

мРНК (според покриването от рибозомата на специфичен район в този край) и на транскрипцията на структурните гени в условия на високо и ниско вътреклетъчно ниво на триптофан. Представете своя отговор таблично.

10.2.3. Регулация на генната експресия чрез рибопревключватели (транскрипционно и посттранскрипционно ниво)

Зад. 10.12. Изберете правилните отговори относно функцията на прокариотните рибопревключватели. Те: **а)** са цис-регулаторни последователности за контрол на генната експресия; **б)** са локализирани в 3'-некодиращия район на мРНК; **в)** определят алтернативни вторични структури, от които зависи осъществяването на транскрипцията; **г)** определят рекомбинацията на гените и тяхната експресия; **д)** се свързват с молекула лиганд и контролират започването на трансляцията.

10Б. Регулация на генната експресия при еукариоти

10.3. Основни термини

Дайте кратко обяснение на следните термини: свръхчувствително към ДНaza място, отворена конформация на хроматина, затворена конформация на хроматина, хистонова модификация, ацетилиране на хистон, хистонов код, метилиране на хистон, пре моделиране на хроматина, метилиране на ДНК, АТФ-зависим комплекс, който пре моделира хроматина, CpG остров, епигенетика, епигеном, активатор на транскрипцията, репресор на транскрипцията, енхансер, заглушител, инсулатор, белтъчна изоформа, изоформа на мРНК, алтернативен сплайсинг, алтернативно полиаденилиране, транскрипционно заглушаване, посттранскрипционно заглушаване, геномен импринтинг, импринт, интерференция на РНК, път на интерференция, водеща РНК.

10.4. Задачи за изясняване на следните проблеми

10.4.1. Особенности на генната експресия при еукариоти

Зад. 10.13. Сравнете характера на генната експресия (**А**) и нивата, на които се осъществява нейната регулация (**Б**) при про- и еукариотните организми.

10.4.2. Претранскрипционно ниво на регулация на генната експресия

Хистонови модификации, метилиране на ДНК и пре моделиране на хроматина

Зад. 10.14. Попълнете липсващата информация в следните твърдения: **А)** Генетичният материал в еукариотните хромозоми е представен от компактизиран хроматин, в който плътно разположените блокират генната

експресия; **Б)** Първото условие даден ген да се експресира е да се промени хроматиновата му структура и да премине от в конформация; **В)** Когато гените са транскрипционно активни, заобикалящите ги райони стават силно чувствителни към ензима; **Г)** Промяната в хроматиновата структура се осъществява чрез три главни процеса: на хистоновите белтъци, на ДНК и на хроматина.

Зад. 10.15. Посочете механизмите, чрез които хистоновите модификации, метилирането на ДНК и премоделирането на хроматина променят структурата на хроматина и регулират генната експресия. Представете вашия отговор в таблица.

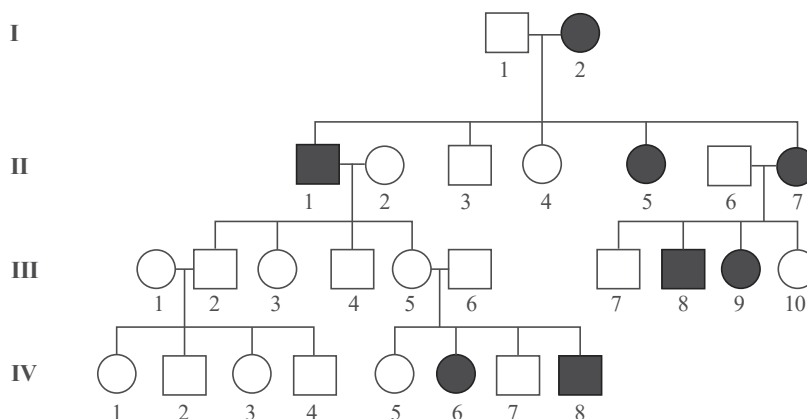
Епигенетичен ефект върху генната експресия. Заглушаване на гените

Зад. 10.16. Изберете верните отговори за всяко от следните твърдения: **А)** Епигенетиката изучава ефектите върху генната експресия на: **1)** промените в нуклеотидната последователност на ДНК; **2)** промените в конформацията на хроматина; **3)** двата вида промени; **Б)** Епигенетичните ефекти върху генната експресия са: **1)** стабилни и наследствени – те се предават в клетъчните поколения; **2)** стабилни, но не се унаследяват в клетъчните поколения; **3)** нестабилни, макар че някои от тях могат да се предават в клетъчните поколения; **В)** Епигенетичните промени са свързани с регулацията на експресията на: **1)** отделни гени; **2)** групи от гени; **3)** цели хромозоми; **4)** всички са верни; **Г)** Съвкупността от всички епигенетични изменения в хроматиновата структура се нарича: **1)** геном; **2)** генотип; **3)** епигеном; **Д)** Компактизирането на хроматина, което блокира достъпа на транскрипционния апарат до промотора, води до: **1)** заглушаване на транскрипцията; **2)** заглушаване на трансляцията; **3)** и двете са верни.

Геномен импринтинг

****Зад. 10.17.** Геномният импринтинг е явление, при което един ген може да бъде различно експресиран – той може да е активен или съответно неактивен (импринтиран), в зависимост от това дали идва от майчиния или от бащиния родител. Геномният импринтинг при човека често е свързан с наследствени заболявания, защото в тези случаи в зиготата може да попадне импринтираният ген в комбинация с копие на същия ген от хомоложната хромозома, в който е възникнала мутация със загуба на функцията или делеция, така че в тъканите да не се синтезира продукт на дадения ген. В едно проучване са изследвани лица от няколко поколения, в които се наблюдава разпространение на дадено наследствено заболяване. Учените подозират, че това заболяване се дължи на наличие на импринтинг в автозомен ген в един от родителите. Родословната схема на това семейство е представена на фигурата по-долу. **А)** Въз основа на резултатите в нея какво бихте предположили за картината на предаване на заболяването в даденото семейство? Можете ли да приемете, че

се касае за унаследяване на импринтиран в мъжкия пол ген (бащин импринт – „отпечатък“) или за унаследяване на импринтиран в женския пол ген (майчин импринт)? **Б)** Можете ли да изключите майчин тип унаследяване? Аргументирайте вашия отговор.



Зад. 10.18. Известен е автозомен ген с майчин импринт (с неактивен алел в женския пол). Активните алели на гена кодират различни по молекулна маса белтъци, експресирани в кръвта. Анализът на семейна двойка показва, че в кръвта на жената (индивид 1) се експресира само белтък с молекулна маса 20 кДа, а в кръвта на мъжа (индивид 2) – само белтък с молекулна маса 35 кДа. От кръвта на техния син (индивид 3) е изолиран белтък 20 кДа, а от тази на неговата сестра (индивид 4) – белтък 35 кДа. **А)** Достатъчни ли са тези данни, за да се определи генотипът на съпрузите (индивиди 1 и 2)? **Б)** Ако знаете, че в кръвта на дъщерята на техния син (индивид 5) се експресира белтък 35 кДа, а в тази на сина му (индивид 6) – белтък 20 кДа, можете ли да определите генотипа на двамата съпрузи (индивиди 1 и 2)?

10.4.2. Транскрипционно ниво на регулация на генната експресия

Регулаторни транскрипционни фактори и елементи. Активатори и репресори в контрола на генната експресия

Зад. 10.19. Посочете правилността на следните твърдения за ролята на регулаторните транскрипционни фактори и елементи в контрола на генната експресия на белтък-кодиращите гени: **А)** Активаторите и репресорите са регулаторни транскрипционни фактори, които контролират генната експресия; **Б)** Контролът се осъществява основно на етап започване на транскрипцията; **В)** Активаторите се свързват с регулаторни последователности – енхансери, и стимулират транскрипцията; **Г)** Репресорите се свързват с енхансери и инхибират транскрипцията; **Д)** Заглушителите са регулаторни последователности,

с които се свързват активаторите; Е) Често енхансерите и заглушителите са разположени далеч от гена, чиято експресия регулират.

Зад. 10.20. Изберете правилните отговори относно молекулните механизми, чрез които активаторите и репресорите контролират започването на транскрипцията: **А)** Активаторите имат ДНК-свързващ домейн и активиращ транскрипцията домейн, чрез които те могат да се свързват: **1)** с енхансери и с основните транскрипционни фактори, като улесняват свързването им с коровия промотор; **2)** директно с РНК полимераза II и да модулират генната експресия; **3)** с ко-активатори или с белтъчен комплекс – медиатор, чрез който контролират РНК полимераза II; **4)** със заглушители и с нуклеотидни последователности на оператора, за да инхибират транскрипцията; **Б)** Репресорите имат ДНК-свързващ домейн и потискащ транскрипцията домейн, чрез които се свързват: **1)** със заглушители и с основни транскрипционни фактори, блокирайки активирането на транскрипцията; **2)** със заглушители и с ко-репресори или медиатор, чрез които препятстват започването на транскрипцията; **3)** с терминиращи последователности на гена и с основни транскрипционни фактори, за да образуват бримка, препятстваща транскрипцията; **4)** с ефекторни молекули, модулиращи тяхната функция.

Зад. 10.21. Посочете поне две основни разлики в действието на про- и еукариотните репресори и изяснете участието на последните в комбинаторния контрол на транскрипцията.

Зад. 10.22. Енхансерите са регулаторни елементи, които могат да осъществяват ефекта си, независимо от своята ориентация. Ако е дадена следната енхансерна последователност в права ориентация:

5'–АГАТ–3'
3'–ТЦТА–5',

коя от дадените по-долу последователности съответства на неговата обратна ориентация:

- А) 5'–ГАТА–3' Б) 5'–ТАГА–3' В) 5'–АТЦТ–3'
3'–ЦТАГ–5'; 3'–АТЦГ–5'; 3'–ТАГА–5'?

Инсулатори

Зад. 10.23. Инсулаторите са участъци от ДНК, блокиращи ефекта на някои енхансери върху експресията на съседни гени, които не трябва да попадат под техния контрол. На схемата по-долу са изобразени три гена – 1, 2 и 3, между които се намират енхансер и инсулатор. Въз основа на положението на тези гени спрямо енхансера и инсулатора определете транскрипцията на кои от тях ще се активира от енхансера. Обосновайте своя отговор.

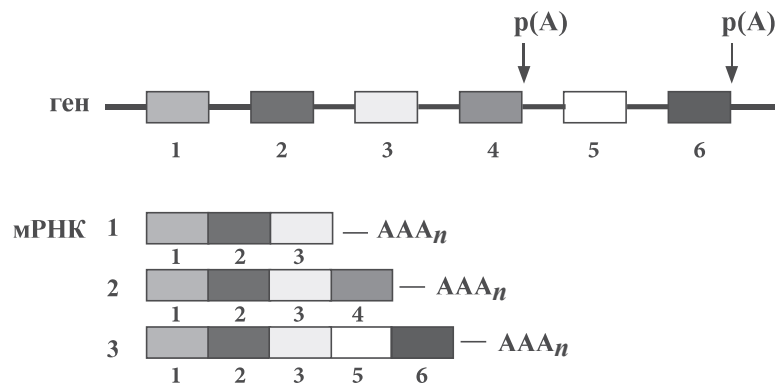


10.4.3. Посттранскрипционно ниво на регулация на генната експресия

Зад. 10.24. Попълнете липсващата информация в следните твърдения: **А)** Посттранскрипционната регулация на генната експресия се осъществява чрез контрол върху и на мРНК; **Б)** Чрез процесите или на пре-мРНК може да се получат няколко зрели мРНК с различни комбинации от екзони, наречени на мРНК; **В)** Те се транслират в полипептиди с различна структура и функция, които се наричат на белтъка; **Г)** Процесът на мРНК променя кодиращата ѝ последователност чрез добавяне, отстраняване или модифициране на нуклеотиди в нея; **Д)** Времето на съществуване на дадена мРНК зависи от нейната, която пък определя количеството на синтезирания белтък; **Е)** на РНК е механизъм за посттранскрипционното заглушаване на гените, докато хетерохроматиновото заглушаване на гените се осъществява на ниво и води до промяна в структурата на

Алтернативно зреене на пре-мРНК и стабилност на зрелия транскрипт

Зад. 10.25. На фигурата е показана последователността от интроните и екзоните на един ген, както и три мРНК-и, получени чрез алтернативно зреене на пре-мРНК на този ген. Екзоните са представени със запълнени правоъгълници, интроните – с тънка линия, а местата за алтернативно полиаденилиране – със стрелки след съответния екзон. Посочете колко белтъчни изоформи кодира този ген и чрез кои механизми на алтернативно зреене те могат да се получат.



* $p(A)$ – място за полиаденилиране

Зад. 10.26. Стабилността на мРНК зависи от дължината на нейната поли(А)-опашка, с която се свързват различни белтъци, както и от специфични елементи в нейния 3'-нетранслируем район. Какъв ще бъде ефектът върху генната експресия при възникване на: **А)** делеция на специфичния, богат на А и У елемент ARE в 3'-нетранслируемия район на мРНК; **Б)** мутация, която нарушава свързването на поли(А)-свързващия белтък (РАВР) с поли(А)-опашката?

Редактиране на пре-мРНК

Зад. 10.27. От различни типове мускулни клетки на вида *X* са изолирани два функционално различни белтъка. Единият от тях е изграден от 68 аминокиселини, а другият – от 134. Експериментално е доказано, че двата белтъка се кодират от един и същ структурен ген. Ако знаете, че разликата между тях се дължи на процеса редактиране на пре-мРНК, обяснете възможния механизъм на тяхното получаване.

Посттранскрипционно заглушаване на гените. Интерференция на РНК

Зад. 10.28. Интерференцията на РНК е механизъм за заглушаване на гените и регулиране на генната експресия на посттранскрипционно ниво чрез участието на специфични некодиращи РНК: микроРНК (miRNA) и малки интерфериращи РНК (siRNA). Сравнете общите характеристики на двата вида интерфериращи РНК: произход, биогенеза, механизъм на генно заглушаване и биологично значение. Представете своя отговор в табличен вид.

10.5. Решения на задачите от раздел 10

Отг. зад. 10.1: А) индукция, репресия, индуцируеми, репресируеми; Б) обратната; В) конситутивни; Г) транскрипционно, посттранскрипционно, трансляция.

Отг. зад. 10.2: а), г) и д).

Отг. зад. 10.3: 1–Б; 2–Д; 3–Е; 4–А; 5–Г; 6–В; 7–Ж.

Отг. зад. 10.4: А) вярно; Б) вярно; В) грешно; Г) вярно; Д) грешно.

Отг. зад. 10.5: а) Ако прокариотният ген е част от индуцируем оперон и е под позитивен контрол, то регулаторният белтък трябва да е активатор (характерен за позитивния контрол на опероните), но в неактивно състояние, а съответната ефекторна молекула, която индуцира транскрипцията на гена, представлява коиндуктор, активиращ неактивния до момента на индукцията активатор; б) Ако прокариотният ген е част от репресируем оперон и е под позитивен контрол, то регулаторният белтък също трябва да е активатор и, за да се репресира оперона и съответния ген от него, ефекторът трябва да инактивира активатора. Такъв ефектор представлява инхибитор на транскрипцията; в) Ако прокариотният ген е част от репресируем оперон и е под негативен контрол, то регулаторният белтък трябва да бъде репресор (характерен за негативния контрол на опероните), но в неактивно състояние – апорепресор, а съответната ефекторна молекула е корепресор, активиращ апорепресора.

Отг. зад. 10.6: А) катаболитен, негативен, негативна; Б) полицистронна, *lacZ*, *lacY*, *lacA*; В) лактоза, *lacI*, *lacO*, *lacP*; Г) позитивен, CAP; Д) глюкоза.

Отг. зад. 10.7:

Генотип	Синтеза на β -галактозидаза (<i>lacZ</i>)		Синтеза на пермеаза (<i>lacY</i>)		Извод
	Индуциран оперон (лак- тоза в средата)	Неиндуциран оперон (без лактоза в средата)	Индуциран оперон (лак- тоза в средата)	Неиндуциран оперон (без лактоза в средата)	
<i>lacI⁺ lacP⁺ lacO⁺</i> <i>lacZ⁺ lacY⁺</i>	+	-	+	-	Двоят тип алели на структурните гени са индуцируеми
<i>lacI⁺ lacP⁻ lacO⁺</i> <i>lacZ⁺ lacY⁻</i>	-	-	-	-	Неактивен оперон – мутацията <i>lacP</i> в промотора препятства транскрипцията
<i>lacI⁺ lacP⁺ lacO⁺</i> <i>lacZ⁻ lacY⁺//F[']</i> <i>lacI⁺ lacP⁺ lacO^c</i> <i>lacZ⁻ lacY⁻</i>	+	-	+	-	<i>lacZ⁻</i> доминира над <i>lacZ⁺</i> ; <i>lacY⁺</i> доминира над <i>lacY⁻</i> ; <i>lacI⁺</i> действа в транс-фаза (от ген в една молекула върху гени от друга) и осигурява индуцируемост на гените <i>lacZ</i> и <i>lacY</i> ; <i>lacO^c</i> действа в цис-фаза (като последователност от една молекула ДНК, действаша върху съседни гени от същата молекула), затова не може да осигури конститутивна експресия на гените <i>lacZ</i> и <i>lacY</i> (от друга молекула)
<i>lacI⁺ lacP⁺ lacO⁺</i> <i>lacZ⁻ lacY⁺//F[']</i> <i>lacI⁺ lacP⁺ lacO^c</i> <i>lacZ⁺ lacY⁻</i>	+	+	+	-	<i>lacO^c</i> осигурява конститутивна експресия само на прилежащия ген от див тип <i>lacZ⁺</i> (<i>lacY⁺</i> е индуцируем)

Отг. зад. 10.8: **А)** За да не може да разгражда лактоза в хранителната среда, хаплоидният щам трябва да има поне един мутантен структурен ген от *lac* оперона: Z^- (*lacZ*⁻) или Y^- (*lacY*⁻). Такъв е щам 1. Сред частично диплоидните щамове също има такива: 3, 4, 6 и 7, които носят мутации в структурните гени на *lac* оперона, но тъй като дивият тип е доминантен, те се компенсират от нормалните алели на гените, разположени в ДНК на половия фактор F[']; **Б)** Конститутивна експресия на *lac* оперона може да се наблюдава, ако има мутация в оператора, която препяства свързването с него на репресорния белтък – конститутивна мутация O^c (*lacO*^c). Тя осигурява постоянна транскрипция на структурните гени от див тип, независимо от наличието на лактоза в околната среда. Друга възможност за конститутивна експресия е наличие, когато генът, кодиращ репресорния белтък, е мутантен: I^- (*lacI*⁻) и не осигурява неговата синтеза. Щамове, чиито генотипове са свързани с конститутивна експресия на лактозния оперон, са 2 и 5; **В)** Щам 7 е частичен диплоид, в който нормалният оператор O^+ (*lacO*⁺) от бактериалната ДНК осигурява експресията на разположения във фаза цис нормален алел на структурния ген Y^+ (*lacY*⁺), но не и на мутантния алел Z^- (*lacZ*⁻), независимо от наличието на конститутивната мутация O^c (*lacO*^c) във фаза транс, разположена в оператора на *lac* оперона от половия фактор F['], с два прилежащи мутантни алела на структурните гени Z^- (*lacZ*⁻) и Y^- (*lacY*⁻). Щам 3 също е частичен диплоид, в който се експресира само прилежащият до оператора структурен ген Y^+ (*lacY*⁺); **Г)** Щамът, който очакваме да показва транс-ефект на репресорния ген, трябва да бъде частично диплоиден, за да може да се наблюдава ефекта на продукта на репресорния ген от една молекула ДНК върху експресията на структурните гени от *lac* оперон, разположен в друга молекула ДНК. Този ефект трябва да осигури нормалната индукция на оперона в присъствие на лактоза. Такъв е щам 6, в който бактериалният ген за репресорен белтък е мутантен – I^- (*lacI*⁻), но компенсиран от нормалния алел I^+ (*lacI*⁺) от половия фактор, а също и щам 4.

Отг. зад. 10.9: **А)** Тъй като нормалните алели на структурните гени *M* и *N* се експресират в среда без наличие на ефектор, но спират да се експресират, ако той присъства, това показва, че оперонът на тези гени трябва да е репресируем. Такива оперони обикновено са свързани с анаболитни процеси, които се осъществяват, когато в средата липсва синтезирания в оперона краен продукт; **Б)** От поведението на мутацията в регулаторния ген *R* се вижда, че ген 1 и 2 не се експресират в немодулирана среда, без ефектор, което означава, че нормалният алел на този ген, който кодира наличие на функционален регулаторен белтък, трябва да оказва положителен контрол върху генната експресия, да включва експресията на структурните гени *M* и *N* на оперона *mig* и да представлява активатор на тяхната транскрипция. Когато генът *R* е мутантен, не се синтезира активатор, така че структурните гени не могат да се експресират и в среда с наличие на молекула ефектор в средата; **В)** Тъй като структурните гени на оперона *mig*, които нормално са експресирани, се изключват в среда с ефектор, това означава, че транскрипцията на структурните гени се потиска от ефектора, който в такъв случай трябва да се явява инхибитор на активатора; **Г)** При мутация в гена *M*, за разлика от дивия тип алел, не се синтезира ензим 2, независимо, че в средата липсва ефекторът. Това означава, че именно този ген кодира ензим 2. По същата логика определяме, че ген *N* кодира ензим 1.

Отг. зад. 10.10: А) анаболитен; Б) репресор, структурните, негативна; В) експресират, биосинтезата; Г) корепресор, апорепресор, оператора; Д) негативна, репресируем; Е) започване, атенюация, транскрипцията.

Отг. зад. 10.11: Съставяме следната таблица:

Последователност в 5'-края на транскрипта	Ниво на триптофан в клетката	Покрит от рибозомата район в 5'-края на транскрипта	Райони от 5'-края на транскрипта с вторична структура (бримка)	Атенюация и експресия на оперона	
Див тип	<i>високо</i>	2 Рибозомата не засяда в триптофановите кодони в район 1 и продължава до район 2	3+4	Да, няма експресия	
	<i>ниско</i>	1 Рибозомата засяда в триптофановите кодони в район 1	2+3 Образува се бримка анти-терминатор	Не, оперонът се експресира	
Мутация	<i>високо</i>	мутация с промяна на смисъла в последователността на Шайн-Далгарно	3+4 (и 1+2)	Да, няма експресия дори при ниско ниво на триптофан	
		<i>ниско</i>	Рибозомата не може да започне трансляция	3+4 (и 1+2)	Да, няма експресия дори при ниско ниво на триптофан
	<i>високо</i>	делеция в район 2	1	3+4	Да, няма експресия, дори при ниско ниво на триптофан
		<i>ниско</i>	1	3+4	Да, няма експресия, дори при ниско ниво на триптофан
	<i>високо</i>	делеция в район 3	2	Няма бримка	Не, конститутивна експресия на оперона
			1	Няма бримка	Не, конститутивна експресия на оперона
	<i>високо</i>	делеция в район 4	2	Няма бримка	Не, конститутивна експресия на оперона
			1	2+3	Не, конститутивна експресия на оперона