

# OPERONE TRIPTOFANO

L'operone triptofano è un operone anabolico, che inizia la sua attività quando manca la sostanza.

(si trovano nei siti attivi degli enzimi)

L'operone triptofano rappresenta un sistema di regolazione negativa in *E. coli*. Il gene che controlla questo operone è *trpR*, che è localizzato lontano dall'operone *trp* nel genoma di *E. coli*. *TrpR* è un aporepressore, cioè una proteina che da sola non è capace di legarsi al sito operatore, ma necessita di essere attivata dal legame con un cofattore, che in questo caso è il triptofano stesso.

Quando la cellula cresce in un terreno minimo, ha bisogno di esprimere i geni per la sintesi del triptofano: in questa condizione l'operone è trascritto, fornendo gli enzimi necessari per la sintesi dell'amminoacido triptofano. → *trnA* scarichi → blocco traduzione → si trascrizione

Quando invece, i batteri crescono in un terreno contenente triptofano, non è necessario (e energeticamente svantaggioso) che l'operone sia espresso; in questa condizione la proteina codificata da *trpR*, legata a una molecola di triptofano, cambia conformazione e riconosce e lega la sequenza operatore, reprimendo la trascrizione dell'operone *trp*.

si triptofano → *trnA* carichi → traduzione req. leader → no trascrizione

Un secondo livello di regolazione dell'espressione genica nell'operone *trp* è il sistema di attenuazione, che consiste nell'interruzione prematura della trascrizione, prima che i geni strutturali dell'operone siano trascritti.

La scoperta di questo sistema di regolazione è stata determinata grazie all'analisi del trascritto di mutanti nel gene *trpR*.

L'analisi del trascritto ha evidenziato che i primi 140 nucleotidi vengono trascritti con alta efficienza, poi la trascrizione è

soggetto ad una interruzione prematura. I suo nucleotidi che vanno dal sito promotore al punto di terminazione prematura non coprono i geni della catena metabolica e costituiscono quella che è stata chiamata la sequenza leader.

L'analisi della sequenza leader ha rivelato la presenza di una regione codificante per un polipeptide di 14 amminoacidi, preceduta da una Shine-Dalgarno per l'attacco dei ribosomi.

Inoltre sono state identificate 4 regioni di RNA che presentano parziale complementarietà tra loro 1 con 2 ; 2 con 3 ; 3 con 4.

L'appaiamento tra queste regioni è mutualmente esclusivo:

- configurazione 1 : 1 con 2 ; 3 con 4
- configurazione 2 : 1 ; 2 con 3 ; 4

Quindi la sequenza leader può assumere due conformazioni, che hanno un loro effetto sulla trascrizione.

### CONFIGURAZIONE ①

L'appaiamento 3:4 ; 1:2 determina una struttura a forca seguita da una file di U, tipica di un terminatore di trascrizione Rho - indipendente

### CONFIGURAZIONE ②

L'appaiamento 2:3 forma una configurazione che non induce la terminazione e la trascrizione prosegue a coprire l'intero operone

Quale evento determina l'assunzione, da parte del messaggero delle configurazioni ① o ② ?

dipende dalla traduzione della sequenza leader

Infatti nella sequenza leader sono presenti 4 amminoacidi, due dei quali sono codoni consecutivi per il triptofano (UGG), amminoacido raro nelle proteine anche in *E. coli*. Per tradurre questi due codoni bisogna che le batterio sia provvisto di tRNA<sup>Trp</sup> carichi di triptofano.

Se i tRNA<sup>Trp</sup> sono carichi

(sintomo che i livelli di Trp nella cellula sono sufficienti per avere l'amminocilazione dei tRNA<sup>Trp</sup>) la traduzione prosegue velocemente, il ribosoma copre la regione 1 e la 2 subito a valle e le regioni 3 e 4 si appaiano nella struttura di terminazione. Di conseguenza, la trascrizione si interrompe prematuramente evitando di produrre in anticipo enimi per la sintesi del Trp.

Se i tRNA<sup>Trp</sup> NON sono carichi

, il ribosoma staziona sui codoni UGG senza riuscire a trovare tRNA<sup>Trp</sup> carichi, la regione 1 viene esclusa dagli appaiamenti, la 2 si appaia con la 3 e si forma la configurazione di anti-terminazione. Il risultato è l'espressione dei geni strutturali dell'operone.