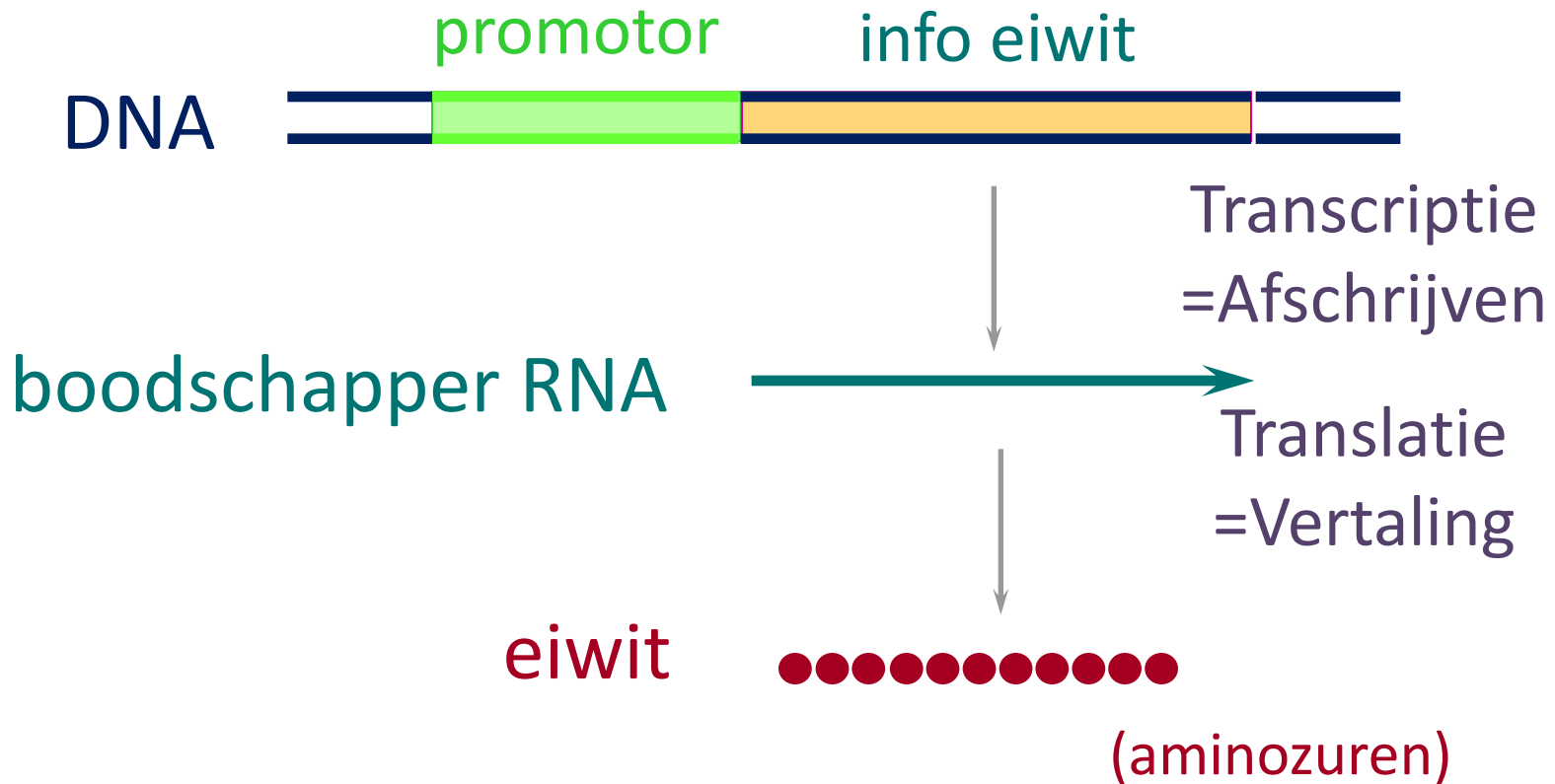


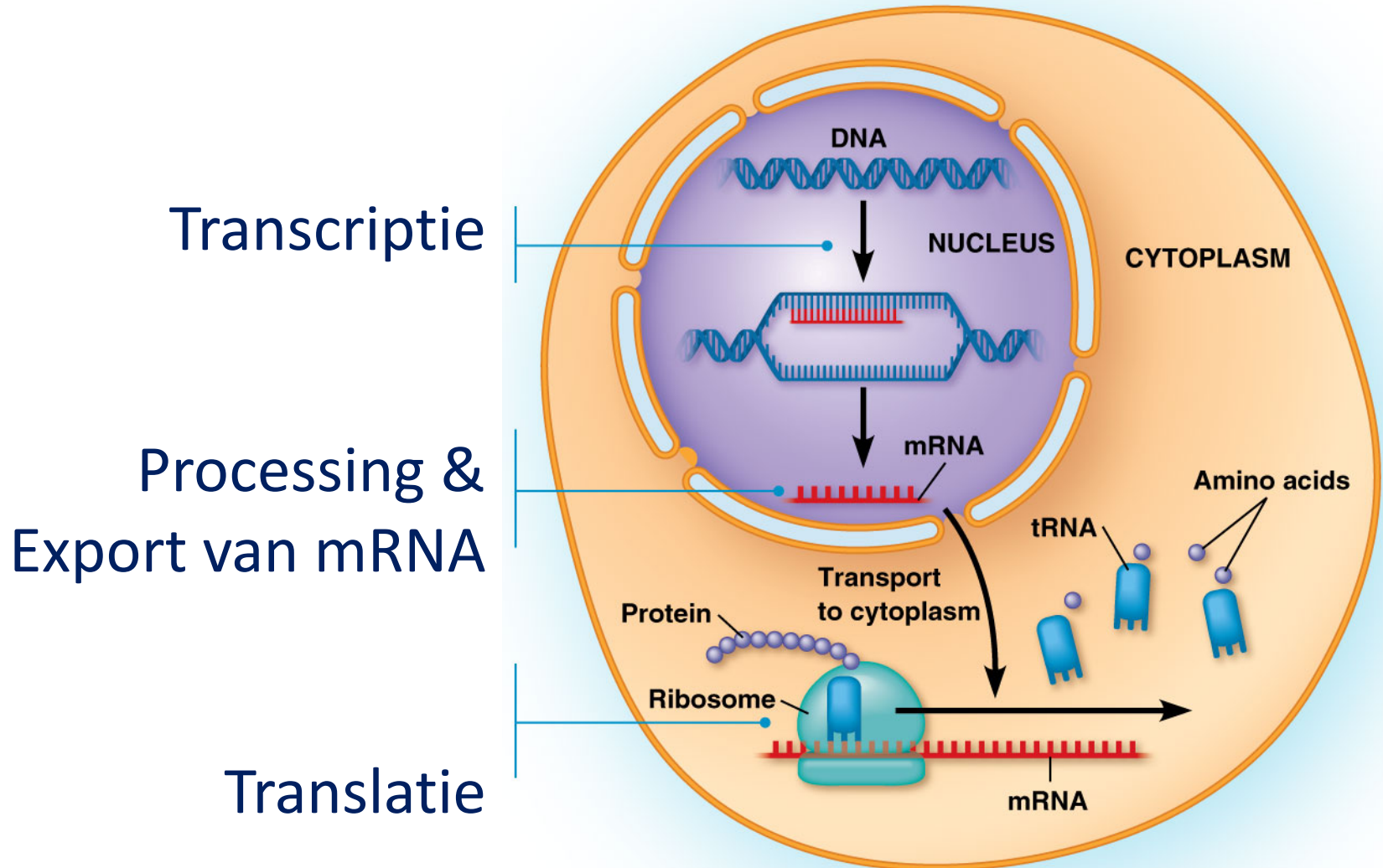
Hfst 14: Transcriptie



Basisprincipes genexpressie



Genetische informatiestroom in een cel





DNA = groot kookboek
vol recepten

RNA = kopie van een
recept (bv. 1000 letters)
= transcriptie

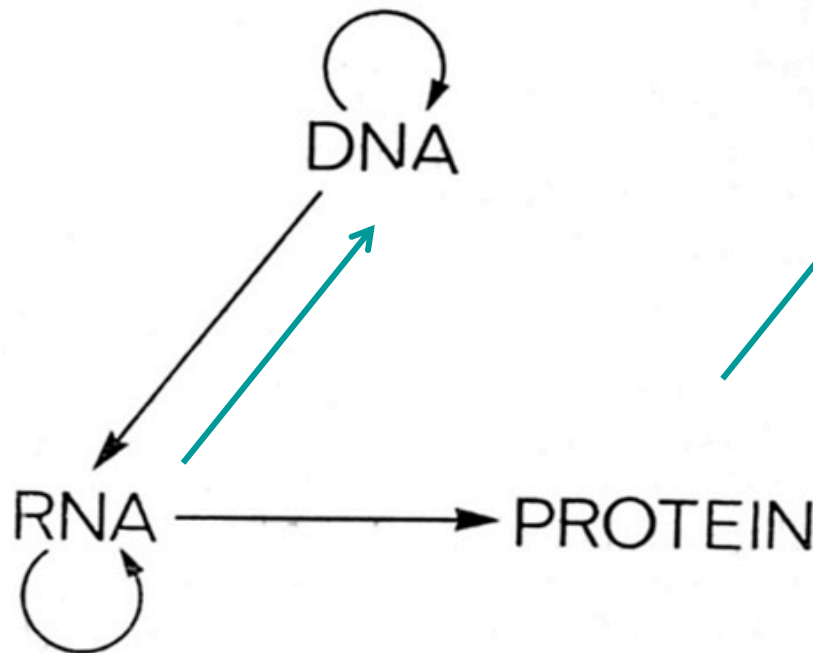
Eiwit = resultaat van
recept



Mon Dieu! Deze
recepten zijn in code
geschreven!

Eiwitsynthese =
translatie =
vertaling van code

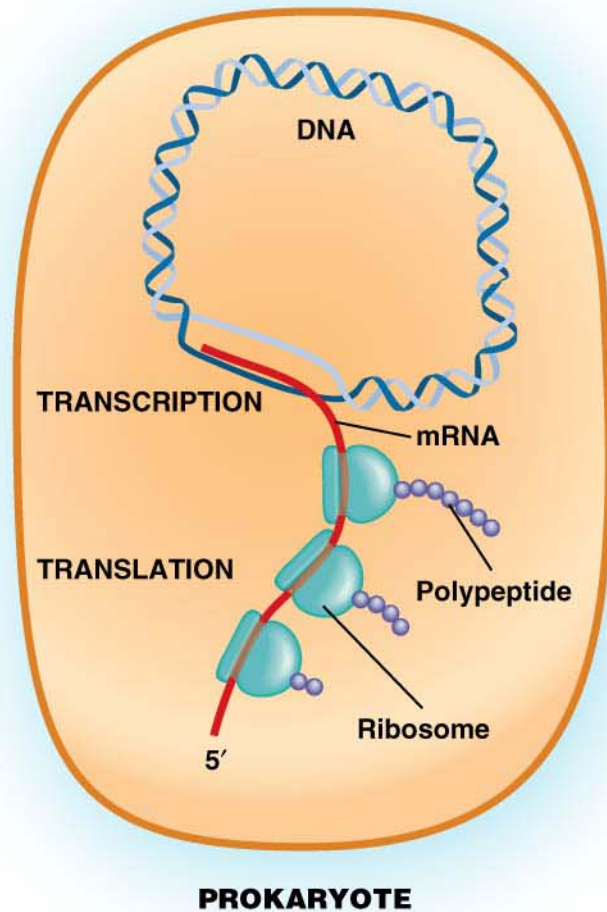
1. Centrale dogma (Crick)



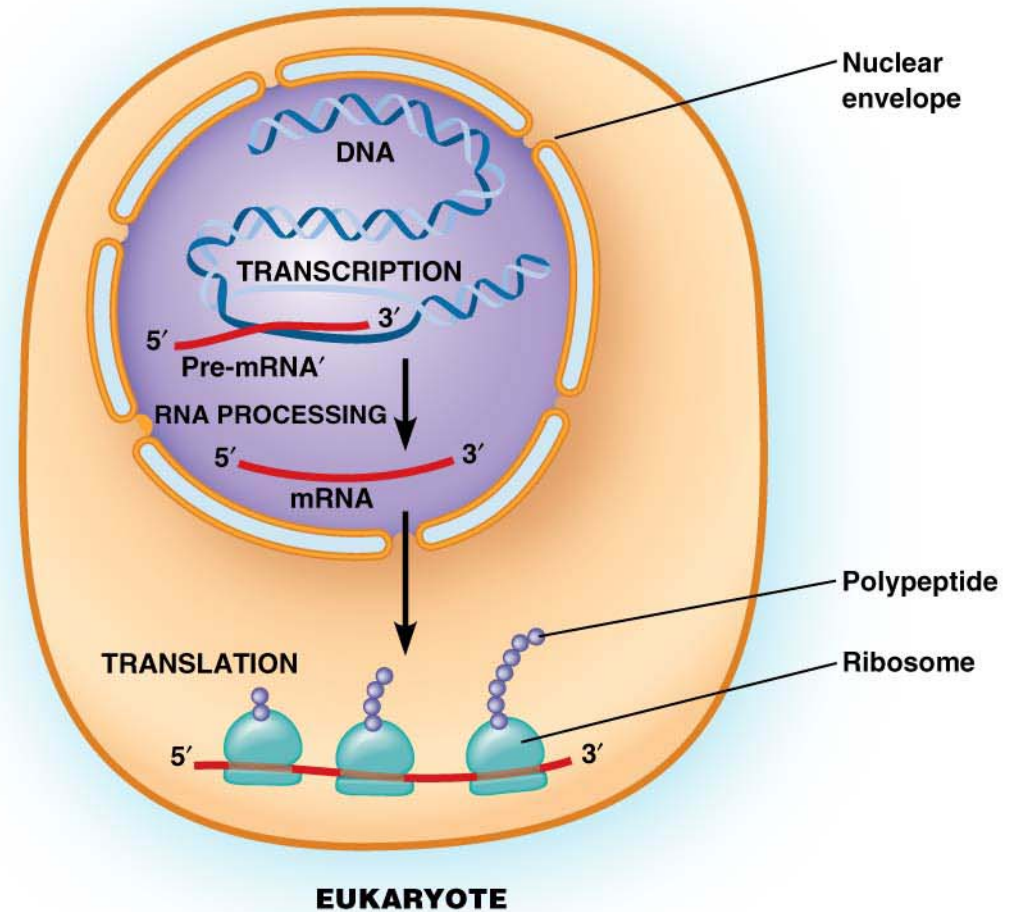
Reverse transcriptie
maakt DNA uit RNA,
Later ontdekt.

Crick's 1958 version of the
"central dogma" of biology from
Crick (1970, Figure 3, p. 562).

Genetische informatiestroom in een cel



(a) Bacterial cell



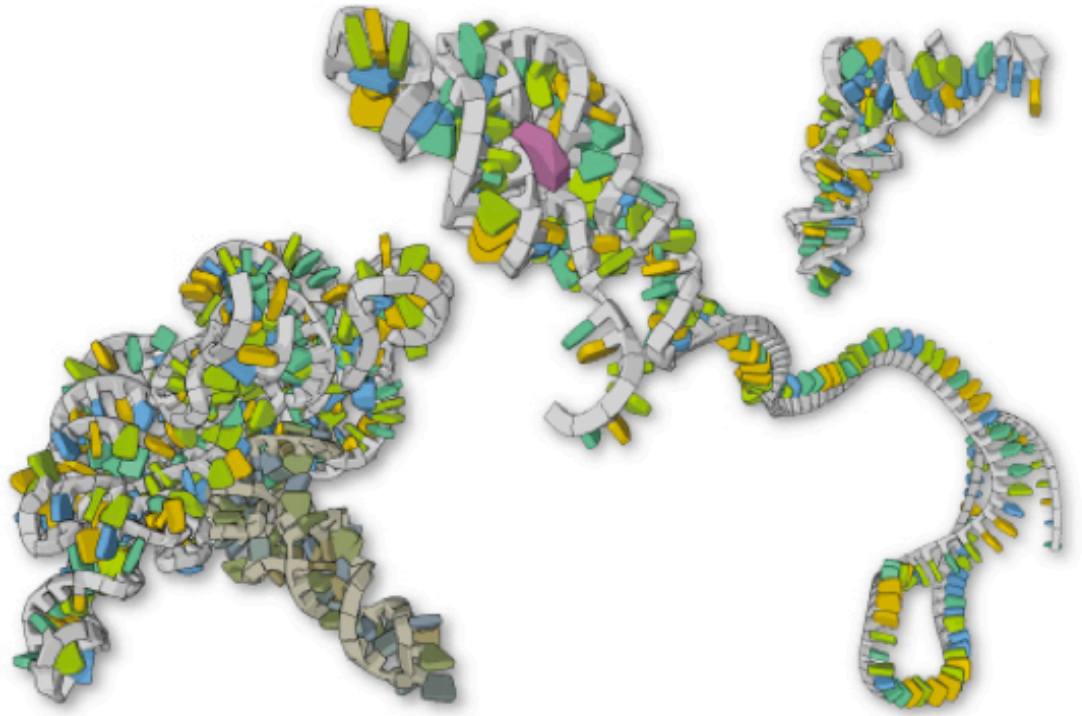
(b) Eukaryotic cell



← DNA (2 complementary strands)

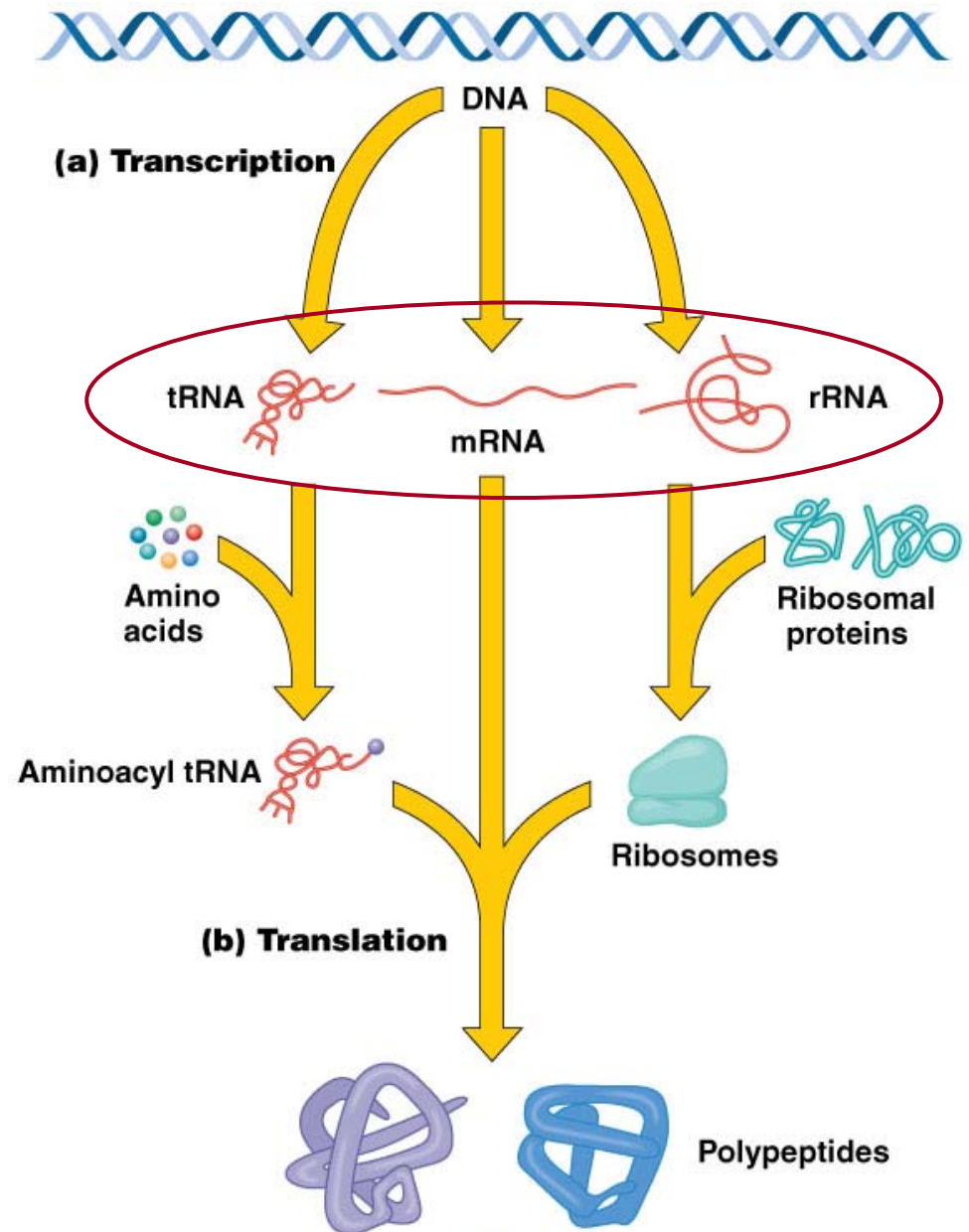
RNA (1 strand) ↓

Structure Leads To Function



Even though RNA molecules are made from just 4 simple building blocks, RNA can take on a variety of shapes and carry out many different functions.

Verschillende RNAs

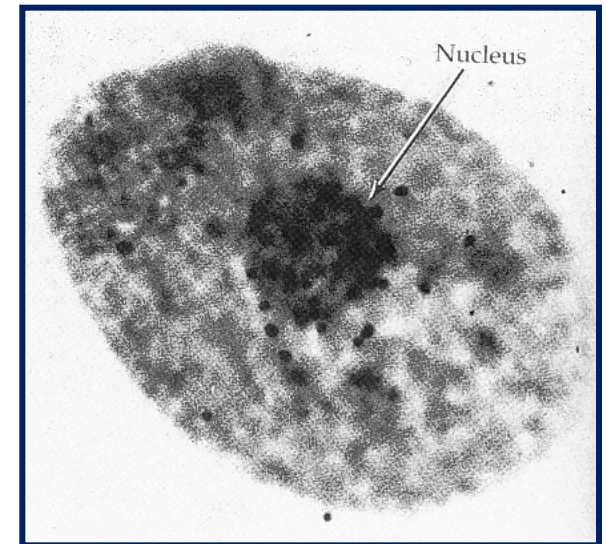
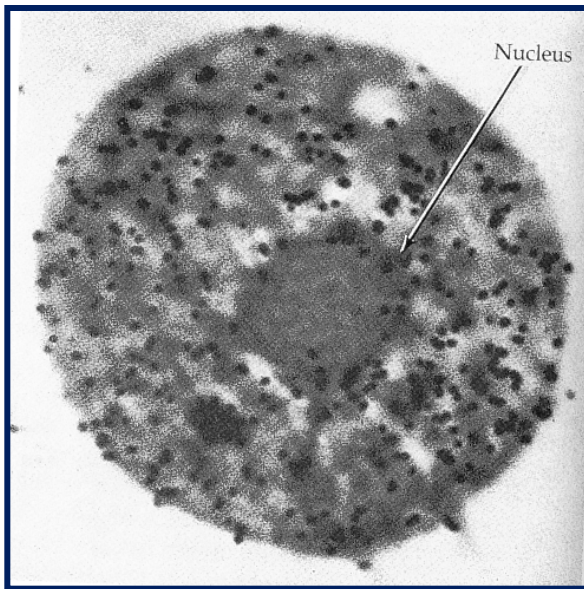


2. Transcriptie

2.1. RNA als boodschapper

Bij eukaryoten zit DNA in de kern en eiwitsynthese gebeurt in het cytoplasma.

➡ intermediair noodzakelijk.



Pulse-chase experiment met H^3 -uridine: radio-activiteit eerst in de kern, daarna in het cytoplasma.

2.2. RNA versus DNA

RNA suiker = **ribose** (vs. deoxyribose in DNA).

RNA bevat **uracil** (U)
ipv thymine.

RNA is **enkelstrengig**.

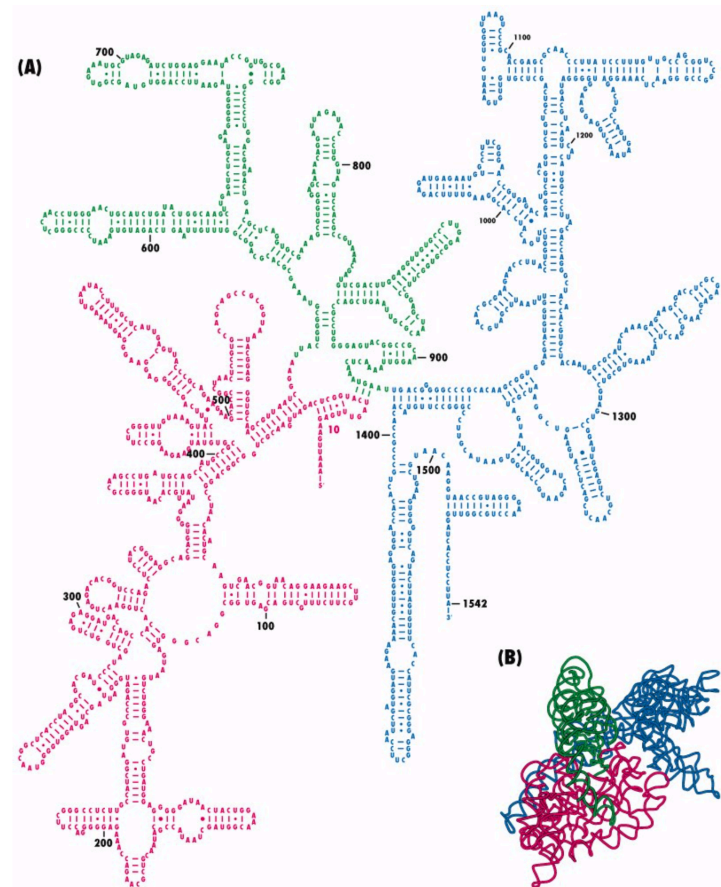
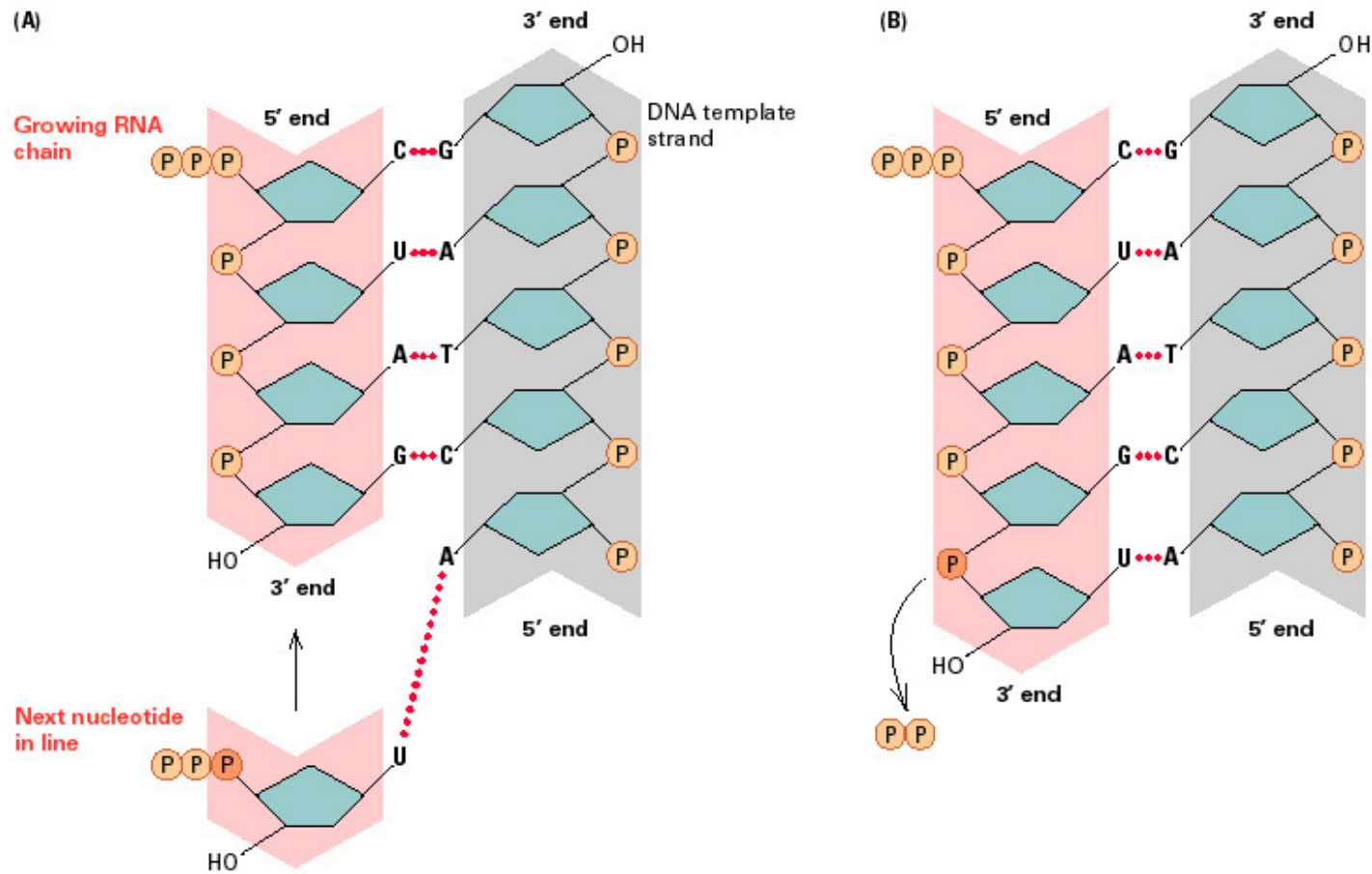


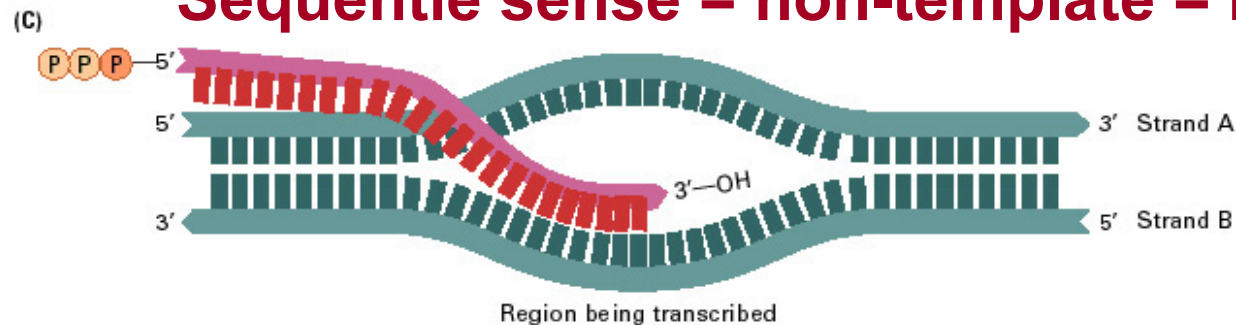
Figure 30.15
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

2.3. RNA- versus DNA-synthese

- Bij RNA-synthese is **geen primer** nodig en wordt slechts 1 streng als template gebruikt.
- **Sense en antisense**
Template en non-template
- Er treedt **geen 'proofreading'** op.



Sequentie sense = non-template = mRNA



DNA-Polymerase kan DNA-synthese starten

- A. Enkel met DNA-primer
- B. Enkel met RNA-primer
- C. Met DNA- of RNA-primer

RNA-polymerase start RNA-synthese
met een RNA-primer

A. Waar

B. Fout

3. Transcriptie in prokaryoten



3.1. RNA-polymerase in *E. coli*

- *E. coli*: één RNA-polymerase

Sigma – factor herkent de promotor daarna bindt het holo-enzyme ($\sigma + \alpha\alpha\beta\beta'$) op de promotor.

- Eukaryoten: drie RNA-polymerasen voor kern
 1. RNA-polymerase I: rRNA-productie in de nucleolus
 2. RNA-polymerase II: mRNA, meeste snRNA
 3. RNA-polymerase III: tRNA, 5S rRNA ea.

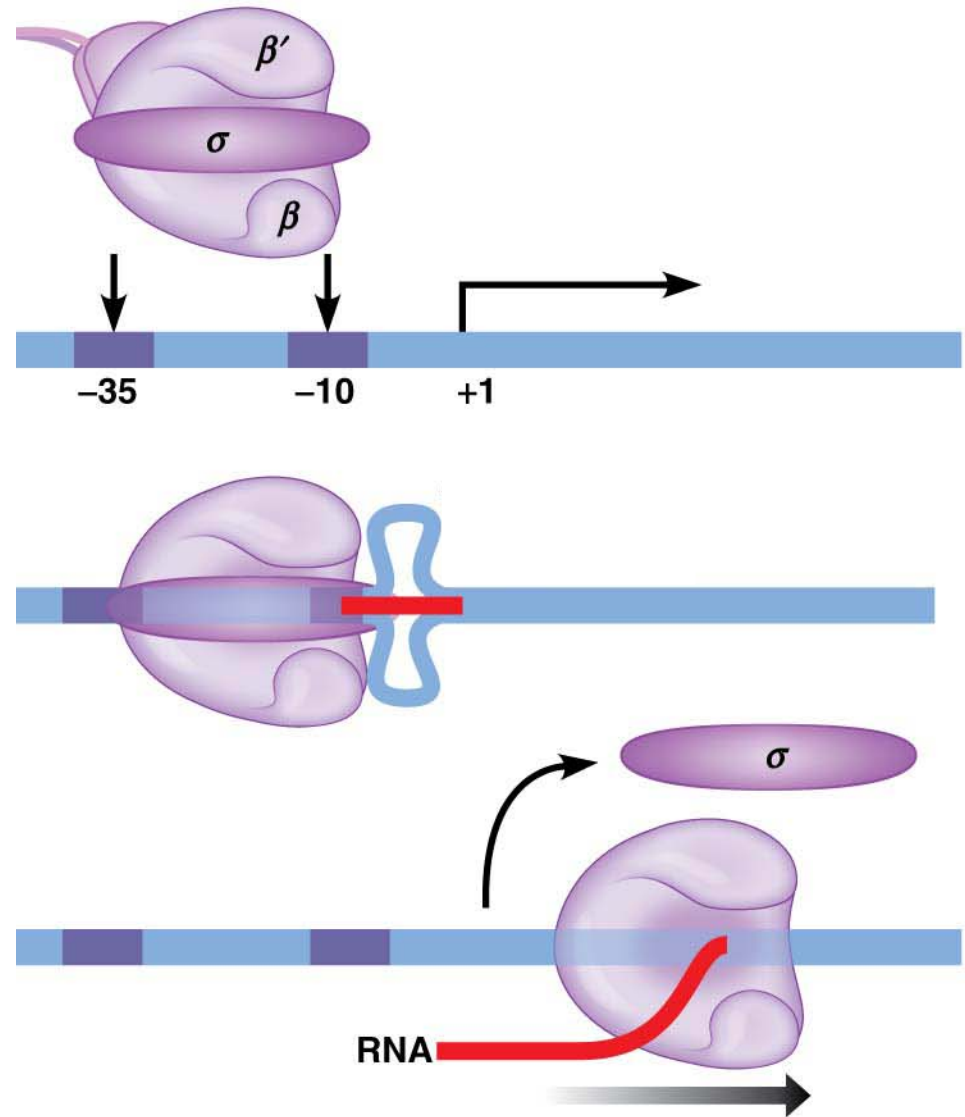
3.2. Transcriptie in *E. coli*: initiatie

- **Promotor** = nucleotidesequentie 5' van de transcriptiestartplaats waar RNA-polymerase initieel op bindt om transcriptie te beginnen.
- Veel promotors bevatten een gelijkaardige sequentie = **consensus**
 - -10 = TATAAT = “TATA” box
 - -35 = TTGACA
 - +1 = Transcriptie-start (sense streng)

Gene	-35 Sequence	Consensus sequences	-10 Sequence	+1
<i>lac</i>	TAGGCACCCAGGC	TTTACACTTTA	TATGTTGTG	TGGAAATTGTGAGC
<i>lacI</i>	GACACCATCGAATG	GCGCAAAACTT	CATGATAGCG	CCCCGGAAGAGAGT
<i>trp</i>	TCTGAAATGAGCTG	TTGACAATTAA	TAACTAGTAC	GCAAGTTTCACGT
<i>his</i>	ATATAAAAAGTTTC	TTGCTTTCTAA	TAGGTTAAAAG	ACATCAGTTTGAA
<i>leu</i>	GTTGACATCCGT	TTTTGTATCCAG	TAACTCTAAA	AAGCATATCGCATT
<i>gal</i>	CTAATTTATTCCAT	GTCACACTTTT	CATCTTTGTTAT	GCGCATATGTTT
<i>bio</i>	GCCTTCTCCAAAAC	GTGTTTTTTGT	TGTTAATTCGGT	TGTTAGACTTGT
<i>recA</i>	TTTCTACAAAACAC	TTGATACTGTA	TGAGCATACAG	TATAATTGCT

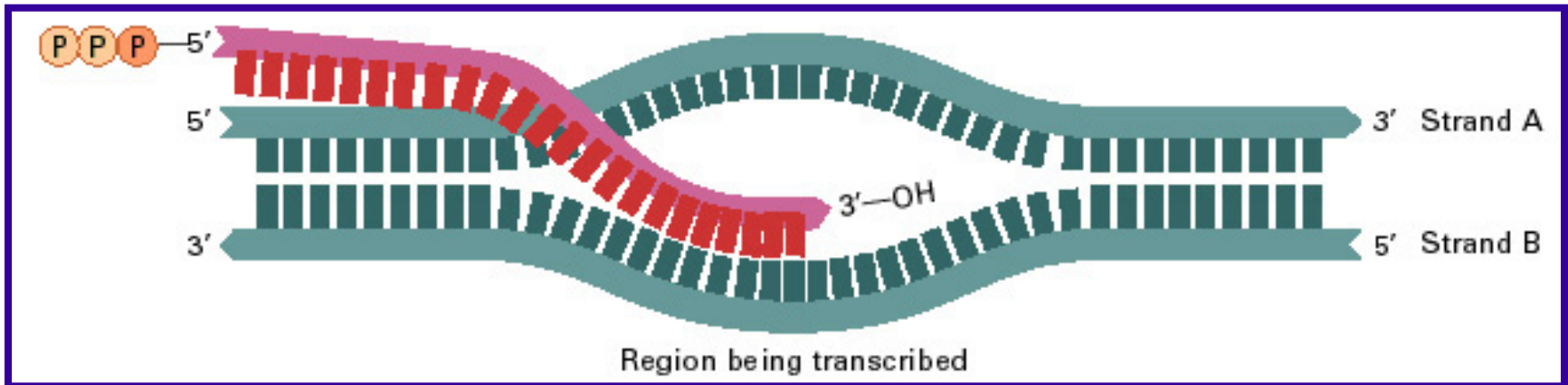
Initiatie

- **Sigma - factor** herkent promotor (-35) en bindt met de andere polypeptiden ($\alpha\alpha\beta\beta'$) als holo-enzyme op de promotor.
- DNA-helix wordt opengetrokken vanaf -10.
- Sigma laat los, zodat enzyme RNA-synthese kan starten.
- σ^{70} versus speciale σ .

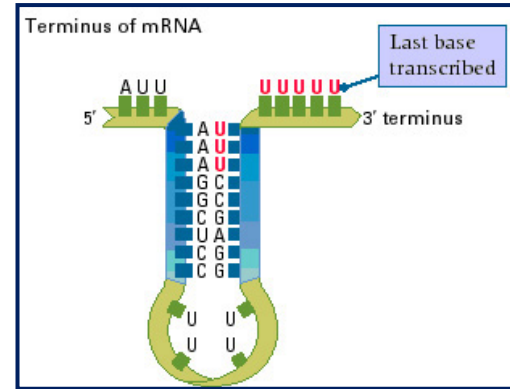
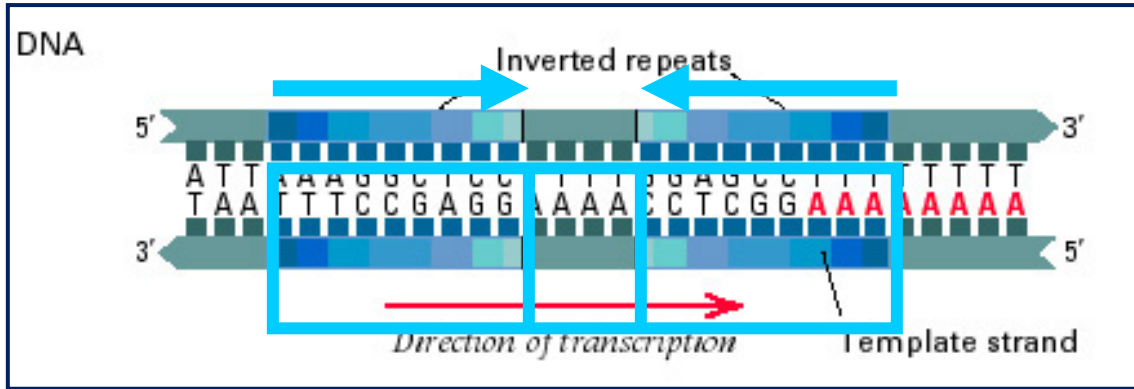


Transcriptie in *E. coli*: elongatie

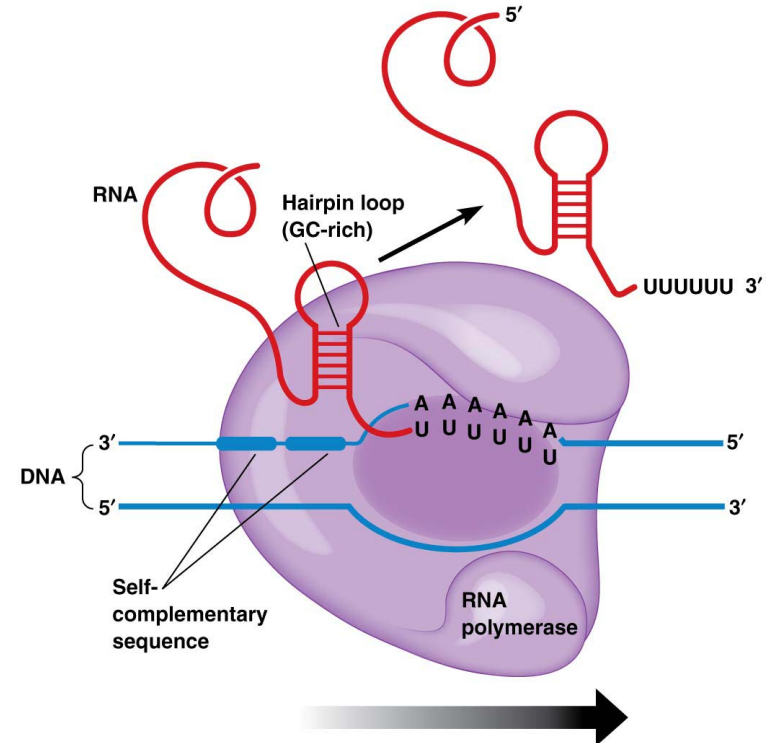
- RNA-polymerase heeft naast RNA-synthese ook DNA-ontwindende activiteit, dit gebeurt slechts plaatselijk
- Snelheid van RNA-synthese in *E. coli* ca. 45 nucleotiden per seconde
- Definitie “stroomopwaarts” en “stroomafwaarts”.



Transcriptie in *E. coli*: terminatie



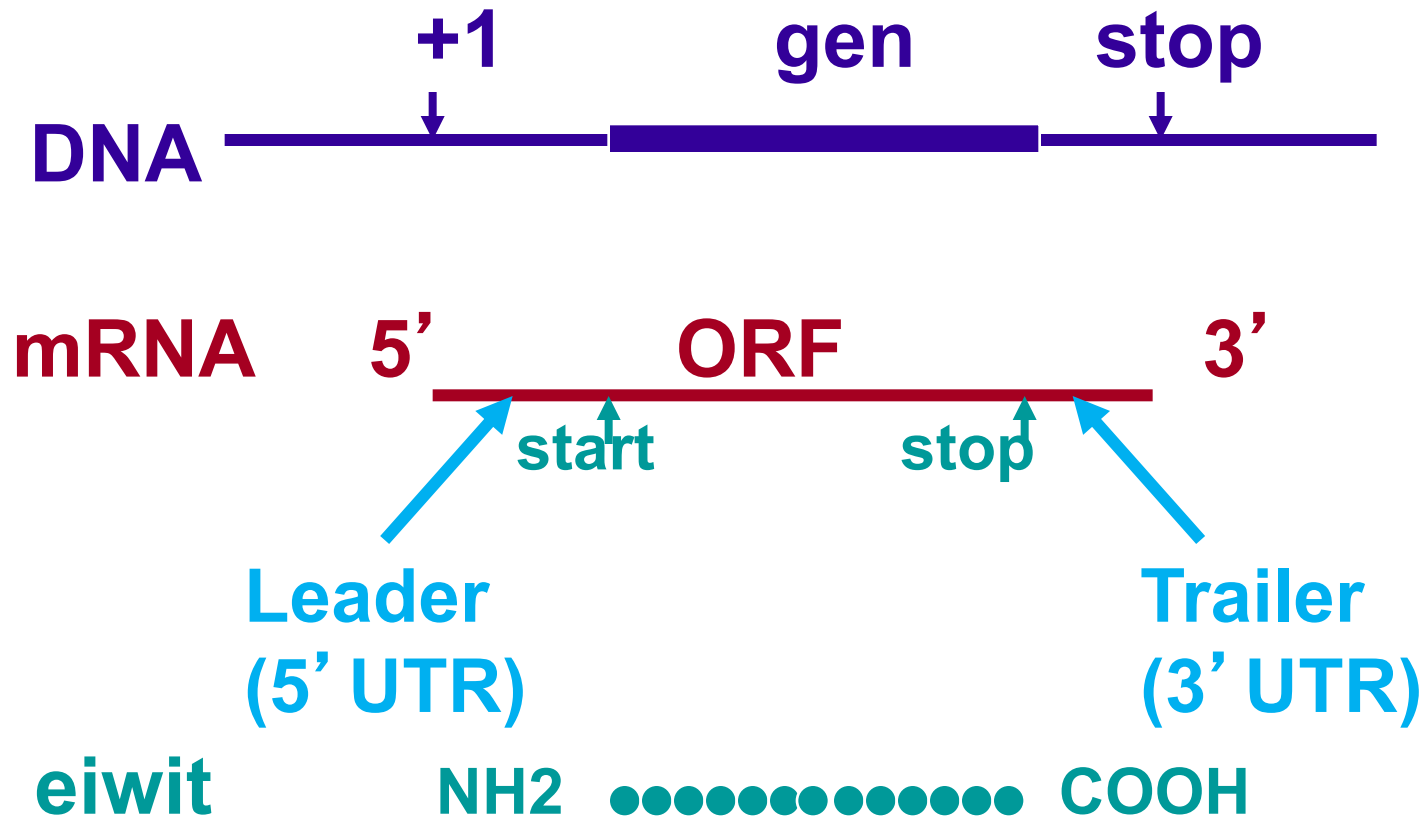
- Transcriptiestopsignaal = omgekeerde sequentieherhaling, gevolgd door 6-tal AT.
- Deze sequentie kan een ‘stem-loop’ vormen in het RNA.
- RNA dissocieert -polymerase valt van het DNA.



RNA-synthese en -processing

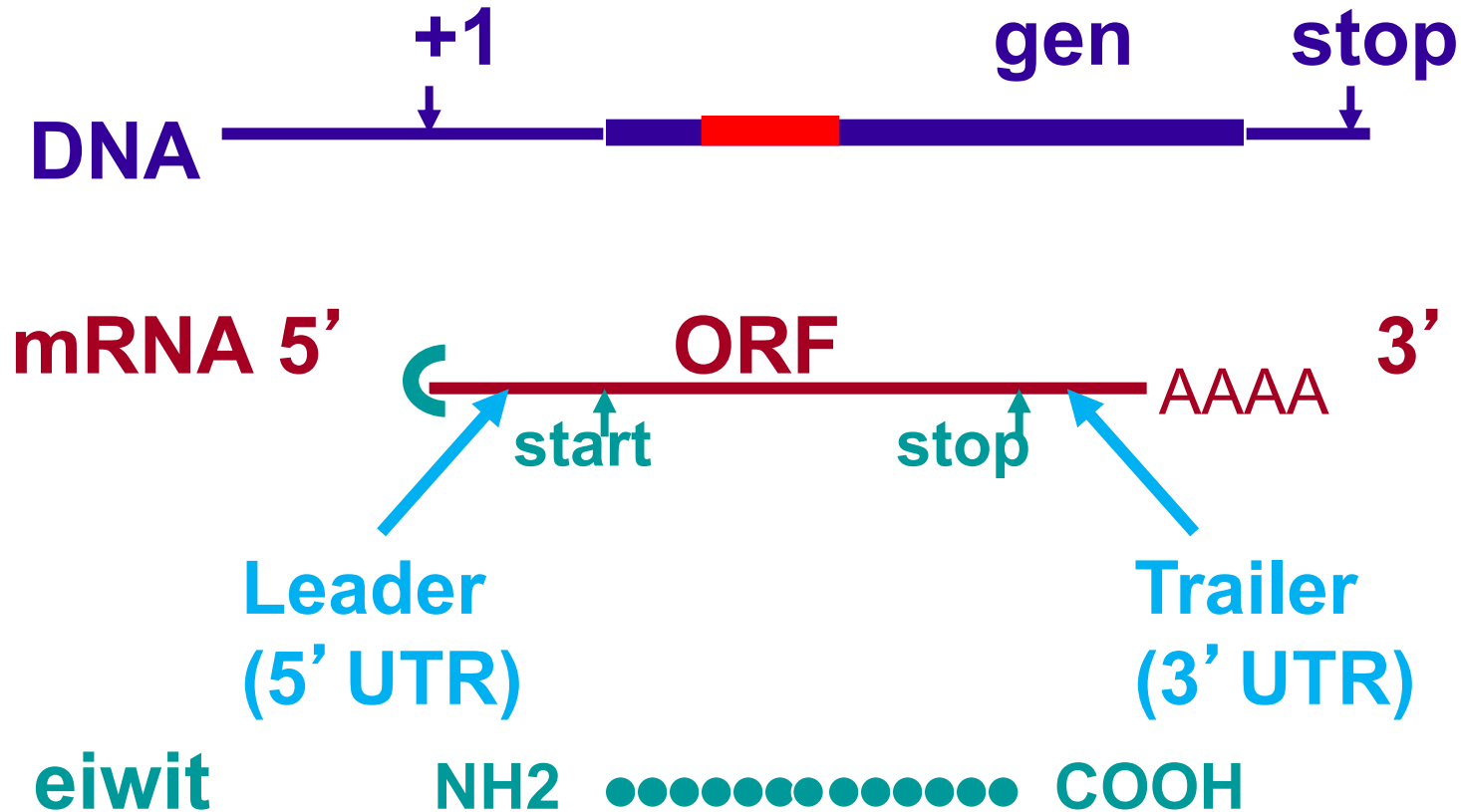
- **Primaire transcripten** kunnen als dusdanig functioneren (mRNA bij prokaryoten) maar worden in de meeste gevallen bewerkt of “geprocessed” (verhoogt de stabiliteit).
- **mRNAs** dienen als **boodschappers** bij de eiwitsynthese.
- **rRNA en tRNA** zijn finale producten (na processing) die als dusdanig een functie hebben.

Transcriptie-eenheid (alg.)



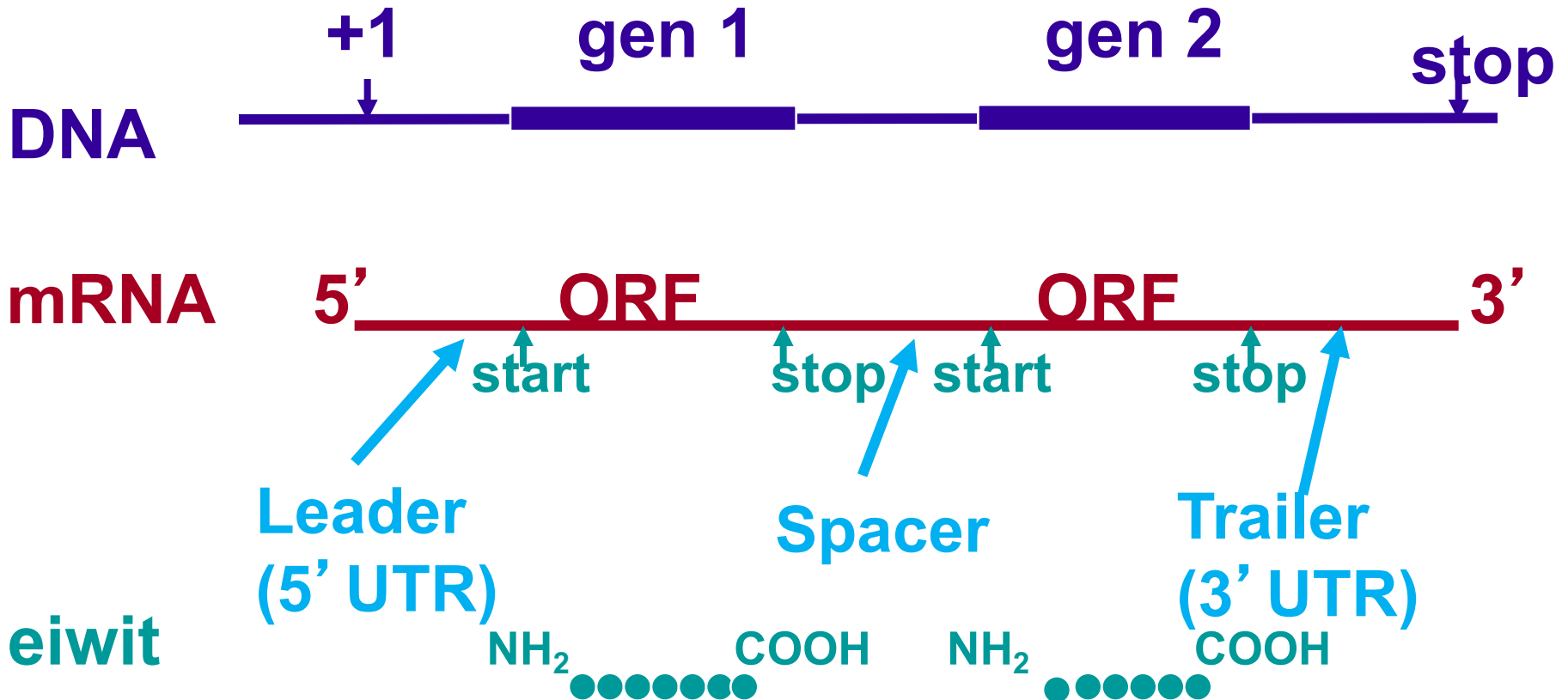
mRNA = **monocistronisch** bij eukaryoten, wordt ook nog
geprocessed -> stabielere mRNA.
Polycistronisch bij prokaryoten.

Transcriptie-eenheid (eu)



Bij eukaryoten bevatten genen meestal één of meerdere introns die via splicing uit het primair transcript gehaald worden en dus niet in het mRNA zitten.

Transcriptie-eenheid (pro)



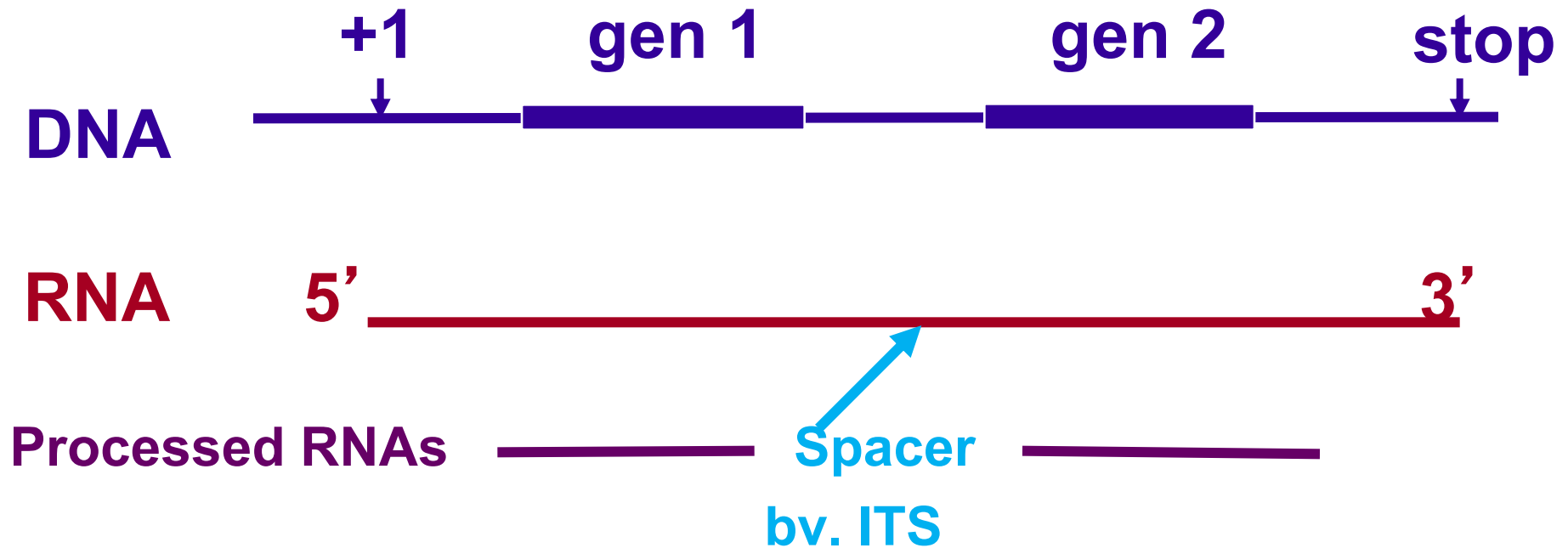
mRNA is vaak **polycistronisch** bij prokaryoten en wordt onmiddellijk vertaald (zeer onstabiel).

Zowel bij prokaryoten als eukaryoten
kunnen meerdere genen per transcript
voorkomen

A. Waar

B. Fout

Transcriptie-eenheid (alg)



Niet alle RNAs worden vertaald bv. rRNA, tRNA,...

4. Transcriptie in eukaryoten

4.1. RNA-polymerasen

- *E. coli*: één RNA-polymerase
- **Eukaryoten**: drie RNA-polymerasen voor kern
 1. RNA-polymerase **I**: rRNA-productie in de nucleolus
 2. RNA-polymerase **II**: mRNA, meeste snRNA
 3. RNA-polymerase **III**: tRNA, 5S rRNA ea.

4.2. Belangrijkste verschillen pro-eu

Verschillen in transcriptie met *E. coli*:

- 3 RNA-polymerasen
- DNA zit in chromatine
- Transcriptiefactoren nodig voor activatie van transcriptie
- Initiatie is veel complexer
- “promotor” + enhancers = modulair
- Over terminatie is weinig geweten
- Alle transcripten worden geprocessed.

4.3. Transcriptie door RNA-polymerase II

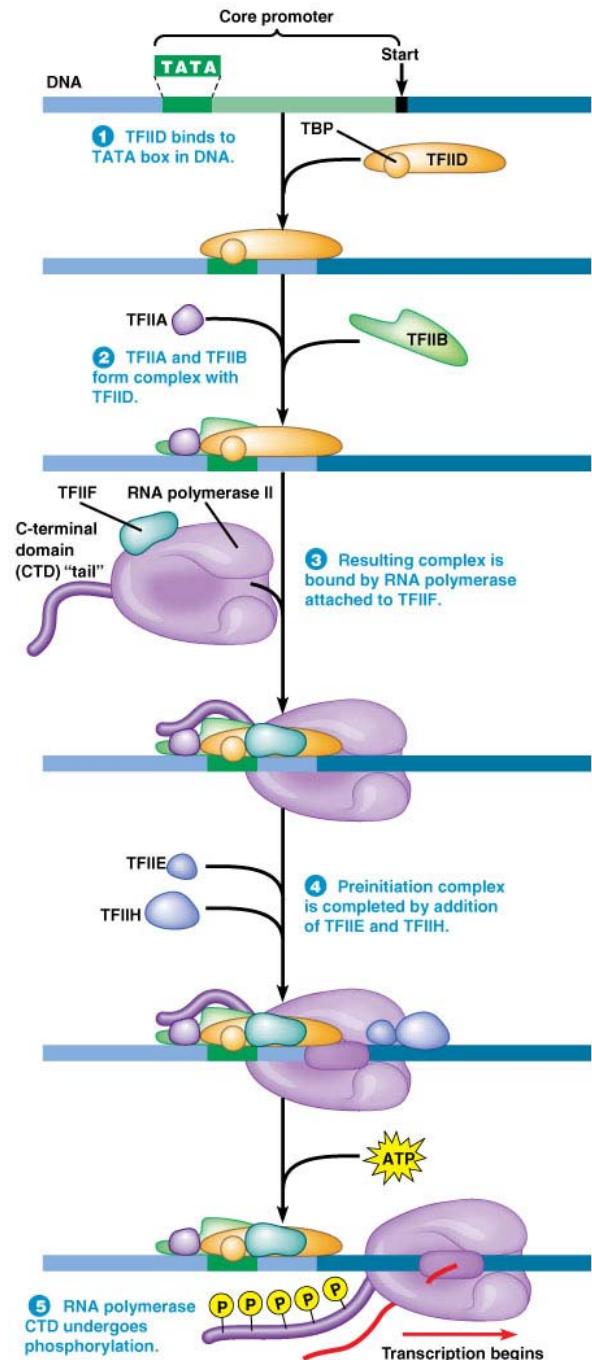
RNA-polymerase II produceert primaire transcripten die tot mRNA geprocessed worden.

Meest gebruikte/bestudeerde promotoren.

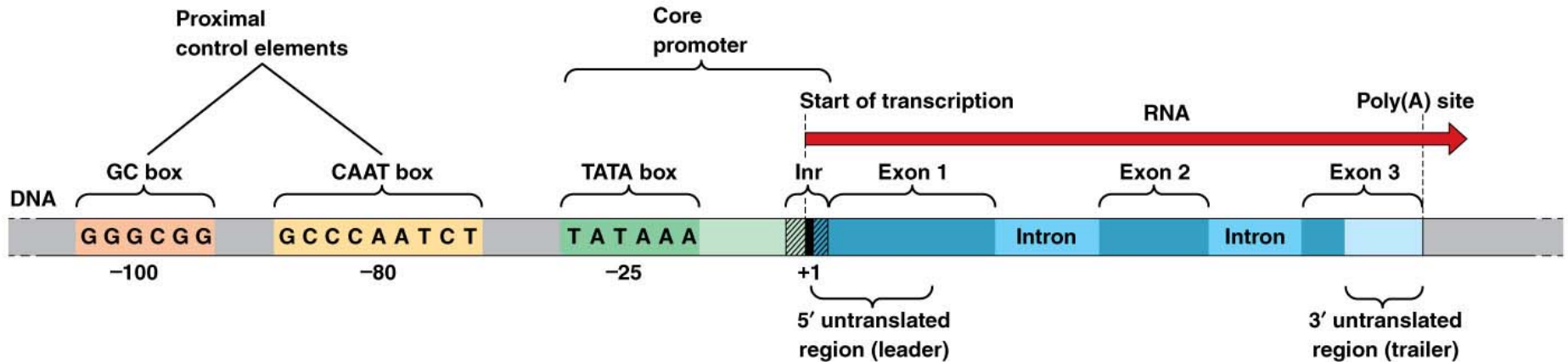
4.4. RNA-polymerase I en III (ter info)

4.3. Initiatie in eukaryoten

- De RNA-polymerasen kunnen op zichzelf geen transcriptie starten, ze zijn afhankelijk van **transcriptiefactoren (TF)**
- Vb. RNA Pol II: TF II A-J
 - TF IID = **TBP** + 12 **TAFs**
 - TF IIH = helicase
- Deze TF = basale TF of de algemene TF (GTF) of TIF = transcriptie-initiatiefactoren
- TBP= TATA binding protein
- TAF= TB associated factors



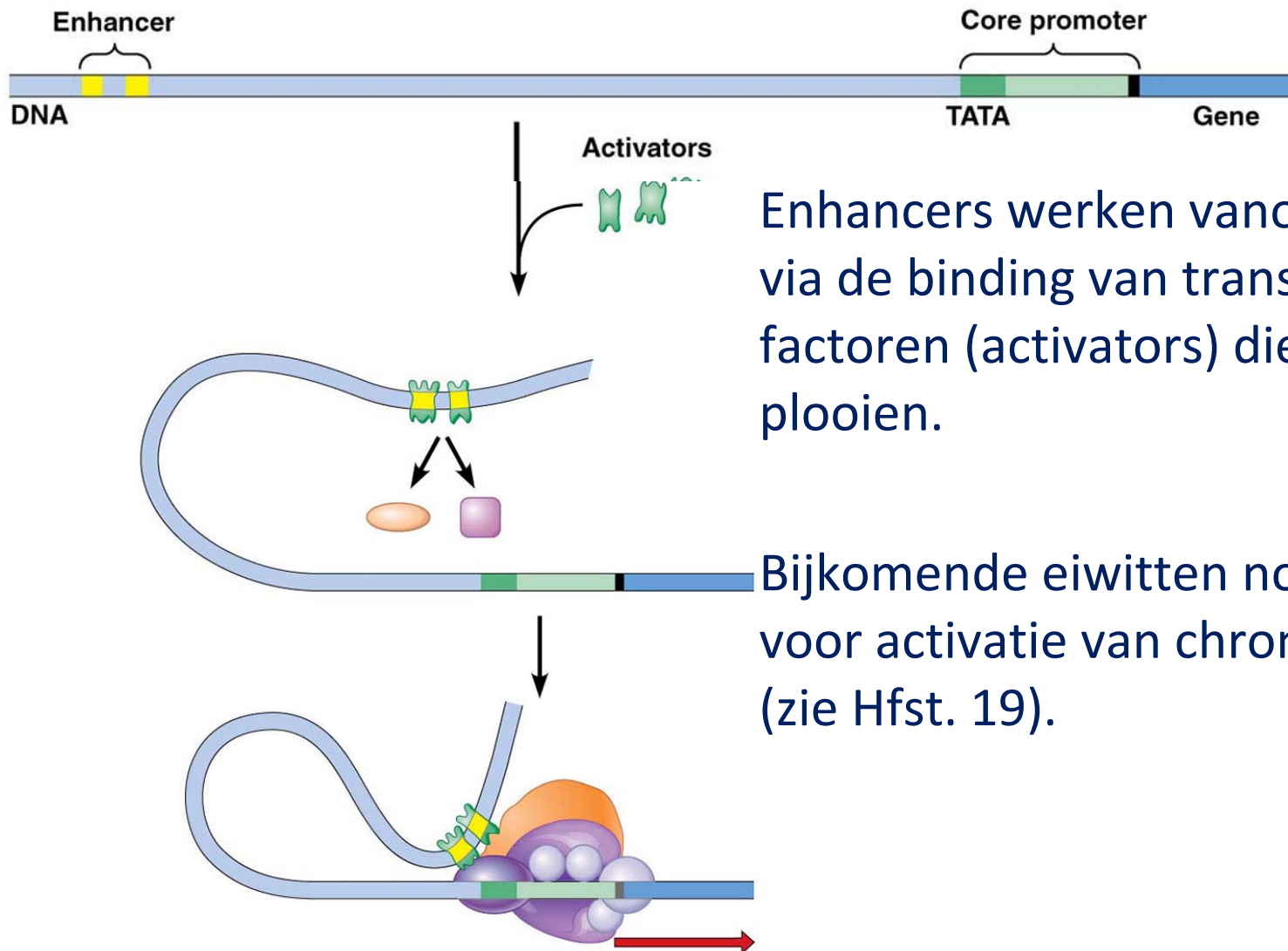
Eukaryotische promotor = modulair



Naast de “core” promotor zijn er bijkomende controle-elementen en enhancers die alle werken via de binding van transcriptie-factoren.

Terminatie van transcriptie niet goed gekend omdat alle transcripten in eukaryoten geprocessed (afgeknipt) worden.

Enhancers en transcriptiefactoren



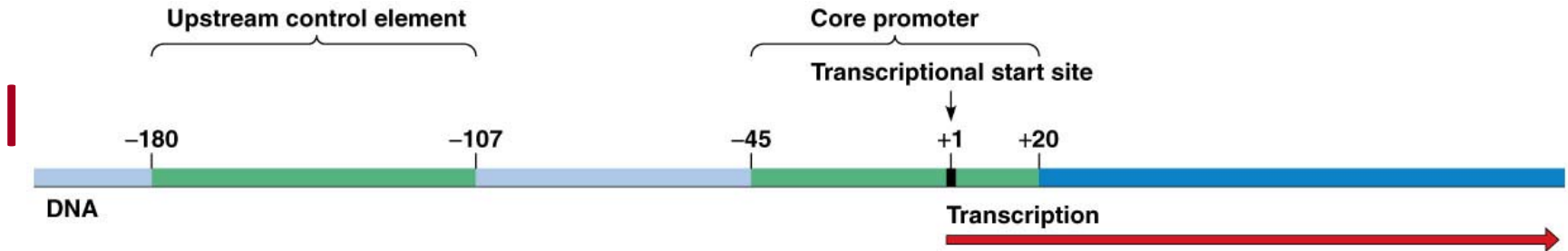
Enhancers werken vanop afstand via de binding van transcriptiefactoren (activators) die het DNA plooien.

Bijkomende eiwitten nodig zoals voor activatie van chromatine (zie Hfst. 19).

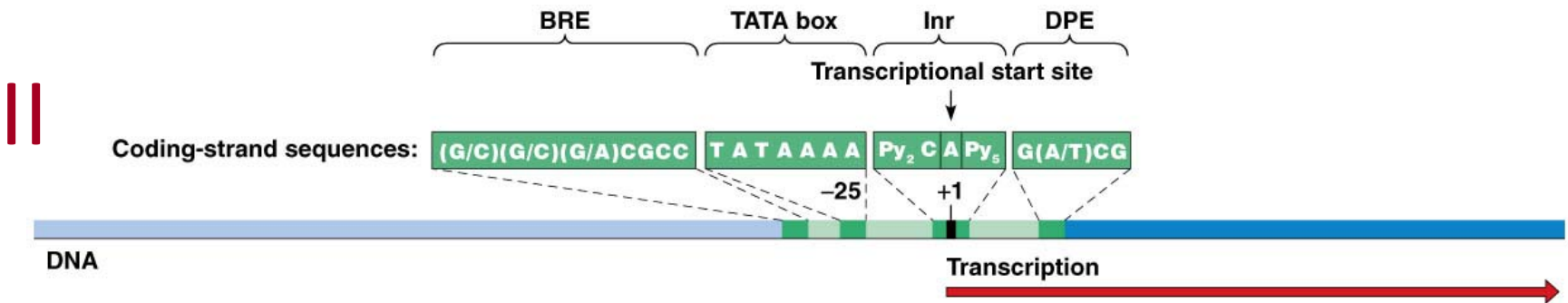
RNA-Pol II ‘promotor’ -modules

- TATA-box op –25, en/of initiatorsequentie CA
- Activerende sequenties werken in beide oriëntaties
CAAT-box op –70/-80; GC-box op –110
- Enhancers (en silencers): activerende sequenties die in beide oriëntaties, en ook op grote afstand of zelfs vanaf stroomafwaarts kunnen werken
- UAS: upstream activerende sequentie (gist)
- Enhancers kunnen constitutief zijn of gereguleerd (bvb. afhankelijk van weefsel of conditie)
- Meestal is geen enkele module echt noodzakelijk maar verwijderen van een element verlaagt transcriptie.

Promotoren voor Pol I, II en III, ter info



(a) Promoter for RNA polymerase I



(b) Core promoter elements for RNA polymerase II

