

DUM č. 10 v sadě

37. Bi-2 Cytologie, molekulární biologie a genetika

Autor: Martin Krejčí

Datum: 26.06.2014

Ročník: 6AF, 6BF

Anotace DUMu: Procesy následující bezprostředně po transkripci. Úprava hnRNA, pre-tRNA, pre-rRNA a malých nízkomolekulárních RNA. Procesy sestřihu, RNA capping, polyadenylace. Transport RNA z jádra do cytoplazmy a funkce různých typů RNA

Materiály jsou určeny pro bezplatné používání pro potřeby výuky a vzdělávání na všech typech škol a školských zařízení. Jakékoliv další využití podléhá autorskému zákonu.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

POSTTRANSKRIPČNÍ **MODIFIKACE RNA** **(RNA processing)**

Úprava RNA po ukončení
transkripce

POSTTRANSKRIPČNÍ ÚPRAVY

- Při transkripci jaderné dsDNA se syntetizují u eukaryot vždy

prekurzorové RNA - hnRNA (pre-mRNA), pre-tRNA a pre-rRNA.

- Všechny tyto prekurzorové RNA lze vnímat jako **primární transkripty**.

(pozn. I při transkripci mitochondriálního genomu vzniká primární transkript).

- Posttranskripčními modifikacemi rozumíme úprava primárních transkriptů před jejich výstupem z jádra do cytoplazmy, kde potom plní své funkce.

POSTTRANSKRIPČNÍ ÚPRAVY

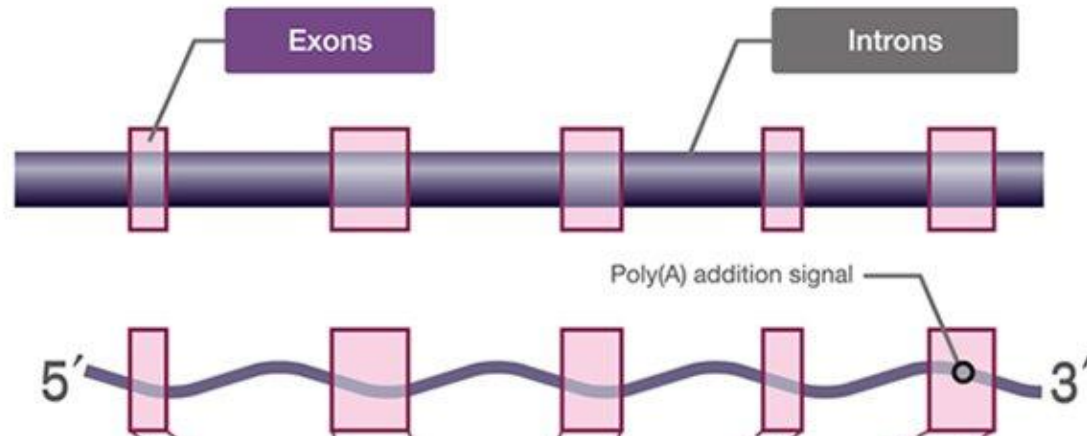
○ Hlavní posttranskripční úpravy jsou:

- 1) **MODIFIKACE hnRNA** - nedochází k narušení **primární struktury** transkriptu.

- a) **Tvorba komplexů hnRNA s proteiny.**
- b) **Úprava 5' -konce hnRNA připojením tzv. čepičky (capping).**
- c) **Polyadenylace 3' -konce hnRNA.**

- 2) **SESTŘIH hnRNA** - vystřížení nekódujících úseků - INTRONŮ ze struktury hnRNA.
Zásah do primární struktury hnRNA.

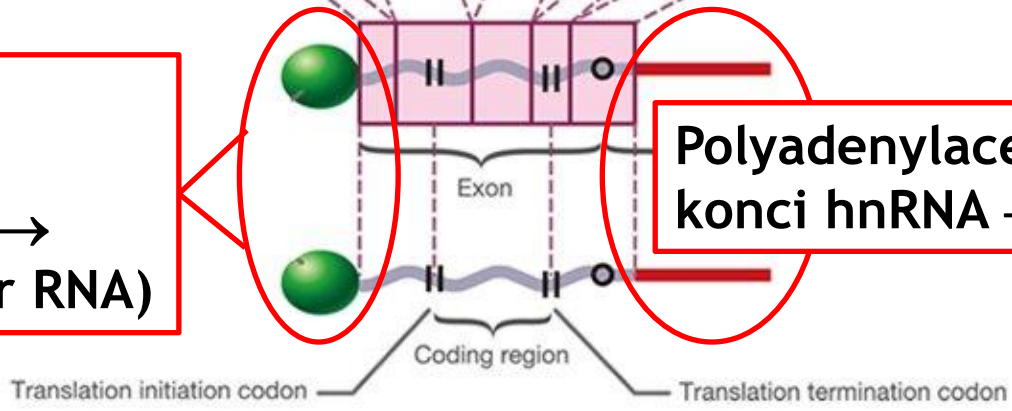
SOUHRN ZPRACOVÁNÍ hnRNA



Sestřih (splicing)

Tvorba čepičky (capping) na 5' - konci hnRNA → mRNA (messenger RNA)

Polyadenylace na 3' - konci hnRNA → mRNA

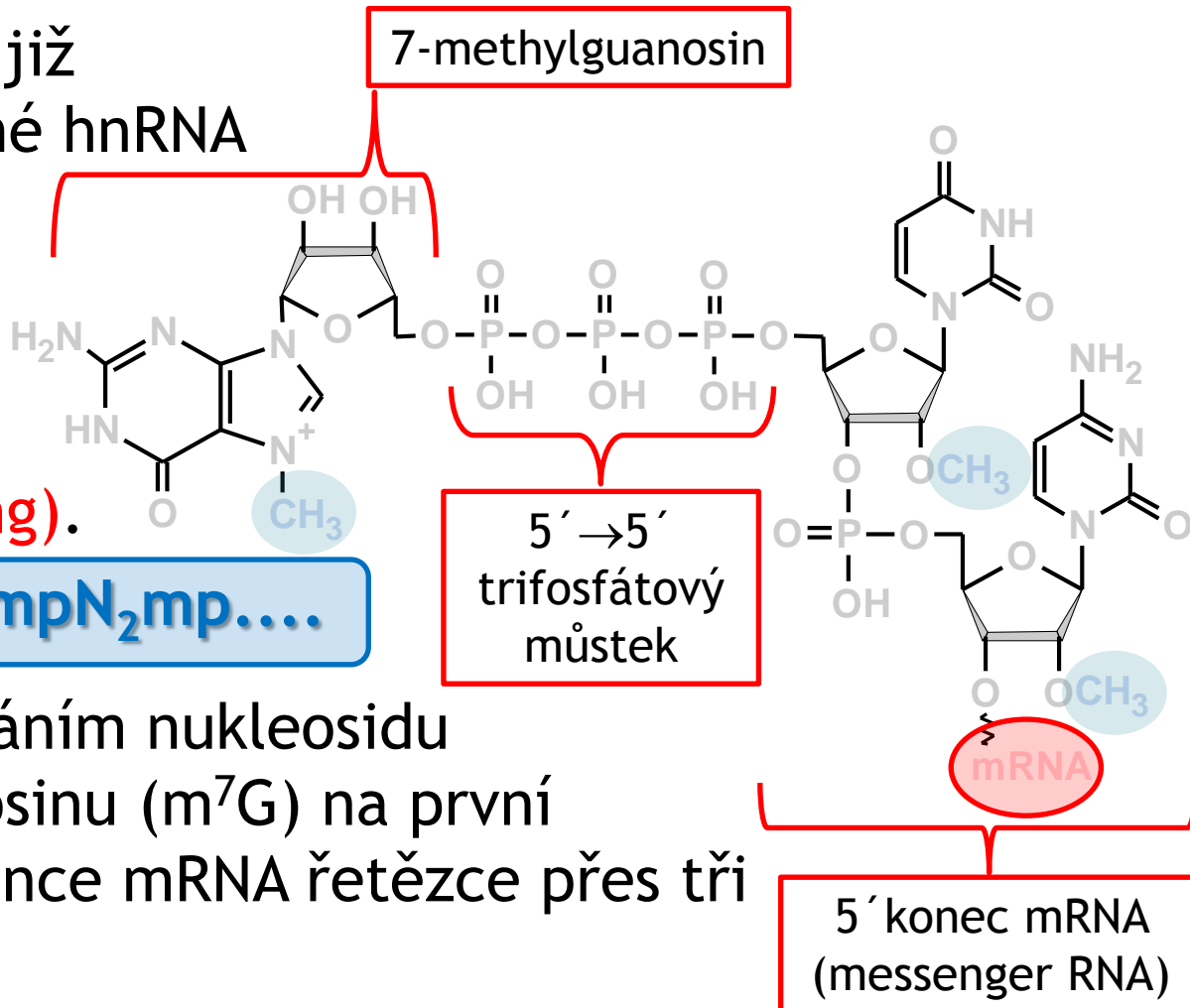


TVORBA hnRNP-KOMPLEXŮ

- ◉ Během transkripce se v jádře hnRNA spojuje s **hnRNP - proteiny** a s **částicemi snRNP** ⇒ **hnRNP-komplexy**.
- ◉ snRNP částce vznikají vazbou snRNP proteinů k malým jaderným RNA.
- ◉ Vazbou těchto částic snRNP na introny hnRNA se tvoří **SPLICEZOMY** ⇒ částice snRNP řídí proces **sestřihu** (splicing) hnRNA,
- ◉ Při přechodu mRNA z jádra do cytoplazmy jsou hnRNP proteiny nahrazeny **mRNP proteiny**.
- ◉ Funkce hnRNP proteinů:
 - navozují vhodnou konformaci hnRNA pro posttranskripční úpravy
 - uplatňují se při transportu mRNA z jádra do cytoplazmy.

ÚPRAVA 5'-konce hnRNA ČEPIČKOU

- Při uvolňování již nasyntetizované hnRNA z chromatinu se 5' konec rychle pokrývá tzv. čepičkou → (RNA capping).

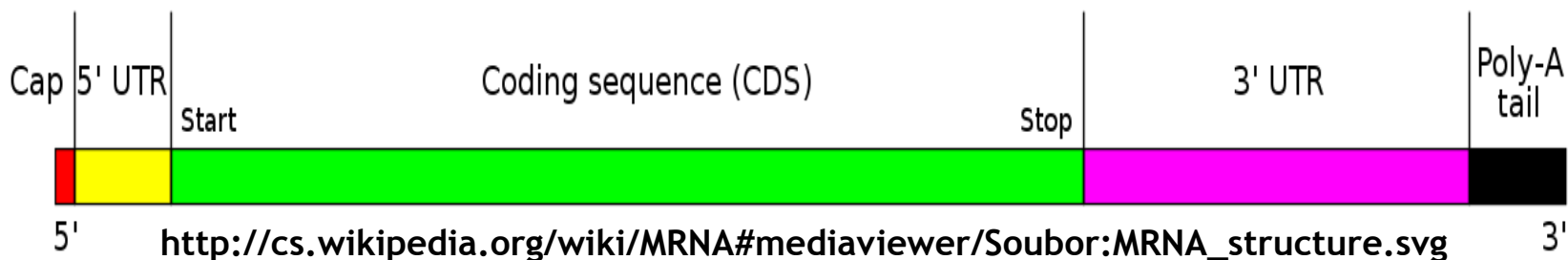


- Tvoří se navázáním nukleosidu 7-methylguanosu (m⁷G) na první nukleotid 5' konce mRNA řetězce přes tři fosfáty.
- Krom toho podléhají změnám prvý či druhý ribonukleotid mRNA (např. methylace) viz obr.
- RNA capping probíhá pouze u eukaryontní transkripce.

POLYADENYLACE 3' konce hnRNA

- hnRNA na 3' -konci tzv. **poly(A)-konec**
- Sekvence 50-200 nukleotidů vznikající zapojením zbytků **kys. adenylové** k 3' -konci hnRNA.
- Katalýza pomocí enzymu **polyadenyláza** (poly(A)-polymeráza)
- Poly(A)-konec chrání molekulu mRNA před enzymatickým působením exonukleáz a řídí transport mRNA z jádra.
- K polyadenylaci dochází hned po dokončení transkripce

The structure of a typical human protein coding mRNA including the untranslated regions (UTRs)

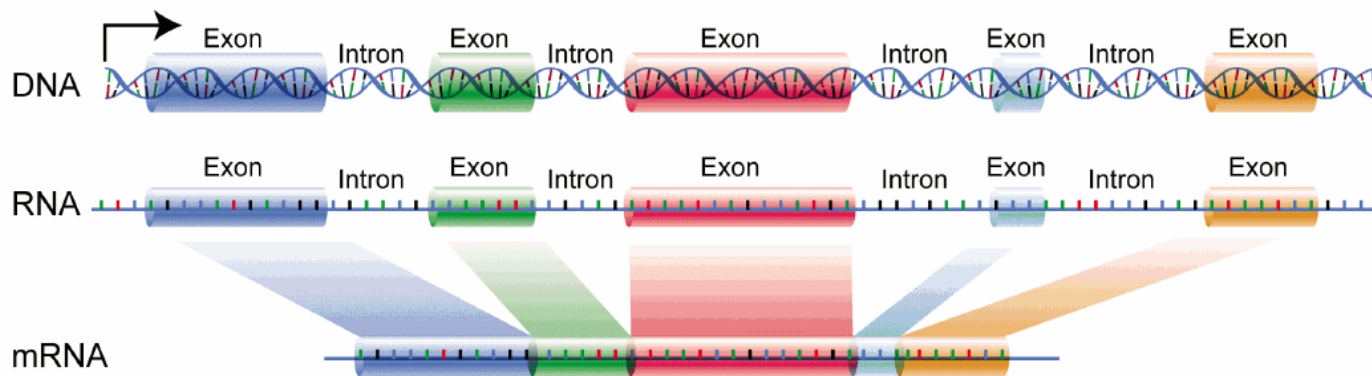


SESŘIH hnRNA

- **Sestřih (splicing)** se provádí pouze s **hnRNA (pre-mRNA)**: jedná se o primární transkript složených genů.

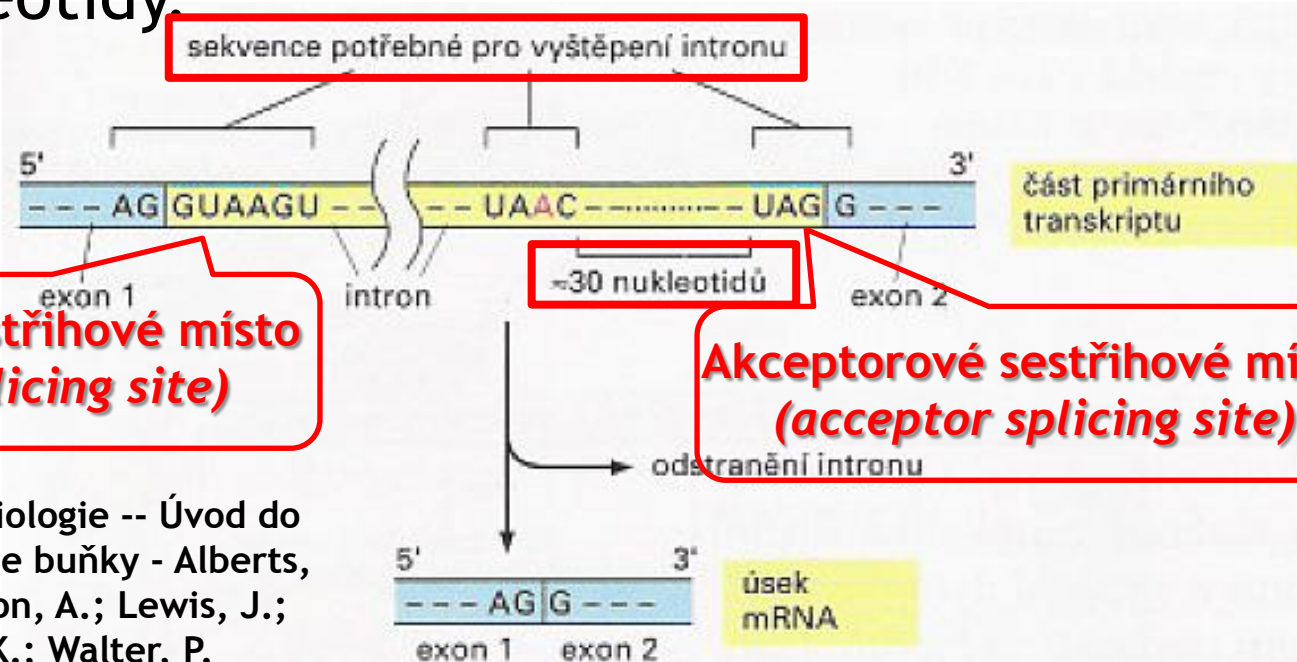
hnRNA = exony + introny

- **Exony** = kódující sekvence podléhající translaci.
- **Introny** = nekódující sekvence, vážou se k nim snRNP částice a řídí celý proces sestřihu.



INTRONY

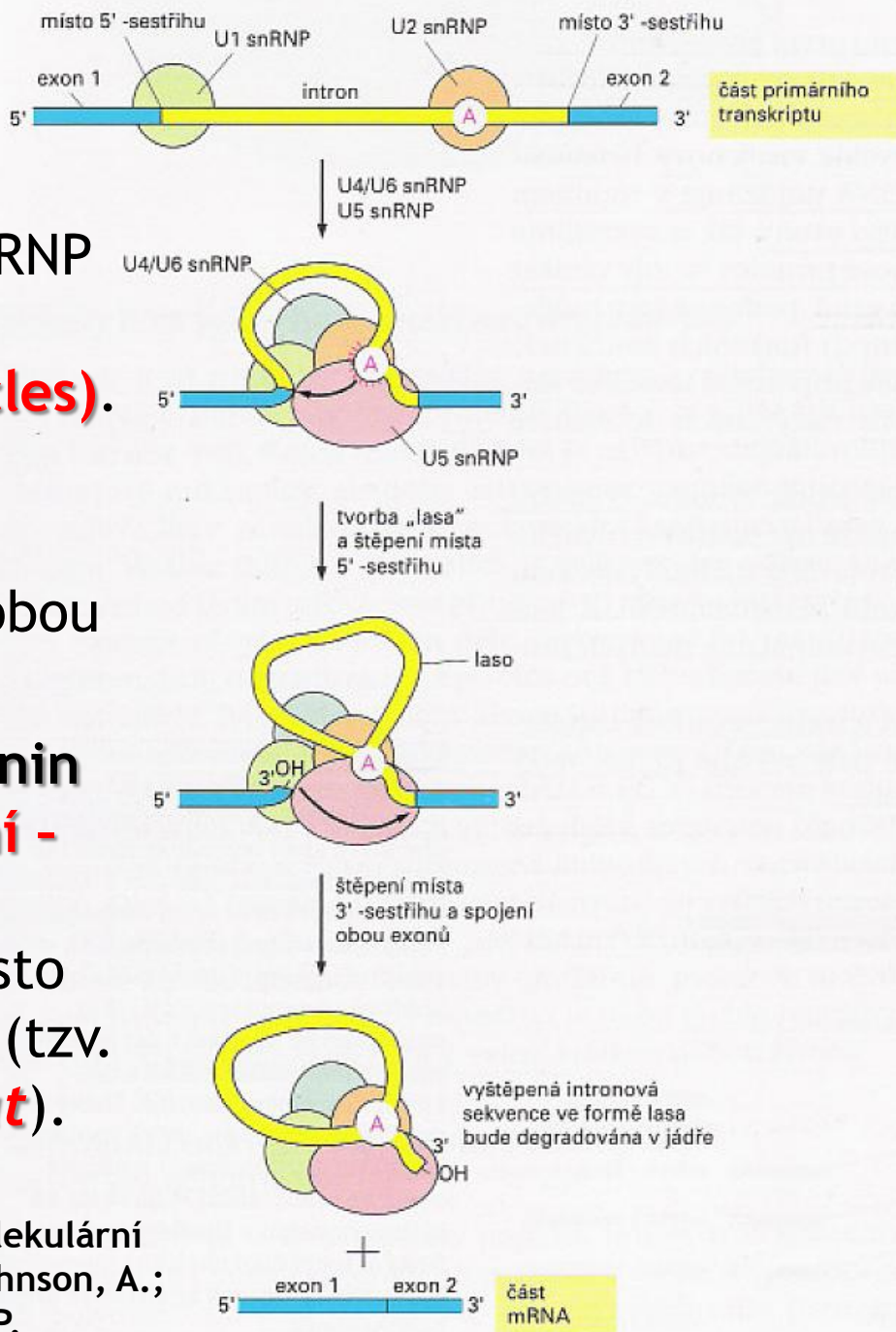
- Introny jsou součástí dsDNA i hn RNA (pre-mRNA)
- Do cytoplazmy respektive na ribosomy se však již nedostávají. Informace v nich uložená není překládána do bílkovin.
- Tvoří drtivou část lidského genomu (95 %). Jejich velikost bývá různá, často mezi 80-100 000 nukleotidy



Základy buněčné biologie -- Úvod do molekulární biologie buňky - Alberts, B.; Bray, D.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P.

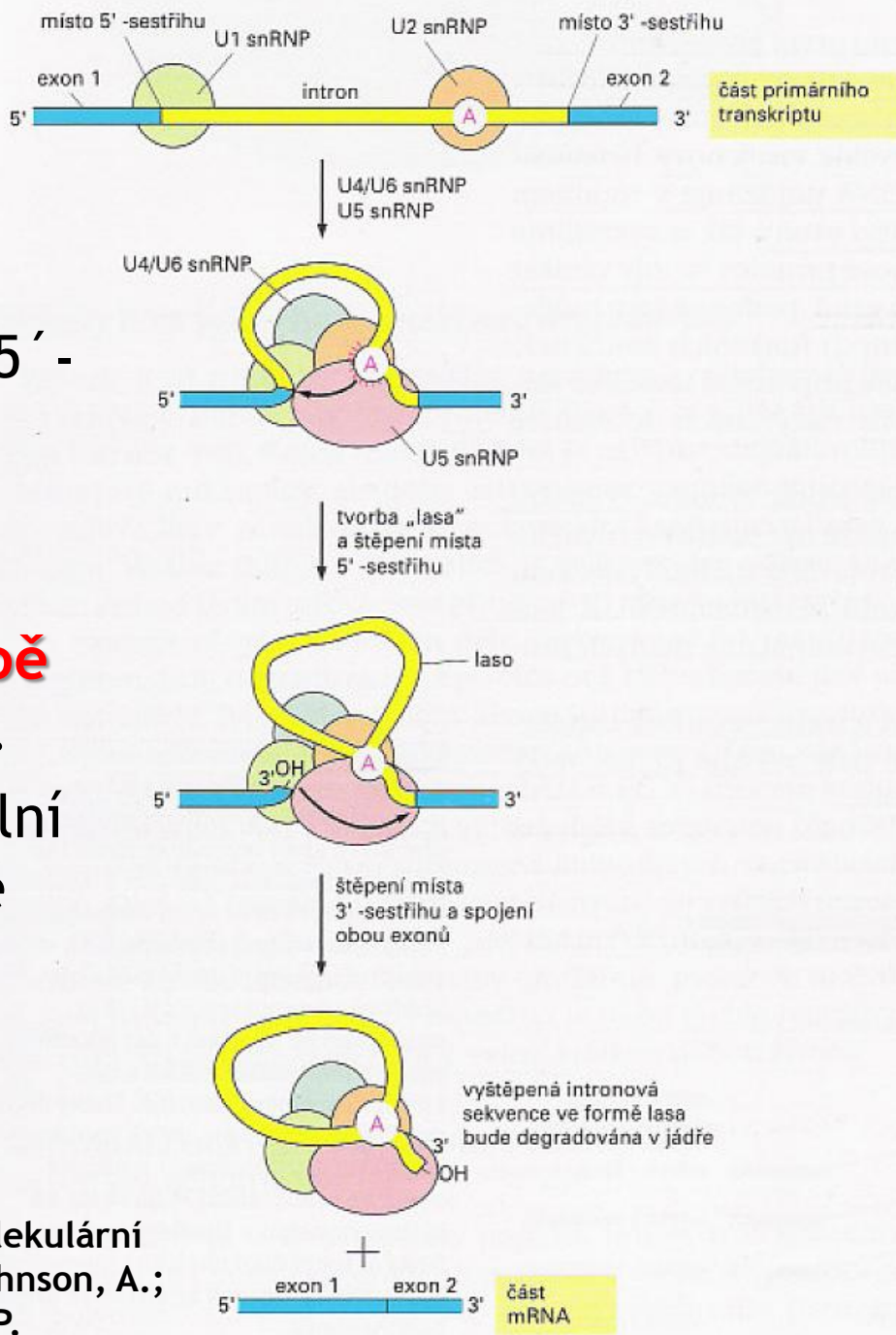
MECHANISMUS SESTŘIHU

- Sestřih je řízen hlavně snRNP částicemi (**small nuclear ribonucleoprotein particles**).
- snRNP částice tvoří tzv. **spliceosome**, který zprostředkuje přiblížení obou konců intronů.
- Klíčový je **specifický Adenin** intronu tzv. **místo větvení - branching point**, který rozštěpí 5'-sestřihové místo intronu → vzniká smyčka (tzv. **lasovitá struktura - lariat**).



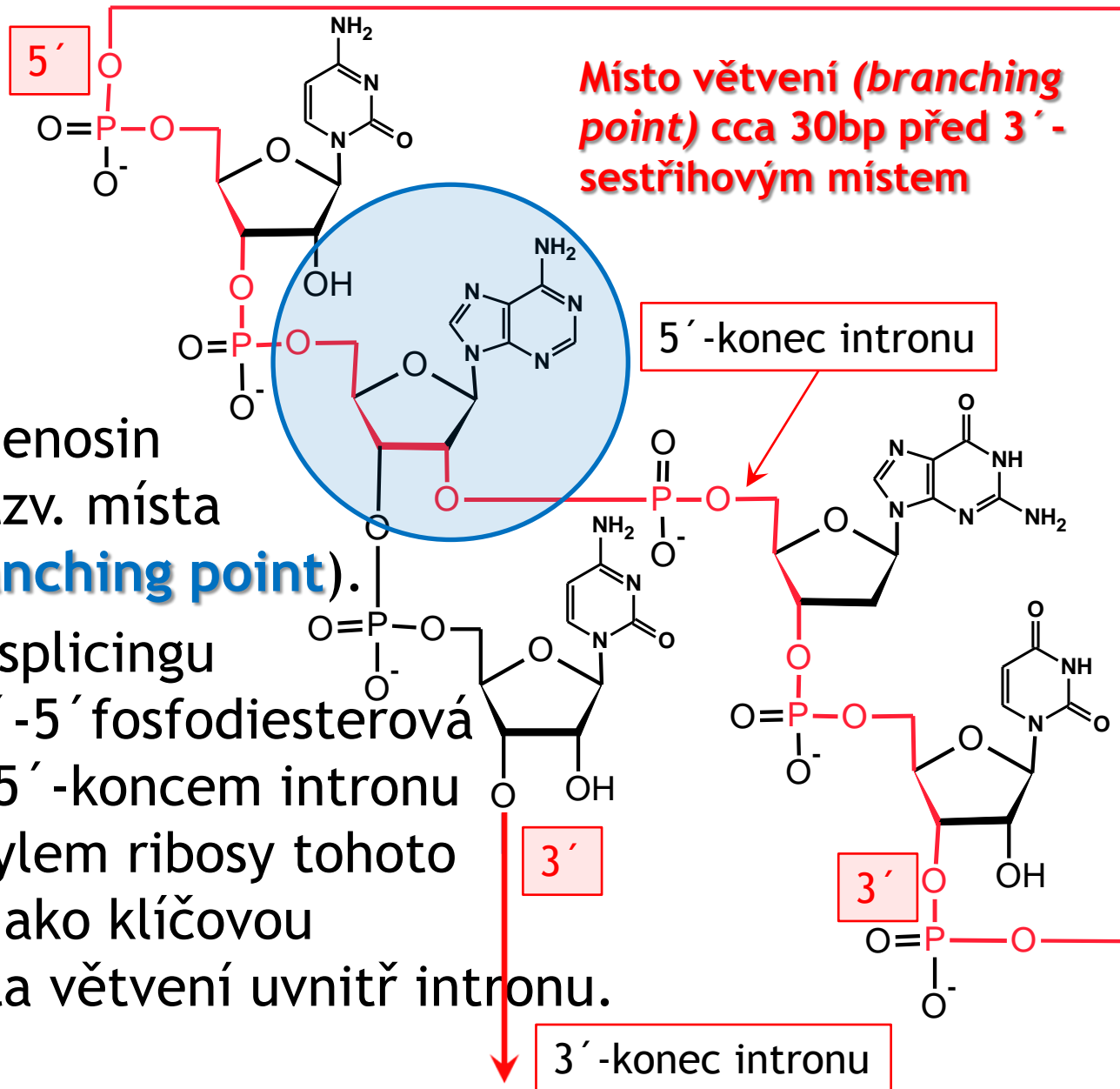
MECHANISMUS SESTŘIHU

- Volný 3' -konec prvního exonu potom reaguje s 5' -koncem následujícího exonu.
- Intron se uvolňuje v **cyklické lasovité podobě** a je následně odbourán.
- Exony se spojují do finální **kodující sekvence** nově se tvořící **(messenger) mRNA**.



Základy buněčné biologie -- Úvod do molekulární biologie buňky - Alberts, B.; Bray, D.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P.

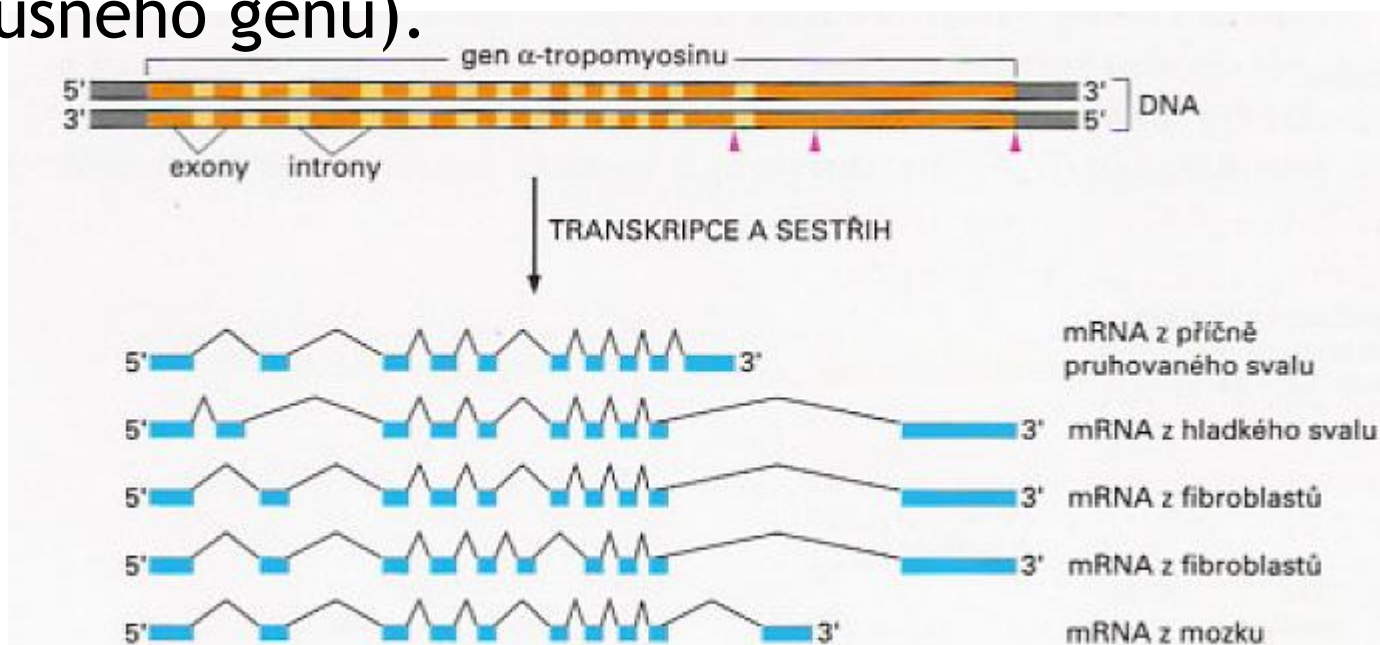
LASOVITÁ STRUKTURA INTRONU



- Zapojený adenosin je součástí tzv. místa větvení (**branching point**).
- V první fázi splicingu se vytváří 2'-5' fosfodiesterová vazba mezi 5'-koncem intronu a 2'-hydroxylem ribosy tohoto adenosinu, jako klíčovou součástí místa větvení uvnitř intronu.

ALTERNATIVNÍ SESTŘIH

- Možnost sestřihu exon-intronové sekvence primárního transkriptu různými způsoby dle buněčného typu a vývojového stádia buňky.
- Možnost produkce různých mRNA \Rightarrow tvorba různých proteinů kódovaných jedním genem. (tvorba diverzity v biologických funkcích příslušného genu).



Základy buněčné biologie -- Úvod do molekulární biologie buňky - Alberts, B.; Bray, D.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P.