

Universidade de São Paulo
Instituto de Química

QBQ0317 – 2020

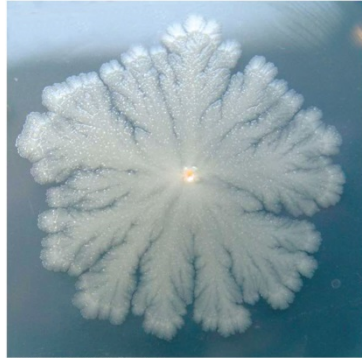
Aula 9

Regulação da Transcrição em Bactérias

Regina Baldini (baldini@iq.usp.br)

Bactérias tem diferenciação celular, sentem e respondem ao meio ambiente

Effects of starvation on colony morphology

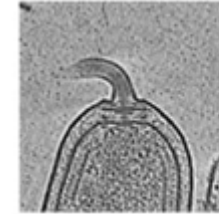


JOHN FOSTER, U. OF SOUTH ALABAMA

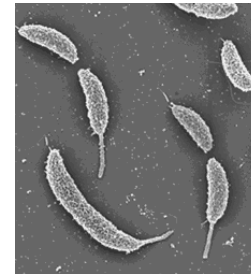
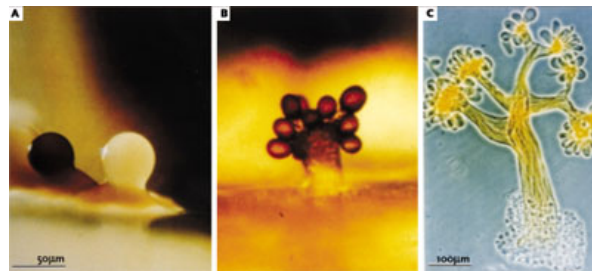
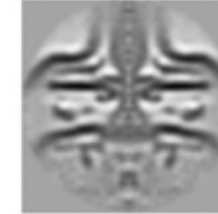
Microbiology: An Evolving Science, Third Edition, Figure 5.22a
Copyright © 2014 W. W. Norton & Company, Inc.



EPEC attaching/effacing lesion on small intestinal biopsy



Helicobacter hepaticus



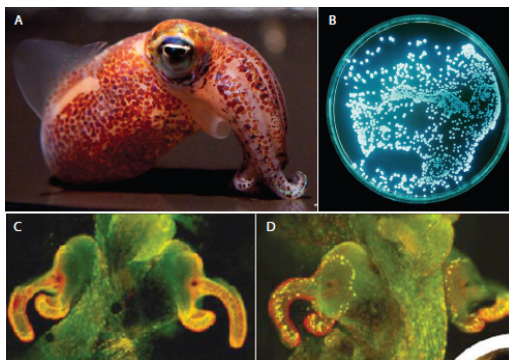
Representative microbes



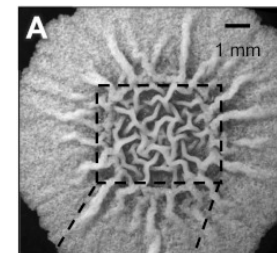
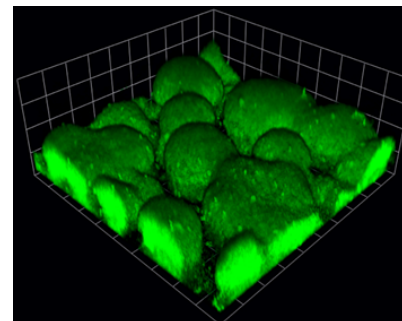
20 μm

Microbiology: An Evolving Science, Third Edition, Figure 1.2a
Copyright © 2014 W. W. Norton & Company, Inc.

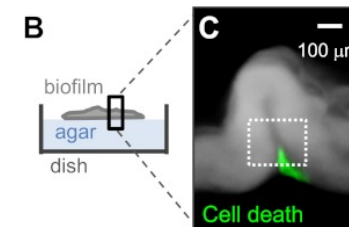
DR. PETER SIVER/VISUALS UNLIMITED, INC.



Vibrio fischeri



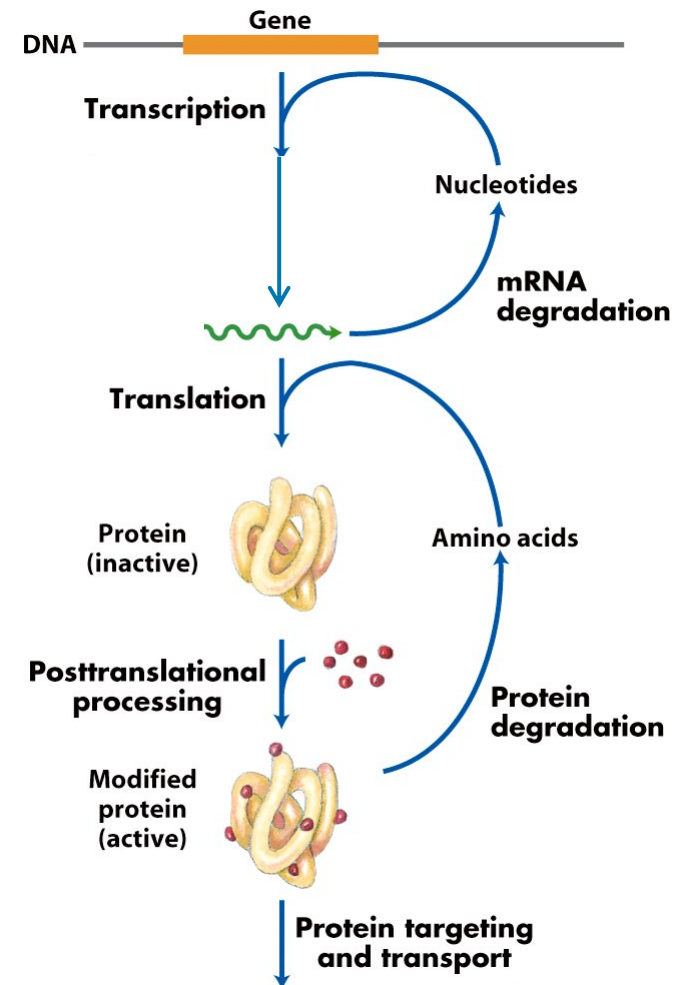
PNAS 2012. 109(46): 18891–18896



Cell death

Níveis de Regulação da Expressão Gênica em Bactérias

- Regulação transcricional
 - Início de transcrição
 - Terminação/antiterminação da transcrição
- Regulação pós-transcricional
 - Estabilidade do mRNA
 - Eficiência da tradução
- Regulação pós-traducional
 - Estabilidade/degradação de proteínas



Expressão pode ser:

- **Constitutiva**
 - gene “ligado” o tempo todo
- **Regulada**
 - Gene só é expresso se necessário
 - regulação positiva
 - regulação negativa

Regulação do início de transcrição

- Sequência do promotor
- Fatores sigma alternativos
- Ativadores de transcrição
- Repressores de transcrição

Fatores sigma de *E. coli*

TABLE 10-1 Sigma Factors of *E. coli*

Sigma Factor	Promoters Recognized	Promoter Consensus	
σ^{70}	Most genes	-35 Region TTGACAT	-10 Region TATAAT
σ^{32}	Genes induced by heat shock	TCTCNCCTTGAA	CCCCATNTA
σ^{28}	Genes for motility and chemotaxis	CTAAA	CCGATAT
σ^{38}	Genes for stationary phase and stress response	?	?
σ^{54}	Genes for nitrogen metabolism and other functions	-24 Region CTGGNA	-12 Region TTGCA

SOURCES: C. A. Gross, M. Lonetto, and R. Losick, 1992, in S. L. McKnight and K. R. Yamamoto, eds., *Transcriptional Regulation*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; D. N. Arnosti and M. J. Chamberlin, 1989, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* **86**:830; R. Hengge-Aronsis, 1996, *Mol. Microbiol.* **21**:887.

Fatores sigma alternativos respondem a sinais ambientais ou de desenvolvimento

Consenso para Sigma 32 (choque térmico)

PubMed Central, Microbiology, 2009 August, 133(Pt 8): 2300-2372. doi: 10.1099/mic.0.025038-0. Mozilla Firefox
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2888120/table/t4/>

Table 4.

Heat-induced genes with a potential σ^{32} -binding sequence in the promoter region

Distance*	Length†	Binding site sequence	Locus	Gene product‡
34	27	CTTGAAAAACAGCAAAGTATCCTTAAG	FTL_0094	ClpB protein
81	30	CTTGAAAAACTAACTTCCACTCTCATATA	FTL_0267	Heat-shock protein 90, HtpG
84	27	CTTGTATTTATATAAAAAGACCTTATA	FTL_0281	Heat-shock protein, Hsp40
7	28	CTTGAAAATGATTAGAAAAAGTATTTTA	FTL_0663	Hypothetical protein
101	29	CTTGTCATATATTTAATAATAAACATATA	FTL_0891	Trigger factor
162	28	CTTGAAGTGATGTTTCATATACCTTCAT	FTL_0894	DNA-binding, ATP-dependent protease La
48	29	CTTGAAAATTTAATATCAATTCCATTTA	FTL_0965	ATP-dependent protease, peptidase subunit, HslV
82	29	CTTGAAAATACAGAATTAATCACTATCTA	FTL_1190	Chaperone protein GrpE (heat-shock protein family 70 cofactor)
92	29	CTTGAAAAGATTATAAATATGCCCATCTA	FTL_1191	Chaperone protein DnaK (heat-shock protein family 70 protein)
68	30	CTTGAAAATTAAAAAAAGCCCCCAATTC	FTL_1265	2-Amino-4-hydroxy-6-hydroxymethylidihydropteridine pyrophosphokinase/dihydropteroate synthase
98	29	CTTGAAAATTTTTTTTTTGAATCAATATC	FTL_1715	Chaperonin protein, GroES
40	29	CTTGTATTTAGCATGATCGTATCATTCTT	FTL_1805	ATPase
75	27	CTTGAAATTTTAAAAACCGATCATATA	FTL_1957	Heat-shock protein

*Distance from ATG start codon

†Length (nucleotides)

‡Gene product according to

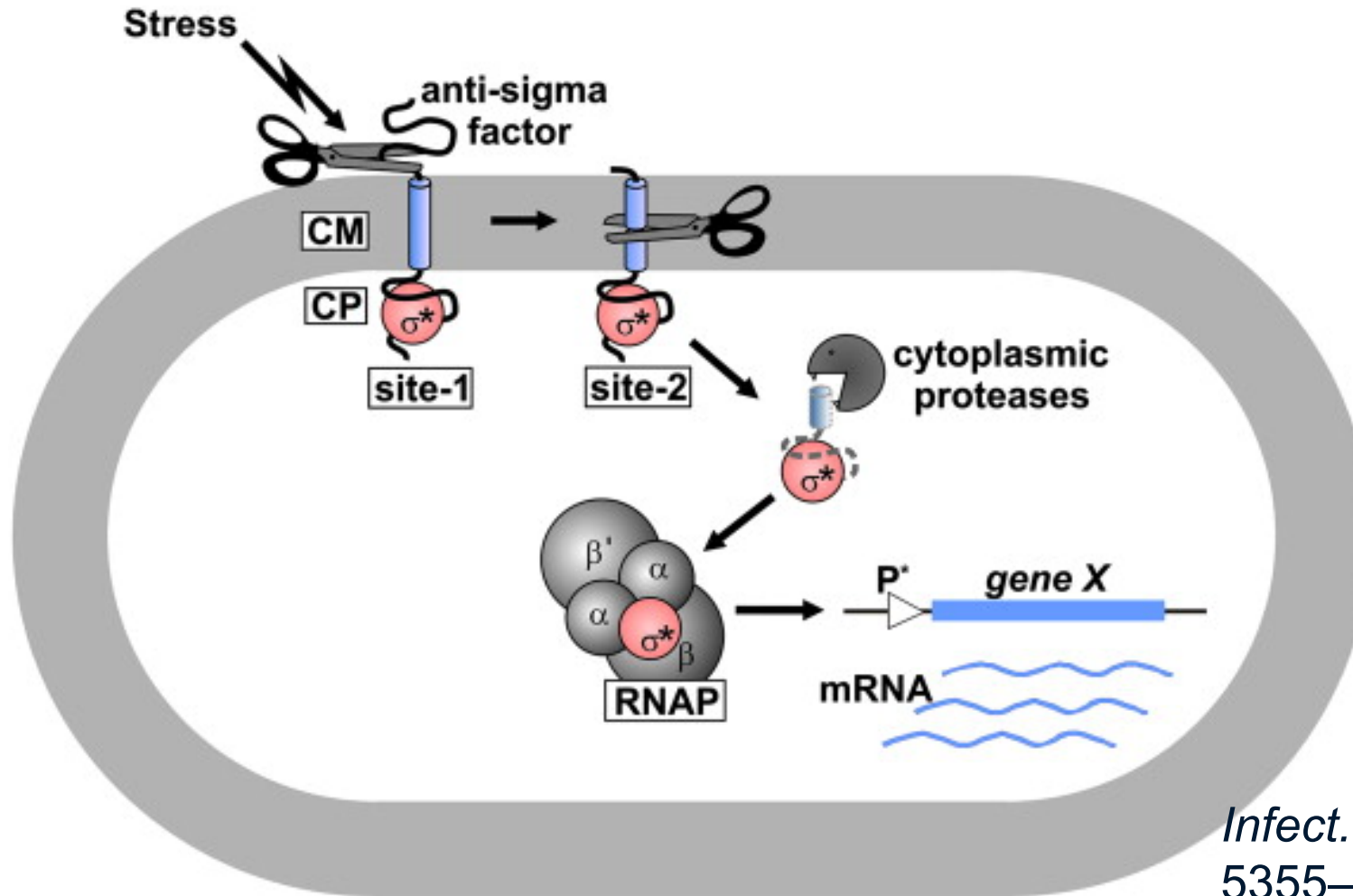
Microbiology, 2009 Aug; 133(Pt 8): 2300-2372. doi: 10.1099/mic.0.025038-0

Copyright © 2009, SC



Concluido

Atividade de um fator σ pode ser controlada por um fator anti- σ , que o sequestra quando não é necessário



Infect. Immun. **70** (2002),
5355–5362

Exemplo: σ^E de *E. coli*

Regulação do início de transcrição

- Sequência do promotor
- Fatores sigma alternativos
- **Ativadores de transcrição**
- **Repressores de transcrição**

Controle do início da transcrição

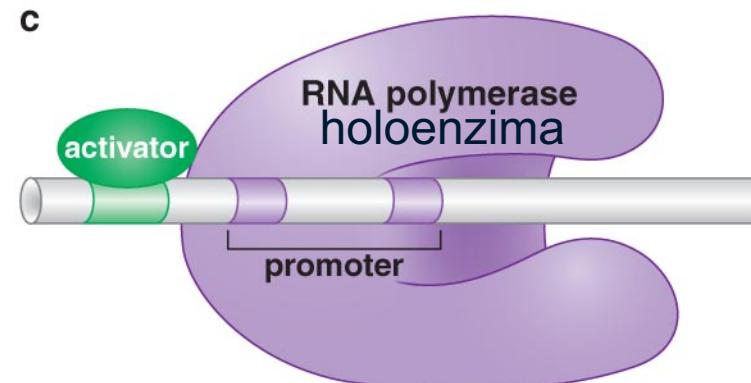
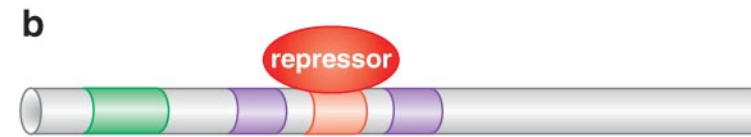
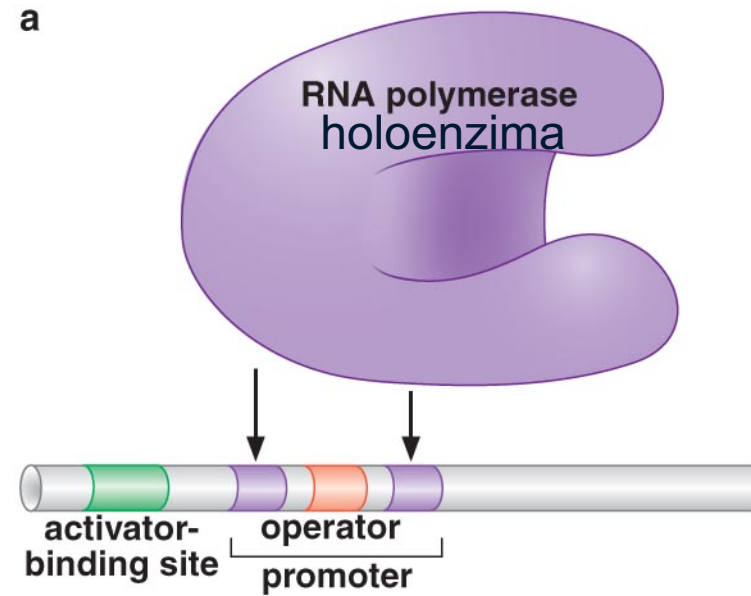
Nível basal de transcrição
(expressão constitutiva)

Repressão da transcrição

Repressores

Ativação da transcrição

Ativadores



Elementos regulatórios

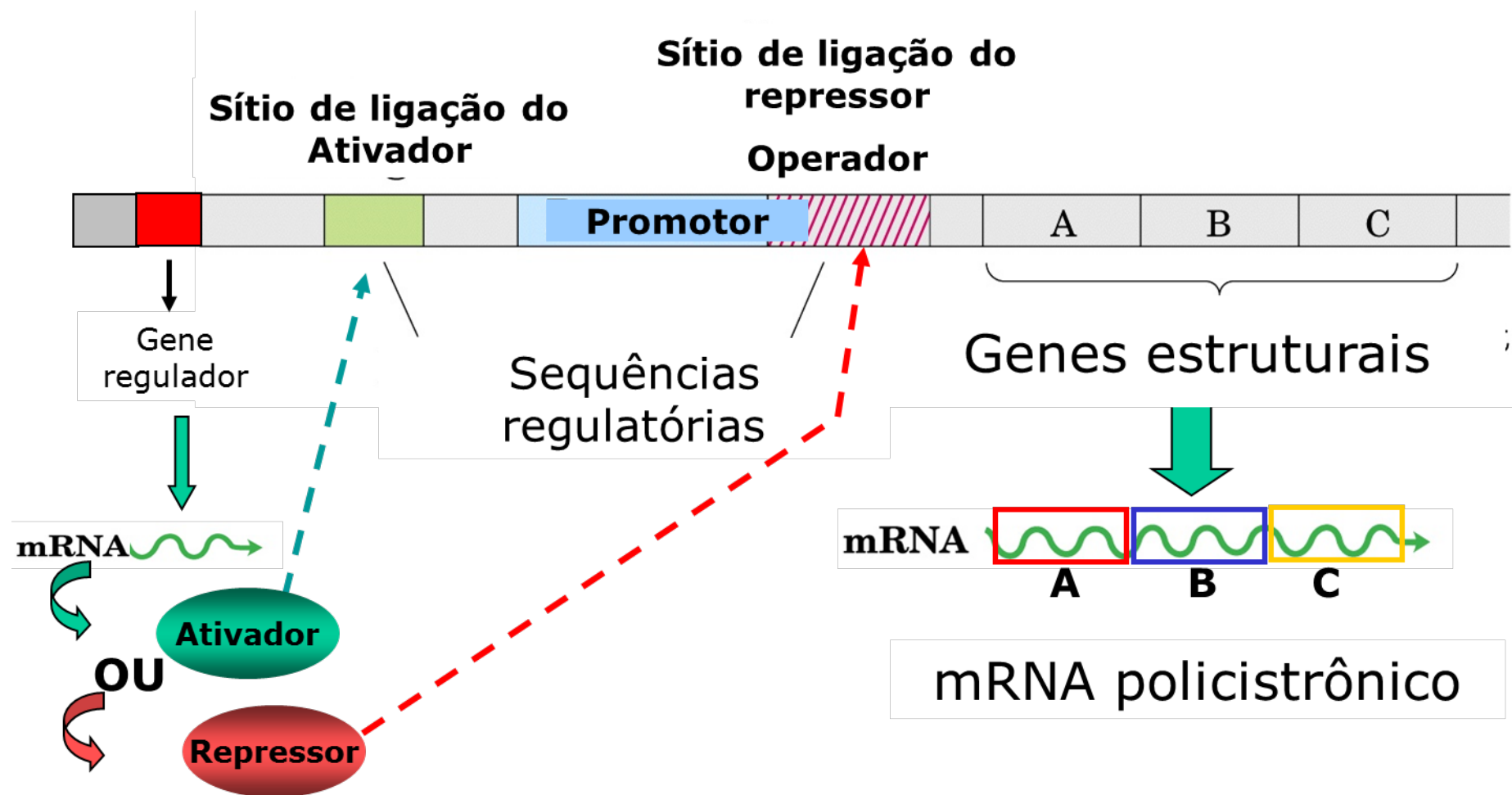
- *cis*

- Presentes no **DNA**, próximo ao gene cuja expressão é regulada
 - promotor (onde se liga a RNA polimerase)
 - operador (onde se ligam os repressores)
 - sequências ativadoras

- *trans*

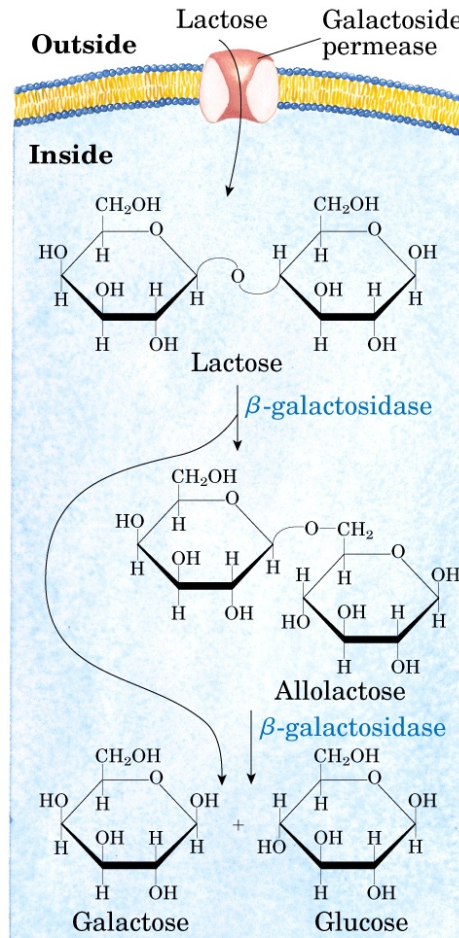
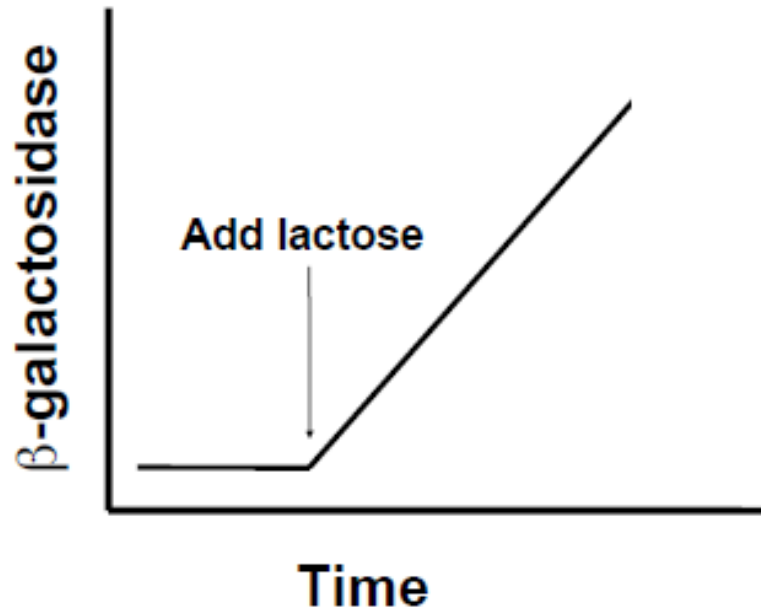
- **proteínas** que podem ser codificadas em outro lugar do genoma - difusíveis
- ligam-se a elementos *cis*
- ativadores ou repressores

Operons são conjuntos de genes transcritos como um mRNA, a partir do mesmo promotor: **regulação coordenada**



Modelo do operon *lac* - Jacob e Monod, 1960

- Uso da lactose por *E. coli*:
 - Enzima β -galactosidase, que hidrolisa a lactose
 - só está presente quando o meio contém lactose e não tem glicose



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1965
François Jacob, André Lwoff, Jacques Monod

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1965

François Jacob

André Lwoff

Jacques Monod



François Jacob



André Lwoff

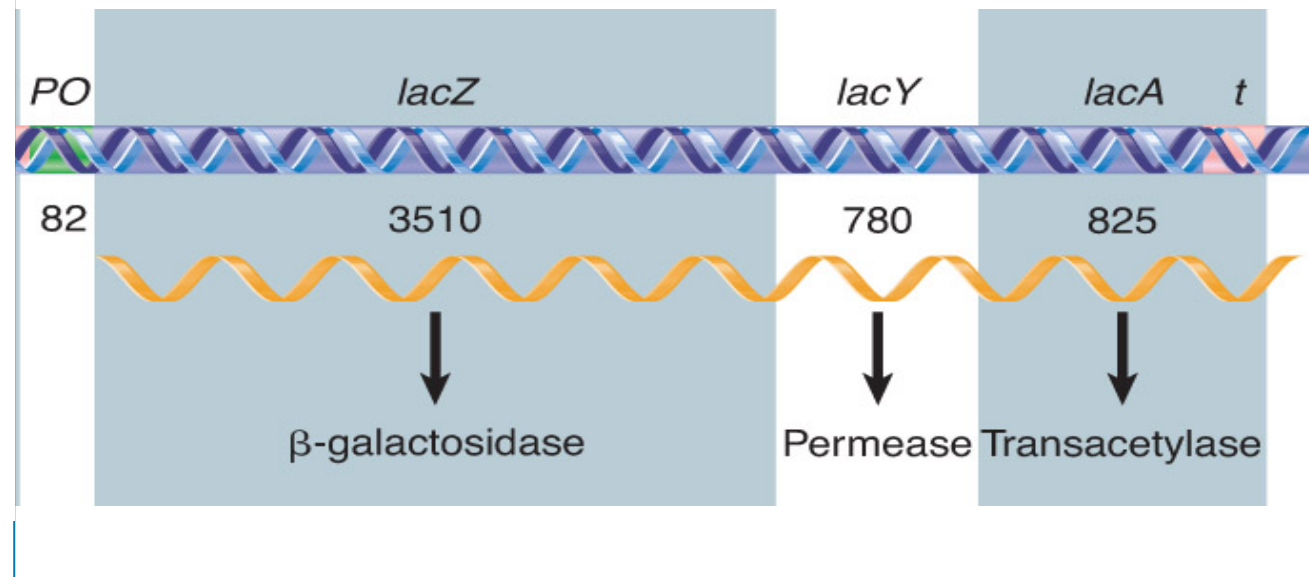


Jacques Monod

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1965 was awarded jointly to François Jacob, André Lwoff and Jacques Monod "for their discoveries concerning genetic control of enzyme and virus synthesis".

Operon *lac*

genes estruturais

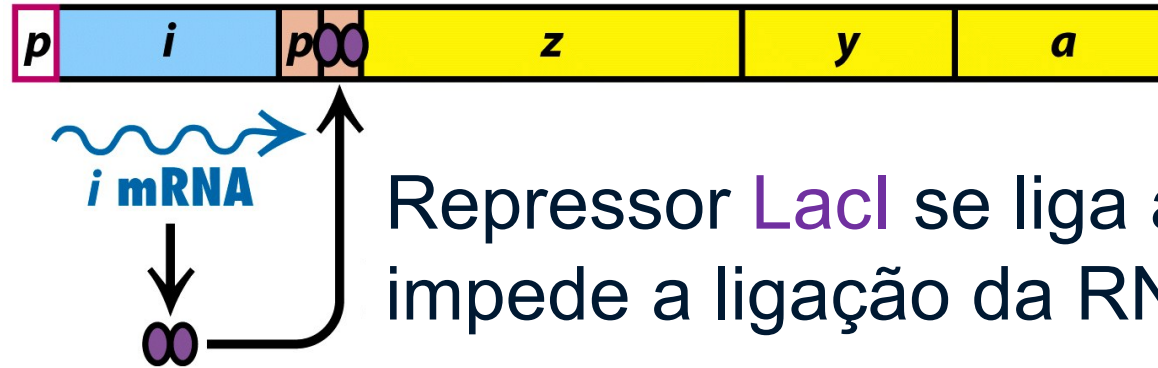


lacI: gene regulatório (codifica um elemento *trans*)

Não faz parte do operon

Expressão constitutiva

Operon *lac* na ausência de lactose



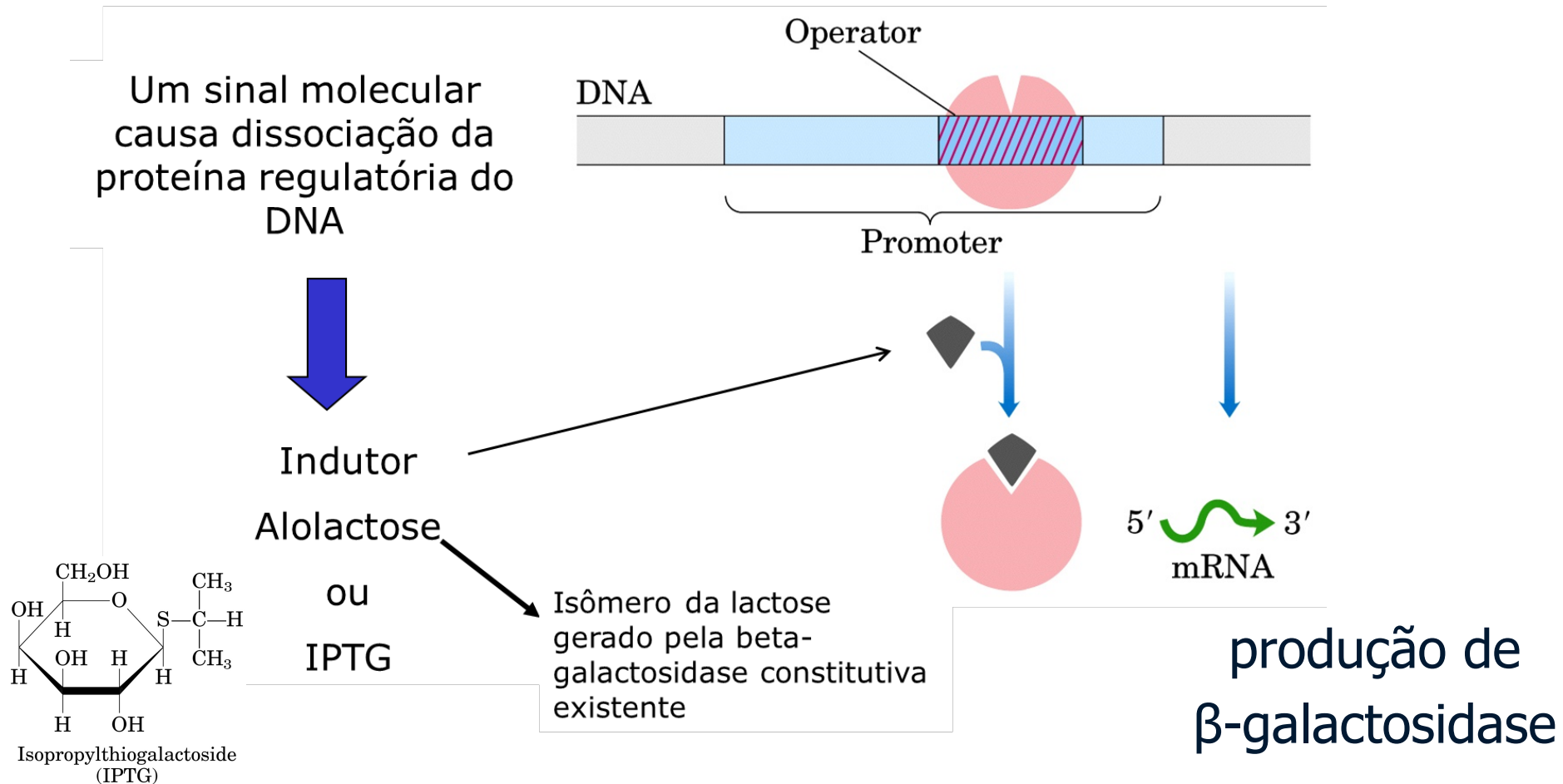
Repressor **LacI** se liga ao operador e impede a ligação da RNA polimerase *lacZ*, *lacY* e *lacA* não são transcritos

Figure 31-13a
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

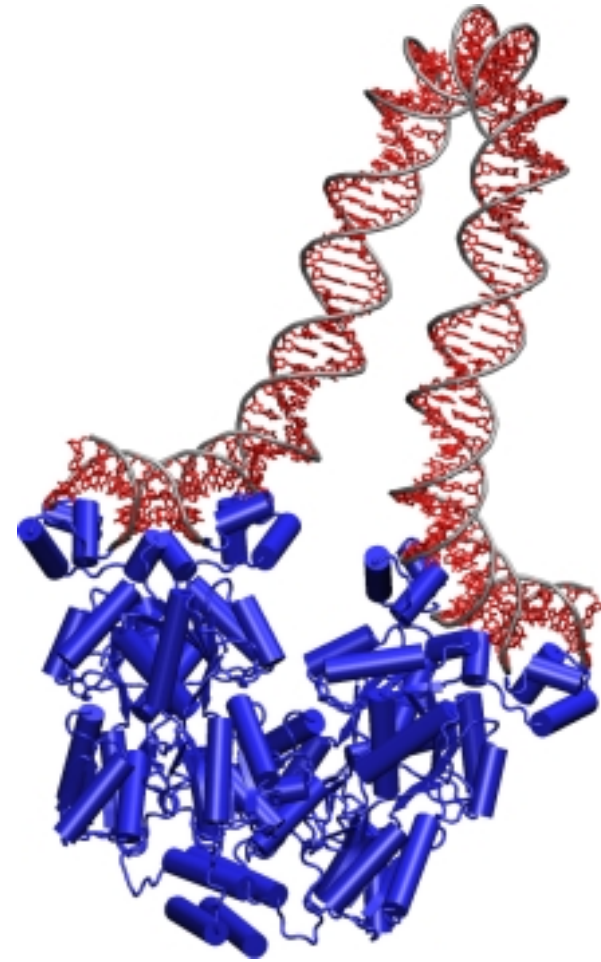
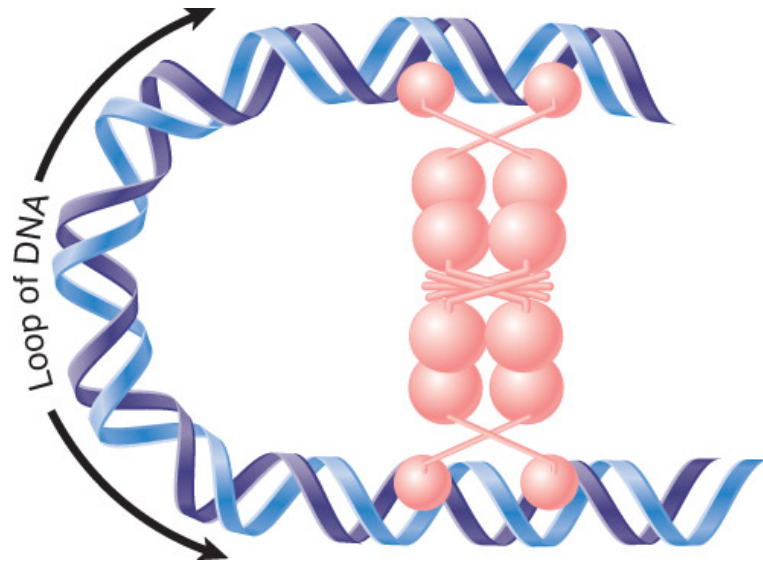
Não há produção de β -galactosidase

Na presença de lactose, o repressor se desliga do operador

Regulação negativa: repressor ligado inibe a transcrição

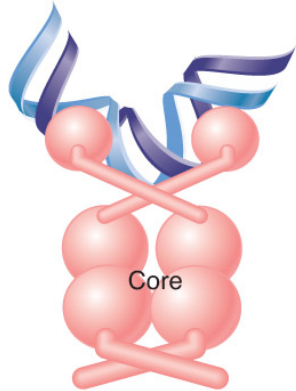


Repressor LacI é um tetrâmero que se liga a duas regiões no DNA

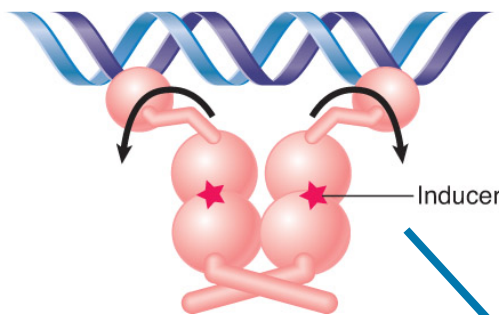


Ligação do indutor muda a conformação do repressor LacI

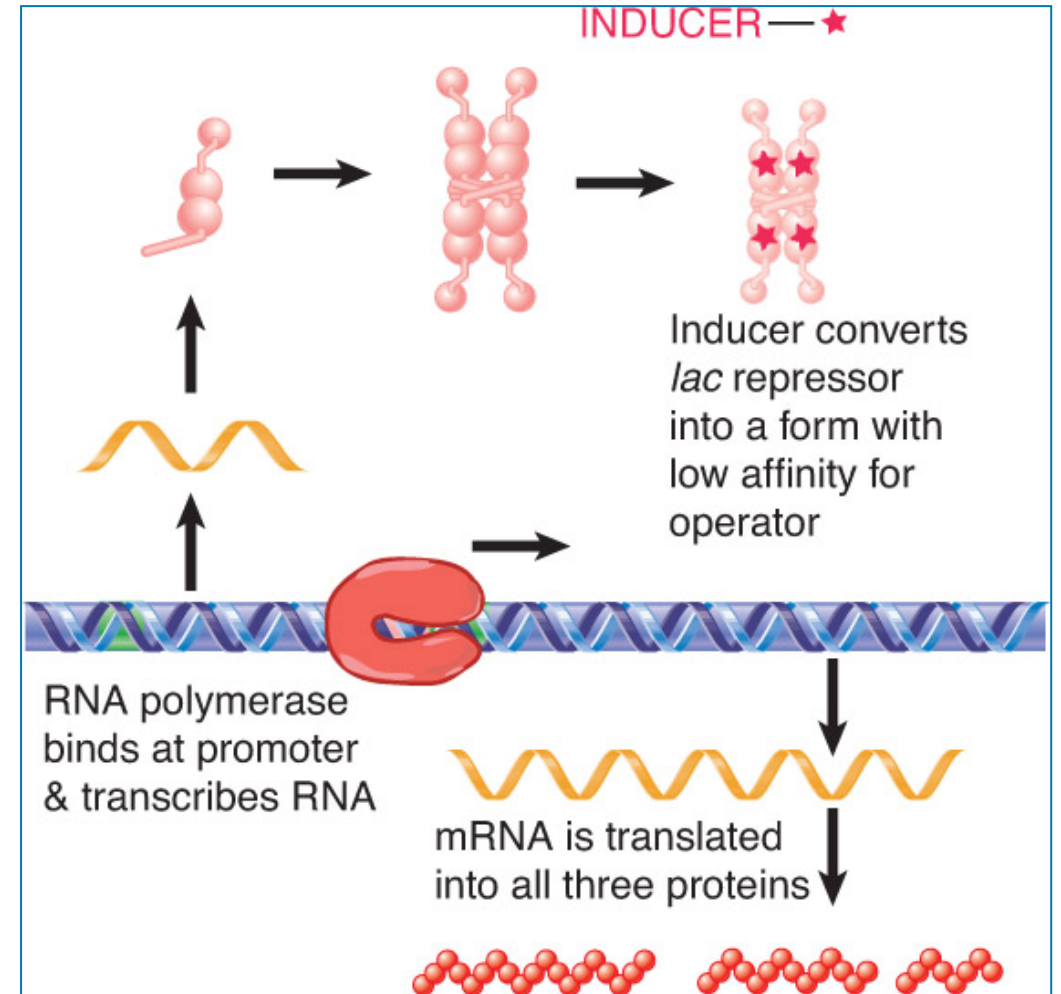
Headpieces bind successive turns in major groove



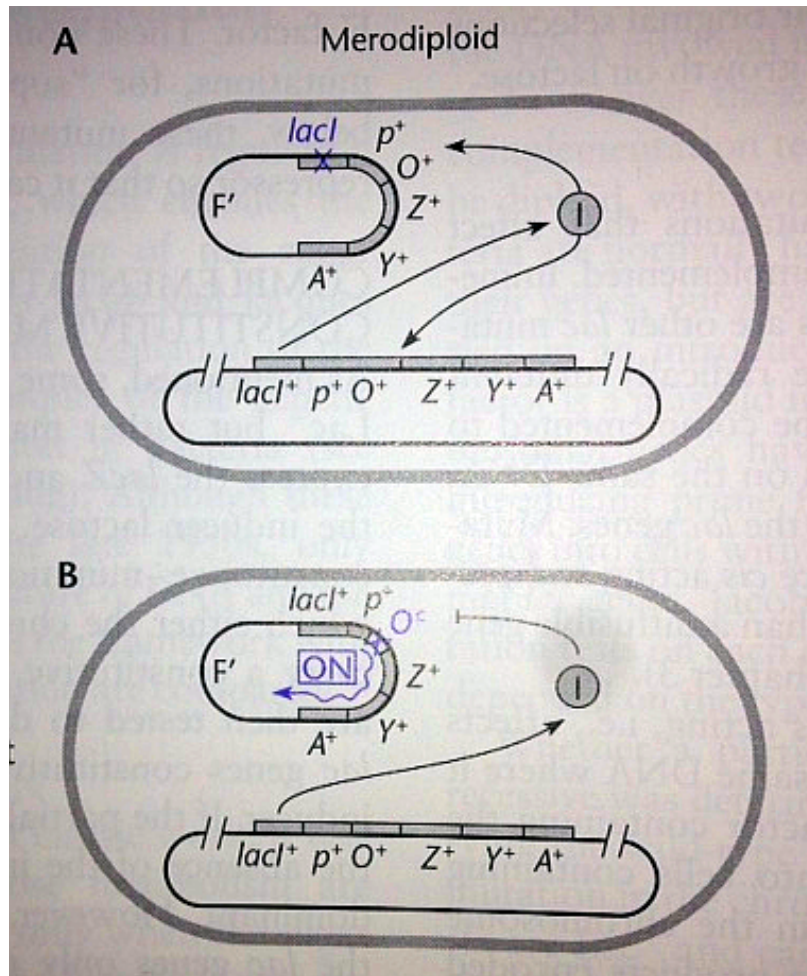
Inducer binding changes conformation



desliga-se do DNA

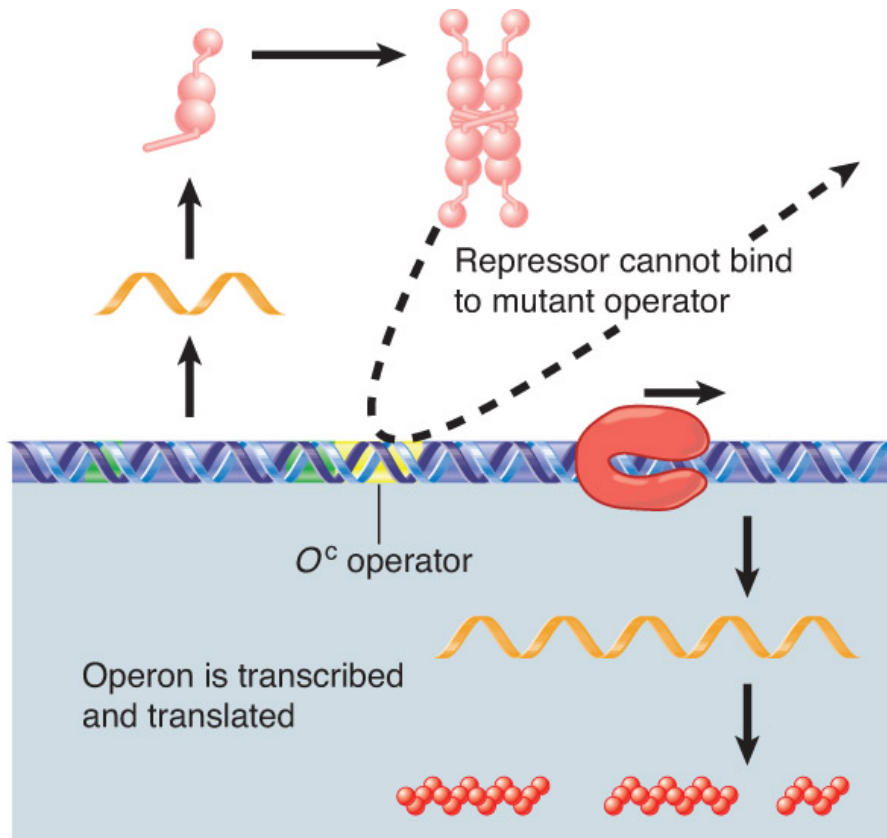


Jacob e Monod chegaram a este modelo usando mutantes e ensaios de complementação



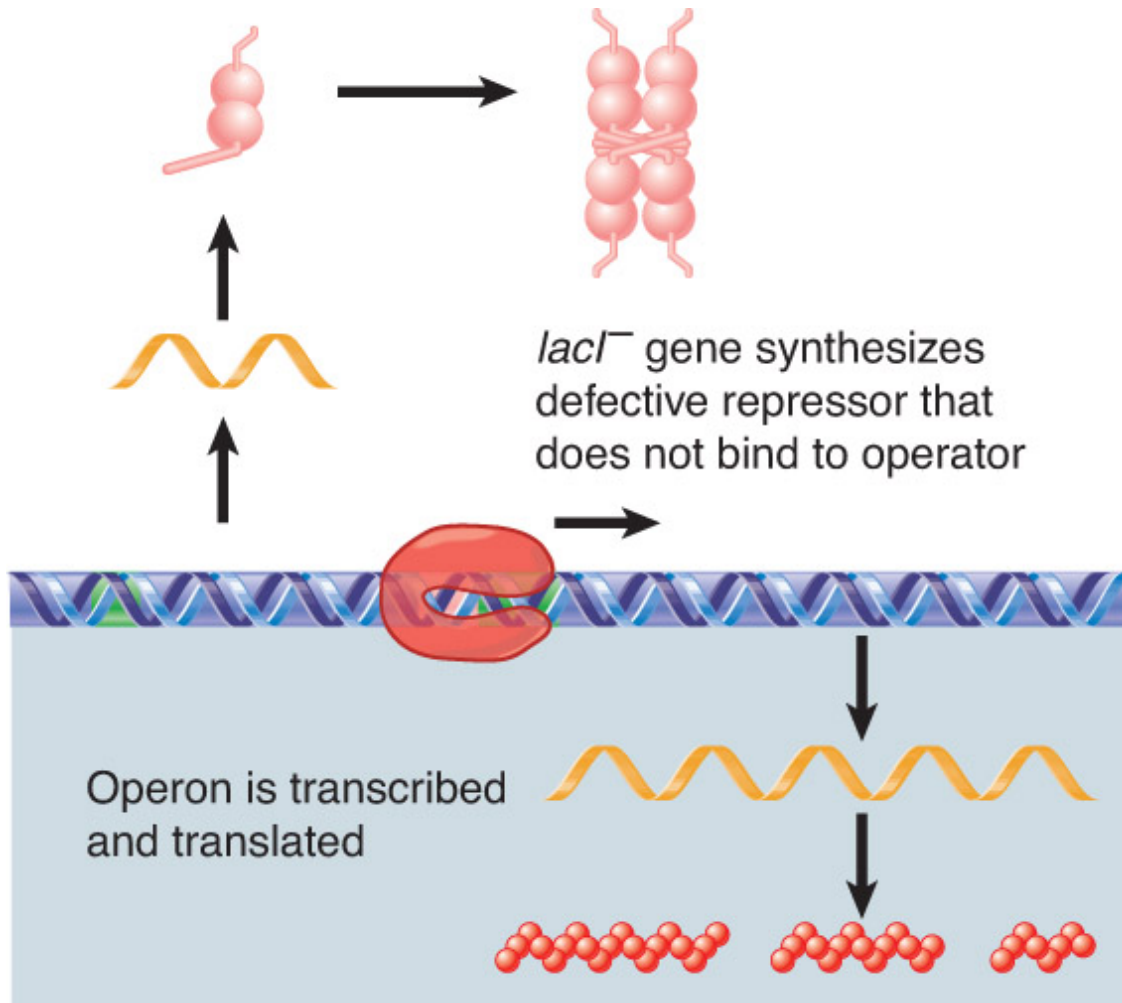
- Diplóides transitórios (merodiploides) com a inserção de um plasmídeo F' com genes do operon *lac*
- Diferentes combinações de mutações no cromossomo e no F'
- Determinação de fatores *cis* e *trans*, dominantes ou recessivos

Jacob e Monod chegaram a este modelo usando mutantes e ensaios de complementação



- Mutação no operador (LacO^c)
 - LacI não se liga
 - Expressão constitutiva, ou seja, mesmo na ausência de indutor
 - *Cis*-dominante:
 - Não pode ser complementada por outra molécula de DNA

Mutações constitutivas no repressor LacI



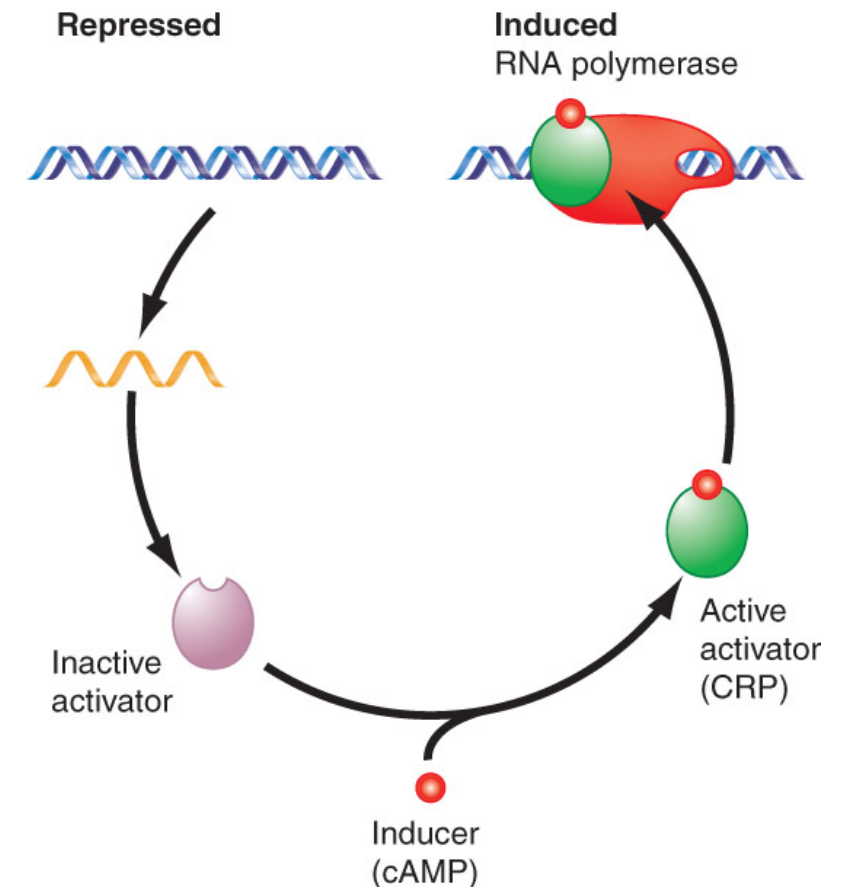
- Mutação que faz repressor não ligar no DNA
- *trans*-recessiva
 - Pode ser complementada se o gene *lacI* selvagem estiver em outra molécula de DNA

Operon *lac* tem mais um nível de regulação:

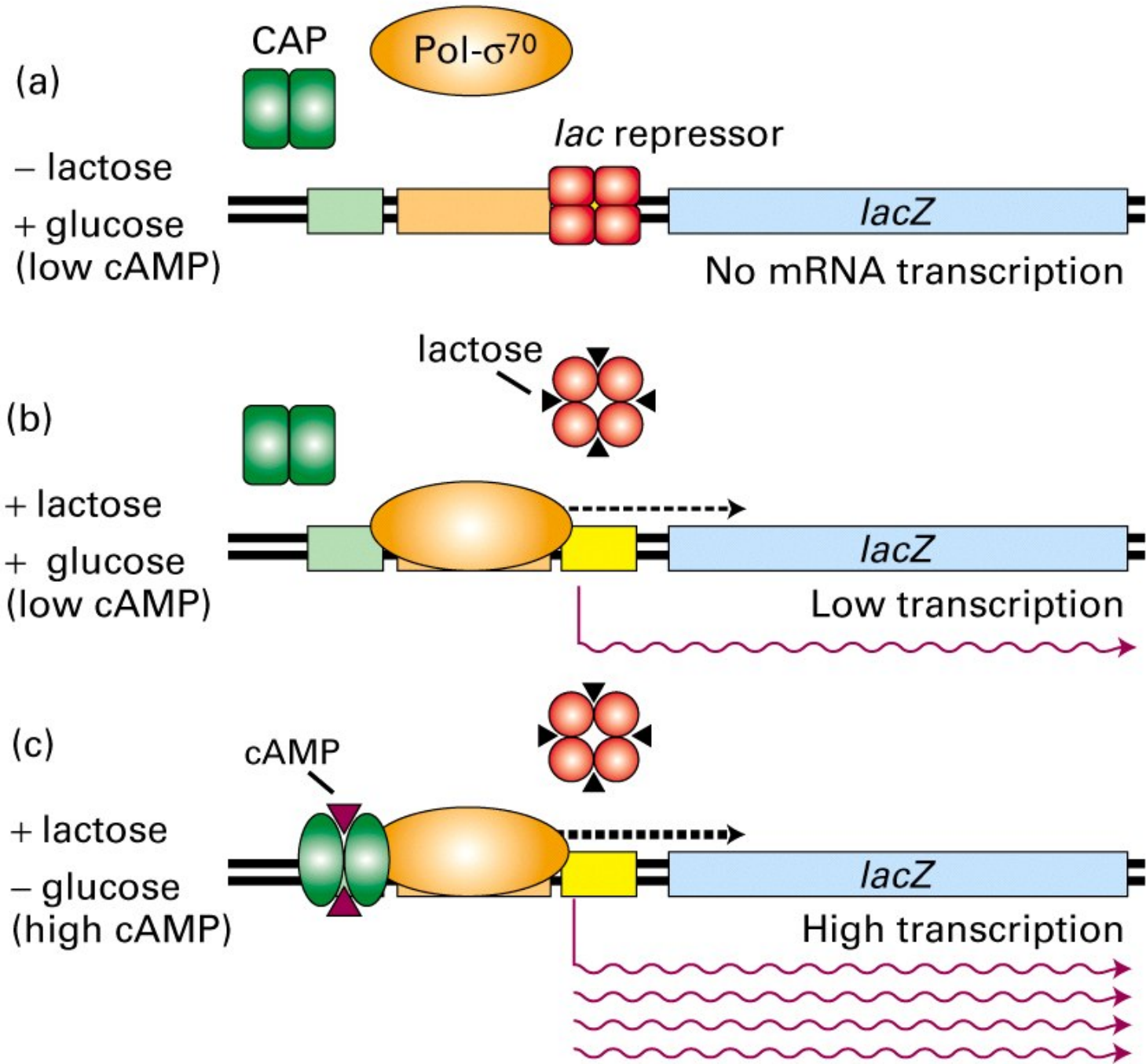
- *E. coli* prefere usar glicose como fonte de carbono e energia
- Quando há glicose no meio, a regulação **negativa** se sobrepõe à indução pela presença de lactose
- Portanto se há tanto glicose quanto lactose no meio, o operon *lac* não é induzido.

Se houver glicose no meio, não há síntese de β -galactosidase mesmo na presença de lactose

- Quando glicose está presente, a célula tem níveis baixos de cAMP
 - Repressão catabólica
- cAMP é o co-indutor da proteína ativadora **CAP/CRP**

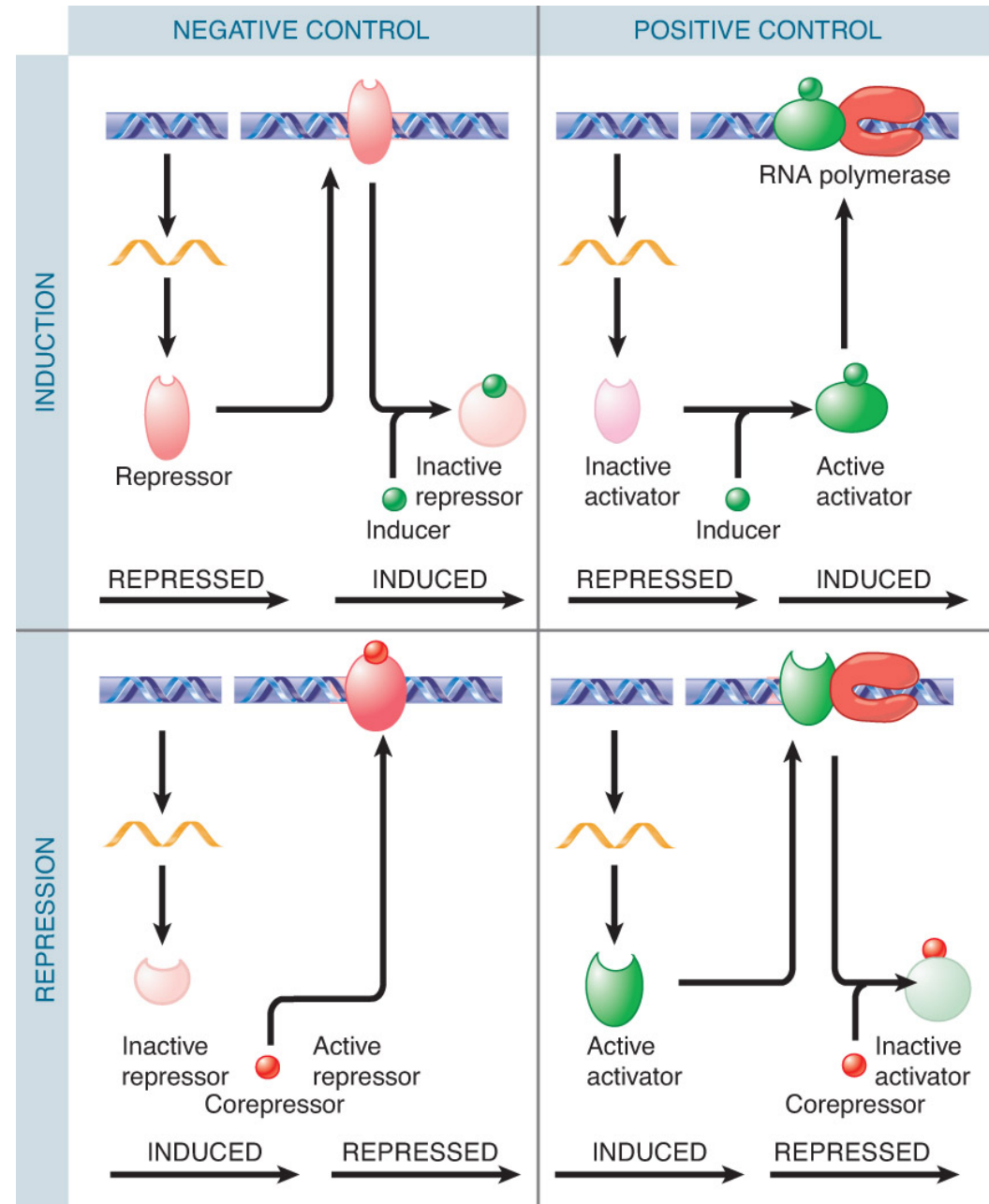


Ação conjunta do repressor e ativador



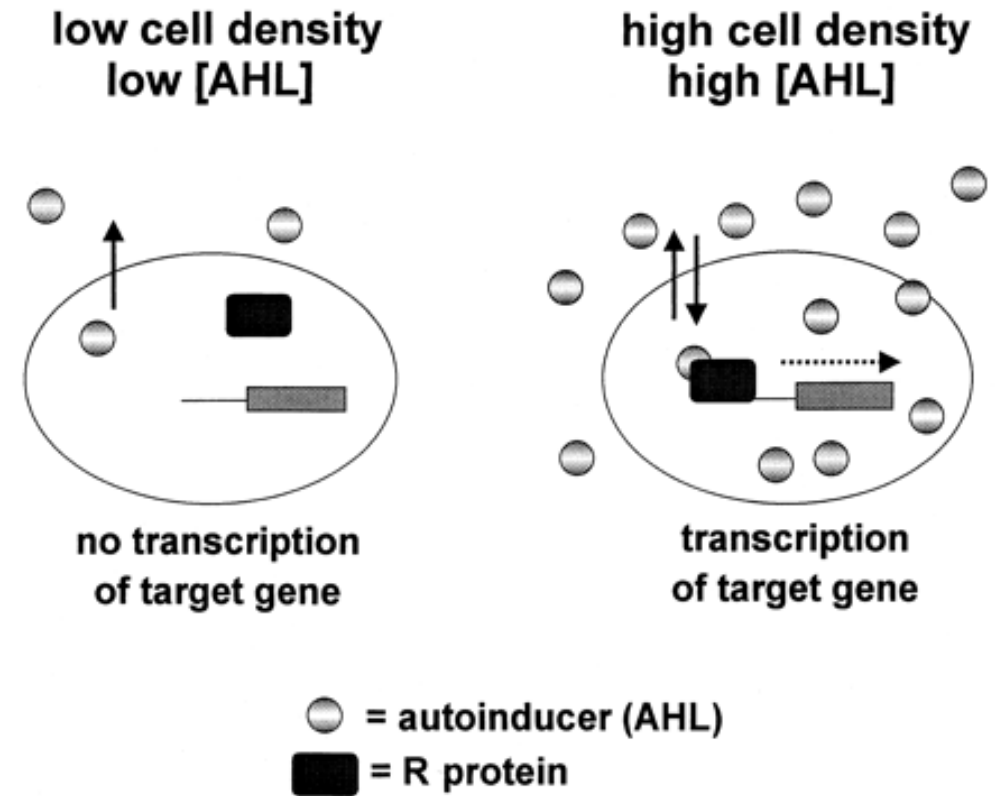
Outros repressores e
ativadores podem ter
atividade controlada
por pequenas
moléculas

Quatro
possibilidades de
mecanismos



Exemplo de regulação: Percepção de Quorum e Virulência

- O indutor é sintetizado pelas próprias bactérias e se acumula no meio, **ativando a transcrição** de genes-alvo quando a população é grande
- Regulação de diversos **fatores de virulência**
- alvos para **drogas anti-infectivas**, não bactericidas ou bacteriostáticas como os antibióticos
 - Menor possibilidade de aquisição de resistência



Agradecimentos

- Alice Coelho – produtora do video no YouTube
 - Sigam no Instagram!
https://www.instagram.com/_eqalice/?hl=pt-br
- Luciana, Ana e Ari – docente e monitores
- Alunos que tem participado das aulas e atividades!!

Bom recesso! Estaremos de volta em breve!