

Genregulering under diauxisk skift hos gær

Af: *Kresten Cæsar Torp, Aalborghus Gymnasium*

Indhold

Genregulering under diauxisk skift hos gær.....	1
Baggrund	1
Omprogrammering af cellen ved diauxisk skift.....	2
Opgaver	2
Resultatbehandling fra microarray-forsøg	3
Hvad laver generne?.....	3
Hvordan reguleres generne ved det diauxiske skift?	5
Opgave.....	5
Opgave.....	5
Hvordan reguleres stofskiftet?	6
Opgave.....	6

Baggrund

Et diauxisk skift vil sige, at celler der dyrkes i en cellekultur skifter vækstfase. Gær skifter fx fra udnyttelse af glucose til udnyttelse af ethanol.

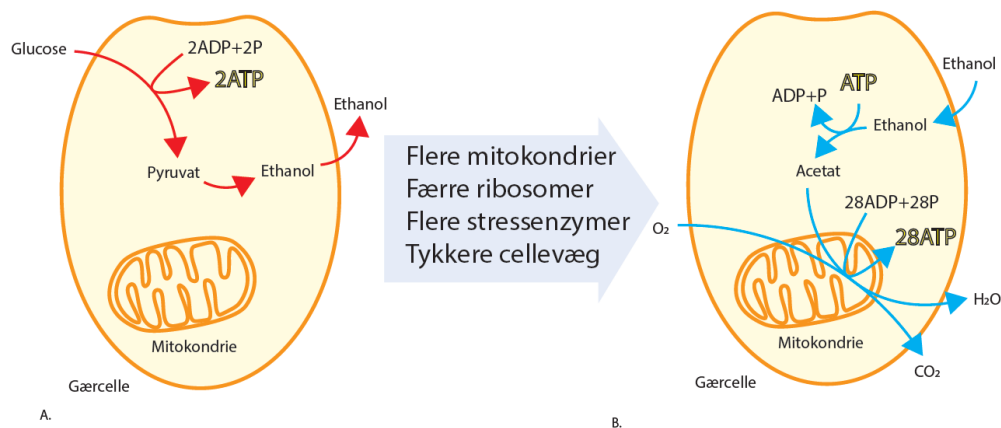
Her skal vi se nærmere på resultaterne fra en microarray-undersøgelse af hvordan genekspressionen ændrer sig ved diauxisk skift.

Du kan også med fordel lave opgaverne:

- Diauxisk skift hos gær
- Hvad er genekspression
- Hvordan fungerer en microarray-chip

Omprogrammering af cellen ved diauxisk skift

Figur 1 viser nogle af de ændringer der sker i gærcellerne ved et diauxisk skift, dvs. når de skifter fra at udnytte glucose som energikilde til at udnytte ethanol.



Figur 1. Ændringer i cellen ved diauxisk skift.

Stofskifteprocesserne vist med røde og blå pile i figur 1, består af en række delprocesser, som hver for sig katalyseres af hvert sit enzym. De enzymer skal cellen producere, og det koster ATP. Derfor skal den nøje regulere produktionen af de forskellige enzymer.

Når gær skal omregulere deres stofskifteprocesser, som vist i figur 3B, omprogrammerer de cellerne på flere måder:

- De deaktiverer generne for enzymer til glucoseudnyttelse (røde pile) og aktivere generne for enzymer til ethanoludnyttelse (blå pile).
- De justerer deres proteinsyntese ned.
- De skal danne stressenzymmer, dvs. oprydningproteiner, som kan nedbryde denaturerede og skadede proteiner. Stressenzymmer kaldes også Heat Shock Proteins, HSP. Stresstilstanden kan skyldes skader på cellens proteiner pga. høj ethanol-koncentration, varme eller oxidation. Når mitokondrierne begynder at udnytte ilt opstår der affaldsstoffer som virker oxiderende på cellens proteiner, som ødelægges.
- De går eventuelt i dvale, for at spare energi.

Opgaver

- Forklar hvordan de fire ændrede egenskaber på figuren kan være et udtryk for reprogrammering på de fire områder. Forbind kasserne med linjer, og forklar sammenhængen:

Skift i tilpasning
Skifter fra høj proteinsynteseaktivitet til lav
Skifter fra glucoseudnyttelse til ethanoludnyttelse
Skifter fra lavt oxidativt stress til højt oxidativt stress
Skifter fra hurtig vækst til en dvaletilstand, hvor cellen beskytter sig mod omgivelserne.

Ændringer i cellerne
Flere mitokondrier
Færre ribosomer
Tykkere cellevæg
Flere stressenzymmer

Resultatbehandling fra microarray-forsøg

Lav først opgaverne:

- *Hvordan fungerer en microarray-chip*
- *Databehandling af genekspression ved diauxisk skift*

De næste opgaver knytter sig til datarket: "Diauxisk skift dataark fra microarray".

Hvad laver generne?

Hvad er funktionen af de gener, som blev reguleret op eller ned?

Det kan man finde oplysninger om i bioinformatiske databaser.

I dataarket kan du se navnene på de gener der øger eller mindsker deres ekspression i forbindelse med det diauxiske skift.

- Fordel nogle af dem imellem jer.

Her er fx valgt:

	Systematisk navn	Standardnavn				
117	YLL026w	HSP104	0.0144	0.0144	-0.1890	0.8365

Ved hjælp af genets navn kan man nu undersøge det nærmere i en database over gærs genom.

- Gå ind på yeastgenome.org. Link: <https://www.yeastgenome.org/>
- Kopier genets navn fra dataarket, og indsæt det i søgefeltet.

Du får nu de oplysninger der er indrapporteret om det pågældende gen. Nogle gener er velbeskrevne, andre er ikke. Får du et gen uden yderligere oplysninger, så vælg et andet.

The screenshot shows the SGD website interface. The main content area displays the 'HSP104 / YLL026W Overview' page. Key information includes:

- Standard Name:** HSP104¹
- Systematic Name:** YLL026W
- SGD ID:** SGD:S000003949
- Feature Type:** ORF, Verified
- Description:** Disaggregase; heat shock protein that cooperates with Ydj1p (Hsp40) and Ssa1p (Hsp70) to refold and reactivate previously denatured, aggregated proteins; responds to stresses including heat, ethanol, and sodium arsenite; involved in [PSI⁺] propagation; protein becomes more abundant and forms cytoplasmic foci in response to DNA replication stress; potentiated Hsp104p variants decrease TDP-43 proteotoxicity by eliminating its cytoplasmic aggregation^{2 3 4 5 6 7 8 9 10}
- Name Description:** Heat Shock Protein⁶
- Comparative Info:** Includes icons for human, mouse, and yeast.

The left sidebar shows a navigation menu with options like Summary, Sequence, Protein, Gene Ontology, Phenotype, Interactions, Regulation, Expression, Literature, and Homology. The top navigation bar includes 'Analyze', 'Sequence', 'Function', 'Literature', and 'Community' menus, along with a search bar containing 'search: actin, kinase, glucose'.

I dette tilfælde kan man under "Description" læse, at der er tale om et Heat Shock Protein. Dvs. et oprydningprotein cellerne anvender under stress til at fjerne eller reparere ødelagte proteiner. De kaldes også chaperon-proteiner, dvs. "anstandsdame"-proteiner. Du kan læse mere om disse ved at søge på nettet, og du kan se modeller af dem ved at lave en billedsøgning.

- Scroll også længere ned på siden. Diskuter de oplysninger I får om proteinerne.
- Hvor er det placeret på gærs kromosomer?
- Hvor langt er proteinet, som genet koder for?
- Hvor mange forskellige alleler (varianter) af genet kender man? Oftest angives dette ved hvilke aminosyrer der er skiftet ud. A201V betyder fx at aminosyren alanin er udskiftet med valin. Δ (delta) betyder en deletion.
- Hvordan kommer genet til udtryk i fænotypen?
- Hvad anvendes homologe gener til i andre organismer?

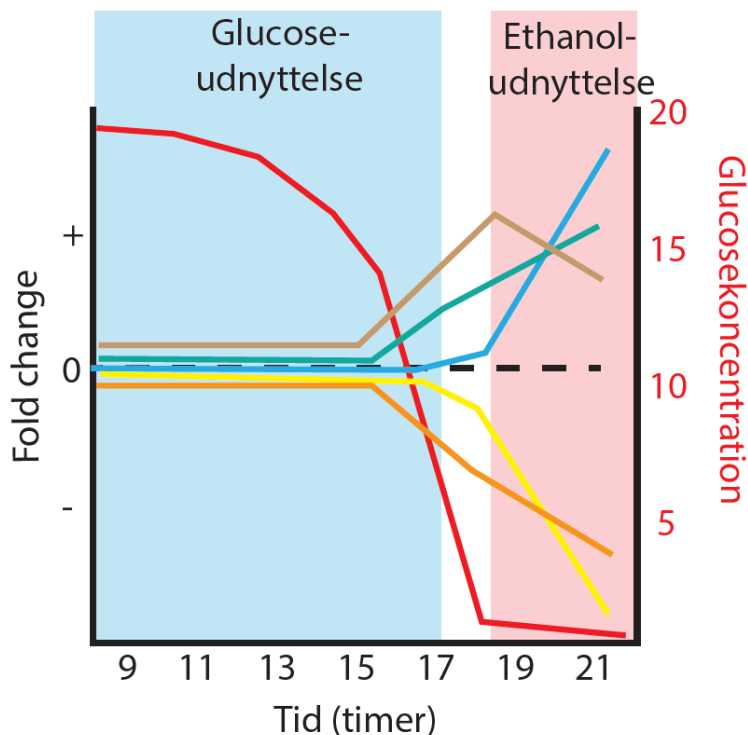
Der vil helt sikkert være mange oplysninger, som I ikke rigtigt forstår, og så må I gå videre. Brug dog lidt tid på at prøve at forstå det der er oplyst.

Hvordan reguleres generne ved det diauxiske skift?

Opgave

1. Åben dataarket.
2. Lav et diagram, som viser ændringen i genekspression som funktion af tid (Ratio R1-R7) for generne i datafilen. Det skal grundlæggende udformes som diagrammet i figur 2, blot kun med den ene y-akse. Du kan få behov for at bytte om på akserne, hvis det ser helt forkert ud. Det gør du ved at trykke på et datapunkt, højreklikke, og tryk: "Vælg data". Nu får du en dialogboks frem, hvor du bl.a. kan vælge at bytte om på x- og y-værdier.
3. Diagrammet ser uoverskueligt ud med de mange kurver, men kan du genkende bestemte mønstre?

Figur 2 viser nogle fem generelle mønstre for hvordan ekspressionen af gener viser sig.



Figur 2. Eksempler på genregulering ved diauxisk skift. Den røde kurve viser glucosekoncentrationen i mediet. Når den falder skifter gærcellerne fra glucoseudnyttelse til ethanoludnyttelse. De øvrige kurver (blå, blågrøn, græsgrøn, gul og orange) viser 5 mønstre for hvordan gener typisk reguleres.

Opgave

4. Sammenlign de 5 kurver. Hvilke forskelle er der i måden generne reguleres?
5. Diskuter, hvilke roller gener med de 5 forskellige mønstre kunne spille.

Se nu igen på datafilen.

6. Identificer gener, der reguleres efter hvert af de 5 mønstre.
7. Identificer, hvilke roller de spiller i cellen.
8. Lav et nyt diagram, hvor du kun medtager et gen med hver af de 5 reguleringsmønstre.

9. Diskuter, hvorfor det kan være en god strategi at regulere disse gener efter de pågældende mønstre. Inddrag opgaven du har lavet på side 2.

Hvordan reguleres stofskiftet?

De røde og blå processer i figur 1 består af en række delprocesser, som du vil kende fra undervisningen. Grundlæggende drejer det sig om glycolysen i cytoplasma (rød), citronsyrecyklus i mitokondrierne (blå) og elektrontransportkæden i mitokondriemembranen (ikke vist). I figur 3 er processerne vist med flere delprocesser og mellemprodukter angivet.

Figur 3. Genregulering ved diauxisk skift. Rødt felt: Glycolyse. Orange felt: Ethanolgæring. Blåt felt: Citronsyrecyklus. Glycolysens processer kan også foregå den modsatte vej ved neogenese, når der dannes glucose ved glucosemangel. Ved flere af processerne er i kasser vist gener der er ansvarlige for produktion af enzymer ol. Negative tal betyder nedregulering ved diauxisk skift. Positive tal betyder opregulering.

Opgave

1. Orienter dig i figur 3. Sammenlign processerne med din biokemibog. I figur 2 er flere mellemprodukter angivet med forkortelser. Find dem i din biokemibog.
2. Forklar den proces, hvorved der produceres et enzym fra et gen (proteinsyntesen).
3. Dan dig et overblik over hvilke gener der opreguleres hhv. nedreguleres ved det diauxiske skift. Hvordan forklarer det, at processerne foregår som vist i figur 1?

Genreguleringen sker bl.a. vha.

transkriptionsfaktorer. Nogle

transkriptionsfaktorer styrer en række gener.

4. Forklar hvordan et gen kan reguleres af transkriptionsfaktorer.

5. Forklar, hvorfor det kan være hensigtsmæssigt, at samme transkriptionsfaktor påvirker transkription fra en række forskellige gener.

