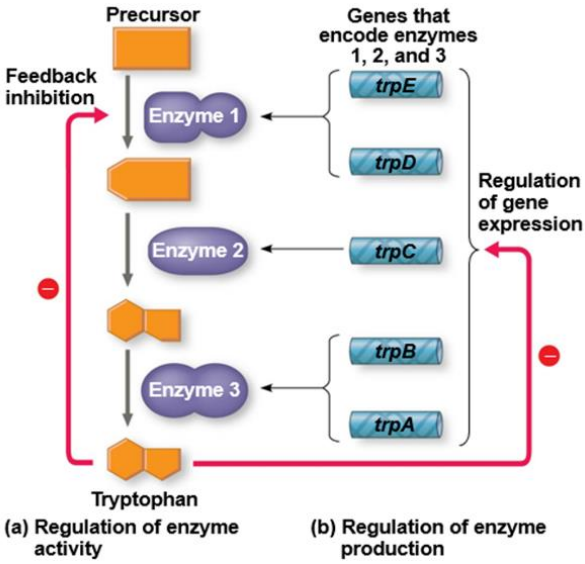
การควบคุมการแสดงออกของยีน

prokaryotes และ eukaryotes ควบคุมการแสดงออกของยีนในการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมได้อย่างแม่นยำ ใน eukaryotes การแสดงออกของยีนควบคุมการเจริญและทำให้เกิดความแตกต่างของเซลล์ RNA มีบทบาทมากในการควบคุมการแสดงออกของยีนในยูคาริโอต

แบคทีเรียผลิตเฉพาะโปรตีนและสารที่จำเป็นสำหรับเซลล์เท่านั้น เซลล์สามารถควบคุมการผลิตของเอนไซม์โดยการยับยั้งแบบลบ (negative feedback) แนะหรือโดยการควบคุมยีน กลไกหนึ่งในการควบคุมการแสดงออกของยีนในแบคทีเรียคือ operon



รูปที่ 1 การควบคุม metabolic pathway

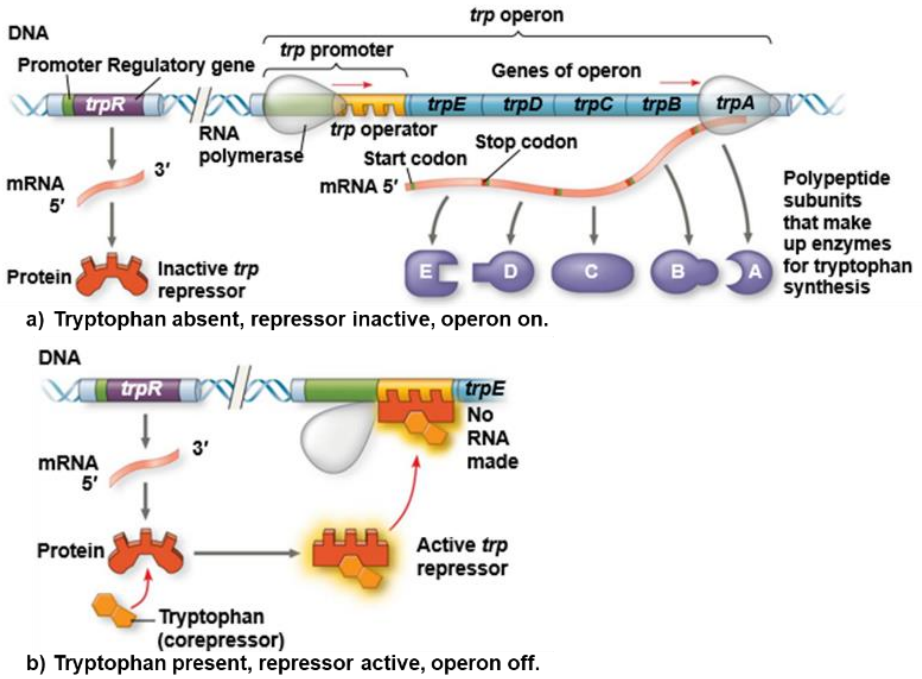
Operons

คือกลุ่มของยีนที่มีฟังก์ชันคล้ายกันมีการทำงานร่วมกันโดยมีการควบคุมโดย “on-off switch” สวิตช์นี้คือส่วนของดีเอ็นเอที่เรียกว่า Operator ซึ่งปรกติจะอยู่ในส่วนที่เรียกว่า Promotor Operon นี้ใช้เรียกส่วนของบริเวณทั้งหมดของดีเอ็นเอที่ประกอบด้วย Operator, Promotor, และยีนที่มันควบคุม

Operon สามารถปิดได้ด้วย repressor protein โปรตีน repressor นี้ป้องกันการเกิด transcription ของยีนโดยจับเข้ากับส่วนที่เป็น operator และบล้อกเอนไซม์ RNA polymerase จากการจับกับดีเอ็นเอ โปรตีน repressor นี้เป็นผลิตภัณฑ์ของยีนที่ทำหน้าที่ควบคุม (regulatory gene) ซึ่งอยู่ห่างออกไปจาก operon โปรตีน repressor เป็นได้ทั้ง active และ inactive ฟอร์มขึ้นอยู่กับการมีอยู่ของโมเลกุลอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง co-repressor เป็นโมเลกุลที่ทำงานร่วมกับ repressor เพื่อปิดสวิตช์

ยกตัวอย่างเช่น *E.coli* สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโน tryptophan เมื่อกรดอะมิโนตัวนี้มีไม่เพียงพอ โดยปรกติแล้ว *trp* operon จะเปิดเพื่อให้ยีนที่สังเคราะห์กรดอะมิโนตัวนี้ได้ทำงาน แต่เมื่อมีกรดอะมิโน tryptophan แล้ว โมเลกุลของกรดอะมิ

โนตัวนี้จะเข้าไปจับกับ *trp* repressor protein ซึ่งจะทำให้ operon นี้ถูกปิด โปรตีน repressor ตัวนี้จึงทำงาน (active form) เมื่อมี co-repressor คือ tryptophan ดังนั้น operon นี้จะปิด (repressed) เมื่อระดับของกรดอะมิโนตัวนี้มีสูง

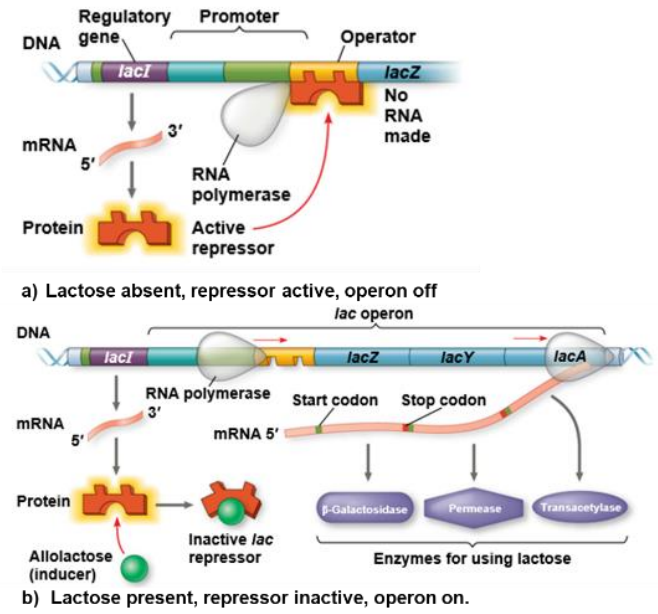


รูปที่ 2 *trp* operon ใน *E. coli*

Operon มีสองแบบคือ repressible และ inducible operons

Repressible operon คือ operon ที่ปรกติจะเปิด การจับของ repressor ที่ operator จะปิดการทำงานของการ transcription *trp* operon เป็นชนิดนี้

Inducible operon คือ operon ที่ปรกติจะปิด โปรตีน inducer จับกับโปรตีน repressor ทำให้เกิด transcription เช่น lac operon ปรกติ lac repressor จะทำงานและปิดการทำงานของ operon แต่เมื่อมีโมเลกุลของ inducer inducer จะเข้าจับกับrepressor ทำให้การถอดรหัสเกิดได้



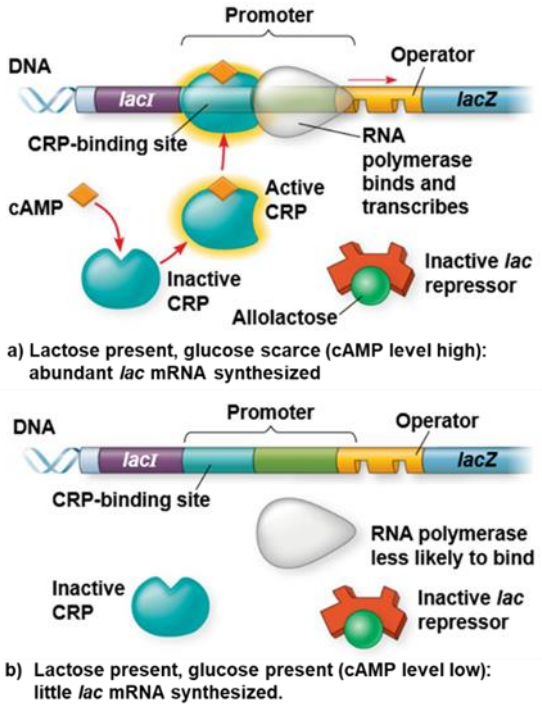
รูปที่ 3 lac operon ใน *E. coli*

การควบคุมการแสดงออกของยีนเช่น *trp* และ *lac* operons เป็นการควบคุมแบบ negative control เนื่องจาก operons ถูกปิดด้วย repressor ในสถานะทำงาน (active form)

Positive gene regulation

บาง operons ใช้วิธีการ positive control ผ่านโปรตีนอื่น ๆ เช่น cyclic AMP receptor protein (CRP) ซึ่งกระตุ้นให้เกิด transcription

เมื่อน้ำตาลกลูโกสหายากขึ้น โปรตีน CRP จะถูกกระตุ้นโดนไปจับกับ cyclic AMP (cAMP) CRP ที่ทำงานได้นี้จะไปจับกับ promotor ของ *lac* operon และจะไปกระตุ้นให้เกิดการถอดรหัสมากขึ้น จนเมื่อน้ำตาลกลูโคสมีเพียงพอ CRP จะหลุดออกจาก *lac* operon และการถอดรหัสเข้าสู่ภาวะปกติ



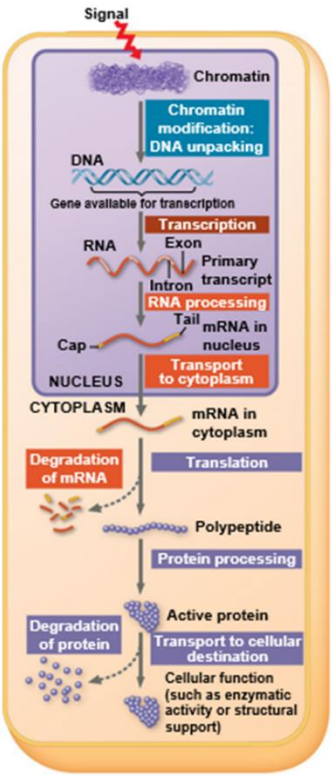
รูปที่ 4 Positive control ของ *lac* operon โดยใช้ cAMP receptor protein (CRP)

เซลล์ eukaryotic มีการควบคุมการแสดงออกของยีนในหลายขั้นตอน

ยีนถูกเปิดและปิดเพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าทั้งภายในและภายนอก การควบคุมการแสดงออกของยีนเป็นสิ่งจำเป็นต่อความหลากหลายของเซลล์ในพวก eukaryotes

เซลล์เกือบทั้งหมดในสิ่งมีชีวิตมีจีโนมเหมือนกัน

ความแตกต่างระหว่างเซลล์ชนิดเป็นผลมาจากการแสดงออกของยีนที่แตกต่างกัน ความผิดปกติในการแสดงออกของยีนที่สามารถนำไปสู่โรครวมทั้งโรคมะเร็ง การแสดงออกของยีนที่ถูกควบคุมหลายขั้นตอน แต่มักจะขึ้นอยู่กับ translation



รูปที่ 5 การควบคุมการแสดงออกของยีนสามารถควบคุมได้ในหลายระดับ

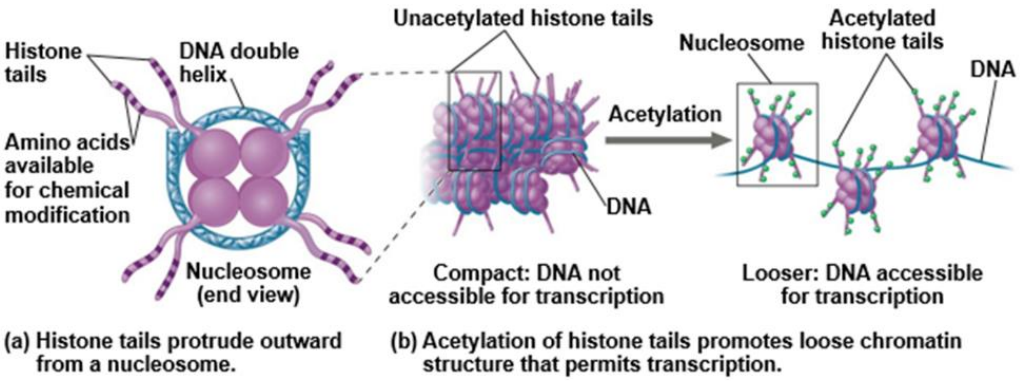
การควบคุมโครงสร้างของโครมาทิน

โครงสร้างของเส้นใยโครมาทินช่วยในการควบคุมการแสดงออกของยีน ยีนที่อยู่ในบริเวณ heterochromatin จะไม่ได้แสดงออก การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของโปรตีนฮิสโตนและดีเอ็นเอมีผลต่อทั้งโครงสร้างของฮิสโตนและการแสดงออกของยีน

การเปลี่ยนแปลงของฮิสโตน (histone modifications) และการเติมหมู่เมทิลในดีเอ็นเอ (DNA methylation)

การเติมหมู่ acetyl ที่กรดอะมิโนที่ปลายหางของโปรตีนฮิสโตนจะทำให้เส้นใยโครมาทินคลายออก ทำให้มี transcription

การเติมหมู่ methyl ในสายโครมาทินทำให้โครมาทินอัดแน่นขึ้นและทำให้ลด transcription



รูปที่ 6 โปรตีนอิสโตนและการเติมหมู่acetyl

เมื่อเติมหมู่เมทิลในเบสบนสาย DNA พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับการลด transcription ในบางสปีชีส์ การเติมหมู่เมทิลในดีเอ็นเอสามารถให้ผลกระทบในระยะยาวต่อยีนได้

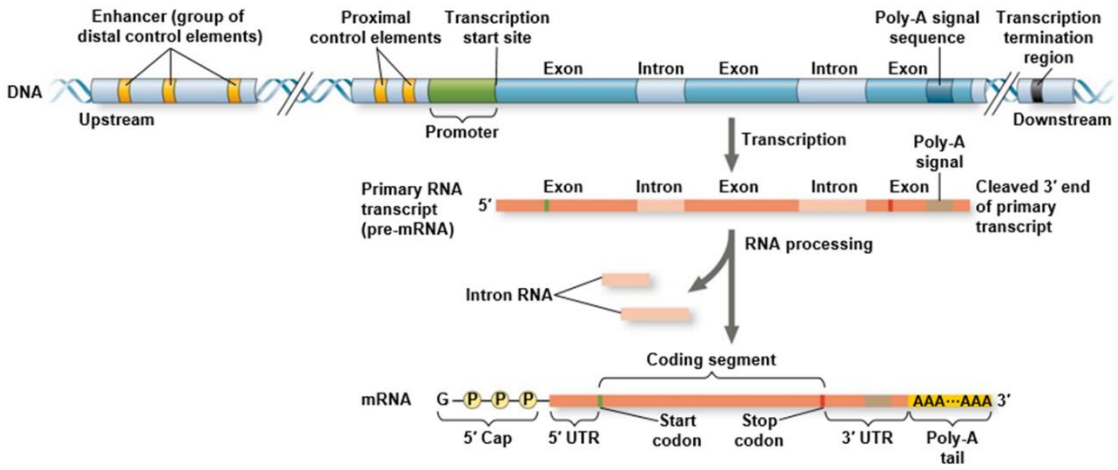
การเปลี่ยนแปลงของฮิสโตนไม่ได้ส่งผลต่อลำดับเบสบนดีเอ็นเอ แต่มันสามารถถ่ายทอดไปยังเซลล์รุ่นต่อไปได้ การถ่ายทอดลักษณะที่ไม่ได้ถูกควบคุมโดยลำดับเบสบนดีเอ็นเอเรียกว่า epigenetics

การควบคุมการเริ่มต้นtranscription

เอนไซม์ที่มีหน้าที่เปลี่ยนแปลงลักษณะของโครมาทินสามารถควบคุม transcription ได้โดยทำให้ช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอจับกับ transcription machinery ได้ยากหรือง่ายขึ้น

ยีนและ transcript ของ eukaryotes

ยีนของ eukaryotes มีความสัมพันธ์อันซับซ้อนกับ control elements (ส่วนของ non-coding DNA) ที่ใช้จับกับ transcription factors ที่ช่วยควบคุมการแสดงออกของยีน control elements และ transcription factors จึงเป็นอีกสองส่วนที่สำคัญในการควบคุมการแสดงออกของยีนให้เกิดความแม่นยำ



รูปที่ 7 ยีนของeukaryotesและtranscripts

General transcription factors จำเป็นอย่างมากต่อการควบคุมการแสดงออกของยีนที่สังเคราะห์โปรตีน ในพวก eukaryotes, ปริมาณของ transcription factorsของยีนหนึ่งๆขึ้นอยู่กับปฏิสัมพันธ์ระหว่าง transcription factor และ control elements

General transcription factors ที่บริเวณ promotor:

- RNA polymerase จำเป็นต้องมี transcription factors เพื่อเริ่มต้นกระบวนการ transcription

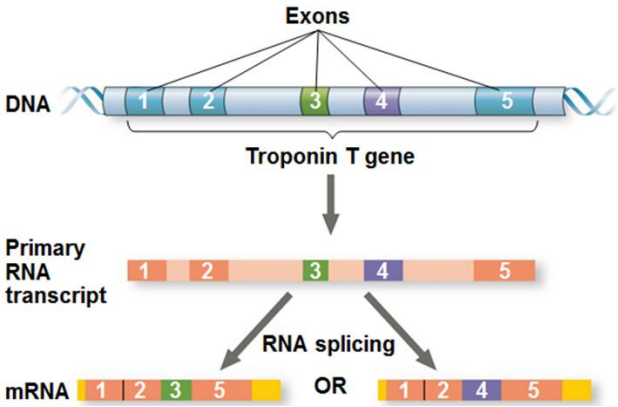
- General transcription factors จำเป็นสำหรับการถอดรหัสของยีนที่สังเคราะห์โปรตีน
- General transcription factors บางส่วนไปจับกับ TATA box ภายใน promotor
- General transcription factors บางส่วนไปจับกับโปรตีน จับกับ transcription factor ตัวอื่น และจับกับ RNA polymerase

นอกจาก general transcription factors แล้วยังมี enhancers เร่งการเกิด transcription และ specific transcription factors ที่ช่วยควบคุม transcription ด้วย

การควบคุมการแสดงออกของยีนหลังจากtranscription (post-transcriptional regulation)

RNA processing

ในกระบวนการ alternative RNA splicing, โมเลกุล mRNA ที่แตกต่างกันเกิดจาก transcript ตัวเดียวกัน การตัด mRNA ต้นแบบที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับว่าจะเอาส่วนใดเป็น intron ส่วนใดเป็น exon กระบวนการ alternative RNA splicing นี้มีความสำคัญมากในจีโนมของ eukaryotes เนื่องจากยีนไม่จำเป็นต้องมีมาก ในคนพบว่ามากกว่า 90% ของยีนที่สังเคราะห์โปรตีนอาศัยกระบวนการ alternative RNA splicing



รูปที่ 8 alternative RNA splicing

การเริ่มกระบวนการ translation และการกำจัด mRNA

mRNAสามารถถูกบล้อคได้ไม่ให้เกิด translation ด้วยโปรตีนที่จับกับลำดับเบสบนสาย mRNA หรือบนโครงสร้างของมัน อายุขัยของ mRNA ก็เป็นวิธีหนึ่งที่ใช้ควบคุมการสังเคราะห์โปรตีน mRNA ของ eukaryotes มักมีอายุยืนกว่าของ prokaryotes ลำดับเบสที่กำหนดอายุของ mRNA ของ eukaryotes อยู่ในบริเวณ3' untranslated region (UTR)

การสังเคราะห์และการกำจัดโปรตีน

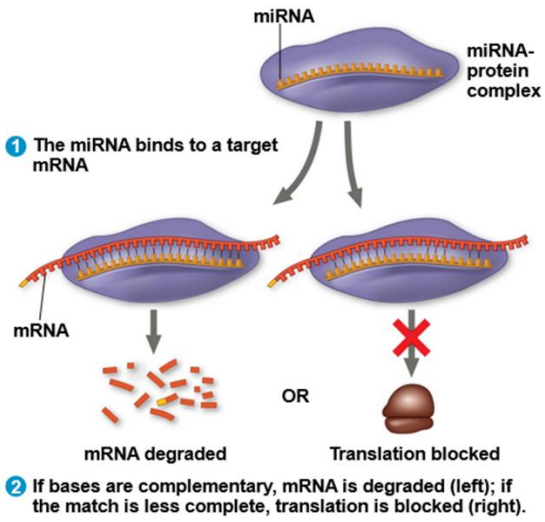
หลังจาก translation polypeptide ที่ได้จะผ่านการตกแต่งเช่นการตัดและการเติมหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ระยะเวลาที่โปรตีนหนึ่ง ๆ ทำงานได้จะถูกควบคุม โปรตีนที่จะต้องถูกกำจัดจะมีการติดโมเลกุลของ ubiquitin ที่โปรตีน จากนั้น proteosome จะเข้ามากำจัด

Noncoding RNAs

DNA บางส่วนไม่ได้สังเคราะห์โปรตีนเช่น rRNA และ tRNA RNA ชนิดที่ไม่ได้ให้โปรตีนรวมเรียกว่า noncoding RNAs (ncRNAs)

ผลของ microRNAs ต่อ mRNAs

microRNAs เป็น RNA ขนาดเล็ก มีสายเดียวที่สามารถจับกับ RNA ที่มีลำดับเบสเข้ากันได้ microRNA นี้ เมื่อจับกับโปรตีนเฉพาะสามารถทำลาย mRNA ที่ต้องการได้



รูปที่ 9 การควบคุมการแสดงออกของยีนด้วย microRNA

alternative RNA splicing: a post-transcriptional gene regulation mechanism in eukaryotes in which multiple protein products are produced by a single gene through alternative splicing combinations of the RNA transcript

codon: three consecutive nucleotides in mRNA that specify the addition of a specific amino acid or the release of a polypeptide chain during translation

deoxyribose: a five-carbon sugar molecule with a hydrogen atom rather than a hydroxyl group in the 2' position; the sugar component of DNA nucleotides

DNA ligase: the enzyme that catalyzes the joining of DNA fragments together

DNA polymerase: an enzyme that synthesizes a new strand of DNA complementary to a template strand

double helix: the molecular shape of DNA in which two strands of nucleotides wind around each other in a spiral shape

epigenetic: describing non-genetic regulatory factors, such as changes in modifications to histone proteins and DNA that control accessibility to genes in chromosomes

exon: a sequence present in protein-coding mRNA after completion of pre-mRNA splicing

gene expression: processes that control whether a gene is expressed

genetic code: the amino acids that correspond to three-nucleotide codons of mRNA

helicase: an enzyme that helps to open up the DNA helix during DNA replication by breaking the hydrogen bonds

intron: non–protein-coding intervening sequences that are spliced from mRNA during processing

lagging strand: during replication of the 3' to 5' strand, the strand that is replicated in short fragments and away from the replication fork

leading strand: the strand that is synthesized continuously in the 5' to 3' direction that is synthesized in the direction of the replication fork

mismatch repair: a form of DNA repair in which non-complementary nucleotides are recognized, excised, and replaced with correct nucleotides

mRNA: messenger RNA; a form of RNA that carries the nucleotide sequence code for a protein sequence that is translated into a polypeptide sequence

mutation: a permanent variation in the nucleotide sequence of a genome

nitrogenous base: a nitrogen-containing molecule that acts as a base; often referring to one of the purine or pyrimidine components of nucleic acids

nontemplate strand: the strand of DNA that is not used to transcribe mRNA; this strand is identical to the mRNA except that T nucleotides in the DNA are replaced by U nucleotides in the mRNA

nucleotide excision repair: a form of DNA repair in which the DNA molecule is unwound and separated in the region of the nucleotide damage, the damaged nucleotides are removed and replaced with new nucleotides using the complementary strand, and the DNA strand is resealed and allowed to rejoin its complement

Okazaki fragments: the DNA fragments that are synthesized in short stretches on the lagging strand

phosphate group: a molecular group consisting of a central phosphorus atom bound to four oxygen atoms

post-transcriptional: control of gene expression after the RNA molecule has been created but before it is translated into protein

post-translational: control of gene expression after a protein has been created

primer: a short stretch of RNA nucleotides that is required to initiate replication and allow DNA polymerase to bind and begin replication

promoter: a sequence on DNA to which RNA polymerase and associated factors bind and initiate transcription

replication fork: the Y-shaped structure formed during the initiation of replication

RNA polymerase: an enzyme that synthesizes an RNA strand from a DNA template strand

rRNA: ribosomal RNA; molecules of RNA that combine to form part of the ribosome

semiconservative replication: the method used to replicate DNA in which the double-stranded molecule is separated and each strand acts as a template for a new strand to be synthesized, so the resulting DNA molecules are composed of one new strand of nucleotides and one old strand of nucleotides

splicing: the process of removing introns and reconnecting exons in a pre-mRNA

start codon: the AUG (or, rarely GUG) on an mRNA from which translation begins; always specifies methionine

stop codon: one of the three mRNA codons that specifies termination of translation

telomerase: an enzyme that contains a catalytic part and an inbuilt RNA template; it functions to maintain telomeres at chromosome ends

telomere: the DNA at the end of linear chromosomes

template strand: the strand of DNA that specifies the complementary mRNA molecule

transcription bubble: the region of locally unwound DNA that allows for transcription of mRNA

tRNA: transfer RNA; an RNA molecule that contains a specific three-nucleotide anticodon sequence to pair with the mRNA codon and also binds to a specific amino acid

แบบฝึกหัด

การควบคุมการแสดงออกของยีนสามารถควบคุมได้ที่ระยะใด

A. During translation

B. During transcription

C. Post-translation

D. Post-transcription

โปรตีนจับกับดีเอ็นเอราว ๆ 100 เบสหน้าบริเวณ promotor ผลที่ได้ทำให้เกิด transcription ของยีนหนึ่งเป็นจำนวนมาก โปรตีนนี้น่าจะไปจับกับบริเวณใดบนสายดีเอ็นเอ

A. Operon

B. Silencer

C. Enhancer

D. Repressor