

5 Regulation of gene expression in pro.

原核基因表达调控

5.1 Overview

5.2 The *Lac* Operon

5.3 The *Trp* Operon

5.4 *Ara* & *Gal* Operons

5.5 Other transcriptional regulatory mechanisms

5.6 Transcriptional regulation

5.1 原核基因表达调控总论

5.2 乳糖操纵子

5.3 色氨酸操纵子

5.4 阿拉伯糖与半乳糖操纵子

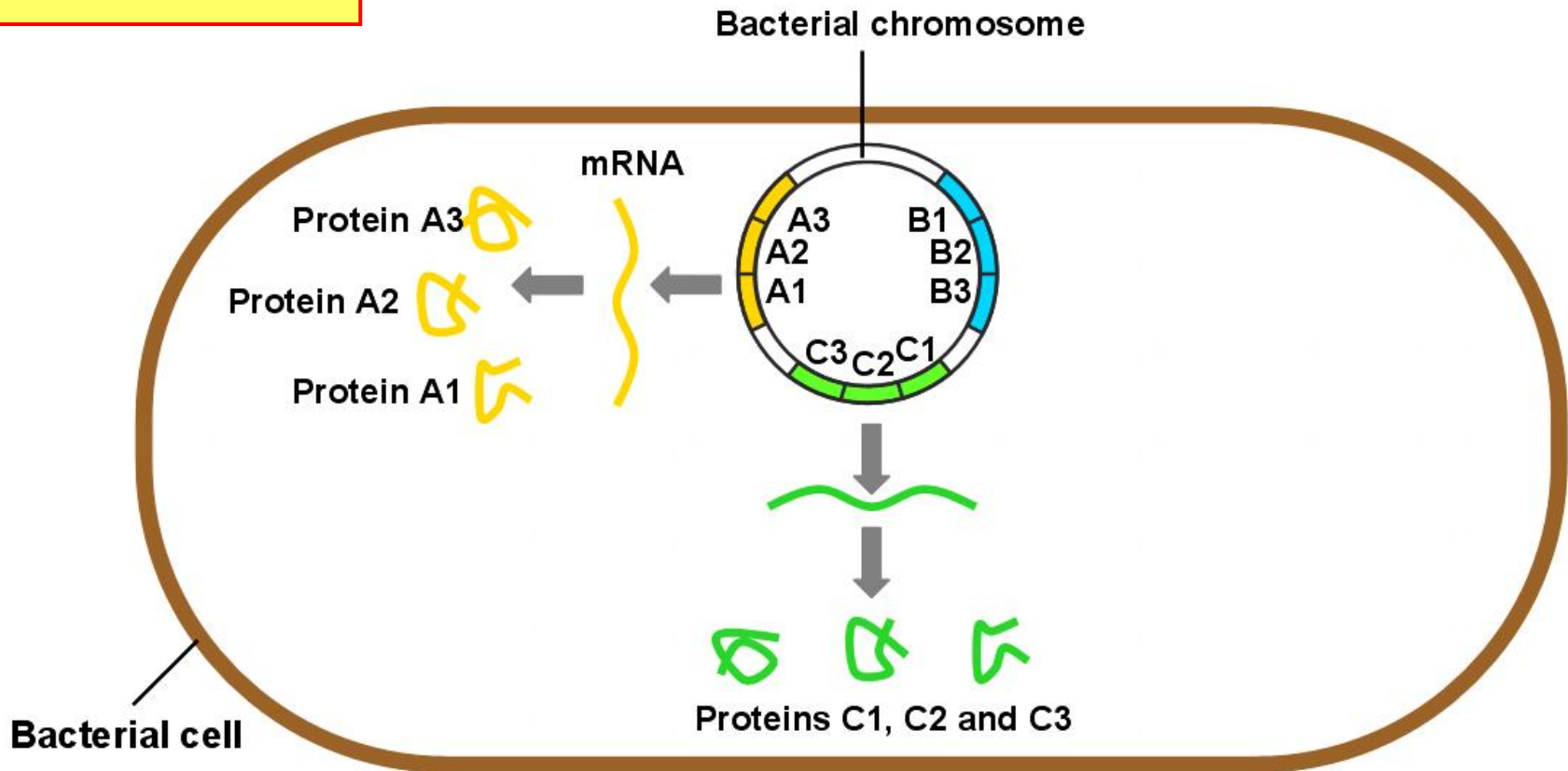
5.5 转录水平上其他调控方式

5.6 转录后调控

Regulation of gene expression

基因表达调控

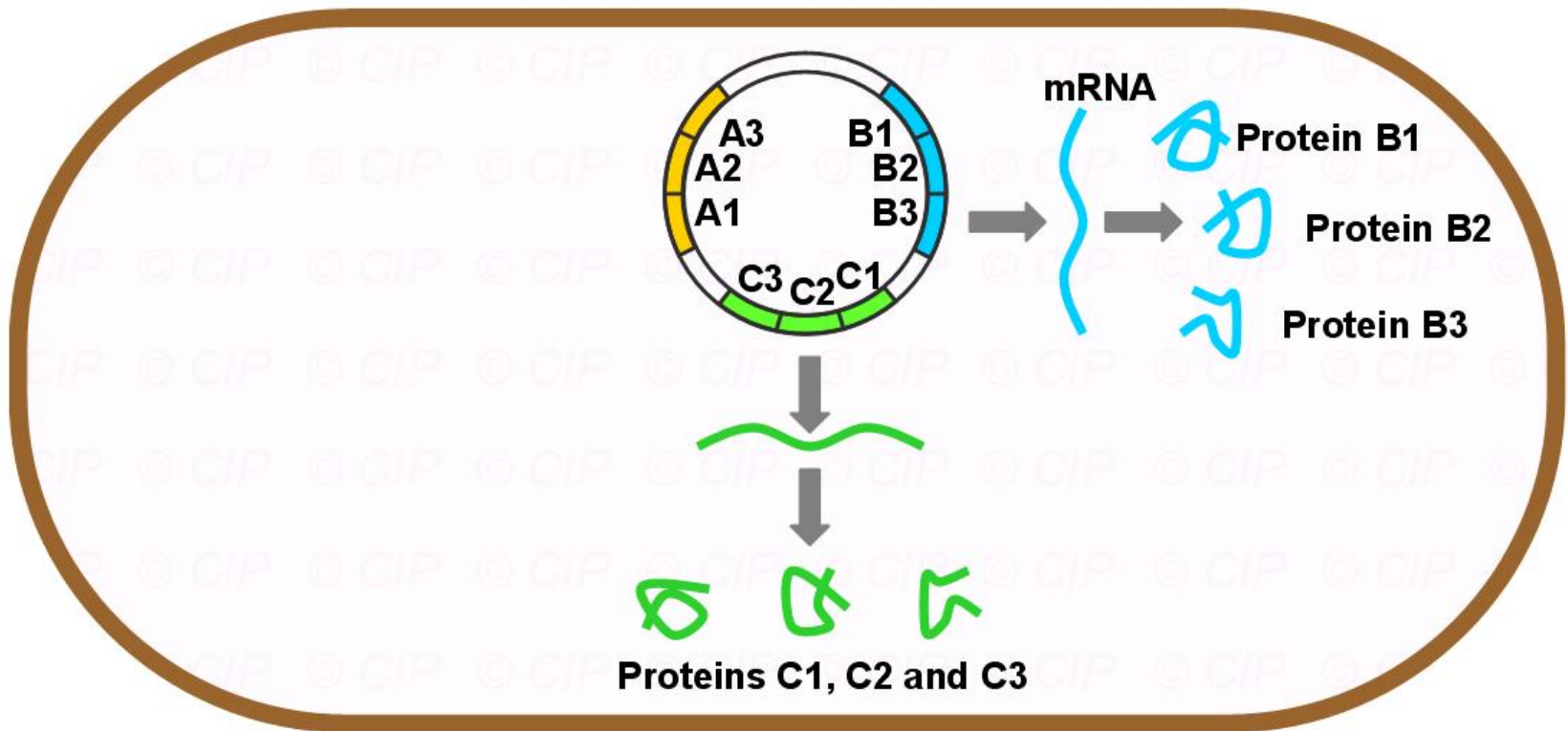
Condition A



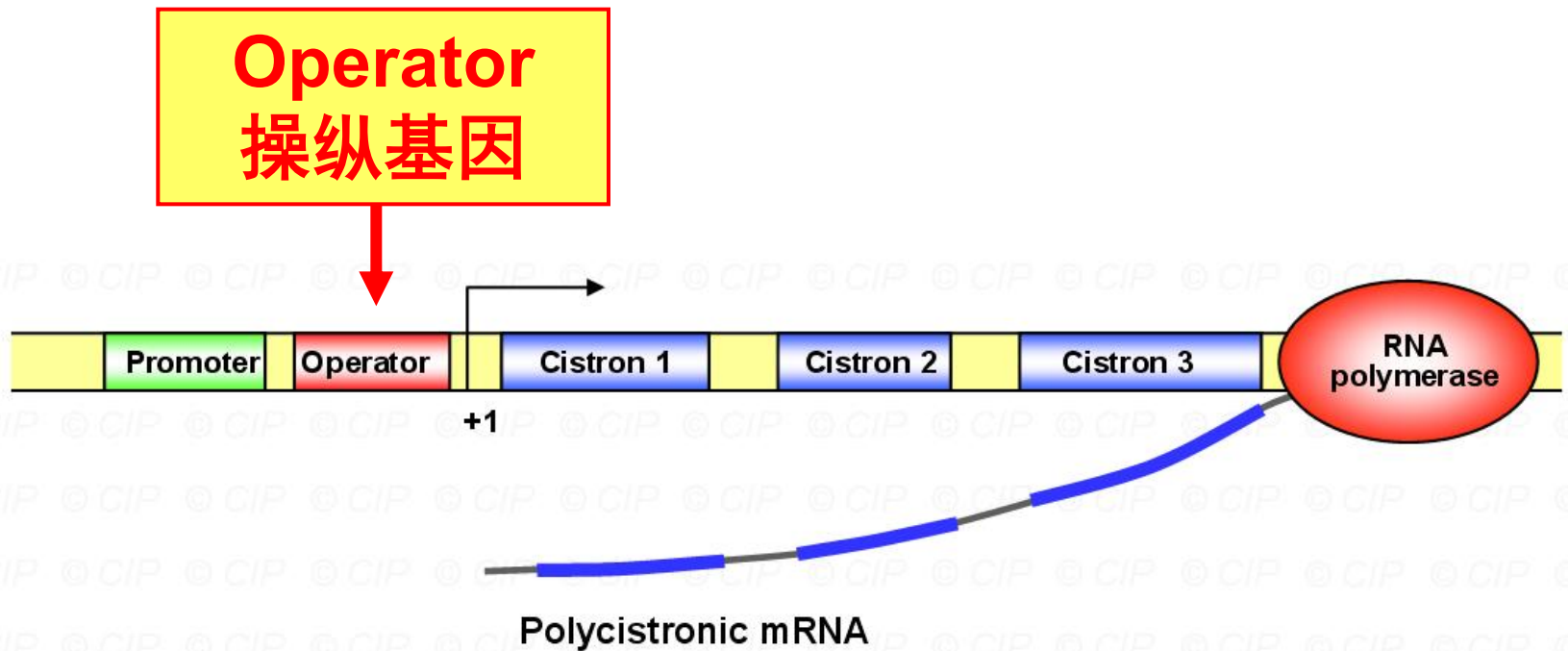
Regulation of gene expression

基因表达调控

Condition B

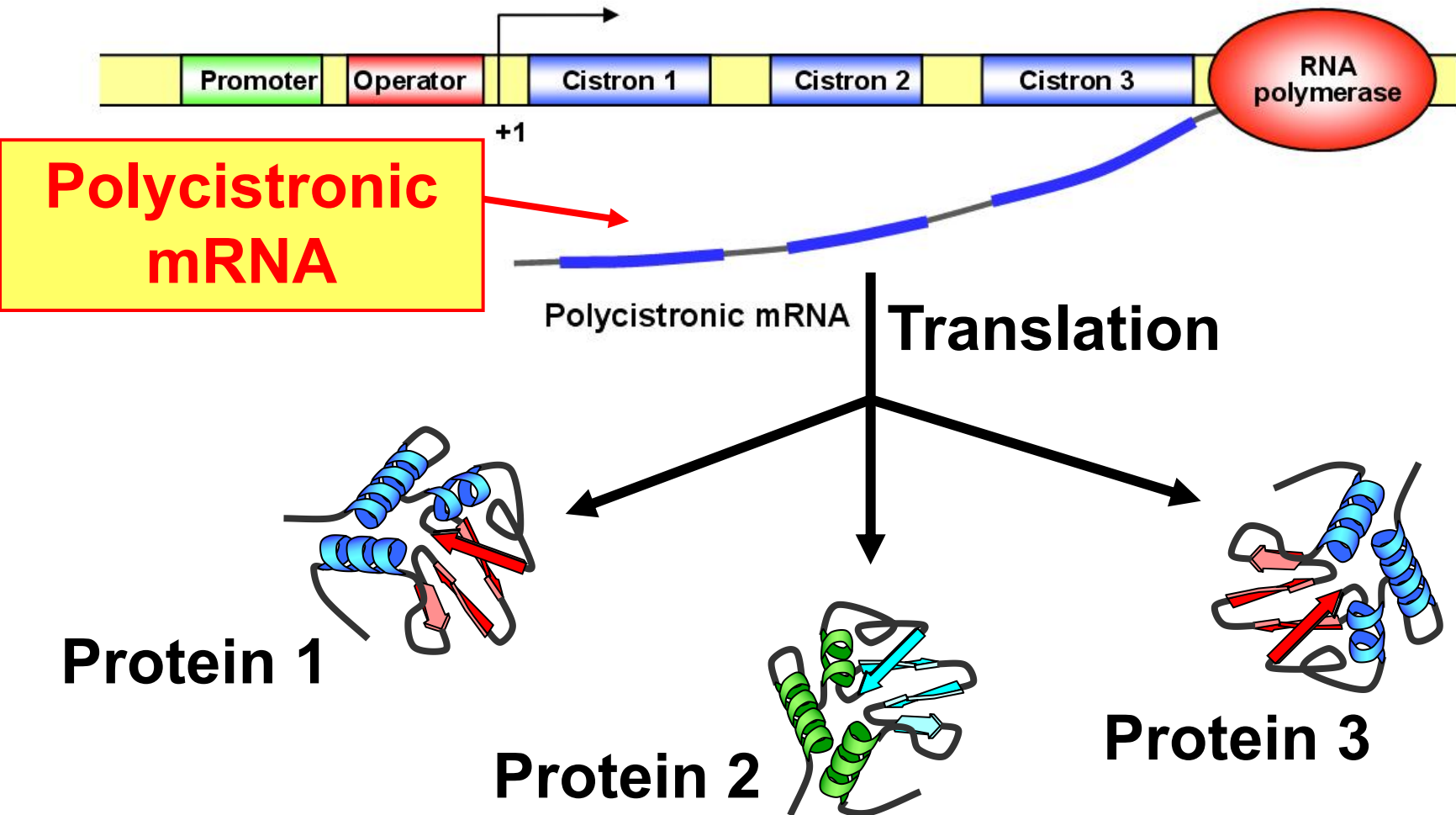


Coordinate Regulation 协同调控

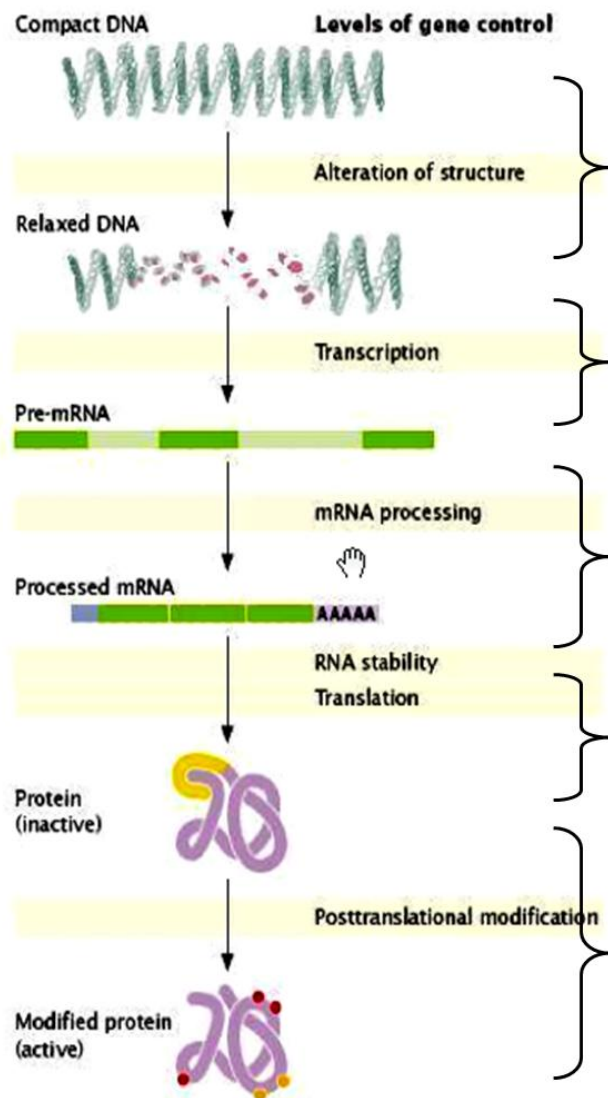


Polycistronic mRNA

多顺反子mRNA



基因的表达受到不同水平的调控



转录前调控

转录水平调控

转录后调控

翻译水平调控

翻译后调控

原核生物与真核生物基因表达调控机制的相似性

调控机理上

- 核酸分子间的互作
- 核酸与蛋白质分子间的互作
- 蛋白质分子间的互作

调控层次上

- 转录水平 Transcriptional level
- 转录后水平 Post-transcriptional level

转录后调控

- mRNA加工成熟水平 Processing of RNA
- 翻译水平 Translational level
- 翻译后水平 Post-translational level

原核生物与真核生物基因表达调控的特点

原核生物

- 转录与翻译相耦联
- 1种RNA聚合酶
- AUG上游存在SD序列
- 蛋白合成起始于甲酰-甲硫氨酸

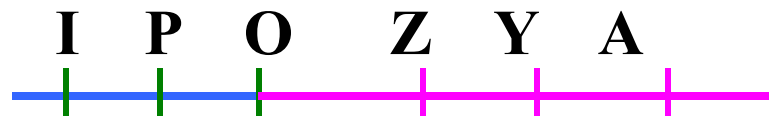
真核生物

- 转录与翻译在空间上有间隔
- 3种RNA聚合酶
- 不存在SD序列
- 蛋白合成起始于甲硫氨酸

操纵子

- 操纵子：受一个操纵基因协同控制的一组基因，往往紧密连锁地排列在一起。

乳糖操纵子 *Lac operon*



- 操纵基因**（Operator）：能与调控蛋白结合，调控基因转录起始效率的顺式作用元件。
- 调控基因**（Regulator）：编码调控蛋白作为反式作用因子，与相应顺式元件结合后，调控基因表达。
 - ✓ 编码**阻遏**蛋白，与操纵基因结合对基因表达进行负调控。
 - ✓ 编码**激活**蛋白，与操纵基因或上游控制元件结合对基因表达进行正调控。

操纵子调控类型

负控制 (Negative) & 正控制 (Positive)

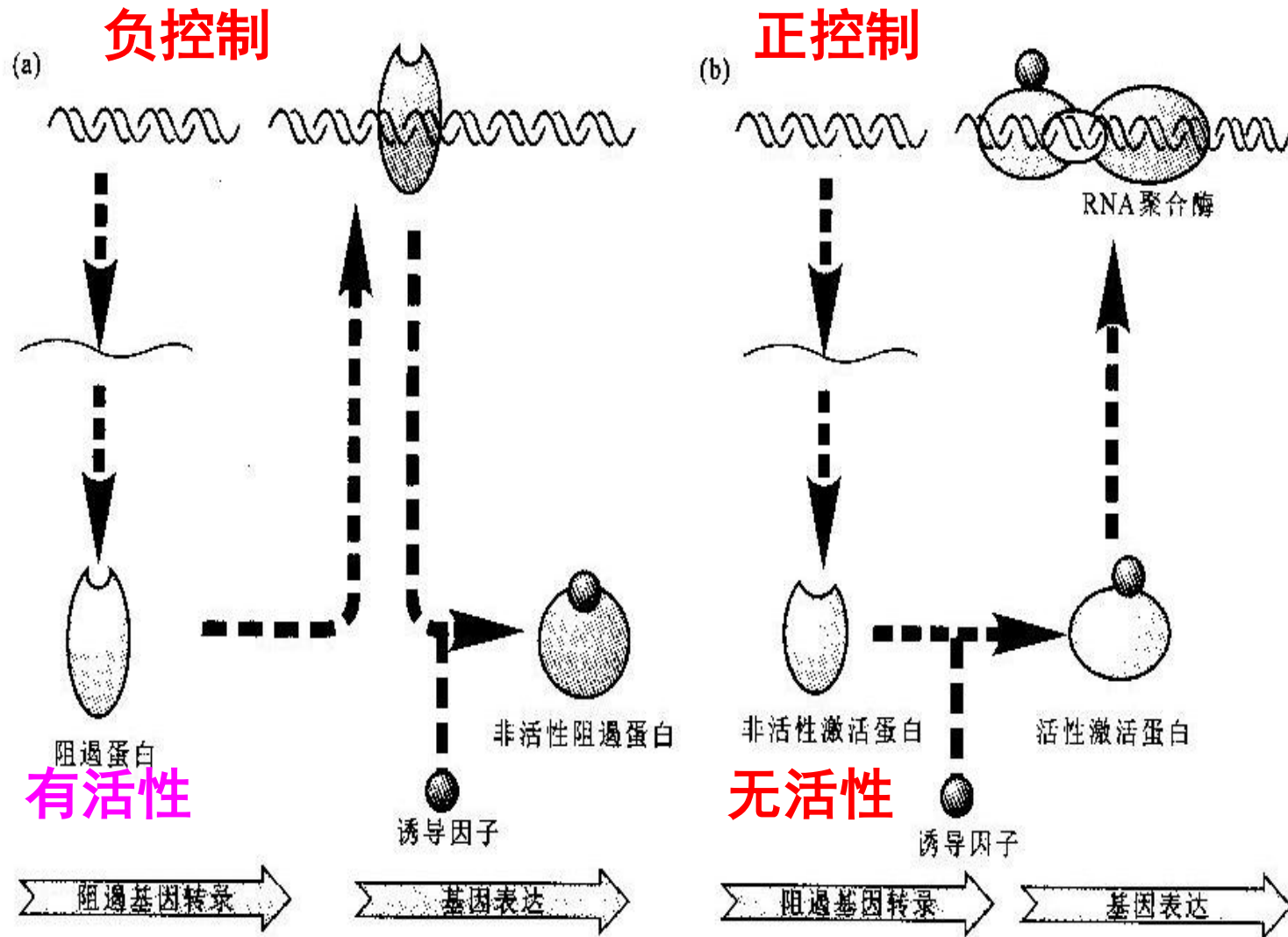


- I gene
 - 阻遏物 repressor 负控制
 - 激活物 activator 正控制

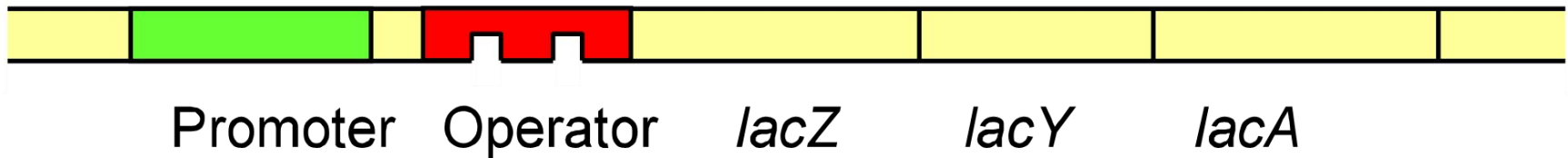
负控制 { i^- or 不加入I基因产物: 操纵子开
 I^+ or 加入I基因产物: 操纵子关

正控制 { i^- or 不加入I基因产物: 操纵子关
 I^+ or 加入I基因产物: 操纵子开

操纵子调控模式--诱导型



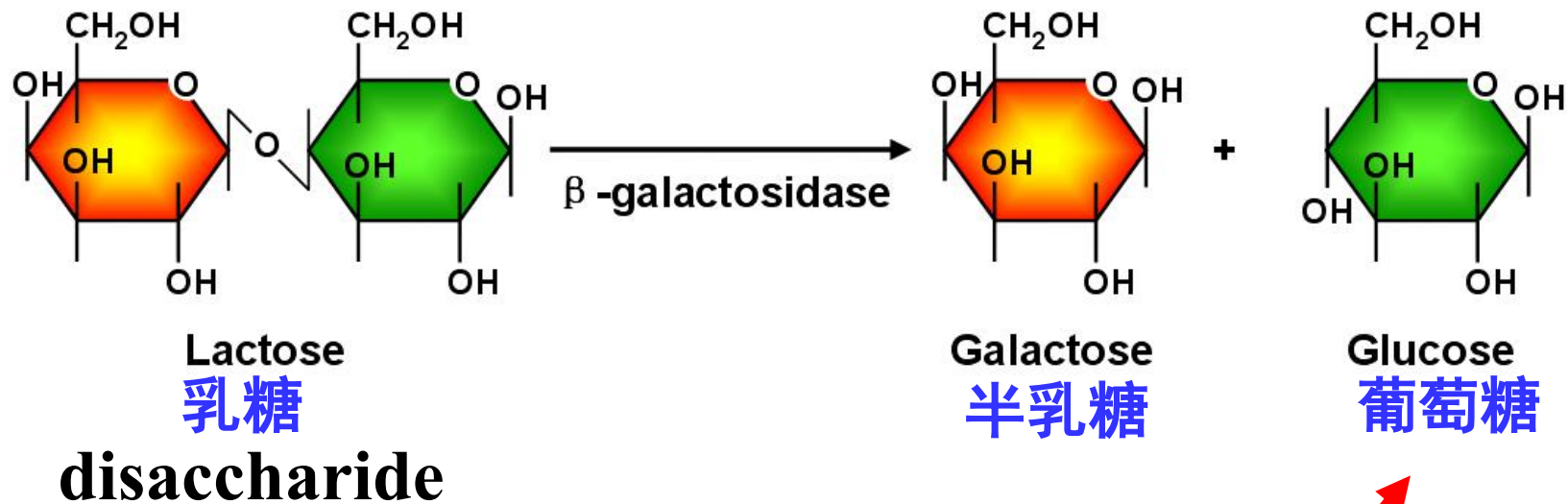
5.2 The *lac* Operon / 乳糖操纵子



The *lac* operon

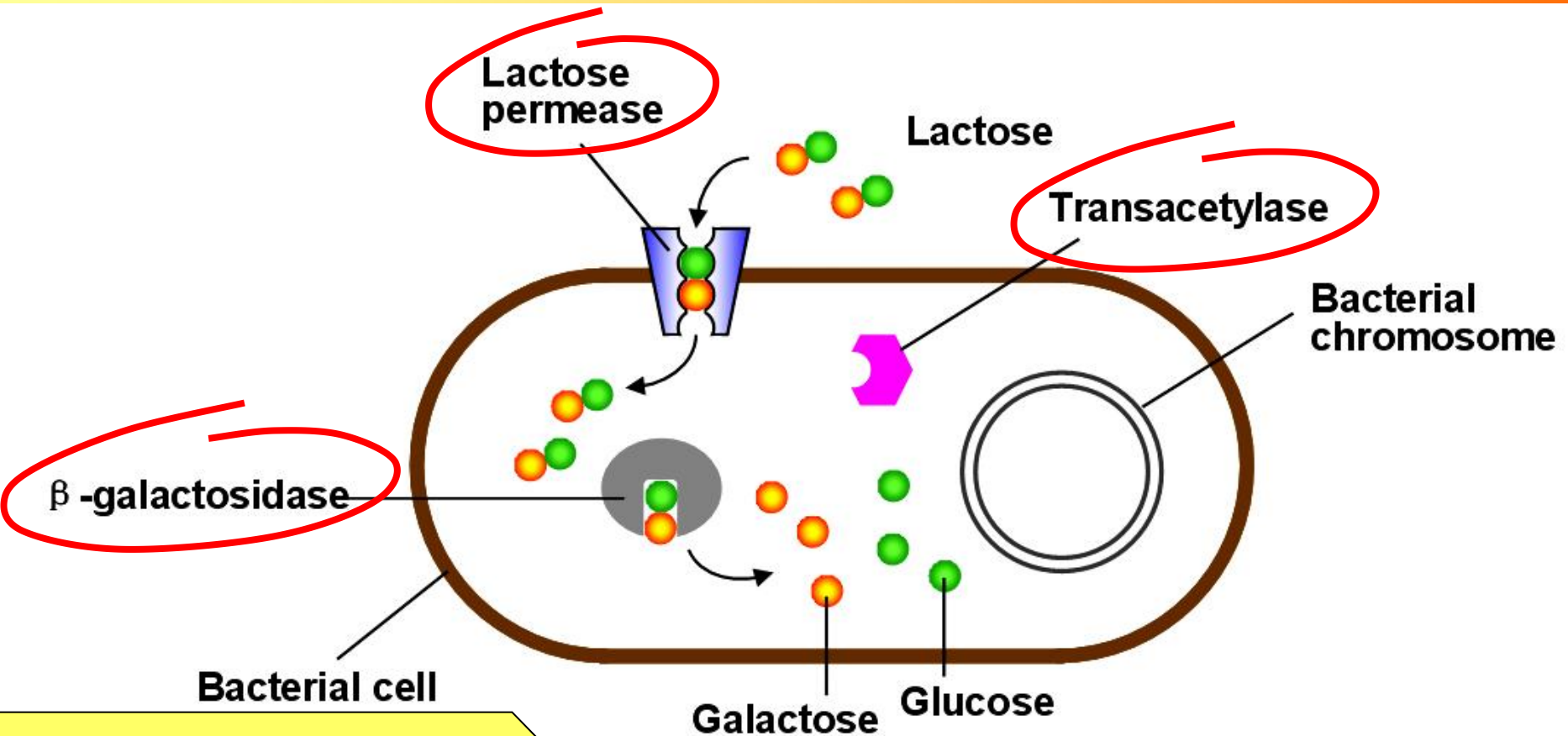
1. The Conditions of lactose Metabolism

1. 乳糖代谢的条件



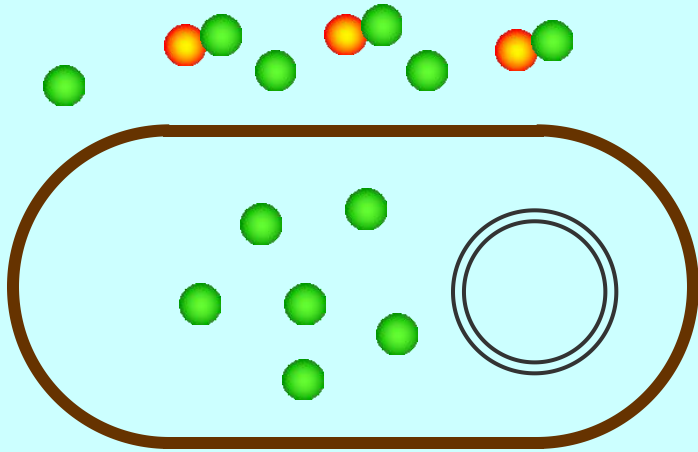
E. coli: “This is my favorite!”

How to use lactose / 如何利用乳糖

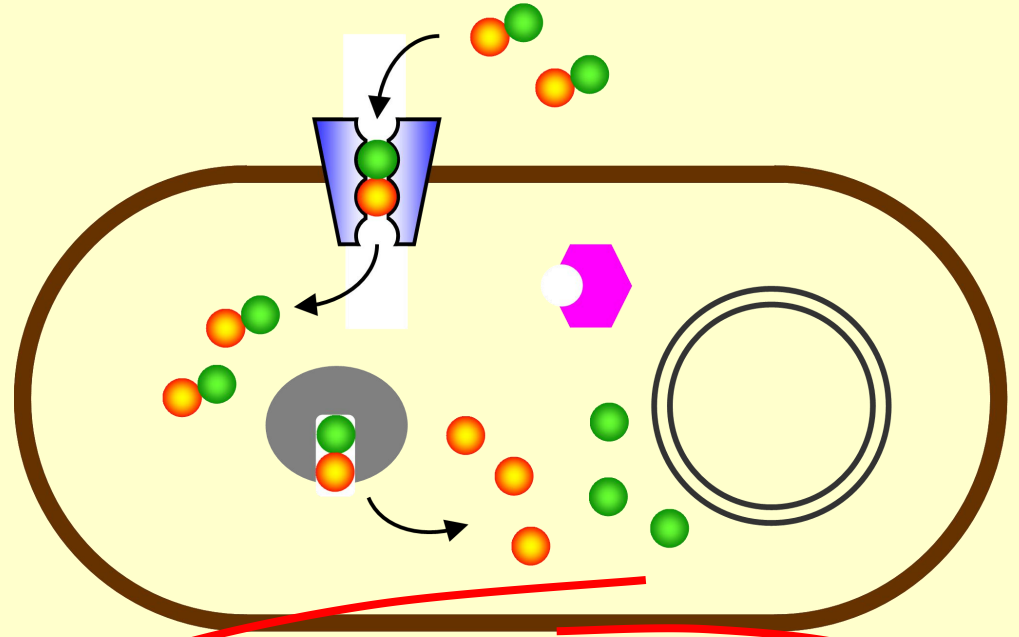


E. coli: "I need
lactose permease,
 β -galactosidase, and
transacetylase."

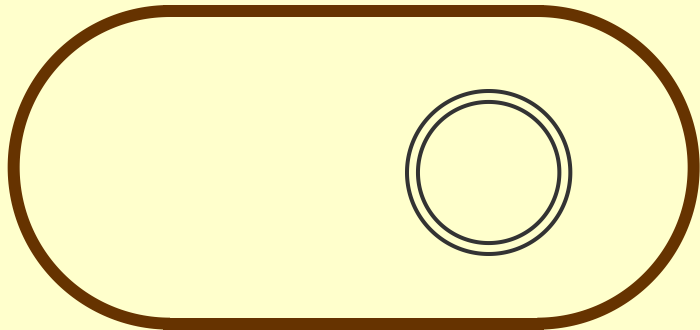
When to use lactose / 何时利用乳糖



Glucose + Lactose +



Glucose - Lactose +



Glucose - Lactose -

E. coli: “I will use lactose only when there is no glucose and there is lactose.”

Regulated Expression of Lactose Metabolizing Genes

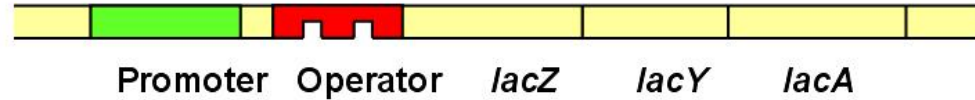
乳糖代谢基因表达调控

1. Negative Regulation – the *lac* Repressor
负调控——*lac*阻遏蛋白
2. Positive Regulation – CAP
正调控——CAP

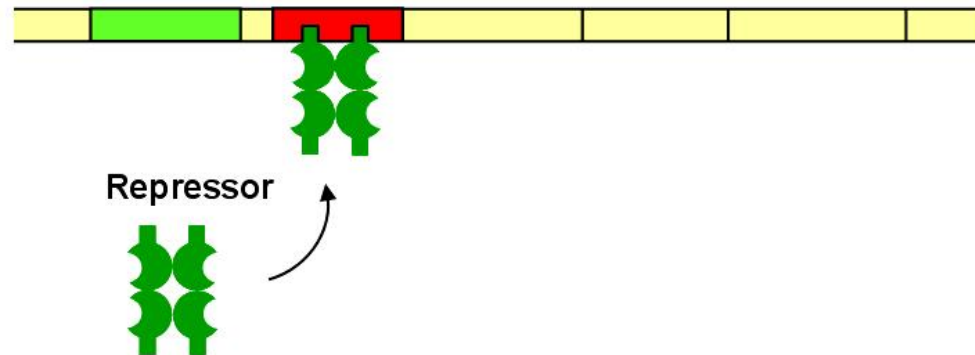
2. Negative Regulation – the *lac* Repressor

负调控——*lac*阻遏蛋白

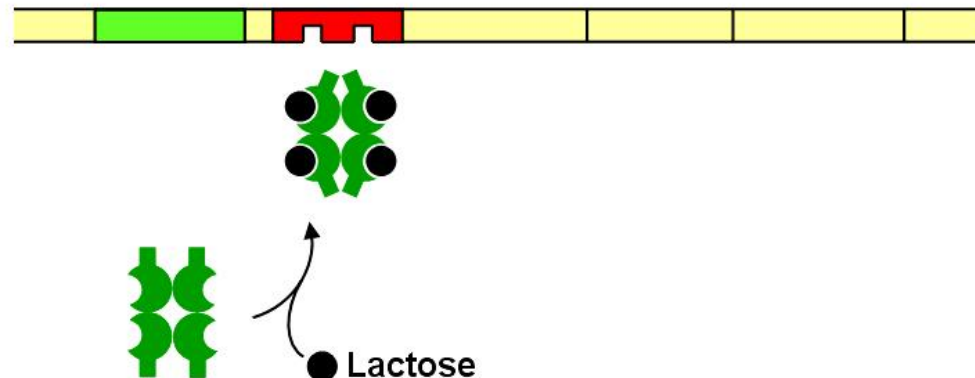
1. The *lac* operon



2A. The operon is repressed.



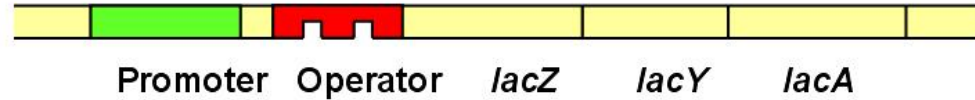
2B. The operon is induced.



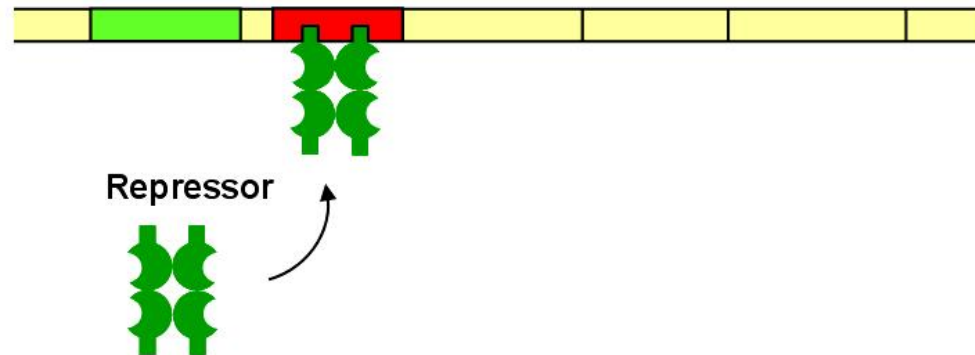
Negative Regulation – the *lac* Repressor

负调控——*lac*阻遏蛋白

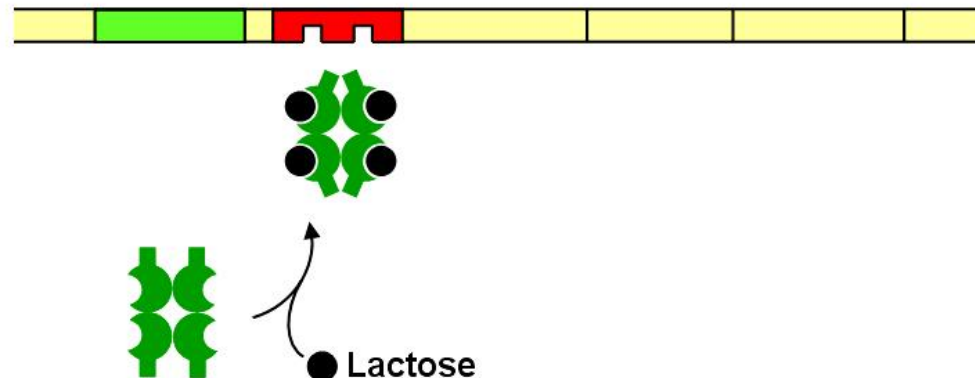
1. The *lac* operon



2A. The operon is repressed.

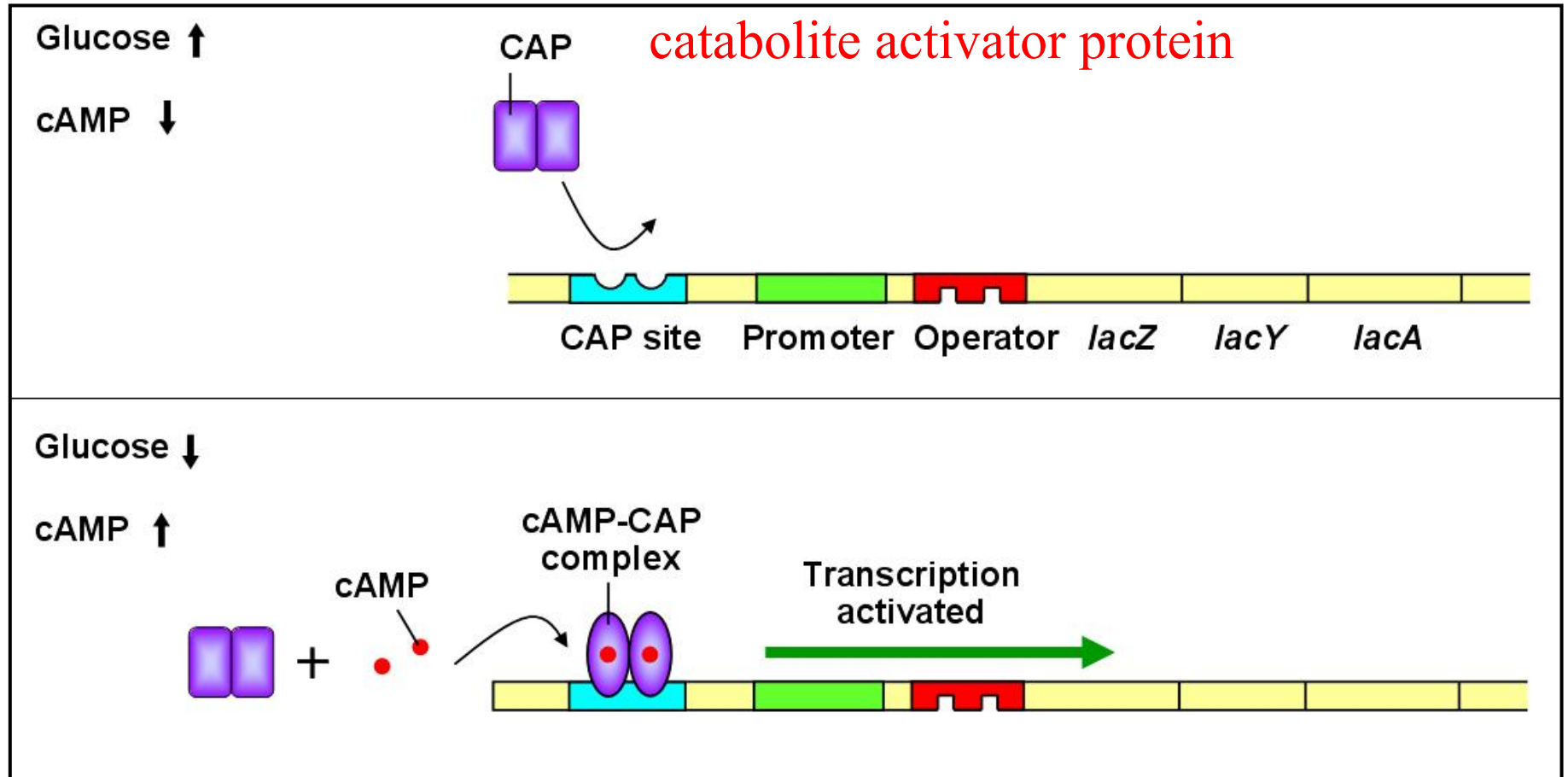


2B. The operon is induced.

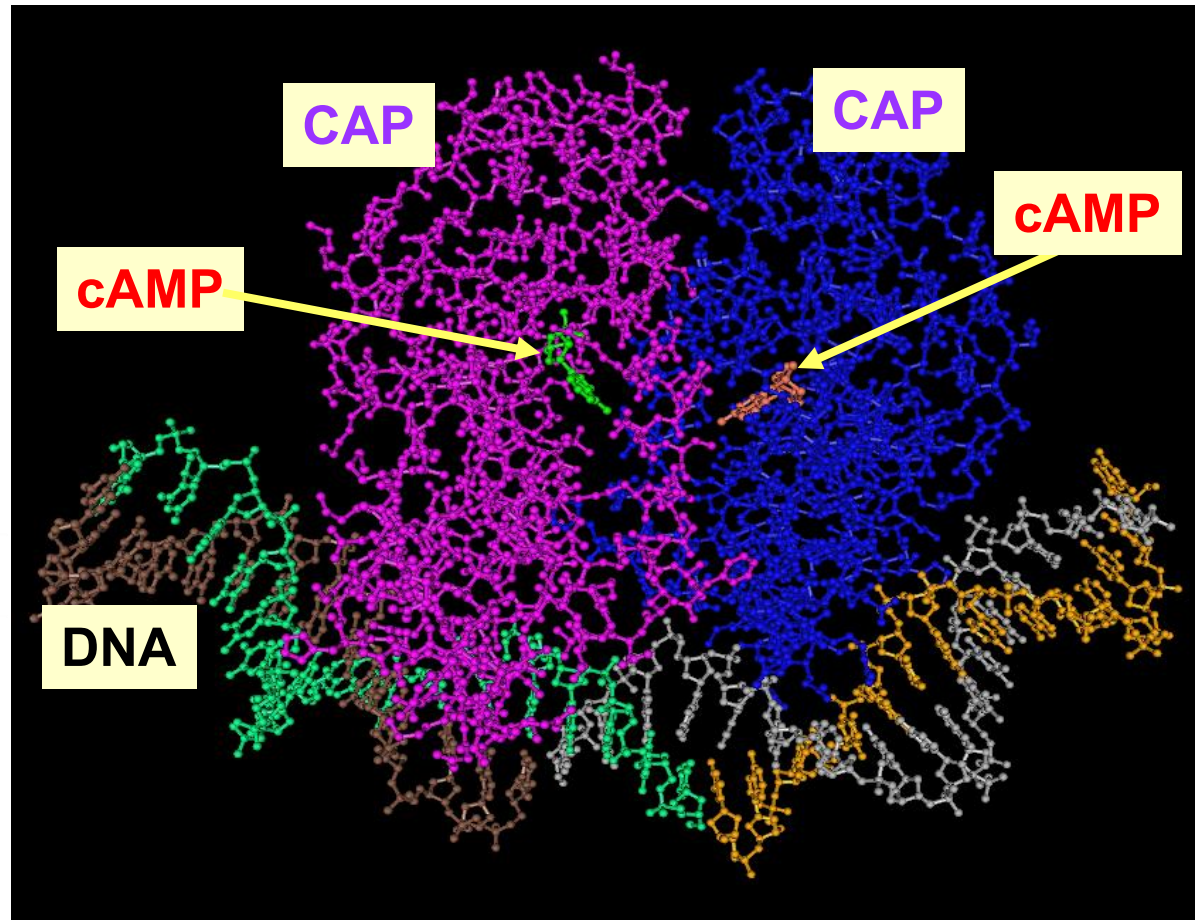
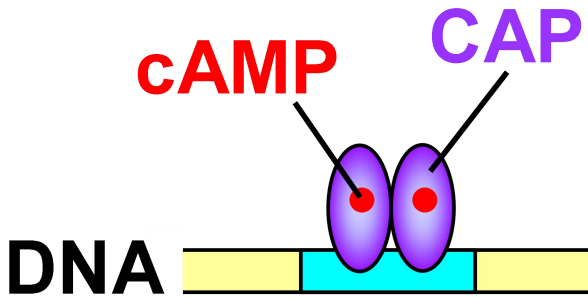


3. Positive Regulation – CAP

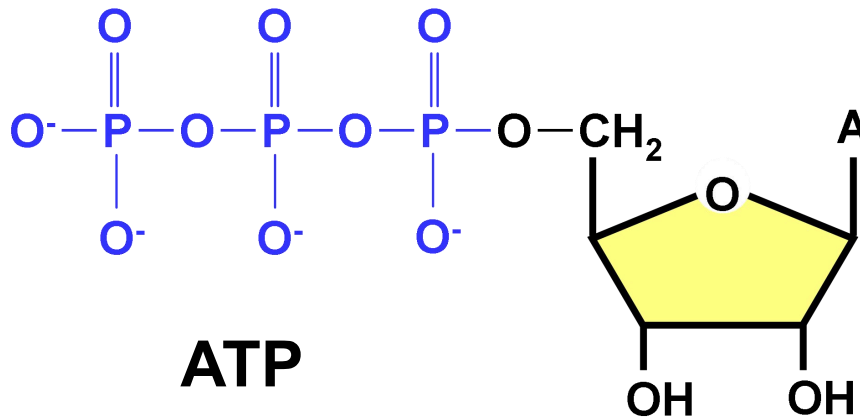
正调控——CAP



CAP-cAMP complex



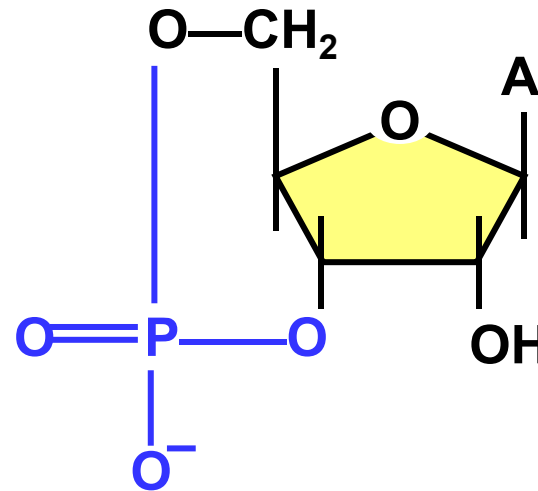
Adenylyl Cyclase (AC)



Glucose inhibits the activity of AC.

AC

cAMP



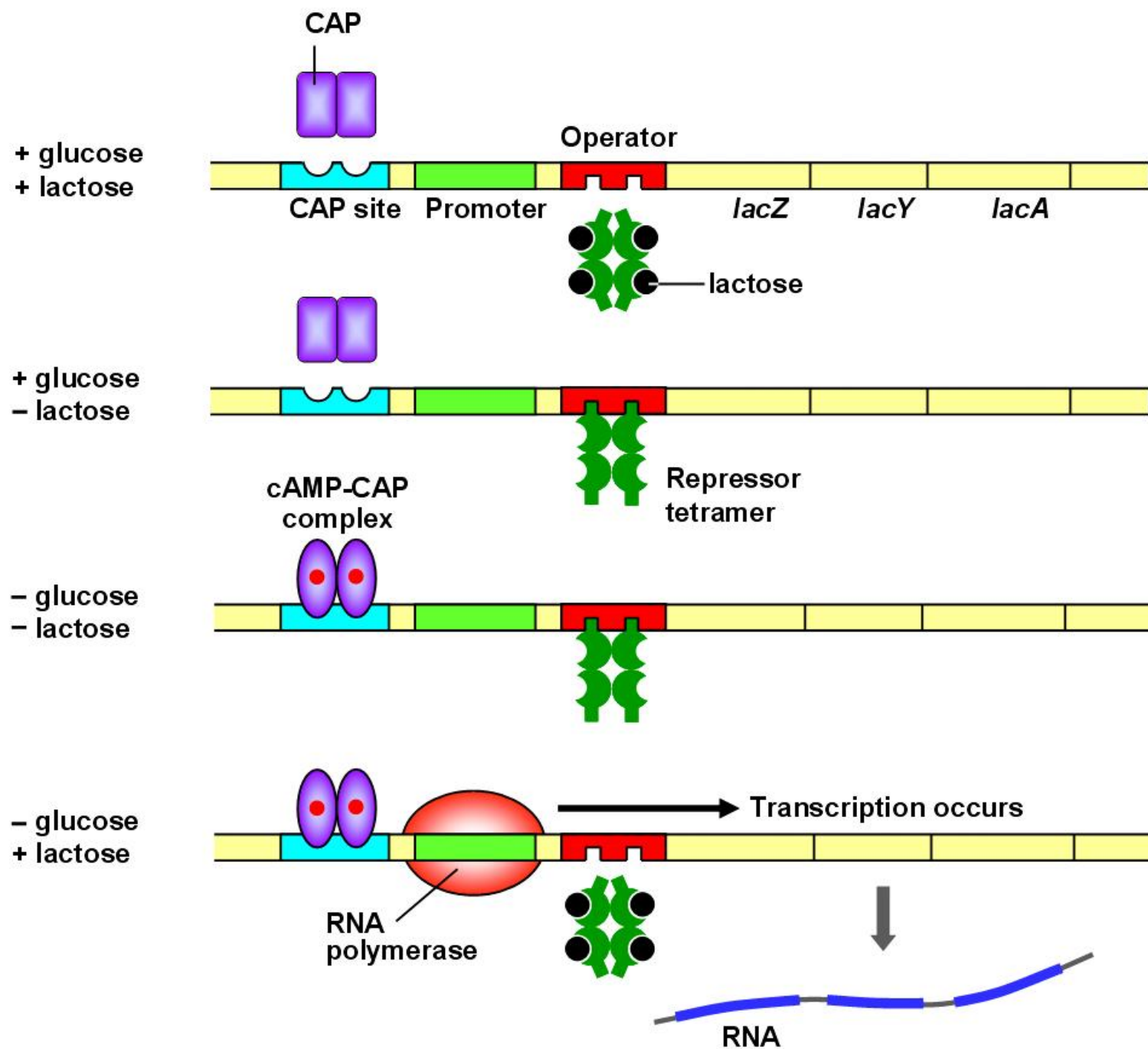
CAP – “The accelerator” lac repressor – “The brake”



Brake
刹车

Accelerator
加速器

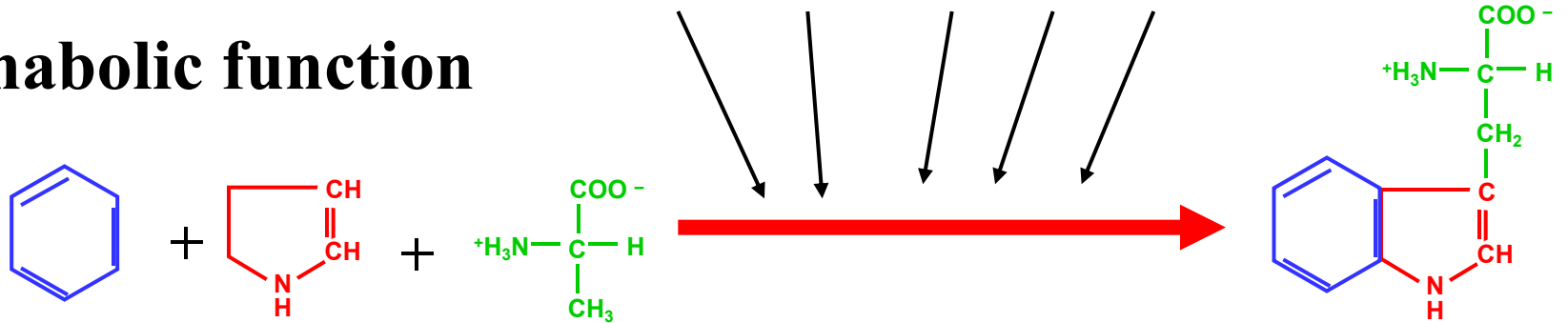




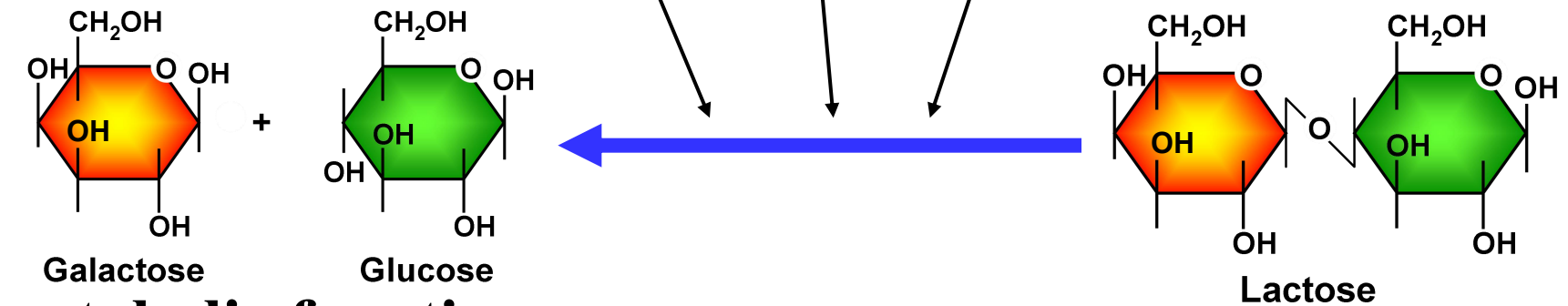
5.3 The *Trp* Operon / 色氨酸操纵子



anabolic function



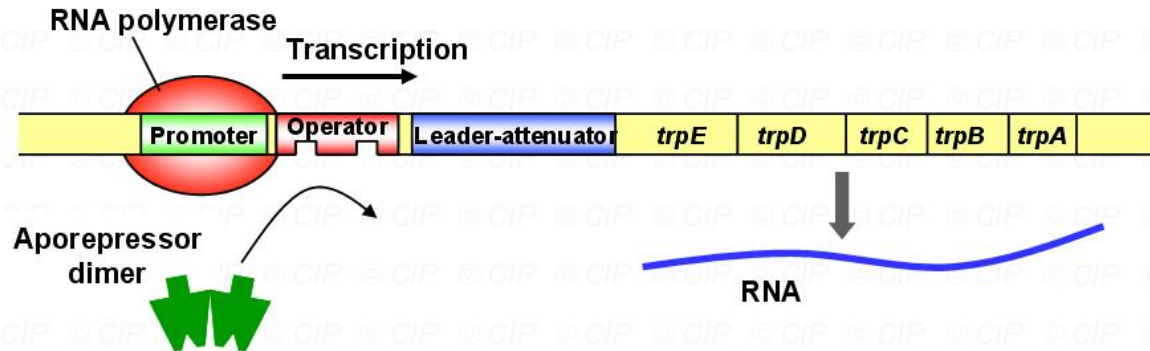
Promoter Operator *lacZ* *lacY* *lacA*



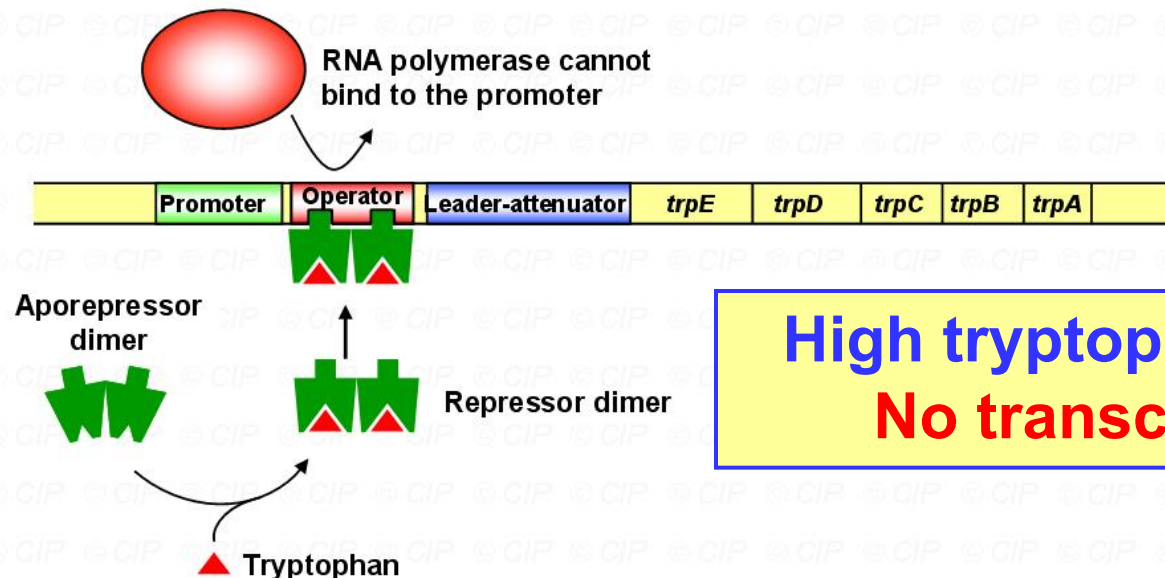
catabolic function

1. Negative Regulation – High *Trp* level

(a) Low tryptophan: transcription occurs.



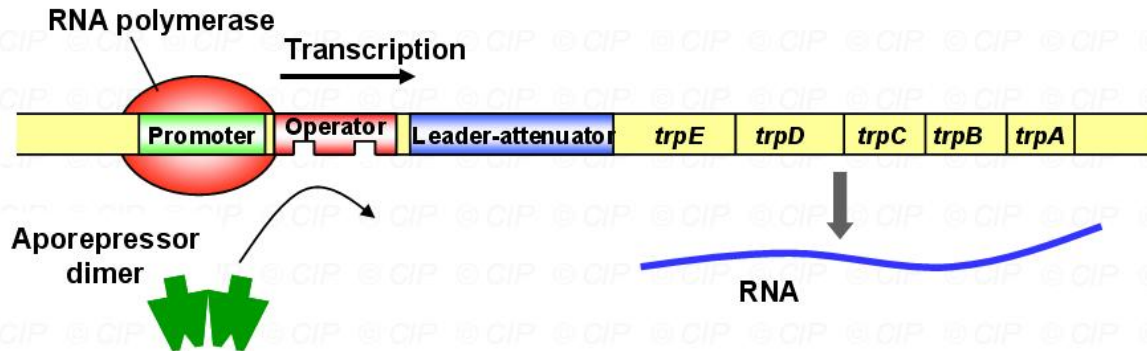
(b) High tryptophan: transcription is repressed.



**High tryptophan level:
No transcription**

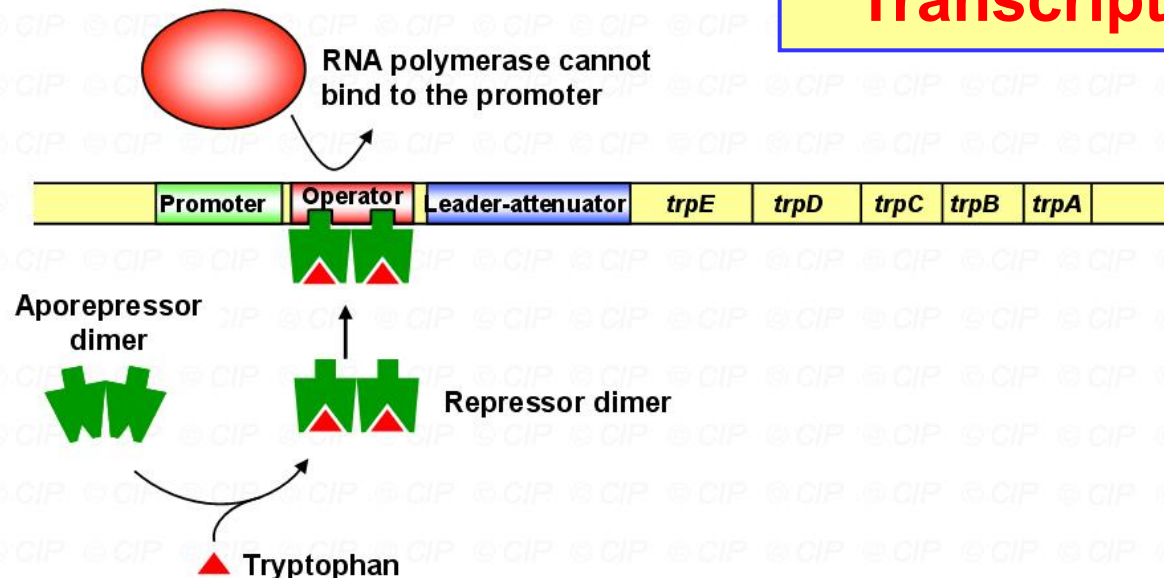
Negative Regulation – low *Trp* level

(a) Low tryptophan: transcription occurs.



Low tryptophan level:
Transcription occurs

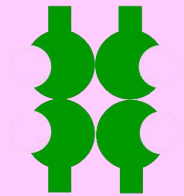
(b) High tryptophan: transcription is repressed.



lac repressor vs. *trp* repressor

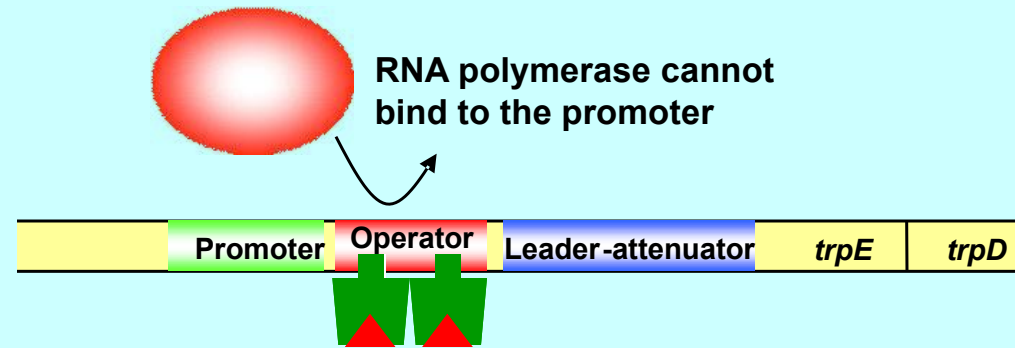


Repressor



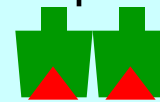
**Low
lactose level**

(b) High tryptophan: transcription is repressed.



RNA polymerase cannot
bind to the promoter

Aporepressor
dimer



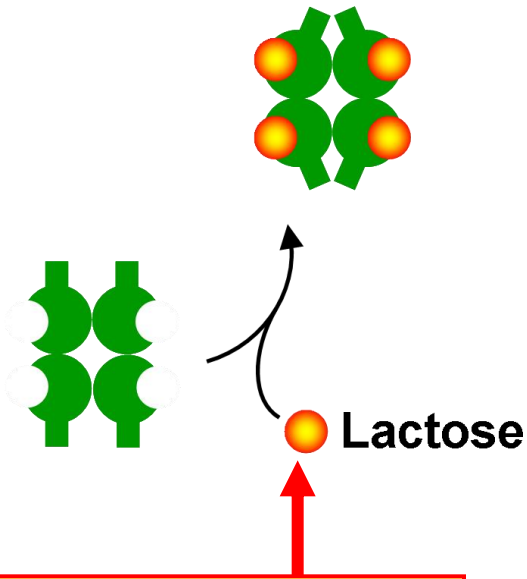
Repressor dimer

▲ Tryptophan

High tryptophan level

Lactose – the inducer

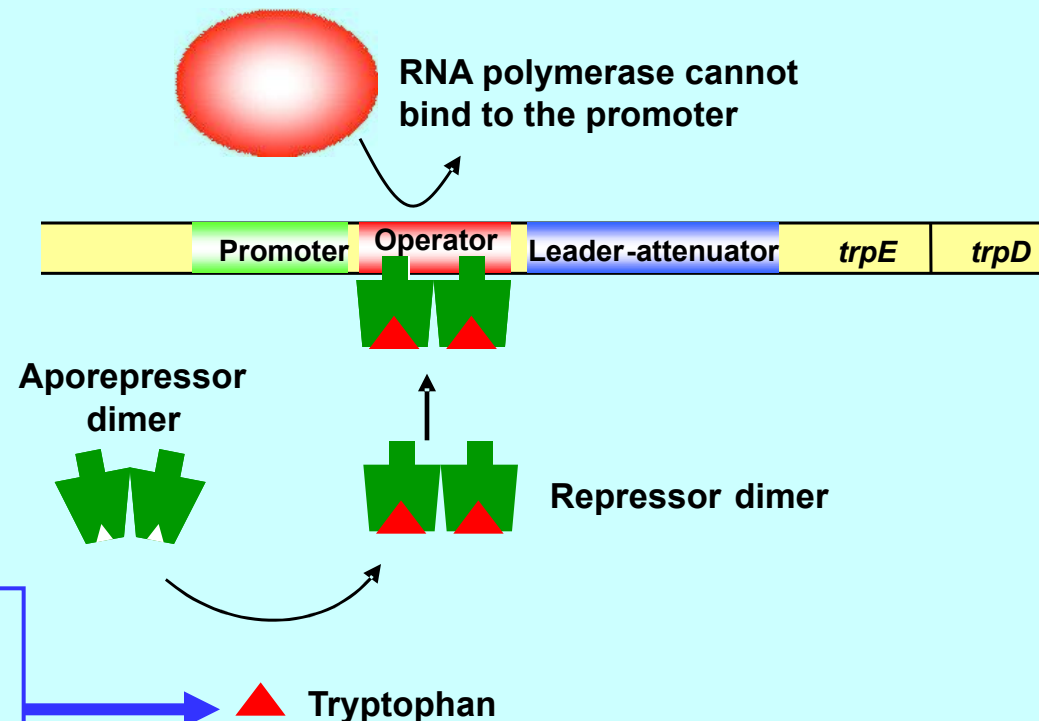
Tryptophan – the co-repressor



Inducer 诱导物

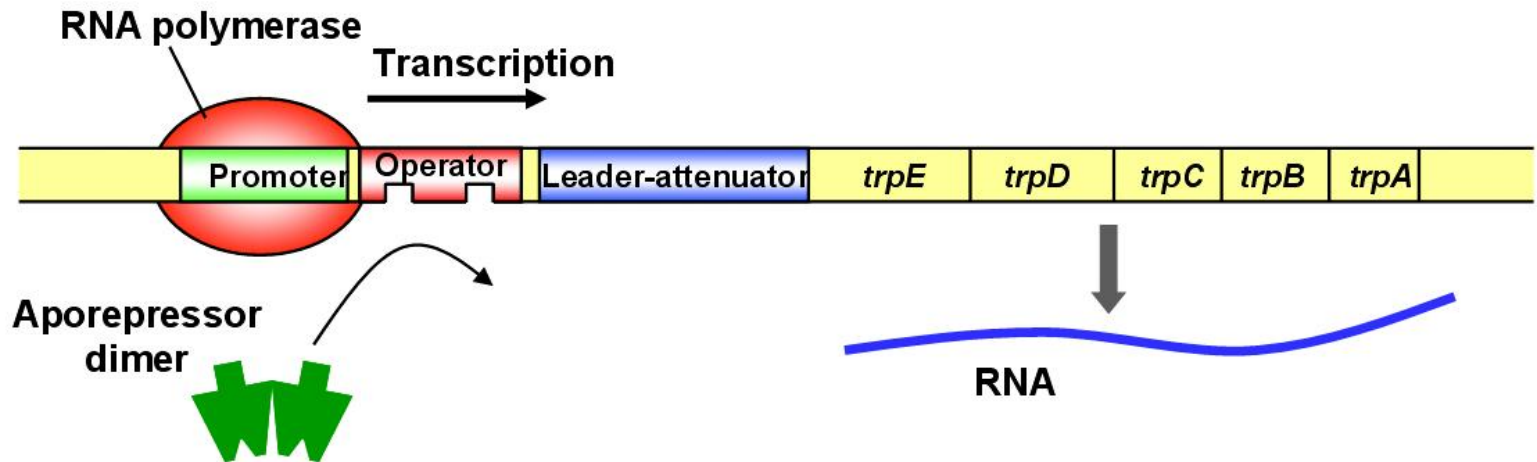
Co-repressor
辅阻遏物

(b) High tryptophan: transcription is repressed.

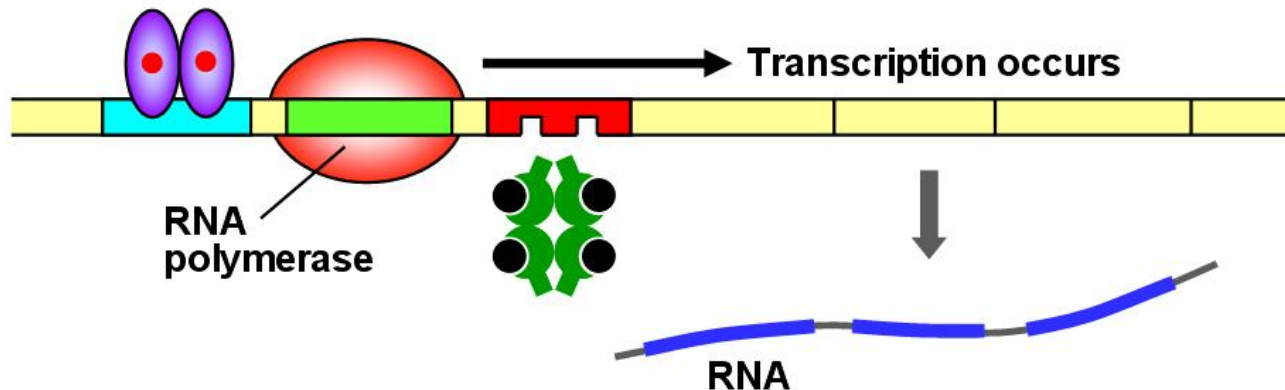


The *Trp* Operon: No positive regulation

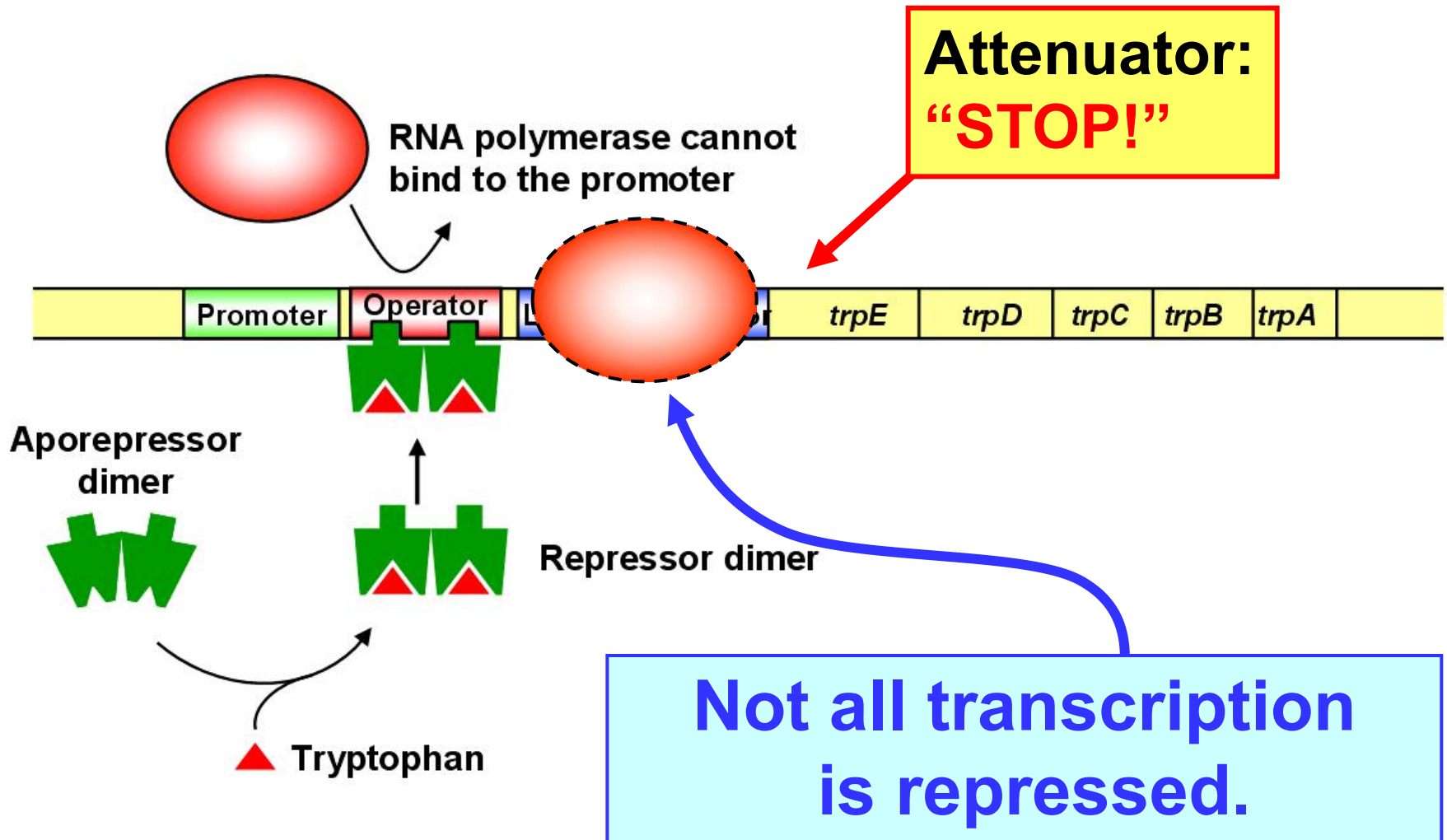
(a) Low tryptophan: transcription occurs.



- glucose
+ lactose

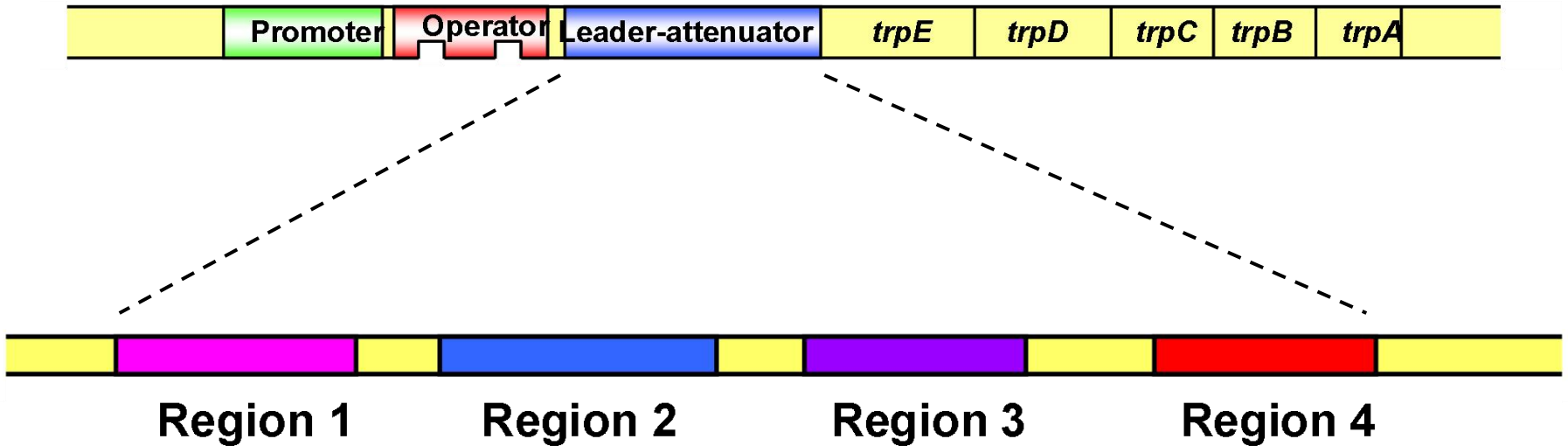


2. Attenuation / 衰減作用



The leader-attenuator region

前导子-衰减子区域

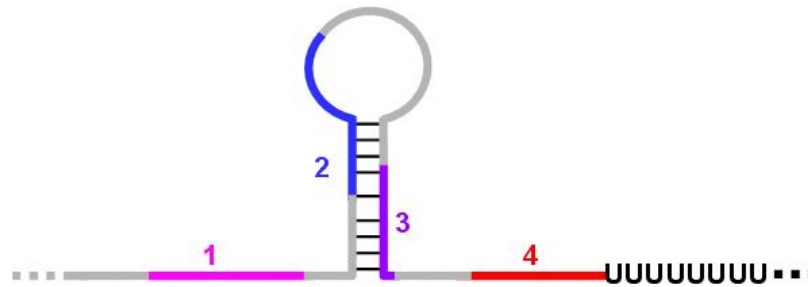


The leader-attenuator RNA

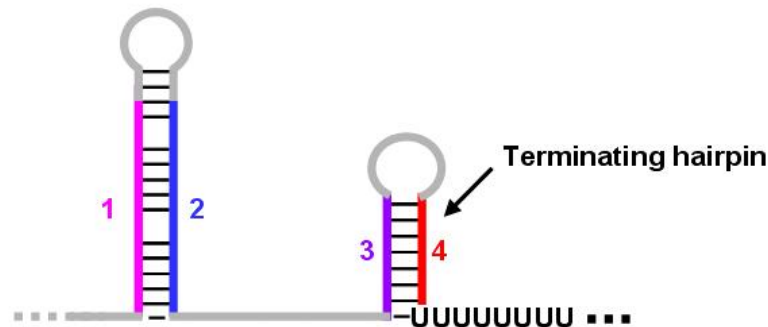
(a) The leader-attenuator region



(b) The non-terminating hairpin

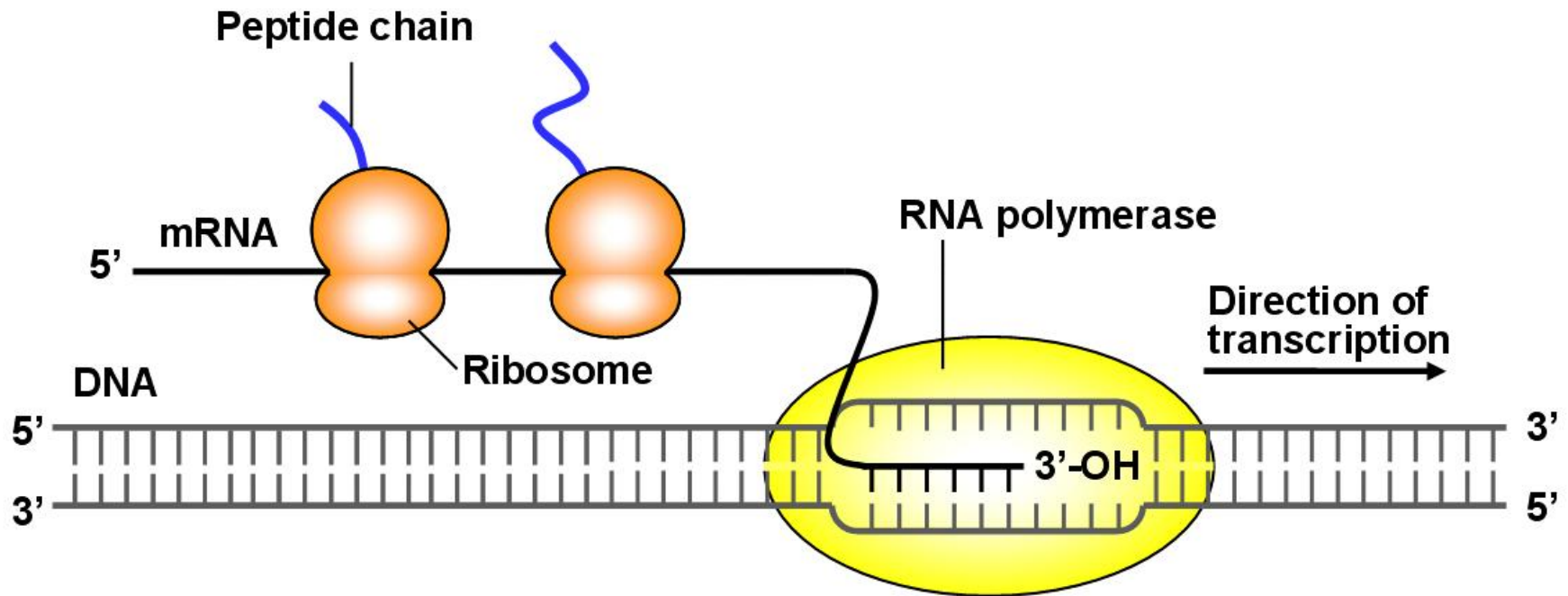


(c) The terminating hairpin

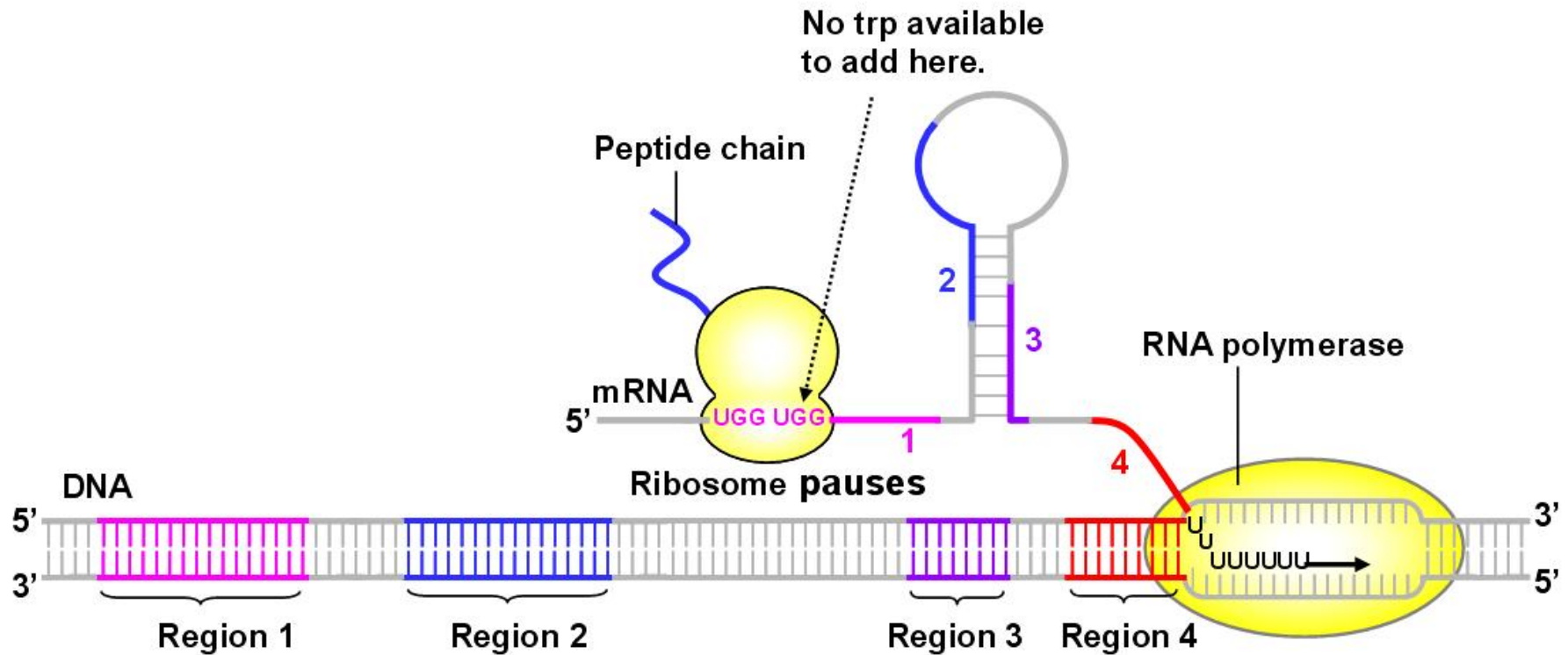


The coupled transcription-translation

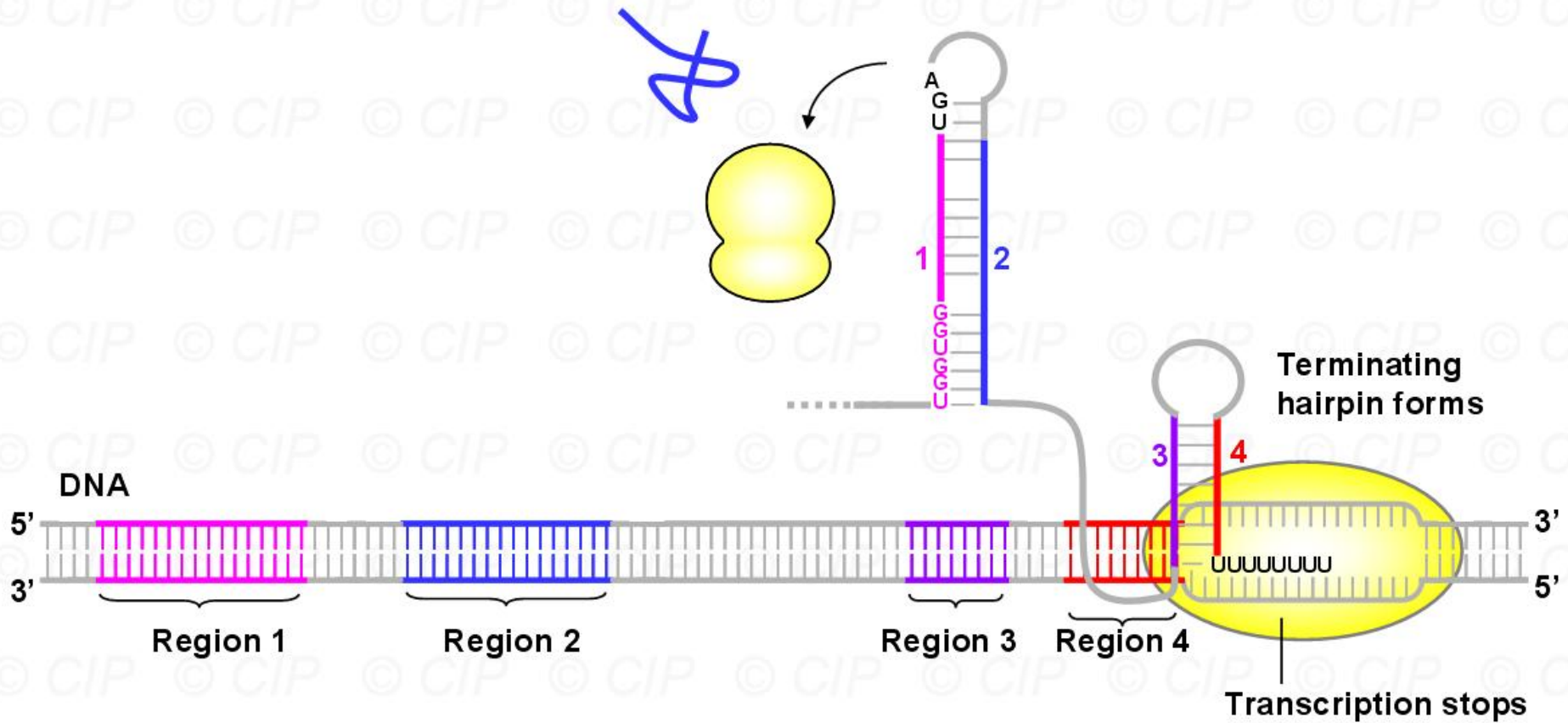
偶联转录-翻译作用



When tryptophan level is low ...

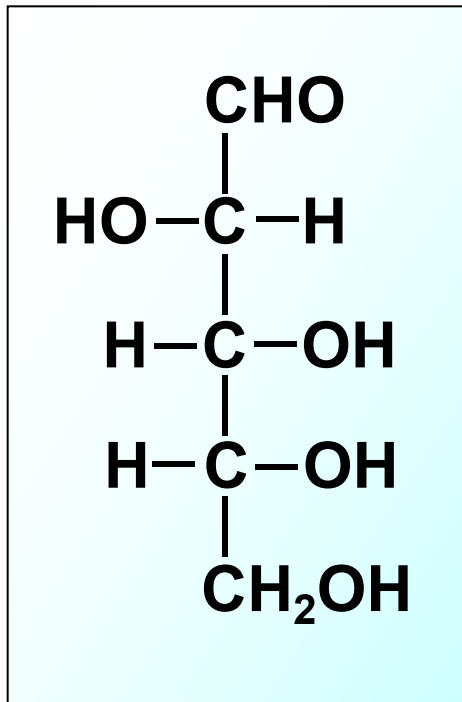


When tryptophan level is **high** ...

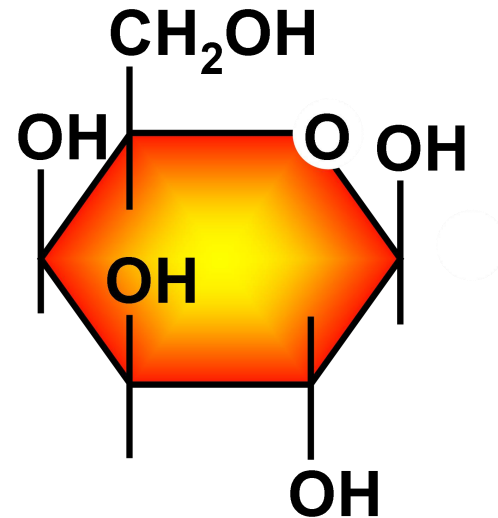


5.3 Ara and Gal Operons

5.3 阿拉伯糖操纵子与半乳糖操纵子



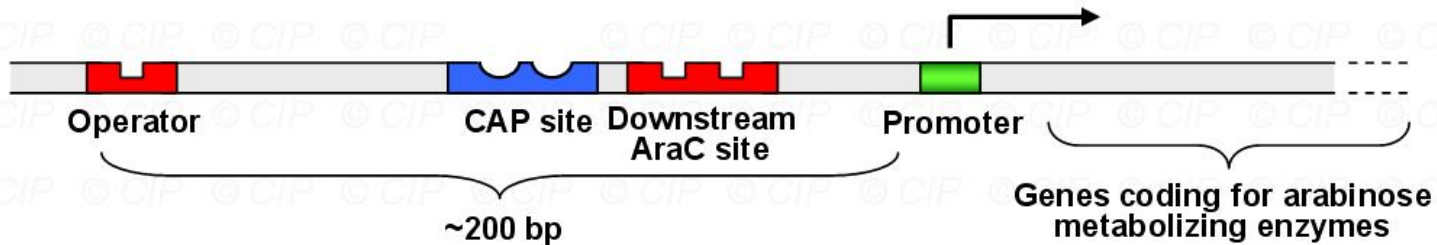
Arabinose
阿拉伯糖



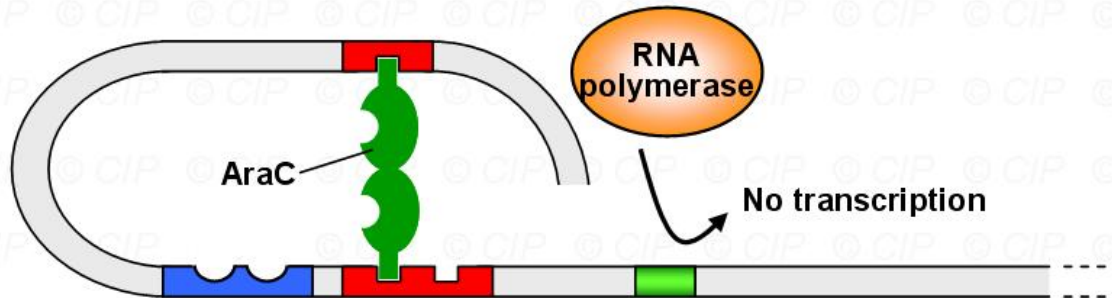
Galactose
半乳糖

1. Ara Operon / 阿拉伯糖操纵子

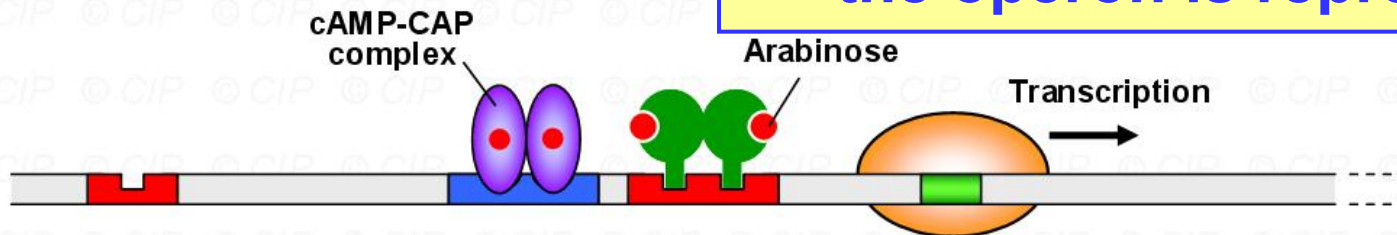
(a) The *ara* operon



(b) – arabinose



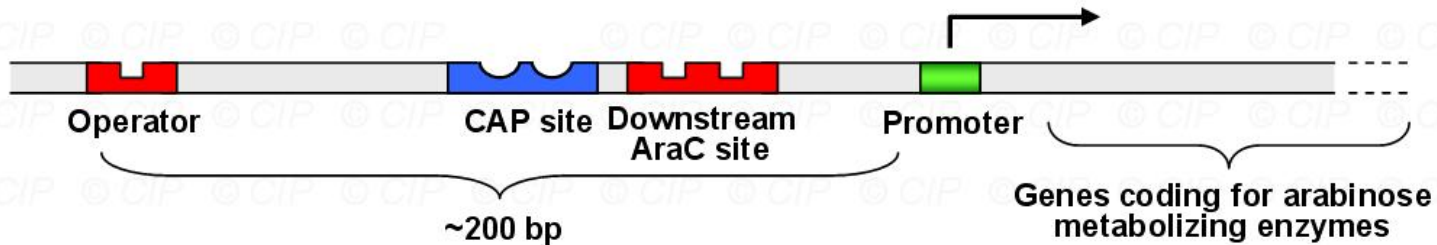
(c) + arabinose



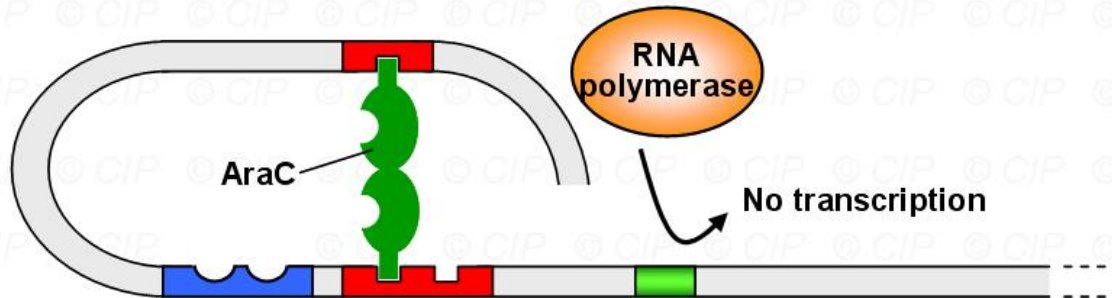
When there is no arabinose, the operon is repressed.

Ara Operon / 阿拉伯糖操纵子

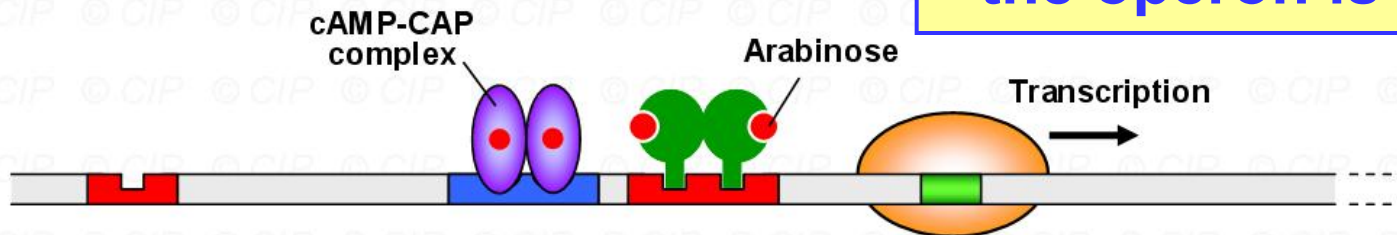
(a) The *ara* operon



(b) – arabinose



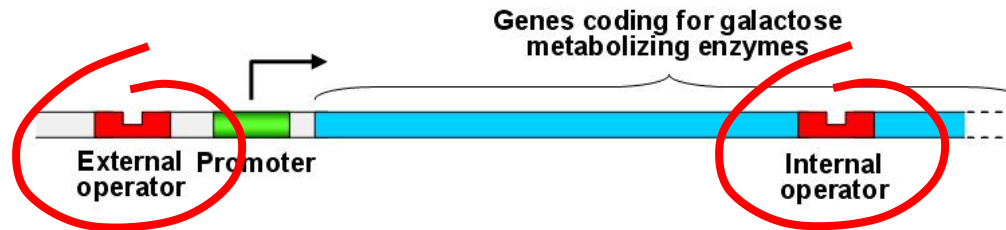
(c) + arabinose



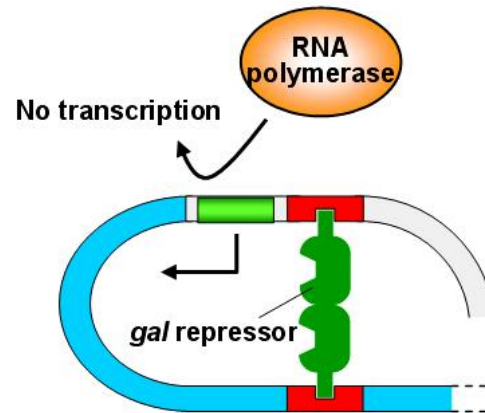
**When there is arabinose,
the operon is induced.**

2. Gal Operon / 半乳糖操纵子

(a) The *gal* operon

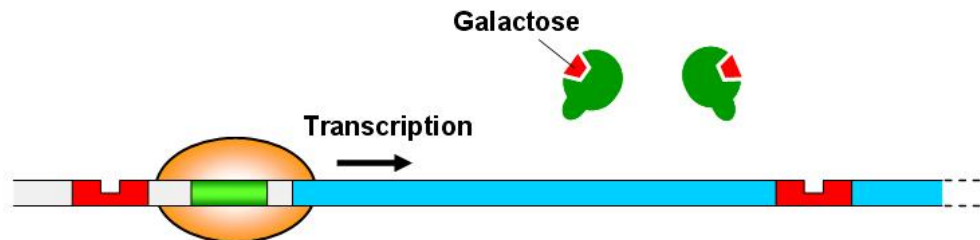


(b) – galactose



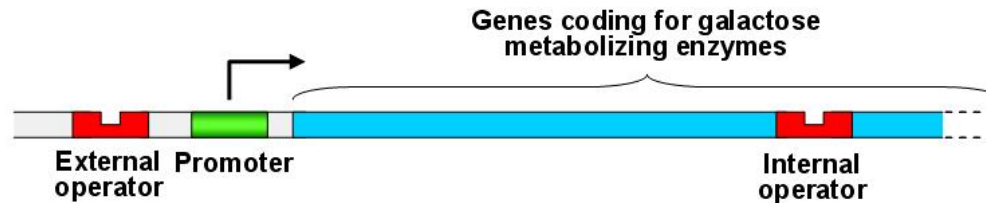
When there is
no galactose,
the operon is
repressed.

(c) + galactose

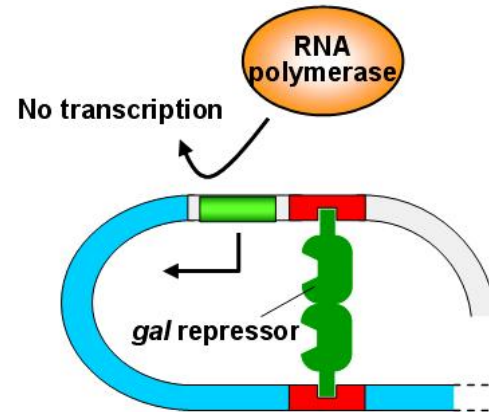


Gal Operon / 半乳糖操纵子

(a) The *gal* operon

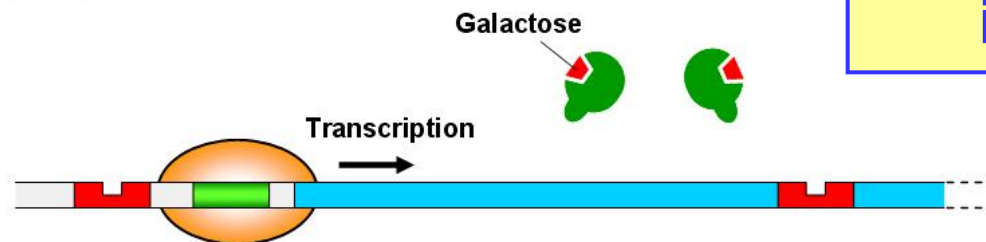


(b) – galactose

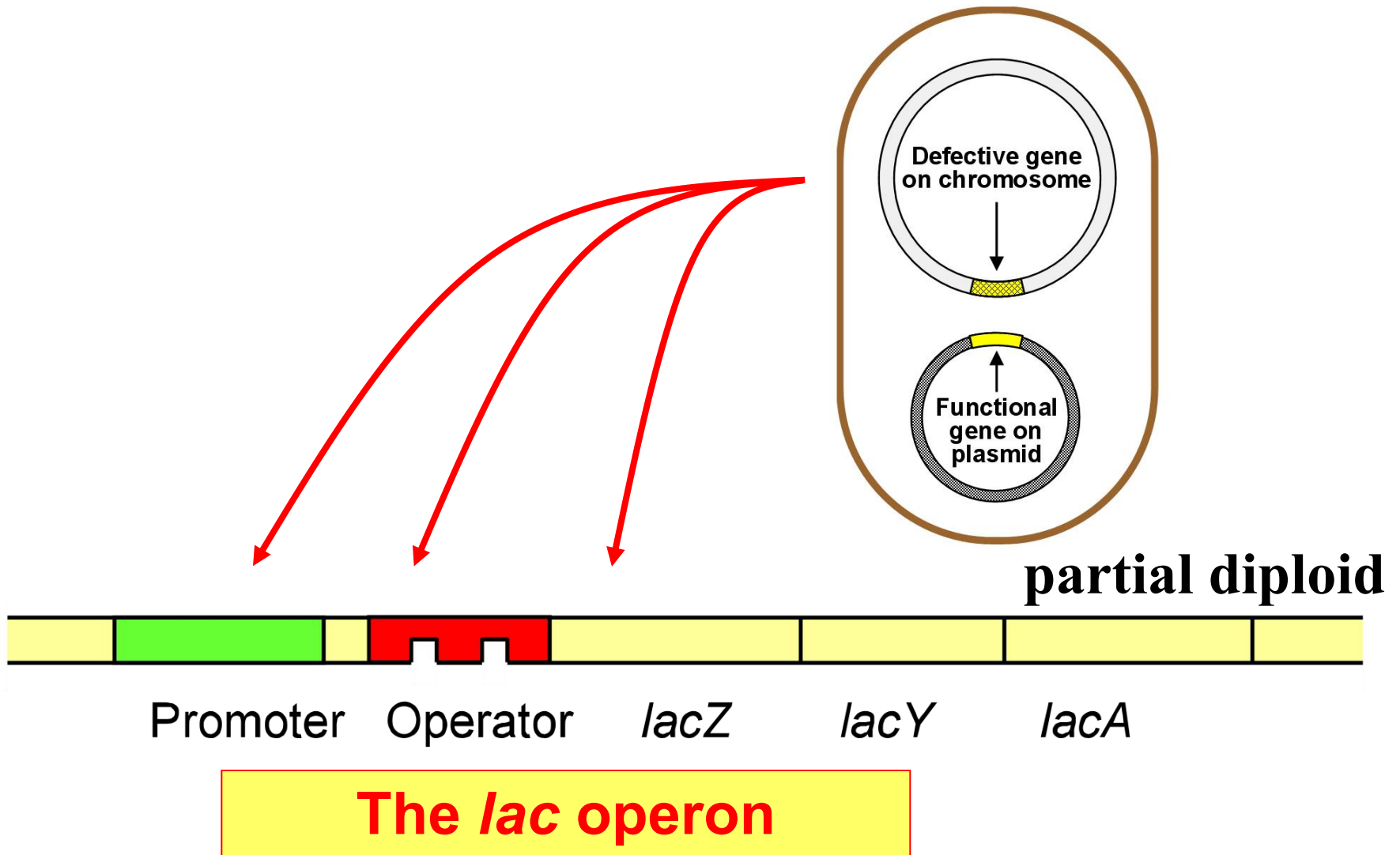


When there is galactose, the operon is induced.

(c) + galactose

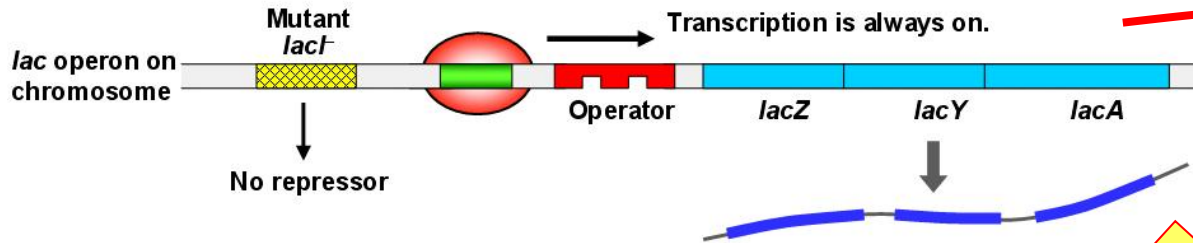


5.4 Experiments / 实验研究

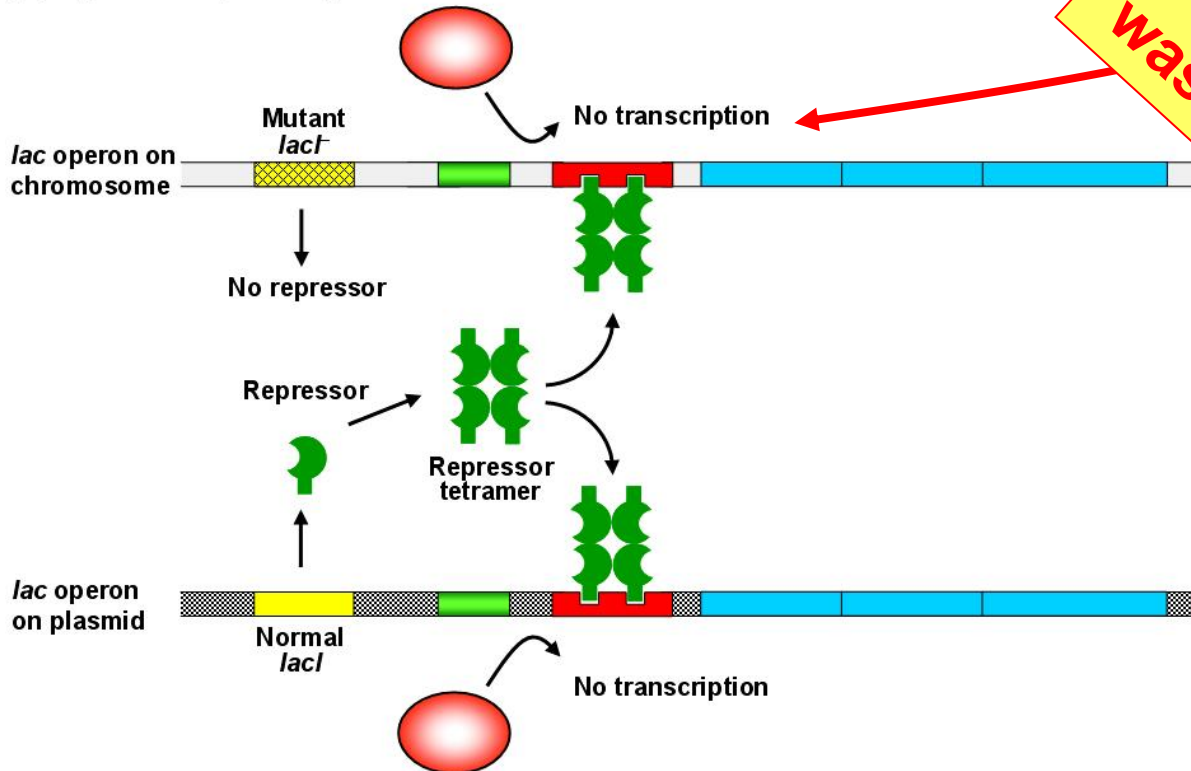


Constitutive mutant *lacI*⁻ / 组成型突变体*lacI*⁻

(a) Constitutive mutant *lacI*⁻



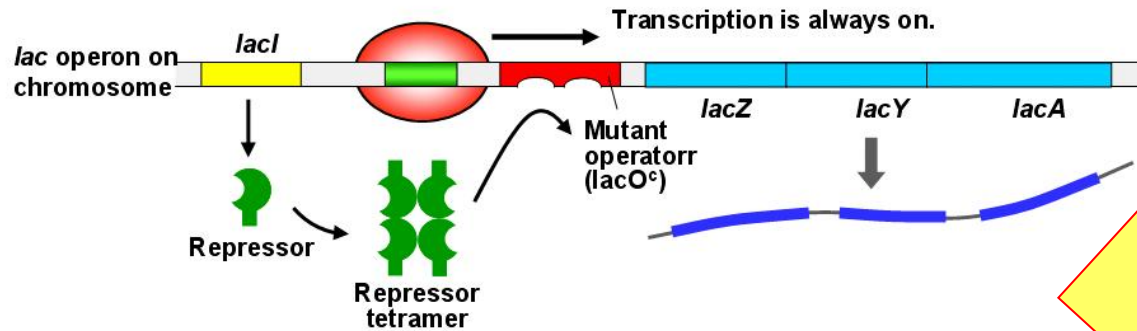
(b) Repression in partial diploid



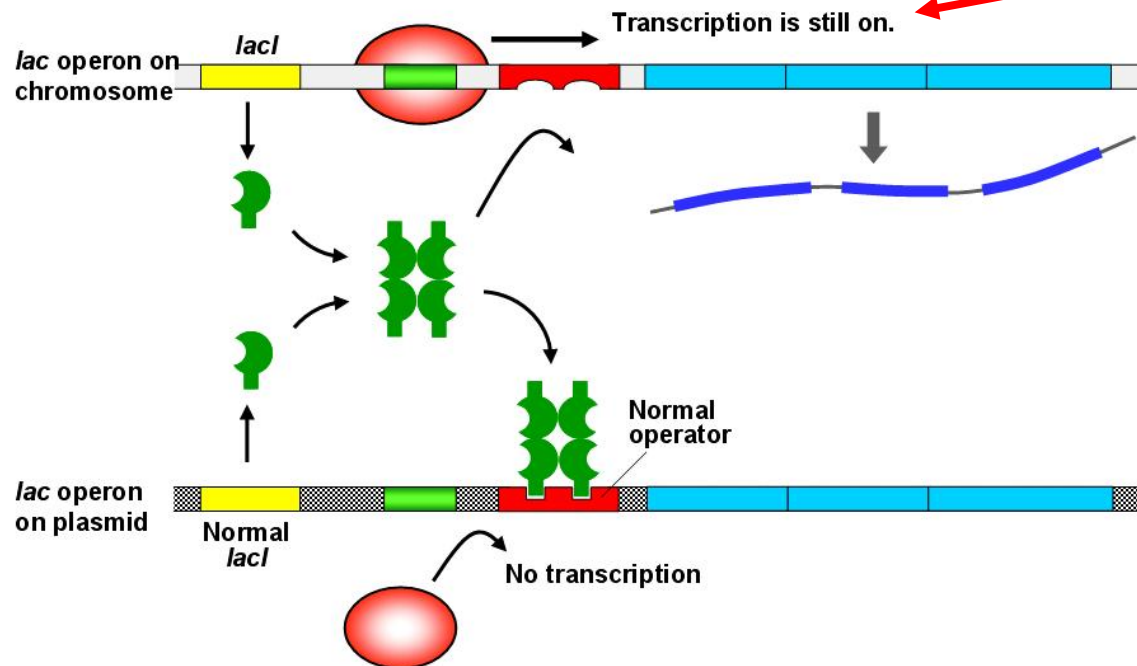
The lost function
was compensated.

Constitutive mutant $lacO^c$ / 组成型突变体 $lacO^c$

(a) Constitutive mutant $lacO^c$



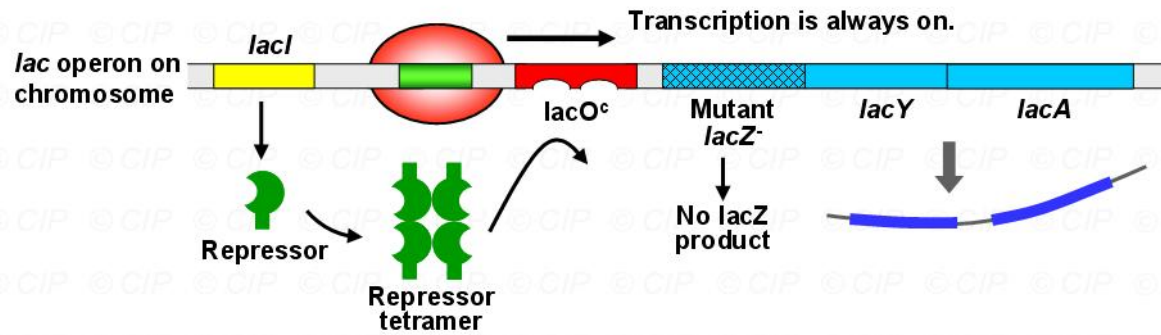
(b) No repression in partial diploid



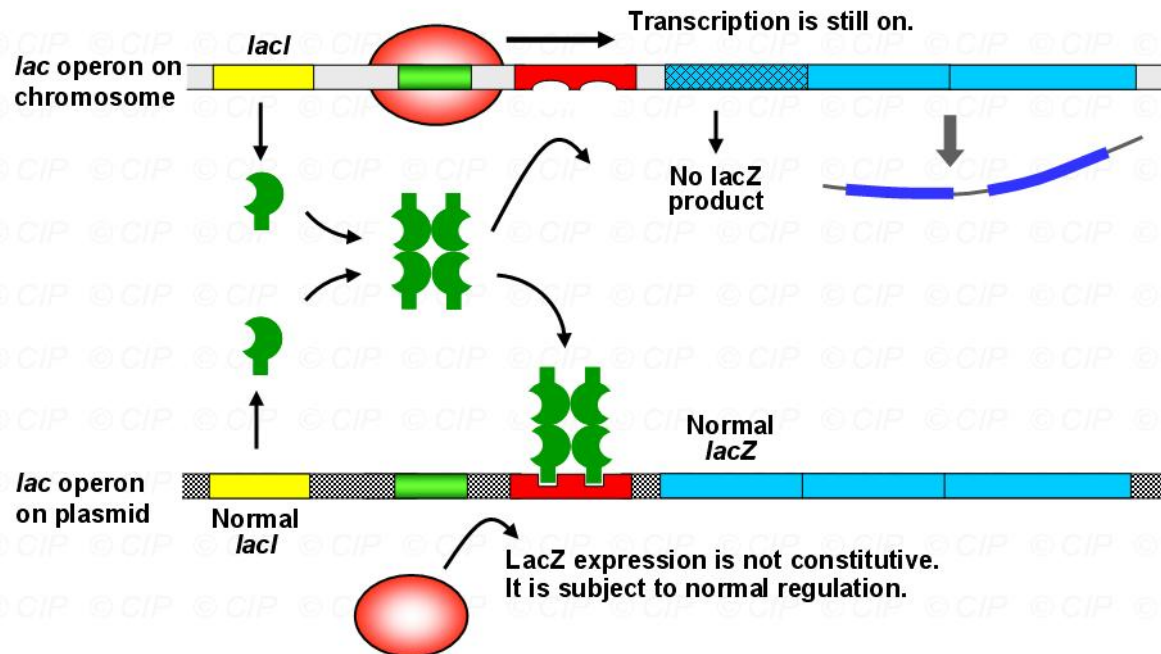
The lost function was **NOT** compensated.

LacOc functions only on the same DNA fragment

(a) Constitutive mutant lacO^c

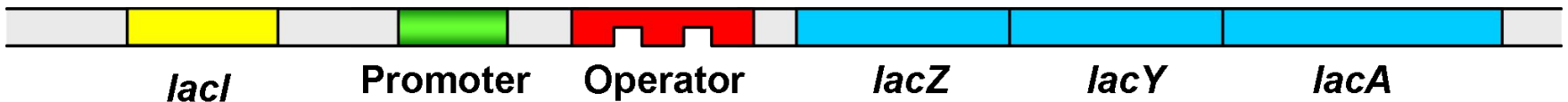
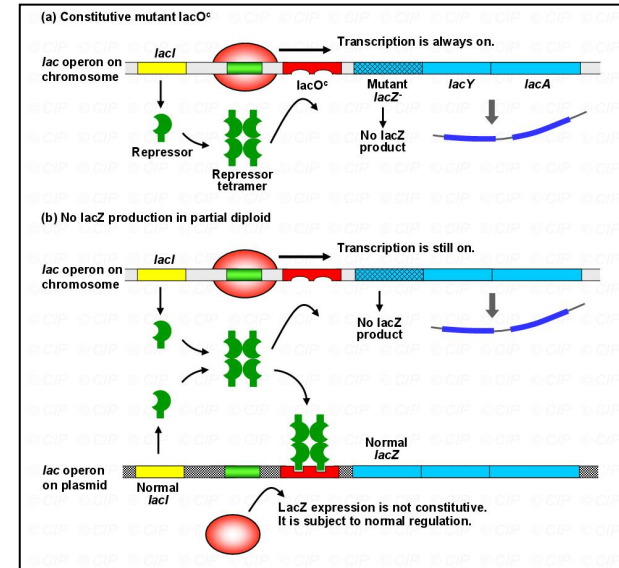
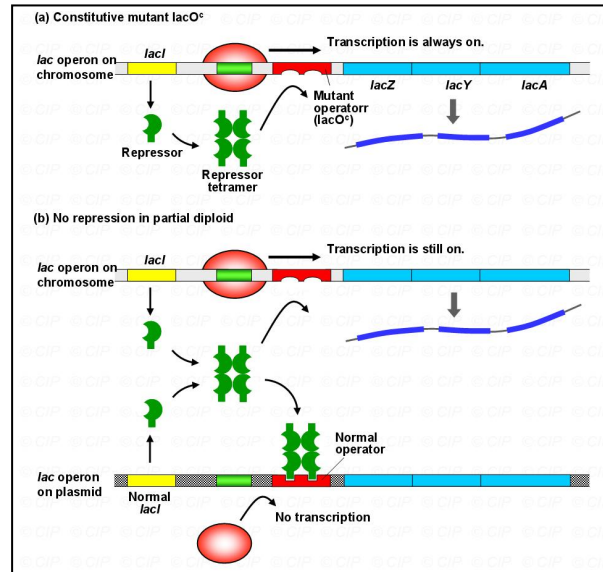
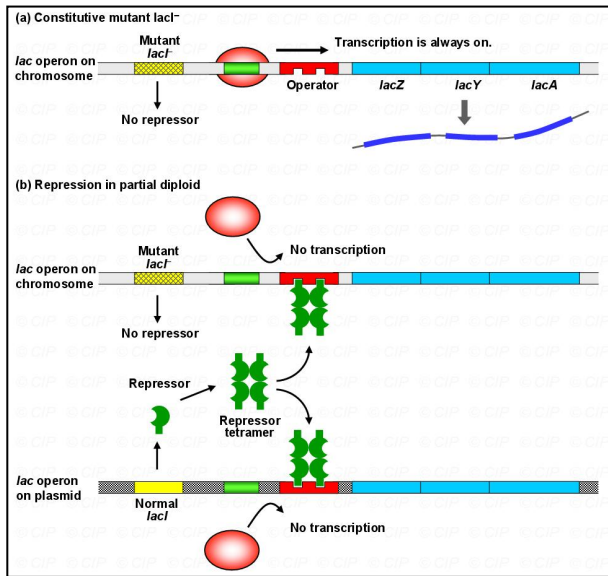


(b) No lacZ production in partial diploid



Structure of the lac operon

乳糖操纵子的结构



5.5 转录水平上的其他调控方式

1. σ 因子的调节作用
2. 组蛋白类似蛋白的调节作用
3. 转录调控因子的作用
4. 抗终止因子的调节作用

1. σ 因子的调节作用

原核生物RNA聚合酶的组成

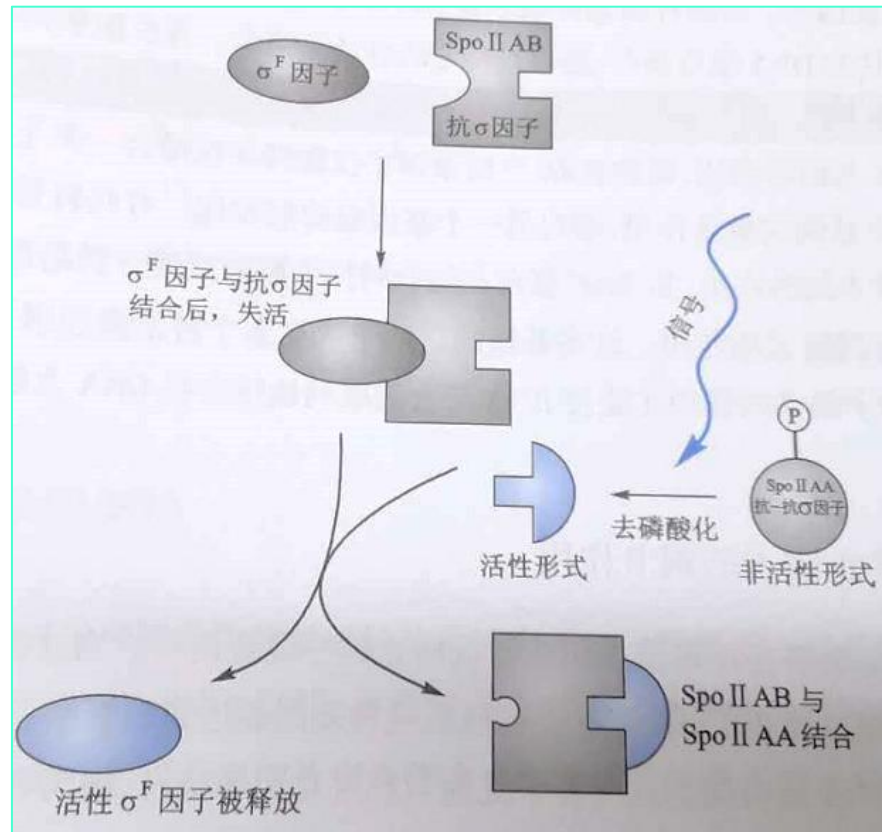
$\alpha_2\beta\beta' \omega \sigma$



- 核心酶结合后，使其产生构象变化
- 降低全酶与非特异性DNA的结合力
- 增强全酶与启动子（R,B site）的专一性结合力
- 导致RNA链的延伸缓慢

σ 因子的失活与活化

受蛋白水解酶调控被同源的抗 σ 因子失活



革兰氏阳性菌Bacillus的 σ 因子活性调控

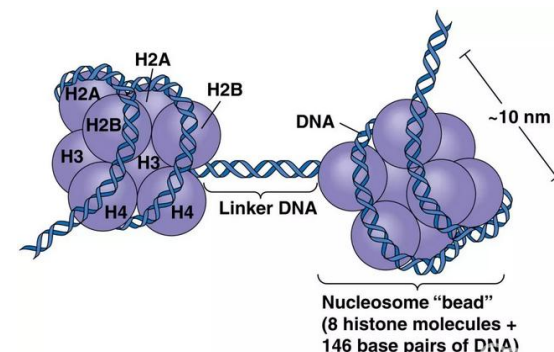
*E.coli*中各种 σ 因子比较

σ 因子	编码基因	主要功能
σ^{70}	<i>RpoD</i>	参与对数生长期和大多数代谢过程基因的调控
σ^{54}	<i>RpoN</i>	参与多数氮源利用基因的调控
σ^{38}	<i>RpoH</i>	分裂间期特异基因的表达调控
σ^{32}	<i>RpoS</i>	热休克基因的表达调控
σ^{28}	<i>RpoF</i>	鞭毛趋化相关基因的表达调控
σ^{24}	<i>RpoE</i>	过渡热休克基因的表达调控
σ^{19}	<i>FecL</i>	参与调节铁离子转运相关基因的表达调控

*E.coli*中主要是 σ^{70} 参与转录调控，除了 σ^{54} 以外，其他5种在结构上具有同源性，统称为 σ^{70} 家族。

2. 组蛋白类似蛋白的调节作用

- 组蛋白（histone）：真核生物体细胞染色质与原核细胞中的碱性蛋白质，和DNA共同组成核小体结构。



- 组蛋白类似蛋白（histone-like proteins）：原核生物中的非特异性DNA结合蛋白，用于维持DNA的高级结构。

2个结构域 { DNA结合结构域：抑制相关基因转录
蛋白互作结构域：维持DNA高级结构

3. 转录调控因子的作用

转录调控因子：能够与基因的启动子区结合，对基因的转录起激活或抑制作用的DNA结合蛋白。

- *E.coli*中有300多个基因编码转录调控因子；
- 有的能够调控大量基因表达；
- 有的仅调控一两个基因表达；
- 有的可以发挥激活和抑制两种作用。

4. 抗终止因子的调节作用

- 抗终止因子：一类能够在特定位点阻止转录终止的蛋白质。

原核生物的终止子种类

- 内在终止子（不依赖 ρ 因子的终止子）

体外实验中，只有核心酶和终止子就足以使转录终止

- 依赖 ρ 因子的终止子

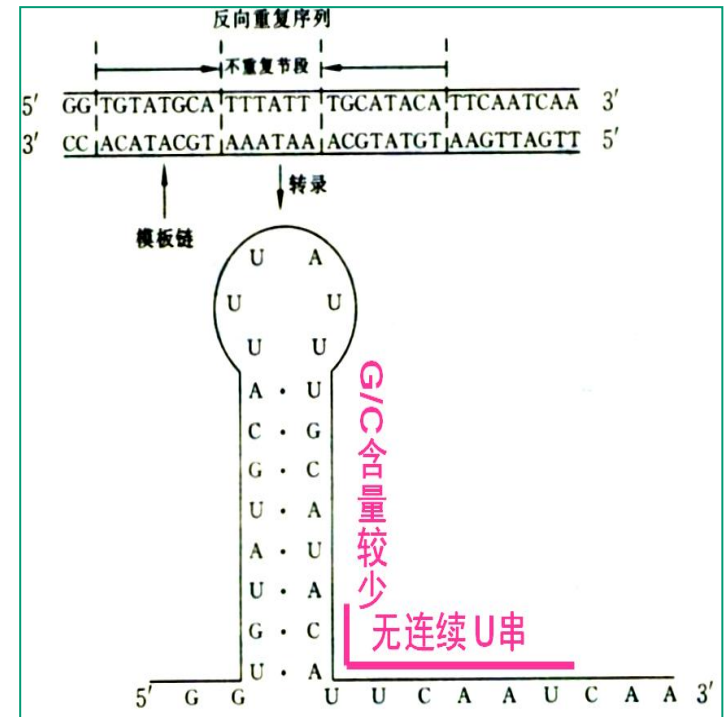
蛋白质辅助因子—— ρ 因子存在时，核心酶终止转录

ρ 因子：在遗传信息转录的终止阶段起作用的蛋白性因子。

依赖 ρ 因子的终止子结构

IR序列中的 G / C 对含量较少

发夹结构末端没有固定特征



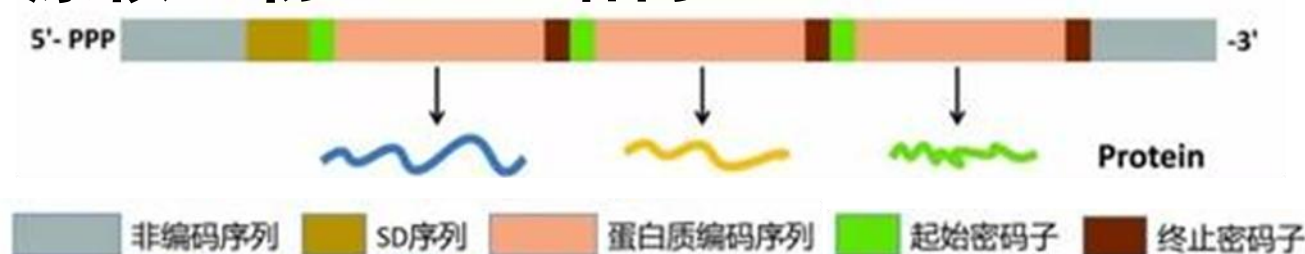
依赖 ρ 因子的终止子为基因表达调控提供了一种方式

5.6 转录后调控

1. mRNA自身结构元件对翻译的调节
2. mRNA稳定性对转录水平的影响
3. 调节蛋白的调控作用
4. 小RNA的调节作用
5. 稀有密码子对翻译的影响
6. 重叠基因对翻译的影响
7. 翻译的阻遏
8. 魔斑核苷酸水平对翻译的影响

1. mRNA自身结构元件对翻译的调节

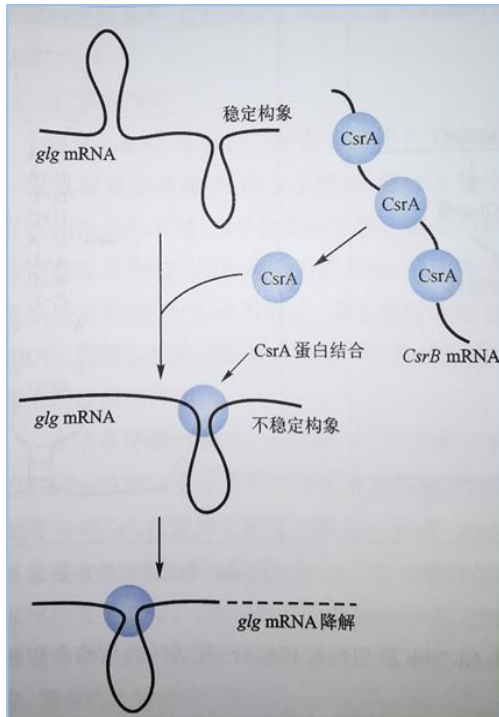
原核生物mRNA结构



- 起始密码子：AUG 效率远高于GUG、UUG
- 5' UTR：RBS位点与SD序列，翻译起始于RBS位点，其结合强度取决于SD序列与AUG的距离（9 bp最佳）
- mRNA二级结构：影响核糖体30S亚基的结合

2. mRNA稳定性对转录水平的影响

- 原核生物中mRNA半衰期较短，一般为2-3分钟

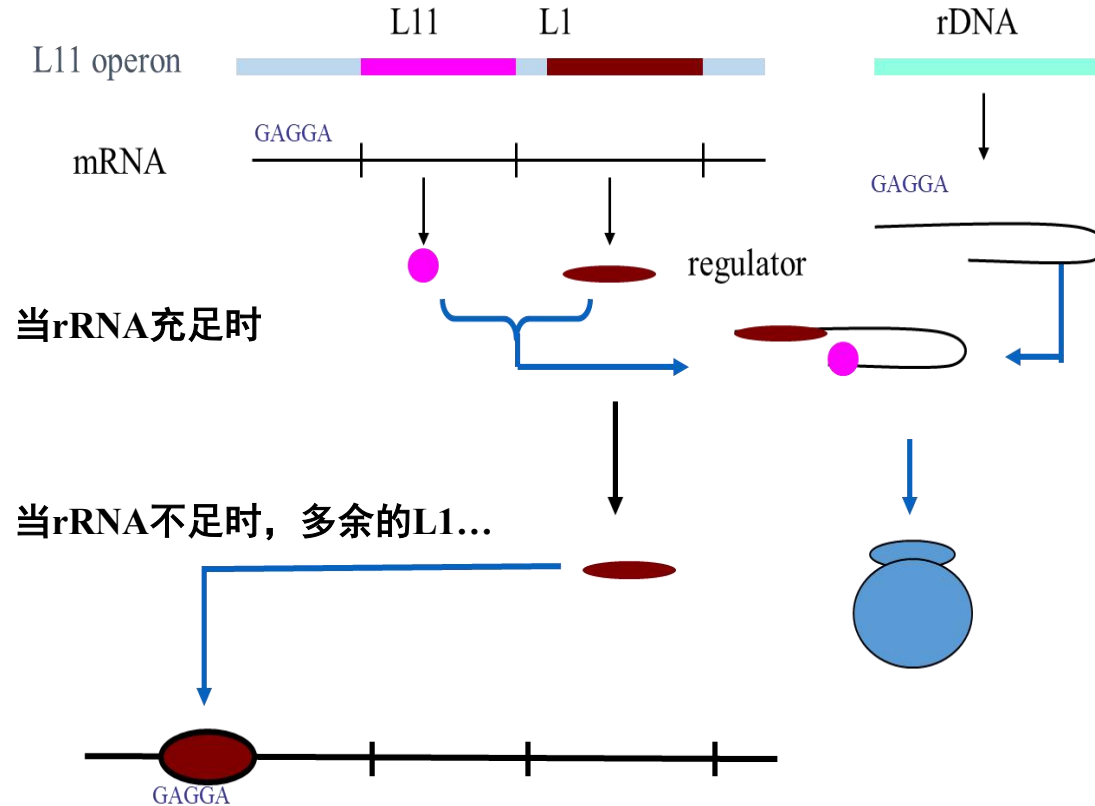


CsrA蛋白调控*glg* mRNA的稳定性

- CsrA为RNA结合蛋白
 - CsrA可结合非编码RNA
- CsrB及受其调控的mRNA
- CsrA功能：激活糖酵解、抑制葡萄糖及糖原合成

3. 调节蛋白的调控作用

E.coli 核糖体蛋白质合成的自体调控



关闭核糖体蛋白合成
(翻译水平上)

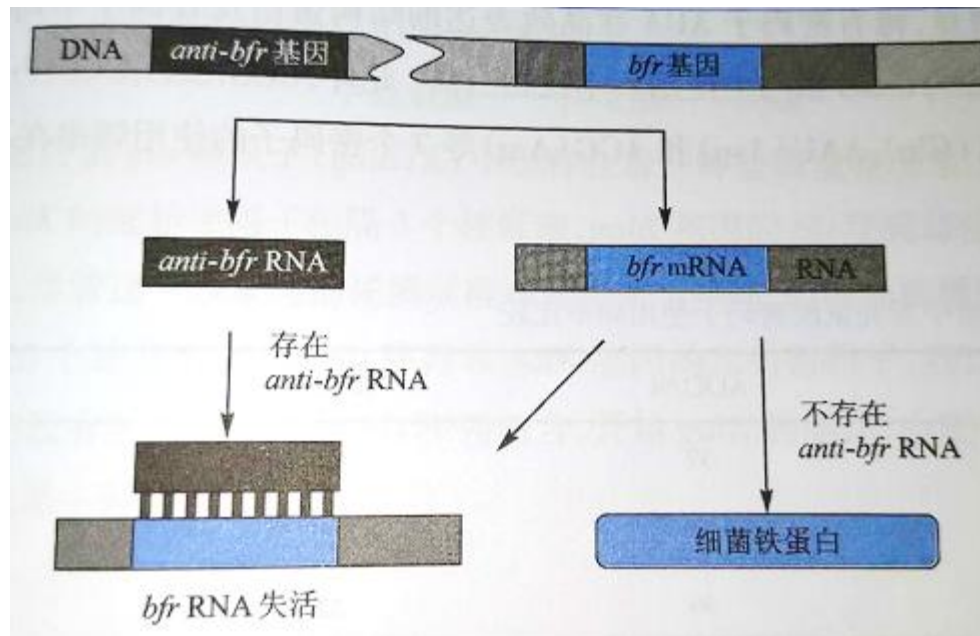
核糖体蛋白的合成与rRNA合成严格协调

4. 小RNA的调节作用

原核生物小RNA(sRNA): 长度为5~500 bp的非编码RNA分子。

- 多为反式编码
- 发挥作用需要RNA分子伴侣Hfq
- 通过不严格的碱基互补配对结合靶向mRNA

举例：细菌铁蛋白基因的翻译



5. 稀有密码子对翻译的影响

- 稀有密码子,或利用率低的密码子(rare or low-usage codons):不被经常利用的密码子。
- 最佳密码子 (optimal codons):被最频繁利用的密码子。
- 基因dnaG、rpoD、rpsU位于同一操纵子
- 上述3个基因编码产物数量大不相同: 每个细胞内仅有50个dnaG, 但rpoD为2800拷贝, rpsU则高达40 000拷贝
- 原因: dnaG序列中含有不少稀有密码子。细胞通过翻译调控, 实现了产物数量的差异化。

几种蛋白质中异亮氨酸密码子使用频率比较

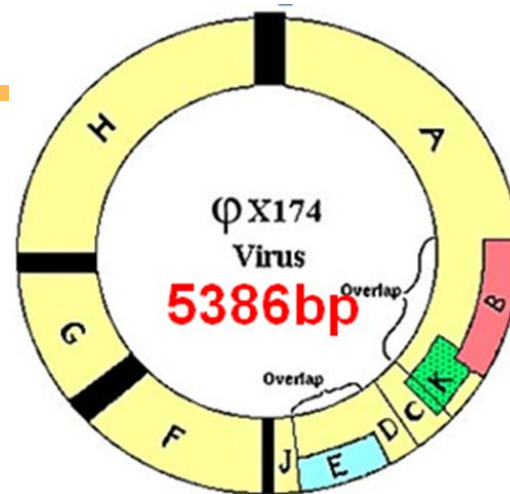
蛋白质	AUU%	AUC%	AUA%
结构蛋白	37	62	1
σ 亚基	26	74	0
dnaG蛋白	36	32	32

6. 重叠基因对翻译的影响

重叠基因： 共有一段DNA序列的两个或两个以上的基因。

翻译耦联： 紧密相邻或是重叠的两个基因产物数量相等的现象。

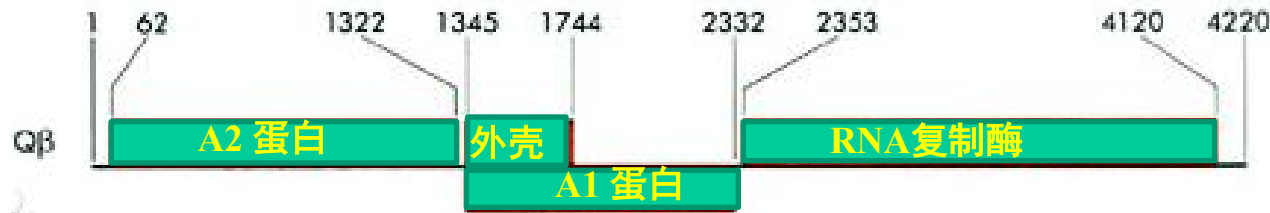
- trp操纵子的trpE和trpD



trpE: ACU—UUC—UGA—uggcu
trpD: AUG—GCU—.....

7. 翻译的阻遏

E.coli Q β 噬菌体



- RNA噬菌体，进入*E.coli*后，立即开始合成复制酶；
- 噬菌体增殖：以（+）链为模板，合成（-）链；
- 复制酶与外壳蛋白翻译起始区结合，抑制核糖体的结合，进而抑制蛋白合成；
- 复制酶与（+）链RNA3'端结合，开始复制。

注意：已经起始的翻译仍将继续进行至翻译完毕，核糖体脱落。

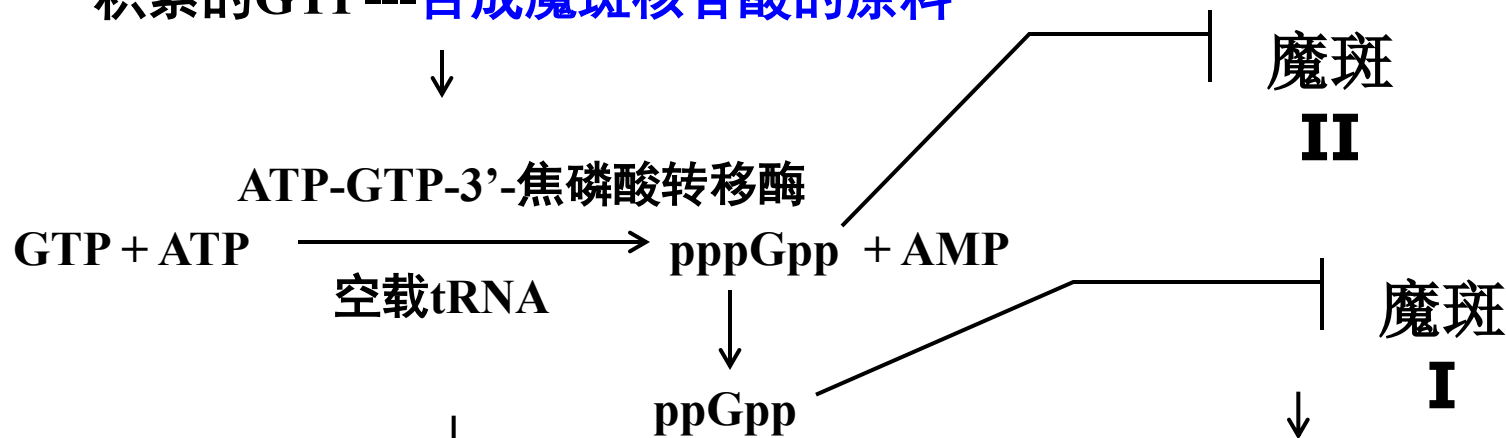
8. 魔斑核苷酸水平对翻译的影响

- 严紧反应 (stringent response) : 培养基中营养缺乏, 蛋白质合成停止后, RNA合成也趋于停止的现象。
- 诱导物: 空载tRNA
- 魔斑: 鸟苷四磷酸 (ppGpp)、鸟苷五磷酸 (pppGpp)

蛋白质合成过程中，结合到核糖体A位上的tRNA是空载的（无氨基酸结合），阻断了肽键的形成，造成GTP的积累。

氨基酸严重缺乏

↓
积累的GTP---合成魔斑核苷酸的原料



魔斑作为阻遏物特异性的阻遏rDNA操纵子，关闭rRNA的转录，阻止tRNA的延伸，抑制蛋白质的合成。

活化某些操纵子（如氨基酸操纵子），合成急需的氨基酸；活化蛋白水解酶，水解蛋白质以提供氨基酸单体。