蛋白可以结合到操纵基因上，阻止 *lac* 操纵子结构基因Z、Y、A的转录，属于**负调控**



大肠杆菌乳糖操纵子：可诱导的负调控

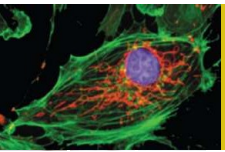


无乳糖存在时，阻遏蛋白为活性状态，此时 *lac* 操纵子关闭

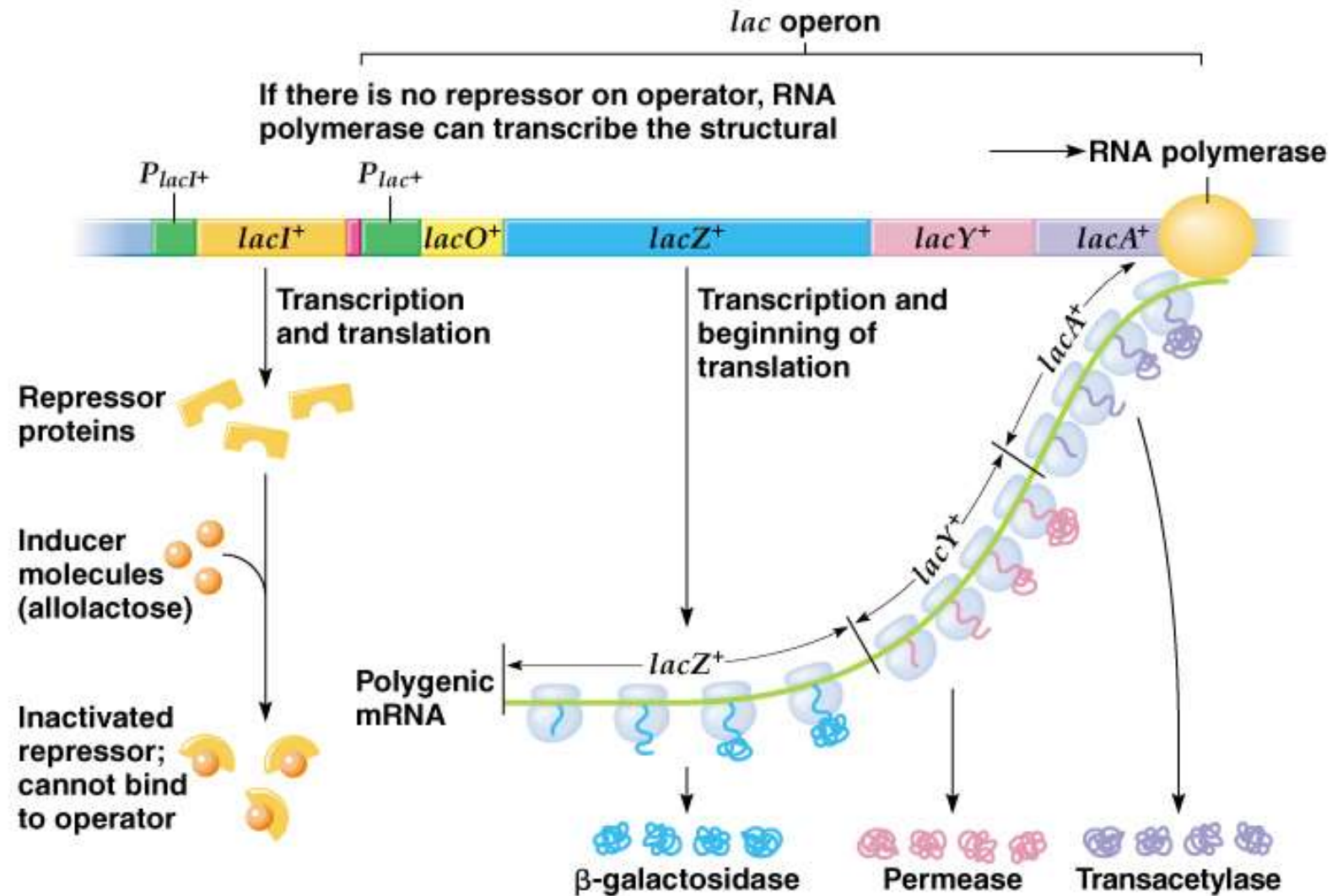


大肠杆菌乳糖操纵子：可诱导的负调控

- ❖ 有乳糖时，乳糖作为诱导物，转变为异乳糖，和阻遏蛋白结合，阻遏蛋白结构发生变化失去活性，无法结合到操纵基因上，*lac*操纵子结构基因Z、Y、A得以表达，属于**可诱导的负调控**
- ❖ 真正的诱导物是乳糖的同分异构体——异乳糖

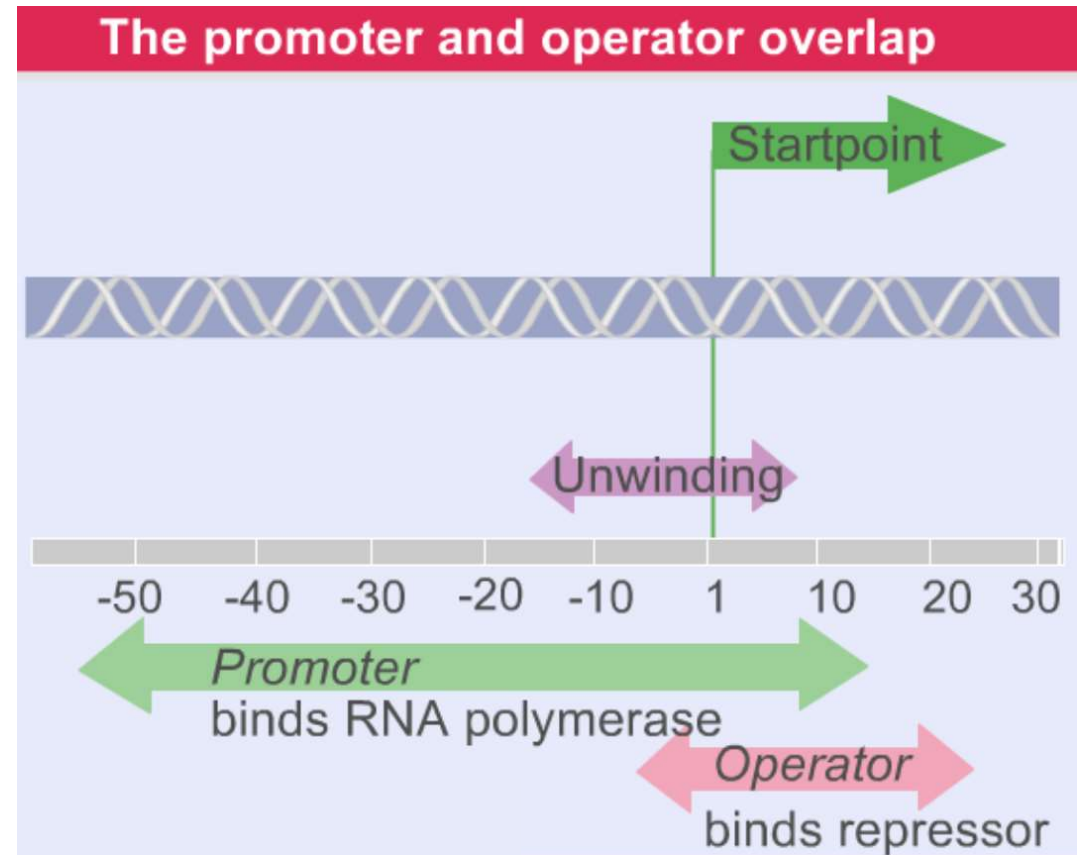


大肠杆菌乳糖操纵子：可诱导的负调控



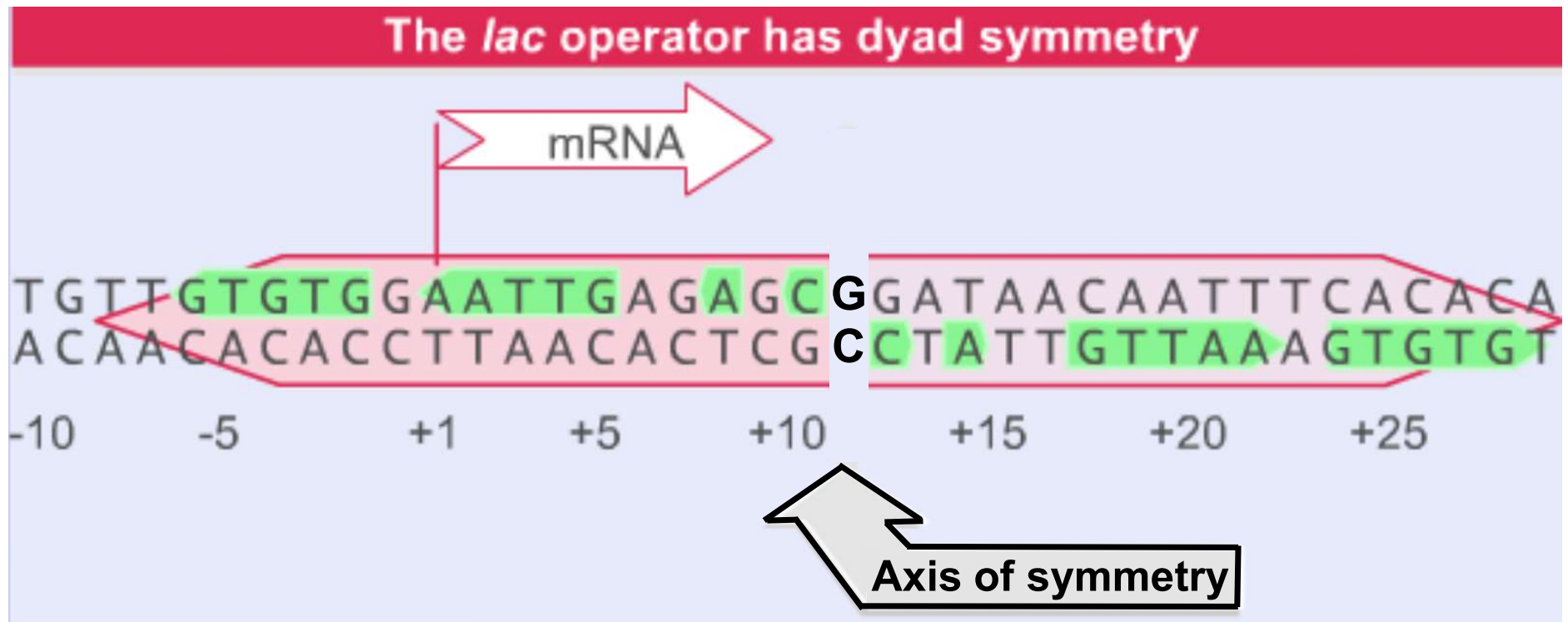
操纵基因

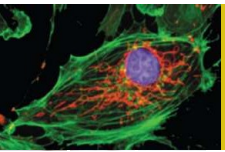
- ❖ 操纵基因和启动子存在重叠区域
- ❖ 启动子区域是从-84至+1，RNA聚合酶所占的DNA区域是-35至+20，*lac* O在操纵子的位置是从-7至+28，两者有部分重叠，说明阻遏蛋白和RNA聚合酶与DNA的结合是相互排斥的



操纵基因

- ❖ *lac* O 的序列，以+11为对称轴具有反向重复序列
- ❖ 反向重复序列是能与蛋白质结合的DNA的特征性结构



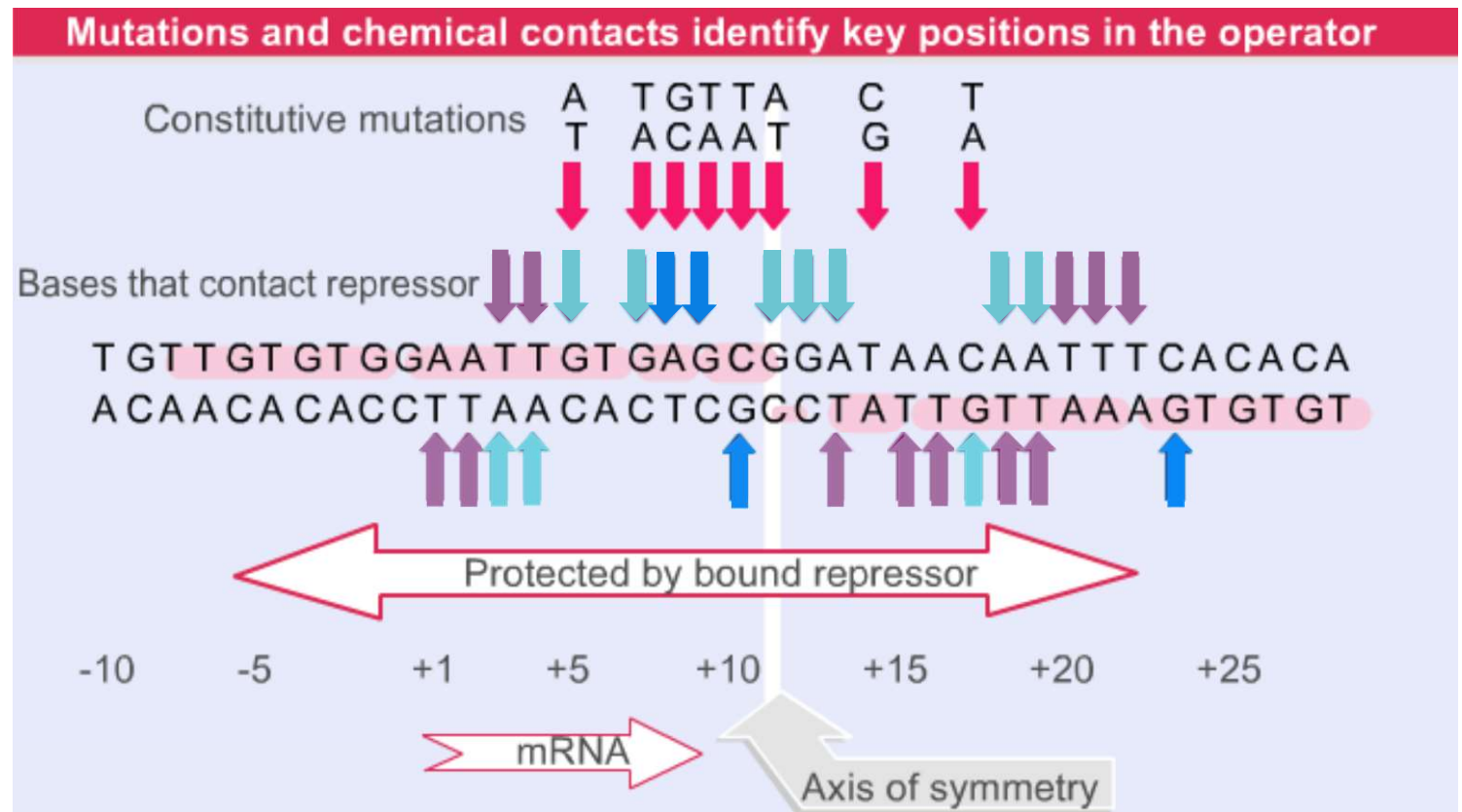


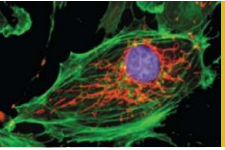
操纵基因

❖ 操纵基因是26bp的回文序列

❖ 操纵基因的每个反向重复序列结合阻遏蛋白的一个亚基

- ➡ 能够和阻遏蛋白交联的胸腺嘧啶
- ➡ 通过阻遏蛋白保护不被甲基化的嘌呤
- ➡ 阻遏蛋白增强甲基化的嘌呤



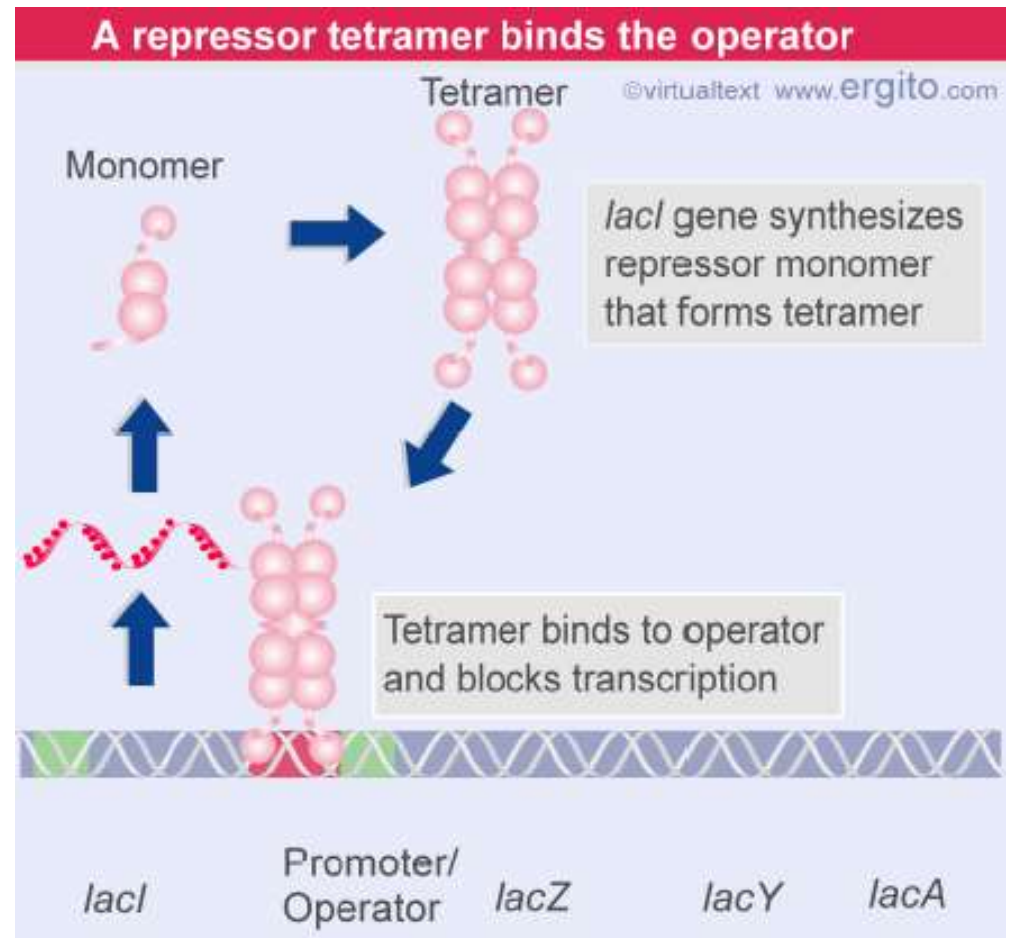


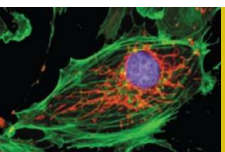
调节基因

- ❖ 调节基因 *lac I* 是一个独立转录单位
- ❖ *lac I* 基因不与结构基因属同一转录单位，它有自己的启动子和终止子
- ❖ *lac I* 编码阻遏蛋白
- ❖ *lac I* 的表达是组成型表达，即不受乳糖是否存在的调控

阻遏蛋白

- ❖ 阻遏蛋白是由调节基因编码的、具有四个相同亚基的**四聚体 (Tetramer)**





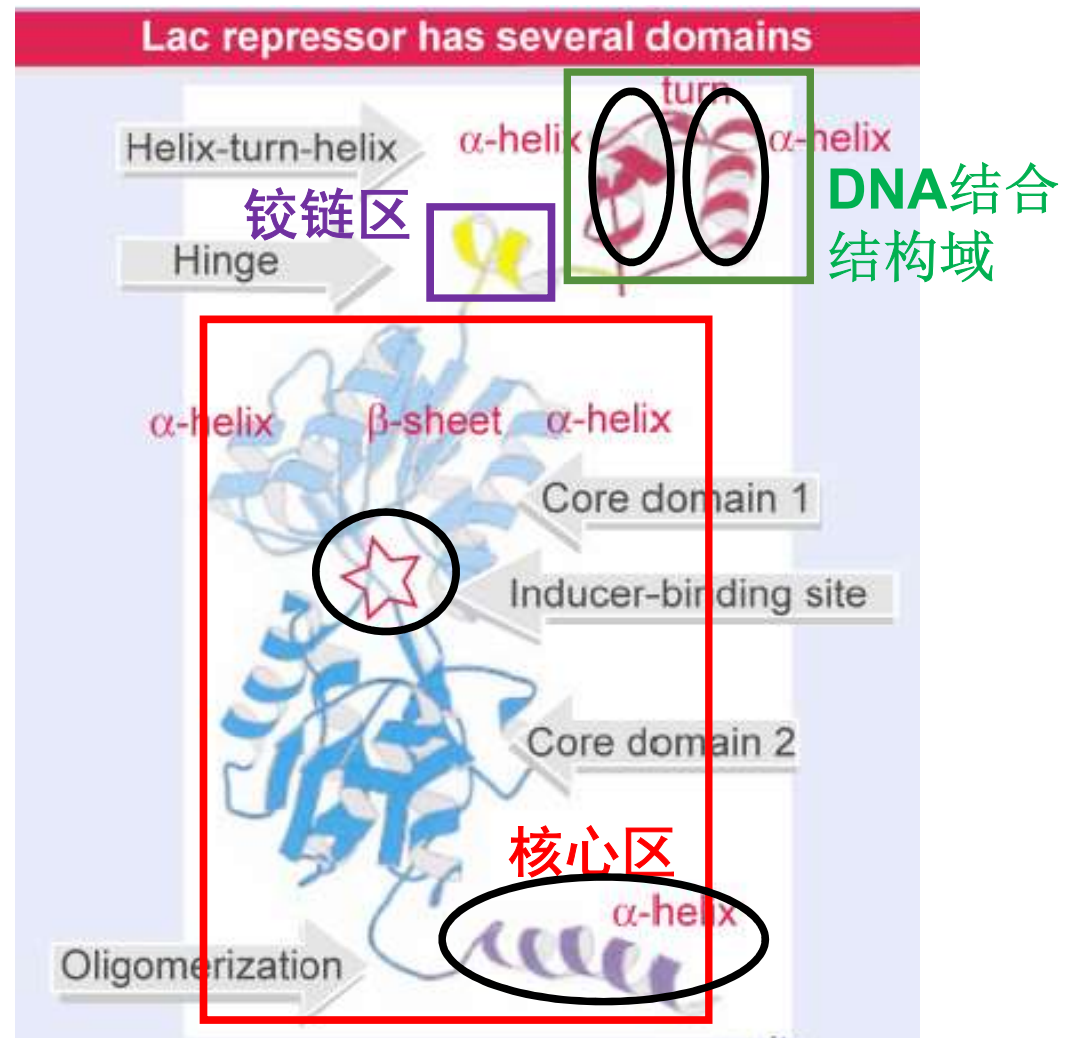
阻遏蛋白

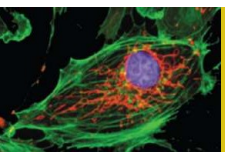
❖ 阻遏蛋白的单体分为三部分：

- N端的DNA结合结构域 (DNA-binding domain)
- 铰链区 (Hinge region)
- 核心区 (Core domain)

❖ DNA结合结构域具有两个 α 螺旋，用来与DNA大沟结合

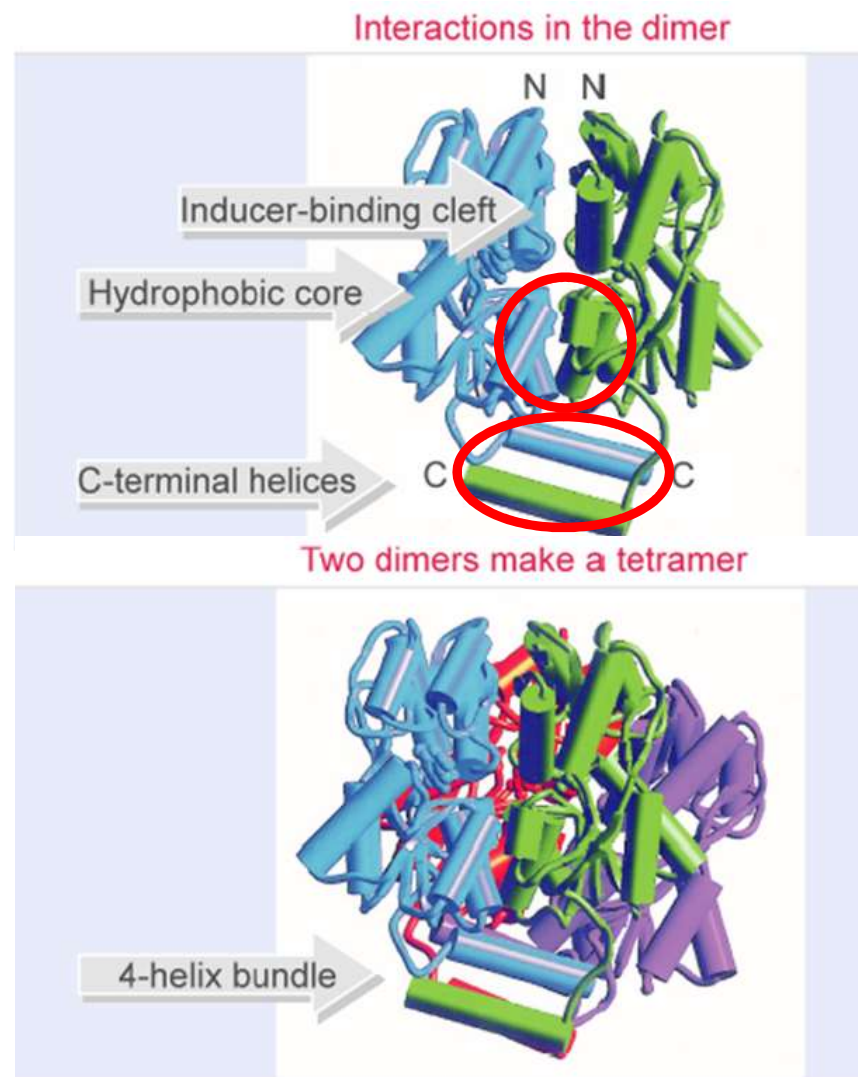
❖ 负责寡聚化的区域和诱导物结合位点都位于核心区

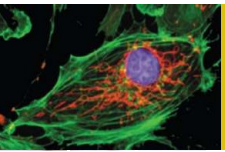




阻遏蛋白

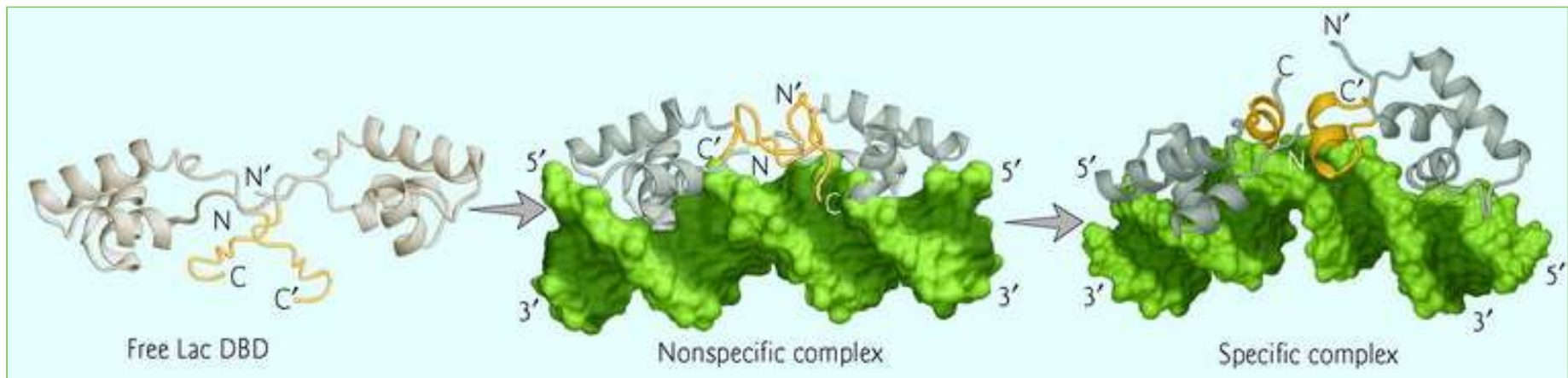
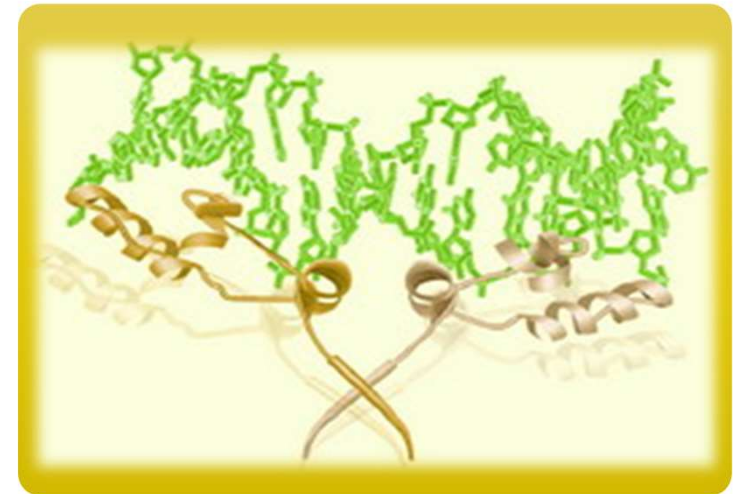
- ❖ 阻遏蛋白由两个二聚体组成四聚体
 - 两个单体通过核心区的结构域2之间的接触和负责寡聚化的C端的 α 螺旋之间的接触形成二聚体
 - 两个二聚体再通过C端的负责寡聚化的 α 螺旋之间的相互作用形成四聚体





阻遏蛋白和操纵基因的结合

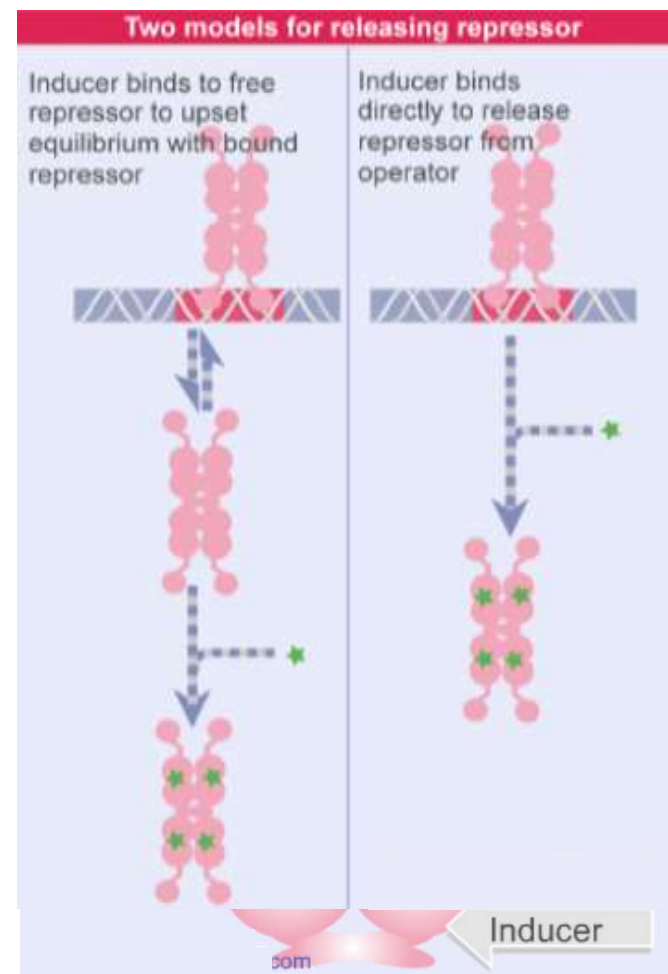
- ❖ 阻遏蛋白DNA结合域插入DNA大沟
- ❖ 通过阻遏蛋白铰链区和DNA构型变化, 最终形成特异性复合体完成稳定结合



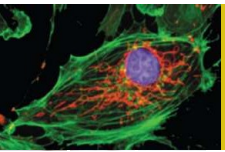
诱导物的作用

❖ 诱导物使阻遏蛋白失去活性的两种模型：

- **平衡模型：**阻遏蛋白与DNA的结合和释放是一个快速动态平衡过程，**诱导物与游离的阻遏蛋白结合**，使阻遏蛋白不能与DNA结合，破坏了这种平衡
- **解离模型：**诱导物直接同结合在DNA上的阻遏蛋白结合，使其构象改变，从操纵基因上解离

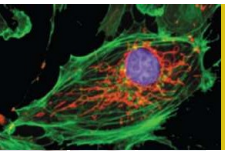


解离模型



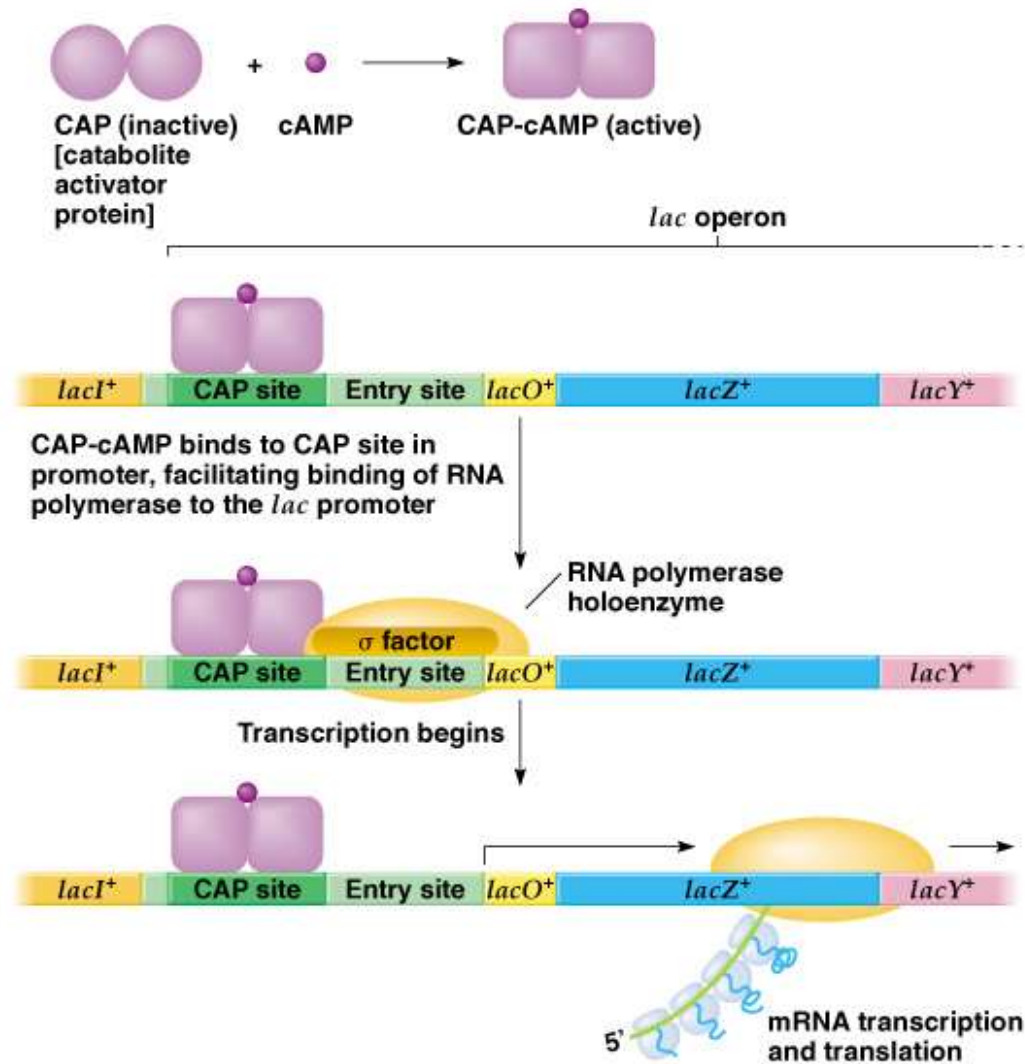
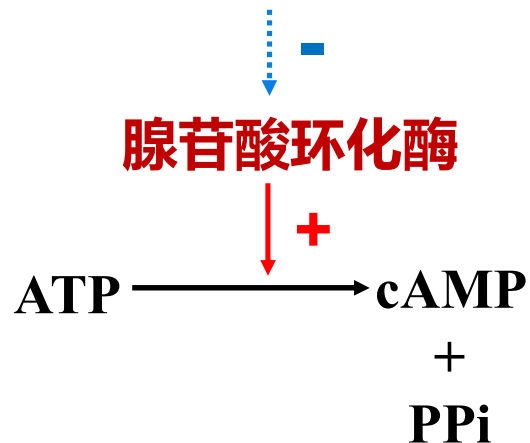
大肠杆菌乳糖操纵子的正调控

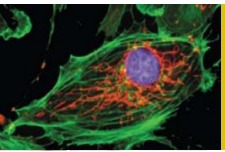
- ❖ 乳糖操纵子还通过激活蛋白受到正调控，如分解代谢物激活蛋白（Catabolite activator protein , CAP）
- ❖ 葡萄糖是大肠杆菌的首选食物来源，当葡萄糖不足时，CAP通过与环腺苷一磷酸（Cyclic AMP, cAMP）结合而被激活，cAMP称为辅激活物（Co-activator）
- ❖ 激活的CAP附着在乳糖操纵子的启动子上，增加RNA聚合酶的亲和力，从而加速转录
- ❖ 当葡萄糖水平升高时，CAP从乳糖操纵子上脱落，转录恢复正常水平



大肠杆菌乳糖操纵子的正调控

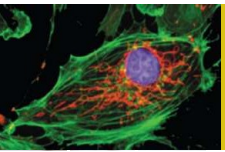
葡萄糖的分解代谢物



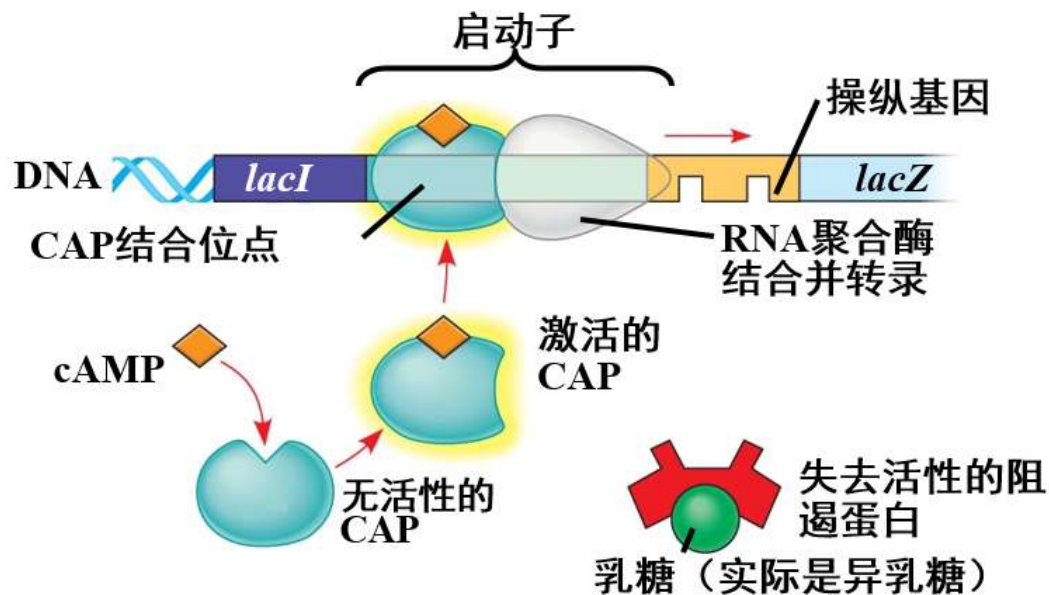


分解代谢物阻遏作用

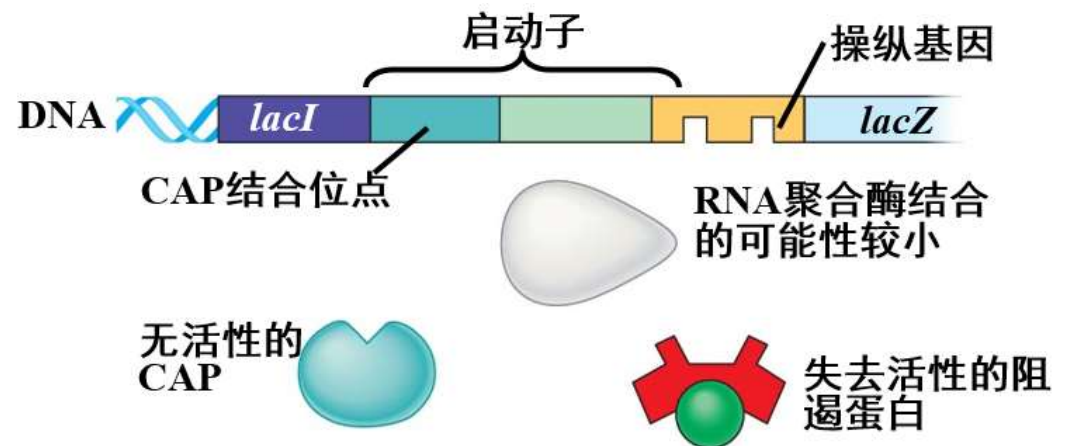
- ❖ **葡萄糖的分解代谢物会抑制腺苷酸环化酶，使ATP不能转变为cAMP。因此当葡萄糖存在时，会降低细胞内cAMP水平，使CAP失活，lac操纵子结构基因仅能本底表达，抑制其利用乳糖**
- ❖ **在细胞中，优先利用葡萄糖作为碳源，而不利用其它糖的这种选择，是由葡萄糖的分解代谢物控制的**



分解代谢物阻遏作用



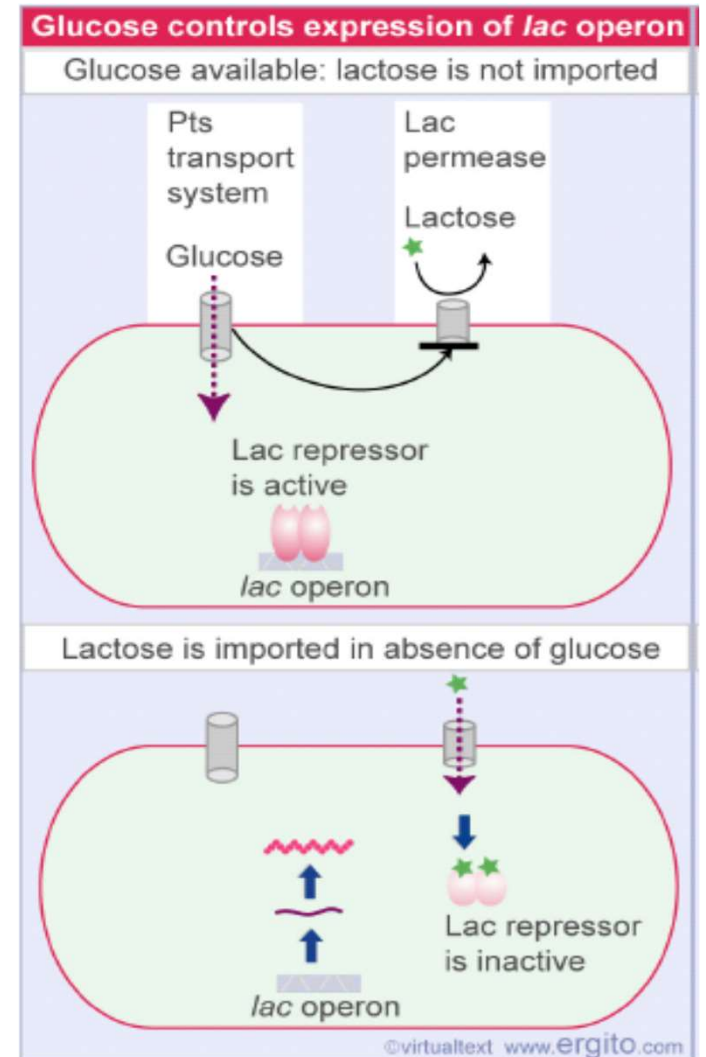
(a) 乳糖存在，葡萄糖缺乏（cAMP水平高）：合成了大量的lac mRNA

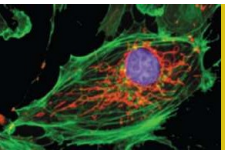


(b) 乳糖和葡萄糖同时存在（存在葡萄糖则cAMP水平低）：合成了很少的lac mRNA

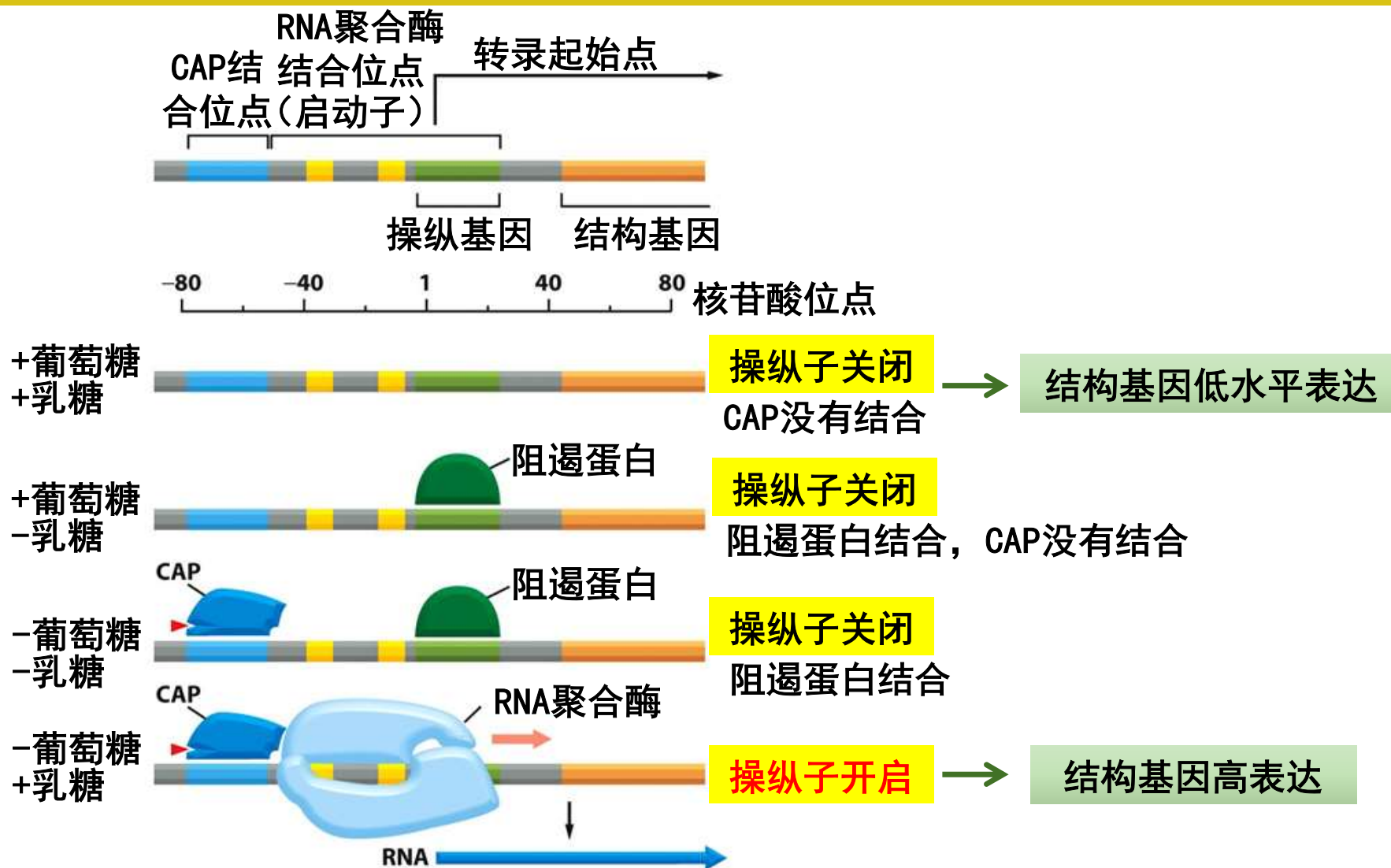
葡萄糖阻止细胞吸收乳糖

- ❖ 葡萄糖具有阻止细胞从环境中吸收摄入其它糖类碳源的能力
 - 在细胞膜上存在磷酸转移酶系统（Phosphotransferase system, PTS）该系统是转运单糖类物质进入细胞的主要通道
 - 葡萄糖的摄入会使PTS中的一个蛋白质亚基去磷酸化，磷酸基团结合在乳糖透性酶上，使透性酶磷酸化，从而无法运送乳糖进入细胞



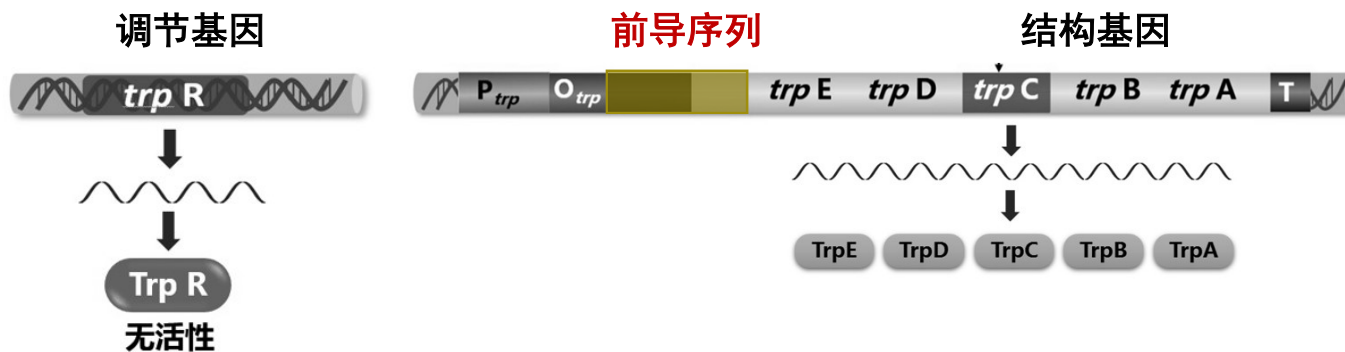


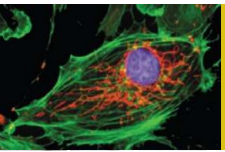
乳糖操纵子由两个转录调节蛋白控制：阻遏蛋白和CAP



大肠杆菌色氨酸操纵子 (*trp* Operon)

- ❖ 色氨酸操纵子负责色氨酸的生物合成
- ❖ 合成色氨酸所需要酶类的基因E、D、C、B、A等头尾相接串连排列组成结构基因，受其上游的启动子 trp P和操纵子 trp O的调控
- ❖ 在色氨酸操纵子 trp O与第一个结构基因 trp E之间有一段前导序列

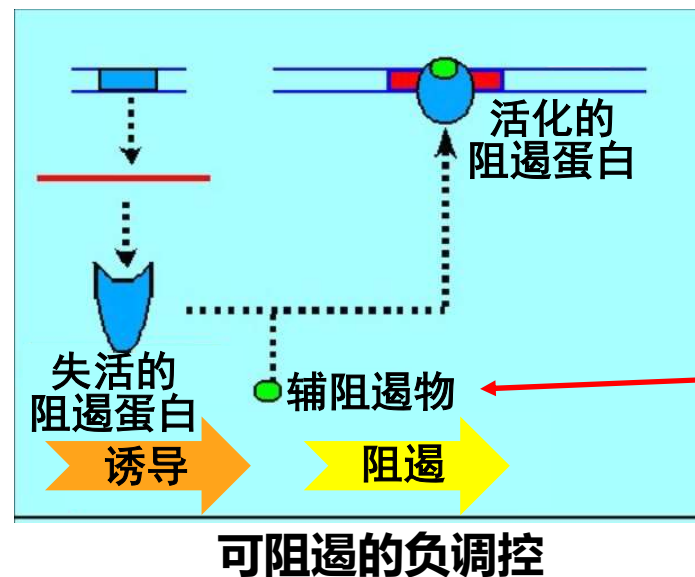




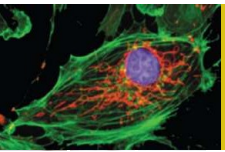
色氨酸操纵子：可阻遏的负调控

❖ 色氨酸操纵子 (trp operon) 是可阻遏的操纵子

- 阻遏型操纵子 (Repressible operon) 通常是开启的，当阻遏蛋白与操纵基因结合，操纵子关闭，转录终止

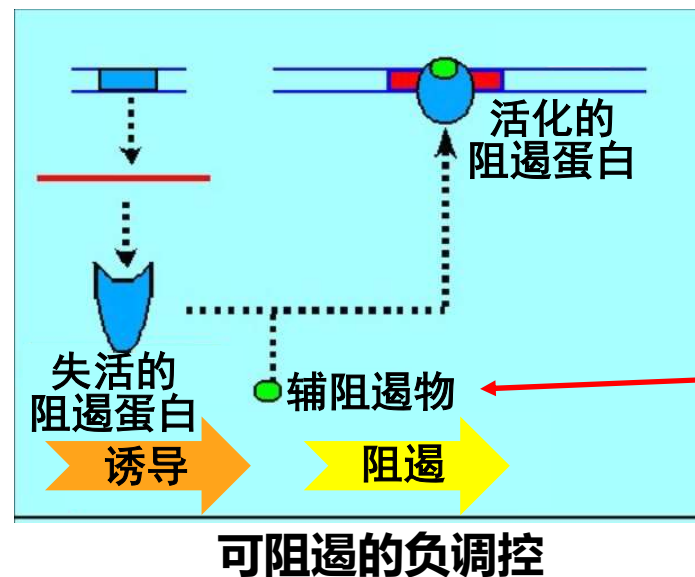


色氨酸是辅阻遏物



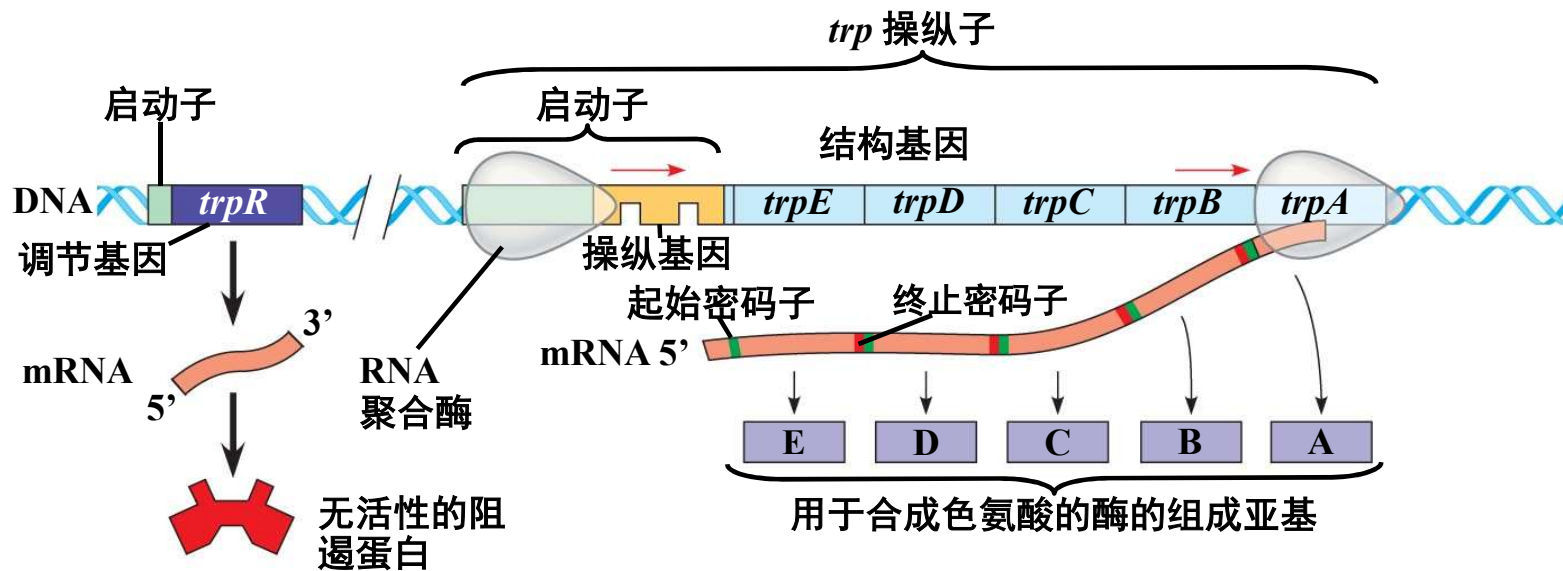
色氨酸操纵子：可阻遏的负调控

- ❖ 当缺乏色氨酸时，色氨酸操纵子开启，合成色氨酸的结构基因被转录
- ❖ 当色氨酸存在时，色氨酸与失活的阻遏蛋白结合，活化阻遏蛋白，从而关闭操纵子
- ❖ 色氨酸操纵子的阻遏蛋白仅在色氨酸存在时才有活性，因此，如果色氨酸水平很高，则色氨酸操纵子关闭（被阻遏）

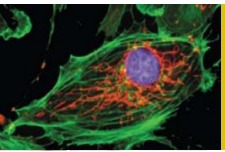


色氨酸是辅阻遏物

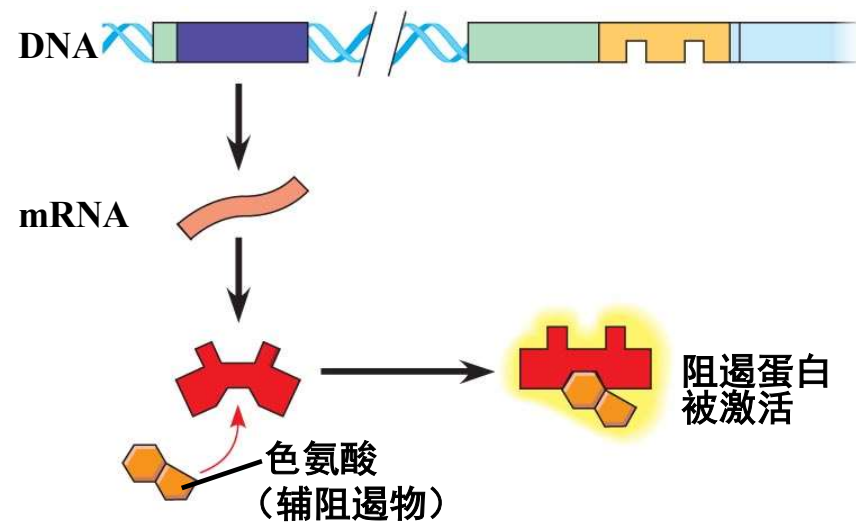
色氨酸操纵子：可阻遏的负调控



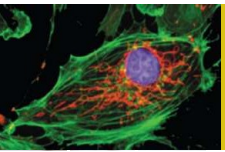
(a) 无色氨酸，阻遏蛋白无活性，色氨酸操纵子开启



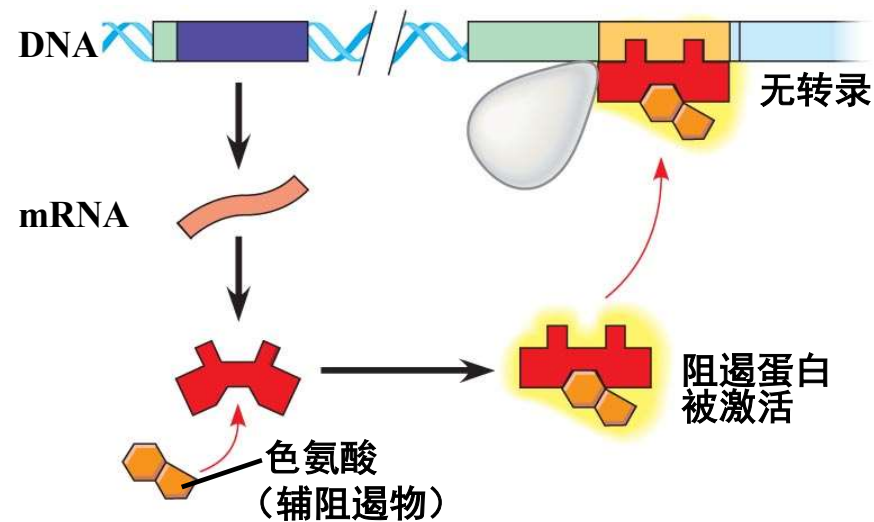
色氨酸操纵子：可阻遏的负调控



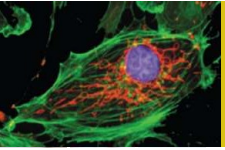
(b) 色氨酸存在时，阻遏蛋白有活性，色氨酸操纵子被关闭



色氨酸操纵子：可阻遏的负调控

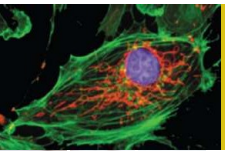


(b) 色氨酸存在时，阻遏蛋白有活性，色氨酸操纵子被关闭



阻遏系统是**唯一**有效的调控机制吗？

- ❖ 当存在充足的色氨酸时，转录抑制作用无疑是有效的
- ❖ 但实验观察发现：当色氨酸达到一定浓度，但还没有高到能够活化阻遏蛋白使其发挥阻遏作用的程度时，产生色氨酸合成酶类的量已经明显降低，而且产生的酶量与色氨酸浓度呈负相关

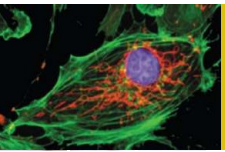


色氨酸操纵子的衰减机制

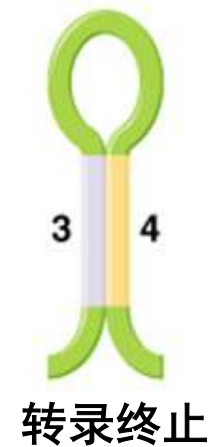
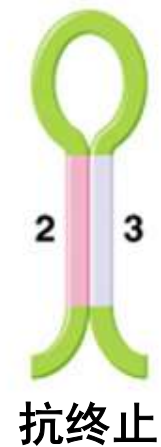
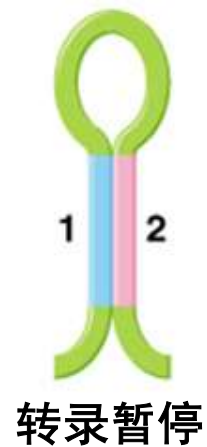
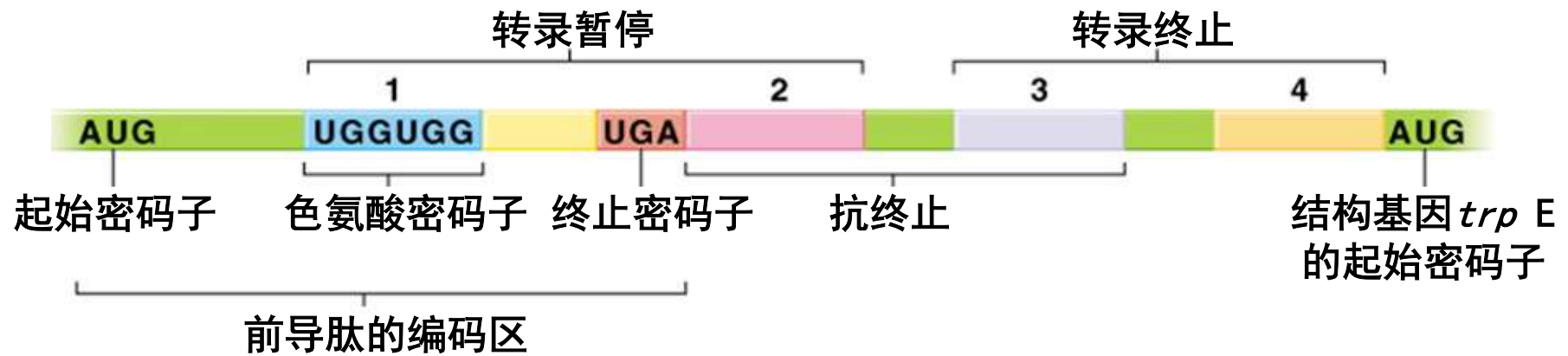
- ❖ *trp* E基因和操纵基因之间的162 bp核苷酸序列称为**前导区** (leader region, *trp* L)

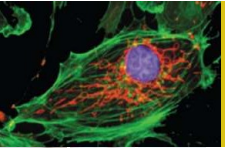


- ❖ 其中123至150的碱基序列称为**衰减子** (Attenuator , att)
- ❖ 衰减子的相应转录产物mRNA分别包含一个起始密码子，两个连续色氨酸密码子，一个终止密码子和1、2、3、4个四个片段
- ❖ 这些片段可以以不同的方式互补配对，并且可以形成三个不同的二级结构



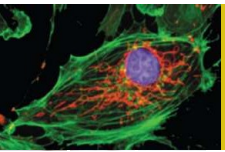
色氨酸操纵子的衰减机制





色氨酸操纵子的衰减机制

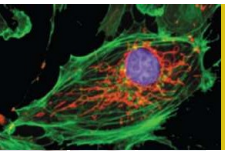
- ❖ 在原核生物中，转录和翻译紧密耦联，几乎同时发生
- ❖ 当衰减子刚刚转录出部分的mRNA时，1区和2区的配对会引起RNA聚合酶暂时在这个区域的停留
- ❖ RNA聚合酶的停留，是为了等待核糖体结合到mRNA上，从而开始翻译过程



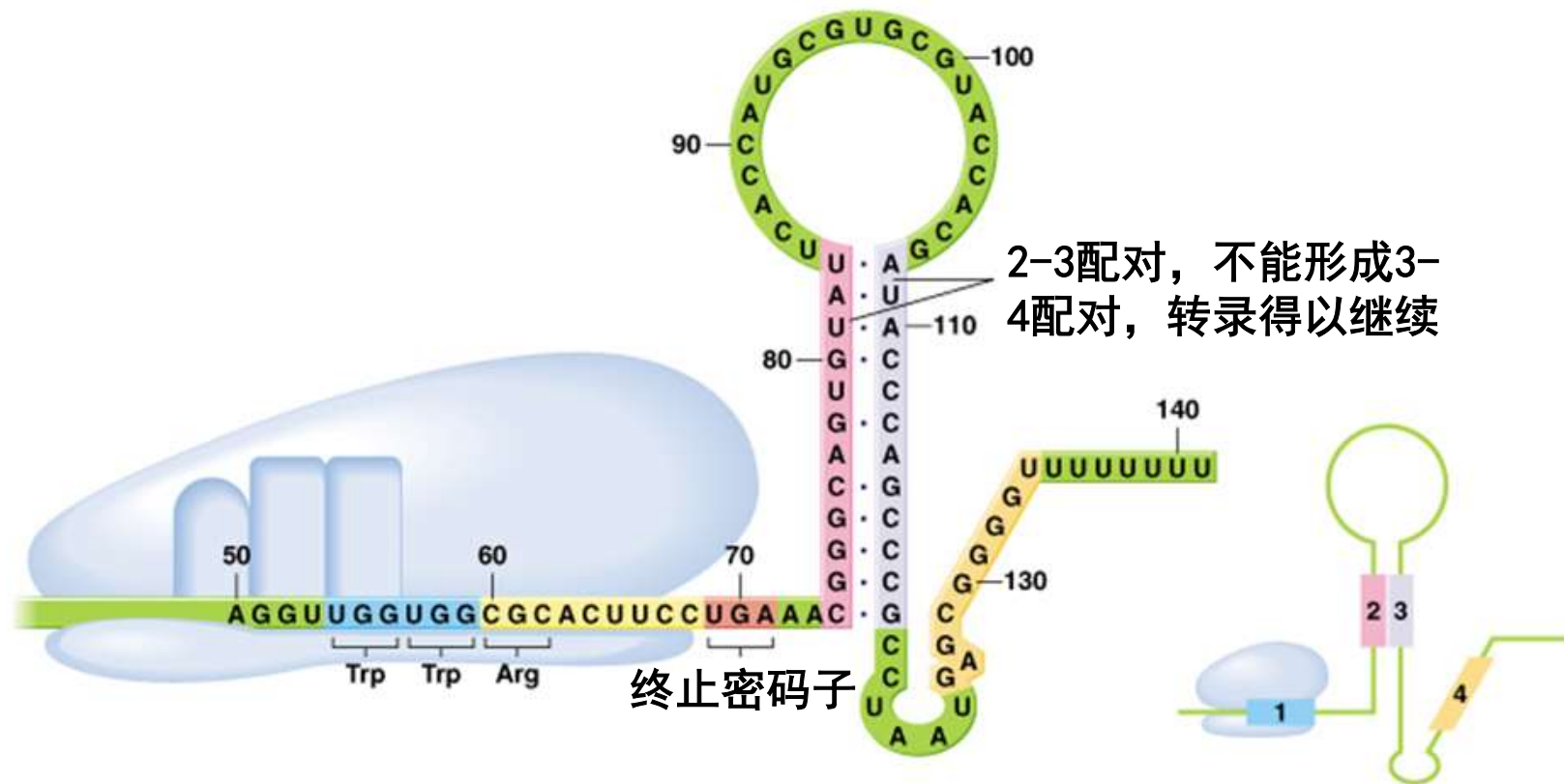
色氨酸操纵子的衰减机制

❖ 当培养基中没有色氨酸或色氨酸的浓度很低时：

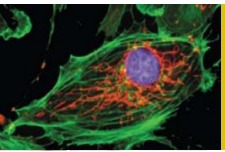
- 负载有色氨酸的tRNA非常少，这样翻译时核糖体通过两个相邻色氨酸密码子的速度就会很慢，当4区被转录完成时，核糖体才进行到1区
- 由于1区被核糖体占据，因此不能够和2区配对，此时2-3配对，不能形成3-4配对的终止结构
- 因此，转录可以继续进行，直到将色氨酸操纵子中的结构基因全部转录，形成完整的 trp mRNA



色氨酸操纵子的衰减机制



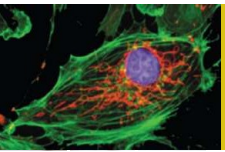
(a) 色氨酸饥饿或色氨酸浓度很低, 2-3配对形成抗终止结构



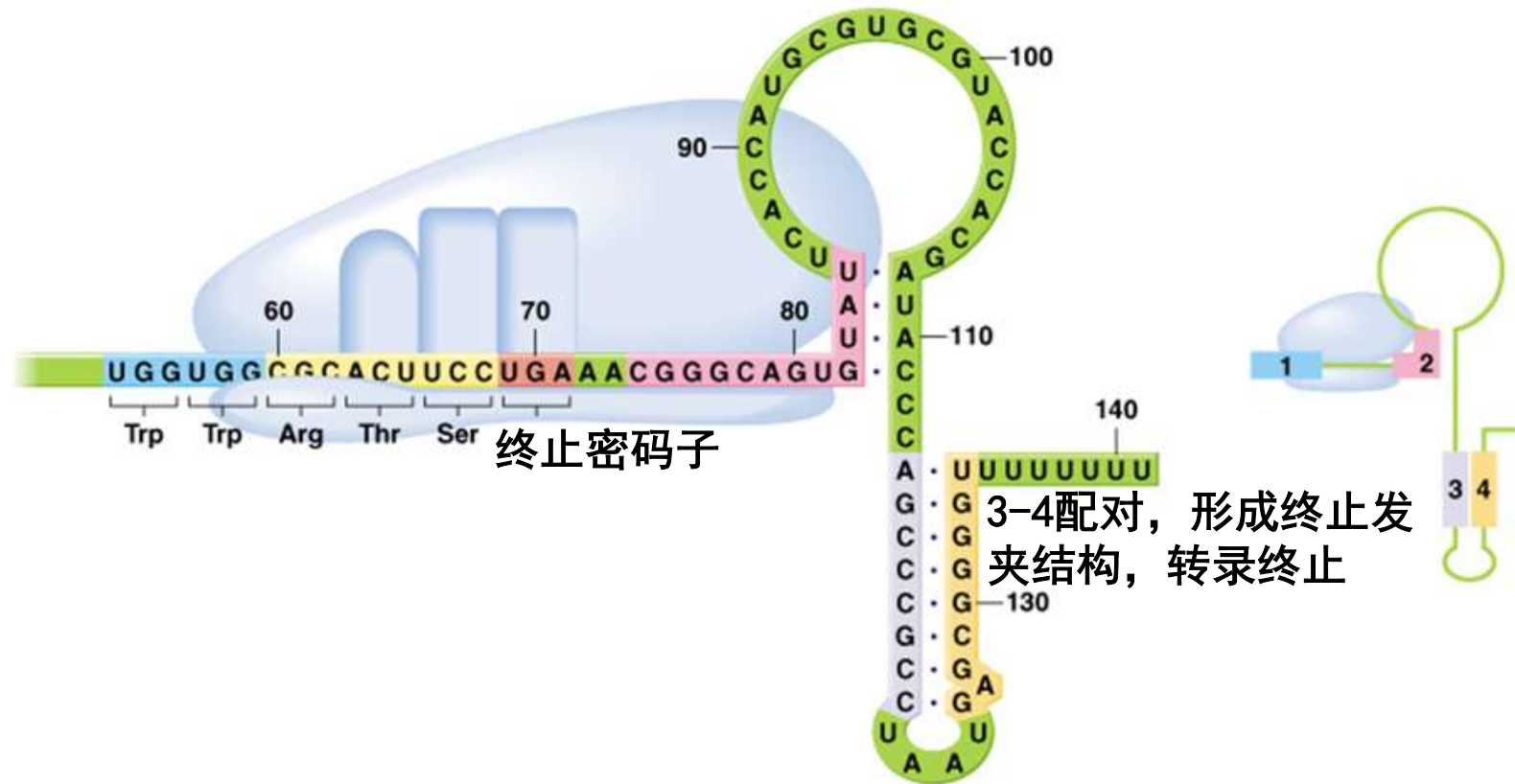
色氨酸操纵子的衰减机制

❖ 当培养基中色氨酸充足时:

- 核糖体可以顺利通过两个相邻的色氨酸密码子，在4区被转录之前，核糖体就到达2区
- 因此，2区和3区不能配对，3-4区可以自由配对形成一个终止子结构，转录停止在结构基因之前
- 所以，色氨酸操纵子被关闭，结构基因不能被转录，没有完整的trp mRNA，色氨酸不再合成



色氨酸操纵子的衰减机制



(b) 色氨酸充足, 3-4配对形成转录终止的发夹结构

色氨酸操纵子的衰减机制

❖ 控制衰减机制的二级结构的改变由核糖体在mRNA上的位置所决定

