



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



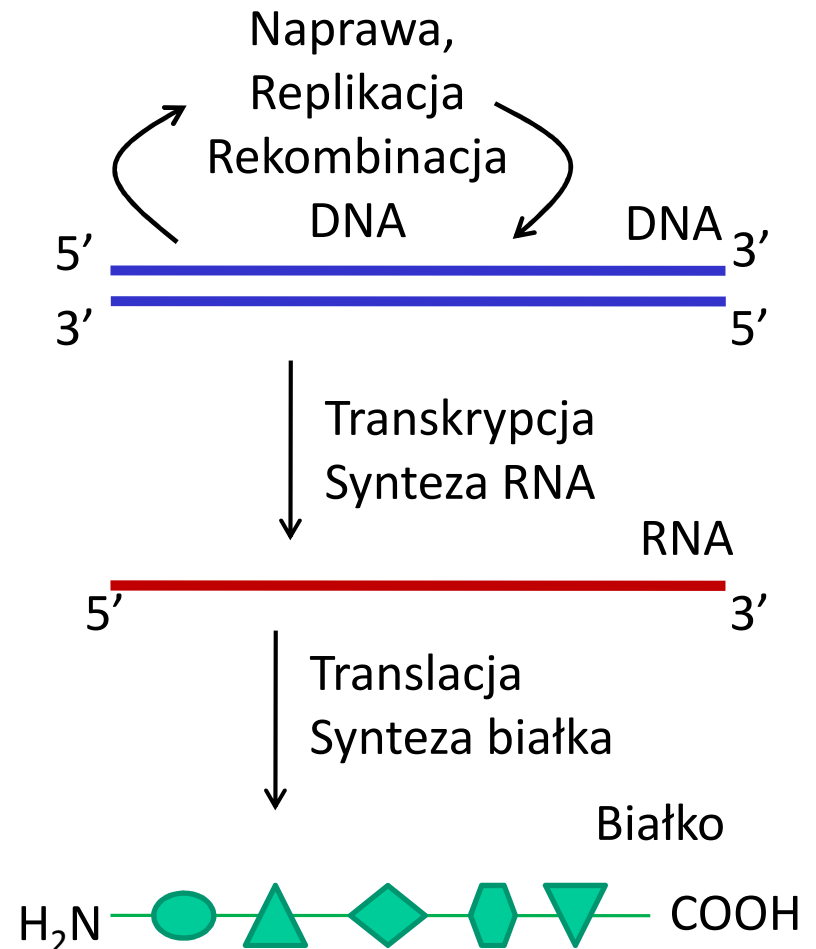
Transkrypcja i obróbka RNA

Materiały dydaktyczne współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego.

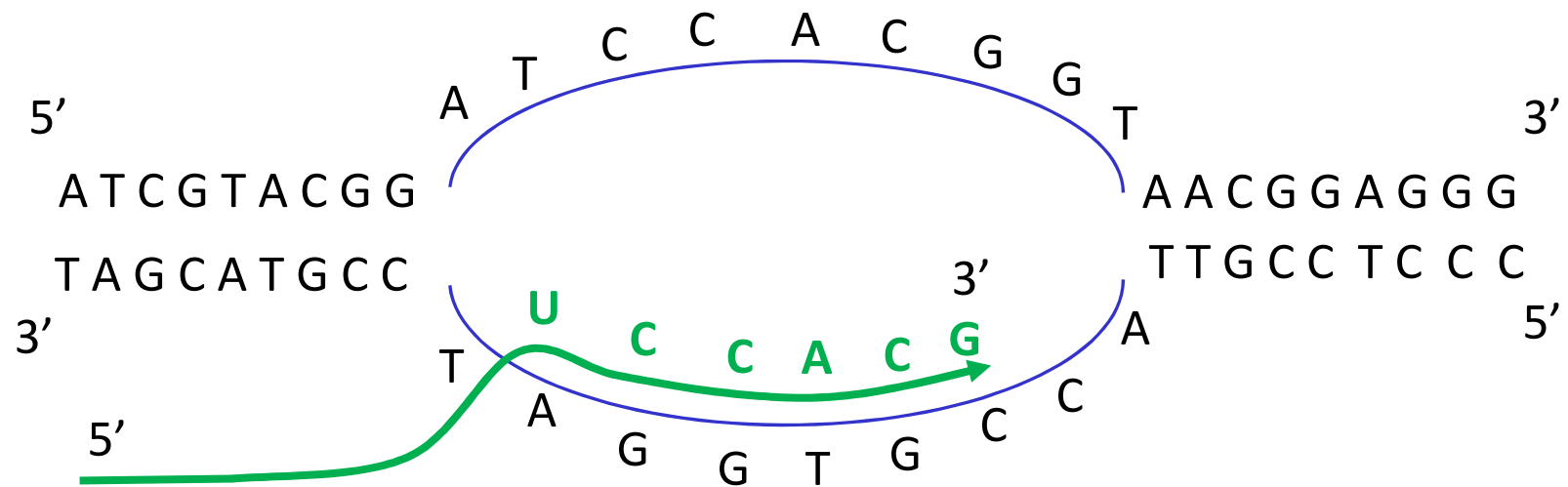
Centralny dogmat biologii molekularnej: sekwencja DNA zostaje przepisana (transkrypcja) na sekwencję RNA, która zostaje przetłumaczona (translacja) na sekwencję białka.

Co to jest gen???

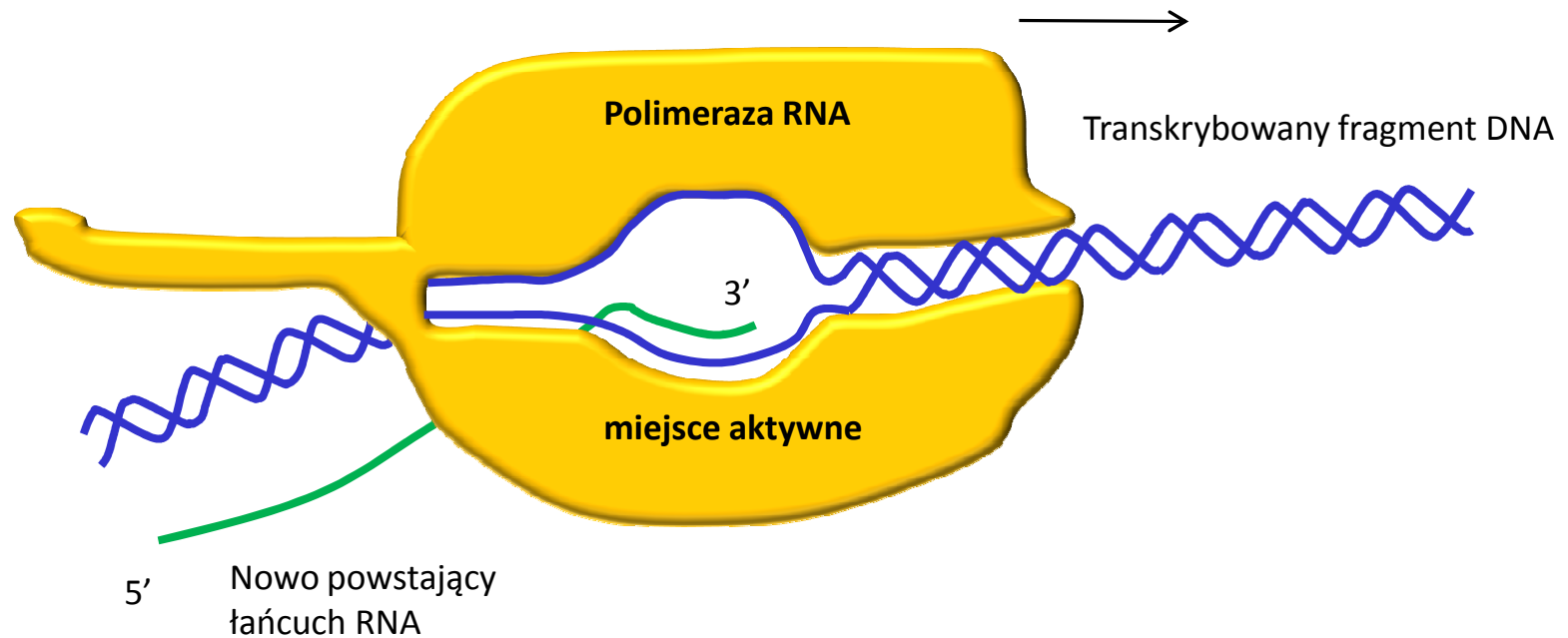
Fragment cząsteczki DNA kodujący funkcjonalne białko lub funkcjonalną cząsteczkę RNA.



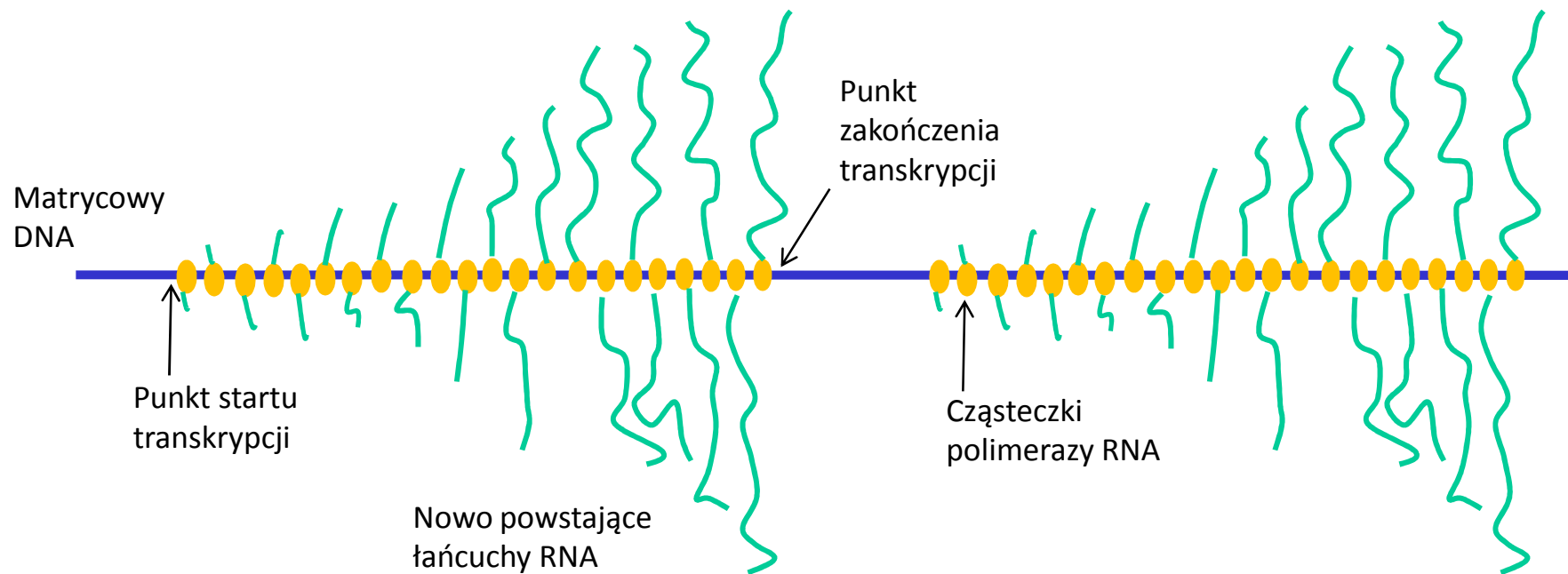
Ogólna zasada transkrypcji.



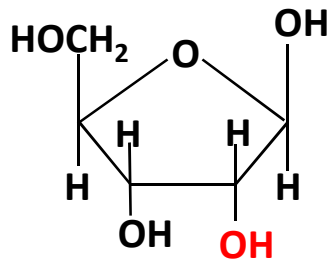
Transkrypcja jest procesem enzymatycznym katalizowanym przez polimerazę RNA.



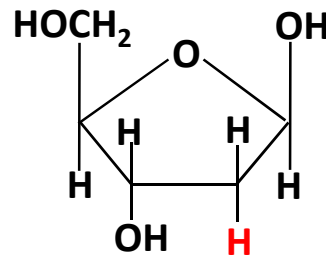
Proces transkrypcji można zaobserwować dzięki mikroskopowi elektronowemu. Ilustracja przedstawia schemat matrycowego DNA z nowopowstającymi cząsteczkami RNA.



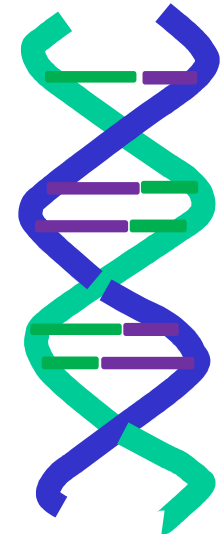
Budowa RNA - porównanie z DNA



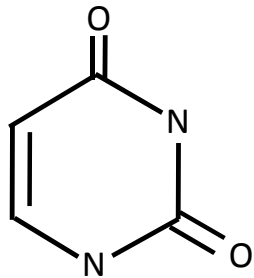
β -D-ryboza występujące w RNA



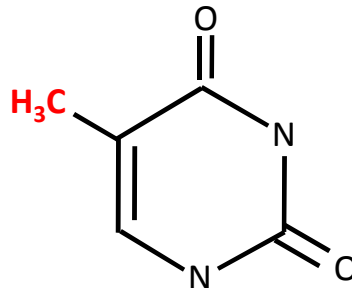
β -D-2-deoksyryboza występujące w DNA



Podwójna helisa
najczęściej w formie B



Uracyl U występujący w RNA



Tymina T występująca w DNA



Duża różnorodność struktur utworzonych
najczęściej z pojedynczej nici RNA

Porównanie właściwości DNA i RNA

Cecha	DNA	RNA
Zbudowane z nukleotydów	Tak	Tak
Cukier nukleotydu	Deoksyryboza	Ryboza
Obecność grupy –OH przy węglu C2	Nie	Tak
Zasady nukleotydu	A, C, G, T	A, C, G, U
Nukleotydy połączone wiązaniem fosfodwuestrowym	Tak	Tak
Ilość pasm nukleotydowych	Zwykle dwa	Zwykle jedno
Struktura drugorzędowa	Podwójna helisa A, B lub Z	Duże bogactwo struktur
Stabilność	Duża	Mała
Powstaje w procesie	Replikacji	Transkrypcji

Rodzaje cząsteczek RNA w komórce – stan wiedzy z lat 60-tych ubiegłego wieku.

Typ RNA	Funkcja
mRNA	Ang. <i>messenger RNA</i> , koduje białka
rRNA	rybosomalny RNA, tworzy strukturalną podstawę rybosomów, katalizuje tworzenie wiązania peptydowego
tRNA	transferowy RNA, cząsteczka adaptorowa, podczas syntezy białka łączy aminokwasy z mRNA

Rodzaje cząsteczek RNA w komórce – obecny stan wiedzy.

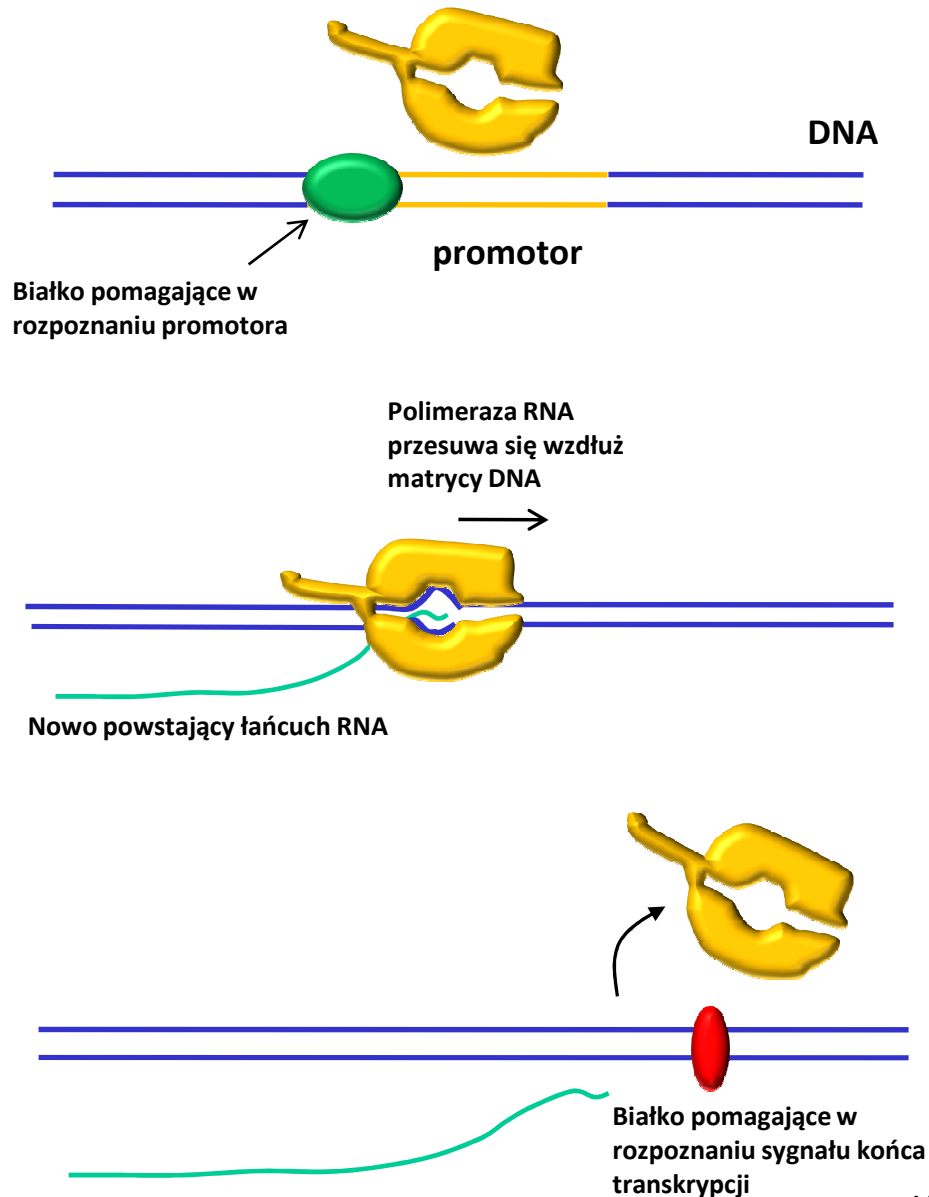
Typ RNA	Funkcja
mRNA	Na poprzedniej ilustracji
rRNA	Na poprzedniej ilustracji
tRNA	Na poprzedniej ilustracji
snRNA	Skrót od <i>small nuclear RNA</i> (drobne jądrowe RNA) – uczestniczy w różnorodnych procesach w obrębie jądra komórkowego np. w procesie wycinania intronów z prekursora mRNA.
snoRNA	Skrót od <i>small nucleolar RNA</i> (drobne jąderkowe RNA) – uczestniczy w obróbce i chemicznej modyfikacji rRNA.
miRNA	Mikro RNA. Reguluje ekspresję genów zwykle poprzez blokowanie translacji wybranych cząsteczek mRNA.
siRNA	Skrót od <i>small interfering RNA</i> (drobne interferujące cząsteczki RNA) – wyłączają ekspresję genów poprzez kierowanie do degradacji wybranych cząsteczek mRNA lub poprzez indukowanie gęsto upakowanej struktury chromatyny w obrębie wybranych genów.

Opracowano na podstawie: *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Ilość różnych klas RNA w przeciętnej komórce ssaka

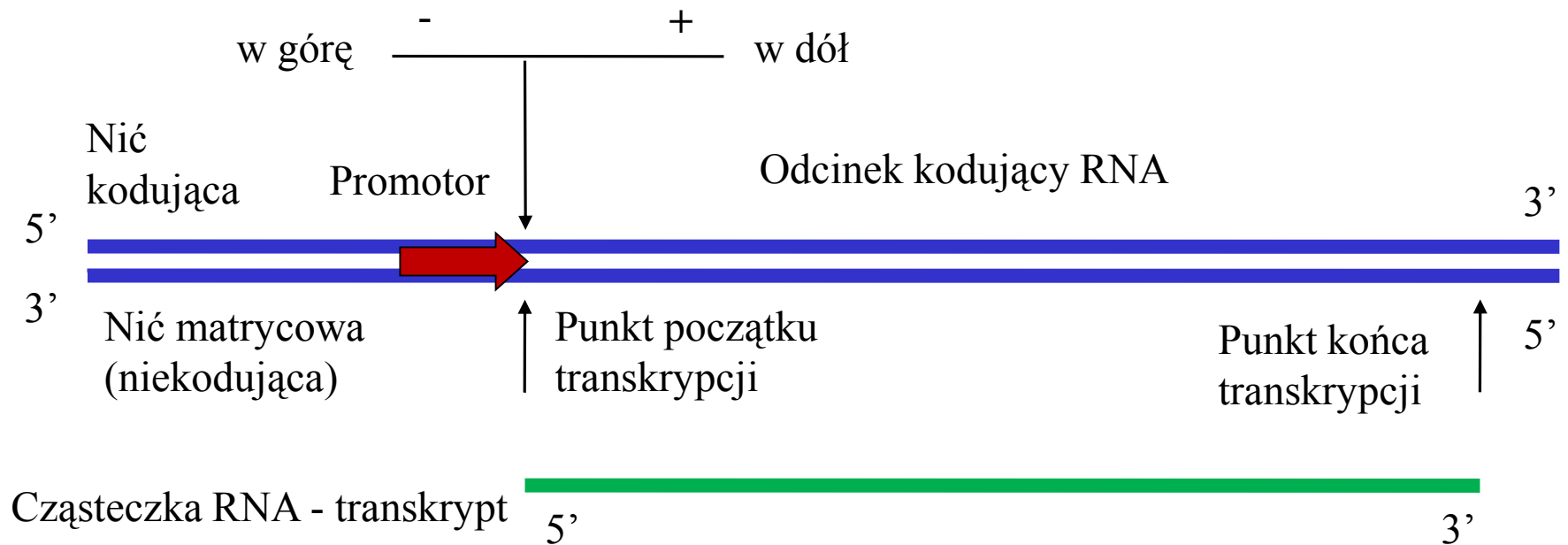
Typ RNA	% całkowitego RNA	% całkowitej syntezy
Prekursor rRNA		39
Cytoplazmatyczne rRNA	71	
Prekursor mRNA		58
Cytoplazmatyczne mRNA	3	
tRNA i inne drobne RNA	15	3

Etapy transkrypcji w komórce bakteryjnej.



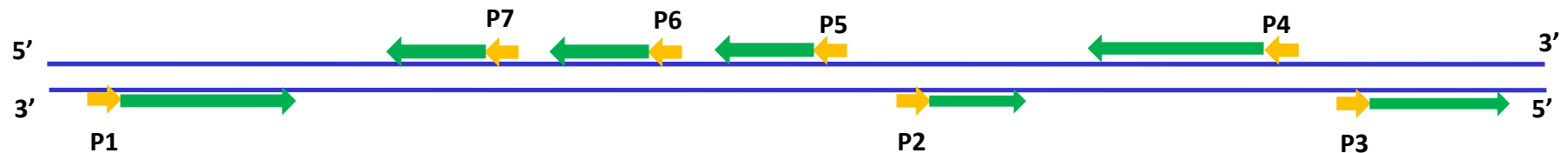
1. Inicjacja – enzym **polimeraza RNA** wiąże się z odcinkiem DNA zwanym promotorem, łączy ze sobą dwa rybonukleotydy rozpoczynając powstawanie łańcucha RNA
2. Elongacja (wydłużanie) łańcucha RNA – polimeraza przesuwana się wzdłuż nici DNA kontynuując wydłużanie łańcucha
3. Terminacja (zakończenie) – synteza nowej nici zostaje zakończona, cząsteczka RNA i polimeraza odpadają od matrycy, dwuniciowa struktura DNA zostaje odtworzona.

Budowa jednostki transkrypcyjnej (*the transcription unit*) – odcinek DNA kodujący cząsteczkę RNA wraz z sekwencjami potrzebnymi do transkrypcji.



- Promotor to odcinek DNA rozpoznawany przez maszynę transkrypcyjną – wyznacza on nić matrycową a tym samym kierunek transkrypcji.

Promotor decyduje o kierunku transkrypcji a więc również o wyborze, która nić DNA służy za matrycę. W chromosomach bakterii i organizmów eukariotycznych nie ma wyróżnionej nici DNA, która zawsze służy za matrycę. Innymi słowy geny mogą mieć różną orientację. Na ilustracji przedstawiono hipotetyczny fragment chromosomu bakteryjnego pokazujący ułożenie genów (zielone strzałki).

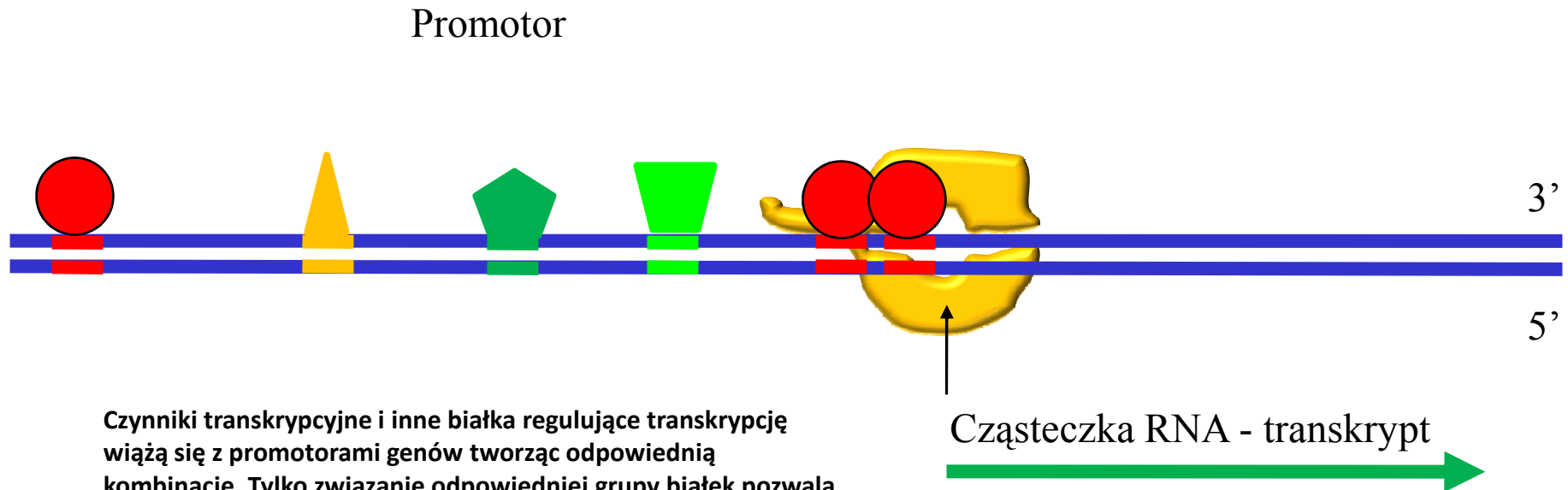


Podstawowe elementy aparatu transkrypcyjnego.

- Polimeraza RNA
- **U bakterii:** czynniki sigma – rozpoznaje promotor, różne czynniki rozpoznają różne promotory; czynniki rho – odpowiedzialny za terminację transkrypcji.
- **U eukariotów:**
 - Polimeraza I RNA - transkrybuje duże, rybosomalne RNA
 - Polimeraza II RNA - transkrybuje mRNA, snoRNA oraz niektóre snRNA
 - Polimeraza III RNA – transkrybuje tRNA, małe rRNA oraz snRNA
- Wiele białek pomocniczych zwanych czynnikami transkrypcyjnymi

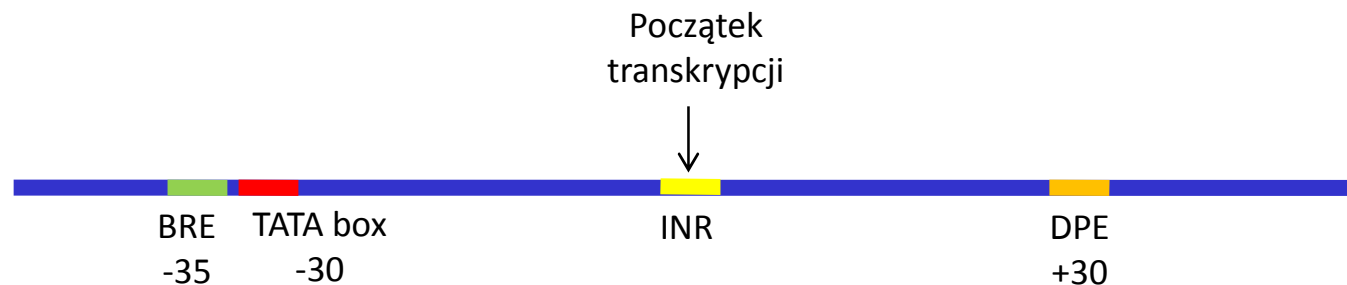
Czynniki transkrypcyjne.

Białka bez których polimeraza RNA nie jest w stanie rozpocząć transkrypcji. Pomagają, m.in. ułożyć polimerazę w odpowiedniej pozycji, pomagają w rozdzieleniu nici DNA (helikaza) i włączają „tryb elongacyjny” w polimerazie.



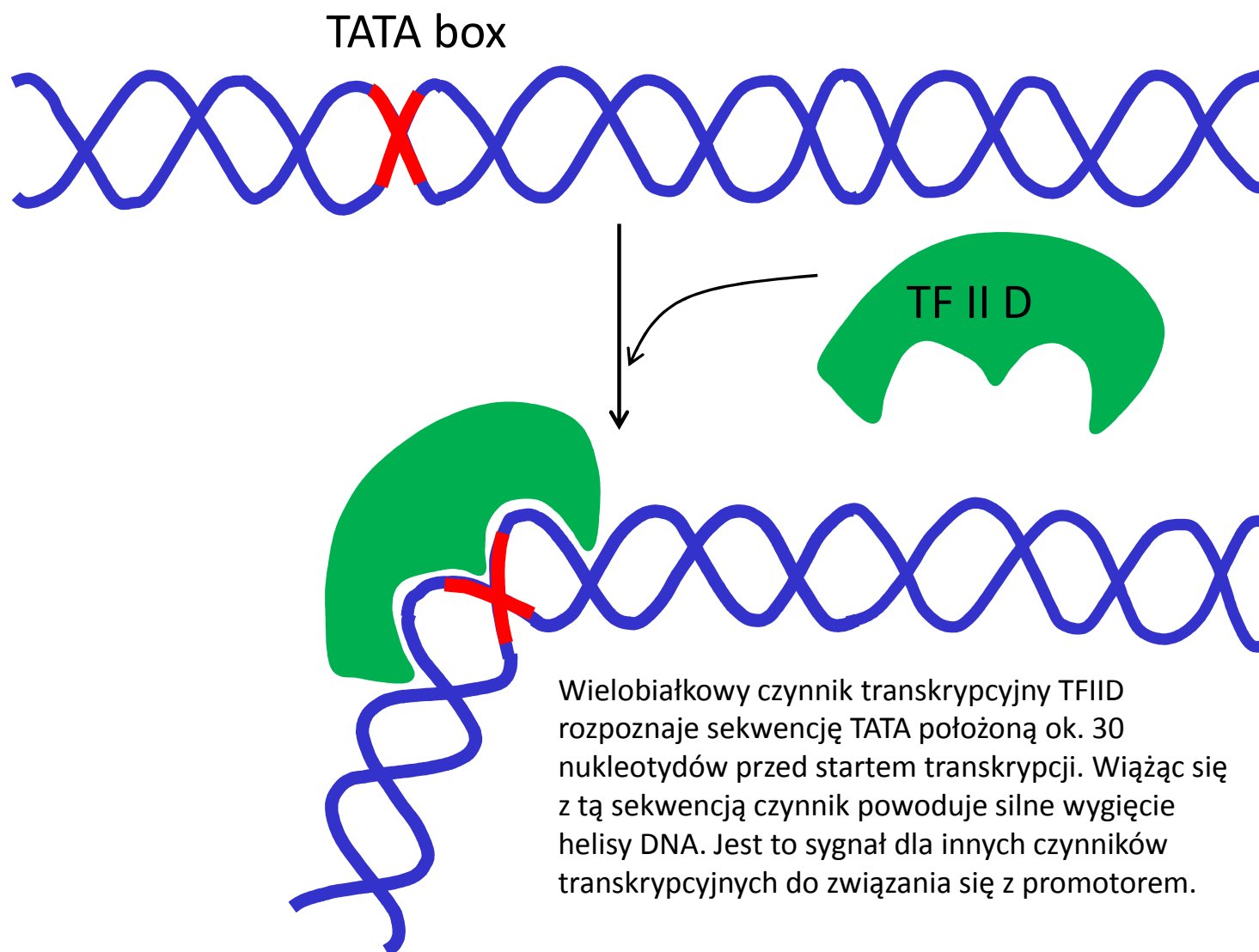
Czynniki transkrypcyjne i inne białka regulujące transkrypcję wiążą się z promotorami genów tworząc odpowiednią kombinację. Tylko związanie odpowiedniej grupy białek pozwala na rozpoczęcie transkrypcji. Białka wiążą się z DNA w sposób zależny od jego sekwencji. Każde białko regulacyjne rozpoznaje swoją własną sekwencję w obrębie DNA.

Motywy sekwencyjne obecne w pobliżu początku transkrypcji promotorów rozpoznawanych przez polimerazę II RNA (syntetyzującą mRNA). Z tymi motywami wiążą się tzw. powszechne czynniki transkrypcyjne (*general transcription factors*) potrzebne do transkrypcji promotorów polimerazy II, niezależnie od genu.

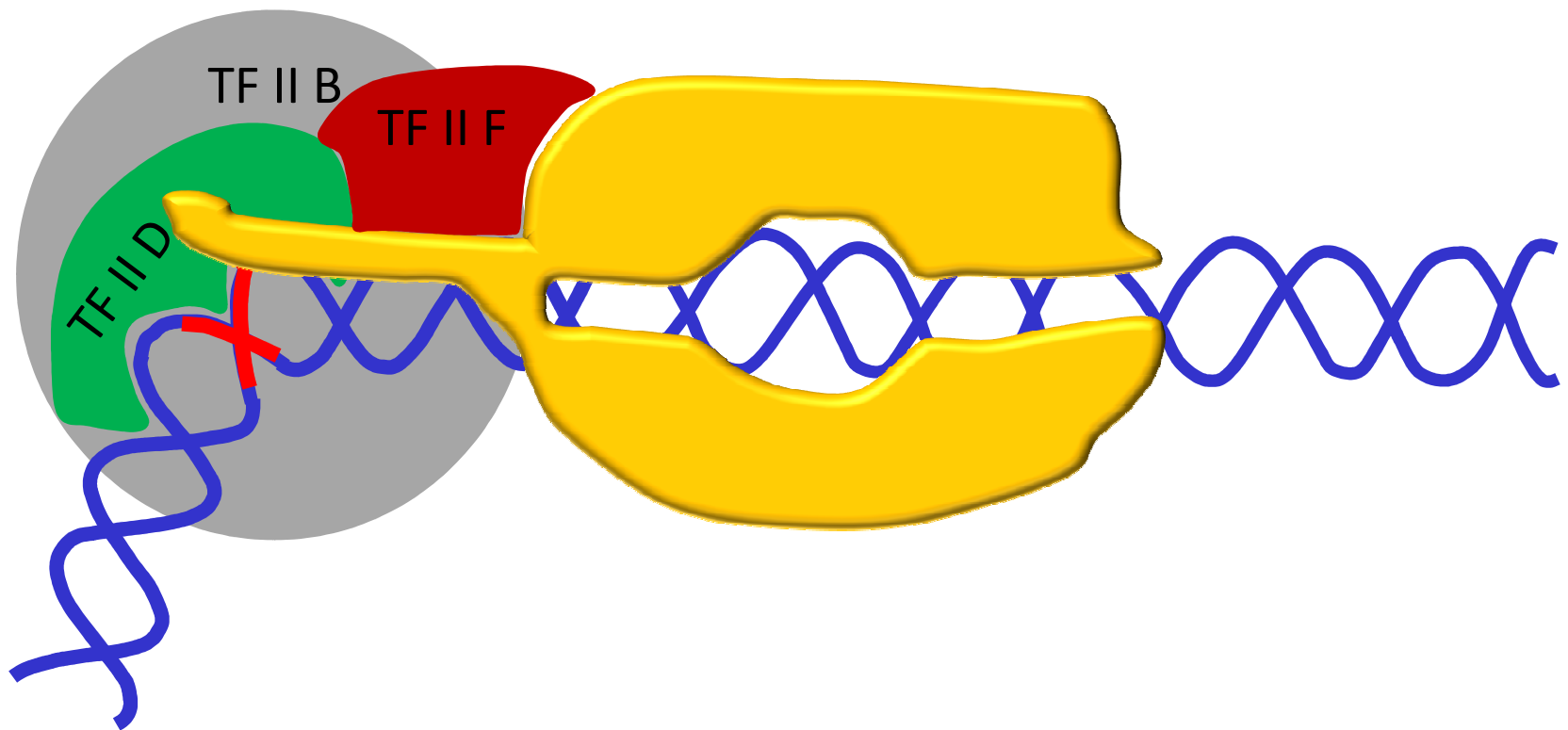


Nazwa elementu	Wiązana sekwencja	Rozpoznający czynnik transkrypcyjny
BRE	G/C G/C G/A CGCC	TFIIB
TATA box	TATA A/T A A/T	TBP (TFIID)
INR	C/T C/T A N T/A C/T C/T	TFIID
DPE	A/G G A/T CGTG	TFIID

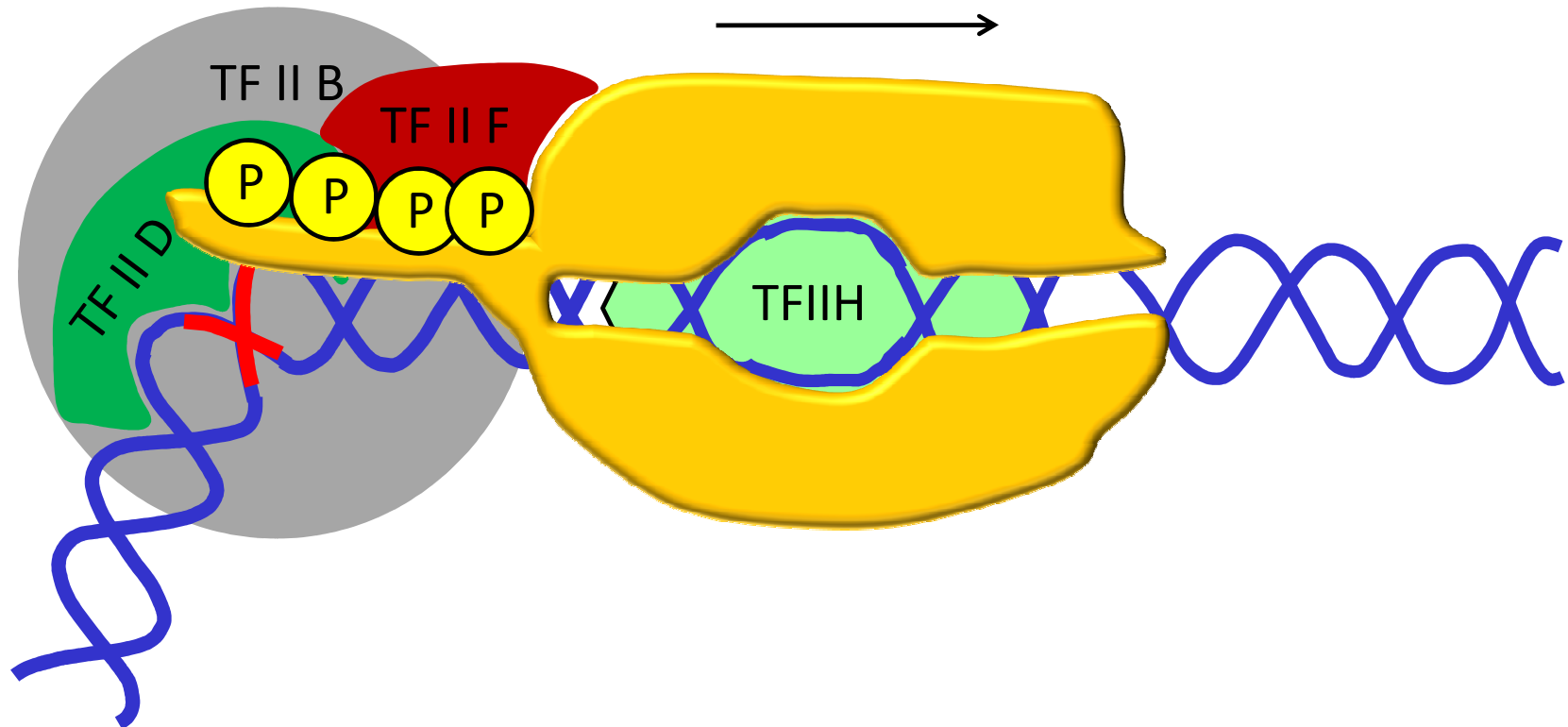
Schemat początkowych etapów rozpoznania promotora polimerazy II RNA przez powszechne czynniki transkrypcyjne.



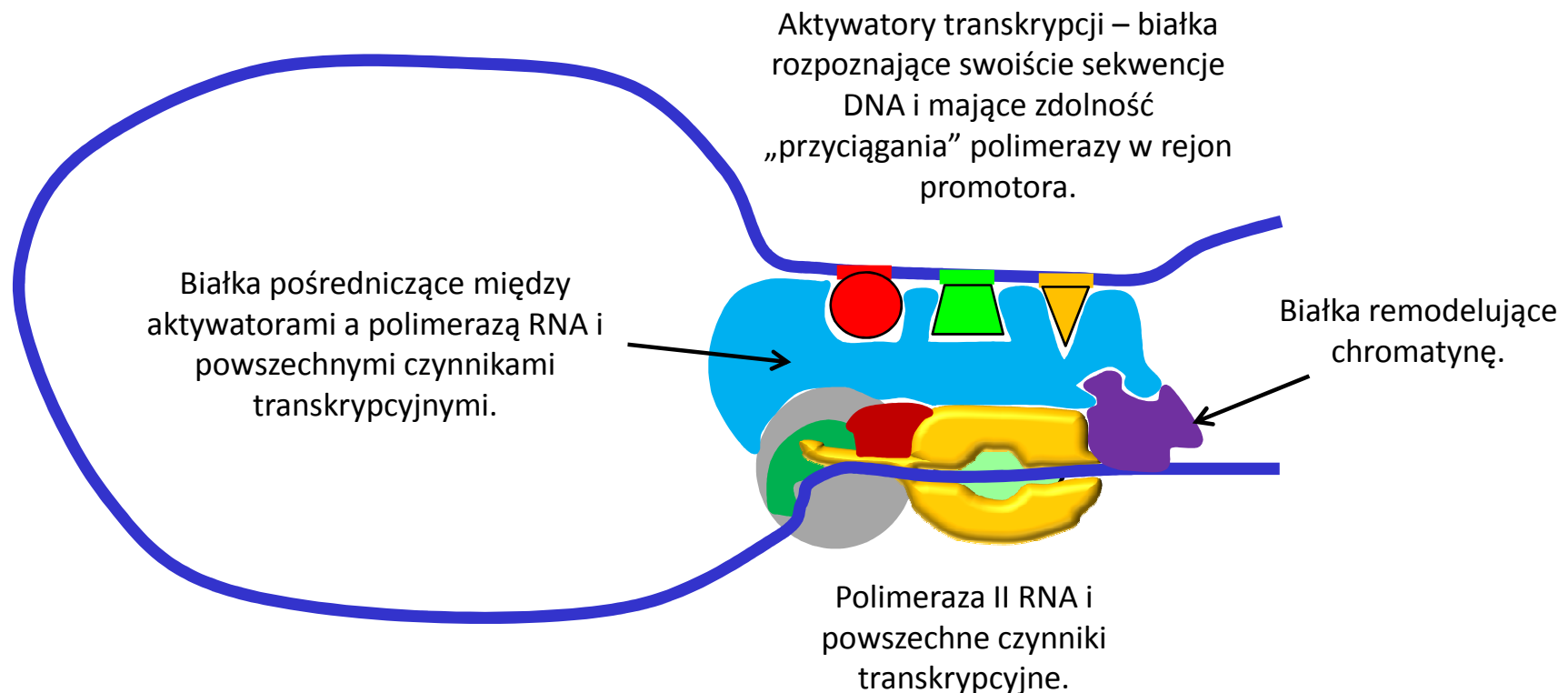
Kolejne etapy inicjacji transkrypcji. Przyłączają się czynniki TFIIB, TFIIF oraz polimeraza II RNA.



W następnym etapie czynnik transkrypcyjny TFIIH przyłącza się do kompleksu i dzięki aktywności dwóch helikaz XPB i XPD rozwija DNA wokół miejsca inicjacji transkrypcji. To stwarza warunki do rozpoczęcia syntezy RNA. Równocześnie TFIIH poprzez jeden ze swoich składników fosforyluje ogonek polimerazy II RNA co sprawia, że zmienia ona kształt i przechodzi ona w tryb procesywnej syntezy RNA. Wraz z opuszczeniem promotora przez polimerazę odłącza się od niego większość czynników transkrypcyjnych.



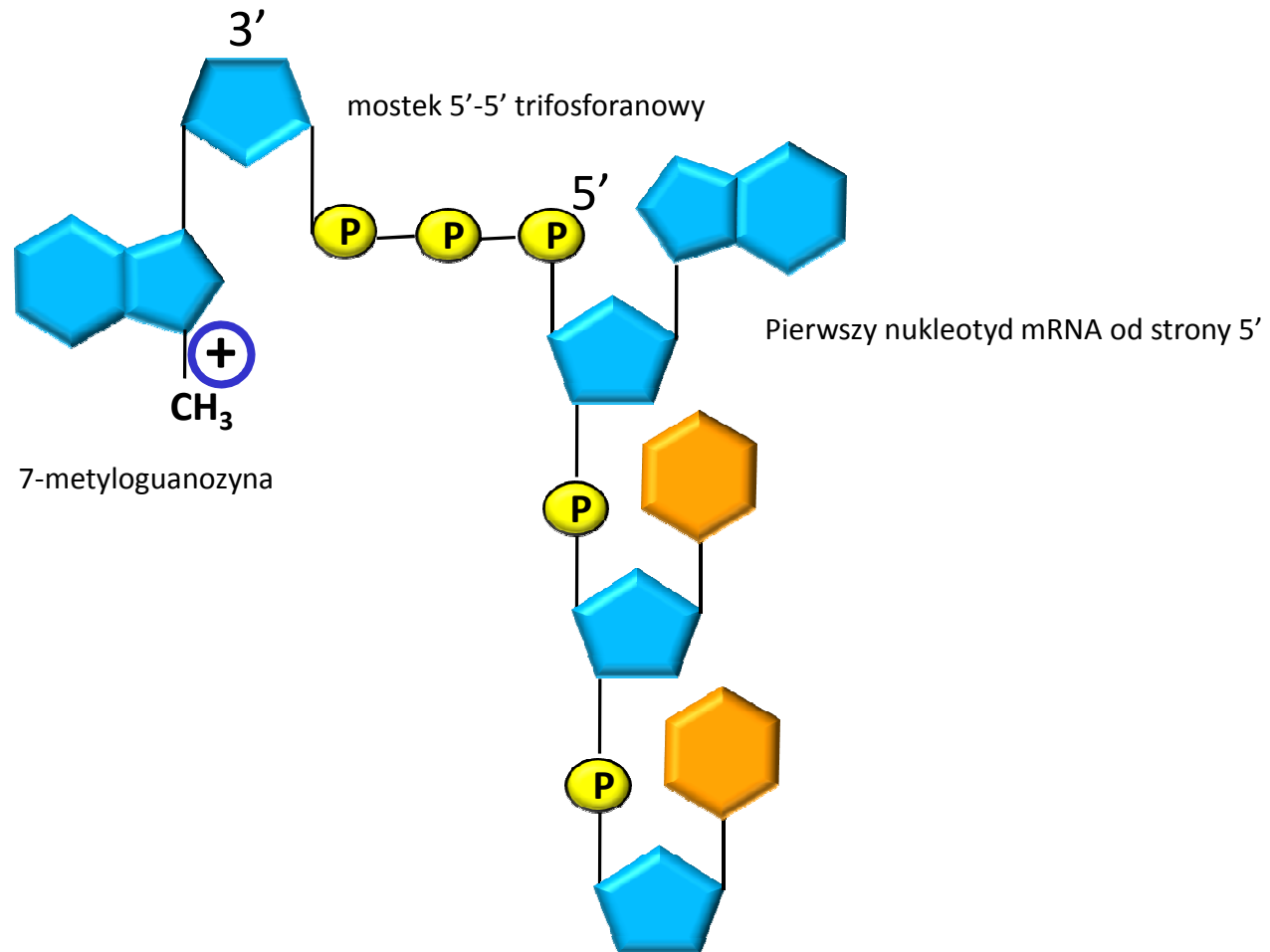
Proces rozpoczęcie transkrypcji jest bardzo skomplikowany. Oprócz czynników transkrypcyjnych i polimerazy RNA uczestniczą w nim aktywatory transkrypcji, białka pośredniczące oraz białka remodelujące strukturę chromatyny (np. acetylazy histonów). W sumie w rejonie promotora gromadzi się ponad 100 różnych białek.



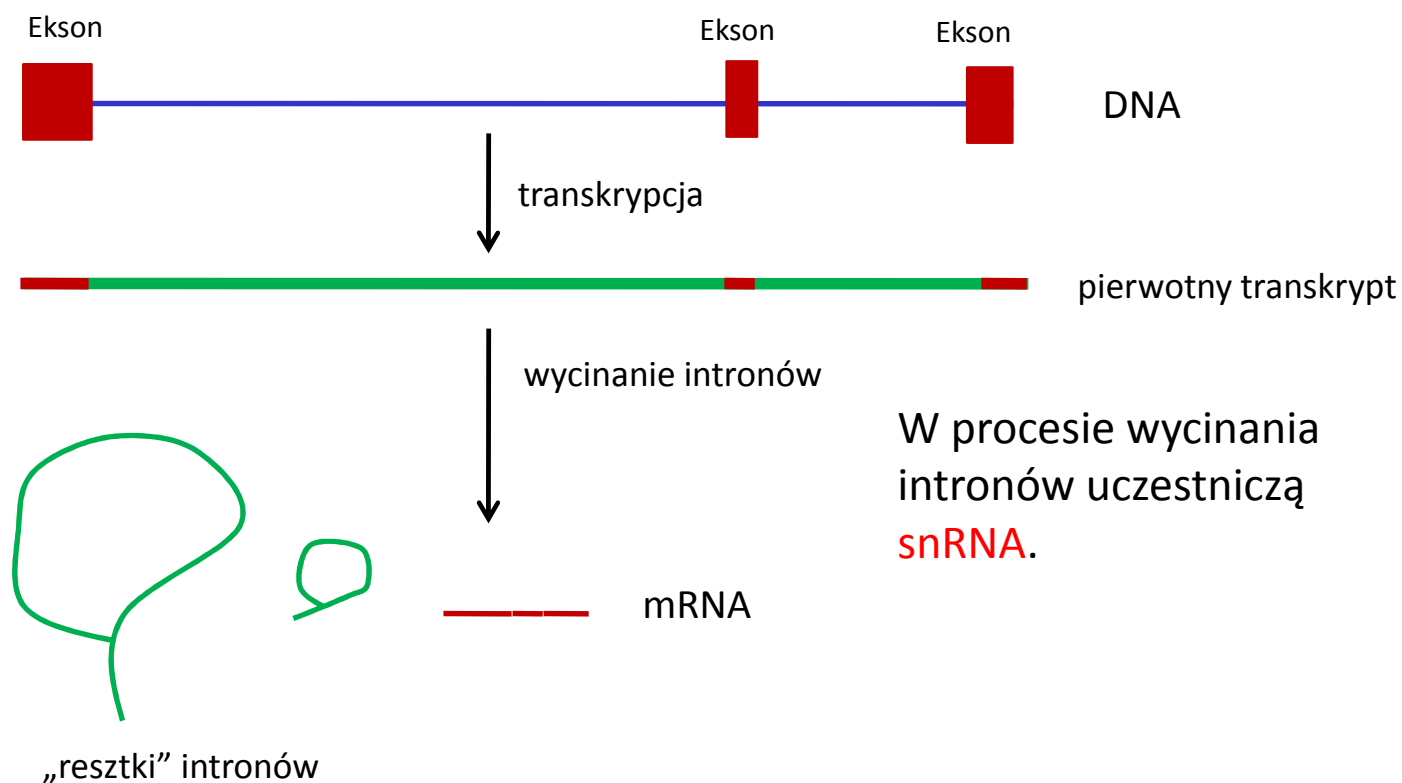
Przykłady białek wiążących swoiście DNA i uczestniczących w regulacji ekspresji genu. Przedstawiono biaka wykryte u ssaków.

Nazwa białka	Rozpoznawana sekwencja
Sp1	GGGCGG
GATA1	TGATAG
AP1	TGANTCA
Oct1	ATGCAAAT
NF1	GCCAAT
SRF	GATGCCCAT
p53	GGGCAAGTCT

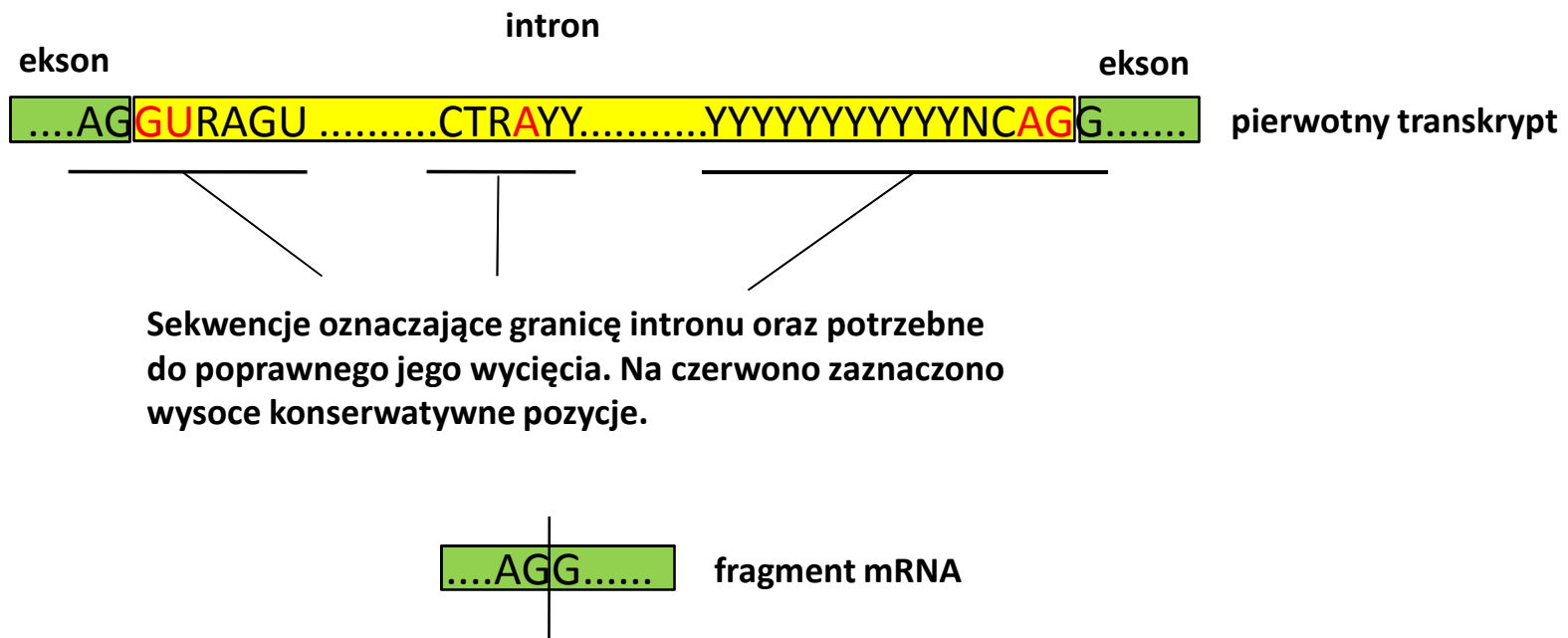
Budowa końcówki 5' eukariotycznego mRNA – tzw. czapeczka (ang. cap)



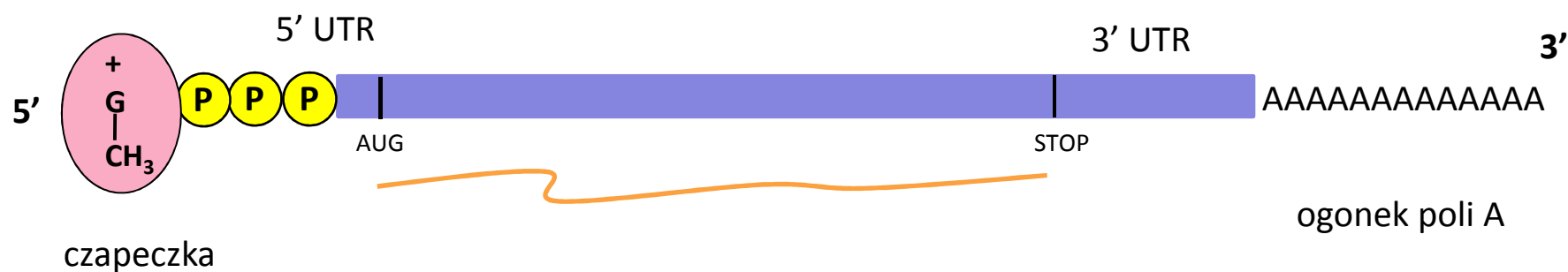
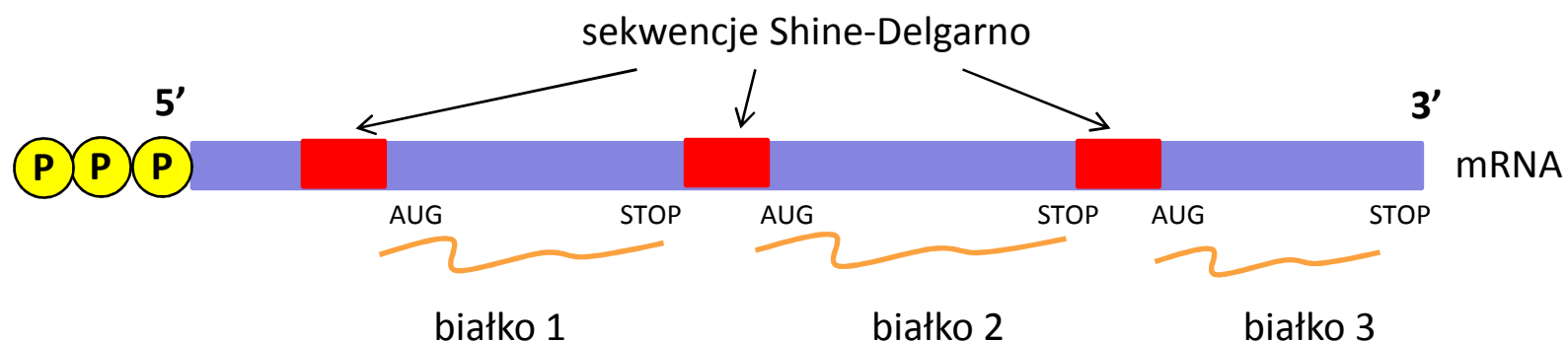
Informacyjny mRNA eukariotów powstaje w sposób nieciągły – z pierwotnego transkryptu zostają wycięte fragmenty niekodujące (introny) a fragmenty kodujące (eksony) zostają połączone w jedną ciągłą sekwencję kodującą białko – mRNA.



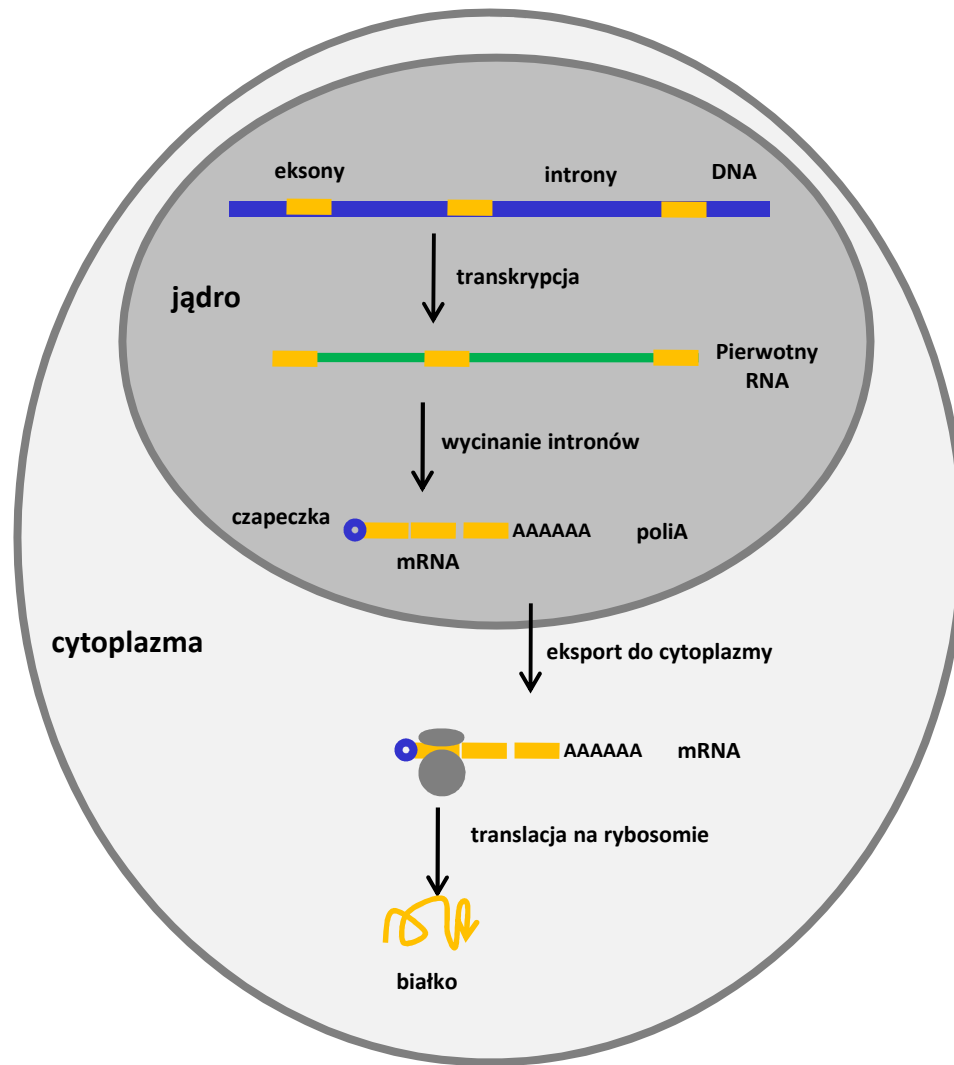
Miejsca wycięcia intronu – jego granice 5' i 3' oraz tzw. punkt rozwidlenia, są ściśle zdefiniowane poprzez sekwencję nukleotydową pre-mRNA. Introny zaczynają się sekwencją GU a kończą sekwencją AG. W wycinaniu intronów biorą udział snRNA.



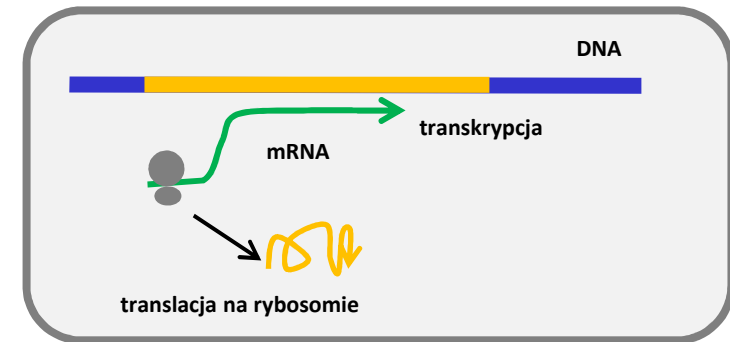
Porównanie struktury mRNA komórek prokariotycznych i eukariotycznych.



Lokalizacja wewnątrzkomórkowa transkrypcji i translacji w komórkach prokariotycznych i eukariotycznych.



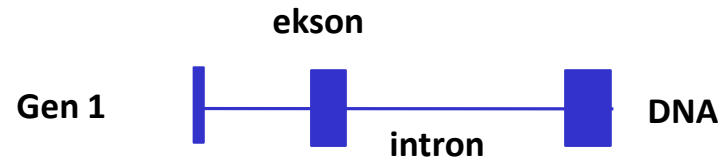
Komórka eukariotyczna



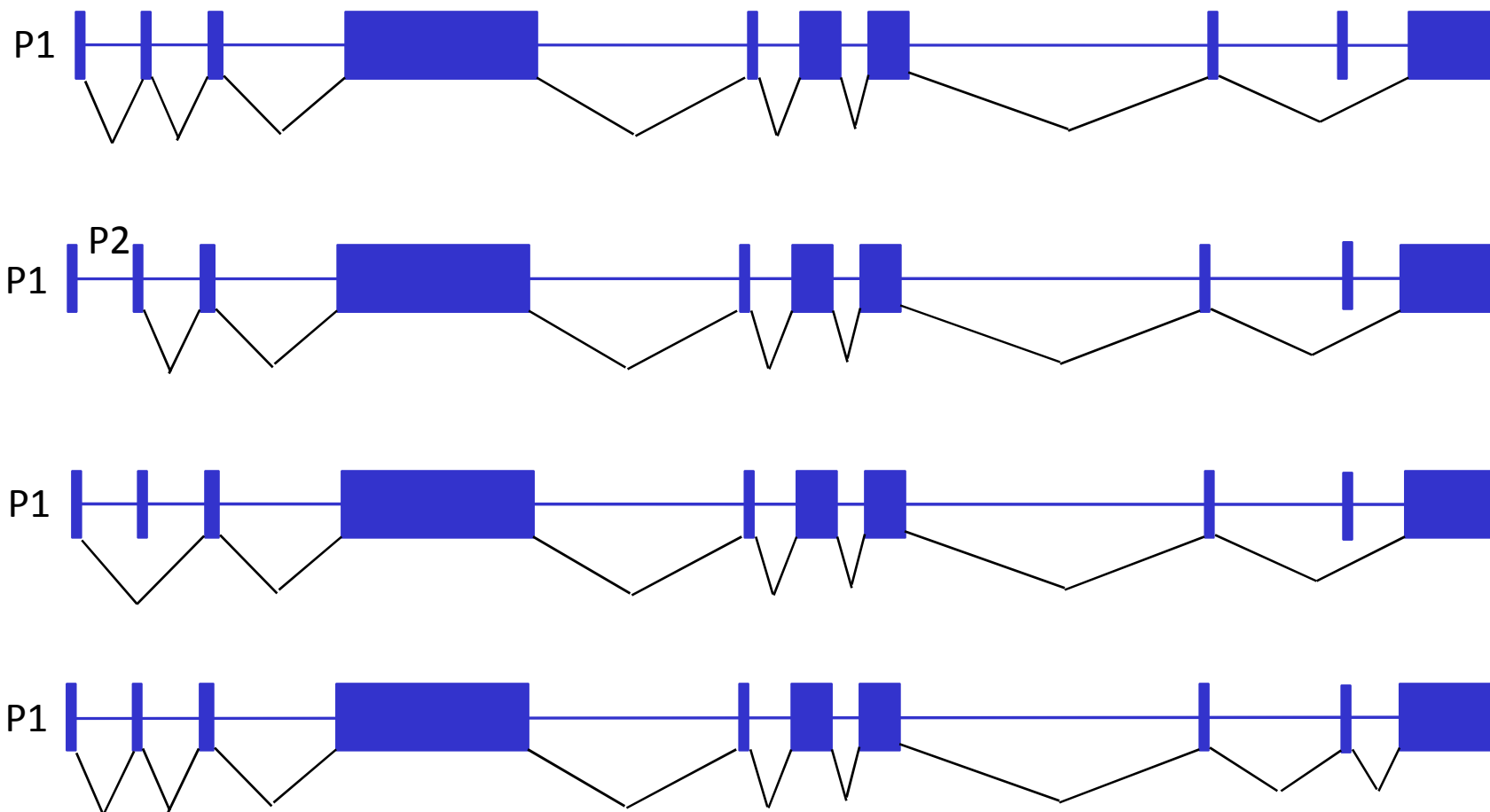
Komórka prokariotyczna

Na podstawie: *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

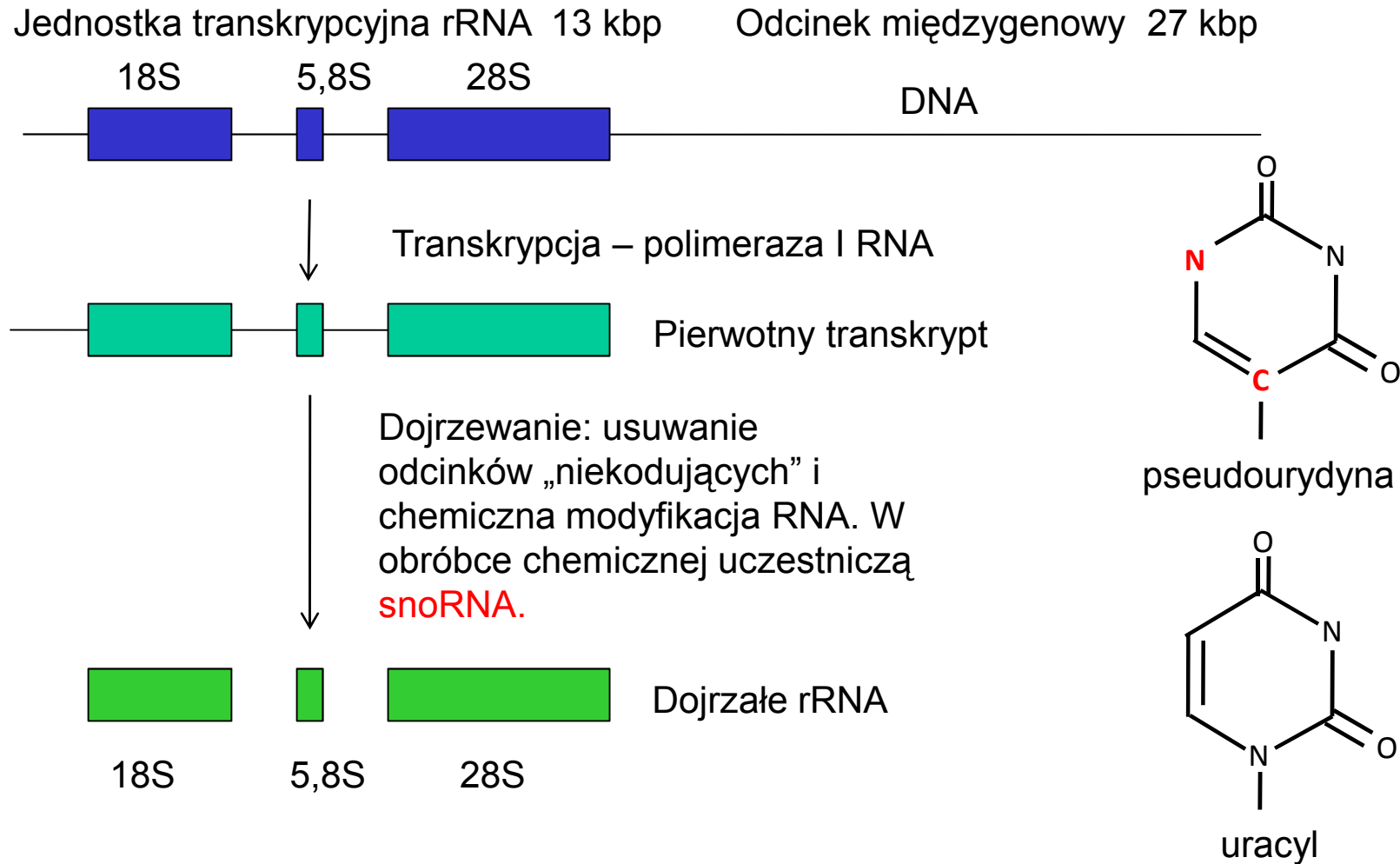
Porównanie długości eksonów i intronów różnych hipotetycznych genów.



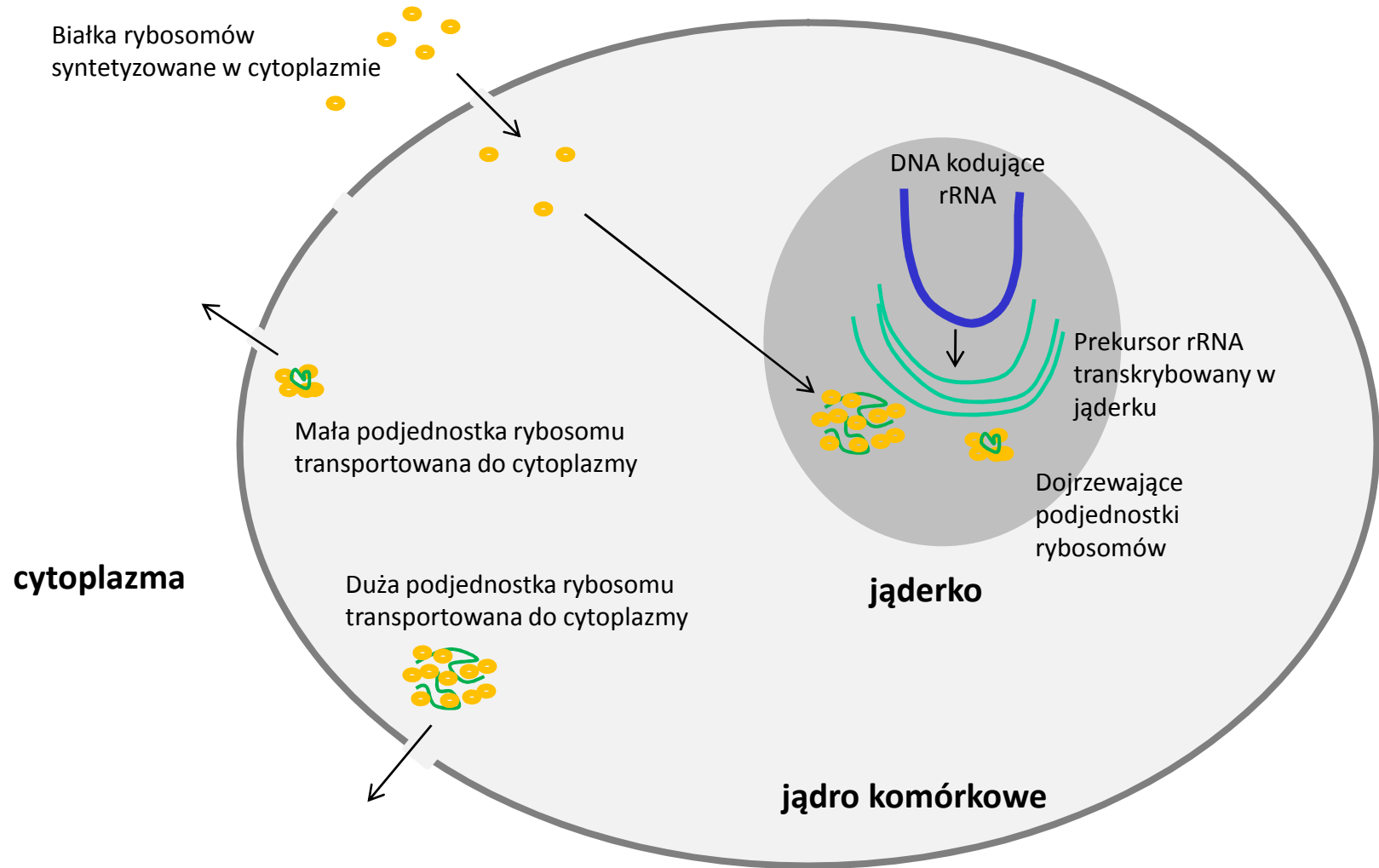
Etap wycinania intronów z pierwotnego transkryptu stwarza okazję, dzięki procesowi alternatywnego składania mRNA, do tworzenie wielu różnych wariantów białek, np. w różnych tkankach.



Produkcja rybosomalnego RNA – transkrypcji dokonuje polimeraza I RNA.
Niektóre zasady rybosomalnego RNA są chemicznie modyfikowane po-
transkrypcyjnie.

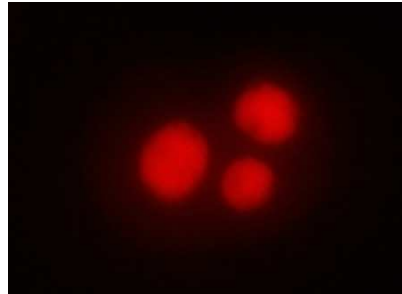


Transkrypcja rybosomalnego RNA wykonywana przez polimerazę I RNA zachodzi w jąderku. Ilustracja przedstawia schemat jąderka i zachodzących w nim procesów. W przeciwieństwie do wielu innych organelli komórkowych jąderko nie jest otoczone błoną. Jest strukturą organizującą się wokół transkrybowanych rRNA



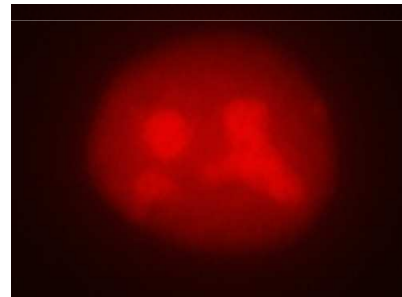
Przykład morfologicznego zróżnicowania jąderek widocznych w mikroskopie świetlnym. Po prawej stronie – jądra komórkowe widoczne w kontraście fazowym. Po lewej stronie lokalizacja różnych białek jądra komórkowego.

Białko zlokalizowane wyłącznie w jąderku.



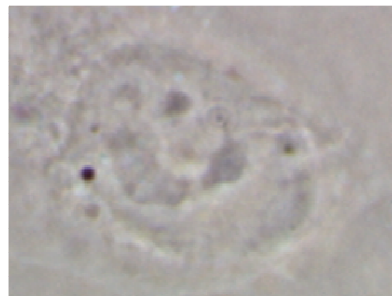
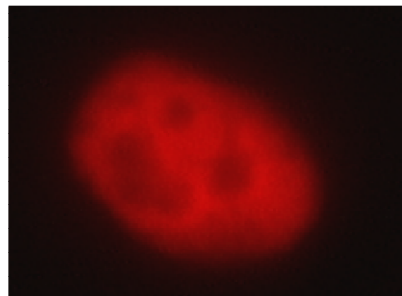
mRFP1-BLM

Białko zlokalizowane w nukleoplazmie i w jąderku.



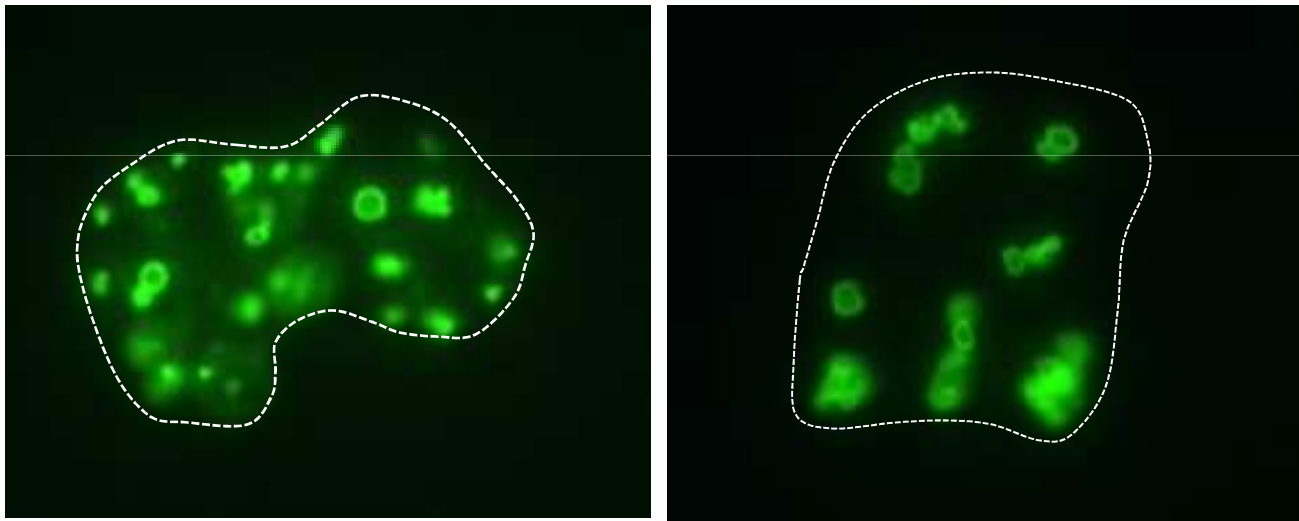
mRFP1-RTS

Białko zlokalizowane wyłącznie poza jąderkiem.



mRFP1-RECQ1

Jądro komórkowe to struktura bardzo niejednorodna. Zawiera, oprócz jąderek, także wiele struktur, zwanych ciałkami lub ziarnistościami o słabo poznanej funkcji. Na ilustracji przedstawiono tzw. ciała PML, które regulują ekspresję wielu genów.



Ciała PML w jądrach komórkowych.

Zwróć uwagę na regularne, „obwarzankowe”, kształty niektórych ciałek.



KAPITAŁ LUDZKI
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA
EUROPEJSKI
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Materiały dydaktyczne współfinansowane ze
środków Unii Europejskiej w ramach
Europejskiego Funduszu Społecznego.
