

REGOLAZIONE DELLA TRASCRIZIONE NEI PROCARIOTI

E' la capacità di regolare e di controllare i propri geni. Sia nei procarioti che negli eucarioti potrebbe avvenire il controllo dell'espressione genica a più livelli (a livello della trascrizione e post-trascrizionale, a livello della traduzione e post-traduzionale).

Nei procarioti avviene preferenzialmente al livello della trascrizione. La regolazione a livello della trascrizione rappresenta il primo livello di regolazione dell'espressione genica.

Quali sono i meccanismi che determinano l'accensione o lo spegnimento dell'espressione di un gene?

Non tutti i geni vengono utilizzati allo stesso modo e con la stessa intensità.

Nei procarioti:

- Un'espressione genica selettiva permette alle cellule di risparmiare energia (la cellula si deve adattare ai vari cambiamenti ambientali che sopraggiungono) ;
- I geni sono organizzati in operoni, sono trascritti insieme in un'unica molecola di mRNA (policistronico) e sono funzionalmente correlati (in genere codificano per proteine che appartengono ad una stessa via metabolica);
- La regolazione avviene prevalentemente a livello trascrizionale: precisamente viene modulata la fase iniziale della trascrizione.

Negli eucarioti:

- L'espressione genica selettiva permette alle cellule di svolgere ruoli specializzati: le cellule eucariotiche sono organismi pluricellulari e sono delle cellule specializzate, quindi, ogni cellula del nostro corpo possiede lo stesso corredo cromosomico, la stessa informazione genetica. Ovviamente un cardiomiocita è diverso da un epatocita, hanno funzioni biochimiche e metaboliche diverse. La regolazione ci dice quale di questi geni devono essere attivati;
- I geni sono trascritti singolarmente: quindi abbiamo un mRNA monocistronico;
- La regolazione avviene a vari livelli (non soltanto a livello della fase di inizio della trascrizione).

Nei procarioti abbiamo in genere:

- GENI COSTITUTIVI: sono costantemente attivi (es. geni che codificano per gli enzimi della glicolisi).
- GENI REGOLATI: la loro espressione è regolata in modo tale che la quantità del corrispondente prodotto (proteina o RNA) è controllata in relazione al fabbisogno cellulare (es. sintesi adattativa di enzimi).

FINALITA': rispondere rapidamente ai cambiamenti ambientali (passando per esempio dall'utilizzo di un substrato ad un altro)

LOGICA: risparmio di energia; niente mRNA o proteine che non servono subito.

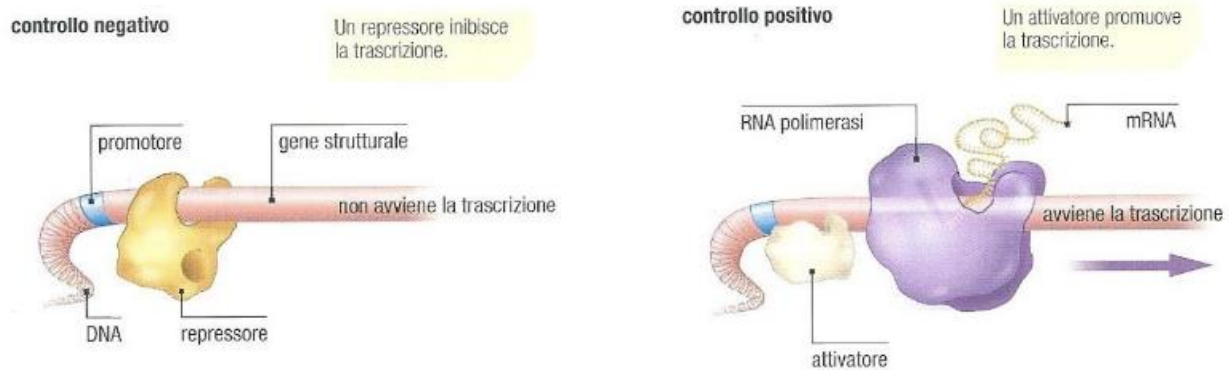
In generale quindi nei procarioti c'è un sistema di adattamento perché la cellula deve risparmiare energia; nelle cellule eucariotiche la regolazione dell'espressione genica è correlata alla specializzazione delle cellule.

FATTORI DI TRASCRIZIONE

Il controllo della trascrizione prevede la presenza di particolari proteine, chiamati **fattori di regolazione della trascrizione**, che possono impedire (**repressori**) o favorire (**attivatori**) la trascrizione dell'mRNA.

Un **repressore** inibisce la trascrizione perché blocca il legame tra RNA polimerasi e il DNA.

Un **attivatore** promuove la trascrizione perché favorisce il legame della RNA polimerasi al DNA.



Francois **JACOB** e Jacques **MONOD** negli anni '50 condussero studi sulla regolazione trascrizionale. Per questo furono insigniti del premio Nobel nel 1965.

Aver compreso il modo in cui E.Coli risponde alla disponibilità di diversi nutrienti ha chiarito i principi alla base attraverso cui tutte le cellule regolano l'espressione dei propri geni.

Il loro modello dell'operone *lac* è considerato ancora oggi il modello di regolazione genica dei procarioti.

La cellula regola l'espressione dei geni secondo le necessità dell'organismo e in risposta alla situazione dell'ambiente.

I batteri utilizzano strategie diverse per regolare la sintesi degli enzimi:

1. **Vie cataboliche:** induzione da substrato. Queste sono le vie di degradazione poiché in genere da una grande molecola vengono ottenute delle molecole piccole e queste portano alla produzione di energia.
2. **Vie anaboliche:** repressione da prodotto finale. Queste sono le vie di sintesi, cioè da piccole molecole si sintetizzano delle macromolecole e queste utilizzano energia.

In genere abbiamo nei batteri che le vie cataboliche sono regolate mediante induzione da substrato (cioè il substrato che induce queste reazioni cataboliche), le vie anaboliche sono regolate mediante repressione dal prodotto finale (cioè il prodotto finale che va a reprimere questa via anabolica).

Gli enzimi che catalizzano queste vie sono spesso regolati in modo coordinato. La sintesi di tutti gli enzimi coinvolti in una particolare via viene attivata o repressa simultaneamente.

Caratteristiche comuni ai due processi:

- Il controllo è effettuato a livello genomico;
- Il controllo è indotto da effettori (repressori o induttori) che modificano la conformazione di molecole che controllano l'espressione genica;
- Per le vie cataboliche inducono i substrati (**lattosio**), per le vie anaboliche reprimono i prodotti finali (**triptofano**).

1. VIE CATABOLICHE E INDUZIONE DA SUBSTRATO

Nei primi studi che fecero Jacob e Monod analizzarono l'espressione dei geni che sono coinvolti nel metabolismo del lattosio. Il lattosio è uno zucchero (un disaccaride) e viene utilizzato dalla cellula batterica come fonte di carbonio e di energia, in seguito alla sua scissione in glucosio e galattosio. Il lattosio ad opera dell'enzima β -galattosidasi viene scisso in due monosaccaridi: galattosio e glucosio. Questo enzima ad altri enzimi coinvolti nel metabolismo del lattosio vengono espressi e indotti quando il lattosio è disponibile nel mezzo di coltura per l'utilizzo da parte dei batteri. Quando il lattosio non è disponibile questa espressione non avviene, così la cellula evita di perdere energia e tempo.

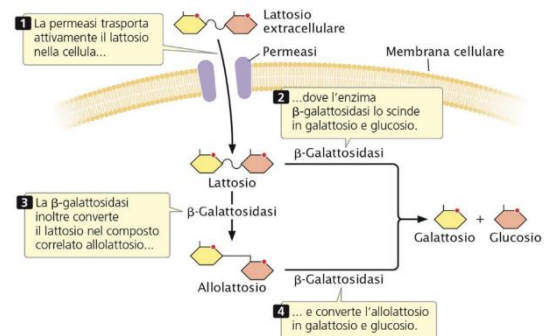
Come viene regolato questo pathway metabolico?

Oltre ad avere la **β -galattosidasi**, il metabolismo del lattosio richiede altri due enzimi che sono correlati: la **permeasi** che trasporta il lattosio all'interno delle cellule e la **transacetilasi** che si pensi inattivi i tiogalattosidi che sono tossici e potrebbero sfruttare il meccanismo della permeasi ed entrare all'interno della cellula.

La β -galattosidasi opera anche la conversione del lattosio in un analogo che si chiama **allolattosio** (quindi in minima parte dal lattosio si forma anche l'allolattosio).

Quindi:

1. Il lattosio entra all'interno della cellula grazie alla permeasi;
2. La β -galattosidasi lo scinde in galattosio e glucosio;
3. La β -galattosidasi opera altresì la conversione del lattosio nel composto correlato allolattosio (che è il vero induttore del sistema);



Un altro analogo del lattosio e dell'allolattosio si

chiama isopropiltiogalattoside che è una molecola simile e ha la stessa funzione ovvero quella di indurre la trascrizione. In genere viene utilizzato negli esperimenti di laboratorio di biologia molecolare come induttore per esprimere delle proteine ricombinanti.

Il vantaggio di questa molecola, rispetto al lattosio, è che non viene scissa dalla β -galattosidasi e quindi rimane per più tempo attiva.

Jacob e Monod sulla base di questi approcci sperimentali hanno dedotto il meccanismo attraverso cui i geni del metabolismo del lattosio sono regolati.

Essi hanno dedotto un modello e affermarono che i geni che codificano per la **β -galattosidasi**, per la **permeasi** e per la **transacetilasi** sono espressi come una singola unità e costituiscono il cosiddetto **OPERONE**.

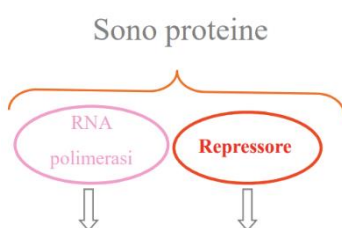
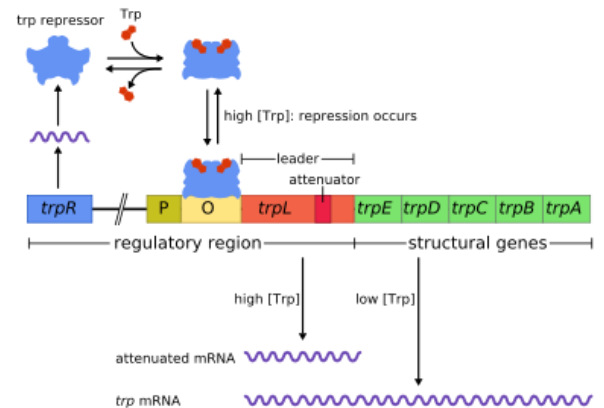
Quindi una delle differenze principali tra procarioti ed eucarioti riguarda proprio l'organizzazione dei geni. I geni strutturali dei batteri sono organizzati in "cluster": gruppi di geni codificanti per proteine con funzioni correlate (es. enzimi di una stessa via metabolica, proteine deputate al trasporto intracellulare, ...) che si trovano sotto il dominio di un unico promotore.

Il modello dell'operone introdusse il concetto di questi geni regolatori i cui prodotti regolano altri geni. Quindi tutti i geni implicati nel metabolismo del lattosio sono tutti trascritti in un'unica unità che viene chiamata operone.

Un operone è un'unità trascrizionale che comprende sia l'unità di espressione che di regolazione ed è composta da diversi geni.

Un tipico operone è costituito da uno o più **geni strutturali** adiacenti che codificano proteine (A e B); una sequenza definita **promotore** (P) che lega l'RNA polimerasi a monte della serie di geni strutturali; una sequenza definita **operatore** (O) che lega una proteina regolatrice che interferisce con il legame dell'RNA polimerasi; un **gene regolatore** (R) che codifica per la proteina regolatrice.

I geni di un operone sono trascritti a partire da un singolo promotore per produrre un solo trascritto primario o **mRNA policistronico** (quindi il promotore è unico).



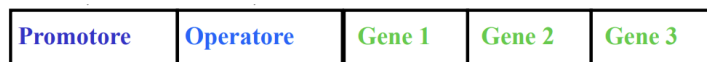
OPERONE:

Gene promotore: sito sul DNA cui si lega l'RNA polimerasi per iniziare la trascrizione di geni situati a valle (abbiamo un solo sito promotore per tutti i geni).

Gene operatore: sito sul DNA riconosciuto dalla proteina repressore.

Gene strutturali: codifica per la proteina di interesse.

Gene regolatore: codifica per la proteina repressore.



Sono sequenze di DNA

Dov'è collocato nel genoma il gene regolatore?

In qualsiasi punto del DNA batterico, non necessariamente adiacente all'operone.

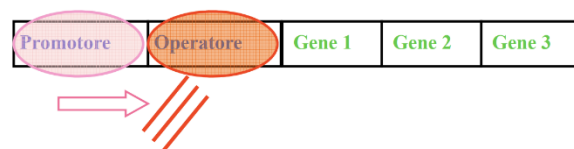
La capacità dell'RNA polimerasi di iniziare la trascrizione dipende dall'assenza di impedimenti a livelli del promotore. Quindi, avendo il repressore che si lega all'operatore: se manca il repressore avremo l'RNA polimerasi che si lega al promotore con conseguente inizio della trascrizione; se c'è il repressore si lega il sito operatore e impedisce l'inizio della trascrizione.

Se il repressore è attivo si lega all'operatore quindi, la sequenza dell'operatore si sovrappone a quella del promotore e quando il repressore è legato all'operatore blocca il sito dell'operatore e impedisce all'RNA polimerasi di legarsi al sito promotore.

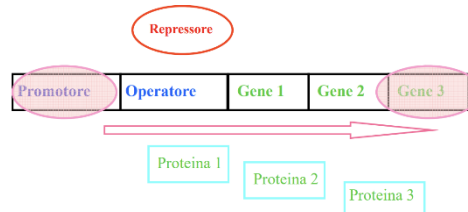
I **repressori** impediscono l'inizio della trascrizione.

Quindi:

- Il repressore ATTIVO si lega all'operatore. La RNA polimerasi NON può seguire la trascrizione.



- Il repressore INATTIVO non si lega all'operatore. La RNA polimerasi può seguire la trascrizione.



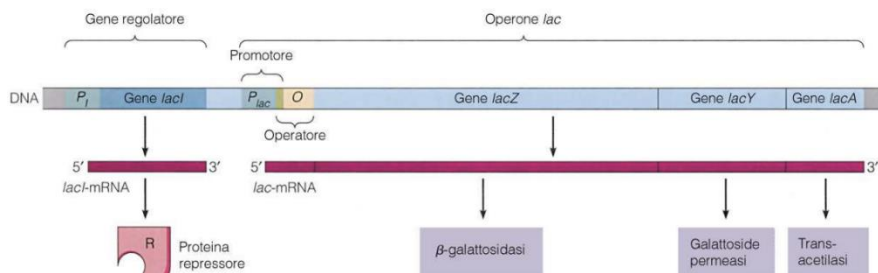
N.B.: il sito operatore non viene trascritto e non codifica per nessuna proteina

OPERONE DEL LATTOSIO (operone *lac*)

E' il modello di regolazione genica dei procarioti. I geni coinvolti nel catabolismo del lattosio sono organizzati in un **operone inducibile** (questo processo di induzione viene indotto dal substrato). In genere quando parliamo di gene si scrive in minuscolo e in corsivo (es. gene *lacZ*), invece le proteine sono scritte in grande con la prima lettera maiuscola. Ad esempio il gene che codifica per il fattore di trascrizione p53 si scrive con la p piccola e tutto in corsivo, se invece codifichiamo la proteina e quindi abbiamo la proteina P53 allora viene scritto con P grande.]

Andando a descrivere l'organizzazione generale dell'operone lattosio abbiamo:

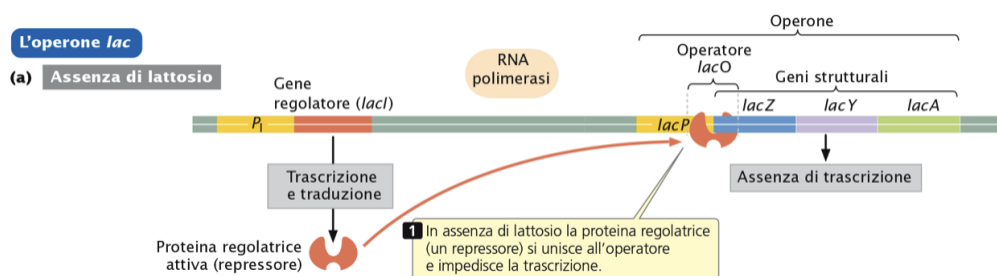
- Tre geni strutturali: *lacZ*, *lacY* e *lacA*. In particolar modo:
 - *lacZ*: codifica per l'enzima β -galattosidasi che scinde il lattosio in glucosio e galattosio (trasforma inoltre il lattosio in allolattosio);
 - *lacY*: codifica per l'enzima galattoside permeasi che trasporta il lattosio nella cellula;
 - *lacA*: codifica per l'enzima trans-acetilasi che inattiva i tiogalattosidi tossici.
- Il sito operatore (O) a cui si lega il repressore;
- Il promotore (P) per i geni strutturali a cui si lega l'RNA polimerasi;
- La porzione del gene regolatore (che può essere in qualunque parte del genoma non necessariamente vicino all'operatore) in cui abbiamo una porzione del gene regolatore e il gene *lacI* che codifica per una proteina repressore. Il repressore presenta due domini: uno riconosce le sequenze di DNA dell'operatore (perché si va a legare a questo) e l'altro è un sito di legame che lega delle molecole segnale che saranno l'induttore. Si è visto infatti che la delezione del gene *lacI* origina cellule che producono sempre le tre proteine indipendentemente dalla presenza dell'induttore.



STATO REPRESSO DELL'OPERONE LATTOSIO

In questo stato **il lattosio è assente**. Quindi *lacI* codifica per una proteina repressore, il repressore si lega al sito operatore (quindi l'RNA polimerasi non si può più legare al promotore) e la trascrizione è bloccata. Si dice quindi che **l'operone è represso**.

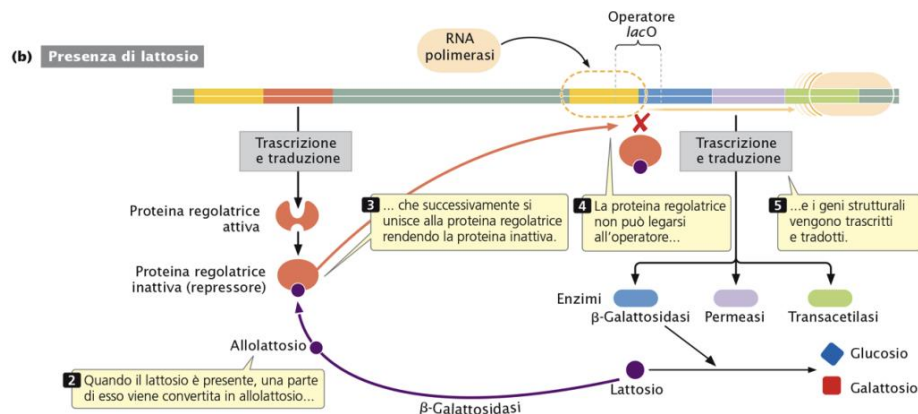
E' stato visto che il repressore si lega strettamente al DNA operatore creando una barriera fisica al proseguimento della trascrizione. Ecco perché l'RNA polimerasi non si può attaccare al promotore. In realtà l'interazione avviene tra l'alpha elica della proteina e la regione del DNA nel solco maggiore poiché quest'ultimo è responsabile dell'interazione tra DNA e proteine.



STATO INDOTTO DELL'OPERONE DEL LATTOSIO

In questo caso invece c'è la **presenza** dell'induttore quindi il **lattosio** che verrà trasformato in allolattosio (poiché in realtà il vero induttore è l'allolattosio).

L'allolattosio si legherà al repressore formando un complesso e indurrà un cambio conformazionale nella molecola del repressore che non sarà più in grado di interagire con i domini del legame del DNA (quindi questo repressore perde l'affinità per il sito operatore del DNA). Succede quindi che l'RNA polimerasi è libera di legarsi al promotore (attraverso le sequenze -35 e -10) e trascrive i geni. In questo caso quindi **l'operone è de-represso** cioè indotto dal suo substrato. Il risultato sarà la sintesi dei geni strutturali della β -galattosidasi, della permeasi e della transacetilasi; questi poi vengono tradotti e avremo tre proteine distinte.

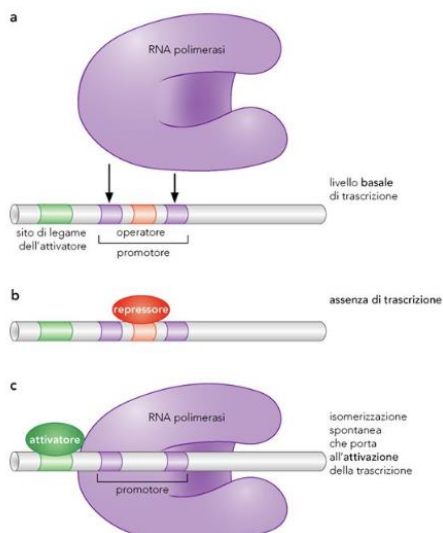


Il principio generale della regolazione genica esemplificato dall'operone del lattosio (operone *lac*) è che il **controllo della trascrizione è mediato dall'interazione di proteine regolatrici con specifiche sequenze di DNA**.

L'operone *lac* è un esempio di controllo negativo perché il legame del repressore blocca la trascrizione.

Questo schema generale di regolazione è universalmente applicabile alle cellule procariotiche ed eucariotiche.

I regolatori agiscono a livello dell'inizio della trascrizione



La regolazione si esplica modulando il legame dell'RNA polimerasi al promotore.

a. In genere l'RNA polimerasi si lega al promotore e abbiamo un livello di trascrizione basale.

b. Quando invece il repressore si lega abbiamo un'assenza di trascrizione e quindi questa è bloccata.

c. Quando invece abbiamo un'attivazione della trascrizione questi geni sono espressi ad un livello elevato solo quando è disponibile il lattosio e invece non è presente il glucosio. Questo perché in assenza di glucosio e in assenza di lattosio, si mette in moto un meccanismo trascrizionale che porta alla sintesi di enzimi utili per degradare questo nutriente alternativo.

Ma cosa succede se il glucosio e il lattosio sono presenti contemporaneamente? L'operone *lac* fornisce anche esempi di repressione e induzione da controllo positivo.

L'esempio meglio studiato di controllo trascrizionale positivo in *E. coli* è quello dell'azione del Glu sull'espressione dei geni che codificano per gli enzimi coinvolti nella degradazione di altri zuccheri (incluso il lattosio).

Preferenzialmente viene utilizzato il Glu, così che, finché il Glu è disponibile, gli enzimi coinvolti nel catabolismo di fonti energetiche alternative (come il lattosio) non vengono espressi.

Il Glu reprime l'Operone *lac* anche in presenza del suo induttore (il lattosio): **repressione da catabolita**.

La regolazione della trascrizione può essere **POSITIVA** e **NEGATIVA**

Quando il repressore dell'operone *lac* viene rimosso e quindi dell'ambiente è presente il glucosio si osserva una debolissima trascrizione, un livello basale di trascrizione di geni, perché l'RNA polimerasi è in grado di legarsi alle sequenze del promotore trascrivendo a bassi livelli l'RNA.

Controllo negativo: in presenza di una molecola di repressore che si lega al sito operatore, sovrapposto alle sequenze del promotore, la polimerasi non è più in grado di legarsi e non c'è trascrizione.

Controllo positivo: la polimerasi viene reclutata sul promotore con grande efficienza da una molecola di attivatore che si lega nella regione del promotore a monte dei siti di riconoscimento della polimerasi. In questo caso i livelli di RNA prodotto sono molto alti.

Quindi:

- In presenza di glucosio e lattosio: il batterio utilizzerà il glucosio e avremo un **basso livello di trascrizione** e quindi pochi enzimi per metabolizzare il lattosio;
- In presenza di glucosio e assenza di lattosio: la **trascrizione è inibita** perché abbiamo l'attivazione dell'operone quindi inducibile negativamente (il repressore blocca la trascrizione);
- In assenza di glucosio e presenza di lattosio: la **trascrizione è attivata** poiché l'operone è indotto dal lattosio e si ha la trascrizione.

Nell'operone del lattosio abbiamo due proteine regolatrici:

- **Lac repressore:** può legare il DNA e reprimere la trascrizione solo in assenza di lattosio;
- **CAP attivatore:** può legare il DNA e attivare i geni solo in assenza di glucosio e presenza di lattosio.

Il **CONTROLLO POSITIVO** della trascrizione avviene mediante la proteina CAP (o CRP) cioè Proteina Attivatrice da Catabolita. Quando CAP si lega al sito gli attivatori stimolano la trascrizione quando sono legati al DNA.

Quindi abbiamo un sito nell'operone *lac*, un sito per il repressore e un sito CAP che lega l'attivatore.

Abbiamo i tre geni e a monte della regione regolativa (promotore-operone) è presente il sito di legame gene CAP che codifica per la proteina CAP. CAP, da sola, non si lega al sito a monte del promotore e la trascrizione resta a livello basale (quindi un basso livello di trascrizione).

La repressione da Glucosio è mediata da un sistema di controllo positivo che è accoppiato ai livelli di cAMP. Quindi CAP deve essere attivata dalla cAMP.

Esiste nei batteri un enzima che è l'adenilato ciclasi che converte l'ATP in cAMP, questo enzima viene inibito dall' α -ketoglutarato che a sua volta si forma dal glucosio.

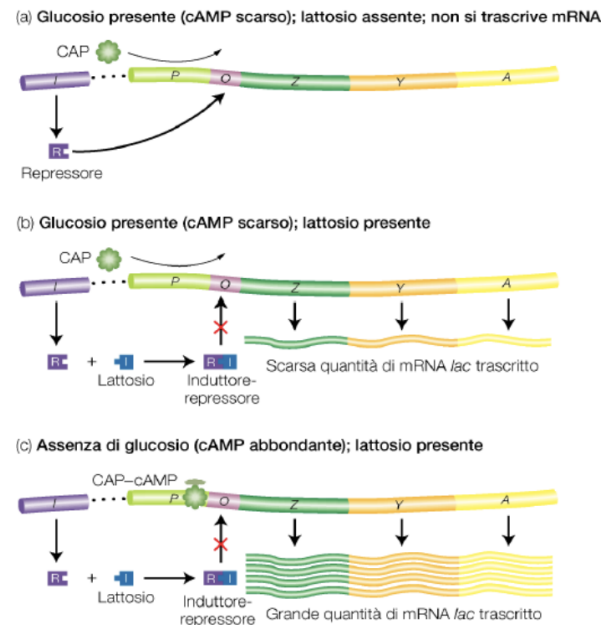
Quando abbiamo alti livelli di glucosio questo produce l' α -ketoglutarato che va a bloccare l'enzima cAMP che quindi non viene prodotto. Questo enzima si forma al contrario quando i livelli di glucosio sono bassi.

Quindi: In assenza di glucosio si ha un aumento del cAMP, che, legando CAP, la rende in grado di legare il sito CAP e di attivare così la trascrizione dei geni strutturali (quindi si lega il sito CAP, la RNA polimerasi si può legare con maggiore forza perché attiva la trascrizione e abbiamo la sintesi dei geni). Ecco perché questa trascrizione si ha soltanto in assenza di glucosio, poiché in presenza di glucosio non c'è adenosinmonofosfato ciclico.

CAP quindi si lega all'adenosinmonofosfato ciclico (cAMP) e si lega vicino al promotore, quindi si viene a forma una curva del DNA che aumenta l'affinità dell'RNA polimerasi per il sito promotore.

RIASSUMENDO:

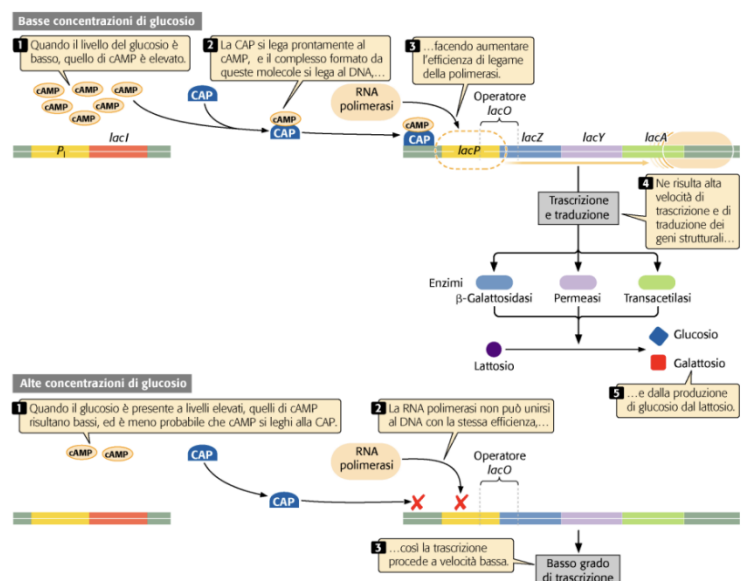
- Glucosio presente, cAMP scarso, lattosio assente, non si trascrive mRNA (perché la cellula utilizza glucosio);
- Glucosio presente, cAMP scarso, lattosio presente e quindi avremo scarsa quantità di trascritto (livello basale minimo perché la cellula utilizza sempre il glucosio);
- Assenza di glucosio, cAMP abbondante, lattosio presente e quindi grande quantità di geni strutturali (quindi elevata trascrizione).



L'RNA polimerasi lega con bassa efficienza il promotore (livelli di espressione basali bassi). Quando CAP invece interagisce con la polimerasi tramite l' α -CTD viene stabilizzato il legame dell'enzima al promotore. Poiché abbiamo detto che la proteina CAP ha due siti di legame: uno che lega l'RNA polimerasi attraverso α -CTD e l'altro che è il sito CAP interagisce con la polimerasi tramite α -CTD stabilizzando il legame dell'enzima al promotore.

Riassumendo:

- Basse concentrazioni di glucosio: quando il livello di glucosio è basso, quello di cAMP è elevato. La CAP si lega prontamente al cAMP, e il complesso formato da queste molecole si lega al DNA facendo aumentare l'efficienza di legame della polimerasi. Ne risulta alta velocità trascrizione e di traduzione dei geni strutturali e produzione di glucosio dal lattosio.
- Alte concentrazioni di glucosio: quando il glucosio è presente ad alti livelli, quelli di cAMP risultano bassi, ed è molto probabile che cAMP si leghi alla CAP. La RNA polimerasi non può unirsi al DNA con la stessa efficienza così la trascrizione procede a velocità bassa.



2. VIA ANABOLICA E REPRESSIONE DA PRODOTTO FINALE

Per le vie anaboliche abbiamo due tipi di regolazione: regolazione dell'espressione genica e regolazione dell'attività enzimatica.

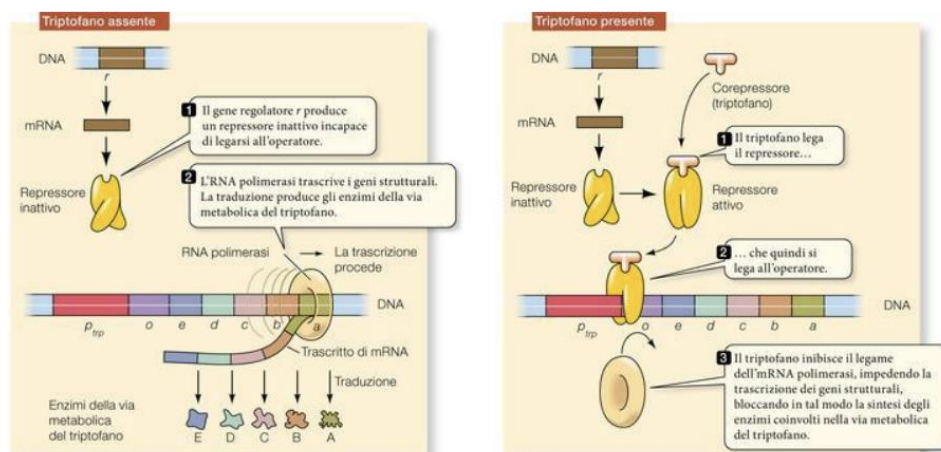
Un processo che segue questa via è la sintesi del triptofano. Quando il triptofano è assente nel mezzo di coltura si avvia la trascrizione, quando è presente si blocca la trascrizione.

Nell'operone del triptofano sono presenti cinque geni (a, b, c, d, e) che codificano ognuno per diversi enzimi. Questi geni sono disposti sempre a valle della regione del promotore operatore.

PRESENZA DI TRIPTOFANO: la trascrizione è regolata da un repressore inattivo che, quando il triptofano è presente si lega al repressore attivo, quindi funge da co-repressore. In questo caso questo repressore si lega all'operatore e l'operone è represso. Quindi l'RNA polimerasi non può legare il promotore e la trascrizione non avviene. Quindi in presenza di triptofano la trascrizione è bloccata perché la cellula non ha bisogno di sintetizzare triptofano perché lo ha già.

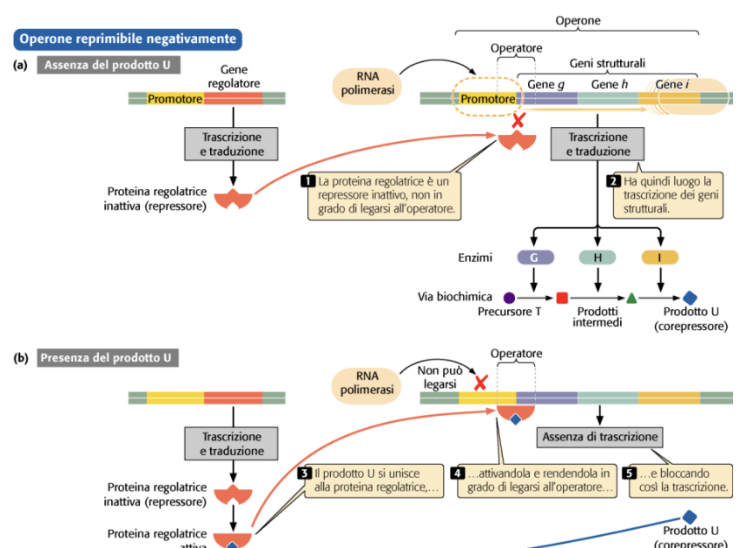
ASSENZA DI TRIPTOFANO: in assenza di triptofano il repressore è inattivo (perché non c'è il co-repressore), questo non si lega al sito operatore, quindi l'RNA polimerasi si lega al promotore e l'operone è de-represso. In questo caso la trascrizione viene attivata con produzione dei geni delle proteine che sono implicate nella sintesi del triptofano. Alla fine quindi abbiamo la produzione di: antranilato sintetasi, antranilato transferasi, PRA isomerasi/IGP sintetasi, sintetasi di tipo A e sintetasi di tipo B.

Inoltre abbiamo un altro trascritto che viene prodotto che si chiama **sequenza o proteina leader** che esprimerà un sito che viene detto attenuatore perché il triptofano è soggetto a due tipi di regolazione: una a livello trascrizionale e una livello post-trascrizionale.



Operone reprimibile negativamente:

- Assenza del prodotto U: non c'è il triptofano, abbiamo la sintesi degli enzimi;
- Presenza del prodotto U: blocco della traduzione.



Meccanismo di attenuazione della trascrizione

Una delle caratteristiche peculiari dell'espressione genica dei procarioti è la **contemporaneità dei meccanismi di trascrizione e traduzione**.

L'accoppiamento tra trascrizione e traduzione consente un eccezionale tipo di regolazione della sintesi di mRNA batterici denominato **attenuazione**.

La regolazione dell'operatore del *trp* nei batteri rappresenta un classico esempio di **attenuazione della trascrizione**.

L'inizio della trascrizione dell'operone *trp* è controllato a livello post-trascrizionale dal ripiegamento differenziale dell'RNA.

La sequenza leader contiene quattro regioni che sono chiamate 1, 2, 3 e 4 che sono delle sequenze palindromiche invertite che possono accoppiarsi e dare origine a delle strutture a forcine.

La regione 1 può appaiarsi con la regione 2 e la regione 3 può appaiarsi con la regione 4. Quando la regione 3 si appaia con la regione 4, essendo ricca di uracile, si viene a creare una sequenza di terminazione della trascrizione.

In realtà la sequenza 2 si può accoppiare non solo con la sequenza 1 ma anche con la 3; in questo caso la regione 3 non si può appaiare con la regione 4 e quindi non si forma la terminazione della trascrizione.

Quindi:

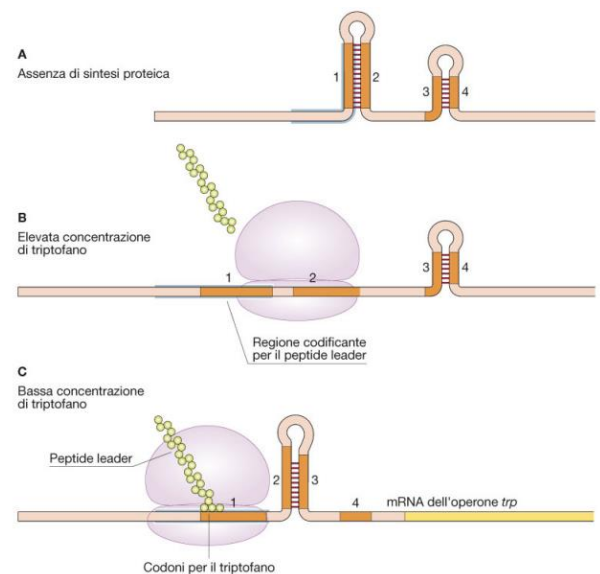
La sequenza codificata dal gene *trpL* contiene anche quattro regioni (numerate da 1 a 4) che possono formare alternativamente delle strutture a forcine e due codoni per il triptofano responsabili dell'attenuazione.

La regione 1 può appaiarsi con la regione 2 e la regione 3 può legare la regione 4 formando una struttura a forcina di terminazione della trascrizione.

Alternativamente, la regione 2 può appaiarsi con la regione 3 (in questo caso, la regione 3 non si appaia con la regione 4 e non forma la forcina di terminazione della trascrizione).

Se nella cellula **il triptofano non è presente o è presente in basse concentrazioni**, la traduzione della sequenza leader si arresta in corrispondenza di uno dei due codoni per il triptofano. Tale arresto della traduzione permette l'appaiamento delle regioni 2 e 3, prevenendo la formazione della forcina di terminazione derivante dal legame delle regioni 3 e 4. In queste condizioni, può procedere la trascrizione dell'intero operone *trp* per sintetizzare triptofano.

In presenza di triptofano, la traduzione, procedendo oltre i codoni per il triptofano, permette l'appaiamento delle regioni 3 e 4 e la conseguente formazione della forcina di terminazione della trascrizione consentendo la terminazione di quest'ultima.



Alla fine possiamo dire che abbiamo due meccanismi di controllo della regolazione genica: in una abbiamo gli **operoni inducibili** e nell'altra gli **operoni repressibili**.

Per operoni inducibili si intende quelli la cui trascrizione viene indotta dall'aggiunta di un induttore (induzione da substrato).

Per operoni repressibili si intende invece quelli la cui trascrizione viene repressa da una molecola segnale che è il co-repressore.

A sua volta l'induzione o la repressione possono essere di tipo negativo o positivo.

Quindi:

- **Induzione a controllo negativo:** es. operone *lac*. Poiché il repressore quando si lega blocca la trascrizione e inoltre è il lattosio che va ad indurre e quindi viene indotto l'operone.
- **Induzione a controllo positivo:** es. regolazione esercitata dalla proteina CAP sulla trascrizione dell'operone *lac*.
- **Repressione a controllo negativo:** es. operone del triptofano. Viene bloccata la trascrizione e il repressore non è attivo ma viene attivato dall'interazione con il co-repressore (da indotto viene represso).
- **Repressione a controllo positivo:** es. questo meccanismo non c'è!!! Sebbene possa esistere in natura (poiché è probabile che ci sia). Dovuto ad un attivatore che viene attivato dall'interazione con il co-repressore.