

# **Genetica microorganismelor**

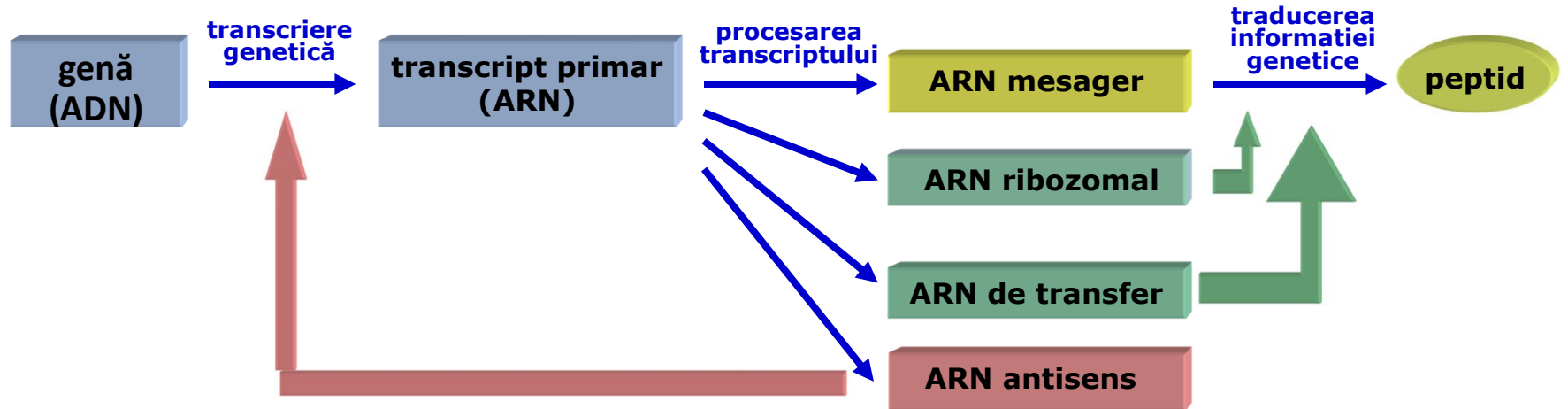
Oct 2017 – Ian 2018

**Reglajul exprimării genelor la PK**

**1 - Principii generale**

# REGLAJUL EXPRIMĂRII GENELOR

Exprimarea genelor presupune un flux de informație genetică



# Transcriere genetică (TG) = prima etapă în exprimarea genelor

Drumul de la ADN → proteine    Este de fapt ADN → ARN → proteine

TG = procesul de sinteză a moleculelor de ARN ca urmare a citirii informației codificată în moleculele ADN

TG “seamănă” cu replicarea, dar se sintetizează o catenă ARN și nu ADN;  
deci, în mod similar, este citită o catenă ADN (=catenă matriță),  
iar catena nouă este sintetizată pe bază de complementaritate cu matrița

TG este catalizată enzimatic de enzime denumite **ARN polimeraze**

PK – 1 specie moleculară de ARN pol / celulă

EK – 3 specii moleculare de ARN pol / celulă

Prin TG se sintetizează toate tipurile de ARN proprii celulelor: ARNm, ARNr, ARNt, ARNhn

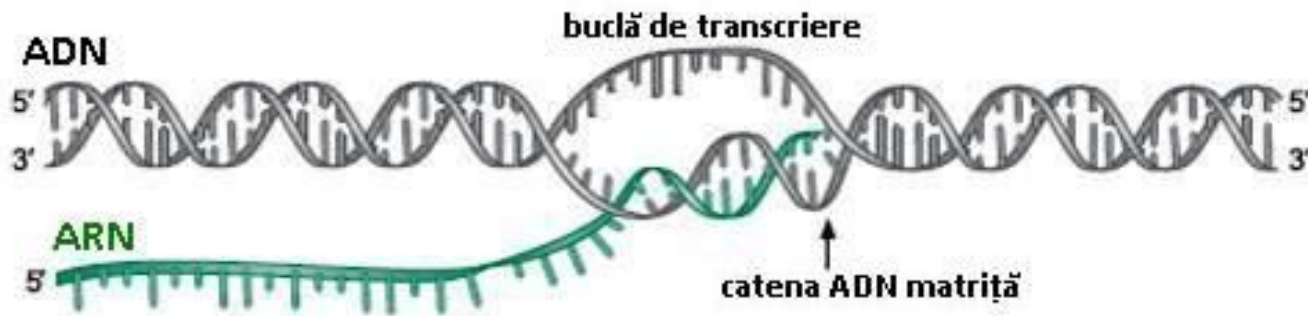
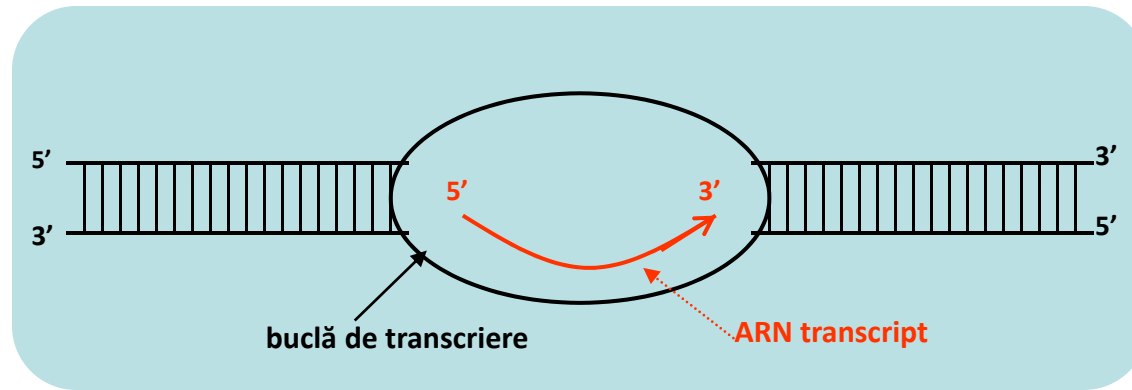
- molecula ARN rezultată prin transcriere, înainte de orice altă procesare, se numește **transcript primar**

- în celule, moleculele ARN sunt sintetizate pe bază de complementaritate, folosind drept matriță o catenă ADN

Nucleotide pe catena ADN matriță	Nucleotide pe catena ARN transcript
G	C
C	G
T	A
A	U

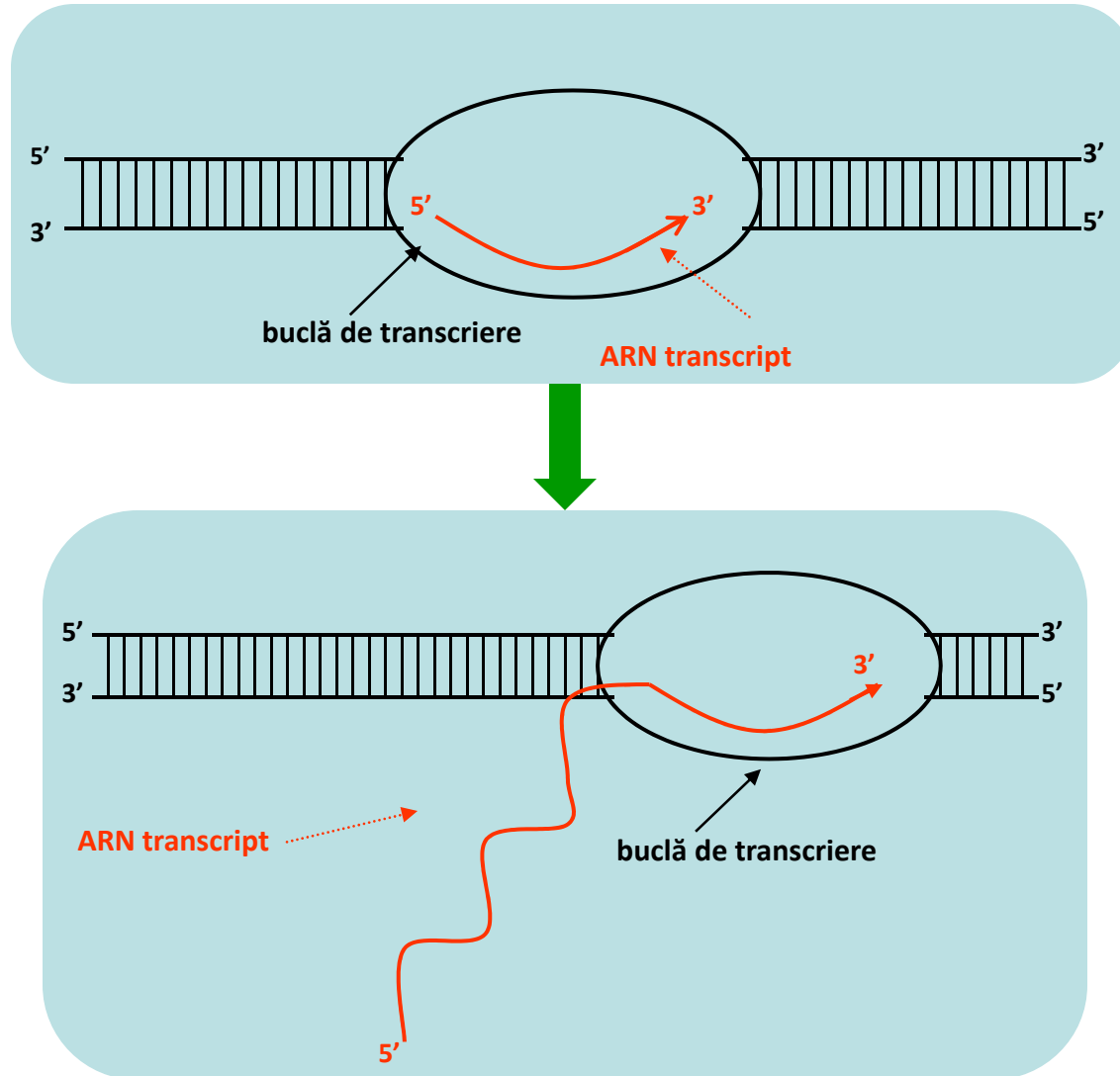
În contrast cu ADN polimerazele, ARN polimerazele nu necesită primer, pot atașa și primul nucleotid de pe catena nouă

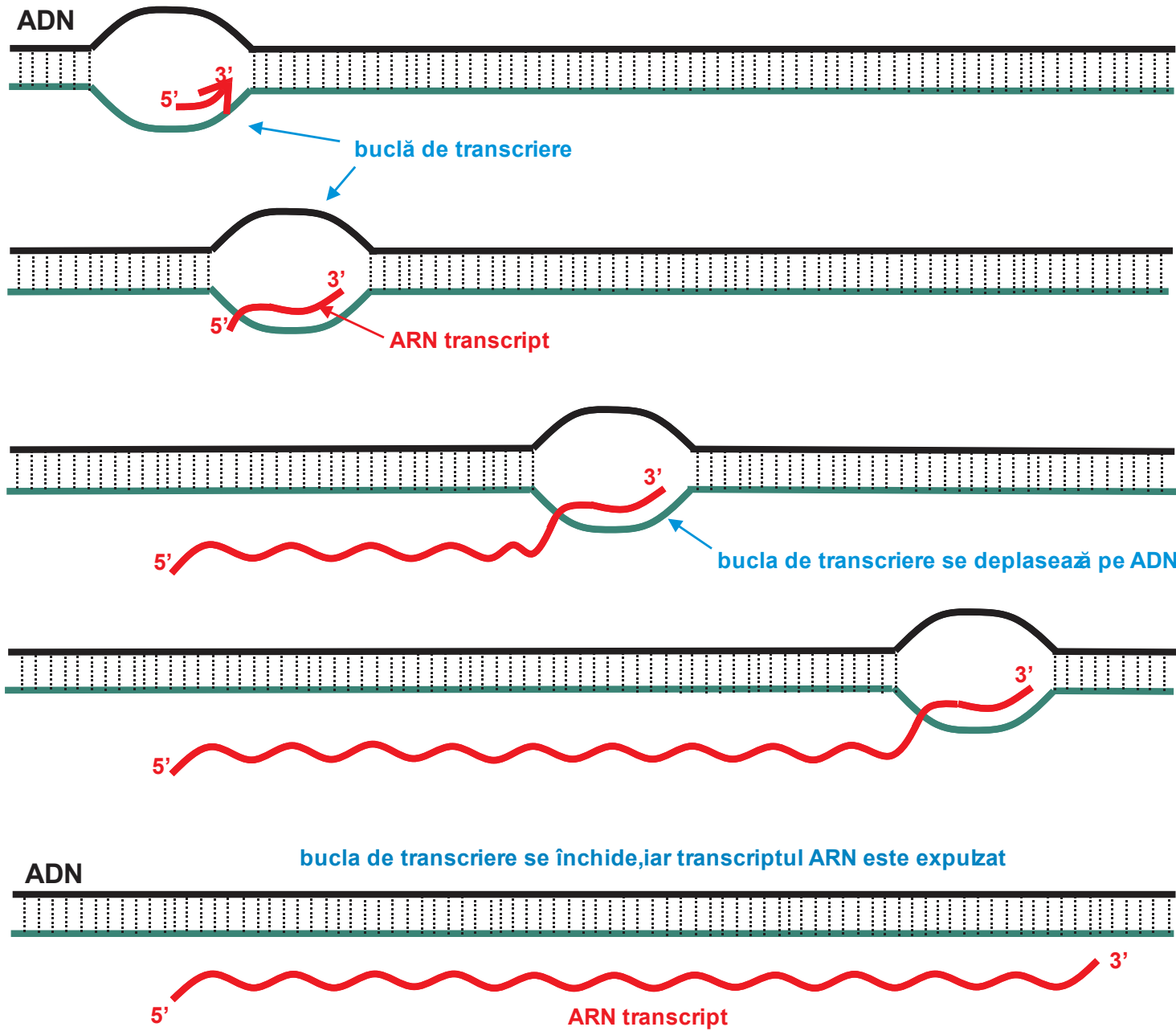
Transcrierea genetică se desfășoară în buclă de transcriere – zonă unde desface dublul helix ADN



## Catena ARN ce se sintetizează prin transcriere

- nu rămâne atașată la matrița ADN pe toată lungimea ei, ci doar pe un segment scurt, de ~ 15 nucleotide
- restul moleculei ARN "iese" din hibridul ARN : ADN





**În ansamblu, deși procesul de transcriere este suficient de corect**

**(corectitudinea se referă la complementaritatea ribonucleotidelor din catena ARN față de deoxiribonucleotidele din matrița ADN),**

**este totuși mai puțin acurat decât procesul de replicare.**

**Mecanismele de proofreading sunt mai puțin eficiente în transcriere, comparativ cu replicare**

**Transcriere – 1 nucleotid “greșit” / 10.000 nucleotide**

**Replicare – 1 nucleotid “greșit” / 10 milioane nucleotide**

**În replicare este copiat tot genomul**

**În transcriere este copiată informația doar de pe o singură catenă ADN, și doar din anumite regiuni ADN, denumite gene**

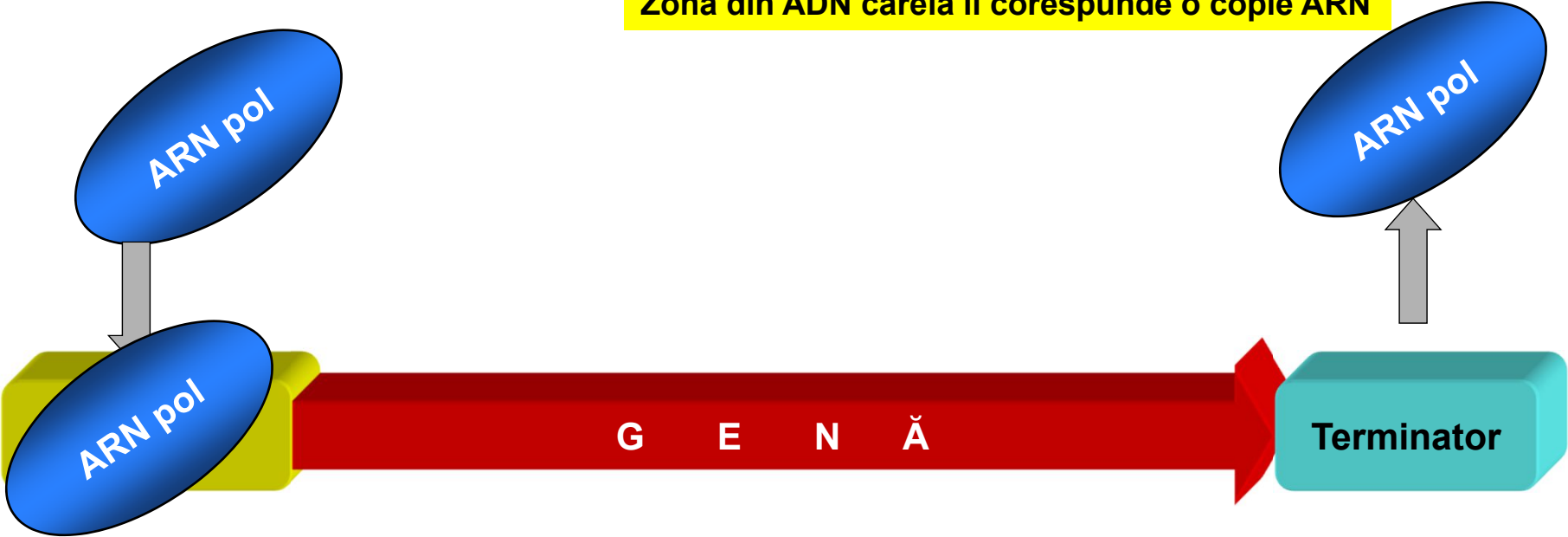
**Genă = regiune din ADN a cărei informație este copiată în ARN**

**ORF = Open Reading Frame = cadru deschis citirii = zonă ADN ce este transcrisă**

# Ce regiuni din ADN se transcriu ?

**G E N Ă**

Zonă din ADN care codifică pentru o proteină / ARN  
Zonă din ADN căreia îi corespunde o copie ARN



O zonă din ADN cuprinsă între un promotor și un terminator poartă numele de **unitate de transcriere**  
Catena folosită ca matriță ptr sinteza unui transcript este complementară cu el și = **catenă antisens**  
Catena ne-matriță este denumită catenă codificatoare sau **catenă sens**

Transcrierea începe de la un **PROMOTOR** și se termină la un **TERMINATOR**

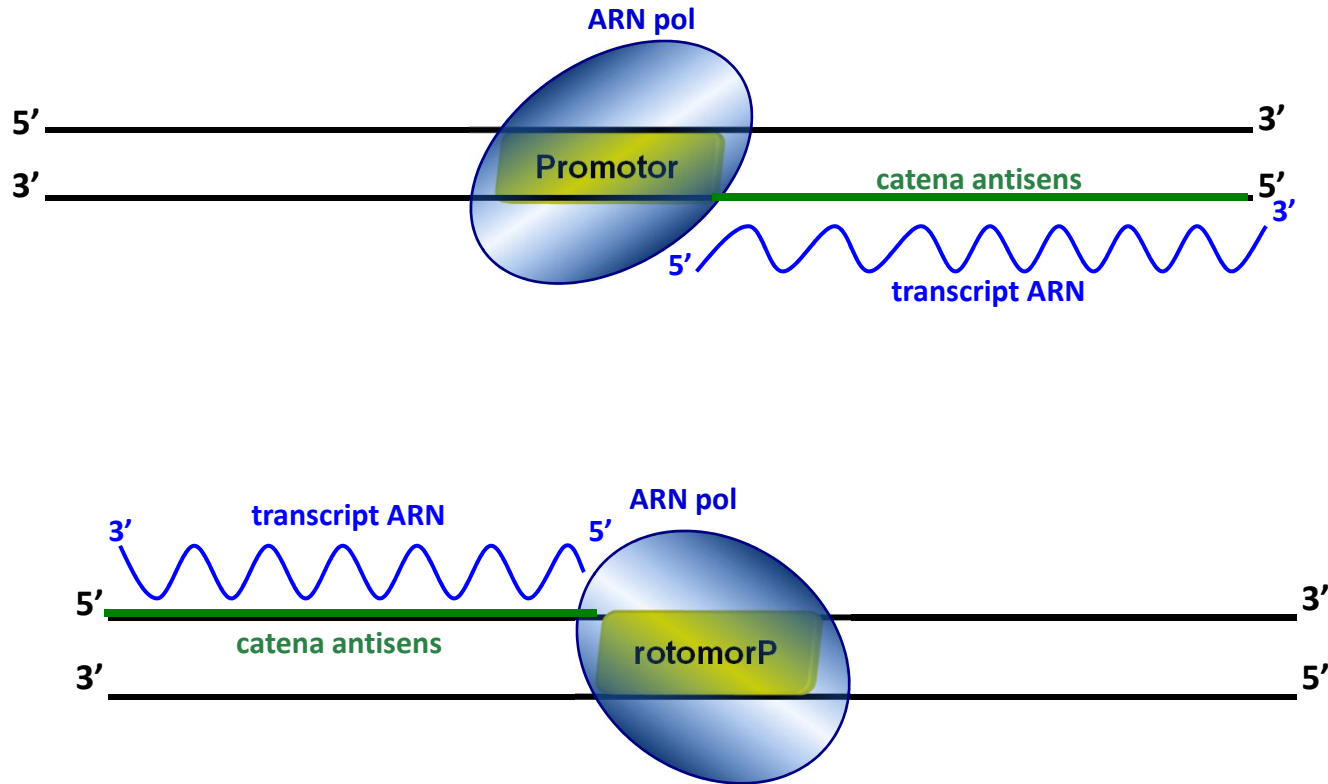
La EK fiecare genă are un promotor și, respectiv, un terminator.

La PK, unele gene au promotor și terminator, alte gene nu au promotor propriu (sunt transcrise mai multe gene pornind de la un același promotor)



Pe o aceeași moleculă ADN, unele gene sunt transcrise folosind o catenă drept matriță, iar alte gene sunt transcrise folosind cealaltă catena ca matriță.

Acest lucru este determinat de modul în care se așează ADN pol pe molecula ADN



Ca și ADN polimerazele, și ARN polimerazele sintetizează legăturile fosfo-diesterice din catena nouă în direcția 5' → 3'. În cazul procesului de transcriere, funcție de orientarea ARN polimerazei, este citită una sau cealaltă din cele două catene ale moleculei ADN

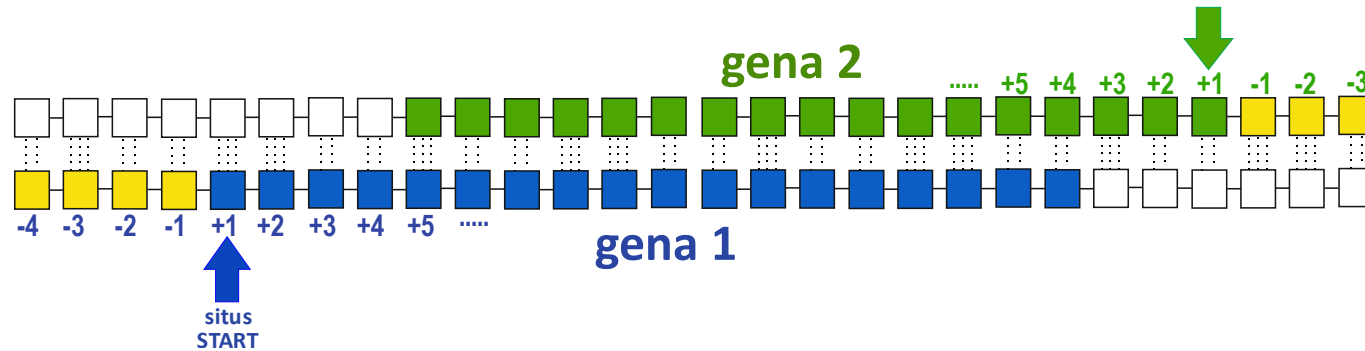
## Convenții internaționale de notare

**Orice regiune ADN dc cu secvență cunoscută se poate lista doar pe o singură catenă, cealaltă fiind cunoscută prin complementaritate**

**Astfel, se scrie doar secvența catenei 5' → 3', de ex.: 5'-ATTGCCAATGGA-3'**

**Mai mult chiar, de foarte multe ori nu se mai scriu și cifrele 5', 3'**

**Pentru fiecare regiune ADN transcrisă, nucleotidele se numerotează astfel:**



- |           |  |
|-----------|--|
| +1        | Primul nucleotid din catena ADN matriță care este citit și căreia îi corespunde primul nucleotid în transcriptul ARN; acest prim nucleotid citit mai este numit și SITUS START |
| +2 ... +n | Următoarele nucleotide din catena ADN matriță citite, aflate în aval ( <i>downstream</i> ) față de primul nucleotid citit  |
| -1 ... -n | Nucleotidele de pe catena matriță aflate în amonte ( <i>upstream</i> ) față de cadrul de citire, importante ptr gena considerată   |

La EK, majoritatea genelor au promotor propriu și sunt transcrise în unități distincte, procesul fiind denumit **transcriere monocistronică**

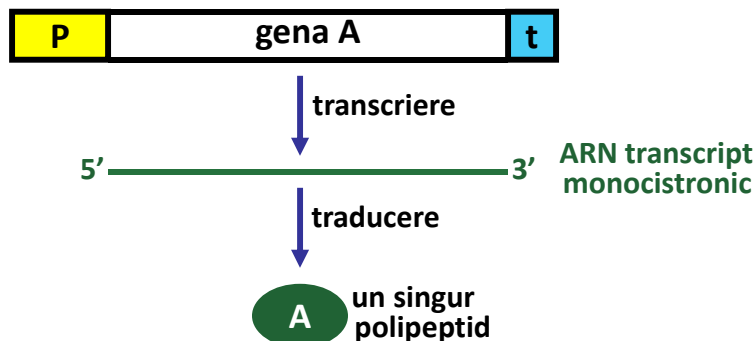
La PK, { unele gene (mai ales cele reglatoare) au promotor propriu și sunt transcrise prin T monocistronică;  
foarte multe gene însă, nu au P propriu, ci sunt cotranscrise prin **transcriere policistronică**

O unitatea de transcriere = 1 genă



Transcriere monocistronică

(A) Transcriere monocistronică

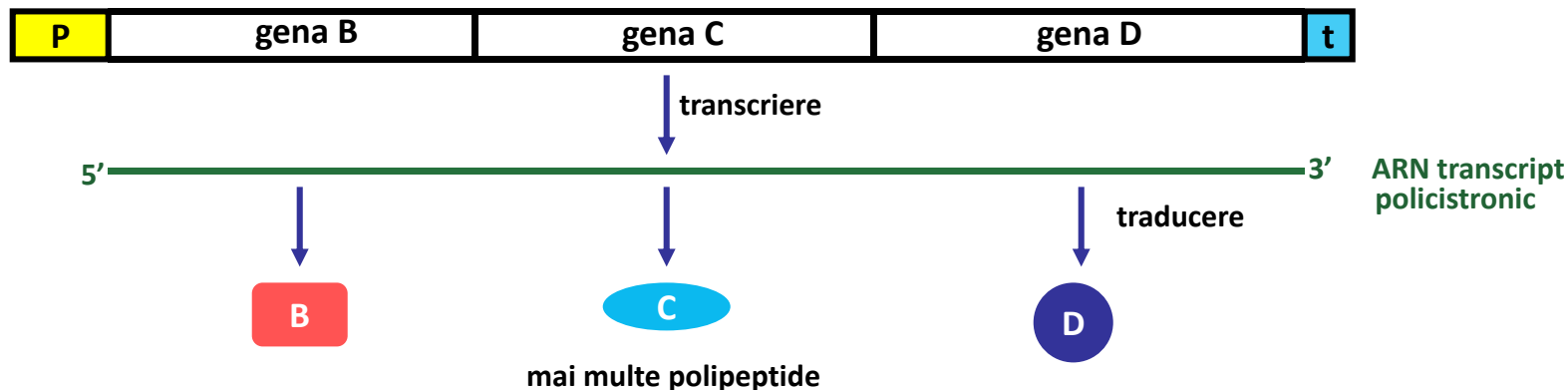


O unitatea de transcriere = mai multe gene



Transcriere policistronică

(B) Transcriere policistronică



# ARN polimeraze

= enzime ce sintetizează molecule ARN, prin formarea legăturilor fosfodiesterice între ribonucleotide, în direcție 5' → 3'

Spre deosebire de ADN polimeraze, ARN polimerazele **NU** necesită primer – pot atașa și primul nucleotid

Se atașează la molecula ADN, la secvențe de tip PROMOTOR

## ARN polimeraza de la PK

PK

1 singură specie moleculară de ARN polimerază ~ 7000 molecule / celulă

Sintetizează toate speciile moleculare de ARN celular: mesager (ARNm), ribozomal (ARNr), de transfer (ARNt) etc

Este formată din 4 tipuri de subunități, codificate de gene diferite, cu formula generală :  $2\alpha-\beta-\beta'-\sigma$

$\alpha$  (alpha) → { asamblarea subunităților ARN polimerazei  
se atașează la regiunea UP din promotori ( $\alpha$ -CTD)  
funcționează ca dimer } = {  $\alpha$ -CTD (carboxy-terminal-domain)  
linker flexibil  
 $\alpha$ -NTD (amino-terminal-domain)

$\beta$  (beta) → formarea legăturilor fosfo-diesterice dintre ribonucleotide

vezi slide-ul următor

$\beta'$  (beta prim) → afinitate chimică ptr ADN, se atașează situs-nespecific

$\sigma$  (sigma) → { recunoaște specific regiunile promotor (secvențele celor 2 hexameri) și se atașează la ele  
desface dublul helix ADN, fără intervenția helicazei  
după terminarea fazei de inițiere a transcrierii, se desprinde,  
iar restul subunităților desfașoară elongarea și terminarea transcrierii

# Etapele transcrierii genetice la PK

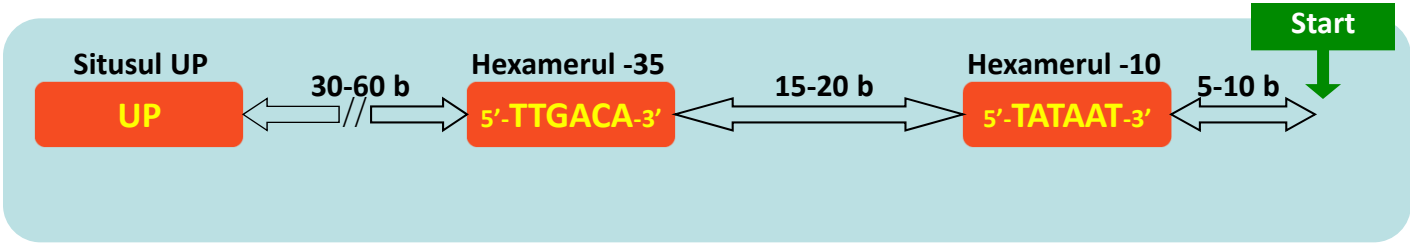
Atât la PK, cât și la EK, un ciclu de TG - începe de la regiuni numite PROMOTORI  
continuă și se desfășoară pe regiuni deschise citirii  
se termină în regiuni numite TERMINATORI

La toate tipurile de organisme, un ciclu de transcriere este format din 3 etape: **inițiere, elongare, terminare**

## Inițierea transcrierii la PK

Regiunile promotor = regiuni unde atașează ARN polimerazele și, respectiv,  
unde are loc deschiderea dublului helix ADN  
unde se formează bucla de transcriere

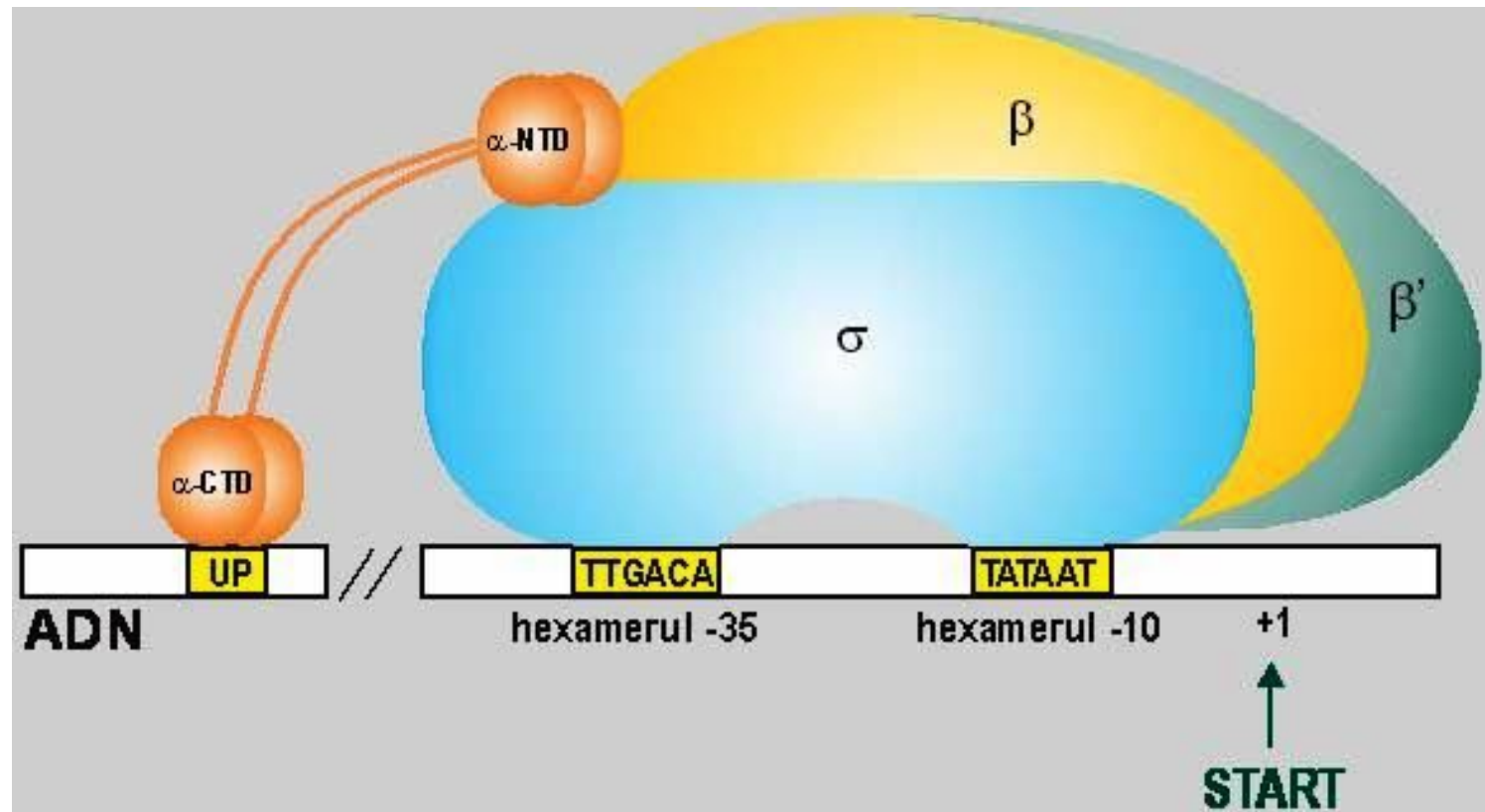
Structura promotorilor la PK include secvențe **consensus**, recunoscute de subunități ale ARN polimerazelor



Structura promotorilor la PK

La PK secvențele consensus recunoscute de subunități ale ARN pol sunt:

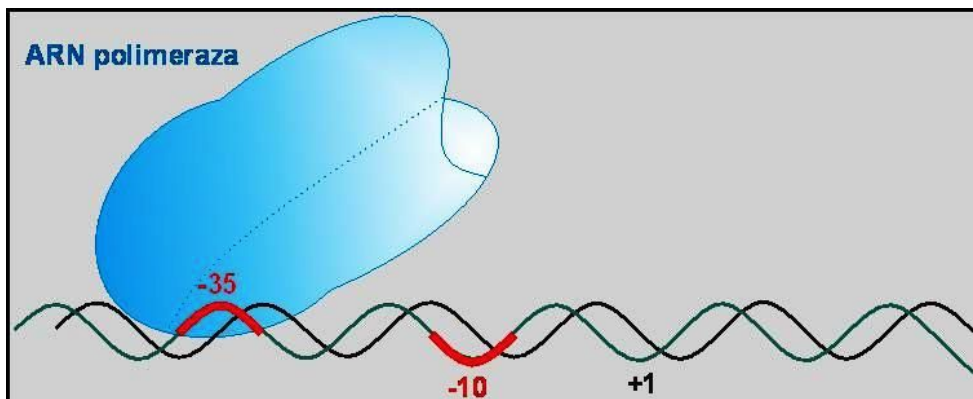
- hexamerul -35 = o secvență hexamerică (formată din 6 pb) localizată în poziția -35    TTGACA ← recunoscut de  $\sigma$
- hexamerul -10 = o secvență hexamerică (formată din 6 pb) localizată în poziția -10    TATAAT ← recunoscut de  $\sigma$
- situsul UP = o secvență de ~ 20 pb, cu localizare variabilă -40 ... -80 pb de situsul +1    ← recunoscut de  $\alpha$ -CTD



Schema ARN polimerazei de la procariote și atașarea acesteia la regiuni promotor

La PK, inițierea transcrierii se desfășoară în 3 stadii: **Promotor închis I / Promotor închis II / Promotor deschis**

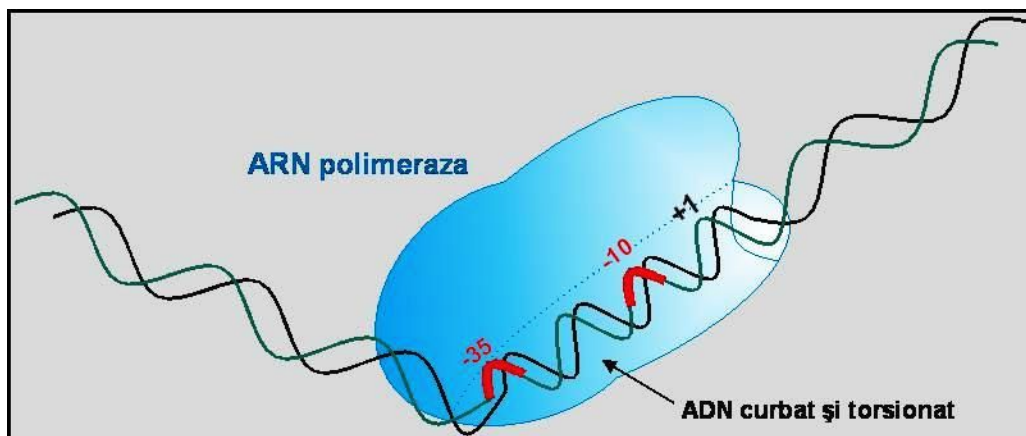
I. ARN polimeraza, respectiv, subunitatea  $\sigma$ , se atașează la hexamerul -35 → **Promotor închis I**



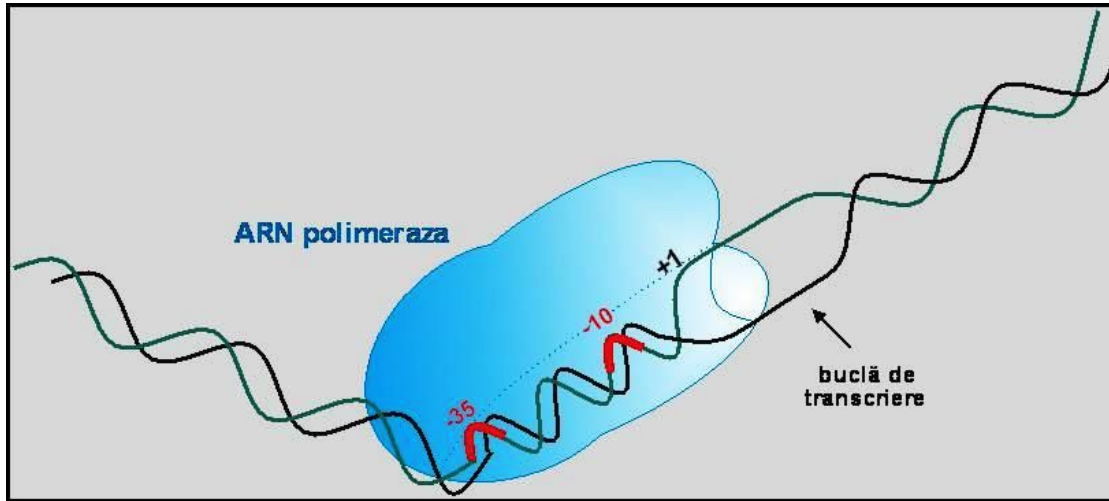
II. ARN pol se așează pe ADN, cuprinzându-l; se atașează și la hex -10

Dar cei 2 hexameri nu sunt orientați optim față de situsurile de atașare la  $\sigma$   
Ptr a se atașa stabil la cei 2 hexameri,  $\sigma$  distorsionează molecula ADN  
Ca urmare, ADN-ul este curbat și torsionat între cei 2 hexameri

→ **Promotor închis II**



III. Tensiunea torsională este eliberată prin deschiderea dublului helix, 15-20 pb, regiune ce cuprinde și situsul start +1; se formează astfel **bucă de transcriere** → Promotor deschis



La organismele procariote, primul ribonucleotid atașat în transcript este ATP/GTP

După sinteza a 8-10 ribonucleotide,  $\sigma$  se desprinde din complex, miezul enzimei ARN polimerază desfășoară în continuare singur reacția de polimerizare, cu formarea legăturilor fosfodiesterice dintre ribonucleotide.



## Elongare transcrierii la PK

Molecula de ARN crește în direcția 5' → 3', reacția fiind catalizată de subunitatea  $\beta$

- bucla de transcriere se deplasează pe molecula de ADN
- transcriptul ARN nu este menținut în hibrid pe toată lungimea lui, ci doar pe aprox. 12 b

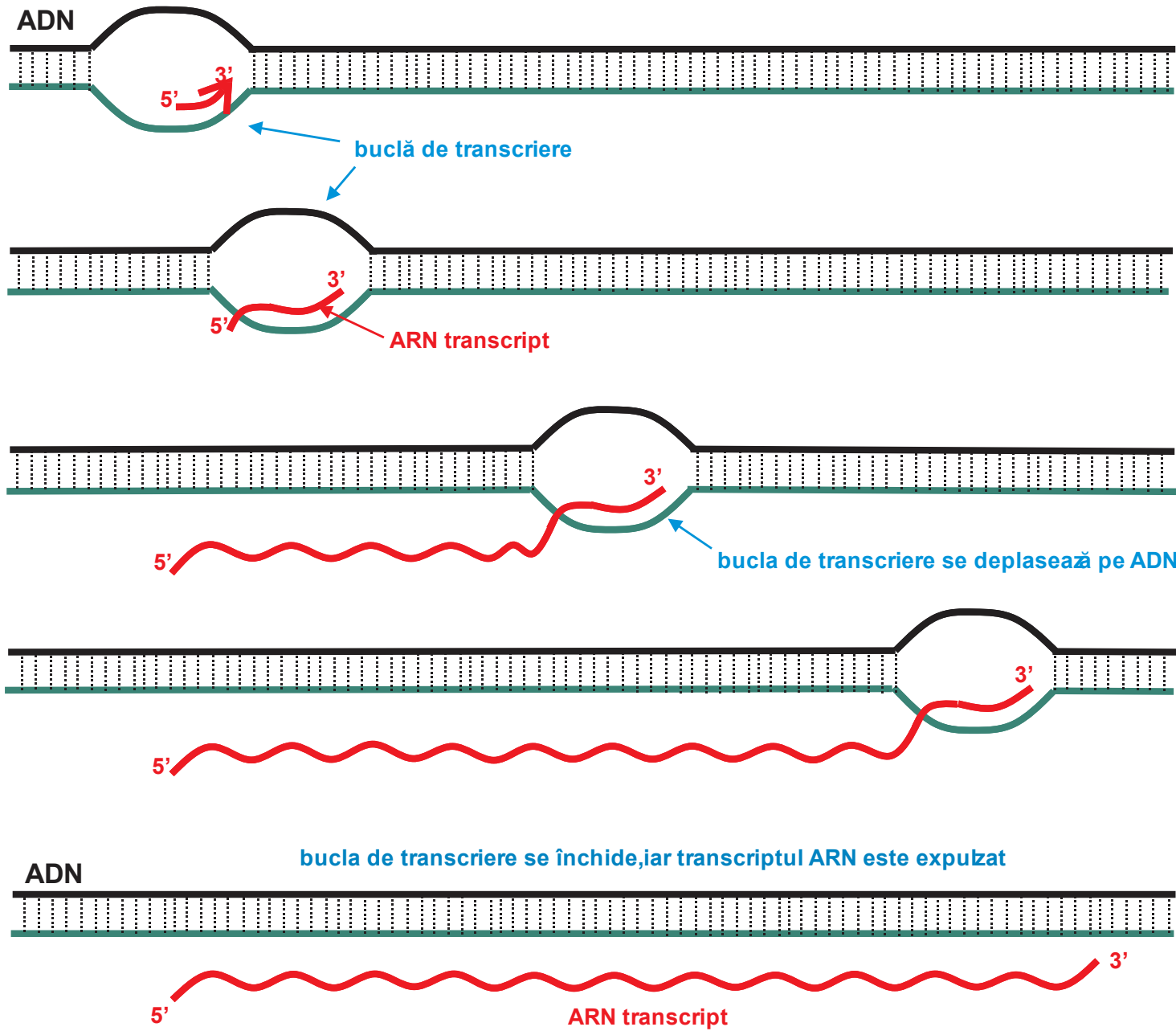
După ce ARN pol a trecut de regiunea promotor, acesta se închide, iar la el se poate atașa o altă moleculă de ARN pol

ARN pol de la *E.coli* are o rată de polimerizare de aprox. 30-40 nucleotide / secundă la 37°C

În faza de elongare, ARN pol de la PK desfășoară și activitate de proof-reading, prin 2 mecanisme:

- editare pirofosforolitică : ARN pol îndepărtează un ribonucleotid încorporat incorect
- editare hidrolitică : ARN pol se deplasează înapoi pe transcript cu unul sau mai multe ribonucleotide, taie o porțiune de transcript, îndepărtează regiunea cu eroare și reia apoi procesul de sinteză; în această reacție, ARN pol este asistată de proteina Gre

În transcrierea multor gene de la PK, în etapa de elongare participă un set de proteine cu rol de factori de elongație, dintre care cel mai important este proteina NusG care crește procesivitatea ARN polimerazei (rol similar cu cel al peptidului  $\beta$  – *sliding clamp* în procesul de replicare).



# Terminarea transcrierii la PK

ARN polimeraza se deplasează pe molecula ADN și transcrie până ajunge în regiunea unui terminator.

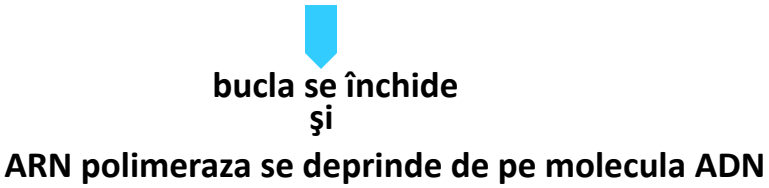
O secvență ADN de tip terminator este formată din :

- 2 copii poli-GC repetate invers, ce prezintă complementaritate intracatenară
  - 4-10 adenine, ce formează un așa-numit semnal de terminare;
- legăturile de H dintre A de pe matrița ADN și U de pe transcriptul ARN sunt extrem de slabe

În molecula de ARN regiunea formată din cele 2 copii poli-GC → o structură în ac-de-păr (*hairpin*) care blochează înaintarea ARN pol



Legăturile de H din regiunea hibridă A ...U sunt instabile → transcriptul este expulzat din bucla de transcriere



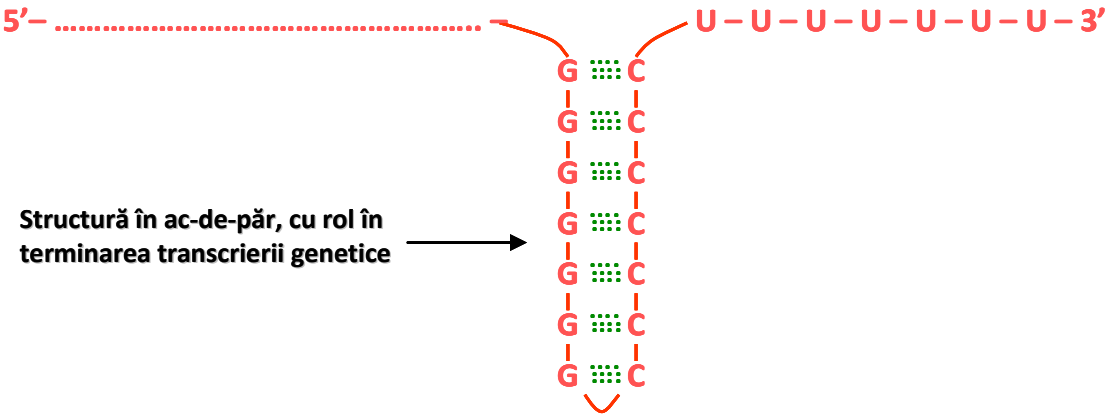
În acest mod este terminată transcrierea genetică.

Se constată deci că, deși regiunile terminator sunt definite pe molecula ADN, funcția de terminare a transcrierii o are transcriptul ARN

Funcție de gradul de complementaritate intracatenară, la PK au fost descrise două clase de terminatori :

terminatori Rho-independenți

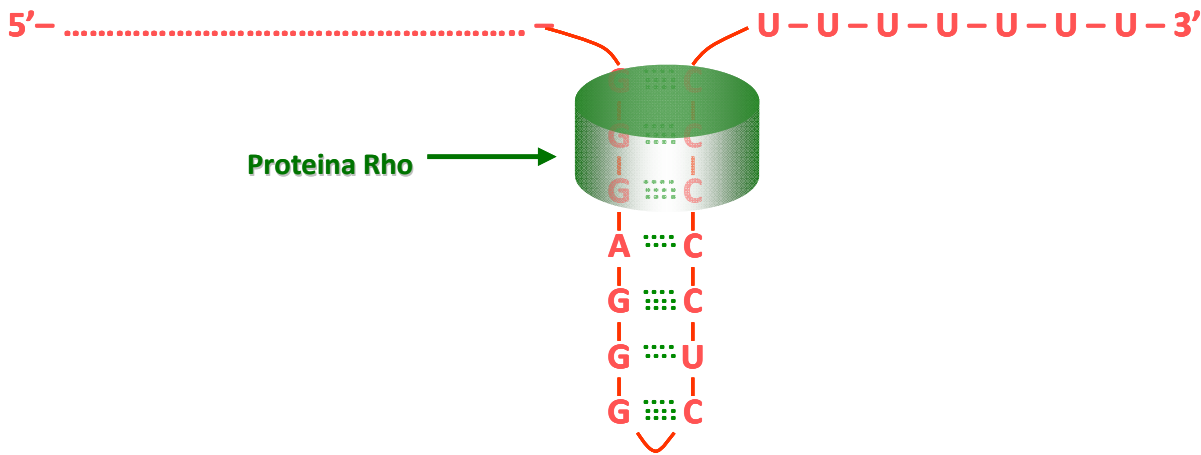
- complementaritatea intracatenară este perfectă  
→ structura *hairpin* este stabilă fără intervenția vreunei proteine



Structură în ac-de-păr, cu rol în terminarea transcrierii genetice

terminatori Rho-dependenți

- cele două copii poli-GC nu prezintă o complementaritate intracatenară perfectă  
→ structura *hairpin* este instabilă → stabilizată de proteina Rho (de la litera grecească r)



## Operoni

La PK unele gene nu au promotor propriu, ci sunt cotranscrise pornind de la un același promotor (transcriere policistronică).

Exprimarea genelor transcrise policistronic este astfel reglată unitar.

Asemenea unități de exprimare genică poartă numele de **operoni**.

În general, chiar și la organisme de tip PK, procesele de reglaj genetic nu sunt de tip calitativ (*on/off*), ci de tip cantitativ, reglându-se rata de transcriere a unei gene sau mai multor gene per unitate de timp.

În ansamblu, mecanismele de reglaj genetic au la bază interacțiuni între anumite regiuni din molecula de ADN și alte molecule, în majoritatea cazurilor proteine, dar și ARN.

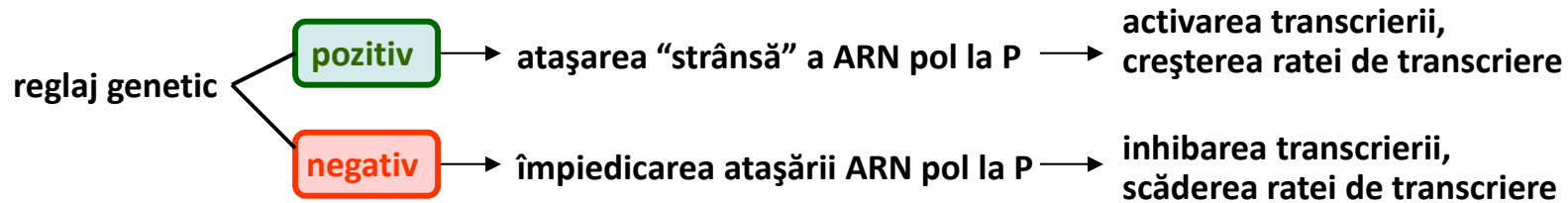
reglajul genetic este de tip cantitativ (și nu de tip calitativ)  $\longrightarrow$  este reglată **RATA** de exprimare a genelor

expresia genelor presupune mai multe etape, prima este etapa de transcriere genetică

la PK există 1 singură specie moleculară de ARN pol / celulă  $\longrightarrow$  transcrie toate tipurile de gene

ARN pol = 4 tipuri de subunități  $2\alpha - \beta - \beta' - \sigma$ , se atașează la P  $\left\{ \begin{array}{l} \sigma \longrightarrow \text{cei 2 hexameri, -35 și -10} \\ \alpha\text{-CTD} \longrightarrow \text{UP} \end{array} \right.$

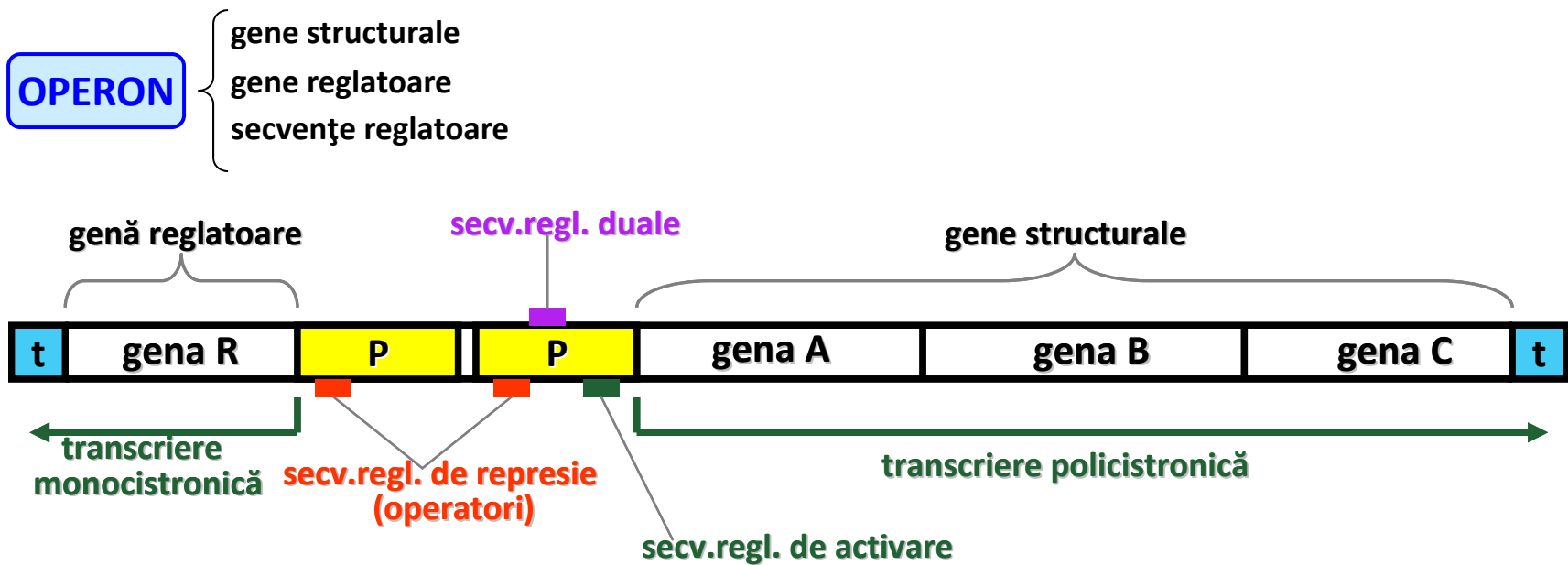
Interacțiunea dintre ADN  $\longleftrightarrow$  proteine/ARN  $\longrightarrow$  reglaj genetic



Maj.genelor sunt reglate atât prin mecanisme **pozitive**, cât și **negative**

La PK adaptarea rapidă la schimbări de mediu  $\longleftarrow$  schimbări metabolice rapide  $\longleftarrow$  reglaj rapid al exprimării multor gene

**OPERON**



Funcție de tipul de reglaj genetic, operonii se clasifică în:

operoni inductibili - exprimați în prezența unor mecanisme / molecule inductoare; reglaj pozitiv  
(nu sunt exprimați constitutiv)

operoni represibili - exprimați constitutiv fără mecanisme/molecule activatoare; reglaj negativ, de represie

Maj. operonilor bacterieni sunt reglați atât prin mecanisme de **activare**, cât și de **represie**

represia genetică nu este niciodată totală ➡ operonii sunt exprimați chiar și în stare represată, dar cu o rată minimă (diferă funcție de operon)

### nivele de reglaj genetic

- reglaj pe o genă
- reglaj pe operon
- reglaj pe reguloni
- reglaj pe stimulon
- reglaj global

# MECANISME DE REGLAJ GENETIC GLOBAL LA PK

## (a) cu ajutorul subunității $\alpha$ a ARN polimerazei

- recunoaște regiunea UP din structura promotorilor și se atașează situs-specific la ea
- funcție de secvența de nucleotide din UP,  $\alpha$ -CTD se atașează suficient de “strâns”, fără intervenția vreunei alte proteine; este cazul operonilor puternici (de ex. operonii *rrn* – ARNr și ARNt), care au o rată ridicată de transcriere în mod constitutiv
- acolo unde regiunea UP nu are secvența “perfectă”, atașarea subunității  $\alpha$ -CTD este ajutată de alte proteine

## (b) reglaj genetic global cu ajutorul subunitatii $\sigma$ a ARN polimerazei

- dintre cele 4 subunități ale ARN pol, subunitatea  $\sigma$  este cea care asigură specificitatea de atașare la P
- afirmația cf. căreia în fiecare celulă bacteriană există o singură specie moleculară de ARN pol este, de fapt, adevărată ptr subunitățile  $\alpha$ ,  $\beta$  și  $\beta'$
- în fiecare celulă PK există mai multe specii moleculare de subunitate  $\sigma$
- fiecare specie moleculară de  $\sigma$  recunoaște și se atașează la alte secvențe de nucleotide din hexamerii -35 și -10 (nu toți promotorii au aceleași nucleotide în cei 2 hexameri)
- fiecare specie moleculară de  $\sigma$  este folosit în diverse condiții de mediu, funcție de ce seturi de gene trebuie transcris

Cele mai importante specii moleculare de subunitate  $\sigma$  la *E.coli*

Notăție	g.m. [kDa]	Genă codificatoare	Condiții de mediu	Secvențe recunoscute în:	
				hex -35	hex -10
$\sigma^{70}$	70	<i>rpoD</i>	Condiții generale; asigură funcționarea normală a celulei	TTGACA	TATAAT
$\sigma^{32}$	32	<i>rpoH</i>	Șoc termic	TCTCNCCCTTGAA	CCCCATNTA
$\sigma^{60}/\sigma^{54}$	60	<i>rpoN</i>	Cantități insuficiente de N	CTGGNA	TTGCA
$\sigma^{24}$	24	?	Șoc termic extrem	?	?



### (c) reglaj genetic bazat pe proteina activator CAP

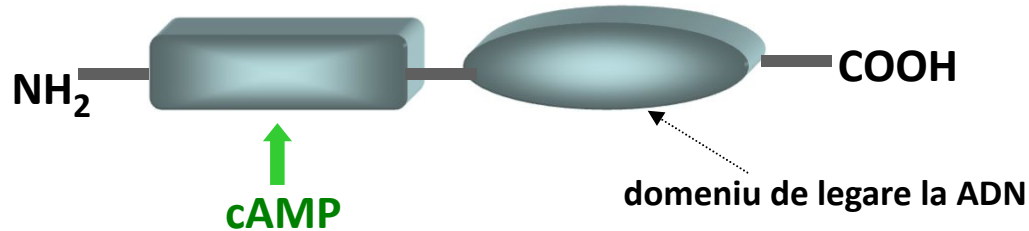
Proteina CAP (CAP = Catabolite Activator Protein sau CRP = Catabolite Receptor Protein)

g.m. = ~ 22500 Da; structură de tip “*helix-turn-helix*” (HTH); funcționează ca dimer → 45000 Da

- se atașează la ADN, situs-specific, la o secvență de 22 bp (5'-AAATGTGATCTAGATCACATTT-3')
- permite celulelor PK să folosească surse alternative de carbon, atunci când în mediu nu există / nu *mai* există glucoză

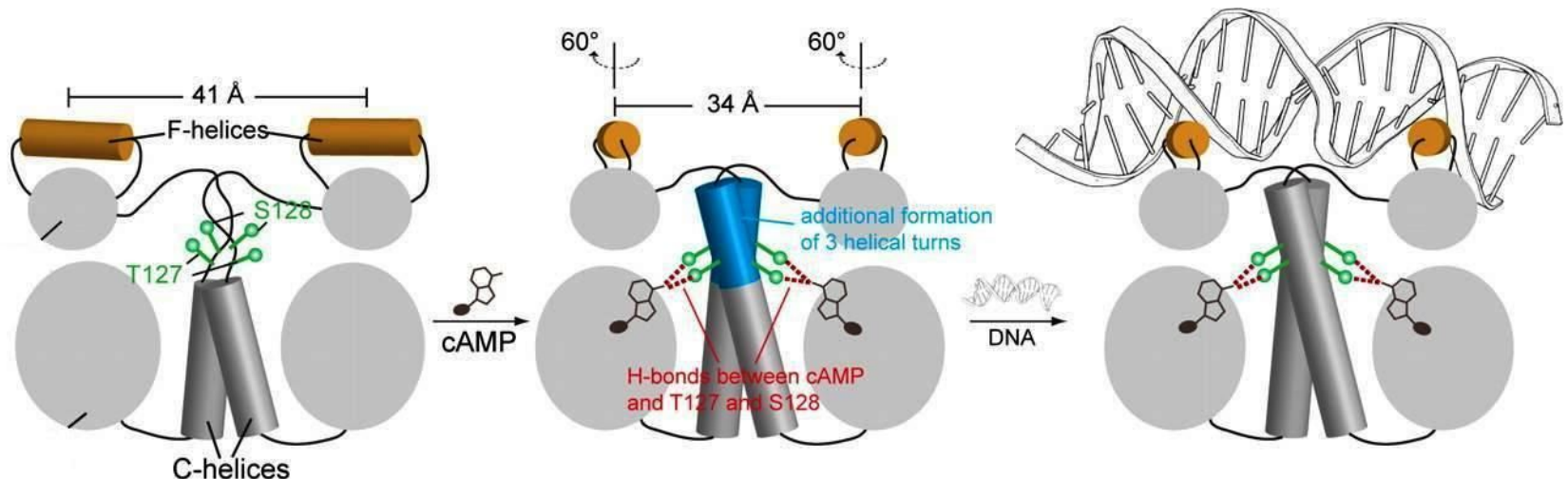
CAP are două domenii

- capătul NH<sub>2</sub>-terminal : are capacitatea să lege cAMP
- capătul COOH : recunoaște secvența specifică din molecula ADN și se atașează la aceasta



Când domeniul amino al dimerului CAP leagă → activarea domeniului carboxi

prin modificarea conformației sterice a acestuia, permițând atașarea la ADN într-o manieră situs specifică



atașarea CAP la ADN → curbarea ADN cu 90°

# Mecanismul prin care proteina CAP activează transcrierea

siturile de ataşare a CAP se află în regiunile de tip P, lângă secvenţele UP

CAP se poate ataşa şi la  $\alpha$ -CTD, favorizând legarea acestuia la regiuni UP cu secvenţă “imperfectă”

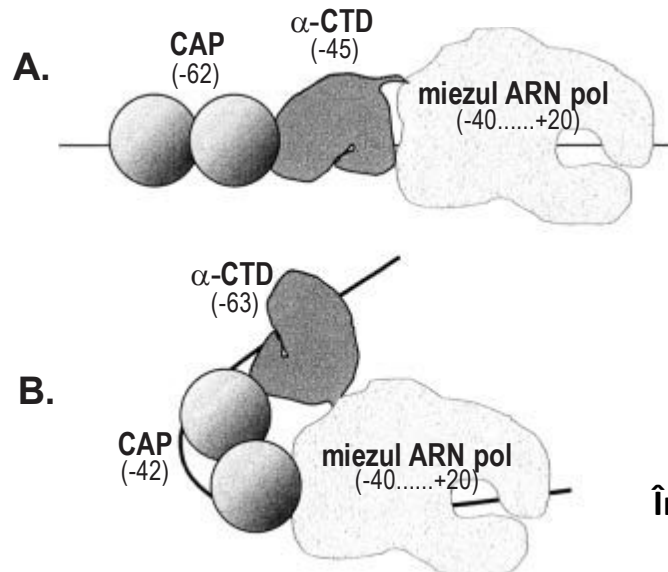
(situaţie întâlnită la operonii implicaţi în metabolizarea unor alte surse de carbon în afară de glucoză - lactoză, arabinoză, maltoză, xiloză etc)

Operonii activaţi de CAP se împart în 3 grupe :

operoni din *clasa I* : situsul ptr CAP este în amonte faţă de situsul UP  
activarea are loc atunci când proteina CAP ataşează cele două subunităţi  $\alpha$ -CTD

operoni din *clasa II* : situsul ptr CAP este în aval faţă de UP (între UP şi hexamerul -35)  
activarea are loc când CAP leagă şi  $\alpha$ -CTD şi  $\sigma$

operoni din *clasa III* : situsul ptr CAP este în aval faţă de UP (între UP şi hexamerul -35)  
situsul UP are secvenţă “perfectă” şi  $\alpha$ -CTD se leagă singur la UP  
activarea are loc când CAP leagă subunitatea  $\sigma$



În figură sunt reprezentate doar primele 2 clase de operoni

# **Genetica microorganismelor**

Oct 2017 – Ian 2018

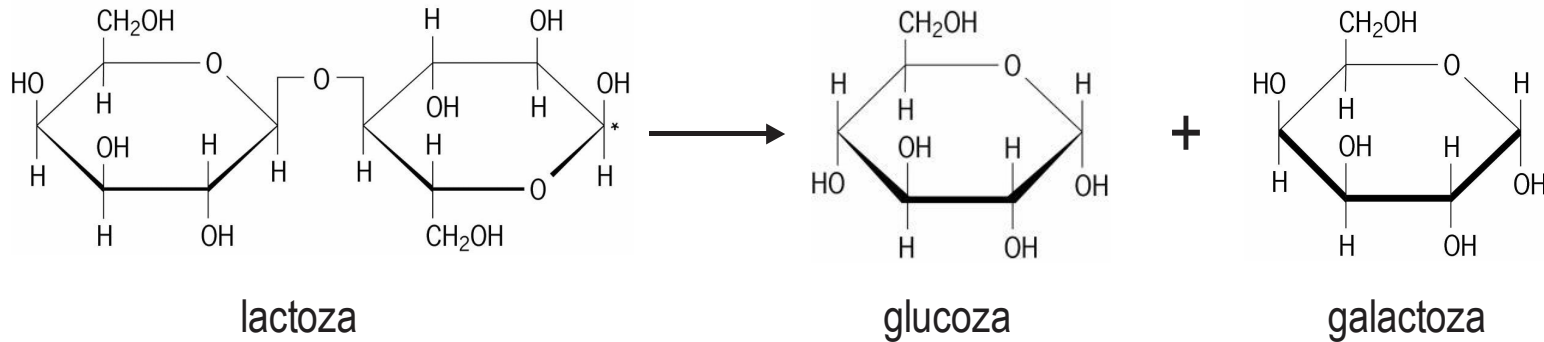
**Reglajul exprimării genelor la PK**

**2 – Operonul LAC**

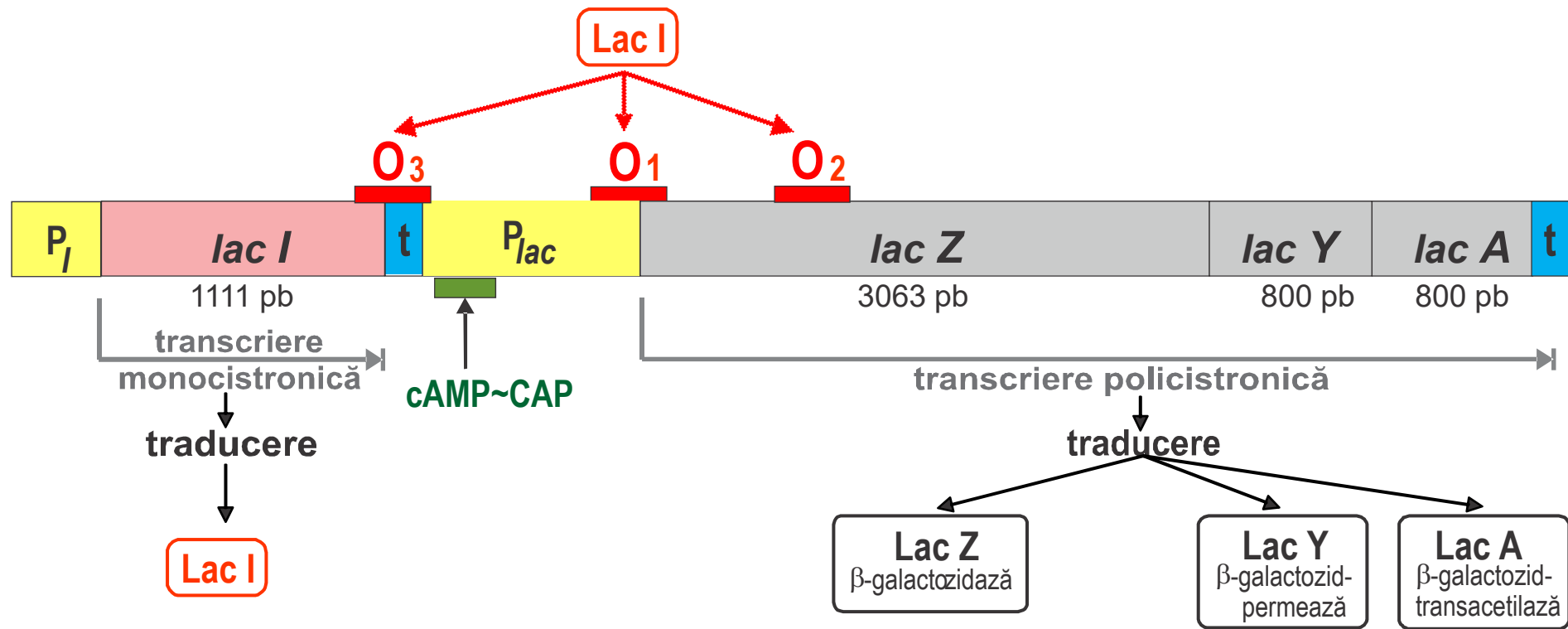
# Operonul LAC

Lactoza = sursă alternativă de C în lipsa glucozei

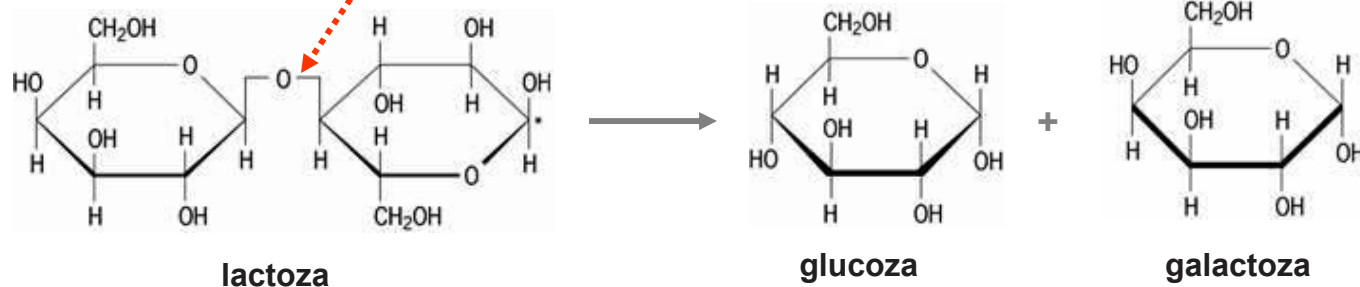
Operonul LAC de la *E.coli* = gene ce permit celulelor bacteriene utilizarea lactozei ca sursă de carbon, atunci când în mediu NU există glucoză



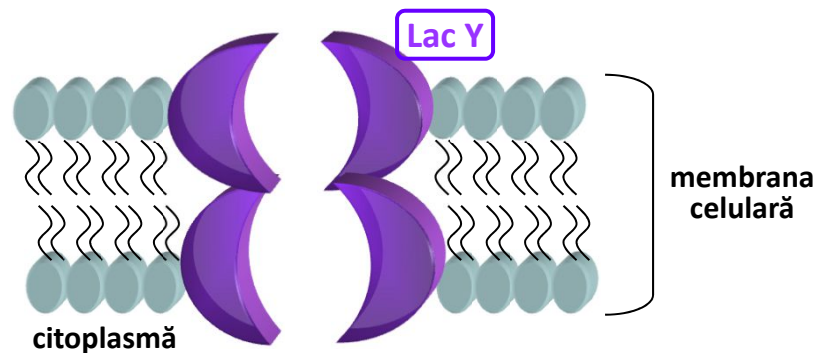
- ▶ trei gene structurale (*lac Z*, *lac Y*, *lac A*), transcrise policistronic de la un promotor denumit *P<sub>lac</sub>*
- ▶ o gena reglatoare (*lac I*), transcrisă monocistronic de la promotorul *P<sub>i</sub>*
- ▶ secvențe reglatoare, unele cu rol în represia, altele în activarea transcrierii genetice de la promotorul *P<sub>lac</sub>*



gena *lac Z* → Proteina **Lac Z** =  $\beta$  – galactozidază



gena *lac Y* → Proteina **Lac Y** =  $\beta$  – galactozid – permeaza



gena *lac A* → Proteina **Lac A** =  $\beta$  – galactozid – transacetilaza

- transferă o grupare acetil de la acetil-CoA la legătura  $\beta$ -galactozidică
- rol biologic încă necunoscut

## Reglajul expresiei celor trei gene structurale *lac*

Expresia este reglată atât pozitiv, cât și negativ

### Reglaj negativ

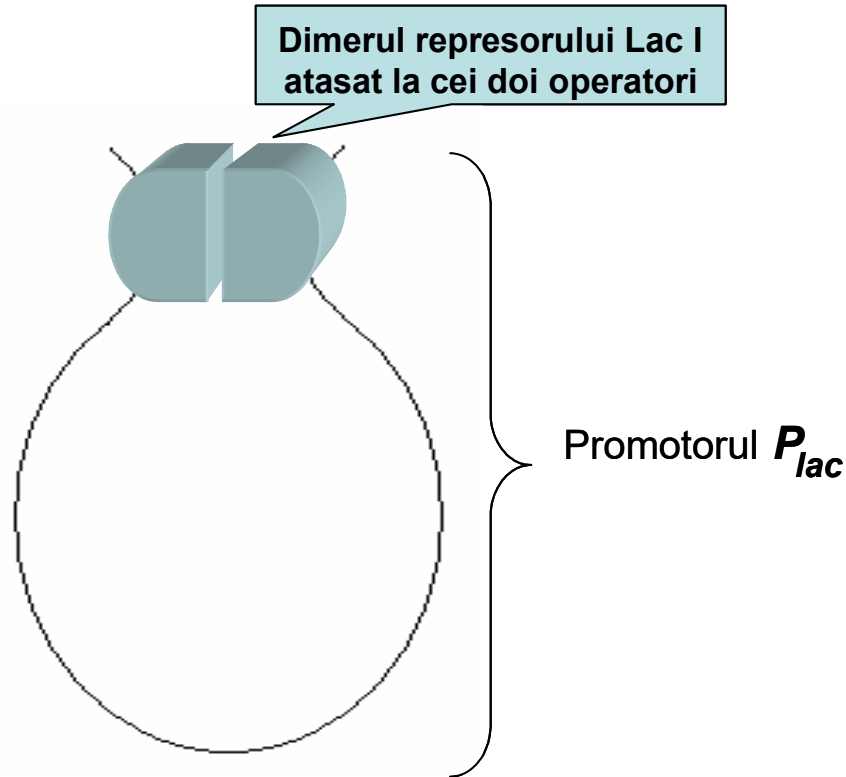
când în mediu EXISTĂ GLUCOZĂ

#### (a) Represie bazată pe represor

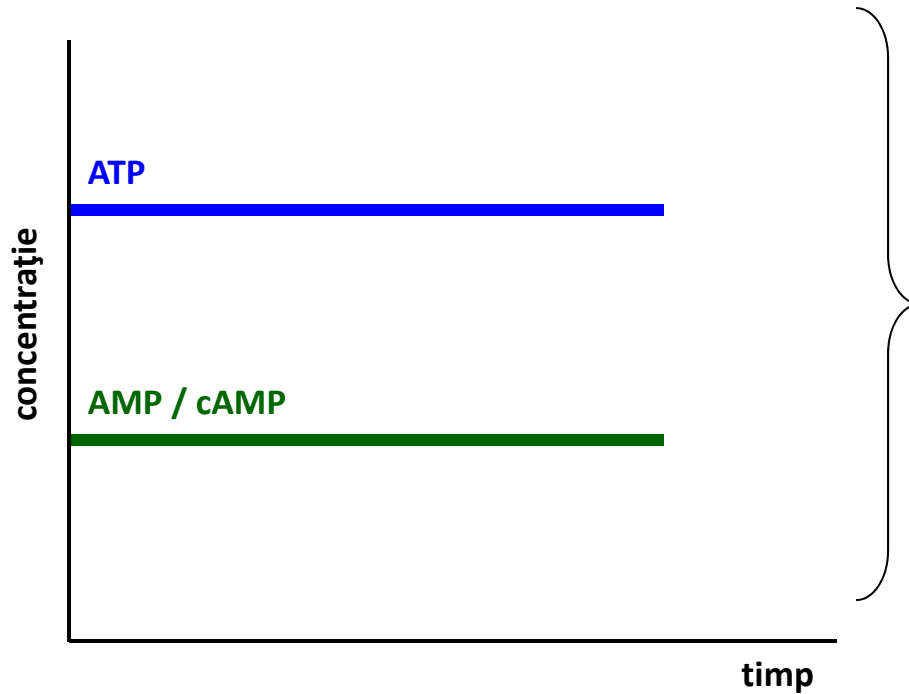
1 dimer de Lac I → operatorul O1  
1 dimer de Lac I → operatorul O3

dimerii se atrag → Tetramer Lac I → buclă de represie

promotorul  $P_{lac}$  nu mai este accesibil ptr ARN pol



**(b) Proteina activator este inactivă**



când în mediu există suficientă glucoză

conc. citoplasmatică a **ATP** = MARE

conc. citoplasmatică a **AMP** = MICĂ



proteina CAP = inactivă,  
neexistând suficient cAMP

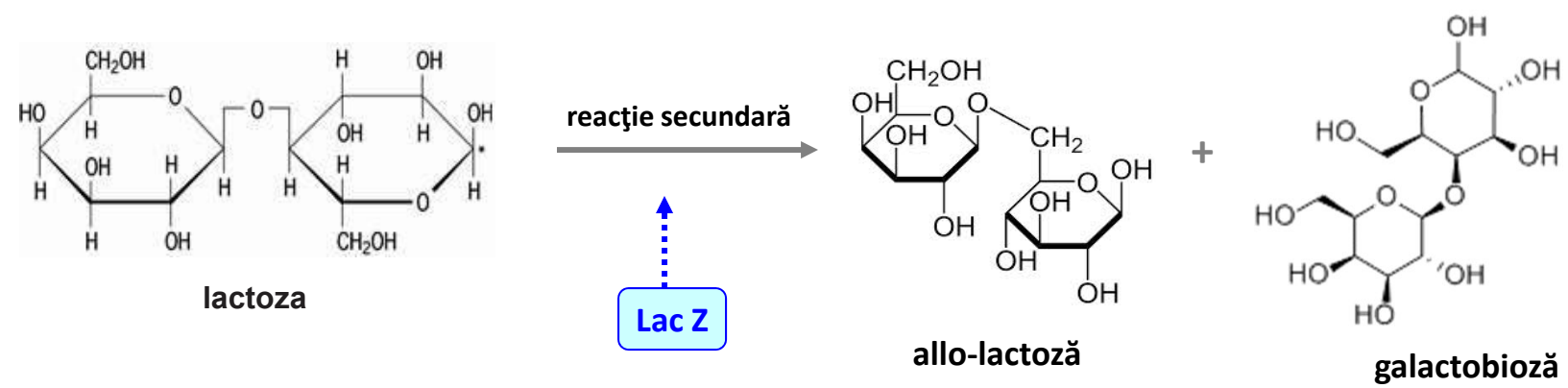


**Paradoxul inducției** operonul LAC este exprimat chiar și în stare represată, dar la un nivel bazal

**Reglaj pozitiv** când în mediu NU EXISTĂ / NU MAI EXISTĂ GLUCOZĂ

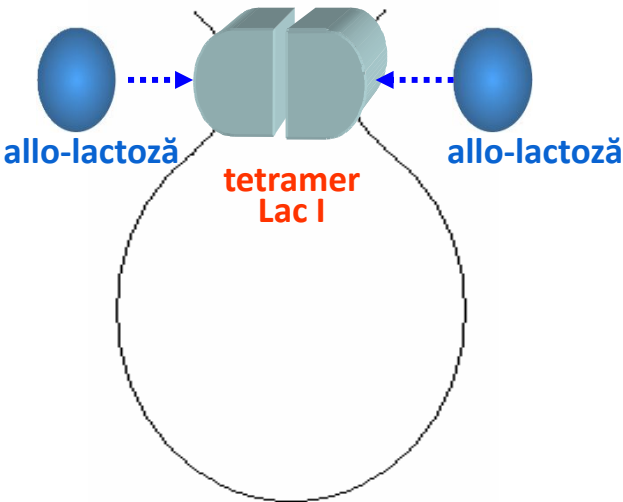
**(a) Activare prin represia represorului**

Nivelul bazal de expresie → intrarea în celulă a unei mici cantități de lactoză

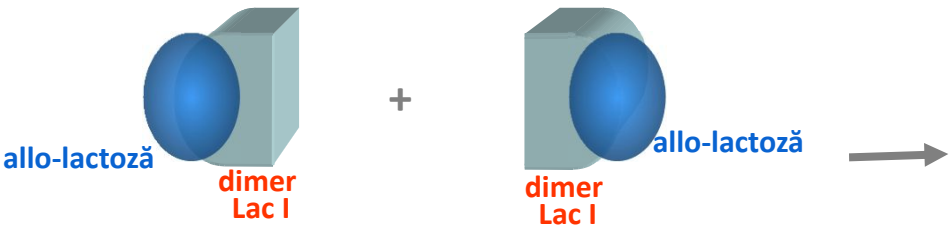


**allo-lactoza = inductorul operonului LAC**

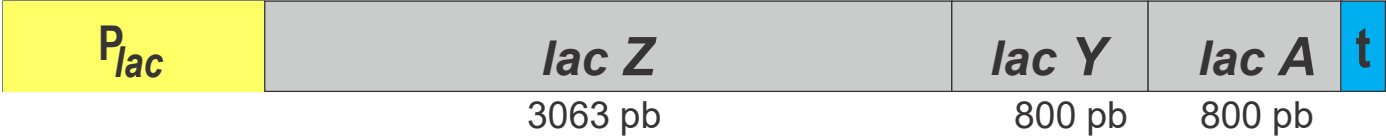
allo-lactoza se atașează la un dimer de Lac I



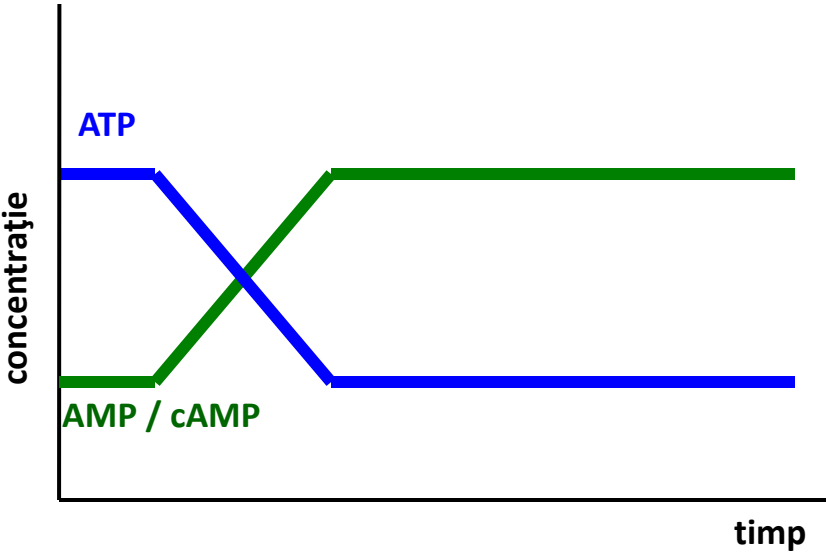
“spargerea” tetramerului Lac I



→ Desfacerea buclei de represie → ARN polimeraza se poate atașa la promotorul Plac



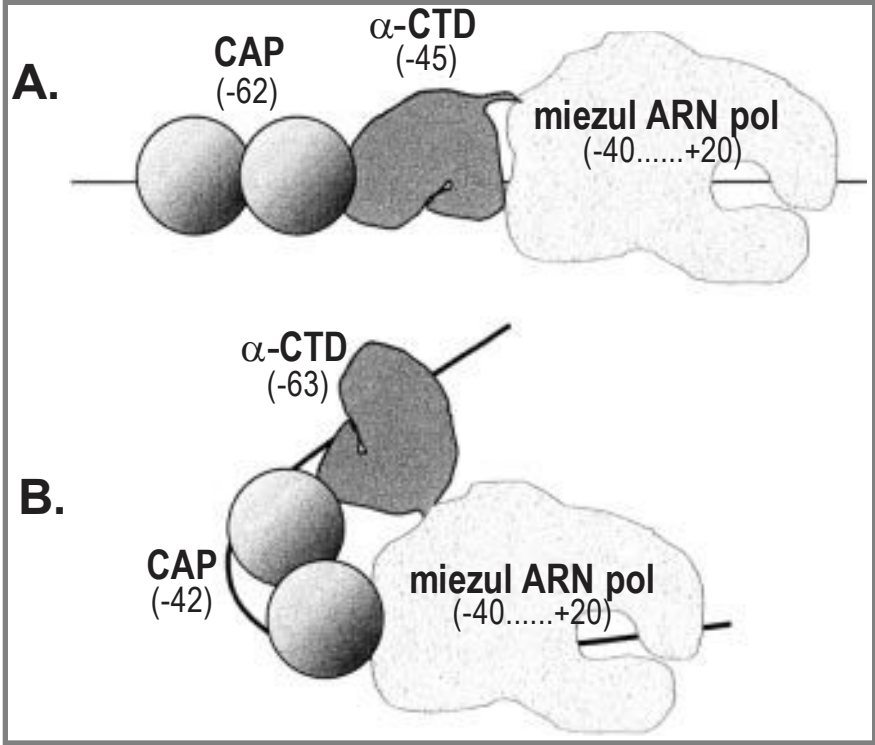
**(b) Activarea proteinei activator**



când în mediu scade conc. de glucoză  
conc. citoplasmatică a **ATP** scade  
conc. citoplasmatică a **AMP** = crește

↓  
proteina CAP este activată,  
prin cuplare cu cAMP  
**[CAP ~ cAMP]**

↓  
fixarea subunității α-CTD la situsul UP din Plac



# **Genetica microorganismelor**

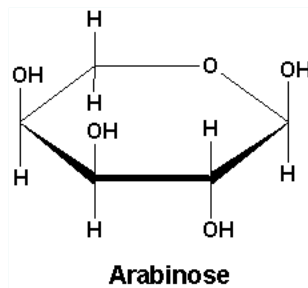
Oct 2017 – Ian 2018

**Reglajul exprimării genelor la PK**

**3 – Operonul ARA**

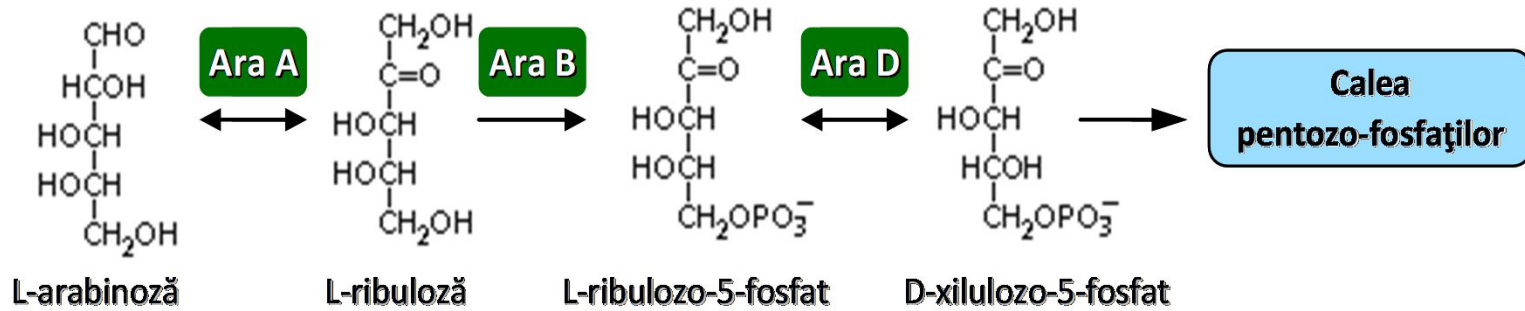
# Operonul ARA

Arabinoza = sursă alternativă de C în lipsa glucozei



- 6 gene structurale cotranscrise pornind de la promotorul **PBAD**

*ara B, ara A, ara D*  $\Rightarrow$  L-arabinoza  $\rightarrow$  D-xilulozo-5-fosfat  $\rightarrow$  calea pentozo-fosfaților



Ara A = izomerază; Ara B = ribulokinază; Ara D = epimerază

*ara E, ara F, ara G*  $\Rightarrow$  proteine membranare  $\rightarrow$  transportului activ al *Ara* către interiorul celulei

- 1 genă reglatoare transcrisă monocistronic, de la propriul promotor (PC)

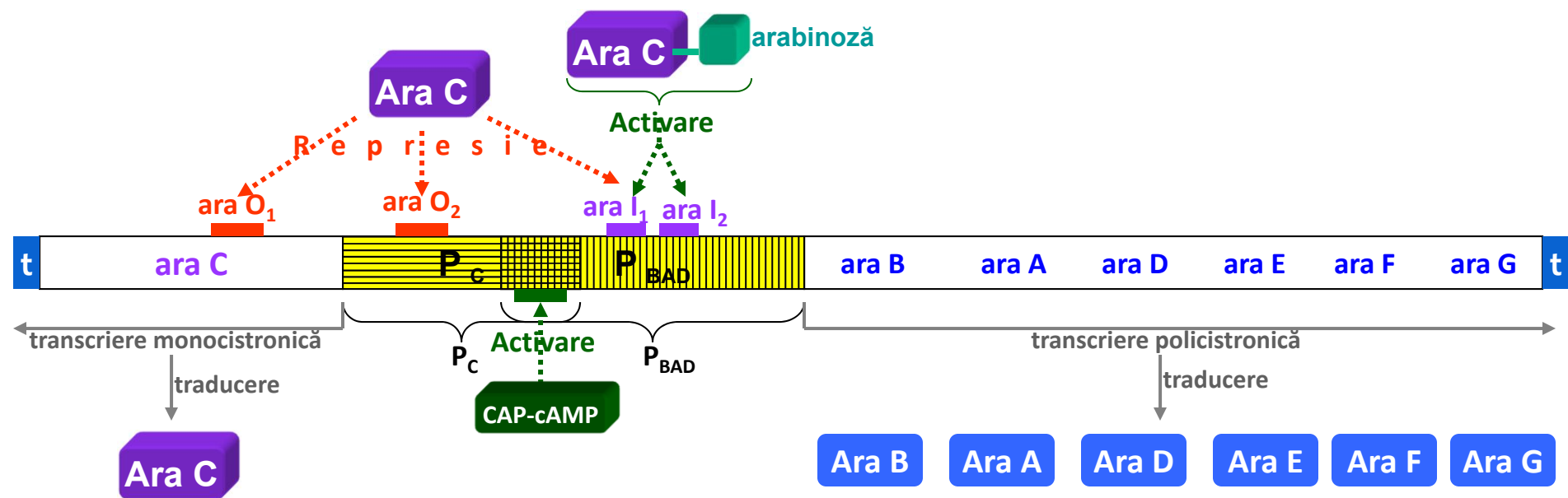
*ara C*  $\rightarrow$  Ara C = proteină reglatoare cu acțiune duală

- 5 secvențe reglatoare

operatorii *ara O1* și *ara O2*  $\rightarrow$  rol în represiia genelor structurale

secvențele *ara I1* și *ara I2*  $\rightarrow$  rol în represiia, dar și în activarea genelor structurale

secvența ptr proteina CAP activată [CAP ~ cAMP]  $\rightarrow$  rol în activarea genelor structurale

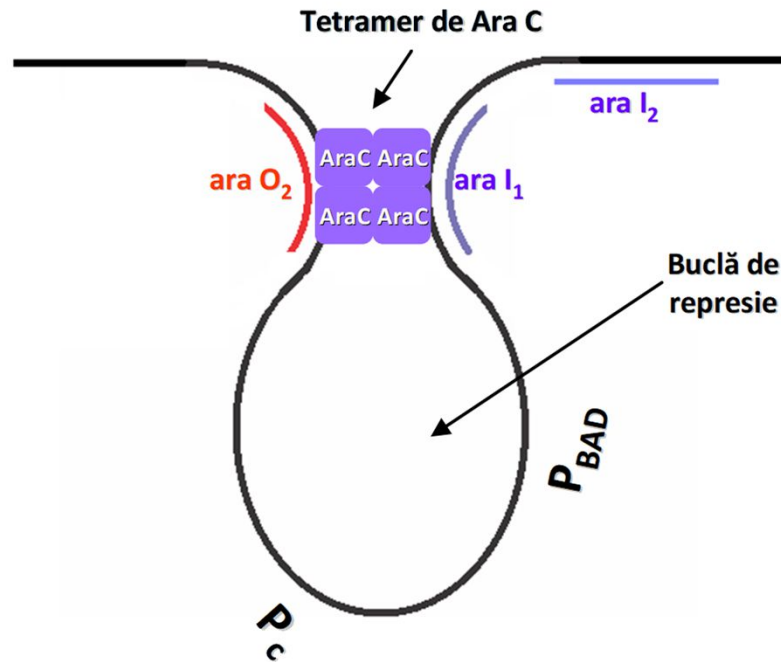


# Reglajul operonului ARA

## 1. când în mediu NU există arabinoză

transcrierea celor 6 gene structurale (de la promotorul  $P_{BAD}$ ) este represată - 2 mecanisme simultane

### (a) Represie bazată pe funcționarea proteinei Ara C ca represor



1 dimer Ara C  $\rightarrow$  ara O2

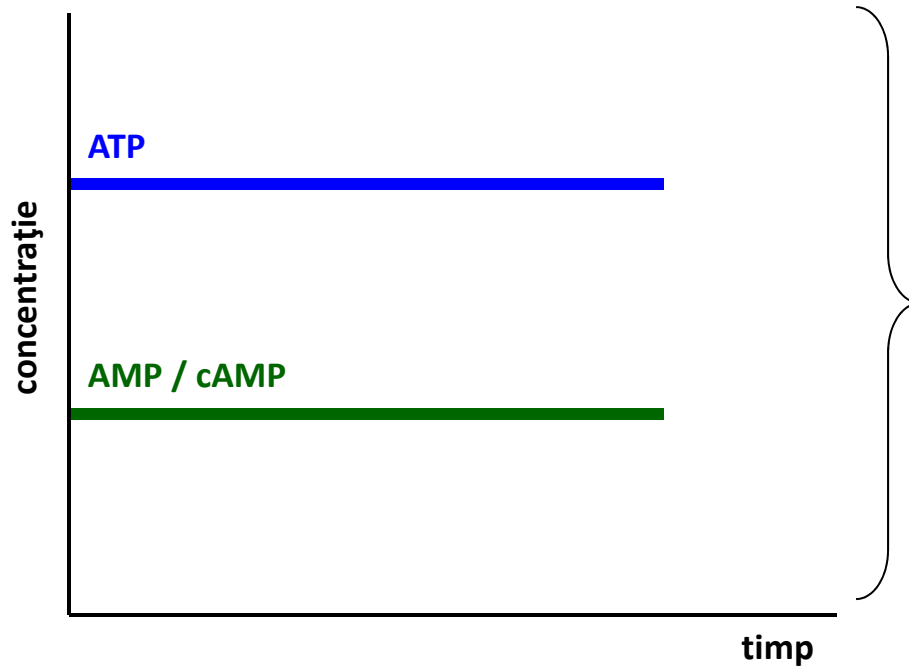
1 dimer Ara C  $\rightarrow$  ara O1

tetramer Ara C

închiderea unei bucle de represie

promotorul  $P_{BAD}$  nu mai este accesibil ptr ARN pol

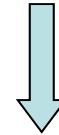
(b) Proteina activator CAP este inactivă - similar cu op. LAC



când în mediu există suficientă glucoză

conc. citoplasmatică a **ATP** = MARE

conc. citoplasmatică a **AMP** = MICĂ



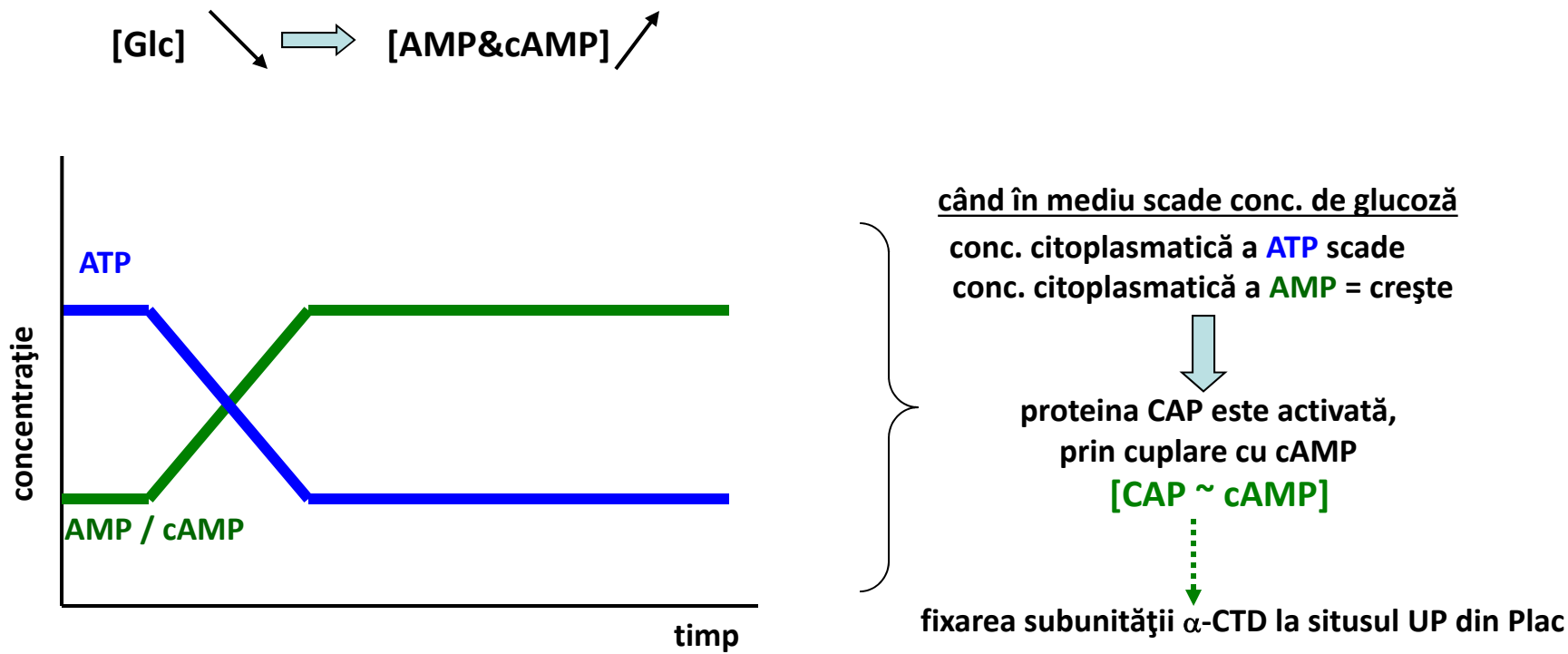
proteina CAP = inactivă,  
neexistând suficient cAMP



2. când în mediu există NUMAI arabinoză

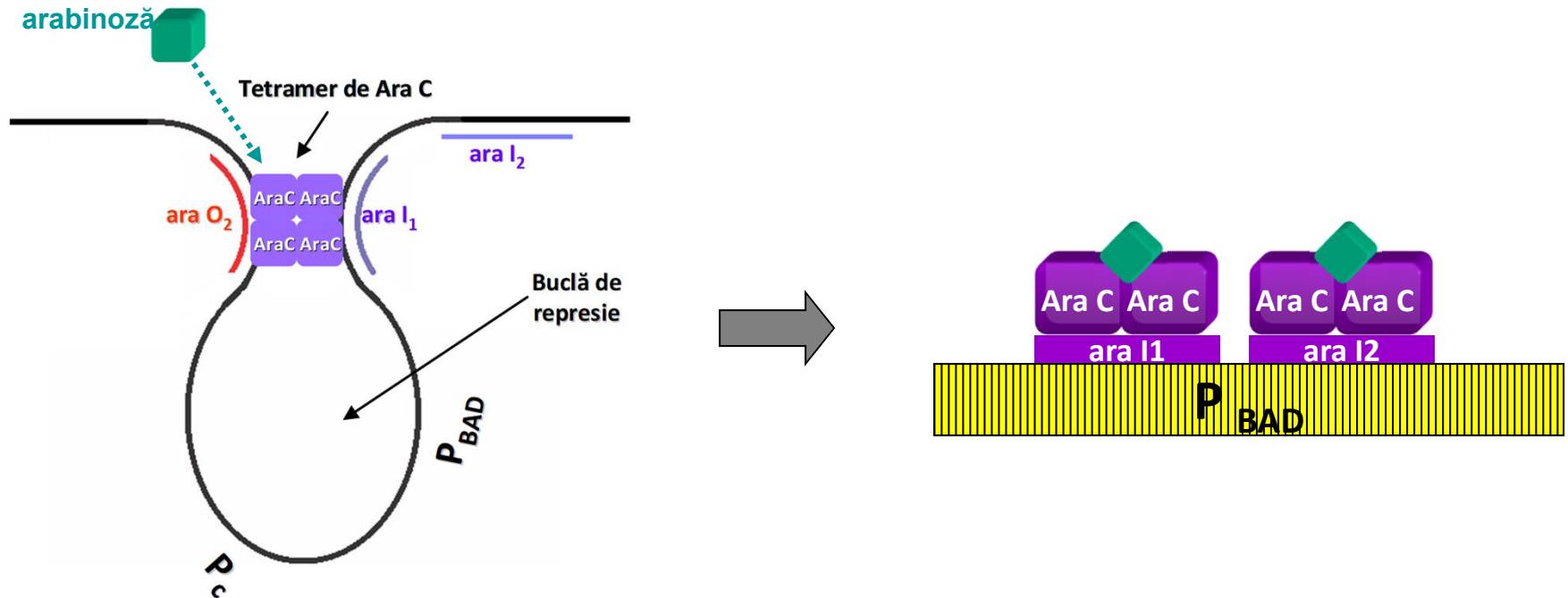
transcrierea genelor structurale ale op. ARA trebuie activată:  
2 mecanisme simultane

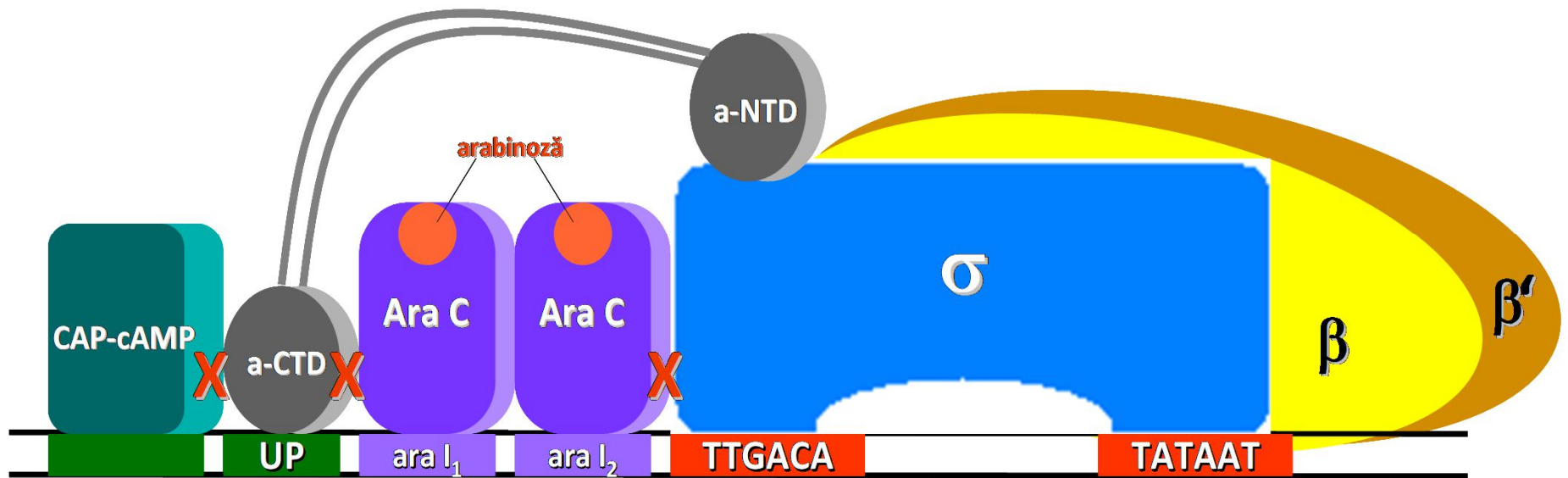
(a) Activare cu ajutorul proteinei CAP



## (b) Activare cu ajutorul proteinei Ara C

Și operonul ARA este exprimat chiar și în stare represată - la un nivel bazal —→ intrarea unei cantități mici de arabinoză în celulă





# **Genetica microorganismelor**

Oct 2017 – Ian 2018

**Reglajul exprimării genelor la PK**

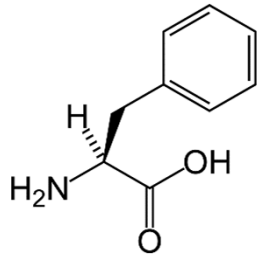
**4 – Operonul TRP**

# Operonul TRP

Triptofan = aminoacid cu structură aromatică

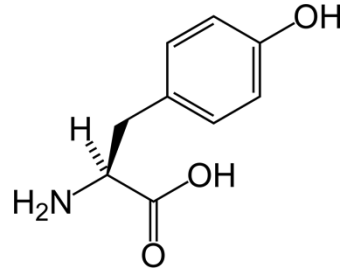
AA esențiali – Phe, Tyr, Trp

fenil-alanina



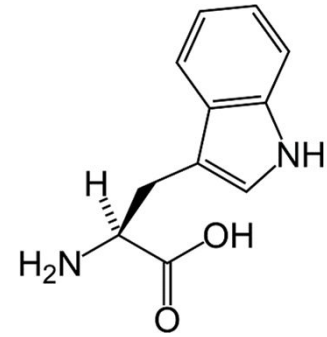
**Phe**

tirozina

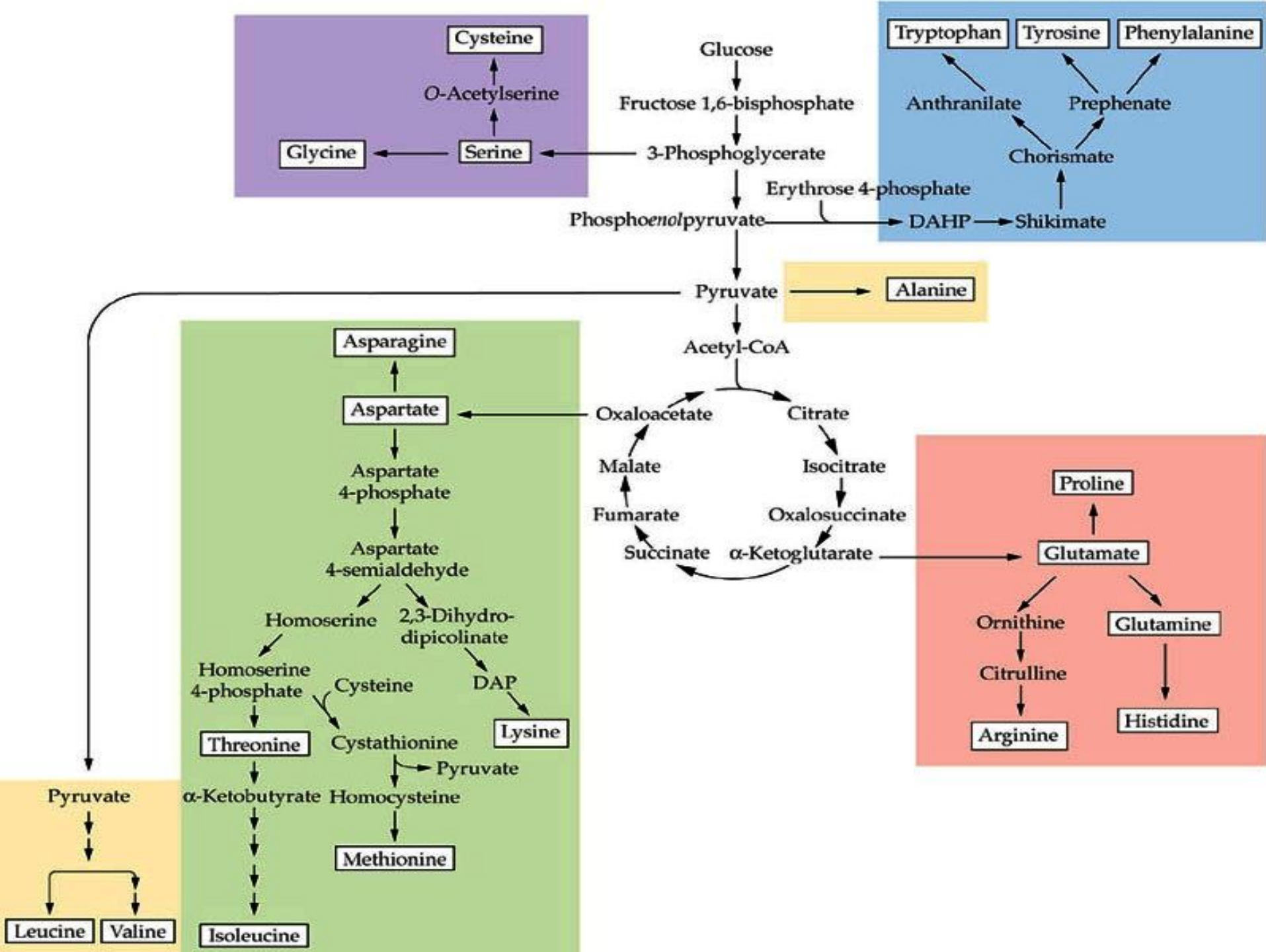


**Tyr**

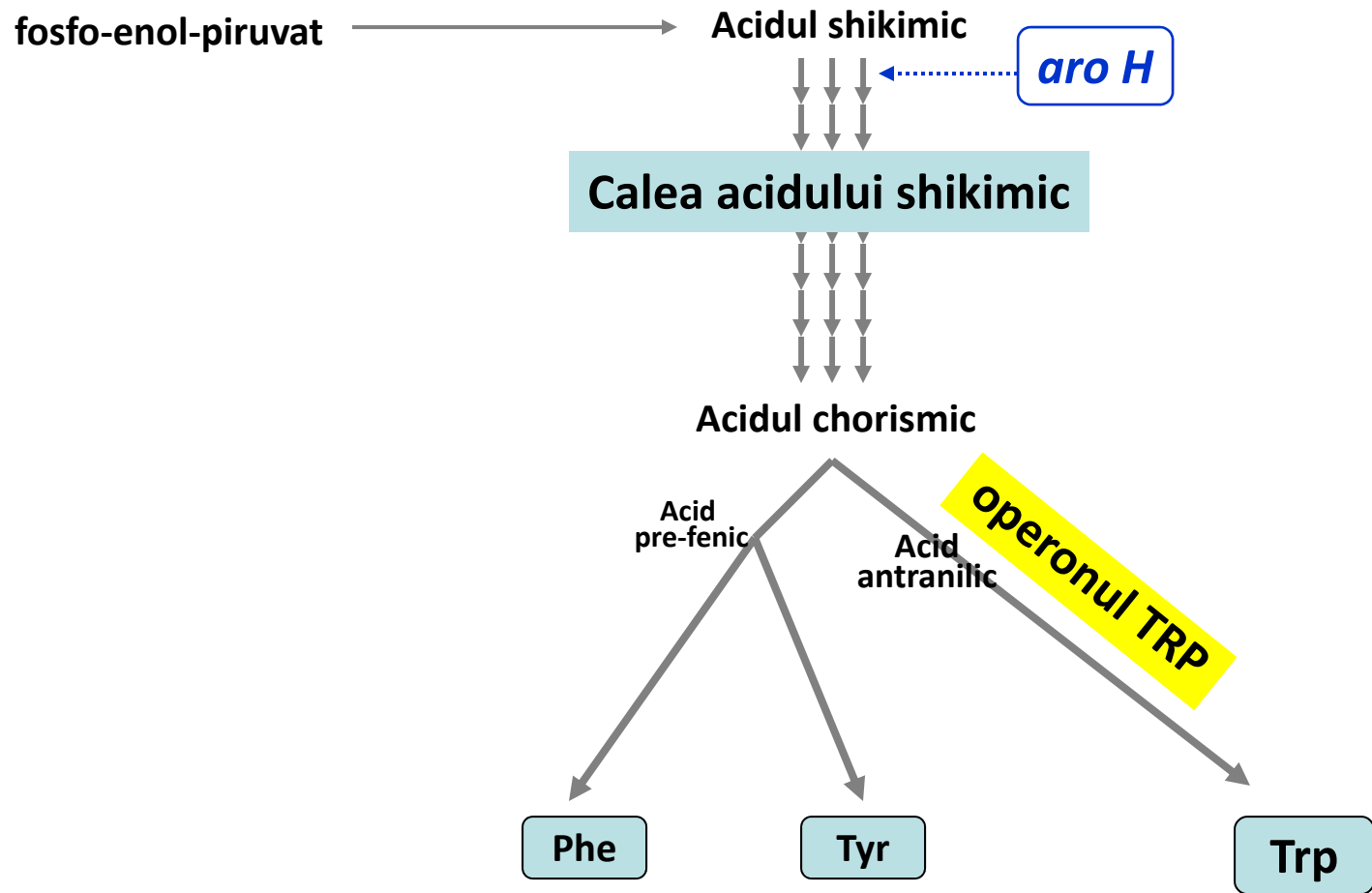
triptofan

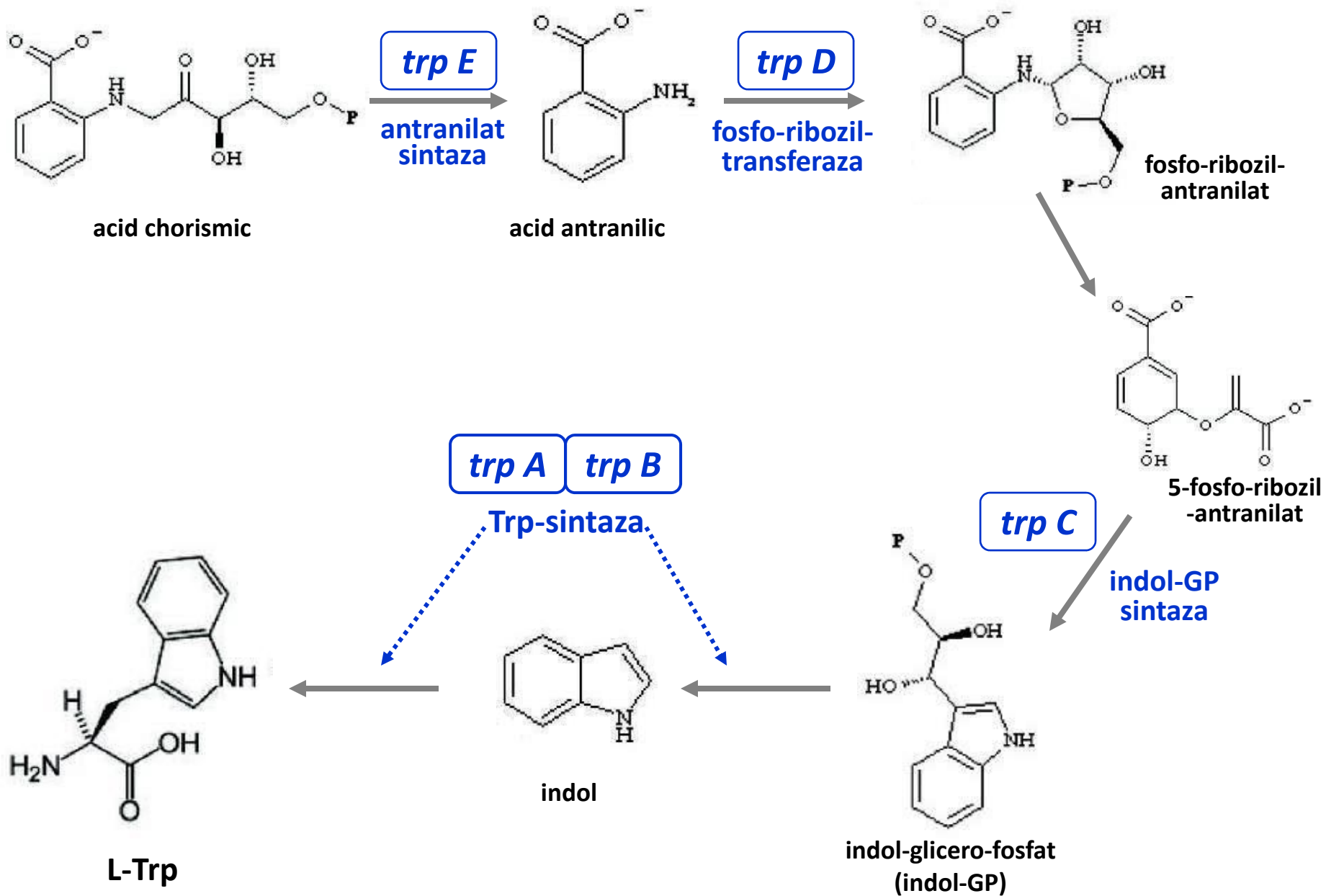


**Trp**



# Biosinteza AA aromatici







Opernul TRP Există în toate/majoritatea celulele bacteriene (genuri, specii)

Sinteză de Trp ← acid chorismic

Operonul TRP de *E.coli* cuprinde :

► **5 gene structurale** – *trp E, trp D, trp C, trp B, trp A*, transcrise policistronic pornind de la promotorul P<sub>trp</sub>

► **1 genă reglatoare** – *trp R*, în amonte, transcrisă monocistronic de la P<sub>trpR</sub>  
(la > 1000 pb de genele structurale)

proteina **Trp R** = represor pentru transcrierea celor 5 gene structurale

► 2 secvențe reglatoare – de tip **operator** :

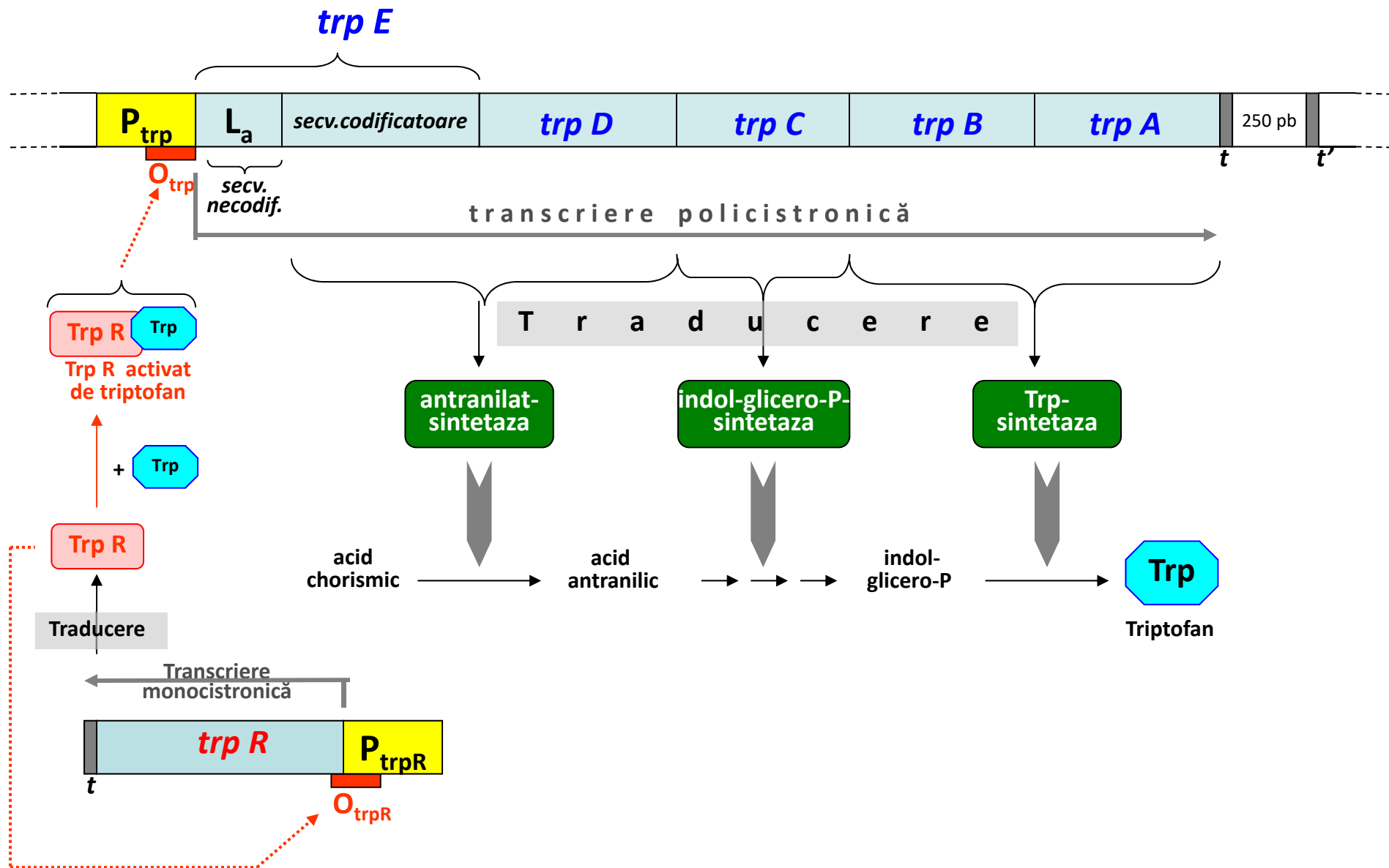
**O<sub>trp</sub>** - în P<sub>trp</sub>, la el se atașează **Trp R** (după ce în prealabil a cuplat o moleculă de triptofan)

**O<sub>trpR</sub>** - în P<sub>trpR</sub>, la care se atașează tot represorul **Trp R**

**Trp R** = represor multiplu, se atașează la mai mulți operatori → controlează exprimarea a 3 seturi de gene:

Denumire operator	Poziție operator	Genă controlată
O <sub>trp</sub>	-23 ... -3	<i>trp E ... trp A</i>
O <sub>trpR</sub>	-12 ... +9	<i>trp R</i>
O <sub>aroH</sub>	-49 ... -29	<i>aro H</i>

Gena *aro H* codifică una din primele 3 enzime implicate în biosinteza aminoacizilor aromatici



# Reglajul operonului TRP

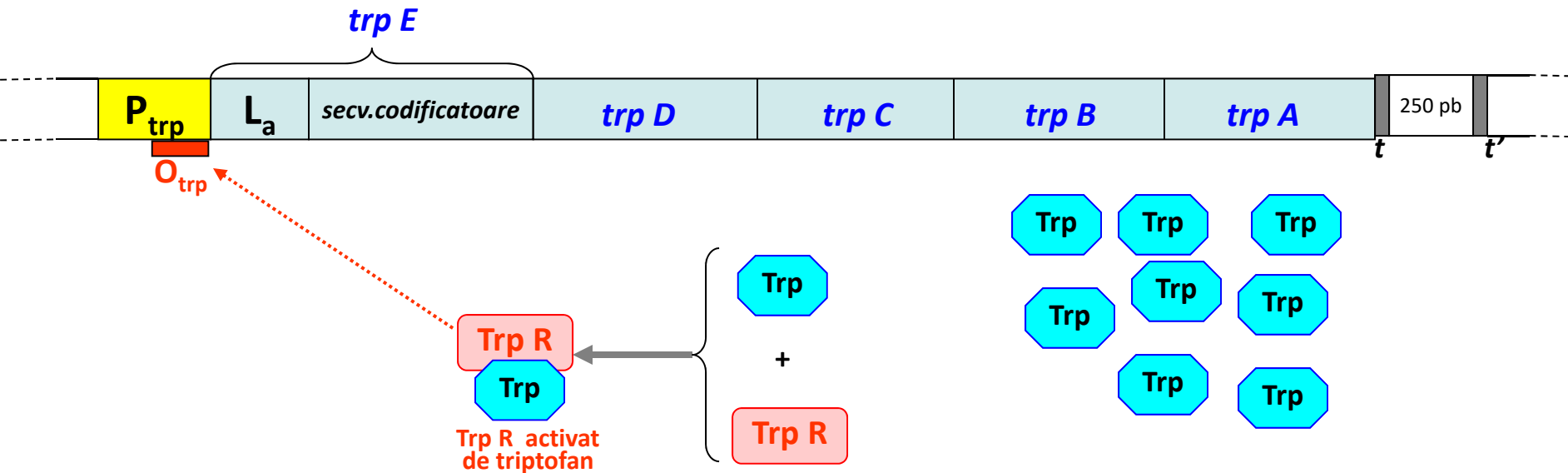
Operonul TRP = gene *house-keeping*

Operon de tip constitutiv - exprimat cu o rată ridicată fără procese de activare

Principalele modalități de reglaj = de tip **negativ** → scăderea ratei de transcriere a celor 5 gene structurale

## 1. Reglajul operonului TRP cu ajutorul represorului **Trp R**

(a) Când în celulă există suficient triptofan

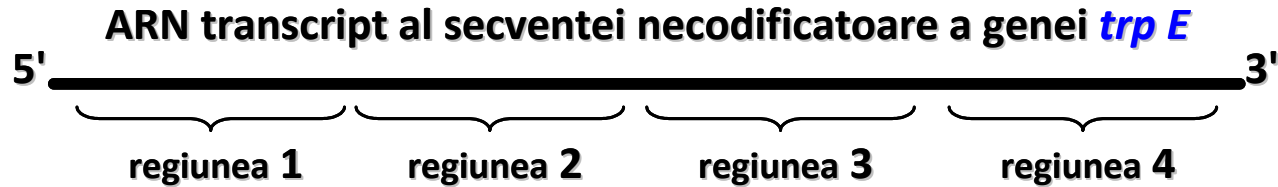


(b) Când în celulă NU există suficient triptofan

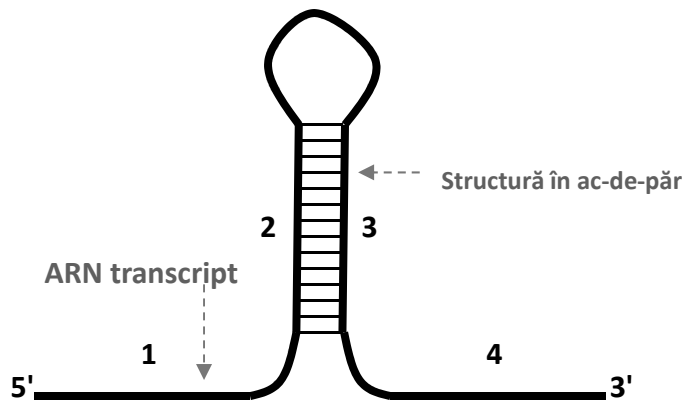
Fără  ,  nu se poate atașa la   $O_{trp}$

## 2. Reglajul operonului TRP prin atenuare transcripțională

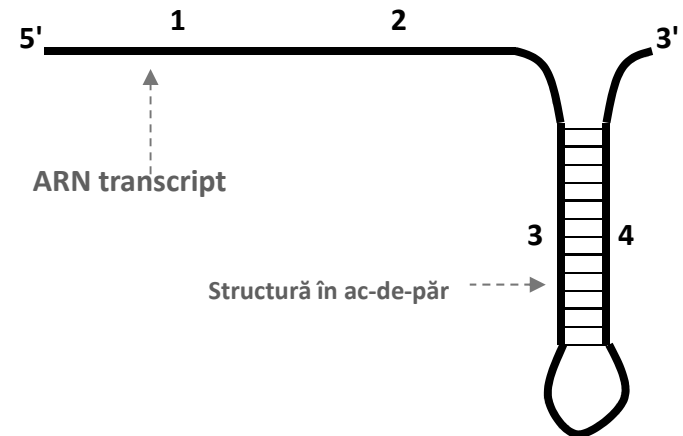
Secv. necodif. a primei gene struct. (*trp E*)  $\xrightarrow{\text{transcriere}}$  transcript ARN bogat în UGG – codoni ptr Trp



datorită unor complementarități intra-catenare, se pot forma, alternativ, două structuri în ac-de-păr (*hairpin*)



conformația **a**



conformația **b**

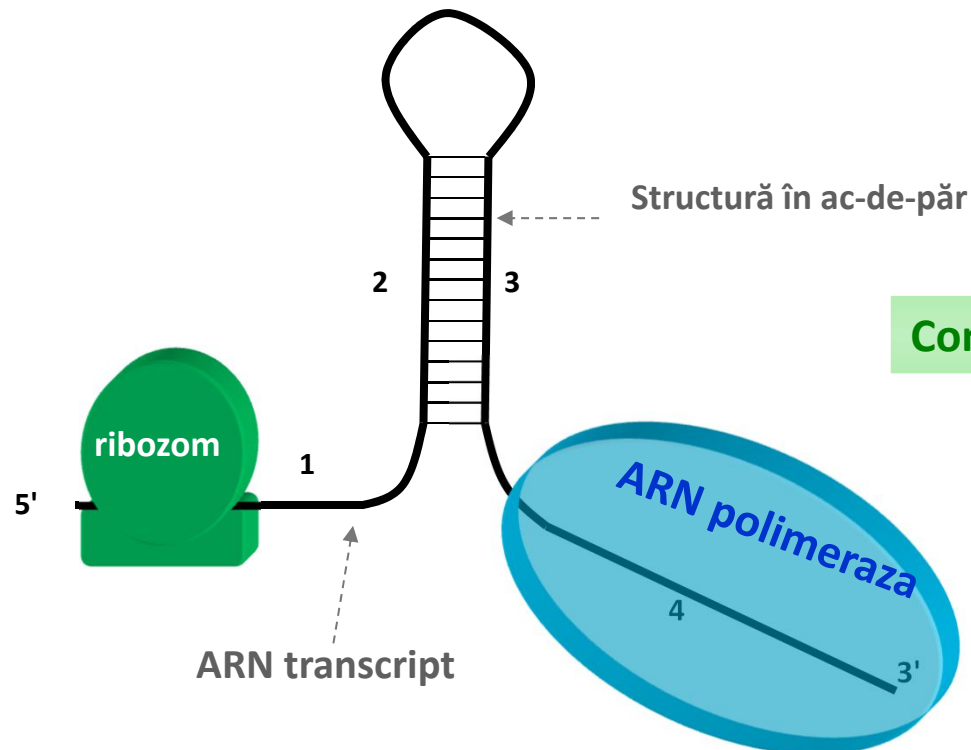
PK

traducerea informației genetice din ARNm începe înainte de terminarea transcrierii

traducerea este aproape simultană cu transcrierea

viteza de traducere și, deci, viteza de avansare a ribozomului pe secvența *Leader* depinde direct de concentrația celulară a Trp

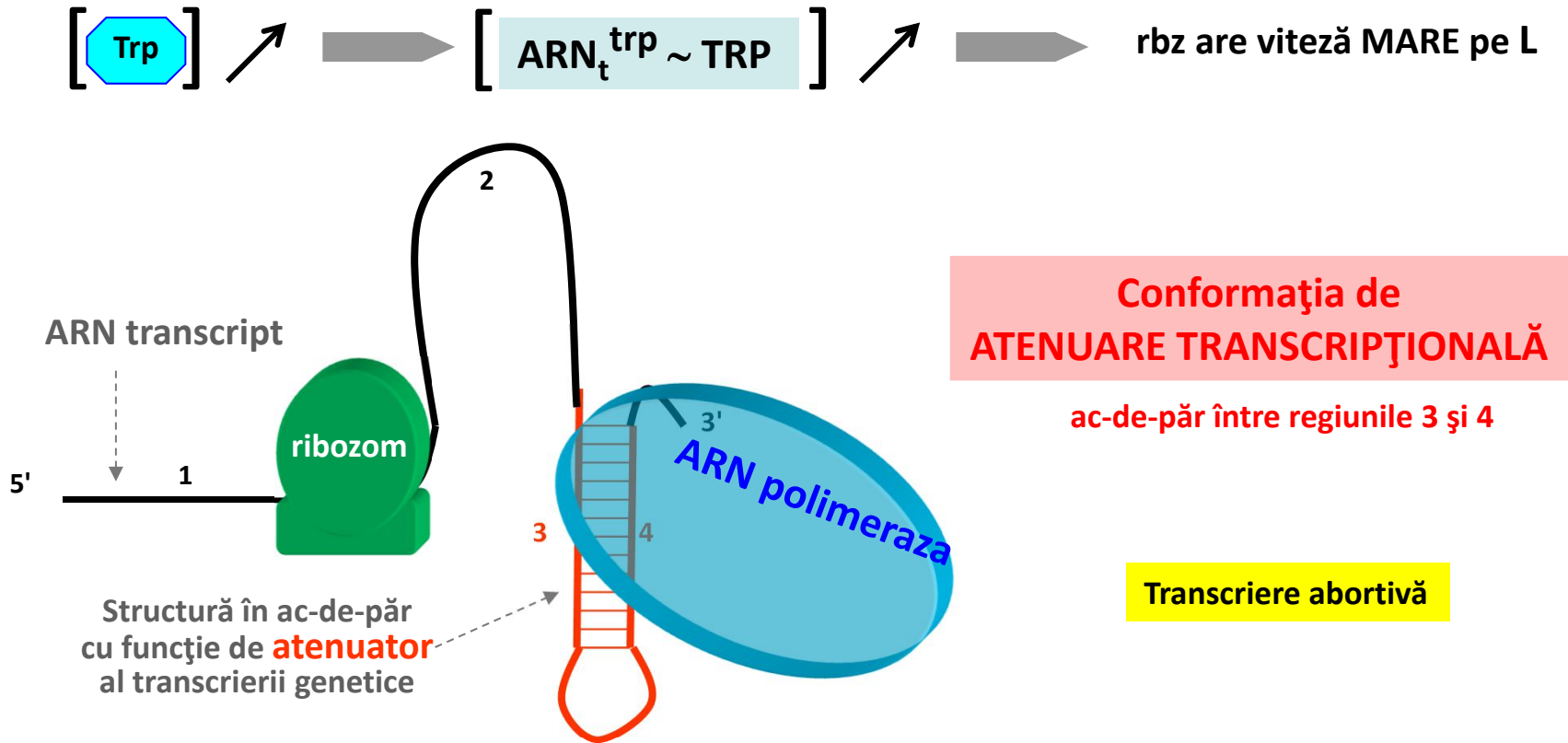
(a) Când în celulă NU există suficient triptofan



Conformația de transcriere completă

ac-de-păr între regiunile 2 și 3

(b) Când în celulă există suficient triptofan



Reglajul bazat pe **Trp R** „simte” variațiile mari ale concentrației celulare de triptofan

Reglajul bazat pe **atenuare transcripțională** „simte” chiar și variațiile minore

Reglajul prin atenuare transcripțională există la maj. operonilor de biosinteză a AA  
la fiecare operon, secvența L = codoni ptr AA respectiv