

# 基因表达调控

## Regulation of Gene Expression

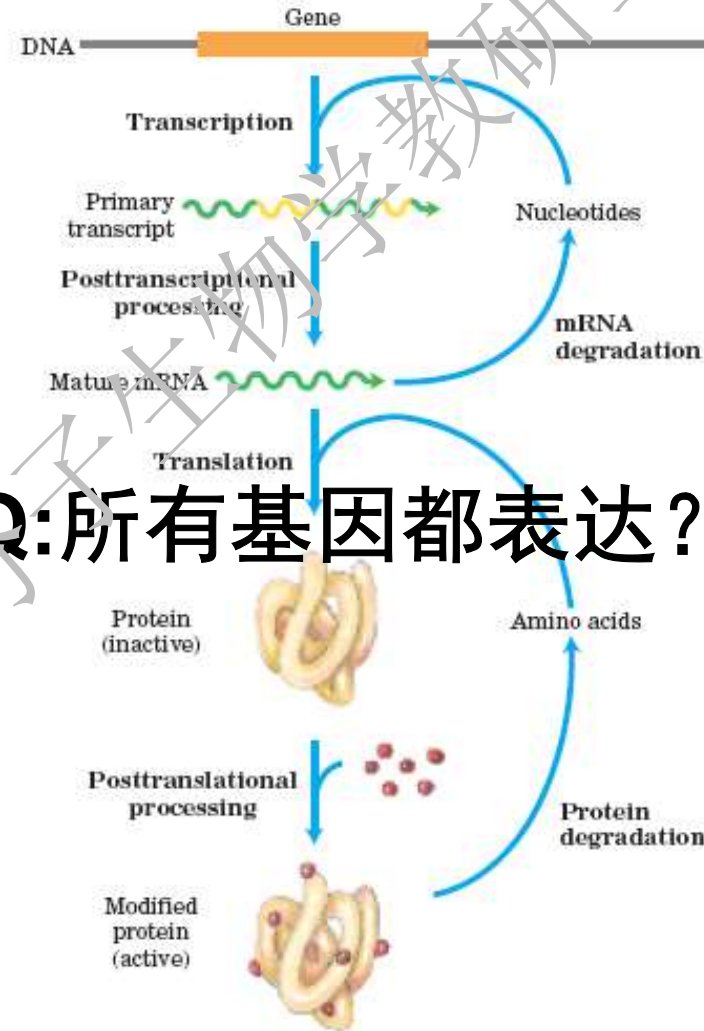
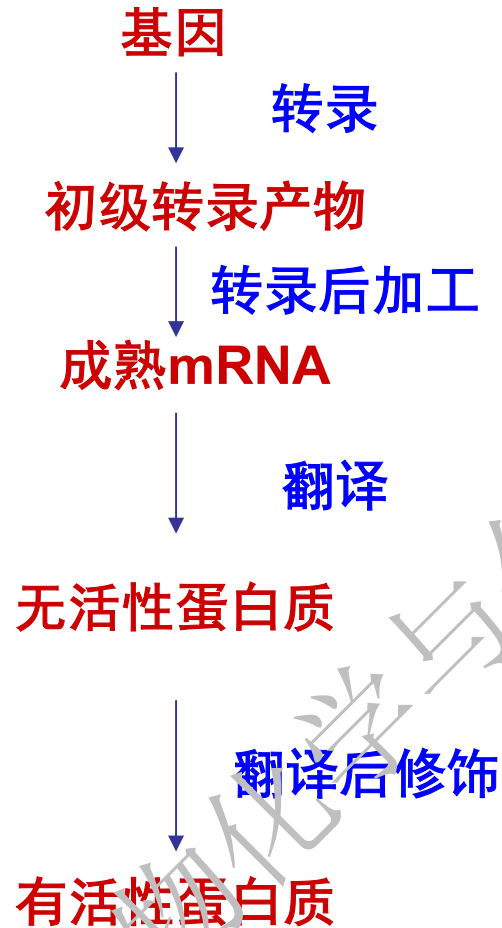
南方医科大学基础医学院  
生物化学与分子生物学教研室



Southern Medical University

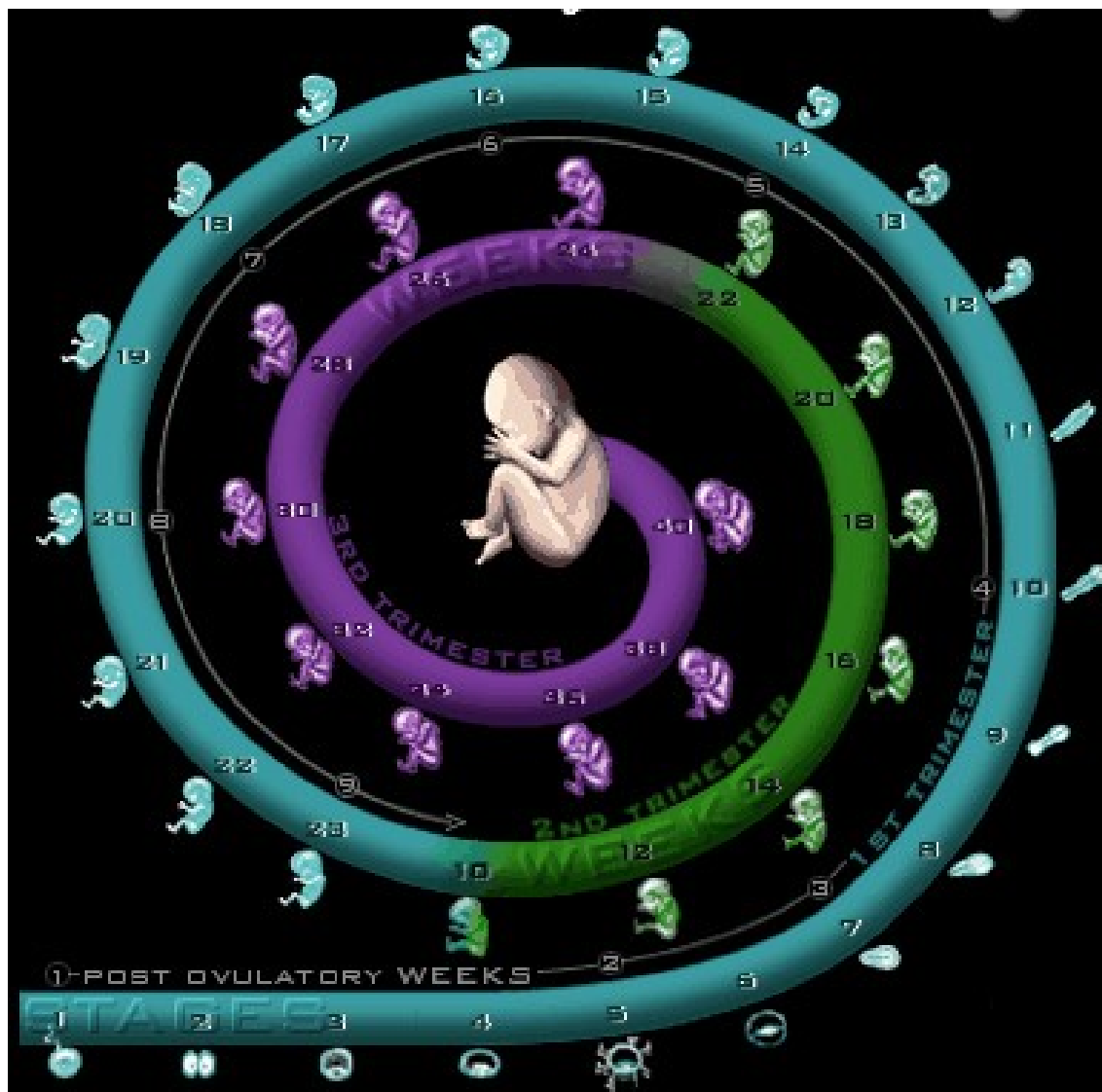
Email: [zhoujueyu@126.com](mailto:zhoujueyu@126.com) Tel: 61648209

# 基因表达



Q: 所有基因都表达?

# 胚胎发育过程



The **fundamental** problem of chemical physiology and of embryology is to understand **why tissue cells do not all express, all the time, all the potentialities** inherent in their genome.

—*François Jacob and Jacques Monod*

Journal of Molecular Biology, 1961



François Jacob



Jacques Monod, 1910–1976

# 主要内容

1

基因表达调控概论

2

基因表达调控的规律

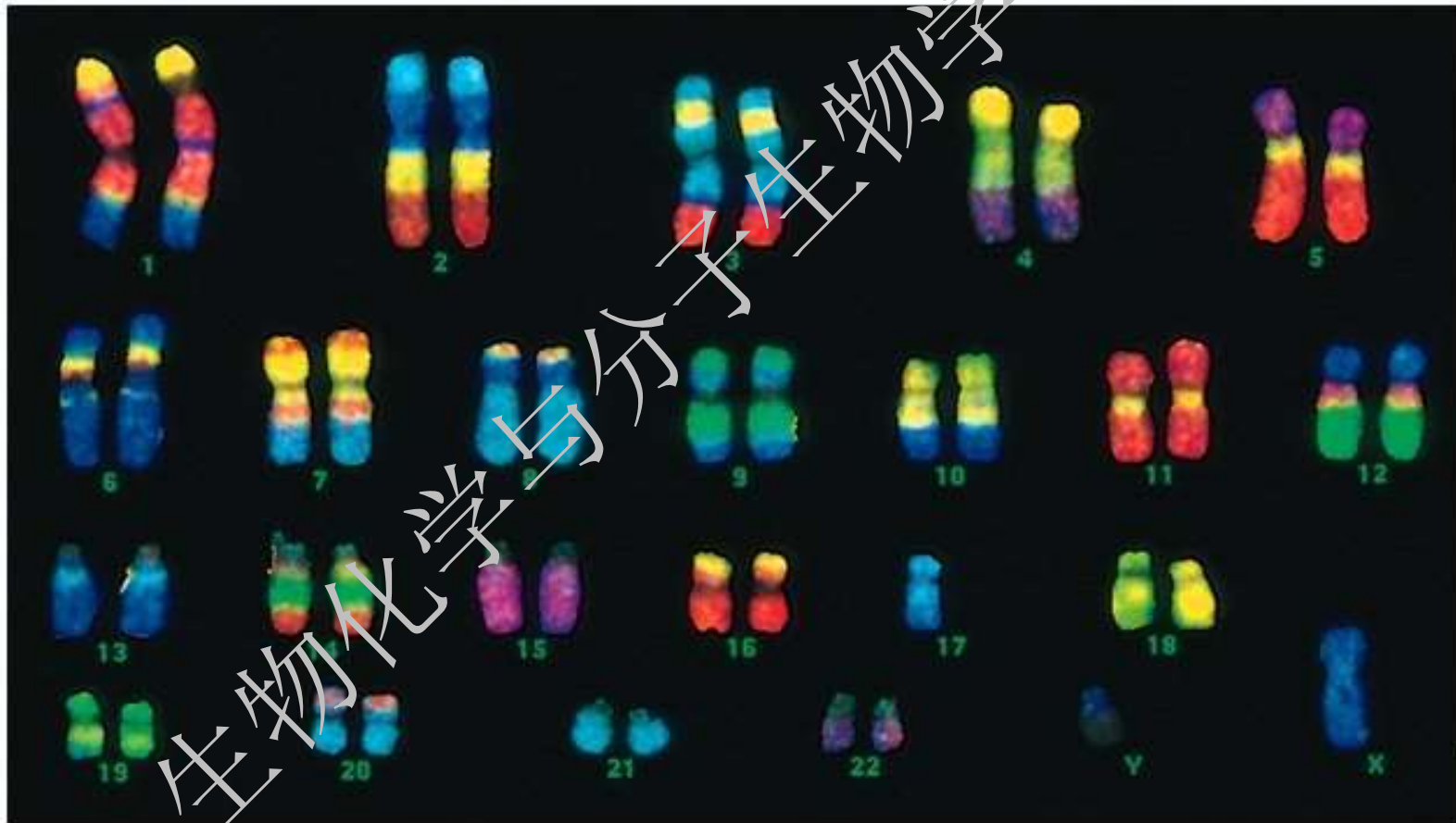
3

原核生物的基因表达调控

4

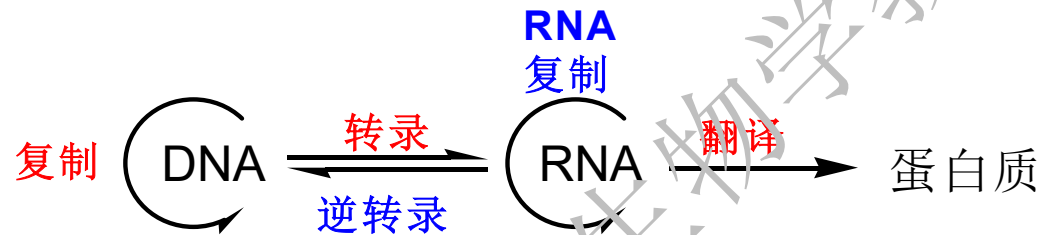
真核生物的基因表达调控

**基因组 (genome)** 是指来自一个生物体的一整套遗传物质。



# 基因表达 gene expression

-- A process of gene transcription and translation



**基因表达**是指基因经过**转录和翻译**等一系列复杂过程，指导合成具有特定生理功能的产物。

rRNA、tRNA编码基因转录合成RNA也属于基因表达

# Human

大约2.5万个基因

20%编码蛋白质

80%编码RNA

终产物是蛋白质

终产物是RNA

rRNA

tRNA

miRNA

lncRNA

circRNA



# 基因表达特征

---

- 阶段特异性

## temporal specificity or stage specificity

按功能需要，某一特定基因的表达严格按特定的时间顺序发生，称之为基因表达的**时间特异性(temporal specificity)**

多细胞生物基因表达的时间特异性又称**阶段特异性(stage specificity)**

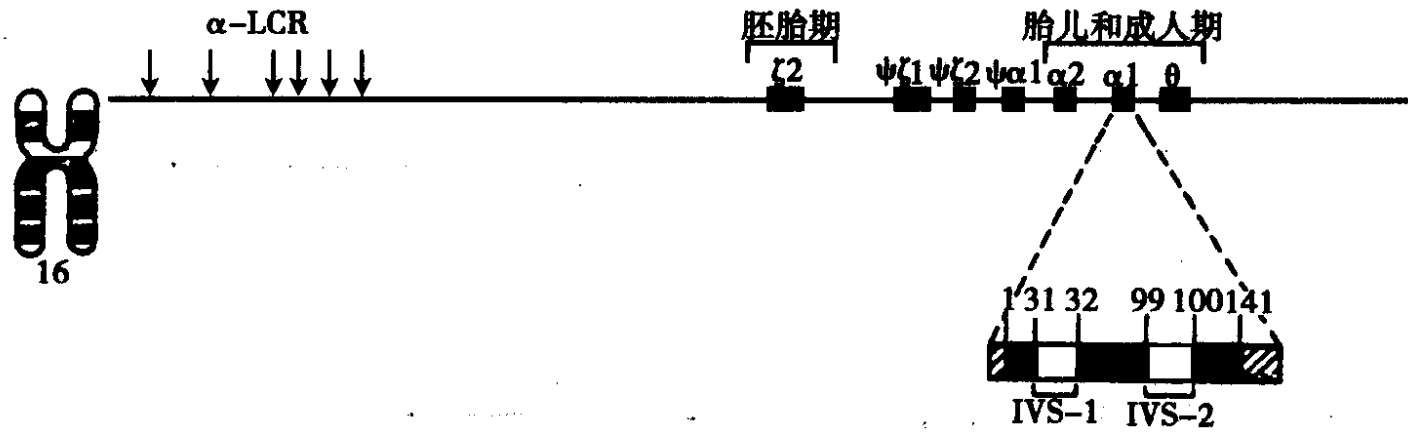


图 7-1  $\alpha$ -珠蛋白基因簇和  $\alpha$ -珠蛋白基因的结构  
 $\psi \zeta 1$ 、 $\psi \alpha 2$ 、 $\psi \alpha 1$ 、 $\theta$ : 假基因  $\alpha$ -LCR:  $\alpha$  位点控制区

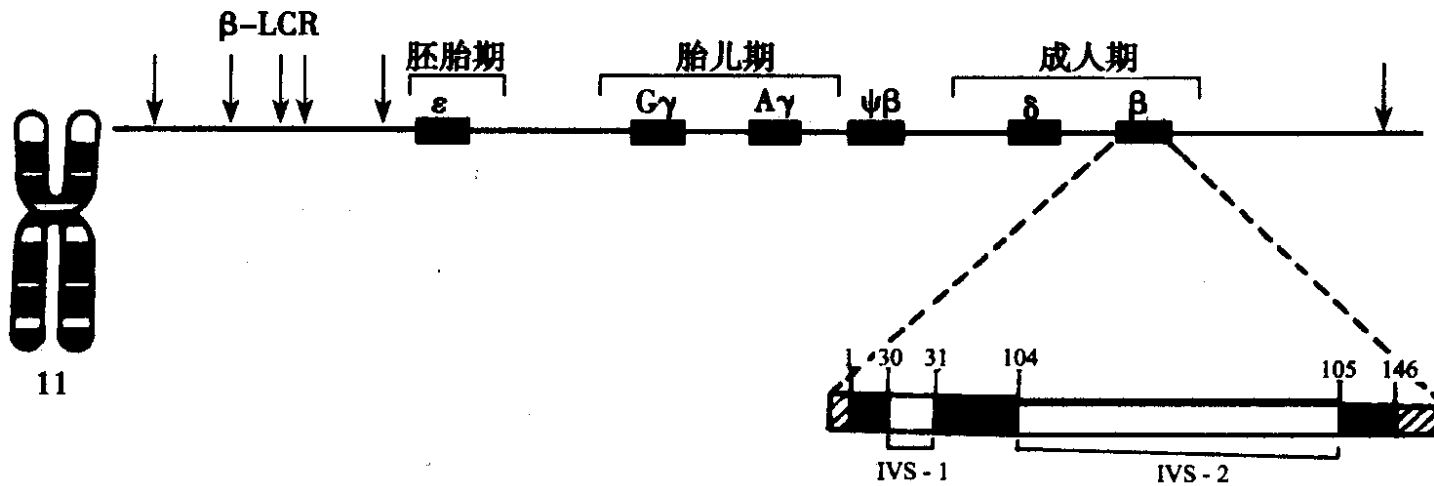
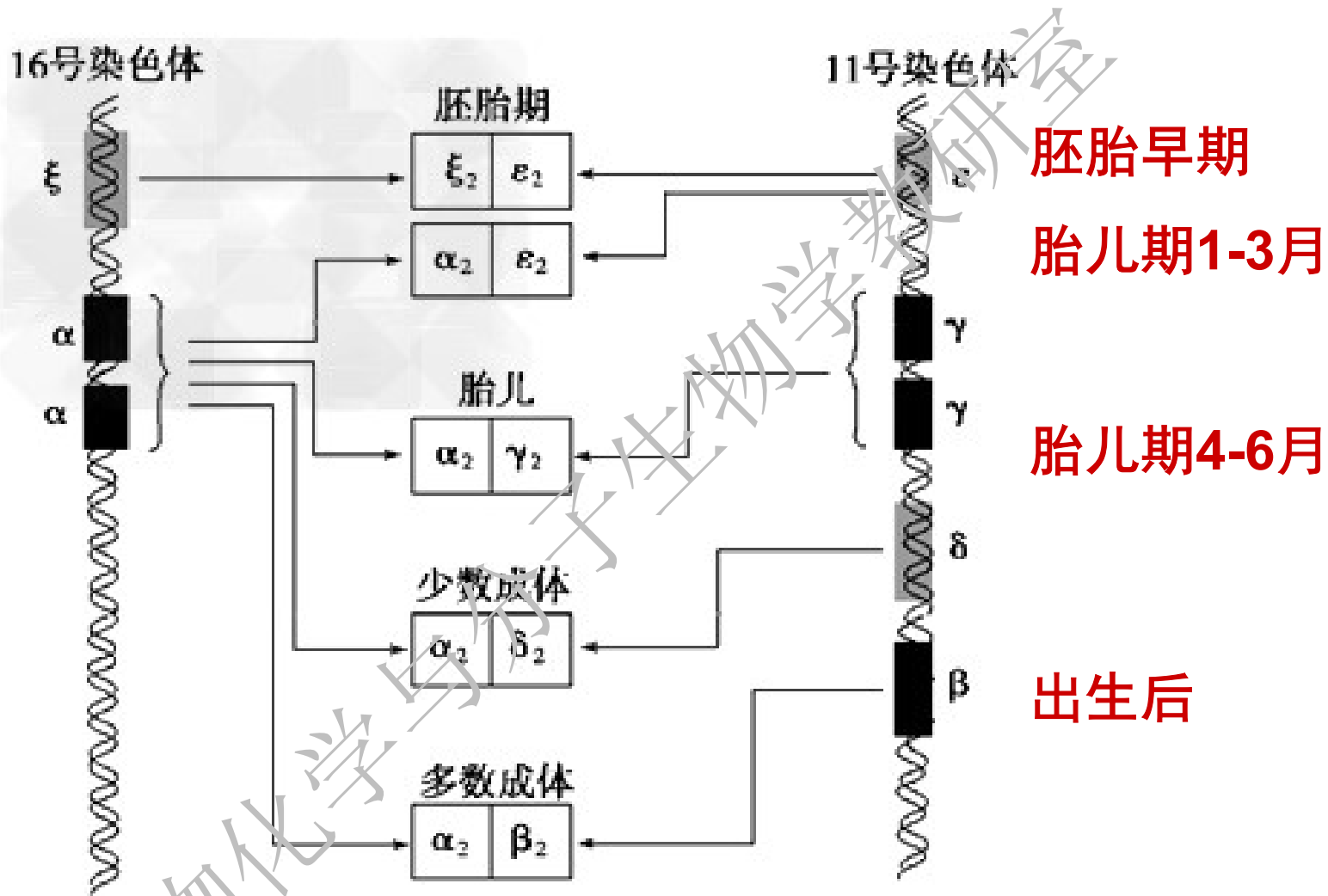


图 7-2  $\beta$ -珠蛋白基因簇和  $\beta$ -珠蛋白基因的结构  
 $\psi \beta$ : 假基因  $\beta$ -LCR:  $\beta$  位点控制区



## 基因控制血红蛋白合成的过程

# 基因表达特征-时空特异性

---

- 阶段特异性

**temporal specificity or stage specificity**

why in the infant not in the aged ones?

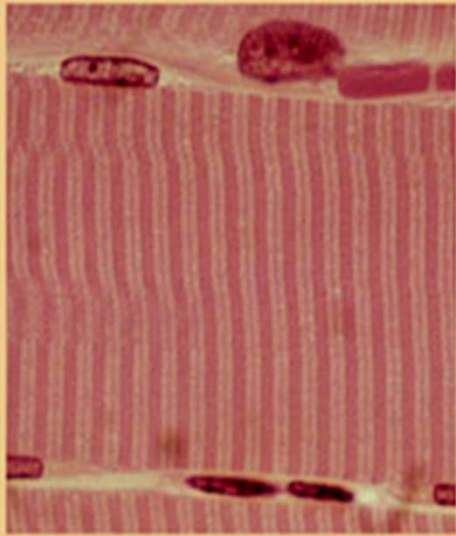
- 组织特异性

**tissue specificity or spatial specificity**

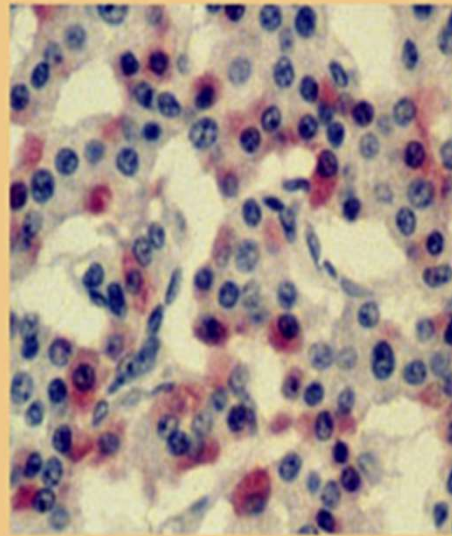
why in liver not in brain?

指在个体生长全过程，某种基因产物在个体不同组织器官表达存在差异。又称**细胞或组织特异性**

## PATTERNS OF GENE EXPRESSION IN FIVE TYPES OF CELLS

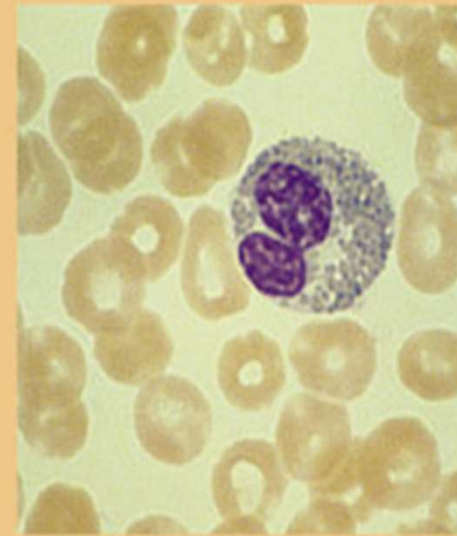


**Muscle Cell**



**Pancreas Cells**

Alpha Cells      Beta Cells



**Blood Cells**

White Cells      Red Cells  
(Immature)

### Genes for...

Glycolysis enzymes	On	On	On	On	On
Muscle contraction proteins	On	Off	Off	Off	Off
Glucagon	Off	On	Off	Off	Off
Insulin	Off	Off	On	Off	Off
Hemoglobin	Off	Off	Off	Off	On

# 基因表达谱 (gene expression profile)

特定组织细胞中基因表达的种类和丰度

细胞在特定条件下（不同分化阶段，疾病、应激等）  
所表达的基因种类和数量的特定模式

在个体内决定细胞类型的不是基因本身，而是基因表达模式（gene expression pattern）

## 蛋白质组 ( proteome )

指一个细胞或一个组织的基因组所表达的全部蛋白质

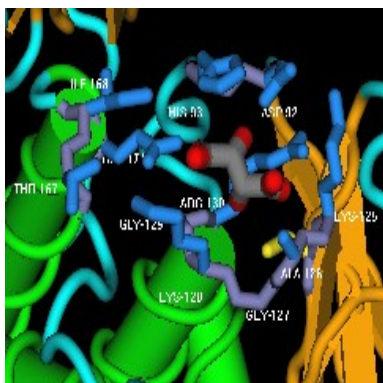


Different proteome

Same genome



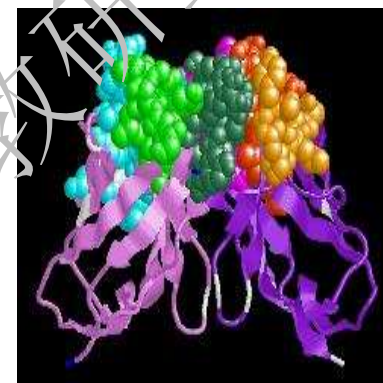
## 基因的功能



## 基因的调控机制

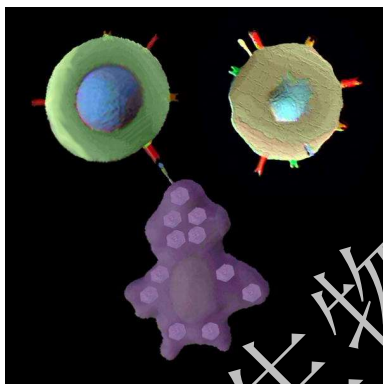


## 分子相互作用

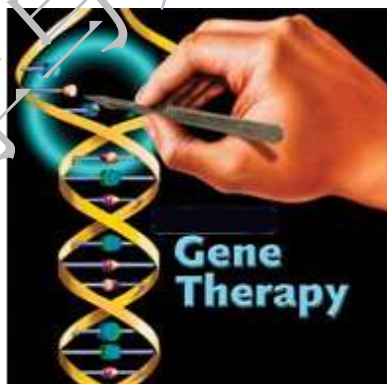


# 研究基因表达谱的意义

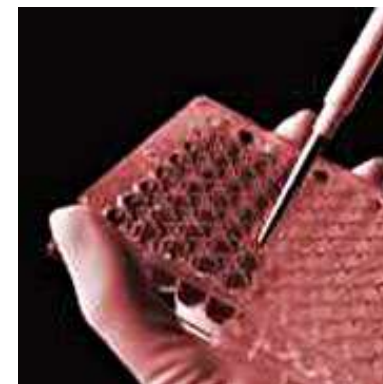
## 细胞分化、发育



## 疾病治疗



## 筛选药物





# 基因表达的普遍方式

---

---

- **组成性表达 constitutive expression**

基因较少受环境因素影响，而是在个体各个生长阶段的大多数或几乎全部组织中持续表达，或变化很小。

**管家基因 house keeping gene**

# 常用的管家基因

中文名称

英文缩写

Beta-肌动蛋白

$\beta$ -actin

甘油醛3-磷酸脱氢酶

GAPDH

TATA Box结合蛋白

TBP

18S 核糖体核糖核酸

18S rRNA

微管蛋白 $\alpha$

$\alpha$ -Tubulin

# 基因表达的普遍方式

---

- 组成性表达 **constitutive expression**
- 可调控表达 **regulated expression**
  - 诱导和阻遏 induction and repression**

在特定环境信号刺激下，有些基因的表达表现为开放/增强或关闭/下降

# 基因表达的普遍方式

---

- 组成性表达 **constitutive expression**
- 可调控表达 **regulated expression**
- **协调表达 coordinance expression**

在一定机制控制下，功能上相关的一组基因，无论其为何种表达方式，均需协调一致、共同表达。这种调节称为**协调调节(coordinance regulation)**

# 基因表达调控

---

---

- 人类基因组DNA中约含**2.5万个**基因；
- 在某一特定时期，只有少数的基因处于转录激活状态，其余大多数基因则处于**静息状态**。
- 一般来说，处于转录激活的基因**仅占5%**。

# 基因表达调控

---

---

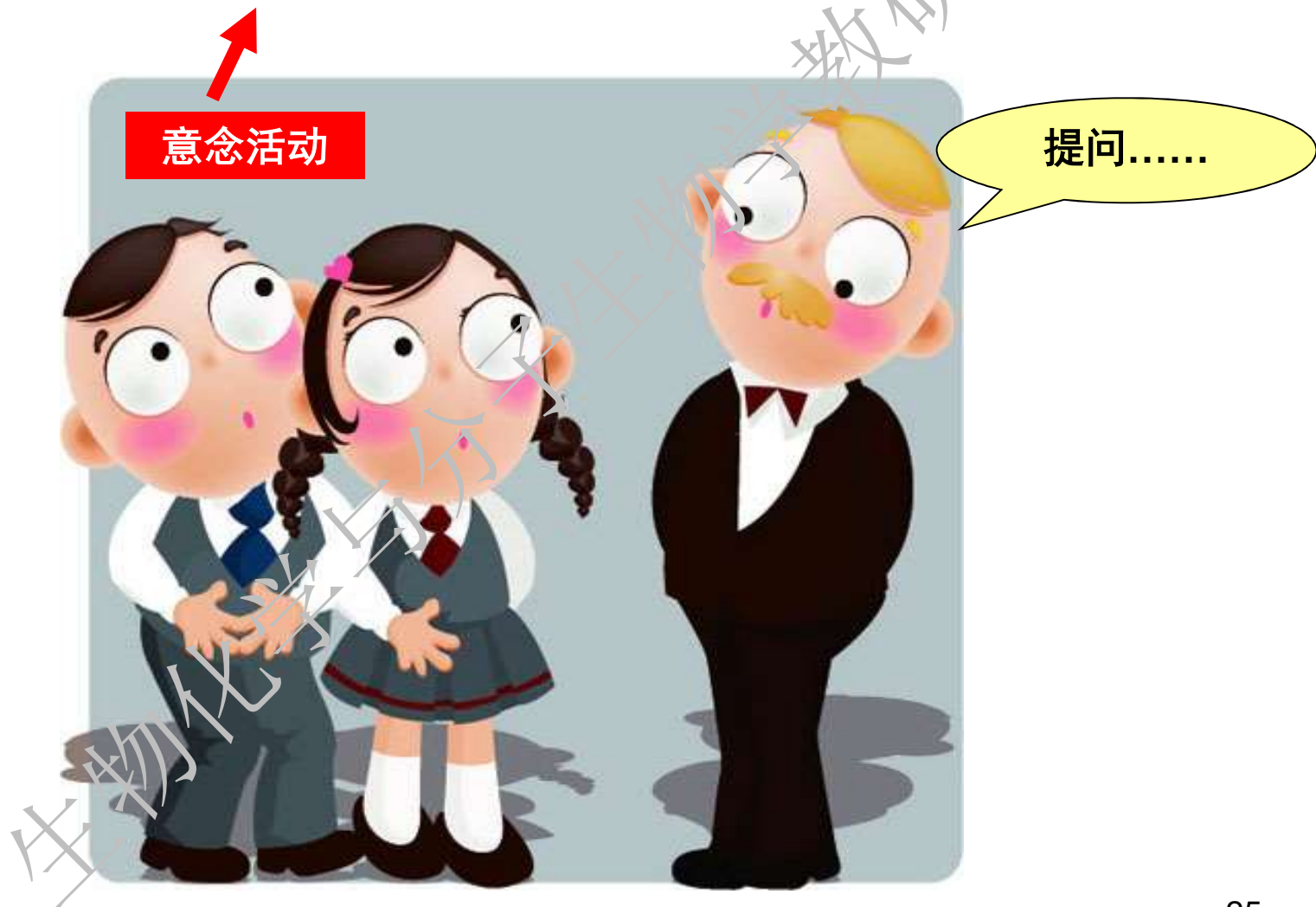
**概念：**控制某一基因在特定的时间、特定的组织细胞产生多少表达产物的机制

**调控对象：**

可调节基因（**regulated gene**）

特定时空条件下特异性表达的基因

# 心身干预（冥想、瑜伽、太极和气功等）影响基因表达？



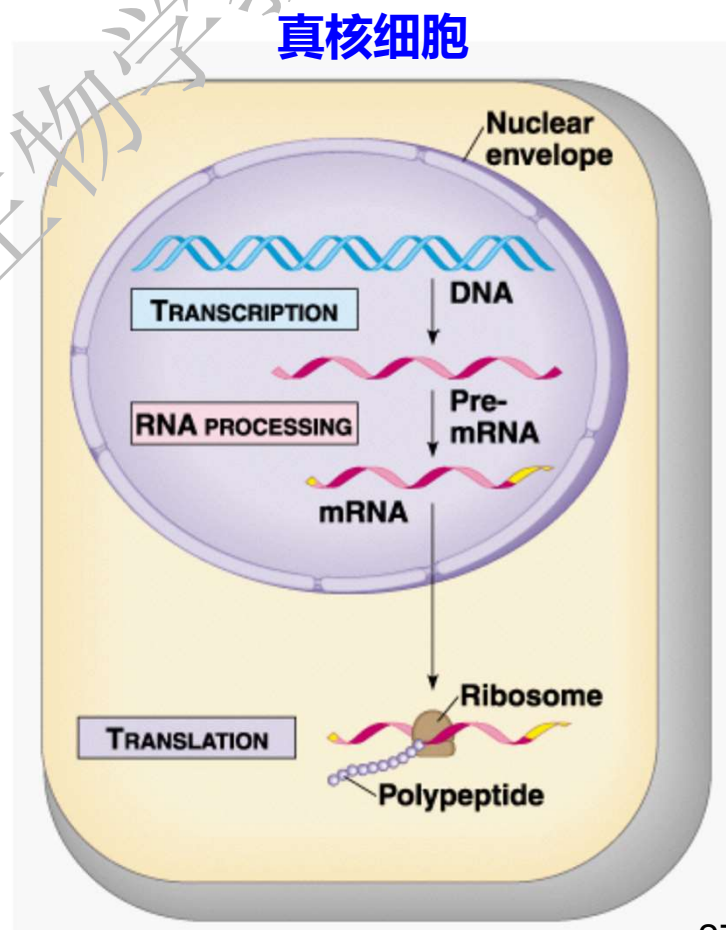
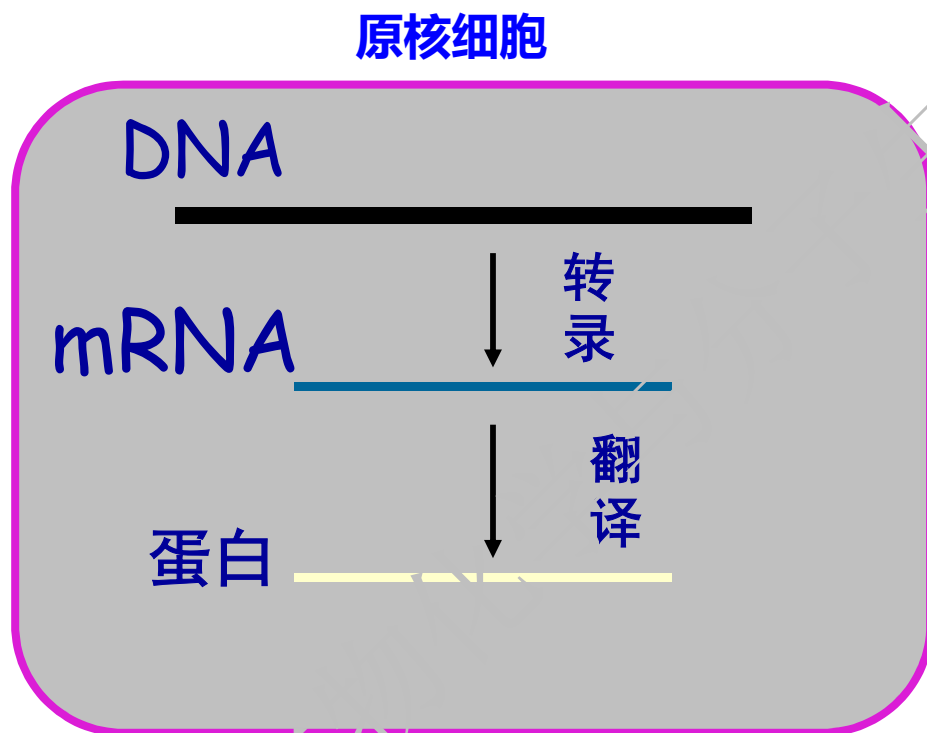
# 主要内容

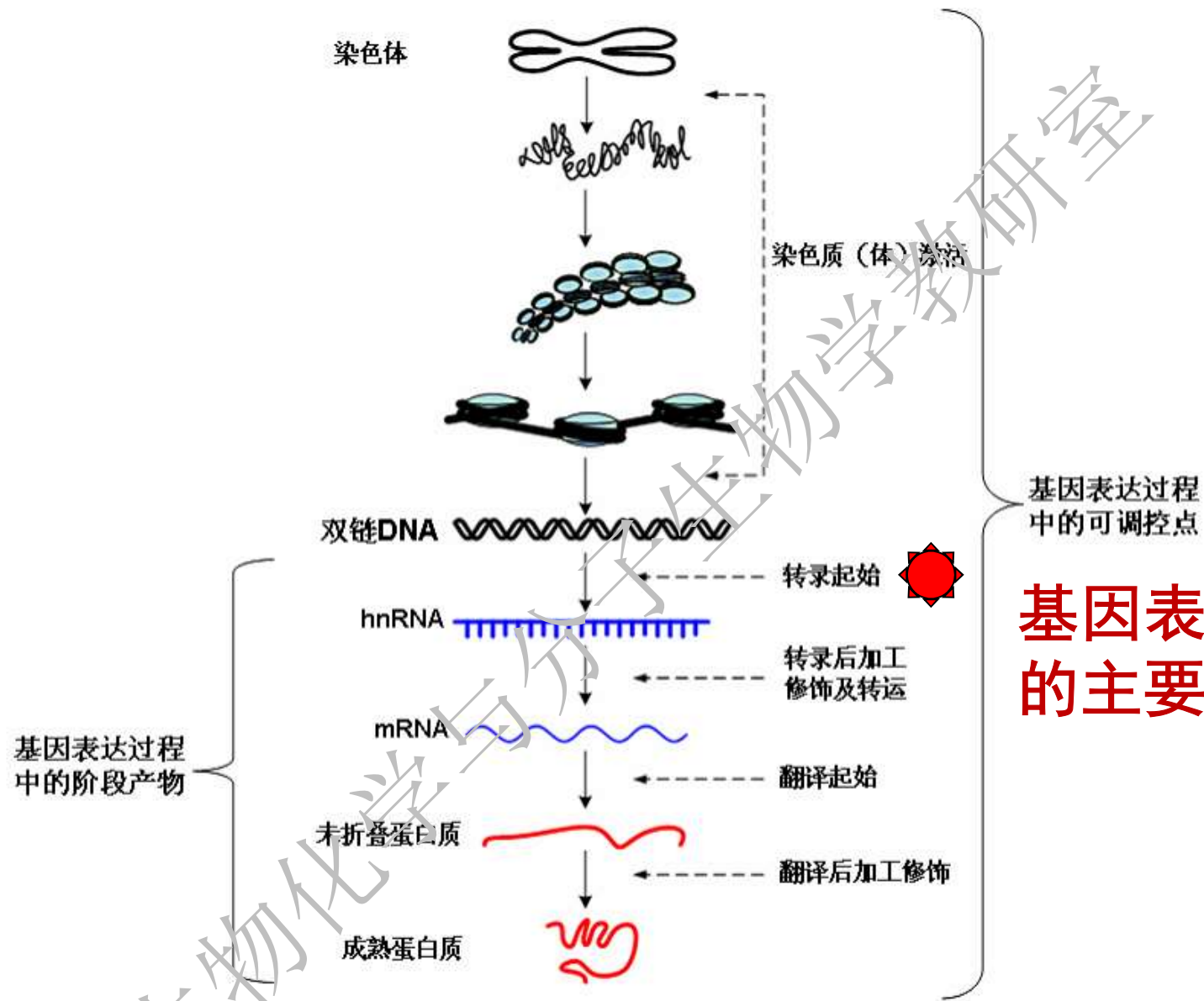
- 1 基因表达调控概论
- 2 基因表达调控的规律
- 3 原核生物的基因表达调控
- 4 真核生物的基因表达调控



# 基因表达调控基本规律

- 呈现多层次和复杂性



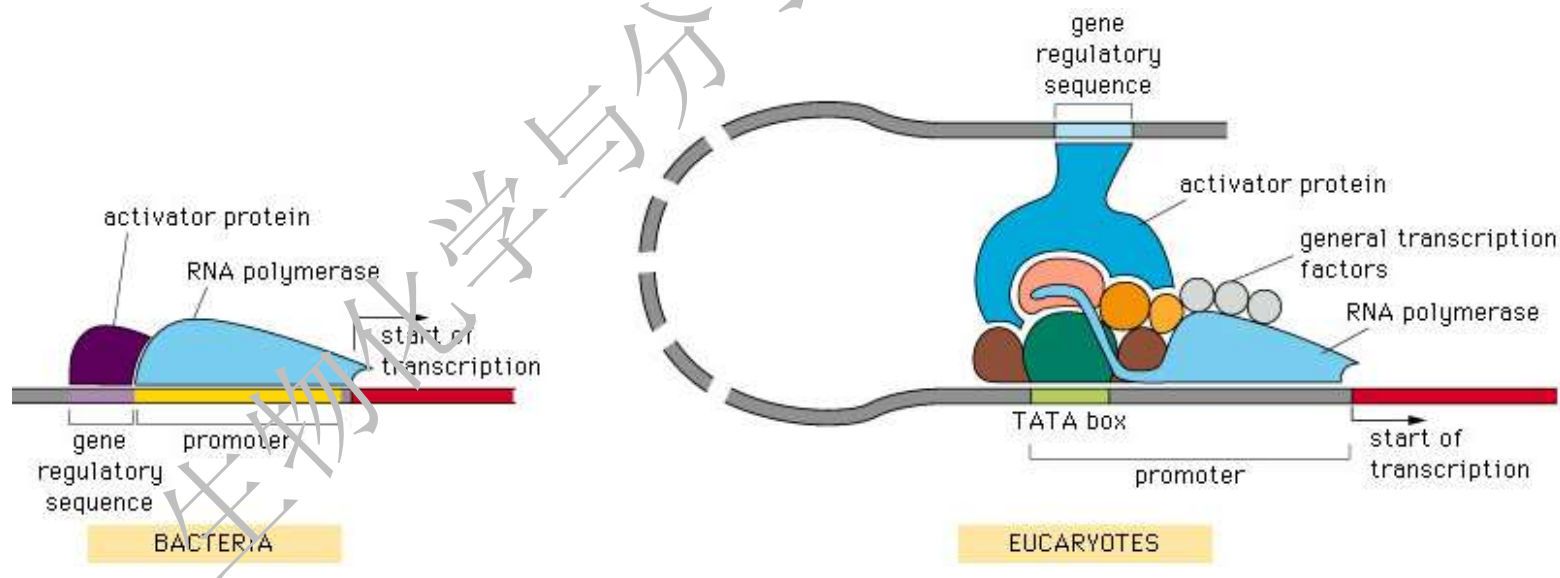


## 基因表达调控的主要环节

### 基因表达的多层次复杂调控

# 转录起始的基本要素

- RNA聚合酶
- 特异DNA序列 — 顺式作用元件
- 其他调节蛋白 — 反式作用因子



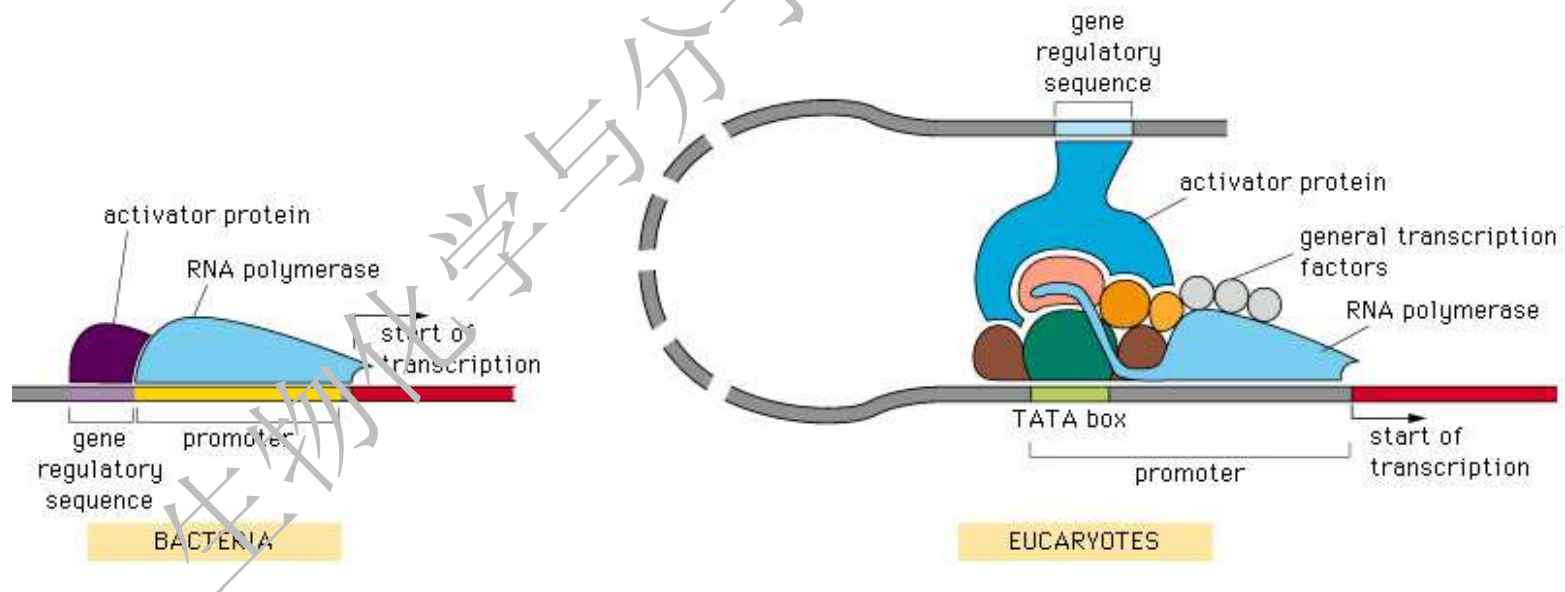
# 顺式作用元件 cis-acting element

## DNA结构中蕴藏着调控序列

可影响自身基因表达活性的特定的DNA序列

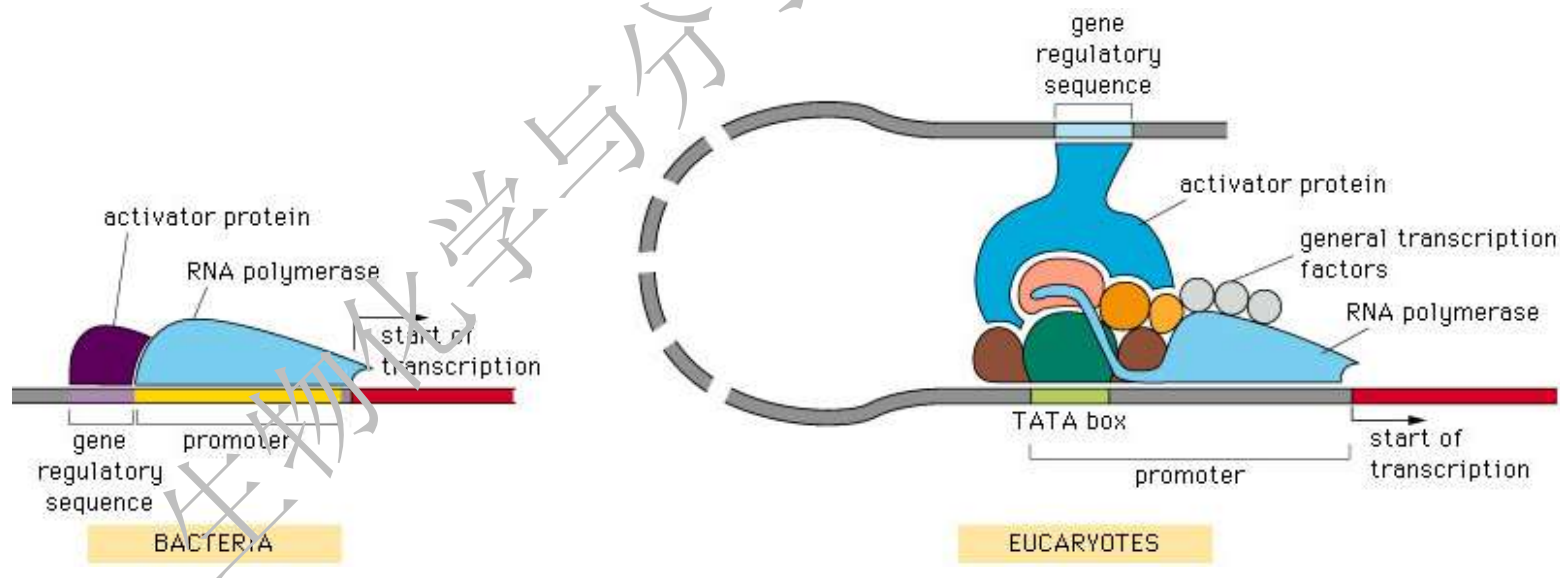
原核生物：启动子、操纵序列、其他调节序列

真核生物：启动子、增强子、沉默子等



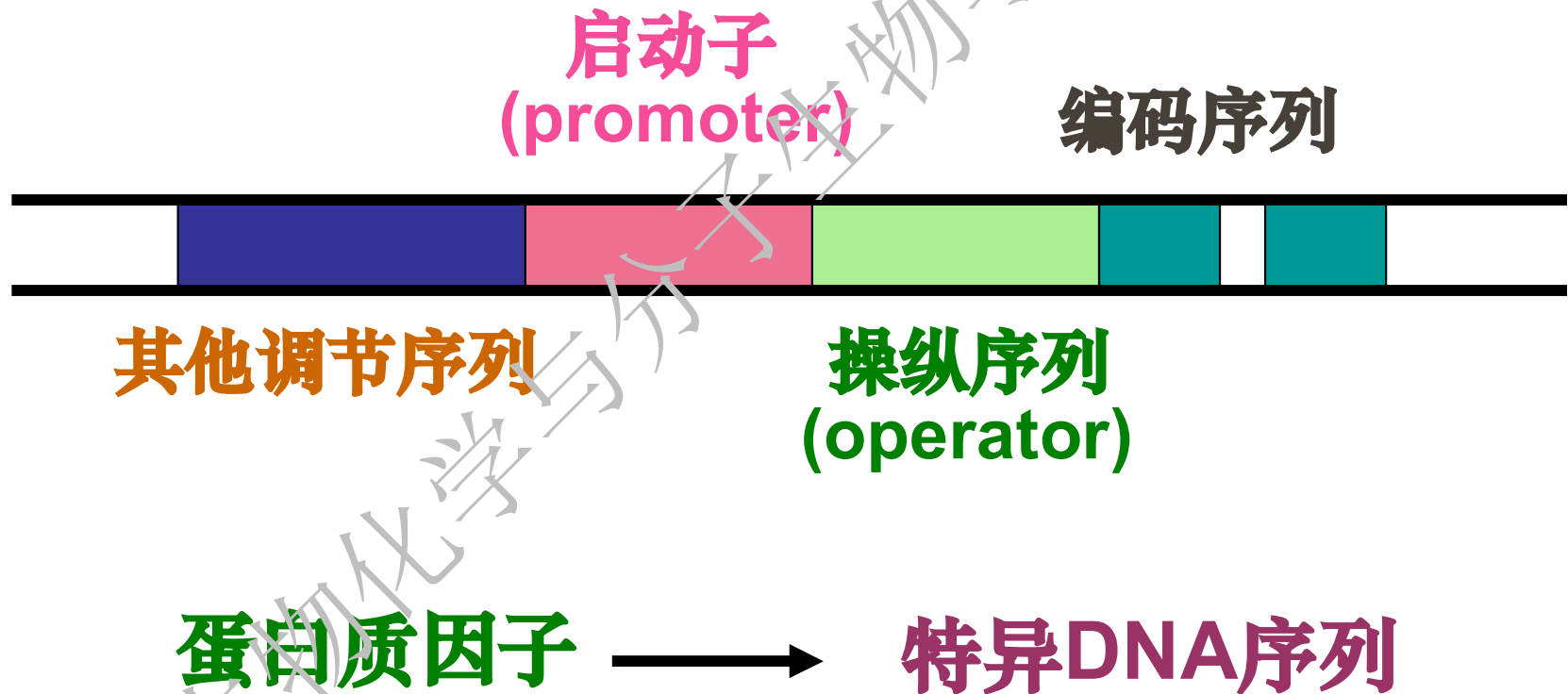
# 反式作用因子 trans-acting factor

原核生物用影响转录的蛋白质总称调节蛋白，主要有阻遏蛋白 (repressor) 和激活蛋白 (activator) 等



# 原核生物

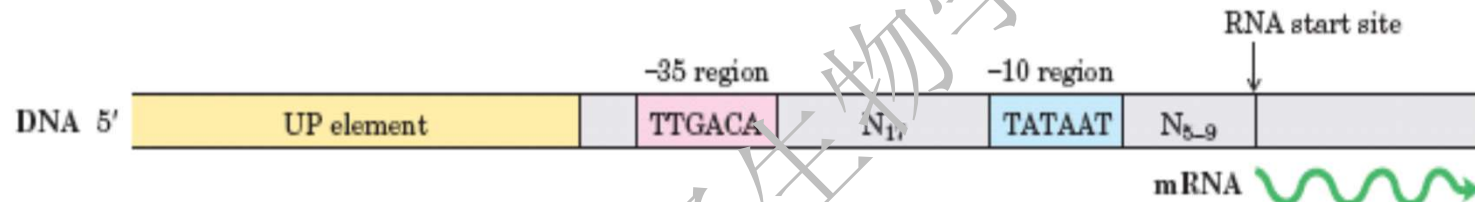
## —— 操纵子(operon) 机制



# 原核生物

## 1) 启动子 (promoter)

**RNA聚合酶**结合并启动转录的**特异DNA序列**



➤ **共有序列(consensus sequence)** 决定启动序列的转录活性大小

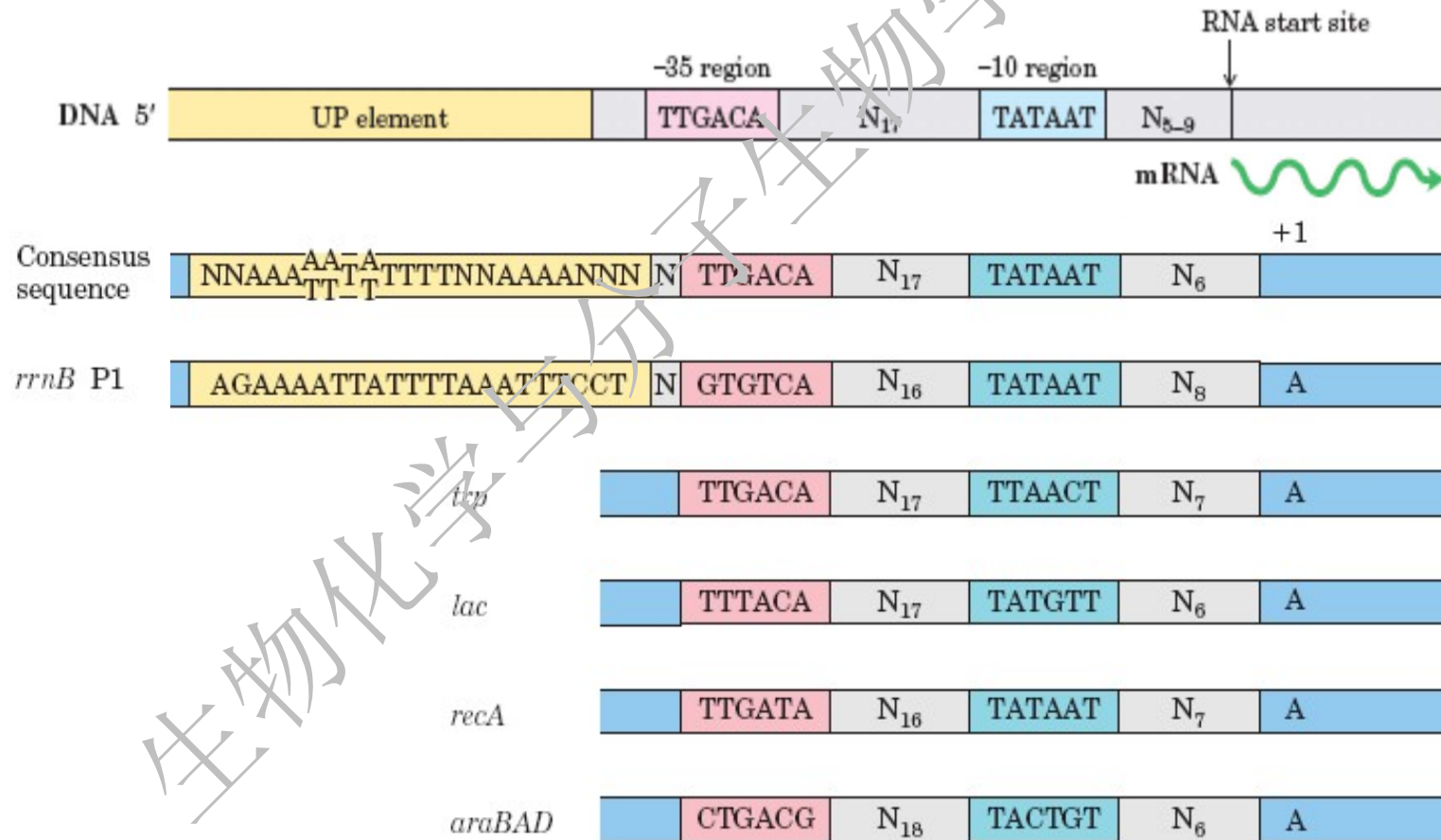
强: P<sub>17</sub>、Ptrp、Ptac ...

弱: Plac、Para ...

# 原核生物

## 1) 启动子 (promoter)

**RNA聚合酶**结合并启动转录的**特异DNA序列**





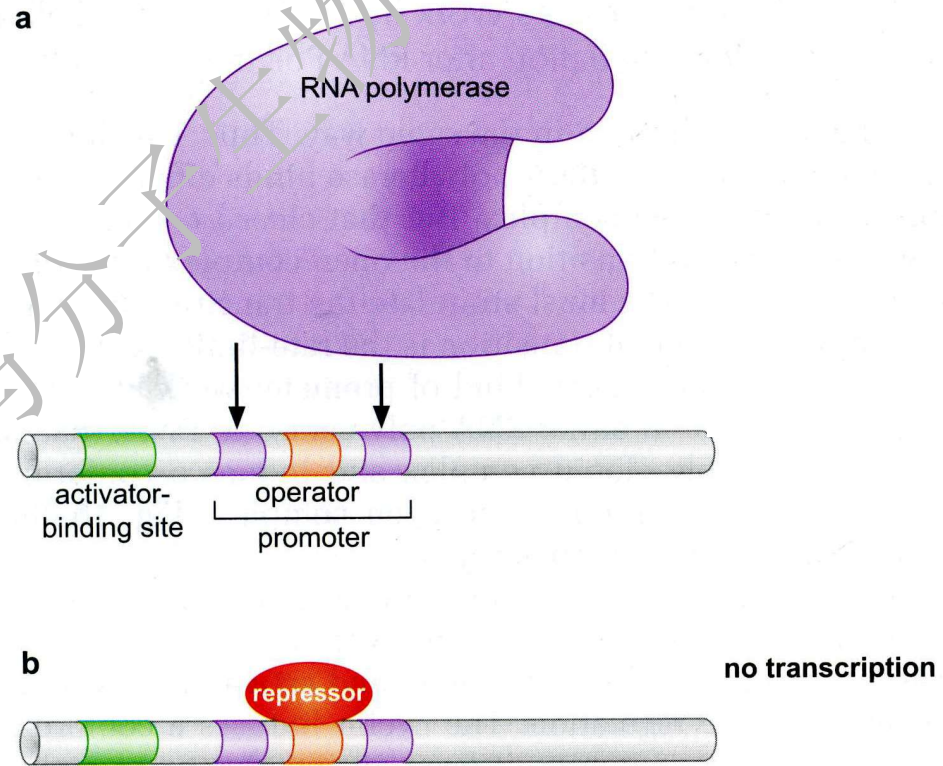
# 原核生物

## 2) 操纵序列 (operator)

阻遏蛋白(repressor)结合的DNA序列

位置:

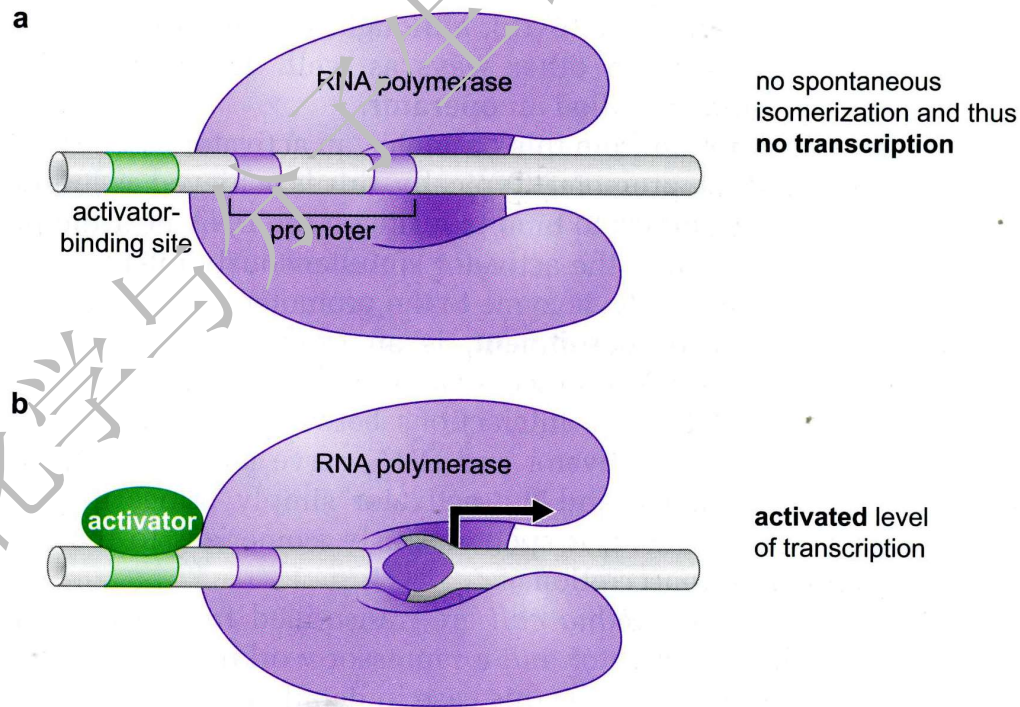
常与promoter或  
转录起始区重叠



# 原核生物

## 3) 其他调节序列与调节蛋白

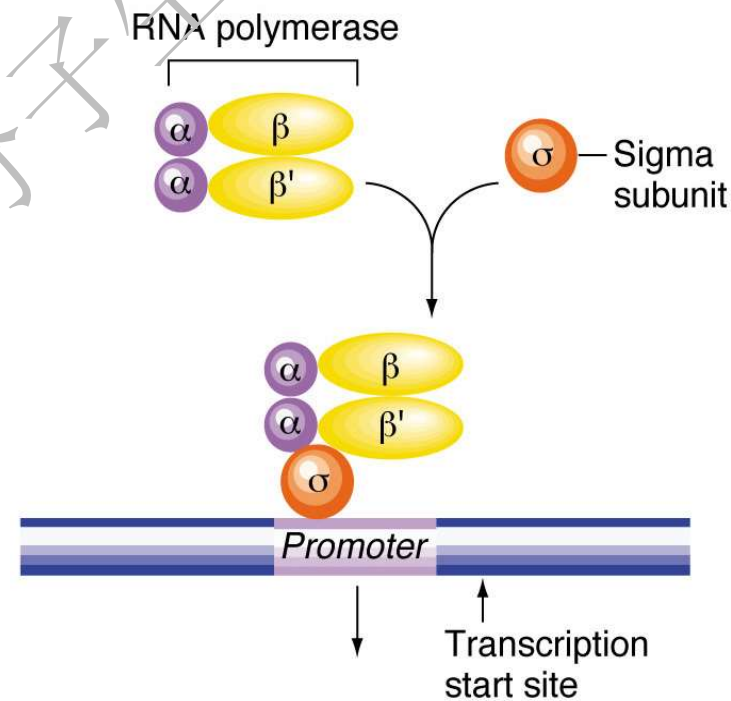
激活蛋白(activator)可结合启动序列邻近的  
DNA序列



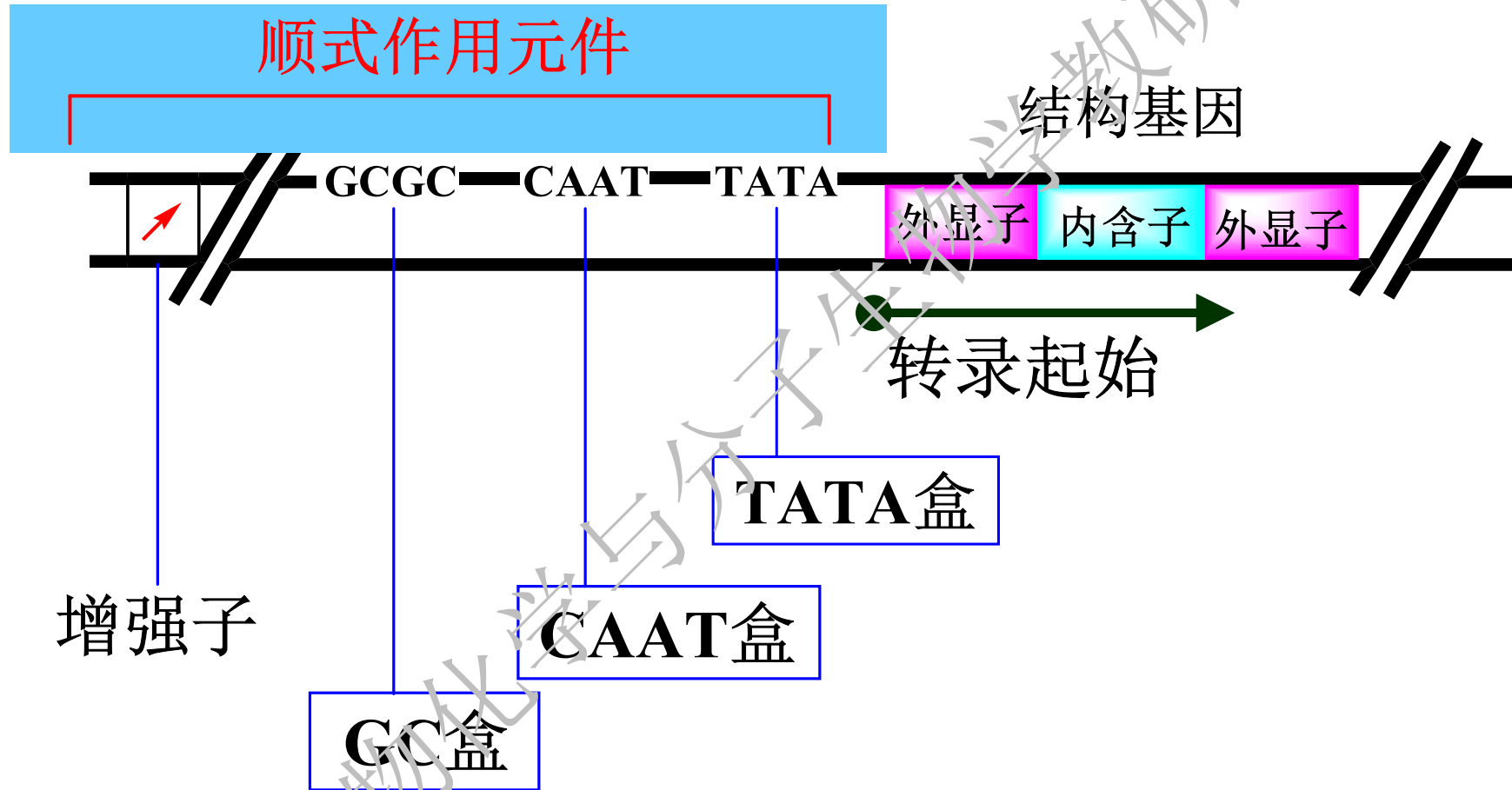
# 原核生物

## 特异因子 (specificity factor)

决定**RNA聚合酶**对一个或一套启动子的特异性识别和结合能力

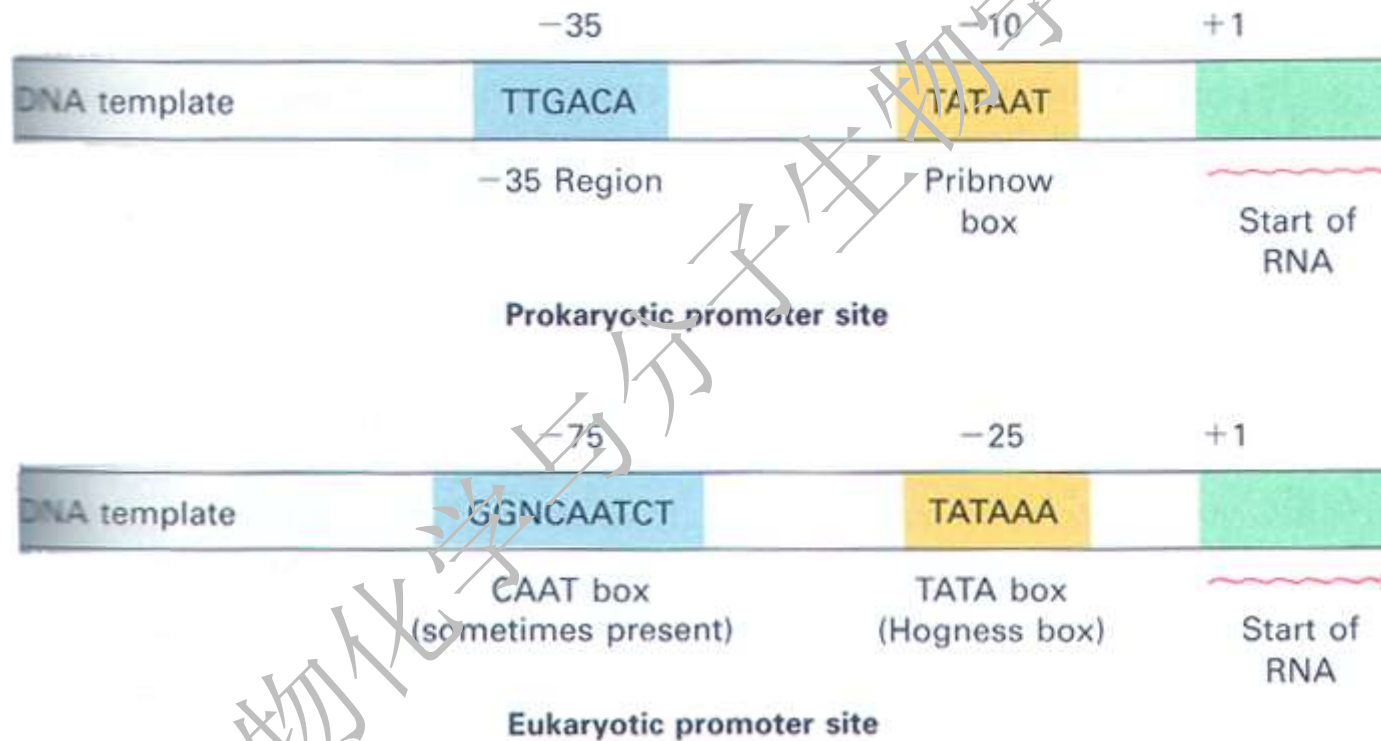


# 真核生物



# 真核生物

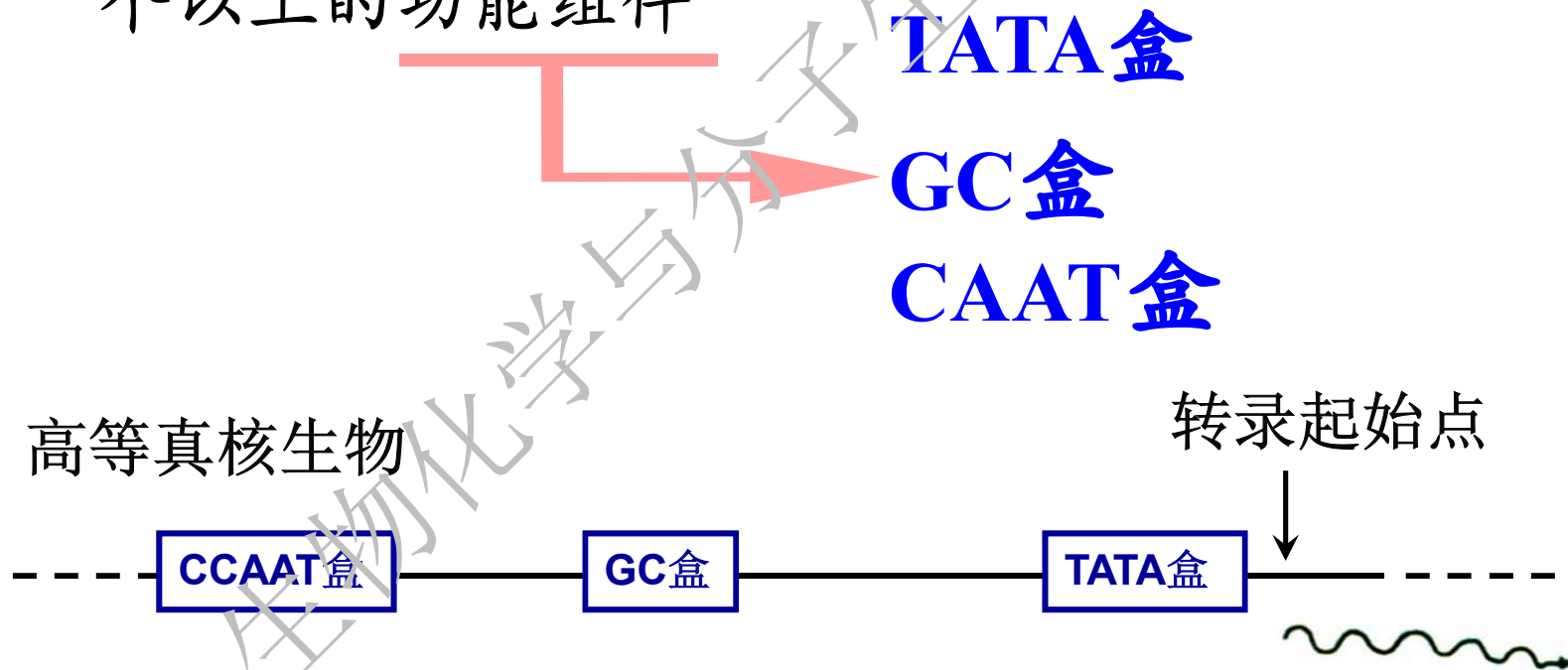
## 1) 启动子 (promoter)



# 真核生物

## 1) 启动子 (promoter)

是RNA聚合酶结合位点周围的一组转录控制组件，至少包括一个转录起始点以及一个以上的功能组件



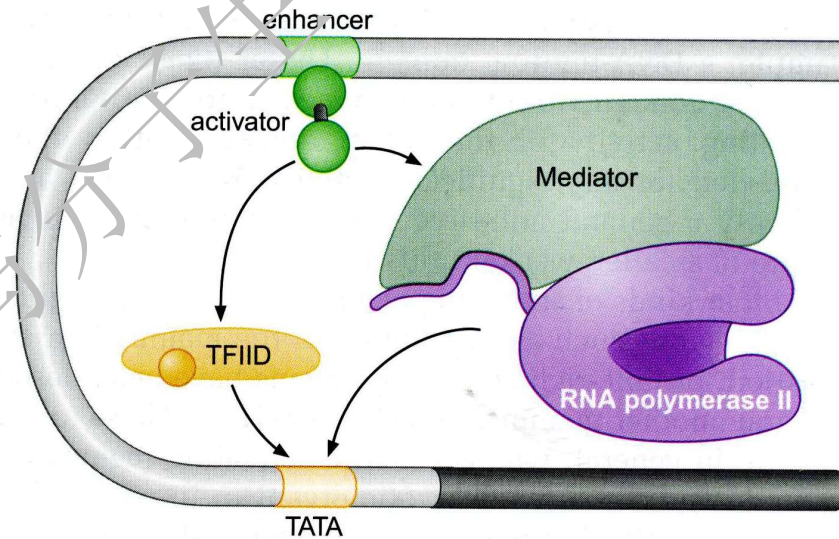
# 真核生物

## 2) 增强子(enhancer)

位于转录起始上下游的**DNA**元件。与**特异转录因子**结合后增强启动子活性，决定基因表达时空性

100~300 bp

位置灵活



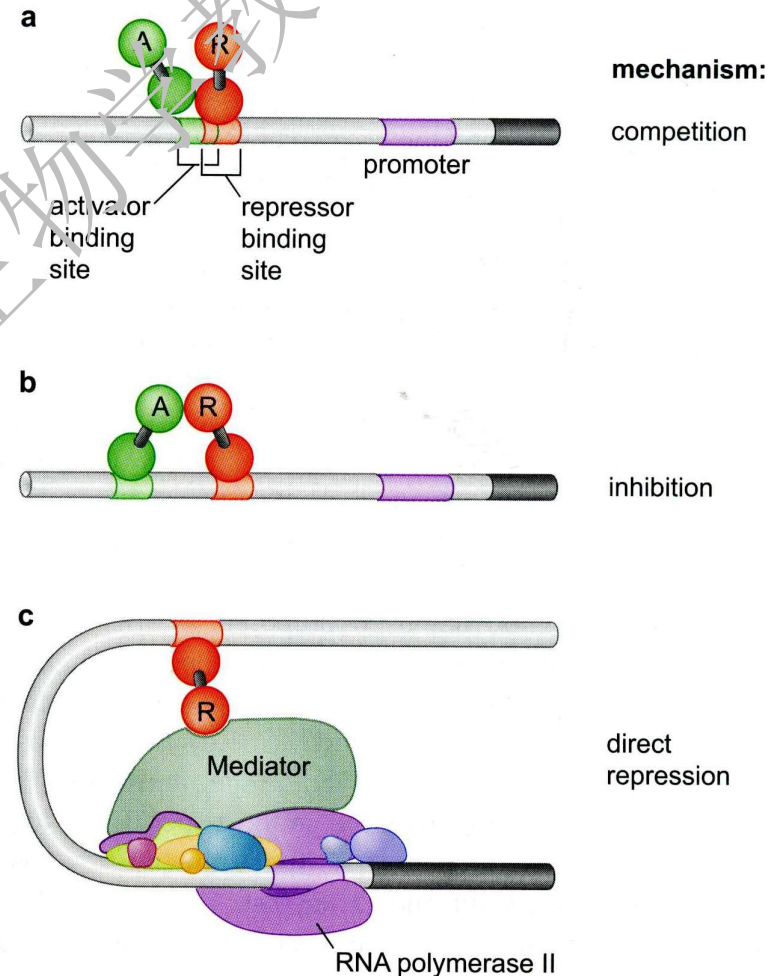
是否发挥作用取决组织细胞是否存在**特异转录因子**

# 真核生物

## 3) 沉默子(silencer)

结合特异转录因子后抑制启动子的活性，属于负调控元件

主要取决于特异转录因子的作用





# 真核生物

## 反式作用因子（转录因子）

- **基本转录因子 (basal transcription factor)**

### 结合RNA聚合酶和转录核心元件

不具有组织特异性。是RNA聚合酶结合启动子必需的一组蛋白质，为所有基因转录起始所必需

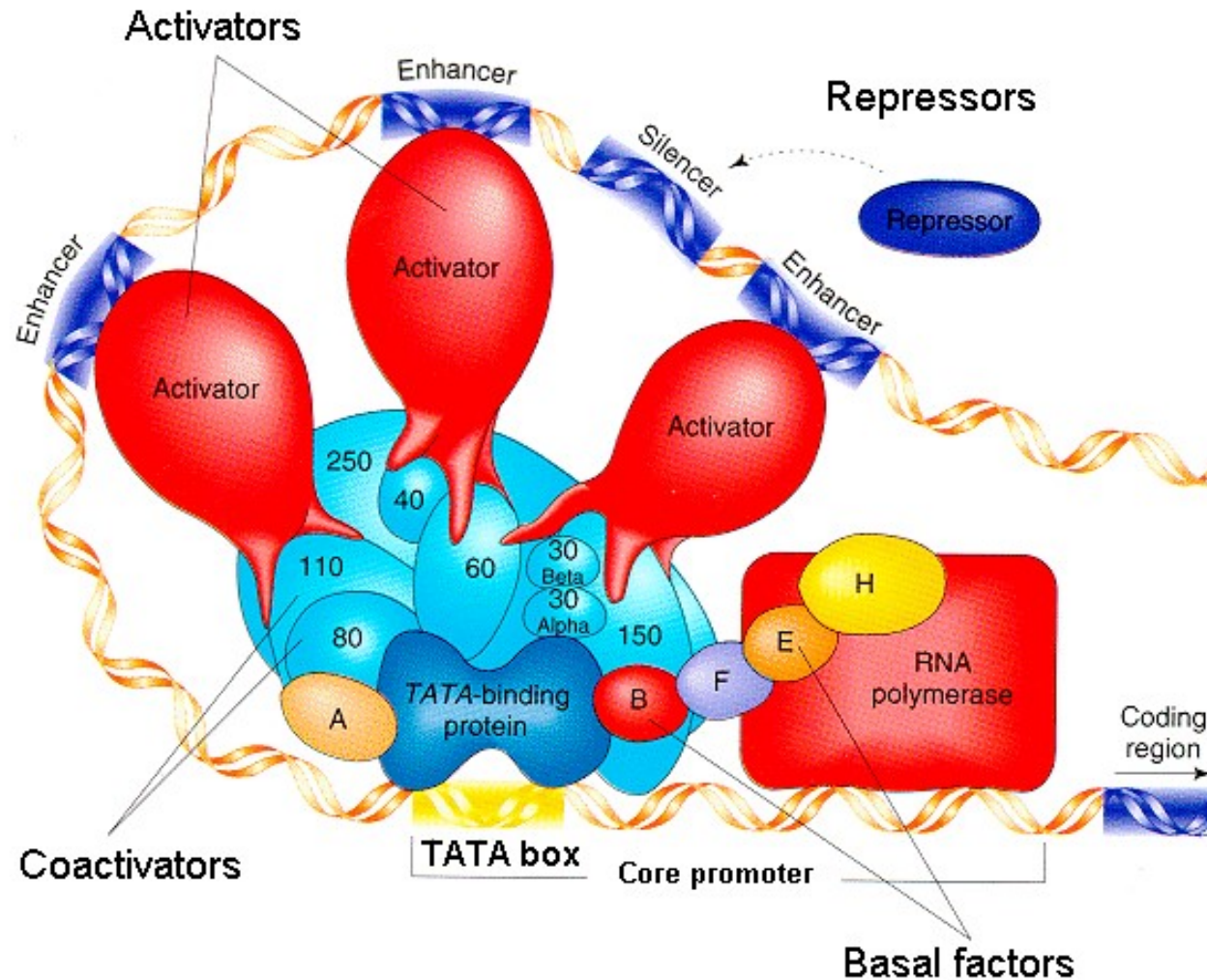
- **特异转录因子 (special transcription factor)**

### 结合转录非核心元件和基础转录因子

具有组织细胞特异性，决定该基因表达的时空性

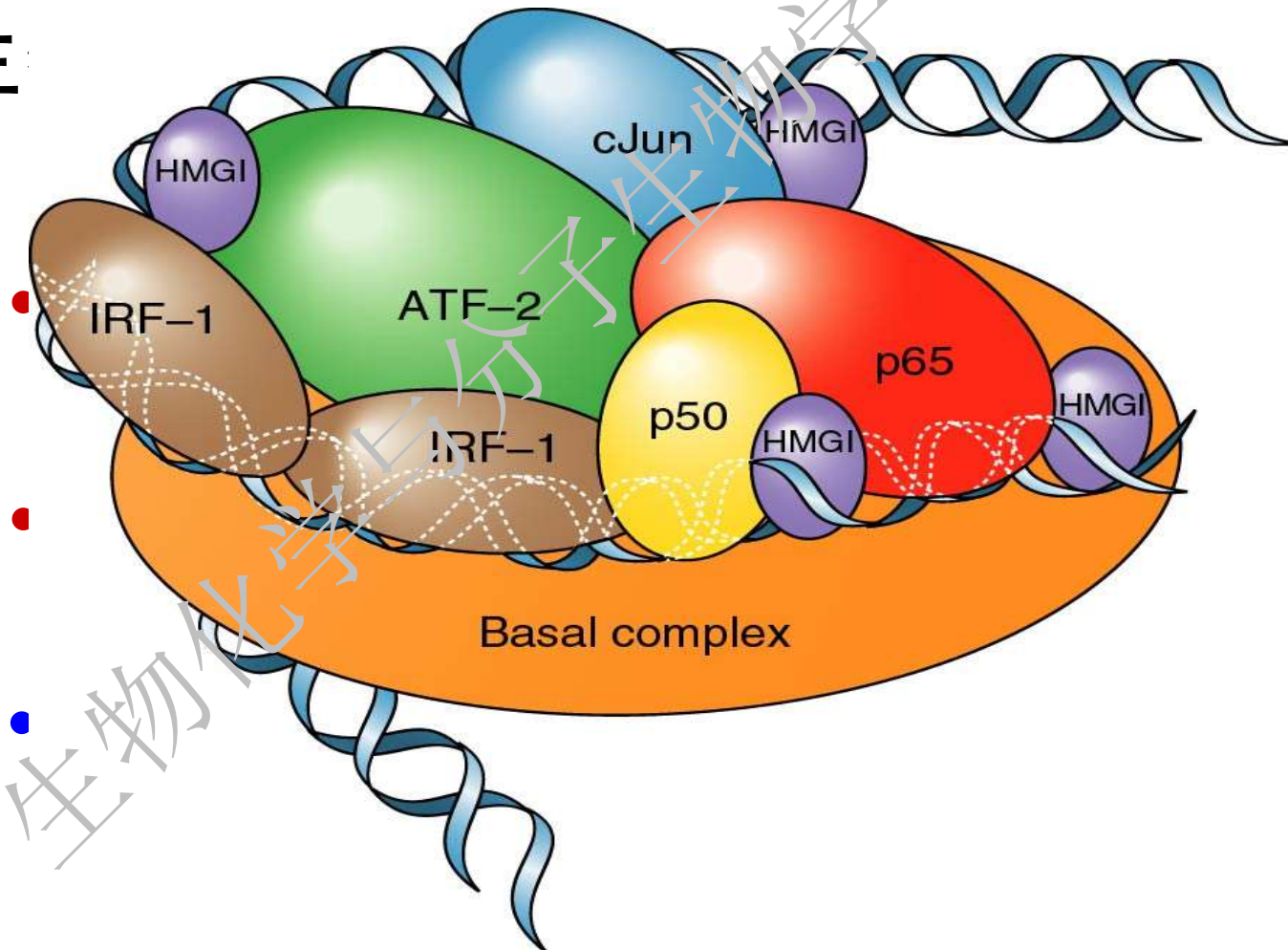
# 真核生物

## 顺式作用元件与反式作用因子



# 转录水平调控的分子基础

生



# 参与基因转录调控的因素

## DNA元件

顺式作用元件

**原核生物**：启动序列、操纵序列

**真核生物**：启动子、增强子、沉默子

## 蛋白分子

反式作用因子

转录因子

**原核生物**：RNA聚合酶特异因子、阻遏蛋白、激活蛋白

**真核生物**：转录因子

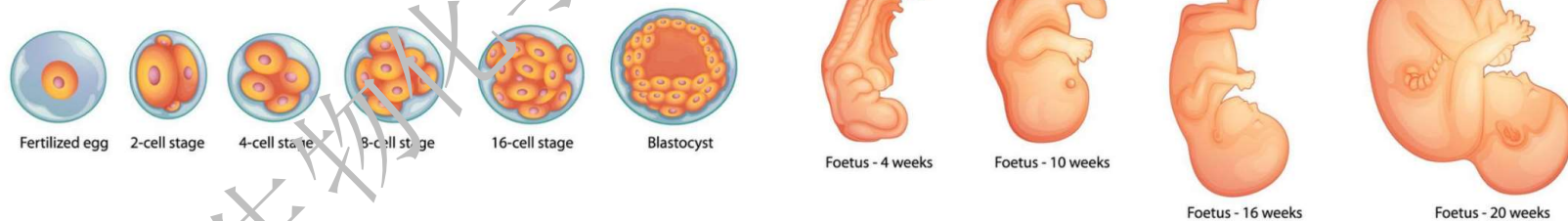
基本转录因子

特异转录因子

# 基因表达调控的生物学意义

- 适应环境、维持生长和增殖的需要（原核、真核）
- 维持个体发育与分化（真核）

Human Embryonic and Foetal Development



# 主要内容

- 1 基因表达调控概论
- 2 基因表达调控的规律
- 3 原核生物的基因表达调控
- 4 真核生物的基因表达调控

# 原核基因表达调控

---

---

- ▶ **转录水平**的调控是原核生物基因表达的**关键环节**

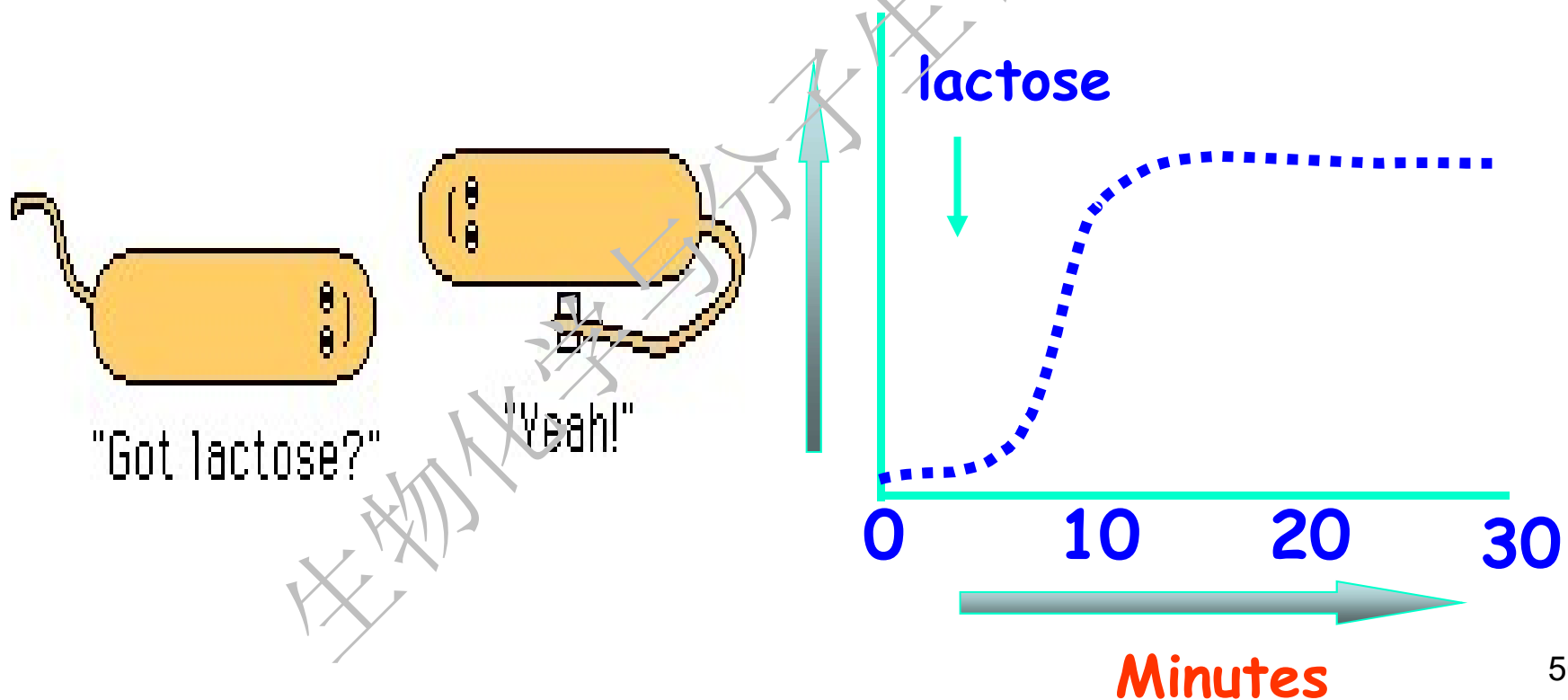
转录起始调控: Lac operon

转录终止调控: Trp operon

- ▶ **翻译水平**的调控是对转录调控的**补充**

## Q1: 乳糖究竟如何诱导了这三种酶的合成呢?

大肠杆菌可利用多种糖作为碳源，当用乳糖作为唯一碳源时，刚开始细菌不能利用乳糖，但2~3分钟后就合成了与乳糖代谢有关的**三种酶**





# Metabolism of lactose

$\beta$ -半乳糖苷酶

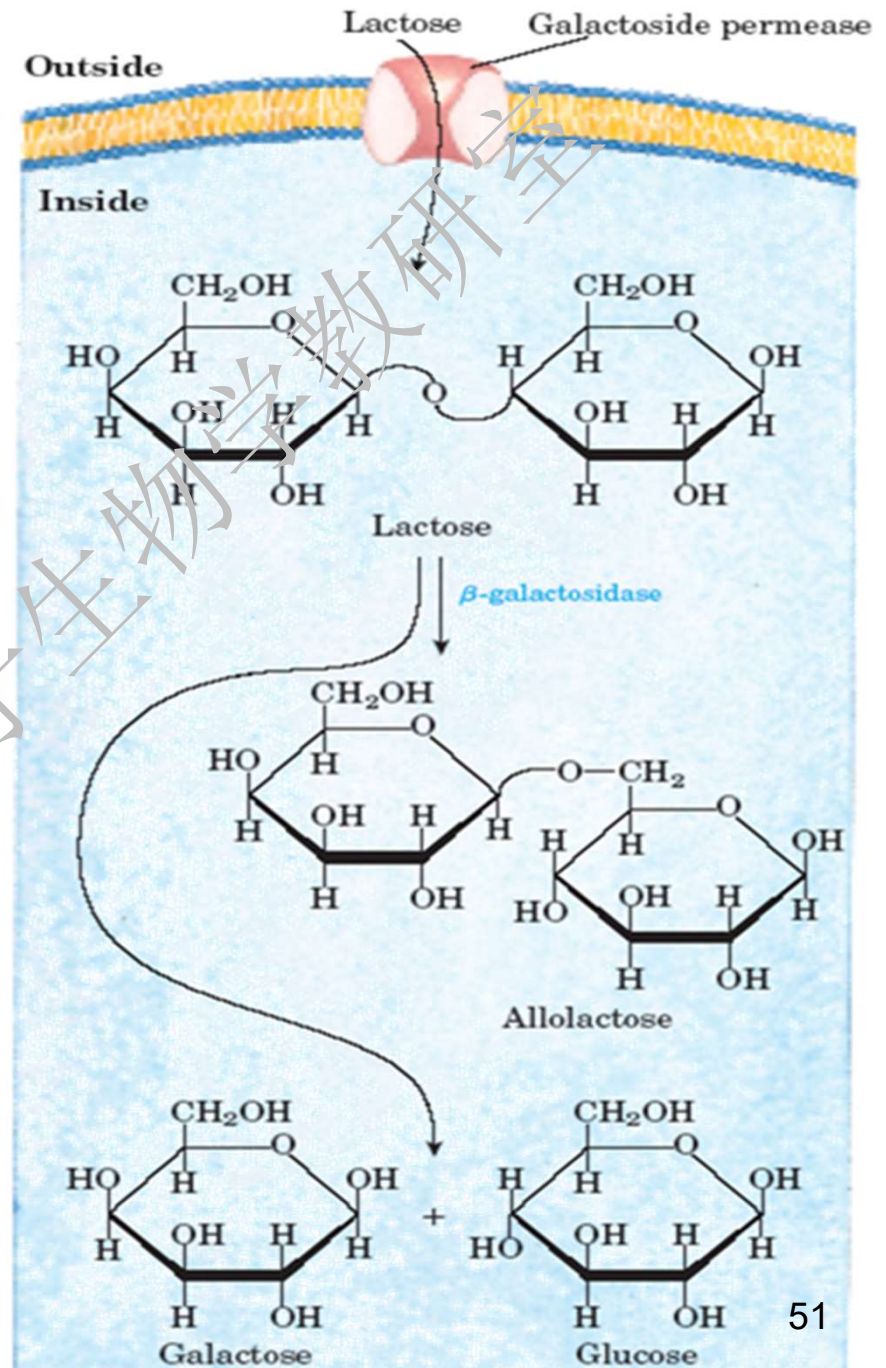
$\beta$ -galactosidase

半乳糖透性酶

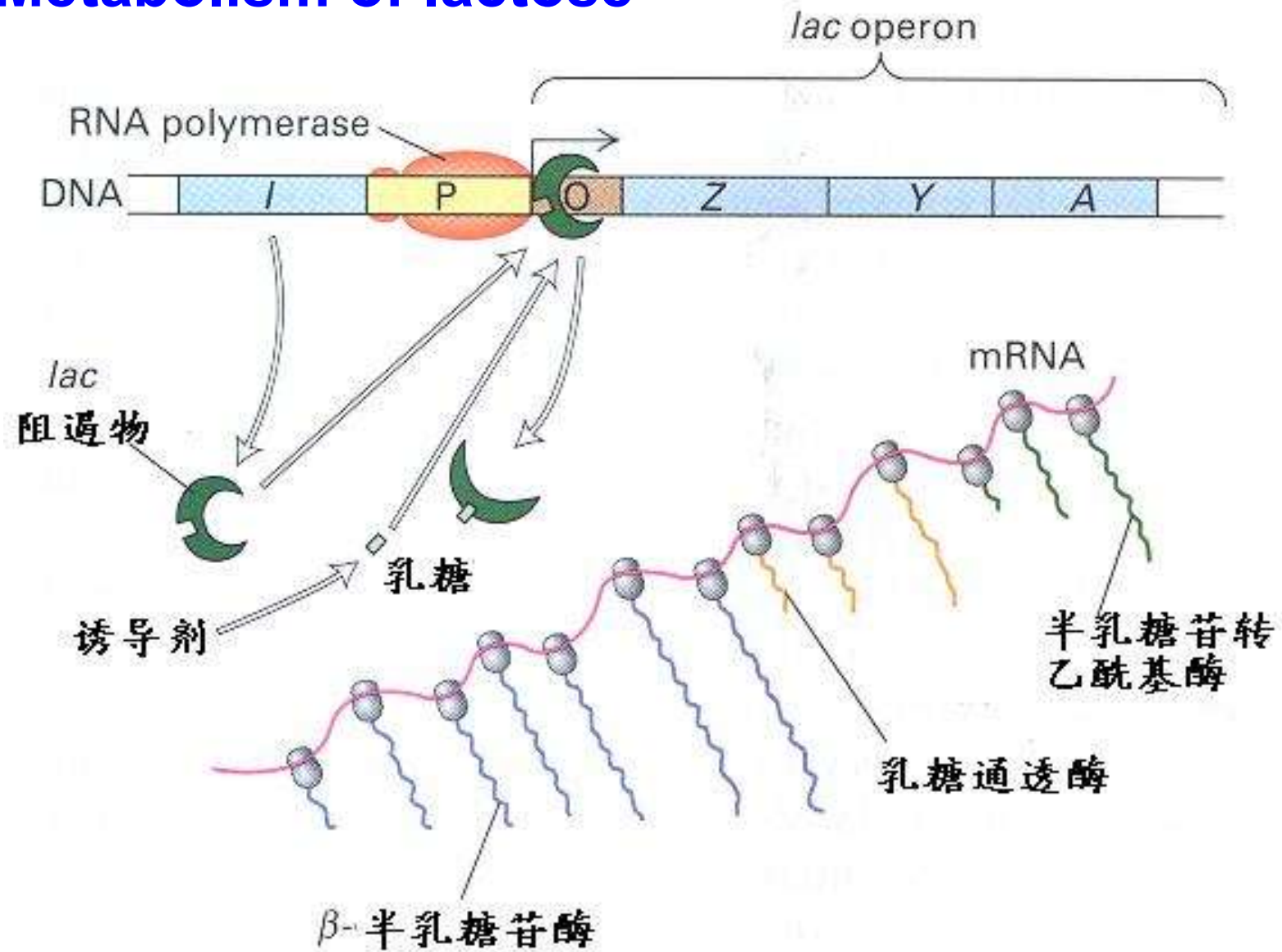
Galactosidase permease

$\beta$ -半乳糖苷转乙酰基酶

Transacetylase



# Metabolism of lactose





## The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1965

"for their discoveries concerning genetic control of enzyme and virus synthesis"



François Jacob



Jacques Monod, 1910–1976

In 1961, Discovered **operon theory** through studies of Lac<sup>-</sup> mutants (bacterial cells unable to utilize lactose)

# **操纵子学说的重要意义**

---

**操纵子是原核生物基因表达调控的普遍方式**

**是研究真核生物基因表达调控机制的基础**

**推动了生物大分子相互作用的研究**

**为基因工程应用提供了重要的工具**

# 操纵子模型的基本要点

操纵子(**operon**)是原核生物绝大多数基因的转录单位,由功能上相关的、串联排列的结构基因(structural gene)及其上游调控序列组成的转录单元。调控序列包括启动子(**promoter**)、操纵序列(**operator**)和其他元件。



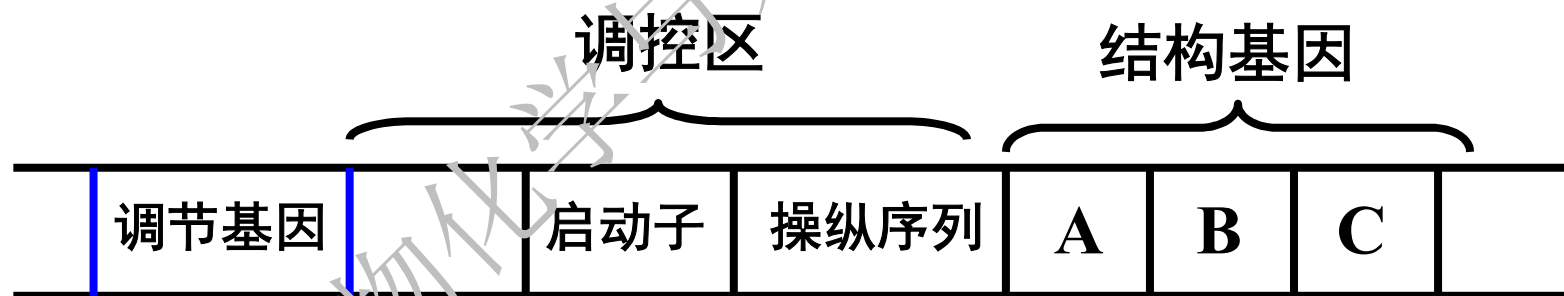
操纵子 (operon)

**结构基因：** 编码酶蛋白或蛋白质的基因

**操纵序列：** 转录的开关，可打开或关闭结构基因的转录

**启动子：** RNA聚合酶的结合部位

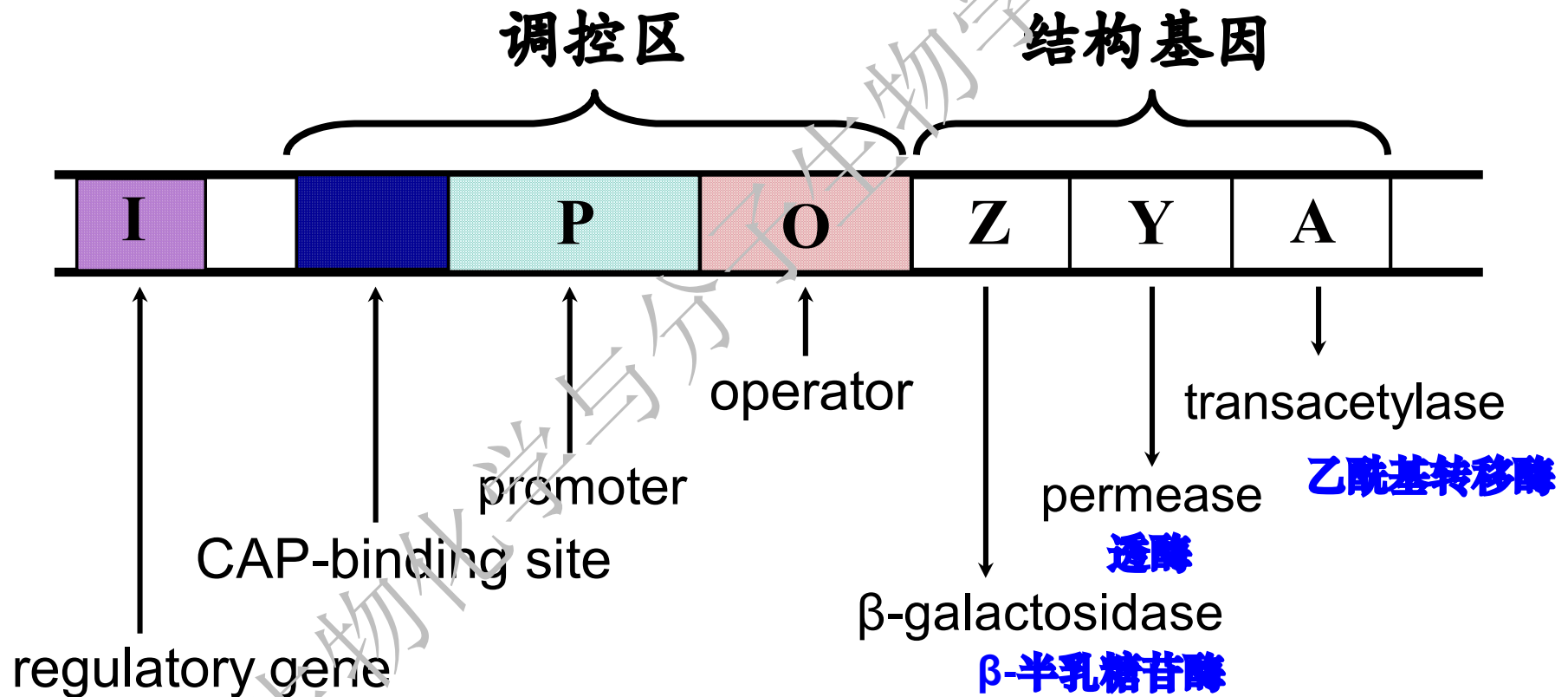
**调节基因：** 编码阻遏蛋白，结合操纵序列



**操纵子 (operon)**

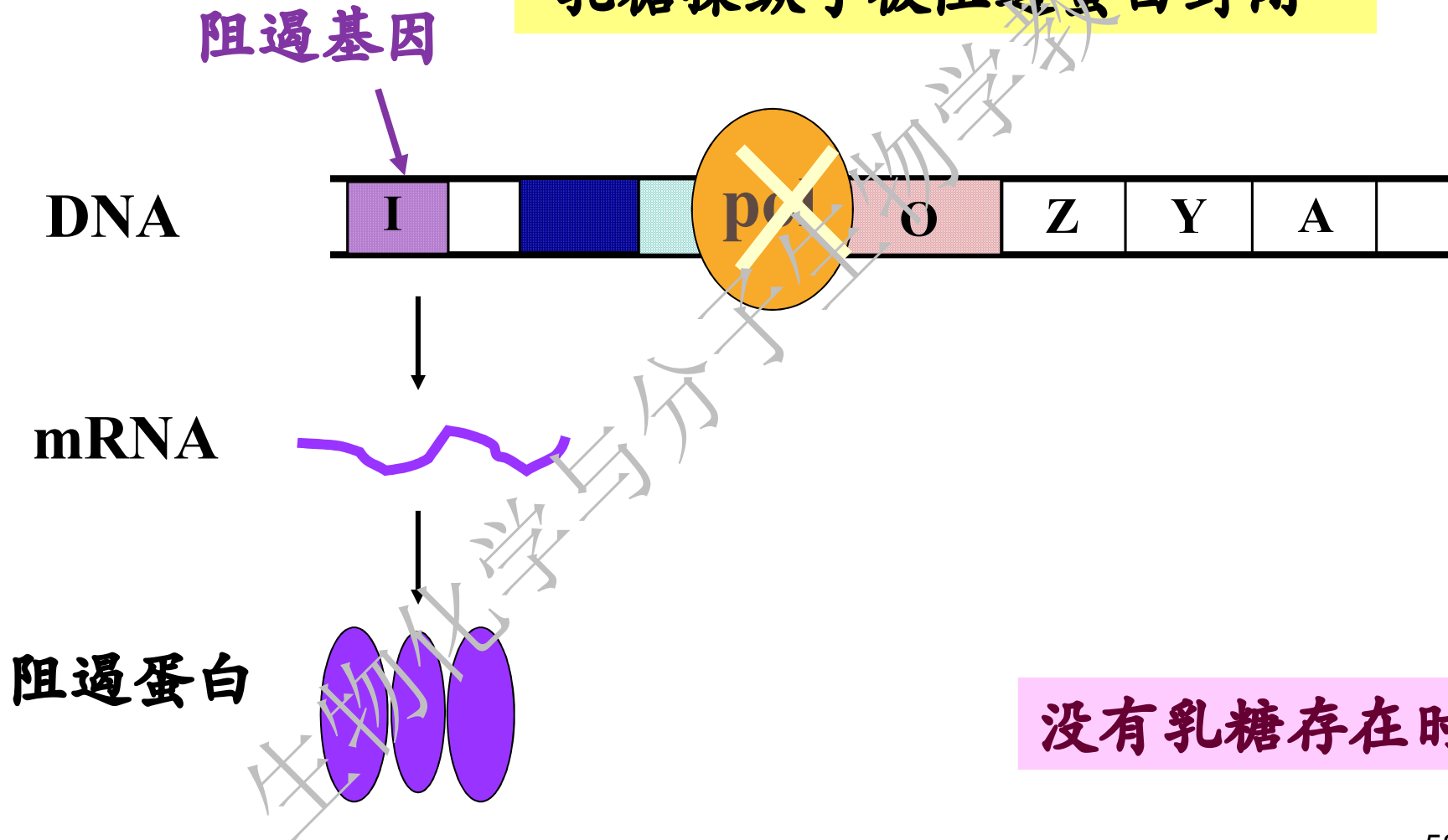
# 一、原核基因转录起始调控

## (一) 乳糖操纵子的结构



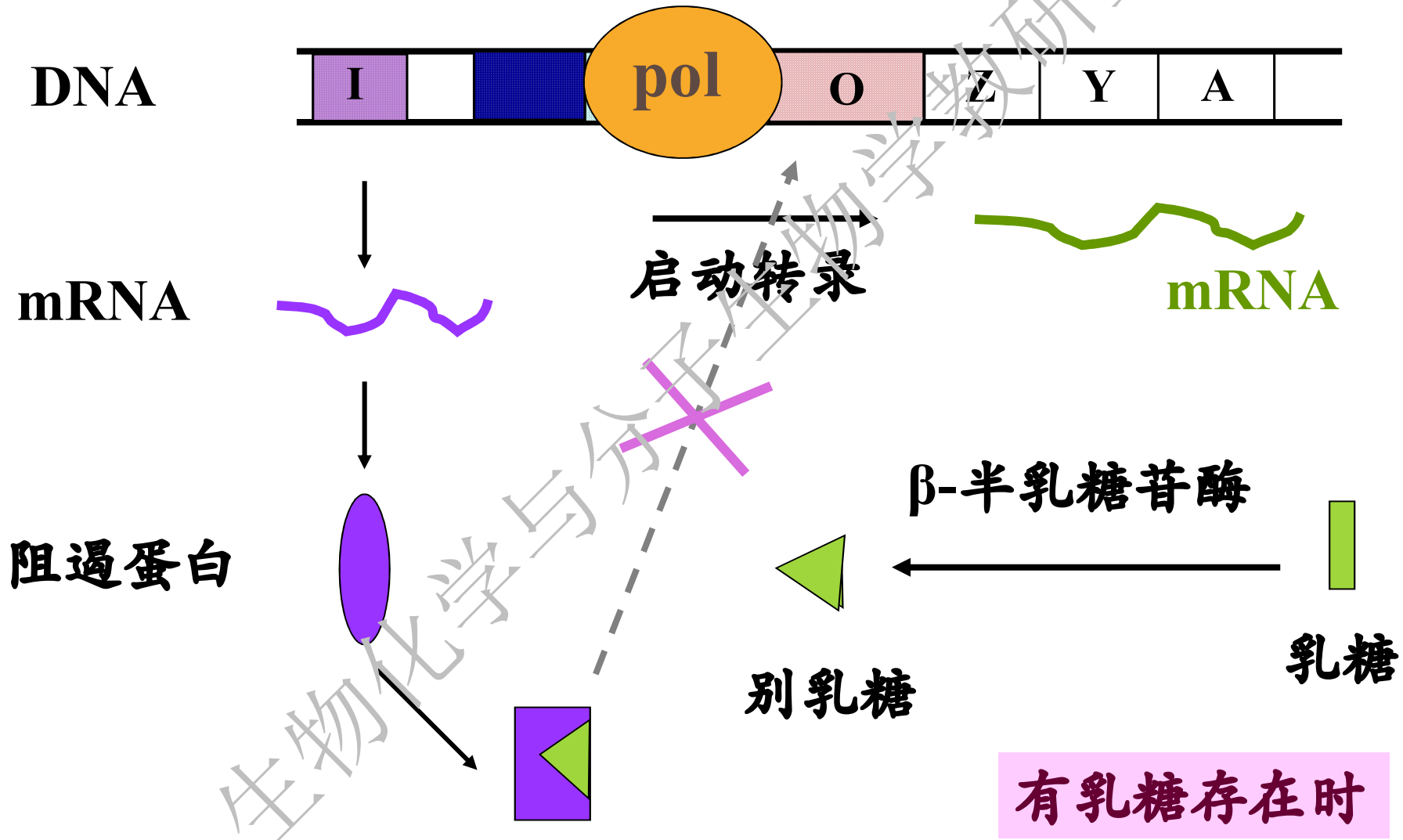
## (二) 乳糖操纵子的阻遏调控---可诱导调控

• 乳糖操纵子被阻遏蛋白封闭





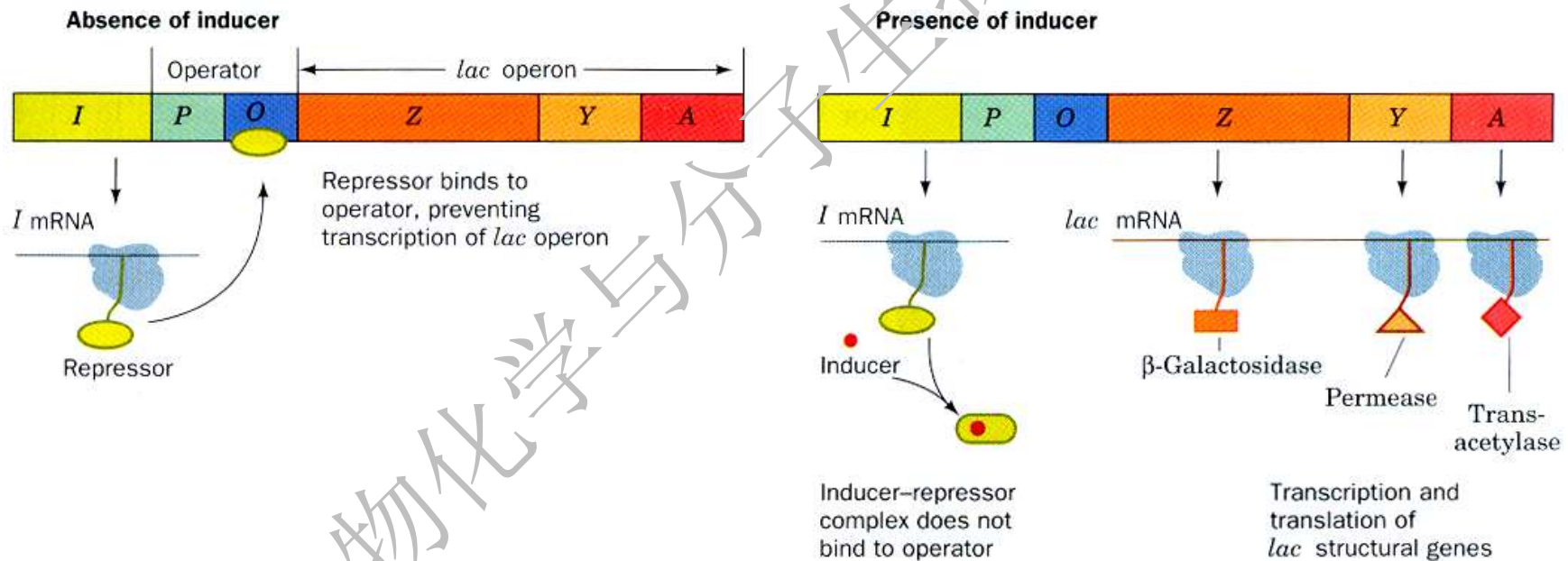
# 乳糖操纵子被诱导物开放



## • 乳糖操纵子被诱导物开放

诱导物(Inducer):

乳糖或乳糖类似物IPTG (异丙基 $\beta$ -D-硫代半乳糖苷)

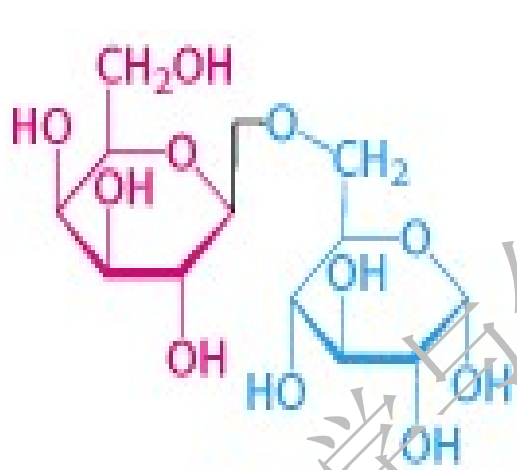


## • 乳糖操纵子被诱导物开放

**安慰诱导物：**如果某种物质能够促使细菌产生酶，而本身又不被分解

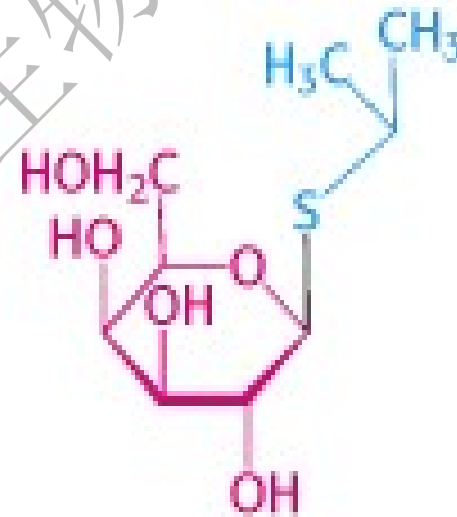
诱导物(Inducer):

乳糖或乳糖类似物IPTG（异丙基 $\beta$ -D-硫代半乳糖苷）



1,6-Allolactose

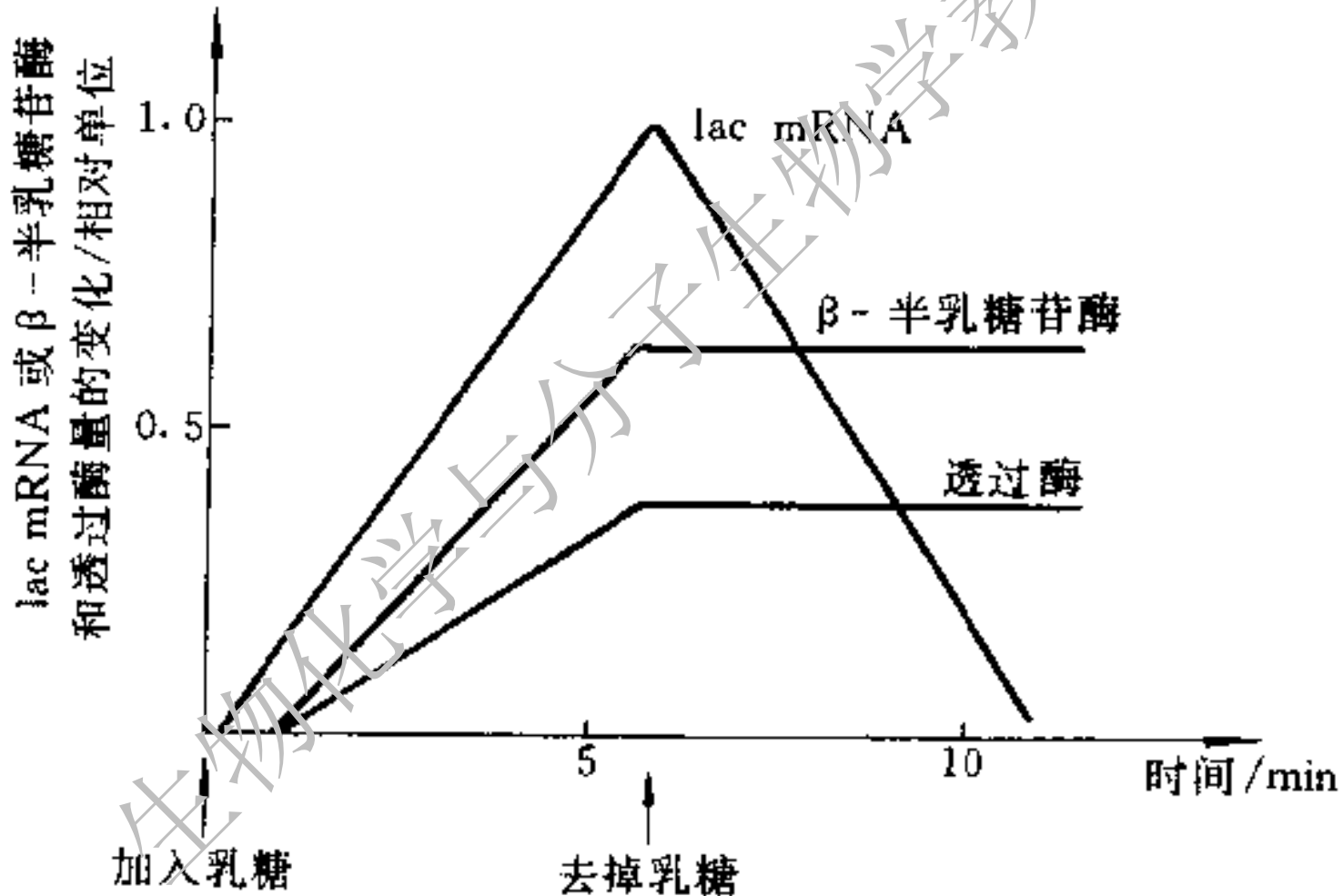
别乳糖



Isopropylthiogalactoside  
(IPTG)

异丙基 $\beta$ -D-硫代半乳糖苷

## 酶的诱导——lac体系受调控的证据



# Lac Operon



Play



Pause



Audio

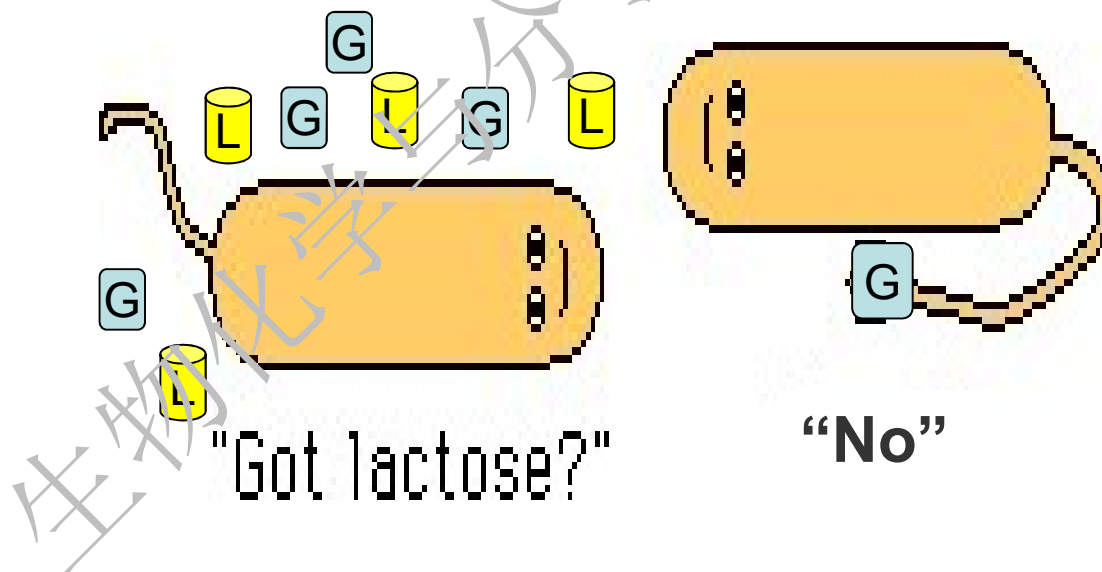


Text

The expression of genes can be transcriptionally regulated. Such regulation is a critical feature of both eukaryotic and prokaryotic organisms.

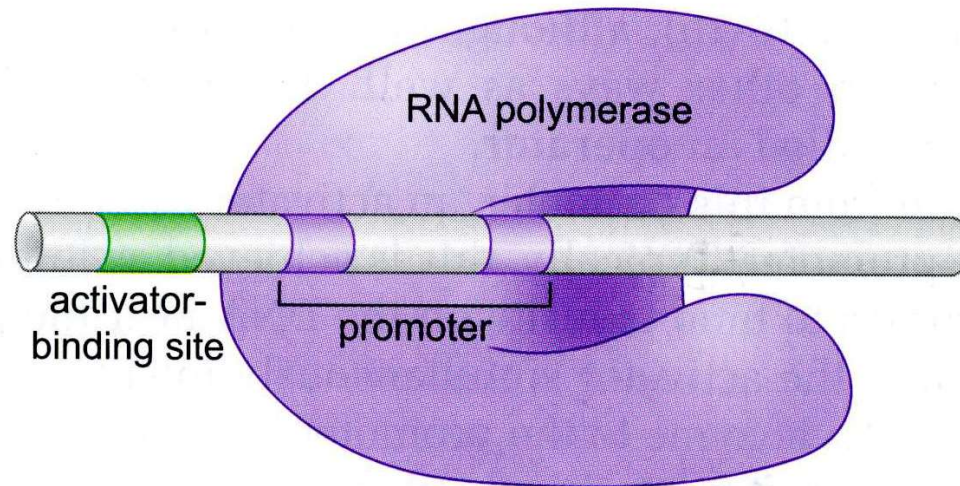
## Q2: 葡萄糖究竟如何参与乳糖代谢的酶的合成呢? 葡萄糖、乳糖同时存在时, 先利用?

乳糖可以诱导大肠杆菌合成与乳糖代谢有关的酶产生; 但当乳糖和葡萄糖同时存在时, 大肠杆菌并不利用乳糖, 只有等Glc耗尽后才合成代谢乳糖的三种酶、开始利用乳糖。



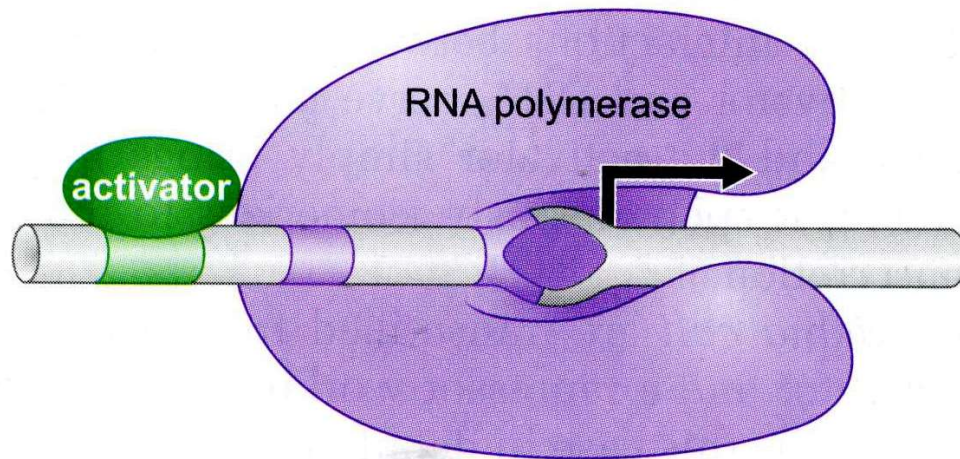
### (三) 乳糖操纵子的激活调控---CAP正性调节

a



no spontaneous  
isomerization and thus  
**no transcription**

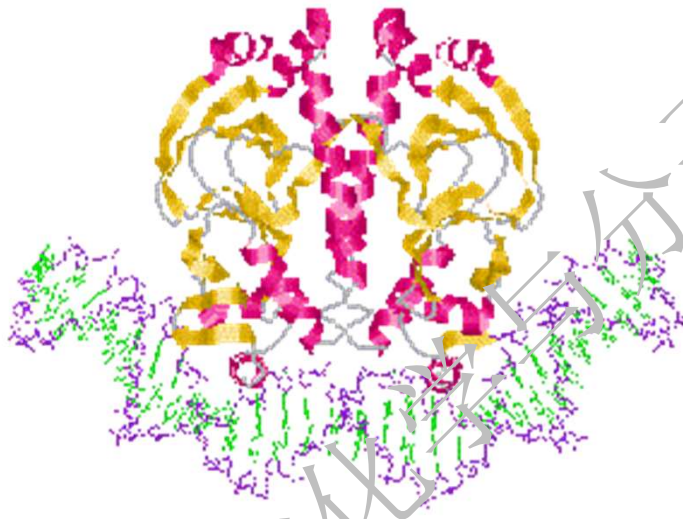
b



**activated level**  
of transcription

• cAMP-CAP系统进行正调控

**CAP**（代谢物基因激活蛋白）包含**DNA结合域**和**cAMP结合域**



**CAP是同二聚体**

**CAP + cAMP**

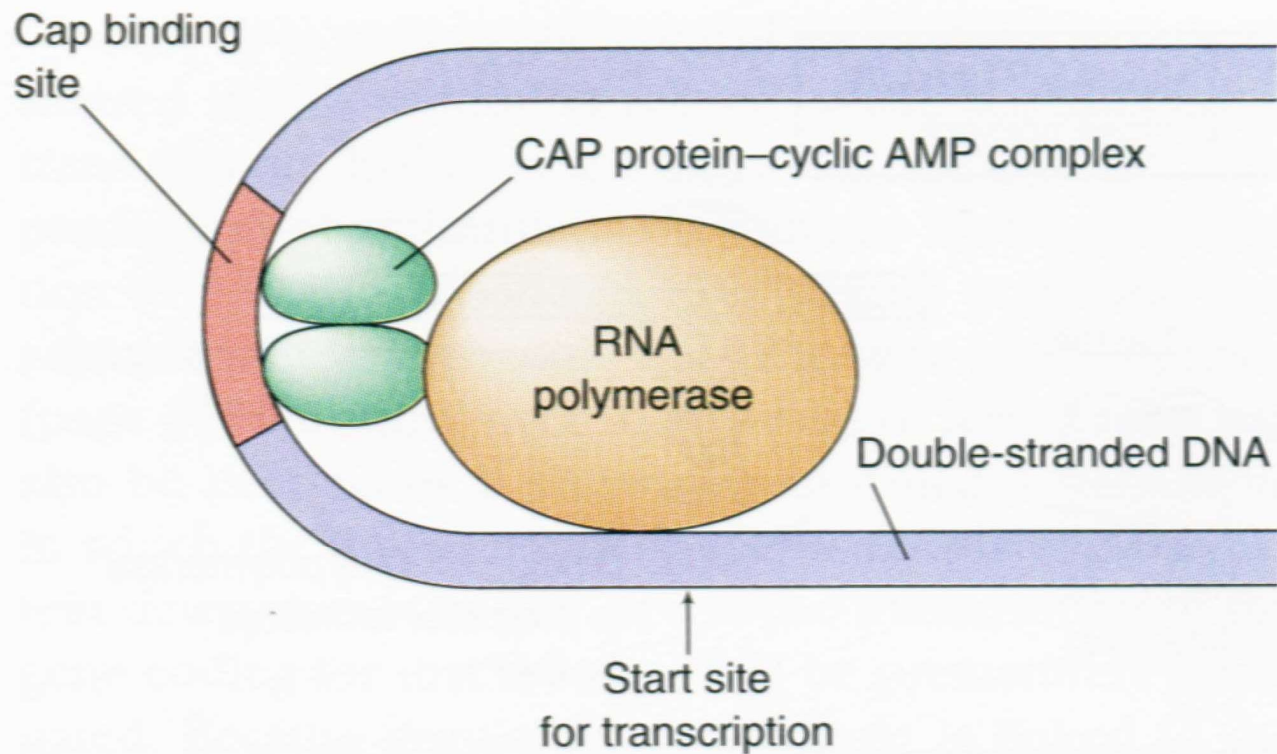
→复合物

→结合在**CAP位点**上

→促进**RNA pol**活性

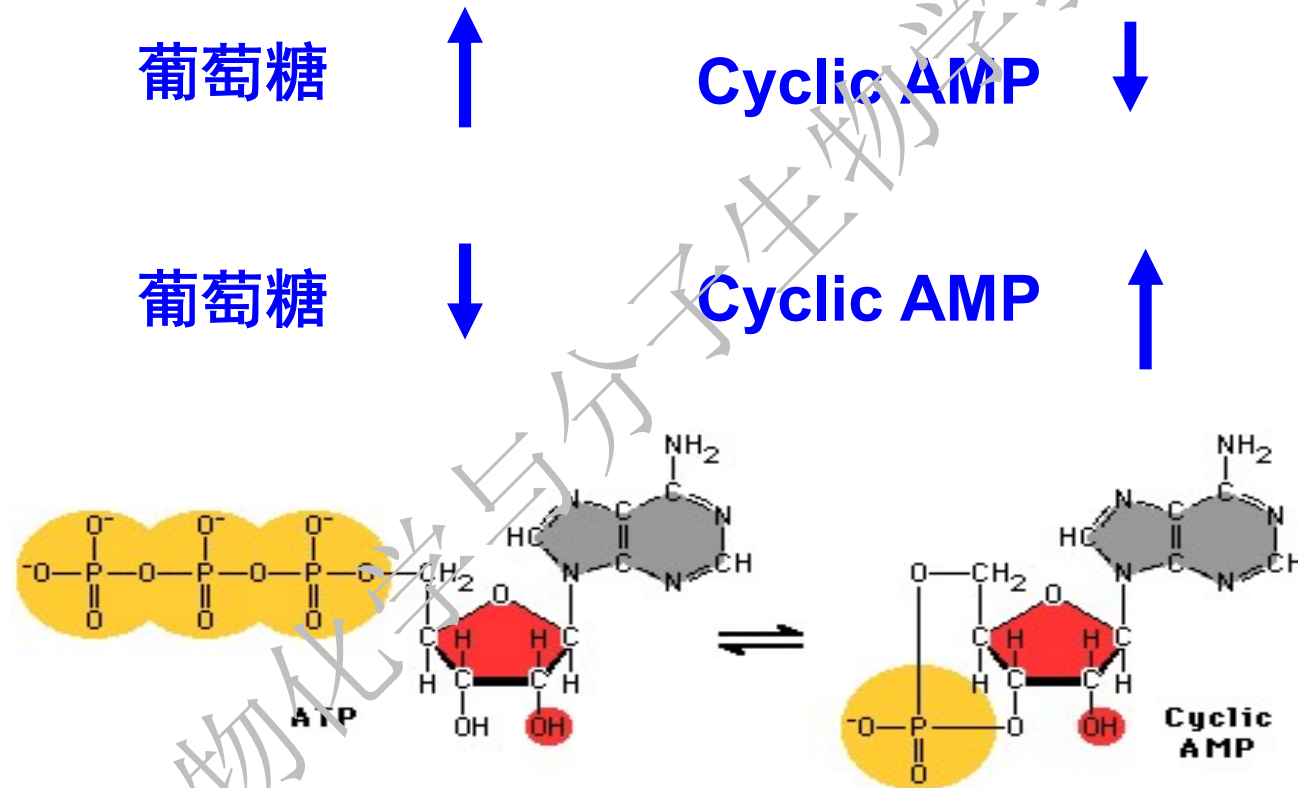
→促**转录**





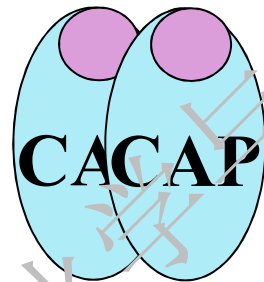
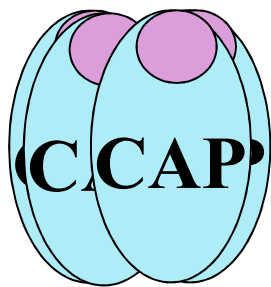
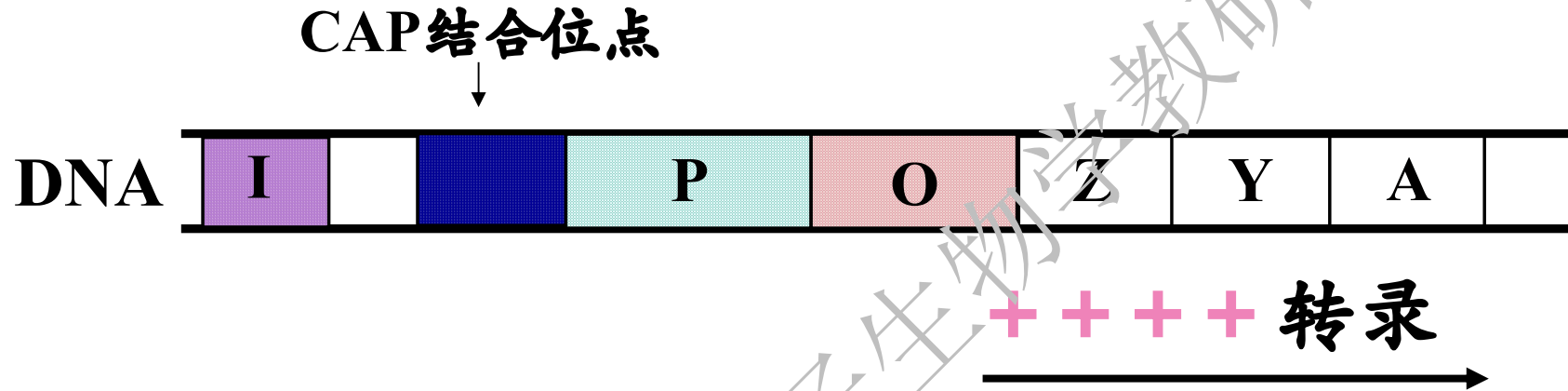
**Figure 10-51 Activation of Transcription by the CAP Protein-Cyclic AMP Complex** *Binding of the CAP protein-cyclic AMP complex to its DNA binding site causes DNA to bend, bringing the CAP protein close to RNA polymerase.*

# 葡萄糖改变大肠杆菌的Cyclic AMP浓度



• cAMP-CAP系统进行正调控

CAP: catabolite activating protein



无葡萄糖，cAMP浓度高时



有葡萄糖，cAMP浓度低时

## 分解代谢阻遏 (catabolite repression)

**E.Coli**以乳糖为唯一碳源时，乳糖可诱导 **Lac**操纵子转录，生成分解乳糖的酶；但如果培养基中既含葡萄糖，又含乳糖时，则优先利用 **Glc**，等**Glc**耗尽后才能利用乳糖。这种**Glc**对 **Lac**操纵子的阻遏作用，称为分解代谢阻遏。

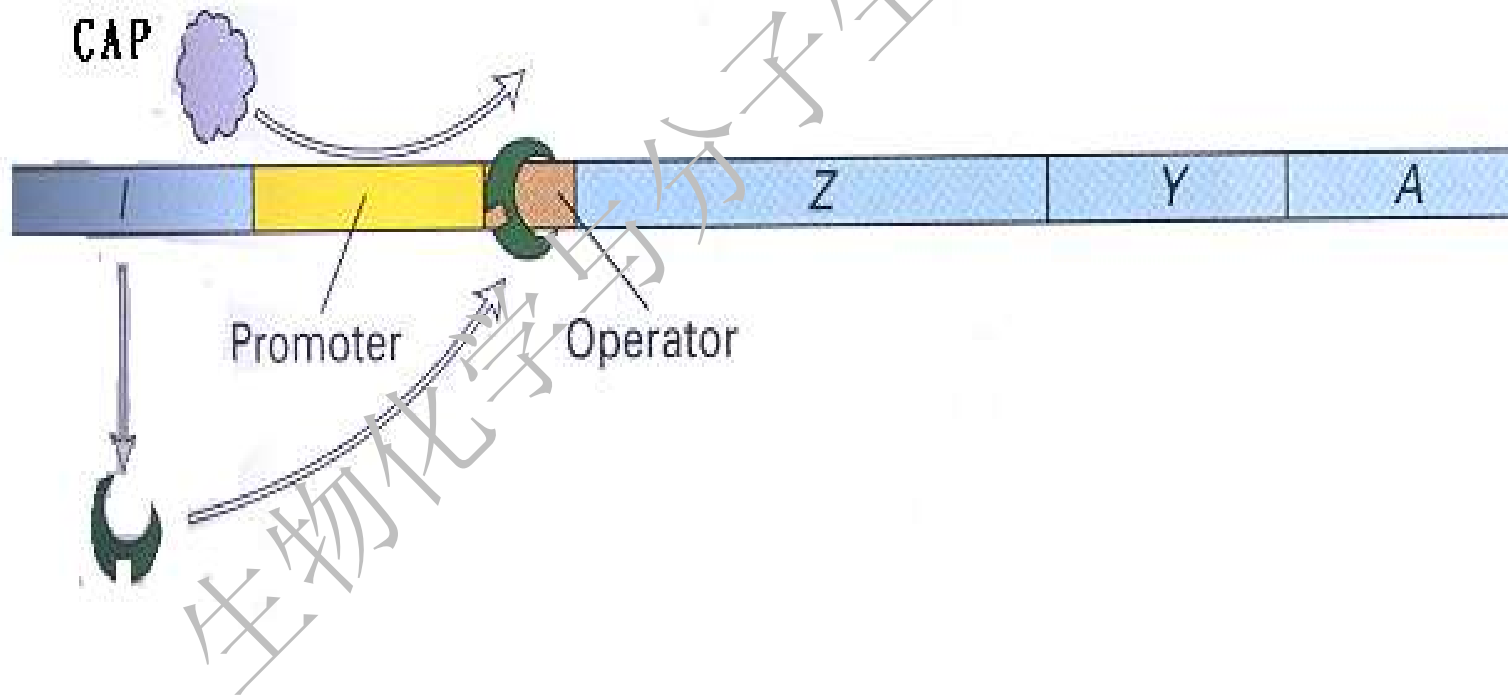
## (四) 复合调控

- 当阻遏蛋白封闭转录时，CAP不能发挥作用。
- 没有CAP存在，即使阻遏蛋白不和操纵序列结合，操纵子转录活性依然很低。cAMP-CAP复合物与启动子区的结合是转录起始所必需的。
- 单纯乳糖存在时，细菌利用乳糖作碳源；若有葡萄糖或葡萄糖/乳糖共同存在时，细菌首先利用葡萄糖。葡萄糖对lac操纵子的阻遏作用称分解代谢阻遏(catabolic repression)。

① 当培养基中葡萄糖 (+)、乳糖 (-)

由于乳糖阻遏蛋白（负调控蛋白）同操纵基因结合，CAP从其结合位点解离下来，导致乳糖操纵子关闭。

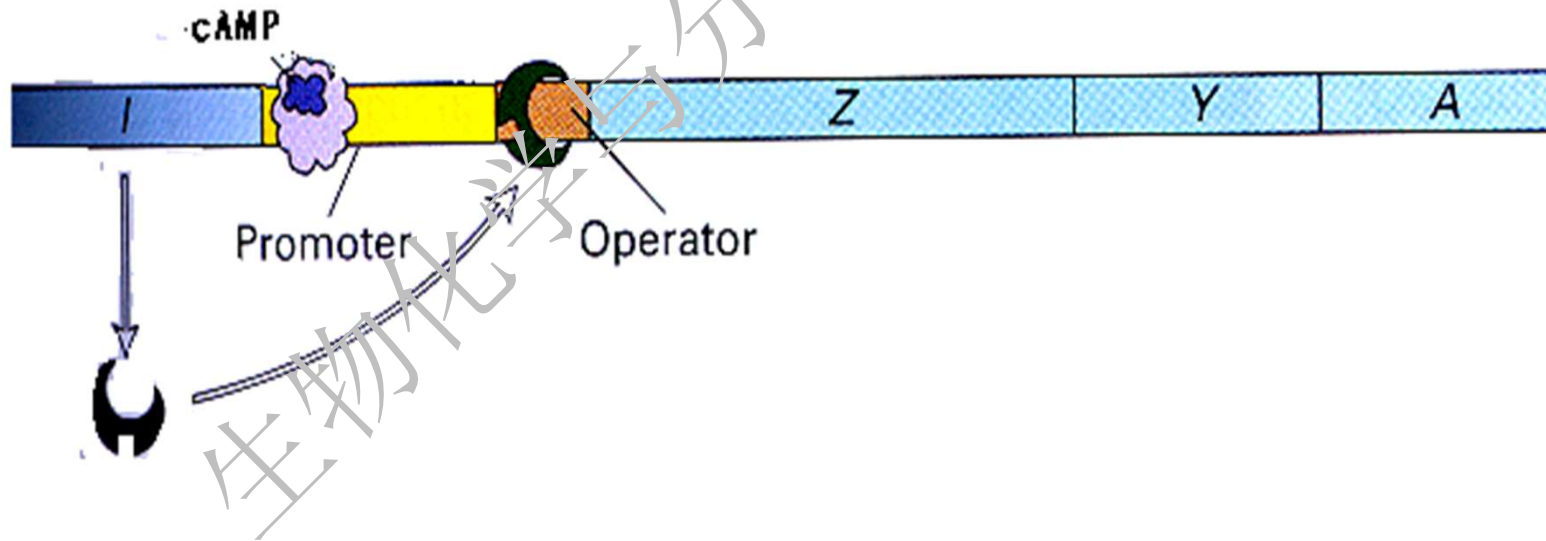
有葡萄糖（低cAMP）；无乳糖，无Lac mRNA



② 当培养基中葡萄糖 (-)、乳糖 (-)

虽然CAP同DNA上的CAP-结合位点结合，但由于乳糖阻遏蛋白同操纵基因的结合，阻断了RNA聚合酶与启动子的结合，使乳糖操纵子依然关闭。

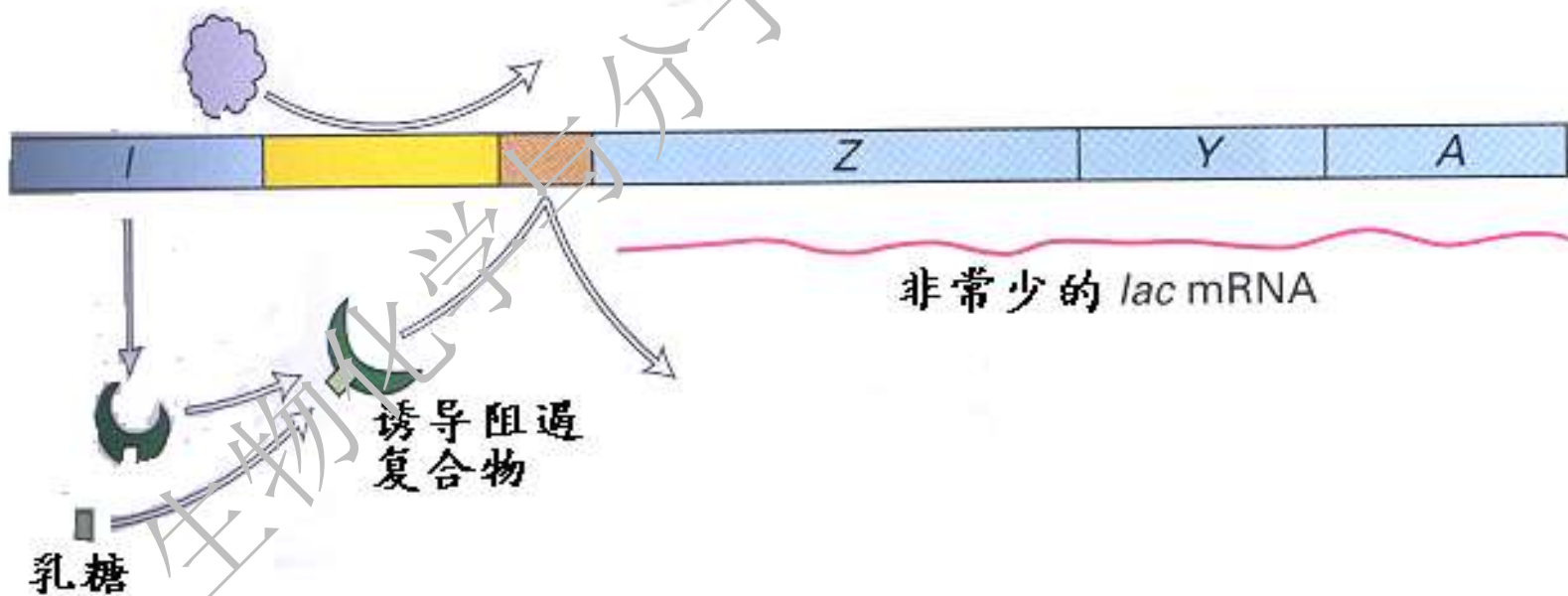
无葡萄糖 (高 cAMP)；无乳糖，无Lac mRNA



③ 当培养基中**葡萄糖 (+)**、**乳糖 (+)**

葡萄糖的存在使细胞中cAMP浓度降低，处于低水平，CAP不与结合位点结合，结构基因可能有少量表达。

有葡萄糖（低cAMP）；有乳糖

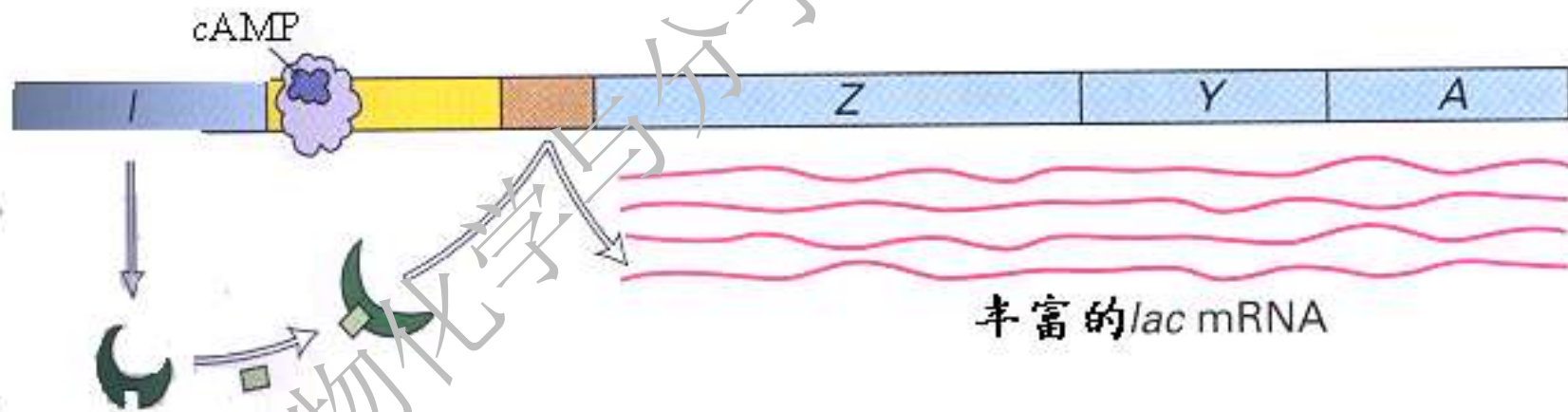




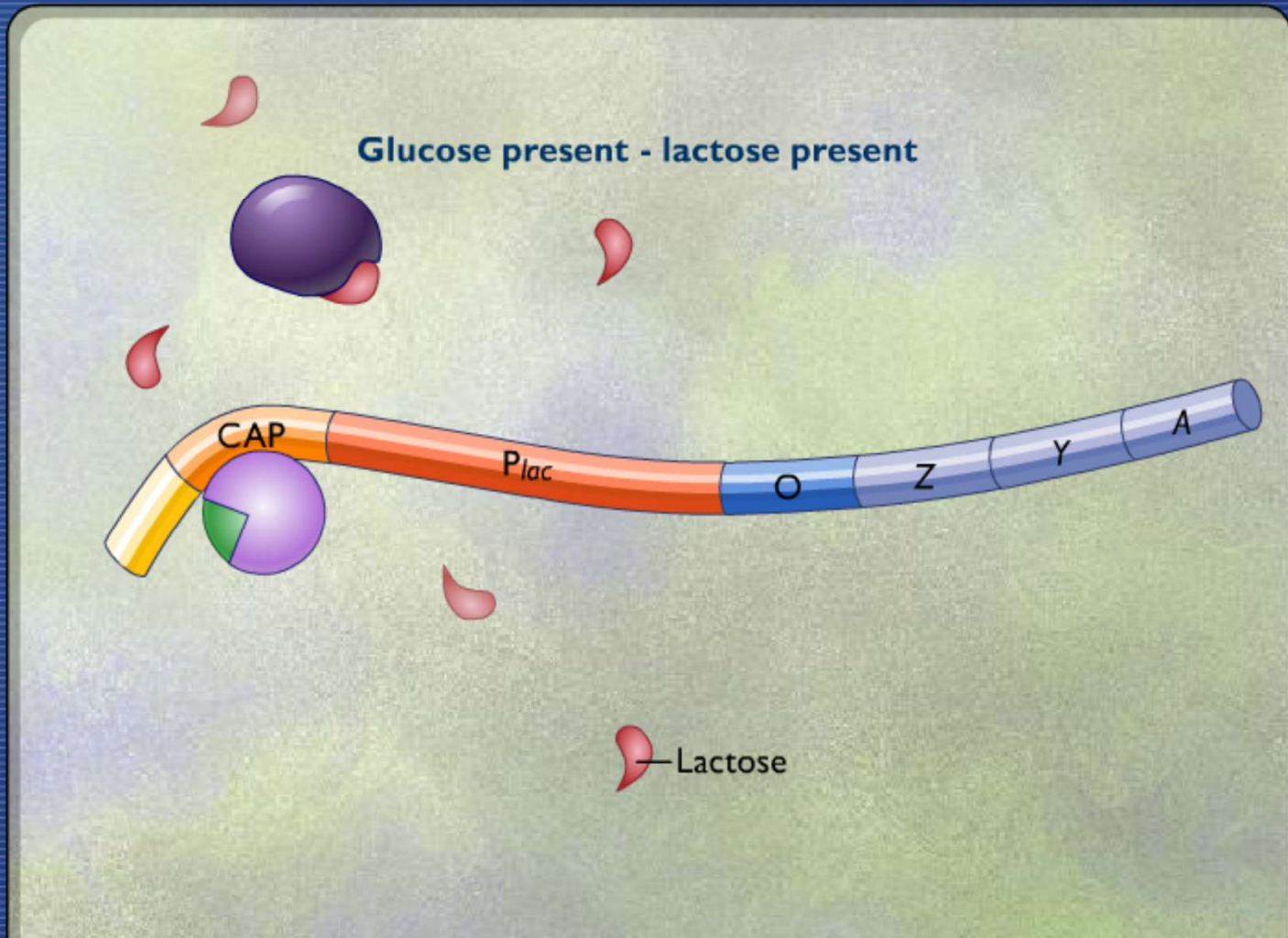
④ 当培养基中**葡萄糖 (-)**、**乳糖 (+)**

阻遏物不与操纵基因结合，**cAMP**处于高水平，**cAMP-CAP**与**CAP**结合位点结合，**结构基因**表达。

无葡萄糖（高cAMP）；有乳糖



# Combination of Switches: the Lac Operon



▶ Play
⏸ Pause
⏪ Audio
📄 Text

When lactose is present, a lactose isomer binds to the repressor and inactivates it. This prevents the repressor from binding to the operator site.

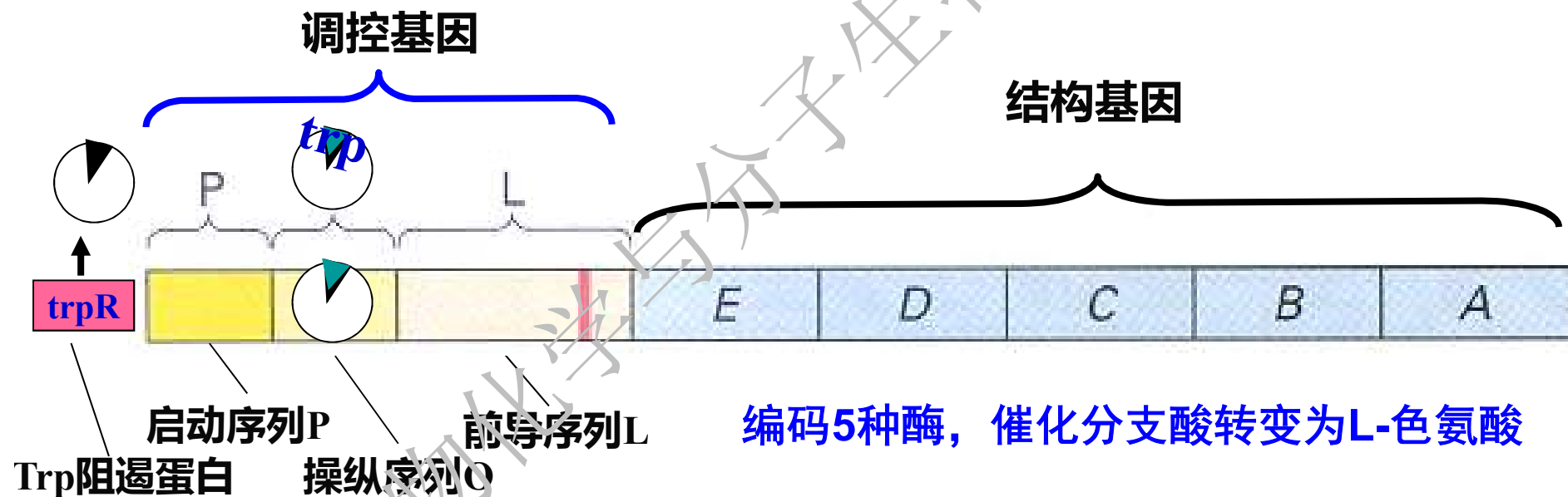
有两个矛盾是操纵子理论所不能解释的：

Q3-1. 诱导物乳糖需穿过细胞膜才能与阻遏物结合，而转运诱导物需透过酶，它的合成需要诱导。

Q3-2. 真正的诱导物是别乳糖而非乳糖，前者是在 $\beta$ -半乳糖苷酶的催化下由乳糖形成的，因此，需有 $\beta$ -半乳糖苷酶的预先存在。

## 二、原核基因转录终止调控

### (一) 色氨酸操纵子(trp operon)的结构



## (二) 色氨酸操纵子的转录调控机制

### 色氨酸操纵子的阻遏调控

#### 阻遏物对色氨酸操纵子的负调控

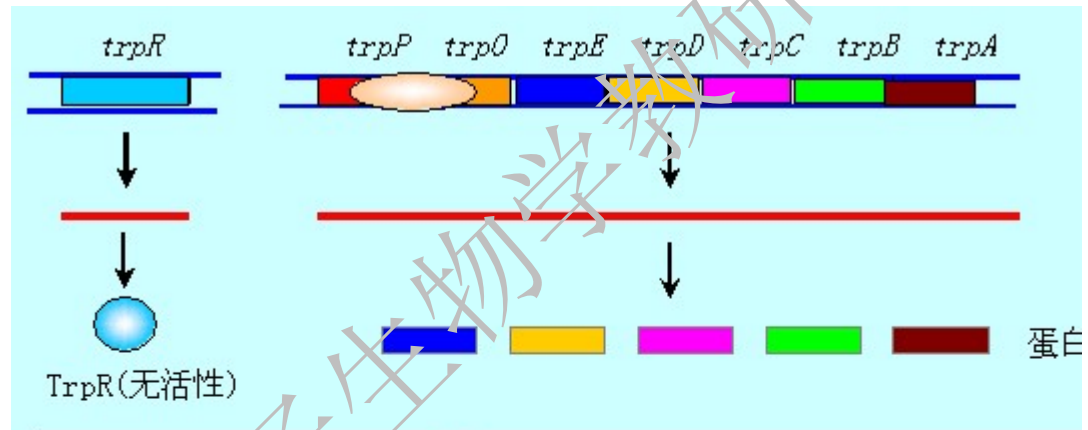
- ①阻遏物：同二聚体阻遏蛋白trpR
- ②阻遏物本身不能与操纵基因O结合，必须和色氨酸结合才能与O结合，而阻遏结构基因的表达
- ③色氨酸是一种共阻遏物

# 色氨酸操纵子的阻遏系统

低Trp时:

阻遏物

不结合操纵基因



高Trp时:

阻遏物+Trp

结合操纵基因

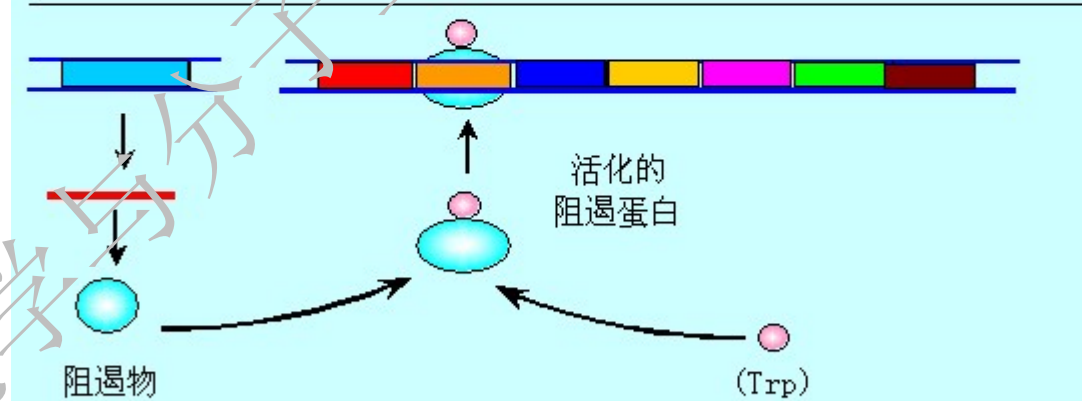
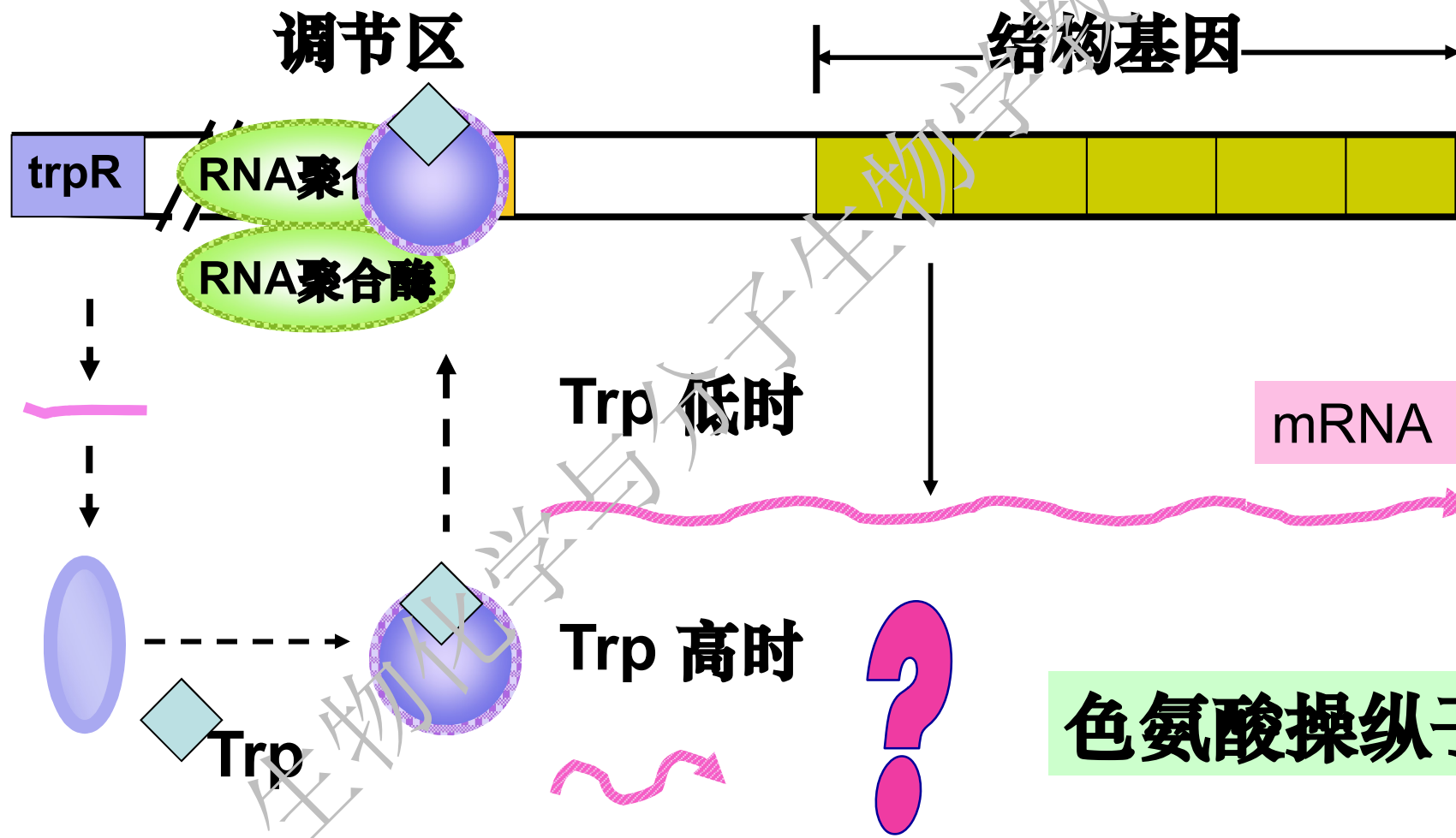
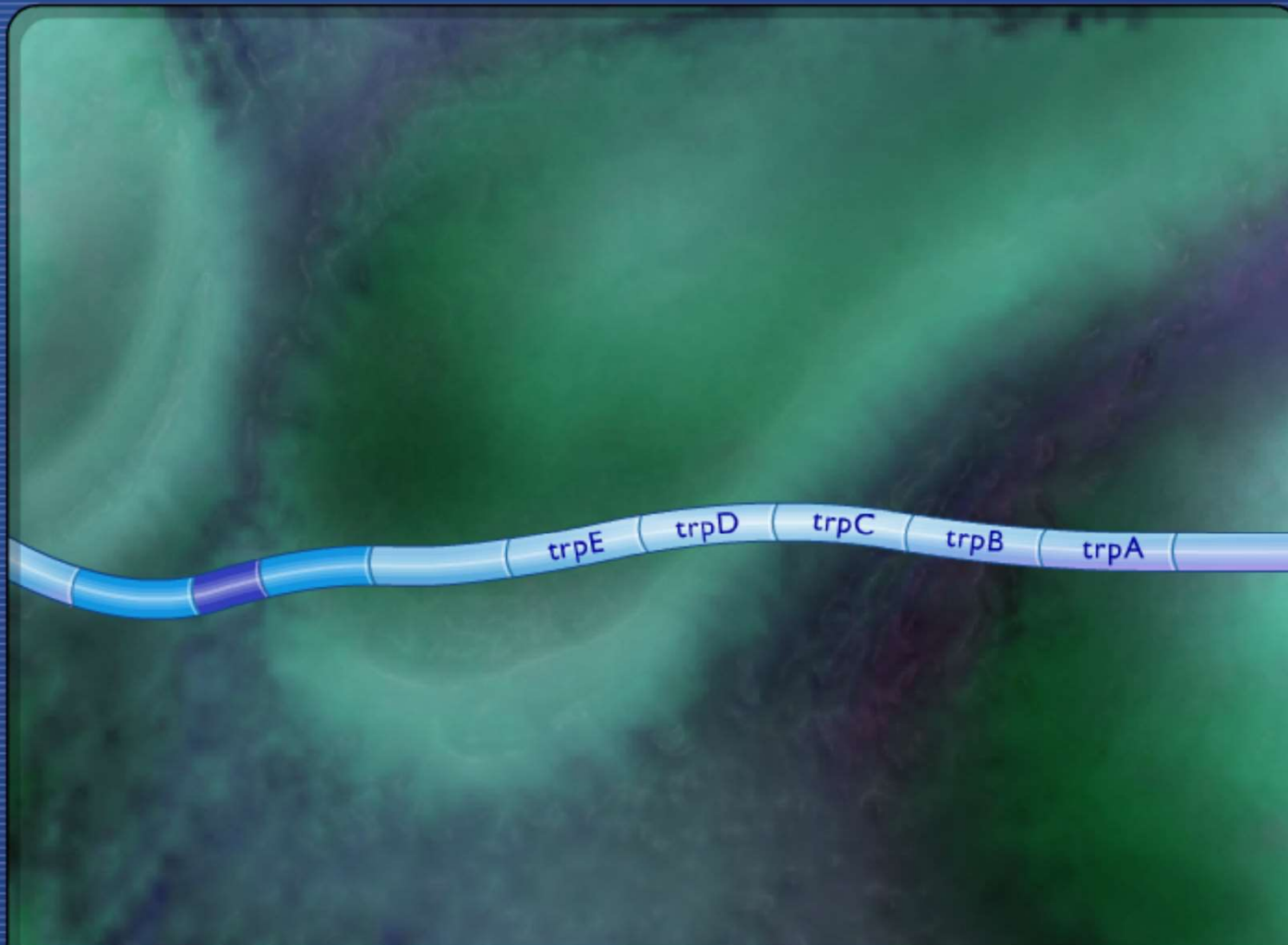


图 16-27 TrpR 被 Trp 激活后可阻遏 *trp* 操纵子的转录  
(仿 B.Lewin: 《GENES》 IV, 1990, Fig. 13.16)

# 阻遏调控



# The Tryptophan Repressor

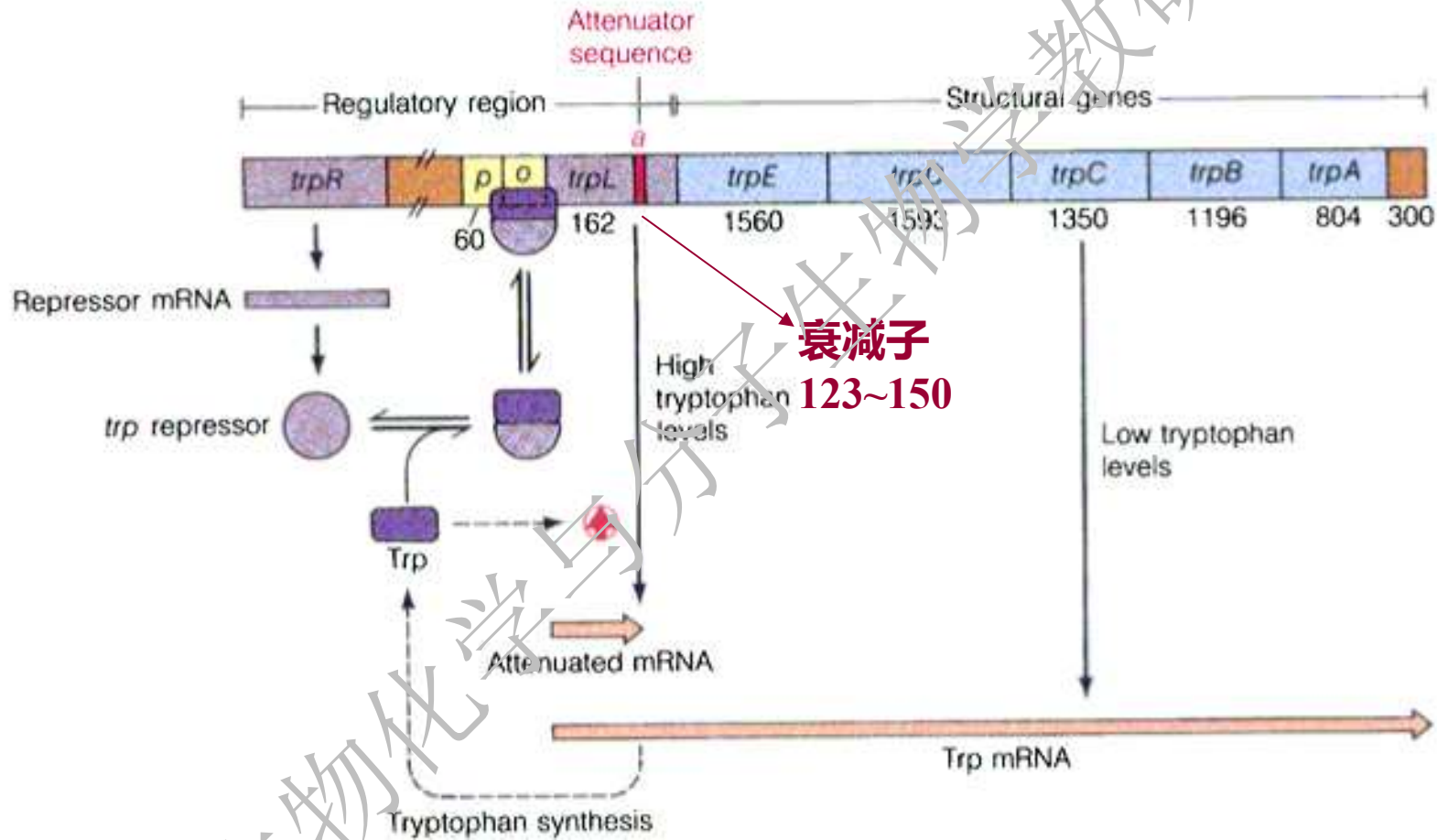


▶ Play
⏸ Pause
◀ Audio
☰ Text

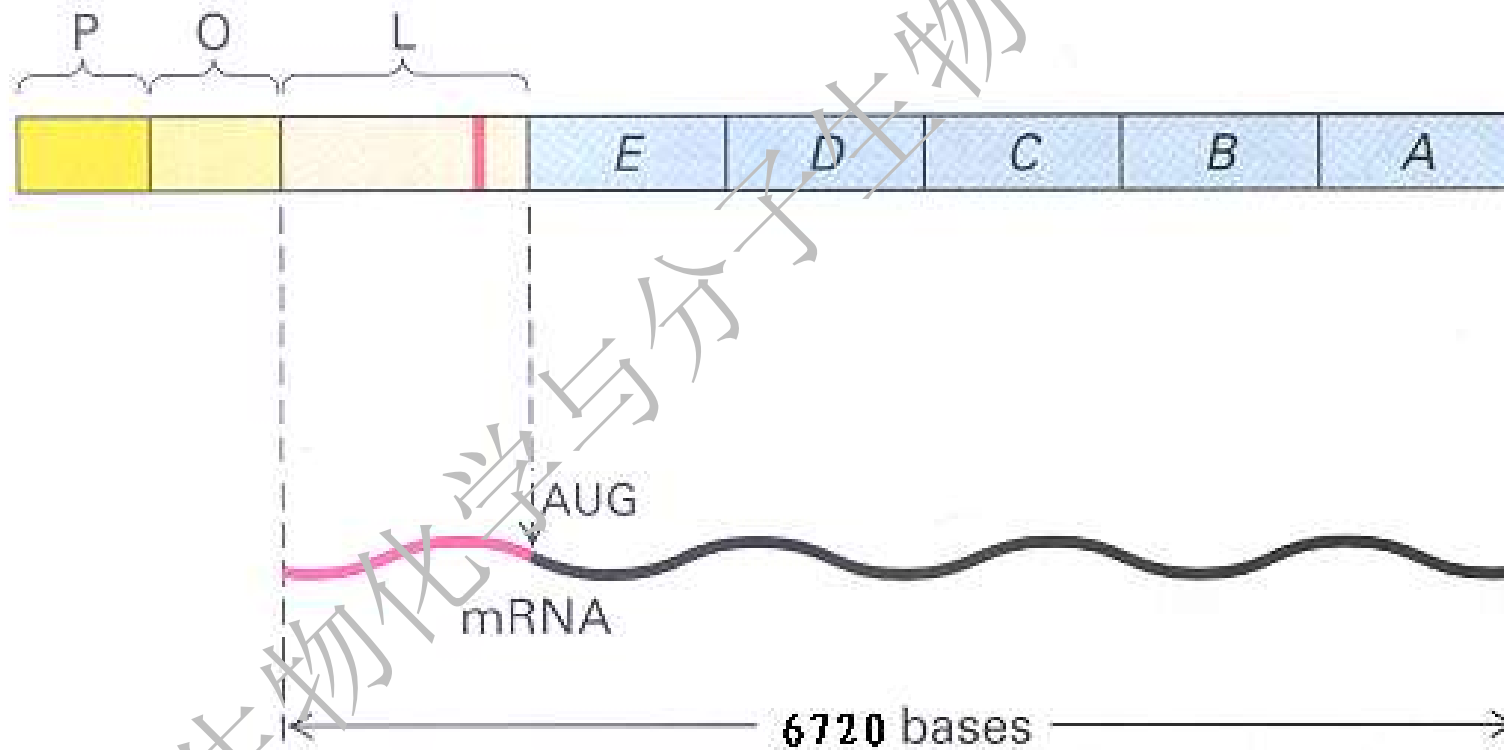
In the bacterium *Escherichia coli*, a group of five genes code for enzymes required to synthesize the amino acid tryptophan. All five genes are transcribed together as a unit called an operon.



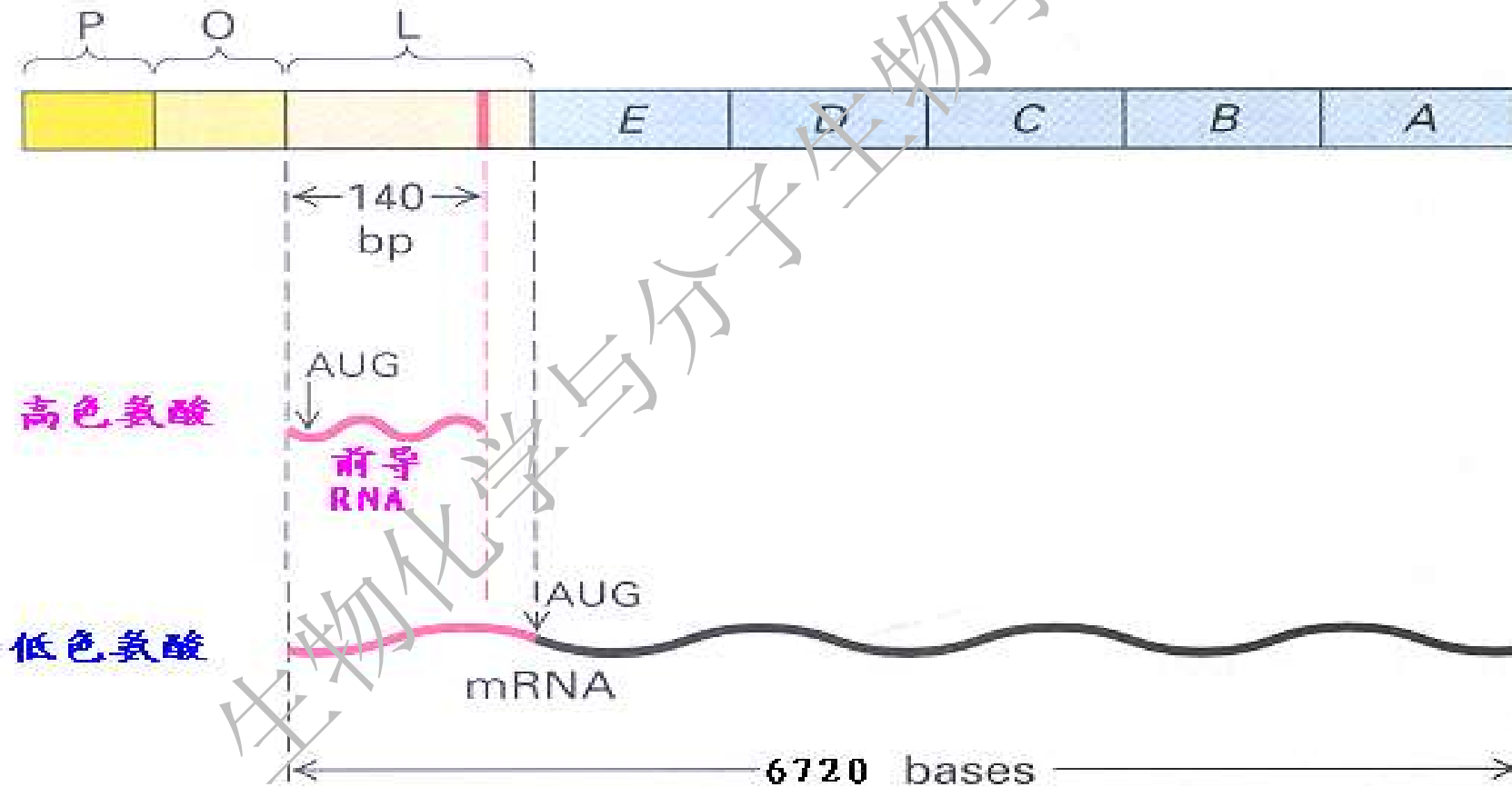
# 色氨酸操纵子的衰减调控

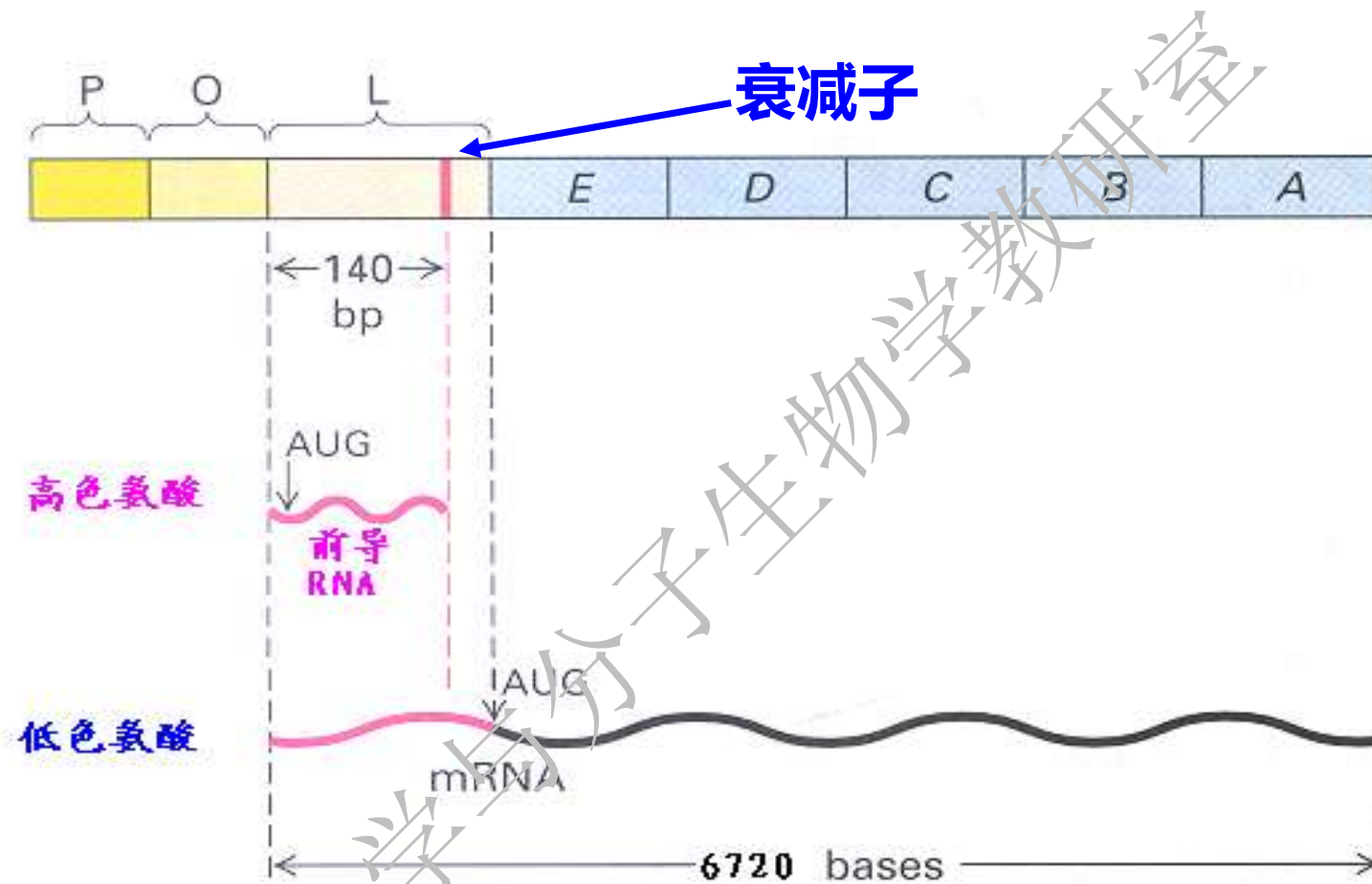


在无或低色氨酸环境中培养时，能转录产生具有6720 bp个核苷酸的全长多顺反子mRNA，包括L基因和结构基因。

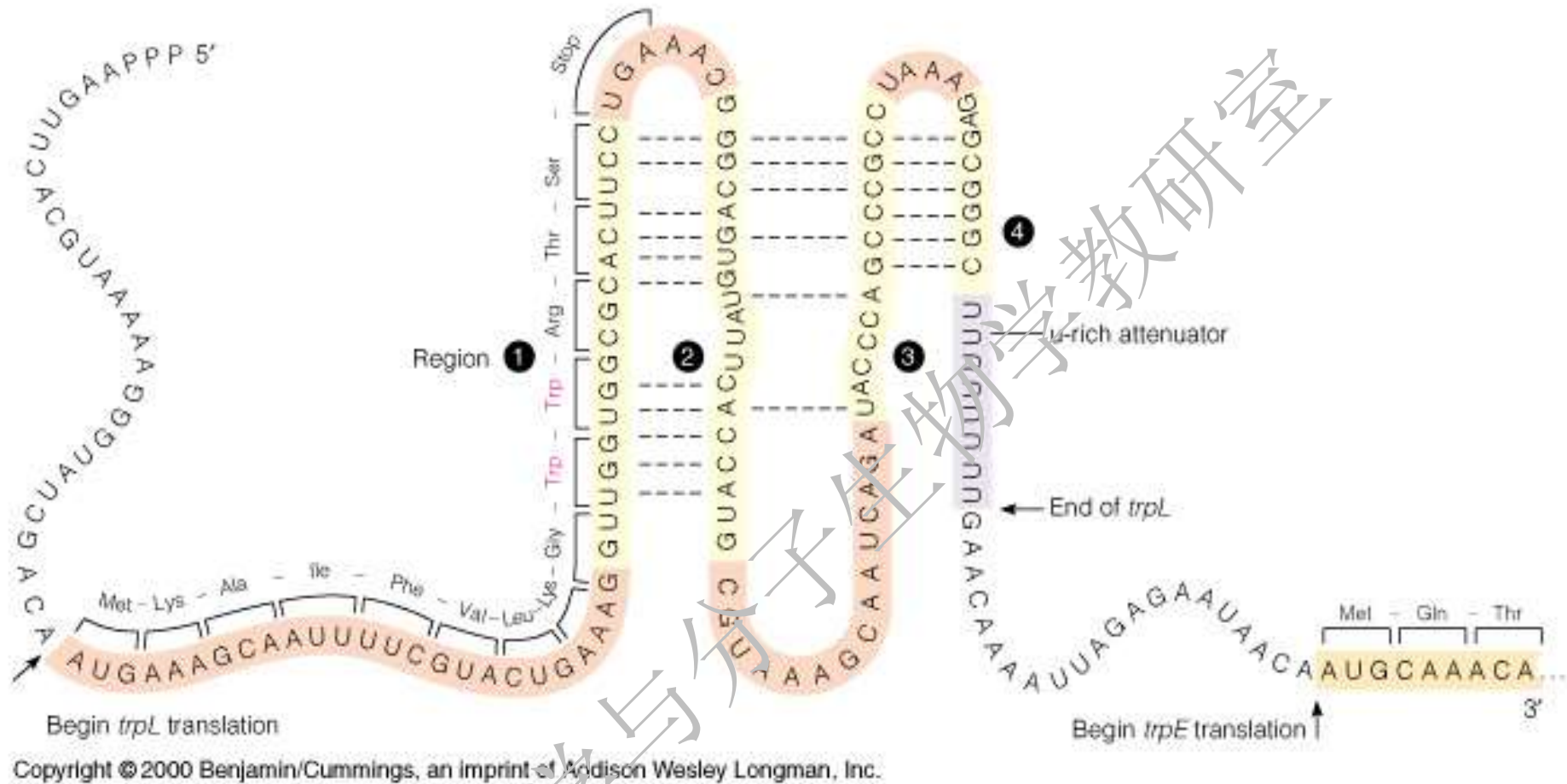


色氨酸浓度增高时，上述多顺反子mRNA合成减少，但L基因5'端部分的140个核苷酸的转录产物并没有减少，称为**衰减子转录产物**。



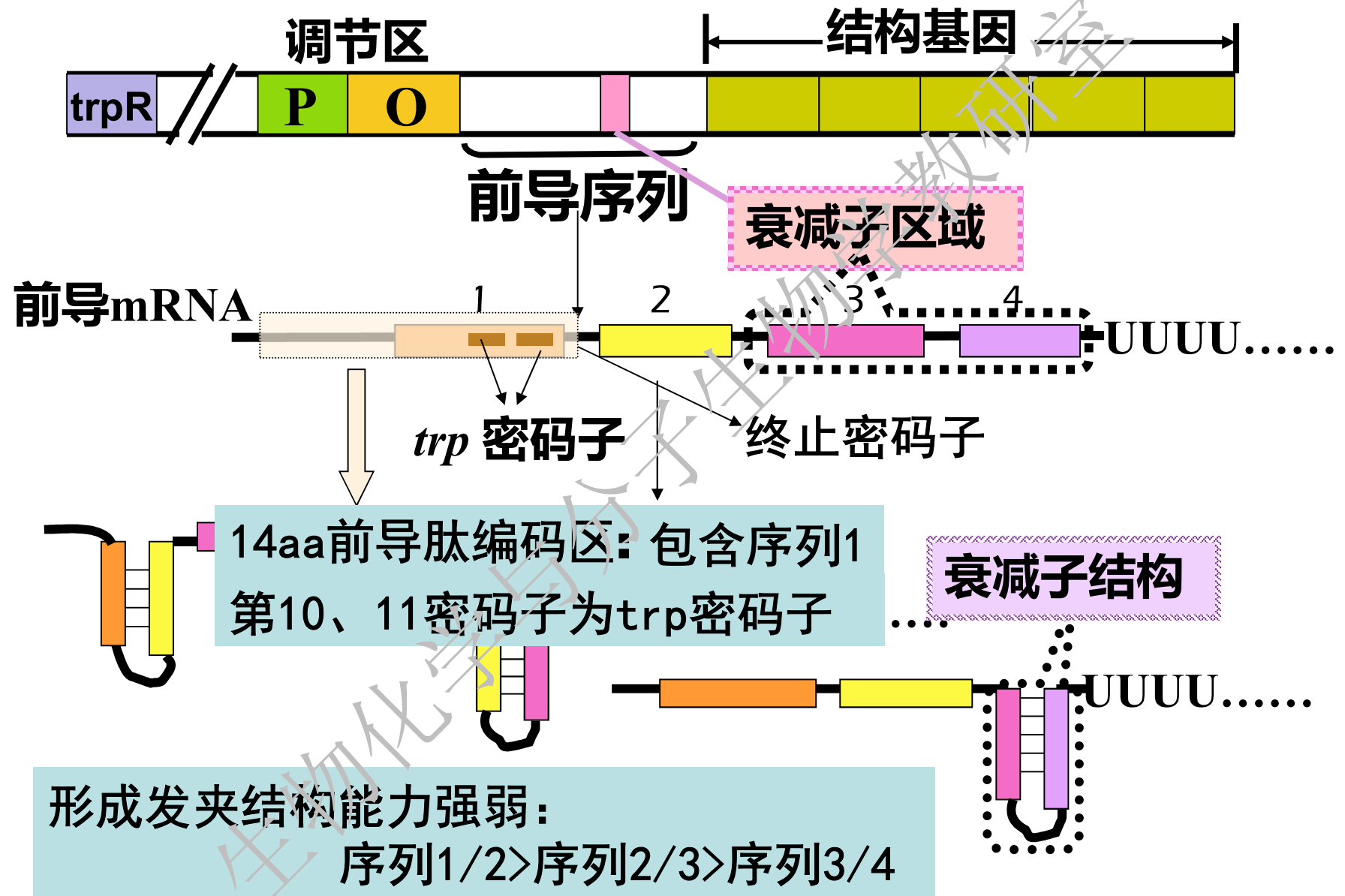


此现象是由**衰减子**造成的，而不是阻遏物-共阻遏物的作用所致。

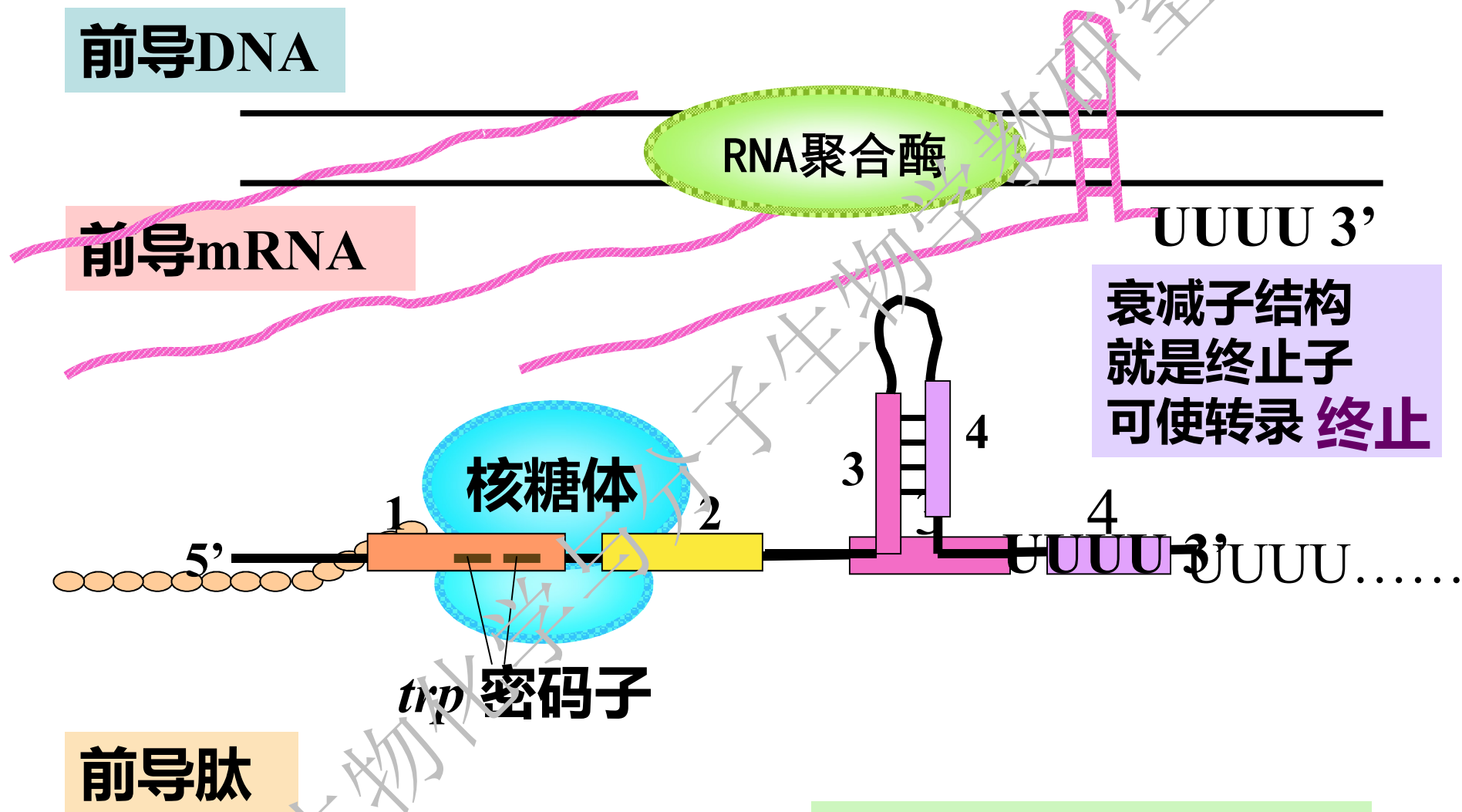


**前导序列：**5'端

**具有典型的终止子特点：**该区mRNA经自我配对形成茎-环结构。



# 转录衰减机制



1. 当色氨酸浓度高时

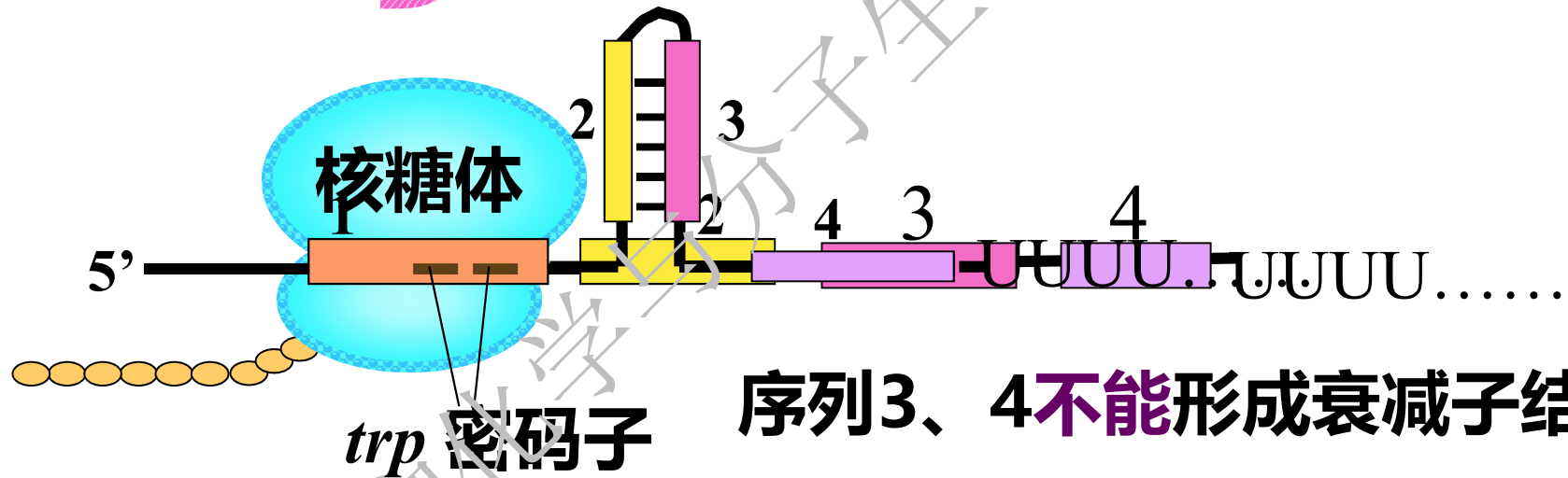
# Trp合成酶系相关 结构基因被转录

前导DNA

前导mRNA

RNA聚合酶

结构基因

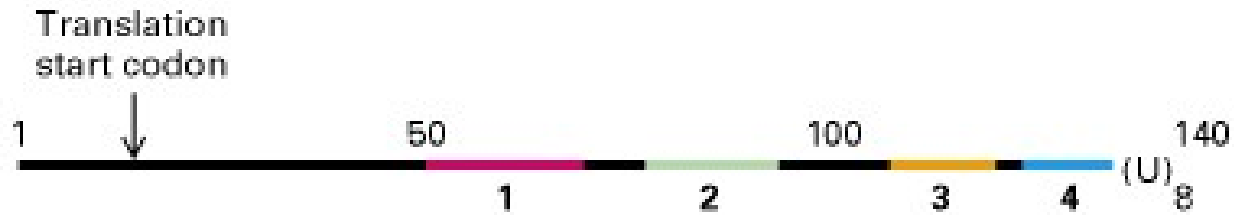


前导肽

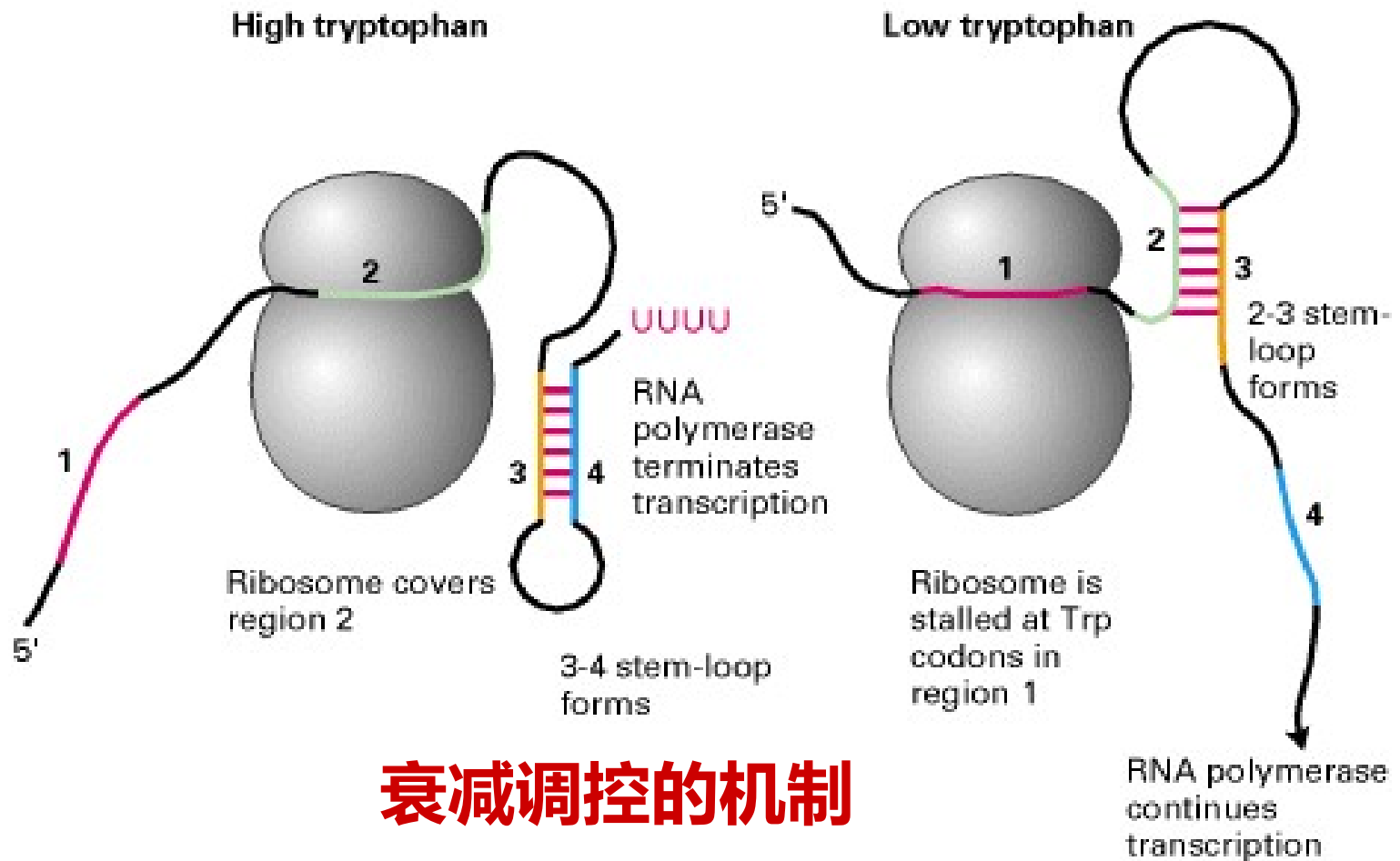
2.当色氨酸浓度低时



(a) *trp* leader RNA



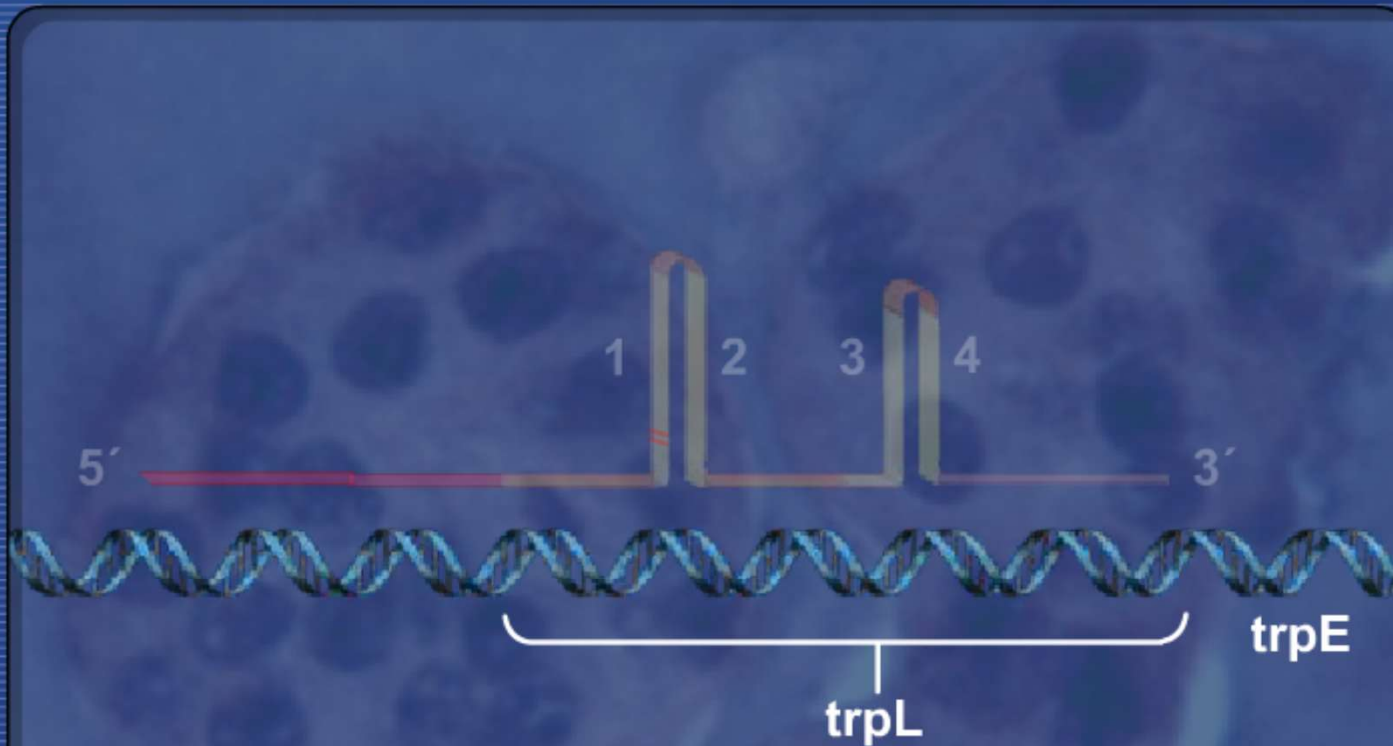
(b) Translation of *trp* leader



# 衰减调控的重要意义

1. 通过衰减调控弥补阻遏作用的不足，因为阻遏作用只能使转录不起始，对于已经起始的转录，只能通过衰减调控使之中途停下来。
2. 阻遏作用的信号是细胞内色氨酸的多少；衰减调控的信号则是细胞内色氨酰-tRNA的多少。
3. 通过前导肽的翻译来控制转录的进行，在细菌体内两种作用相辅相成，体现了生物体内周密的调控作用。

# Attenuation



Play



Pause



Audio



Text

Two adjacent tryptophan codons in region 1 determine whether or not stalling will take place there.

## 三、原核基因翻译水平上的调控

---

### (一) mRNA翻译能力的差异调控

- mRNA密码子的编码频率影响翻译的延伸速度

## mRNA密码子的编码频率影响翻译的延伸速度

几种蛋白质中异亮氨酸密码子使用频率比较

稀有密码子

蛋白质	AUU/%	AUG%	AUA%
结构蛋白	37	62	1
$\sigma$ 亚基	26	74	0
DnaG蛋白	36	32	32

稀有密码子对翻译的影响

dnaG (引物酶)  $\longrightarrow$  RNA引物

细胞内对应于稀有密码子的tRNA较少，高频率使用这些密码子的基因翻译过程容易受阻，影响了蛋白质合成的总量。

## (二) 翻译起始调控

- **SD序列**：mRNA上起始密码子AUG上游8-13 nt的一段非翻译区。
- 核糖体与其结合的强度取决于**SD序列的结构**、其与起始密码子**AUG**之间的距离以及**mRNA二级结构**对SD序列的影响。

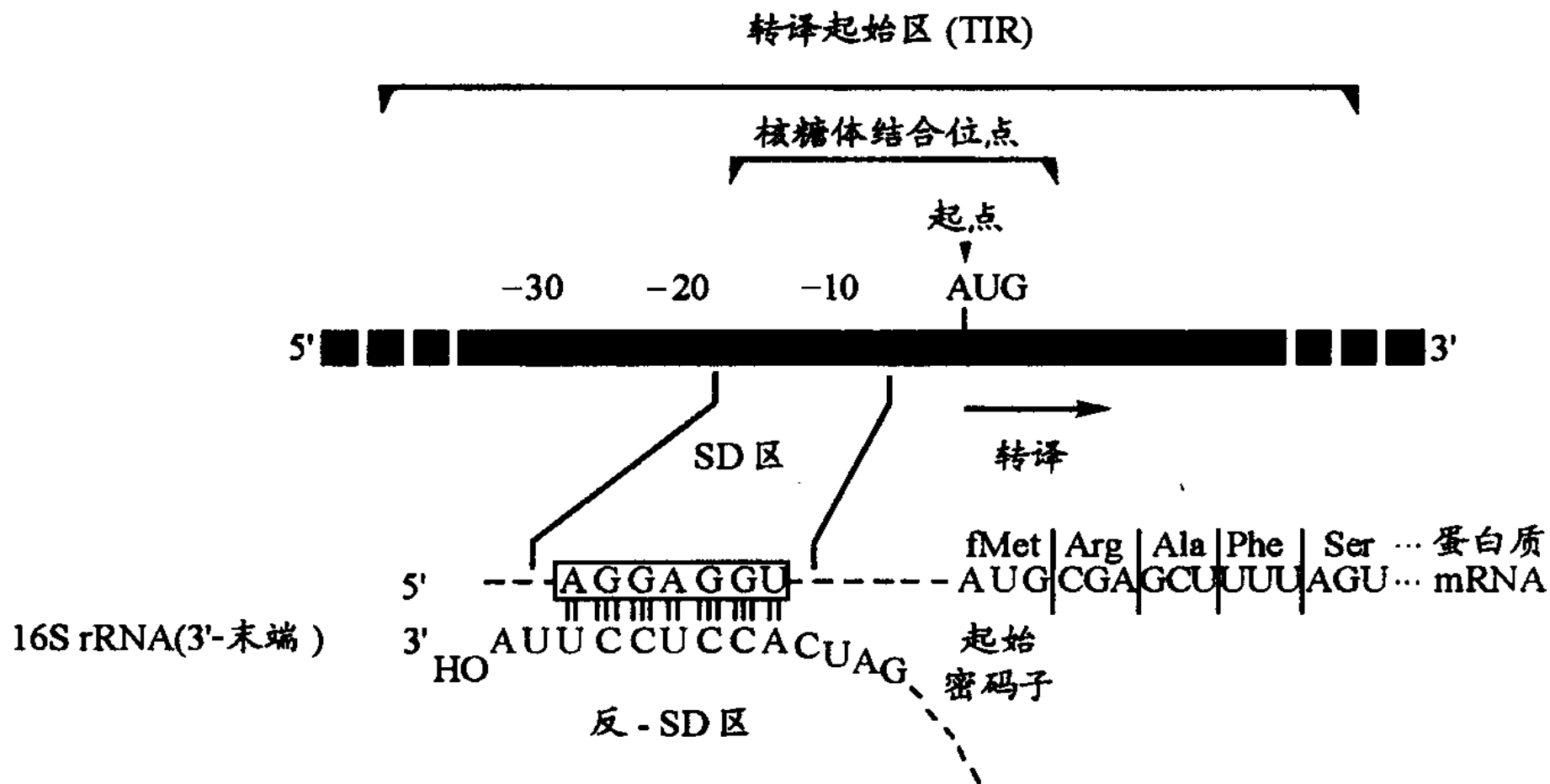


图 7-13 原核基因转译起始区(TIR)的结构

图中示出了 TIR 和核糖体结合位点之间的关系。核糖体结合位点的最小范围包括 SD 序列(加方框表示)和起始密码子,以及两者之间的碱基。在通常情况下,TIR 的范围要超过核糖体结合位点。SD 序列是同 16S rRNA 3'-末端的反-SD 区互补的

### (三) 核糖体蛋白与rRNA的合成互相协调

- 原核生物的16S rRNA与21种核糖体蛋白（简称r-蛋白）组成核糖体小亚基；5S和23S rRNA与31种r-蛋白组成大亚基。大、小亚基在翻译起始组合为70S核糖体。
- 蛋白质合成是生存的最基本需要，细胞内严格控制rRNA和r-蛋白的比例。

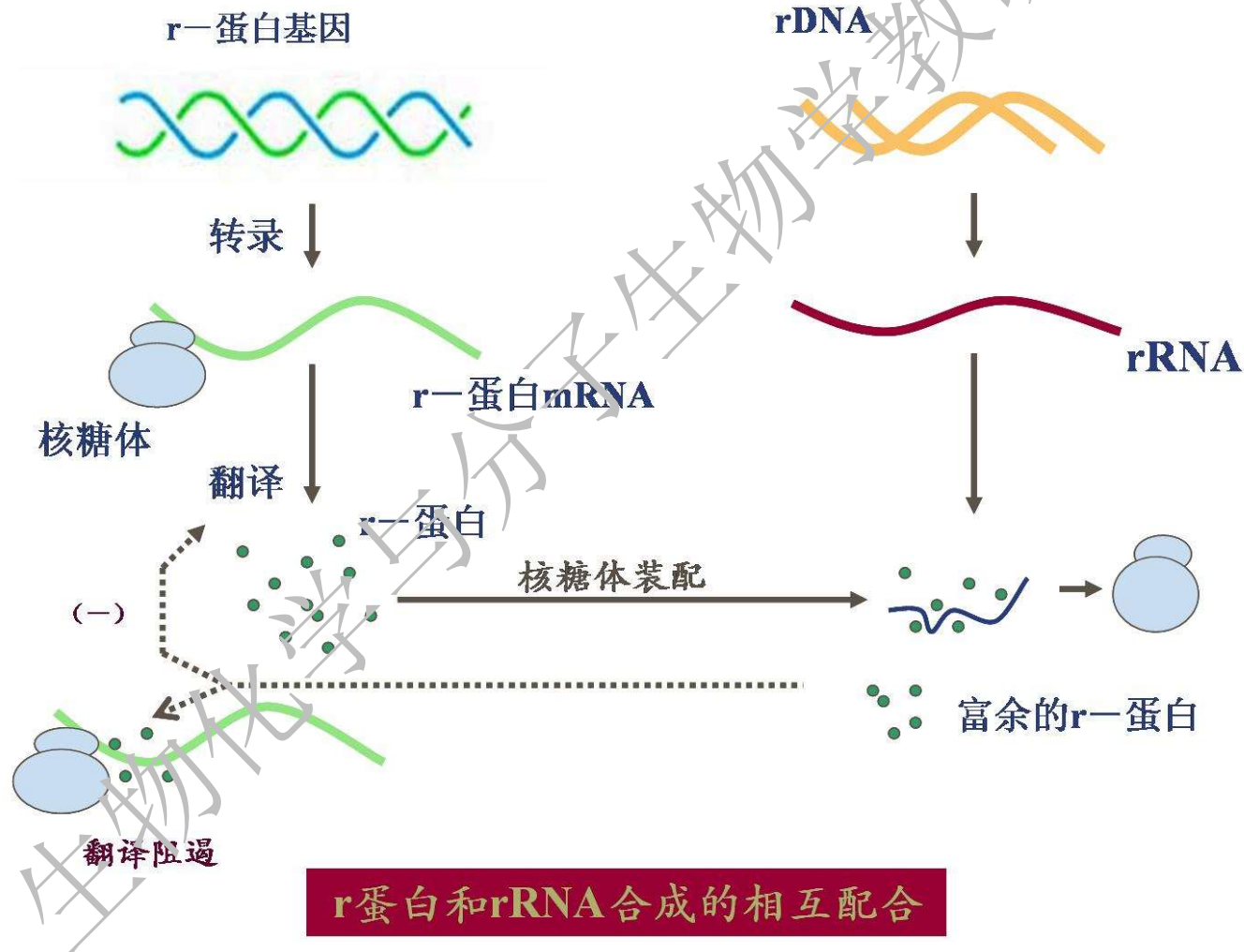


- r-蛋白基因在各个操纵子上转录为多顺反子。

### 核糖体蛋白基因与RNA pol 亚基基因的多顺反子

操纵子	基因簇	表达产物
<i>rif (rpoBC)</i>	<i>rpL-K-A-J-L-rpoB-rpoC</i>	L-11-1-10-12-RNApol-B-B
<i>rpoA</i>	<i>rpsM-K-D-rpoA-rpL-Q</i>	S13-11-4-RNApol-O-L-17
<i>spc</i>	<i>rpL-N-X-E-rpsN-H-rpL-F-R-rpsE-rpL-D-O</i>	L14-24-5-S14-8-L6-18-S-5-L-30-15

- 这类操纵子有转录-翻译偶联调控现象，称为自我调节 (autogenous control)。



## (四) 翻译终止因子RF2合成的自我调控

- RF2编码340aa，其密码子不是连续的，第25位和第26位间多了一个U，可与第26位头两个核苷酸组成终止密码子UGA，为RF2识别。
- RF2充足时，RF2可识别UGA而终止翻译，合成25个aa的短肽；RF2不足时，核糖体以+1移码机制将第26位翻译为Asp，完成整个RF2的翻译，由RF1释放。

## (五) 反义RNA (antisense RNA)

- 天然存在的一种小分子RNA。
- 与mRNA互补区段而相互结合。结合在调控区，可干扰转录；结合编码区则阻止翻译。

# 主要内容

1

基因表达调控概论

2

基因表达调控的规律

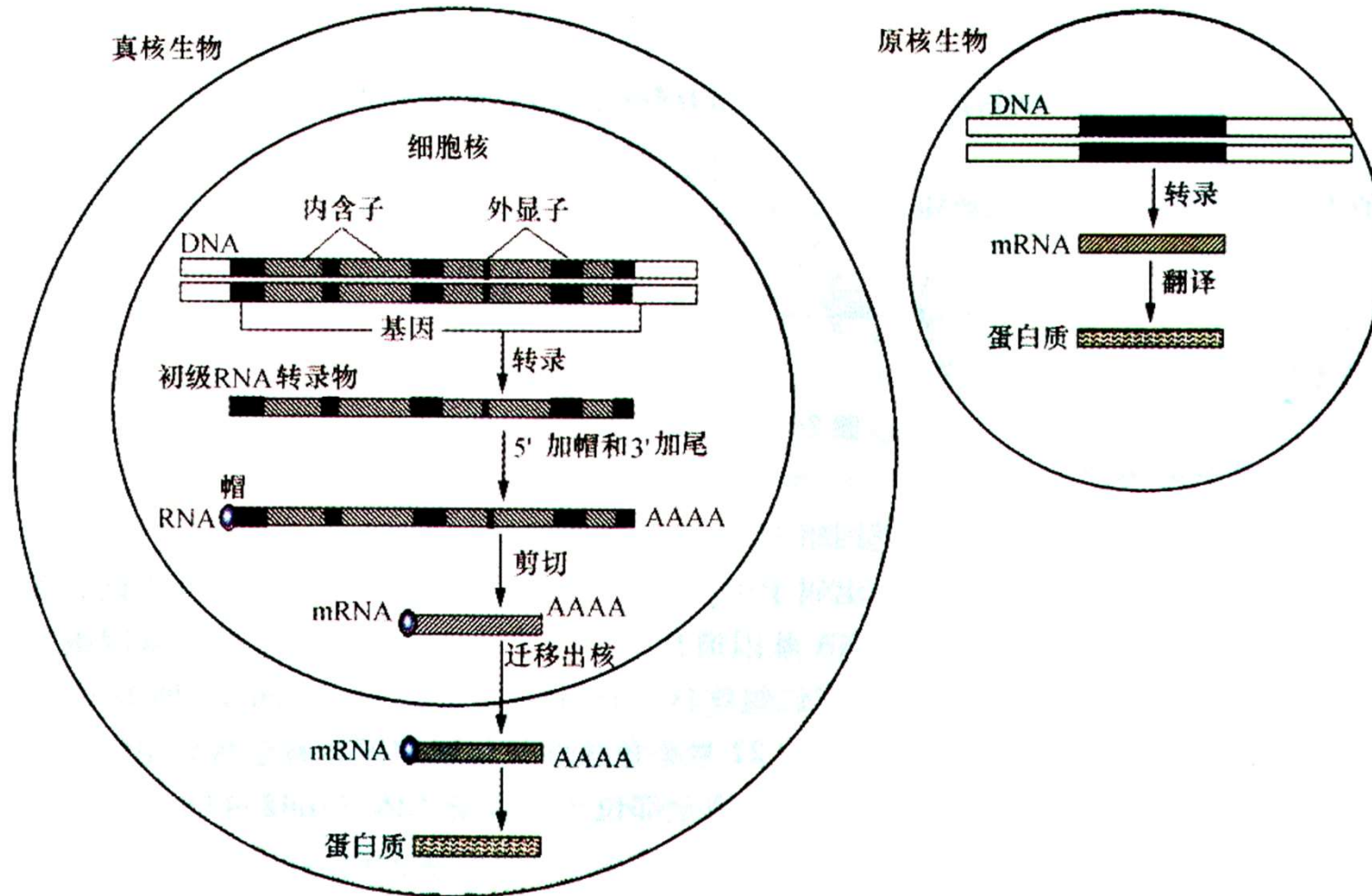
3

原核生物的基因表达调控

4

真核生物的基因表达调控

# 真核与原核基因表达的区别



# 基因表达的多级调控

基因激活  
拷贝数  
重排  
甲基化程度

转录起始  
转录后加工  
mRNA降解

蛋白质翻译速度  
翻译后加工修饰  
蛋白质降解

# 真核基因表达调控

---

---

- ▶ **染色质结构**直接影响基因转录
- ▶ **转录速度**决定RNA合成效率
- ▶ **转录后**仍可控制mRNA的结构和功能
- ▶ **翻译水平**的调控决定蛋白质合成速度



# 一、染色质结构对转录的调控

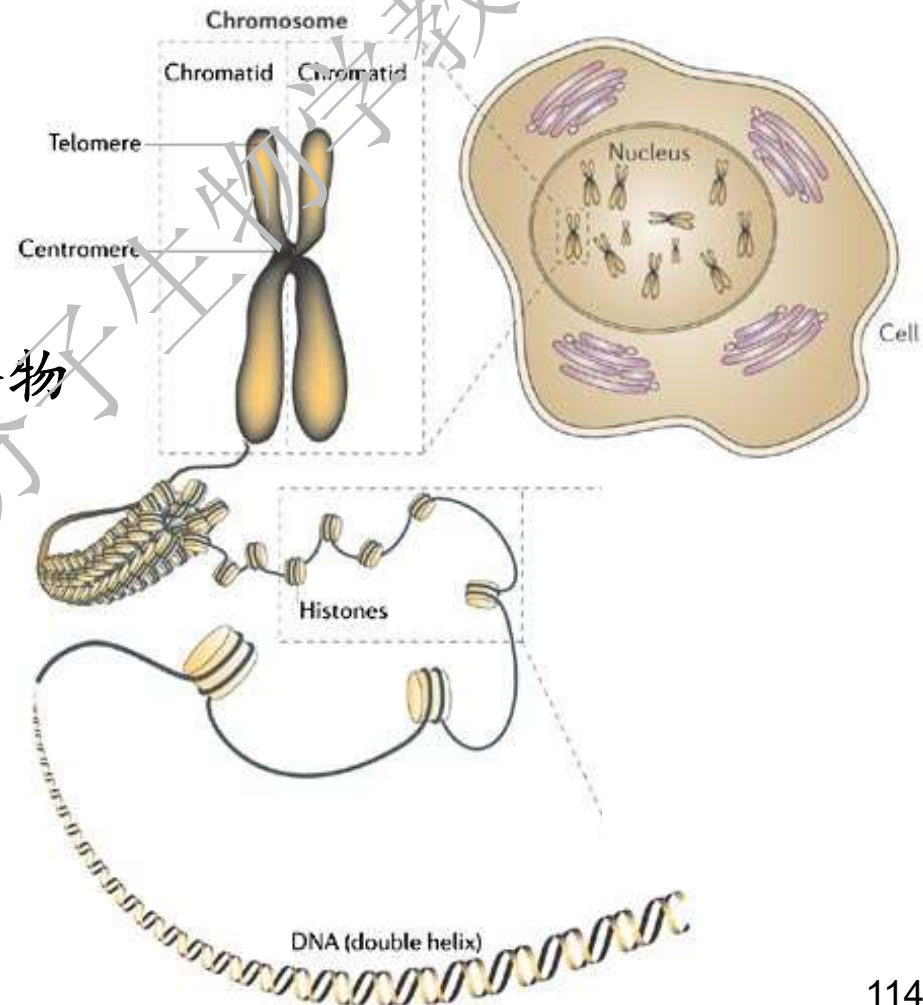
## (一) 染色质结构

异染色质(heterochromatin)

结构紧密，不允许转录复合物  
进入，不能转录

常染色质(euchromatin)

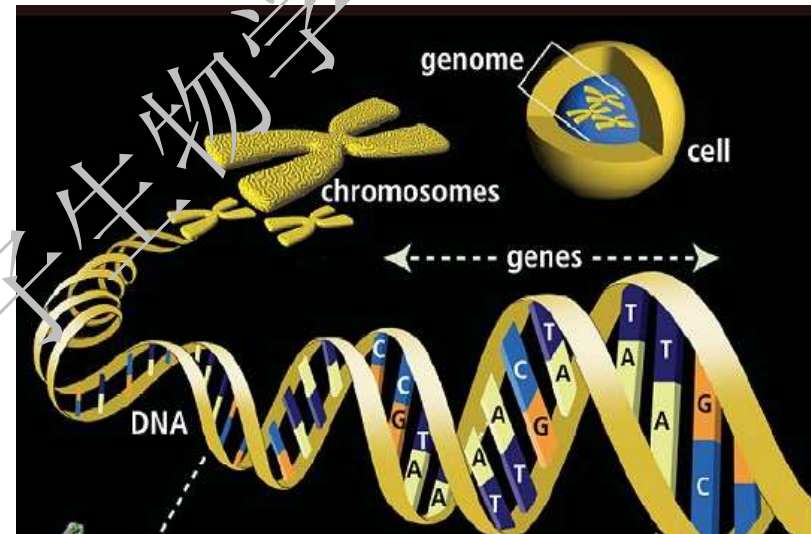
包含可转录的基因



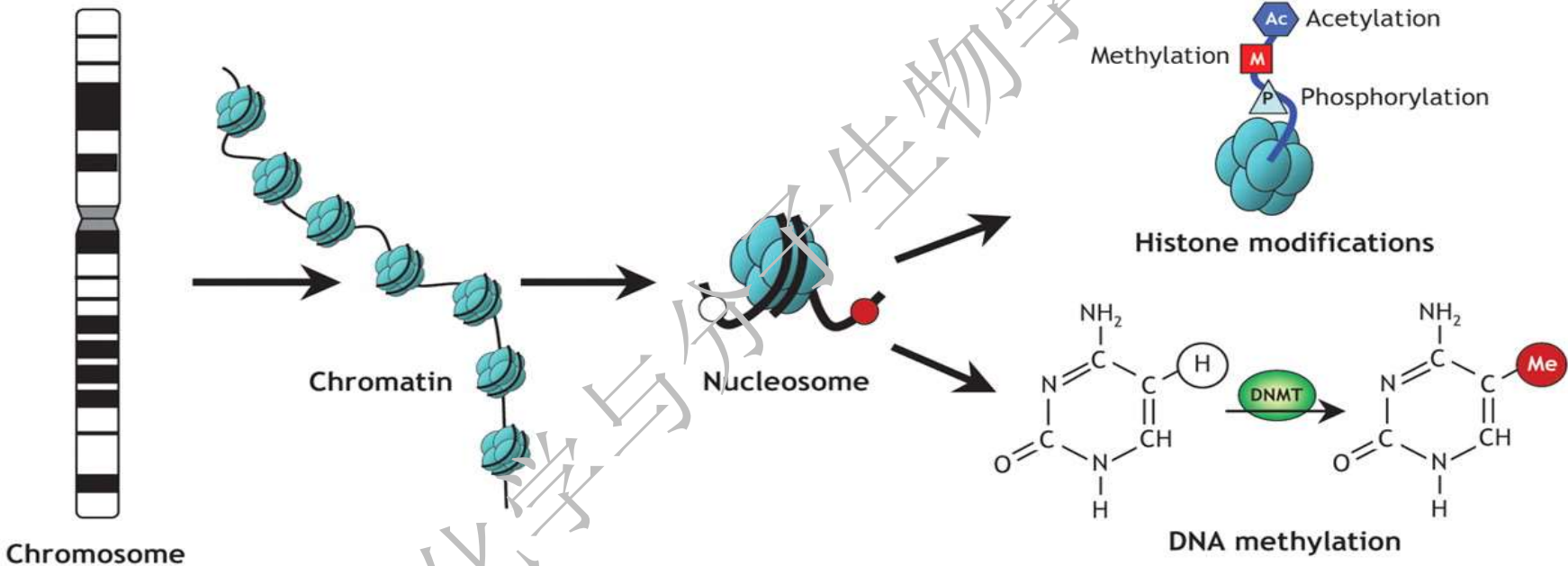
转录活化染色质与非活化染色质在结构上有很大不同。

### 转录活跃区域的特点

- 核小体结构松弛、缺失
- 对核酸酶敏感
- CpG岛低甲基化
- 组蛋白乙酰化、磷酸化、甲基化等修饰增加



➤ 染色质结构改变



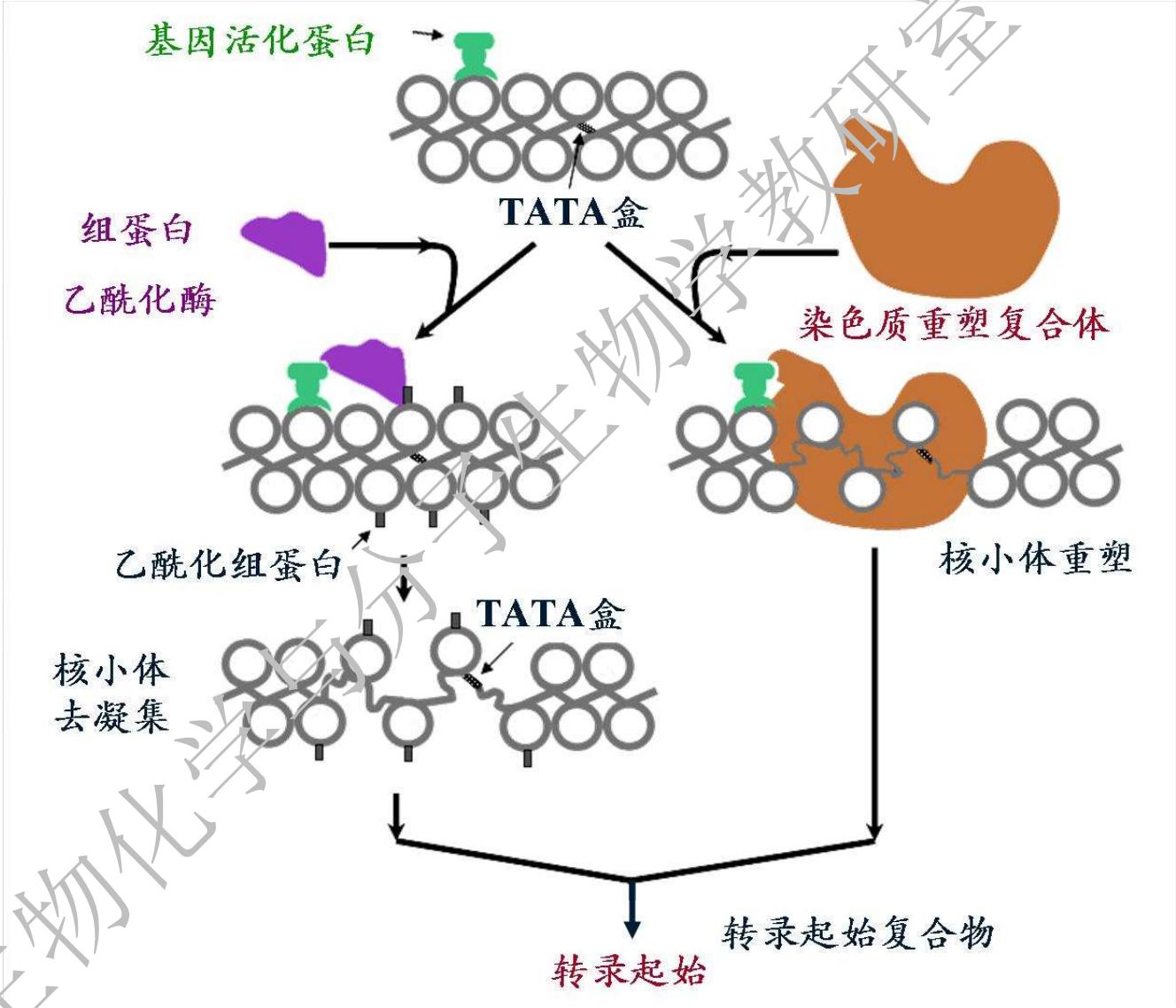
- **染色质重塑 (chromatin remodeling)**

基因活化蛋白质可以通过改变基因的启动子和调节序列区域的染色质结构，来促进转录开始。这种改变局部染色质结构的过程被称为**染色质重塑**。

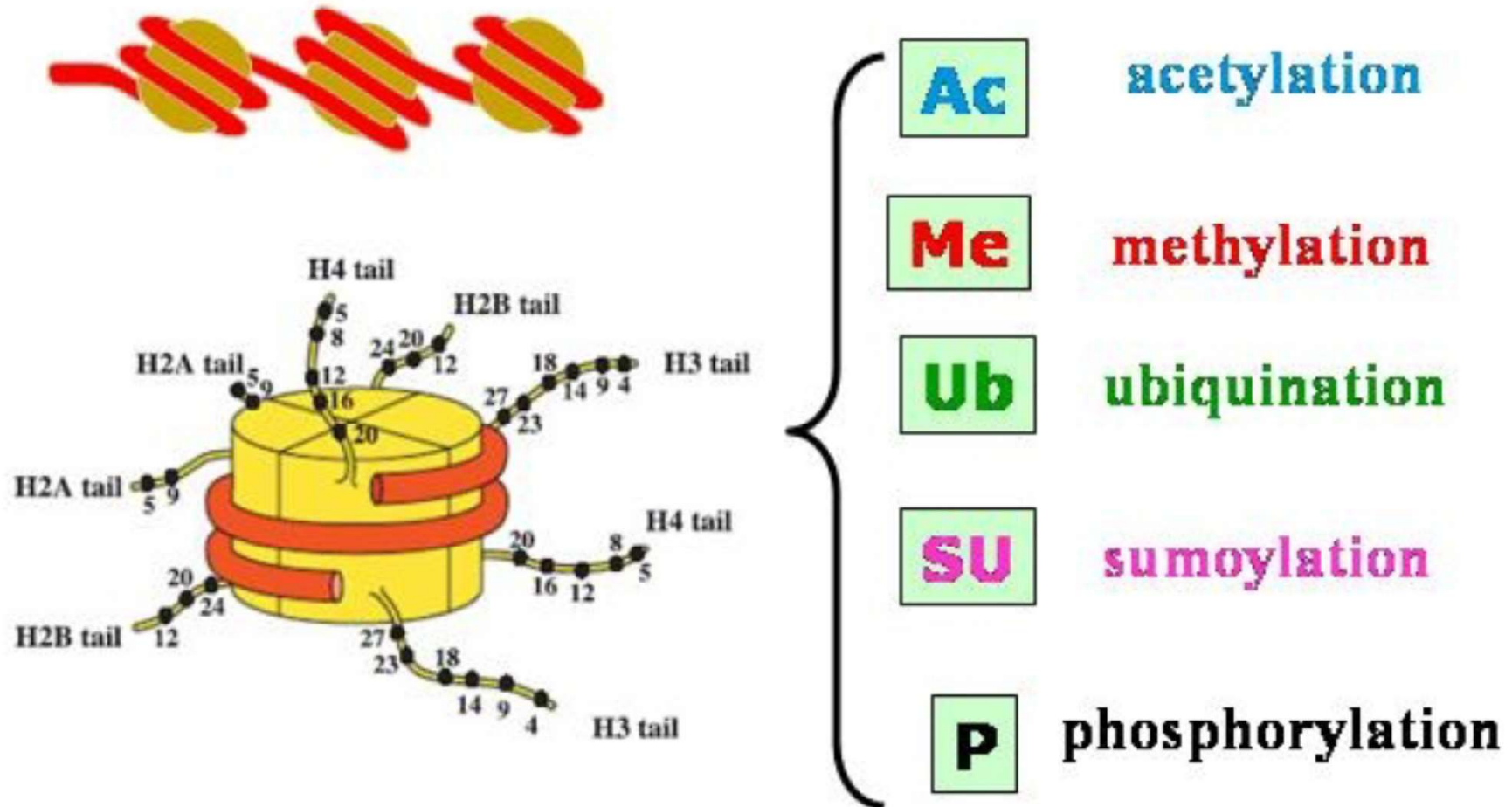
- **最主要的两种方式：**

{ **组蛋白的共价修饰**  
**核小体重塑 (nucleosome remodeling)**

染色质重塑



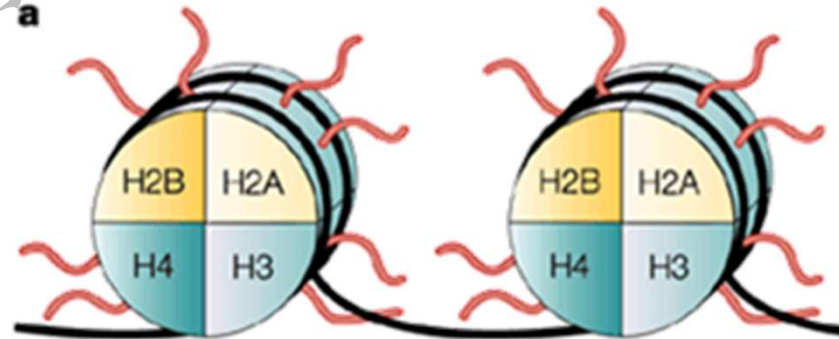
## (二) 组蛋白修饰活化局部染色质



## • 组蛋白乙酰化 (Histone acetylation)

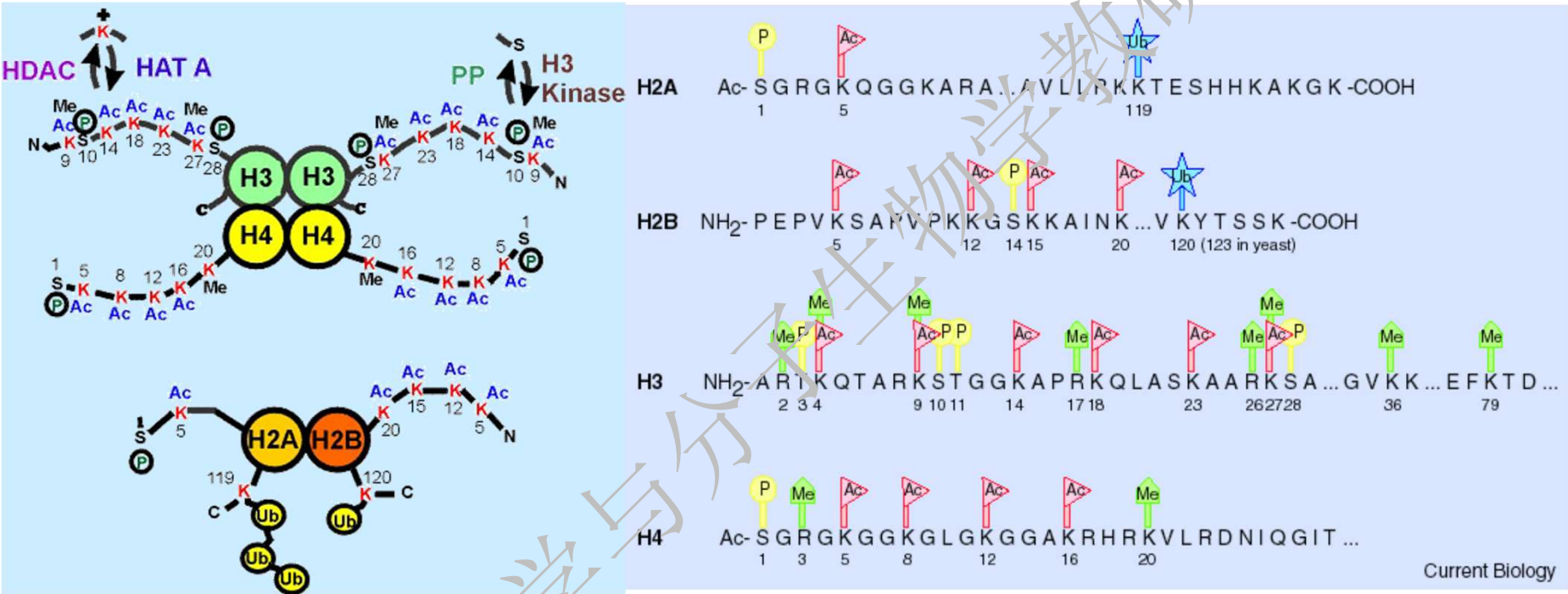
- 组蛋白乙酰基转移酶, Histone acetylase, HAT
- 组蛋白去乙酰基酶, Histone deacetylase, HDAC

- 中和正电荷
- 消除组蛋白与DNA的离子键结合
- 松弛染色质
- 活化转录



# Histone code hypothesis

## 组蛋白密码假说



The histone code hypothesis predicts that the **post-translational modifications** of histones, **alone or in combination**, function to **direct specific and distinct DNA-templated programs**.



## 组蛋白修饰对染色质结构与功能的影响

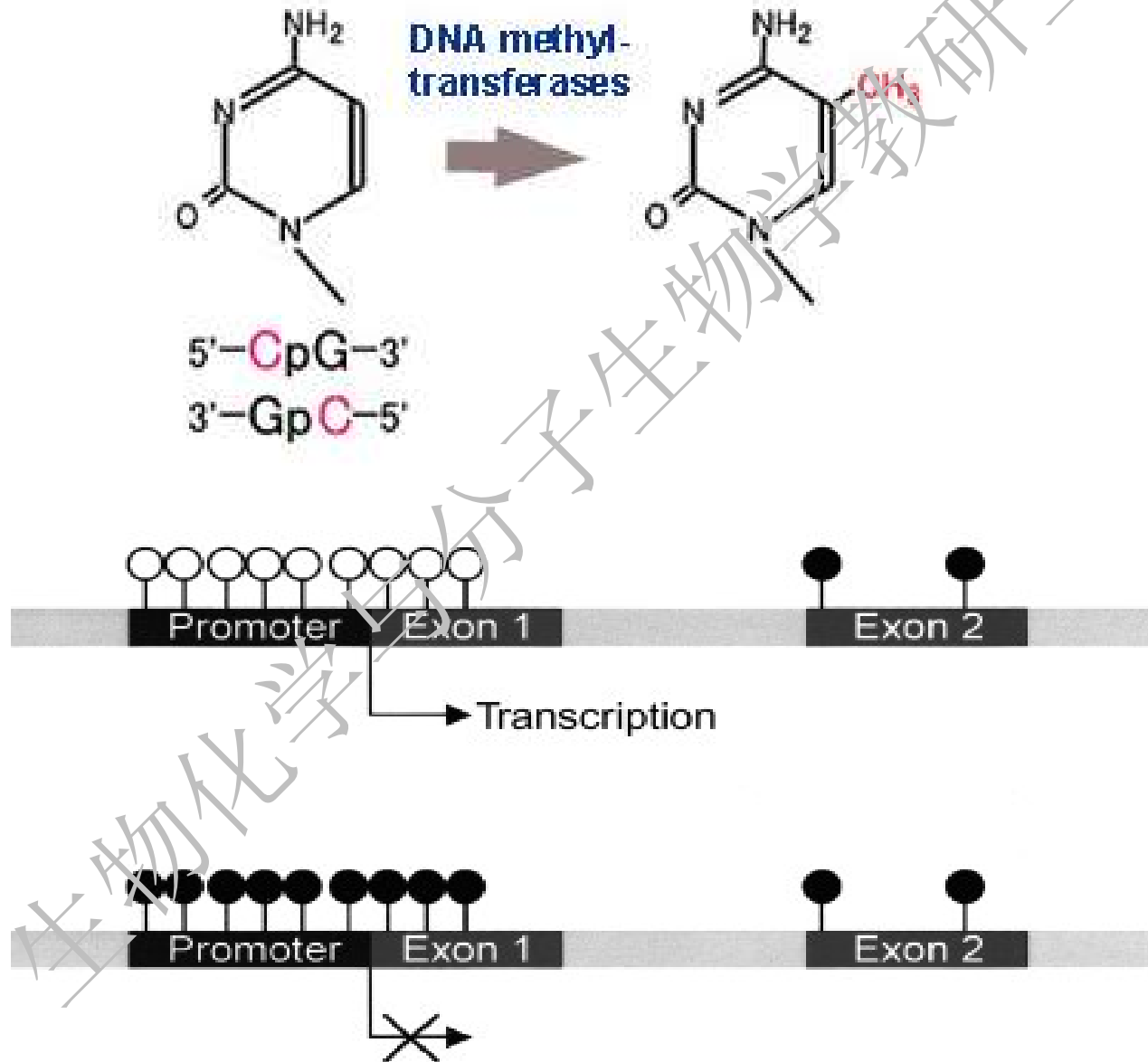
组蛋白	氨基酸残基位点	修饰类型	功能
H3	Lys-4	甲基化	激活
H3	Lys-9	甲基化	染色质浓缩
H3	Lys-9	甲基化	DNA甲基化所必需
H3	Lys-9	乙酰化	激活
H3	Ser-10	磷酸化	激活
H3	Lys-14	乙酰化	防止Lys-9的甲基化
H3	Lys-79	甲基化	端粒沉默
H4	Arg-3	甲基化	
H4	Lys-5	乙酰化	装配
H4	Lys-12	乙酰化	装配
H4	Lys-16	乙酰化	核小体装配
H4	Lys-16	乙酰化	Fly X激活

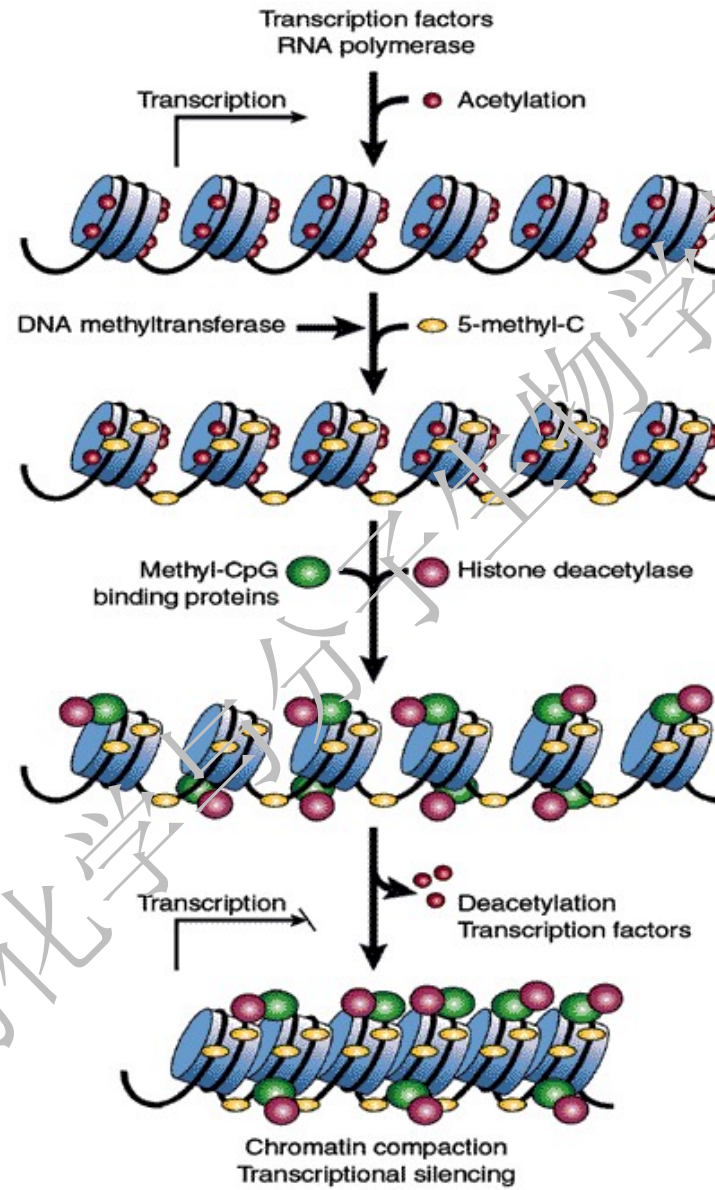
### (三) 转录活性基因启动子区甲基化程度低

#### DNA甲基化是真核生物在染色体水平调控 基因转录的重要机制

- DNA中的胞嘧啶约5%被甲基化为5-甲基胞嘧啶，但转录活性染色质区启动子上CpG岛甲基化程度降低。
- 甲基化范围与基因表达程度呈反比，甲基化促进染色体形成致密结构，不利于基因表达。

• DNA甲基化 (DNA methylation)





# 表观遗传学(epigenetics)

- 表观遗传学一词，是epigenesis（后成）和genetics的混成词。
- 是指不需要核苷酸序列变异的基因表达的可遗传改变。
- ***Epigenetics*** refers to heritable alterations in gene expression that do not entail changes in nucleotide sequence.
- 受两种因素控制：遗传调控和表观遗传调控。

## 表观遗传的调控机制

- **DNA** 甲基化
- 组蛋白修饰

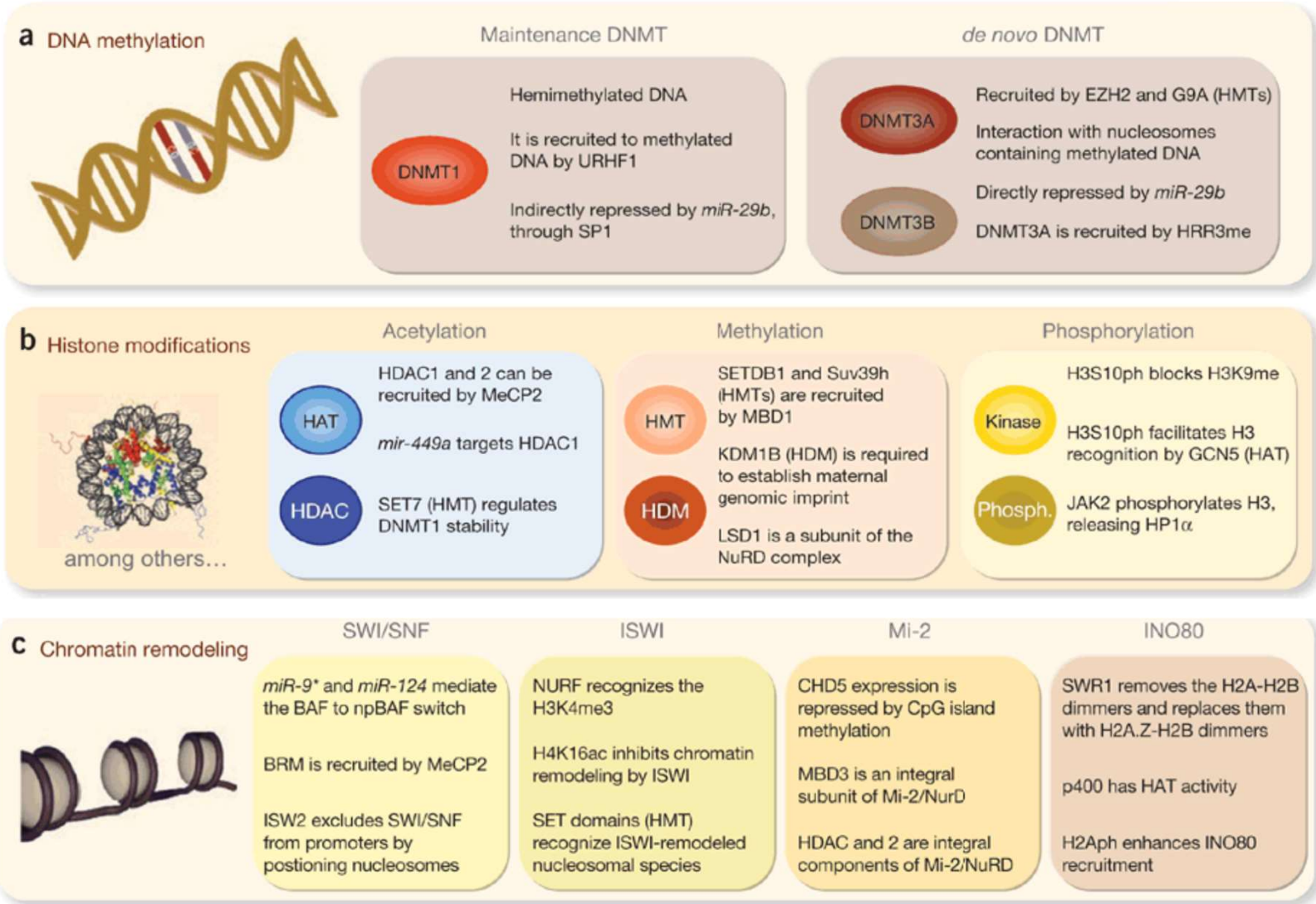
磷酸化(Phosphorylation, P)

乙酰化(Acetylation, Ac)

甲基化(Methylation, Me)

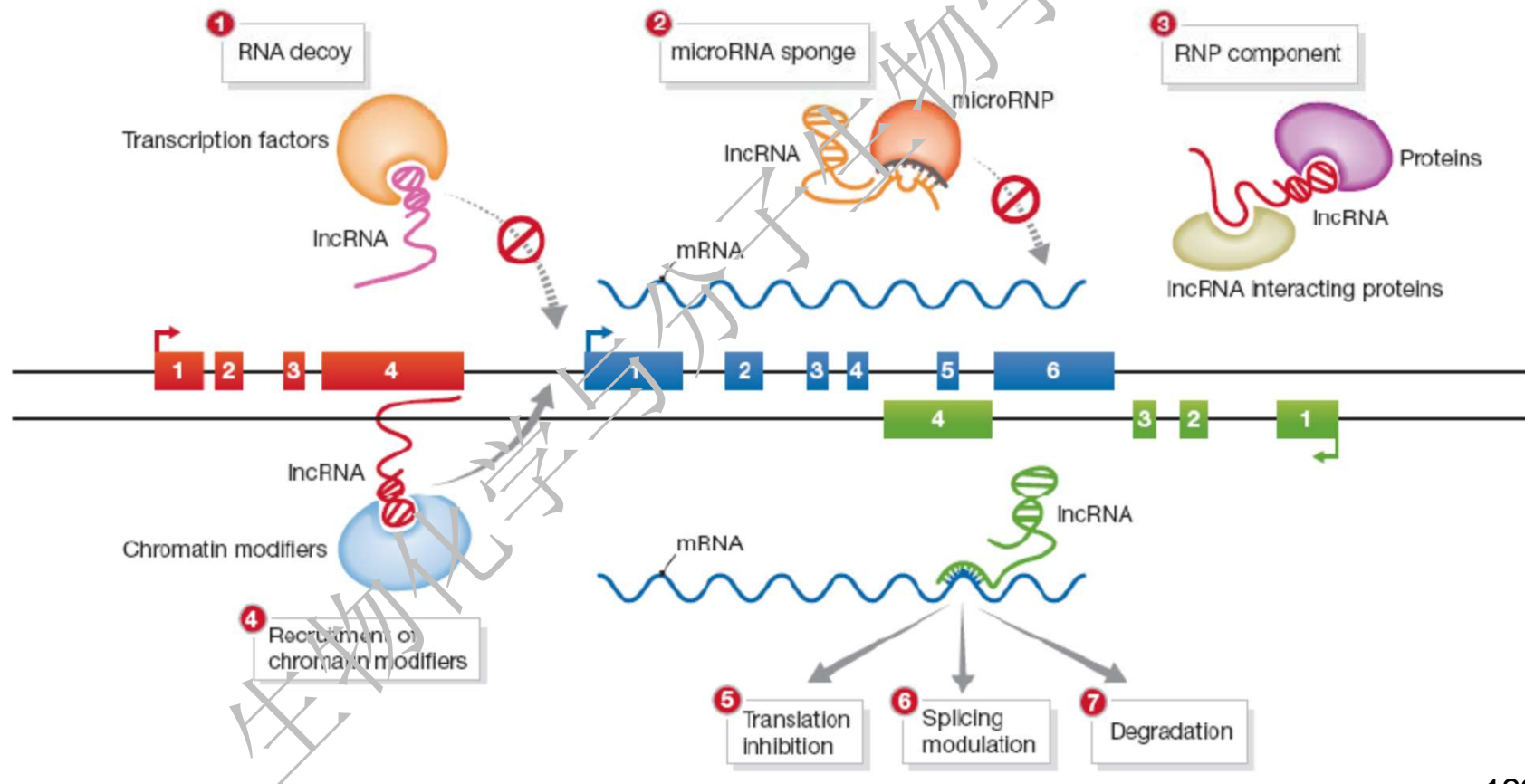
泛素化(Ubiquitination, Ub)

- 染色质重塑
- **RNA** 调控



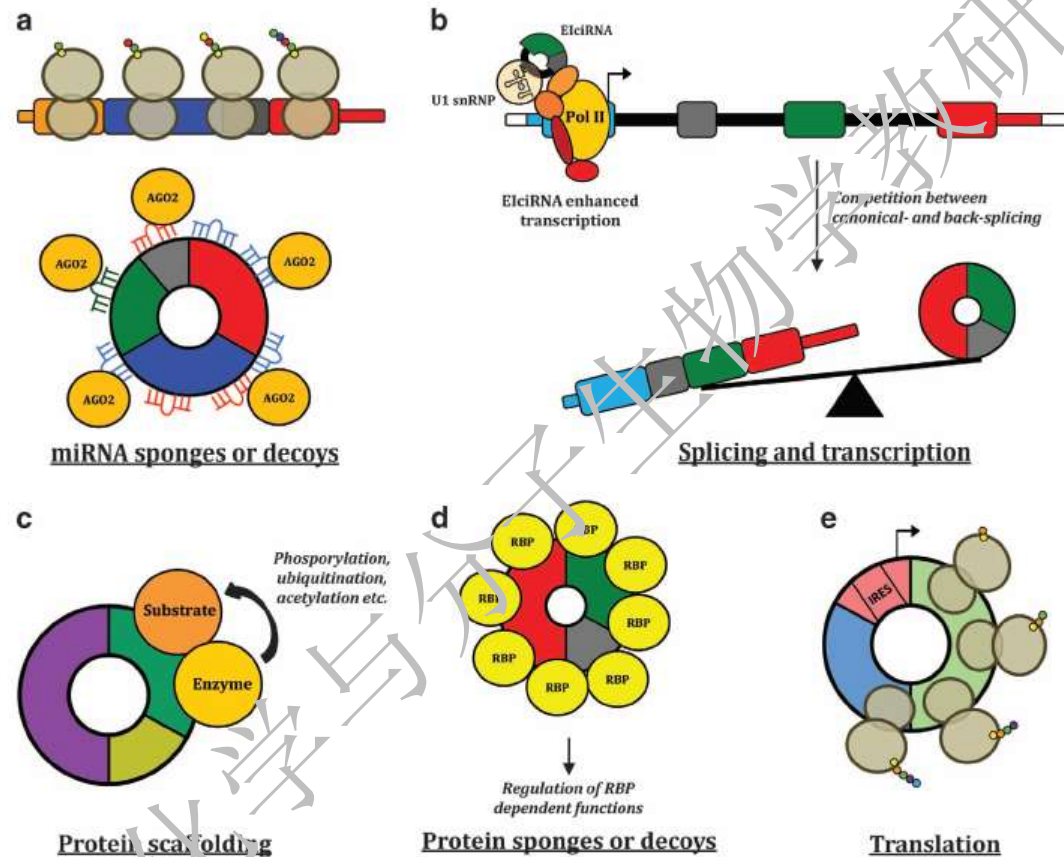
# lncRNA 纷繁复杂的功能

Long non-coding RNAs (lncRNA) are non-protein coding transcripts longer than 200 nucleotides (Perkel 2013)





# ncRNA研究领域的新星circRNA



**Figure 2.** Putative functions of circRNAs in cancer. **(a)** Many circRNAs are likely to function as miRNA sponges or decoys. Binding of miRNAs to circRNAs may release target mRNAs from miRNA-dependent degradation resulting in more efficient translation. **(b)** Exon-intron circRNAs have been shown to associate with RNA pol II and enhance the transcription of their parental genes via interaction with U1 snRNP. Splicing and transcription of many genes may also be indirectly regulated through a competition between canonical splicing and back splicing. However, it is largely unknown which factors may impinge on the balance between circRNA and canonical linear splicing. **(c)** CircRNAs with binding motifs for an enzyme and its substrate may function as scaffolds facilitating co-localization and reaction kinetics. **(d)** CircRNAs with RNA-binding protein-binding motifs may function as sponges or decoys for proteins and thereby regulate their activity. **(e)** CircRNAs with IRES elements and AUG sites may, under certain circumstances, be used as templates for translation; however, it is currently unknown if this has any relevance in cancer.

## 二、转录水平的调控

### (一) 顺式作用元件是决定真核基因表达活性的关键内在因素

即调控序列，是基因周围能与特异转录因子结合而影响转录的DNA序列。

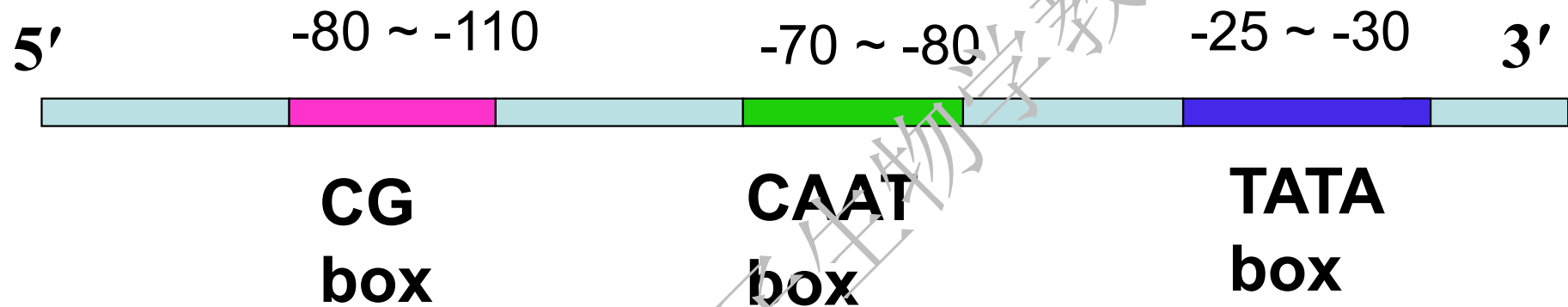
包括 启动子 (promoter) —— 启动转录所必需  
增强子 (enhancer) —— 起正性调控作用  
沉默子 (silencer) —— 起负性调控作用

## 启动子

① **定义** 指**RNA**聚合酶结合位点周围的一组转录控制组件，至少包括一个转录起始点以及一个以上的功能组件。

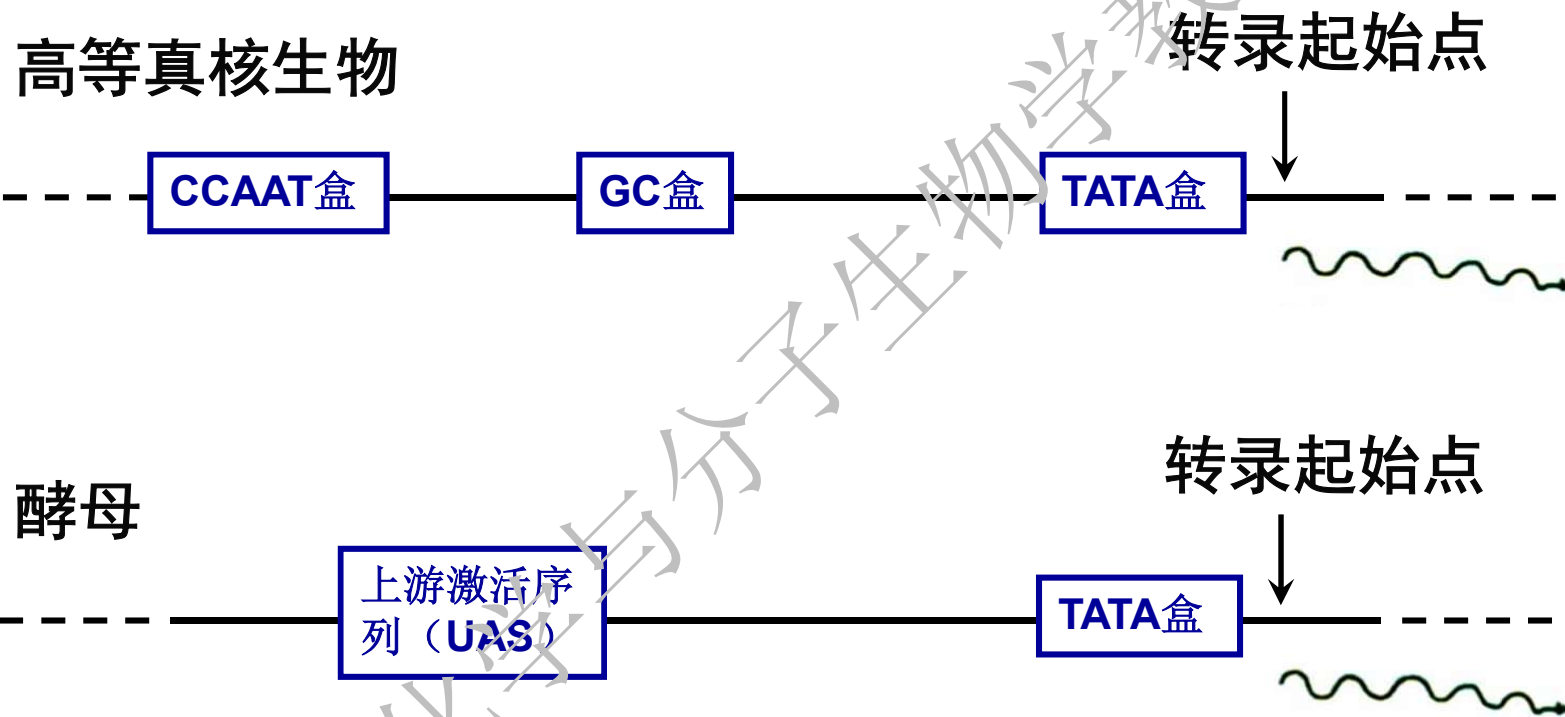
### ② 特点

- 核心启动子：**TATA盒**；由**TATA盒**及转录起始点即可构成最简单的启动子
- **CAAT盒**、**GC盒**非必需
- 上游活化序列，由其它序列代替此两种序列。



**TATA:** 控制转录的精确起始。

**CAAT**  
**CG** } 控制转录起始频率



真核基因启动子的典型结构

## 增强子

① **定义** 远离转录起始点(1-30Kb), 决定基因的时空特异性表达, 增强启动子转录活性的**DNA**序列。

### ② **特点**

远距离作用、无严格专一性（可增强不同类型的启动子）、没有方向性。

从功能上讲, 没有增强子, 启动子通常不能表现活性; 没有启动子, 增强子也无法发挥作用。

## 沉默子

① **定义** 指真核细胞中能阻遏启动子转录作用的远方顺式作用元件——负性调控序列。

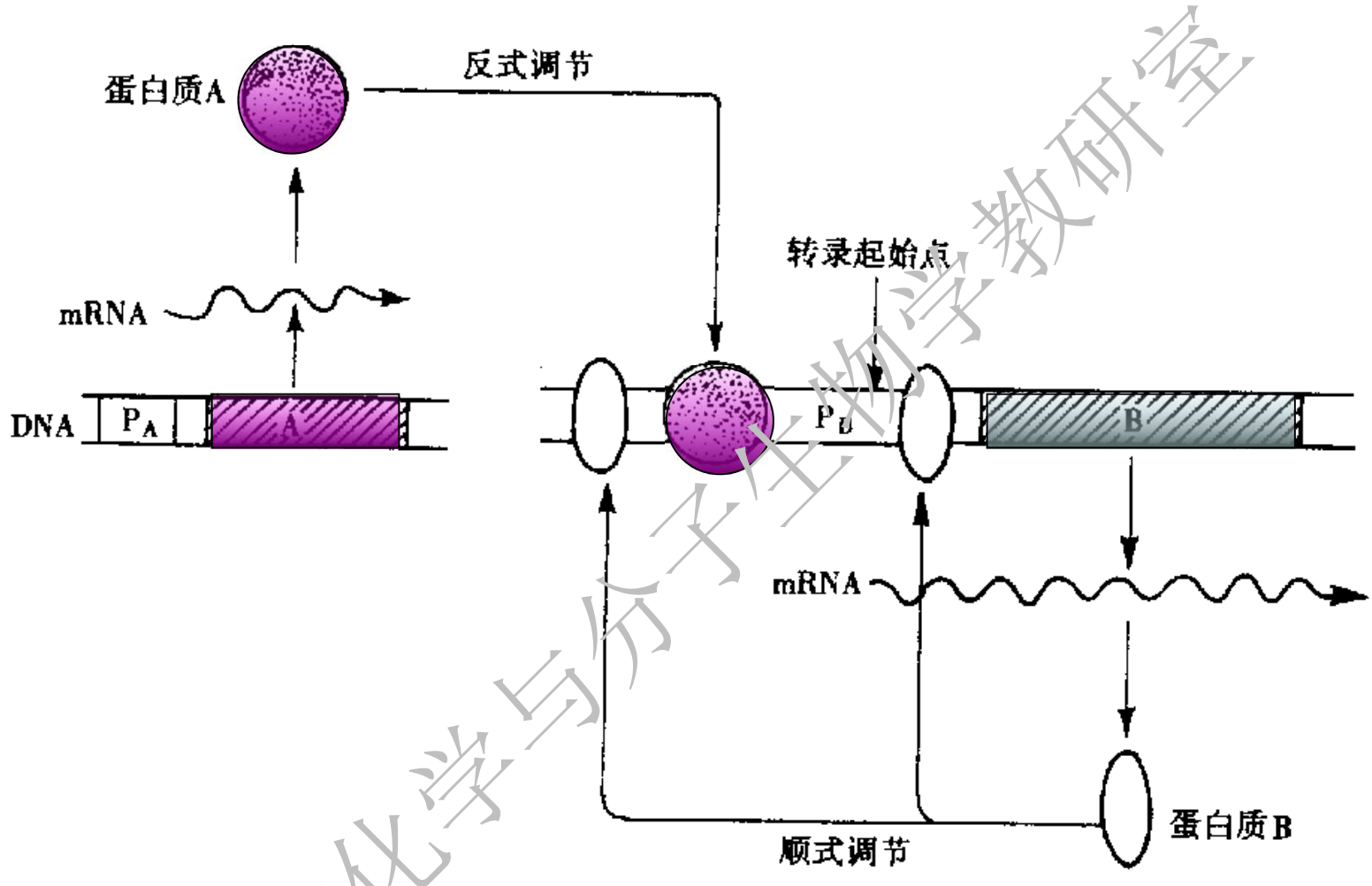
② **特点** 其结合特异蛋白因子时，对基因转录起阻遏作用。

有些**DNA**序列既可以作为正性，又可以作为负性调节元件发挥顺式调节作用，**这取决于细胞内存在的转录因子的性质。**

## （二）反式作用因子与顺式作用蛋白是重要的转录调节蛋白

指与DNA调控序列相互作用的蛋白质，也称**调控蛋白**。通常与顺式作用元件结合而影响转录，故又称**转录因子**。





# 反式作用蛋白与顺式作用蛋白

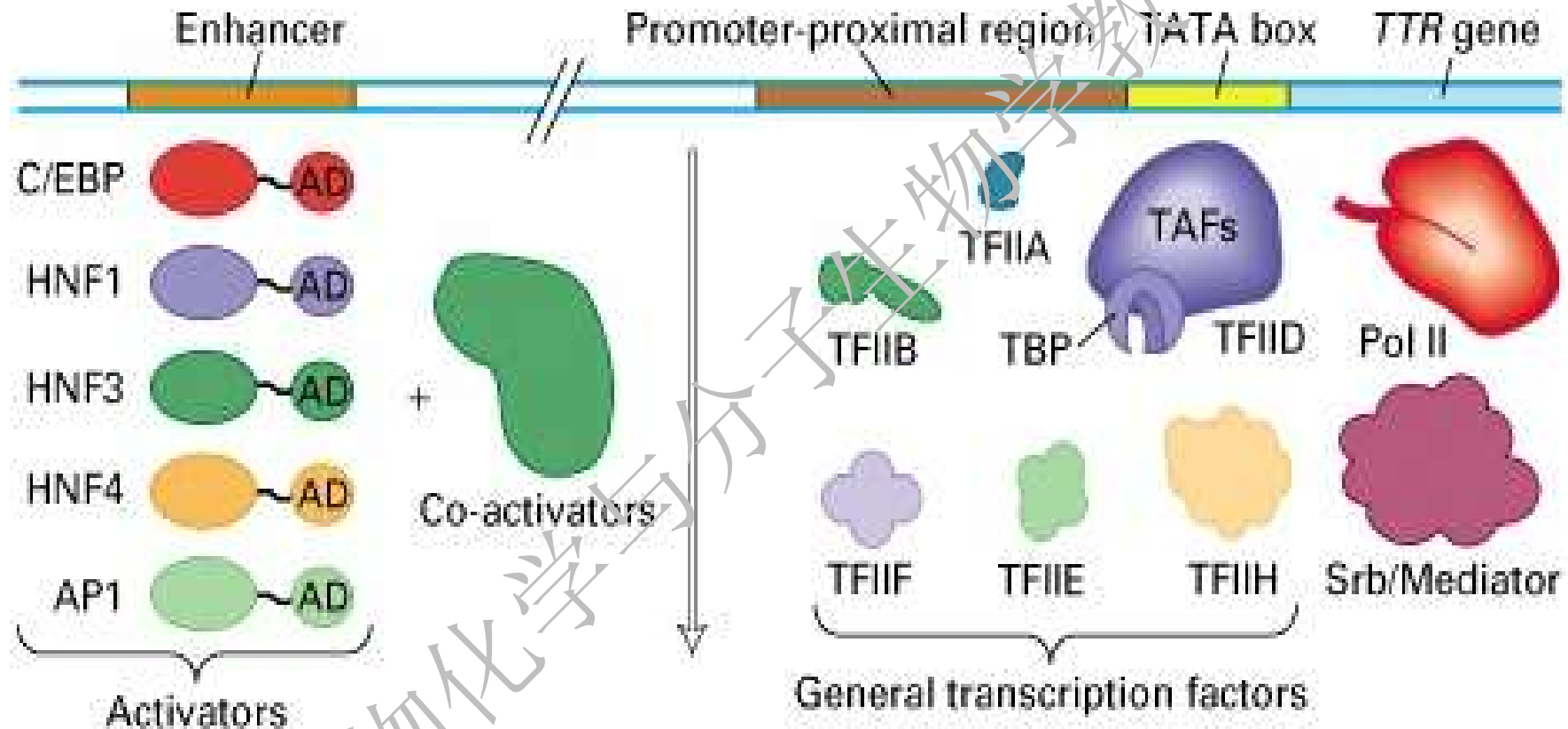
## 按功能分类

**基本转录因子：**RNA聚合酶与启动子结合所必需的一组蛋白因子

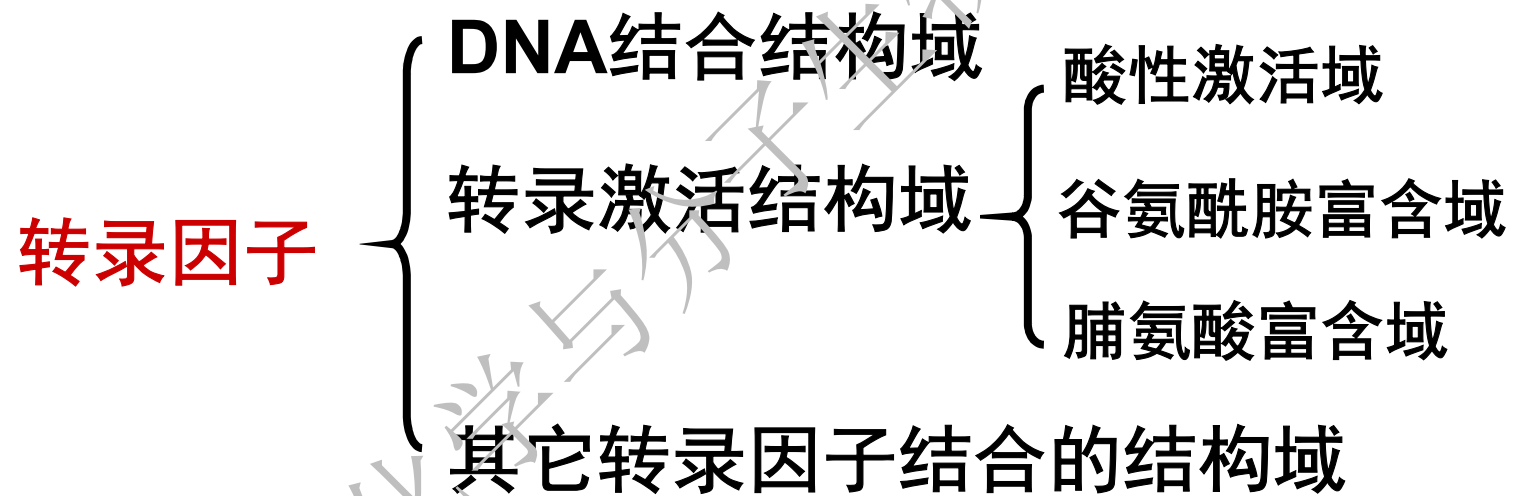
**特异转录因子：**是个别基因转录所必须，决定该基因的时空特异性表达。包括转录调节因子和共调节因子

{ **转录激活因子：**与增强子结合  
**转录抑制因子：**与沉默子结合

## Basal factors and special factors



- 大部分转录因子起转录激活作用，至少有两个不同的功能结构域：

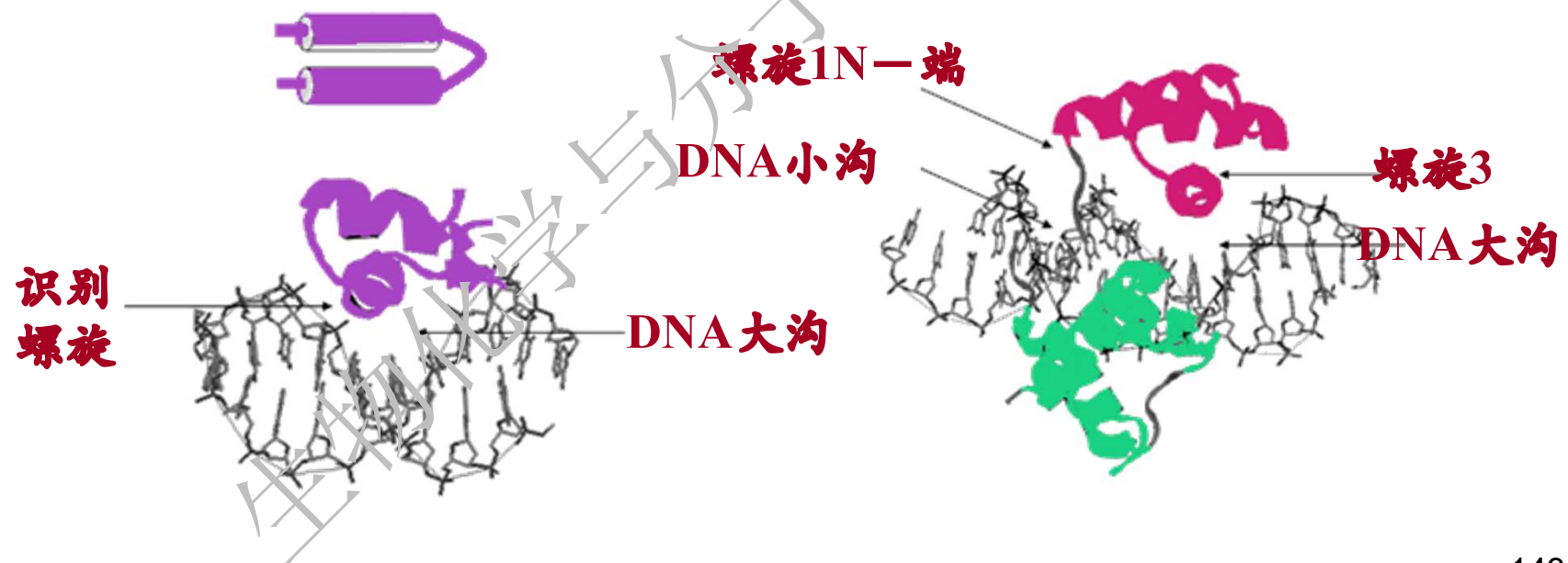


# 1. 转录因子含有不同的DNA结合域

## ① 螺旋-回折-螺旋是常见的DNA结合模体之一

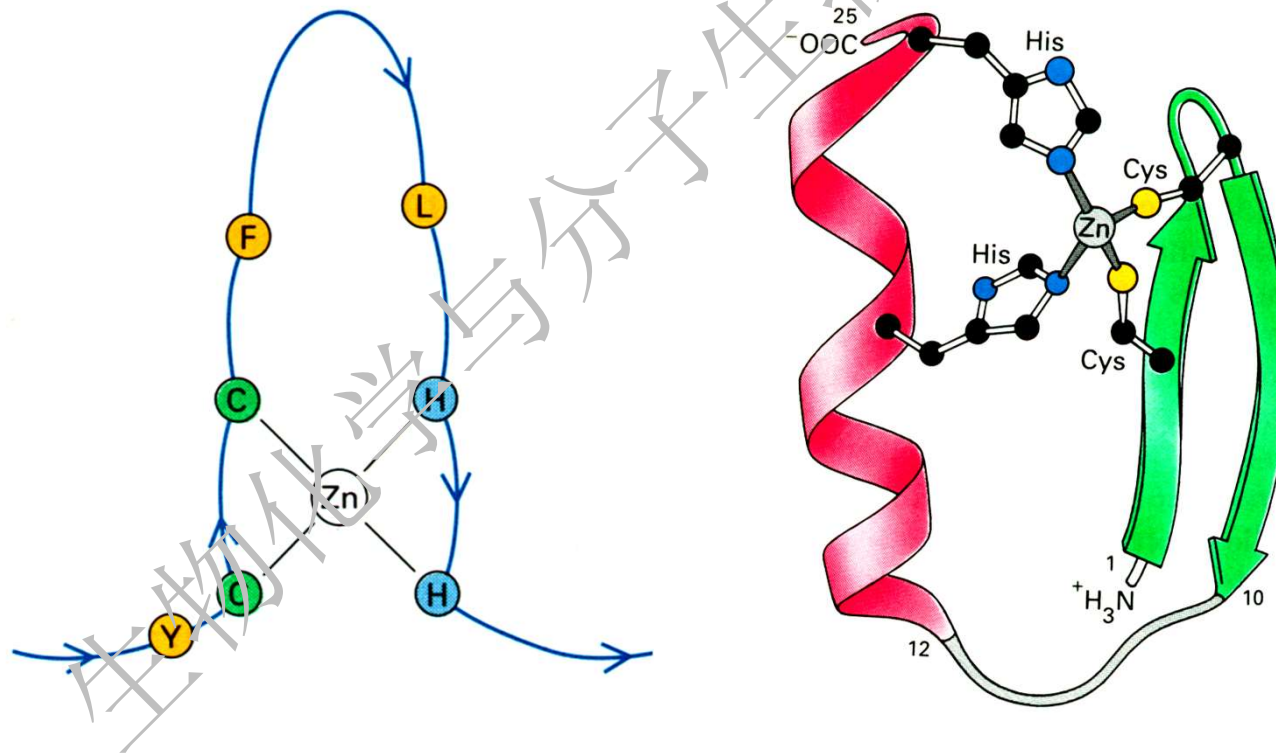
**螺旋-回折-螺旋**  
(helix-turn-helix, HTH)

**同源异型域**  
(homeodomain, HD)

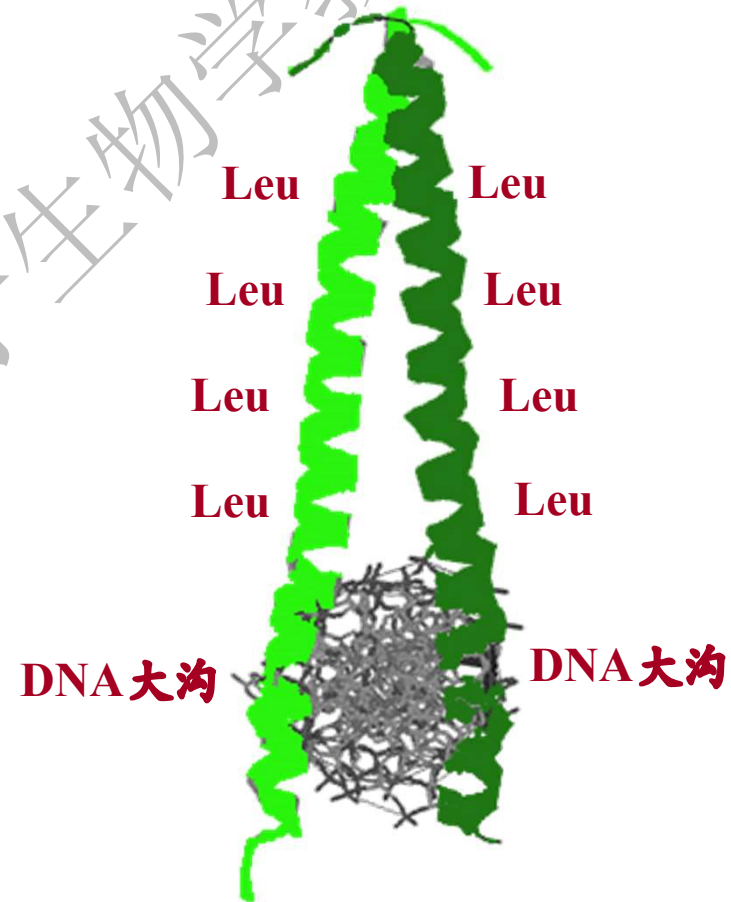
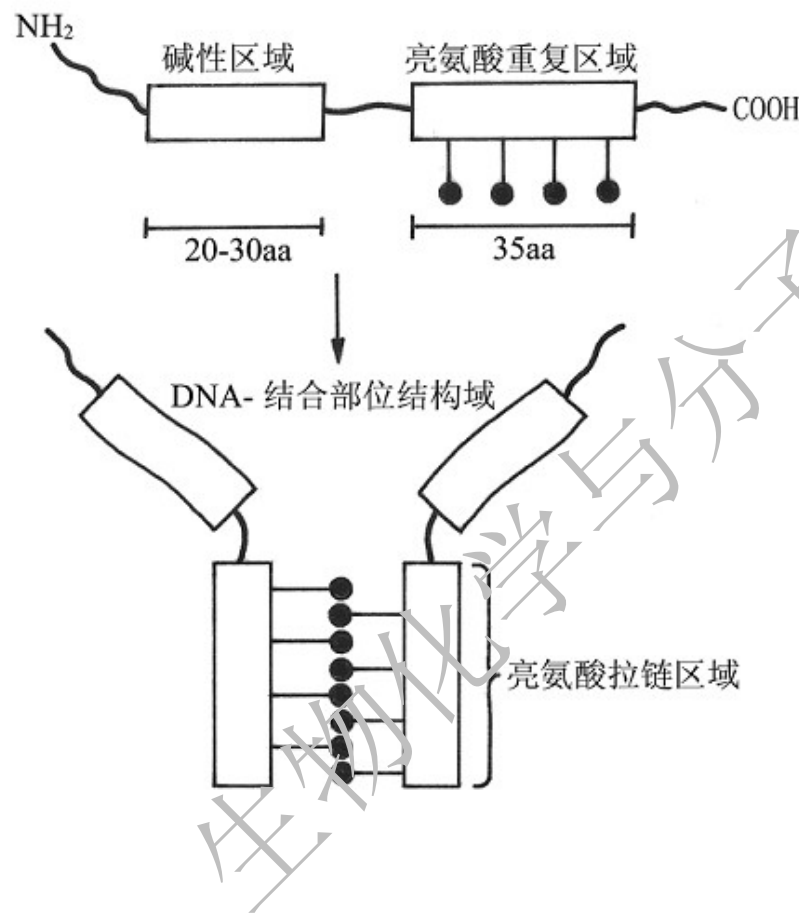


## ② 锌指结构是一类含锌的DNA结合蛋白质模体

### $C_2H_2$ 型锌指 (Zinc finger)



### ③ 亮氨酸拉链 (leucine zipper) 同时调节DNA结合与蛋白质二聚体化



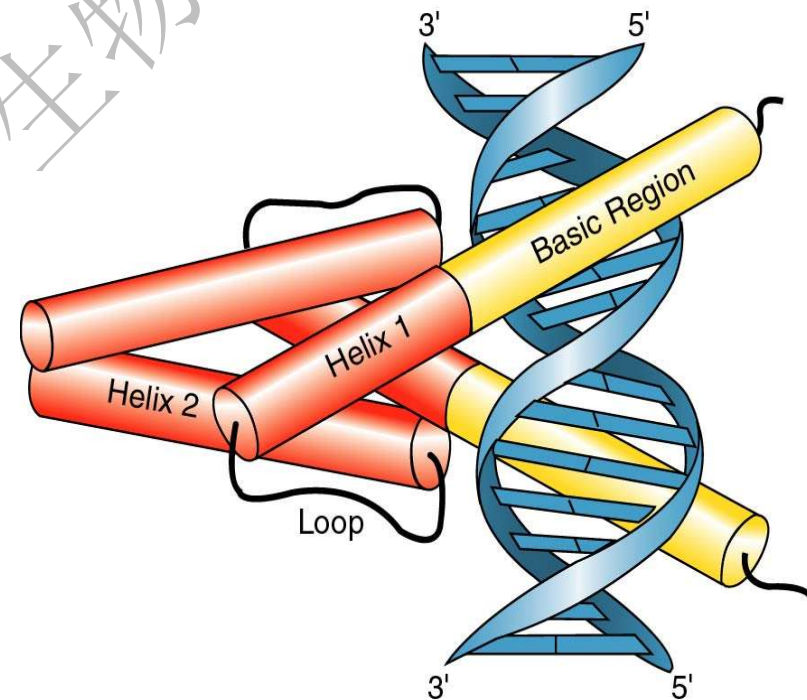
## ④ 碱性螺旋-环-螺旋结构也可调节与DNA的结合及蛋白质二聚体化

### 碱性螺旋-环-螺旋 (basic helix-loop-helix, bHLH)



bHLH双体

DNA大沟





## 2. 转录因子含有不同转录激活结构域

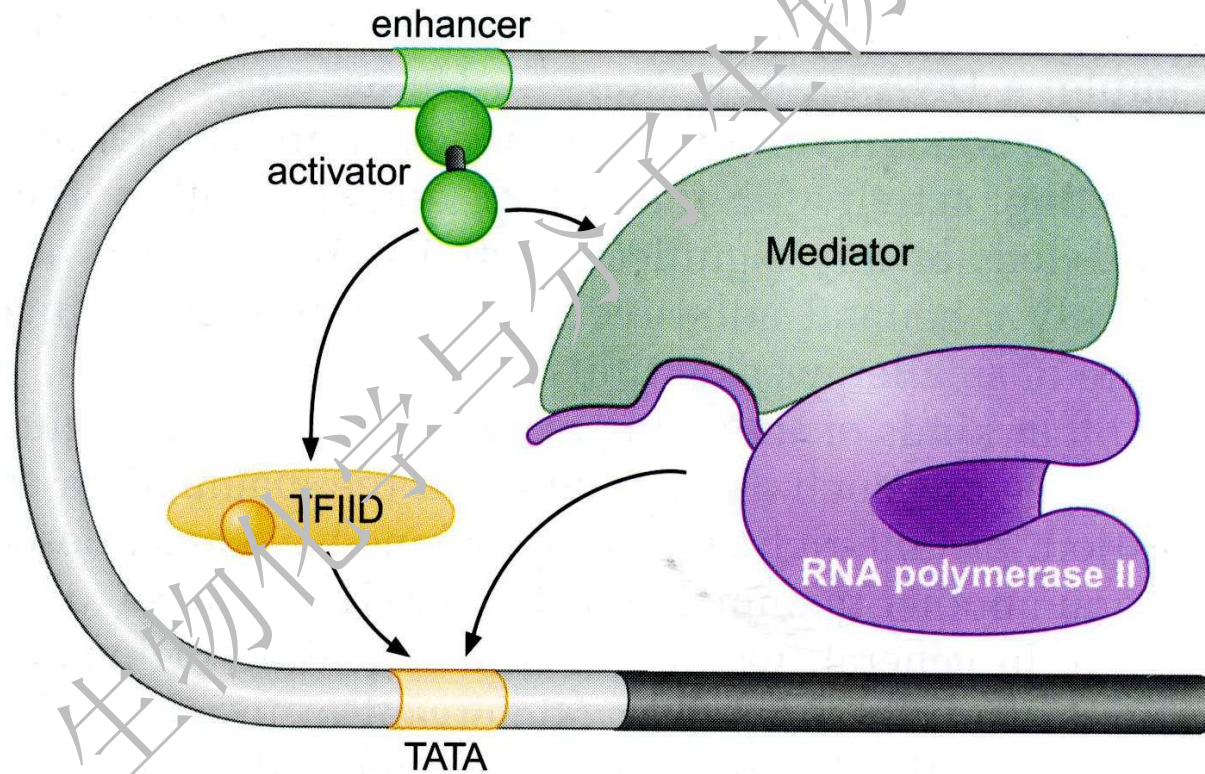
真核细胞中较为常见的4种激活结构域：

- 富含谷氨酰胺激活结构域 (**glutamine-rich activation domains**)
- 富含脯氨酸激活结构域 (**proline-rich activation domains**)
- 酸性氨基酸激活结构域 (**acidic activation domains**)。
- 带有负电荷的 $\alpha$ -螺旋结构域

# 转录因子的作用

## Activators

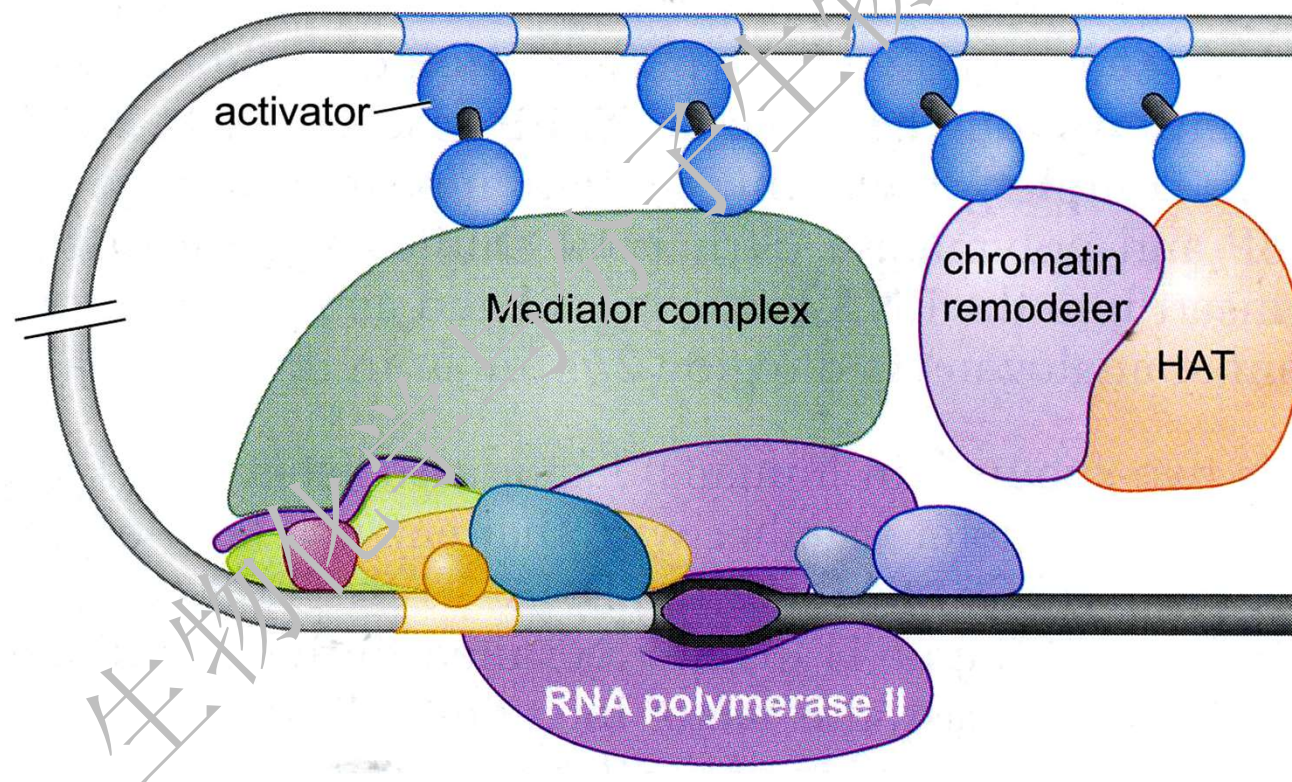
促进通用转录因子/RNA聚合酶在启动子的募集、组装



## 转录因子的作用

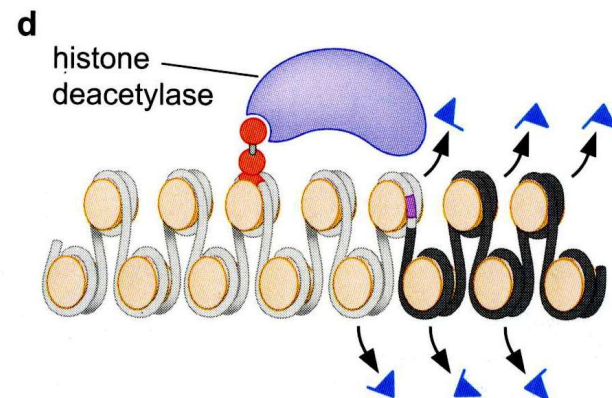
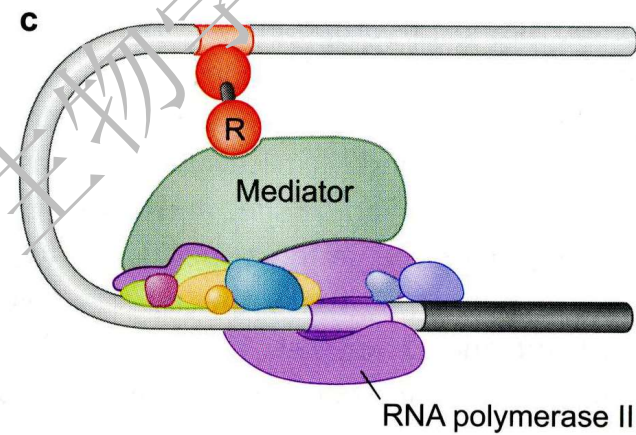
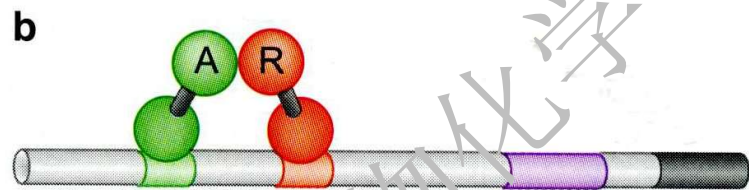
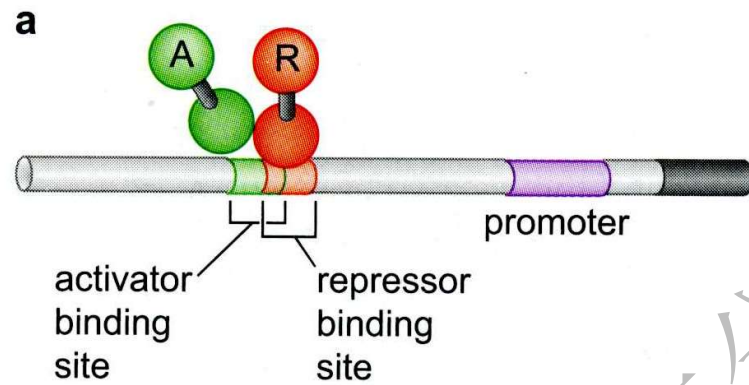
## Activators

募集核小体修饰物、促进染色质重塑



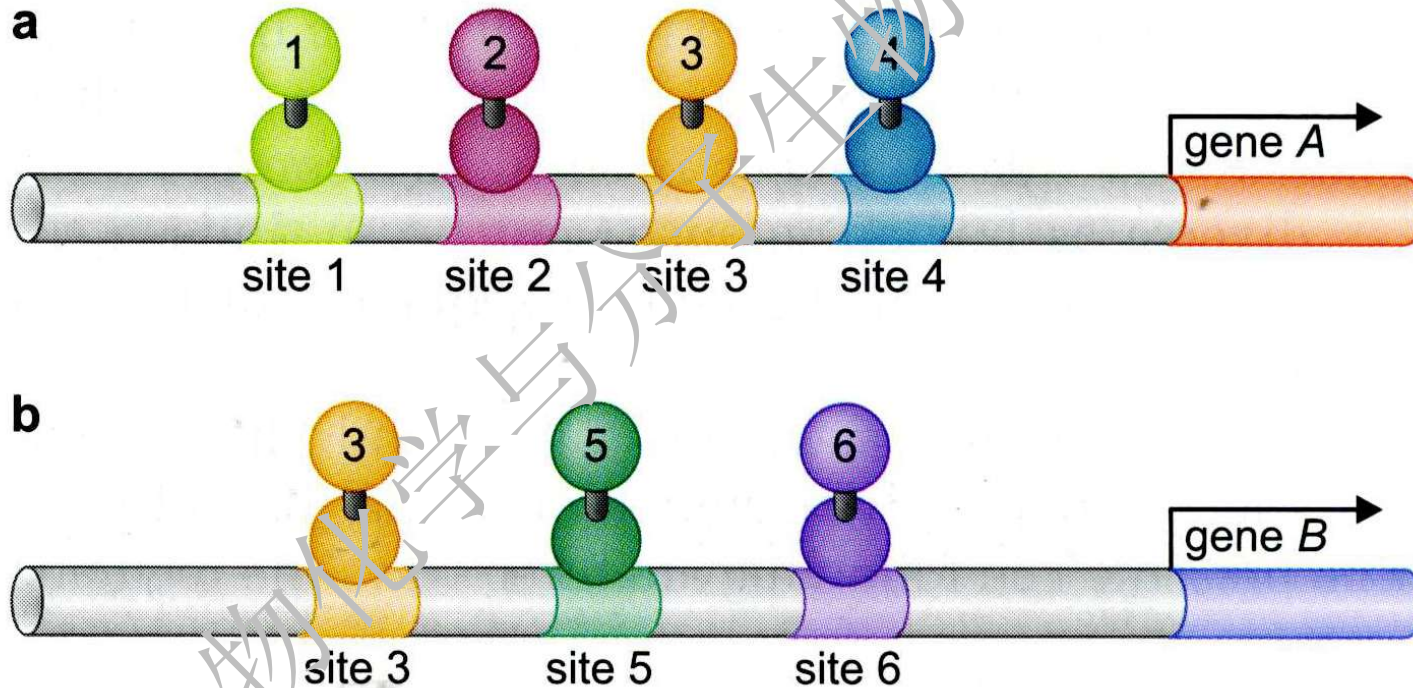
# 转录因子的作用

## Repressors



## 转录因子的复合调控

使有限的反式作用因子可以调控不同基因的表达



# 转录因子与细胞命运

iPS ( induced pluripotent stem cell, 诱导多能干细胞 )

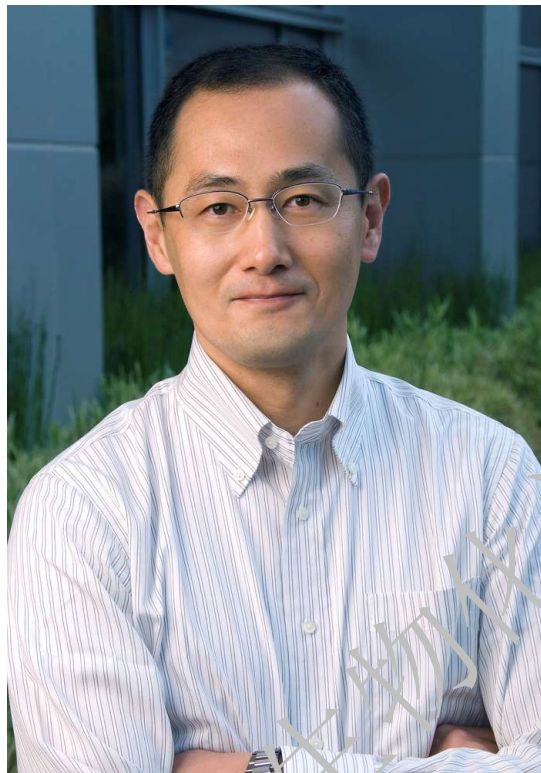
2006 mouse iPS

Cell. 2006 Aug 25;126(4):663-76.

2007 human iPS

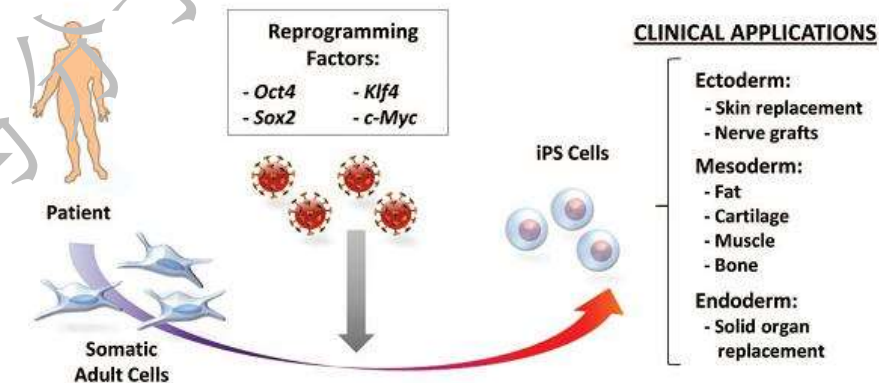
Cell. 2007 Nov 30;131(5):861-72

Science. 2007 Dec 21;318(5858):1917-20.



Shinya Yamanaka

成体细胞“返老还童”



Mouse Fibroblasts  
Human Fibroblasts

iPS Cells

## iPS ( induced pluripotent stem cell 诱导多能干细胞 )

2006 mouse iPS

2007 human iPS

2008 Diseases iPS

2009 from iPS to viable mice



NATURE 461, September 3, 2009



## iPS ( induced pluripotent stem cell 诱导多能干细胞 )

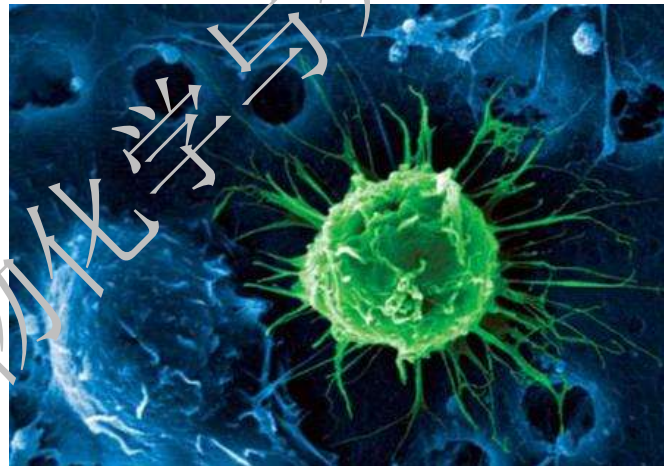
2006 mouse iPS

2007 human iPS

2008 Diseases iPS

2009 from iPS to viable mice

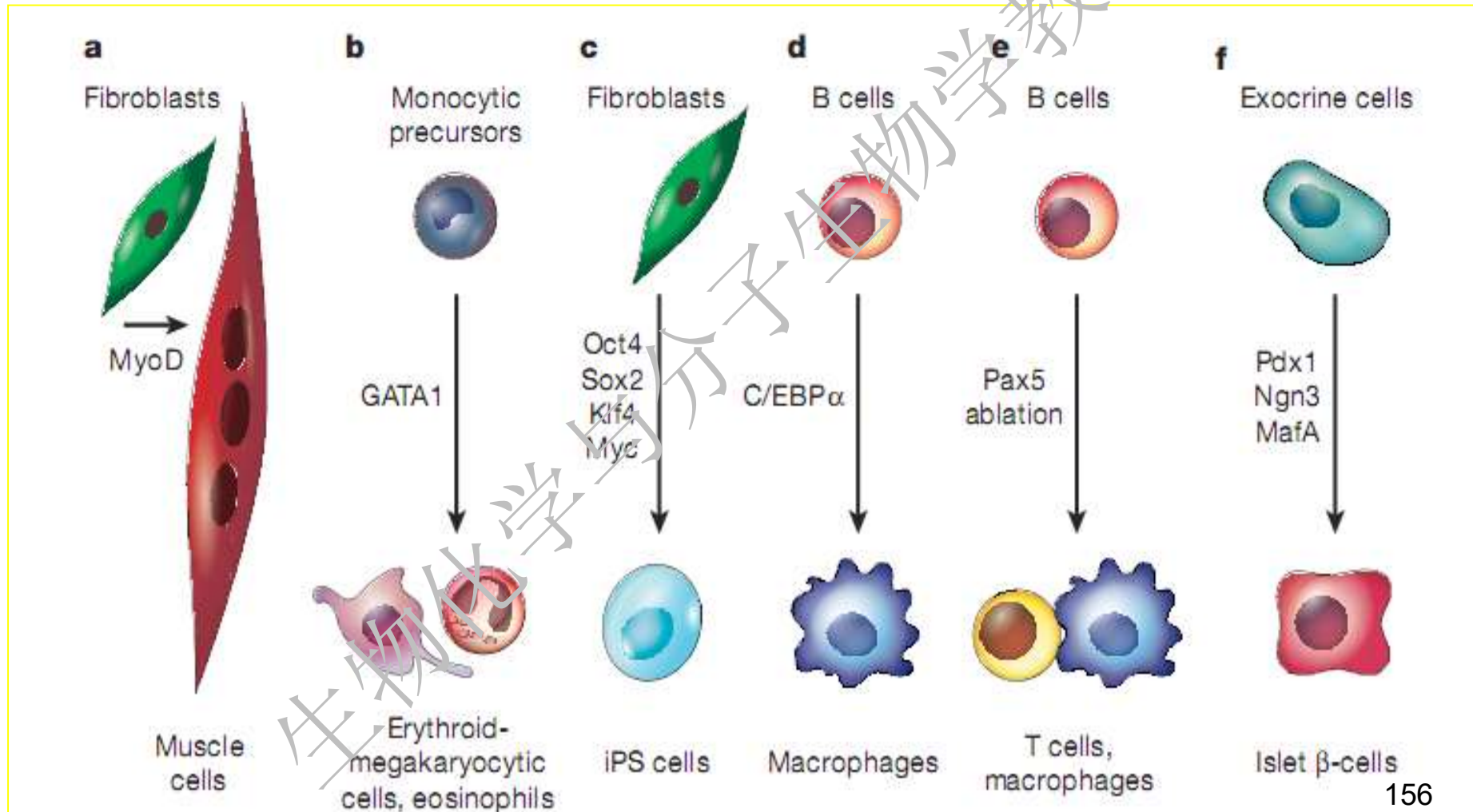
成体细胞 “返老还童” 转录因子是关键





# Reprogramming Cells

Examples of transcription factor overexpression or ablation experiments that result in cell fate changes



## 真核基因表达调控机制比原核更复杂

- **基本共同点：** 转录起始的调节是关键点

- **根本不同点：**

**原核生物：** 启动子在缺少转录因子情况下就具有天然活性（负调控为主）

**真核生物：** 强力启动子在缺少调节蛋白的情况下往往没有活性（正调控为主）

## 与原核生物不同之处（更复杂）：

- \* 真核细胞基因及其调控区域受到染色质结构的限制，转录的活化与转录调控区域、转录区域内染色质结构的诸多变化相关；
- \* 真核细胞有更大、更为复杂、种类更多的调节蛋白。单一启动子可以被分散在DNA分子上、数量近乎无限的调节序列所控制。
- \* 正性调节是主要形式。

## 正性调节为主的原因？

- **正性调节是主要形式：**在转录的基本状态受到制约的情况下，使得每个真核细胞基因需要活化才能被转录；
- **正性调节机制更精确：**一个负性调节元件的结合足可阻断RNA聚合酶的结合，因此同时采用几个负性调节元件一般不会改变特异性；相反，如果采用多种正性调节元件、正性调节蛋白可提高基因表达调节的特异性和精确性。

## 三、转录后水平上的调控

### (一) 真核细胞mRNA 5'端加帽和3'端多聚腺苷酸化修饰

除组蛋白外，所有真核细胞mRNA都有5'端的“帽”和3'端的poly(A)尾结构。

5'端的“帽”和3'端的poly(A)尾均有其特有的作用。

## 5'加帽的作用在于：

- ①有助于保护**mRNA**免于被核糖核酸酶降解；
- ②协助**mRNA**的剪接。在剪接第一个外显子时，剪接体的形成需要帽结合蛋白的参与；
- ③促进**mRNA**从细胞核运输到细胞浆；
- ④**5'帽结合蛋白**复合体参与**mRNA**和核糖体的结合来起始翻译。

## poly(A)尾的作用：

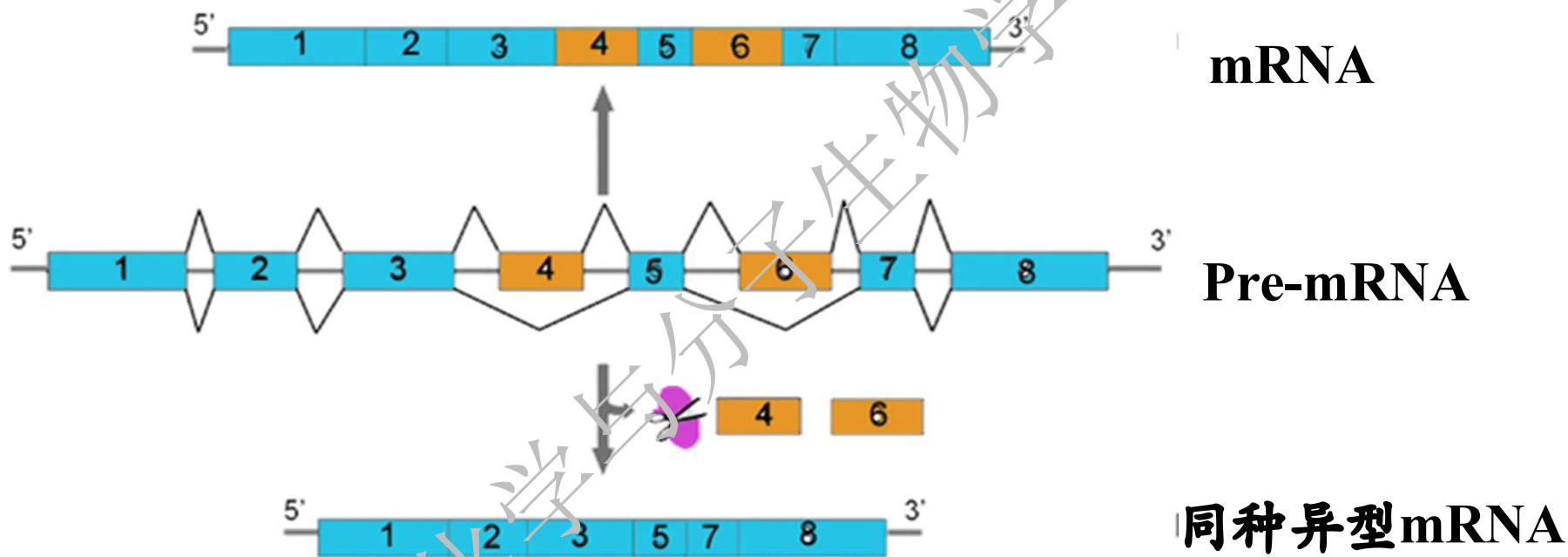
poly(A)尾可结合一种或多种特殊蛋白，避免mRNA被酶降解，并在翻译过程中具有重要作用。许多原核mRNA也含有poly(A)尾，但是此尾的功能是促进mRNA降解，而不是保护mRNA免于被降解。

## （二）选择性剪接可以使同一基因产生不同的蛋白质

许多初始转录本可以通过一种以上的选择性剪接（**alternative RNA splicing**）方式，去除不同的内含子而被加工形成不同的**mRNAs**，因而形成不同的多肽。



# 人视黄醛还原酶mRNA的选择性剪接



### (三) RNA编辑丰富了RNA分子信息的内涵

某些mRNAs在翻译前被编辑(editing)。

**结果：**可能造成个别氨基酸密码改变，或造成转录本读码框改变，有时会引起蛋白质结构和功能发生很大变化。

高等生物RNA编辑比较少见。

## (四) RNA的核外转运可以被调控

**现象：**估计有**1/5**的核内成熟**mRNAs**能进入细胞浆。留在核内的**mRNAs**约在**1**小时内降解。**mRNA**通过核膜的过程是一个主动运输过程，常常需要借助于**核输出受体(nuclear export receptors)**才可穿过**9nm**的核孔通道。

**机制：**调控**RNA**从核运输至细胞浆的机制**还不很清楚**。

## (五) 一些RNA分子定位于细胞浆的特殊区域

**现象：**一些mRNA分子携带有信息，可以在翻译开始前自我导向定位于细胞内的特定位置。

**作用：**在细胞的特定部位集中产生所需要的大量蛋白质。

**机制：**导向信号存在于mRNA的3'端非翻译区（3'untranslated region, 3'UTR）。

### 第一种情况

mRNA 被连接在附着于细胞骨架的**动力蛋白（motor proteins）**上，利用其水解**ATP**所提供的能量沿着骨架成分朝目的方向移动，最终在目的地被锚蛋白（**anchor proteins**）固定。

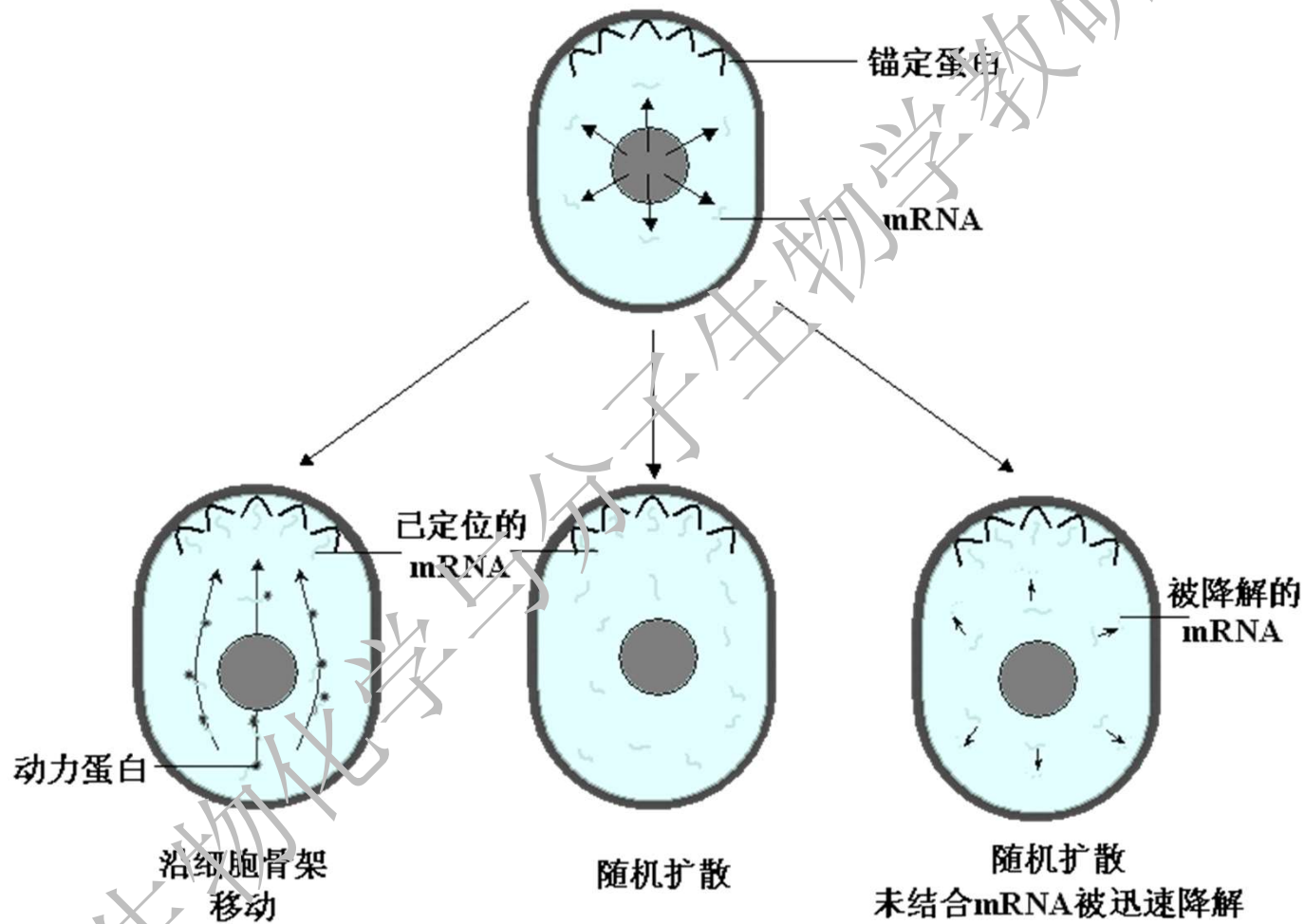
### 第二种情况

mRNA通过在细胞浆中的**随机扩散**，在其定位处被锚蛋白捕捉、固定。

### 第三种情况

mRNA在细胞浆中**随机扩散**并被不断地降解，只有碰上锚蛋白才能得到保护。

## mRNA分子的3种不同定位过程



## (六) mRNA稳定性的改变也可调控基因表达

**意义：**降解途径保证mRNA不在细胞中累积并避免合成过多的蛋白质。

不同真核基因的mRNA的降解速率大不相同。

**暂时需要的基因产物：**半衰期可能仅为几分钟、甚至几秒钟。

**经常需要的基因产物：**其mRNA可在多代细胞中稳定存在。

**mRNA降解有两条途径，是由每种mRNA分子的序列所决定。**

### **poly(A)的逐渐短缩：最常见的途径**

- ❖ **mRNA分子一旦进入细胞浆中，核酸外切酶会使poly(A)末端逐步短缩，当剩下约30个A时，5'端发生脱帽，mRNA分子被迅速降解。**
- ❖ **一些mRNA分子的3'UTR的特殊序列有助于特殊蛋白质的结合，增加或降低poly(A)短缩的速度。**



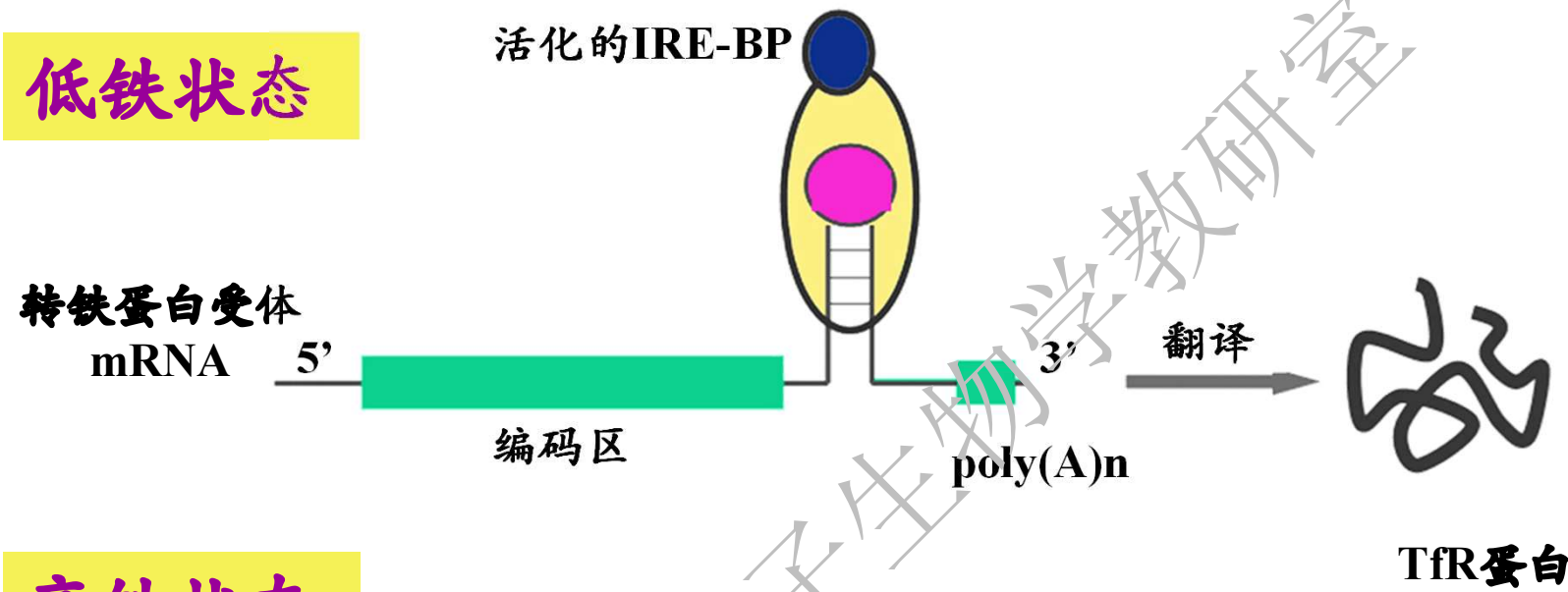
## •另一个途径始于特殊内切酶的作用

- ❖ 可将poly(A)直接从mRNA分子上切除。这种切除也有赖于mRNA分子的**3'UTR特殊序列**可以被内切酶识别。

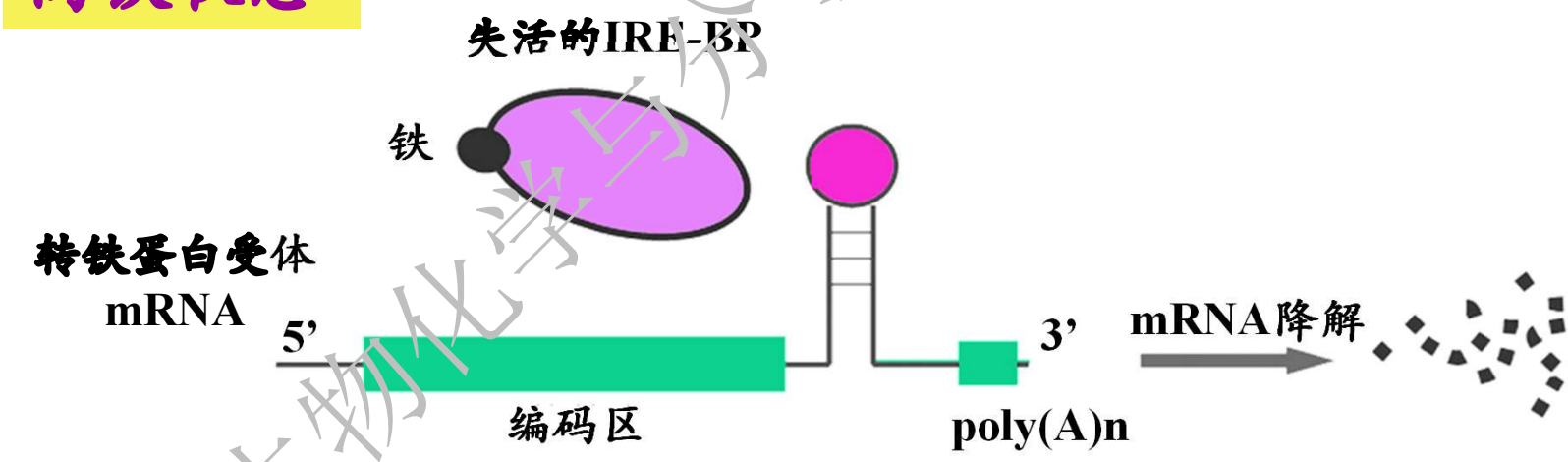
例如：

转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR) mRNA分子 3'UTR茎环(stem-loop)结构——**铁反应元件(iron-response element, IRE)**。

**低铁状态**



**高铁状态**



**IRE-BP对转铁蛋白受体mRNA稳定性的调节**

## (七) 细胞浆poly(A)的添加可以调节蛋白翻译

例：正在成熟中的卵母细胞与卵细胞

一些存在于细胞浆的mRNA分子的3'末端只有10-30个腺苷酸(A)，它们并不翻译。在卵母细胞成熟和受精后的一个特定时段，当需要这些mRNA所编码的蛋白质时，poly(A)被添加到这些选定的mRNA分子，大大促进蛋白翻译的起始。

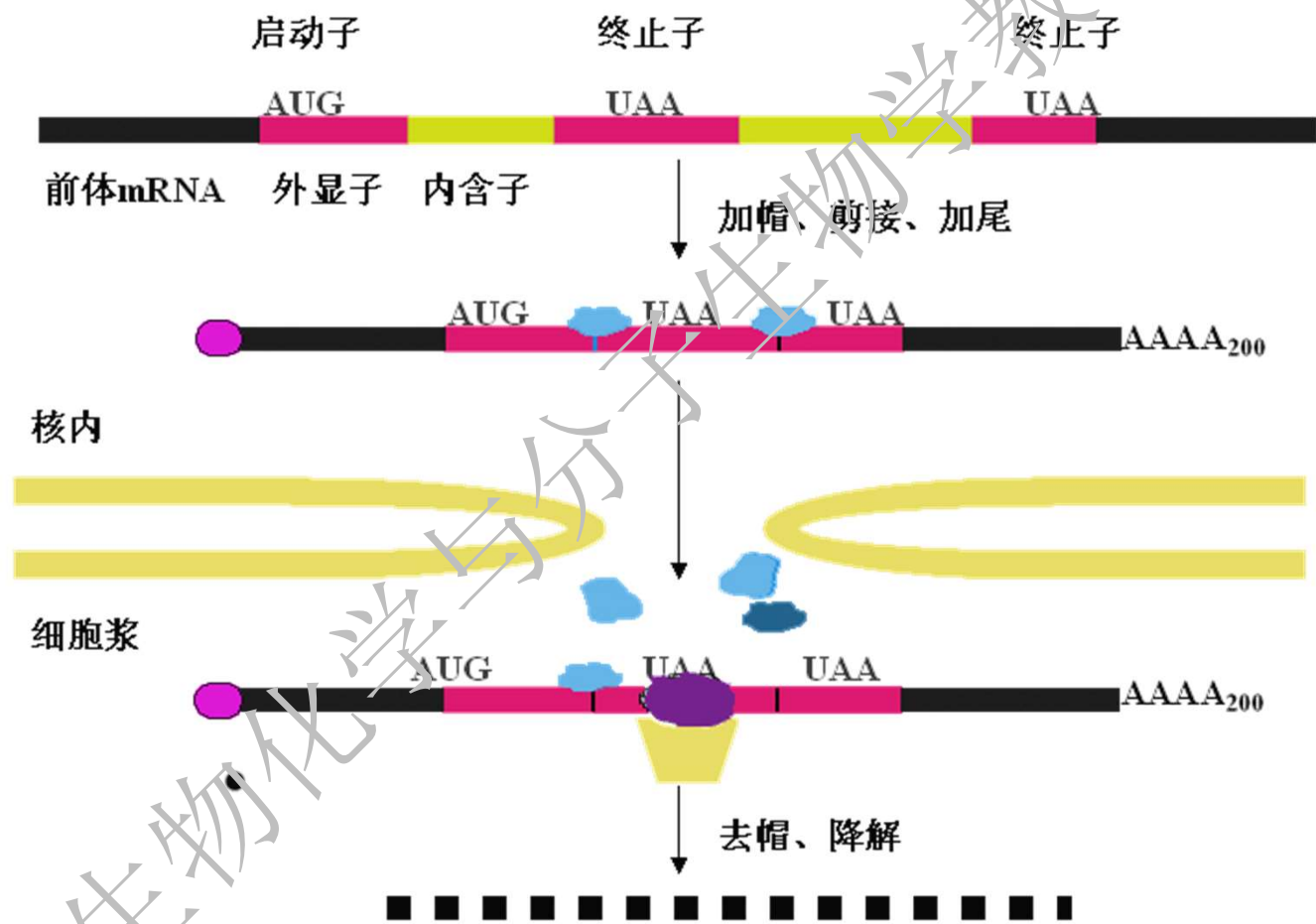
## (八) 无义变化介导的mRNA降解是真核细胞mRNA监视系统

无义变化介导的mRNA降解

(nonsense-mediated mRNA decay, NMD)

当在同一阅读框架内的翻译终止密码子 **UAA**、**UAG** 或 **UGA** 提前出现在最后两个外显子交界处上游约 **50 nt** 处时，**mRNA** 被迅速降解。这些错位终止密码子被称为 **成熟前终止密码子 (premature termination codons, PTC)**，可以来自突变、重组、不完全或不正确剪接。

# 无义变化介导的mRNA的降解



## 意义：

- ❖ 这套mRNA监视系统可以防止非正常截短的蛋白质的合成。
- ❖ NMD在进化过程中发挥了重要作用，使真核细胞更容易探究由于DNA重排、突变或不同剪接方式所形成的新基因。
- ❖ 免疫调控过程中发挥重要作用，重排基因产生的这类mRNA可被NMD系统迅速降解，避免了截短蛋白质的细胞毒作用。

## (九) RNA干扰可以使转录后的基因沉默

1990年，2个研究组报道了正义RNA具有“共抑制”现象

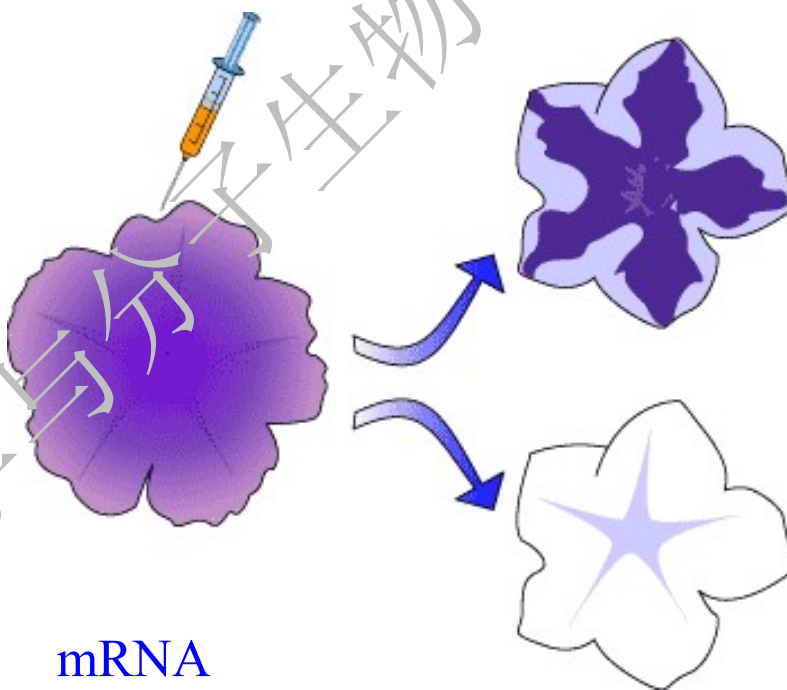
反义RNA



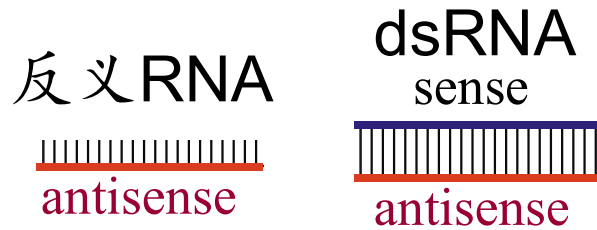
正义RNA



mRNA



# RNA干扰 (RNA interference, RNAi)



inject

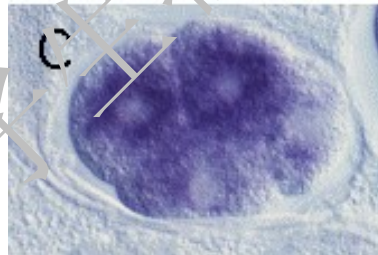
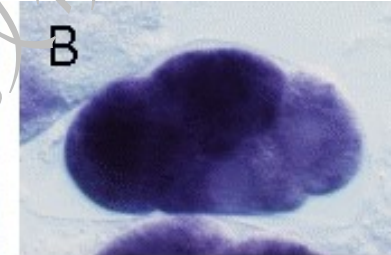


*C. elegans*

对照



未注射



注射反义RNA

注射dsRNA

Mex-3 mRNA detection in embryos  
by *in situ* hybridization

Fire A et al *Nature* 1998 391:806-811



# The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006



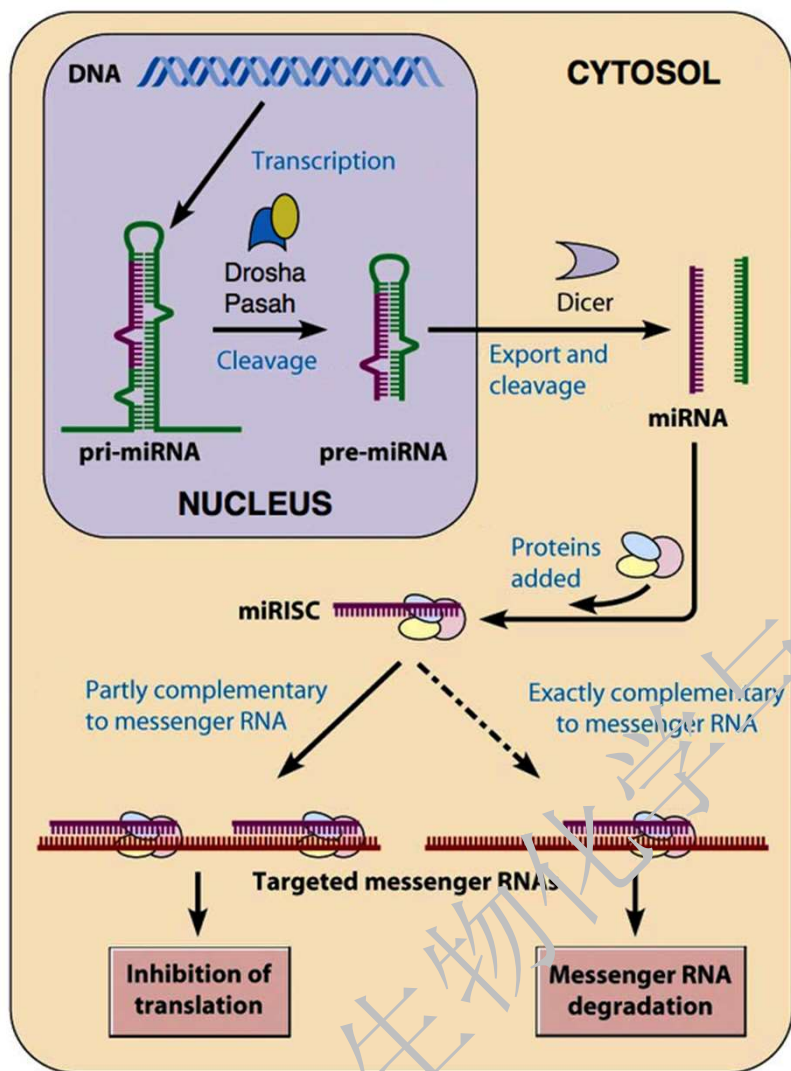
Photo: L. Cicero  
**Andrew Z. Fire**  
Prize share: 1/2



Photo: J. Mottern  
**Craig C. Mello**  
Prize share: 1/2

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2006 was awarded jointly to Andrew Z. Fire and Craig C. Mello *"for their discovery of RNA interference - gene silencing by double-stranded RNA"*

# miRNA与siRNA使靶mRNA沉默机制



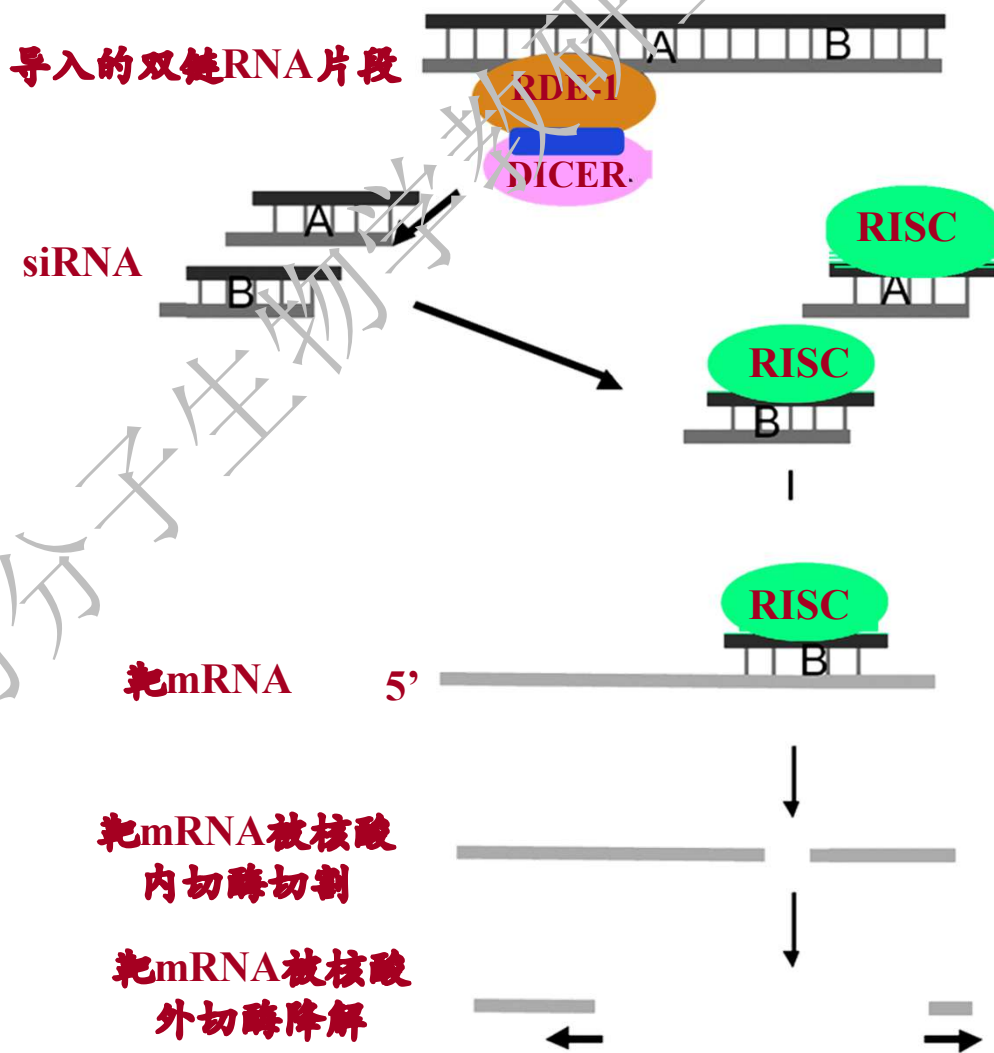
导入的双链RNA片段

siRNA

靶mRNA

靶mRNA被核酸内切酶切割

靶mRNA被核酸外切酶降解



## siRNA 和miRNA的差异比较

	siRNA	miRNA
前体	内源或外源长双链RNA诱导产生	内源发夹环结构的转录产物
结构	双链分子	单链分子
功能	降解mRNA	阻遏其翻译
靶mRNA结合	需完全互补	不需完全互补
生物学效应	抑制转座子活性和病毒感染	发育过程的调节

基因转录后沉默  
(posttranscriptional gene silencing, PTGS)

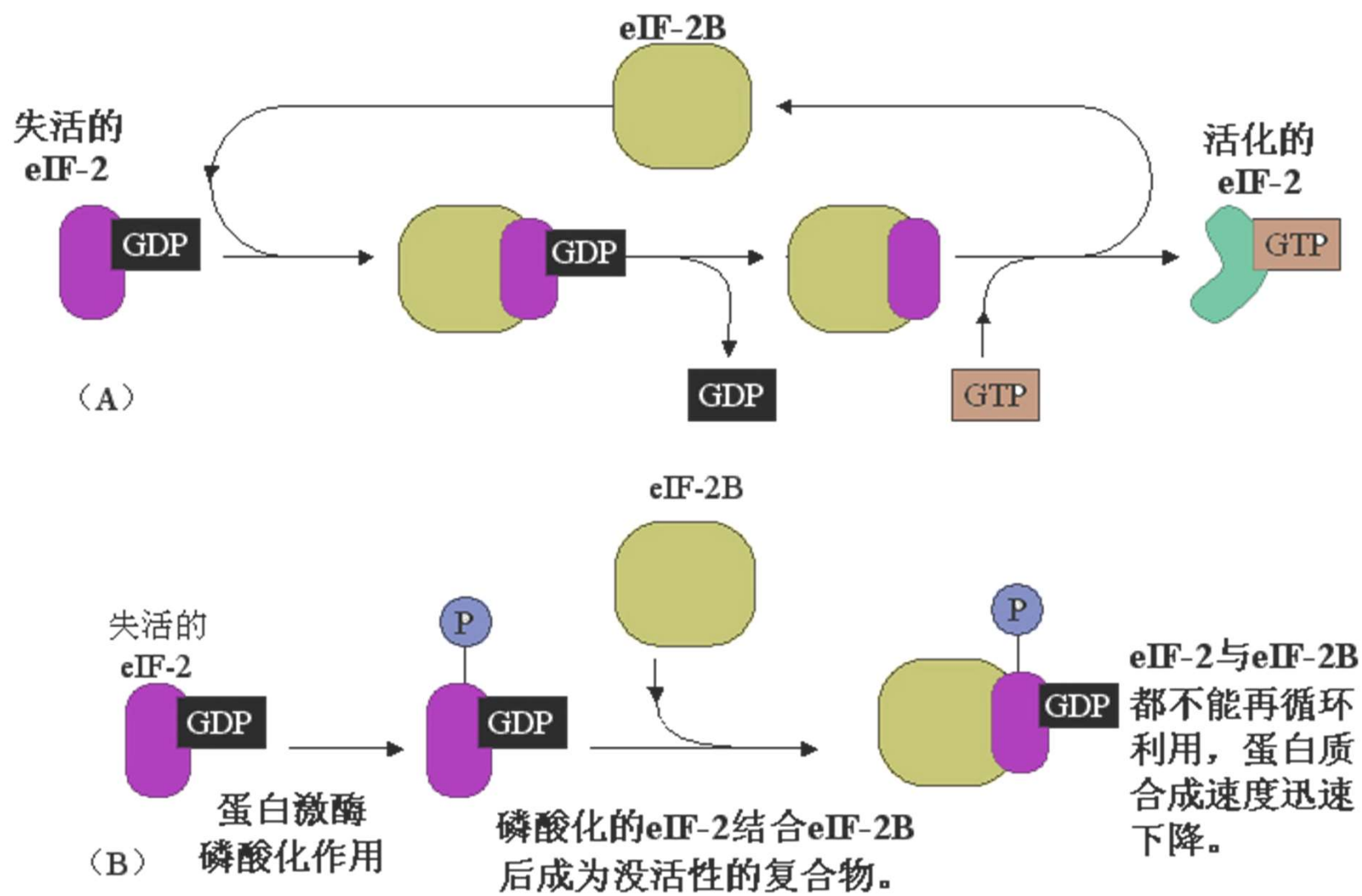
## 三、翻译水平上的调控

---

---

### (一) 翻译起始因子的磷酸化调节蛋白质合成

条件变化活化了特殊的蛋白激酶，使真核（翻译）起始因子eIF-2(eukaryotic initiation factor, eIF-2)磷酸化所致。

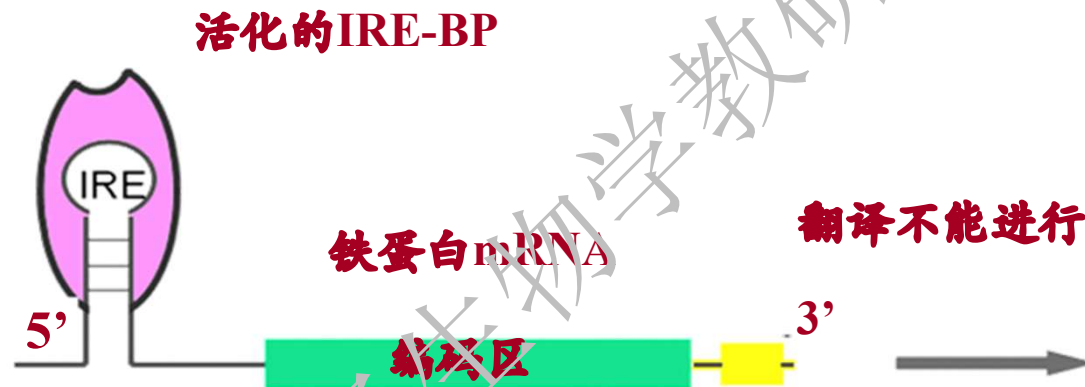


## (二) 结合mRNA 5'与3' UTR的蛋白质介导负翻译调控

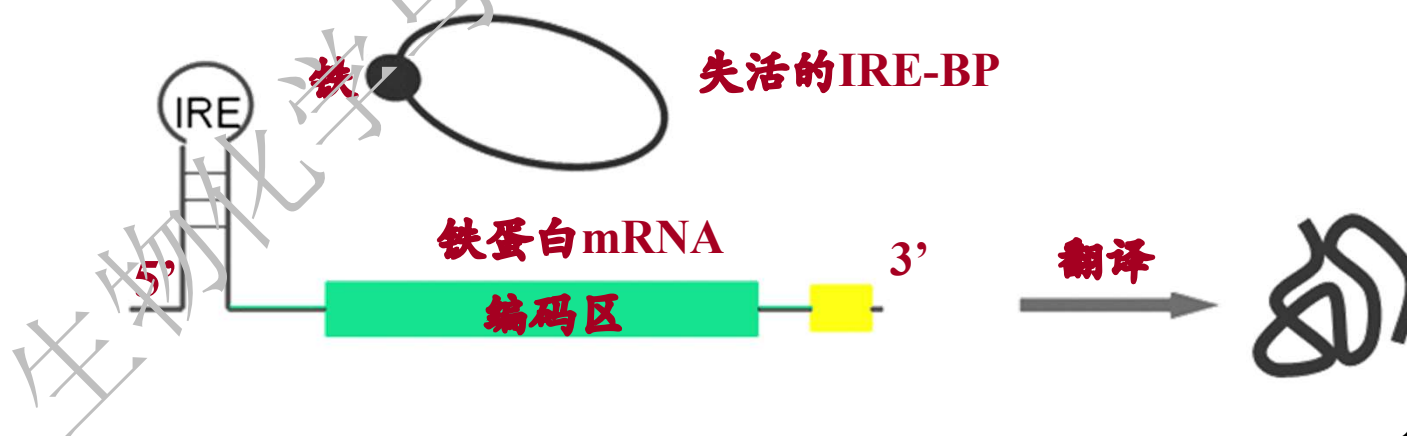
一些抑制蛋白质结合到mRNA的5'端抑制翻译起始，而另一些抑制蛋白质则识别特殊mRNA分子的3'UTR，通过干扰3'poly(A)尾与5'端帽的联络而减少翻译的起动。

# IRE-BP对铁蛋白mRNA翻译的调节

低铁状态



高铁状态



### (三) 真核细胞mRNA翻译起始点也可被调控

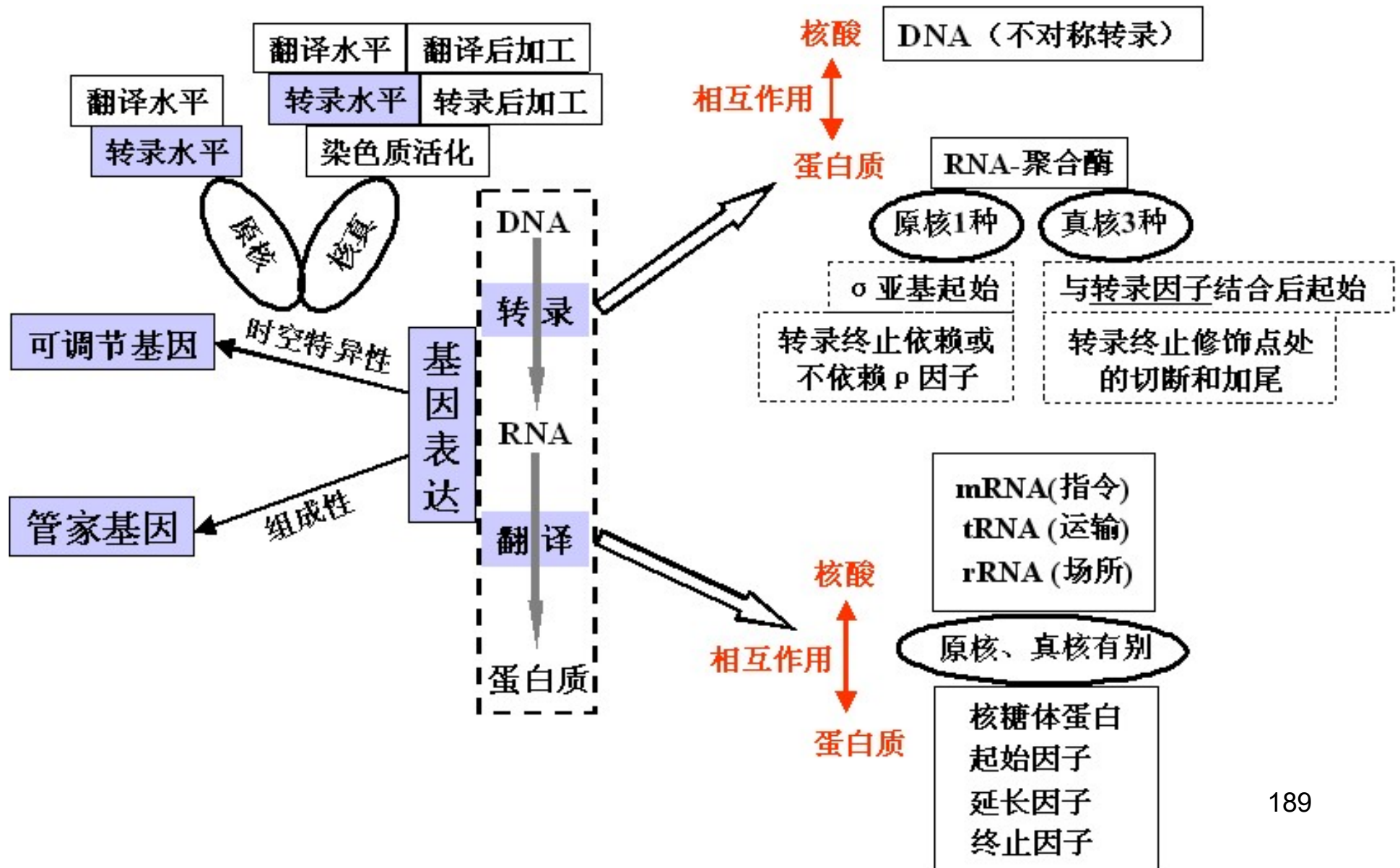
- ❖ **遗漏扫描**：当不利于识别时，扫描的核糖体小亚基有时可以无视第一个**AUG**而滑向第二个，甚至第三个**AUG**，这种现象被称为**遗漏扫描(leaky scanning)**，可以使一个mRNA分子产生两个或更多仅氨基末端不同的相关的蛋白质。在一些情况下，细胞可以通过遗漏扫描调节这些不同长度蛋白质的相对丰度。



❖ **5'-AUG**：在有些mRNA分子中，起始密码子**AUG**的上游（5'UTR）有一个或几个**AUG**，这些上游开放阅读框架与正常的开放阅读框架多不一致，翻译后很快会遇到终止密码子而释出无功能的多肽。

**意义**：起调节功能，它们的**AUG**可以与正常起始密码子**AUG**竞争，使正常翻译产物维持在较低水平。

# 基因表达与表达调控一览图



# Comparison of Regulation of Gene Expression Between Prokaryotes and Eukaryotes

	<u>Prokaryotes</u>	<u>Eukaryotes</u>
• 特异性DNA结合蛋白控制转录	Yes	Yes
• 染色质结构影响	No	Yes
• 操纵子形式的协调控制	Yes	No
• 不同剪接	No	Yes
• 转录衰减	Yes	No
• 加Poly (A)	No	Yes
• 差异核浆转运	No	Yes
• 翻译速度	Yes	Yes

## (一) 名词解释

顺式作用元件、反式调节因子、操纵子、操纵序列、管家基因、阻遏蛋白、CAP、基因表达谱、诱导表达、阻遏表达

## (二) 问答题

1. 基因表达的特点是什么？
2. 为什么原核生物的转录调控主要以负调节形式，而真核生物主要以正调节形式进行？
3. 如何理解基因表达的多级调控？
4. 在有葡萄糖存在时，细菌是不利用乳糖的；当葡萄糖耗尽后，细菌才利用乳糖。试用乳糖操纵子解释其机制。