Белорусский государственный университет

« 10 » июня 2011 г.

Регистрационный № УД-4259/уч.

Регуляторные механизмы клетки

Учебная программа для специальности:
1-31 01 01 Биология
специализаций 1-31 01 01-01 25 и 1-31 01 01-02 25 Молекулярная биология

2011

СОСТАВИТЕЛЬ:
Евгений Артурович Николайчик, доцент кафедры молекулярной биологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕЦЕНЗЕНТЫ:
Николай Александрович Картель, заведующий лабораторией молекулярной генетики Государственного научного учреждения «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси», доктор биологических наук, академик Национальной академии наук Беларуси

Ольга Валентиновна Фомина, доцент кафедры микробиологии Белорусского государственного университета, кандидат биологических наук, доцент

РЕКОМЕНДОВАНА К УТВЕРЖДЕНИЮ В КАЧЕСТВЕ УЧЕБНОЙ:

Кафедрой молекулярной биологии Белорусского государственного университета (протокол № 13 от 20 мая 2011 г.);

Учебно-методической комиссией биологического факультета Белорусского государственного университета (протокол № 11 от 26 мая 2011 г.);

Научно-методическим советом Белорусского государственного университета (протокол № 4 от 31 мая 2011 г.)

Ответственный за редакцию: Евгений Артурович Николайчик

Ответственный за выпуск: Евгений Артурович Николайчик

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Жизнедеятельность клеток как одноклеточных, так и многоклеточных организмов протекает в постоянно изменяющихся условиях. Адаптация к меняющимся условиям определяет присутствие в клетке соответствующих метаболических путей, значительная часть которых может потребоваться только в определенных условиях и в течение только некоторой части жизненного цикла клетки. Ограниченность доступных клетке ресурсов определяет необходимость их строгой экономии для сохранения конкурентоспособности организма, поэтому значительная часть метаболических путей экспрессируется в клетке только в случае необходимости. Контроль за экспрессией соответствующих генов осуществляют разнообразные регуляторные системы, пониманию принципов организации и механизмов действия которых и должно способствовать изучение курса ″Регуляторные механизмы клетки″.

Цель курса – сформировать у студентов целостную систему знаний о принципах контроля метаболических процессов в клетке.

В **задачи дисциплины** входит изучение общих принципов регуляции клеточных процессов на различных стадиях экспрессии геномной информации, молекулярных механизмов, определяющих перестройку метаболических процессов при стрессовых воздействиях, молекулярных механизмов межклеточных коммуникаций, а также механизмов контроля локализации белков внутри клетки и за ее пределами.

В результате изучения дисциплины обучаемый должен:

знать:

1. Общие принципы регуляции клеточных процессов;
2. Молекулярные механизмы взаимодействия регуляторных белков с нуклеиновыми кислотами;
3. Особенности регуляторных процессов в клетках про- и эукариот;
4. Принципы регуляции на стадии инициации и терминации транскрипции;
5. Механизмы контроля стабильности мРНК, в том числе принципы регуляции при помощи малых регуляторных РНК и механизм РНК-интерференции;
6. Механизмы контроля нативной структуры и деградации белков в клетках про- и эукариот, их транспорта в различные компартменты клетки и за ее пределы;
7. Принципы организации сенсорных систем и сигнальных каскадов;
8. Основные принципы контроля клеточного цикла;
9. Механизмы адаптации клетки к стрессовым условиям;

уметь:

- Предложить возможные пути повышения или понижения экспрессии определенных метаболических путей за счет воздействия на известные регуляторные процессы

- использовать знания о принципах регуляции метаболизма при создании организмов-продуцентов каких-либо соединений;
- Оценить возможные последствия изменения условий культивирования для основных метаболических процессов модельных организмов

Чтение лекционного курса рассчитано на использование большого количества иллюстративного материала в виде мультимедийных презентаций.

Теоретические положения лекционного курса развиваются и закрепляются на семинарских занятиях, во время которых проводится также контроль самостоятельной работы студентов.

При организации самостоятельной работы студентов по курсу следует использовать комплекс учебных и учебно-методических материалов в системе e-University (программу, методические пособия, список рекомендуемых источников литературы и информационных ресурсов, а также ключевые обзорные и жкспериментальные статьи).

Для общей оценки усвоения студентами учебного материала рекомендуется введение рейтинговой системы.

Программа учебного курса рассчитана на 102 часа, в том числе 40 часов аудиторных: 26 – лекционных, 10 – лабораторных занятий, 4 – контролируемой самостоятельной работы.

ПРИМЕРНЫЙ ТЕМАТИЧЕСКИЙ ПЛАН

№ п/п	Наименование разделов, тем	Количество часов				
		Аудиторные				Самост. работа
		Лекции	Практ., семинар.	Лаб. занятия	КСР	
I	Принципы транскрипционной регуляции	2	–	–	–	6
II	Транскрипционный контроль	2	–	–	–	8
III	Посттранскрипционная регуляция	2	–	–	–	6
IV	Посттрансляционная регуляция	4	–	–	2	10
V	Межклеточные коммуникации	2	–	–	–	4
VI	Сенсорные системы	6	–	–	2	12
VII	Механизмы адаптации клетки к стрессовым условиям	4	10	–	–	6
VIII	Контроль клеточного цикла	2			–	6
IX	Контроль локализации белков	2			–	4
	ИТОГО:	**26**	**10**	**–**	**4**	**62**

СОДЕРЖАНИЕ УЧЕБНОГО МАТЕРИАЛА

Введение

Необходимость регуляции клеточного метаболизма. Значение контроля метаболизма клеток продуцентов в биотехнологических процессах. Уровни регуляции метаболизма. Дополнительные уровни регуляции метаболизма у эукариот. Общая характеристика регуляторных механизмов.

I Принципы транскрипционной регуляции

Понятие о единице транскрипции. Опероны у про- и эукариот. Инициация и терминация транскрипции как процессы, в наибольшей степени подверженные контролю.

Регуляторные белки (транскрипционные факторы): структура, связывание с ДНК, взаимодействие с РНК-полимеразой и между собой, механизм репрессии и активации транскрипции. Значение ди- и олигомеризации регуляторных белков. Основные белковые домены, узнающие специфические последовательности ДНК (спираль-поворот-спираль, спираль-петля-спираль, гомеодомен, "лейциновая застежка", "цинковые пальцы"). Модули последовательностей ДНК, узнаваемые регуляторными белками (промоторы и энхансеры, операторы). Промоторы эукариот: размеры, положение, структура и механизм распознавания различными РНК-полимеразами. Промоторные элементы, контролирующие точку инициации и интенсивность транскрипции.

II Транскрипционный контроль

Стадии инициации транскрипции. Различия механизмов инициации у про- и эукариот.

Опероны бактерий. Понятие об индуцибельных и репрессибельных оперонах. Негативная и позитивная регуляция оперонов бактерий на примере лактозного, арабинозного и триптофанового оперона. Понятие о регулоне. Регуляторная роль бактериальной фосфотрансферазной системы. Механизмы катаболитной репрессии.

Контроль утилизации галактозы у дрожжей. Модульная организация регуляторных белков. Дрожжевые двухгибридные системы.

Контроль терминации транскрипции. Антитерминация. Белки N и Q фага λ. *nut*-сайты и Nus-белки. *bgl*-оперон.

III Посттранскрипционная регуляция

Контроль процессинга пре-мРНК (транс-сплайсинг, альтернативный сплайсинг, альтернативное полиаденилирование).

Регуляция стабильности мРНК. Факторы, влияющие на стабильность мРНК. РНКазы, участвующие в деградации мРНК (РНКаза Е, РНКаза III, полинуклеотидфосфорилаза, РНКаза II). Мультибелковые комплексы деградации РНК. РНК-хеликазы в деградации РНК. Действие полиаденилирования на стабильность бактериальных и эукариотических мРНК.

Участие нетранслируемых молекул РНК в регуляции: контроль инициации репликации ДНК, процессинга РНК и ее трансляции. Антисмысловая РНК. МикроРНК как регулятор. РНК-интерференция.

IV Посттрансляционная регуляция

Фолдинг и деградация белков как компоненты регуляторных систем. Формирование нативной трехмерной структуры белков. Молекулярные шапероны семейств Hsp60 и Hsp70 у про- и эукариот. Рабочий цикл шаперонных комплексов GroELS и DnaKJ-GrpE. Участие молекулярных шаперонов в регуляторных процессах.

Деградация белков: АТФ-зависимые протеазы прокариот и 26S-протеасома эукариот. Механизм распознавания аномальных белков. Система убиквитинирования белков эукариот. Роль контролируемого протеолиза в регуляции метаболизма у про- и эукариот.

V Межклеточные коммуникации

Автоиндукторы бактерий и их синтез. Роль АГСЛ-сигналов в экологии бактериальных популяций. Контроль биолюминесценции у *Vibrio fischeri*. Регуляция синтеза экзоферментов и антибиотиков у *Erwinia*.

Рецепторы стероидных гормонов животных.

VI Сенсорные системы

Общие принципы сенсорной регуляции. Передача информации через клеточную мембрану. Белковые каналы, транспортеры и рецепторы. Рецепторная функция воротных каналов. Роль киназ и G-белков в регуляции.

Двухкомпонентные сенсорные системы. Структура сенсоров и регуляторов и их функционирование. Архитектура регуляторных систем. Фосфотрансляционные системы. Работа двухкомпонентной системы EnvZ/OmpR при осморегуляции. Распространение двухкомпонентных сенсорных систем у различных представителей про- и эукариот.

Хемотаксис у бактерий

Устройство и принцип действия двигательного аппарата бактерий. Регуляция синтеза жгутикового аппарата. Белковый аппарат хемотаксиса. Рецепторы хемотаксиса. Цитоплазматические сигнальные белки и регуляторный механизм хемотаксиса. Метилазы хемотаксиса и сенсорная адаптация.

Сенсорные процессы и внутриклеточная регуляция у эукариот.

Сенсорные механизмы эукариот. Компоненты сигнальных путей (рецепторы, G-белки, адапторы, эффекторы, вторичные мессенджеры). Киназы как компоненты сигнальных путей. Типы протеинкиназ. Способы передачи сигнала через клеточную мембрану. Типы трансмембранных рецепторов и механизмы их активации. Тримерные и мономерные G-белки: структура и принцип действия. Способы передачи сигнала в ядро. Контроль специфичности сигнализации. Сигнальные пути cAMP-PKA, TGFβ-Smad, JAK-STAT и Ras-MAPK.

Особенности сенсорных процессов у растений. Различия сенсорных процессов растений и животных. Молекулярные механизмы действия основных фито-

гормонов и света на метаболизм клеток растений (на уровне транскрипционного контроля). Особенности строения мембранных рецепторов растений. LRR-домен. Принцип детекции патогенов и активации защитных ответов растений. Молекулярный контроль пролиферации и дифференциации клеток меристемы.

VII Механизмы адаптации клетки к стрессовым условиям

Контроль стрессовых регулонов бактерий при помощи альтернативных σ-факторов РНК-полимеразы. Физиологические функции, находящиеся под контролем альтернативных сигма-факторов. Промоторы и регуляторные белки, участвующие во взаимодействии с альтернативными сигма-факторами.

Общий стресс: регулон RpoS.

Периплазматический стресс: регулон RpoE.

Температурный шок. Контроль регулона теплового шока у различных бактерий. Тепловой шок у дрожжей.

Холодовой шок.

Кислородный стресс и редокс контроль. Активные формы кислорода: их повреждающее действие и механизм инактивации. Причина кислородного стресса. Механизмы окислительных повреждений клетки. Защита от окислительного стресса. Регулоны SoxRS и OxyR. Адаптация к анаэробиозу. Белок FNR как сенсор кислорода.

Утилизация азота. Детекция внутриклеточной концентрации азота, компоненты регуляторной системы. Структура и особенности функционирования белков RpoN и NtrC.

VIII Контроль клеточного цикла

Взаимосвязь инициации репликации и деления клетки. Контроль эукариотического клеточного цикла. Циклины и циклинзависимые киназы. Роль протеолиза в контроле клеточного цикла.

Деление бактериальной клетки и его регуляция. Особенности организации генов, участвующих в делении клеток и их функции. Регуляция клеточного цикла у *Escherichia coli* и *Caulobacter crescentus.* Споруляция у *Bacillus subtilis*: механизм принятия решения о начале споруляции и каскадная активация альтернативных сигма-факторов на разных стадиях споруляции.

IX Контроль локализации белков

Секреция белков. Сходство и различия секреторных аппаратов про- и эукариот. Сигналы секреции и внутриклеточной локализации: общие принципы. Секреция белков у прокариот: Sec-аппарат, системы секреции I-IV типов (организация, субстратспецифичность, регуляция).

Распределение белков по компартментам клетки эукариот. Котрансляционная транслокация белков в полость эндоплазматического ретикулума. SRP-частица и ее рецептор. Модификации белков в полости ЭР и их последующая сортировка. Транспорт белков в митохондрии и хлоропласты, контроль локализации белков внутри этих органелл. Транспорт белков через ядерные поры и его контроль.

Литература

О с н о в н а я:

1. *Николайчик Е.А.* Регуляция метаболизма клетки / Е.А. Николайчик. Мн.: Изд-во БГУ, 2006
2. *Патрушев Л. И.* Экспрессия генов / Л. И. Патрушев. М.: Наука, 2000
3. *Пташне М.* Переключение генов / М. Пташне. М.: Мир, 1988
4. *Льюин Б.* Гены / Б. Льюин. М.: Мир, 1987.
5. *Крутецкая З. И.* Механизмы внутриклеточной сигнализации / З. И. Крутецкая, О. Е. Лебедев, Л. С. Курилова. СПб.: Изд-во С. Петерб. Ун-та, 2003

Д о п о л н и т е л ь н а я:

1. *Lewin B.* Genes VIII. / B. Lewin. Prentice Hall, 2004.
2. *Watson J. D.* Molecular Biology of the Gene, Fifth Edition / J. D. Watson, T. A. Baker, S. P. Bell, A. Gann, M. Levine, R. Losick. CSH Laboratory Press, 2004.
3. *Lodish H.* Molecular Cell Biology (5th Edition) / H. Lodish, A. Berk, P. Matsudaira, C. A. Kaiser, M. Krieger, M. P. Scott, L. Zipursky, J. Darnell. New York: W.H. Freeman & Company. 2004.
4. *Alberts B.* Molecular Biology of the Cell, Fourth Edition / B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, P. Walter. New York: Garland Publishing, 2002.
5. *Альбертс Б.* Молекулярная биология клетки / Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рефф, К. Робертс, Дж. Уотсон. М.: Мир, 1994. Т. 1–3.
6. Молекулярная биология. Структура и биосинтез нуклеиновых кислот / под ред. А.С. Спирина. М.: Высшая школа. 1990.
7. *Тарчевский И. А.* Сигнальные системы клеток растений / И. А. Тарчевский. М.: Наука, 2002.