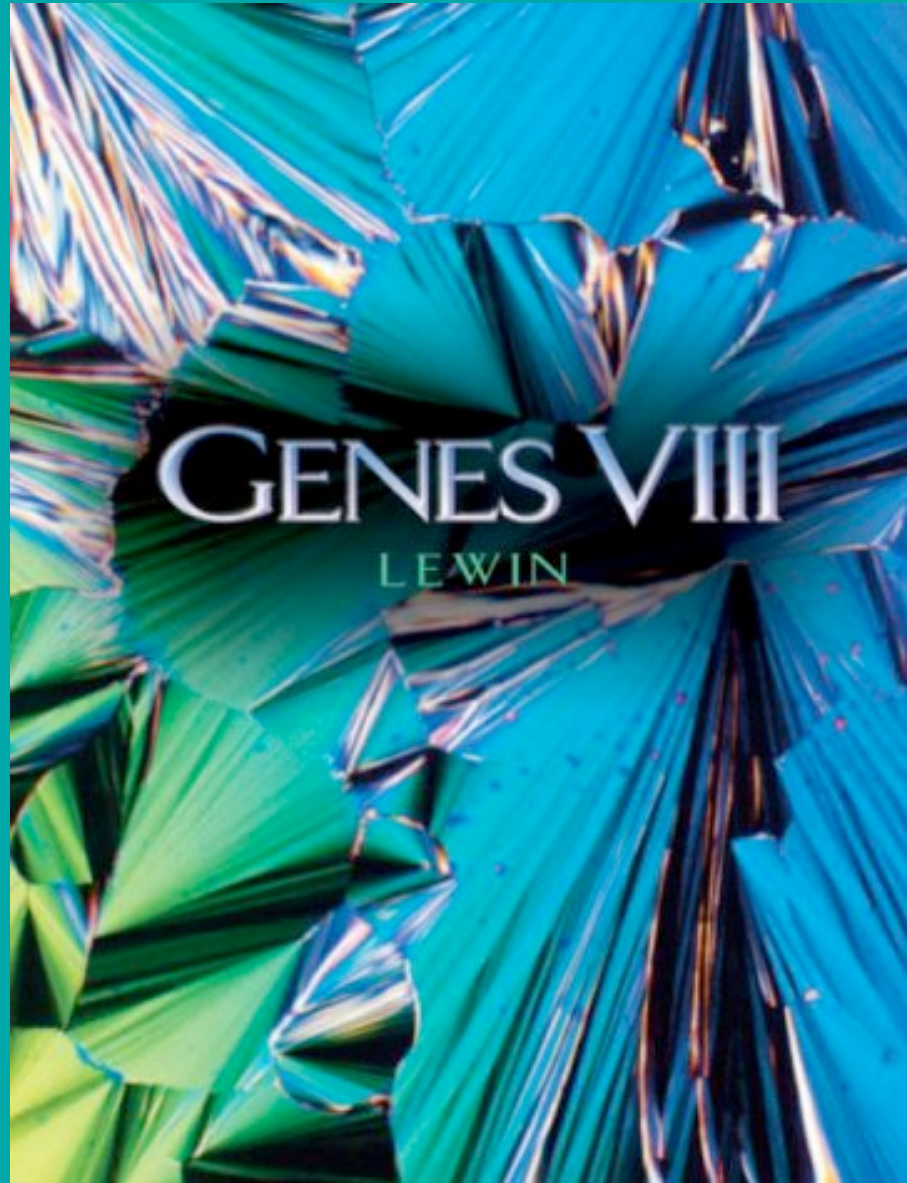
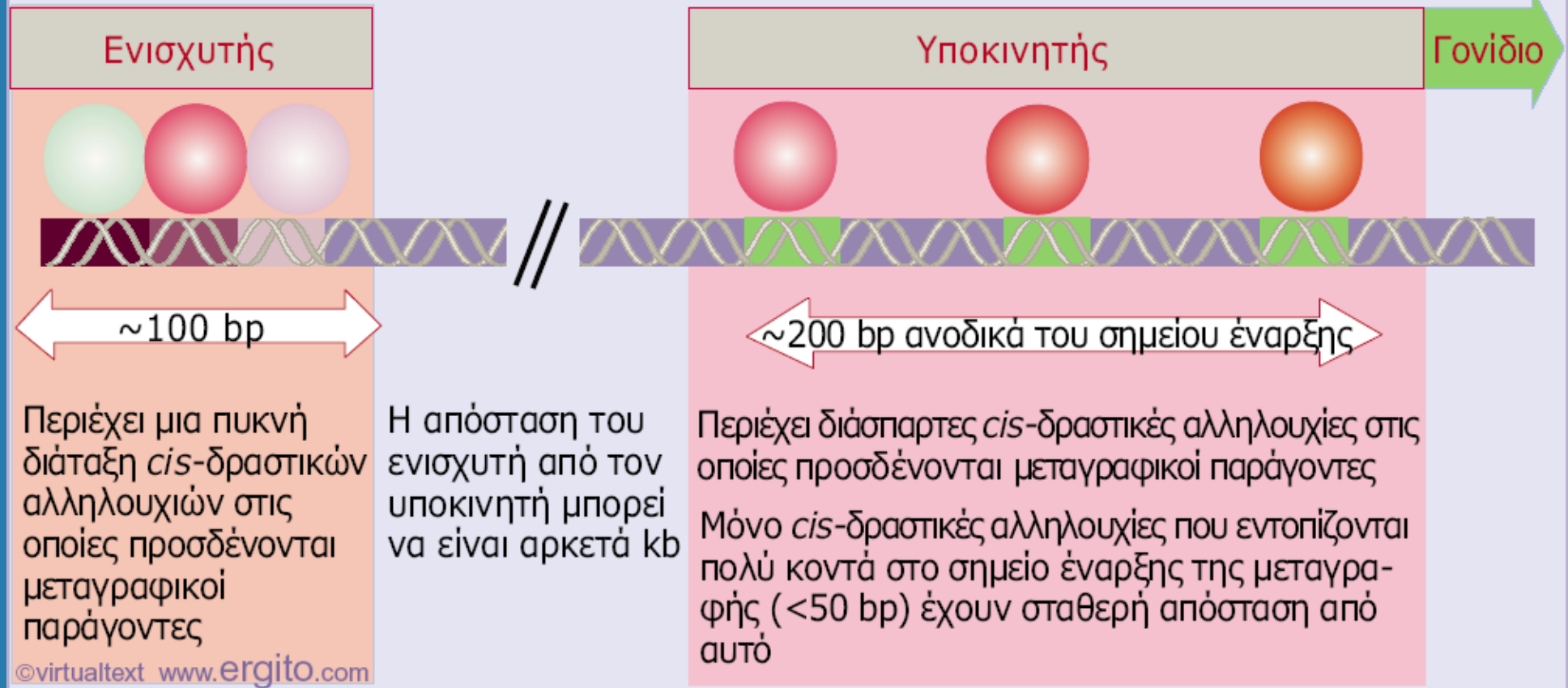


# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 21 : Υποκινητές και Ενισχυτές



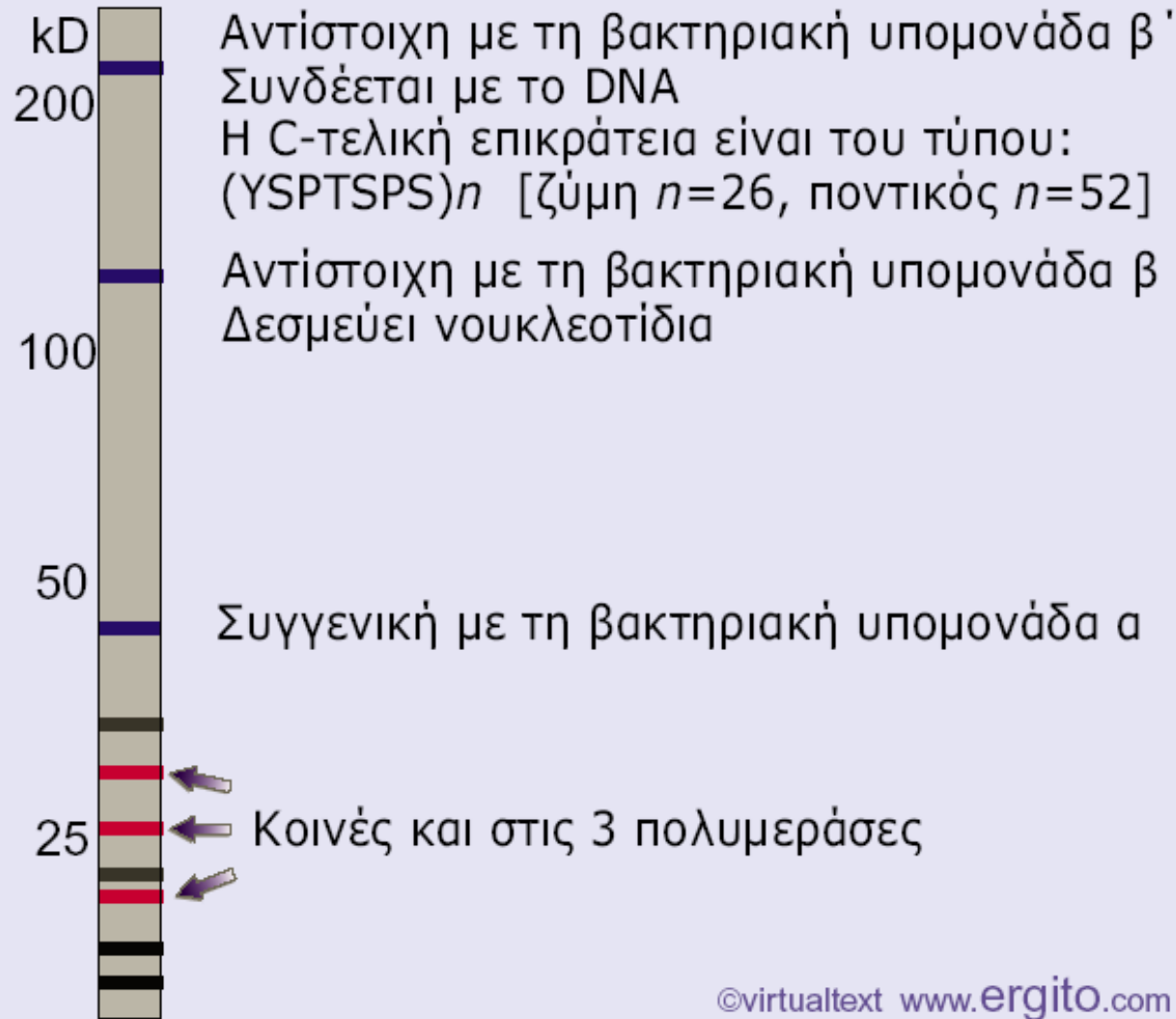
Genes VIII - Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2004

## Οι υποκινητές και οι ενισχυτές ελέγχουν τη μεταγραφή

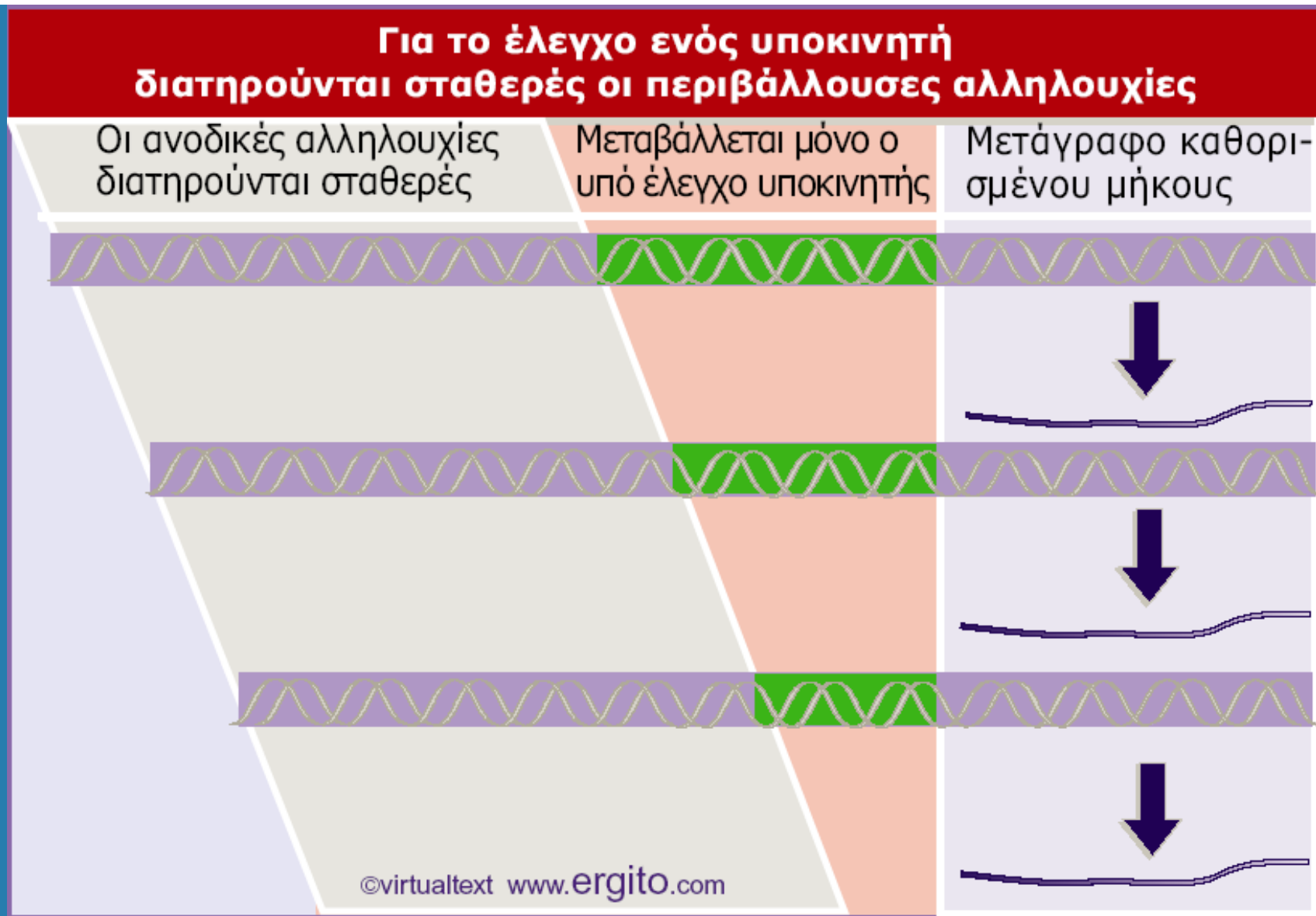


**Εικόνα 21.1** Ένα τυπικό γονίδιο που μεταγράφεται από την RNA πολυμεράση II έχει έναν υποκινητή ο οποίος εκτείνεται ανοδικά από τη θέση έναρξης της μεταγραφής. Ο υποκινητής περιέχει διάφορα σύντομα (<10 bp) στοιχεία πρόσδεσης μεταγραφικών παραγόντων, διασκορπισμένα σε έκταση >200 bp. Ένας ενισχυτής φέρει πυκνότερη διάταξη στοιχείων, που επίσης αναγνωρίζονται από μεταγραφικούς παράγοντες, και μπορεί να βρίσκεται αρκετά kb μακριά. Η δομή του DNA επιτρέπει στους μεταγραφικούς παράγοντες που δεσμεύονται στον υποκινητή και σε αυτούς που δεσμεύονται στον ενισχυτή να σχηματίζουν ένα μεγάλο πρωτεϊνικό σύμπλοκο.

## Η RNA πολυμεράση έχει >10 υπομονάδες

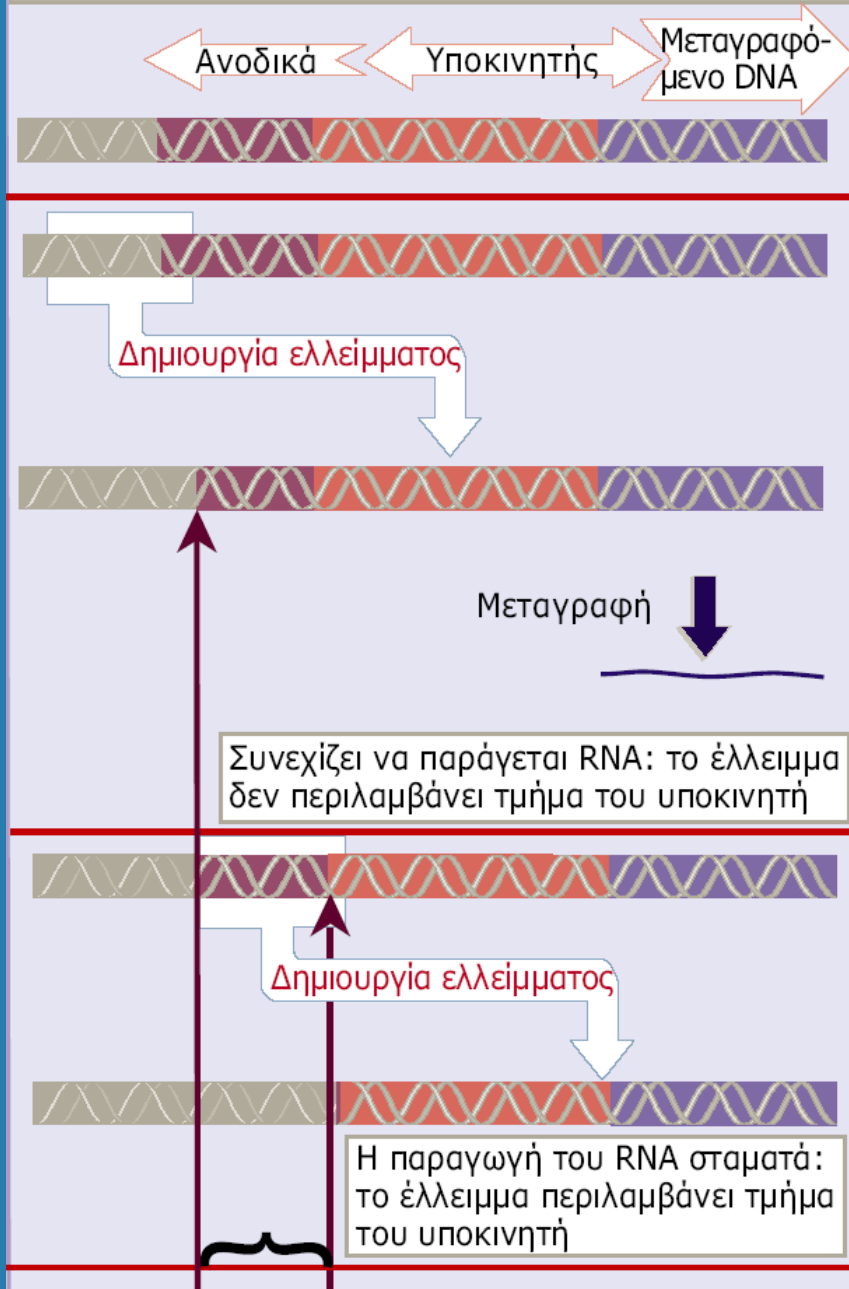


**Εικόνα 21.2** Μερικές υπομονάδες είναι κοινές σε όλες τις τάξεις RNA πολυμερασών, ενώ μερικές είναι συγγενικές με τη βακτηριακή RNA πολυμεράση.



**Εικόνα 21.3** Η λειτουργία ενός υποκινητή αναλύεται τροποποιώντας την αλληλουχία του, ενώ βρίσκεται συνδεδεμένος με μια σταθερή αλληλουχία στην άνοδο και με μια σταθερή μεταγραφική μονάδα στην κάθοδο.

Τα όρια ενός υποκινητή προσδιορίζονται με ελλείμματα



Το ανοδικό όριο του υποκινητή βρίσκεται ανάμεσα στα άκρα των δύο ελλειμμάτων

**Εικόνα 21.4** Είναι δυνατόν να αναγνωρίσουμε τα όρια ενός υποκινητή δημιουργώντας ελλείμματα που αφαιρούν διαδοχικά όλο και περισσότερο υλικό από τη μία πλευρά. Όταν ένα έλλειμμα αποτυγχάνει να αποτρέψει τη σύνθεση του RNA, ενώ το επόμενο την εμποδίζει, τότε το όριο του υποκινητή θα πρέπει να βρίσκεται ανάμεσά τους.

## Οι υποκινητές της ροI αποτελούνται από δύο τμήματα

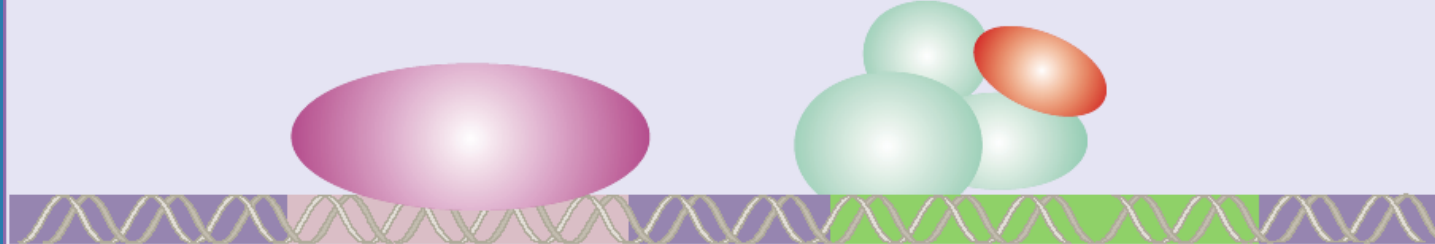
Ανοδικό στοιχείο του υποκινητή							Κεντρικός υποκινητής					
-170	-160	-150	-140	-130	-120	-110	-40	-30	-20	-10	+10	+20
Αλληλουχία πλούσια σε G•C							Αλληλουχία πλούσια σε A•T				Inr	
											Σημείο έναρξης	

## Το σύμπλοκο έναρξης σχηματίζεται σε τρία στάδια

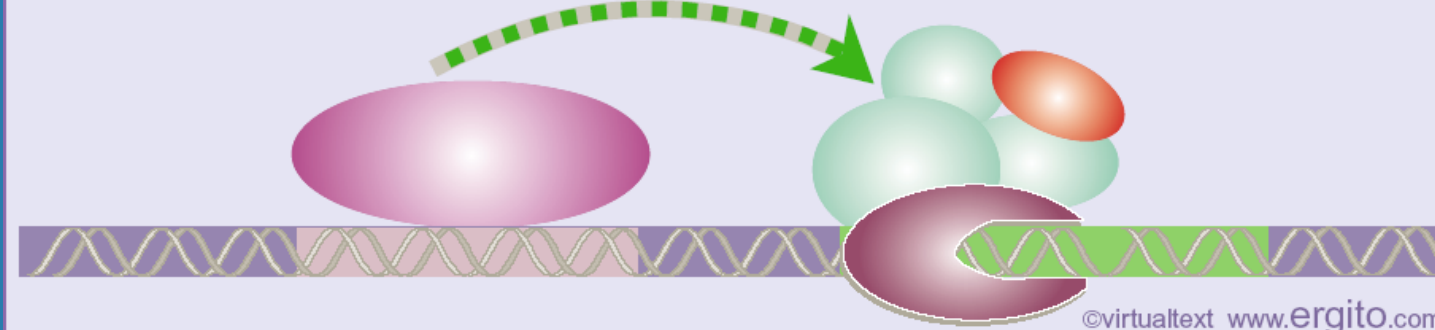
Ο UBF προσδένεται στο ανοδικό στοιχείο του υποκινητή



Ο ΠΠΚΥ (SL1, TIF-IB, Rib1) προσδένεται στον κεντρικό υποκινητή



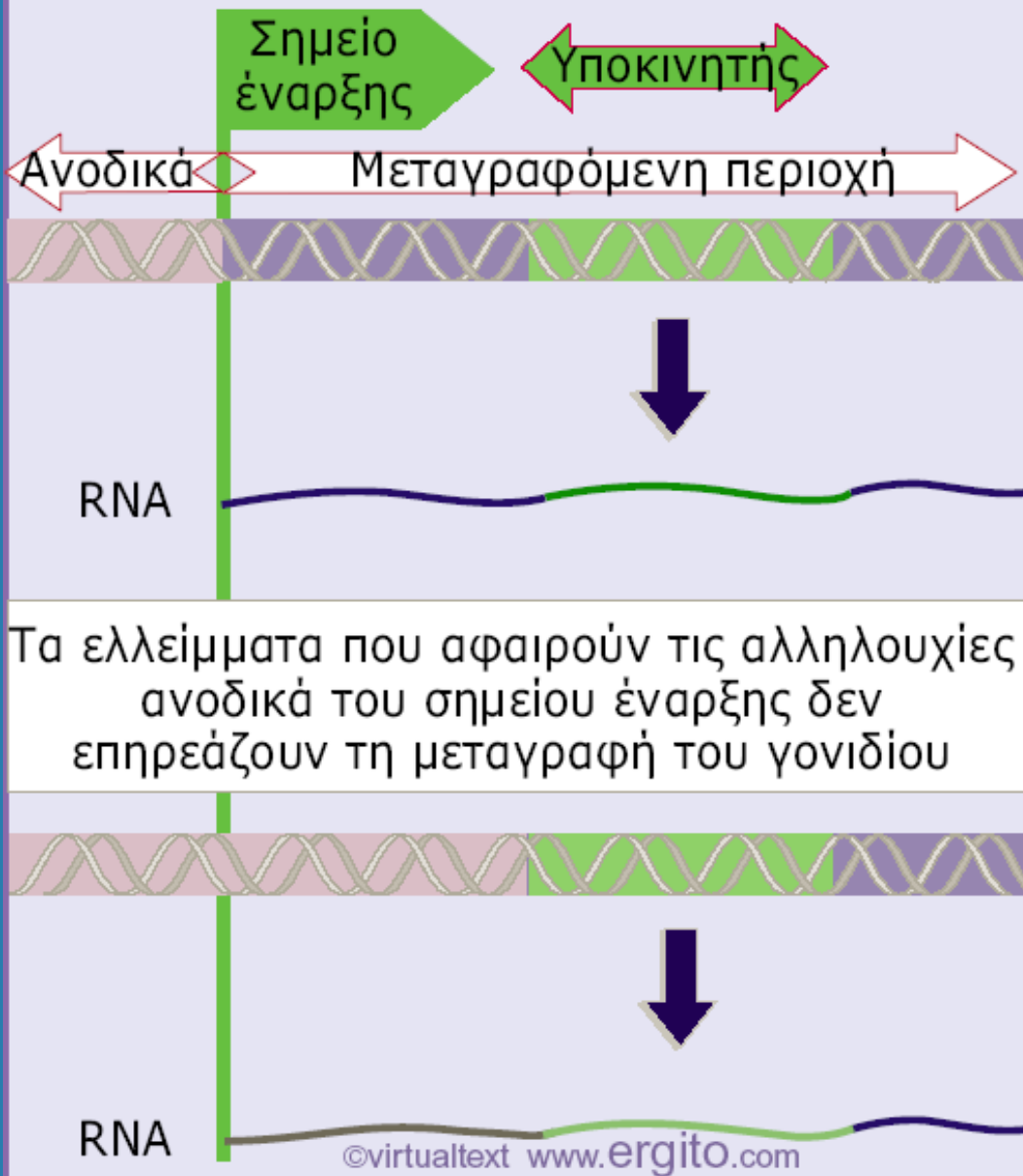
Η RNA πολυμεράση I προσδένεται στο σημείο έναρξης



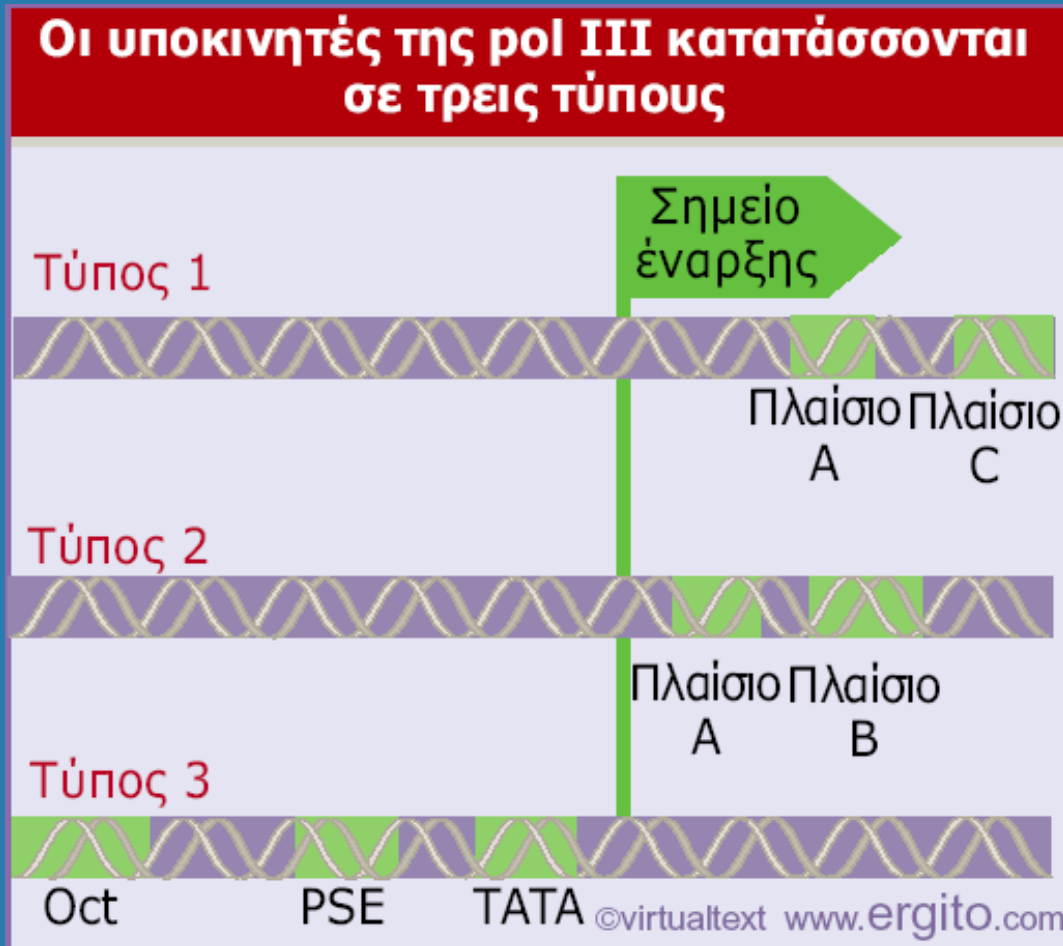
©virtualtext www.ergito.com

**Εικόνα 21.5** Οι μεταγραφικές μονάδες της RNA πολυμεράσης I έχουν έναν κεντρικό υποκινητή ο οποίος διαχωρίζεται με ~70 bp από το ανοδικό στοιχείο του υποκινητή. Η πρόσδεση του UBF στο UPE διεγείρει τη σύνδεση του παράγοντα πρόσδεσης στον κεντρικό υποκινητή. Αυτός ο παράγοντας τοποθετεί την RNA πολυμεράση I στο σημείο έναρξης.

**Οι υποκινητές της rol III είναι δυνατόν να βρίσκονται καθοδικά του σημείου έναρξης**



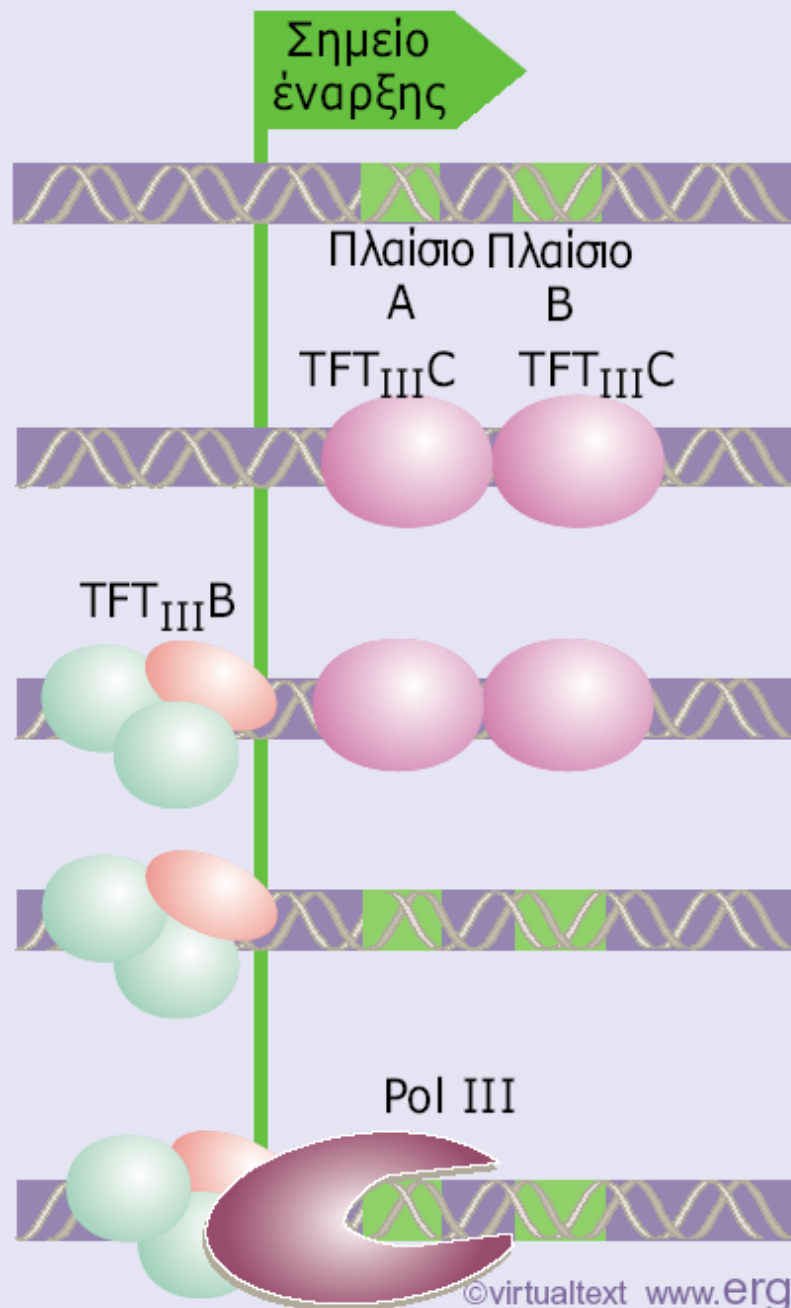
**Εικόνα 21.6** Η ανάλυση με ελλείμματα δείχνει ότι ο υποκινητής των γονιδίων 5S RNA είναι εσωτερικός: η έναρξη λαμβάνει χώρα σε καθορισμένη απόσταση (~55 bp) ανοδικά του υποκινητή.



**Εικόνα 21.7** Οι υποκινητές της RNA πολυμεράσης III μπορεί να αποτελούνται από διμερή στοιχεία που βρίσκονται καθοδικά του σημείου έναρξης, οπότε ένα πλαίσιο A συνδυάζεται είτε με ένα πλαίσιο C είτε με ένα πλαίσιο B. Εναλλακτικά, μπορεί να αποτελούνται από διακριτά στοιχεία ανοδικά του σημείου έναρξης (Oct, PSE, TATA).

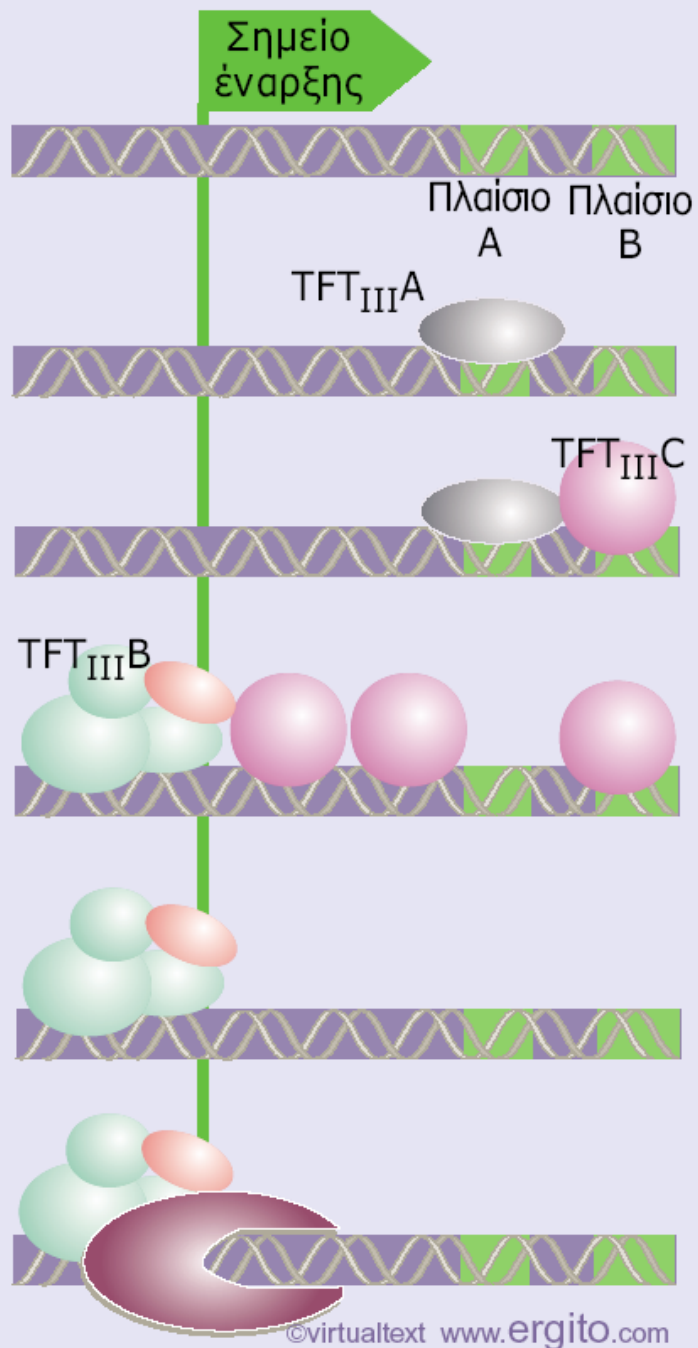


## Οι υποκινητές τύπου 2 της ροι III χρησιμοποιούν τον TF<sub>III</sub>C



**Εικόνα 21.8** Στους εσωτερικούς υποκινητές ροι III τύπου 2, η πρόσδεση του παράγοντα TF<sub>III</sub>C στις αλληλουχίες των πλαισίων A και B είναι προϋπόθεση για τη σύνδεση του παράγοντα τοποθέτησης TF<sub>III</sub>B, ο οποίος στρατολογεί την RNA πολυμεράση III.

**Οι υποκινητές της pol III τύπου 1  
χρησιμοποιούν τους  $TF_{III}A$  και  $TF_{III}C$**



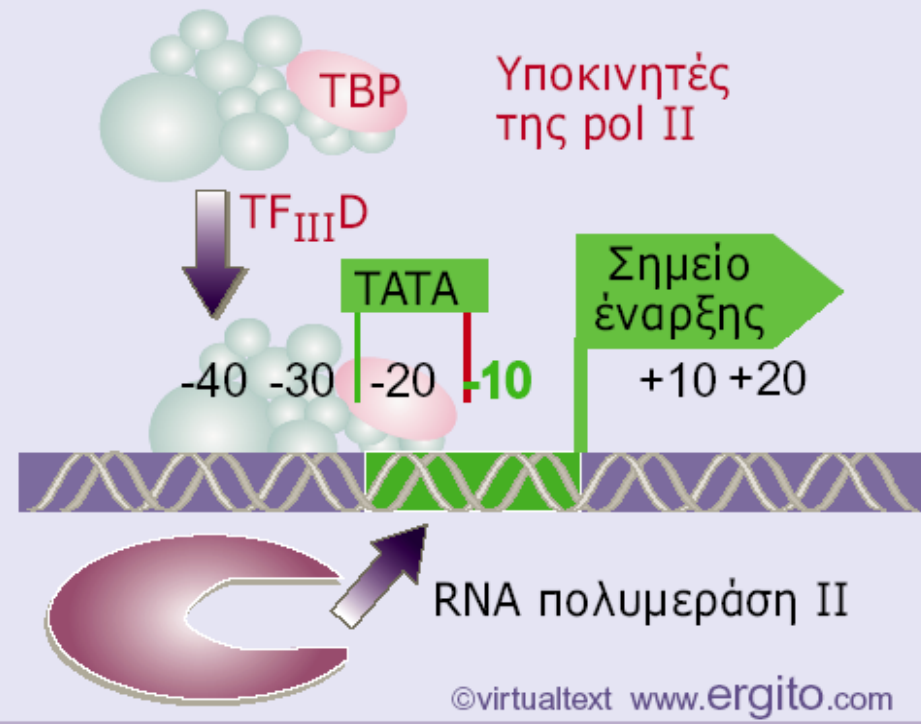
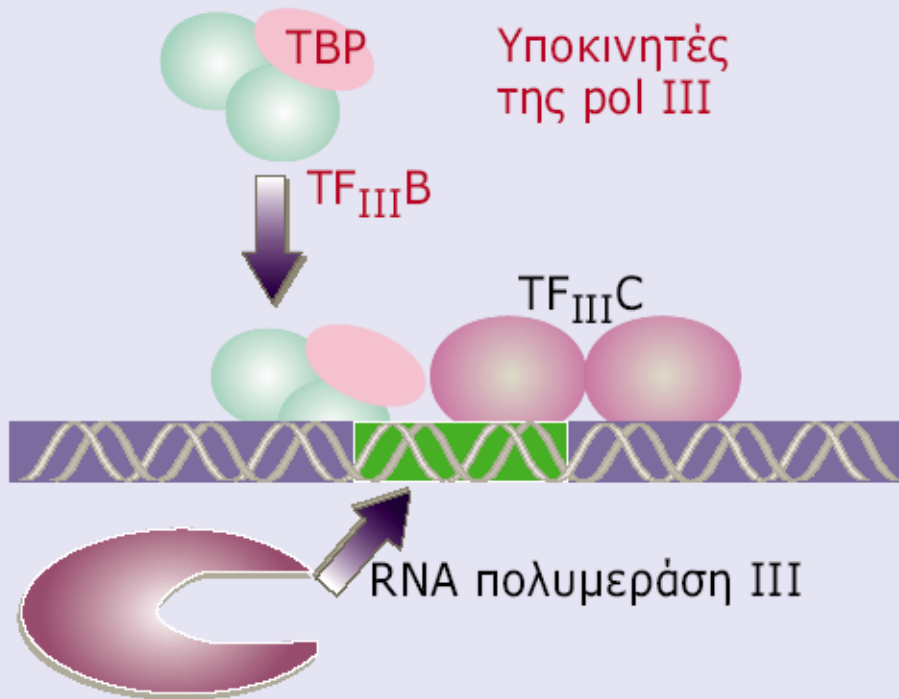
**Εικόνα 21.9** Στους εσωτερικούς υποκινητές pol III τύπου 1, οι παράγοντες συναρμολόγησης TFIIA και TFIIC προσδένονται αντίστοιχα στα πλαίσια A και C, προκειμένου να προσελκύσουν τον παράγοντα τοποθέτησης TFIIB, ο οποίος στρατολογεί την RNA πολυμεράση III.

## Ο ελάχιστος υποκινητής της pol II αποτελείται από δύο μόνο στοιχεία

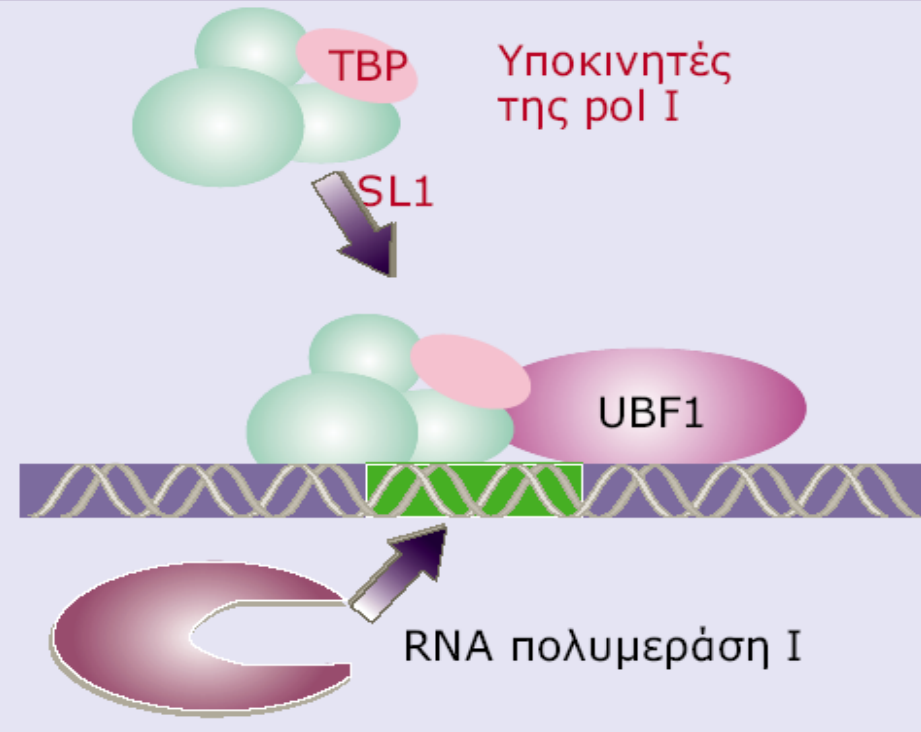


**Εικόνα 21.10** Ο ελάχιστος υποκινητής pol II φέρει ένα πλαίσιο TATA ~25 bp ανοδικά του InR. Το πλαίσιο TATA έχει το πρότυπο αλληλουχίας TATAA. Στον InR, το δινουκλεοτίδιο CA στο σημείο έναρξης περιβάλλεται από πυριμιδίνες (Y). Η αλληλουχία αντιστοιχεί στην κωδική αλυσίδα.

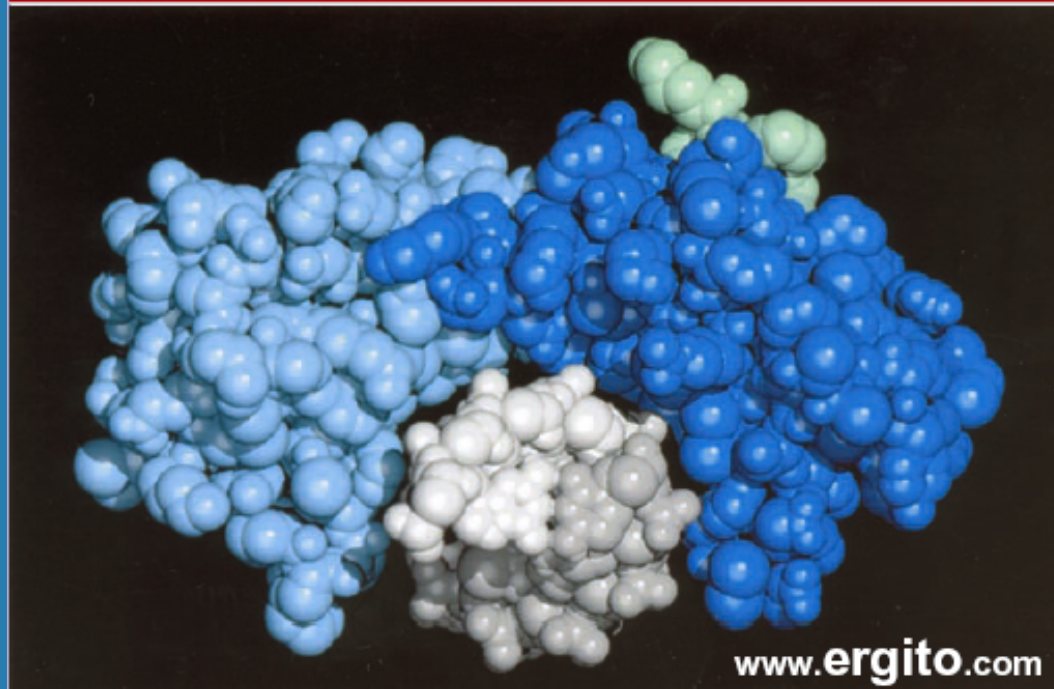
**Οι πολυμεράσες προσδένονται στους υποκινητές με τη βοήθεια πρωτεϊνικών παραγόντων**



**Εικόνα 21.11** Οι RNA πολυμεράσες τοποθετούνται σε όλους τους υποκινητές από κάποιον παράγοντα που συμπεριλαμβάνει την πρωτεΐνη TBP.

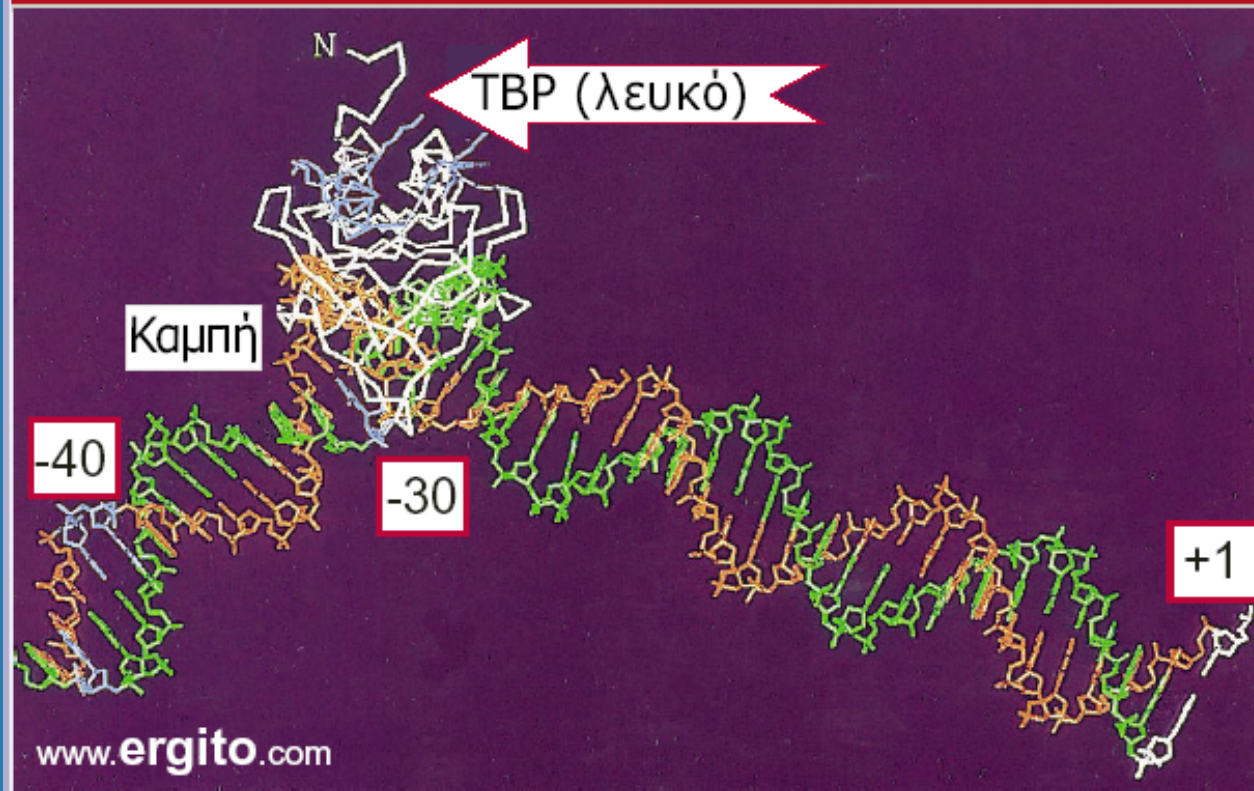


## Ο TBP προσδένεται στη μικρή αύλακα του DNA



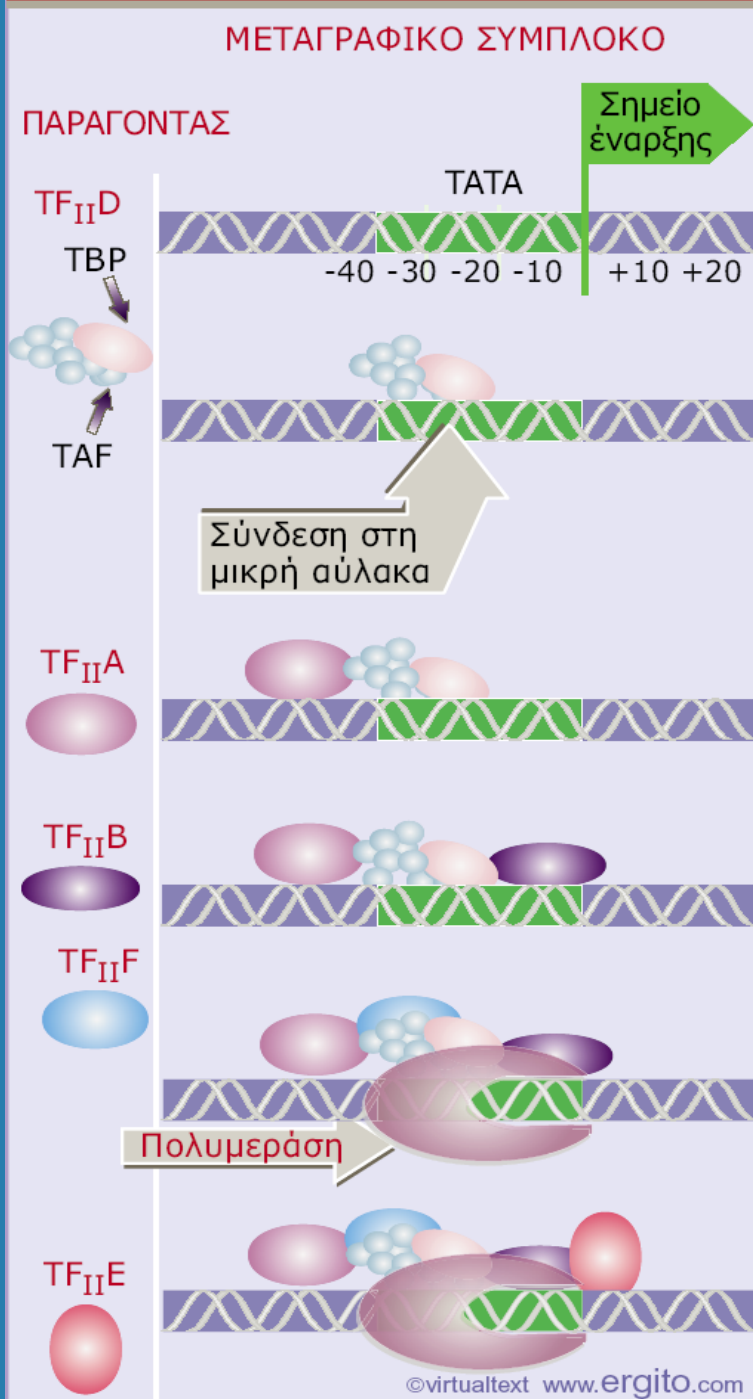
**Εικόνα 21.12** Η εγκάρσια τομή δείχνει ότι ο TBP περιβάλλει το DNA από την πλευρά της μικρής αύλακας. Ο TBP αποτελείται από δύο συγγενικές (40% ταυτότητα) συντηρημένες επικράτειες, οι οποίες απεικονίζονται με ανοικτό και βαθύ μπλε. Η N-τελική περιοχή ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό και επισημαίνεται με πράσινο. Οι δύο αλυσίδες της διπλής έλικας του DNA απεικονίζονται με ανοικτό και βαθύ γκρι. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά του Stephen Burley.

## Ο TBP προσδένεται στη μικρή αύλακα και κάμπτεται το DNA



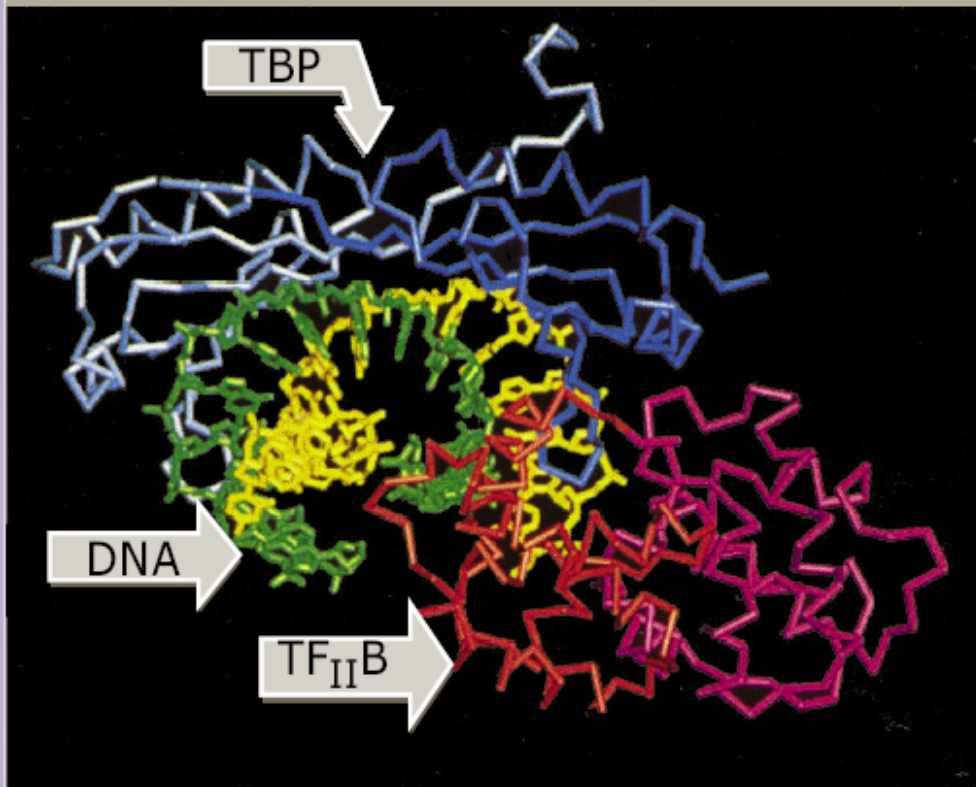
**Εικόνα 21.13** Η κρυσταλλική δομή του TBP σε σύμπλοκο με το DNA από τη θέση -40 έως το σημείο έναρξης εμφανίζει μια καμπή στο πλαίσιο TATA, η οποία διευρύνει τη μικρή αύλακα όπου προσδένεται ο TBP. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά του Stephen Burley.

**Οι μεταγραφικοί παράγοντες σχηματίζουν το σύμπλοκο έναρξης**

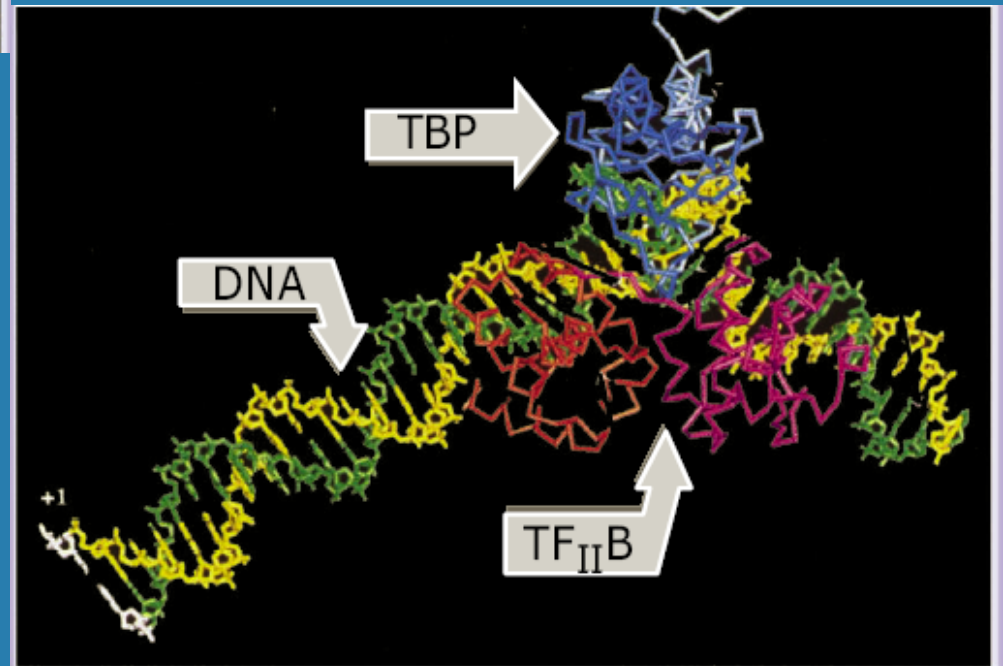


**Εικόνα 21.14** Το εναρκτήριο σύμπλοκο συναρμολογείται στους υποκινητές της RNA πολυμεράσης II μέσω της διαδοχικής πρόσδεσης μιας σειράς μεταγραφικών παραγόντων.

## Ο TF<sub>II</sub>B κάμπτεται το DNA καθοδικά του TBP

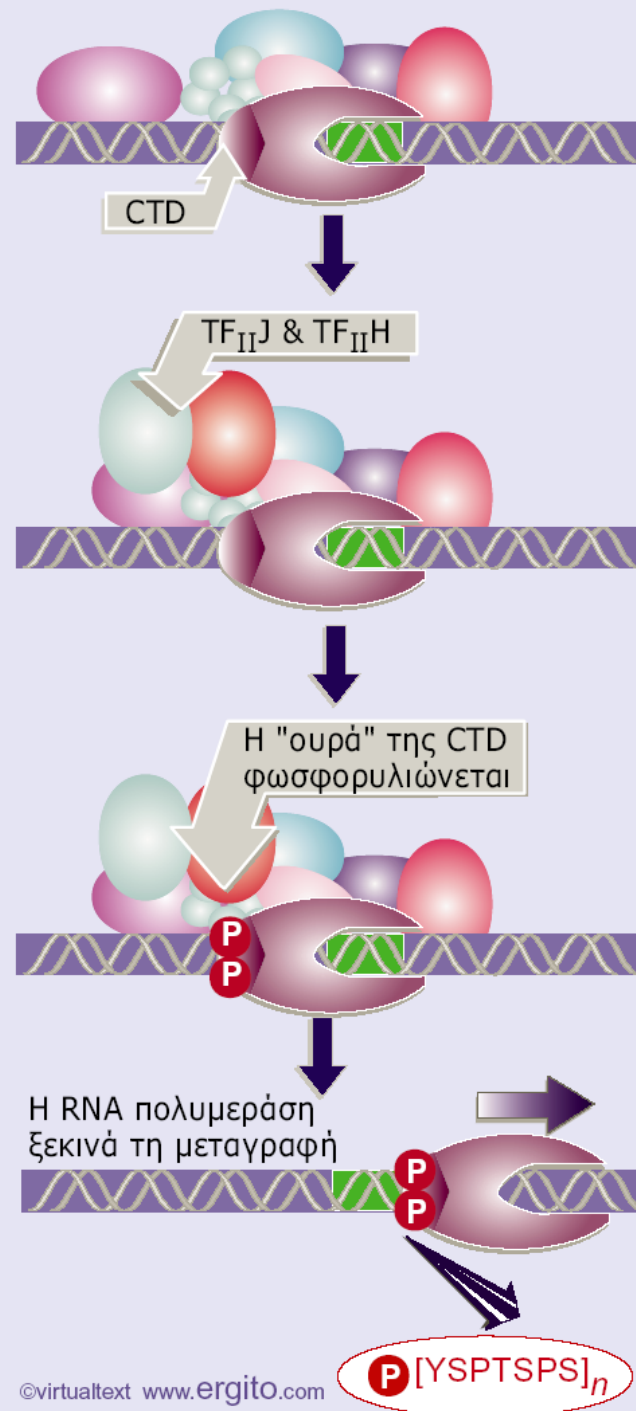


**Εικόνα 21.15** Δύο όψεις του τριαδικού συμπλόκου TFIIB-TBP-DNA δείχνουν ότι ο TFIIB προσδένεται κατά μήκος της κυρτής πλευράς του DNA. Οι δύο αλυσίδες του DNA απεικονίζονται με πράσινο και κίτρινο, ο TBP με μπλε και ο TFIIB με κόκκινο και μοβ. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά του Stephen Burley.





Η CTD φωσφορυλιώνεται κατά την έναρξη

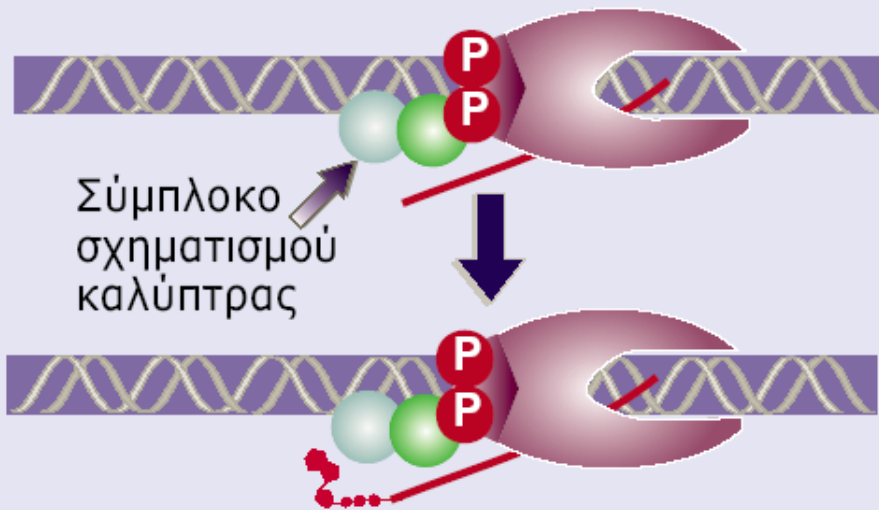


©virtualtext www.ergito.com

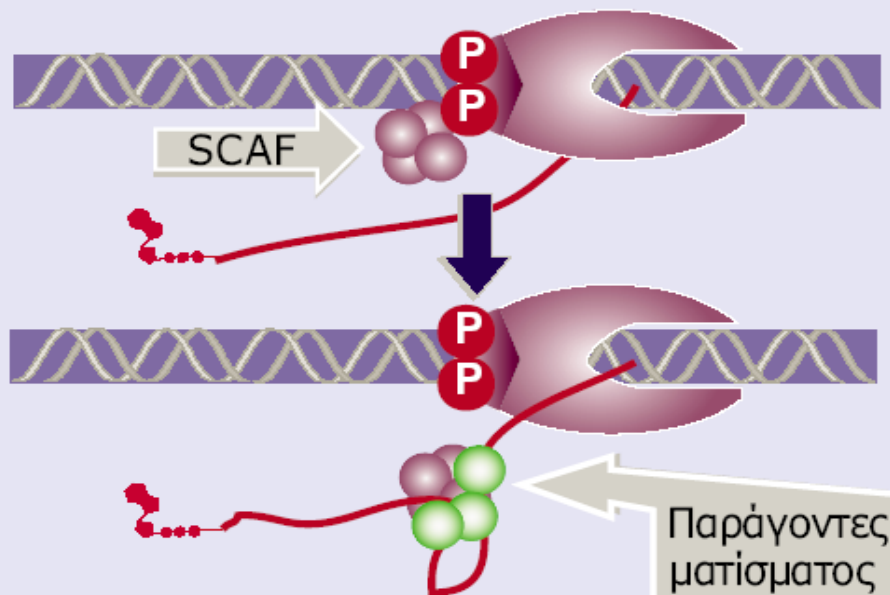
**Εικόνα 21.16** Ίσως απαιτείται η φωσφορυλίωση της ουράς CTD από την κινάση του TFIIH, προκειμένου η RNA πολυμεράση να αποδεσμευτεί και να αρχίσει τη μεταγραφή.

## Η CTD είναι απαραίτητη για την τροποποίηση του mRNA

Σχηματισμός καλύπτρας στο 5' άκρο

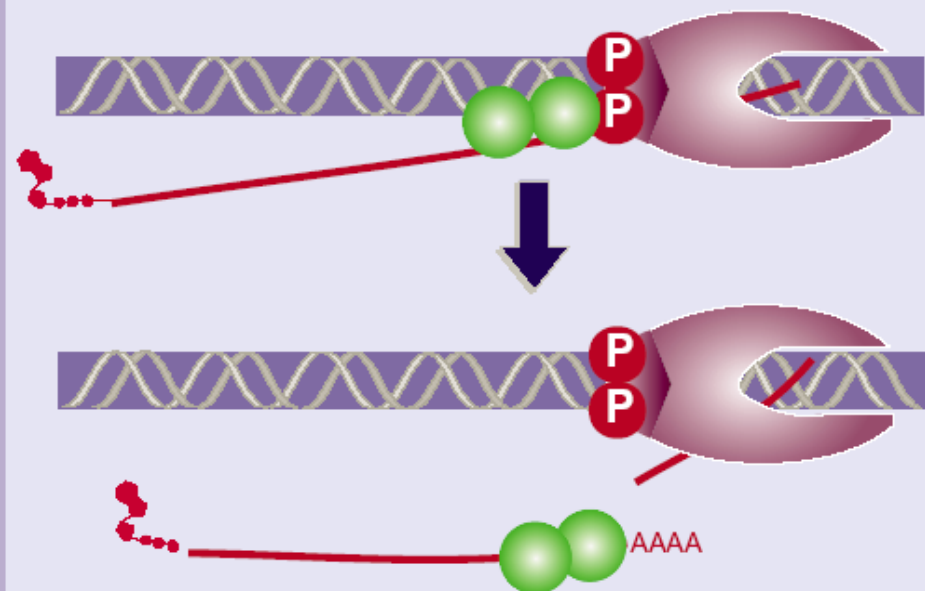


Οι πρωτεΐνες SCAF στρατολογούν τους παράγοντες ματίσματος



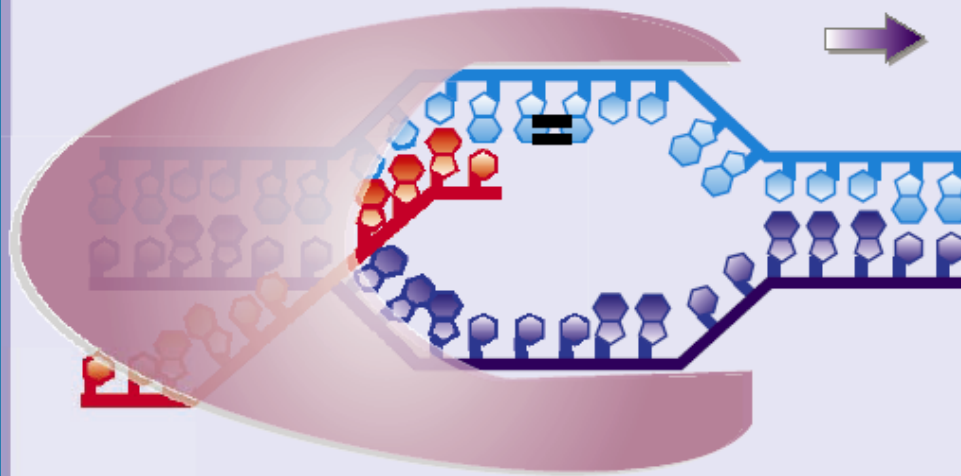
**Εικόνα 21.17** Η ουρά CTD είναι σημαντική για τη στρατολόγηση ενζύμων που τροποποιούν το RNA.

Πολυαδενυλίωση και κόψιμο του 3' άκρου

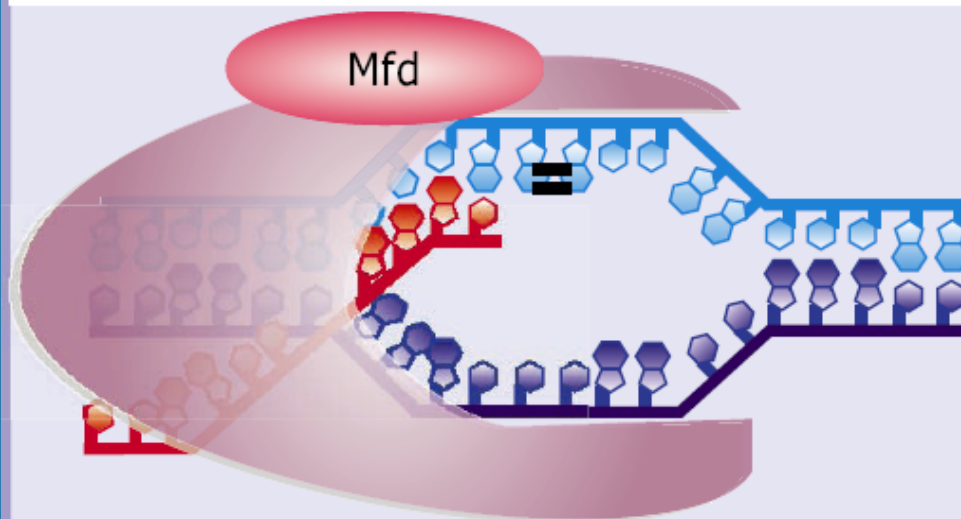


## Οι στάσιμες πολυμεράσες εκτοπίζονται από την Mfd

Η RNA πολυμεράση σταματά όταν συναντά κάποια βλάβη στο DNA της αλυσίδας-μήτρας

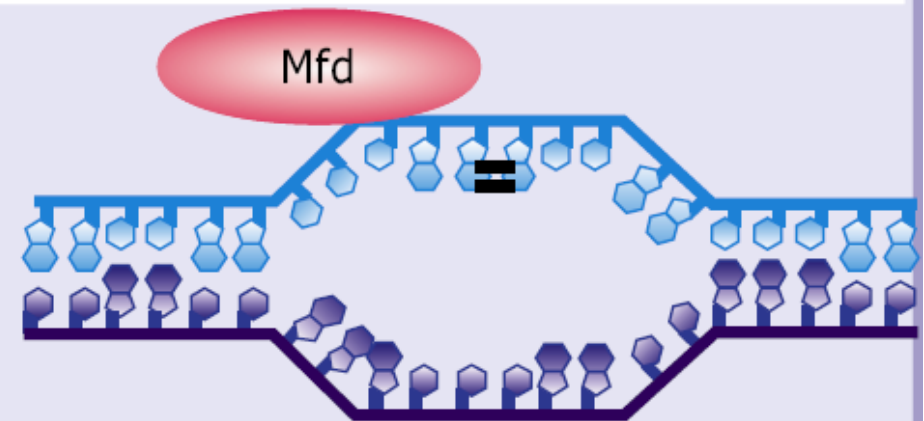


Η Mfd προσδένεται στη στάσιμη RNA πολυμεράση

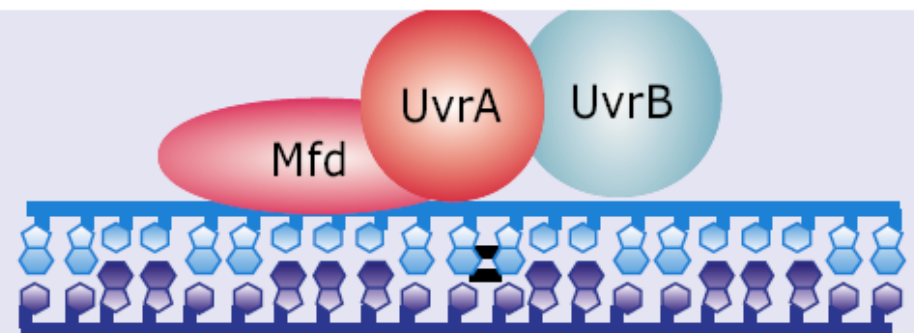


**Εικόνα 21.18** Η Mfd αναγνωρίζει τη στάσιμη RNA πολυμεράση και κατευθύνει την επιδιόρθωση της βλάβης του DNA στην αλυσίδα-μήτρα.

Η πολυμεράση και το μεταγγραφο ελευθερώνονται



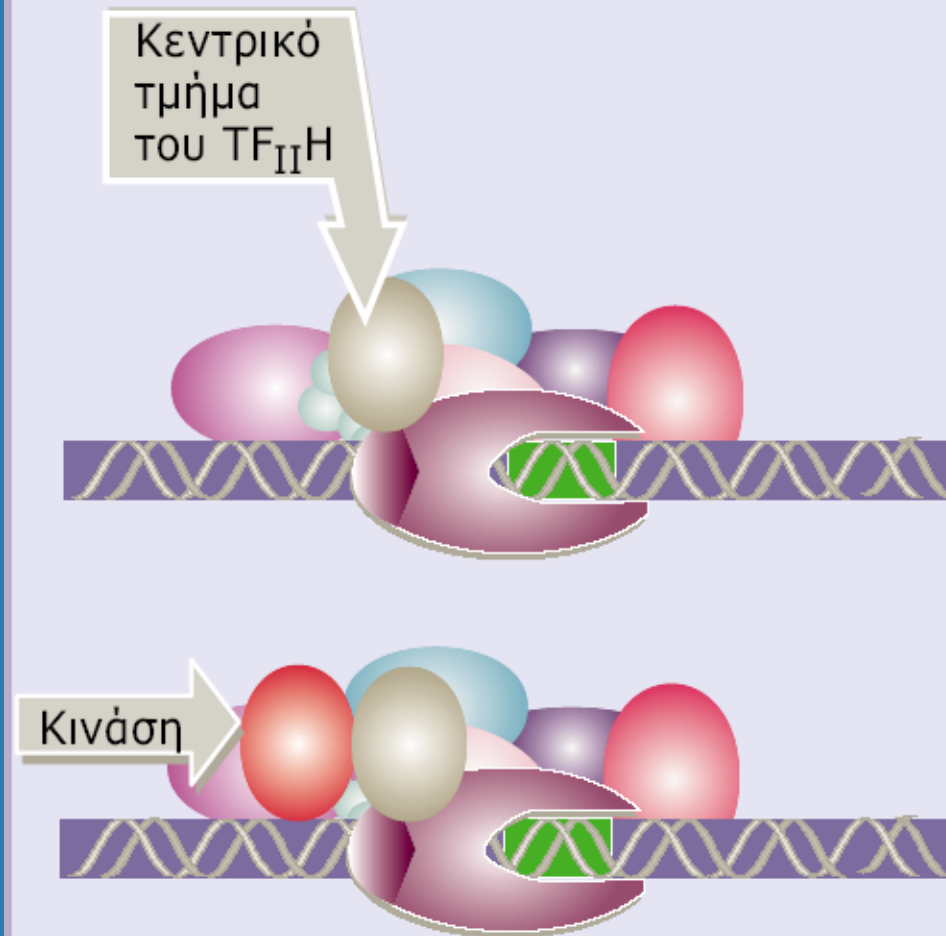
Το σύμπλοκο UvrAB ξεκινά την επιδιόρθωση εκτομής



©virtualtext www.ergito.com

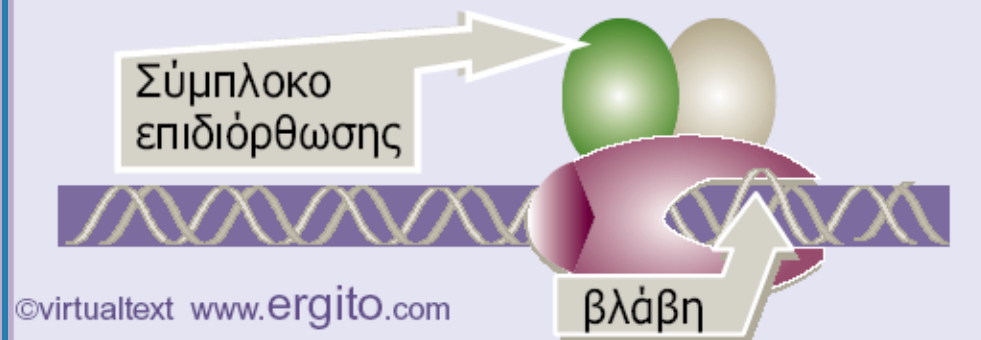
## Ο TF<sub>II</sub>H παίζει διάφορους ρόλους

Ο TF<sub>II</sub>H λειτουργεί ως κινάση κατά την έναρξη



**Εικόνα 21.19** Το κεντρικό τμήμα του παράγοντα TFIIH μπορεί να συνδέεται με μια κινάση κατά την έναρξη και με ένα σύμπλοκο επιδιόρθωσης όταν συναντά θέσεις βλάβης του DNA.

Ο TF<sub>II</sub>H λειτουργεί ως σύμπλοκο επιδιόρθωσης κατά την επιμήκυνση

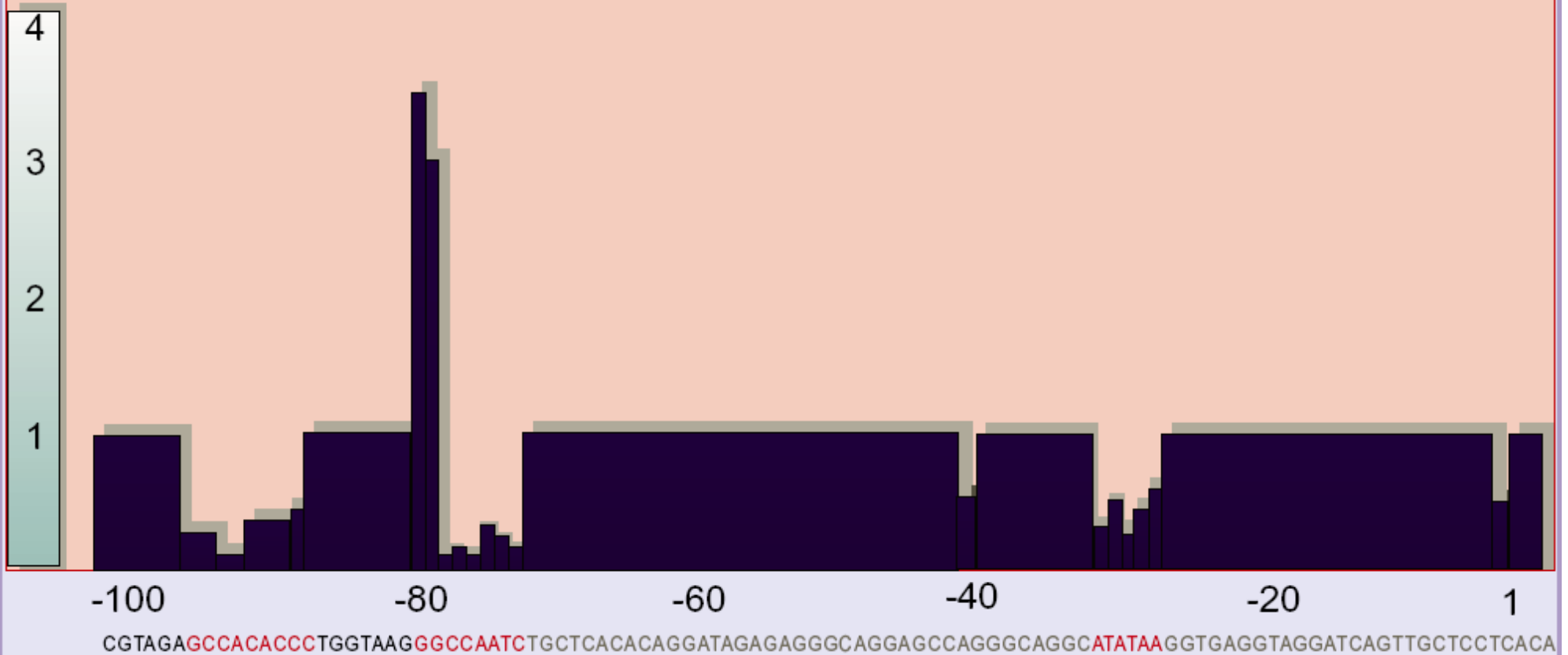


©virtualtext www.ergito.com

## Ο υποκινητής της β-σφαιρίνης φέρει τρεις βραχείες *cis*-δραστικές αλληλουχίες

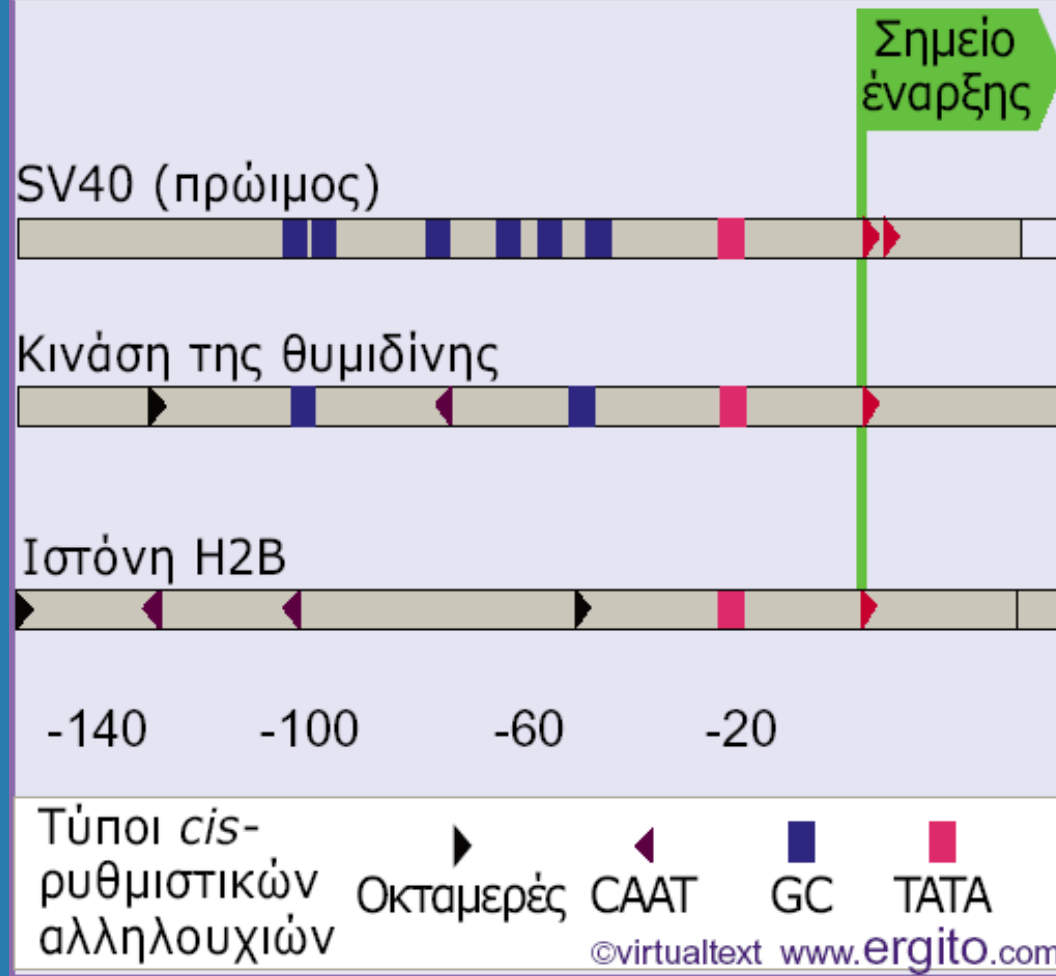
Σχετικά επίπεδα μεταγραφής  
(η μονάδα αντιστοιχεί στο φυσιολογικό)

©virtualtext www.ergito.com



**Εικόνα 21.20** Η μεταλλαγμένη κορεσμού της περιοχής ανοδικά του υποκινητή της β-σφαιρίνης προσδιορίζει τρεις μικρές περιοχές (με επίκεντρα τις θέσεις -30, -75 και -90) που είναι απαραίτητες για την έναρξη της μεταγραφής. Αυτές αντιστοιχούν στα πλαίσια TATA, CAAT και GC.

**Οι υποκινητές αποτελούνται από διάφορους συνδυασμούς *cis*-ρυθμιστικών αλληλουχιών**



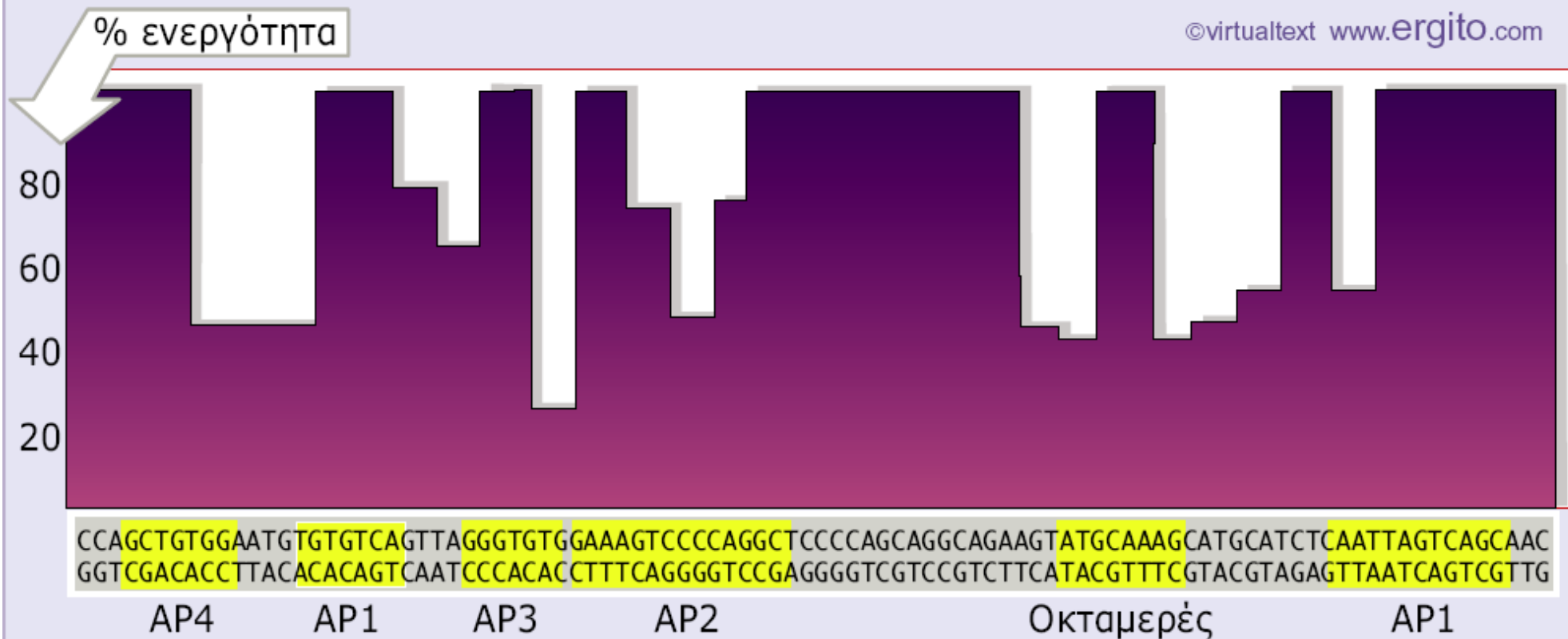
**Εικόνα 21.21** Οι υποκινητές μπορεί να φέρουν διαφορετικούς συνδυασμούς πλαισίων TATA, CAAT και GC, καθώς και άλλα στοιχεία.

## Η δράση των ενισχυτών είναι ανεξάρτητη από τη θέση τους



**Εικόνα 21.22** Ο ενισχυτής είναι δυνατόν να ενεργοποιήσει έναν υποκινητή από ανοδικές ή από καθοδικές θέσεις, ακόμα κι αν αναστραφεί η αλληλουχία του σε σχέση με τον υποκινητή.

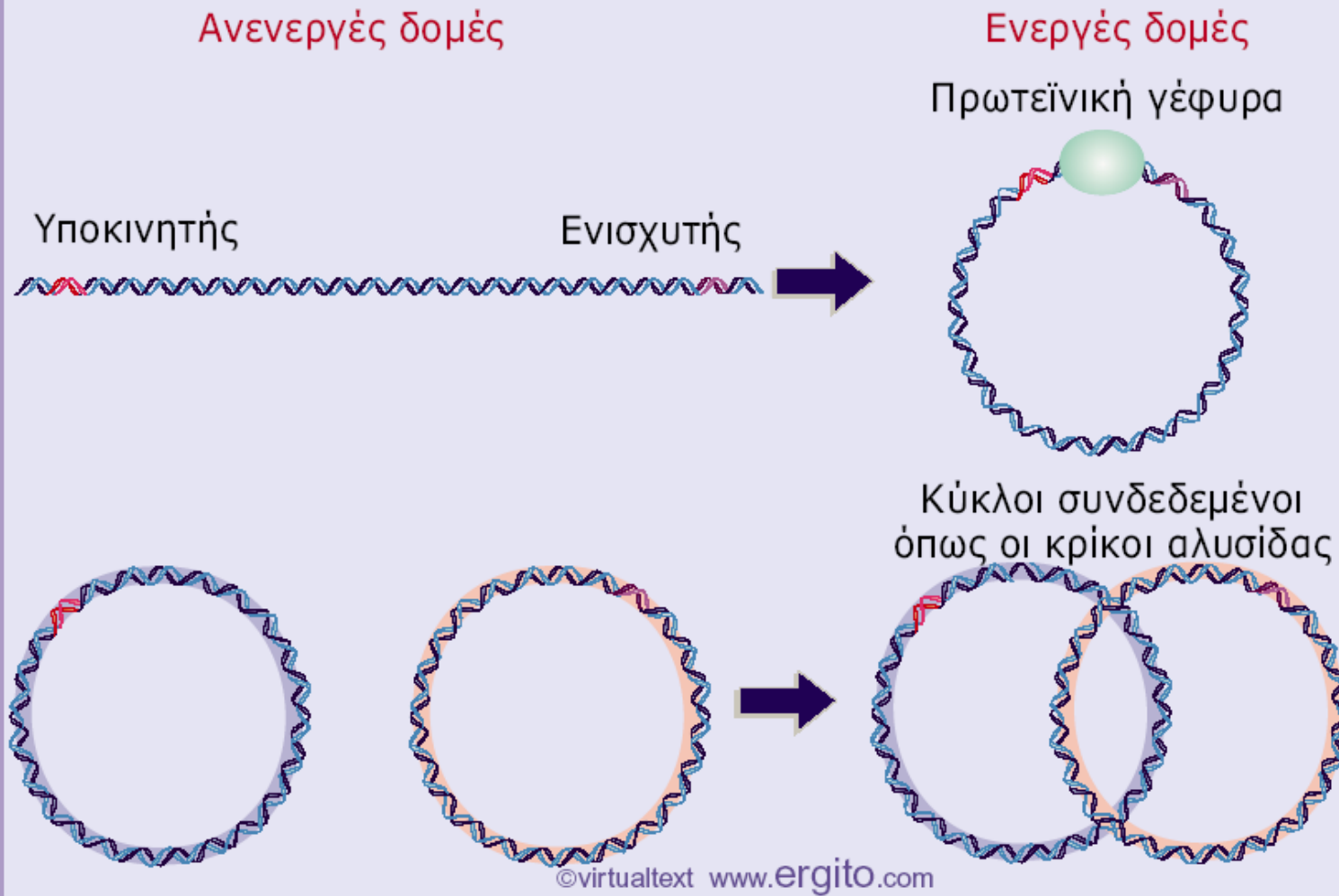
## Η πυκνότητα σημαντικών *cis*-δραστικών αλληλουχιών είναι μεγαλύτερη στους ενισχυτές



**Εικόνα 21.23** Ο ενισχυτής περιέχει διάφορα μοτίβα. Το ιστόγραμμα παριστάνει γραφικά την επίδραση όλων των μεταλλάξεων που μειώνουν την ενεργότητα του ενισχυτή σε <75% του άγριου τύπου. Οι θέσεις πρόσδεσης πρωτεϊνών υποδεικνύονται κάτω από το ιστόγραμμα.



**Για να λειτουργήσει ένας ενισχυτής,  
θα πρέπει να προσεγγίσει τον υποκινητή**



**Εικόνα 21.24** Ο ενισχυτής πιθανώς λειτουργεί φέρνοντας πρωτεΐνες κοντά στον υποκινητή. Ένας ενισχυτής δεν μπορεί να επιδράσει σε έναν υποκινητή που βρίσκεται στο αντίθετο άκρο ενός μεγάλου, ευθύγραμμου DNA, αλλά είναι λειτουργικός όταν το DNA μετατρέπεται σε κυκλικό από τη δράση μιας πρωτεΐνης που γεφυρώνει τα άκρα. Ένας ενισχυτής και ένας υποκινητής που βρίσκονται σε διαφορετικά κυκλικά μόρια DNA δεν αλληλεπιδρούν, αλλά, όταν τα δύο μόρια συνδεθούν σαν κρίκοι αλυσίδας, τότε μπορούν να αλληλεπιδράσουν.