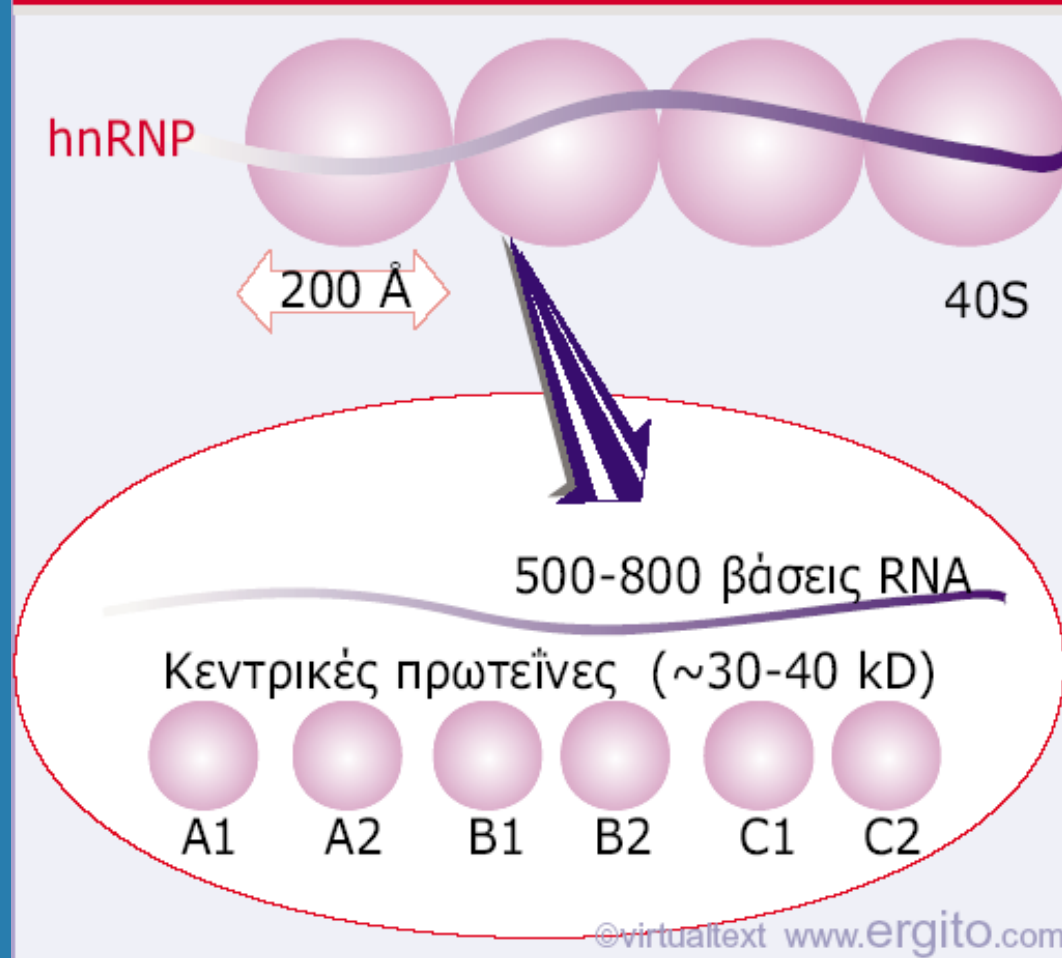


# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 24 : Το μάτισμα και η επεξεργασία του RNA



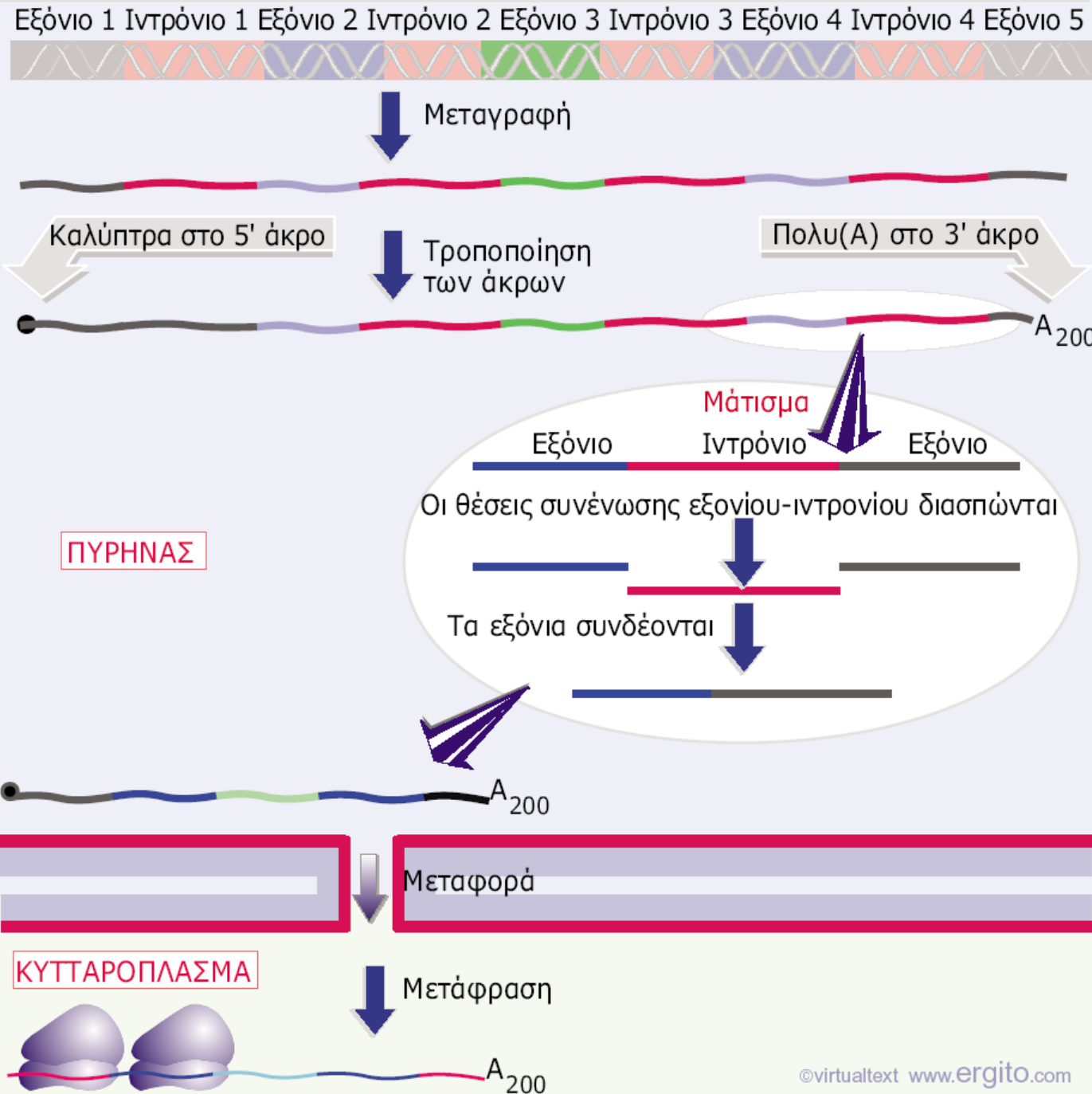
Genes VIII - Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2004

## Το hnRNA οργανώνεται σε ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα 40S



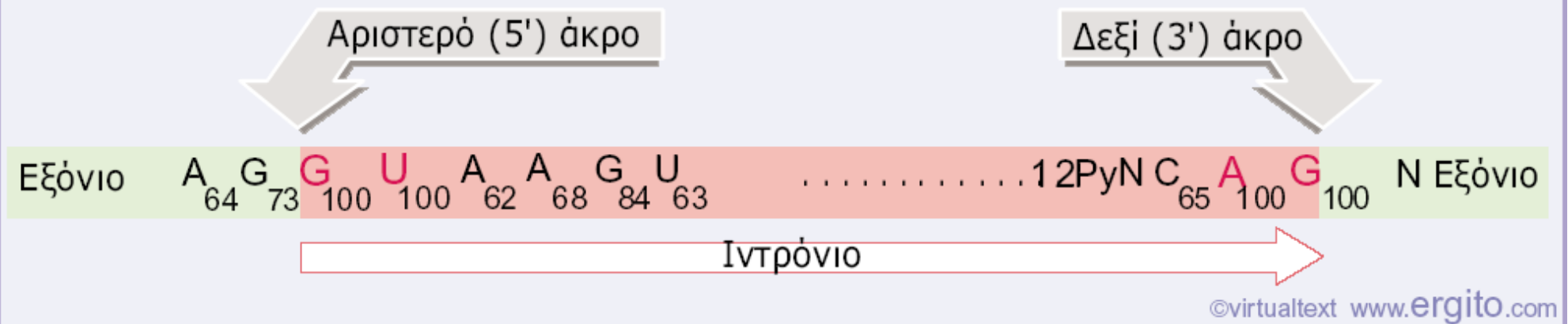
**Εικόνα 24.1** Το hnRNA απαντάται ως ριβονουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο με μορφή μιας σειράς από χάντρες.

## Το ευκαρυωτικό mRNA τροποποιείται, υφίσταται επεξεργασία και μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα



**Εικόνα 24.2** Το RNA τροποποιείται στον πυρήνα με προσθήκες στα 5' και 3' άκρα και με μάτισμα, ώστε να αφαιρεθούν τα ιντρόνια. Η διαδικασία του μάτισματος απαιτεί τη διάσπαση των θέσεων συνένωσης εξονίου-ιντρονίου και τη συρραφή των άκρων των εξονίων. Το ώριμο mRNA μεταφέρεται μέσα από τους πυρηνικούς πόρους στο κυτταρόπλασμα, όπου μεταφράζεται.

**Στα άκρα των ιντρονίων υπάρχουν χαρακτηριστικές πρότυπες αλληλουχίες**



**Εικόνα 24.3** Τα άκρα των πυρηνικών ιντρονίων καθορίζονται από τον κανόνα GU-AG.

**Η αναγνώριση των θέσεων συρραφής στους σωστούς ανά δύο συνδυασμούς οδηγεί στην αφαίρεση 3 ιντρονίων**



**Η αναγνώριση των θέσεων συρραφής σε λανθασμένους ανά δύο συνδυασμούς οδηγεί στην αφαίρεση και εξονίων**



©virtualtext www.ergito.com

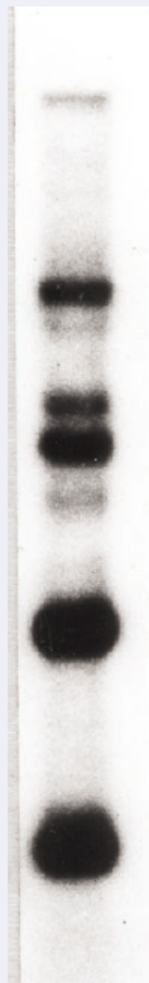
**Εικόνα 24.4** Μόνο οι σωστοί συνδυασμοί θέσεων ματίσματος αναγνωρίζονται ανά ζεύγη.

Κατά την επεξεργασία του RNA, τα ιντρόνια αφαιρούνται με μία ορισμένη σειρά

Μεταγραφόμενη περιοχή = 5,5 kb



mRNA = 1,1 kb



Πρωτογενές  
μετάγραφο (5,5 kb)

Έχουν αφαιρεθεί τα  
ιντρόνια 5 & 6

Έχουν αφαιρεθεί τα  
ιντρόνια 4, 5, 6 & 7

Παραμένει μόνο  
το ιντρόνιο 3

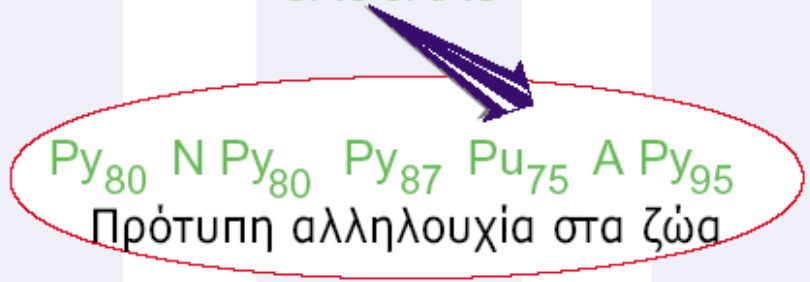
mRNA (1,1 kb)

[www.ergito.com](http://www.ergito.com)

**Εικόνα 24.5** Στύπωμα τύπου Northern πυρηνικού RNA χρησιμοποιώντας το γονίδιο μιας ωβλεννοειδούς πρωτεΐνης ως ιχνηθέτη δείχνει διακριτά ενδιάμεσα μόρια κατά το μάτισμα. Αναγράφονται τα συστατικά τμήματα των κυρίαρχων ζωνών. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά του Bert O'Malley.



## Το μάτισμα πραγματοποιείται μέσω του σχηματισμού μίας θηλιάς

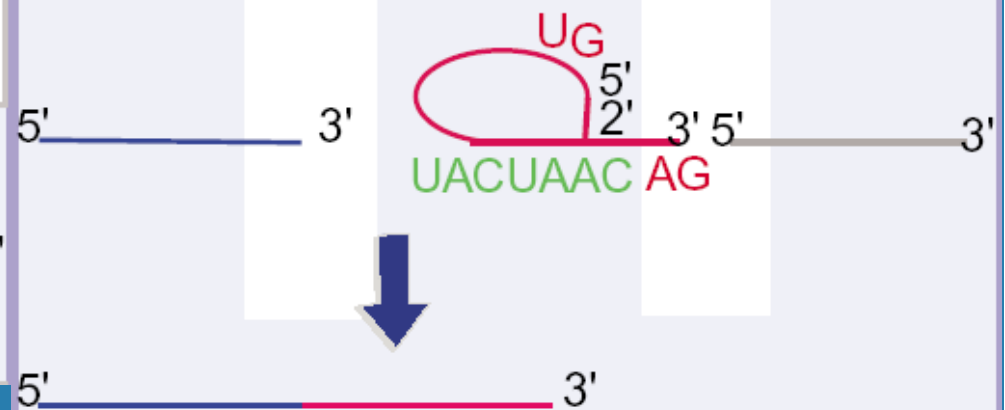


Τομή στην 5' θέση και σχηματισμός θηλιάς μέσω ενός 5' → 2' δεσμού που συνδέει την 5' -G του ιντρονίου με τη 2' θέση της αδενίνης στο σημείο της διακλάδωσης

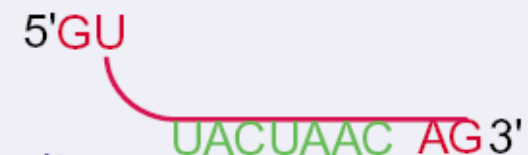


**Εικόνα 24.6** Το μάτισμα γίνεται σε δύο στάδια. Πρώτα αποκόπτεται το 5' εξόνιο και στη συνέχεια ενώνεται με το 3' εξόνιο.

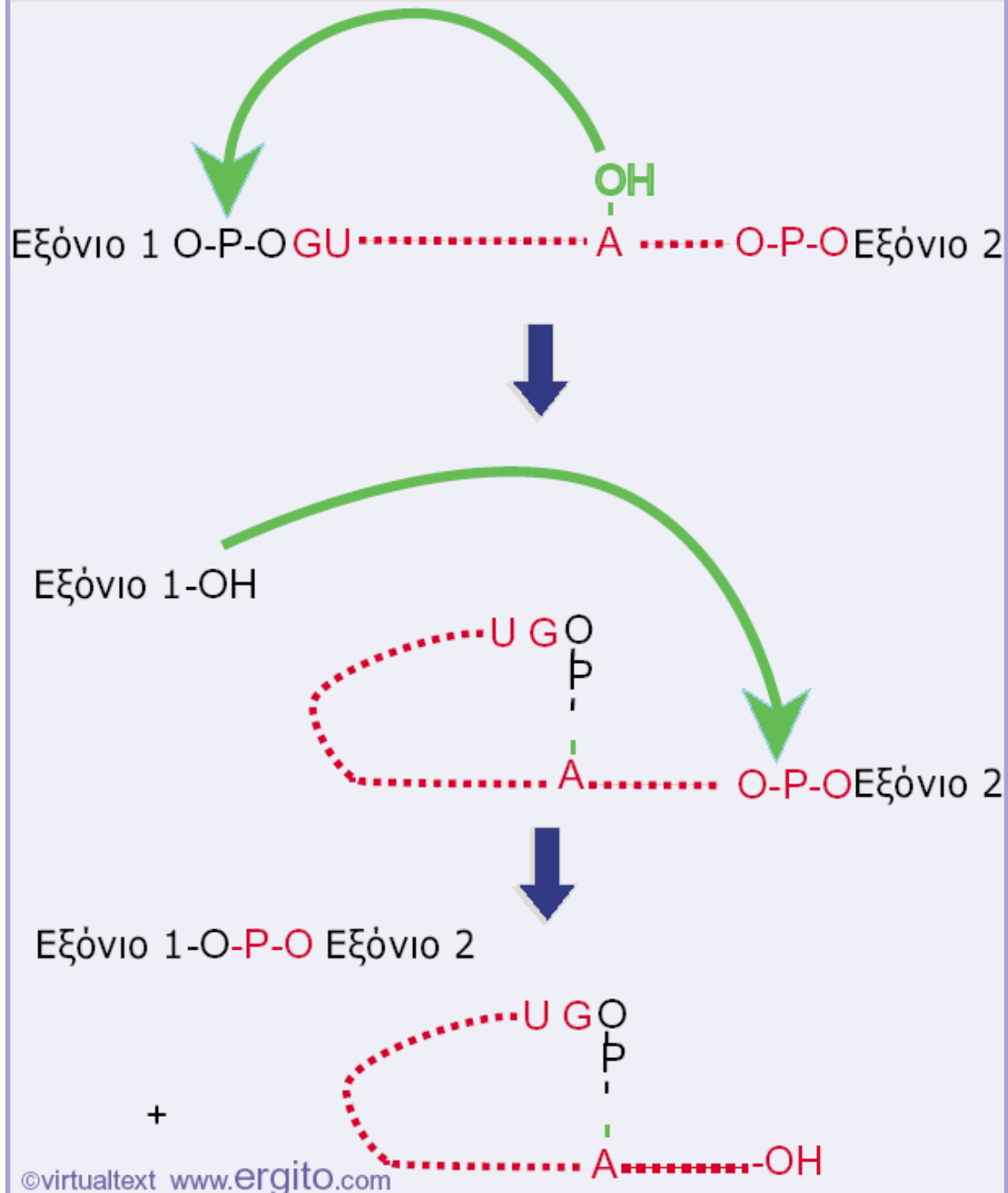
Τομή στην 3' θέση και ένωση των εξονίων, με παράλληλη απομάκρυνση του ιντρονίου με μορφή της θηλιάς



Διάσπαση του 5' → 2' δεσμού



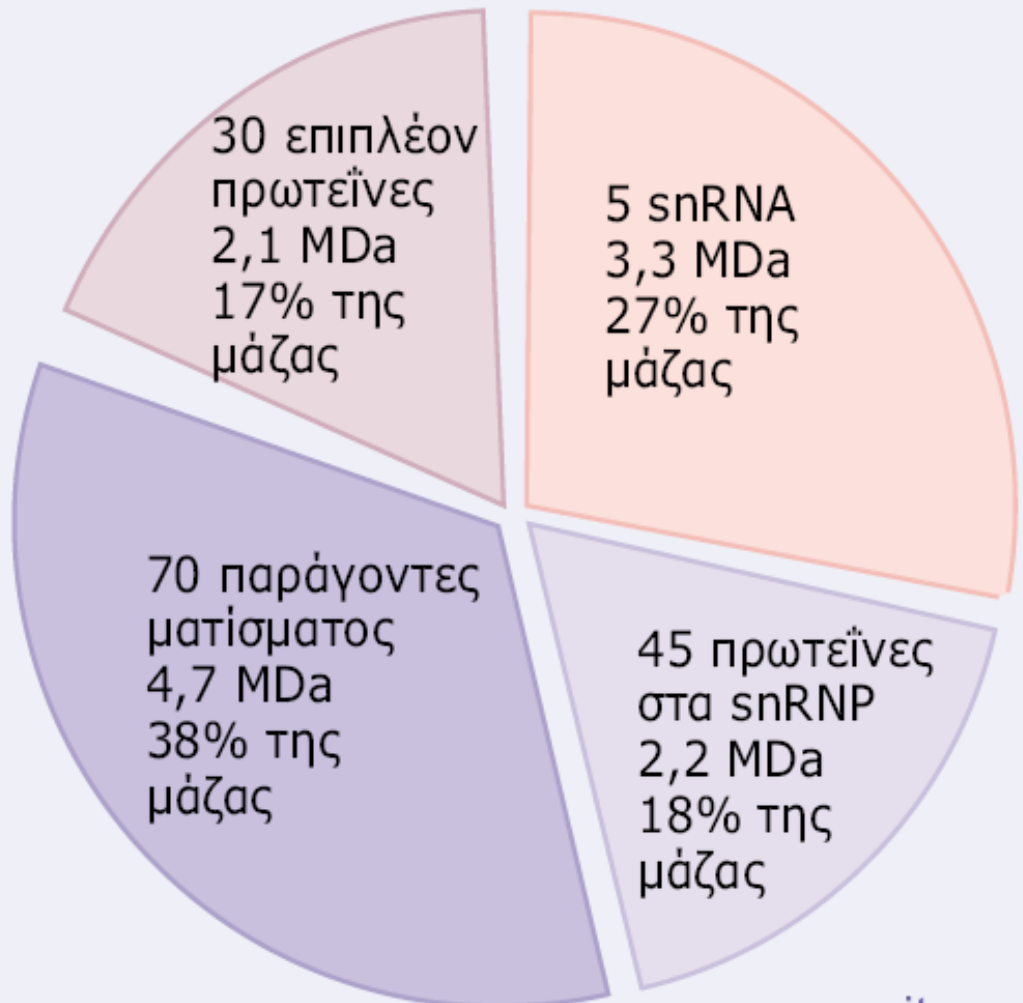
## Το μάτισμα λαμβάνει χώρα μέσω τρανσεστεροποίησης



**Εικόνα 24.7** Το πυρηνικό μάτισμα πραγματοποιείται με δύο αντιδράσεις μετεστεροποίησης, στις οποίες μια ομάδα -OH προσβάλλει ένα φωσφοδιεστερικό δεσμό.



## Το σωμάτιο ματίσματος αποτελείται από πολλά συστατικά



©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

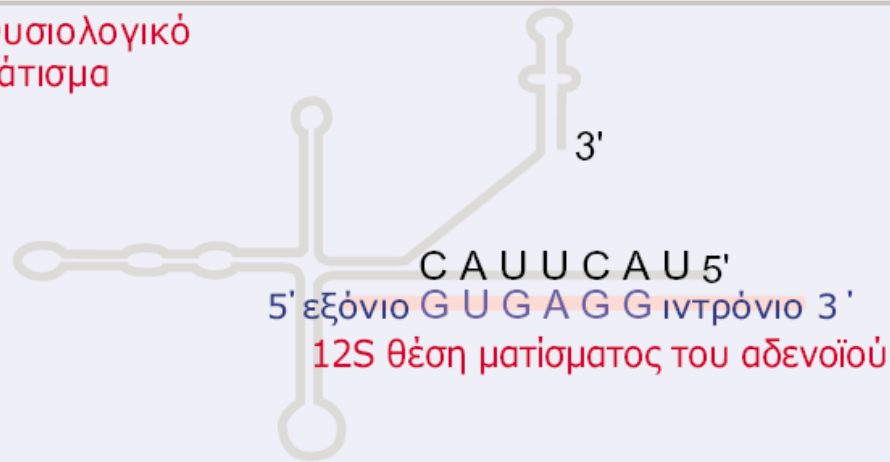
**Εικόνα 24.8** Το σωμάτιο ματίσματος έχει μοριακό βάρος ~12 MDa. Τα πέντε snRNP αντιστοιχούν σχεδόν στο μισό της μάζας του. Οι υπόλοιπες πρωτεΐνες περιλαμβάνουν γνωστούς παράγοντες ματίσματος, καθώς και πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε άλλα στάδια της γονιδιακής έκφρασης.



## Το U1 snRNA επιλέγει τη θέση-δότη

Άγριου τύπου U1 snRNA και προ-mRNA 12S

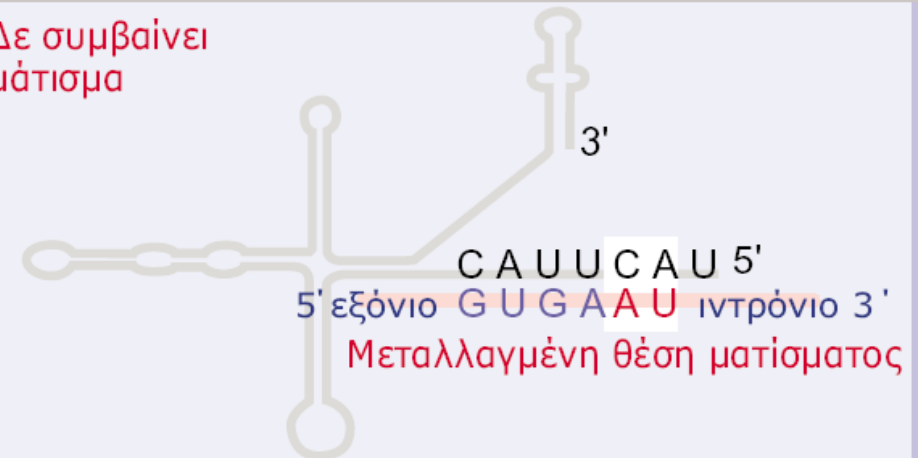
Φυσιολογικό  
μάτισμα



**Εικόνα 24.10** Οι μεταλλάξεις που καταστέλλουν τη λειτουργία της 5' θέσης ματίσματος μπορούν να αντισταθμιστούν με μεταλλάξεις στο U1 snRNA, οι οποίες αποκαθιστούν το ζευγάρωμα βάσεων.

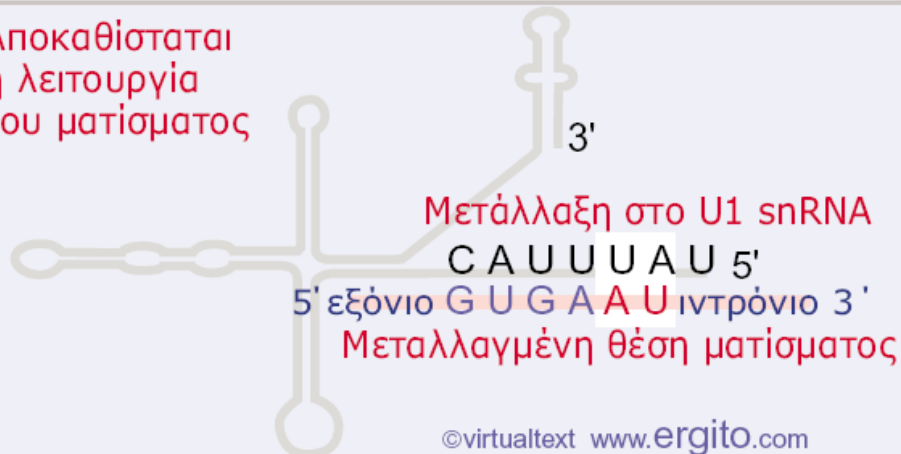
Άγριου τύπου U1 snRNA και μεταλλαγμένο προ-mRNA 12S

Δε συμβαίνει  
μάτισμα

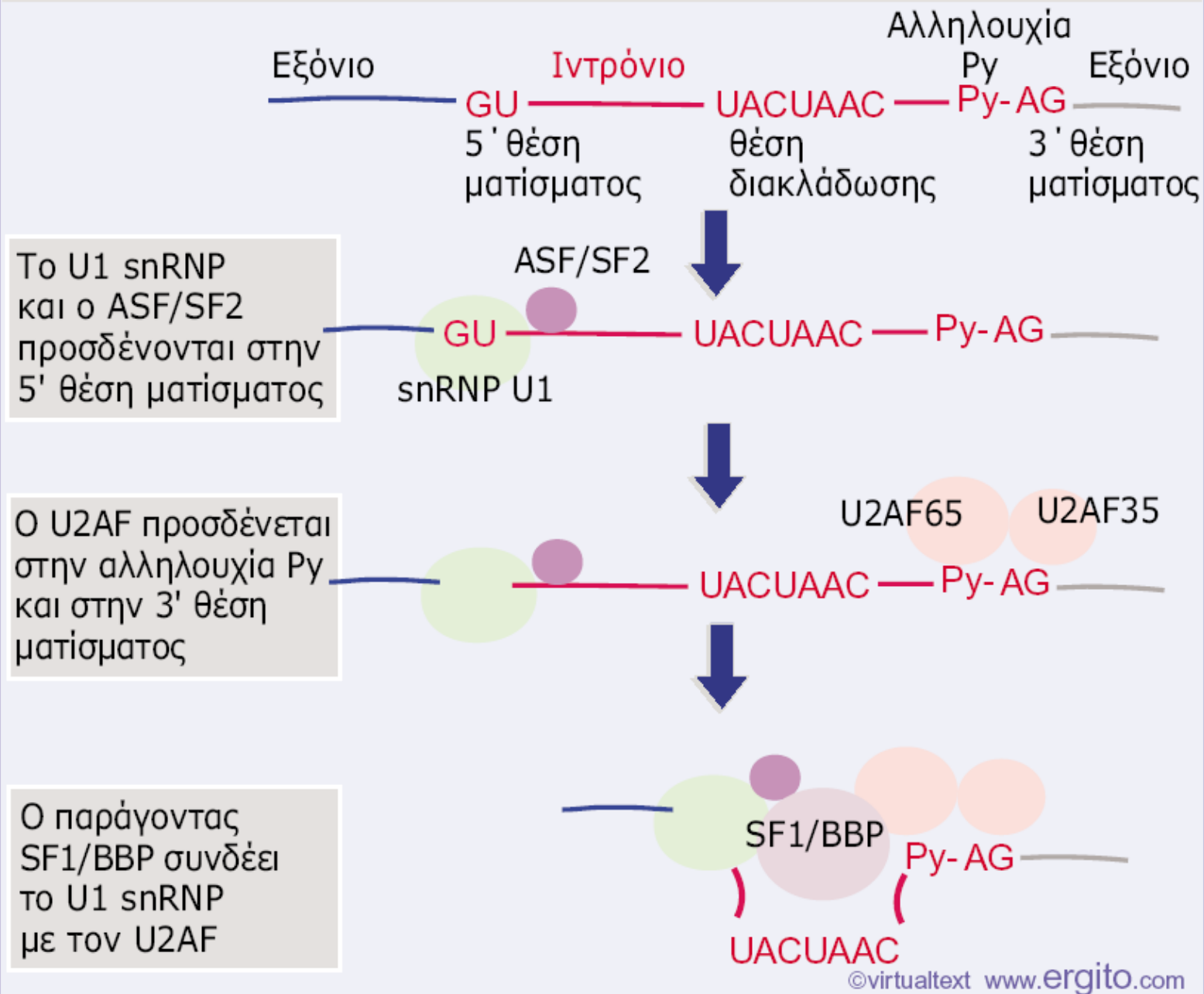


Μεταλλαγμένα U1 snRNA και προ-mRNA 12S

Αποκαθίσταται  
η λειτουργία  
του ματίσματος

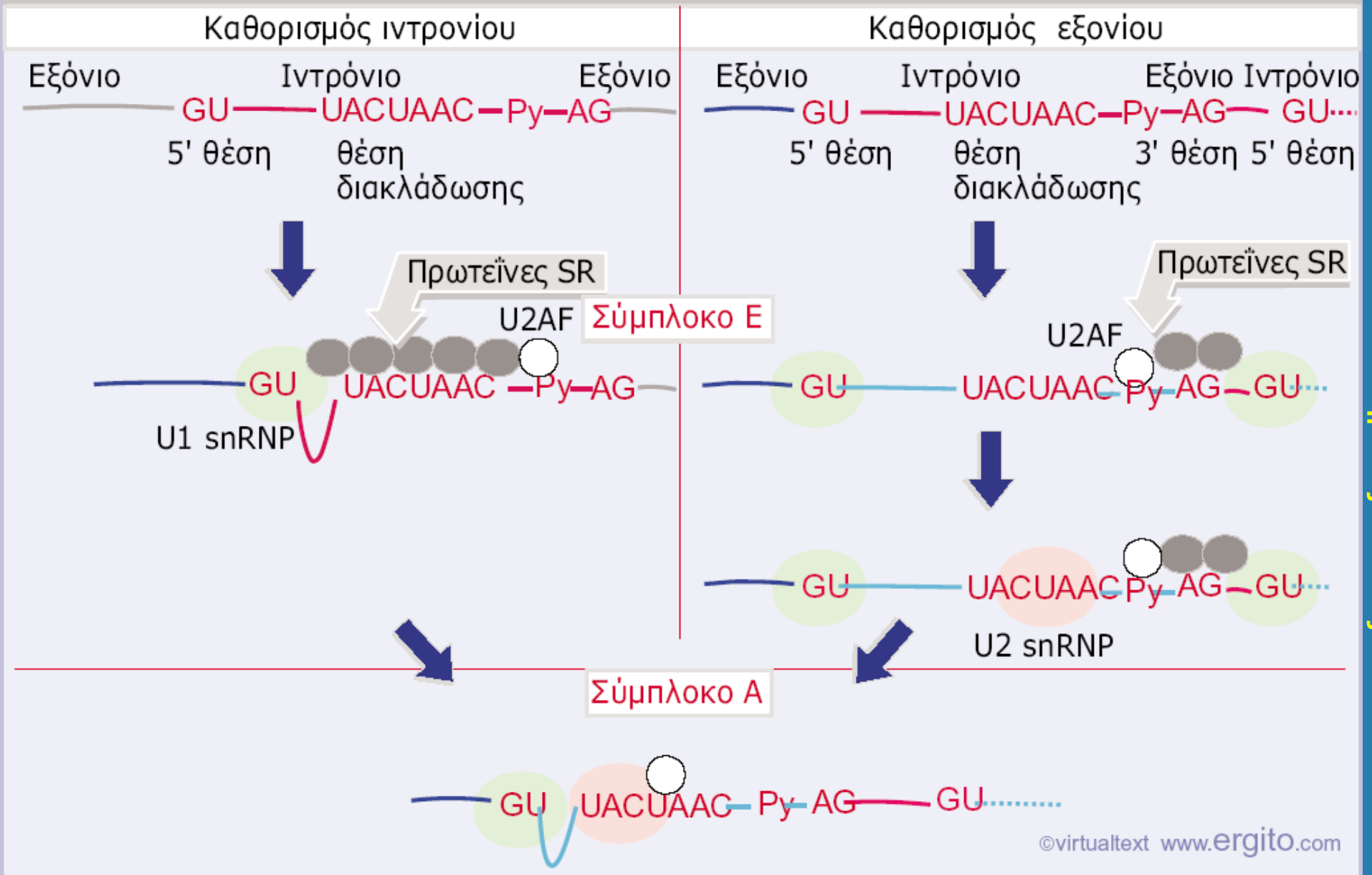


## Το σύμπλοκο E σχηματίζεται με αλληλεπιδράσεις που περιλαμβάνουν και τις δύο θέσεις ματίσματος



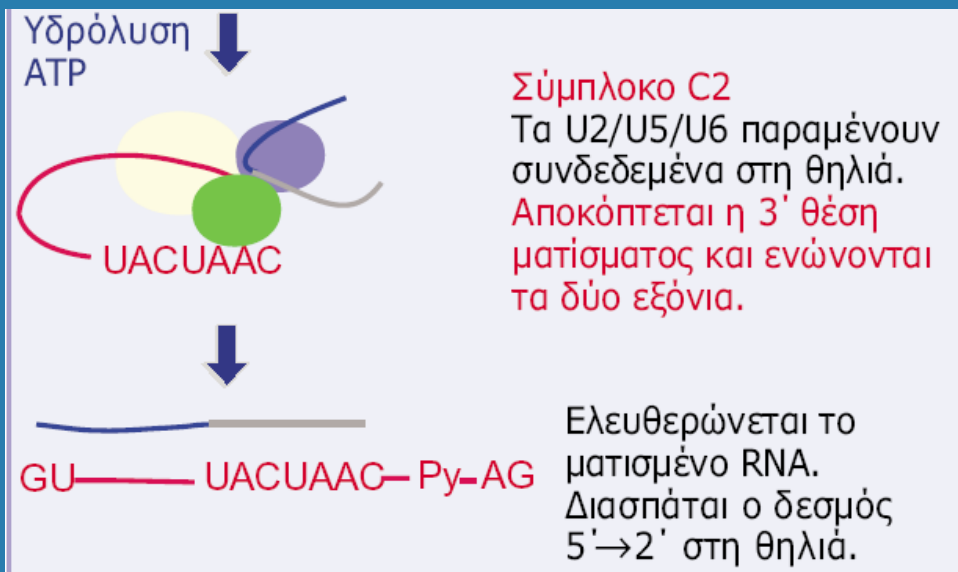
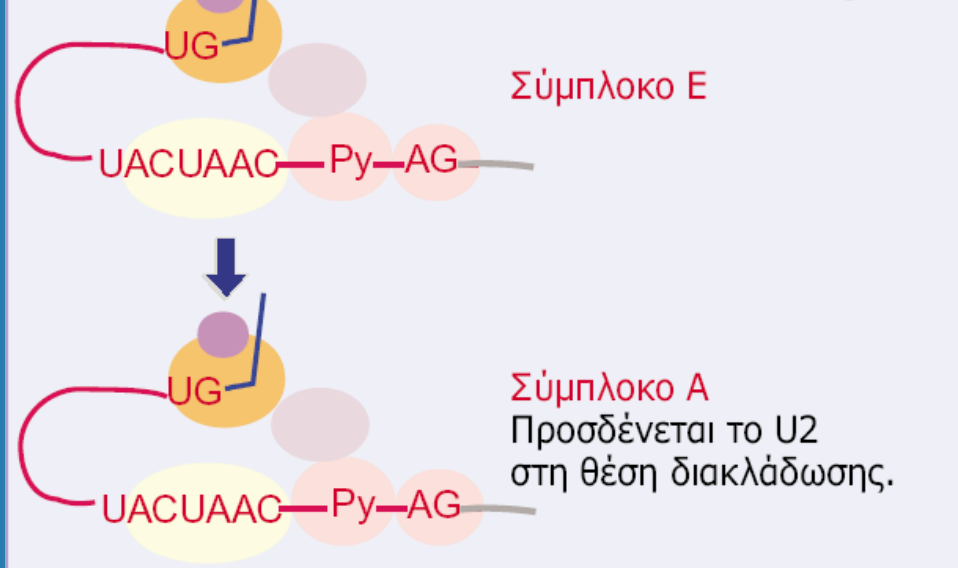
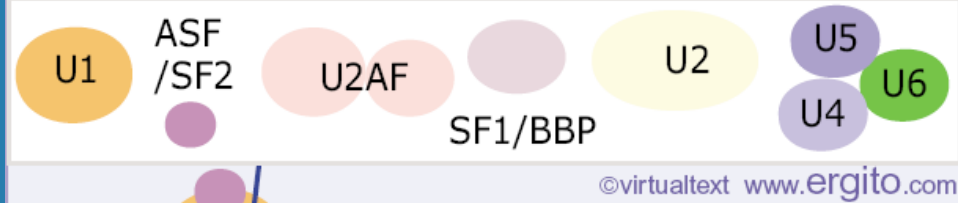
**Εικόνα 24.11** Το σύμπλοκο καθορισμού (E) σχηματίζεται με τη διαδοχική πρόσδεση του U1 snRNP στην 5' θέση ματίσματος, του U2AF στην πολυπυριμιδική περιοχή κοντά στην 3' θέση ματίσματος και τέλος της πρωτεΐνης SF1/BBP η οποία γεφυρώνει τις δύο θέσεις.

## Η αναγνώριση των άκρων των ιντρονίων μπορεί να γίνει με οποιονδήποτε από τους δύο δυνατούς τρόπους

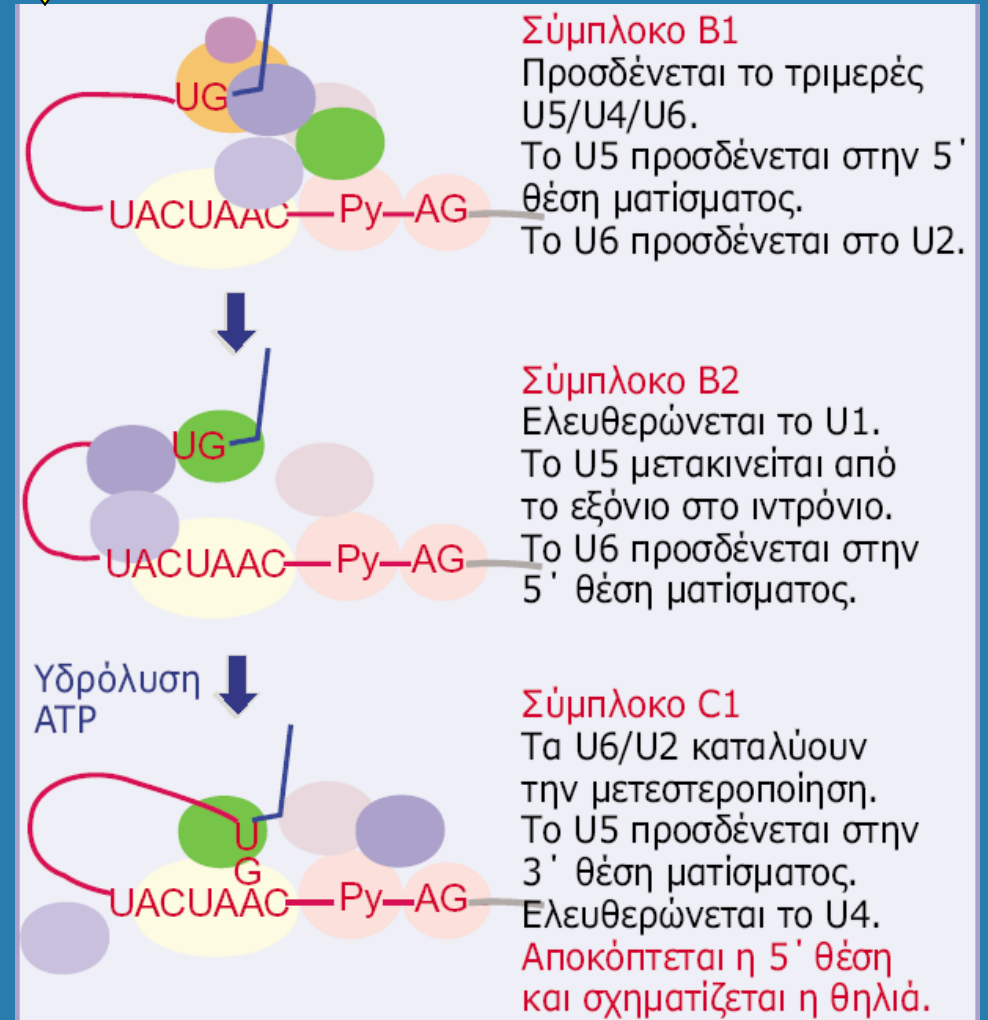


**Εικόνα 24.12** Μπορεί να υπάρχουν πολλαπλοί τρόποι για την αρχική αναγνώριση των 5' και 3' θέσεων ματίσματος.

**Το σωμάτιο ματίσματος σχηματίζεται μέσω της αλληλεπίδρασης διαφόρων συμπλόκων**

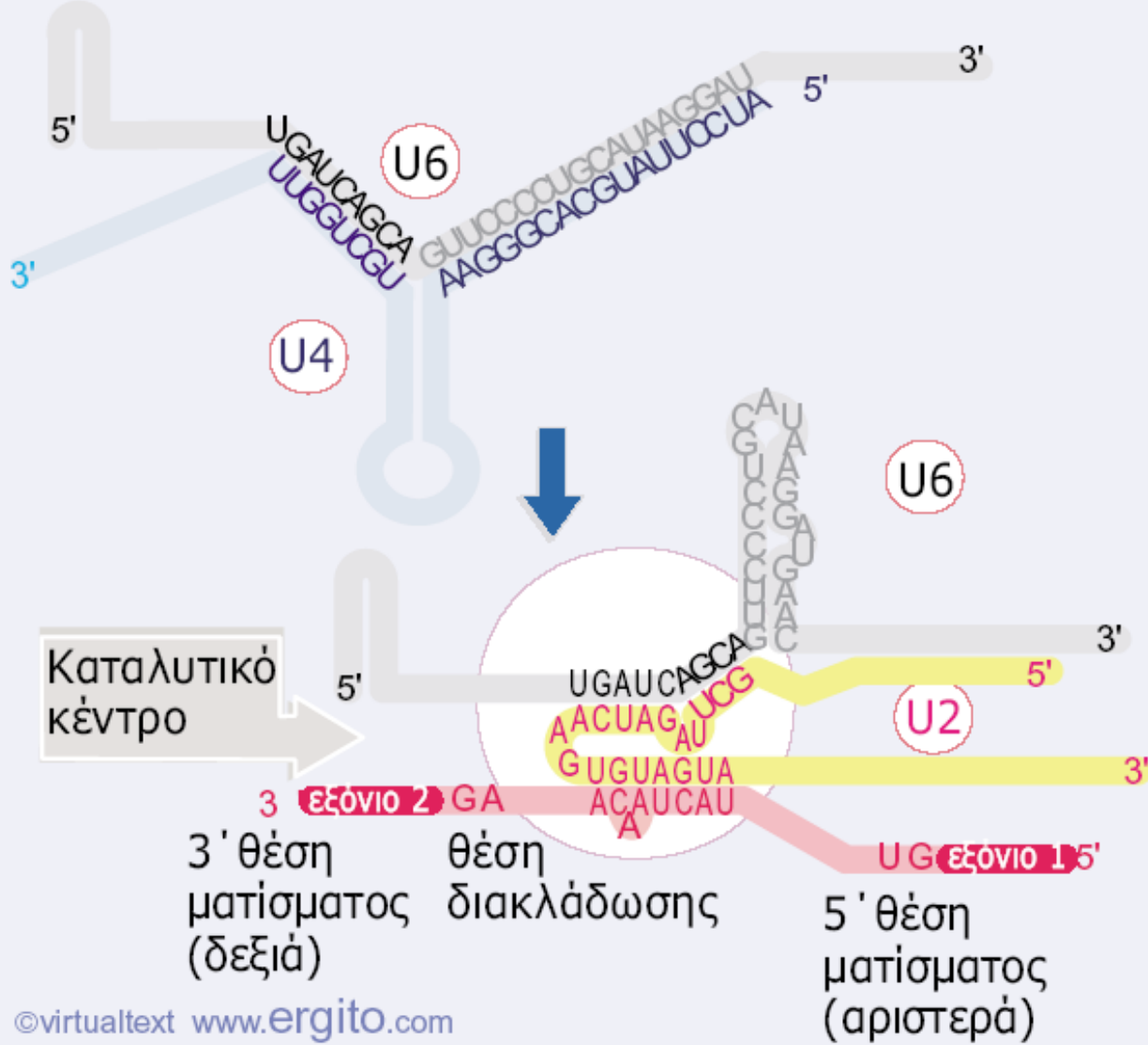


**Εικόνα 24.13** Η αντίδραση ματίσματος διέρχεται από διακριτά στάδια, κατά τα οποία σχηματίζεται σταδιακά το σωμάτιο ματίσματος μέσω της πρόσδεσης συστατικών που αναγνωρίζουν τις συντηρημένες πρότυπες αλληλουχίες.





## Το U6 snRNA μπορεί να ζευγαρώσει είτε με το U4 είτε με το U2

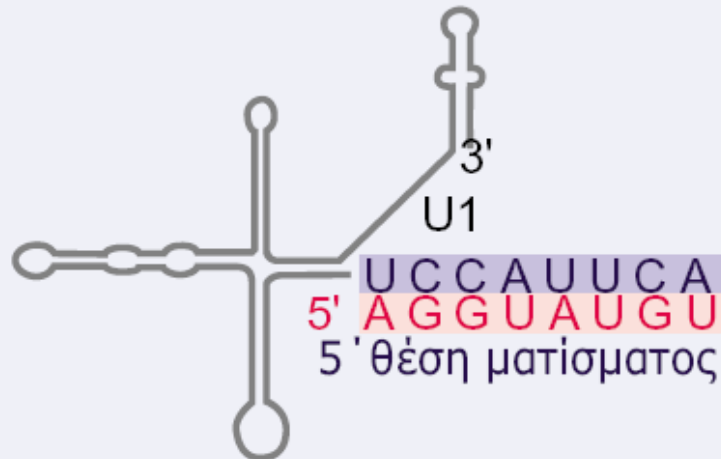


**Εικόνα 24.14** Το ζευγάρισμα U6-U4 είναι μη συμβατό με το ζευγάρισμα U6-U2. Κατά τη σύνδεση του U6 με το σωματίο ματίσματος, βρίσκεται ζευγαρωμένο με το U4. Η αποδέσμευση του U4 επιτρέπει μια αλλαγή της στερεοδιαμόρφωσης του U6: ένα τμήμα της αποδεσμευμένης αλληλουχίας σχηματίζει μια φουρκέτα (σκούρο γκρι), ενώ το υπόλοιπο (μαύρο) ζευγαρώνει με το U2.

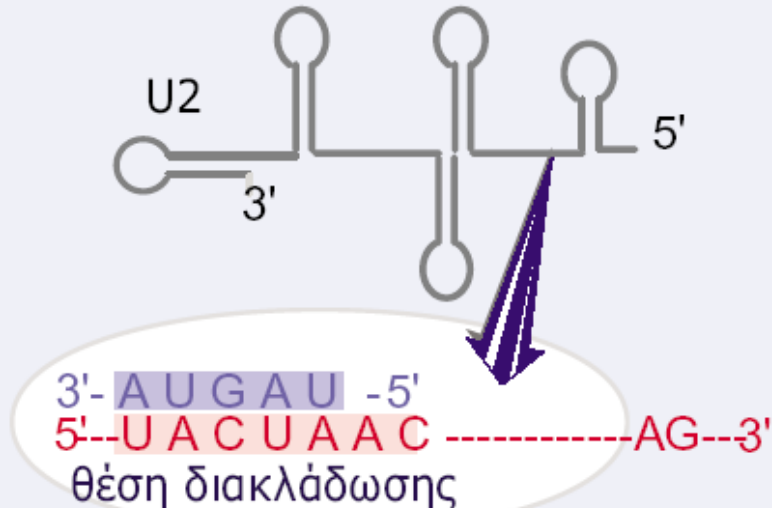


## Το ζευγάρι με το snRNA διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία του ματίσματος

Το U1 ζευγαρώνει με την 5' θέση ματίσματος

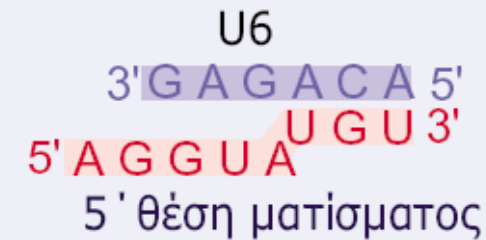


Το U2 ζευγαρώνει με τη θέση διακλάδωσης

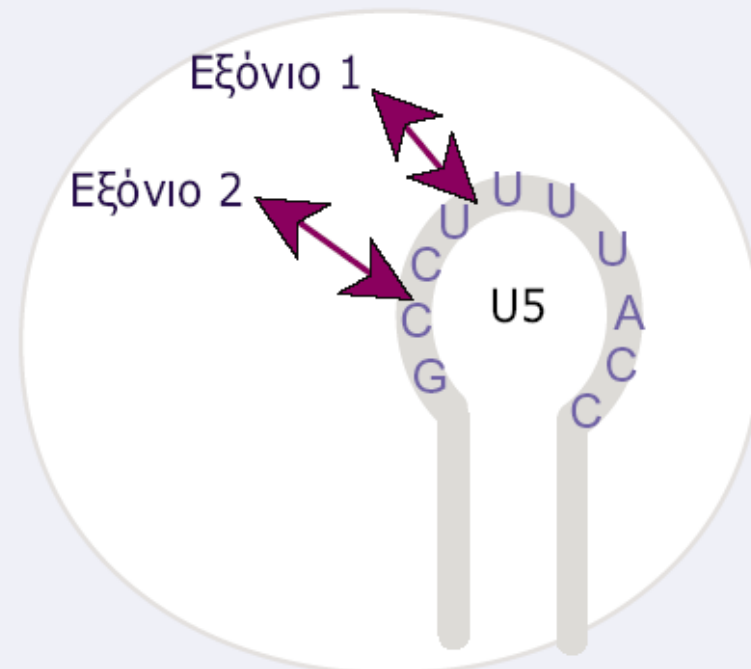


**Εικόνα 24.15** Στο μάτισμα χρησιμοποιείται μια σειρά από αντιδράσεις ζευγαρώματος βάσεων μεταξύ των snRNA και των θέσεων ματίσματος.

Το U6 ζευγαρώνει με την 5' θέση ματίσματος



Το U5 είναι κοντά και στα δύο εξόνια




**Το μάτισμα αποτελεί προϋπόθεση για την έξοδο του mRNA από τον πυρήνα**

Εξόνιο      Ιντρόνιο      Εξόνιο



Μάτισμα



Μια πρωτεΐνη προσδένεται στο σύμπλοκο ματίσματος



Η πρωτεΐνη παραμένει στις θέσεις συρραφής των εξονίων



**Εικόνα 24.16** Το σύμπλοκο EJC προσδένεται στο RNA αναγνωρίζοντας το σωματίο ματίσματος.

Το σύμπλοκο EJC σχηματίζεται στις θέσεις συρραφής των εξονίων



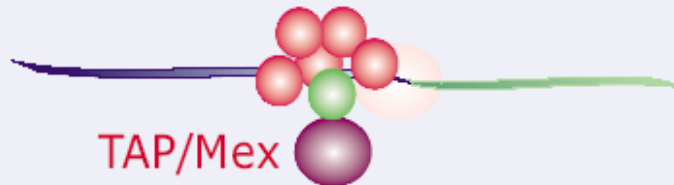
Στο σύμπλοκο EJC προσδένονται πρωτεΐνες που ενέχονται στην έξοδο του RNA από τον πυρήνα, στον εντοπισμό του και στην αποδόμησή του

## Οι REF και TAP συνιστούν τις πρωτεΐνες-κλειδιά για τη ρύθμιση της εξόδου του mRNA από τον πυρήνα

Η πρωτεΐνη REF (Aly) είναι συστατικό του EJC



Ο παράγοντας μεταφοράς TAP/Mex προσδένεται στη REF

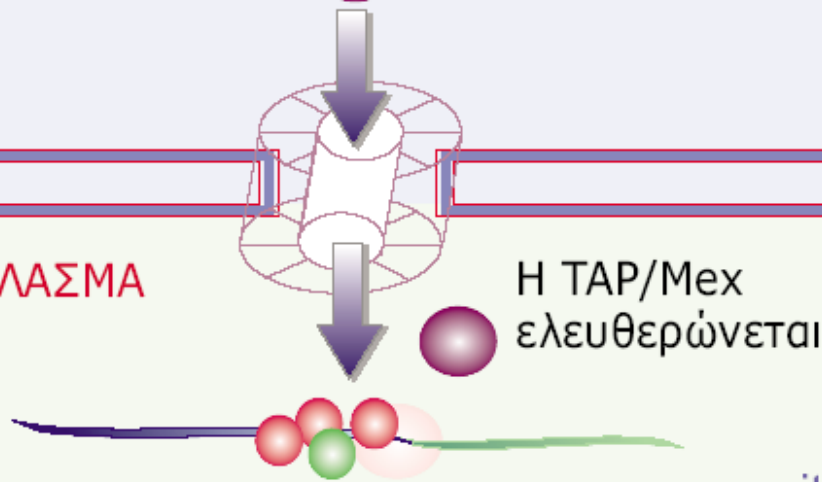


Ο TAP/Mex μεταφέρει το mRNA διαμέσου του πυρηνικού πόρου



ΠΥΡΗΝΑΣ

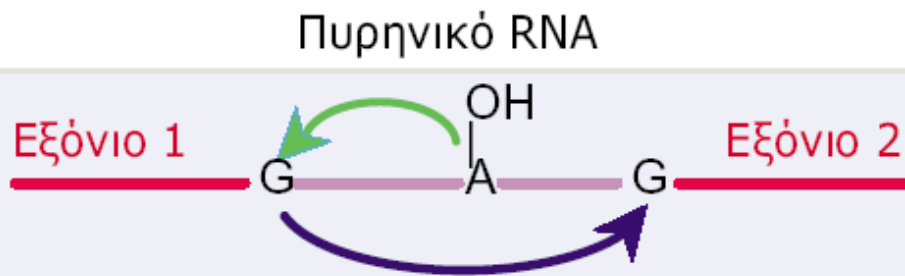
ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑ



Η TAP/Mex ελευθερώνεται

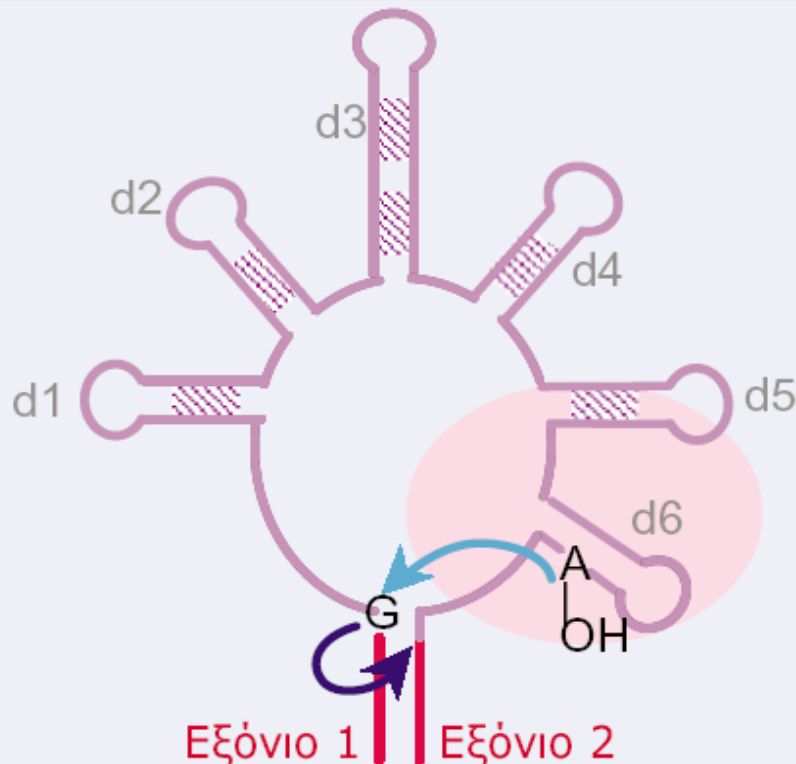
**Εικόνα 24.17** Η πρωτεΐνη REF προσδένεται σε έναν παράγοντα ματίσματος και παραμένει με το ματισμένο προϊόν. Η REF προσδένεται σε έναν παράγοντα εξαγωγής από τον πυρήνα, ο οποίος με τη σειρά του συνδέεται με τον πυρηνικό πόρο.

## Το μάτισμα επιτελείται με μετεστεροποίηση

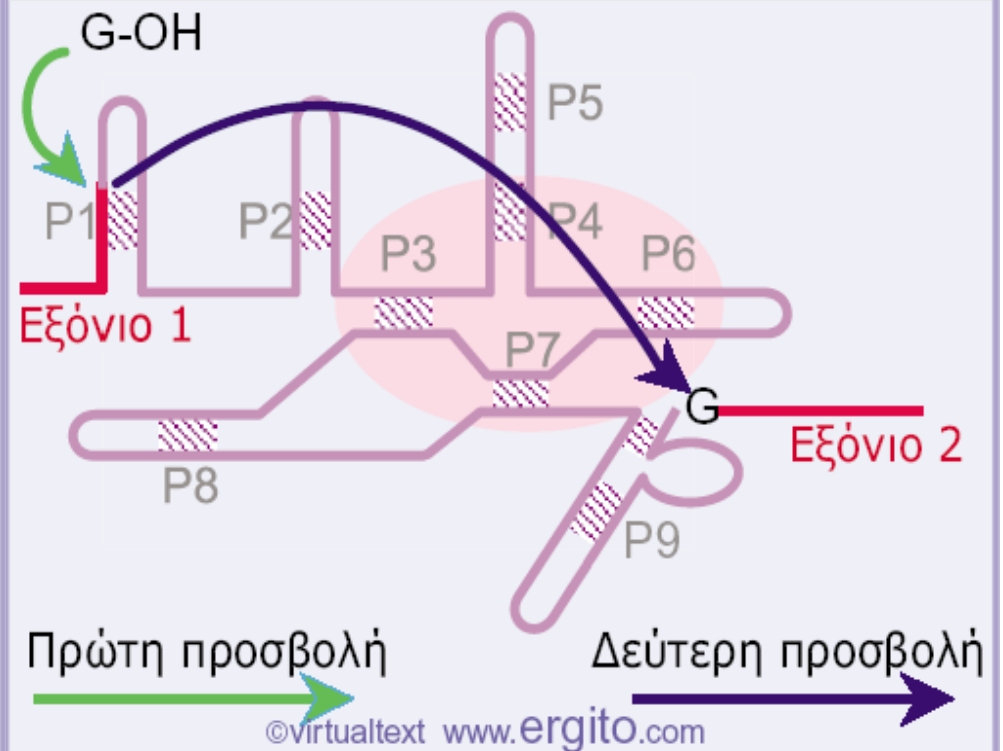


**Εικόνα 24.18** Οι τρεις κατηγορίες αντιδράσεων μάτισματος προχωρούν μέσω δύο μετεστεροποιήσεων. Πρώτα, μια ελεύθερη ομάδα -OH προσβάλλει τη θέση ανάμεσα στο εξόνιο 1 και στο ιντρόνιο. Μετά, το -OH που δημιουργείται στο άκρο του εξονίου 1 προσβάλλει τη θέση ανάμεσα στο ιντρόνιο και στο εξόνιο 2.

### Ομάδα II



### Ομάδα I



## Τα ιντρόνια της ομάδας II σχηματίζουν θηλιές

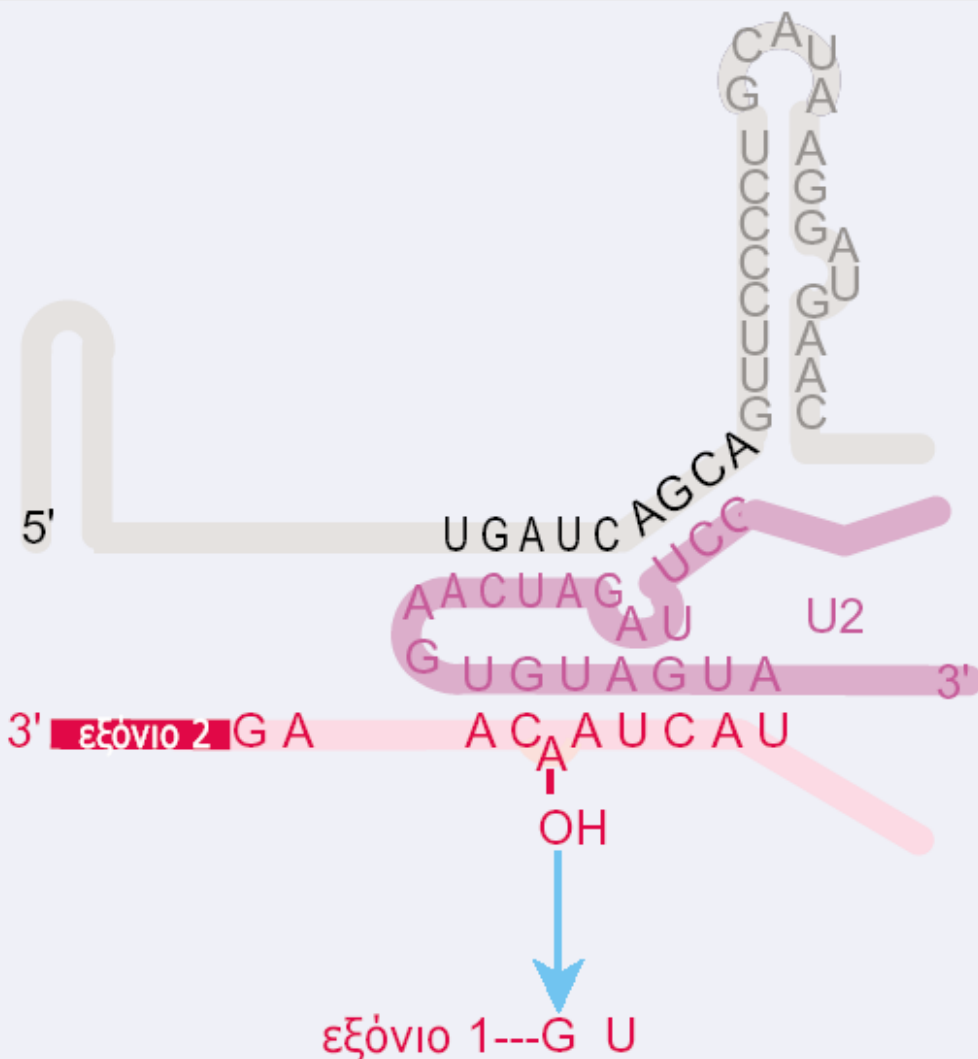


**Εικόνα 24.19** Το μάτισμα αποδεδμεύει ένα μιτοχονδριακό ιντρόνιο της ομάδας II με τη μορφή μιας σταθερής θηλιάς. Η φωτογραφία είναι ευγενική προσφορά του Leslie Grivel και της Annika Arnberg.



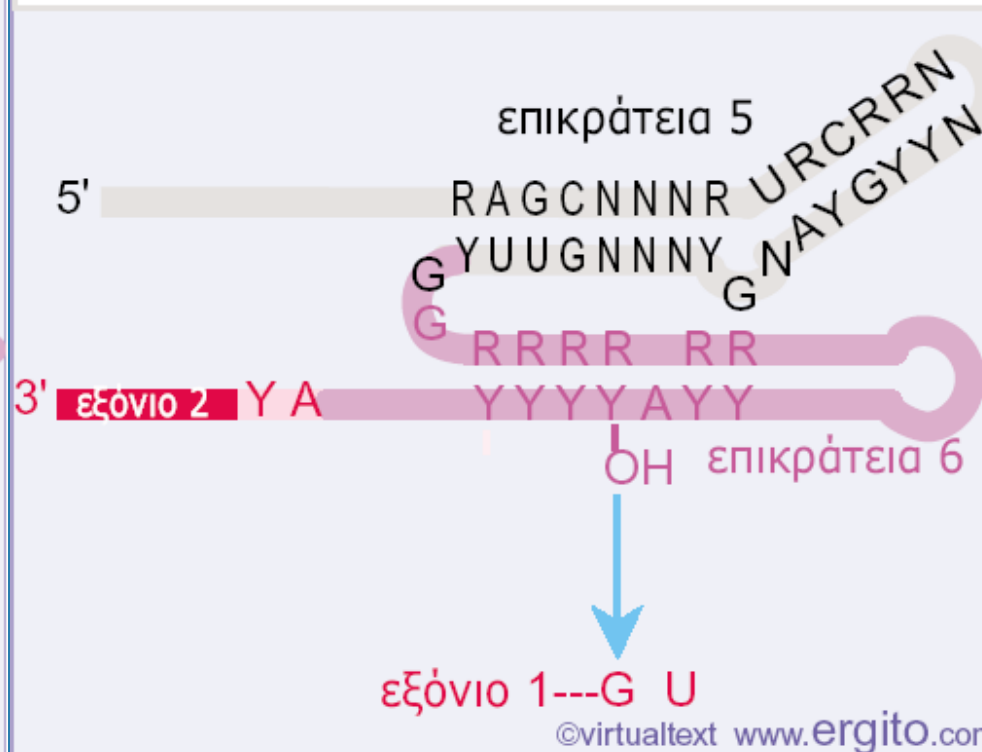
## Το πυρηνικό μάτισμα και το μάτισμα της ομάδας II γίνονται με παρόμοιο μηχανισμό

Κατά το πυρηνικό μάτισμα, το καταλυτικό κέντρο σχηματίζεται με το ζευγάρωμα ανάμεσα στα U6-U2 και ανάμεσα στο U2 και στο ιντρόνιο



**Εικόνα 24.20** Το πυρηνικό μάτισμα και το μάτισμα της ομάδας II περιλαμβάνουν το σχηματισμό παρόμοιων δευτεροταγών δομών. Οι αλληλουχίες είναι πιο ειδικές στο πυρηνικό μάτισμα, ενώ το μάτισμα της ομάδας II χρησιμοποιεί θέσεις που μπορεί να καταλαμβάνονται ή μόνο από πουρίνη (R) ή μόνο από πυριμιδίνη (Y).

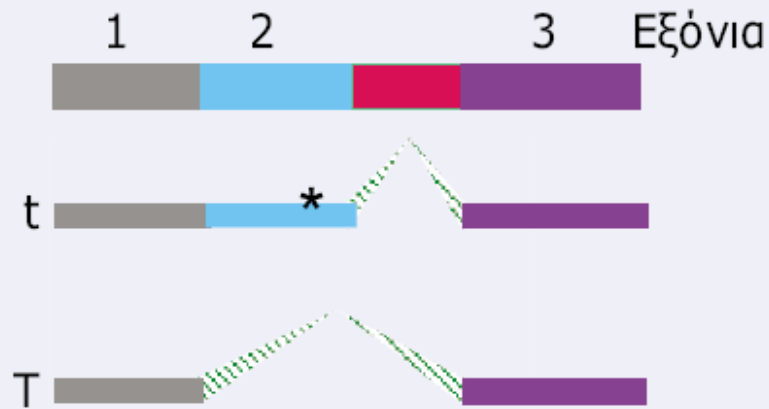
Κατά το μάτισμα της ομάδας II, το καταλυτικό κέντρο σχηματίζεται με το ζευγάρωμα αλληλουχιών των επικρατειών 5 και 6



©virtualtext www.ergito.com

## Μέσω του εναλλακτικού ματίσματος δημιουργούνται πολλαπλά RNA

Τα αντιγόνα T/t του SV40 προκύπτουν από τη συρραφή δύο εναλλακτικών 5' θέσεων ματίσματος στην ίδια 3' θέση ματίσματος



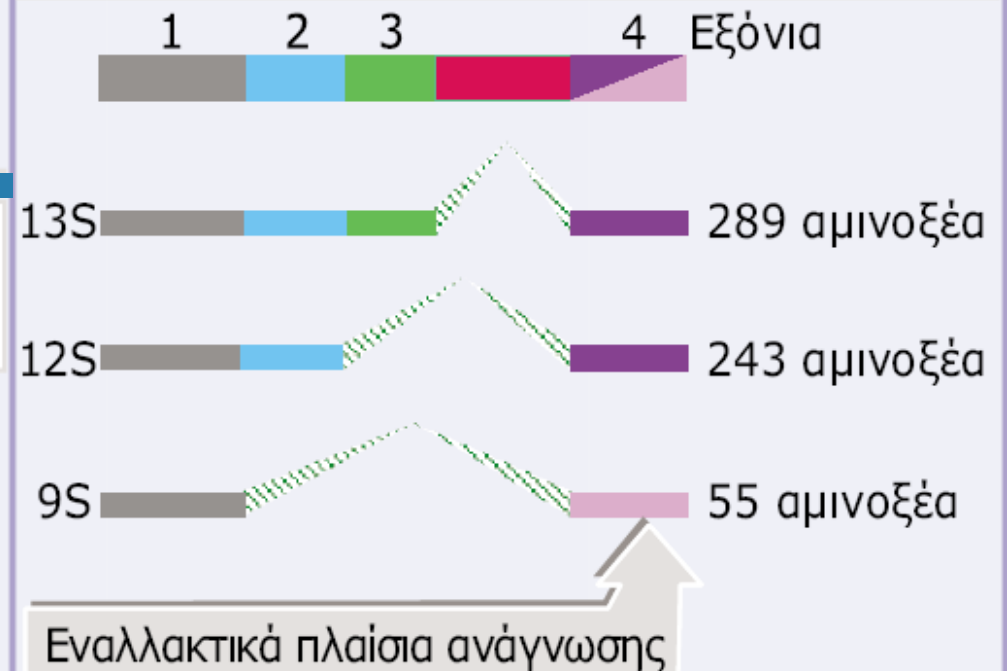
Στην *D. melanogaster*, τα μετάγραφα του *tra* προκύπτουν από τη συρραφή εναλλακτικών 3' θέσεων ματίσματος στην ίδια 5' θέση ματίσματος



©virtualtext www.ergito.com

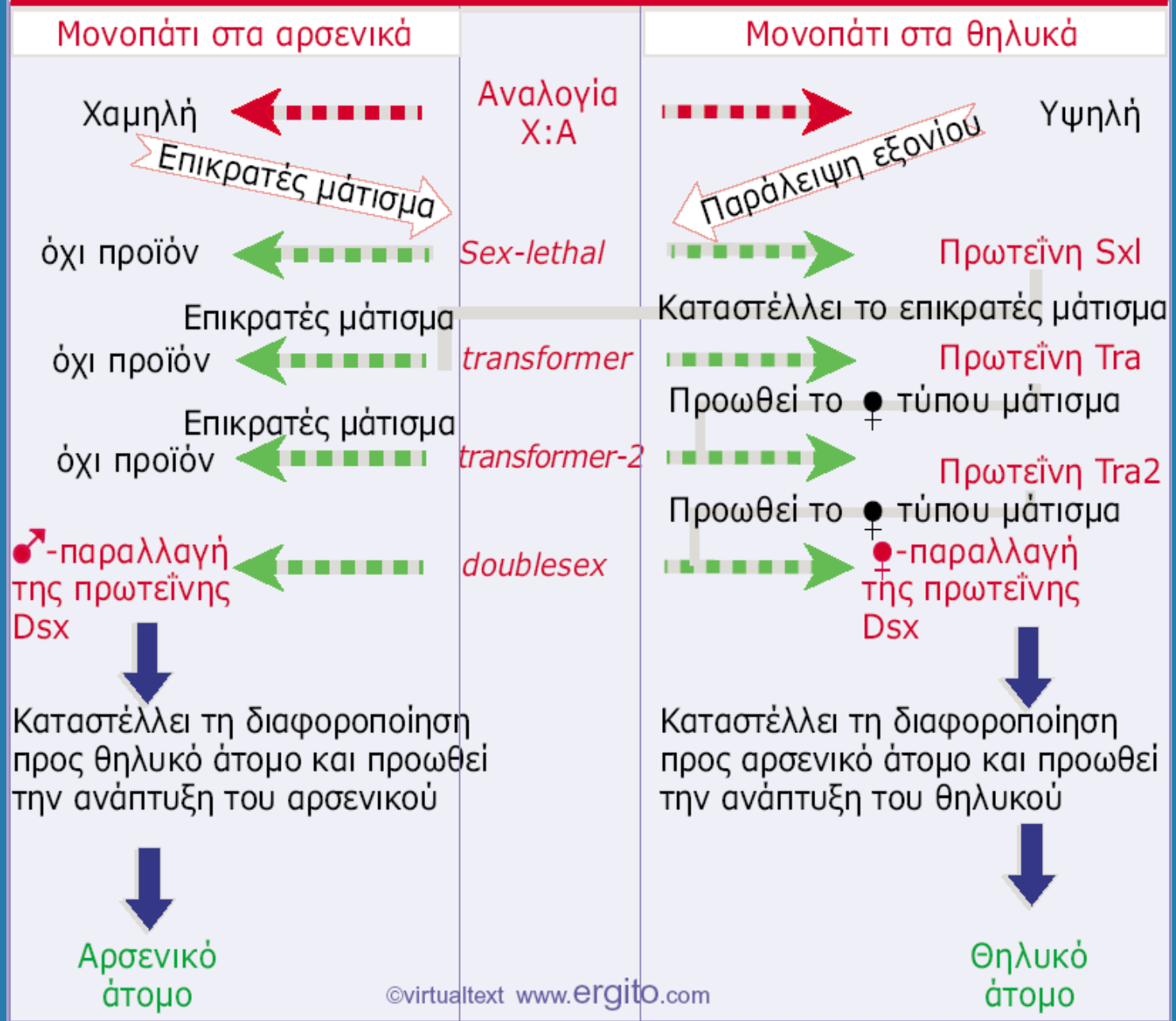
**Εικόνα 24.21** Το εναλλακτικό μάτισμα μπορεί να παραγάγει μια ποικιλία πρωτεϊνικών προϊόντων από το ίδιο γονίδιο. Η αλλαγή των θέσεων ματίσματος μπορεί να εισαγάγει κωδικόνια τερματισμού (αστερίσκοι) ή να αλλάζει το πλαίσιο ανάγνωσης.

Στον αδενοϊό, τα μετάγραφα του *E1A* προκύπτουν από τη συρραφή εναλλακτικών 5' θέσεων ματίσματος στην ίδια 3' θέση ματίσματος





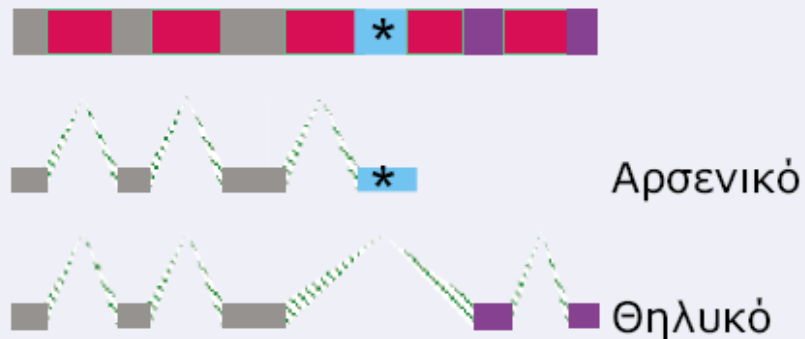
**Στην *D. melanogaster*, ο καθορισμός του φύλου ρυθμίζεται μέσω εναλλακτικού μάτισματος**



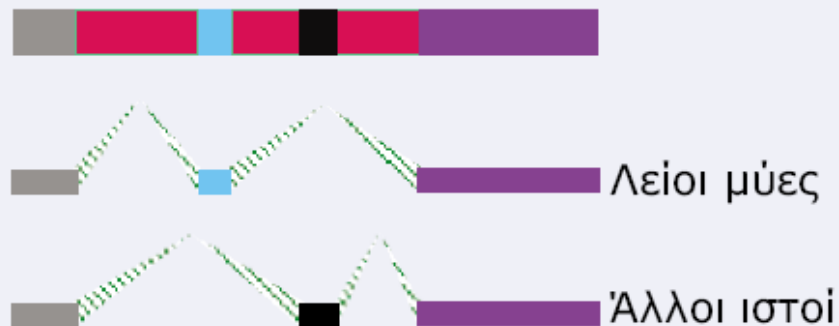
**Εικόνα 24.22** Ο καθορισμός του φύλου στην *D. melanogaster* περιλαμβάνει ένα μονοπάτι κατά το οποίο το μάτισμα ορισμένων μορίων mRNA γίνεται με διαφορετικό τρόπο στα θηλυκά. Η παρεμπόδιση οποιουδήποτε σταδίου του μονοπατιού οδηγεί στην ανάπτυξη αρσενικού φύλου.

## Το εναλλακτικό μάτισμα έχει ως αποτέλεσμα την αντικατάσταση εξονίων

Στην *D. melanogaster*, ανάλογα με το φύλο το mRNA του *dsx* φέρει διαφορετικά εξόνια

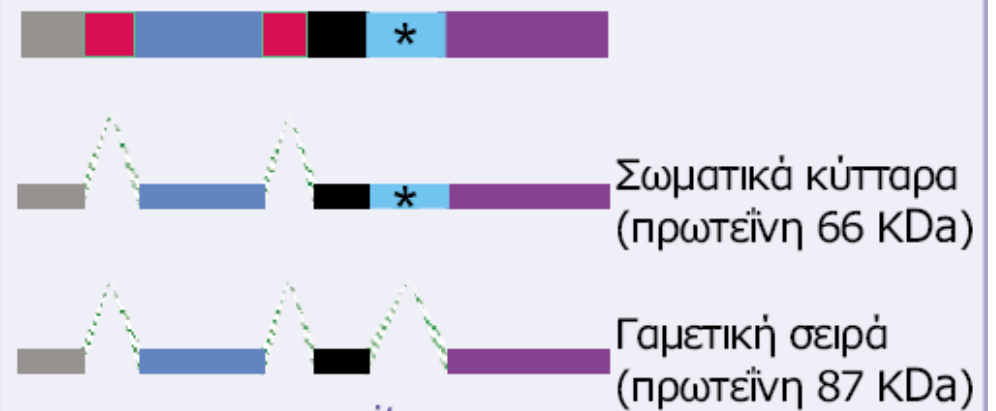


Το mRNA της  $\alpha$ -τροπομοσίνης ανάλογα με τον κυτταρικό τύπο φέρει διαφορετικά εξόνια



**Εικόνα 24.23** Το εναλλακτικό μάτισμα που εμπλέκει δύο θέσεις μπορεί να προκαλέσει την προσθήκη ή την αντικατάσταση εξονίων.

Το mRNA του στοιχείου P ανάλογα με τον κυτταρικό τύπο φέρει διαφορετικά εξόνια

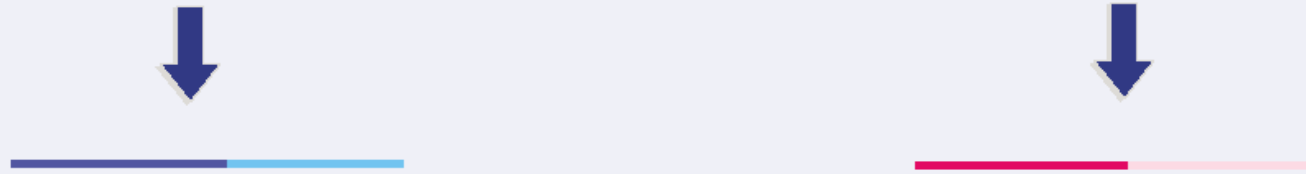


©virtualtext [www.ergito.com](http://www.ergito.com)

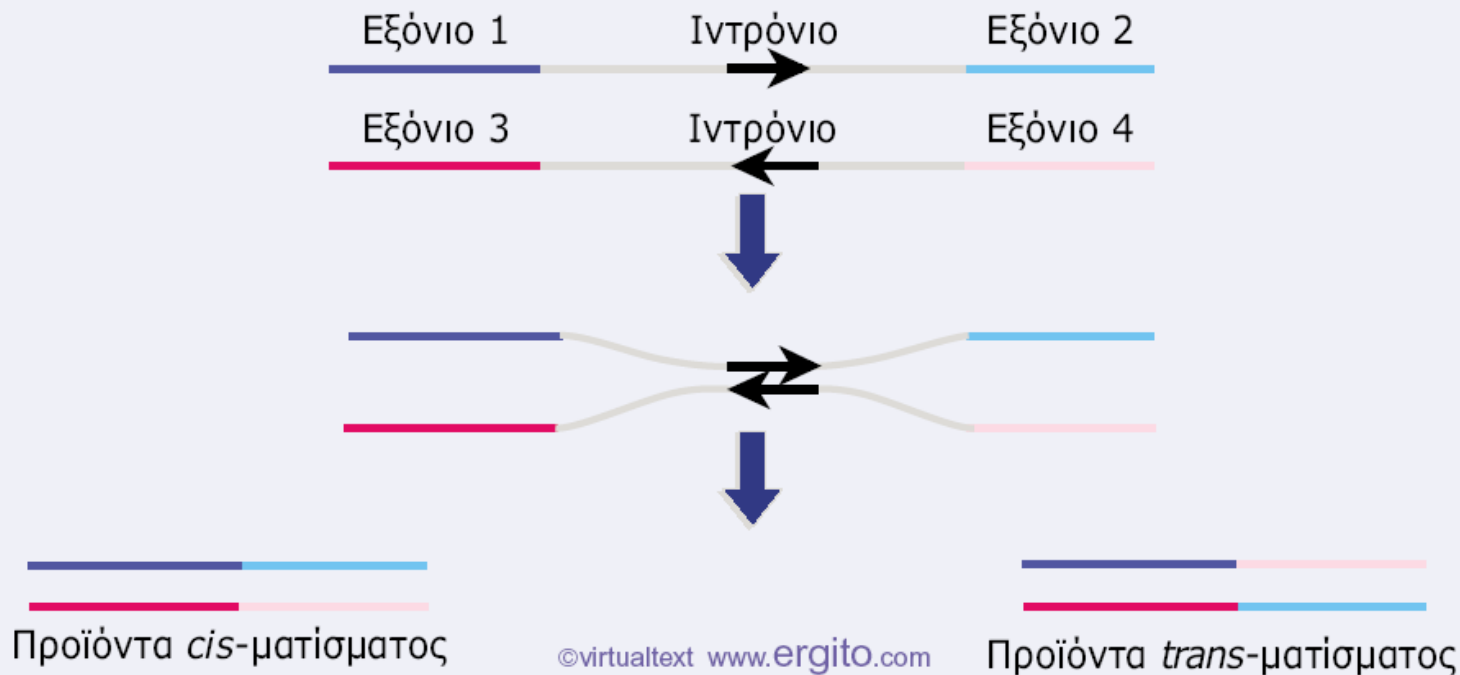
## Σε ειδικές περιπτώσεις λαμβάνει χώρα *trans*-μάτισμα

Φυσιολογικά το μάτισμα λαμβάνει χώρα *in cis*

Εξόνιο 1      Ιντρόνιο      Εξόνιο 2      Εξόνιο 3      Ιντρόνιο      Εξόνιο 4



Όταν υπάρχουν ιντρόνια με συμπληρωματικές αλληλουχίες, το μάτισμα μπορεί να λάβει χώρα *in trans*



Προϊόντα *cis*-ματίσματος

Προϊόντα *trans*-ματίσματος

**Εικόνα 24.24** Το μάτισμα συνήθως συμβαίνει μόνο *in cis* μεταξύ εξονίων του ίδιου μορίου RNA. Ωστόσο, υπό ειδικές συνθήκες που υποστηρίζουν το ζευγάρωμα βάσεων μεταξύ ιντρονίων, μπορεί να συμβεί μάτισμα *in trans*.

## Το SL RNA μετέχει σε αντιδράσεις *trans*-ματίσματος

Διαδοχικές επαναλήψεις  
της οδηγού-αλληλουχίας



Επιμέρους  
μεταγραφικές μονάδες



Οδηγός-αλληλουχία  
(35 βάσεις)

— GU —

Αριστερή  
θέση  
ματίσματος



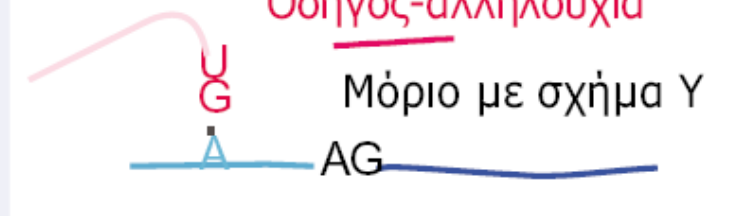
Αλληλουχία  
του mRNA

— A — AG —

Δεξιά  
θέση  
ματίσματος



Οδηγός-αλληλουχία



Μόριο με σχήμα Y



Οδηγός-αλληλουχία



Αλληλουχία  
του mRNA

**Εικόνα 24.25** Το SL RNA παρέχει ένα εξόνιο το οποίο συνδέεται με το πρώτο εξόνιο οποιουδήποτε mRNA μέσω ματίσματος *in trans*. Η αντίδραση περιλαμβάνει τις ίδιες αλληλεπιδράσεις όπως και στο πυρηνικό μάτισμα *in cis*, αλλά παράγεται ένα προϊόν RNA που έχει μορφή Y, αντί μορφή θηλιάς.