

# Operone lattosio

## Operone lattosio: regolazione negativa (repressore) e positiva (attivatore)

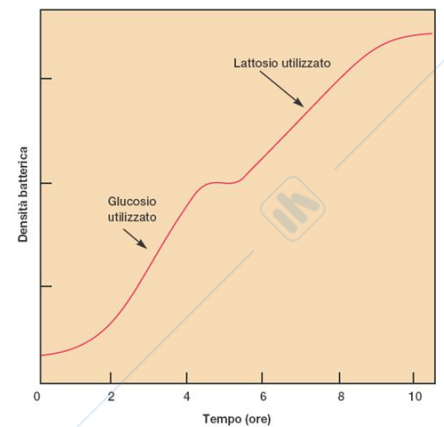
- Le cellule usano il glucosio come zucchero preferenziale
- Quando si esaurisce il glucosio, le cell si adattano a una nuova fonte di zucchero: lattosio
- Esperimento:
  - Terreno con solo glucosio -> crescita esponenziale e poi plateau
  - Terreno con glucosio e lattosio -> crescita esponenziale poi plateau, crescita esponenziale poi plateau di nuovo

Chiaramente c'è un sistema di regolazione.

Ricercatori (Jacob e Monod) fanno esperimenti per capire cosa regola la trascrizione.

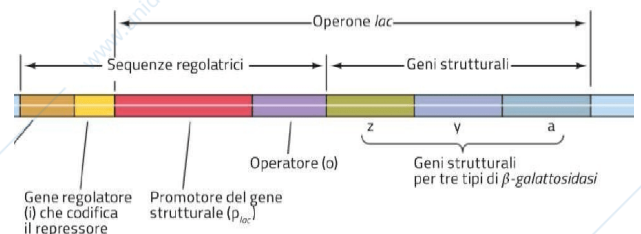
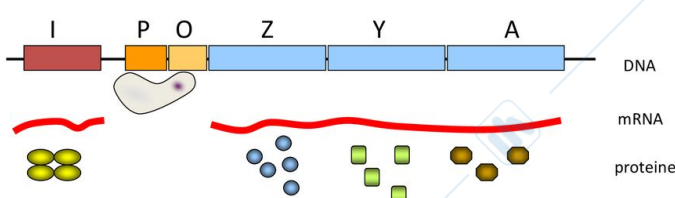
Capiscono che la **regolazione si basa su sequenze regolative che legano fattori trascrizionali.**

Crescita con glucosio e lattosio



Operone lattosio:

Ne fanno parte solo i geni che nell'immagine a fianco sono indicati dalla didascalia *operone lac*.



In assenza di lattosio i geni dell'operone lac NON sono espressi.

Questo perché (in condizioni normali) *lac I* è un gene costitutivamente espresso che codifica per il **repressore** dell'operone lac. Questo significa che **l'operone lac è regolato negativamente** (perché c'è un repressore!)

Lac Z codifica per la **beta galattosidasi**

martedì 13 ottobre 2020

Lac Y codifica per **galattoside permeasi** (per il trasporto dei prodotti di idrolisi del lattosio)

Lac A codifica per la **tiogalattoside transacetilasi**

In presenza di lattosio invece l'allolattosio (metabolita del lattosio) si lega alla proteina trascritta da lac I -> cambio conformazionale -> il repressore non è in grado di legare l'operatore.

[attenzione *lac I* non fa parte dell'*operone lac*]

*In quale modo possiamo rendere costitutiva la trascrizione dei geni dell'operone lac?*

- Mutazione di lac I (cosicché la sua proteina non riesce mai a legare l'operatore)
- Mutazione della sequenza dell'operatore

Esperimento:

Isolamento mutanti costruttivamente espressi -> **esperimento di trasformazione** (DNA estraneo introdotto nella cellula)

Costruiti dei **merodiploidi** (*diploidi parziali*) di Coli (organismo generalmente diploide) del gene lac I: una copia wild-type e una mutato (*lac I*<sup>-</sup>) per il gene lac I [geni lac costruttivamente espressi] in assenza di lattosio-> notano che le colonie NON producono beta-galattosidasi -> colonie wild-type

Capiscono che c'è qualcosa che viene prodotto dal gene *lac I* wild-type che diffonde e ha effetto anche sulle cellule mutate

Capiscono anche che *lac I*<sup>-</sup> è una **mutazione recessiva**

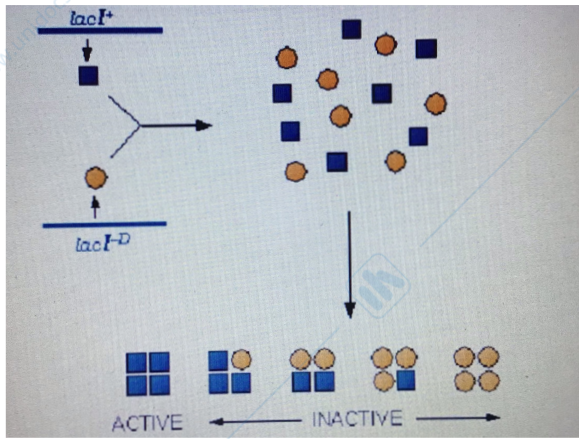
Repressore agisce **in trans** (ovvero diffonde)

Stesso esperimento costruendo un merodiploide con l'**operatore** mutato (che non lega mai il repressore) e l'operatore wild-type -> colonie mutate (trascrivono l'operone lac anche in assenza di lattosio) -> **OP: mutazione (cis) dominante**

Operatore agisce **in cis**.

Se invece muta lac I (**lac I<sup>S</sup>**) in modo che il repressore NON riesce a legare l'induttore (l'allolattosio) -> è una mutazione dominante -> questo perché lac I non è una proteina monomerică -> è un **tetramero** -> mutazione dominante.

Essendo lac I un tetramero: affinché possa funzionare deve avere 4 subunità (se non le ha tutte e 4 non funziona!). È meno probabile che funzioni perché è poco



martedì 13 ottobre 2020

probabile che abbia tutte e quattro le subunità funzionanti se creo un merodiploide con gene mutante lac I<sup>S</sup>.

Concetto di **mutazione dominante negativa** -> un prodotto mutato che interagisce con il wild-type cosicché è più frequente il prodotto mutato del wild-type

Proteina wild-type funziona solo con 4 quadrati. Proteina mutata (costituita da cerchi) non funziona mai.

Le subunità interagiscono tra loro -> quelle mutate se si associano con una o più subunità wild-type daranno sempre una proteina mutante (wild-type funziona solo se le 4 subunità sono tutte funzionanti).

Elementi in cis ed elementi in trans:

- *In cis* devono essere fisicamente collegati per avere effetto
- *In trans*: non hanno bisogno di essere fisicamente collegati -> sintetizzano un prodotto diffusibile

### Controllo positivo dell'operone lac:

Nella curva vista all'inizio capiamo che fino a che c'è glucosio anche se c'è lattosio, l'operone lac non è attivo

**Operone lattosio** dunque ha una **duplice regolazione: negativa e positiva!**

operone lac non ha sequenze -35 e -10 canoniche e la RNA pol ha poca affinità per l'operone lattosio -> se si lega trascrive male

Serve un **attivatore: cAMP** (ovvero AMP ciclico) + **CAP** -> stimola la trascrizione

La concentrazione di cAMP dipende dalla concentrazione di glucosio

A basse concentrazioni di glucosio -> trascrizione operone lac attiva

Elevate concentrazioni di glucosio impediscono la trascrizione

*Quando è attivo cAMP?*

**CAP** (fattore trascrizionale) lega **cAMP** e il complesso **CAP-cAMP (attivo)** si può legare all'operatore

martedì 13 ottobre 2020

Solo il complesso CAP-cAMP lega l'operone!! Soltanto CAP-cAMP lega l'operatore e permette la trascrizione!!

CAP si lega ad un elemento up subito a monte della sequenza -35.

Quindi la presenza di lattosio inibisce il repressore, ma l'operone lac NON ha una buona affinità con RNA pol -> serve un fattore trascrizionale (ovvero CAP).

Ma ad alte concentrazioni di glucosio -> determinano basse concentrazioni di CAP -> no trascrizione operone lac

**Operone lac: regolato negativamente** (per lac I) perché c'è un repressore ma anche **positivamente** (per CAP) perché c'è un attivatore

Importanza interazione proteina-proteina: CAP, quando legato a cAMP, può legare l'elemento up

Riassunto regolazione negativa e positiva operone lac:

Tanto glucosio e niente lattosio -> NON c'è trascrizione

Basso glucosio e niente lattosio -> NON c'è trascrizione

Tanto glucosio e presenza di lattosio -> bassa trascrizione (il glucosio abbassa la disponibilità di CAP -> ci sarà meno CAP-cAMP che si può legare all'operone)

Basso glucosio e presenza di lattosio -> operone lac molto trascritto