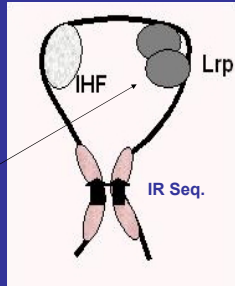


La variazione di fase è modulata da regolatori globali

Le regioni soggette a variazioni di fase sono degli hot-spot per la ricombinazione omologa, grazie alla presenza delle sequenze IR e di una insolita struttura locale

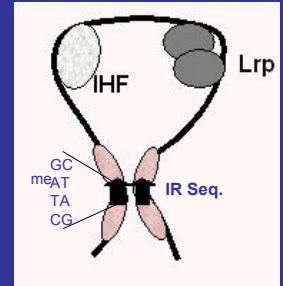
La presenza di Lrp nel complesso nucleoproteico che porta alla variazione di fase risponde alla presenza di leucina



La variazione di fase è modulata dallo stato di metilazione di sequenze specifiche

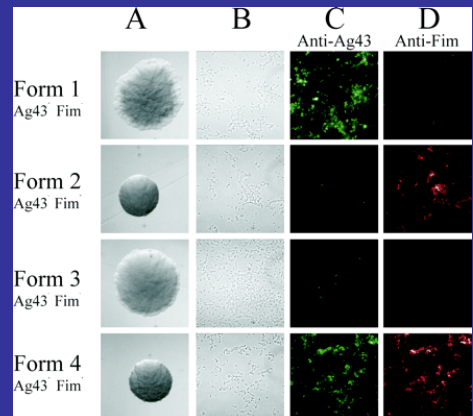
Le regioni soggette a variazioni di fase sono degli hot-spot per la ricombinazione omologa, grazie alla presenza delle sequenze IR e di una insolita struttura locale

La ricombinazione viene stimolata da uno stato di emimetilazione di sequenze GATC nella regione riconosciuta dalle ricombinasi



Le proporzioni di subpopolazioni con diverso fenotipo vengono influenzate da mutazioni in geni di regolazione globale e da condizioni ambientali

Lane no.	1	4
CJD953 <i>rpoS</i> ⁺	+	-
CJD954 <i>rpoS::kan</i>	-	+
% Phase-OFF	11	55
% Phase-ON	89	45
Lane no.	1	4



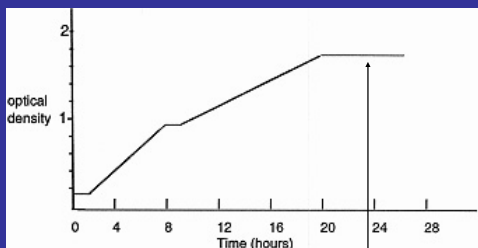
La variazione di fase (nella sua accezione più estesa)

La variazione di fase consiste in mutazioni ad alta frequenza o riarrangiamento di una regione del DNA che porta ad uno switch nell'espressione di un determinato gene (ON/OFF) o all'espressione di varianti alleliche di una proteina

Prova d'esame

- Domanda 1)
- L'espressione dell'operone *fljB*, i cui geni codificano per i componenti del flagello nel batterio *Salmonella typhi*, è regolata tramite la cosiddetta "variazione di fase".
- Descrivere schematicamente gli aspetti principali di questo sistema di regolazione, il suo meccanismo a livello molecolare e la sua possibile funzione da un punto di vista evolutivo.
- (Fino a 20 punti)
- Domanda 2)
- Una mutazione risultante nell'inattivazione del gene *hupA*, che codifica un regolatore globale della trascrizione e dell'espressione genica, porta ad una riduzione della motilità flagellare in una coltura di *Salmonella typhi*.
- Sapendo che l'operone *fljB* è regolato sia a livello trascrizionale che di variazione di fase, suggerite degli esperimenti per determinare il meccanismo di regolazione in cui è implicato il prodotto del gene *hupA*.
- (Fino a 12 punti)

Lo studio dell'"età avanzata" nei batteri:
una contraddizione di termini?



La fase stazionaria coincide con una cessata "abilità riproduttiva" dei microrganismi

Tra la vita e la morte:
Due modelli di processi biologici in
cellule batteriche "di età avanzata".

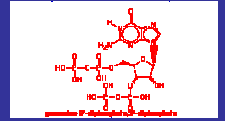
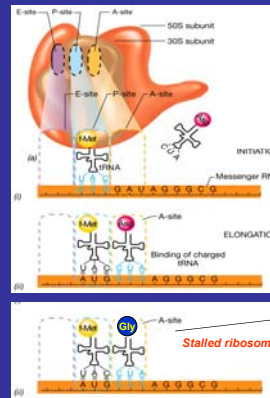
Ossidazione delle proteine

Accumulo di mutazioni "programmate"

Cosa succede nella cellula durante la fase stazionaria?

- Replicazione cellulare → Assente
- Sintesi DNA → Solo riparativa
- RNA, proteine → Sintesi/Degradazione
- Reintegrazione del pool intracellulare di AA/Nt → Risintesi di RNA/prot.

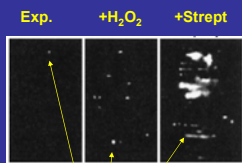
ppGpp: cross-talk tra sintesi proteica e trascrizione



ppGpp

RelA/SpoT activation and ppGpp biosynthesis

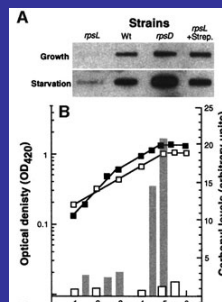
Carbonilazione di proteine aberranti



Carbonilazione delle proteine

Proteine con un'errata composizione amminoacidica posseggono una conformazione impropria che le rende più suscettibili alla carbonilazione

L'accuratezza dei ribosomi è fondamentale per evitare la carbonilazione



Mutazioni: *rpsD*= ribosoma "sloppy"
rpsL= ribosoma iperaccurato

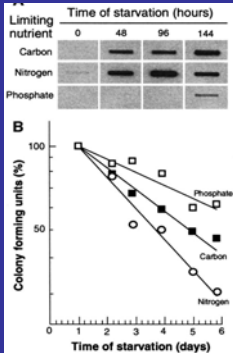
Accumulazione di proteine aberranti

Carbonilazione

Degradazione delle proteine carbonilate

Decadimento generale dell'attività enzimatica

La diminuzione del pool di aminoacidi risulta nella sintesi di proteine aberranti



Il livello di carbonilazione delle proteine è correlato con la sopravvivenza dei batteri nella fase stazionaria

Conclusioni e commenti...

- *L'accumulo di proteine aberranti dovuta a carenza di alcuni aminoacidi e ad inaccuratezza ribosomale determina una maggiore carbonilazione delle proteine durante la fase stazionaria*
- *L'elevato grado di carbonilazione determina un decadimento dell'attività enzimatica ed un'accelerazione della degradazione delle proteine, con induzione di geni di risposta allo stress*
- *La carbonilazione delle proteine è una componente fondamentale dei processi neurodegenerativi nell'uomo e nei mammiferi (es. Alzheimer)*

Referenze bibliografiche

• Variazione di fase:

Okazaki et al., J. Bacteriol. **175**:758-766 (1993)
Martin et al. Mol. Microbiol. **50**:245-257 (2003)

• Senescenza batterica e GASP:

Carbonilazione/ossidazione:

Nystrom, Mol. Microbiol. **48**:17-23 (2003)
Ballesteros et al., EMBO J., **20**:5280-5289 (2001)

GASP:

Zambrano and Kolter, Cell **86**:181-184 (1996)
Zambrano et al., Science **259**:1757-1760 (1993)

Sistemi T/A:

Bishop et al., J. Mol. Biol. **280**:583-596 (1998)