

Negli organismi, sia **procarioti** che **eucarioti**, il **controllo dell'espressione genica** può avvenire a diversi livelli



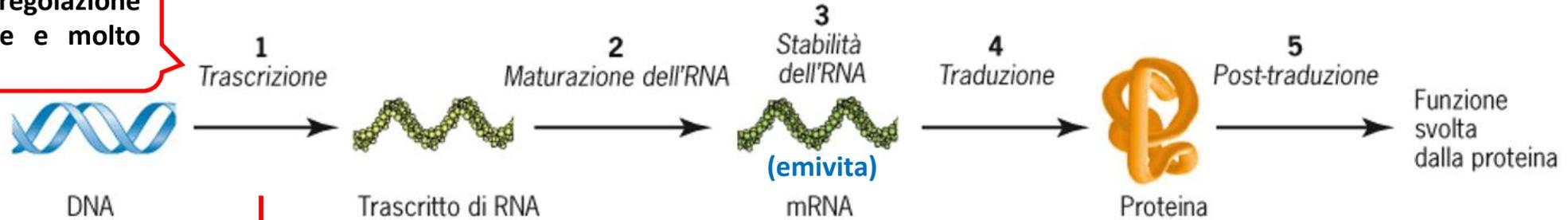
REGOLAZIONE ESPRESSIONE GENICA NEI PROCARIOTI

I microrganismi, malgrado la loro semplicità strutturale, sono in grado di regolare l'espressione genica in funzione delle **condizioni ambientali** rilevate da **sistemi sensoriali**.

attivazione/disattivazione specifici gruppi di geni

Livelli ai quali viene regolata, nei procarioti, l'espressione genica

livello di regolazione importante e molto comune



2 tipi di meccanismi regolativi a livello della trascrizione

Meccanismi regolativi basati su una **rapida attivazione/inattivazione dell'espressione genica** in risposta a cambiamenti ambientali

elevata plasticità metabolica

massima capacità riproduttiva

Meccanismi regolativi basati sull'**espressione sequenziale dei geni** (geneticamente programmata)

Il prodotto di un gene induce attivazione/inattivazione (a cascata) della trascrizione di altri geni

(es. espressione genica sequenziale correlata alle diverse fasi del ciclo litico virus)

EPRESSIONE GENICA

- Costitutiva
- Inducibile
- Reprimibile

GENI COSTITUTIVI (*housekeeping*)

↓
Geni i cui prodotti sono coinvolti nei **processi metabolici di mantenimento** (sintesi tRNA, rRNA, proteine ribosomali, enzimi essenziali, ...)

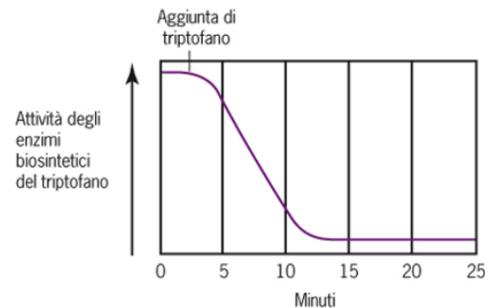
GENI INDUCIBILI

↓
Geni i cui prodotti sono necessari solo in particolari condizioni ambientali

GENI REPRESSI

↓
Geni i cui prodotti sono coinvolti **in vie biosintetiche** che portano alla sintesi di sostanze che potrebbero essere già disponibili nell'ambiente.

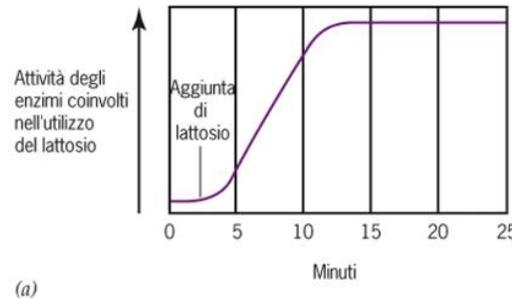
Repressione della sintesi enzimatica



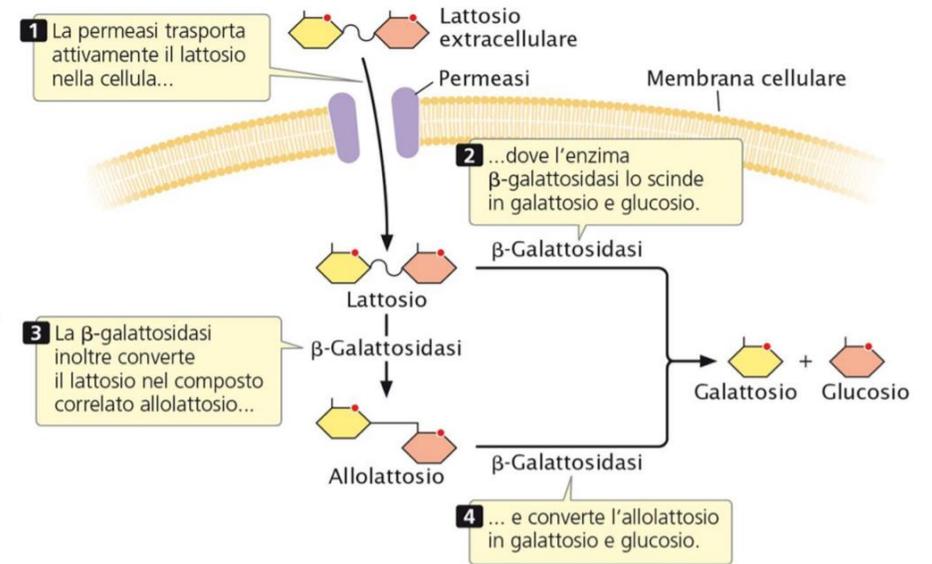
In presenza di **triptofano** nell'ambiente, *E. coli* blocca l'espressione dei geni coinvolti nella sintesi degli enzimi necessari alla formazione dell'amminoacido. In assenza di Trp nell'ambiente si ha derepressione dei geni.

La **repressione (inattivazione)** avviene a **livello della trascrizione**.
Tipo di regolazione frequente nelle **vie biosintetiche** (anaboliche).

Induzione della sintesi enzimatica



(a)



In assenza di glucosio, *E. coli* è potenzialmente in grado di utilizzare, come fonte di energia e di C, diversi carboidrati (**lattosio**, saccarosio, galattosio, ...).

Per ottimizzare i consumi di energia, i geni, i cui prodotti sono coinvolti nella degradazione del lattosio, sono espressi solo in sua presenza.

L'**induzione (attivazione)** avviene a **livello della trascrizione**.
Tipo di regolazione frequente nelle **vie degradative**.

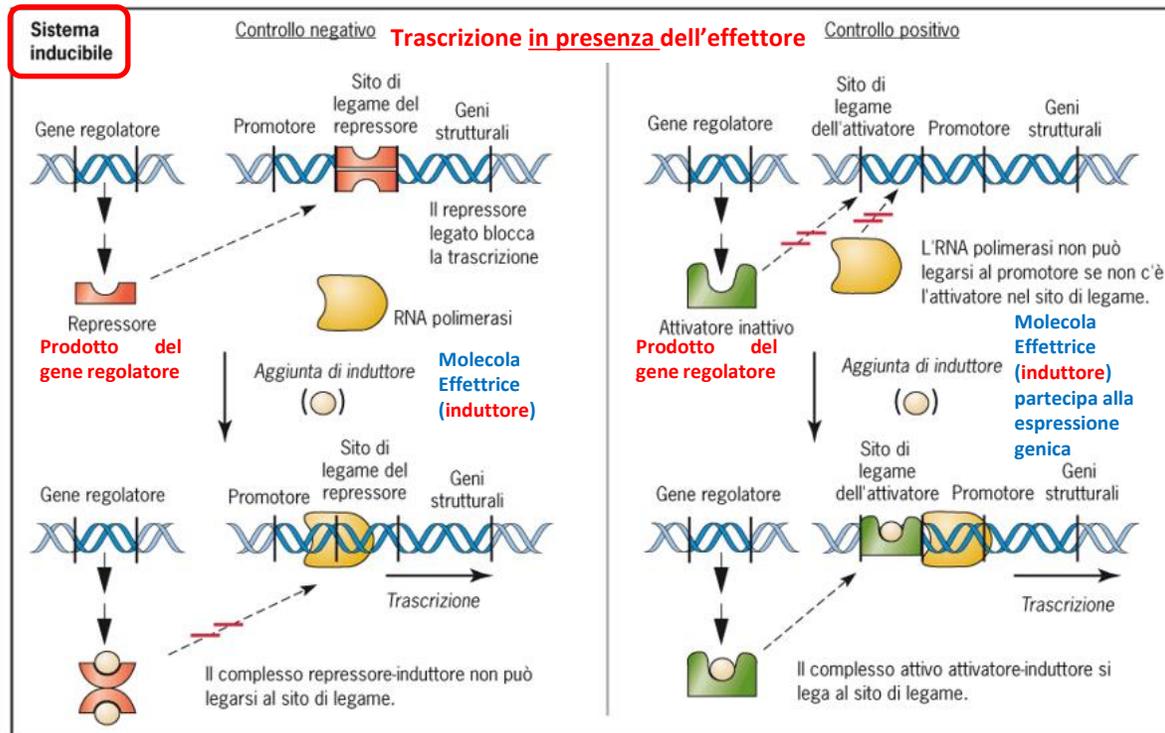
Regolazione positiva/negativa dell'espressione genica

Il prodotto di geni regolatori può attivare o bloccare l'espressione di ai altri geni.

Nei **MECCANISMI DI CONTROLLO POSITIVI**

il prodotto del gene regolatore (attivatore)

↓ quando si lega al sito di legame della proteina regolativa (RPBS), adiacente al promotore del gene strutturale, **attiva** l'espressione.

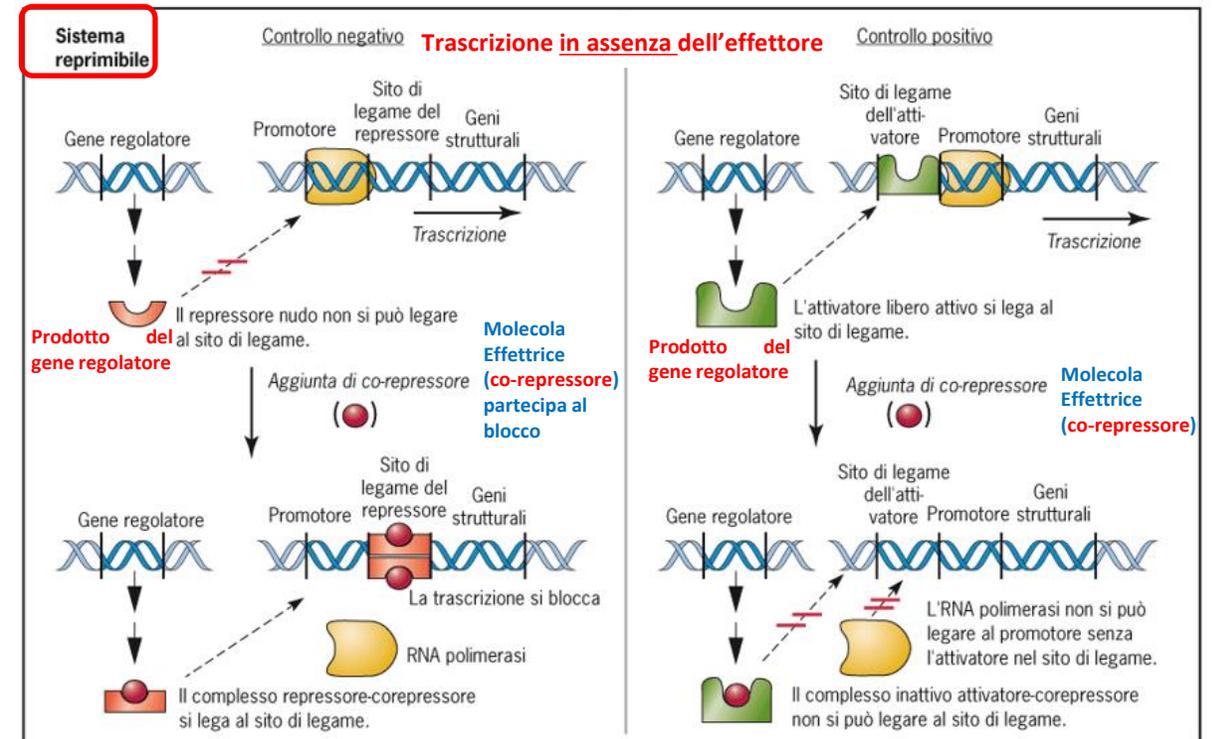


L'induzione (attivazione) e la repressione (inattivazione) sottostanno a meccanismi di controllo positivi o negativi mediati dai prodotti di geni regolatori.

Nei **MECCANISMI DI CONTROLLO NEGATIVI**

il prodotto del gene regolatore (repressore)

↓ Quando si lega al RPBS **reprime** l'espressione del gene strutturale.



Il legame della **proteina regolativa (attivatore o repressore)** al RPBS dipende dalla presenza/assenza di **molecole effettrici (induttori o co-repressori)**

Gli effettori inducono **cambiamenti strutturali (transizioni allosteriche)** negli attivatori o nei repressori prodotti dai geni regolatori.

Regolazione positiva/negativa dell'espressione genica

Il prodotto di geni regolatori può attivare o bloccare l'espressione di ai altri geni.

Nei **MECCANISMI DI CONTROLLO POSITIVI**

il prodotto del gene regolatore (attivatore)

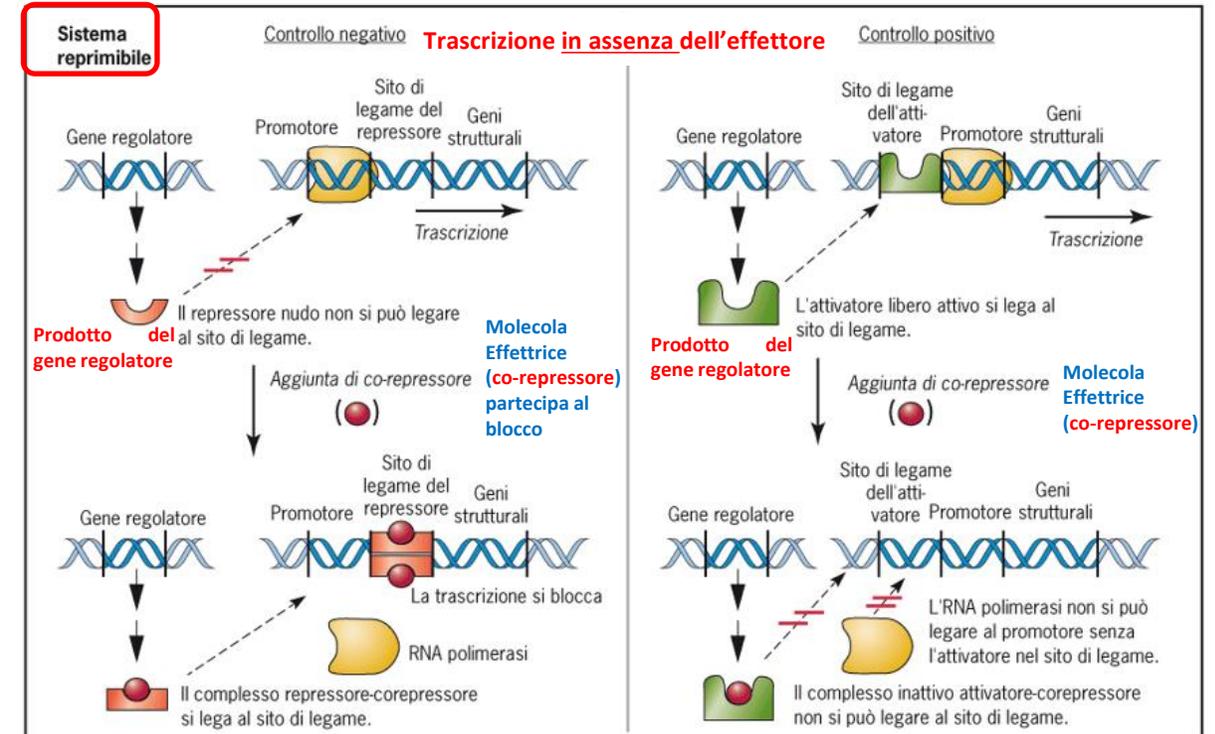
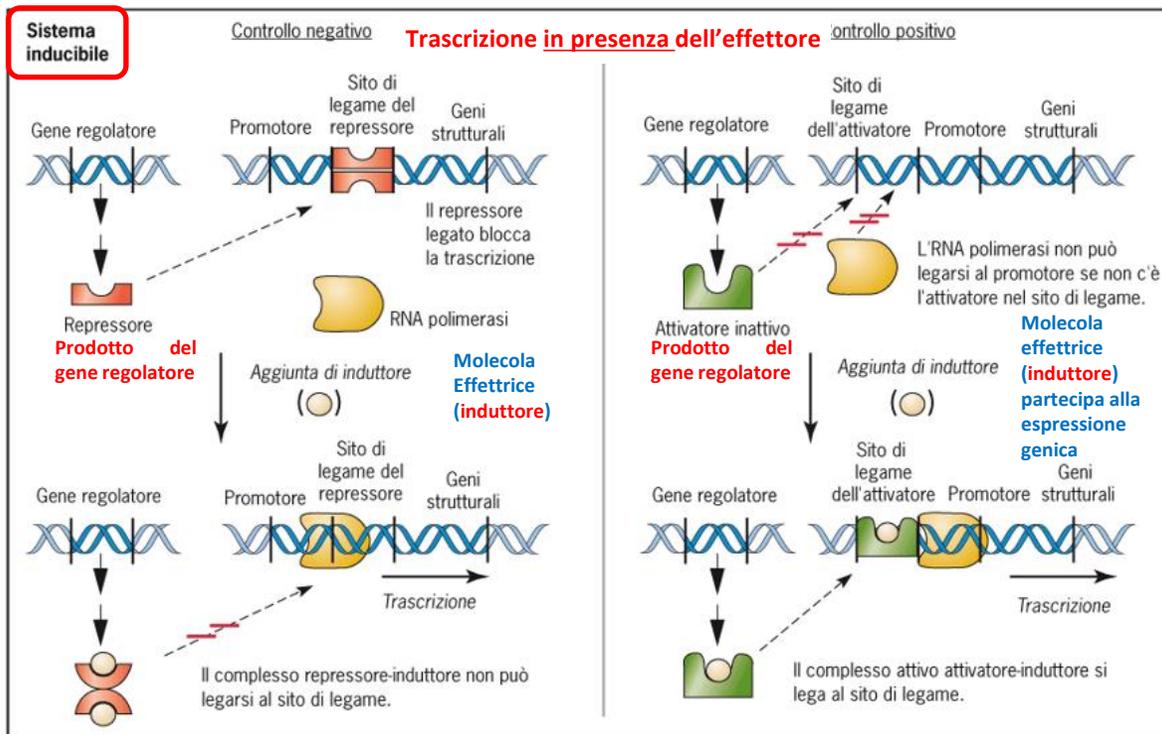
↓ quando si lega al sito di legame della proteina regolativa (RPBS), adiacente al promotore del gene strutturale, **attiva** l'espressione.

L'induzione (attivazione) e la repressione (inattivazione) sottostanno a **meccanismi di controllo positivi o negativi** mediati dai **prodotti di geni regolatori**.

Nei **MECCANISMI DI CONTROLLO NEGATIVI**

il prodotto del gene regolatore (repressore)

↓ Quando si lega al **RPBS** **reprime** l'espressione del gene strutturale.



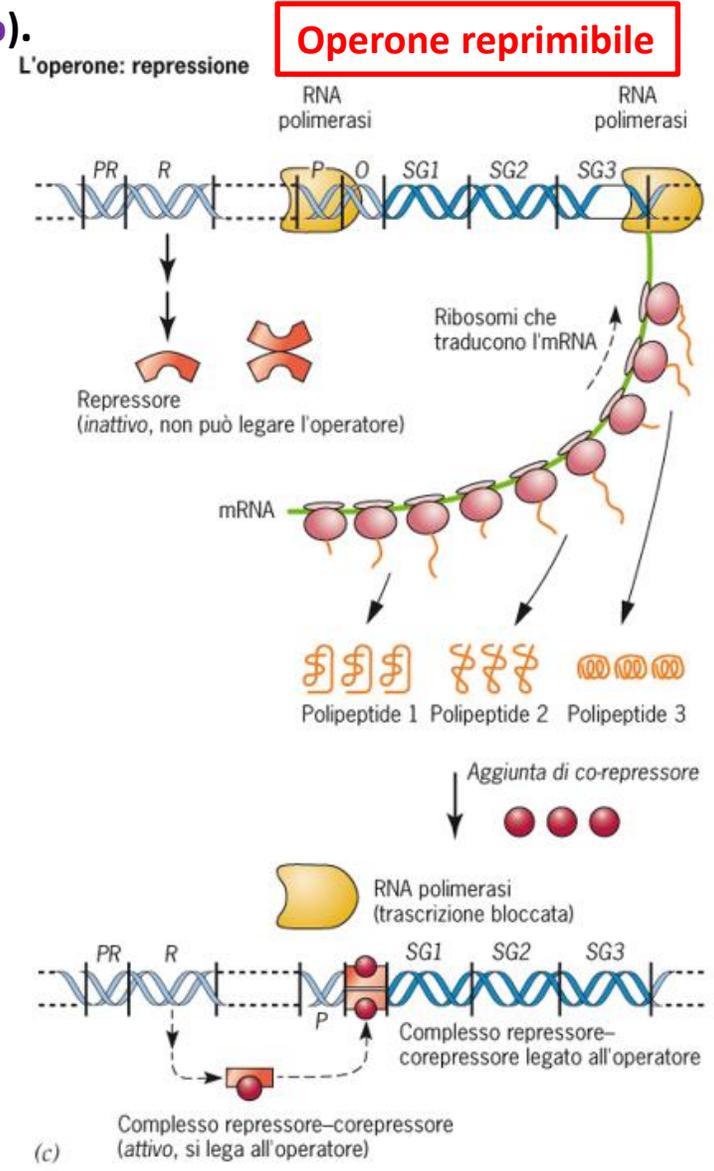
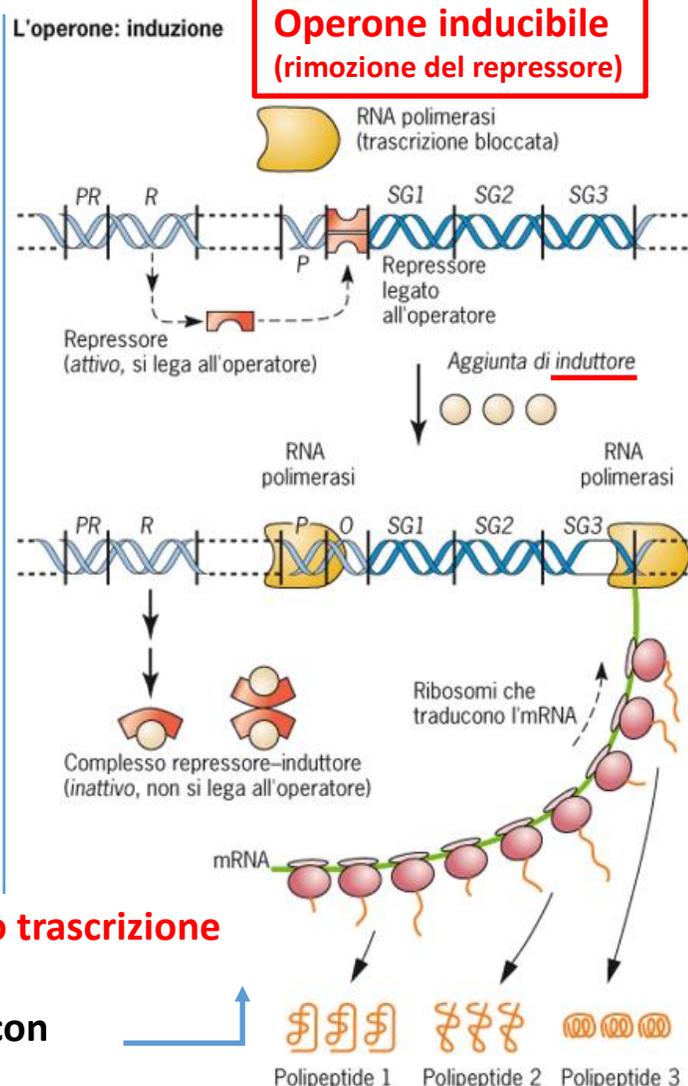
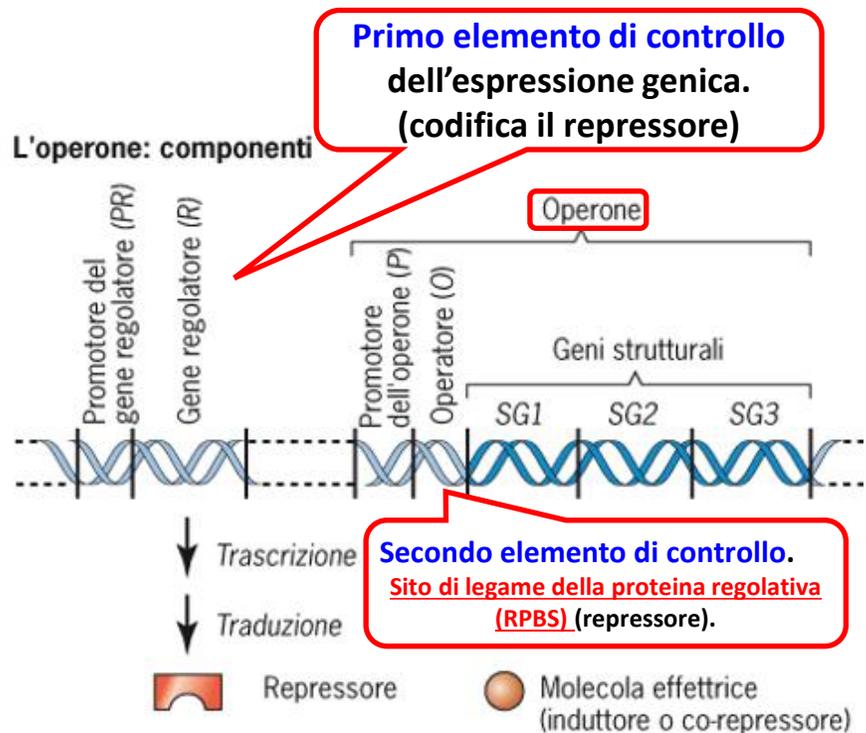
Il legame della **proteina regolativa (attivatore o repressore)** al **RPBS** dipende dalla presenza/assenza di **molecole effettrici (induttori o co-repressori)**

Gli effettori inducono **cambiamenti strutturali (transizioni allosteriche)** negli attivatori o nei repressori prodotti dai geni regolatori.

OPERONE

Regioni del DNA contenente più geni con funzioni correlate e regolati in modo coordinato.

Operone ← promotore + operatore + geni strutturali con funzioni correlate (mRNA multigenico).



Gli mRNA codificati da un operone sono di tipo **multigenico** (geni co-trascritti)

Repressore legato all'operatore → blocco trascrizione

Operone Lac → esempio di **operone inducibile** con **controllo negativo**.

Operone reprimibile con controllo negativo.

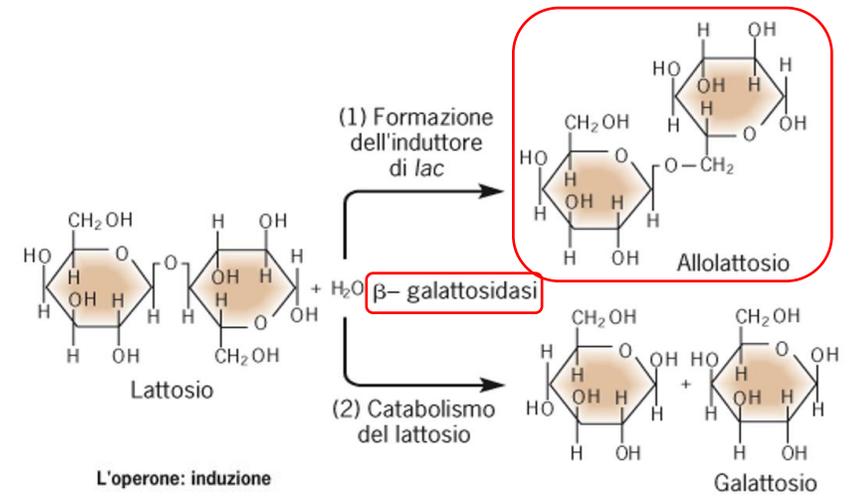
OPERONE *Lac* → OPERONE INDUCIBILE (controllato negativamente)

Modello proposto da Jacob e Monod (1961) → ipotizzava un solo operatore (O_1).

1 promotore + 3 operatori (O_1, O_2, O_3) + e 3 geni strutturali (*lacZ, lacY, lacA*).

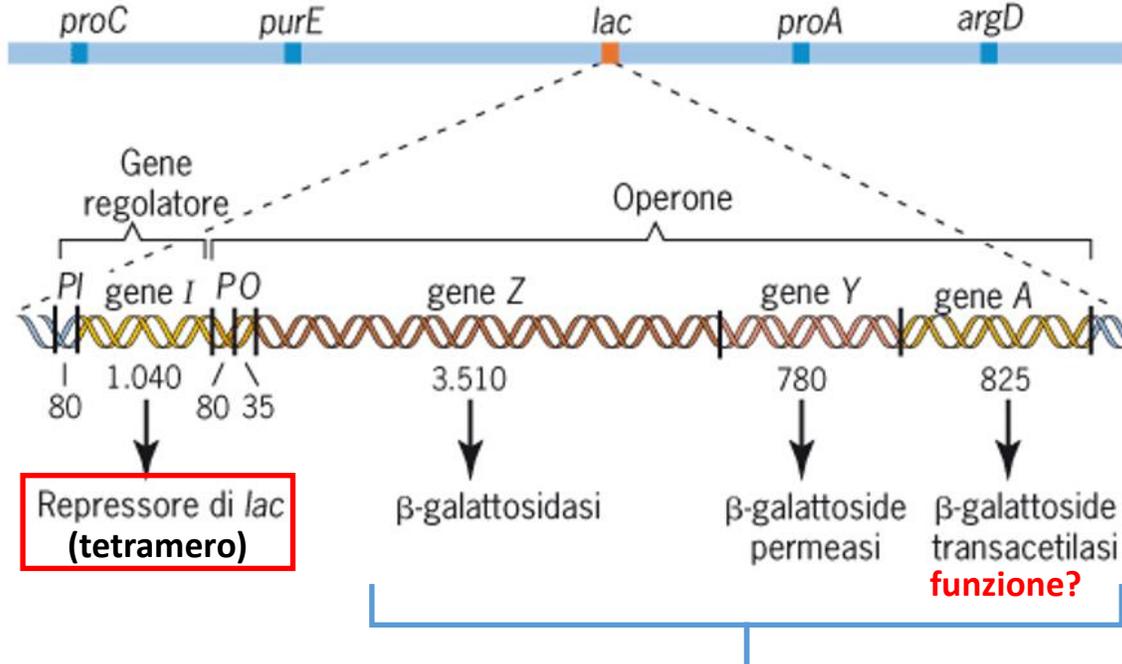
Repressione efficiente operone *lac* → necessario operatore principale (O_1) ed almeno uno dei due operatori secondari (O_2 o O_3).

Repressione completa → richiesti tutti e 3 gli operatori.

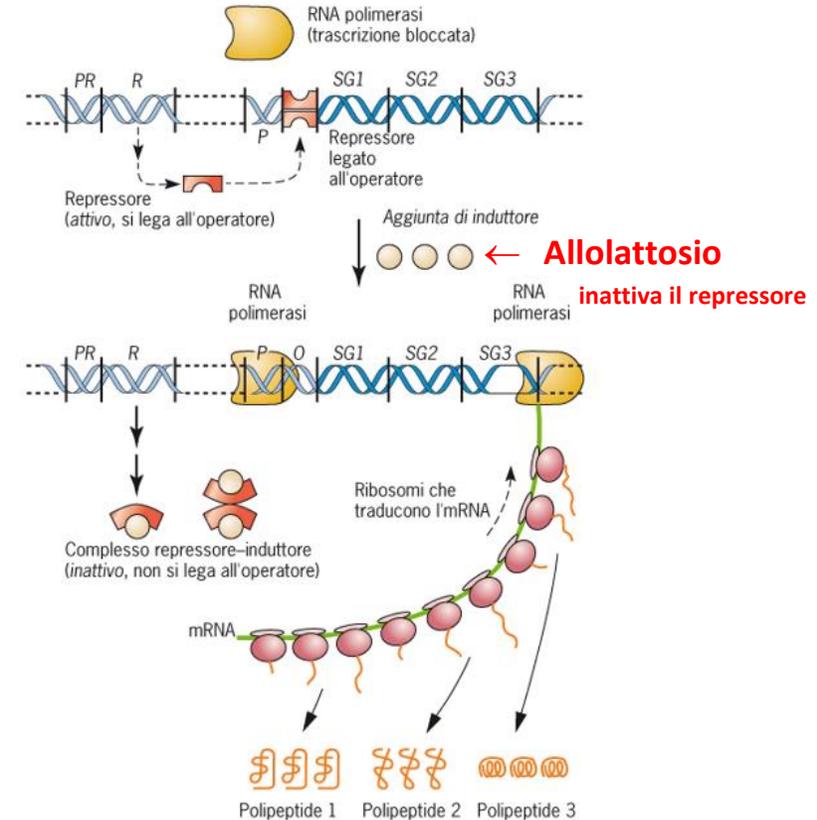


L'operone: induzione

Cromosoma di *E. coli*



RNA multigenico
La trascrizione dei 3 geni strutturali è regolata da un unico meccanismo comune (controllo coordinato).



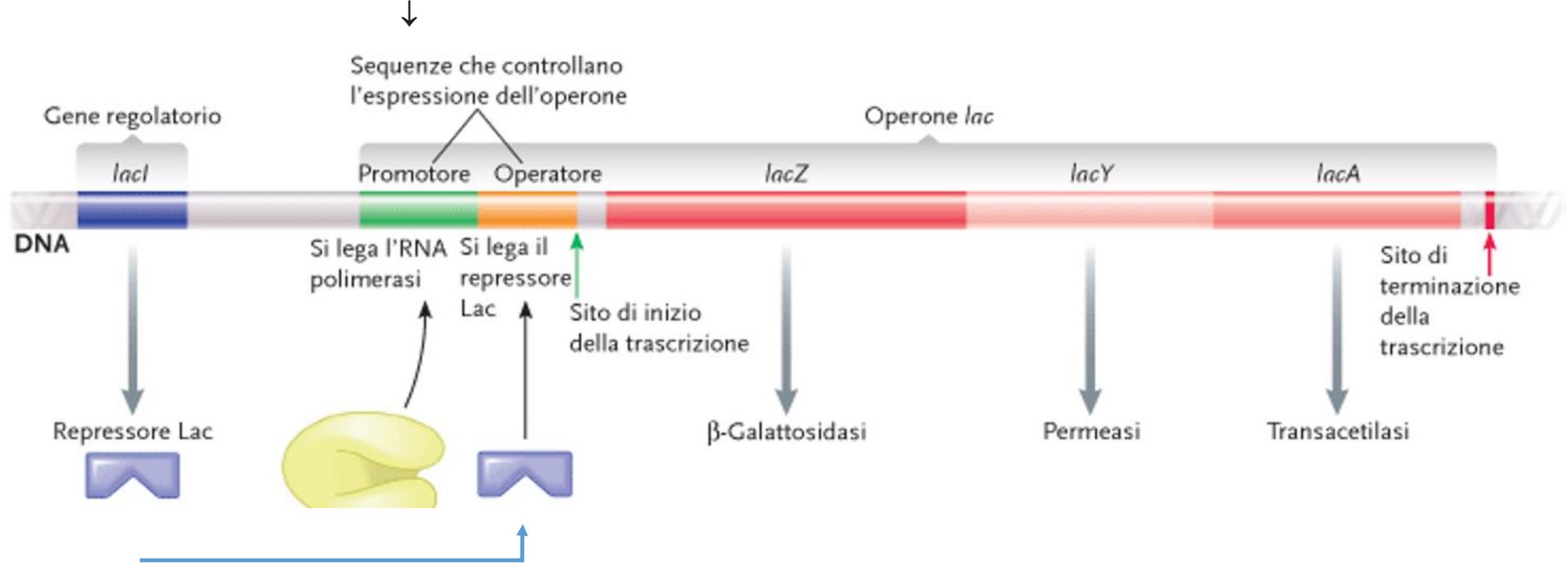
Espressi ad alti livelli solo in presenza di lattosio.

In assenza di lattosio vengono sintetizzate solo poche molecole (serve una **bassa attività β-galattosidasica** per generare molecole di **allolattosio**, c fungono da effettori allosterici → **induttore dell'operone**).

Regolazione OPERONE *Lac* → operone inducibile

Promotore

Regione del DNA costituita da specifiche sequenze (consenso), alla quale si lega la RNA polimerasi per avviare la trascrizione di uno o più geni.

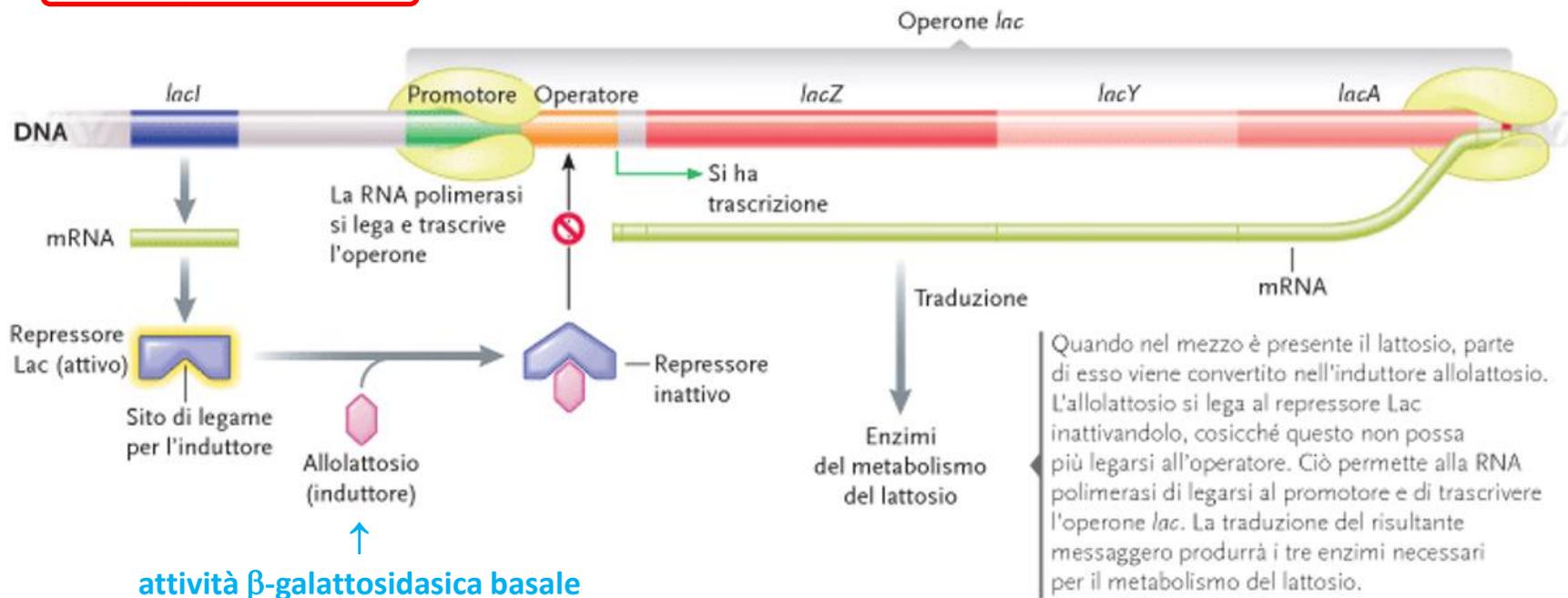


a. Il lattosio è assente nel mezzo



← Il repressore è sintetizzato in forma attiva

b. Il lattosio è presente nel mezzo



attività β -galattosidasica basale

Oltre all'induzione, esiste un altro sistema di regolazione dell'operone *lac*:

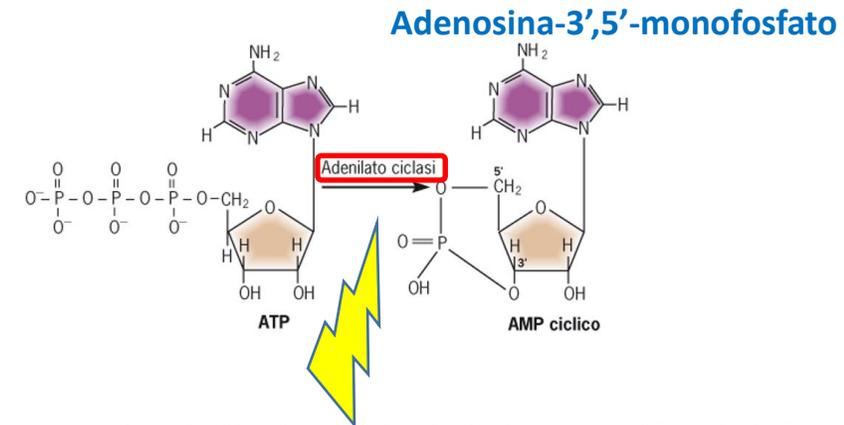
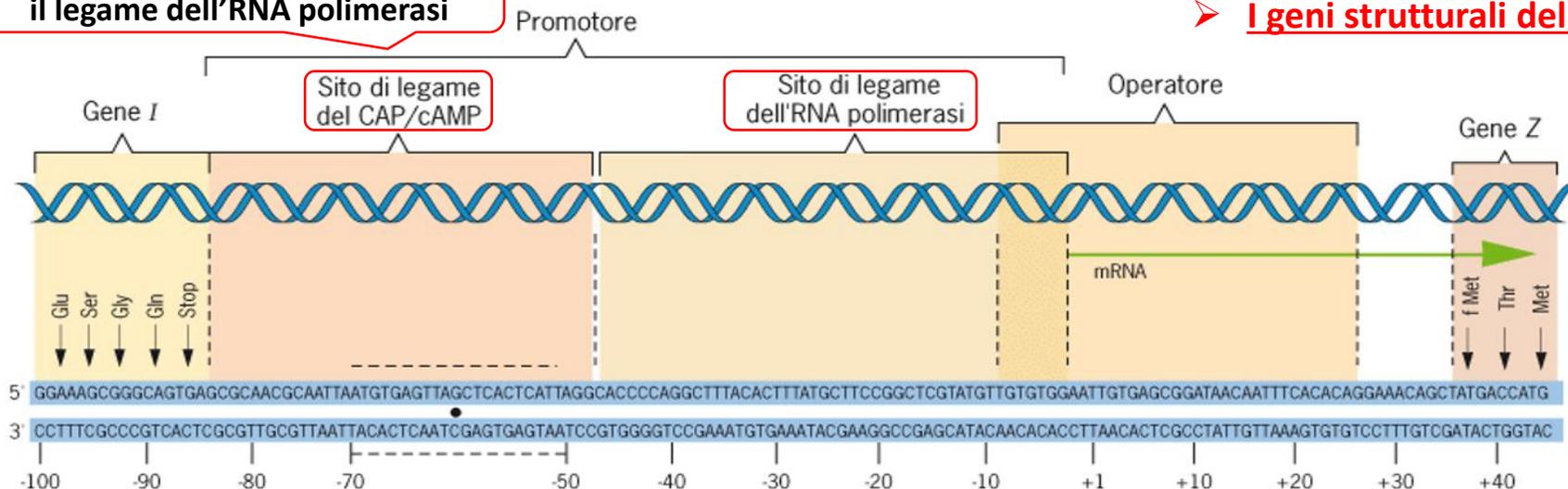
REPRESSIONE DA CATABOLITA (o effetto glucosio)

In presenza di diversi carboidrati (lac, ara, gal, ...), il **GLUCOSIO** viene utilizzato in maniera preferenziale, grazie alla presenza della **proteina CAP (proteina di attivazione del catabolita)** ed alla **bassa** concentrazione della molecola effettrice **cAMP (adenosina-3',5'-monofosfato)**.

Il promotore dell'operone *lac* possiede due siti di legame uno per il **complesso CAP-cAMP** ed uno l'**RNA-polimerasi**.

A basse [glucosio] il **complesso CAP-cAMP** legandosi al promotore esercita un **controllo positivo** sulla trascrizione dell'operone *lac*. **cAMP** funge da **effettore**, dal momento che CAP da sola non si lega al promotore.

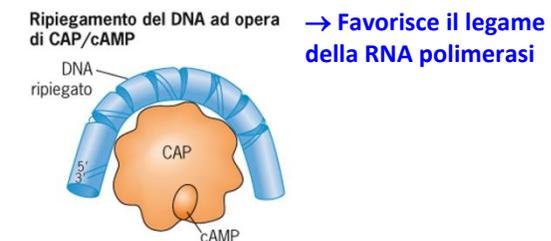
Il **complesso CAP-cAMP** consente il legame dell'**RNA polimerasi**



Elevate concentrazioni di glucosio inibiscono l'attività dell'**adenilato ciclasi**, enzima che trasforma ATP in cAMP.

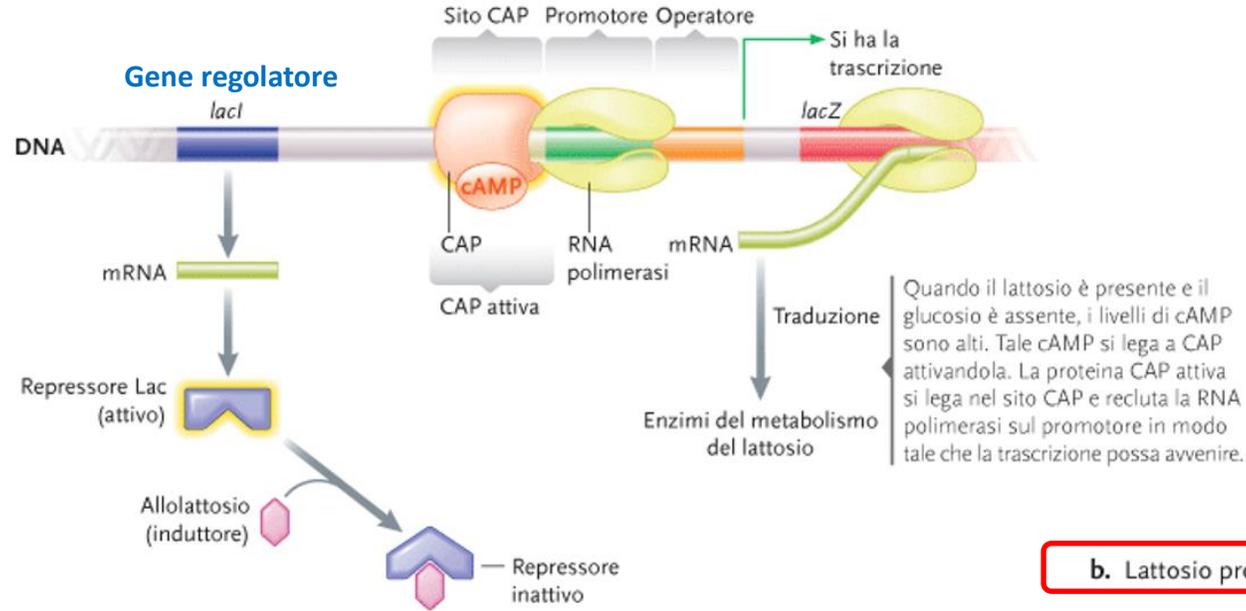
Basse concentrazioni di cAMP (effettore)

- **CAP non si lega al promotore dell'operone *lac* (non si forma il complesso CAP-cAMP)**
- **RNA polimerasi non si lega efficientemente al promotore**
- **I geni strutturali dell'operone *lac* non vengono trascritti!**



In presenza di glucosio la trascrizione dell'operone *lac* viene mantenuta a livelli molto bassi (<2%).

a. Lattosio presente; glucosio basso o assente

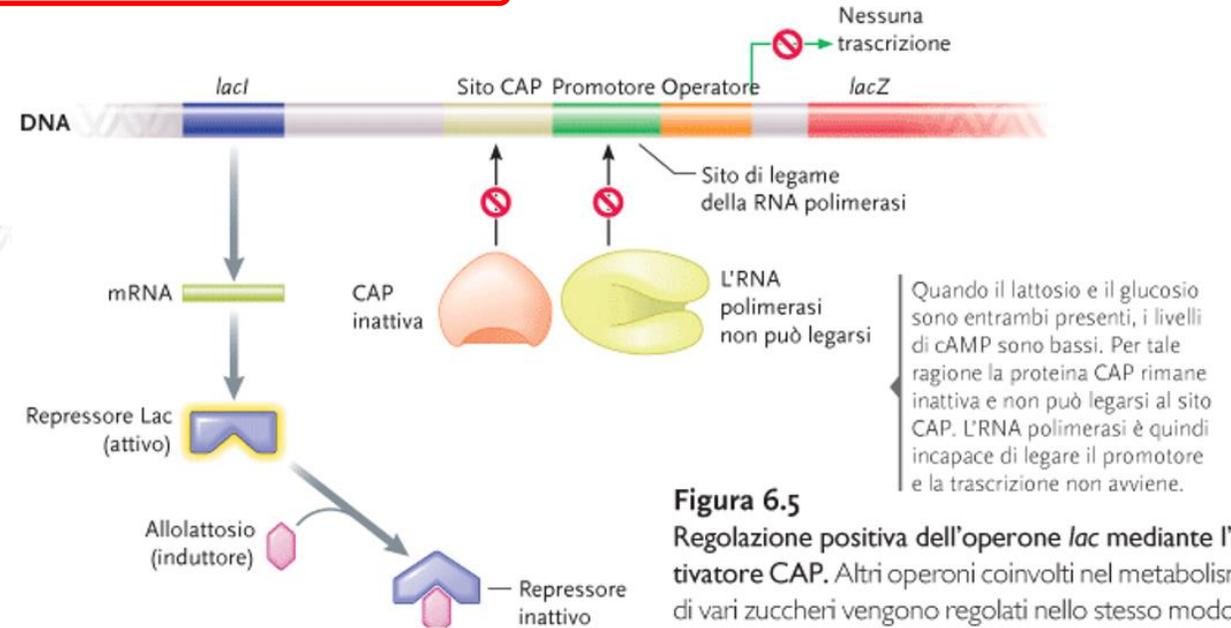


Regolazione positiva dell'operone mediante l'attivatore CAP

← Assenza glucosio

Presenza glucosio ↓

b. Lattosio presente; glucosio presente



a. Il lattosio è assente nel mezzo

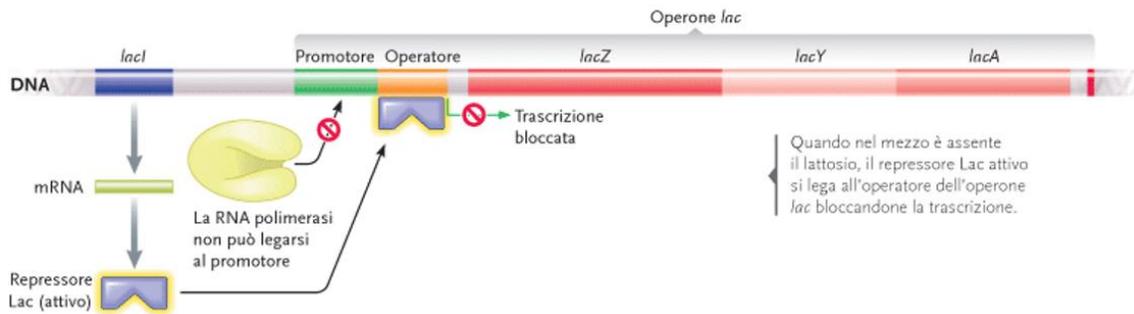


Figura 6.5
Regolazione positiva dell'operone *lac* mediante l'attivatore CAP. Altri operoni coinvolti nel metabolismo di vari zuccheri vengono regolati nello stesso modo.

REGOLAZIONE OPERONE DEL TRIPTOFANO (operone reprimibile negativo)

I 5 geni strutturali (*trpA*, *trpB*, *trpC*, *trpD*, *trpE*) dell'operone *trp* sono trascritti solo quando l'aminoacido è assente o presente in basse concentrazioni nell'ambiente.

Anche le **vie biosintetiche** di molecole essenziali sottostanno a fini sistemi di regolazione.



2 meccanismi di regolazione dell'operone *trp*

- **Repressione dell'inizio della trascrizione** (controllo della trascrizione);
- **Attenuazione della trascrizione** (terminazione prematura del trascritto).

REPRESSIONE DELL'INIZIO DELLA TRASCRIZIONE



In *E. coli* il repressore di *trp* è **codificato dal gene *trpR*** (localizzato a distanza dall'operone *trp*).

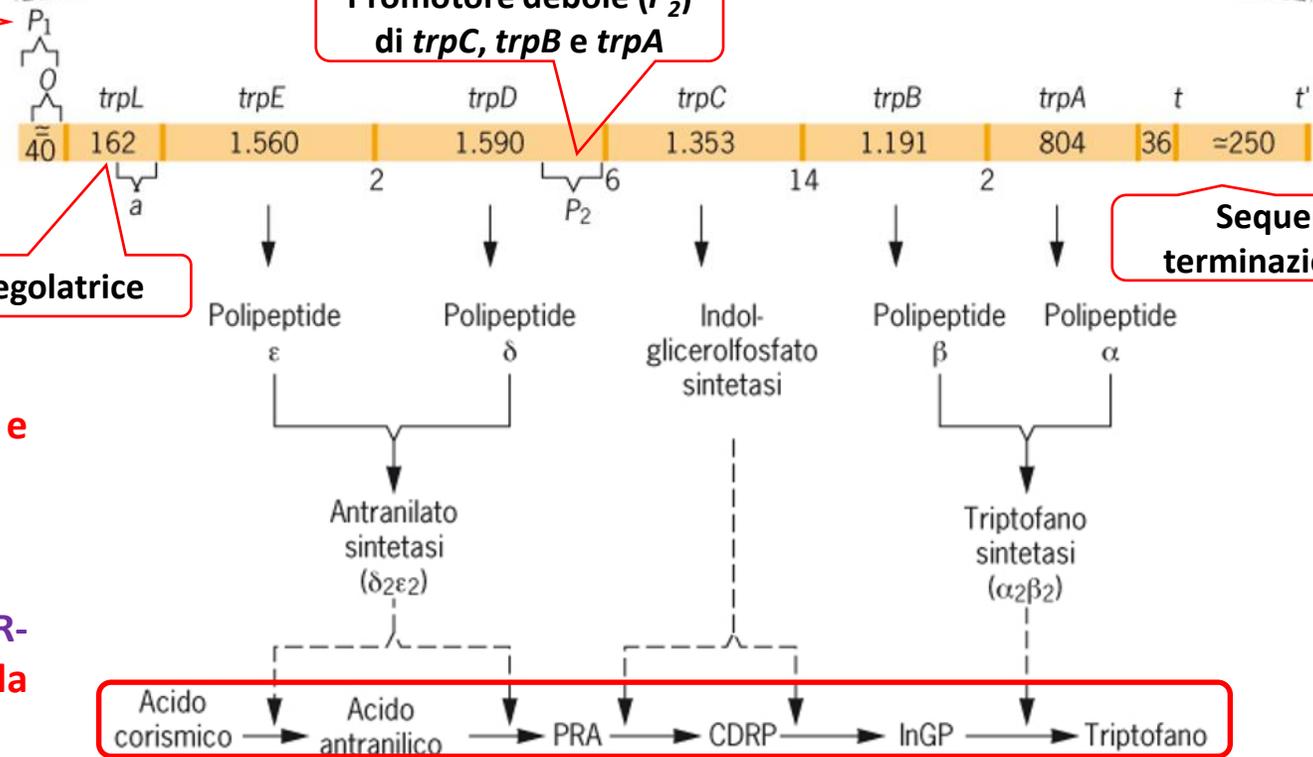
Il regolatore (*O*) è localizzato all'interno del promotore primario (P_1).

Promotore primario (P_1)

Promotore debole (P_2) di *trpC*, *trpB* e *trpA*

Regione regolatrice

Sequenze di terminazione (*t*, *t'*)



In assenza di triptofano

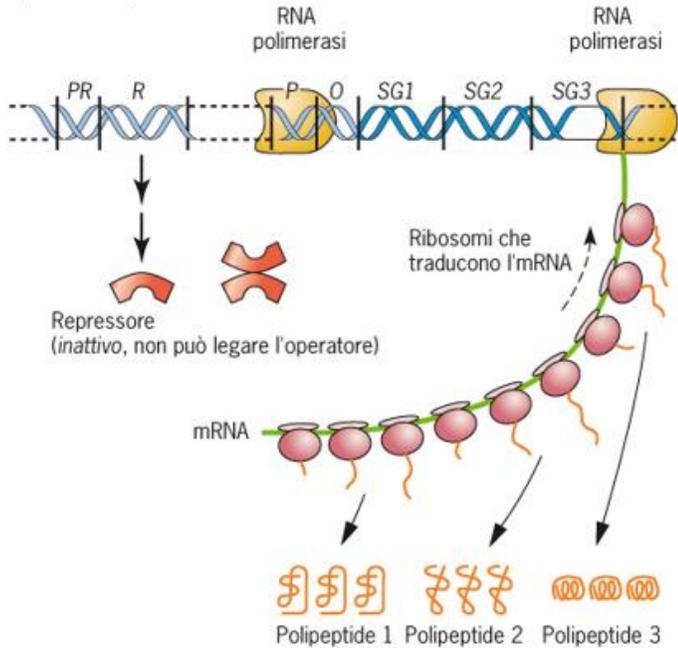
l'RNA-polimerasi si lega al promotore e trascrive i 5 geni strutturali dell'operone.

In presenza di triptofano nell'ambiente

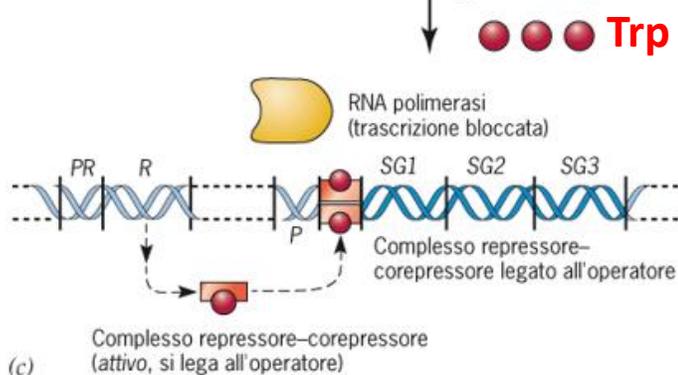
Il **complesso repressore/co-repressore** (TrpR-triptofano) si lega all'operatore, inibendo la trascrizione.

Schema generale operone reprimibile a controllo negativo

L'operone: repressione

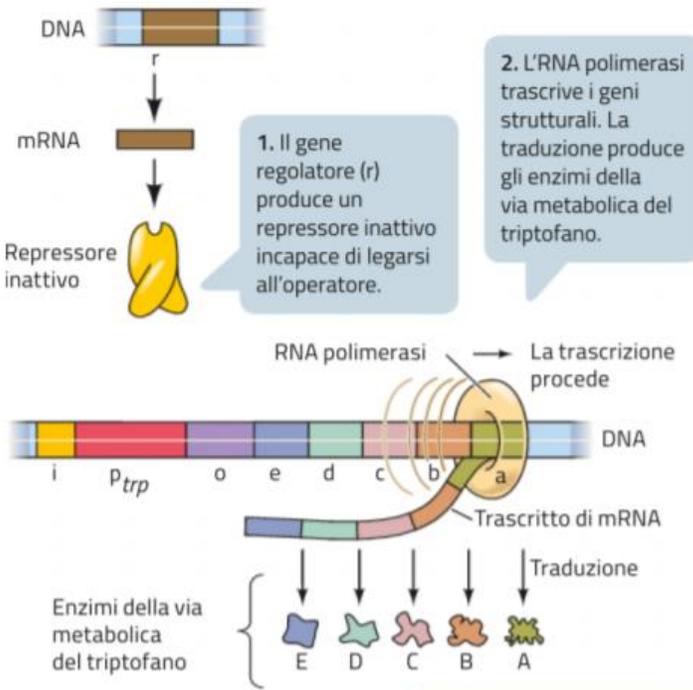


Aggiunta di co-repressore



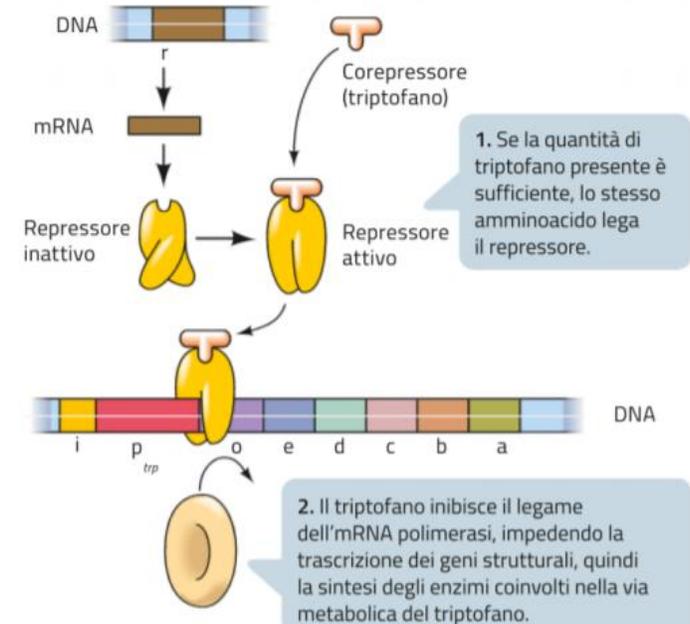
(c)

Triptofano assente

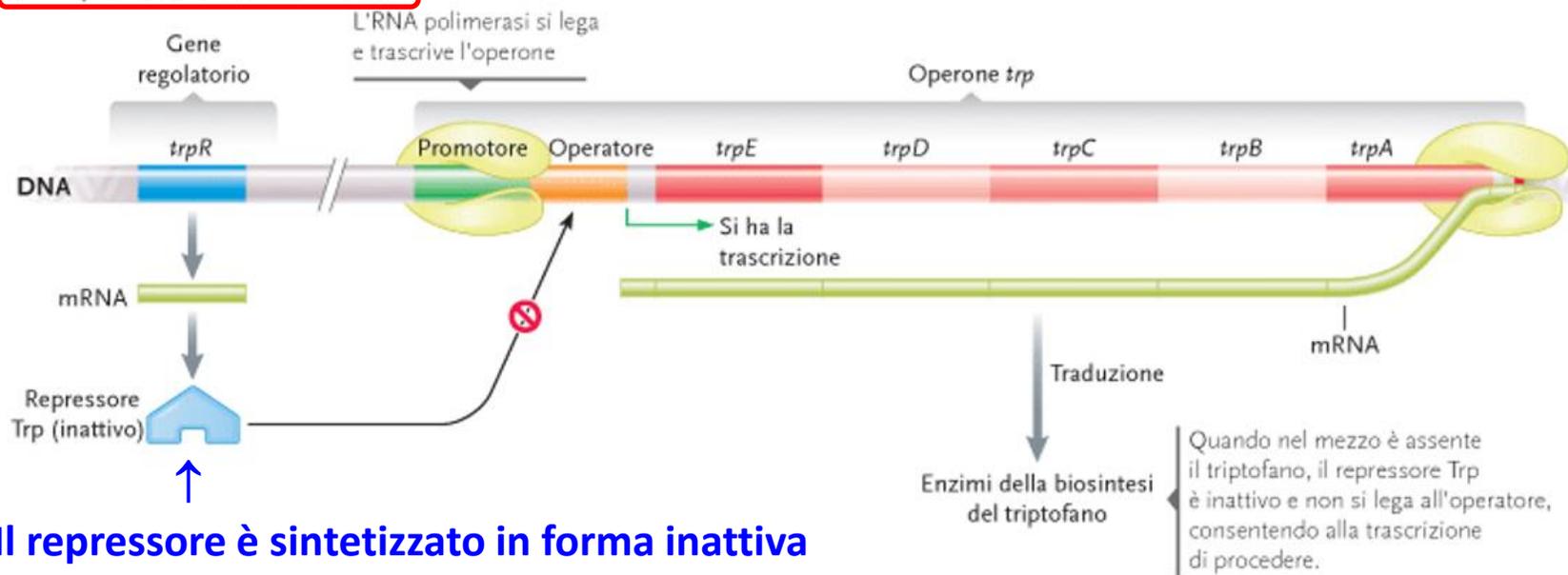


Schema regolazione della trascrizione dell'operone *trp* mediante repressione dell'inizio della trascrizione

Triptofano presente



a. Triptofano assente nel mezzo



Il repressore è sintetizzato in forma inattiva

b. Triptofano presente nel mezzo

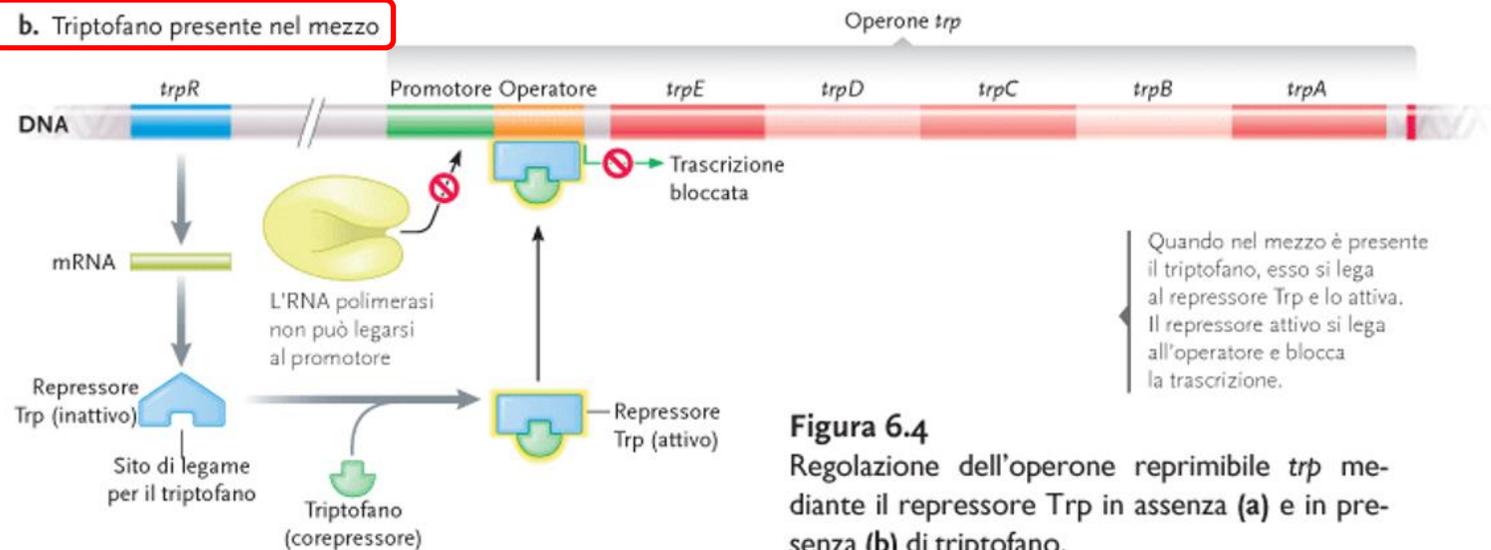
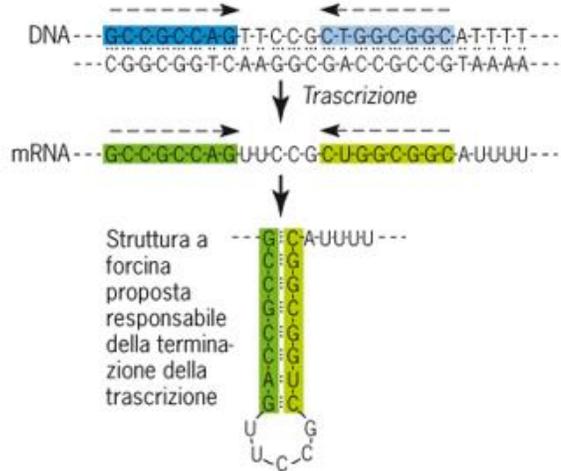


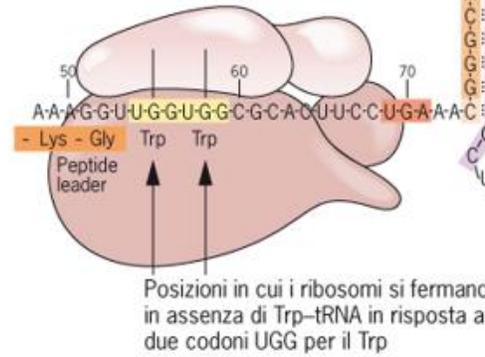
Figura 6.4
Regolazione dell'operone reprimibile *trp* mediante il repressore Trp in assenza (a) e in presenza (b) di triptofano.

attenuazione della trascrizione



(a) Struttura della sequenza di terminazione della trascrizione nell'operone *trp* e formazione della forcina di terminazione.

Appaiamento regioni 2-3



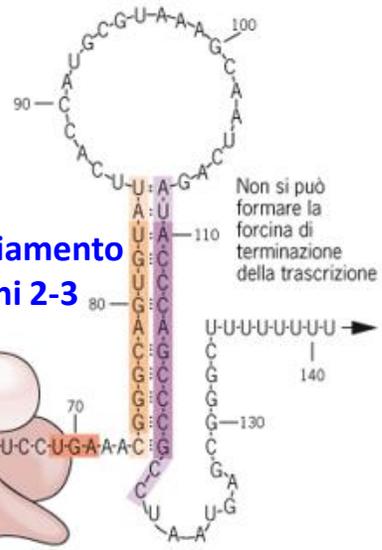
(b) In assenza di triptofano, la traduzione della sequenza leader si ferma a uno dei codoni per il Trp. Questa pausa permette alle regioni leader 2 e 3 di appaiarsi, prevenendo la formazione della forcina di terminazione dovuta all'appaiamento tra le regioni 3 e 4. Quindi, la trascrizione procede per tutto l'operone *trp*.

In **presenza di triptofano**, la trascrizione termina a livello dell'attenuatore in circa il 90% delle volte

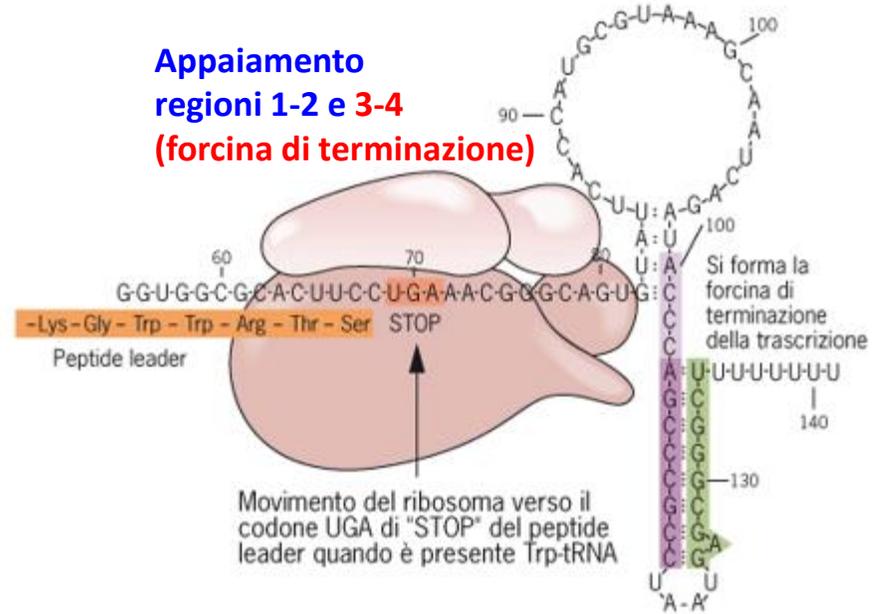


Riduzione della quantità di mRNA relativo ai geni strutturali di *trp*

Nei procarioti, subito dopo l'avvio della trascrizione, i ribosomi si legano all'mRNA per avviare la traduzione



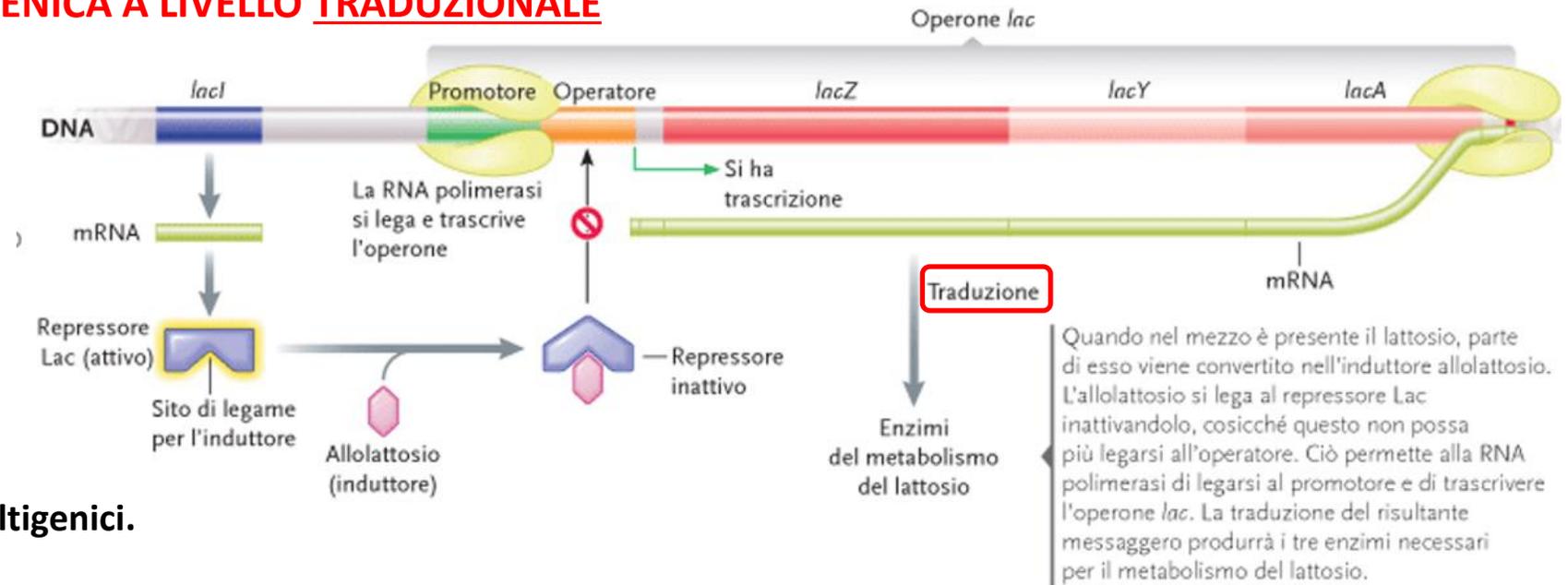
Appaiamento regioni 1-2 e 3-4 (forcina di terminazione)



(c) In presenza di triptofano, la traduzione procede oltre i codoni per il Trp verso il codone di terminazione e impedisce l'appaiamento tra le regioni leader 2 e 3. Questo processo lascia la regione 3 libera di appaiarsi con la 4 a formare la forcina di terminazione della trascrizione, che blocca la trascrizione alla sequenza dell'attenuatore.

CONTROLLO ESPRESSIONE GENICA A LIVELLO TRADUZIONALE

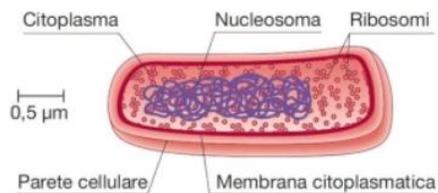
←Controllo trascrizionale
Controllo traduzionale →



Nei procarioti gli mRNA sono multigenici.



I geni co-trascritti possono dare quantità di prodotti non identiche!



Nelle cellule procariotiche, non essendoci compartimentalizzazione, i processi di trascrizione, traduzione e degradazione degli mRNA avvengono nello stesso ambiente.

In presenza di lattosio, i 3 geni strutturali (*lacZ*, *lacY*, *lacA*) dell'operone *lac* sono **co-trascritti**, tuttavia, nelle cellule di *E. coli* le concentrazioni dei 3 prodotti genici sono diverse.

β-Galattosidasi

Permeasi

Transacetilasi

Controllo traduzionale (post-trascrizionale) → 3000 molecole 1500 molecole 600 molecole



- Diversa **efficienza nell'avvio della traduzione** a livello dei codoni di inizio dei geni (modulazione del tasso di inizio);
- Diversa **velocità di traduzione** dei ribosomi, influenzata dalle strutture secondarie di alcune regioni della molecola di mRNA;
- Differente **velocità di degradazione** di alcune regioni della molecola di mRNA.

CONTROLLO ESPRESSIONE GENICA A LIVELLO POST-TRADUZIONALE

Controllo trascrizionale
Controllo traduzionale
Controllo post-traduzionale

Controllo post-traduzionale

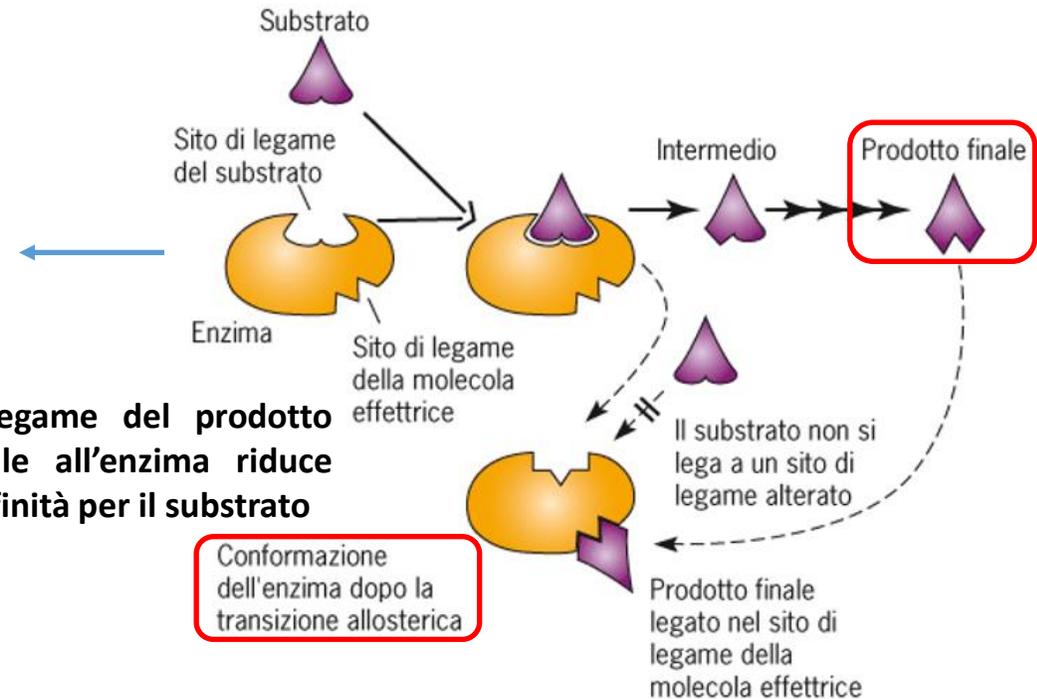
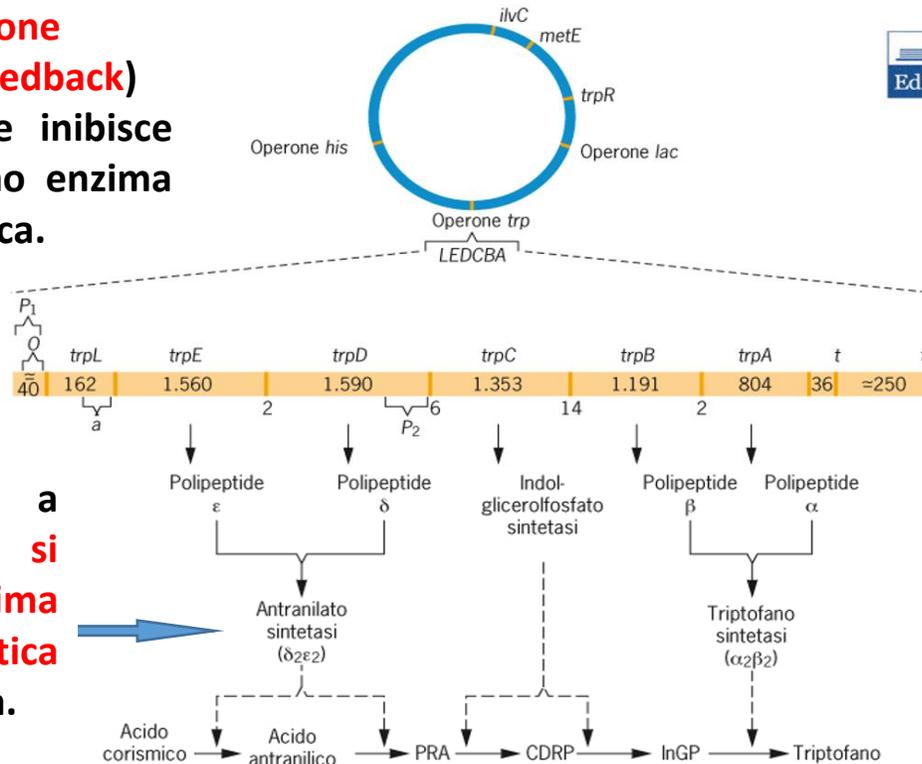
Attivazione enzimatica

Un substrato o una molecola effettrice, in seguito a transizioni allosteriche, può stimolare l'attività di un enzima, con aumento della velocità di sintesi del prodotto finale.

Retroinibizione (inibizione da feedback)

Il prodotto finale inibisce l'attività del primo enzima della via metabolica.

Quando presente a sufficienza, il **Trp** si lega al primo enzima della via biosintetica inibendone l'attività.



Il legame del prodotto finale all'enzima riduce l'affinità per il substrato

Conformazione dell'enzima dopo la transizione allosterica

Il substrato non si lega a un sito di legame alterato

Prodotto finale legato nel sito di legame della molecola effettrice