

Regulace transkripce u eukaryot

Jedním z významných **kontrolních bodů** exprese genů je **iniciace transkripce**.

- **transkripčně inaktivní DNA** je součástí vysoce kondenzované chromatinové struktury v chromosomu – tato struktura musí být před transkripcí **reverzibilně upravena** do konformace, která umožňuje **navázání RNA-polymerasy** na DNA

Změna konformace chromatinu je umožněna **modifikací histonů** a remodelací chromatinu:

- histony jsou součástí **nukleosomů** a jejich modifikace spočívá v acetylaci nebo deacetylaci
- jedná se o přidání **acetylových skupin** k amino-skupinám postranních řetězců lysinů v histonech pomocí enzymu **acetyltransferasy**
- tak se **redukuje afinita** mezi histony a DNA – oblast promotoru genu je **přístupnější** pro komplex transkripčních faktorů a RNA-polymerasy
- **deacetylase** histonů má opačný efekt
- na aktivaci nebo potlačení transkripce má vliv i **methylace histonů** (methyltransferasa) – methylace argininů aktivuje, lysinů deaktivuje
- tyto modifikace s účastí **dalších proteinů** dočasně mění strukturu chromatinu

Interakce transkripčních faktorů a specifických sekvencí promotoru genu:

- **regulace transkripce** se uskutečňuje především **interakcí promotoru** s těmito specifickými proteiny, vázajícími se na DNA
- **regulační sekvence** jsou umístěny různě daleko od **počátku transkripce**, ale na stejné molekule DNA nebo RNA – pracují tedy v **pozici cis** (cis elementy)
- **transkripční faktory** jsou syntetizovány v cytoplazmě, působí však v jádře a musejí proto **migrovat** do místa určení

Základní **transkripční faktory** se vážou s DNA promotoru v místě **sekvence TATA** a tvoří komplex pro **lokalizaci RNA-polymerasy** do správné pozice – iniciace transkripce. **Účinnost transkripce** závisí na dalších specifických TF, jež se mohou vázat na další **signální sekvence** v promotoru a mohou **interagovat** s transkripčním iniciačním komplexem a posílit jeho **stabilitu**.

- mezi **specifické TF** patří např. tkáňově specifické TF

Kromě **základních signálních sekvencí** se v regulaci transkripce mohou uplatnit sekvence zvané **enhancery** (zesilovače), které velmi účinně stimulují transkripci. Nachází se většinou **mimo promotor** genu, často ve velké vzdálenosti od genu, ale i uvnitř genu různě daleko po proudu od začátku transkripce. **Silencery** jsou naopak sekvence transkripce inhibující.

Transkripční faktory

- TF tvoří velkou rodinu proteinů, které mohou pozitivně nebo negativně ovlivňovat transkripci
- většinou fungují jako **homodimery**, méně často tvoří heterodimery odlišných transkripčních faktorů
- obsahují několik funkčně důležitých **domén** – doména pro vazbu s DNA, dimerizační doména a aktivační doména
 - **aktivační doména** aktivuje vznik transkripčního komplexu poté, co se TF váže na signální sekvenci genu
 - **doména pro vazbu s DNA** obsahuje několik charakteristických konzervovaných struktur – **motivů**
 - všechny tyto motivy používají **α -helixy**, které zapadají do velkého žlábků DNA
 - TF jsou podle **typu domény** pro vazbu s DNA a podle genů, jejichž expresi ovlivňují, **klasifikovány**

Motivy v doméně pro vazbu DNA

motiv helix-turn-helix (spirála-otáčka-spirála)

- tvořen dvěma α -helixy, oddělenými β otáčkou, vytváří **dimery**
- jeden z helixů se váže na DNA ve **velkém žlábků**
- příkladem proteinů s tímto motivem jsou TF obsahující **homeodomény**, jež jsou kódovány velmi **konzervovanými geny** (homeobox geny)
- podílejí se na **regulaci diferenciaci** a hrají významnou roli v **embryogenezi**

motiv zinkových prstů

- tvořen **smýčkou** amk, připevněných na basi dvěma **cysteiny** a dvěma **histidiny**, které jsou vázány prostřednictvím **atomu zinku**
- zinkové prsty vytvářejí **homodimery** i složitější struktury
- úsek aminokyselin **interaguje s DNA** prostřednictvím velkého žlábků
- obdobný motiv tvořený **4 cysteiny** spojenými atomem zinku se uplatňuje v **TF regulujících receptor**

motiv leucinového zipu

- bohaté na **zbytky leucinu**, každá sedmá amk je Leu
- na DNA se váží jako **dimery** a **dimerizace** nastává interakcí mezi hydrofobními povrchy dvou Leu zipů
- příležitostně mohou tvořit **heterodimery**, což může podstatně zvýšit variabilitu **regulace transkripce**

motiv helix-loop-helix (spirála-smyčka-spirála)

- **dimerizační doména** obsahuje 2 α -helixy spojené smyčkou
- dimerizace nastává mezi **hydrofobními amk** na jedné straně COOH konce helixů
- mohou tvořit **homodimery i heterodimery** a vázat se na DNA

Poměrně **vysoké procento genů** transkribovaných RNA-polymerasou II. vykazuje tkáňově **specifickou expresi** působením tkáňově specifických TF, enhancerů a silencerů. Enhancer se v důsledku **vytvoření klíčky DNA** přiblíží promotoru a naváže se na něj pomocí **specifických proteinů** – tato vazba brání napojení RNA-polymerasy II. na promotor. Následně se v důsledku působení **signálních molekul** změní konformace celého komplexu, promotor je uvolněn pro RNA polymerasu II. a transkripce je **zahájena**.

Iniciace transkripce rRNA genů je regulována vazbou dvou TF na promotorové sekvence, a to na sekvenci v **místě počátku** transkripce a sekvenci vzdálenou 100 nukleotidů proti proudu od **startovací pozice**. Transkripce tRNA je umožněna **vazbou TF** na promotorové sekvence a vazbou dalších faktorů a nakonec **RNA-polymerasy III.**

Regulace exprese genu extracelulárními signály

Vývoj a přežití mnohobuněčných organismů závisí na dokonalé **koordinaci činnosti** všech jejich buněk. Koordinaci zajišťují **signální molekuly**, které se k buňkám dostávají různými cestami:

- **buňky endokrinních žláz** secernují své produkty (hormony) do krve – ovlivnění vzdálených orgánů
- **parakrinní buňky** secernují látky difundující do blízkého okolí (zažívací trakt)
- **autokrinní buňky** ovlivňují zpětně činnost téže buňky, jež je syntetizuje

Pro regulaci signálními molekulami platí několik **společných zásad**:

- ovlivňují jen **cílové buňky** se specifickými membránovými nebo cytoplasmatickými receptory, kaskádou pro přenos signálu v cytoplazmě a specifickými **TF v jádře**
- **mutace genu** pro jakýkoli ze zúčastněných proteinů (receptory, enzymy, TF) může přerušit **přenos informace** a projevit se ve fenotypu jako ztrátová mutace
- nebo může mutace způsobit **trvalou expresi genu** – např. v procesu **kancerogeneze**
- různé cílové buňky mohou reagovat **specificky** na stejnou signální molekulu – reakce závisí na **přenosu (přečtení) signálu** systémem buňky
- některé signální molekuly jsou přítomny v oběhu **nárazově**, jiné **trvale**
- **množství signálních molekul** (např. hormonu) je zpravidla řízeno **zpětnou vazbou**
- signální molekuly navázané na receptory jsou rychle **odbourávány** – pružnost reakce
- uplatnění **signálních molekul** v regulaci buněčného cyklu

Přenos signálů pro regulaci funkce genů hormony:

- hormony ovlivňují **charakteristiky a funkce** cílových buněk aktivací transkripce **specifických genů**
- jsou to malé **molekuly steroidní** (estrogeny, glukokortikoidy) nebo **polypeptidové** (insulin) povahy

Hormony lze dělit na

- **hydrofobní**: ve vodě nerozpustné, jen v tukách - steroidy (testosteron, estradiol) nebo thyroxin
- **hydrofilní**: ve vodě rozpustné – polypeptidy (oxytocin a inzulin)
- **aminy**: adrenalin

Alternativní transkripce individuálních genů

Kromě mechanismů, umožňujících **regulaci aktivity genů** (aktivace a represe), existují i kontrolní mechanismy, které mohou vybírat mezi **specifickými alternativními transkripty** a tím i produkty (isoformy) jednoho genu.

Využití alternativních promotorů:

- vyskytují se u některých **savčích genů**
- využití vede k tvorbě **isoform** s různými vlastnostmi
- **alternativní promotory** mohou být lokalizovány v prvním exonu, který je pak vystřižen, ale i ve větších vzdálenostech v genu směrem **po proudu**

- produkty genové exprese pak mohou mít vlastnosti **specifické** pro určité tkáně

Po úpravách **genové sekvence mRNA** se mohou vyskytnout variace, které vedou ke vzniku **různých mRNA** a tím i různých forem proteinu (isoformy). **Patří sem:**

Alternativní sestřih

- jsou využita i jiná **sestřihová místa**, což může vést k různým kombinacím exonů (intronisace exonů či exonisace intronů) jednoho genu
- tím mohou vznikat různé **isoformy** proteinu
- asi 50% lidských genů má odhadem možnost **alternativního sestřihu**
- sestřih může být **tkáňově specifický** nebo se může vyskytnout v různých vývojových **stádiích buňky**

další variací je:

Alternativní polyadenylace

- jsou využity alternativní **polyadenylační signály** – oblast 3' UTR apod.
- rovněž alternativně **polyadenylované transkripty** mohou být tkáňově specifické

Jednou z vzácných **posttranskripčních úprav je tzv. RNA editace** - dochází k inserci, deleci nebo substituce nukleotidů na úrovni RNA. U savců byla v omezeném počtu genů pozorována **substituční editace**, zejména deaminace vybraných cytosinových (C-U) a adeninových (A-I, inosin, který se chová jako G) zbytků. **Význam RNA editace** není zcela jasný, může to být způsob regulace genové exprese a další cesta k **diversitě proteinů**, některé studie naznačují, že je nezbytná pro **přežívání organismu**.

Regulace transkripce mitochondriálních genů

- sekvence promotoru, rozpoznávané **mtRNA-polymerasami** jsou bohaté na A a zahrnují **startovní nukleotid (+1)**
- lidská mitochondriální DNA má pro všechny geny jen **dva promotory** se signálními sekvencemi dlouhými 15 bazí
- jeden promotor zajišťuje **transkripci** jednoho řetězce, druhý druhého
- řetězce jsou transkribovány v **celé své délce** a primární transkript je upravován na **mitochondriální mRNA, rRNA a tRNA**
- transkripci stimuluje transkripční faktor **mtTF1**
- řídicí prvek je lokalizován proti proudu od startovního nukleotidu a má **opačnou orientaci** než promotor
- **regulace** genové funkce odpovídá tedy spíše uspořádání regulačních prvků u **eukaryot**
- lze tedy uzavřít, že **transkripce mtDNA** a její regulace jsou **kombinací mechanismů**, popsaných v prokaryotních i eukaryotních buňkách

Odkazy

Související články

- Transkripce
- Transkripční faktory

Použitá literatura

Reference