

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 25000 geni.

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 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)**.

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 dall'**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.

REGOLAZIONE DELLA RNA POLIMERASI

La regolazione dell'**inizio** della trascrizione consiste nella regolazione dell'interazione della RNA polimerasi con il suo promotore

i promotori differiscono in sequenza nucleotidica



affinità di legame della RNA polimerasi



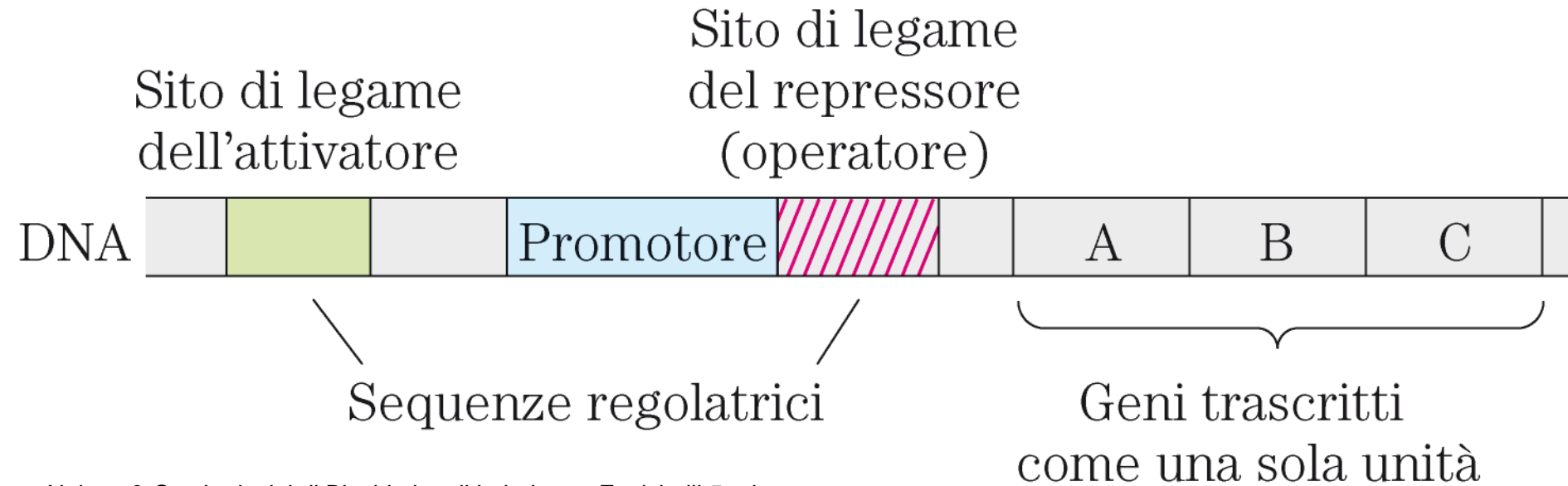
frequenza di inizio della trascrizione

i promotori differiscono molto per la loro efficacia

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.
- La maggior parte degli mRNA procariotici sono policistronici

OPERONE BATTERICO



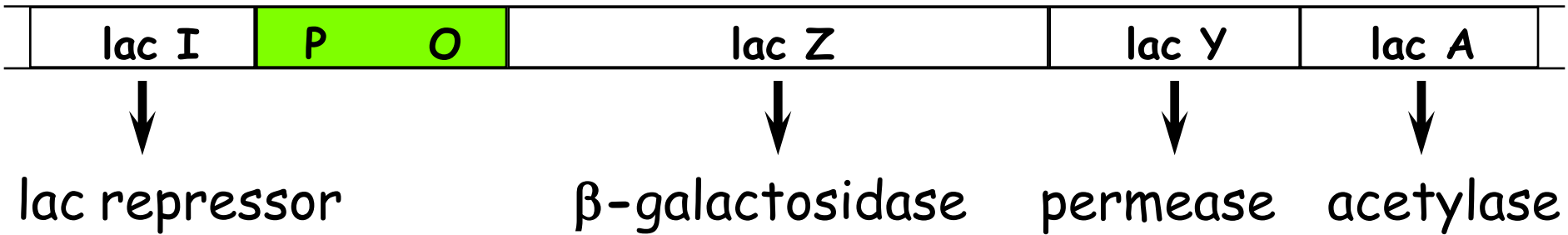
Nelson & Cox I principi di Biochimica di Lehninger- Zanichelli 5 ed.

SEQUENZE REGOLATRICI

GENI STRUTTURALI

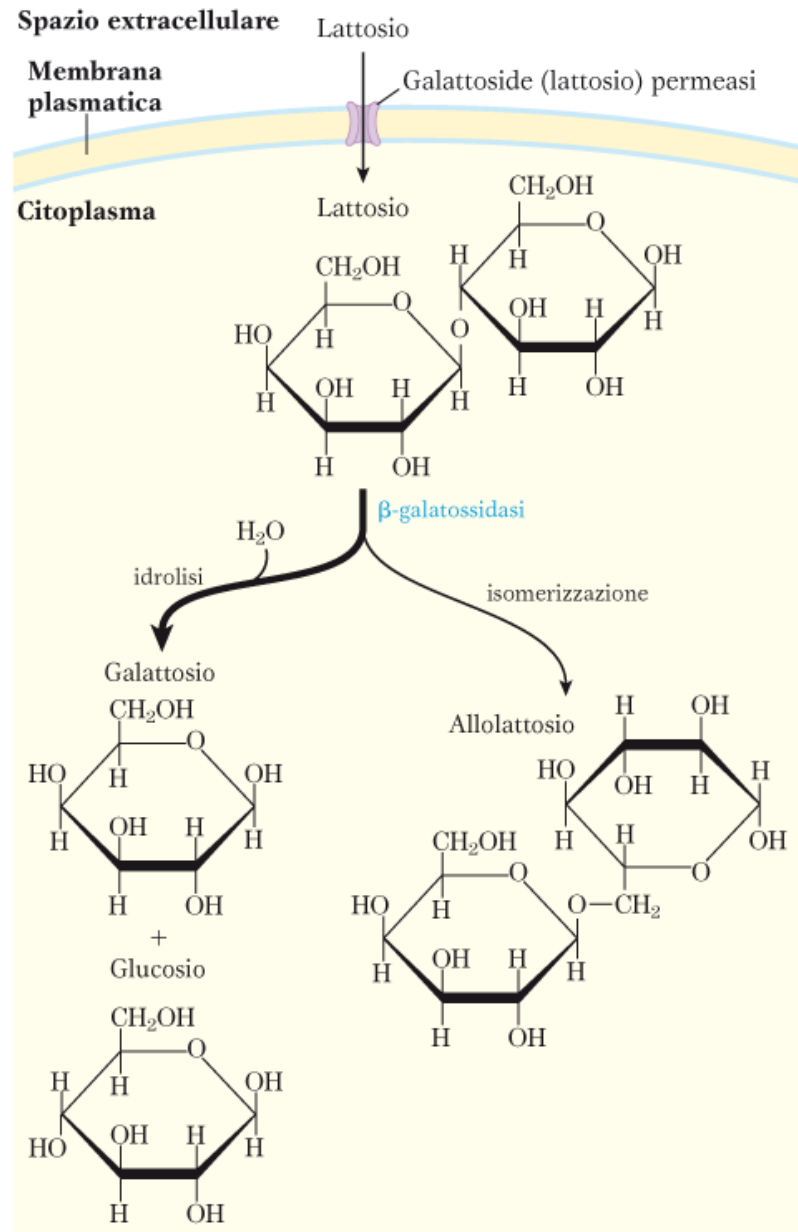
THE LACTOSE OPERON IN E. COLI

promoter - operator

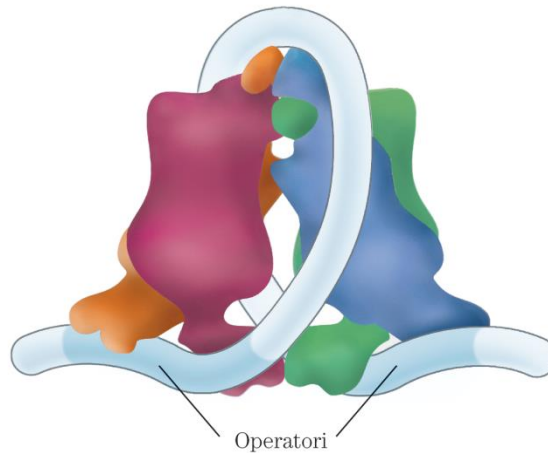
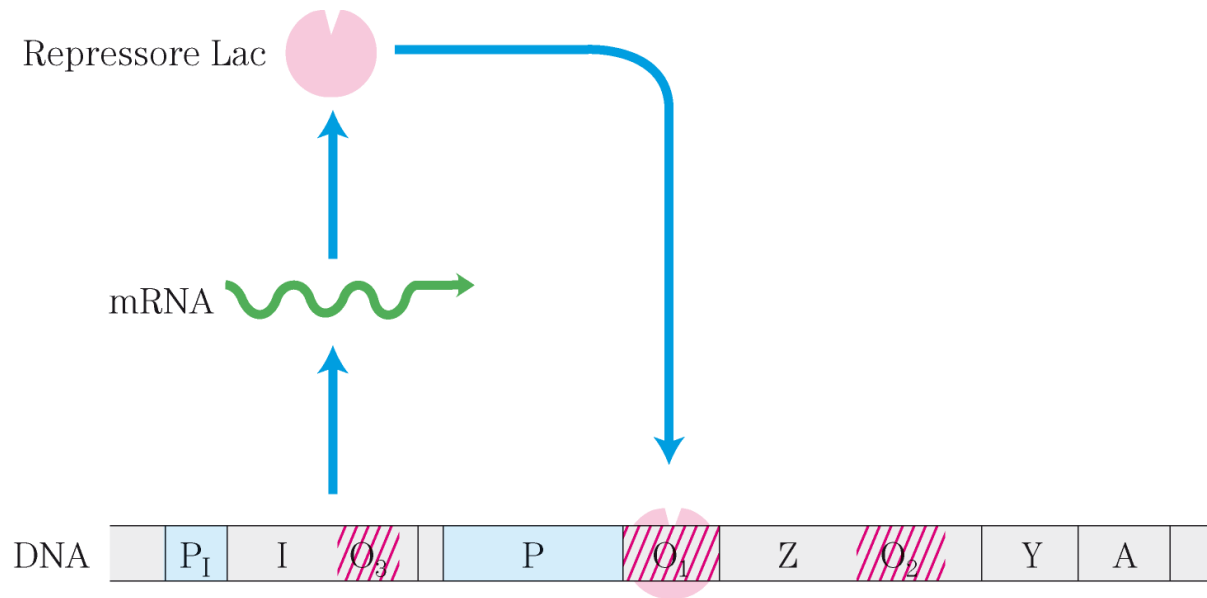


the function of the lactose (lac) operon is to produce the **enzymes required to metabolize lactose** for energy when it is required by the cell

METABOLISMO DEL LATTOSIO IN E.COLI



IL REPRESSORE LAC

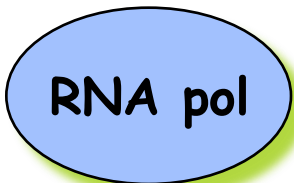
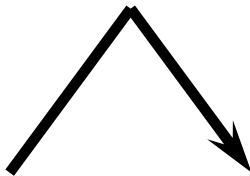
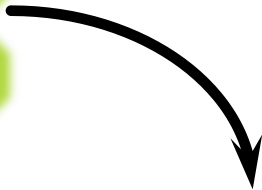
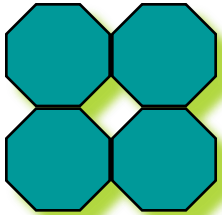


REGOLAZIONE DELL' OPERON LATTOSIO- CONTROLLO NEGATIVO

promotore - operatore



lac repressore

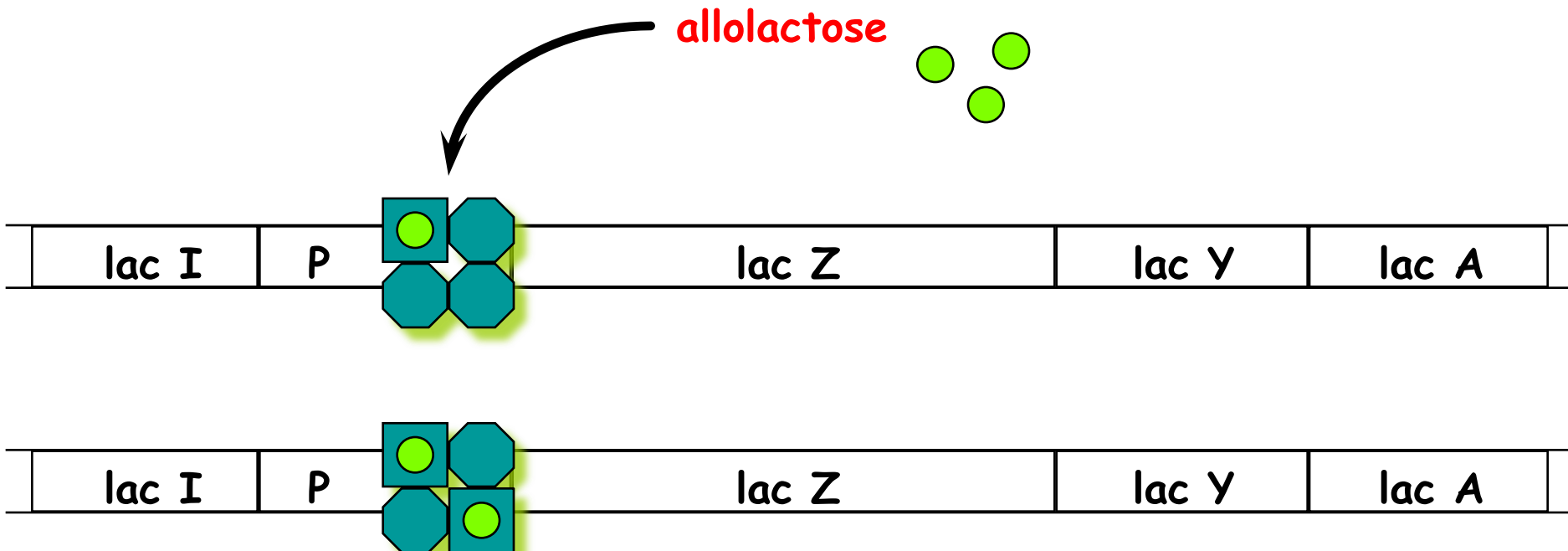


LA POLIMERASI NON PUO' INIZIARE LA TRASCRIZIONE

LA REPRESSIONE NON E' ASSOLUTA:
livello trascrizionale basale

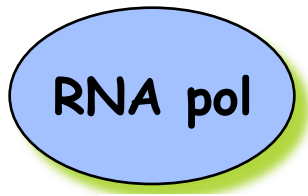
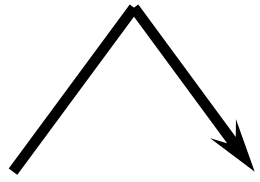
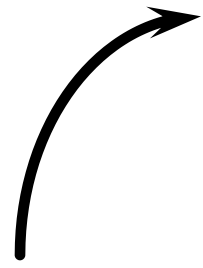
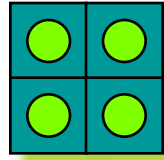
ALLEVIATION OF NEGATIVE CONTROL - ACTION OF THE INDUCER OF THE LAC OPERON

- when lactose becomes available, it is taken up by the cell
- **allolactose** (an intermediate in the hydrolysis of lactose) is produced
- one molecule of allolactose binds to each of the repressor subunits
- binding of allolactose results in a **conformational change** in the repressor
- the conformational change results in decreased affinity of the repressor for the operator and dissociation of the repressor from the DNA



NO TRANSCRIPTION

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



• RNA polymerase cannot form a stable complex with the promoter

Low level of TRANSCRIPTION

Promotore *lac*



Regione -35

Regione -10

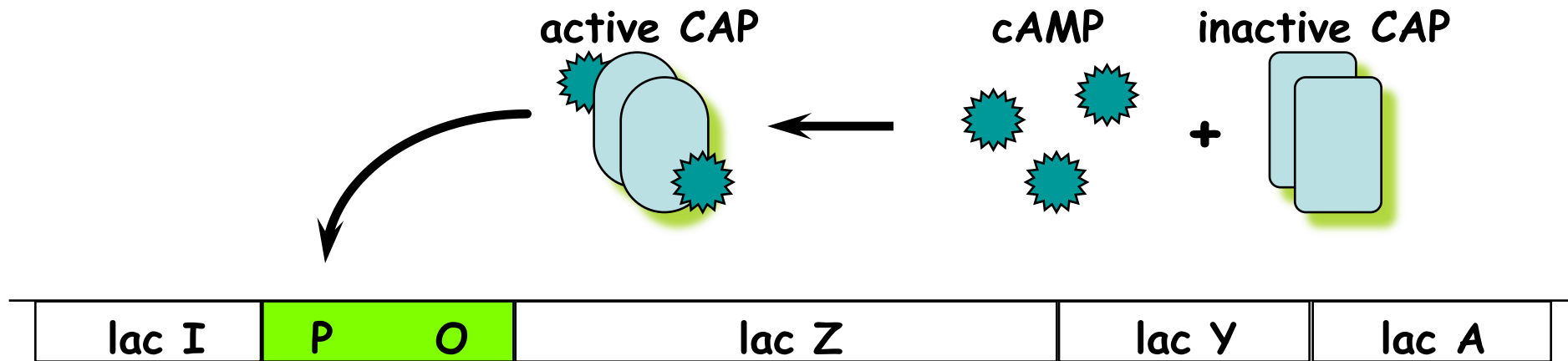
Sequenza consenso del promotore



REGULATION OF THE LACTOSE OPERON

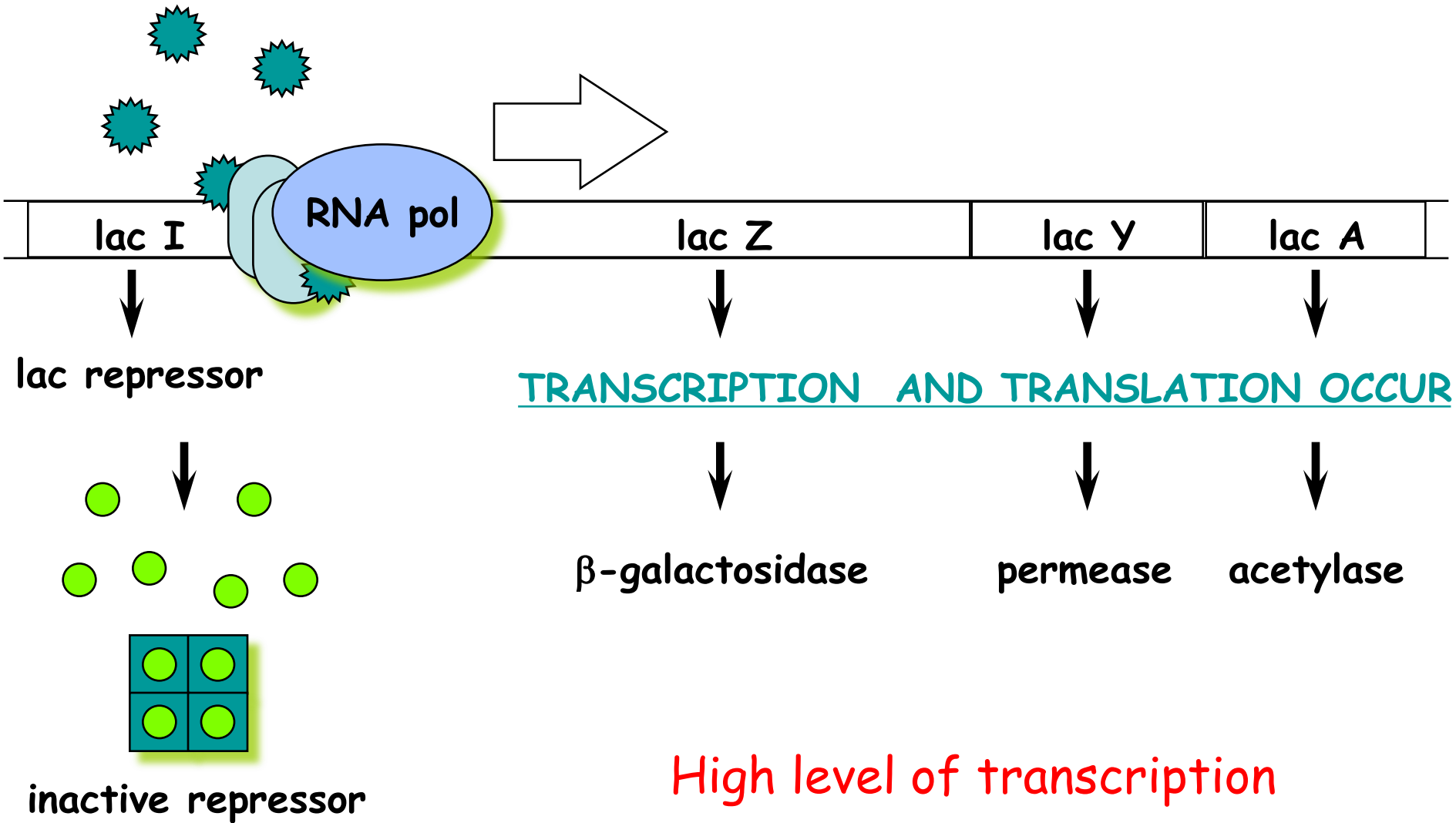
POSITIVE CONTROL

- in the presence of both lactose and glucose it is not necessary for the cell to metabolize lactose for energy
- in the absence of glucose and in the presence of lactose it becomes advantageous to make use of the available lactose for energy
- 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
- binding of cAMP increases the affinity of CAP for the promoter
- binding of CAP to the promoter facilitates the binding of RNA polymerase



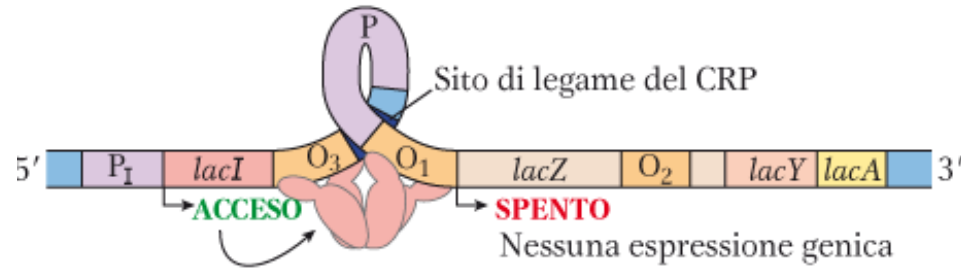
¹ also termed catabolite activator protein

ACTIVATION OF LAC OPERON TRANSCRIPTION

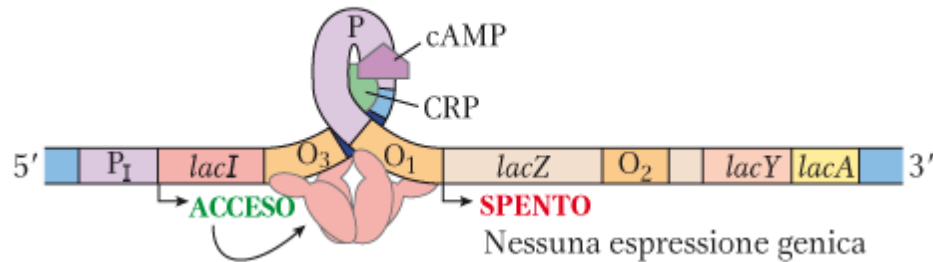


Regolazione dell' operon del lattosio

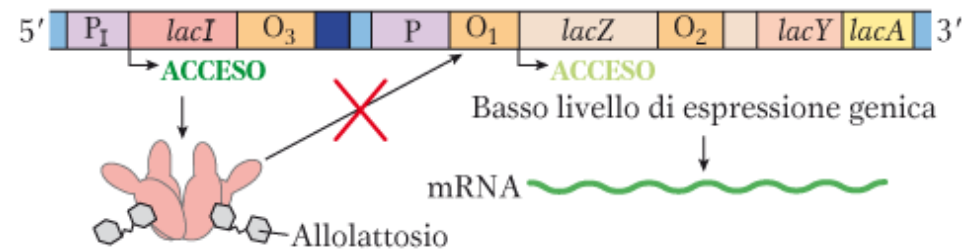
a) Glucosio elevato, cAMP basso, lattosio assente



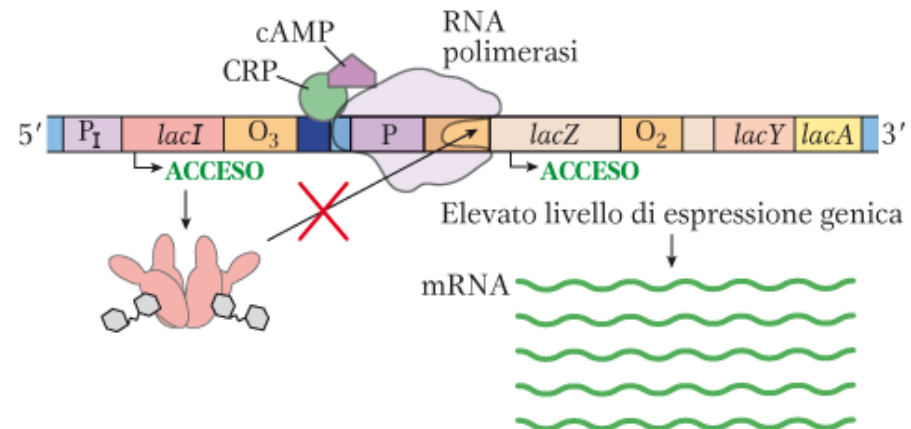
b) Glucosio basso, cAMP elevato, lattosio assente



(c) Glucosio elevato, cAMP basso, lattosio presente



(d) Glucosio basso, cAMP elevato, lattosio presente



REGULATORY PROTEINS

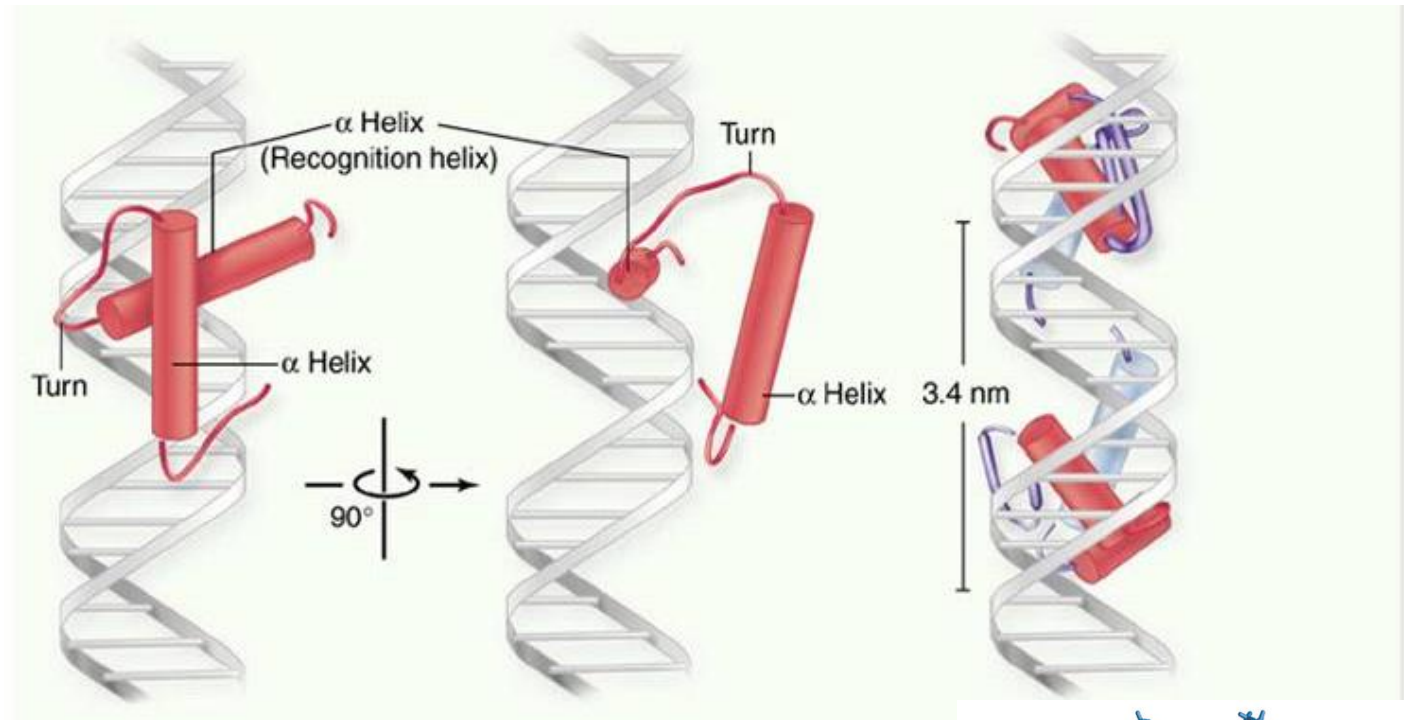
- Gene expression is often controlled by regulatory proteins binding to specific DNA sequences.
 - regulatory proteins possess **DNA-binding motifs**
 - regulatory proteins gain access to the bases of DNA at the **major groove**

Regulatory Proteins

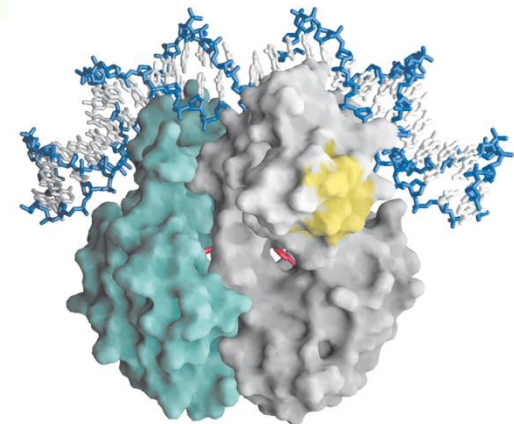
- **DNA-binding motifs** are regions of regulatory proteins which bind to DNA
 - **helix-turn-helix**
 - **homeodomain**
 - **zinc finger**
 - **leucine zipper**

Helix-Turn-Helix Motif

Repressore LAC Proteina CRP



CRP: omodimero legato al DNA

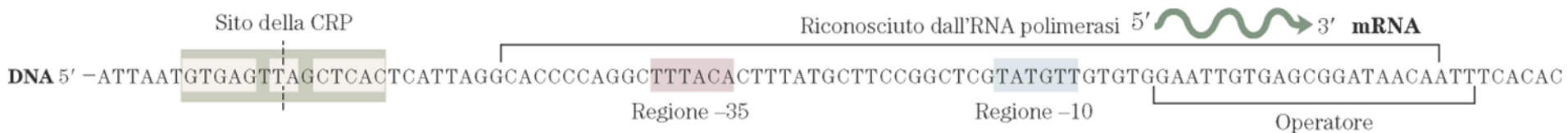


OPERON DEL LATTOSIO

Sequenze sito di legame del repressore



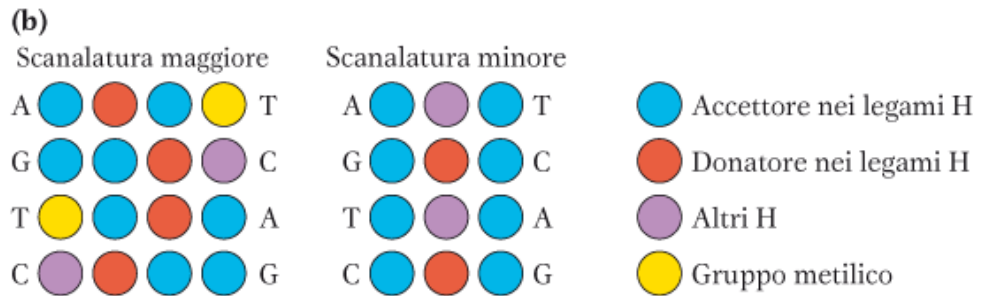
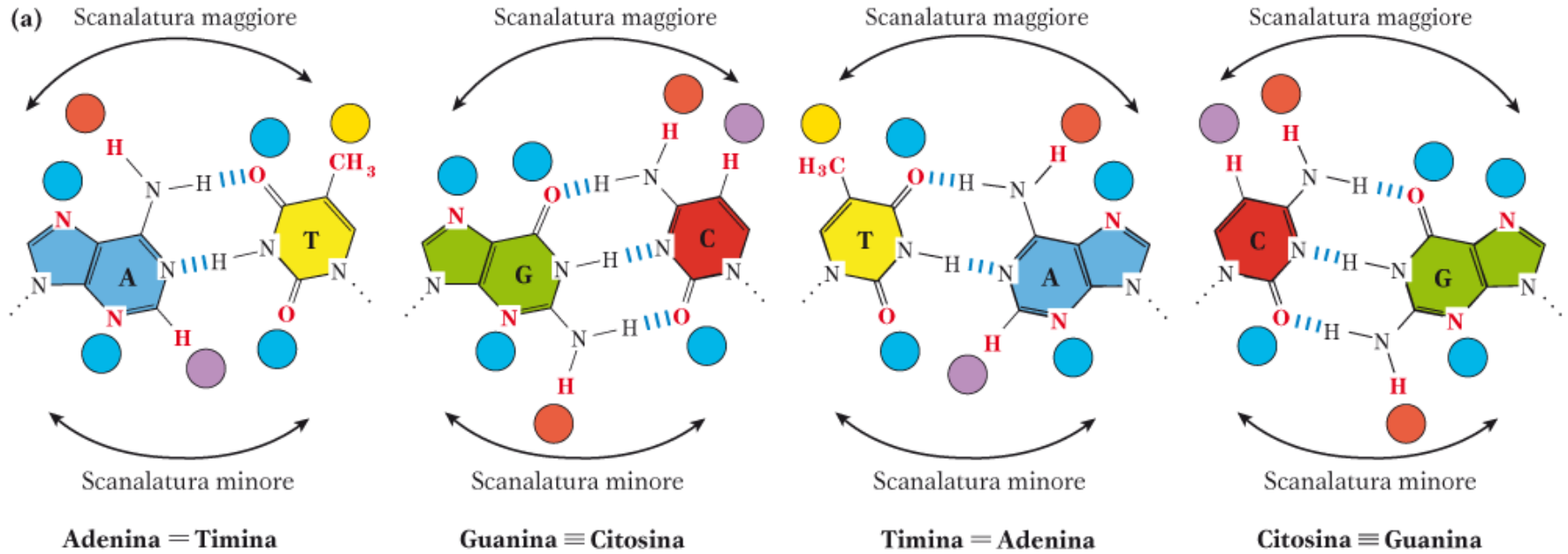
Sequenze sito di legame della CRP



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

GRUPPI DISPONIBILI NEL DNA PER IL LEGAME ALLE PROTEINE

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



gruppi chimici che consentono di discriminare le basi