

REGOLAZIONE DELL'ESPRESSIONE GENICA

Controllo trascrizionale in E. coli

Esempio: Lac operon

Nel genoma di un batterio ci sono circa 4000 geni
Nel genoma umano ci sono circa 20000 geni che
codificano per proteine

Espressione costitutiva: alcuni geni sono sempre espressi.

Espressione regolata: alcuni geni sono espressi solo in determinati momenti.

CONTROLLO DELL'ESPRESSIONE GENICA

- I **Procarioti** regolano l'espressione genica in **risposta principalmente** ai cambiamenti delle risorse **nutrizionali o condizioni ambientali**.
- Negli **Eucarioti** il controllo dell'espressione rientra nella regolazione di un programma genetico alla base dello **sviluppo** dell'organismo e del **differenziamento tissutale**.
(specializzazione delle funzioni cellulari).
- Anche negli Eucarioti, **risorse nutrizionali e condizioni ambientali** modulano l'espressione di geni specifici.
- Negli Eucarioti **regolazione ormonale** dell'espressione genica

IN CHE MODO VIENE REGOLATA L'ESPRESSIONE GENICA

I meccanismi di controllo maggiormente documentati sono quelli a livello **trascrizionale**.

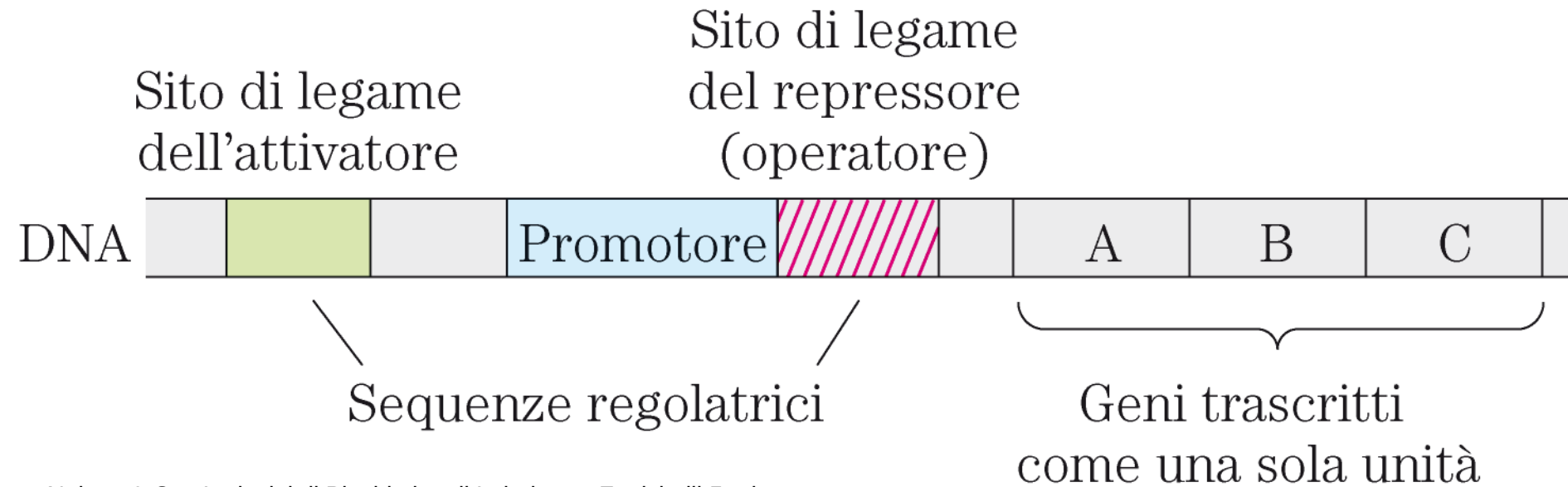
La trascrizione di un gene dipende in gran parte dalla **interazione** tra **specifiche sequenze** del **DNA** e determinate **proteine** che si legano ad esse.

Proteine di regolazione legandosi al DNA possono **reprimere** l'espressione di geni specifici (**controllo negativo**) oppure **attivare** (**controllo positivo**) la loro espressione.

CONTROLLO TRASCRIZIONALE IN E.COLI

- La regolazione di geni, i cui prodotti sono coinvolti in processi correlati (es: stessa via metabolica), è coordinata: questi geni sono raggruppati sul cromosoma in un "operone" e vengono trascritti insieme.
- Un singolo promotore regola il gruppo di geni dell'operone
- La maggior parte degli mRNA procariotici sono policistronici.

OPERONE BATTERICO



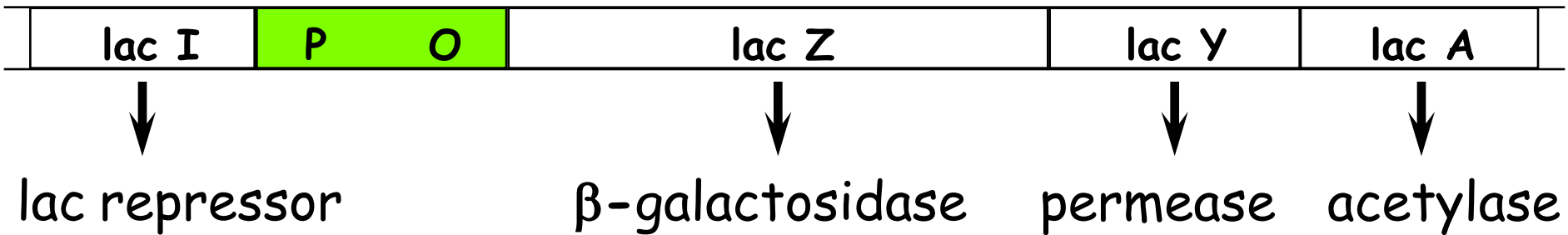
Nelson & Cox I principi di Biochimica di Lehninger- Zanichelli 5 ed.

SEQUENZE REGOLATRICI

GENI STRUTTURALI

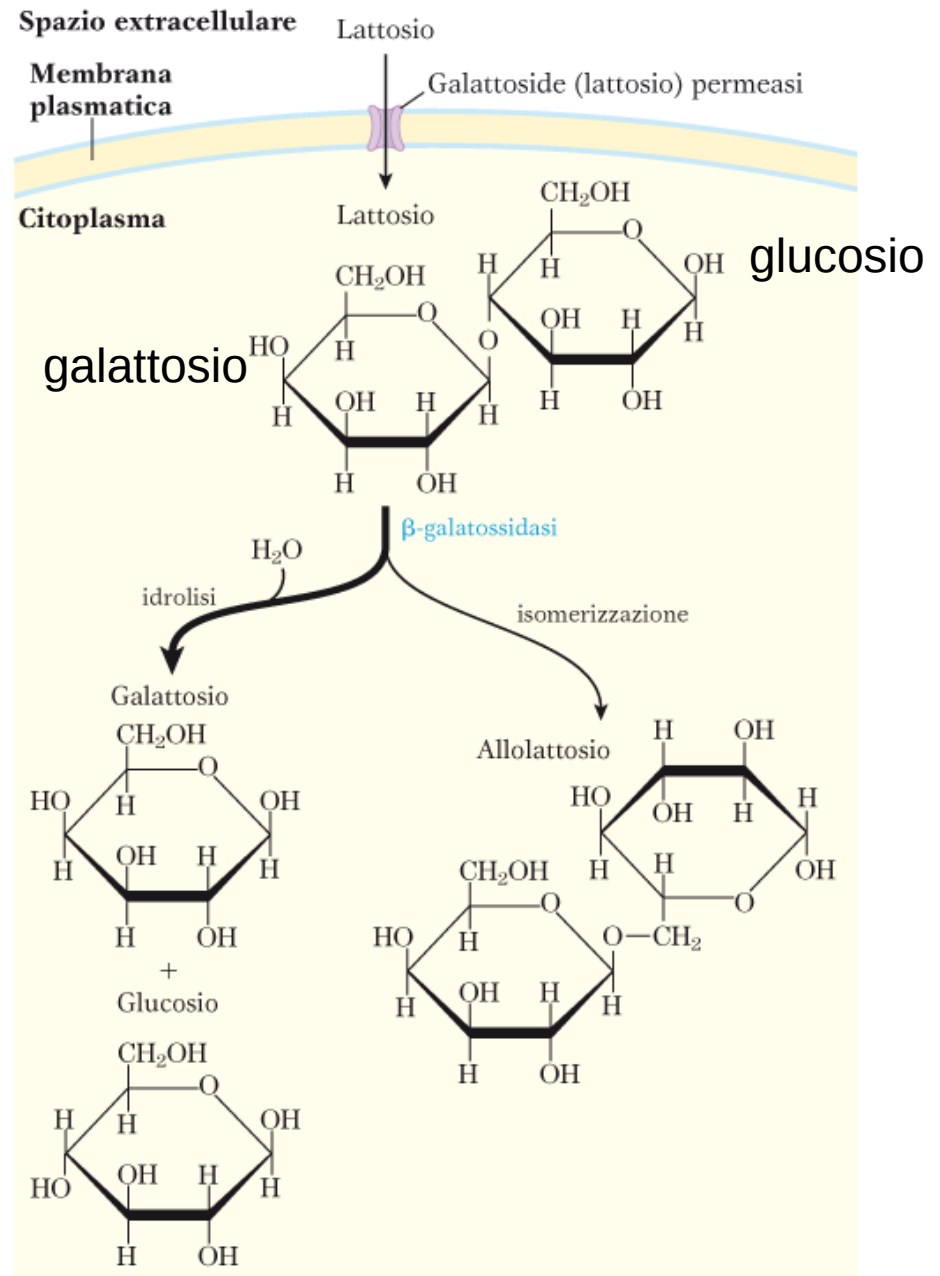
THE LACTOSE OPERON IN E. COLI

promoter - operator



the lactose (lac) operon contains the genes coding for the **enzymes required to metabolize lactose**, for energy when it is required by the cell

METABOLISMO DEL LATTOSIO IN E.COLI

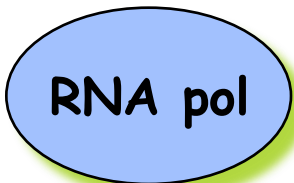
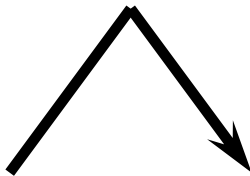
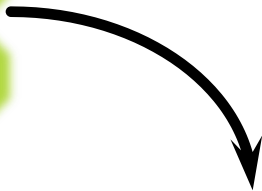
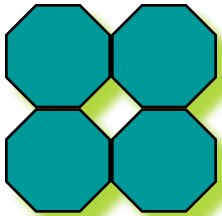


REGOLAZIONE DELL' OPERON LATTOSIO- CONTROLLO NEGATIVO

promotore - operatore



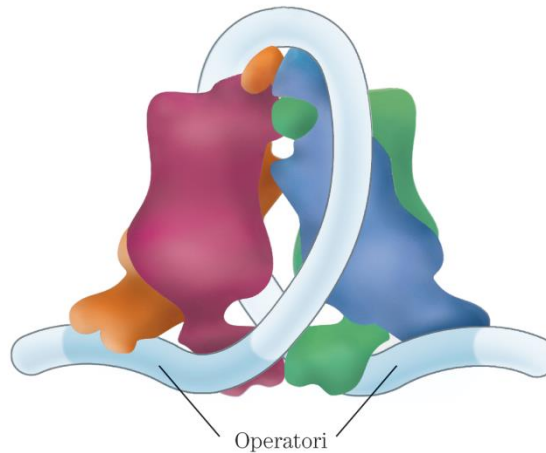
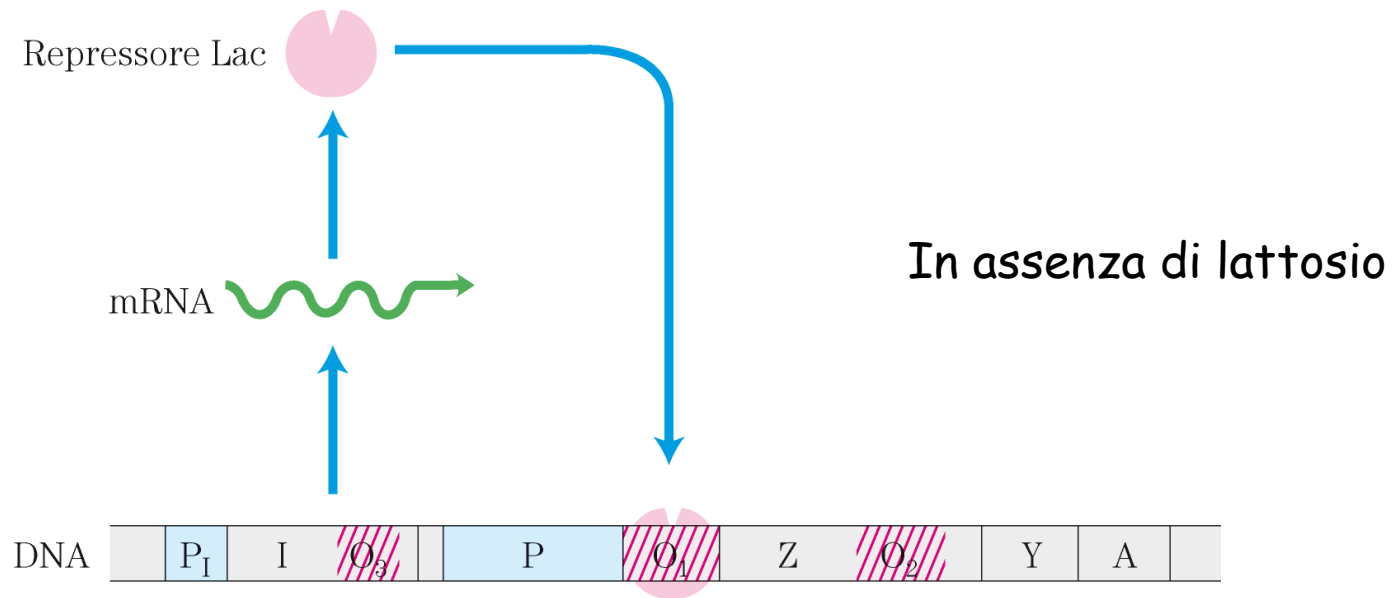
lac repressore



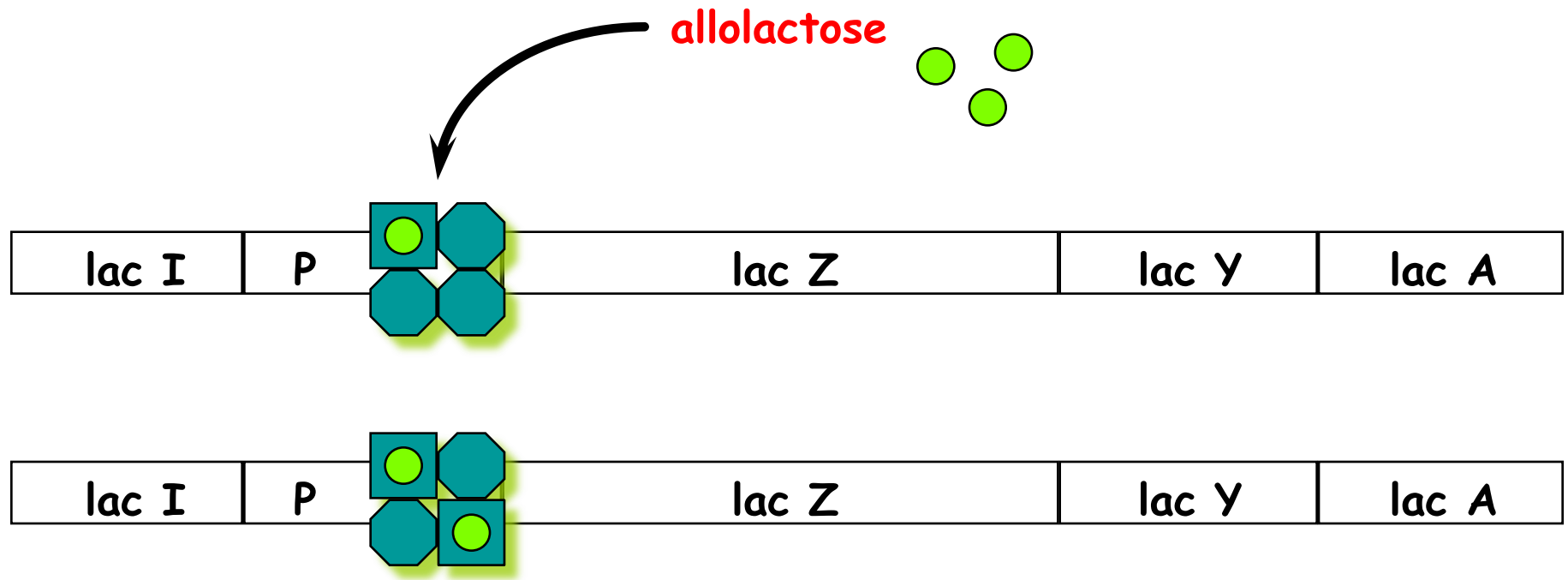
LA POLIMERASI si lega ma NON PUO' INIZIARE LA TRASCRIZIONE

LA REPRESSIONE NON E' ASSOLUTA:
livello trascrizionale basale

IL REPRESSORE LAC

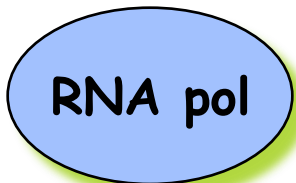
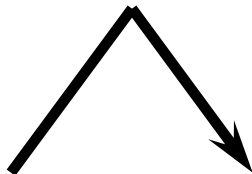
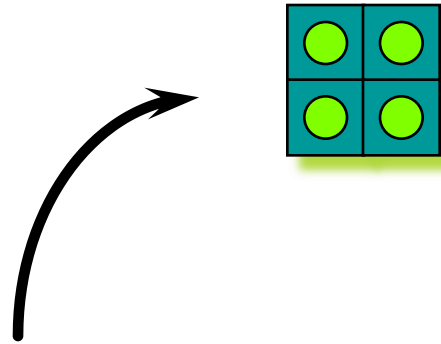


ALLEVIATION OF NEGATIVE CONTROL - ACTION OF THE INDUCER OF THE LAC OPERON



NO TRANSCRIPTION

- repressor (with bound allolactose) dissociates from the operator
- negative control (repression) is alleviated, however...



- RNA polymerase binds but cannot form a stable complex with the promoter

Low level of TRANSCRIPTION

Promotore *lac*

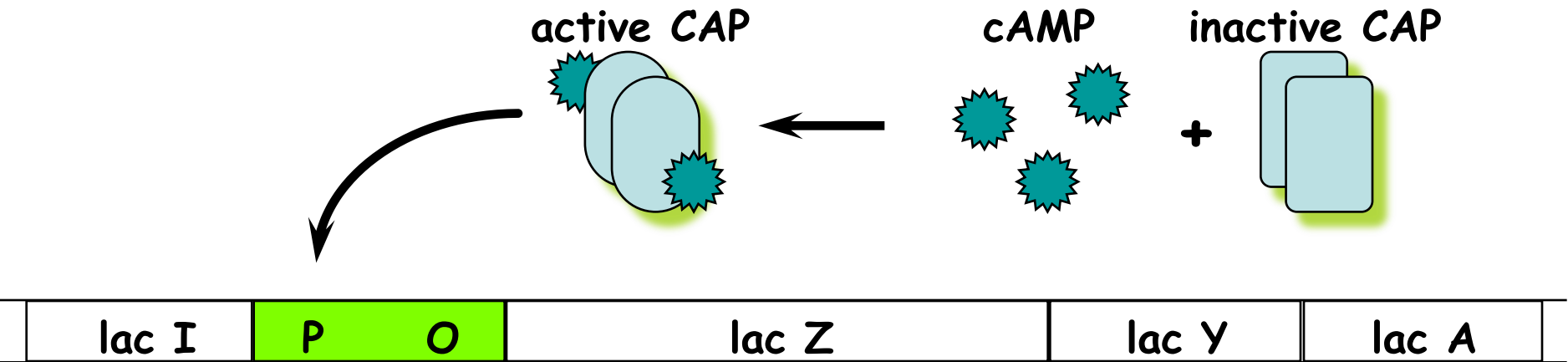


Sequenza consenso
del promotore



REGULATION OF THE LACTOSE OPERON POSITIVE CONTROL

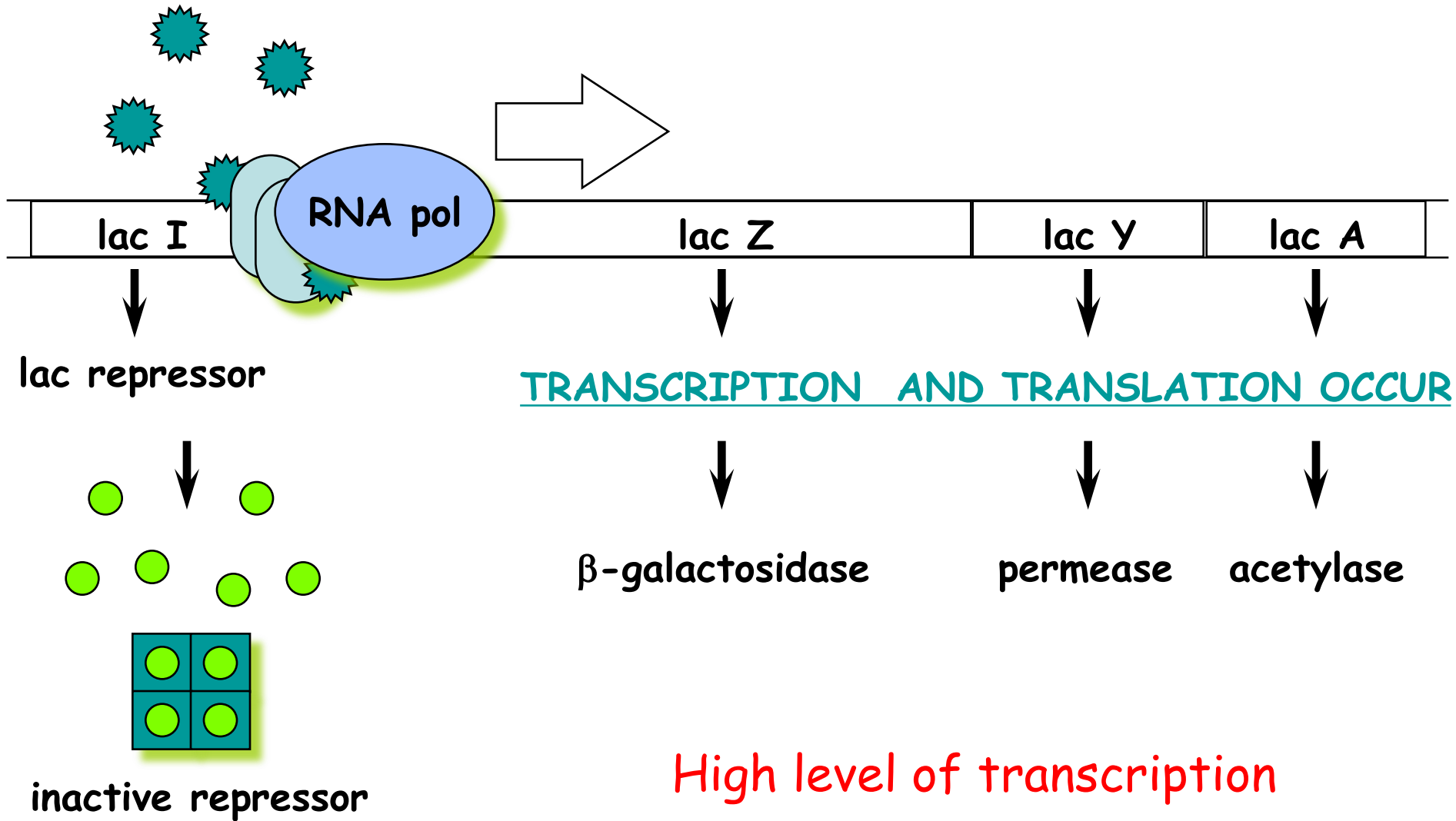
(absence of glucose and in the presence of lactose)



- in the absence of glucose cells synthesize cyclic AMP (cAMP)
- **cAMP serves as a positive regulator** of catabolite operons (lac operon)
- cAMP binds the dimeric cAMP binding protein (CAP)¹ or CRP
- binding of cAMP increases the affinity of CAP for the promoter
- binding of CAP to the promoter facilitates the binding of RNA polymerase

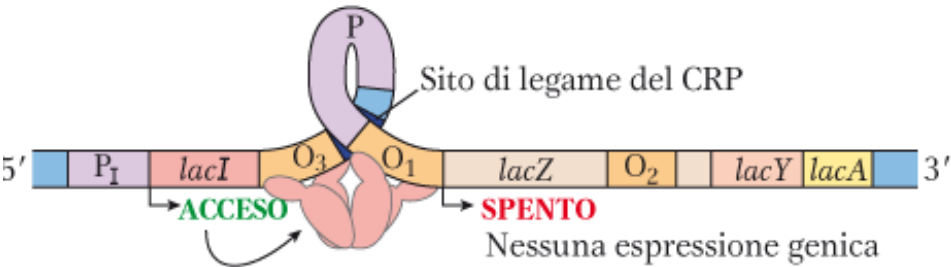
¹ also termed catabolite activator protein

ACTIVATION OF LAC OPERON TRANSCRIPTION

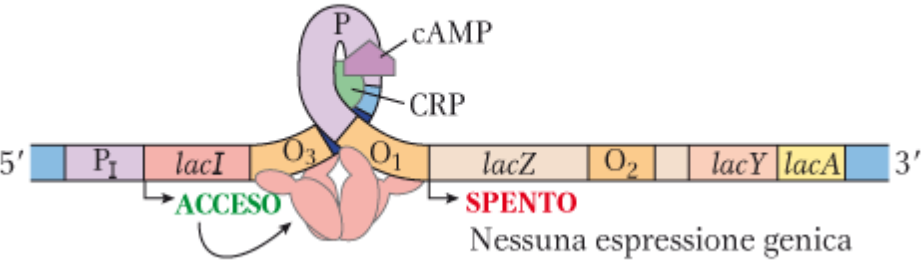


Regolazione dell' operon del lattosio

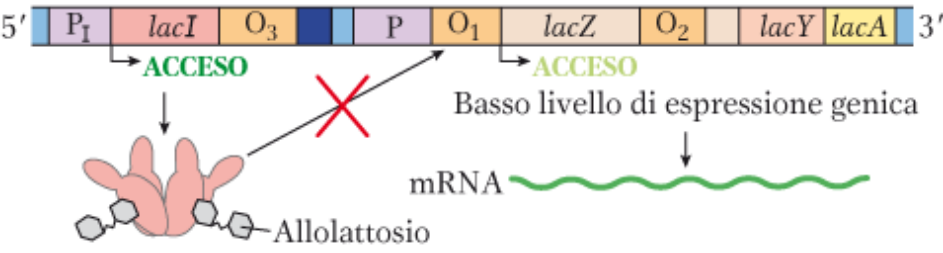
a) Glucosio elevato, cAMP basso, lattosio assente



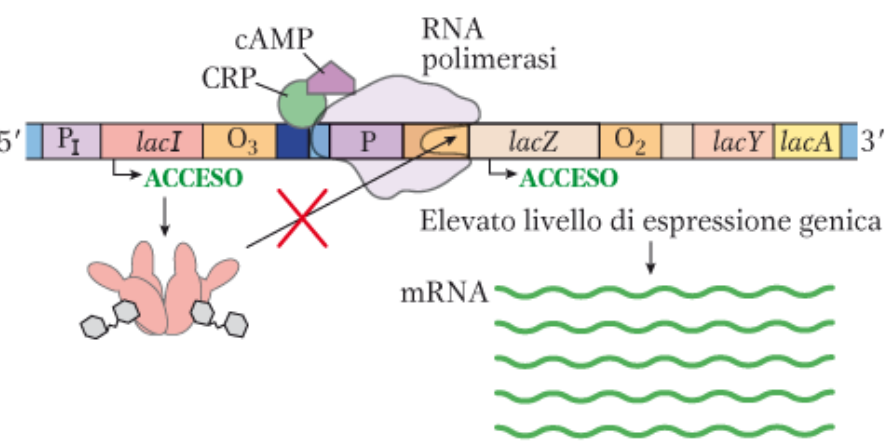
b) Glucosio basso, cAMP elevato, lattosio assente



(c) Glucosio elevato, cAMP basso, lattosio presente



(d) Glucosio basso, cAMP elevato, lattosio presente



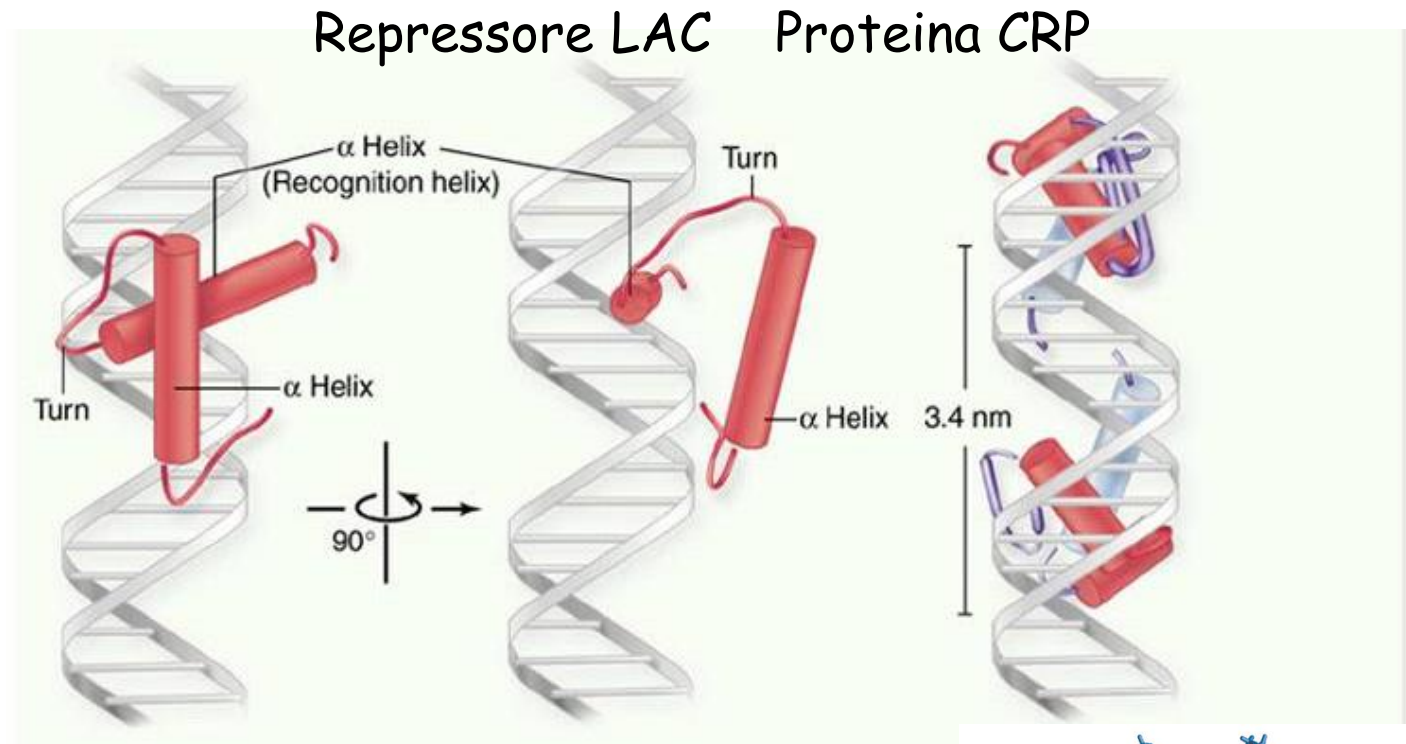
REGULATORY PROTEINS

- Gene expression is often controlled by regulatory proteins binding to specific DNA sequences.
 - regulatory proteins possess **DNA-binding motifs**
 - regulatory proteins gain access to the bases of DNA at the **major groove**

Regulatory Proteins

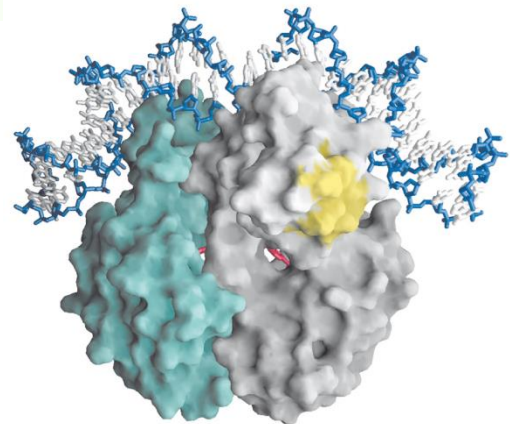
- **DNA-binding motifs** are regions of regulatory proteins which bind to DNA
 - **helix-turn-helix**
 - homeodomain
 - zinc finger
 - leucine zipper

Dominio di legame al DNA: elica-ripiegamento-elica (helix-turn-helix)



elica di riconoscimento

CRP (CAP): omodimero legato al DNA

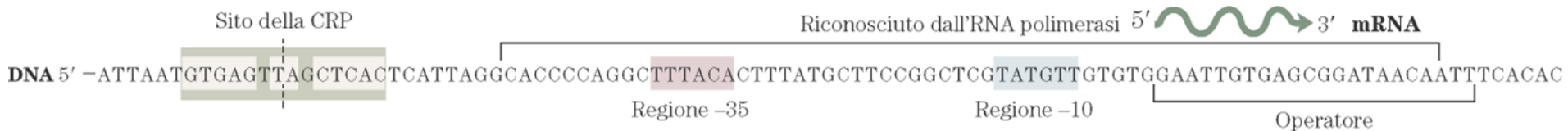


OPERON DEL LATTOSIO

Sequenze sito di legame del repressore



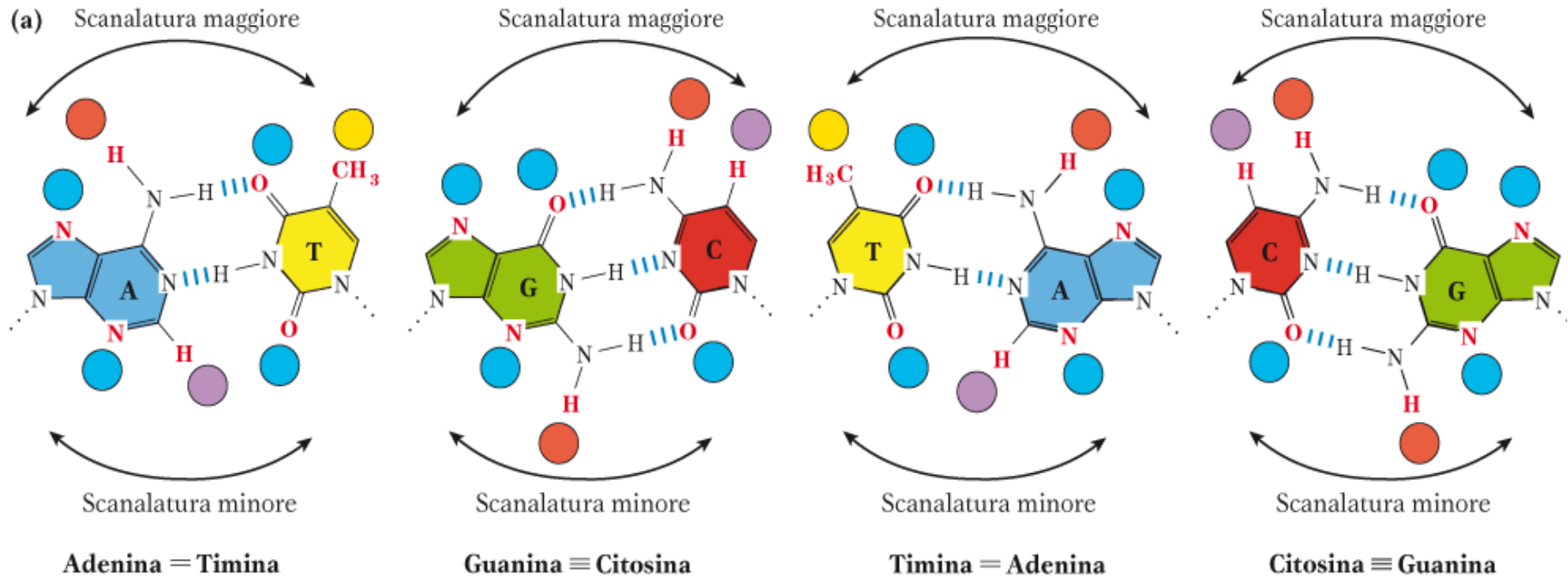
Sequenze sito di legame della proteina CRP (CAP)



La simmetria delle sequenze di regolazione trova una corrispondenza nella simmetria delle proteine che vi si legano.

Le proteine regolatrici riconoscono caratteristiche della superficie del DNA: **riconoscimento sequenza-specifico**

gruppi disponibili nel DNA per il legame alle proteine



(b)

Scanalatura maggiore		Scanalatura minore		
A	● ● ● ●	A	● ● ● ●	● Accettore nei legami H
T	● ● ● ●	T	● ● ● ●	● Donatore nei legami H
G	● ● ● ●	G	● ● ● ●	● Altri H
C	● ● ● ●	C	● ● ● ●	● Gruppo metilico

gruppi chimici che consentono di discriminare le basi

proteine regolatrici-DNA riconoscimento sequenza-specifico

Per legarsi a specifiche sequenze di DNA le **proteine di regolazione** devono riconoscere le caratteristiche sulla **superficie del DNA**.

La maggior parte dei gruppi chimici che caratterizzano le singole basi e consentono di distinguerle è rappresentata soprattutto dai **gruppi donatori ed accettori di legami idrogeno**, localizzati nella scanalatura maggiore del DNA. La **scanalatura maggiore** presenta una **maggior variabilità di gruppi** e quindi a livello della scanalatura il potere discriminante è più elevato.