

**REGOLAZIONE DELLA
SINTESI PROTEICA
NEI PROCARIOTI**

La regolazione dell'espressione genica

Quali sono i meccanismi che determinano l'accensione o lo spegnimento dell'espressione di un gene?

La regolazione dell'espressione genica

- **Nei procarioti:**

- un'espressione genica selettiva permette alle cellule di risparmiare energia
- La regolazione avviene prevalentemente a livello trascrizionale

- **Negli eucarioti:**

- l'espressione genica selettiva permette alle cellule di svolgere ruoli specializzati
- La regolazione avviene a vari livelli

Regolazione genica nei procarioti

- **Geni costitutivi:** sono costantemente attivi (es. geni che codificano per gli enzimi della glicolisi)
- **Geni regolati:** la loro espressione è regolata in modo tale che la quantità del corrispondente prodotto (proteina o RNA) è controllata in relazione al fabbisogno cellulare (es. sintesi adattativa di enzimi)

I batteri utilizzano strategie diverse per regolare la sintesi degli enzimi

- **Vie cataboliche** e induzione da substrato
- **Vie anaboliche** e repressione da prodotto finale

Gli enzimi che catalizzano queste vie sono spesso regolati in modo coordinato: la sintesi di tutti gli enzimi coinvolti in una particolare via viene attivata o repressa simultaneamente

Vie cataboliche e induzione da substrato

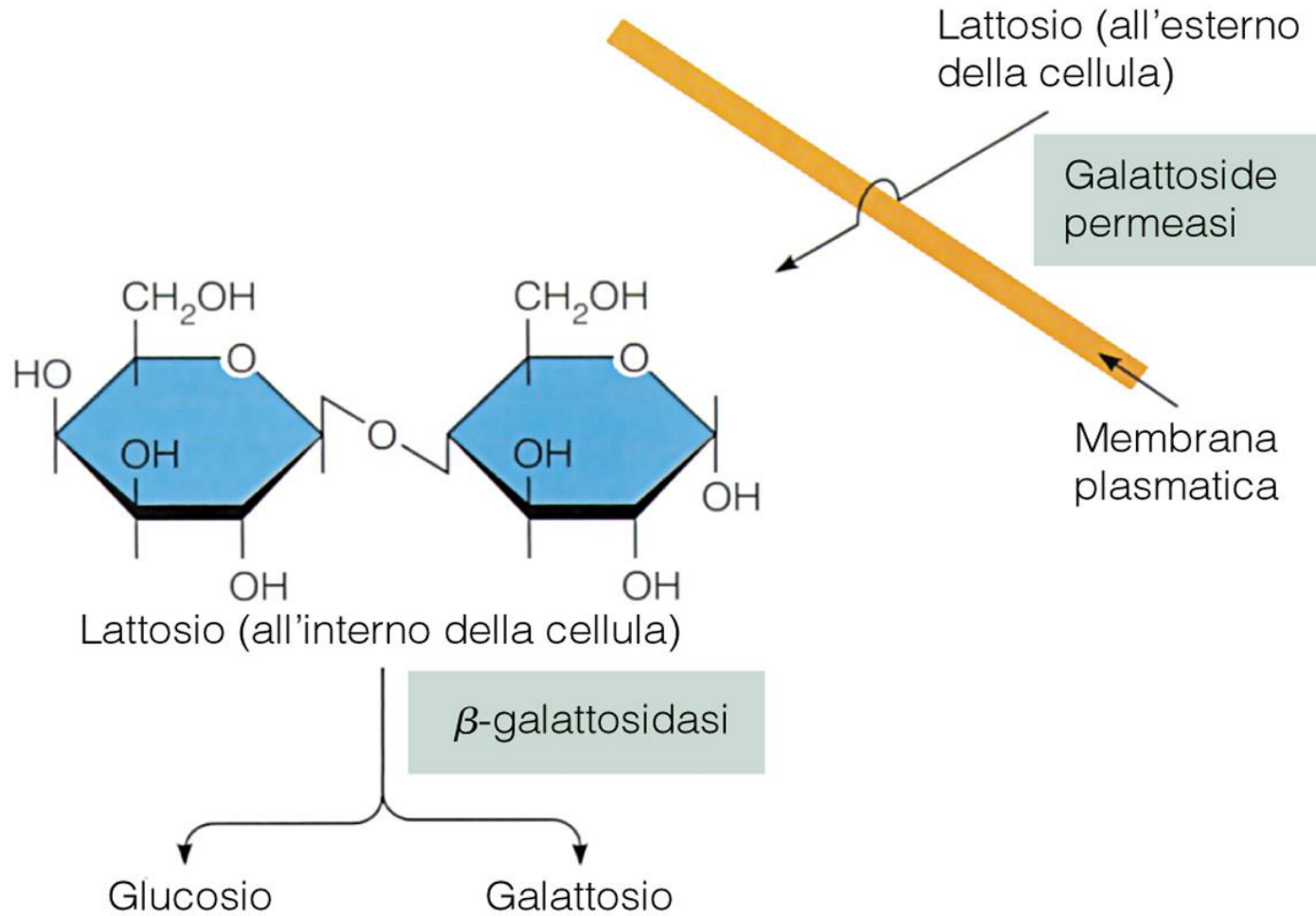


Figura 21-1

Vie anaboliche e repressione da prodotto finale

La sintesi del triptofano

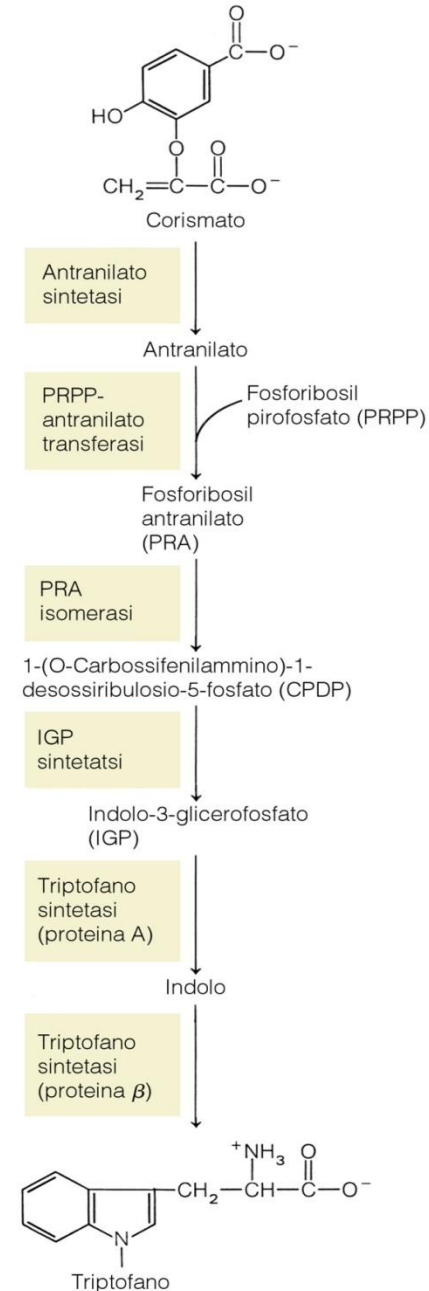
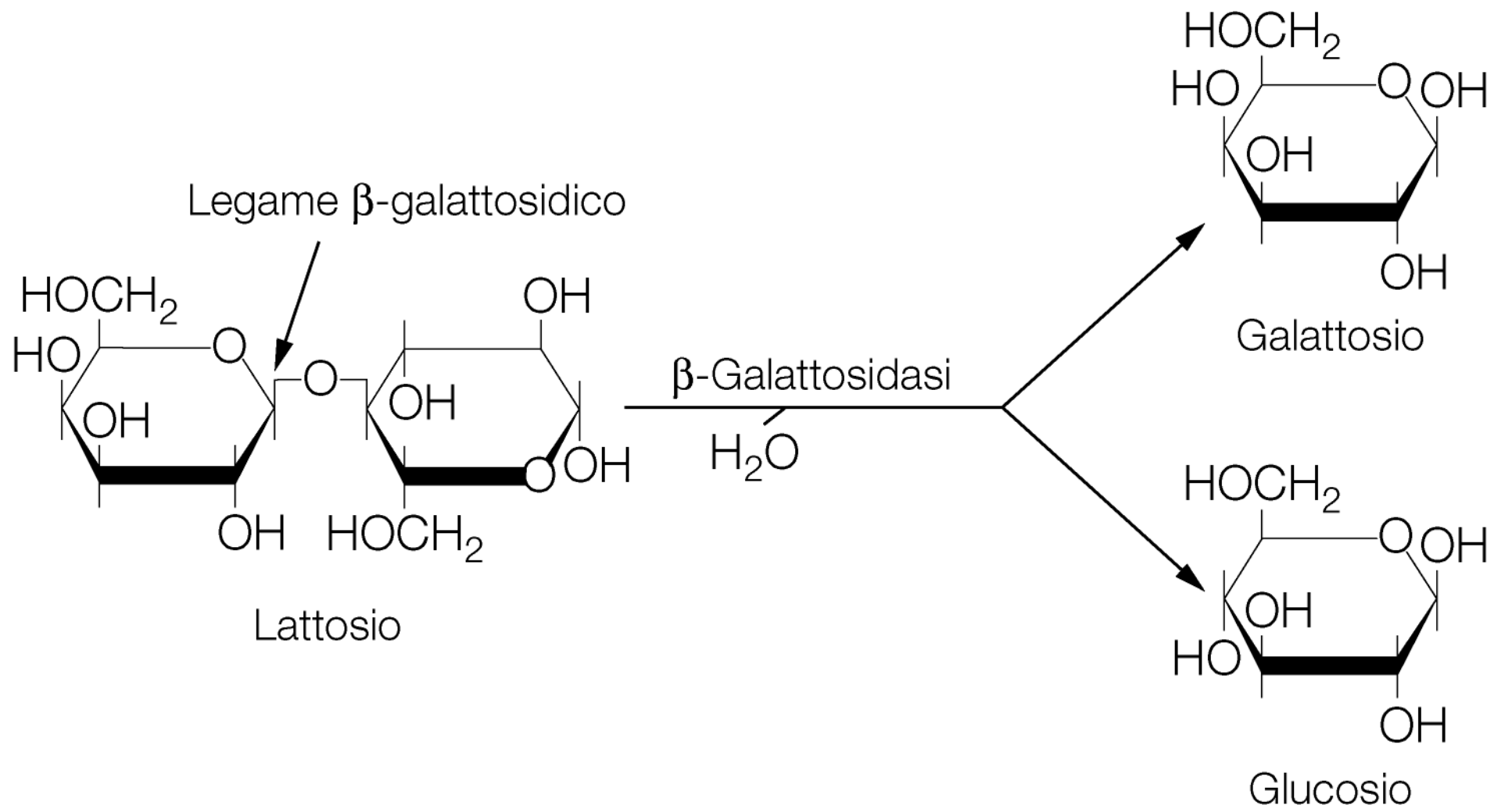
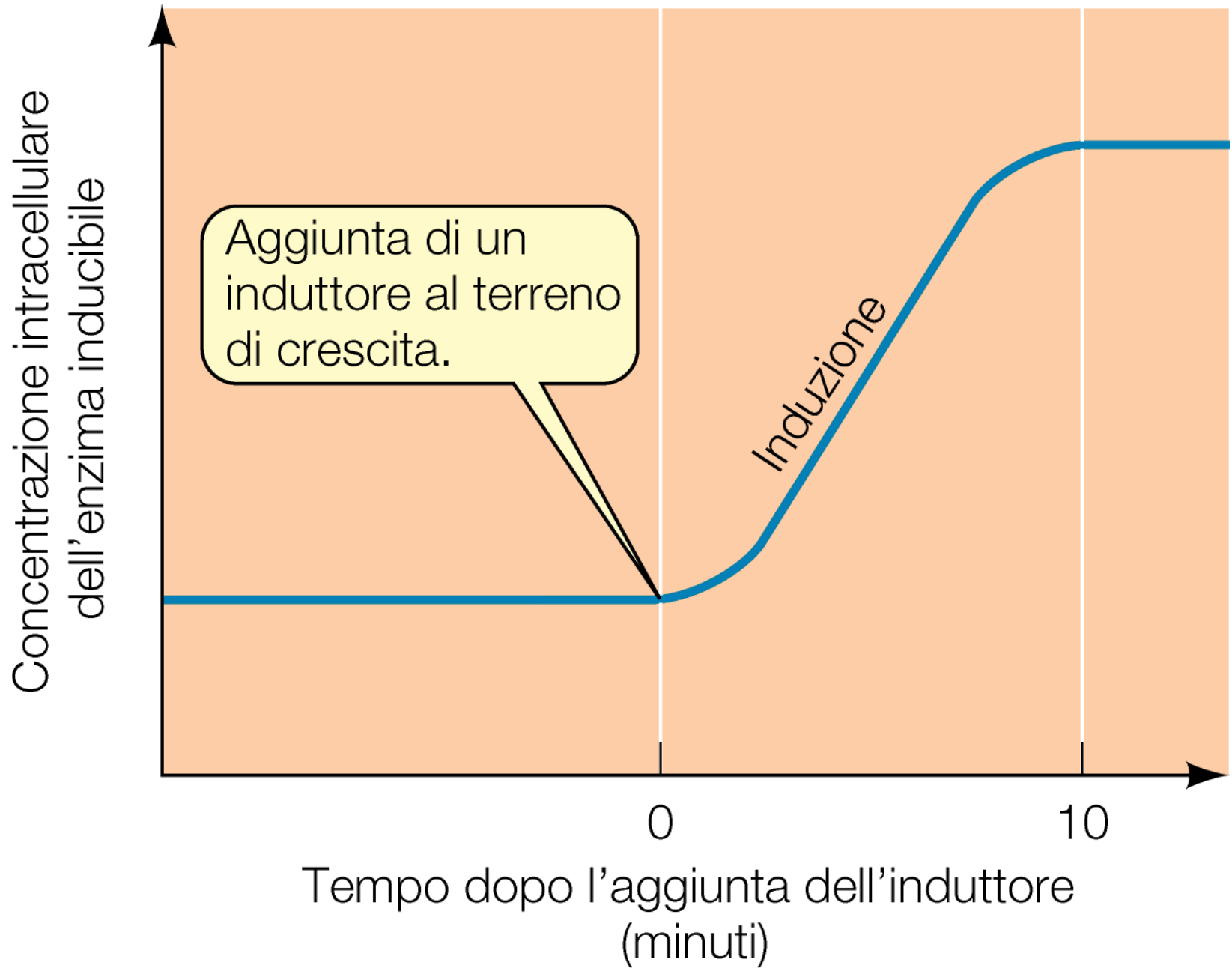
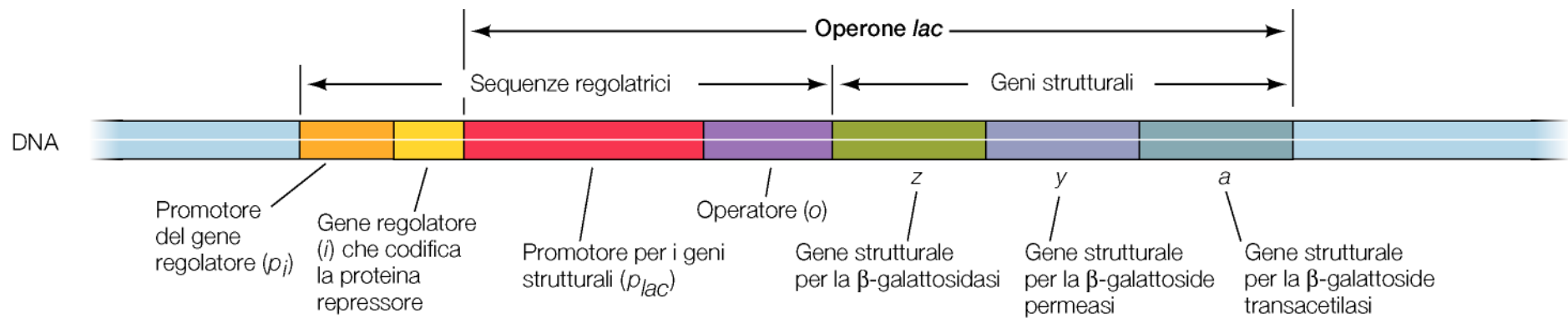


Figura 21-2

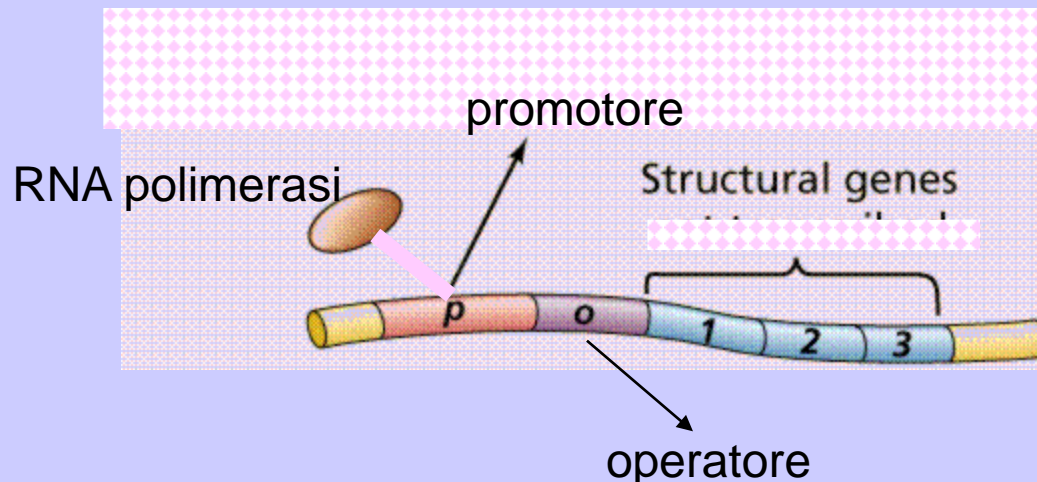






Geni e loro funzioni

- Gene regolatore
 - Gene promotore
 - Gene operatore
 - Geni strutturali
- Proteina repressore
 - Sito di avvio della trascrizione del DNA in mRNA
 - Sito di inserimento per repressore: blocco della sintesi dell' mRNA
 - enzimi



1 La permeasi trasporta attivamente il lattosio nella cella,...

Lattosio extracellulare

Permeasi

Membrana cellulare

2 ...al cui interno l'enzima β -galattosidasi lo scinde in galattosio e glucosio.

3 La β -galattosidasi opera altresì la conversione del lattosio nel composto correlato allolattosio,...

Lattosio

β -Galattosidasi

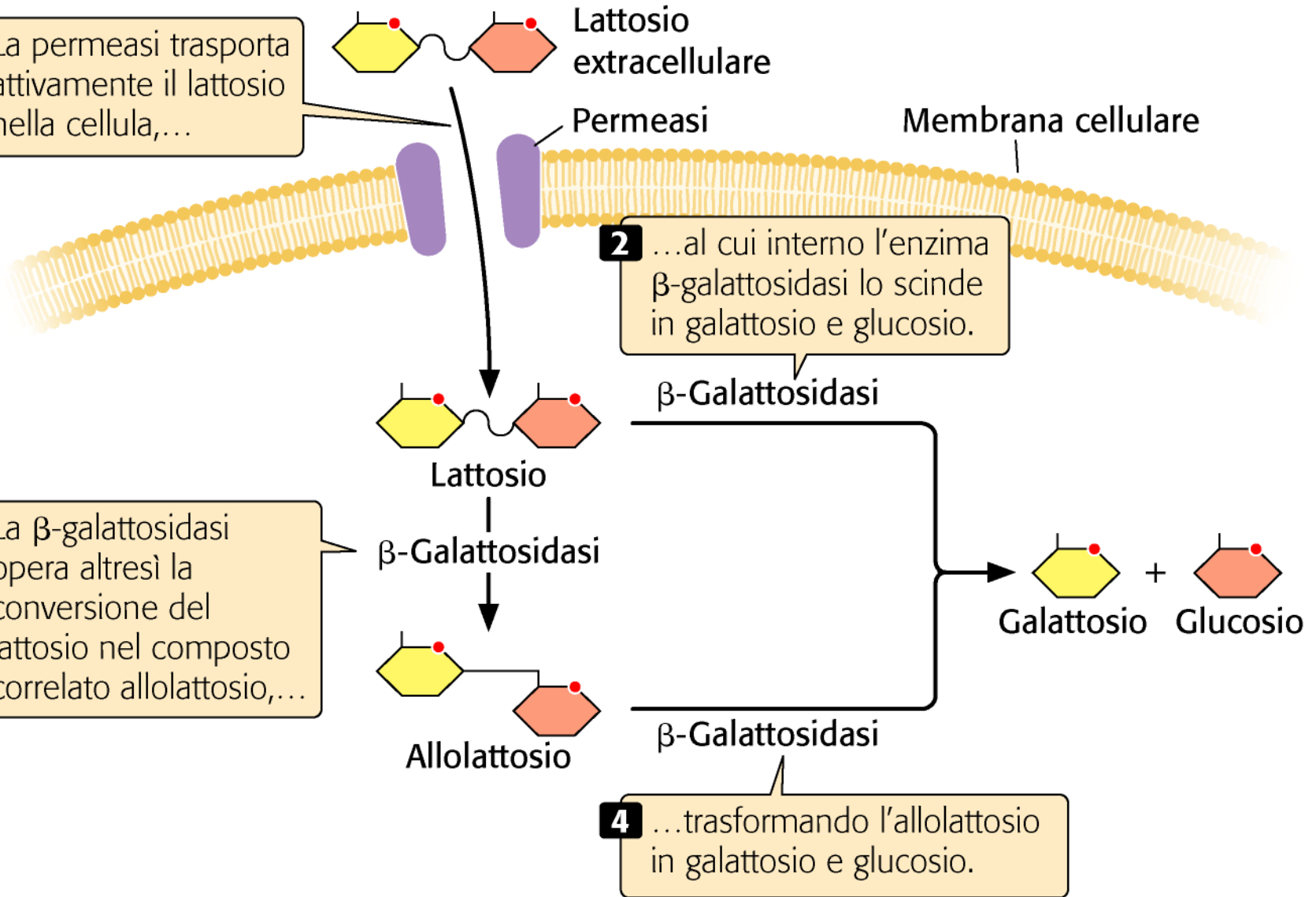
β -Galattosidasi

Allolattosio

β -Galattosidasi

Galattosio + Glucosio

4 ...trasformando l'allolattosio in galattosio e glucosio.



I geni coinvolti nel catabolismo del lattosio sono organizzati in un operone inducibile

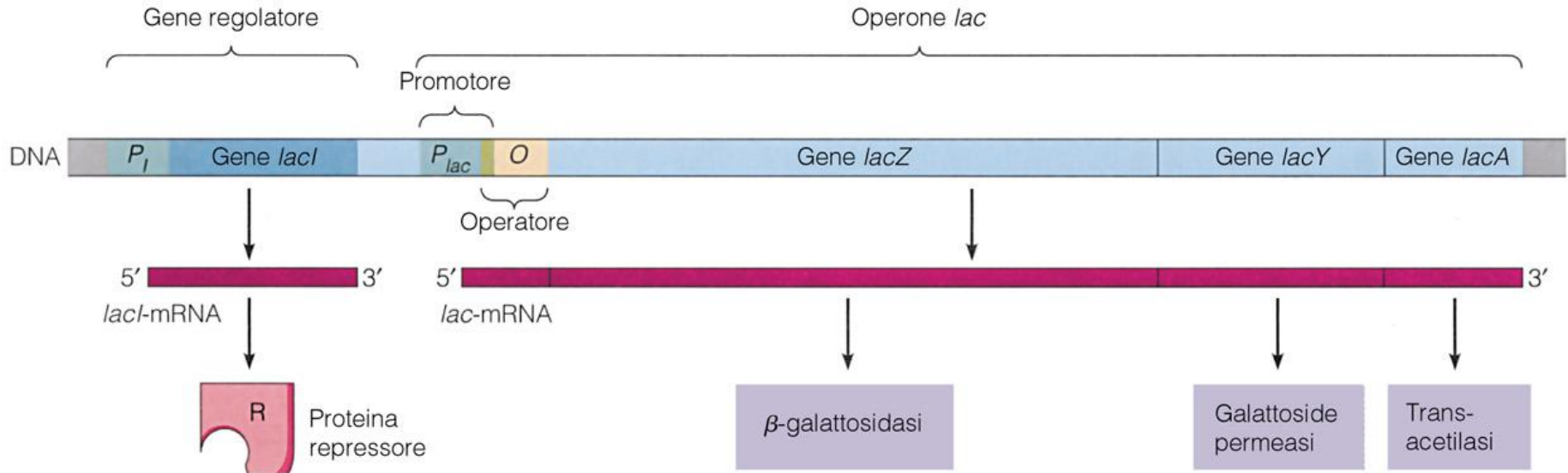


Figura 21-3

La delezione del gene *lac I* origina cellule che producono sempre le tre proteine indipendentemente dalla presenza dell'induttore

Lac I codifica per un repressore

Regolazione dell'operone lac

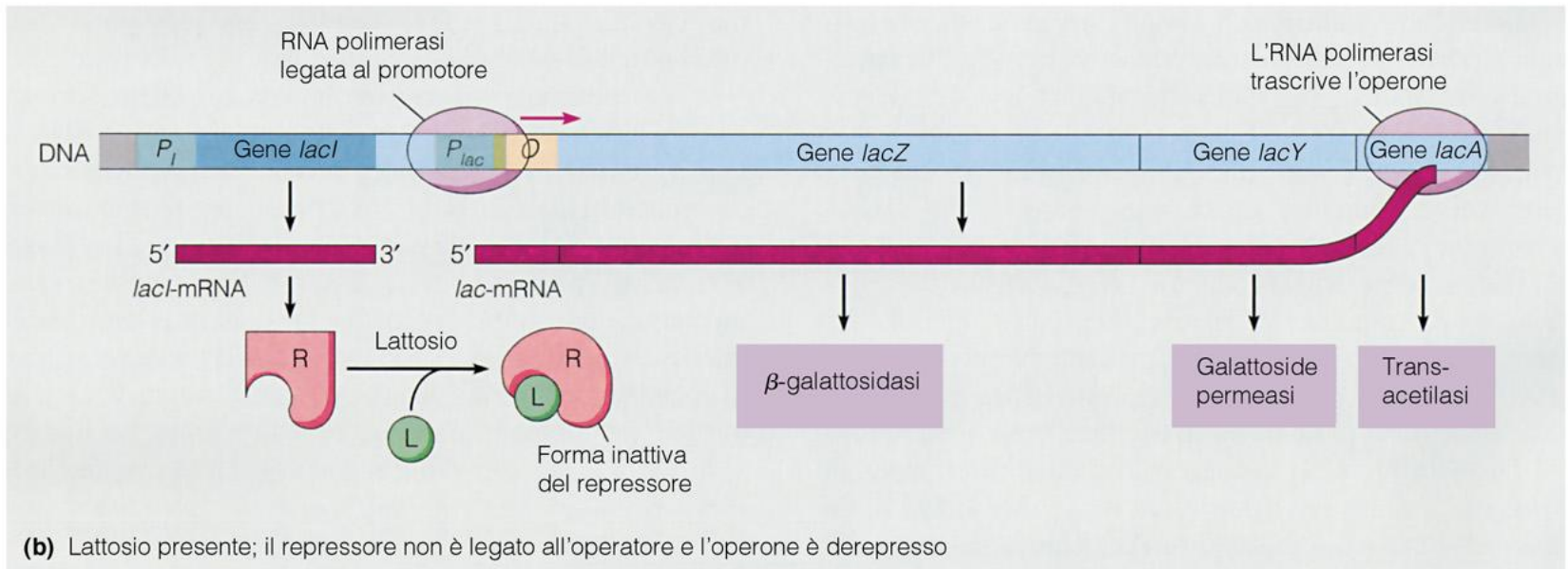
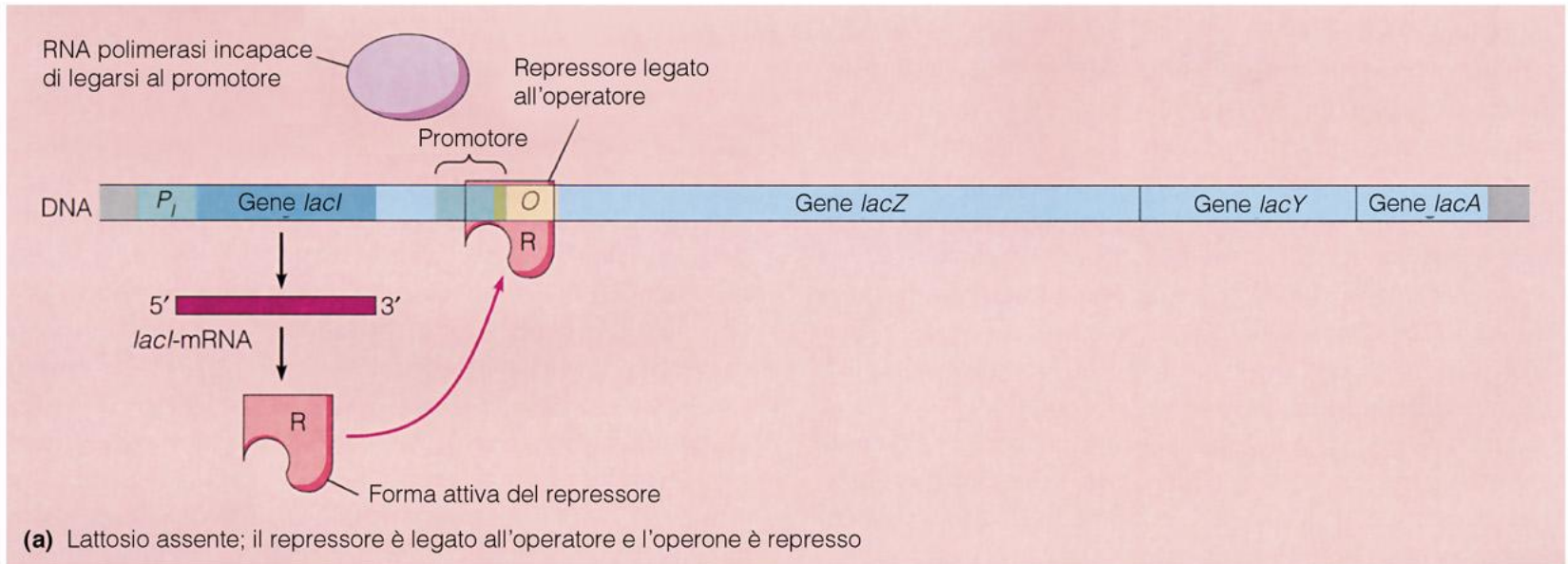
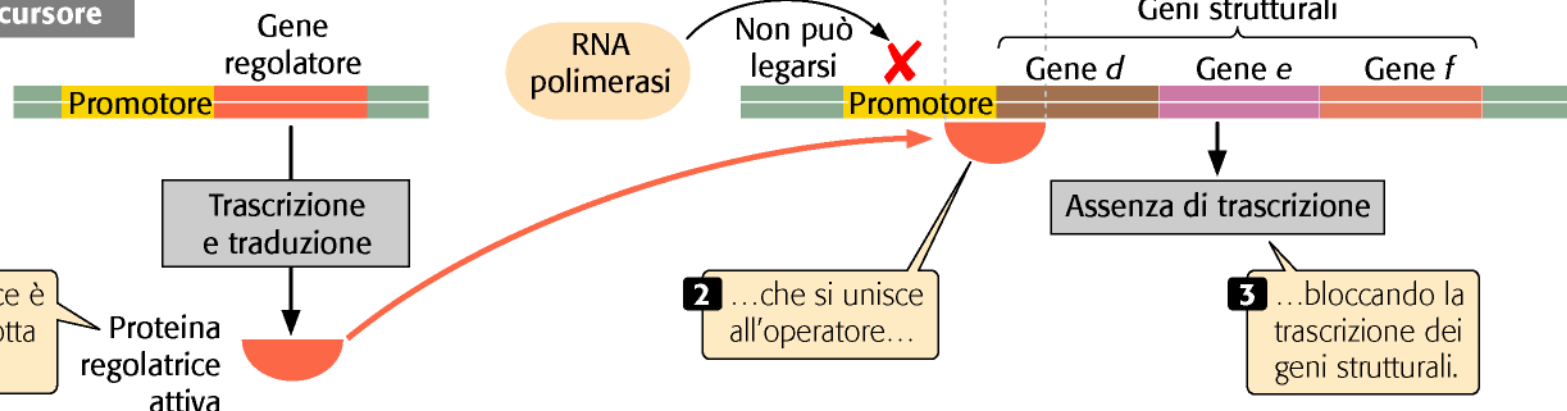


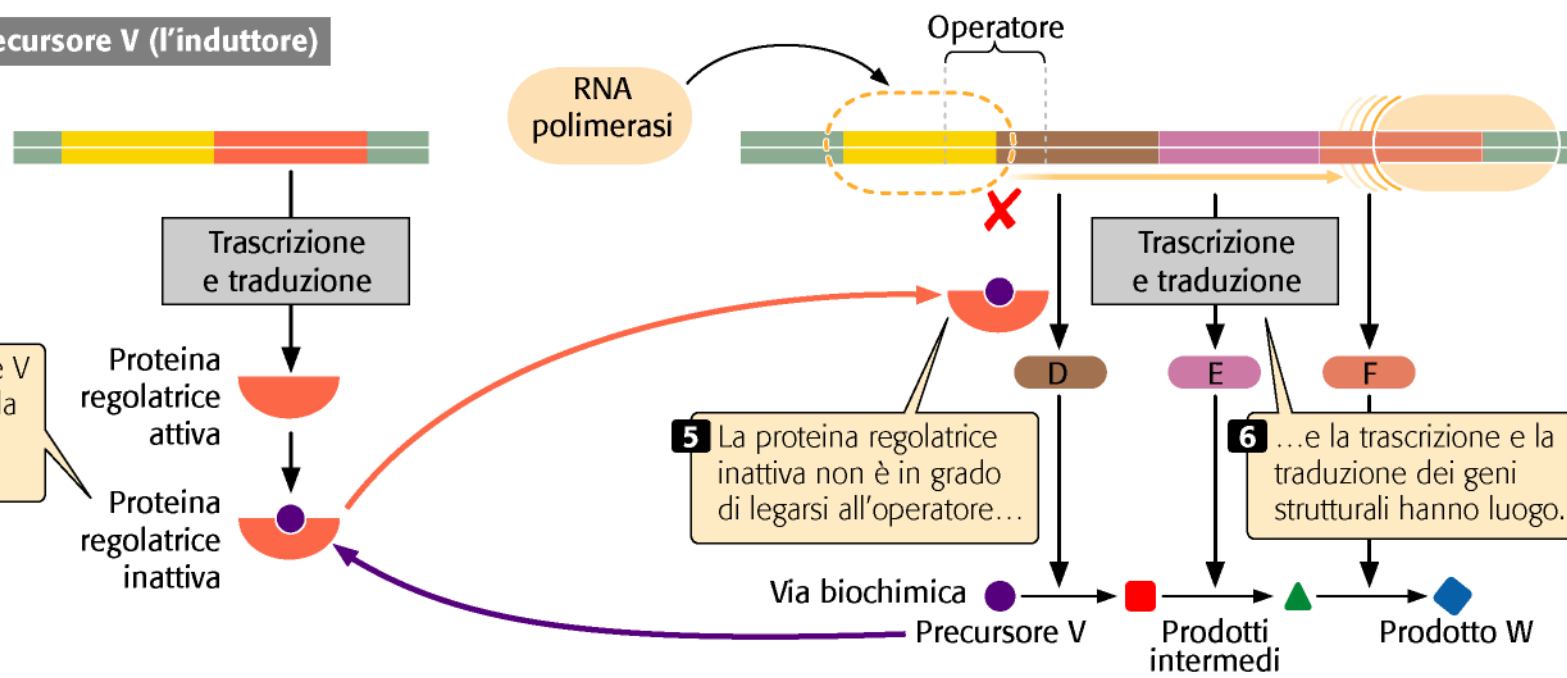
Figura 21-4

Operone inducibile negativamente

(a) Assenza di precursore



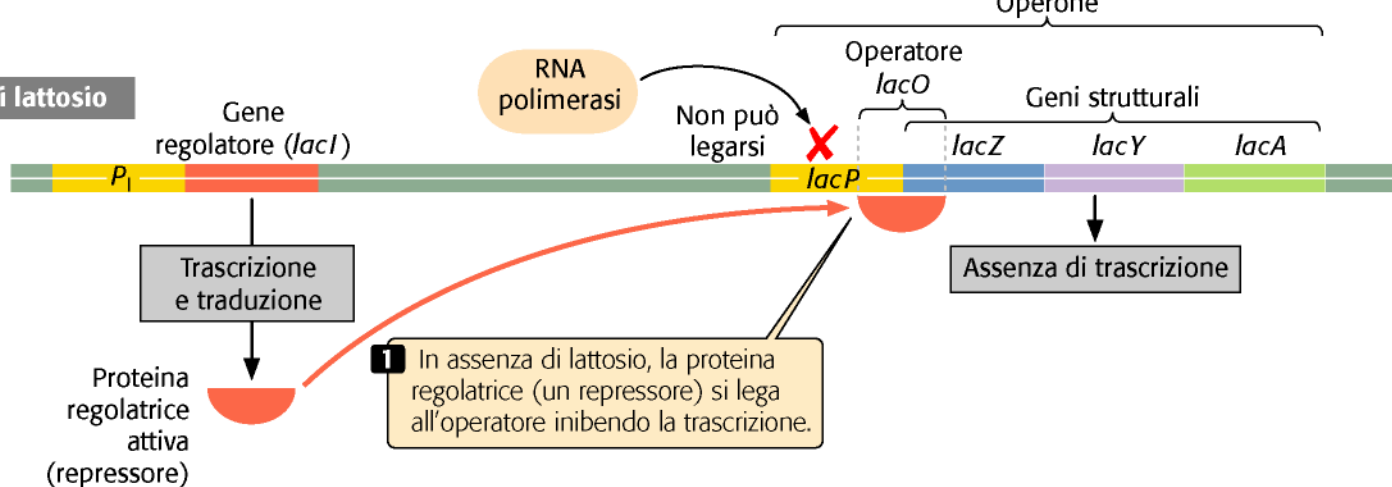
(b) Presenza del precursore V (l'induttore)



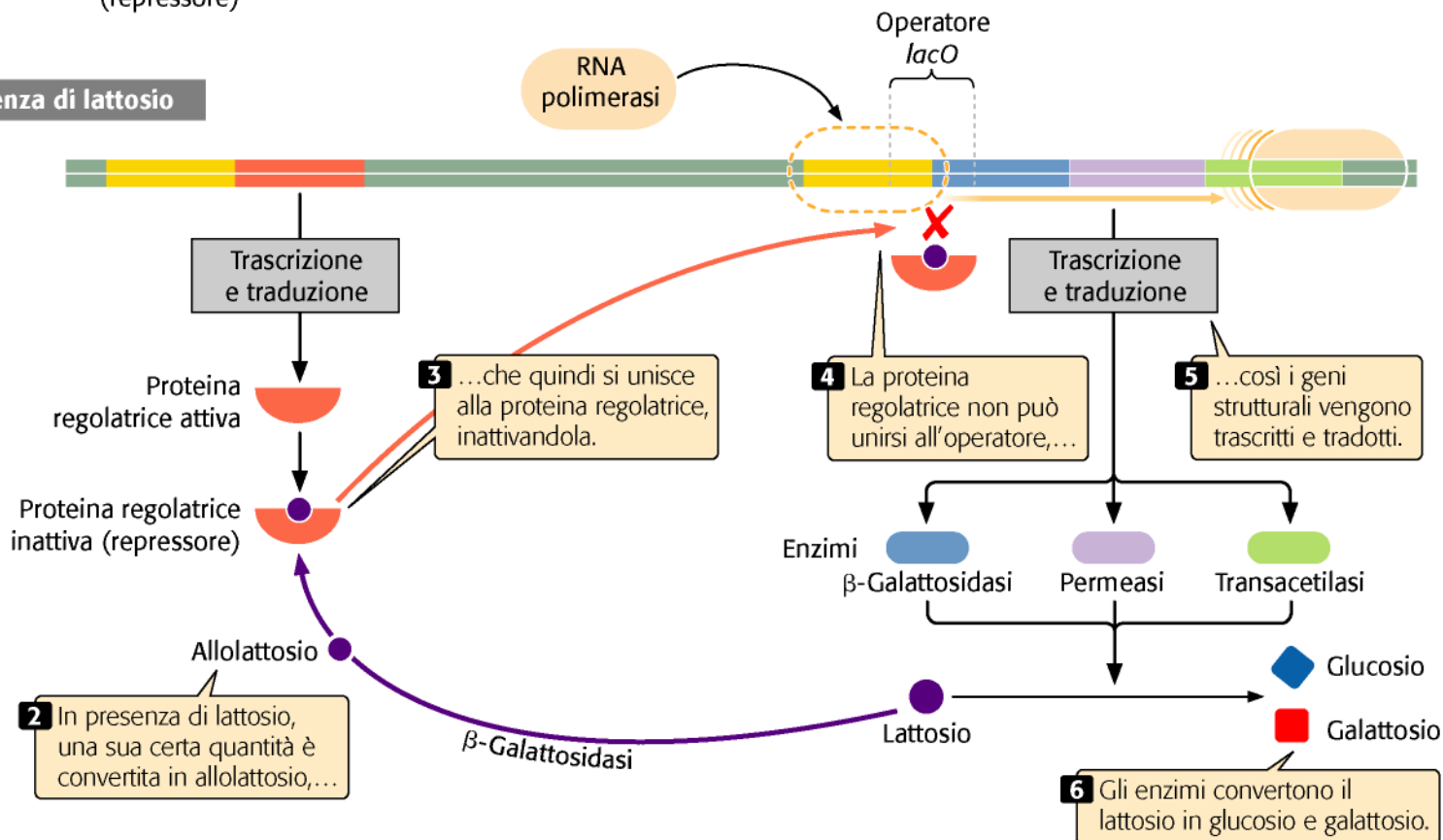
Conclusione: L'operone è attivo (e sintetizza il prodotto W) unicamente in caso di disponibilità del precursore V.

Operone lac

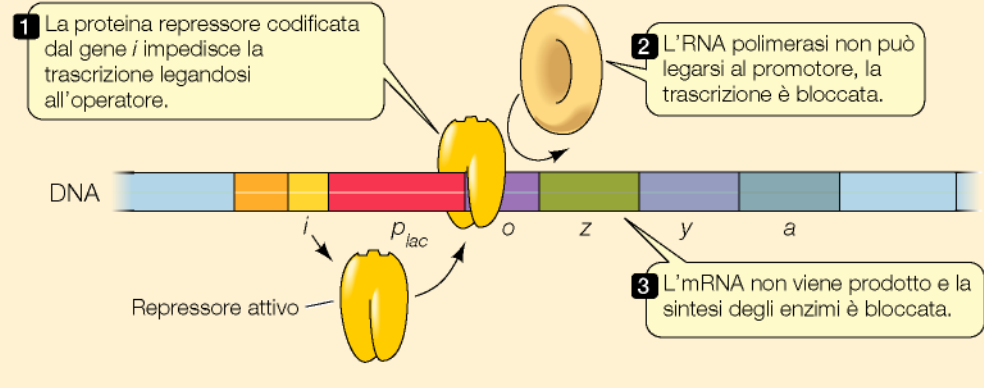
(a) Assenza di lattosio



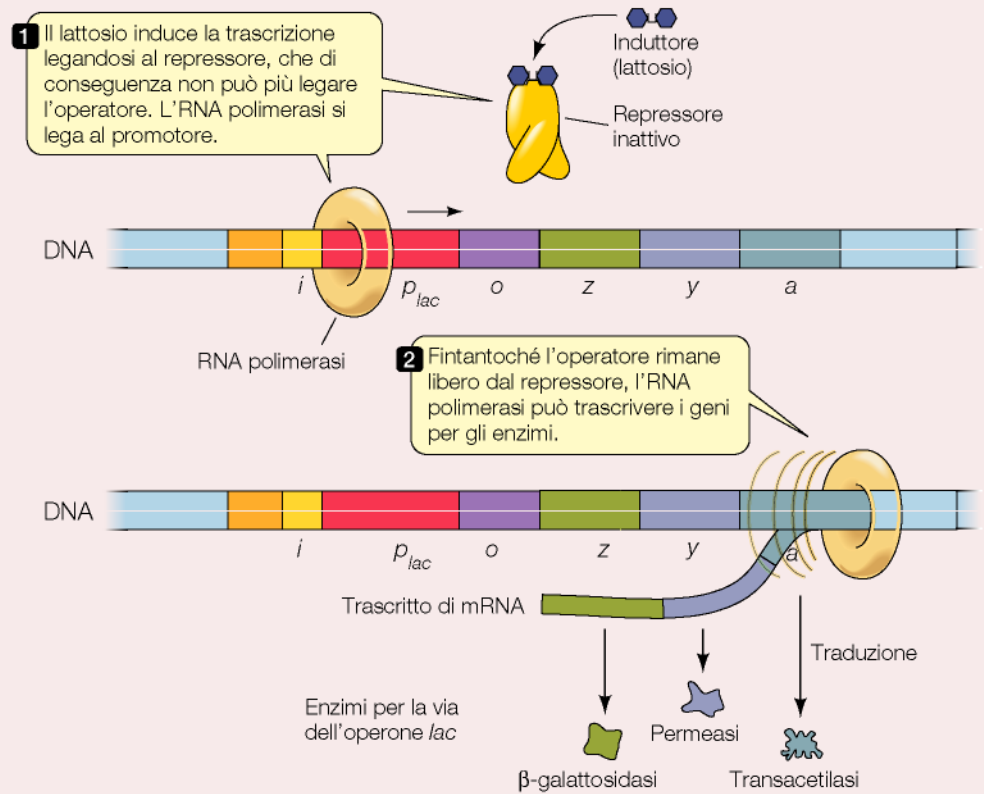
(b) Presenza di lattosio

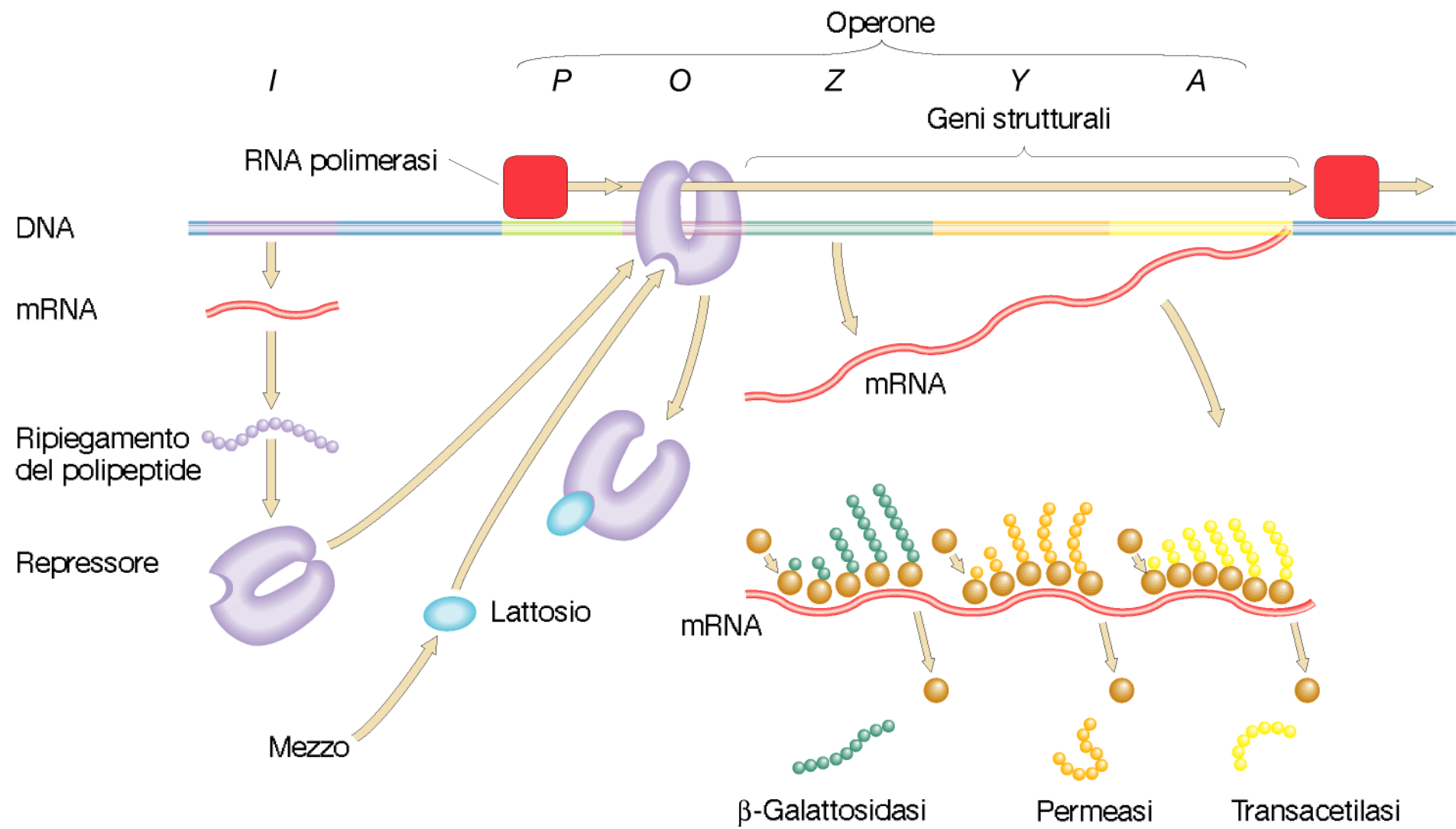


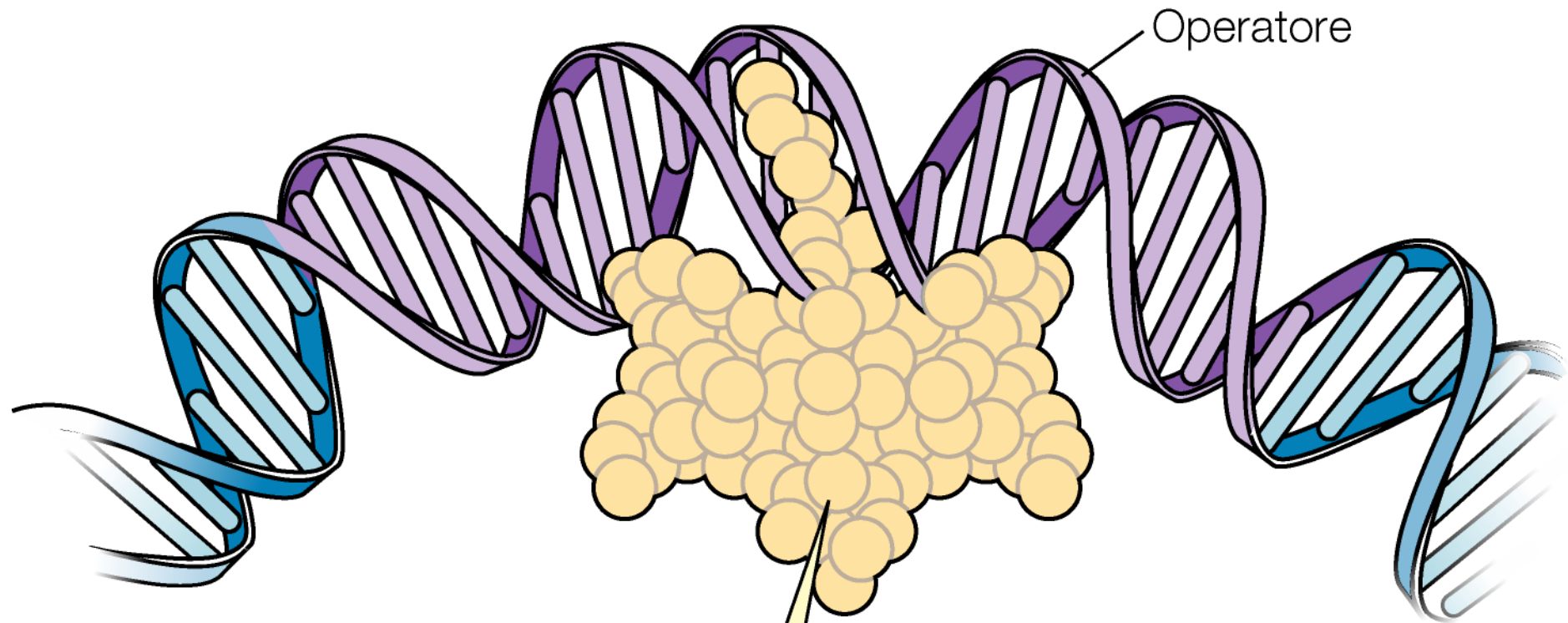
Lattosio assente



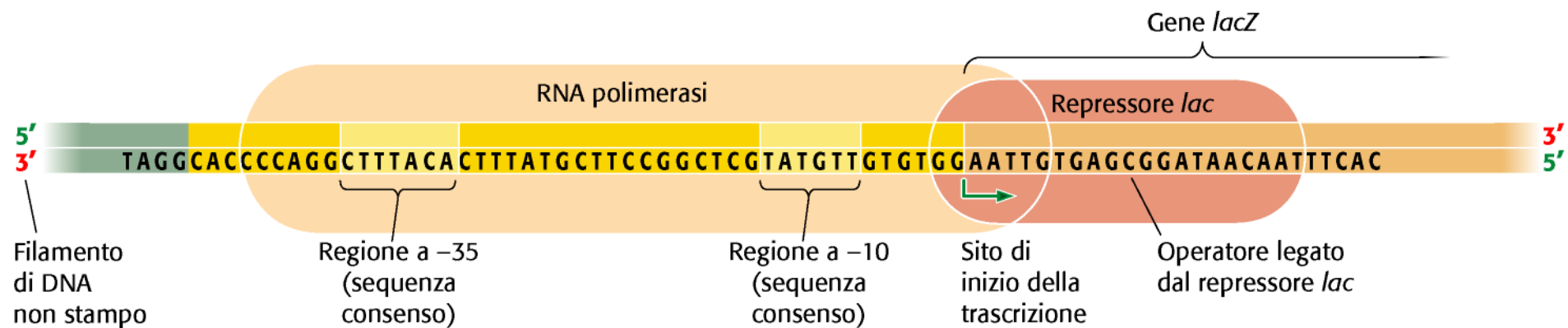
Lattosio presente







Il repressore si lega strettamente al DNA operatore creando una barriera fisica al proseguimento della trascrizione.



I geni strutturali e il gene *I*

I^+ = allele normale: Z, Y, A trascrivono in presenza dell'induttore;

I^- = mutante costitutivo: Z, Y, A trascrivono sempre;

I^s = allele inibente la risposta all'induttore: Z, Y, A non trascrivono mai

Merodiploidi per definire le relazioni

funzionali tra gli alleli



↓
trascrizione

Un unico mRNA

policistronico

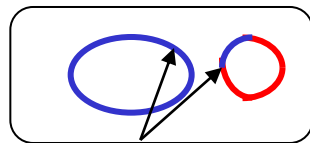
↓
traduzione

β-galattosidasi

transacetilasi

permeasi

$F'(lac)$



Geni *lac*

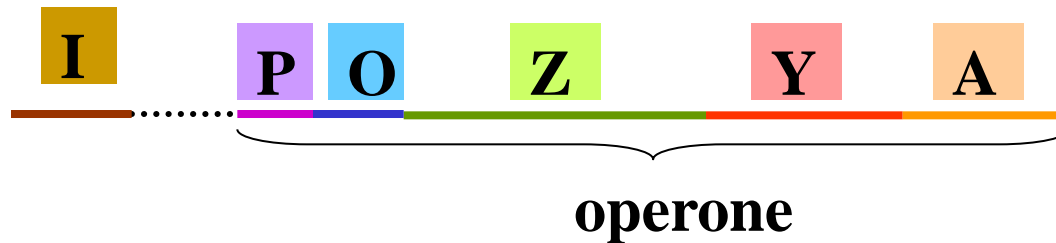
I^+Z^-/I^-Z^+	Trascrive* con l'induttore
I^-Z^-/I^+Z^+	Trascrive* con l'induttore
I^-Z^-/I^-Z^+	Trascrive* sempre
I^sZ^+/I^+Z^+	Non trascrive mai
I^sZ^+/I^-Z^+	Non trascrive mai

*un mRNA per un enzima funzionale

1) I^s è dominante su I^+ che a sua volta è dominante su I^-

2) I^+ è dominante su I^- indipendentemente dalla posizione in *cis* o in *trans* rispetto a Z^+

Operatore, promotore e operone



O^+ = allele normale: Z, Y, A trascrivono in presenza dell'induttore;
 O^c = mutante costitutivo: Z, Y, A trascrivono sempre

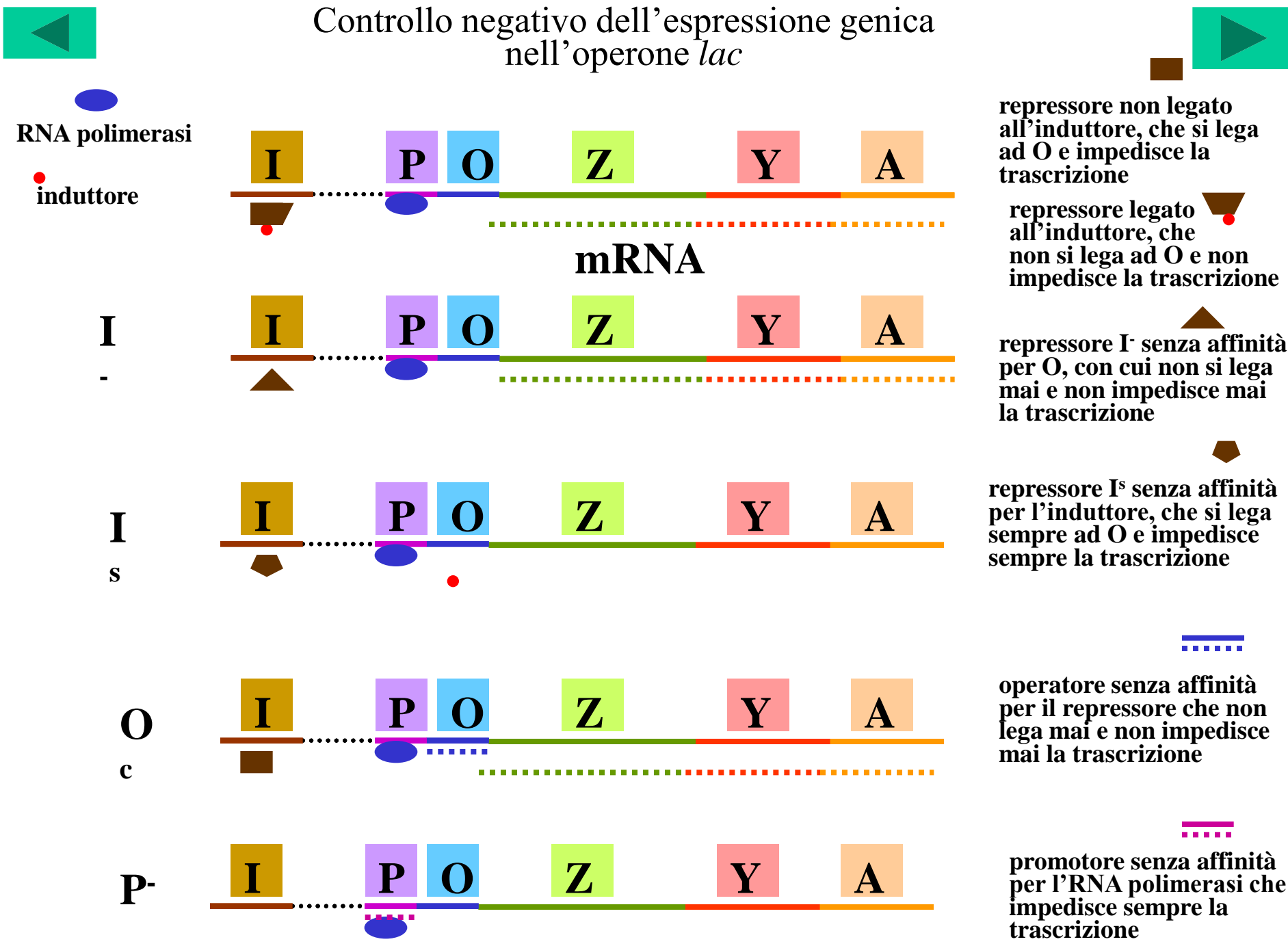
O^+Z^+/O^cZ^+	Trascrive* sempre
O^+Z^+/O^cZ^-	Trascrive* con l'induttore
O^+Z^-/O^cZ^+	Trascrive* sempre
$I^sO^+Z^+/I^+O^cZ^+$	Trascrive* sempre

Il prodotto del gene I è una proteina diffusibile che, in assenza dell'induttore, si lega ad O e impedisce la trascrizione di Z, Y, A; in presenza dell'induttore non si lega ad O e consente la trascrizione di Z, Y, A
 *un mRNA per un enzima funzionale

1) O^c è dominante su O^+ , ma solo in *cis* rispetto a Z^+

2) Gli alleli normali di P sono cis-dominanti sui mutanti difettivi di P, che impediscono incondizionatamente la trascrizione di Z, Y, A, impedendo l'inserimento della RNA polimerasi

Controllo negativo dell'espressione genica nell'operone *lac*



RNA polimerasi
induttore

repressore non legato all'induttore, che si lega ad O e impedisce la trascrizione
repressore legato all'induttore, che non si lega ad O e non impedisce la trascrizione

repressore I⁻ senza affinità per O, con cui non si lega mai e non impedisce mai la trascrizione

repressore I^s senza affinità per l'induttore, che si lega sempre ad O e impedisce sempre la trascrizione

operatore senza affinità per il repressore che non lega mai e non impedisce mai la trascrizione

promotore senza affinità per l'RNA polimerasi che impedisce sempre la trascrizione

L'operone *Lac* è anche sotto un controllo positivo mediante una proteina attivatrice da catabolita:
proteina CAP

- Piccola molecole effettrice, cAMP, si lega alla proteina attivatrice chiamata proteina attivatrice da catabolita (CAP) o proteina recettore di cAMP (CRP)
- CAP legato al sito di CAP: TRASCRIZIONE favorita
- L'operone si spegne quando CAP non è legato

cAMP = adenosina monofosfato ciclico

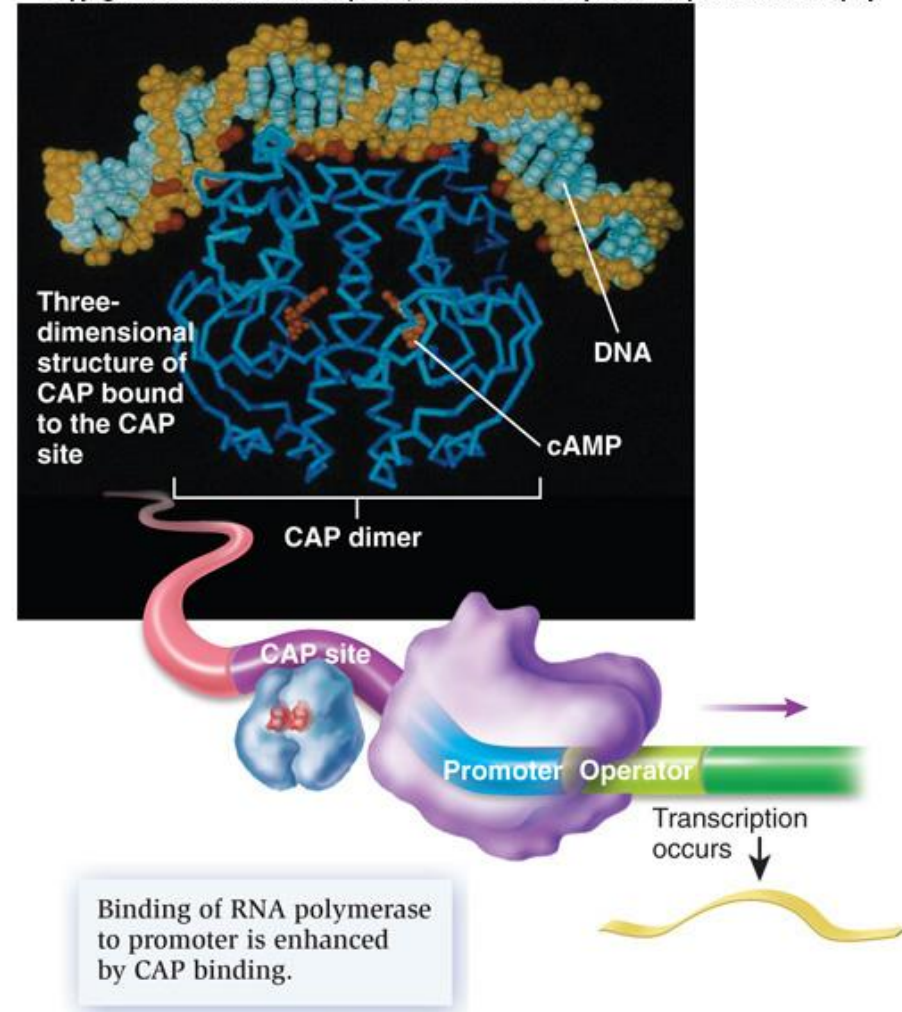
CAP = catabolite activator protein

o

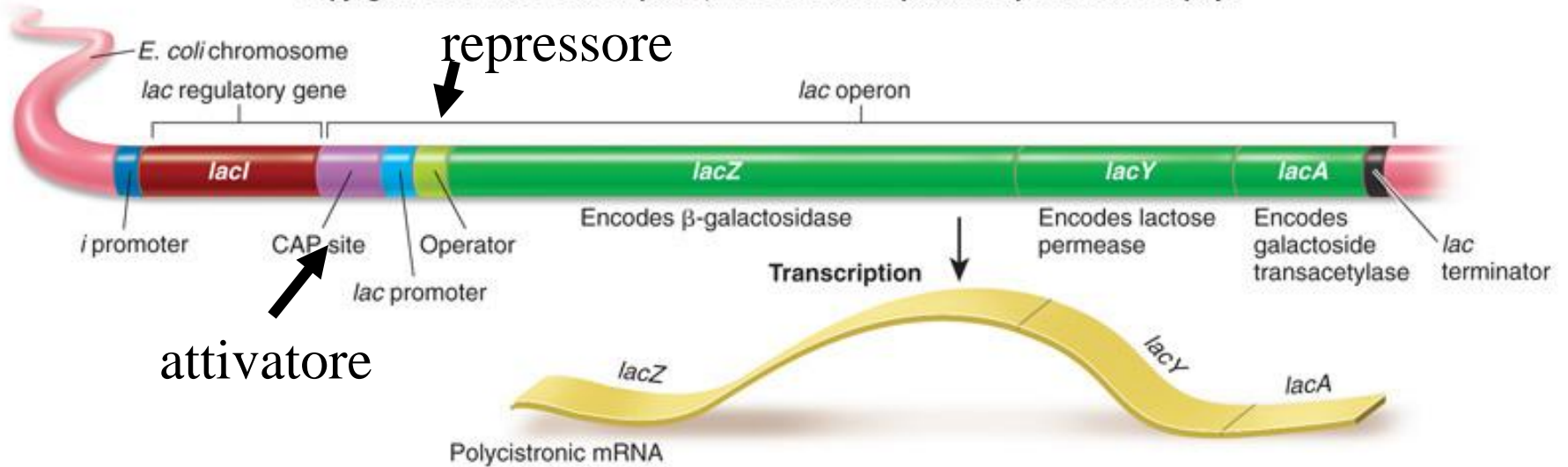
CRP = cyclic AMP receptor

- Esempio di controllo positivo
- Quando cAMP si lega a CAP, il complesso si lega al sito di CAP vicino al promotore *lac*
- La risultante curva nel DNA fa aumentare il legame di RNA polimerasi che aumenta la trascrizione

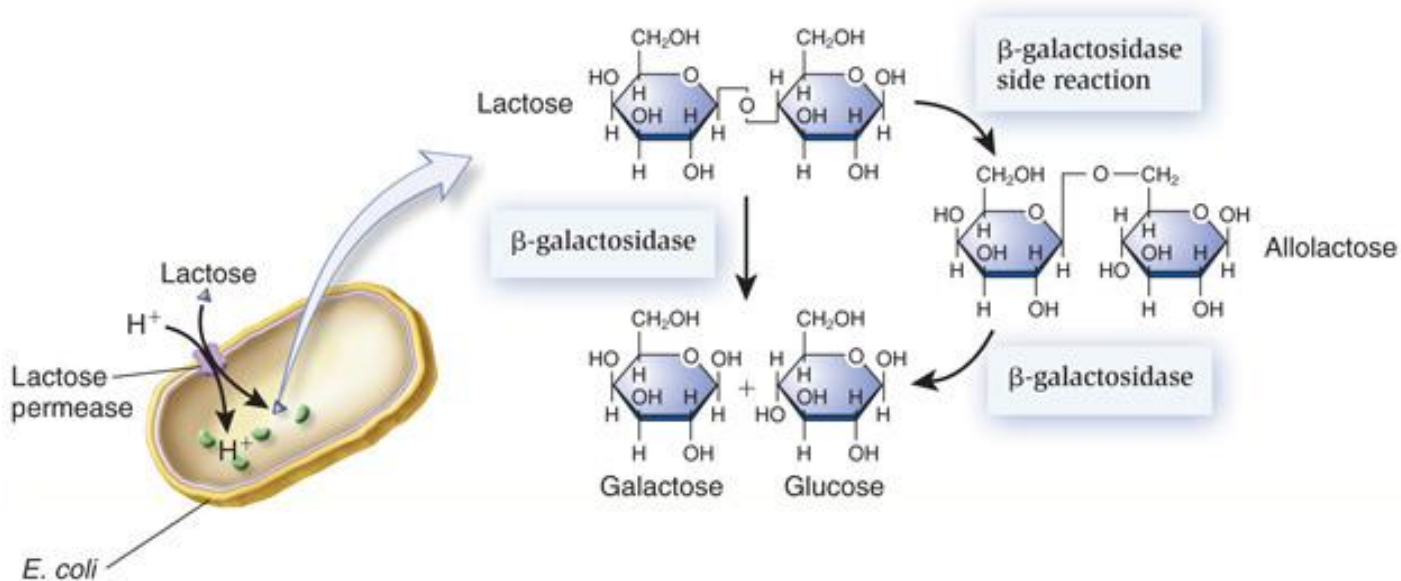
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



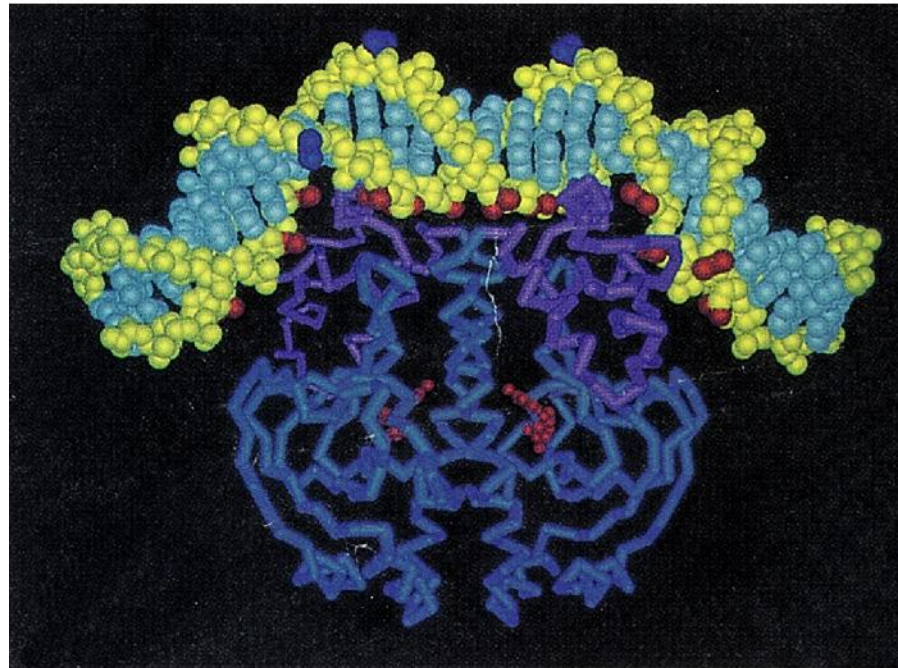
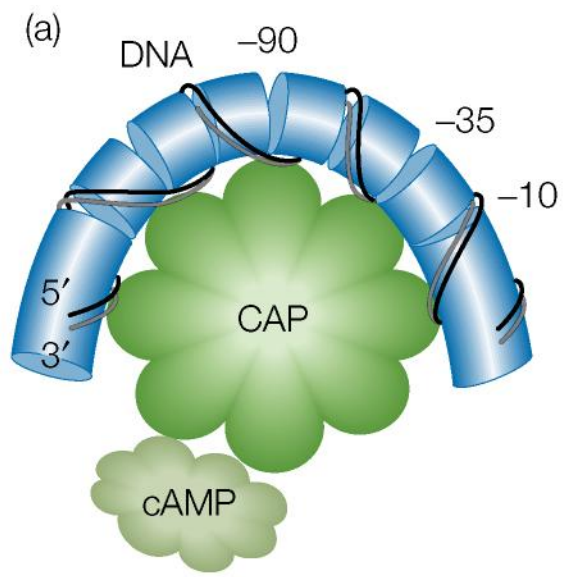
Thomas Steitz, Howard Hughes Medical Institution, Yale.



(a) Organization of DNA sequences in the *lac* region of the *E. coli* chromosome

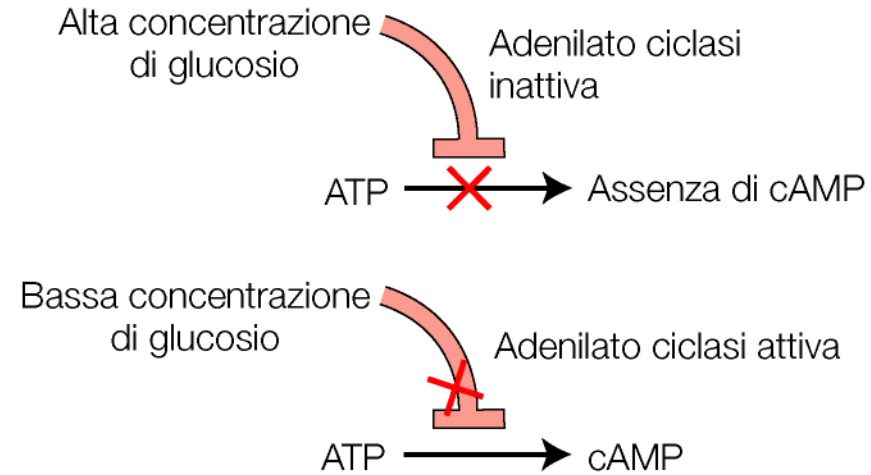


(b) Functions of lactose permease and β -galactosidase

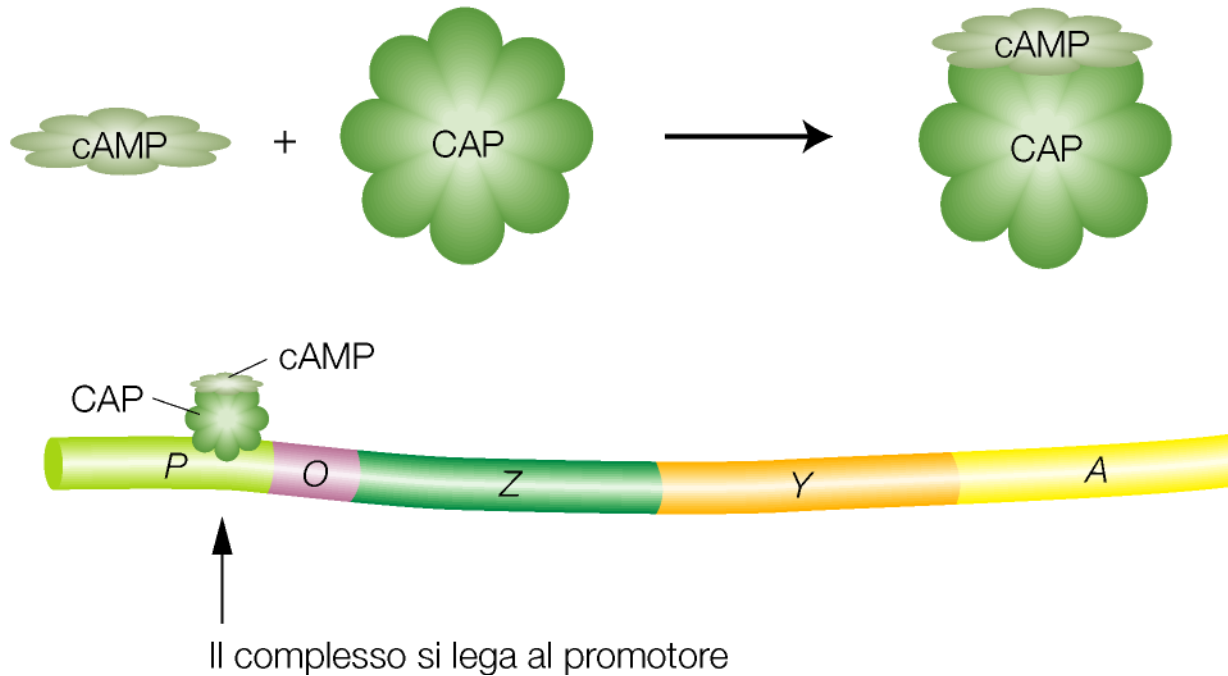


(b)

(a) **La concentrazione di glucosio regola la concentrazione del cAMP**



(b) **Il complesso cAMP-CAP attiva la trascrizione**

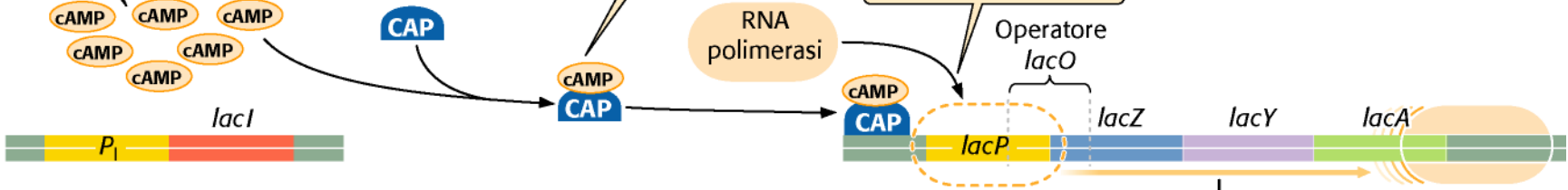


Basse concentrazioni di glucosio

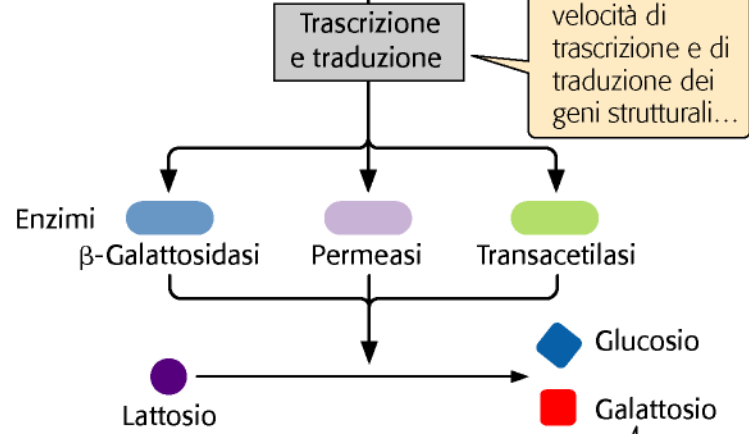
1 Quando il livello del glucosio è basso, quello di cAMP è elevato.

2 La CAP si lega prontamente al cAMP, e il complesso formato da queste molecole si lega al DNA,...

3 ...facendo aumentare l'efficienza di legame della polimerasi.



4 Ne risulta alta velocità di trascrizione e di traduzione dei geni strutturali...

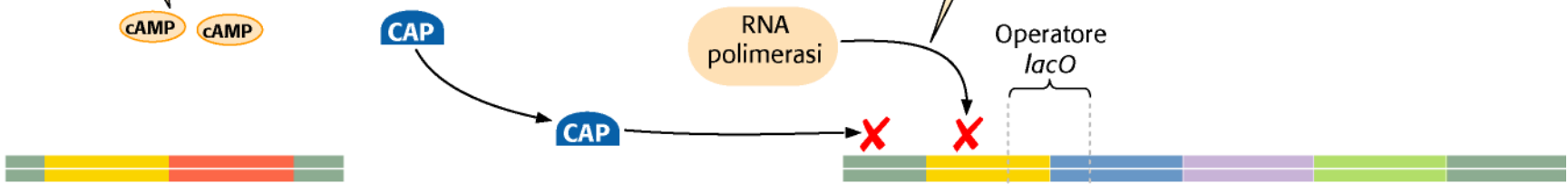


Alte concentrazioni di glucosio

1 Quando il glucosio è presente a livelli elevati, quelli di cAMP risultano bassi, ed è meno probabile che cAMP si leghi alla CAP.

2 La RNA polimerasi non può unirsi al DNA con la stessa efficienza,...

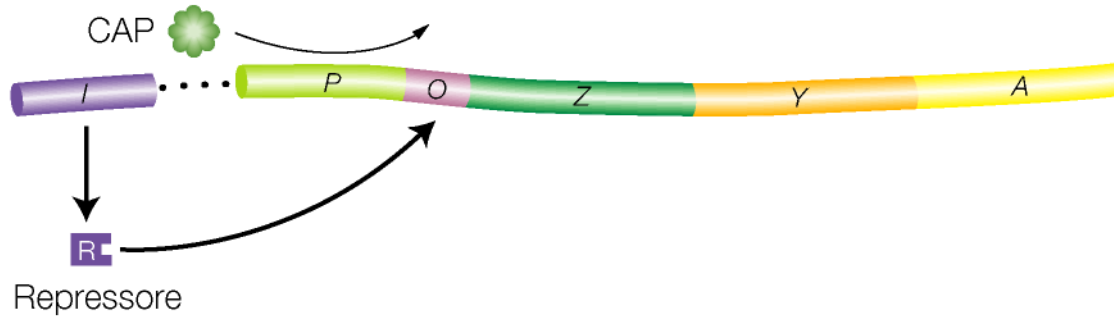
5 ...e dalla produzione di glucosio dal lattosio.



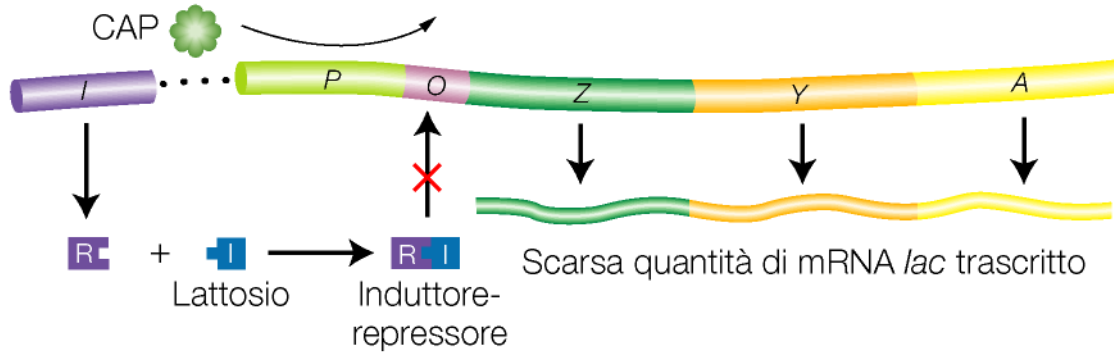
3 ...così la trascrizione procede a velocità bassa.

Basso grado di trascrizione

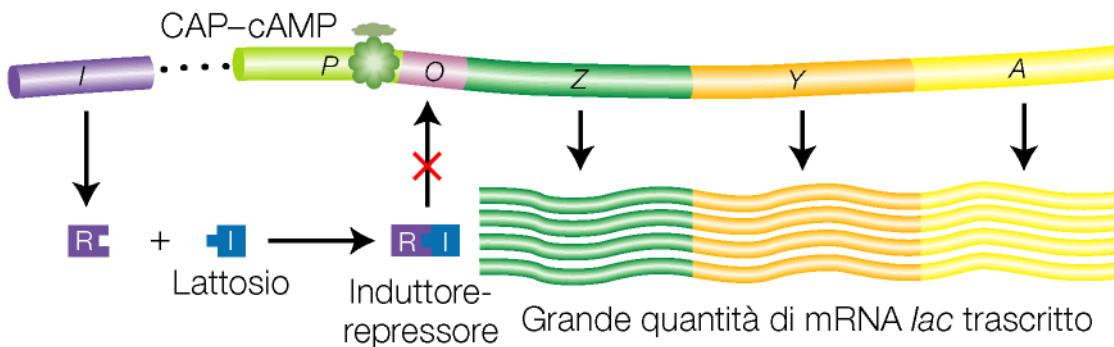
(a) Glucosio presente (cAMP scarso); lattosio assente; non si trascrive mRNA



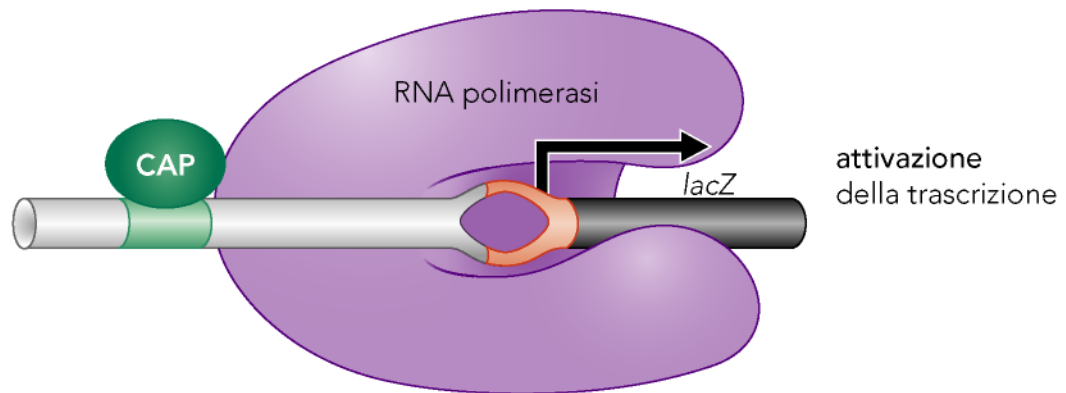
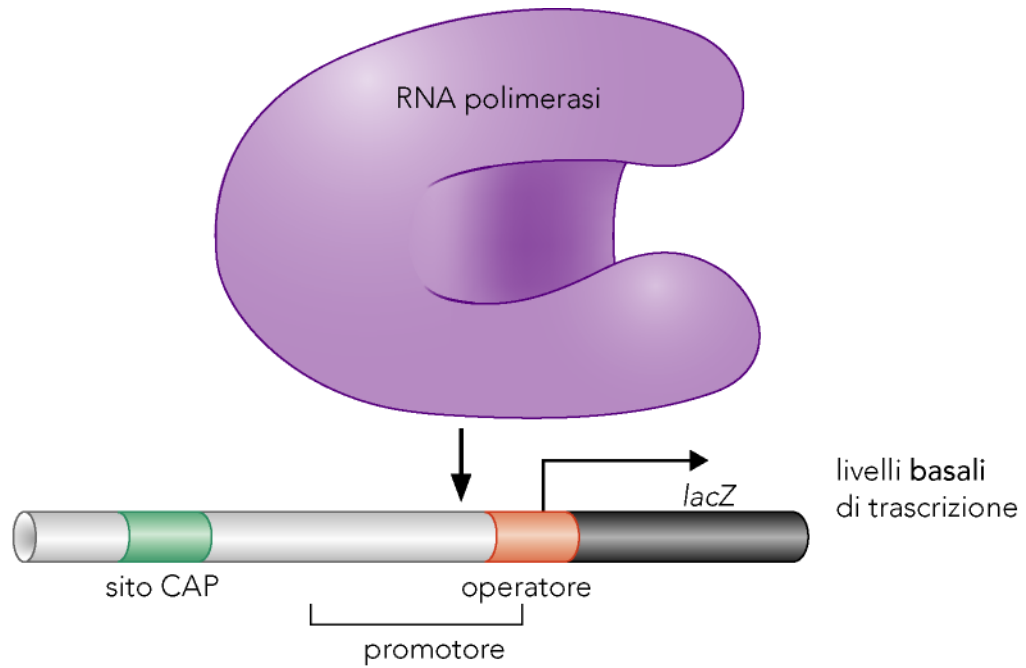
(b) Glucosio presente (cAMP scarso); lattosio presente

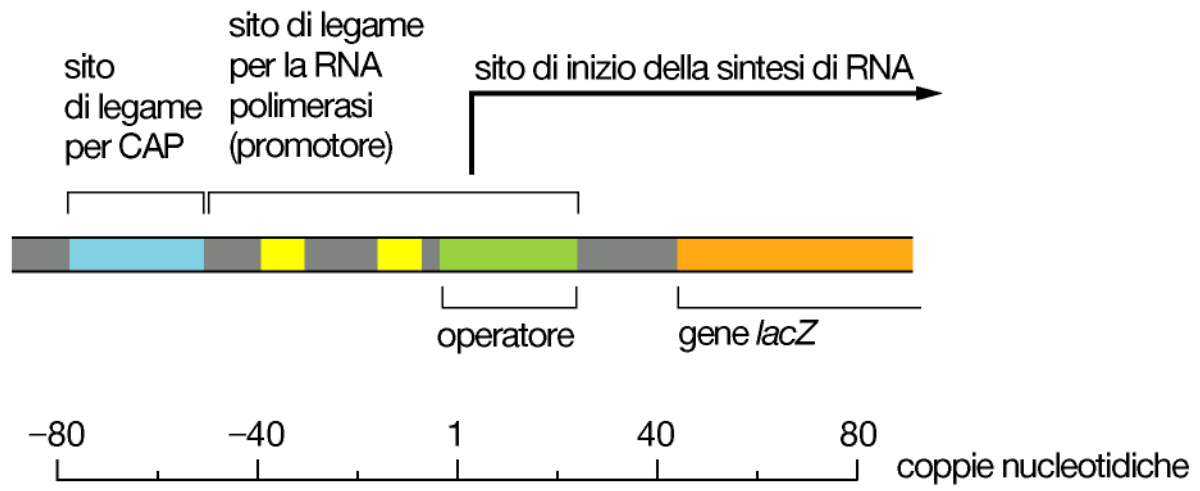


(c) Assenza di glucosio (cAMP abbondante); lattosio presente



glucosio	lattosio
+	+
+	-
-	+





GLUCOSIO +
LATTOSIO +

OPERONE SPENTO
perché CAP
non è legata

GLUCOSIO +
LATTOSIO -

repressore

OPERONE SPENTO
perché il repressore
di *lac* è legato
e CAP non è legata

CAP

repressore

GLUCOSIO -
LATTOSIO -

OPERONE SPENTO
perché porta legato
il repressore di *lac*

CAP

RNA polimerasi

GLUCOSIO -
LATTOSIO +

OPERONE ACCESO

RNA

Vie anaboliche e repressione da prodotto finale

La sintesi del triptofano

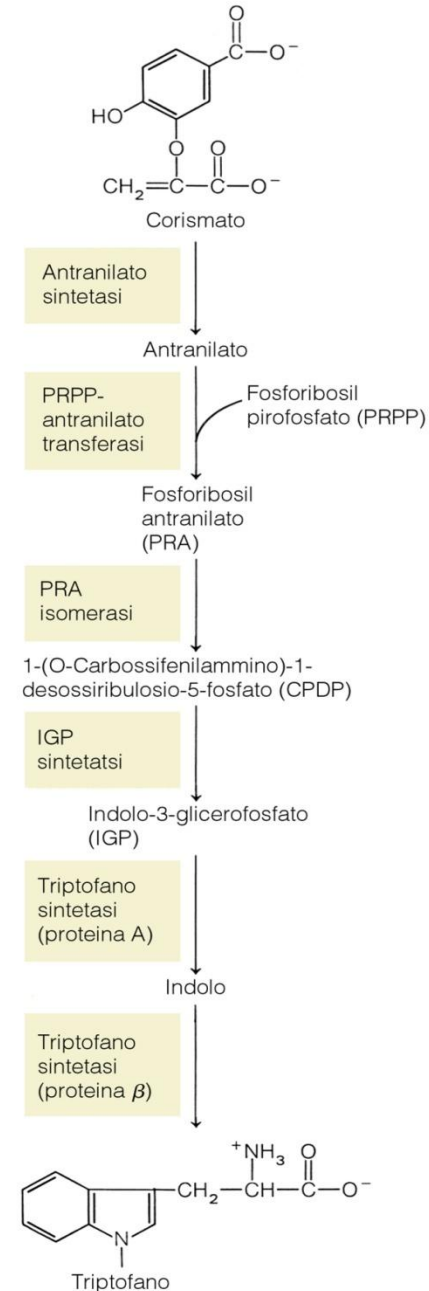
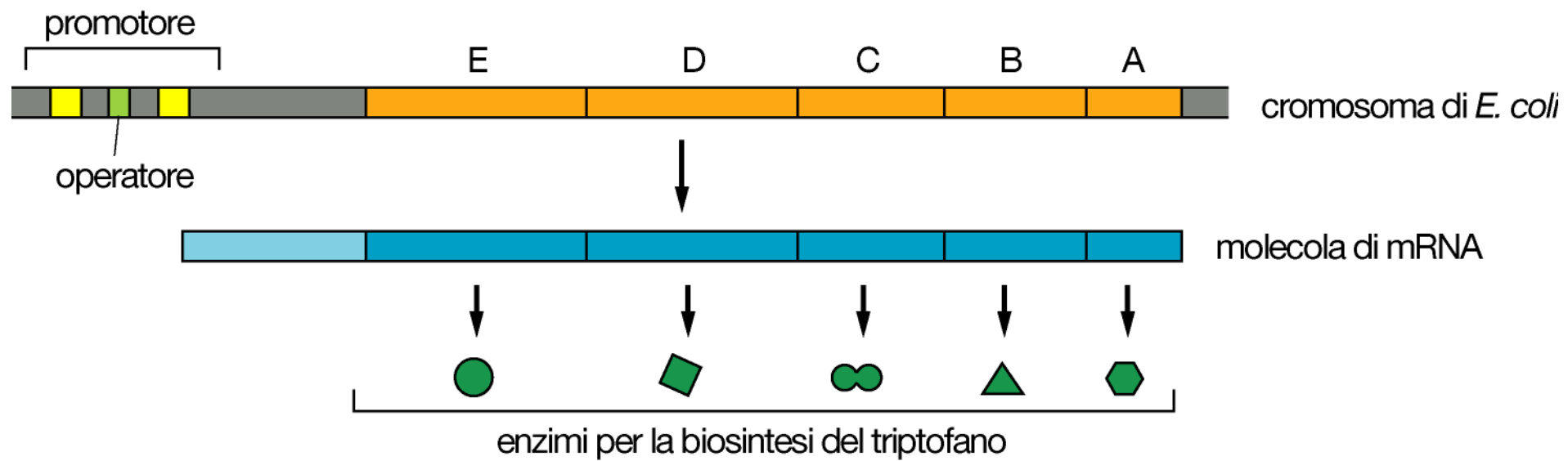
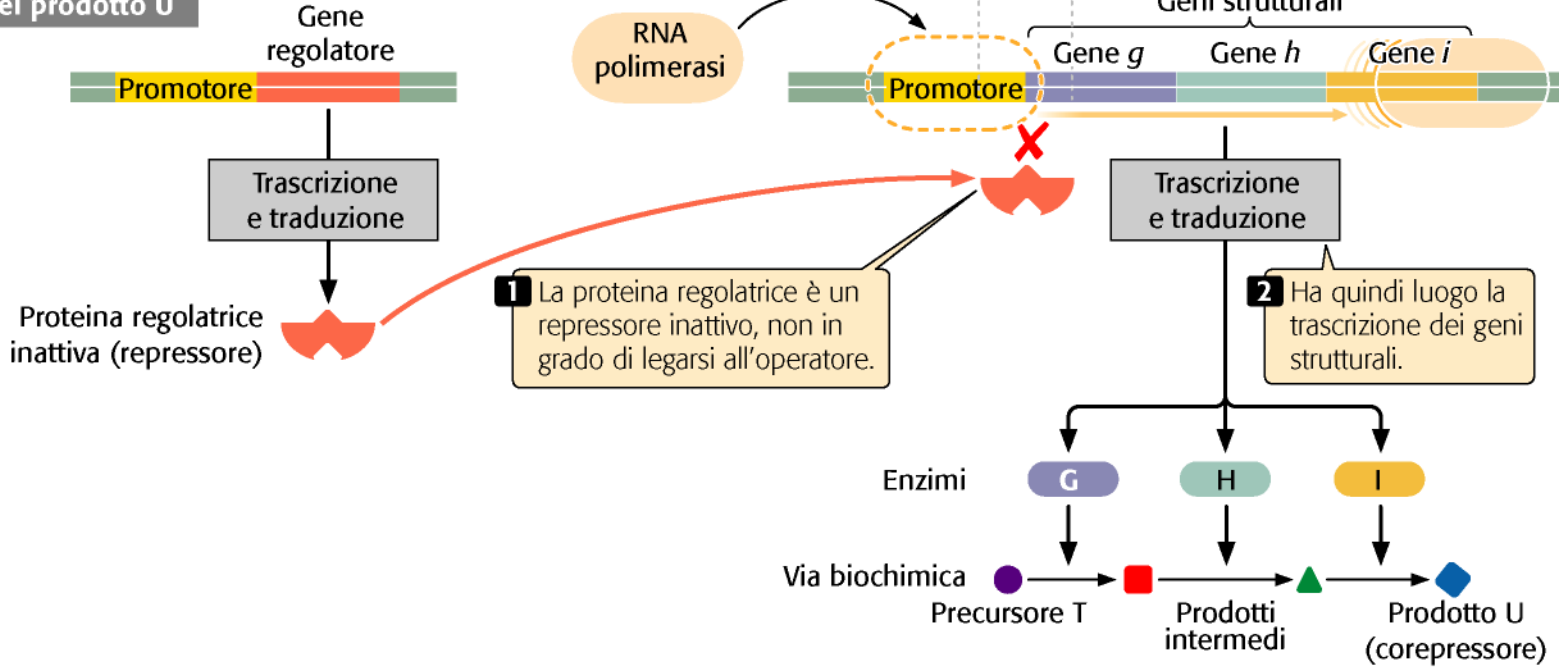


Figura 21-2

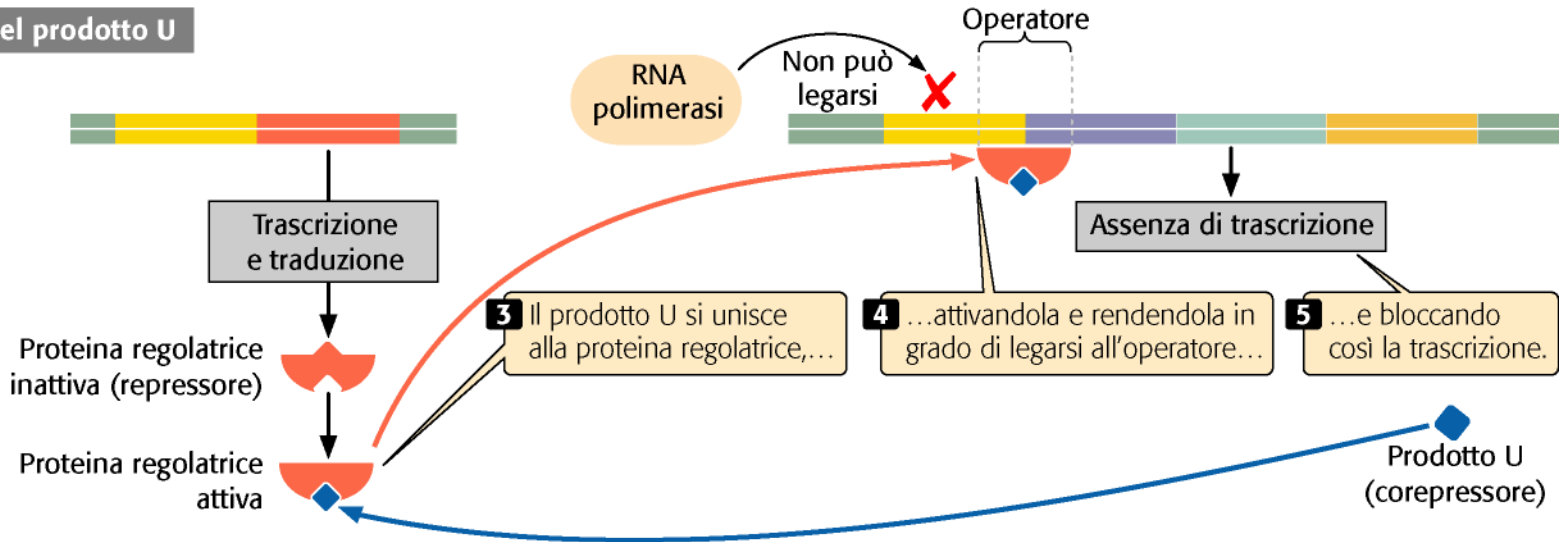


Operone reprimibile negativamente

(a) Assenza del prodotto U

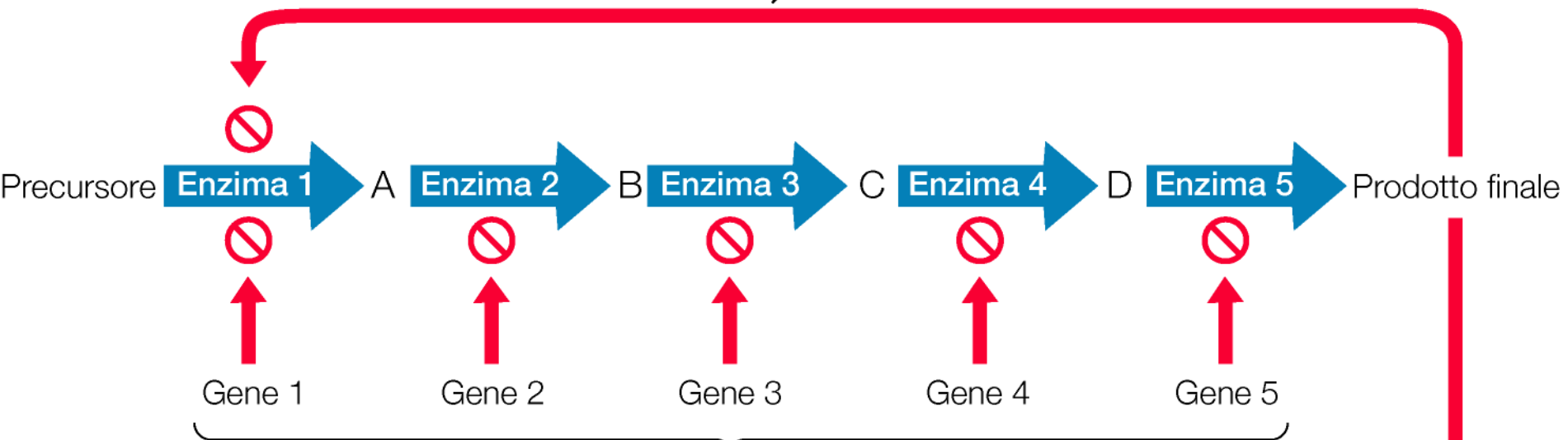


(b) Presenza del prodotto U



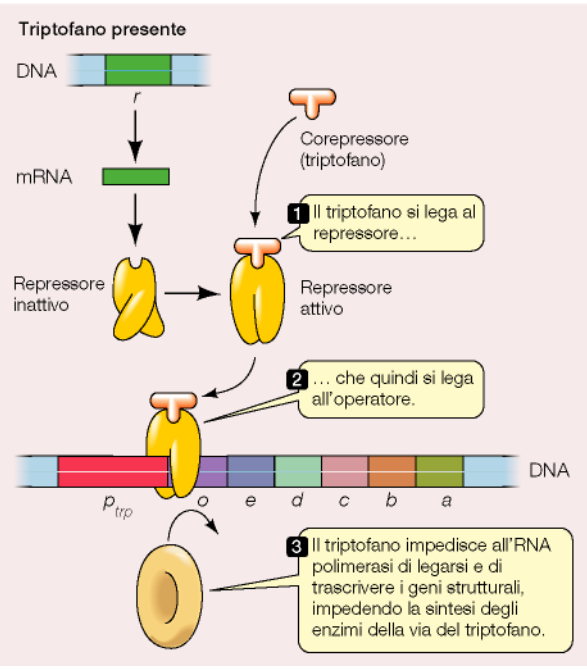
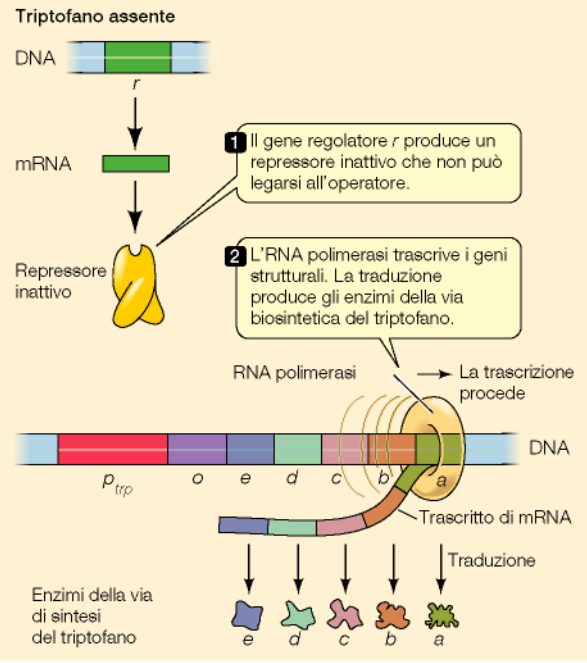
Regolazione dell'attività enzimatica

Il prodotto finale inibisce per retroazione l'attività del solo enzima 1, arrestando immediatamente l'intera via metabolica.



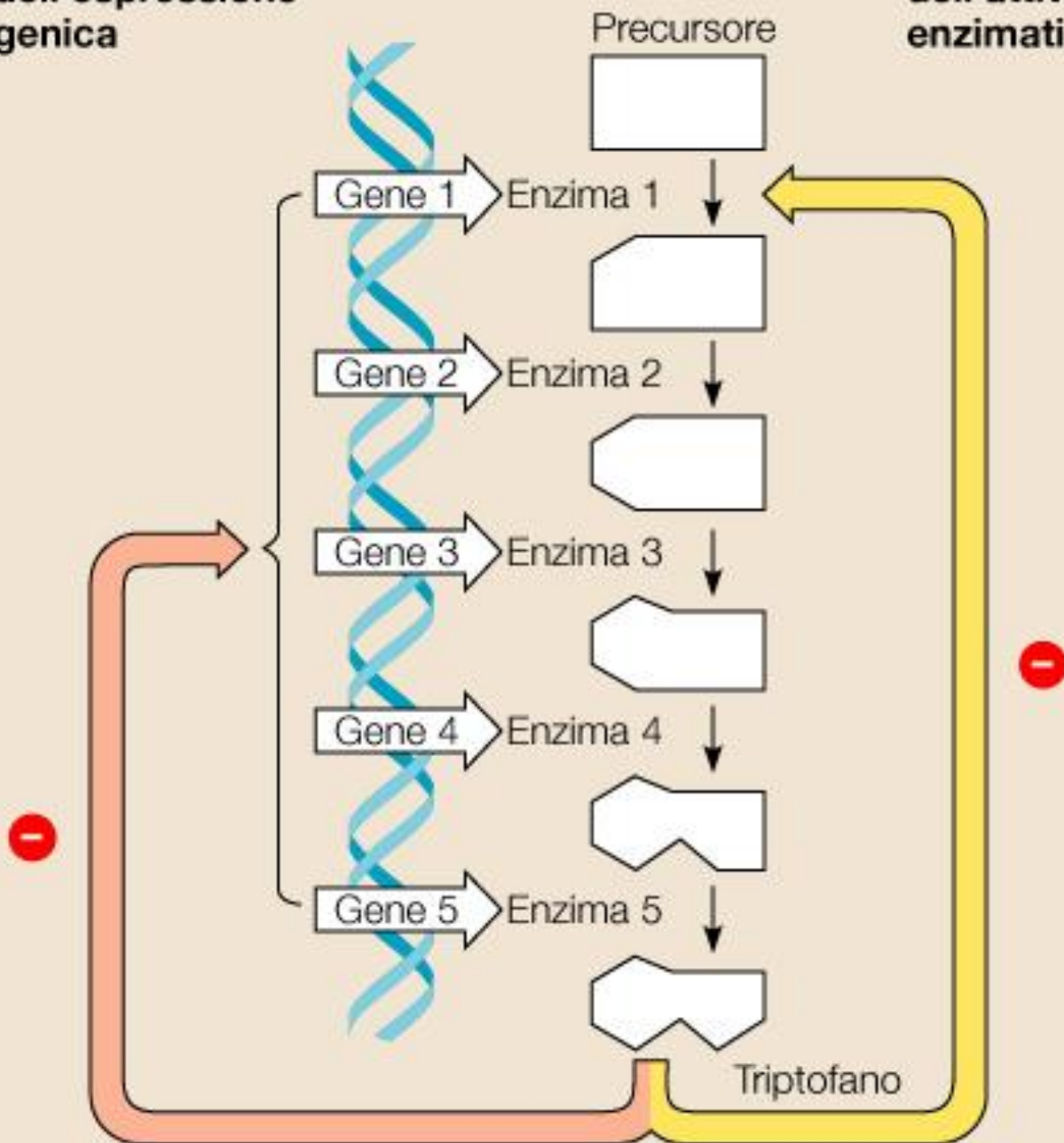
Regolazione della concentrazione enzimatica

Il prodotto finale blocca la trascrizione di tutti e cinque i geni. Si arresta la sintesi di tutti gli enzimi.

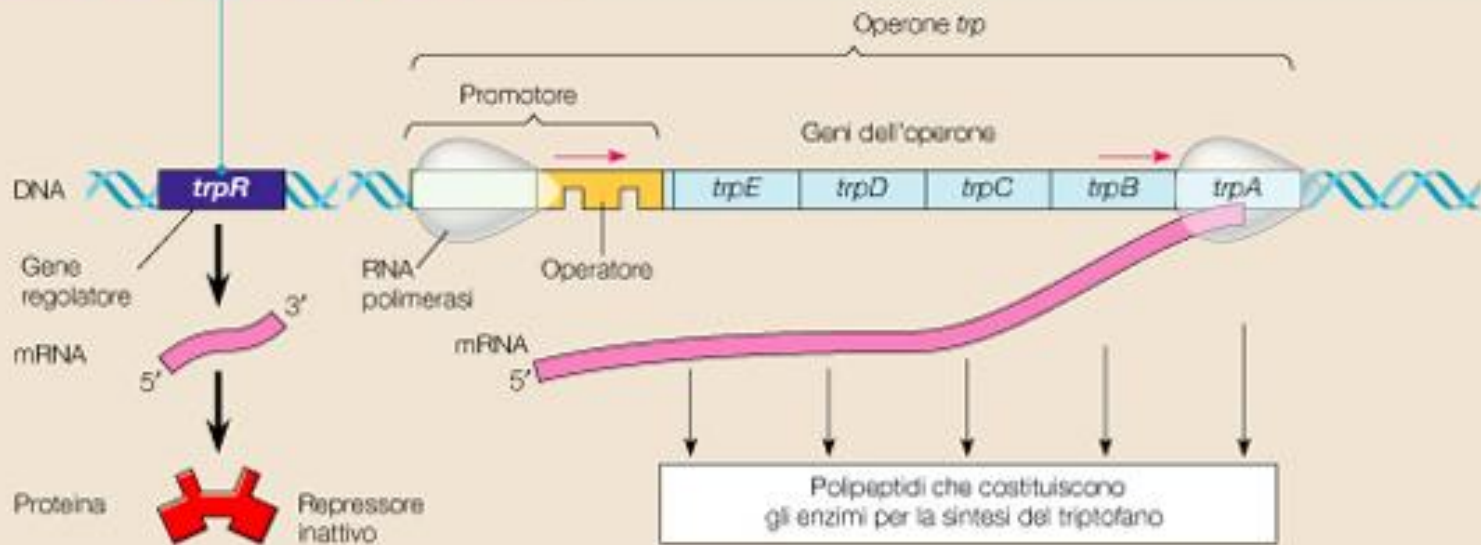


(a) Regolazione dell'espressione genica

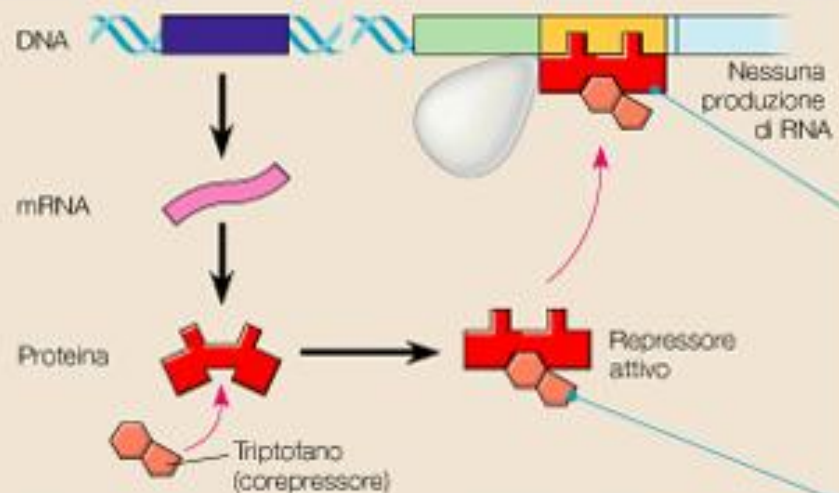
(b) Regolazione dell'attività enzimatica



Un gene regolatore è situato all'esterno dell'operone e codifica una proteina repressore inattiva. Questo gene possiede un proprio promotore e (non mostrato).



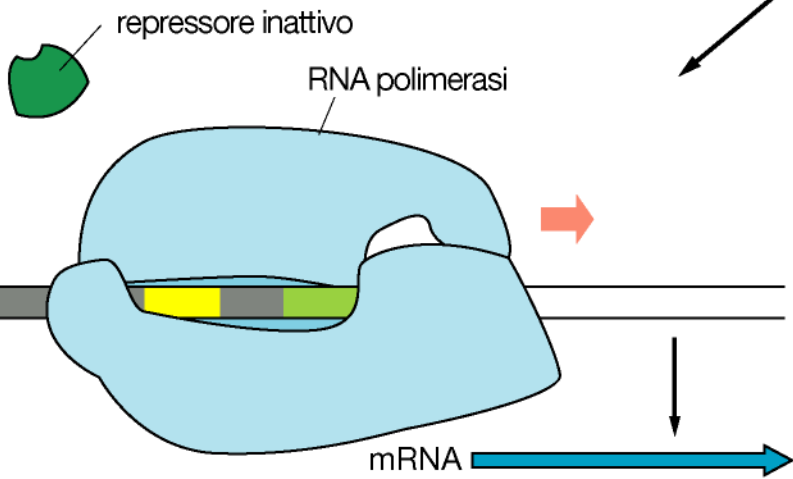
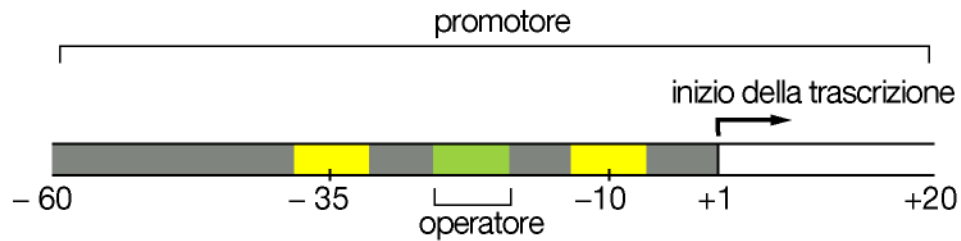
(a) Assenza di triptofano, repressore inattivo, operone acceso. L'RNA polimerasi si lega al DNA sul promotore e trascrive i geni dell'operone.



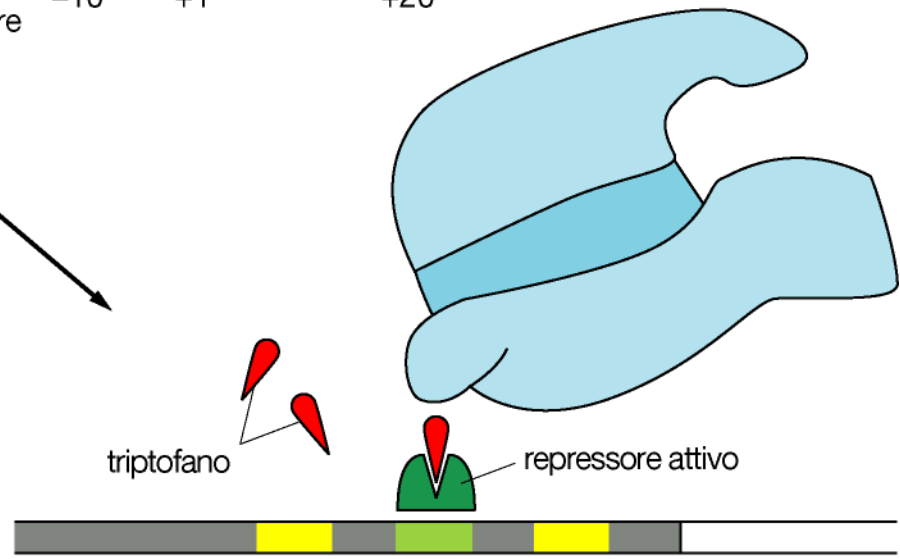
Il repressore spegne l'operone legandosi all'operator e bloccando l'accesso al promotore e della RNA polimerasi.

Il triptofano si lega ad un sito allosterico della proteina causando un cambiamento conformazionale che rende quest'ultima attiva.

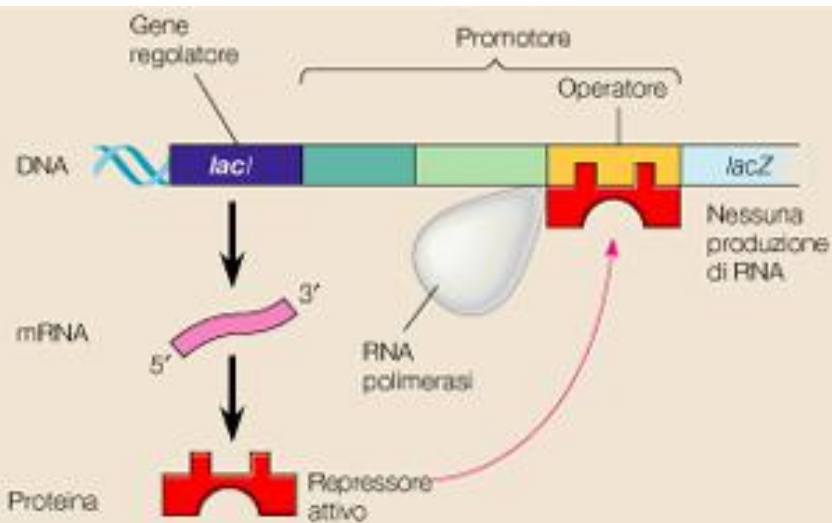
(b) Presenza del triptofano, repressore attivo, operone spento. Quando il triptofano si accumula, questo inibisce la propria produzione mediante l'attivazione della proteina repressore.



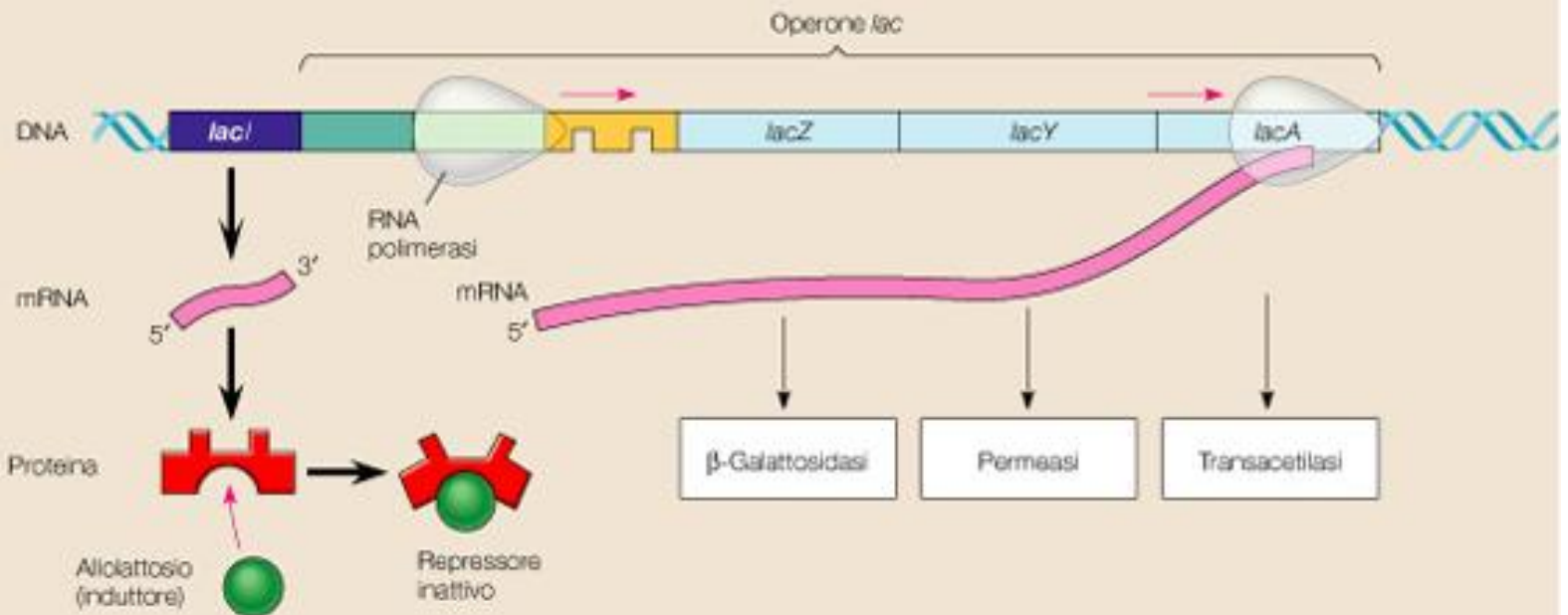
I GENI SONO ATTIVI



I GENI SONO INATTIVI



(a) Assenza di lattosio, repressore attivo, operone spento. Il repressore *lac* è intrinsecamente attivo e, in assenza di lattosio, spegne l'operone legandosi all'operatore.



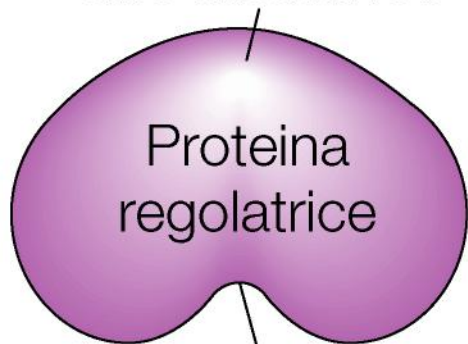
(b) Presenza di lattosio, repressore inattivo, operone acceso. L'allolattosio, un isomero del lattosio, dereprime l'operone inattivando il repressore. In questo modo, gli enzimi per il metabolismo del lattosio vengono indotti.

Effettore assente

Sito allosterico

Proteina regolatrice

Sito di legame al DNA



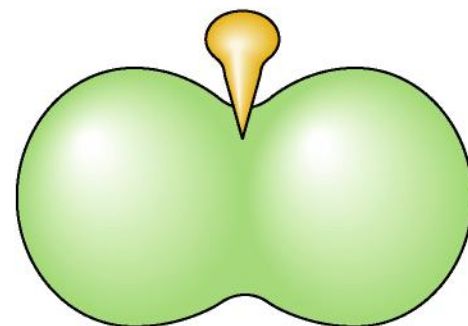
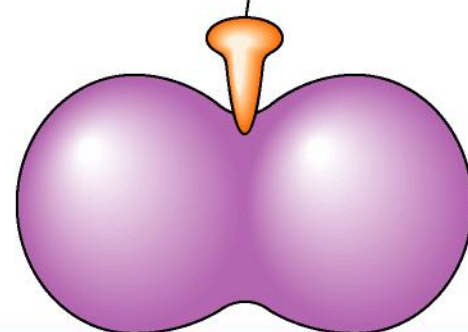
Operatore



Attivatore

Effettore presente

Effettore



Repressore

Genotipo	Assenza di induttore		Presenza di induttore	
	β -galattosidasi	Permeasi	β -galattosidasi	Permeasi
a. $I^+ P^+ O^+ Z^+ Y^+$				
b. $I^+ P^+ O^+ Z^- Y^+$				
c. $I^+ P^+ O^+ Z^+ Y^-$				
d. $I^- P^+ O^+ Z^+ Y^+$				
e. $I^s P^+ O^+ Z^+ Y^+$				
f. $I^+ P^+ O^c Z^+ Y^+$				
g. $I^s P^+ O^c Z^+ Y^+$				
h. $I^+ P^+ O^c Z^+ Y^-$				
j. $I^{-d} P^+ O^+ Z^+ Y^+$				
<u>j.</u> $I^- P^+ O^+ Z^+ Y^+$				
<u>j.</u> $I^+ P^+ O^+ Z^- Y^-$				
<u>k.</u> $I^- P^+ O^+ Z^+ Y^-$				
<u>k.</u> $I^+ P^+ O^+ Z^- Y^+$				

