Genetics

Subject : Gene expression + regulation of prokaryotics gene expression

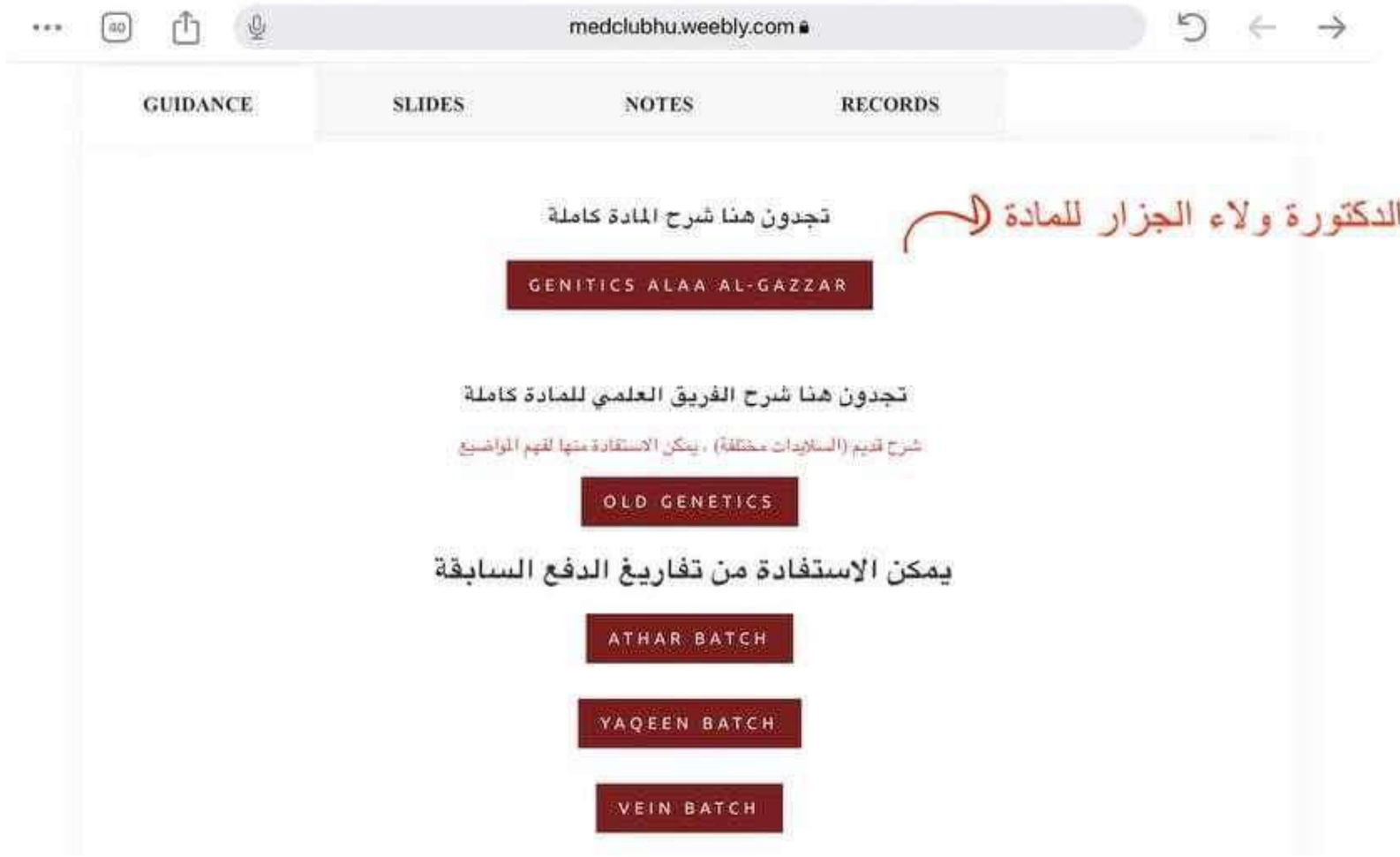
Lec no : 9

Done By : Noor Zamel

وَقُل رَّبِّ زِدْنِي عِلْمًا

للوصول الى guidance الجينيتكسو تفاريغ المادة كاملة :

تجدون في guidance مادة الجينتكس على موقع النادي :



شرح الدكتورة ولاء الجزار للمادة

كل اعمال الفريق العلمي تنشر على قناة التيليغرام

معلومه حكتها الدكتوره بتخص المحاضرات الماضية

ال primase هوه احد انواع ال RNA polymerase همه‌ك structures مختلفين موزي بعض ..... بس التنين بنو RNA strands عشان هيك اعتبرنا هم نفس الاشي

حكينا المحاضرة الماضيه عن خطوات ال transcription في ال prokaryotics وبلشنا باول خطوتين اللي هم ال initiation و ال elongation وهاي المحاضره رح نحكي عن اخر خطوه اللي هيه ال termination

هلا بدنا نعرف كيف بتصير عملية ال Termination
كيف رح نفك ال mRNA ويترك ال DNA

Termination:

- RNA polymerase recognizes a termination signal at the end of the DNA sequence to be transcribed (termination sequence). Then RNA polymerase stop transcription and releases RNA molecule.
- ***There are two mechanisms for transcription termination:***

1-Rho factor dependent termination (ATP dependent)

2-Rho factor independent termination (intrinsic termination)

اتفقنا انه RNA polymerase رح يشوف sequences اسمهم terminator بوقتها رح يوقف ال transcription ويحرر ال mRNA

عملية الانهاء الها طريقتين

من أسمه يعني عملية ال Termination اللي رح تكون معتمدة على بروتين أسمه Rho

رح معتمد في وظيفته بالاشياء على وجود ال ATP

Rho Factor مش محتاجه رح اقدر انهي بطريقة أخرى

ارجعو للصور اللي بتوضحهم اول بعدين اقرأو الكلام

عملية ال Rho dependent termination الها اكتر من mechanism بس هاي اقرب اشي الهم

1-Rho-dependent termination:

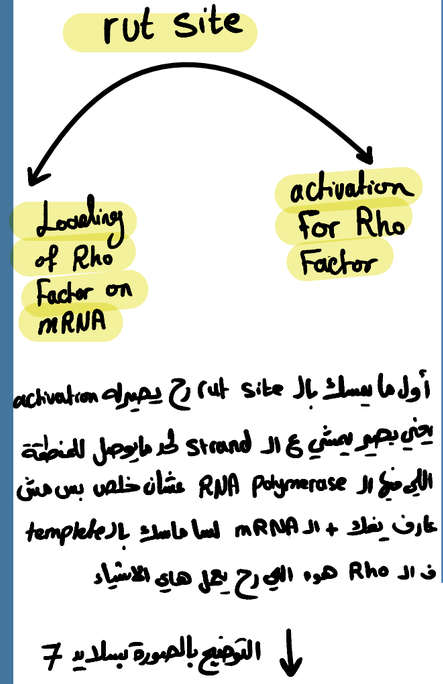
- It uses a **termination factor called ρ factor** (rho factor) which is a protein that binds at a **rho utilization site** (*rut*) on the nascent RNA strand (cytosine-rich sequence) and runs along the mRNA towards the RNAP (in a 5'-3' direction).

(The rut serves as a mRNA loading site and as an activator for Rho)

- The rho protein is an (**ATP dependent RNA-DNA helicase**)
- when ρ-factor reaches the RNAP, it causes RNAP to dissociate from the DNA, terminating transcription.

من اسمها انا بحتاج Rho factor
رح تيجي هاد ال factor ورح يمسك
بمكان معين ع ال mRNA بسمي هاد
المكان ب rho site او rho
utilization site

بكسر الروابط الهيدروجينيه بين ال RNA
الجديد وال DNA template معتمداً
ع ال ATP

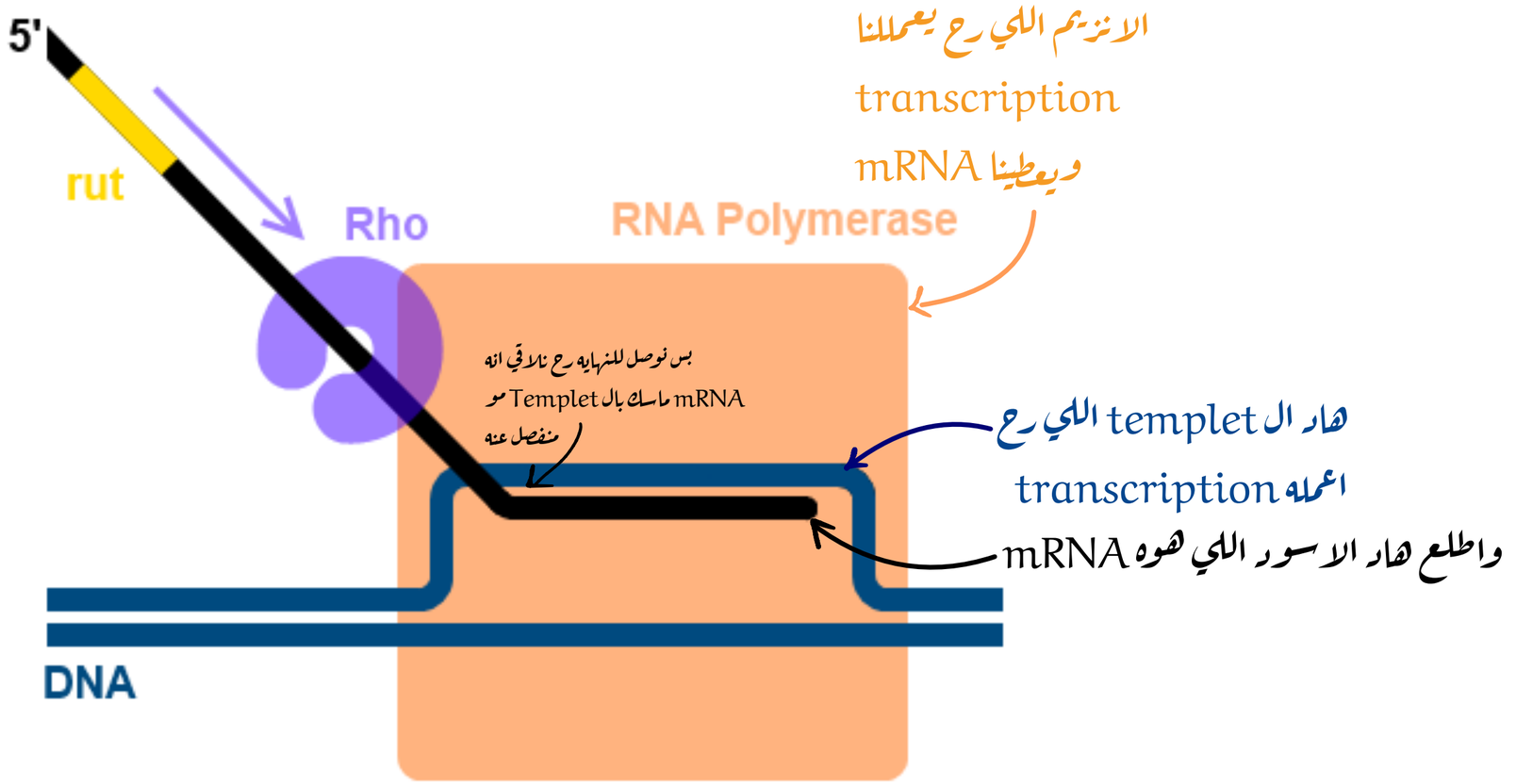


أول ما يمسك بال rut site رح يصير activation
يعني بصير يمشي ع ال strand لحد ما يوصل المنطقة
اللي فيه ال RNA Polymerase عشان خلص بس صار
templated لسا ماسك بال mRNA + ال
عارف يفك ف ال Rho هو اللي رح يعمل هاي الاشياء

التوضيح بالصورة بسلايد 7 ↓

- **Rho is able to catch up with the RNA polymerase. Contact between Rho and the RNA polymerase complex stimulates dissociation of the transcriptional complex through a mechanism involving allosteric effects of Rho on RNA polymerase.**

ال RNA polymerase اله 2 sides واحد active والتاني allosteric
ال rho factor لما مسك فيه مسك بمنطقه ال allosteric اما ال activation side بعمل من خلاله عملية ال transcription

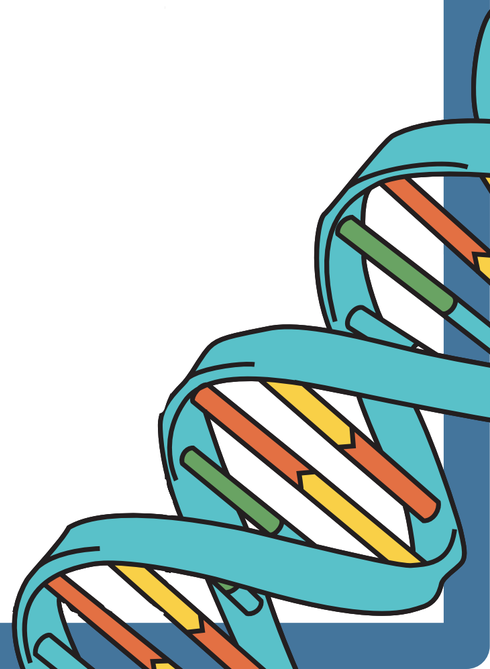


رح نستخدم اول طريقه من الطريقتين عشان نفصلهم اللي هيه استخدام Rho رح يمسك بمكان ع الmRNA اسمه rut site او rho
utilization site واول ما يوصل لل RNA polymerase بعمل فيه conformational Changes بغير من شكله وبوقتها
بصير غير قادر ع الارتباط بال template هيك ضل عندي ال mRNA ماسك بال template كيف رح افكه ؟ لقينا انه ال Rho عنده
helicase activity يعني بيقدر يفصل ال hydrogen bonds بين ال mRNA الجديد و ال templet عن طريق استخدام ATP

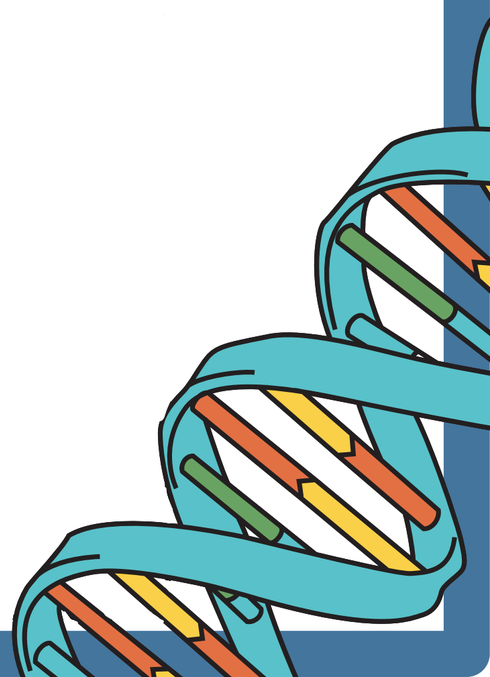
سلايد ١١ اول وبعدين
ارجعو لهون

2-Rho factor independent termination (intrinsic termination):

- The termination sequences is self-complementary sequences rich in GC that are present at the 3\ end of mRNA. These complementary bases join each other forming hairpin loop like structure that leads to dissociation of RNA from the DNA and release the RNA polymerase enzyme.



- **The termination site is characterized by the presence of two regions that are separated by a few bases (4-6) in the form of a palindrome.**
- **DNA palindrome:** A **palindromic sequence** is a nucleic acid sequence on double-stranded DNA wherein reading 5‘ to 3‘ forward on one strand matches the sequence reading 5' to 3' on the complementary strand with which it forms a double helix. **(form symmetrical inverted repeat).**
- **When the RNA is created, the inverted repeates can loop back on themselves to form a hairpin loop, which acts as a termination signal.**



Palindrome dependent Termination

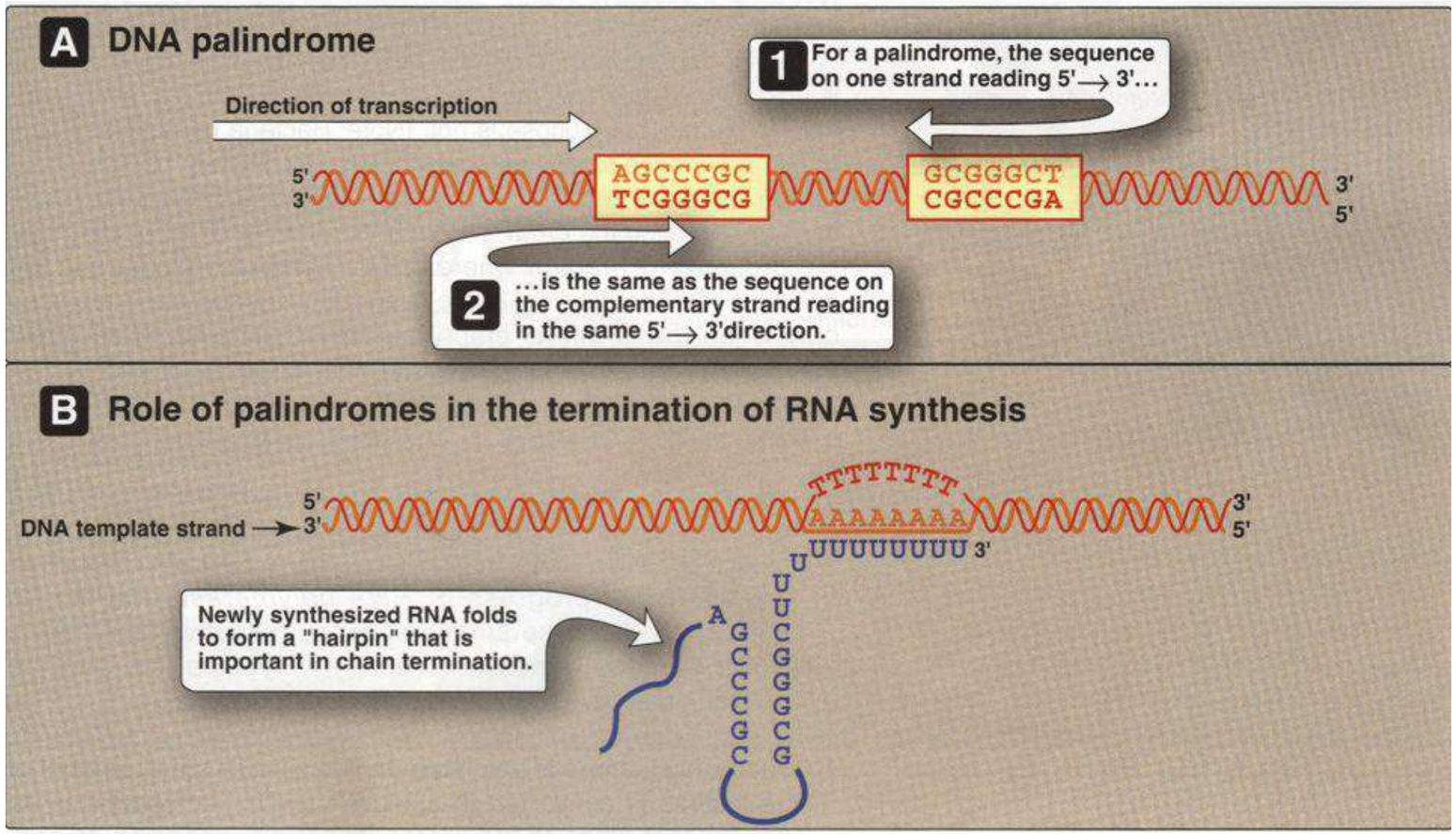
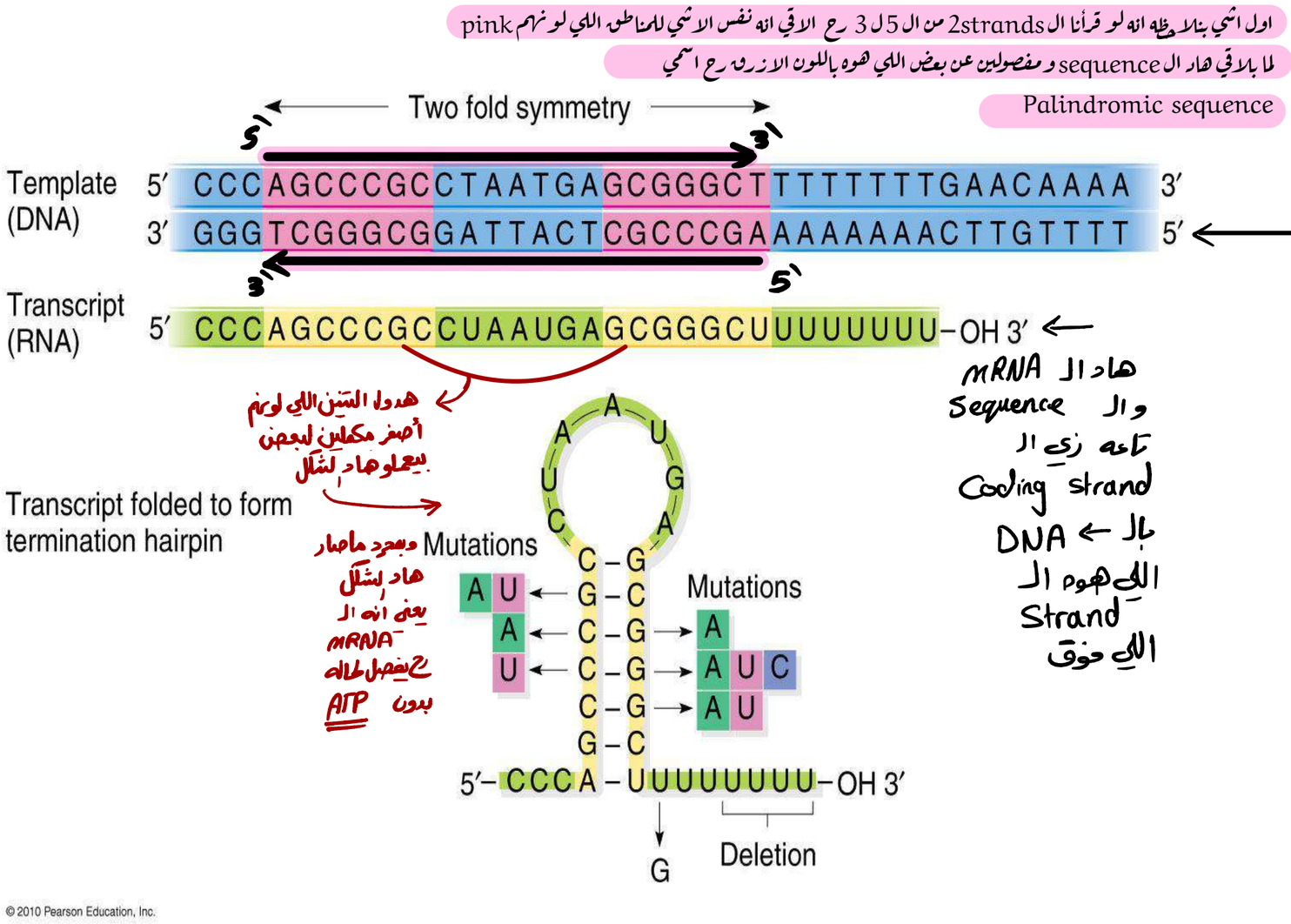


Figure 30.9
Rho-independent termination of transcription. A. An example of a palindrome in double-stranded DNA. B. A transcribed DNA palindrome codes for RNA that can form a hairpin turn.



يعني بالاخر احنا عنا طريقتين لل termination لو لقينا ال sequence هوه palindromic معناها رح ينفصل لحاله لكن لو sequence عادي معناها بدنا rho factor ينفصلنا

هلا فتنا بموضوع جديد وهوه انه عملية ال Gene expression لل prokaryotes اللي حكينا عنها كيف رح يصيرلها regulation

Regulation of prokaryotic gene expression

By

Dr. Walaa Bayoumie El Gazzar

النادي الطبي

بالبداية رح نتفوع شوية مصطلحات

Regulation of prokaryotic gene expression

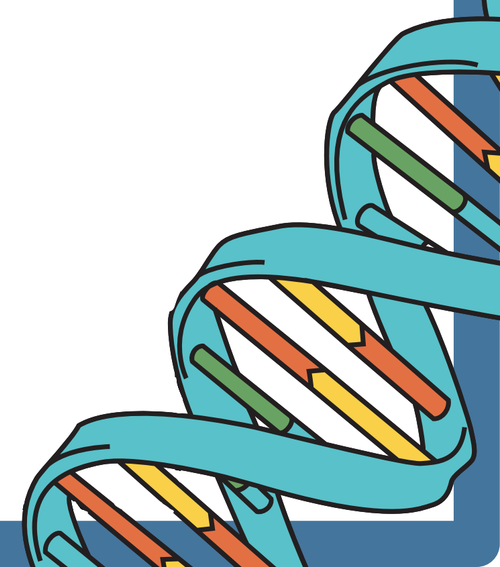
❖ ***There are two types of gene according to their expression:***

1-Constitutive genes:

- These genes are not regulated , هيه جينات ما حد بعملها turn on ولا off عطول شغالة
- They code their protein products which are required for the basic cellular functions and so, they are continuously expressed at a low rate;
- They are also known as "**housekeeping**" genes.

البروتينات اللي بتطلع أساسية

ما بصير يوقف إنتاجها



2-Inducible genes:

جينات ما رح يصيرلها expression الا اذا حفزناها (بوجود محفز)

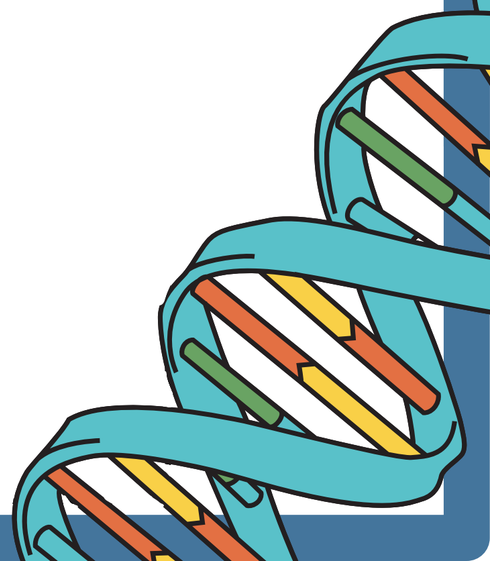
- They express their protein product only in the presence of an **inducer or derepressor**.

repressors لـ inactivation بعمل

- They are negatively regulated by specific proteins termed **repressors**.

- **The inducer produces inactivation of the repressor.**

هاي الجينات دايماً مقفوله ببروتينات او factors اسمهم repressors بتسكر انتاجها باستمرار عشان هيك لو انا بدي ايا هم يلتجو بروتينات لازم يكون عندي derepressor او المحفز اللي بلغي عمل ال reptessor



مثالنا عليه الـ regulation :-

- **In bacteria**, the **structural genes** that code for the enzymes of a metabolic pathway are often found grouped together on the chromosome together with the **regulatory genes** that determine their transcription as a single long piece of mRNA.
- **This entire package is referred to as an operon.** Structural genes + regulatory genes
- So operon is a linear array of the genes that are involved in a metabolic pathway.
- One of the best understood examples is the **lactose operon of E. coli.**

في البكتيريا الجينات اللي رح تدخل ب metabolic pathways بكونو متجمعين مع بعض بمنطقه معينه ع كروموسوم و جنبهم في جينات منظمه لعمل هاي ال structural genes اسمهم regulatory genes هدول رح يتحكمو باناتج ال structural ورح نعرف كيف كان شوي

رح نحكي هلا عن metabolic pathway حتى نعمل metabolism لل lactose في البكتيريا (اي metabolic pathway بتحتاج انزيمات كتير) عند البكتيريا اكيد رح نحتاج انزيمات هاي الانزيمات اللي رح تطلع عشان تكسرلنا ال lactose بتسميهم structural genes رح تطلعلي انزيمات خاصه بال metabolic pathway لتكسير الاكتوز

مثال البكتيريا ↓

ال E coli بتحب تستعمل الجلوكوز كصدر طاقه لانه اسهل دايماً بس في حالات بتضطر تستعمل الاكتوز لما ما يكون في جلوكوز طيب كيف رح تستعمله؟

رح نلاقي انه ال lacoperon (مجموعة الجينات اللي رح تدخل في عمليه تكسير الاكتوز) عبارة عن structural و regulatory زي ما حكينا

The lactose operon of E coli
(as a model of prokaryotic gene regulation)

- Lac operon contains the genes **responsible for lactose metabolism by E coli bacteria** when lactose is available to the cell but glucose is not.
- [**Note:** Bacteria use glucose as a fuel in preference to any other sugar.]

3 linked inducible genes (الجينات الجاي ↓)

رح يصير expression لما يكون في محفزاتها

هدول الجينات رح يطلعو انزيمات يكسروليي الاكتوز وتذكرو انهم inducible يعني دايماً مسكرين بستنو محفز

The Lac operon of E-coli is formed of:

1-Structural genes: They are three liked **inducible** genes as follows:

- ***-Lac Z gene***; encodes **β-galactosidase** that hydrolyses lactose to glucose and galactose.

رح يكسر ال lactose ل glucose و galactose

- ***-Lac Y gene:*** encodes **permease** enzyme that allows lactose transport into the cells.

بيسمح بدخول اني اللي هوه الاكتوز

- ***-Lac A gene:*** encodes **thiogalactoside transacetylase** of unknown function.

بطلع هاد الانزيم

  - *The lacA gene encodes thiogalactoside transacetylase, which rids the cell of toxic thiogalactosides that also get transported in by lacY. (i.e. cellular detoxification)*

هاد الانزيم هو معروفة وظيفته بس بحكو انه بخلص الخليه من ال thiogalactosid اللي هوه سم فات عن طريق ال primase وبخلصنا منه عن طريق انه بضيف acetyl group ف كانه عمل detoxification لل cell

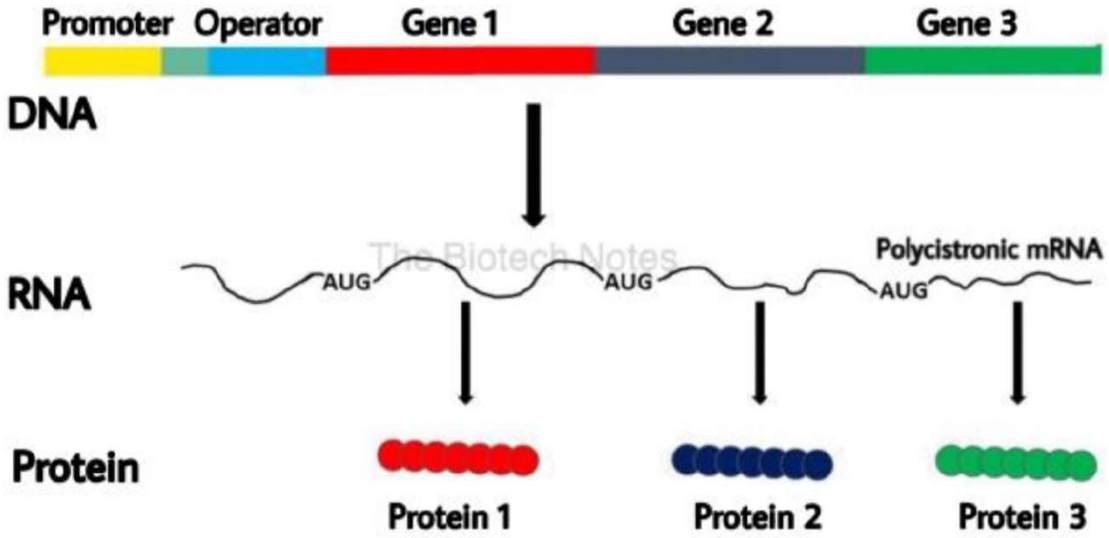
ال structural genes لما يصيرلهم transcription بصير ل one long mRNA

- The three liked genes are transcribed into one large polycistronic mRNA molecule that contains multiple independent translation start and stop codons for each cistron.
- Thus, each protein is translated separately and they are not processed from a single large precursor protein.

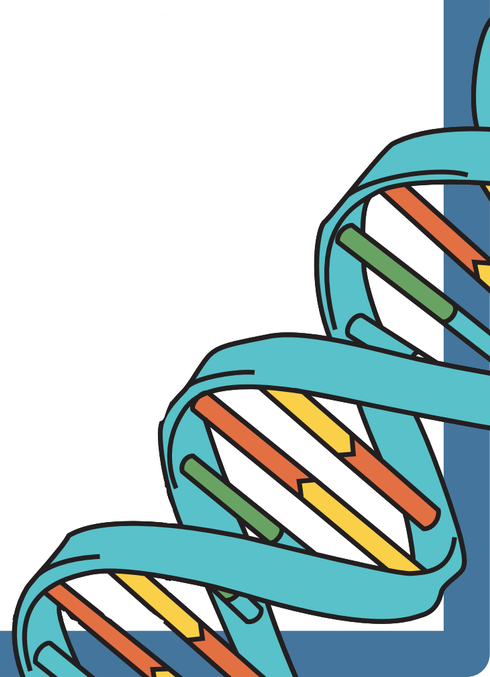
تعريفه بسلايد 20

يعني مش كل جين ل mRNA لحاله طب كيف رح اطل ٢ بروتينات مختلفين

اكتشفو انه كل جين ع ال mRNA اله كودون بدء وانتهاء فهيك ال mRNA الطويل لما يترجم حيعطينا ٢ بروتينات


Promoter
Operator
Gene 1
Gene 2
Gene 3
DNA
RNA
AUG
AUG
Polycistronic mRNA
AUG
Protein
Protein 1
Protein 2
Protein 3

- **A gene** is a part of DNA that gets transcribed into an RNA(mRNA, tRNA, rRNA or any other form of rna).
- **Cistron** is a part of mRNA that begins with a start codon, ends with a stop codon and in between these codons lies the series of codon which code for a single polypeptide.
- You can say that cistron is the part of mRNA that gets translated into polypeptide.



2-Regulatory gene or lac I gene: It is **constitutive gene** and codes for the regulatory protein (**Lac repressor**).

يعني ال product تبعه بطلع باستمرار

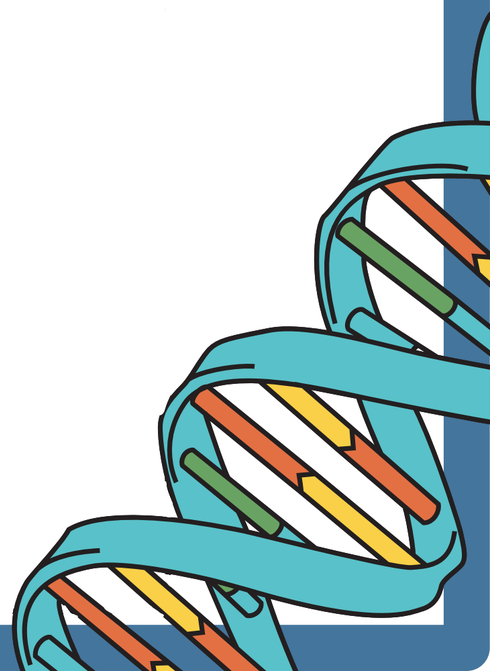
اسم البروتين اللي بطلع

بالتالي هيك عرفنا انه lacoperon دايماً مقفول لانه ال regulatory gene بطلع البروتين تاعه باستمرار وهاد البروتين هوه repressor

في عنا كمان مناطق بال lacoperon

3-Operator region: At which Lac repressor binds and inhibits gene expression.

4-A single common Promoter: It is the site where RNA polymerase binds to it and start transcription of the structural gene.



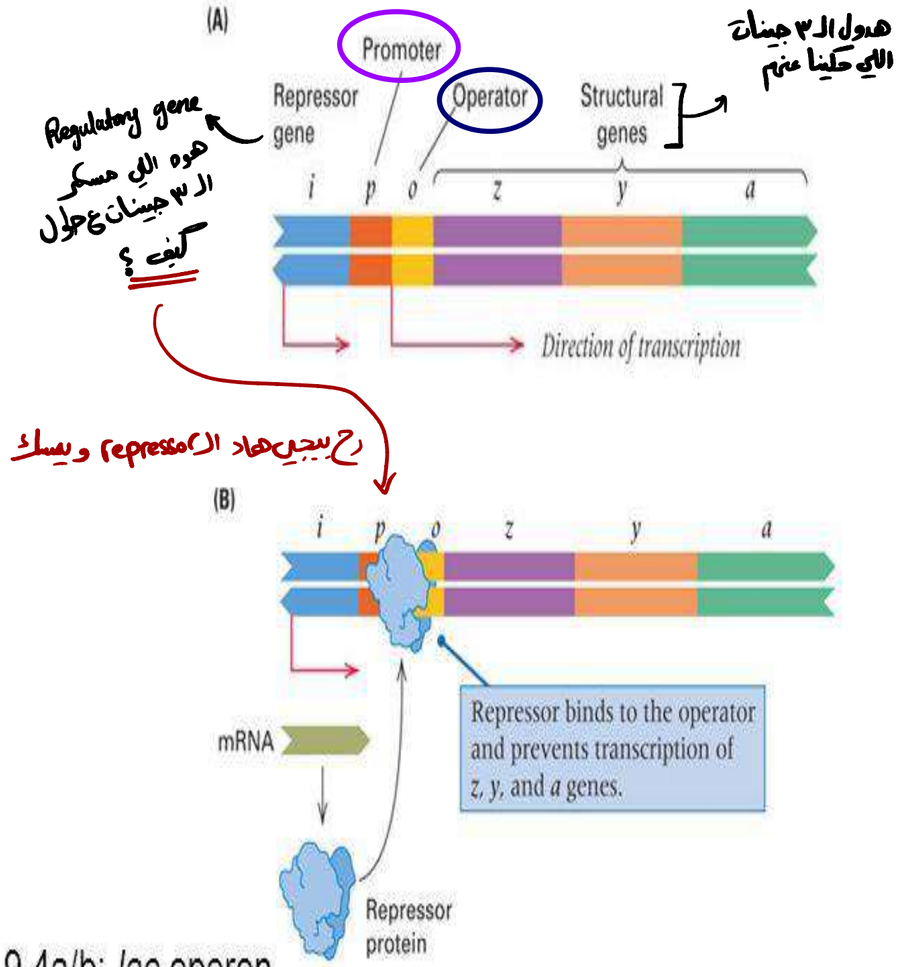


Figure 9.4a/b: *lac* operon

هدول الـ ٣ جينات اللي حكينا عنهم

Regulatory gene هوه اللي مسكر الـ ٣ جينات ع حوال كيف ؟

رح يجي هاد الـ repressor ويمسك بالـ operator هيك سكر الطريق ع الـ promoter

↳ اللي رح يجي يمسك فيه الـ RNA Polymerase بالتالي ما رح قدر يعمل transcription للـ Structural genes بالتالي ما بيعمل تكسير للاكتوز

* لانه أصلاً ما بصير يستخدم الاكتوز مصدر للطاقة إلا بأوقات معينة عند غياب الجلوكوز

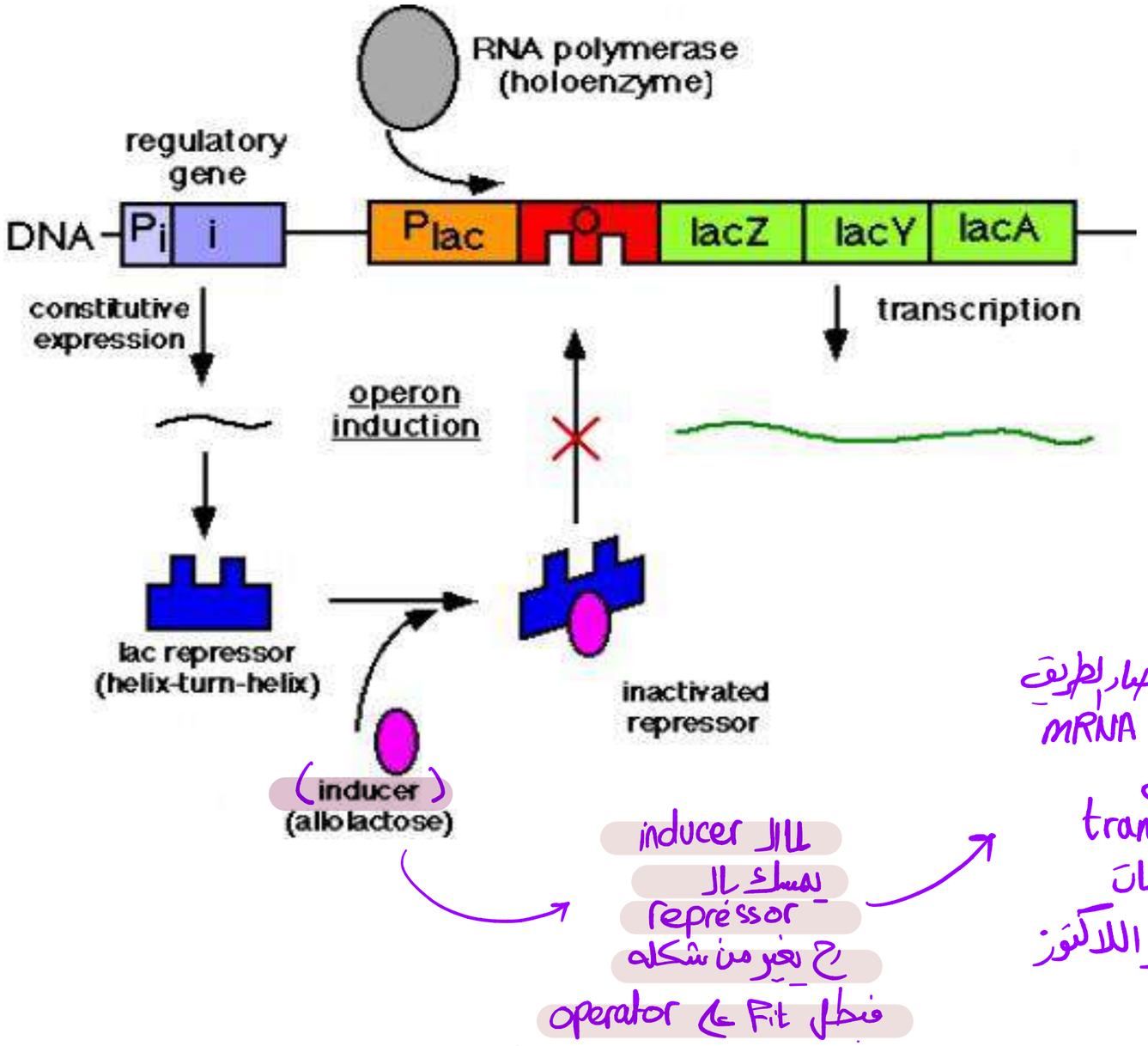
طيب هل بقدر اعمله تكسير (للاكتوز) ؟

اذا جبت اشي يخلي الـ Lac repressor يطلع عن الـ operator

هاد الاشي هوه الـ inducer واسمه allolactose

↓ رح نشوفه بالزمرة تحت

© 2011 Jones and Bartlett Publishers, LLC (www.jbpub.com)



الخلية لو متوفر الها لاكتوز رح يعطيها isomer منه اسمه allolactose بروح بشتغل ك inducer بمسك بال repressor

وهيك صار الطريق خاضع لل mRNA بقدر يعمل transcription وينتج الانزيمات اللي رح تكسر اللاكتوز

inducer اللي بيمسك بال repressor رح يغير من شكله فبطل Fit ع operator

لما الجلوكوز يكون متوفر بالخليه

When glucose is the only sugar available (Gene repression):

- In this case, the lac operon is repressed (**turned off**). → يعني في repressor واقف في ال operator
- Repression is mediated by the repressor protein binding to the operator site, **which is downstream of the promoter region.**
- Binding of the repressor interferes with the progress of RNA polymerase, and blocks transcription of the structural genes.
- This is an example of **negative regulation**. → لما يكون في جلوكوز يعني عندي negative regulation

When only lactose is available (Gene induction):

- In this case, the lac operon is induced (**maximally** ✓ turned on **expressed or turned on**).
- A small amount of lactose is converted to an isomer, allolactose. This compound is an inducer that binds to the repressor protein, **changing its conformation** so that it can no longer bind to the operator.
- This allows RNA polymerase to enter at the promoter region and initiate transcription of the structural genes. **This is an example of positive regulation.**
- After the inducer or lactose is removed, expression of the lac operon stops quickly because **the lac mRNA is unstable and decays within minutes.**

لو رجع توفر الجلوكوز ←

mRNA ال ← خلال دقائق بيتكسر وبيرجع بيتكرر ال lac operon