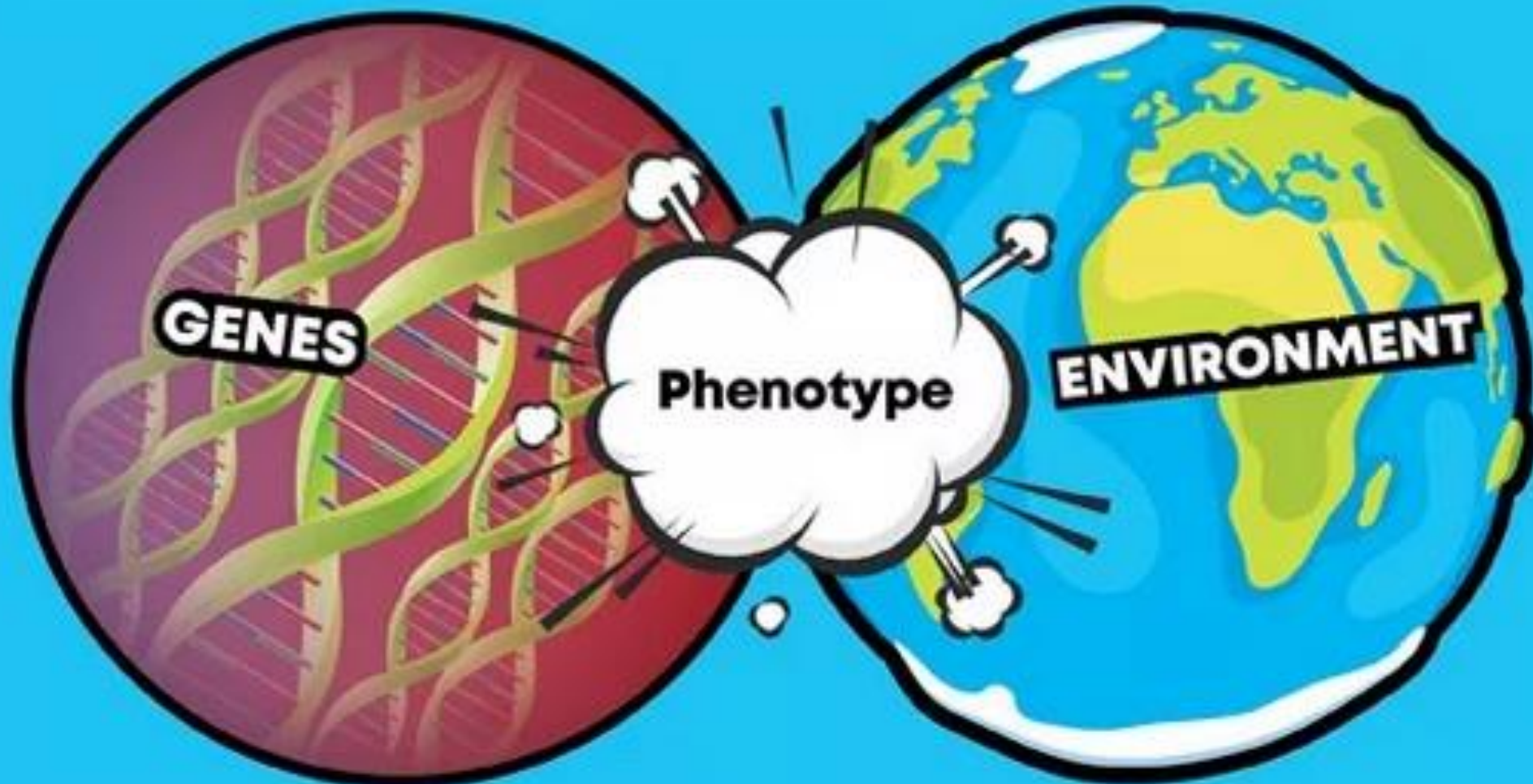


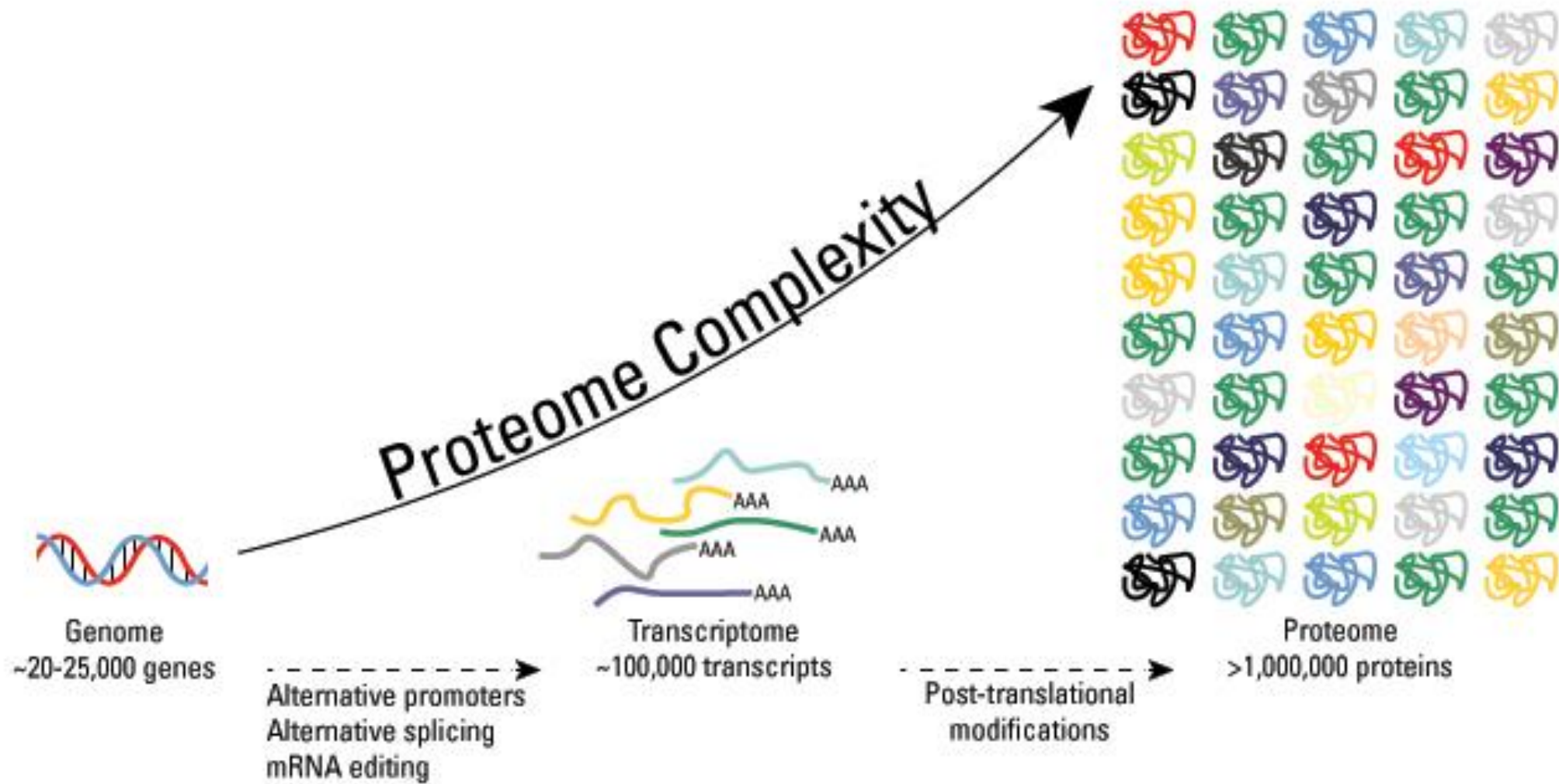
# Лекция 3. Регуляция экспрессии

Генотип - совокупность всех генов данного организма



Фенотип — совокупность характеристик, присущих данному организму на определённой стадии развития.

Фенотип формируется на основе генотипа, опосредованного рядом внешних факторов.



### ВОЗДЕЙСТВИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

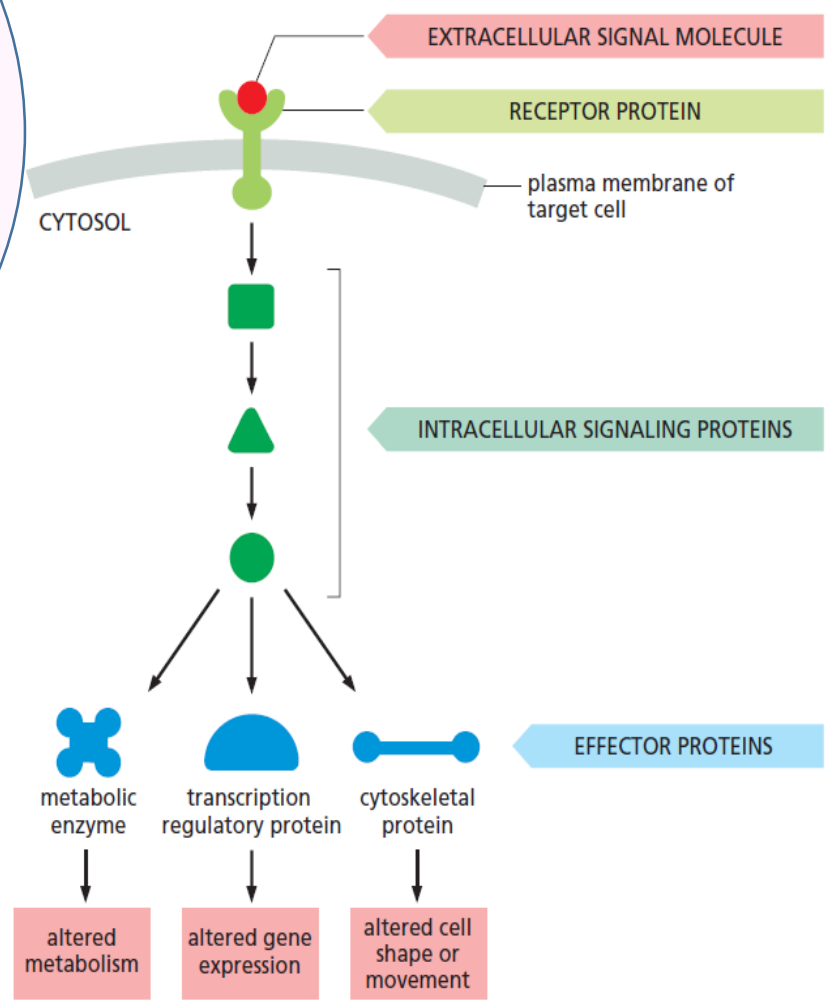
Патогены  
Химические агенты  
Стресс  
и проч.

### ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ, ПОСТ- ГЕНОМНЫЕ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ СОБЫТИЯ

Ремоделирование хроматина  
Сплайсинг/редактирование  
мРНК  
микроРНК  
Пост-трансляционные  
модификации белков

### ГЕНОТИП

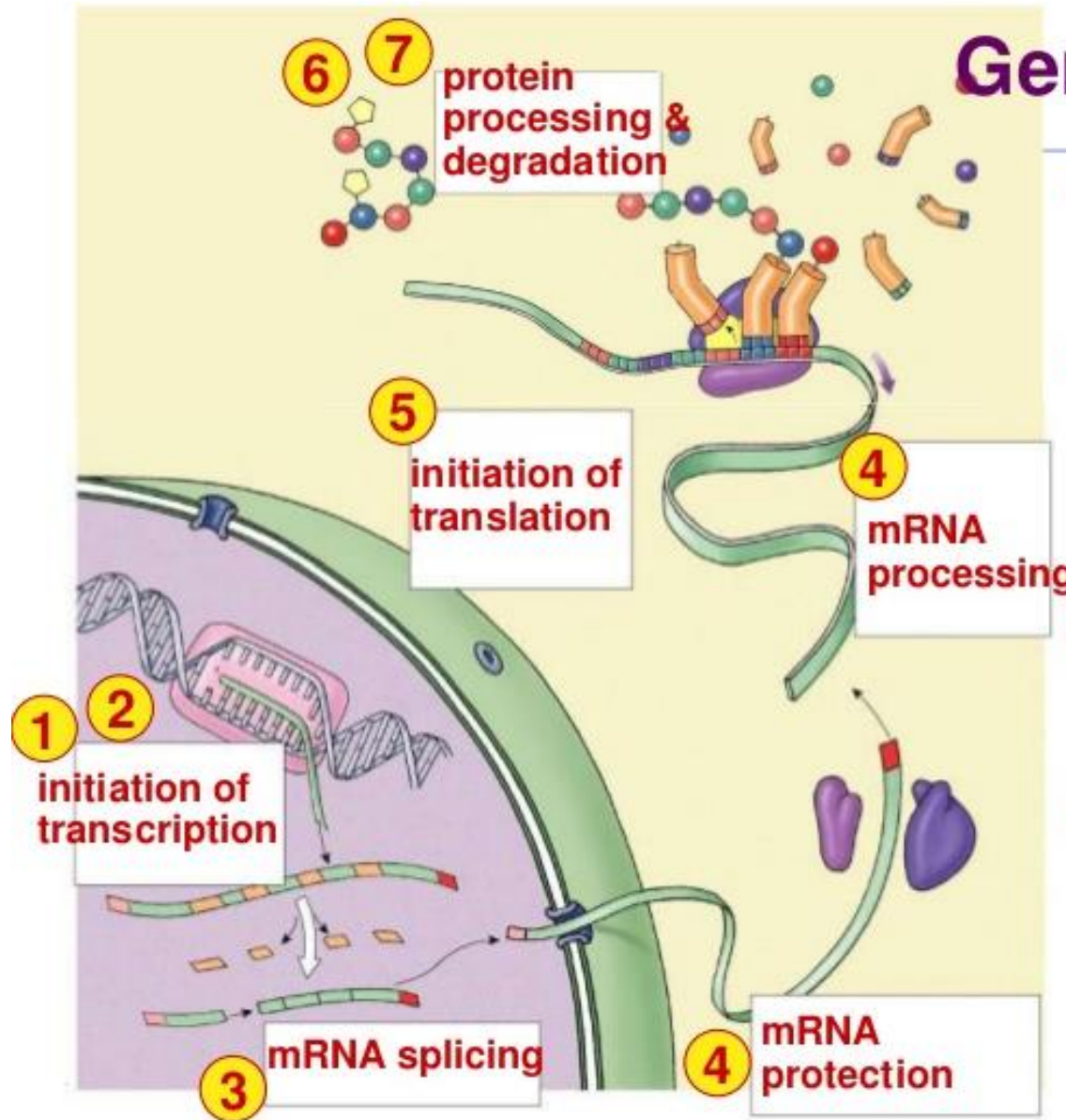
Однонуклеотидный  
полиморфизм (SNP)  
Количество копий гена  
Инсерции/делеции  
Гены предрасположенности  
Гены-модификаторы



Передача сигнала в клетке



# Регуляция экспрессии белка



## 1. Структура хроматина

- Метилирование ДНК
- Гистоновый код

## 2. Транскрипция

- Цис-регуляторные элементы

## 3, 4. Пост-транскрипционные

- Процессинг мРНК
- Дegrаdация РНК

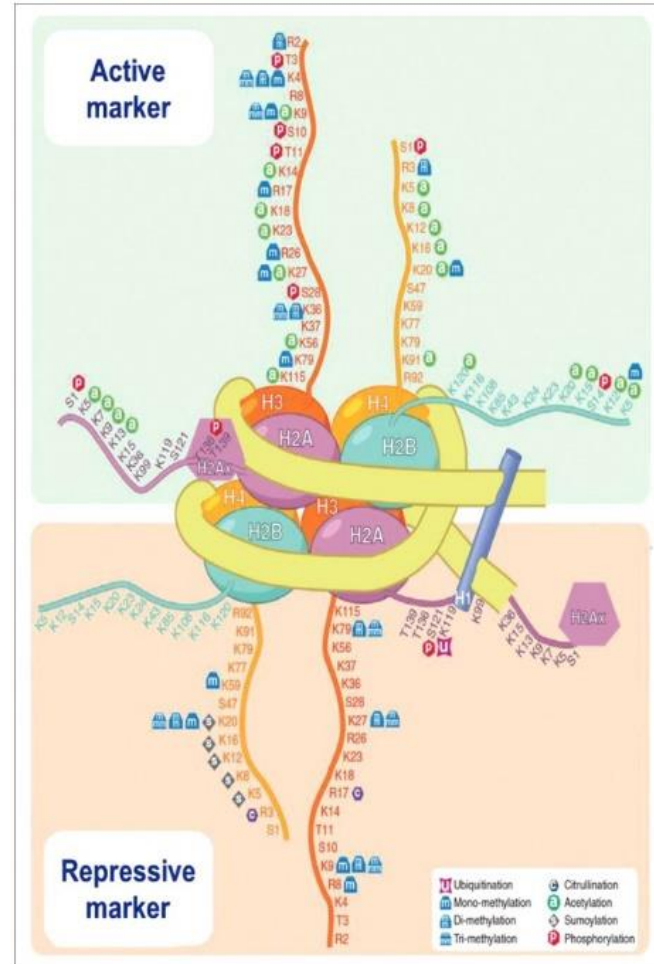
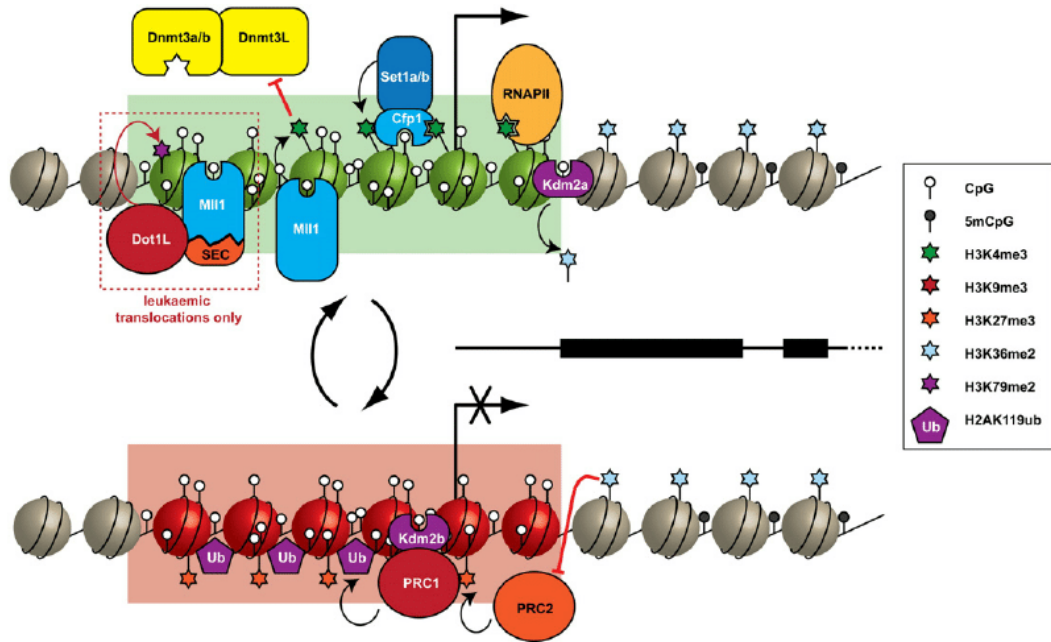
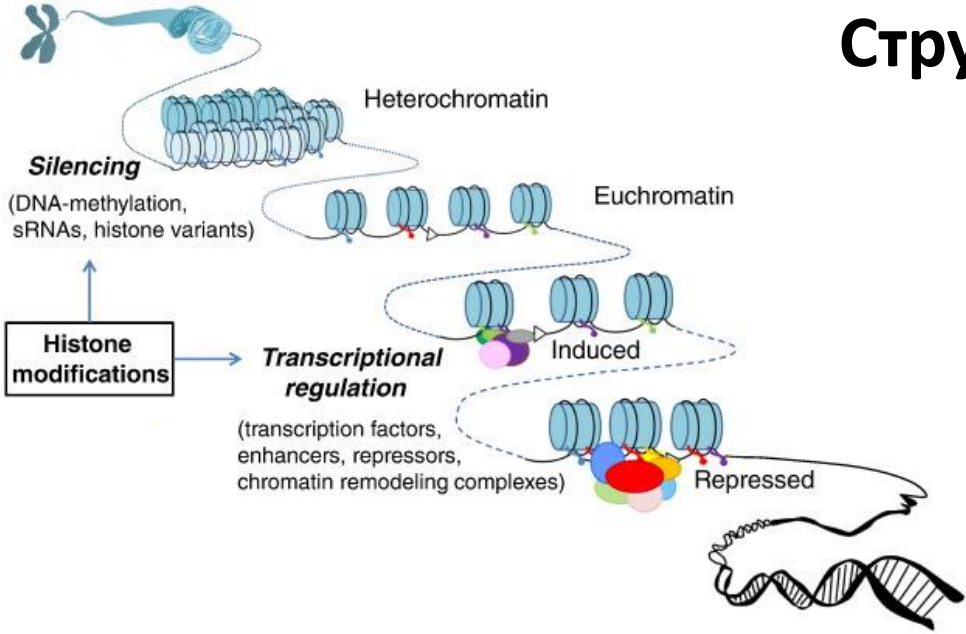
## 5. Трансляция

- Блокирование инициации, ингибирование элонгации, преждевременная/неэффективная терминация
- Трансляционный сдвиг рамки считывания

## 6,7. Пост-трансляционные

- Ковалентные модификации белка
- Дegrаdация белка

# Структура хроматина



## микроРНК

- модификация гистонов
- метилирование ДНК в области промотора

## Методы исследования

**Метилирование CpG**  
бисульфитное секвенирование

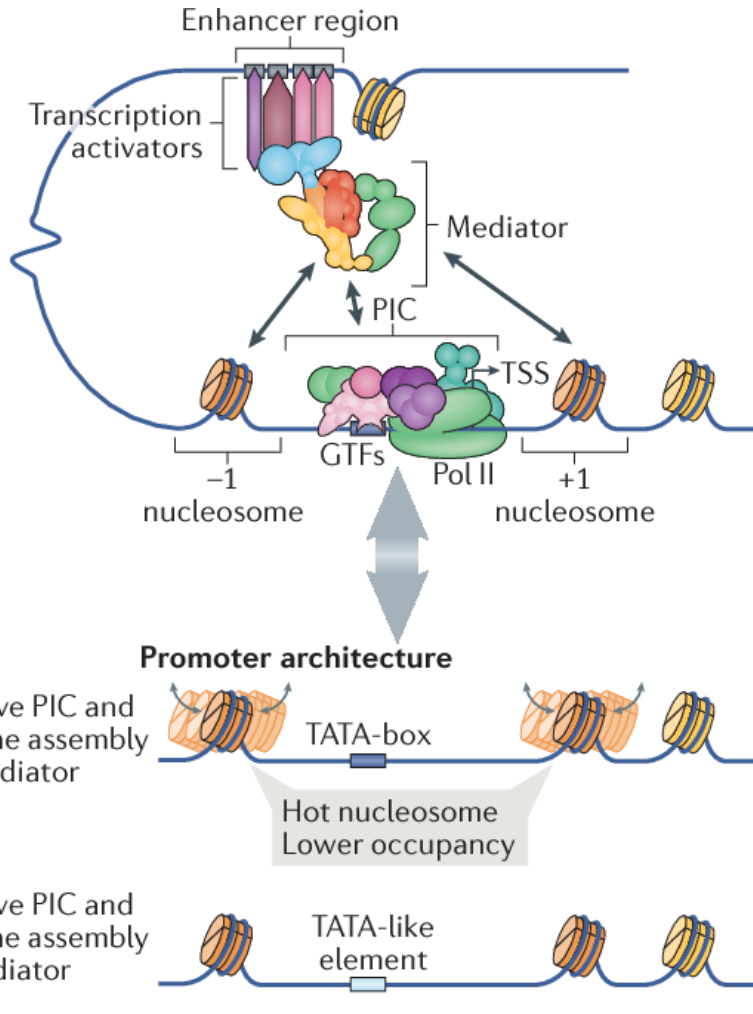
## Модификации гистонов

- Вестерн блот с антителами, ИФА (общегеномный)
- Иммунопреципитация хроматина (выделение ДНК с антителами и qPCR)
- Измерение активности writers и erasers
- Ингибирование writers, erasers и readers
- Масс-спектрометрия

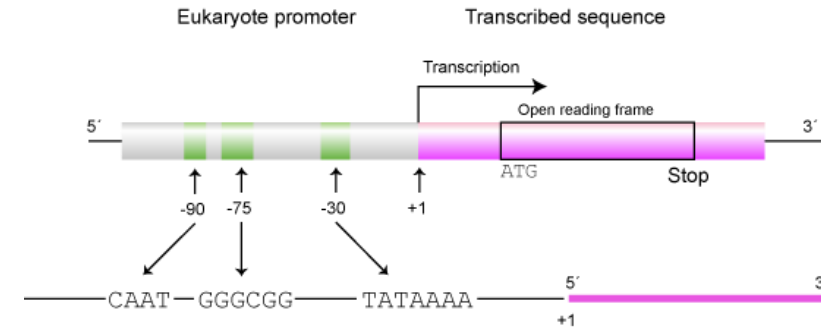
# Транскрипция

## Цис-регуляторные элементы

## Транскрипционные факторы (TF)



## Промотор



© Tomáš Urban 2013

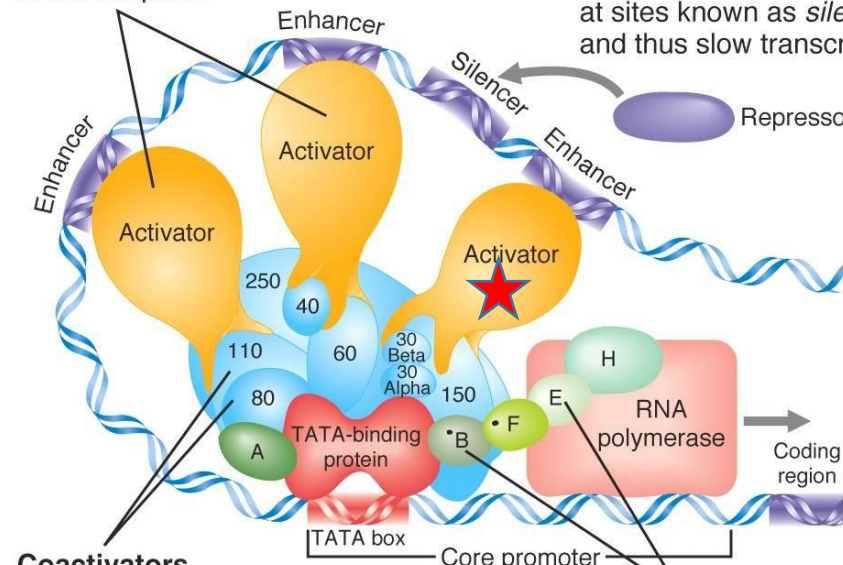
## Транскрипционный комплекс

### Activators

These proteins bind to genes at sites known as *enhancers* and speed the rate of transcription.

### Repressors

These proteins bind to selected sets of genes at sites known as *silencers* and thus slow transcription.



### Coactivators

These "adapter" molecules integrate signals from activators and perhaps repressors.

### Basal transcription factors

In response to injunctions from activators, these factors position RNA polymerase at the start of

## Методы исследования

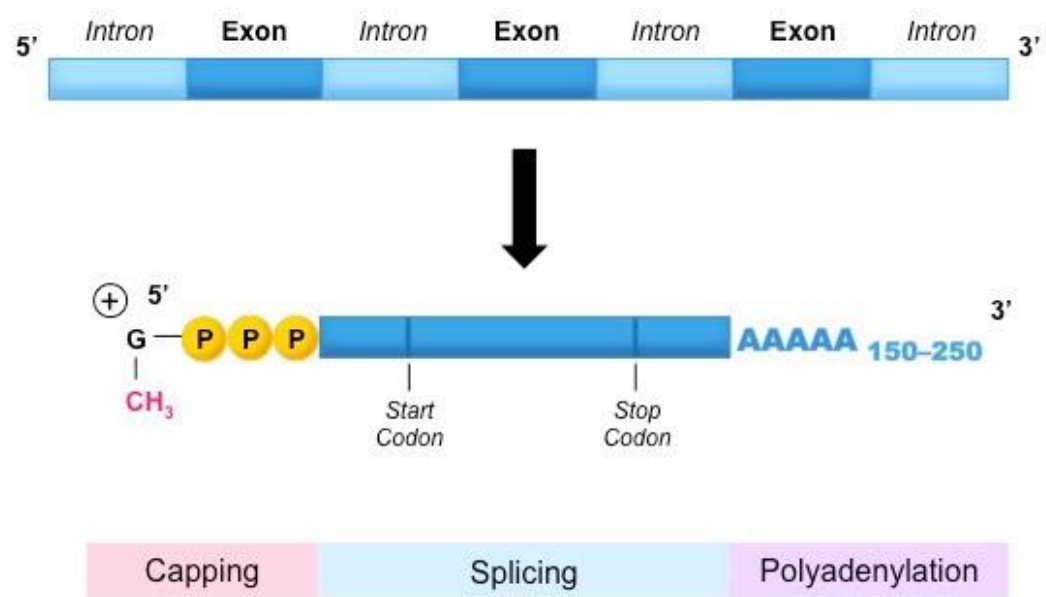
Нозерн-блот  
Количественная ПЦР  
Микрочипы  
RNA-Seq

+пост-трансляционные модификации



# Процессинг мРНК

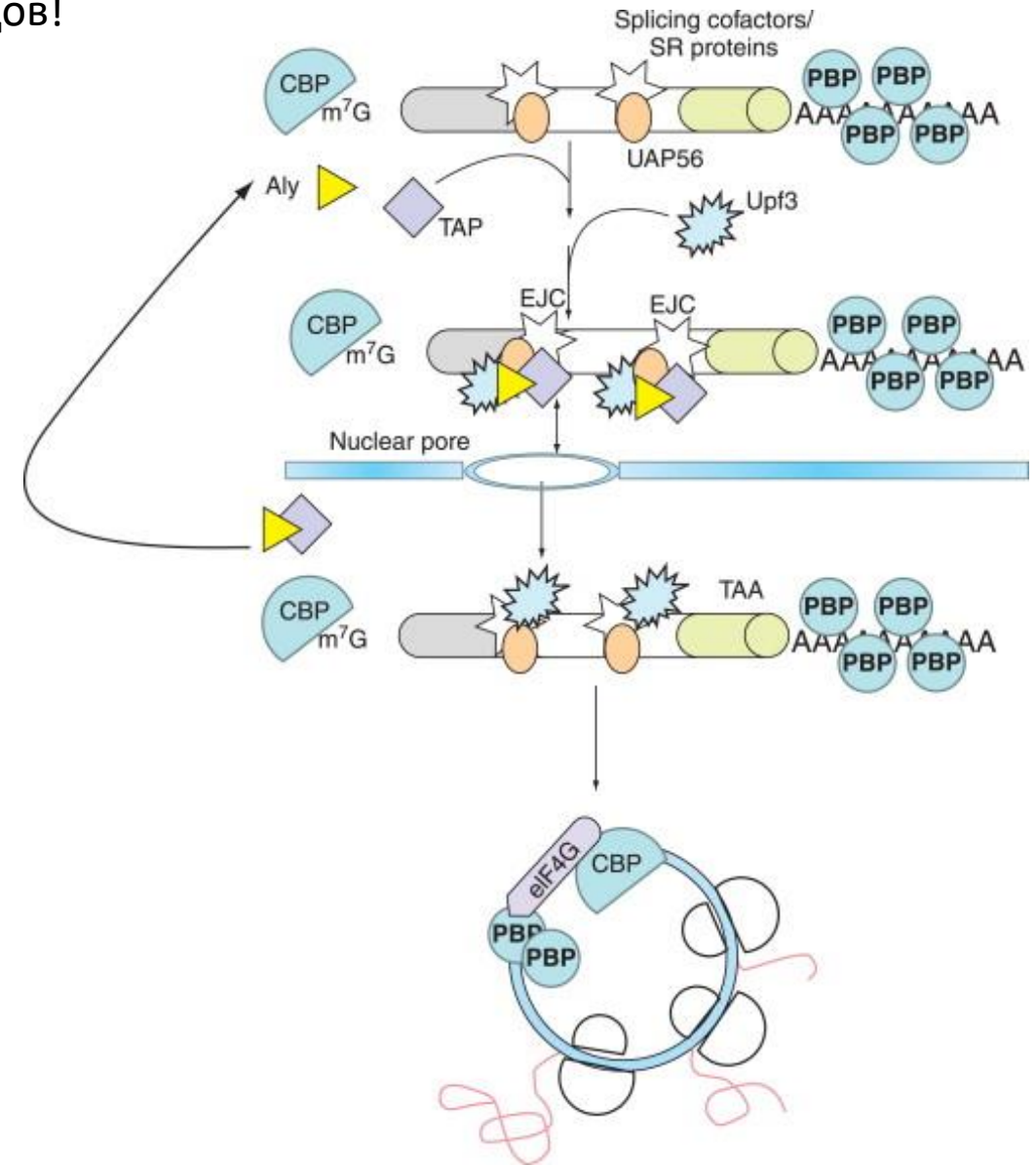
Начинается сразу после полимеризации первых 25 нуклеотидов!



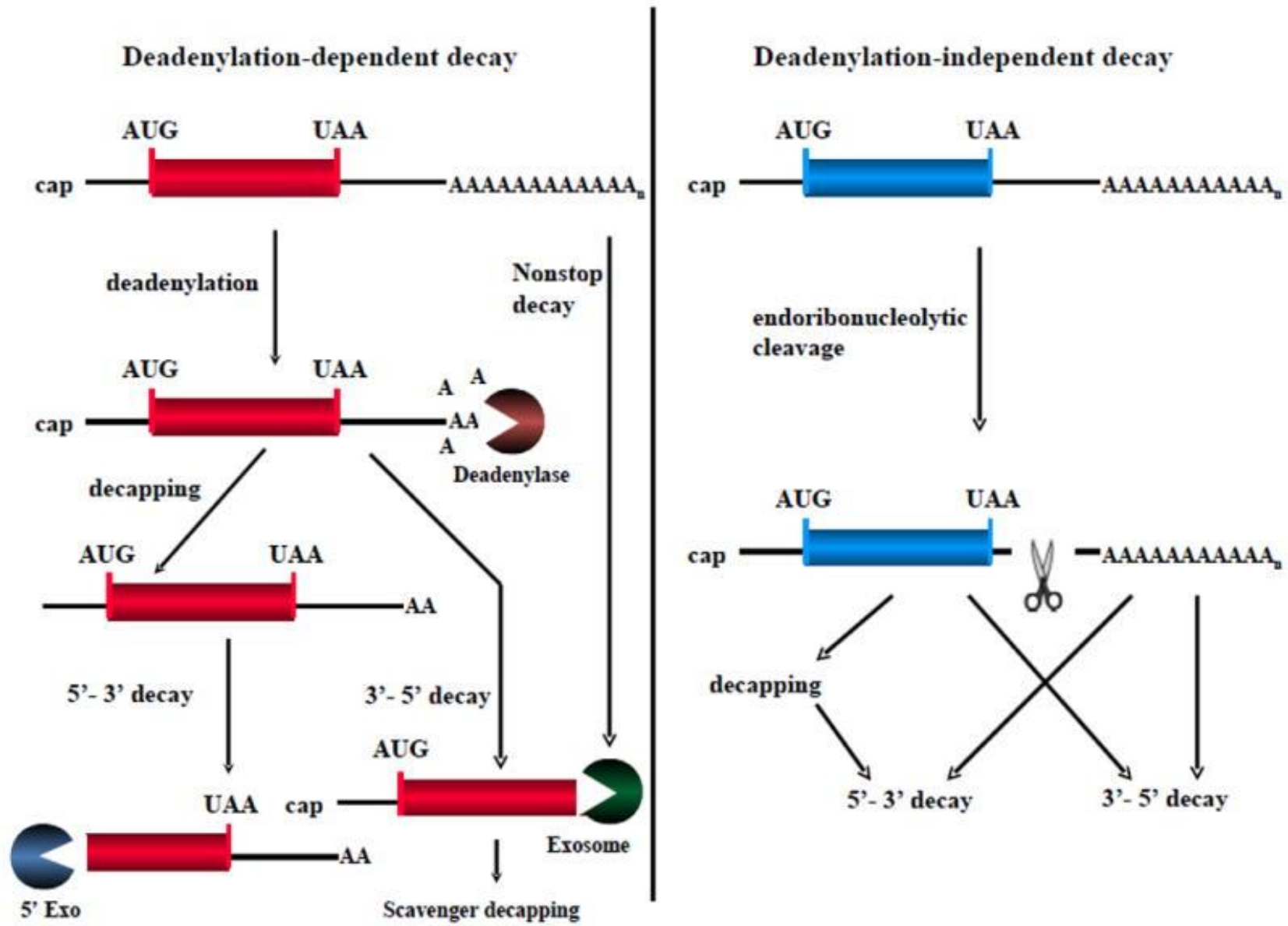
**RNA**

**mRNA**

**Process**

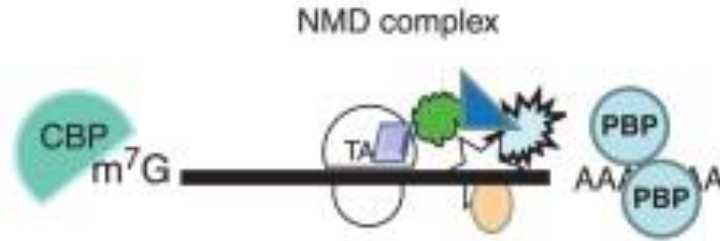
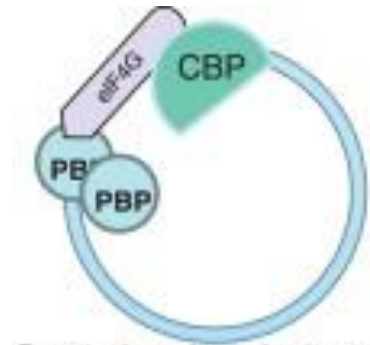






Пути деградации мРНК – зависящая от деаденилирования и не зависящая от деаденилирования (с участием эндонуклеазы) .

# Стабильность мРНК (в цитоплазме)



Nonsense-mediated mRNA decay  
PTC (premature-termination codon)

Ccr4 deadenylation  
→ loss of 5' -3' interactions

Decay complex formation  
→ Recruitment of either exosome or Dcp

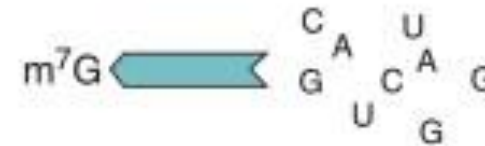
m<sup>7</sup>G ————— AA

→ Exosome recruitment

3' → 5' degradation

→ Dcp recruitment and decapping

————— AA



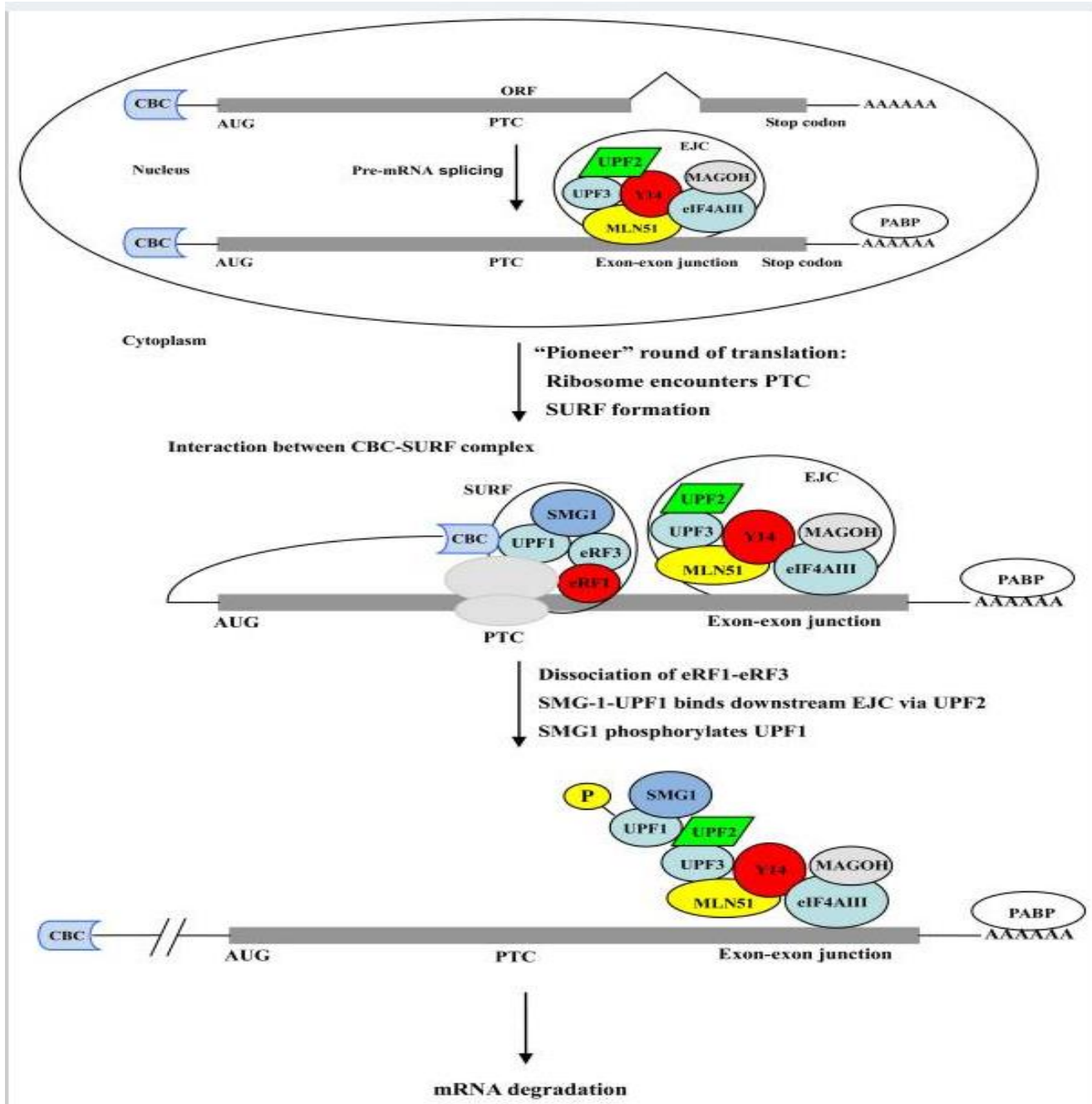
→ Xrn1 recruitment and exonuclease digestion

5' → 3' degradation

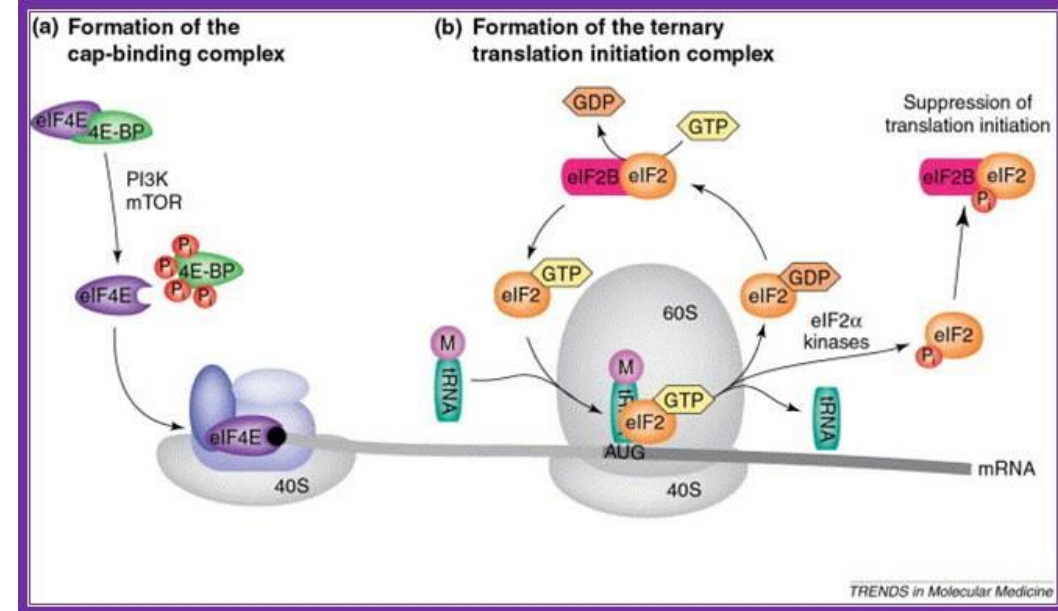
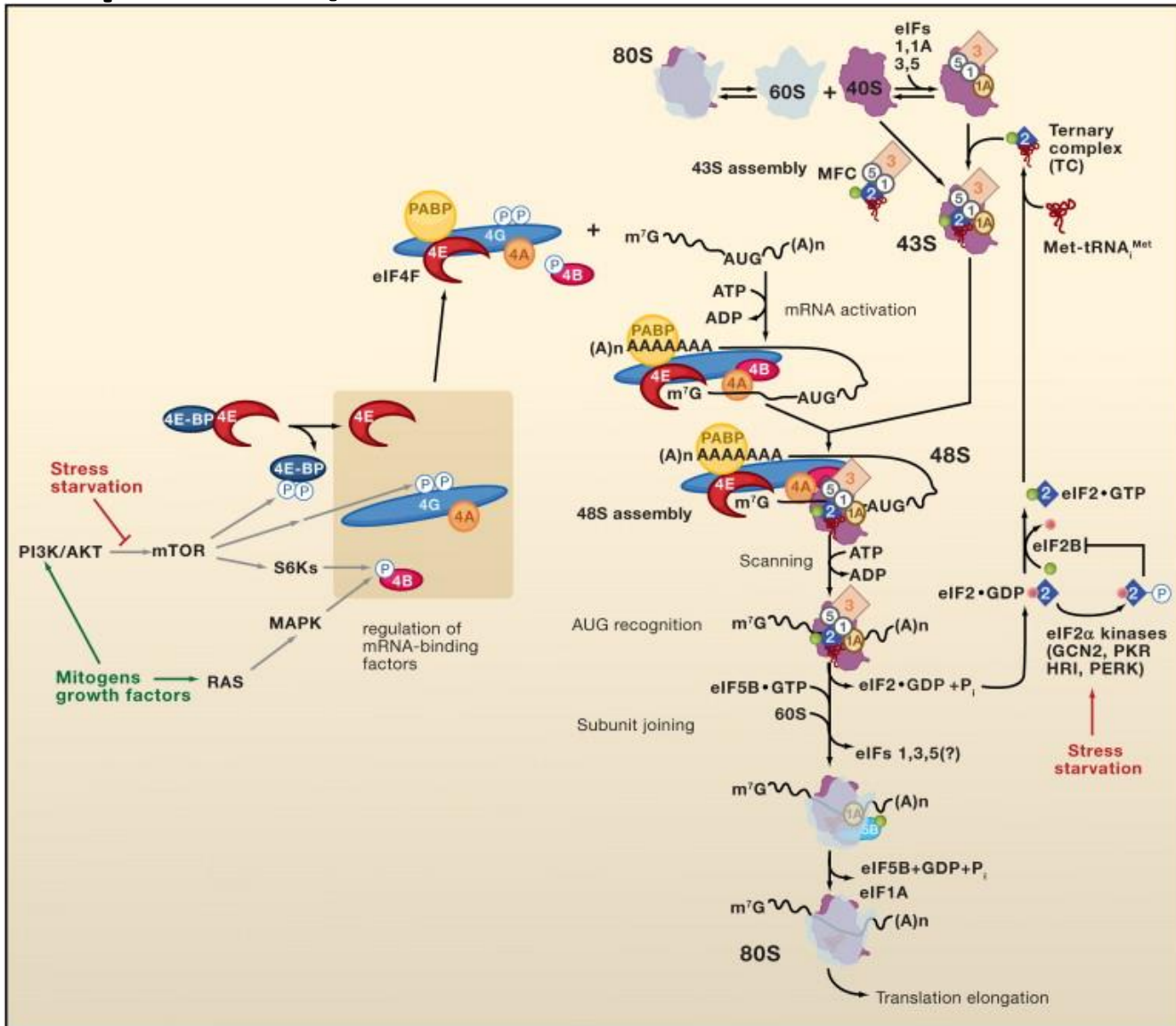


## микроРНК (сайт на 3'-UTR мРНК эукариот)

- направление мРНК в Р-тельца (P-bodies)
- разрезание мРНК
- дестабилизация мРНК в результате укорочения полиА хвоста



# Трансляция



## микроРНК

- снижение эффективности трансляции на рибосоме, Cap-40S ингибирование инициации, ингибирование объединения субъединиц с 60S;
- ингибирование элонгации, преждевременная терминация
- деградация белка, сопряженная с его трансляцией

## Методы исследования

Вестерн-блот

ИФА

Белковые микрочипы

Скорость синтеза белка

Ферментативная активность

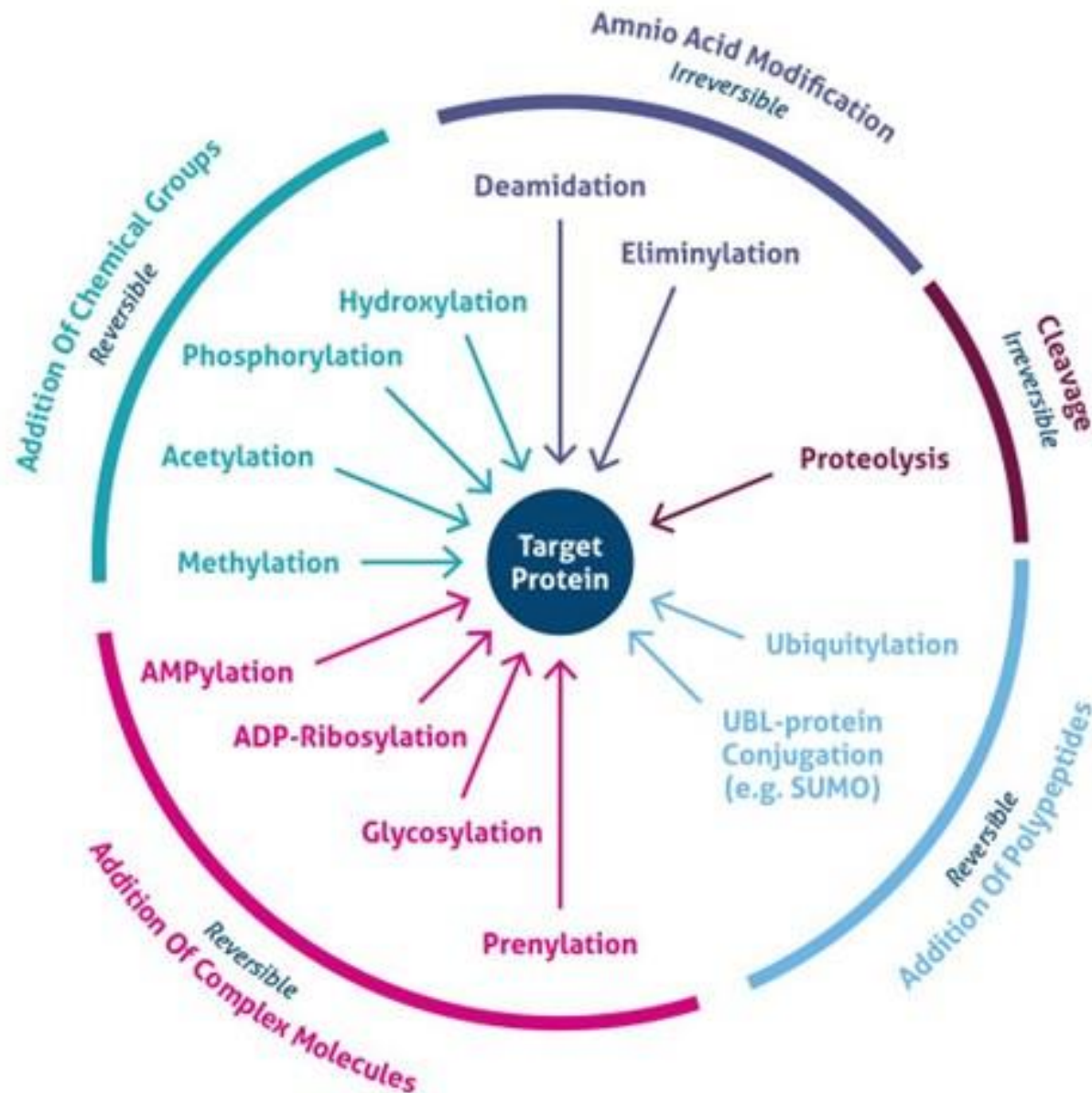
Инициация: фосфорилирование eIF2B

Элонгация: задержки связанные с укладкой белка

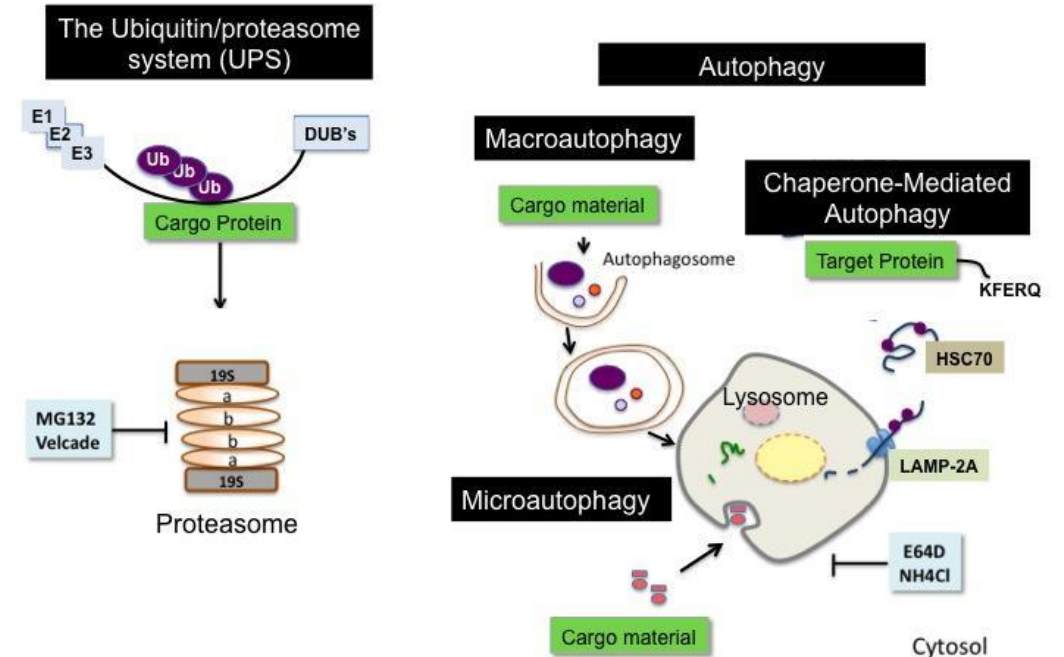
Терминация: сдвиг рамки считывания, EJC-контроль



# Пост-трансляционные модификации белка



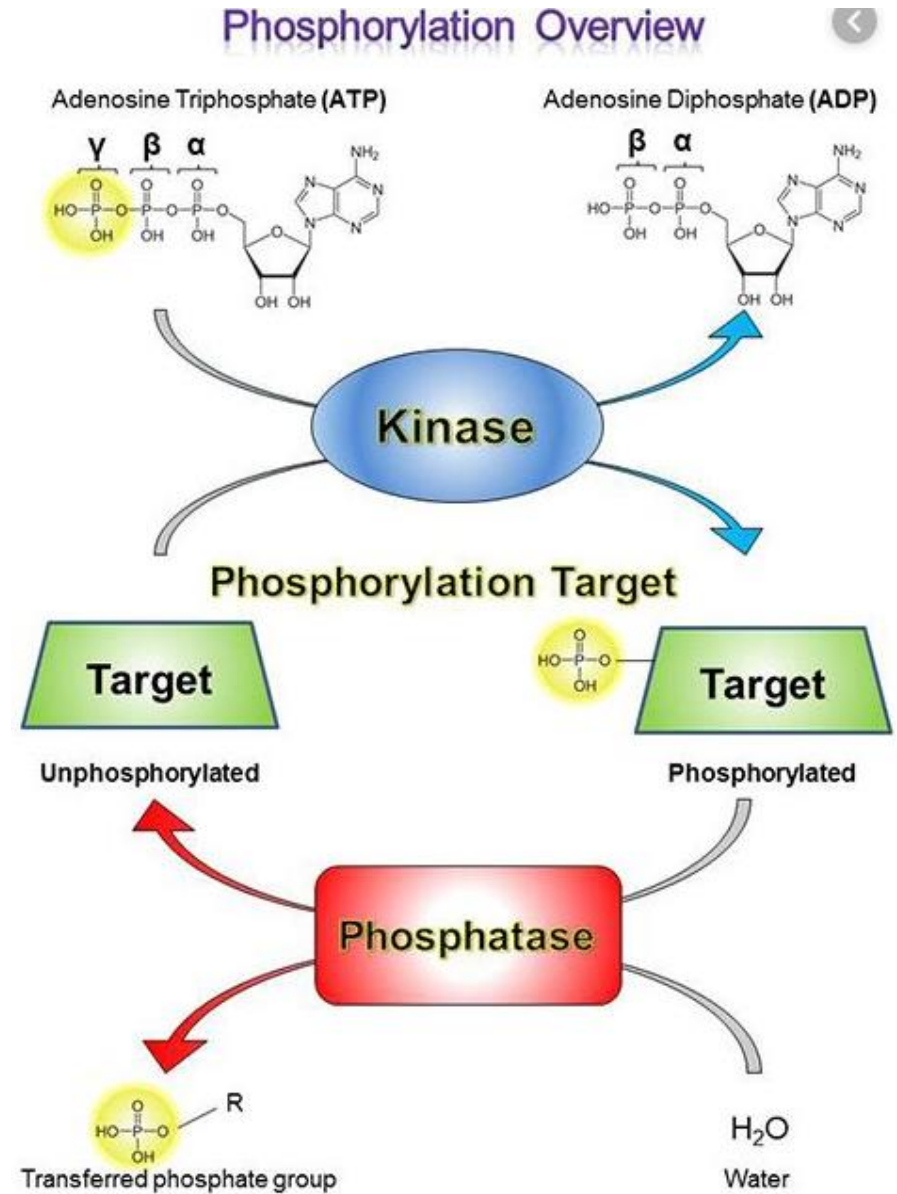
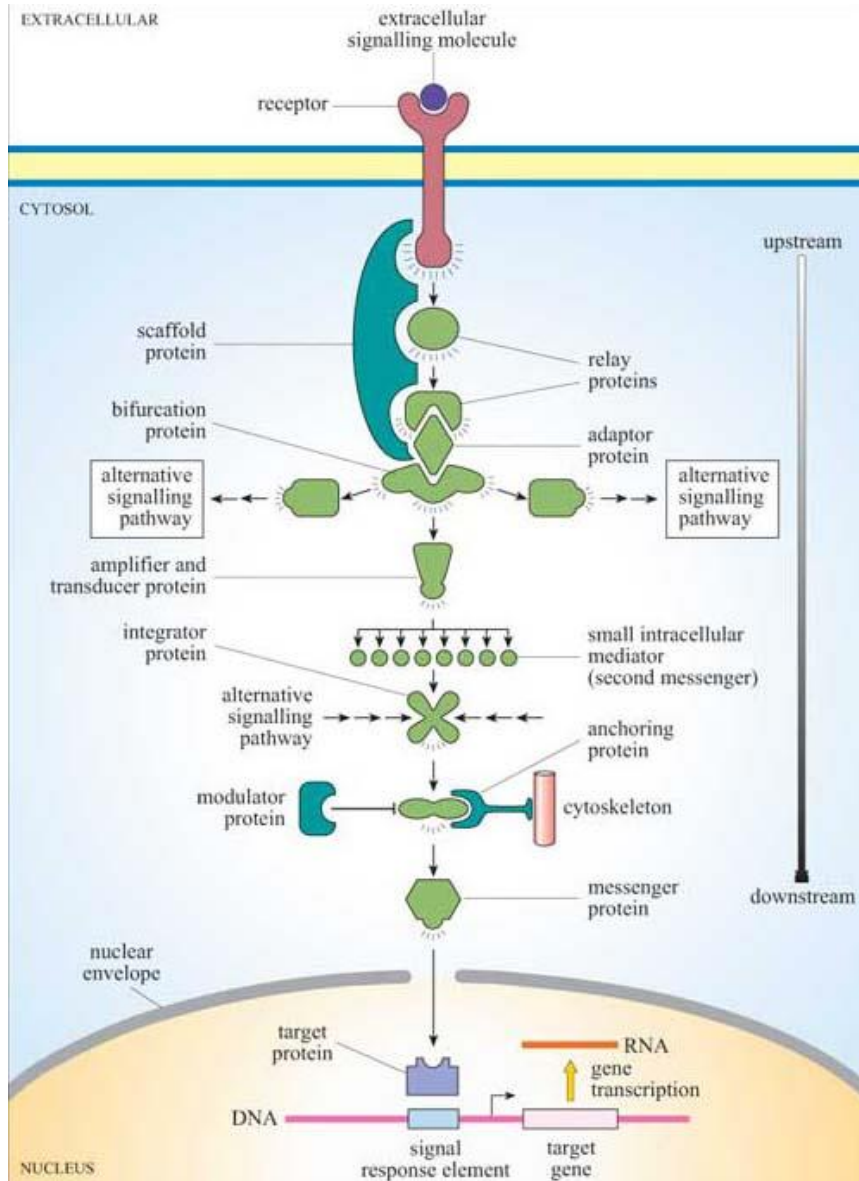
## Protein Degradation Pathways



## Методы исследования

- Вестерн-блот
- Масс-спектрометрия (de novo)
- Иммуноцитохимия (локализация в клетке)
- Белковые микрочипы
- Активность модифицирующих белков

# Пост-трансляционные модификации белка → сигналинг



Событие	Методы анализа
Изменение активности фермента	спектрометрия, хроматография (скорость образования продукта/снижения концентрации субстрата )
Пост-трансляционные модификации белков	<u>вестерн блот</u> , ИФА, проточная цитометрия, белковые микрочипы, масс-спектрометрия
Изменения на уровне транскрипции/трансляции белка	<u>количественная ПЦР</u> , нозерн блот, секвенирование РНК, РНК-микрочипы



