

# Reglarea transcrierii genetice la EK

La EK există și mecanisme complexe ce reglează :

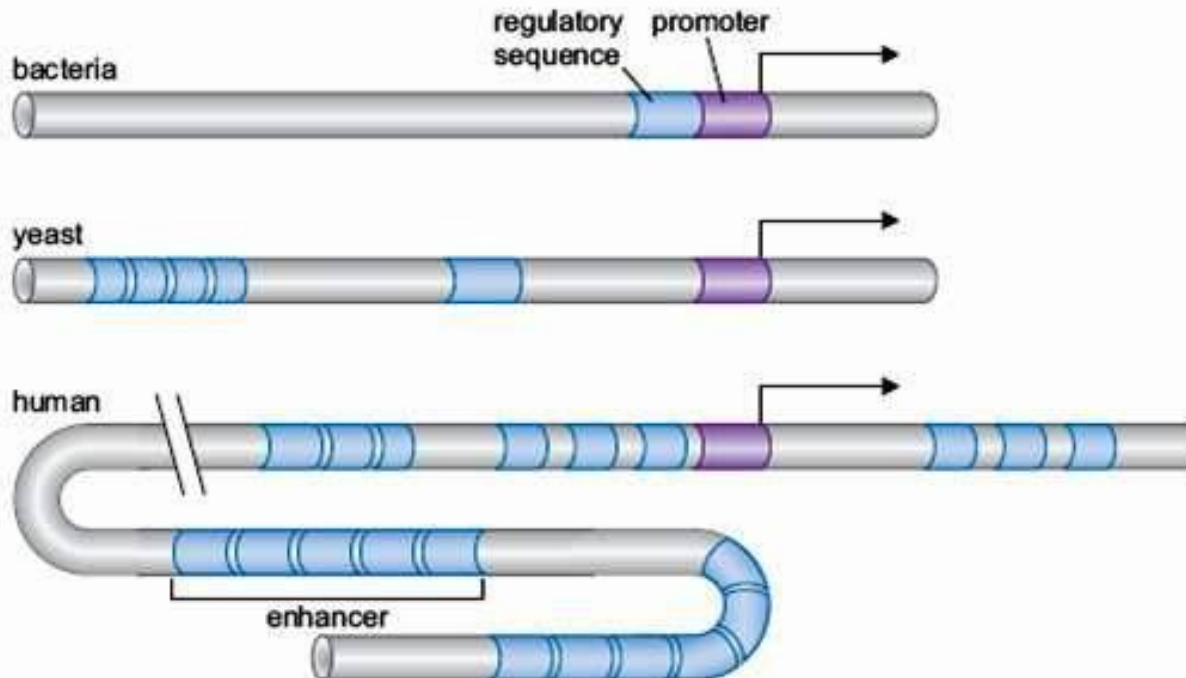
- gradul de condensare a cromatinei
- modificări chimice a histonelor și a non-histonelor

Ca și în cazul PK, cele mai active mecanisme de reglaj se adrează etapei de inițiere a transcrierii genetice

Principalele regiuni ADN cu rol reglator **enhanceri** = regiuni de activare a transcrierii

**silenceri** = regiuni de inhibare a transcrierii

Comparativ, la EK exista mult mai multe secvențe ADN cu reglator și, respectiv, proteine reglatoare :

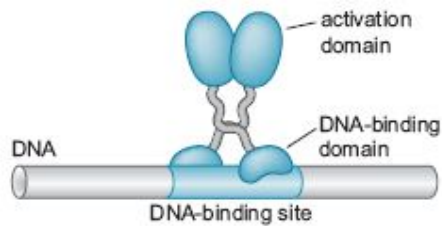


**FIGURE 19-1** The regulatory elements of bacterial, yeast, and human genes. Illustrated is the increasing complexity of regulatory sequences from a simple bacterial gene controlled by a repressor to a human gene controlled by multiple activators and repressors. In each case, a promoter is shown at the site where transcription is initiated. Although this is accurate for the bacterial case, in the eukaryotic examples, transcription initiates somewhat downstream from where the transcription machine binds (see Chapter 13). Some groups of regulatory binding sites in the human regulatory sequences represent enhancers, as shown in one case.

Majoritatea proteinelor activator de la EK au 2 domenii peptidice: domeniu de legare la ADN

domeniu de activare a transcrierii genetice

Gal 4 = cel mai studiat activator de la EK



**FIGURE 19-2** Gal4 bound to its site on DNA. The yeast activator Gal4 binds as a dimer to a 17-bp site on DNA. The DNA-binding domain of the protein is separate from the region of the protein containing the activating region (the activation domain).

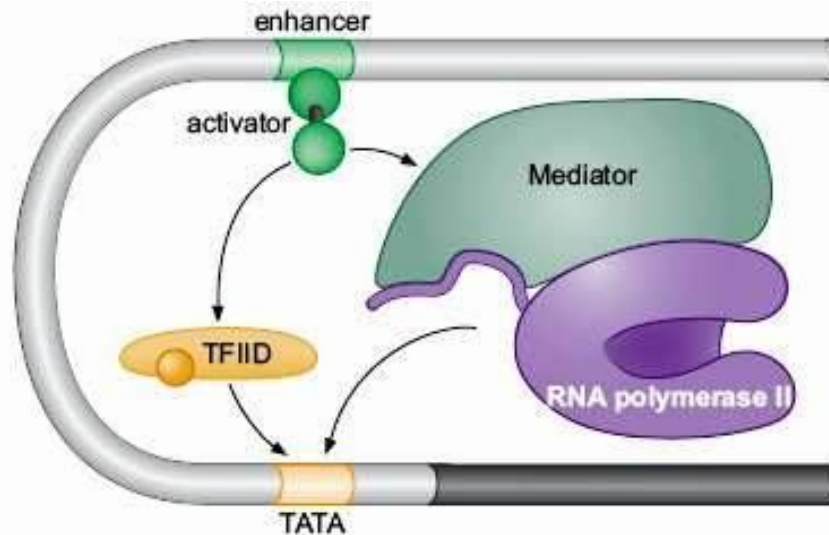
Dacă la PK activatorii ce recrutează ARN pol interacționează direct cu această enzimă,

La EK, de obicei activatorii nu interacționează direct cu ARN pol,

ci cu alte proteine, de ex cu factori de transcriere (TFIID)

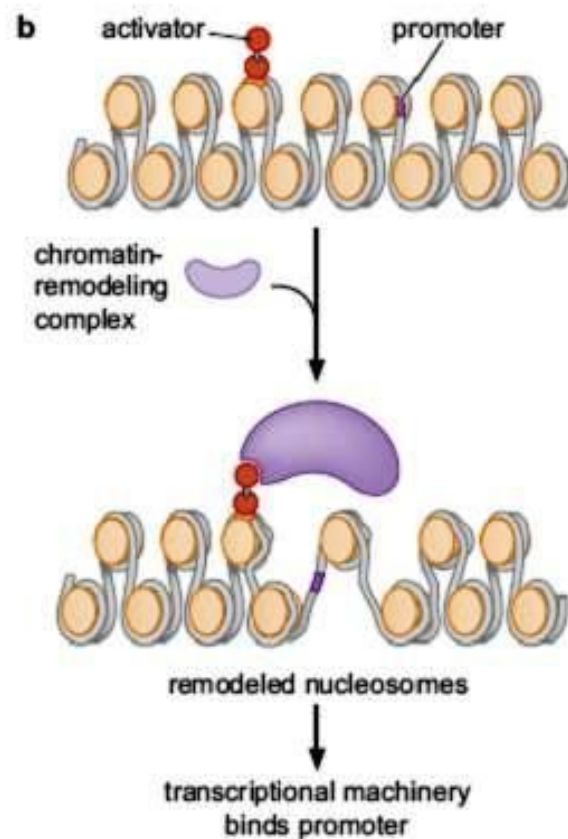
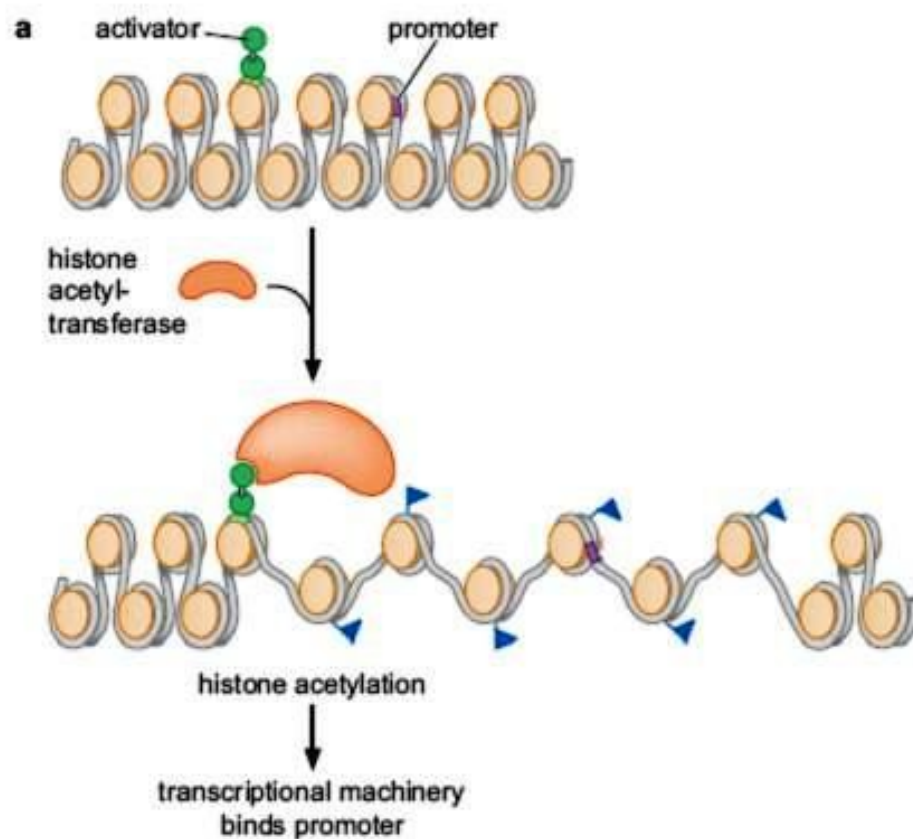
proteine “mediator” ptr activarea cromatinei

Activatorii recrutează de fapt tot complexul transcripțional



Activatorii recrutează și enzimele ce modifică nucleosomii → Complexul de transcriere se poate atașa la P  
Poate fi inițiată transcrierea

histon-acetil-transferaze HAT - acetilează histonele  
remodelarea histonelor SWI/SNF } → activarea transcrierii



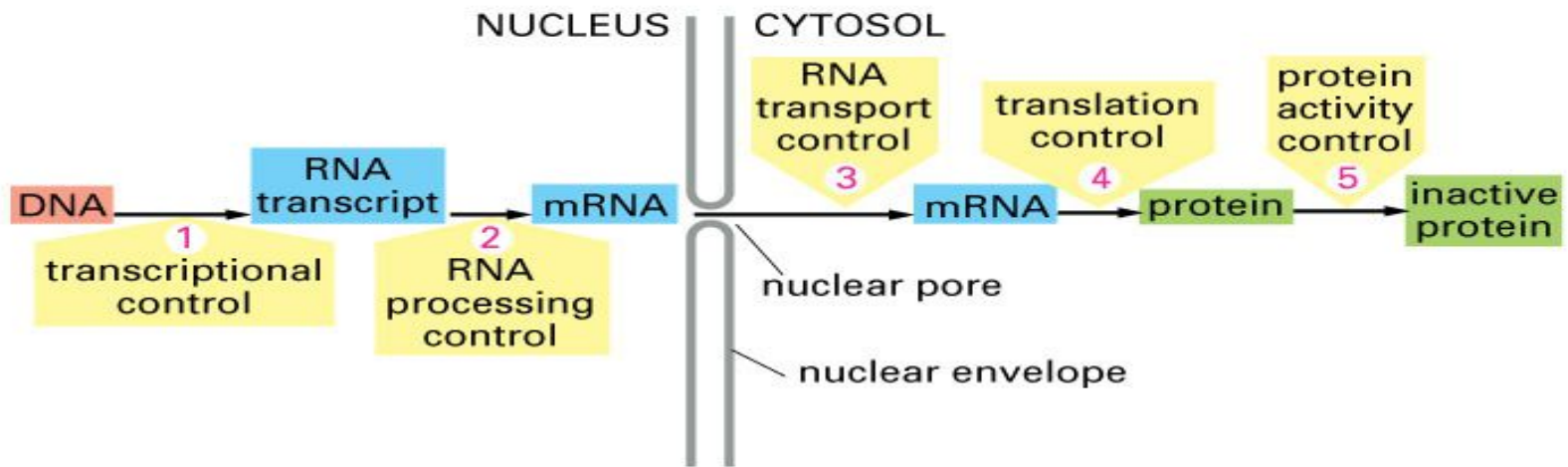
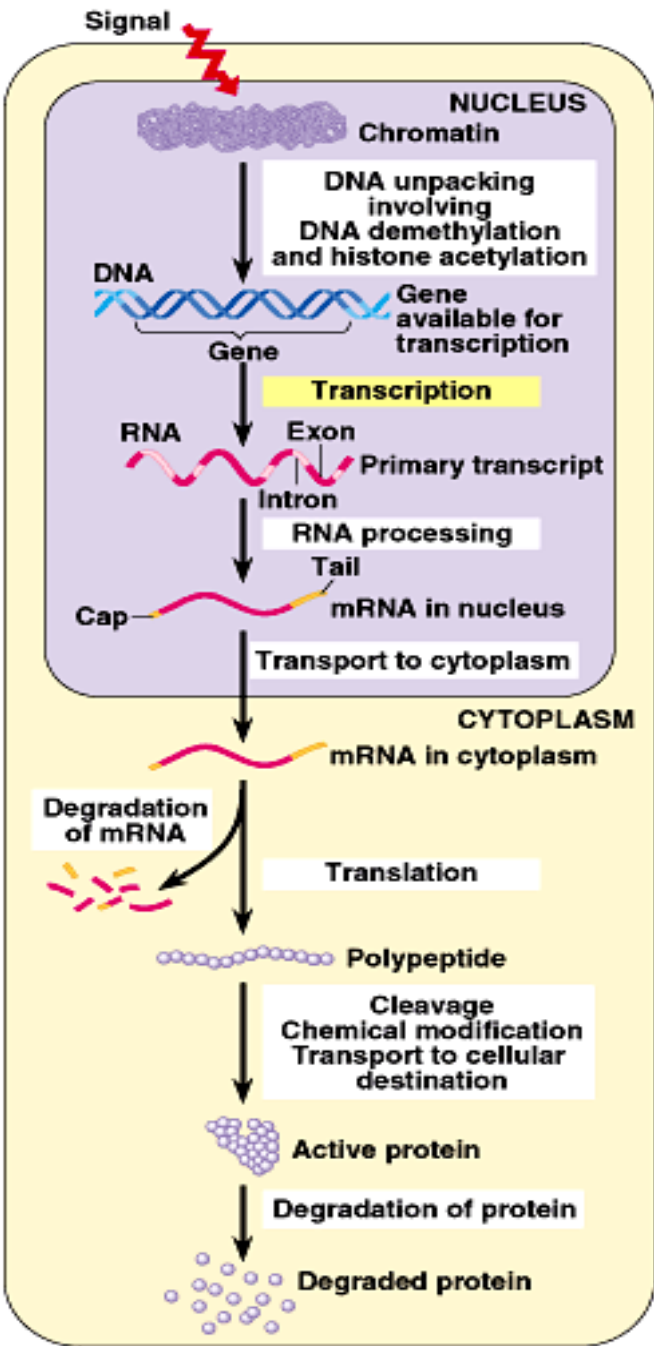


Figure 8-3 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

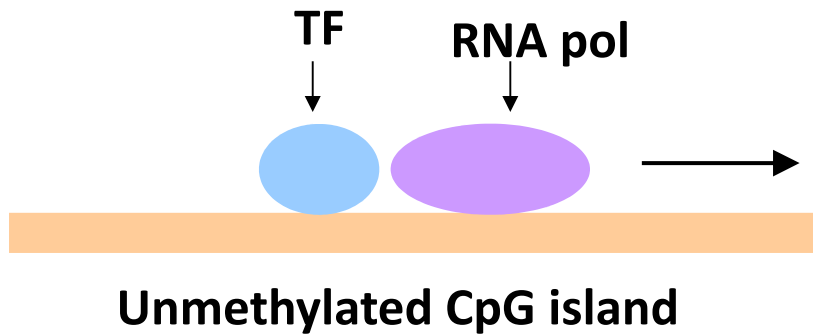
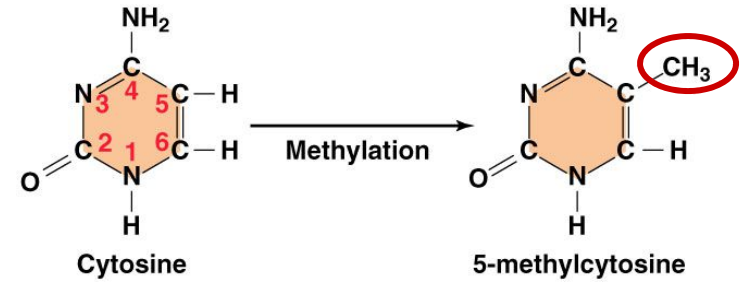
Reglarea expresiei genelor la EK se realizează la foarte multe nivele

1. Activarea / inactivarea cromatinei
2. Ctrl transcripțional - inițierea transcrierii genetice
3. Ctrl procesării ARN - splicing alternativ
4. Ctrl transport al ARNm prin membrana nucleară
5. Ctrl translațional (ctrl traducerii ARNm)
6. Ctrl al modificărilor post-translaționale ale peptidelor
7. Ctrl al degradării ARNm

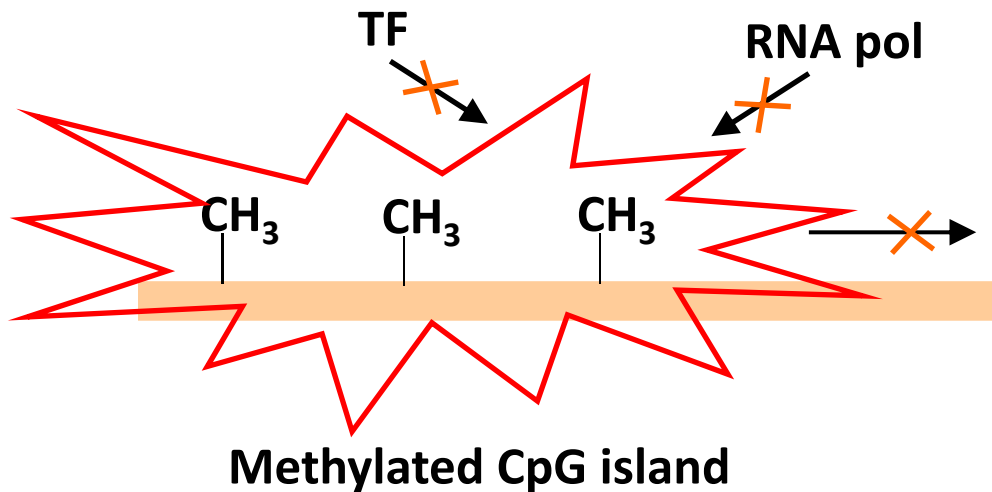


# 1. Activarea / inactivarea cromatinei

## 1.a Metilarea insulelor GC → inactivarea transcrierii



Transcriere activată



Transcriere inactivată

## 1.b Modificarea chimică a histonelor

Modificarea domeniilor N-terminale ale histonelor H3, H4 : metilare, acetilare, fosforilare

acetilare → decondensarea cromatinei → **activarea transcrierii**

fosforilare → **activarea transcrierii**

metilare → **inactivarea transcrierii**

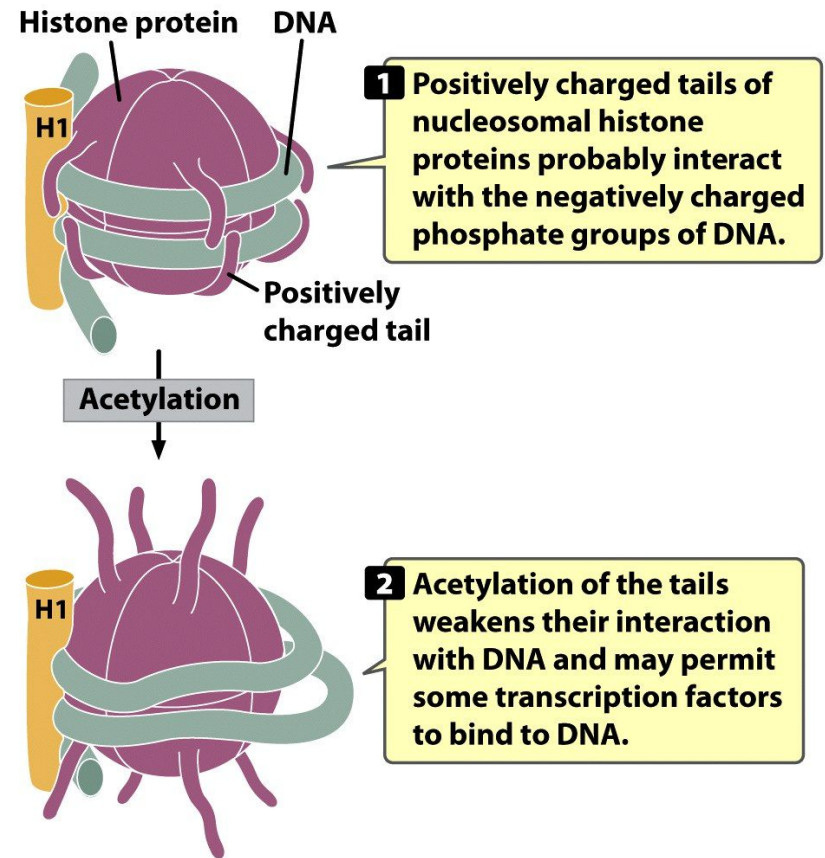


Figure 17-2  
*Genetics: A Conceptual Approach, Third Edition*  
© 2009 W. H. Freeman and Company

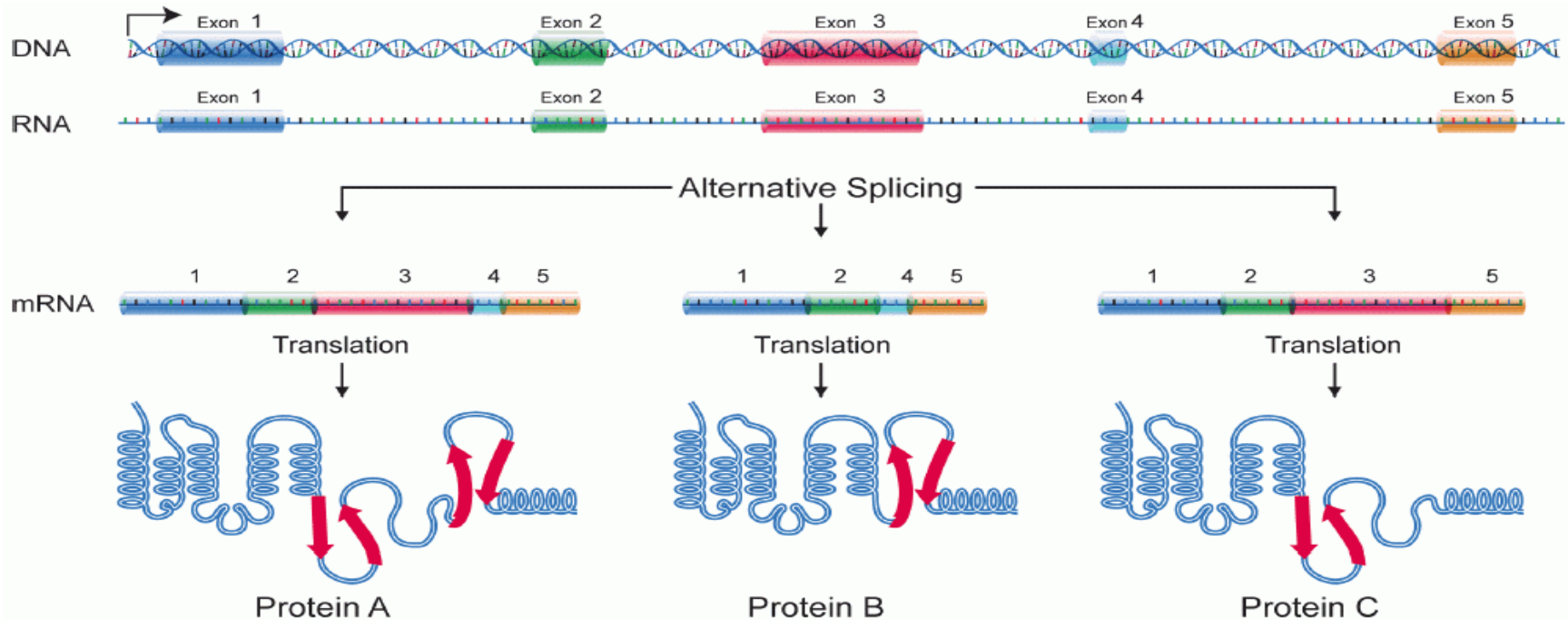
## 1.c Remodelarea histonelor

- complexul proteic SWI/SNF decondensează cromatina → **activarea transcrierii**

- Hipercondensarea cromatinei → **inactivarea transcrierii**



### 3. Ctrl procesării ARN - *splicing* alternativ



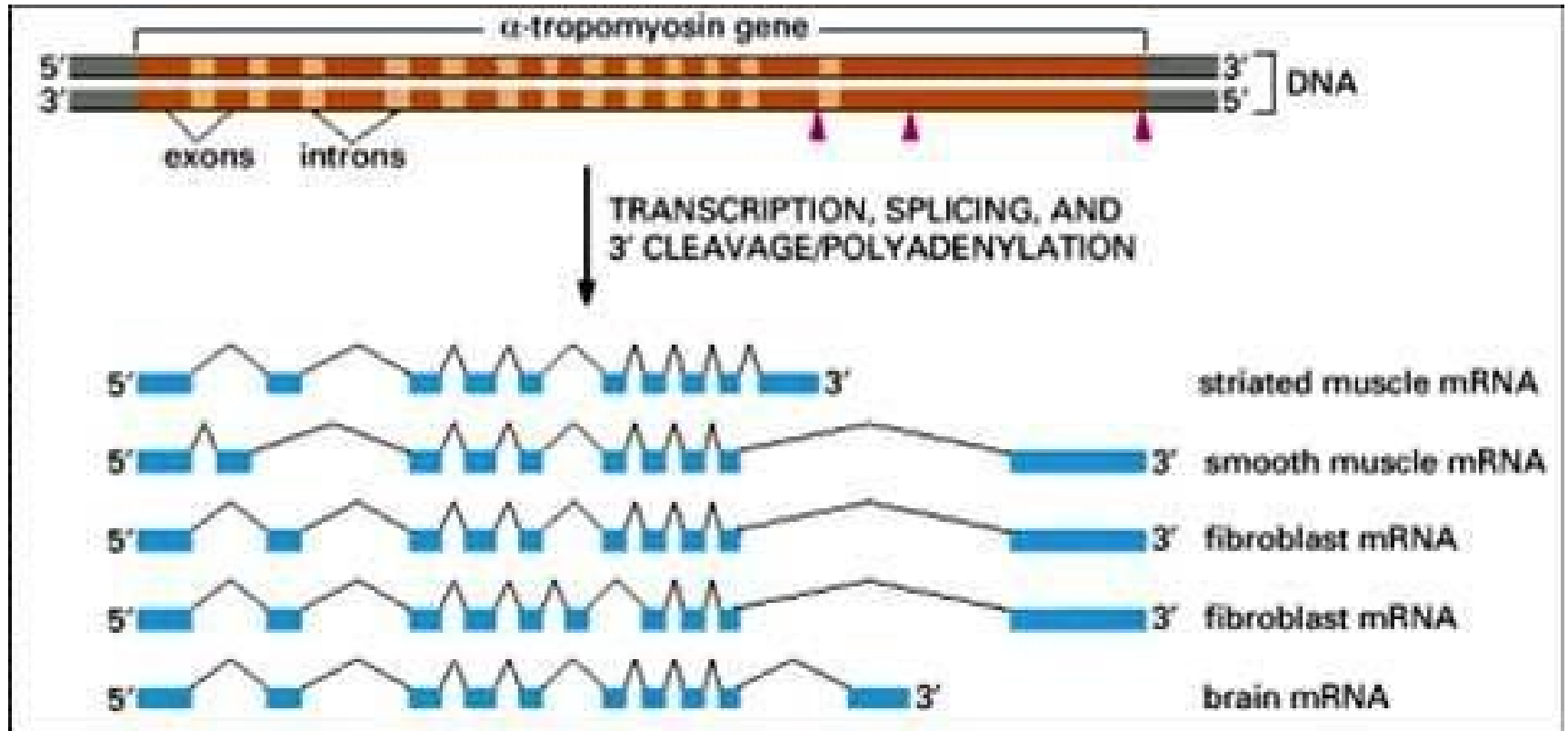
***Splicing*-ul alternativ sau diferențial = un proces de reglaj prin care o genă poate codifica ptr mai multe proteine.**

1 genă – 1 enzimă

1 genă –  $n$  peptide

Se pare că cel puțin 75% din cele aprox. 25.000 de gene umane sunt exprimate prin *splicing* alternativ, cu variații majore între țesuturi și stadii de dezvoltare și chiar între populații umane.

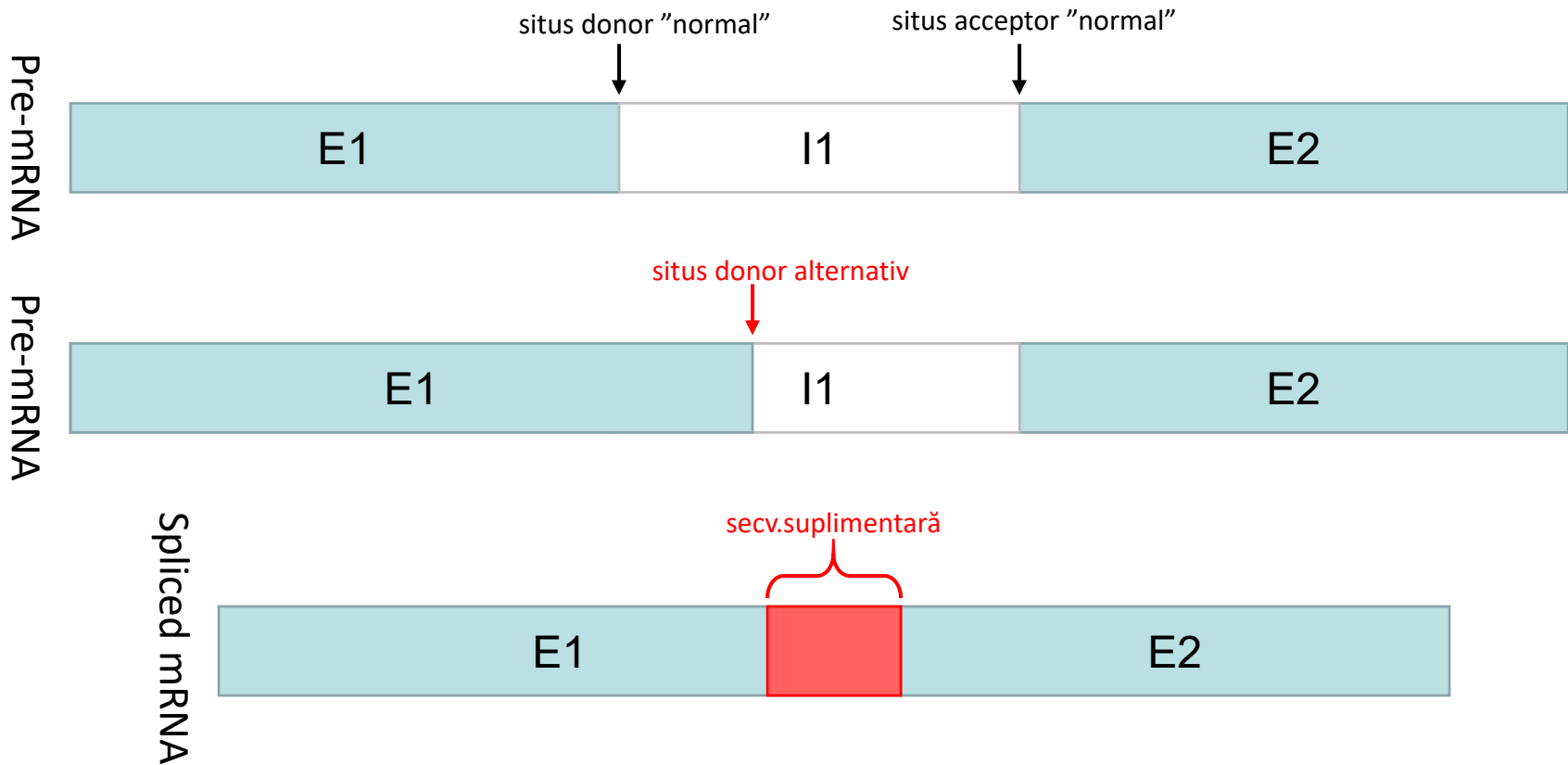




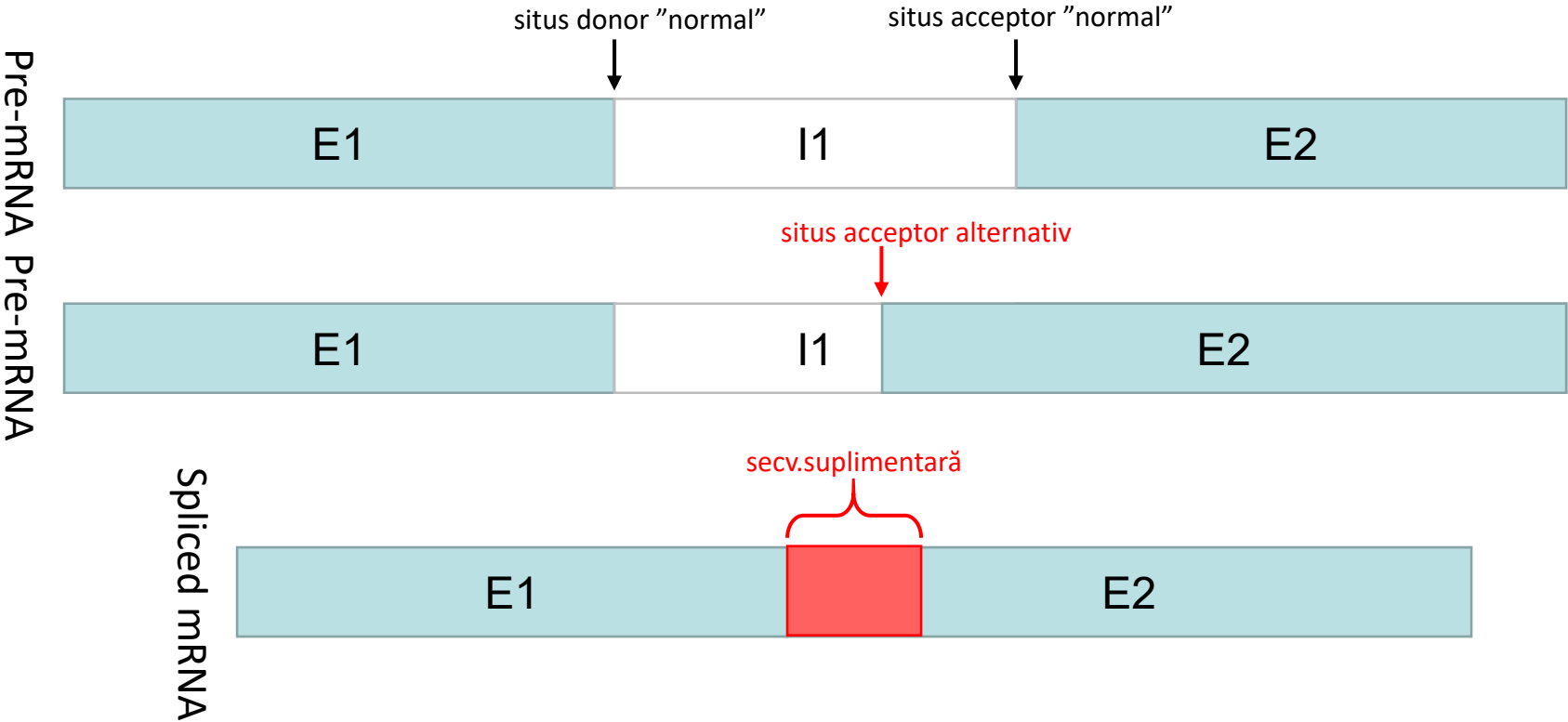
## Au fost descrise 4 tipuri principale de *splicing* alternativ

- situs donor alternativ (altD)
- situs acceptor alternativ (altA)
- poziții alternative ale situsurilor de excizie a intronilor (*alternative position*, altP)
- lipsa unui exon (*exon skipping*, exonS)
- intron ne-eliminat (*intron retention*, intronR)

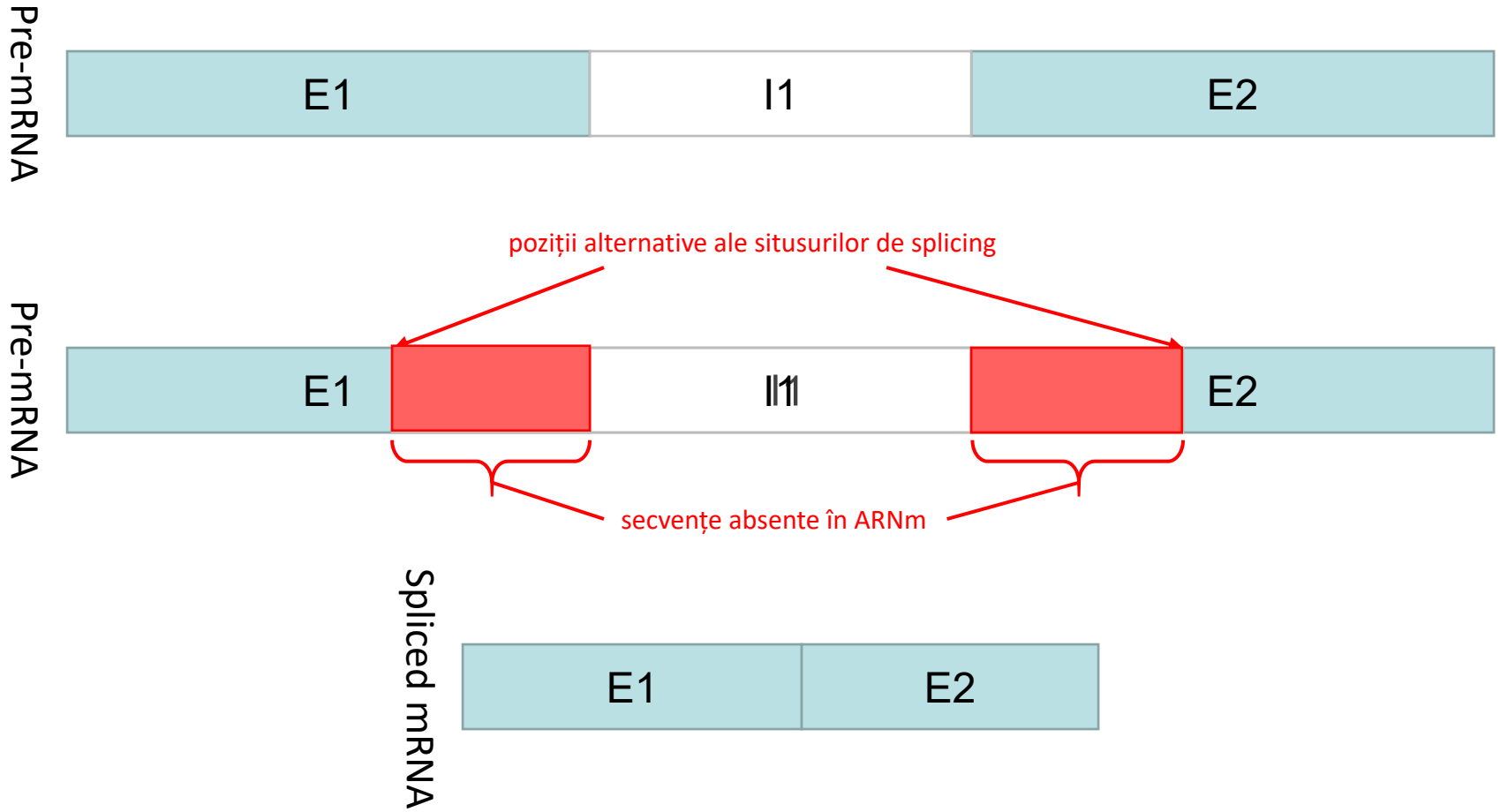
### Situs donor alternativ (altD)



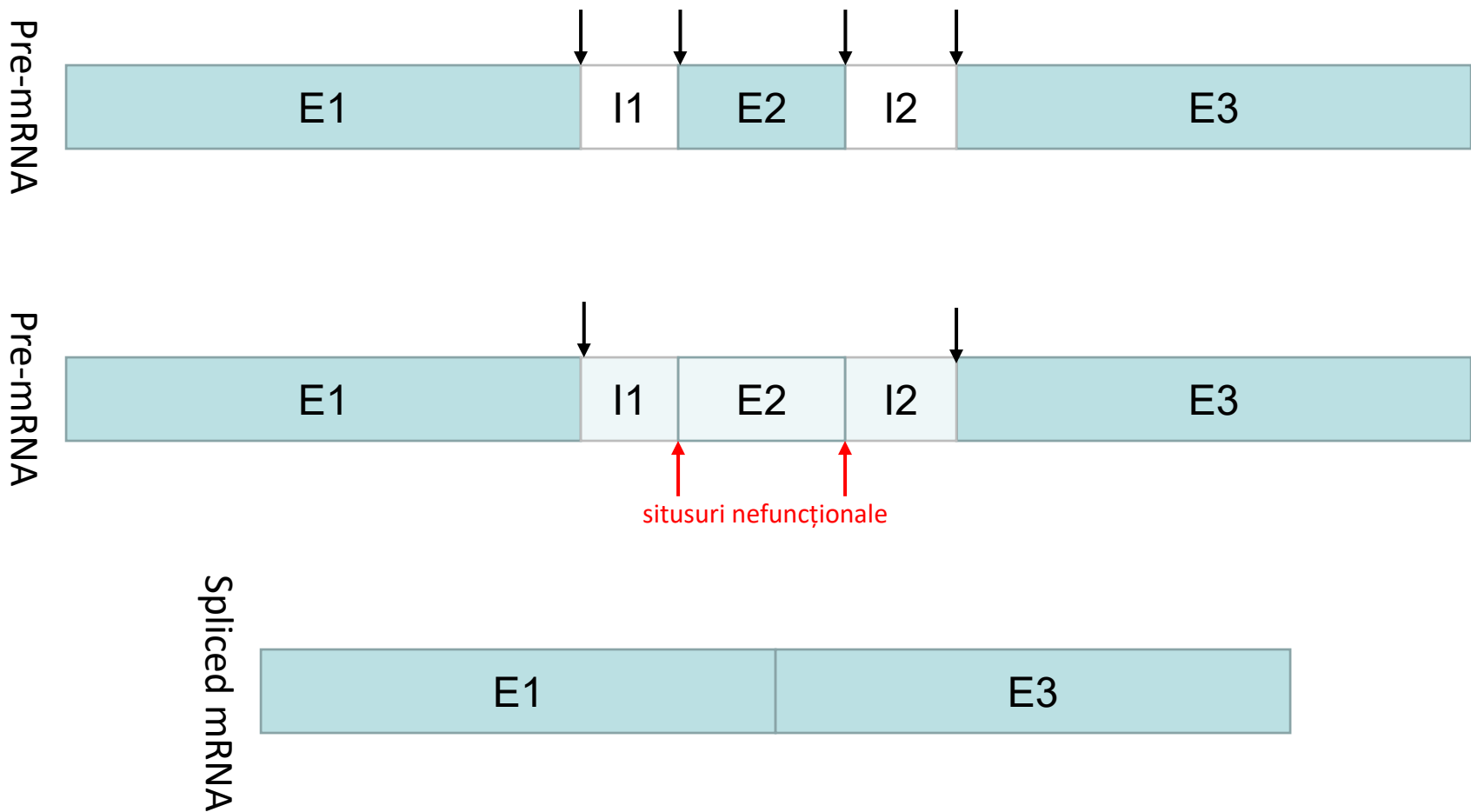
Situs acceptor alternativ (altD)



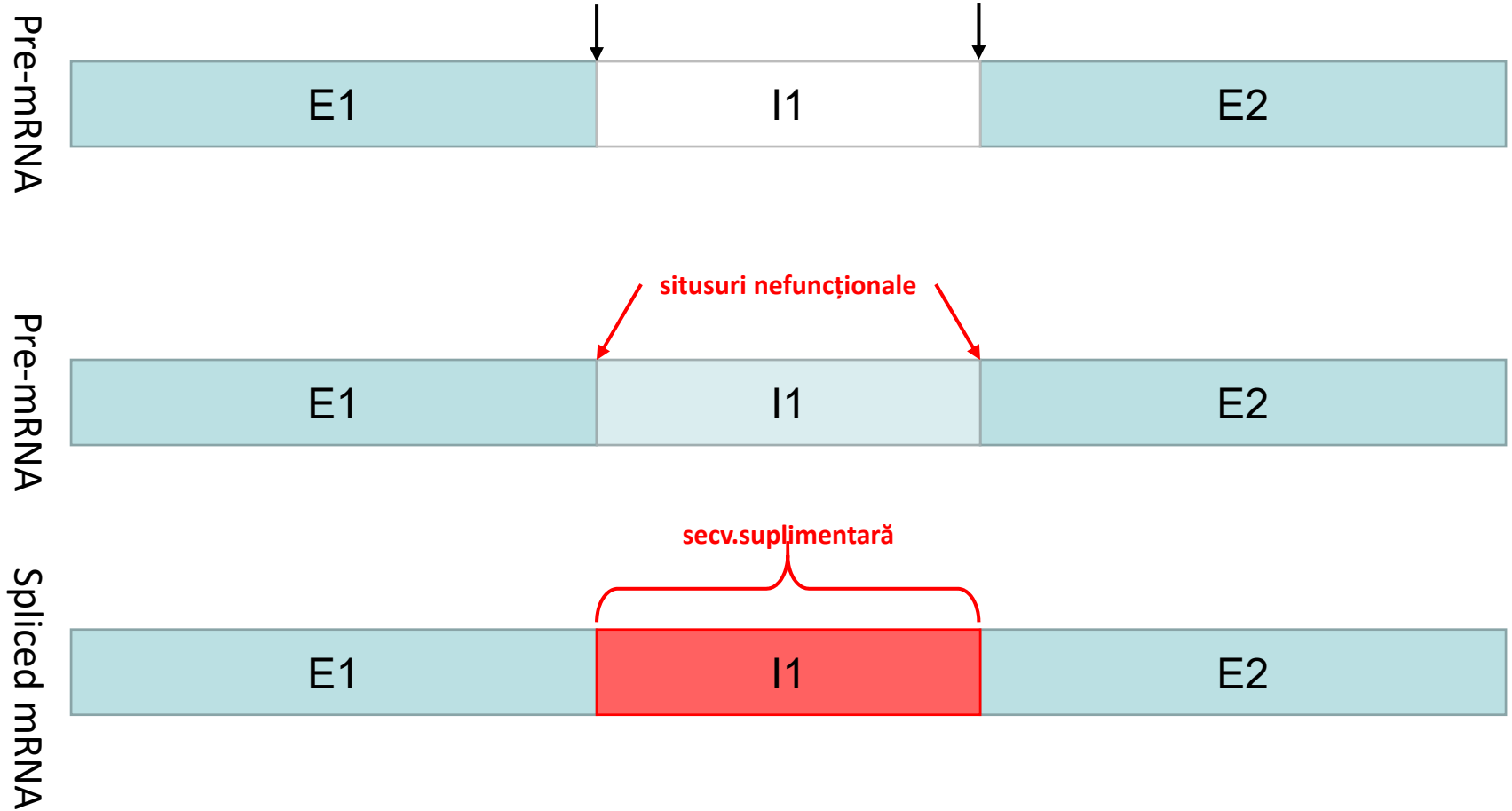
## Poziții alternative ale situsurilor de excizie a intronilor (altP)



## Lipsa unui exon (exonS)



## Intron ne-eliminat (intronR)



## 2. Ctrl transcripțional

- inițierea transcrierii genetice

**ENHANCERI**= secvențe ADN situate mult în amonte față de promotor

- la aceste regiuni ADN se atașează proteine cu rol de activare a transcrierii genetice **ACTIVATORI**
- activarea presupune îndoirea moleculei ADN și formarea unei BUCLE între enhancer și promotor

**SILENCERI** - și silencerii sunt situați în amonte față de promotori

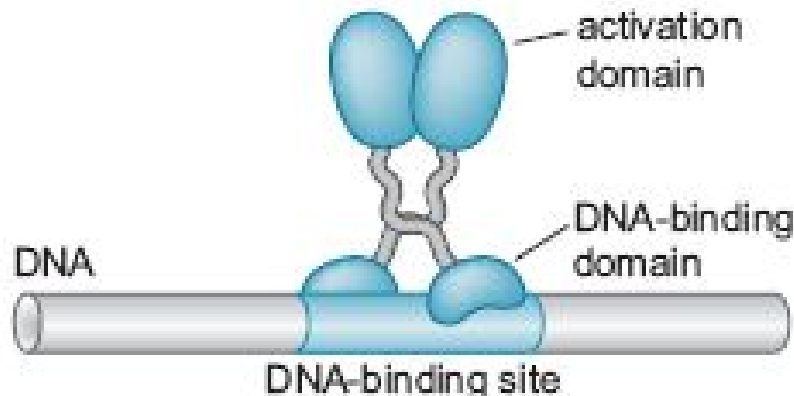
- la silenceri se atașează proteine represor **REPRESORI**

Majoritatea proteinelor activator de la EK au 2 domenii peptidice:

domeniu de legare la ADN

domeniu de activare a transcrierii genetice

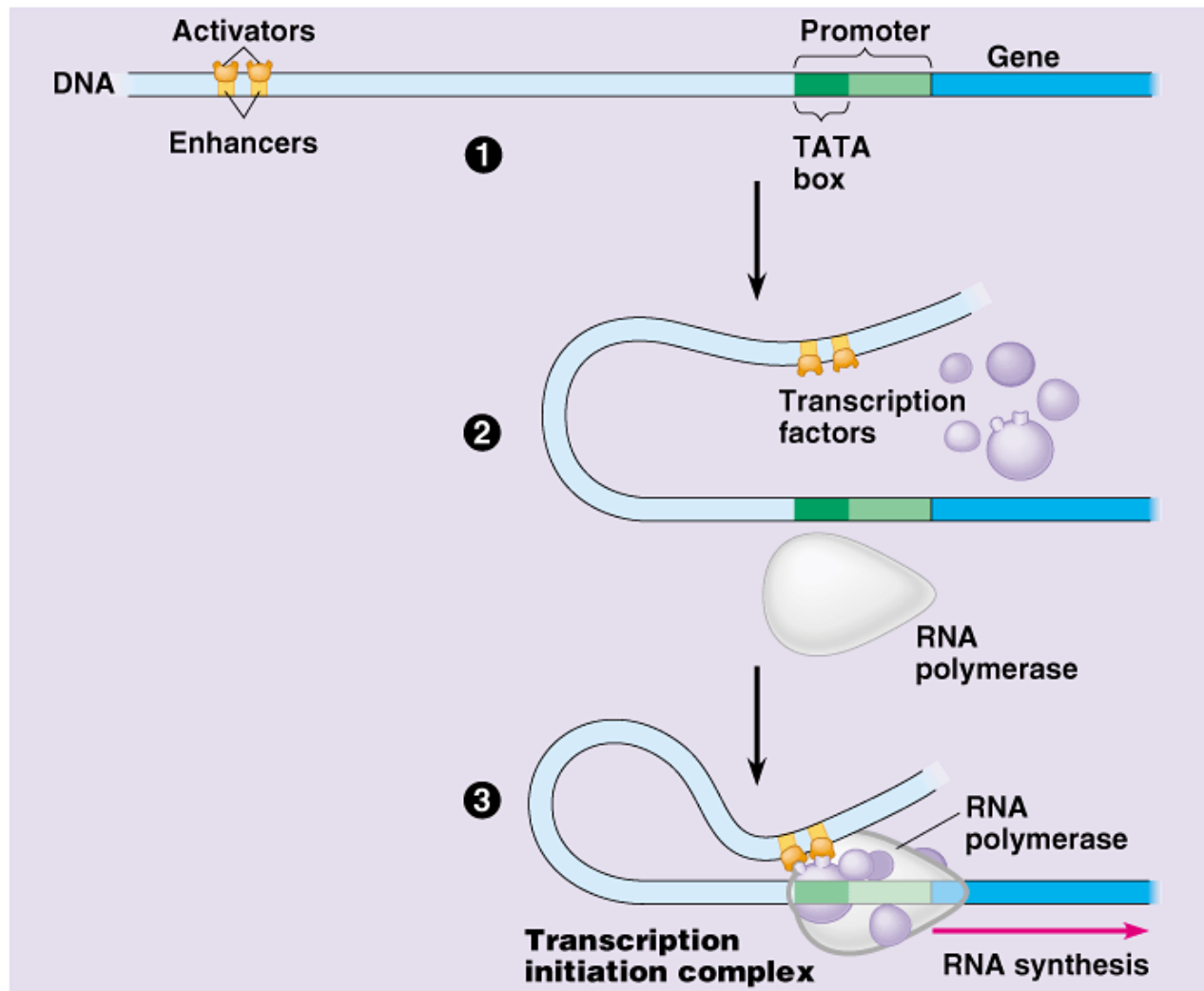
Gal 4 = cel mai studiat activator de la EK



**FIGURE 19-2** Gal4 bound to its site on DNA. The yeast activator Gal4 binds as a dimer to a 17-bp site on DNA. The DNA-binding domain of the protein is separate from the region of the protein containing the activating region (the activation domain).



## Model de activare a transcrierii cu ajutorul enhancerilor



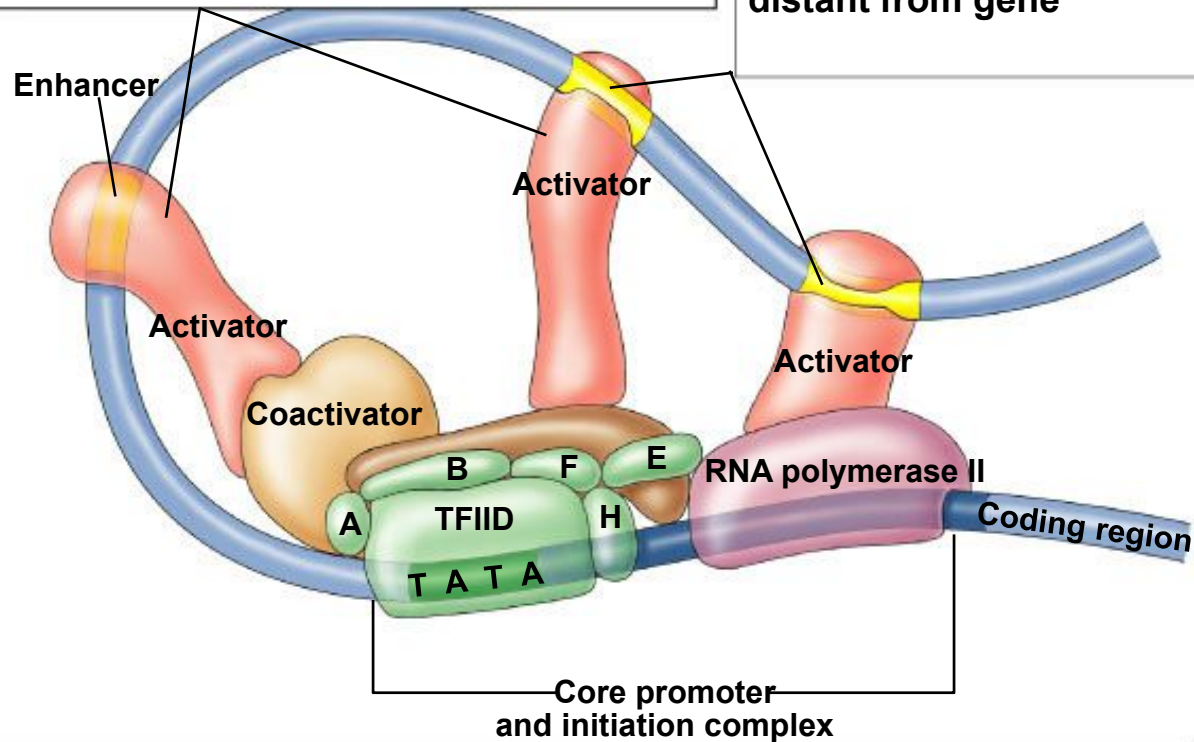
# Complex de transcriere genetică la EK

## Activator Proteins

- regulatory proteins bind to DNA at distant enhancer sites
- increase the rate of transcription

## Enhancer Sites

regulatory sites on DNA distant from gene



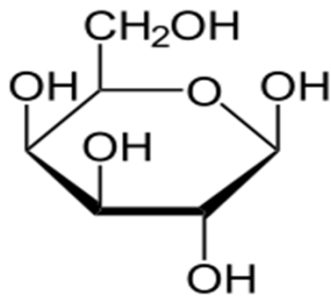
**Initiation Complex at Promoter Site** binding site of RNA polymerase

# Reglajul genelor implicate în metabolizarea galactozei la drojdia de bere

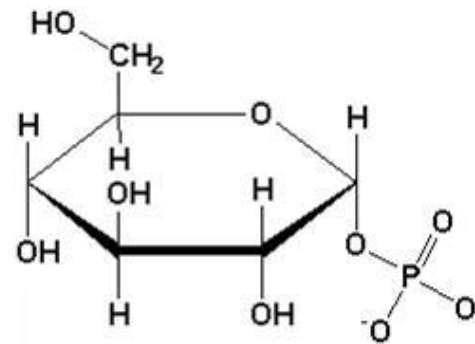
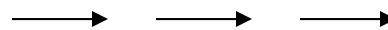
*Saccharomyces cerevisiae*

Galactoză = zahar (monozaharid) utilizat în absența glucozei

galactoză → → → glucozo-1-fosfat → calea glicolică

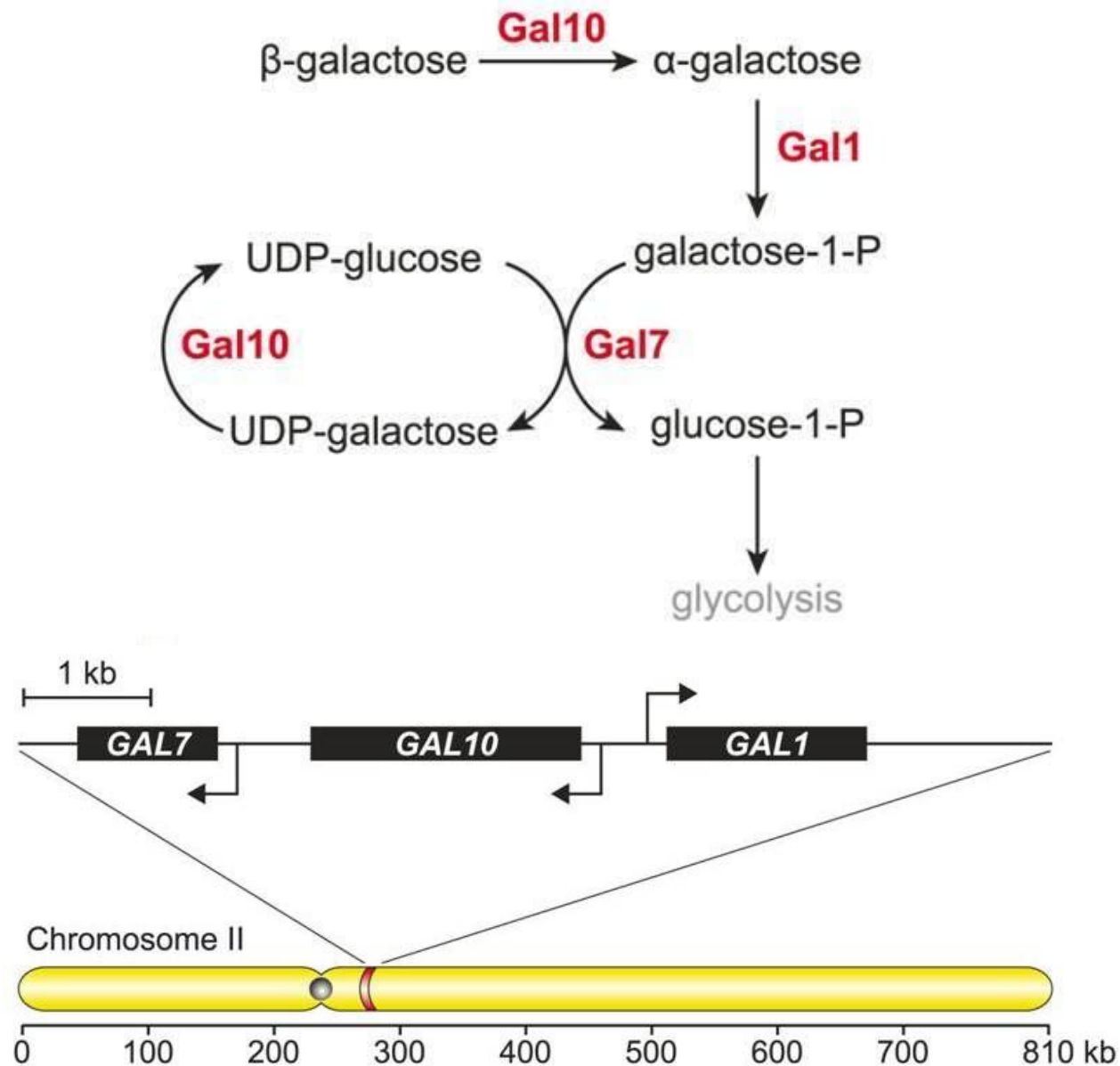


galactoză



glucozo-1-fosfat

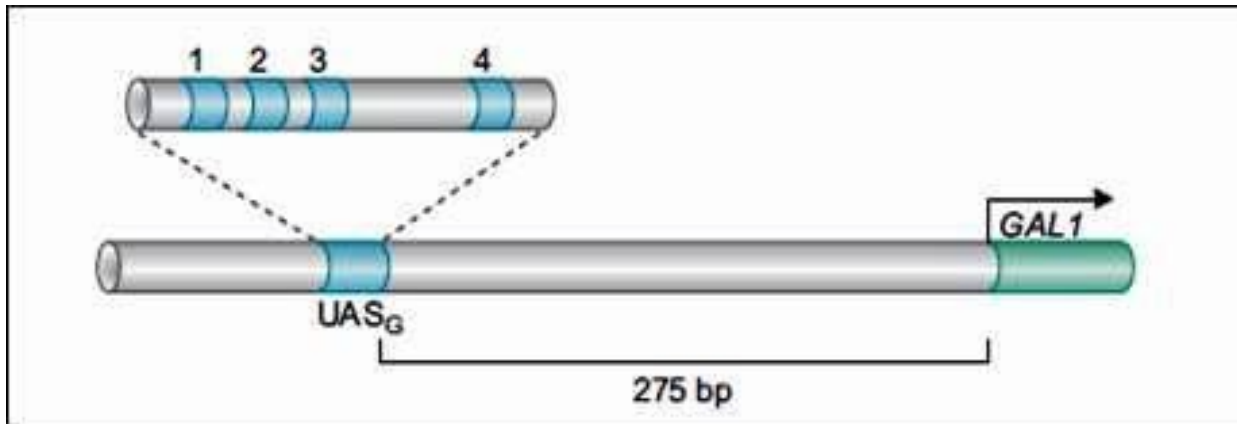
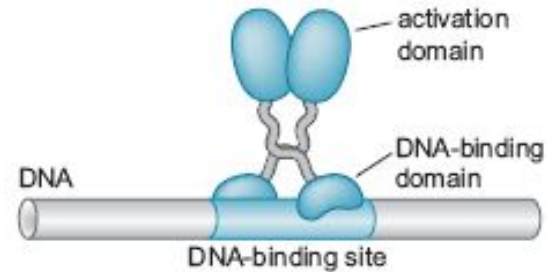
*S.cerevisiae* deține peste 30 de gene implicate în calea metabolică de transformare a galactozei până la glucozo-1-fosfat



## Procesul de reglaj al exprimării genei gal 1 se bazează pe 3 proteine: Gal 4, Gal 80 și Gal 3

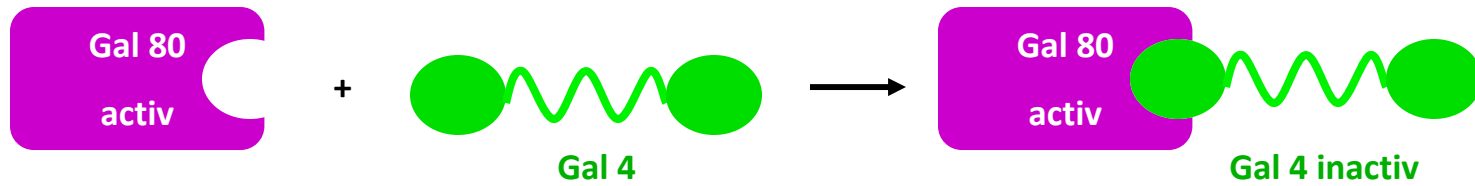
**Gal 4** = activatorul principal, se atașează la secvența de tip enhancer denumită  $UAS_G$

- funcționează ca dimer

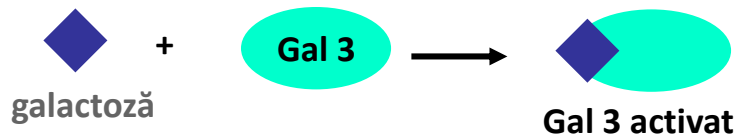


$UAS_G$  are 4 situsuri de atașare  
și la fiecare se atașează câte  
1 dimer de Gal 4

În ABSENȚA galactozei, Gal 80 reprezintă activatorul Gal 4

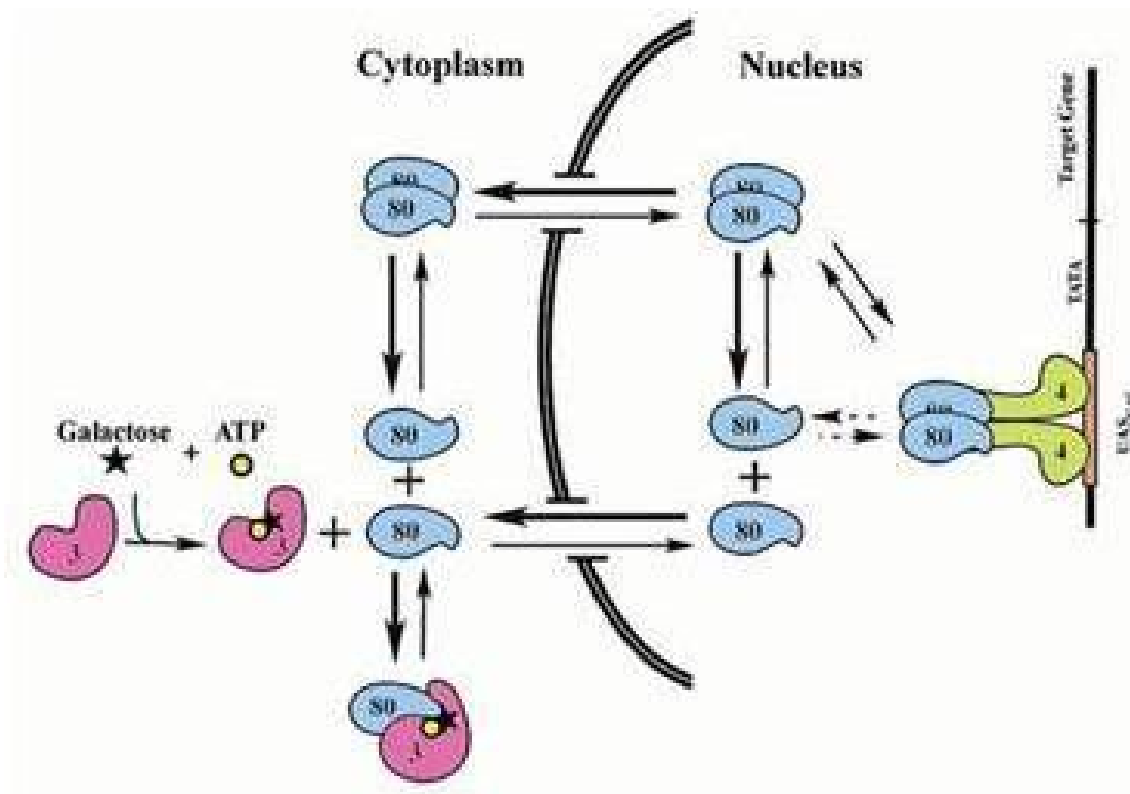
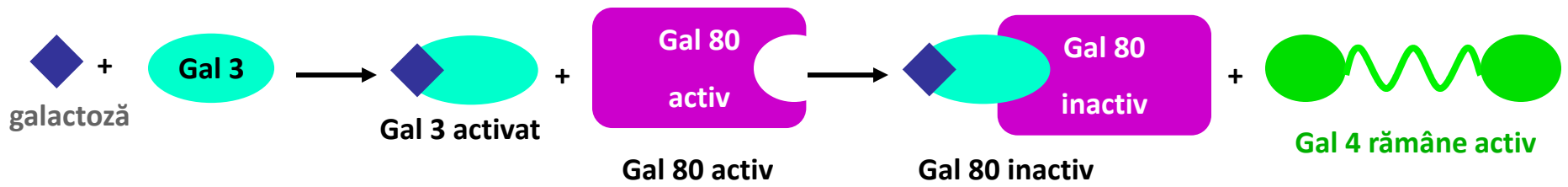


În PREZENȚA galactozei, Gal 3 este modificat steric



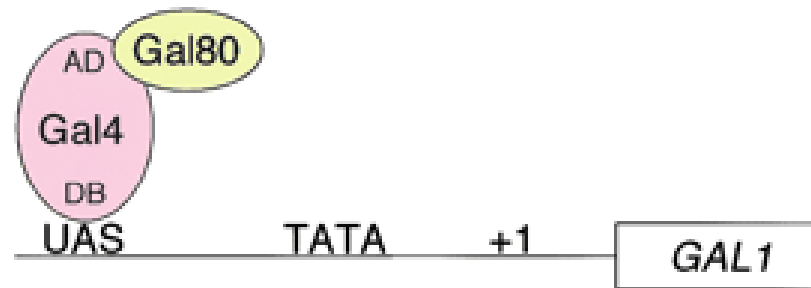
După activare de către galactoză, Gal 3 se atașează la Gal 80 pe care îl inactivează



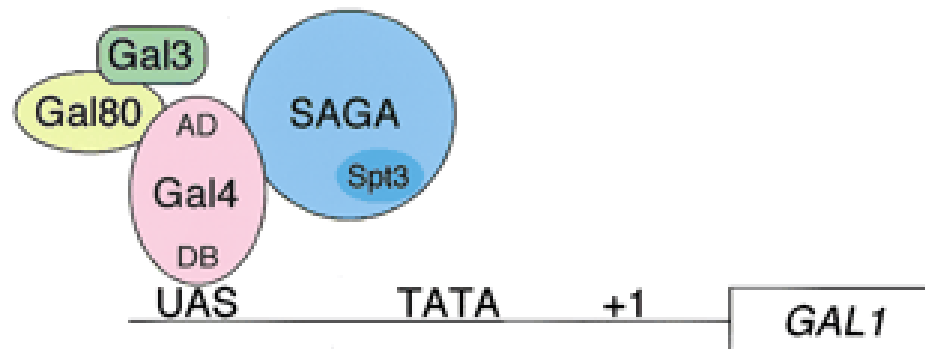




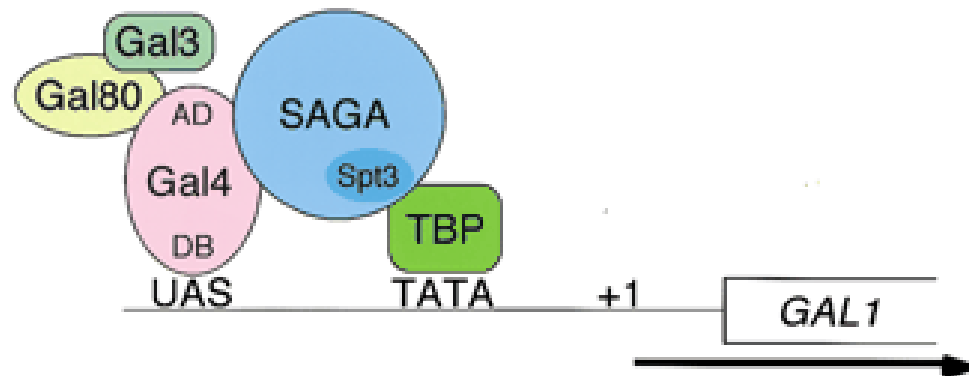
### 1. Noninducing conditions



### 2. Inducing conditions; first, Gal4 recruits SAGA



### 3. Then, SAGA recruits TBP



**In the absence of galactose, GAL80 blocks GAL4 from activating transcription.**

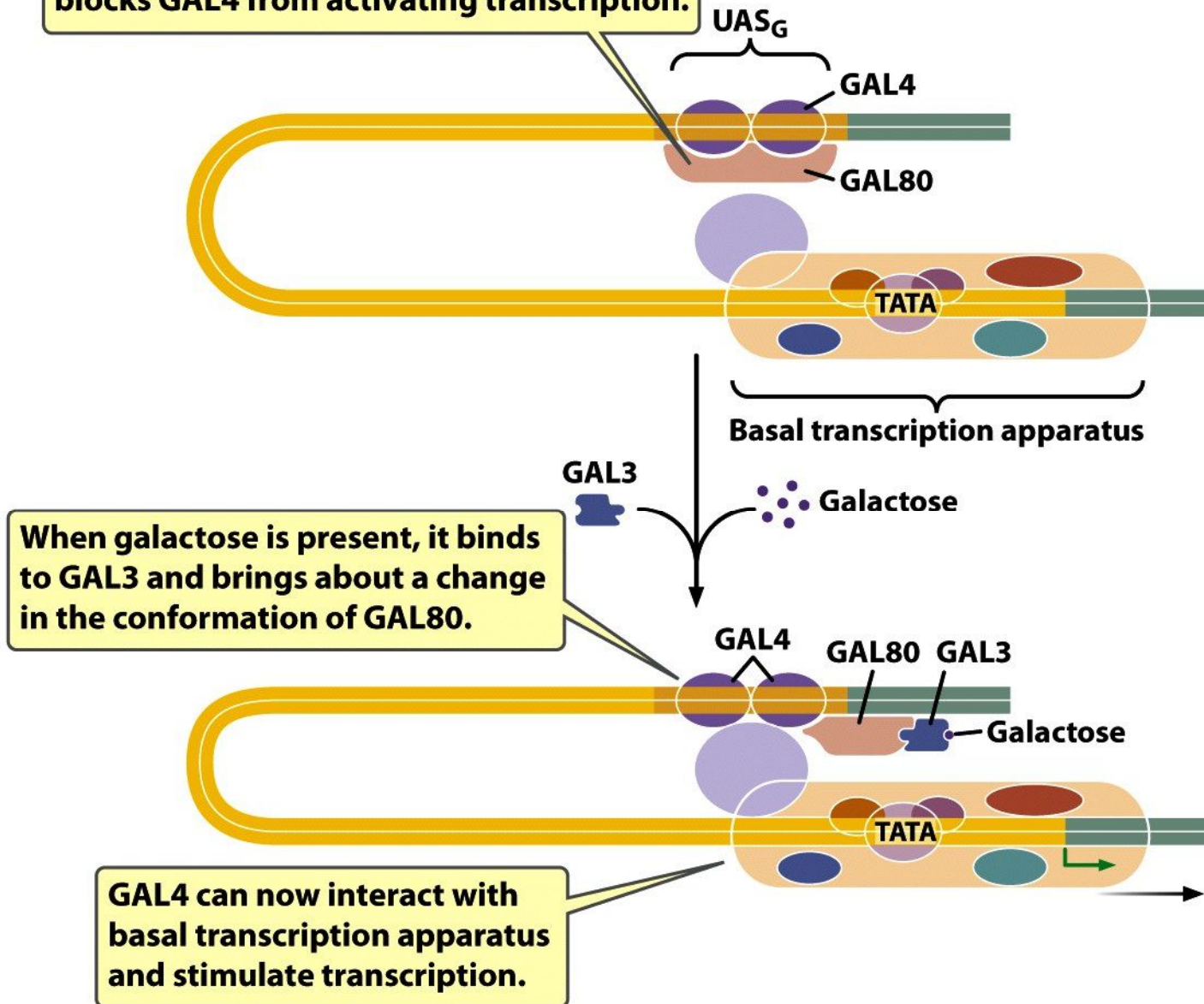
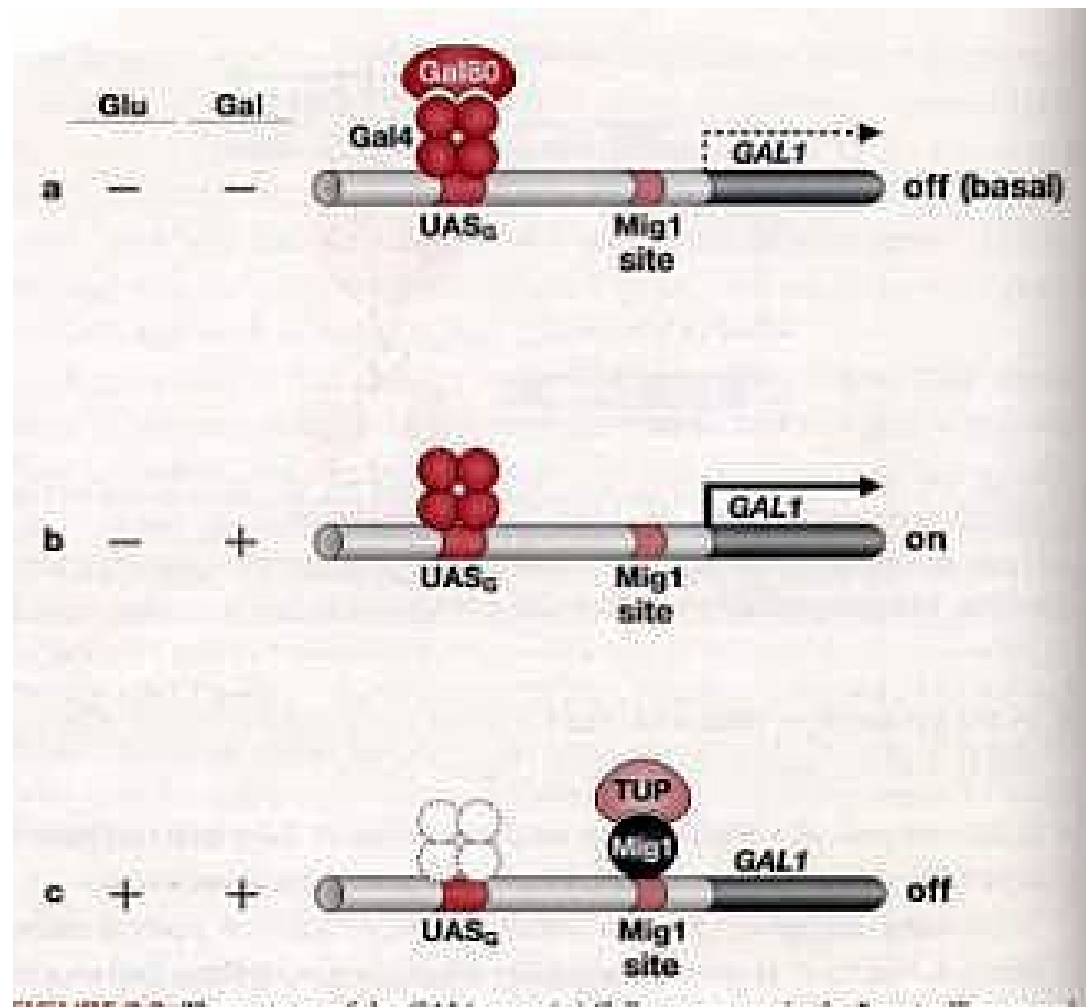


Figure 17-6  
*Genetics: A Conceptual Approach, Third Edition*  
© 2009 W.H. Freeman and Company



# Comparații generale între reglajul exprimării genelor la PK și EK

## Arhitectura și compactarea materialului genetic

PK – molecula ADN ce formează cromozomul bacterian este complexată cu proteine histone-like și formează structuri nucleosom-like

EK – moleculele ADN sunt complexate cu proteine histonice – nucleosomi, dar gradul de compactare variază de la o regiune cromozomală la alta

- ADN este complexată și cu alte categorii de proteine (proteine non-histonice)
- compactarea materialului genetic este realizată secvențial, până la stadiul de cromatină
- gradul de compactare variază semnificativ de la o etapă la alta a ciclului celular

Ca urmare, la EK, prima etapă în reglajul exprimării genelor este reprezentată de reglajul accesibilității cromatinei

## Diferențe între etapele de inițiere a procesului de transcriere genetică

PK – promotori cu structură relativ simplă

- ARN polimerază de un singur tip, recunoaște direct secvențe consensus din promotori
- nu au fost identificate proteine cu funcție de factori de transcriere
- reglaj genetic cu ajutorul unor secvențe de tip *enhanceri* / *silenceri* a fost identificat extrem de rar

EK – promotorii au structură complexă

- fiecare celulă are mai multe specii moleculare de ARN polimerază, fiecare transcriind tipuri diferite de gene
- promotorii nu sunt recunoscuți de ARN polimeraze, ci de seturi complexe de factori de transcriere, și abia apoi se atașează ARN pol
- transcrierea majorității genelor este reglată prin intervenția secvențelor de tip *enhancer* / *silencer*,  
ce sunt recunoscute de proteine cu funcție de activator / represor

## Procesarea ARN transcript

PK – în foarte multe cazuri, transcriptul ARN nu este procesat, traducerea pornind de multe ori chiar înainte de terminarea transcrierii

EK – transcriptul primar este supus unor procese complexe, de ex. *splicing*, *capping*, adăugarea cozii polyA, procese în urma cărora rezultă ARNm

La EK, majoritatea moleculelor ARNm sunt traduse în citoplasmă și etapa de transport din nucleu prin porii membranei nucleare este și ea supusă reglajului.

În afară de aceste etape, la EK se mai adaugă și reglajul următoarelor etape ale exprimării genelor:

- controlul translațional (ctrl traducerii ARNm)
- controlul modificărilor post-translaționale ale peptidelor
- controlul degradării ARNm



**(a) 5 weeks.** Limb buds, eyes, the heart, the



**(b) 14 weeks.** Growth and development of



**(c) 20 weeks.** By the end of the second