



Genetics

Subject : Transcription in eukaryotics

Lec no : 10

Done By : Noor Zamel

وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا

تجدون في guidance مادة الجينتكس على موقع النادي :

للوصول الى guidance الجينتكس و تفاريغ
المادة كاملة :

medclubhu.weebly.com

GUIDANCE

SLIDES

NOTES

RECORDS

تجدون هنا شرح المادة كاملة

GENITICS ALAA AL-GAZZAR

تجدون هنا شرح الفريق العلمي للمادة كاملة

شرح قديم (الاسلايدات مختلفة) . يمكن الاستفادة منها لفهم المواضيع

OLD GENETICS

يمكن الاستفادة من تفاريغ الدفع السابقة

ATHAR BATCH

YAQEEN BATCH

VEIN BATCH

شرح الدكتورة ولاء الجزار للمادة



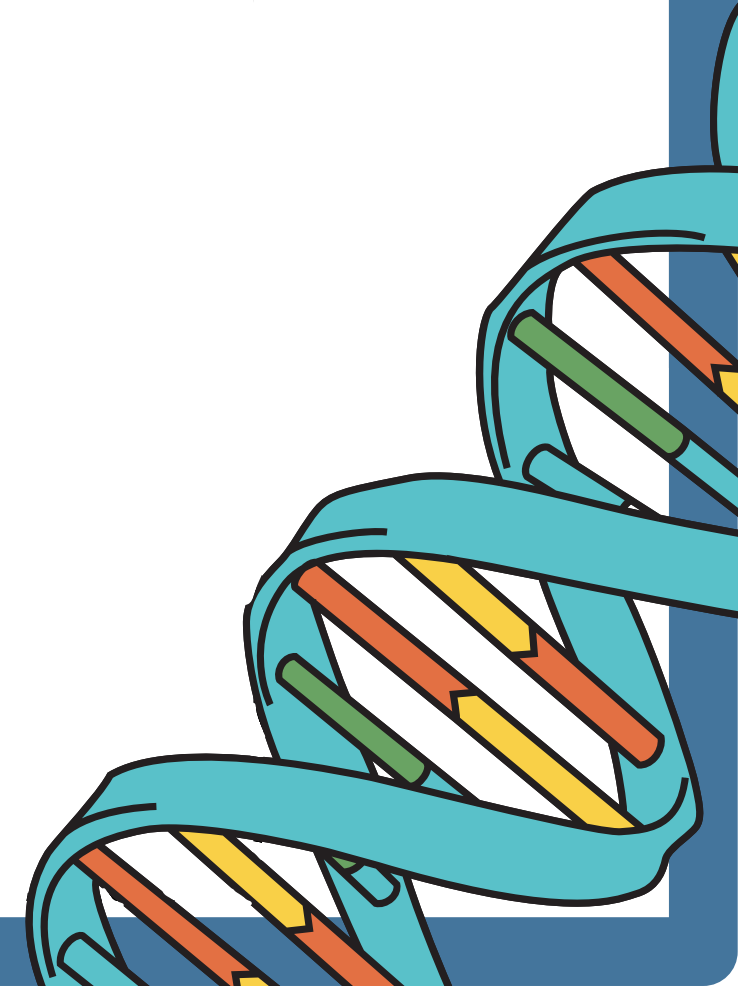
كل اعمال الفريق العلمي تنشر على قناة
التيليجرام





Transcription in Eukaryotes

By
Dr. Walea Bayoumie El Gazzar



❖ Remember:

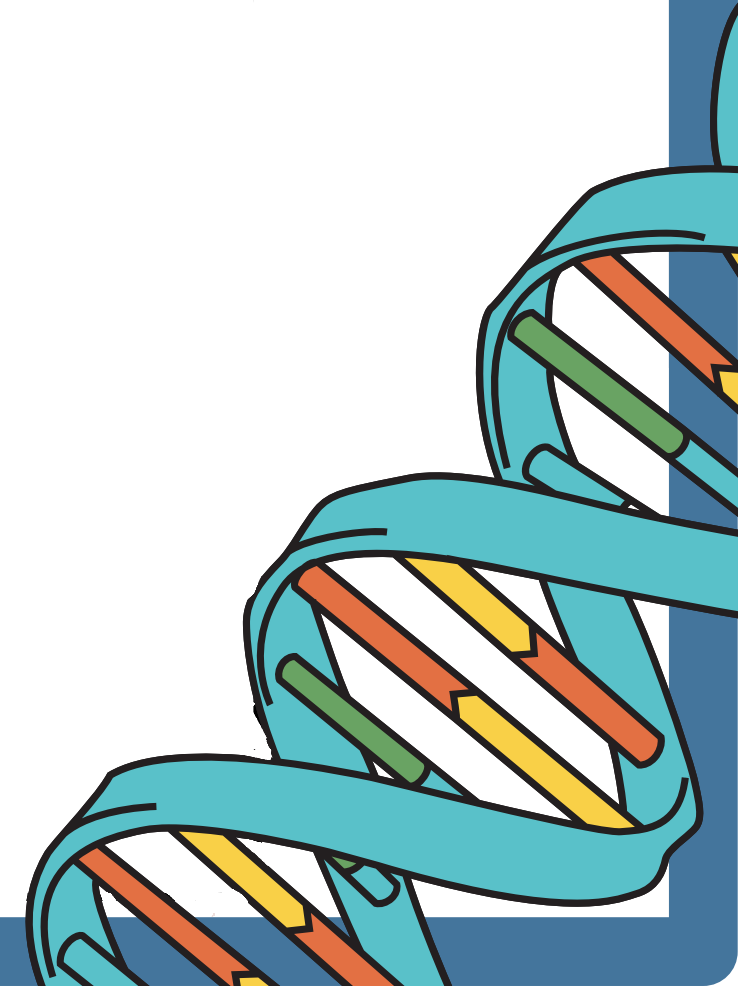
- **RNA polymerase** (the enzyme that catalyzes RNA synthesis) does not need a primer; rather, it can initiate transcription de novo.

• The RNA product **does not remain base-paired to the template DNA strand**. This displacement is critical for the RNA to perform its functions (e.g., as is most often the case, to be translated to produce its protein product).

Furthermore, because of this release, multiple RNA polymerase molecules can transcribe the same gene at the same time. Thus, a cell can synthesize large numbers of transcripts from a single gene in a short time.

ال RNA لما يتم انتاجه من عملية ال Transcription ما يفضل ماسك
بال DNA templet بصير له displacement عشان ال
function تاعته ف لو كان mRNA بطله برا ال nucleus وبعمل
protein ولو كان rRNA بطلع عشان يكون موجود مع الرايبوسوم
حتى يساعد بعملية ال translation ال كتورة فربطت وهكت
transcription ولو كان tRNA بطلع عشان تحمل ال amino
acids الالاي هيساعدوني برضر بعملية ال translation

الفصل كان بسمحنا انه نعمل مكان transcription وبعمل عشان كان RNA polymerase ويطلعنا كان protien molecules



- Transcription, although very accurate, is **less accurate than replication** (one mistake occurs in 10,000 nucleotides added, compared with one in 10 million for replication). This difference reflects the lack of extensive proofreading mechanisms for transcription, although proofreading for RNA synthesis do exist.
- It makes sense for the cell to worry more about the accuracy of replication than of transcription. DNA is the molecule in which the genetic material is stored, and DNA replication is the process by which that genetic material is passed on. Any mistake that arises during replication can therefore easily be catastrophic: it becomes permanent in the genome of that individual and gets passed on to subsequent generations. **Transcription, in contrast, produces only transient copies and normally several from each transcribed region. Thus, a mistake during transcription will rarely do more harm than render one out of many transient transcripts defective.**

عرفنا قبل انه ال RNA polymerase عنده proofreading activity واخذنا برضو الفرق بينه وبين ال DNA polymerase وحكينا انه ال proofreading activity ال RNA polymerase ال DNA polymerase هو more efficient بالتالي واحنا بنعمل transcription ممكن نلاقي خطأ كل 10,000 نيوكلوتيد ال RNA polymerase بعمله بالمقابل ال DNA polymerase ممكن نلاقي خطأ كل 10,000,000 نيوكلوتيد وهاد باكر الحكيم اللي قلناه باول فقره وانه ال transcription ما رح يكون بكفاءة ال DNA synthesis

طيب هل هاد الحكيم منطقي انه مهتمين بتصنيع ال DNA اكثر من ال Transcription ؟
 اكير لانه ال DNA replication هيه العملية اللي فيها بنقل ال genetic material لل Daughter cells فاي خطأ بهاي العملية رح ينتقل للخلايا الجديده و هيكون permanent انا بال transcription لو صار في خطأ و صار عنا خطأ بواحد من mRNA ما هتكون مشكله لانه في غيره كثير mRNA غير انه ال transcripts اللي بتطلع بتعمل وظيفتها وبتكسر ع طول

- **The choice of which regions to transcribe is not random:** there are specific DNA sequences that direct the initiation of transcription at the start of each region and others at the end that terminate transcription.
- In different cells, or in the same cell at different times, different sets of genes might be transcribed. Therefore, for example, two genetically identical cells in a human will, in many cases, transcribe different sets of genes, leading to differences in the character and function of those two cells (e.g., one might be a muscle cell and the other a neuron).

الذي بمجرد انه هاي النطقه رح ابدأ العمل فيها transcription هيه
نقاط معينه موجوده على ال DNA رح توجهه ال
transcription

خلايا جسمنا عندهم نفس الجينات بالزبط (نفس ال genome) بس ال
expression للجينات مو نفس الاثني

مثال

الخلية تاعت البنكرياس والخلية تاعت الدماغ ال expression للجينات
اللي موجودين بالخلايا ما رح يكون نفسه بكل خلية لانه كل خليه الها
functions معينين في البنكرياس مثلاً الجينات المنظمه لعمل
الانسولين هتكون on فيها بالمقابل بالدماغ هتكون off وهكذا
ومش بس هيك حتى بالخلية الوحده مرات بطفي جينات وبشغل جينات
وباقوات ثانيه بصير العكس

مثال

خلية بدها تعمل انقسام هالا بالتالي رح تهتم كثير بالجينات اللي رح
تطلع الانزيمات اللي رح تدخل بعملية ال DNA replication
بس بوقت ثاني ما بدها تعمل انقسام فهاي الجينات ما رح تكون نشغاله
بنفس القوه

- **Bacteria have only one RNA polymerase, all eukaryotes have three different ones (Pol I, II, and III).** In addition, whereas bacteria require only one additional initiation factor (σ), several initiation factors are required for efficient and promoter-specific initiation in eukaryotes. These are called the general transcription factors (GTFs).

ال prokaryotes **زي البكتيريا** فيها 1 RNA polymerase
هو يعمل transcription لكل انواع ال RNA اما بال
eukaryotic عندها 3 انواع 1/2/3 RNA polymerase
كل واحد فيهم راجع يعمل transcription لنوع واحد من ال
RNA راجع نشوفهم مكان شوي

بالبكتيريا كنا نحتاج ال initiation factor اللي هو ال
sigma factor هتبي ياخذ ال RNA polymerase
ويبدله ع ال promoter ومن دونه ما هيقف بالمكان الصحيح
اما بال eukaryotic cells عندي اكثر من initiation
factors عشان استدل ع ال promoter و **بسميهم**
general transcription factors



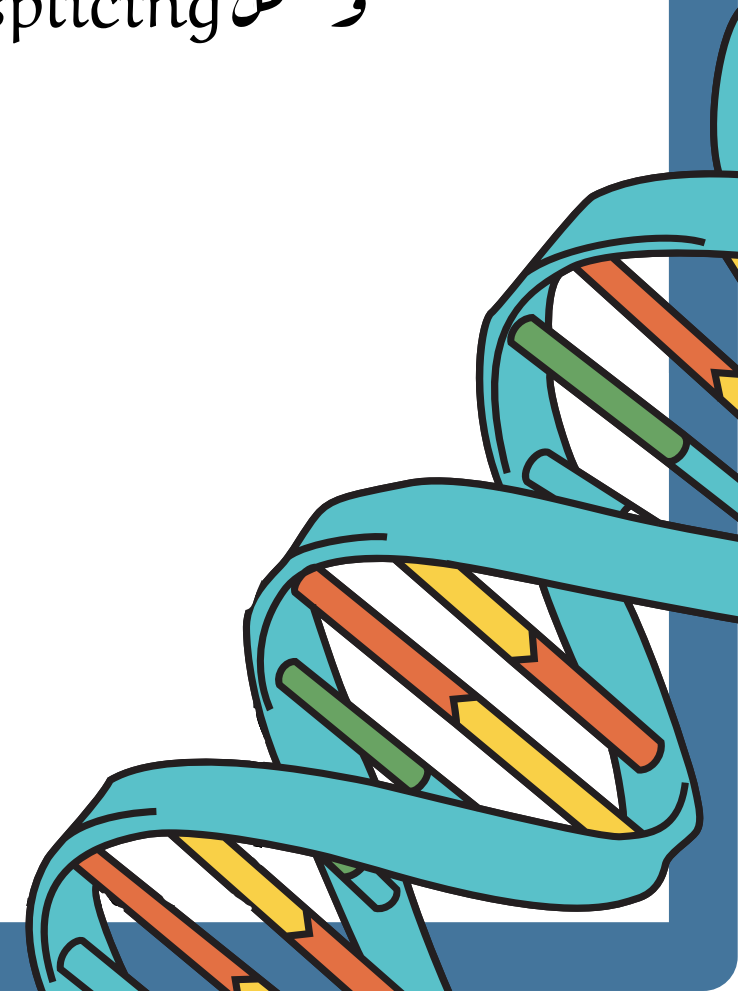
- Once transcribed, **eukaryotic** RNA has to be processed in various ways before being exported from the nucleus where it can be translated.
- These processing events include capping of the 5' end of the RNA, splicing, and polyadenylation of the 3' end of the RNA. The most complicated of these is splicing—the process whereby non-coding introns are removed from RNA to generate the mature mRNA.

في ال **prokaryotes** ال RNA اول ما
ينفصل رح يقوم بال function تاعته
directly

بال **eukaryotes** ال RNA لازم اعمله
شوية modifications قبل ما يصير جاهز
انه يعمل وظيفته زي مثلاً ما كنا نعمل لل
mRNA اللي بطلع معنا cap و tail
و نعمل splicing بانه نشيل ال introns

اعقد process هيه ال splicing ورح ناخذها لقدام ان شاء الله

لهون خاصنا معلومات ال دكتور هبت تاكد عليها وهالارح نباش بال synthesis of RNA in eukaryotics



Synthesis of RNA in eukaryotes

- Nuclear RNA polymerases of eukaryotic cells:
 - There are three types of nuclear polymerases:
 - RNA pol I:** Transcribes 18S, 5.8 S, 28S ribosomal RNA genes
 - RNA pol II:** It transcribes mRNA, and most small nuclear RNAs (snRNA)
 - RNA pol III:** It transcribes tRNA and 5S rRNA and some small nuclear RNAs (snRNA)
- Mitochondrial RNA pol:** Resembles bacterial RNA pol than eukaryotic enzyme. Responsible for mitochondrial gene expression as well as for providing RNA primer for initiation of replication of the mitochondrial genome.

دائماً بنفسى انه الميتوكوندريا فيها genetic material وفيها DNA كانه
nucleus تانيه مطلوب نعملها replication و transcription....

اتفقنا انه عنا 3 polymerase بال eukaryotics
عنا اشهي خاص مكان اسمه mitochondrial RNA polymerase
وهون موضع عما كل انزيم بعمل transcription ملين

هدول الجينات من اسمهم همه من مكونات الرايوسوم

بطلع اهم اشياء اولهم ال mRNA وكان small nuclear RNA
واحنا زمان حكيينا انه غير ال 3 انواع تاعون ال RNA عنا كان انواع ومنهم جروب
اسمه small RNAs وهاد بنرج تحته كثير انواع من ال small nuclear RNA

هوه الالاي بطلع ال tRNA ونوع اخير من ال rRNA وبعض snRNA

ال mitochondrial RNA pol لقينا انه يشبه ال RNA polymerase تاع البكتيريا
معناها هوه مسؤول عن ال transcription الموجود في كل ال DNA تاع الميتوكوندريا شبه
RNA polymerase 1
وسؤول انه يعمل ال RNA primer لل initiation of replication وهاد مختلف عن
البكتيريا لانه كنا نستخدم ال primase حتى نعمل ال primer

خطوات ال transcription في ال eukaryotes نفس اللي اخذنا لهم قبل بال eukaryotes

❖ Transcription phases:

- Similar to prokaryotes, eukaryotic RNA synthesis include three main phases:
- 1- **Initiation** : involves the binding of RNA polymerase to a region on the DNA which is specific and is known as the promoter region.
 - 2- **Elongation** : after the promoter region is recognized by the RNA polymerase, it starts to synthesize a complementary transcript to the template DNA strand. The RNA polymerase utilizes ribonucleotide triphosphate (ATP, GTP, CTP, UTP) and releases pyrophosphate each time a nucleotide is added to the growing chain.
 - 3- **Termination** : elongation of the RNA chain continues until a termination signal is reached.

معينين لهم ربح يوجوهه و ربح مخلوه بعمل separation لل strands حتى يوصل لل template ويعمله transcription sequences ل RNA polymerase ال كيف نمسك ال

وبعدين ربح نخط ال promoter و بدأ بال complementary RNA nuclides لل template و ربح يجمع triphosphate و نطلع pyrophosphate و نترك ال mono مع بعض

وافر اشي بنتهي لما نلاقى ال termination sequence

هدول نفس الخطوات اللي هكينا لهم بال prokaryotes بس تفاصيلهم اللي ربح تختلف



Synthesis of mRNA

❖ RNA Polymerase II Core Promoters Are Made Up of Combinations of Different Classes of Sequence Element:

- The eukaryotic core promoter refers to the minimal set of sequence elements required for accurate transcription initiation by the Pol II machinery.
- A core promoter is typically about **40–60** nucleotides long, extending either upstream or downstream from the transcription start site.

TRUE or FALSE

Promoter is only extending in upstream region of +1

– FALSE

منبش هلا بال initiation مين رح يعملنا transcription لل mRNA؟ هكينا فوق انه ال RNA pol 2

ال promoter في ال eukaryotes معقد موزي البكتيريا بس TATA box فيه عدة مناطق كل منطقة الها sequence معين و بسميهم sequence elements وهدول ال sequence كلهم على بعض بشكلو ال core promoter صورته بسلايد 13

بس مو لازم يكون عندي كل هاي ال elements حتى ال RNA pol 2 يقدر يعمل initiation مثلاً بعض الجينات يكون عليها بس DCE و TATA و inr وفي تانيين عليهم DPE و inr

في اشي رح نلاحظه لما نشوف صورة ال core promoter انه محدد عندي ال start point اللي هيه +1 او عرفتها من الترفيم اللي جنبها + و - واحنا اتفقنا بالمحاضر الماضيه انه ال promoter يكون upstream من ال start point طيب هون هو موجود ع الجهتين بصير؟ اه بصير بال eukaryotes ممكن الا في elements بعد ال +1 او يكون الهادور في توجيه RNA pol 2 لل +1 او يجزوله الموقع حتى يبدأ ال transcription

- The Figure shows the location, relative to the transcription start site, of elements found in Pol II core promoters. These are the TFIIB recognition element (BRE), the TATA element (or box), the initiator (Inr), and the downstream promoter elements (known as DPE, DCE, and MTE).
- Typically, a promoter includes some subset of these elements. Thus, for example, promoters typically have either a TATA element or a DPE element, not both. Often, a TATA-containing promoter also contains a DCE.
- The Inr is the most common element, found in combination with both TATA and DPEs.
- **The core promoter serves as a binding platform for the transcription machinery, which comprises Pol II and its associated general transcription factors (GTFs)**

ال core promoter الذي يسهل ال elements بشفلوكنه عليها ال

transcription machinery

هيه RNA pol 2 + General transcription factors

مش احنا حكينا انه المساعد ال RNA pol اسمهم
 و معطينهم اسماء transcription factor 2A/2B و حكينا 2
 لانه مساعد ل RNA pol 2

بالنسبة لل elements

Down stream promoter elements

DCE1

DCE2

DPE

DCE3

ال TATA وال DPE لا يلتقيان ✗

اذا تواجدت ال TATA لازم غالباً رح يكون معها DCE سواء 1/2/3

ال inr وهاد دائماً موجود سواء مع TATA او DPE

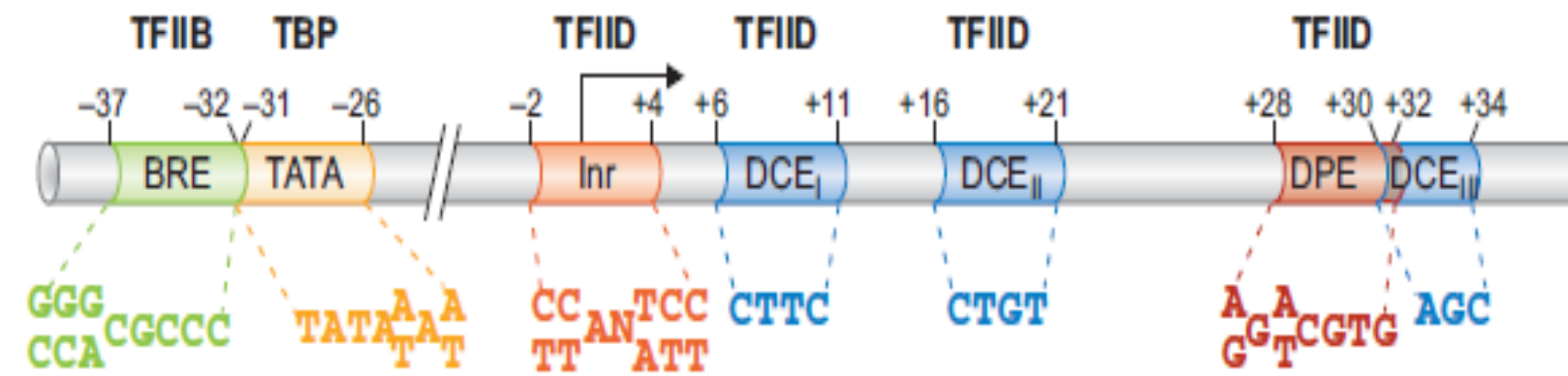
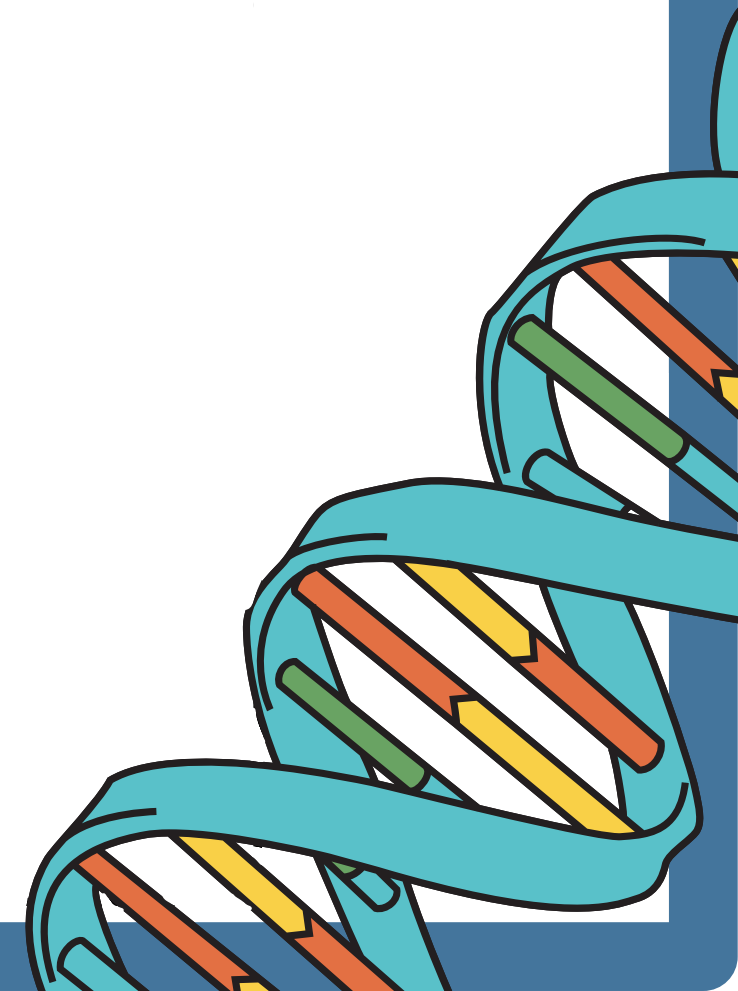


FIGURE 13-15 Pol II core promoter. The figure shows the positions of various DNA elements relative to the transcription start site (indicated by the arrow above the DNA). These elements, described in the text, are as follows: (BRE) TFIIB recognition element; (TATA) TATA box; (Inr) initiator element; (DPE) downstream promoter element; and (DCE) downstream core element. Another element, MTE (motif ten element), described in the text, is not shown in this figure but is located just upstream of the DPE. Also shown are the consensus sequences for each element (determined in the same way as described for the bacterial promoter elements; see Box 13-1) and (above) the name of the general transcription factor that recognizes each element.



❖ RNA Polymerase II Forms a Preinitiation Complex with General Transcription Factors at the Promoter:

- The general transcription factors help polymerase bind to the promoter and melt the DNA. They also help polymerase escape from the promoter and embark on the elongation phase. The complete set of general transcription factors and polymerase, bound together at the promoter and poised for initiation, is called the **preinitiation complex**.
- As we described above, many Pol II promoters contain a so-called TATA element (some 30 bp upstream of the transcription start site). This is where preinitiation complex formation begins. **The TATA element is recognized by the general transcription factor called TFIID**. (The nomenclature "TFII" denotes a transcription factor for Pol II, with individual factors distinguished as A, B, and so on.).

لا يتجمعوا ال elements والمساعدين الذي هم ال
general transcription factors
الذي بد لهم يساعده الذي هو RNA pol 2 بسميرهم
كلهم ب **preinitiation complex**

اول ما يحسك ال RNA pol 2 بال promoter مع يعمل
DNA melting يعني ينفصل جزء من ال strands
عشان نبش نبتي

وكان ال ال RNA pol 2 بعد ما يوقف
المساعدين الذي هم transcription factors مع يعطوه
زي دفعه عشان يمشي بالمرحلة الذي بعد الذي هي ال
elongation

غالب ال promoters مع نلاقي فيهم
TATA بالكالي DPE ما مع يكون موجود

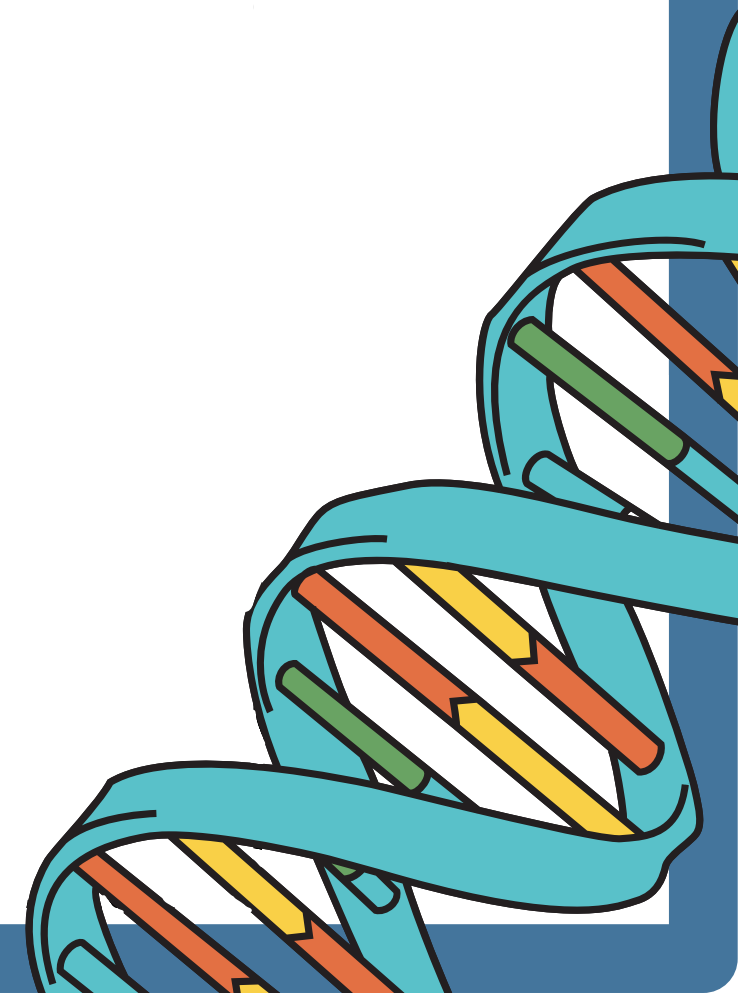
ال TATA من الماعدين الذي مع يساعده ال polymerase يتعرف عليها هو TF2D

- Like many of the general transcription factors, TFIID is, in fact, a multi-subunit complex. The component of TFIID that binds to the TATA DNA sequence is called TBP (TATA-binding protein).
- The other subunits in this complex are called **TAFs**, for TBP-associated factors. Some TAFs recognize other core promoter elements such as the Inr, DPE, and DCE, although the strongest binding is between TBP and TATA. Thus, **TFIID is a critical factor in promoter recognition and preinitiation complex establishment.**

→ أهم عضو من المساعدة هو TFIID

ال TF2D عبارة عن أكثر من
subunit الجزء منه الذي يتمسك بال
TATA اسمها TATA binding
protein مع العلم هي مبروتين لحاله
هي جزء من ال TF2D

ال subunits الثانيين اسمهم TATA binding
proteins associated factors



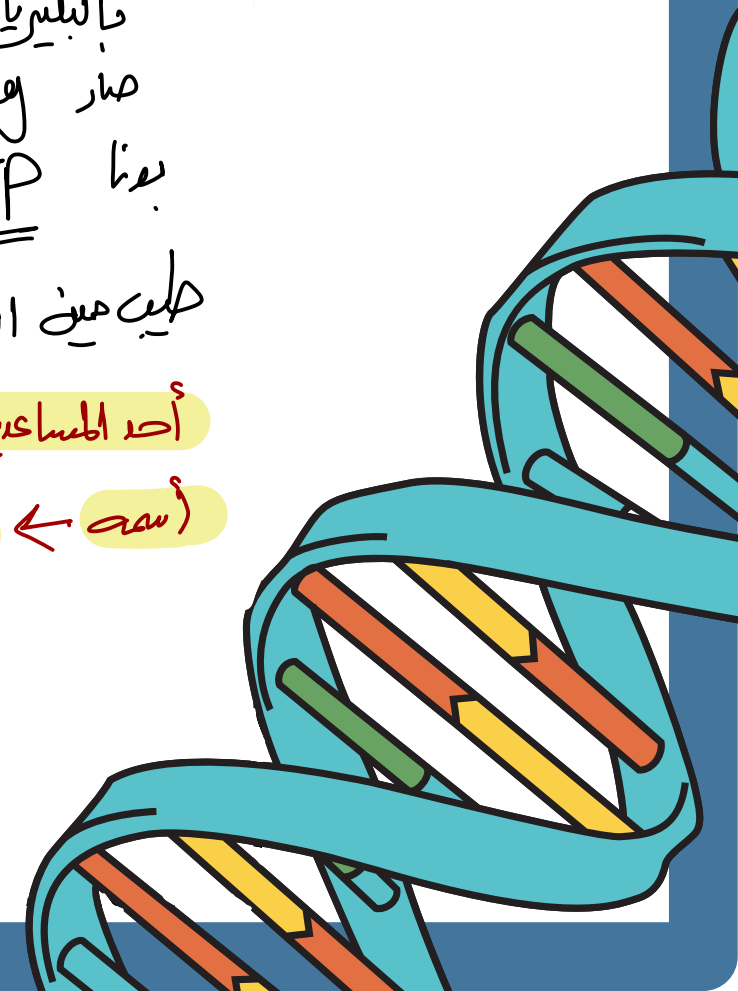
- The resulting TBP–DNA complex provides a platform to recruit other general transcription factors and polymerase itself to the promoter. These proteins assemble at the promoter in the following order: **TFIIA, TFIIB, TFIIF together with polymerase**, and then **TFIIE** and **TFIIH**.
- Formation of the preinitiation complex containing these components is followed by promoter melting. **In contrast to the situation in bacteria, promoter melting in eukaryotes requires hydrolysis of ATP and is mediated by TFIH.**

هنا باقي المساعدين رح يجبو وال polymerase
 رح يجبي مكان بمساعدة واحد من المساعدين
 رح يجبو بترتيب معين

ها هو الـ روح
 يكون ماسك
 بال polymerase

بالكثير يا اول مال polymerase مسك
 صار melting أما بال eukaryotes
 بيحتاج ATP عشان يهجر الـ melting
 طبعاً هين الـ روح يكسر الـ ATP
 أحد المساعدين عنده ATPase Activity
 (TFIIH ←)

← الـ وظيفتين أحدهم انه يعمل تكبير الـ ATP
 ← التانية بالسلايد الجاي الـ الـ هيه
 phosphorylation of polymerase



بعد ما غلنا ال melting وضمنا سوي بيها نزل elongation عن طريق زي
دفة صعيد لا polymerase حتى تترك ال promoter بسوي هاي اعليه بـ

❖ Promoter Escape Requires Phosphorylation of the Polymerase "Tail"

- In eukaryotes, promoter escape involves two steps not seen in bacteria: **one** is ATP hydrolysis (in addition to the earlier ATP hydrolysis needed for DNA melting), and **the other** is phosphorylation of the polymerase.

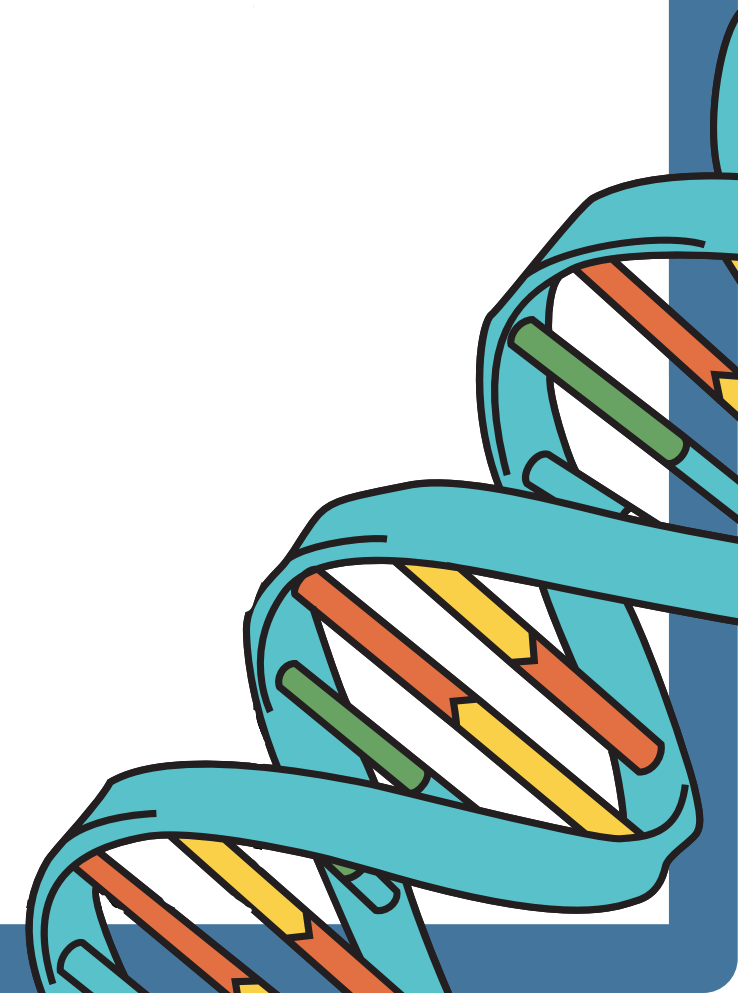
- The large subunit of Pol II has a carboxy-terminal domain (CTD), which is referred to as the "tail". The CTD contains a series of repeats of the heptapeptide sequence: Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser. There are **52** of these repeats in humans. Each repeat contains sites for phosphorylation by **specific kinases, including one that is a subunit of TFIH.**

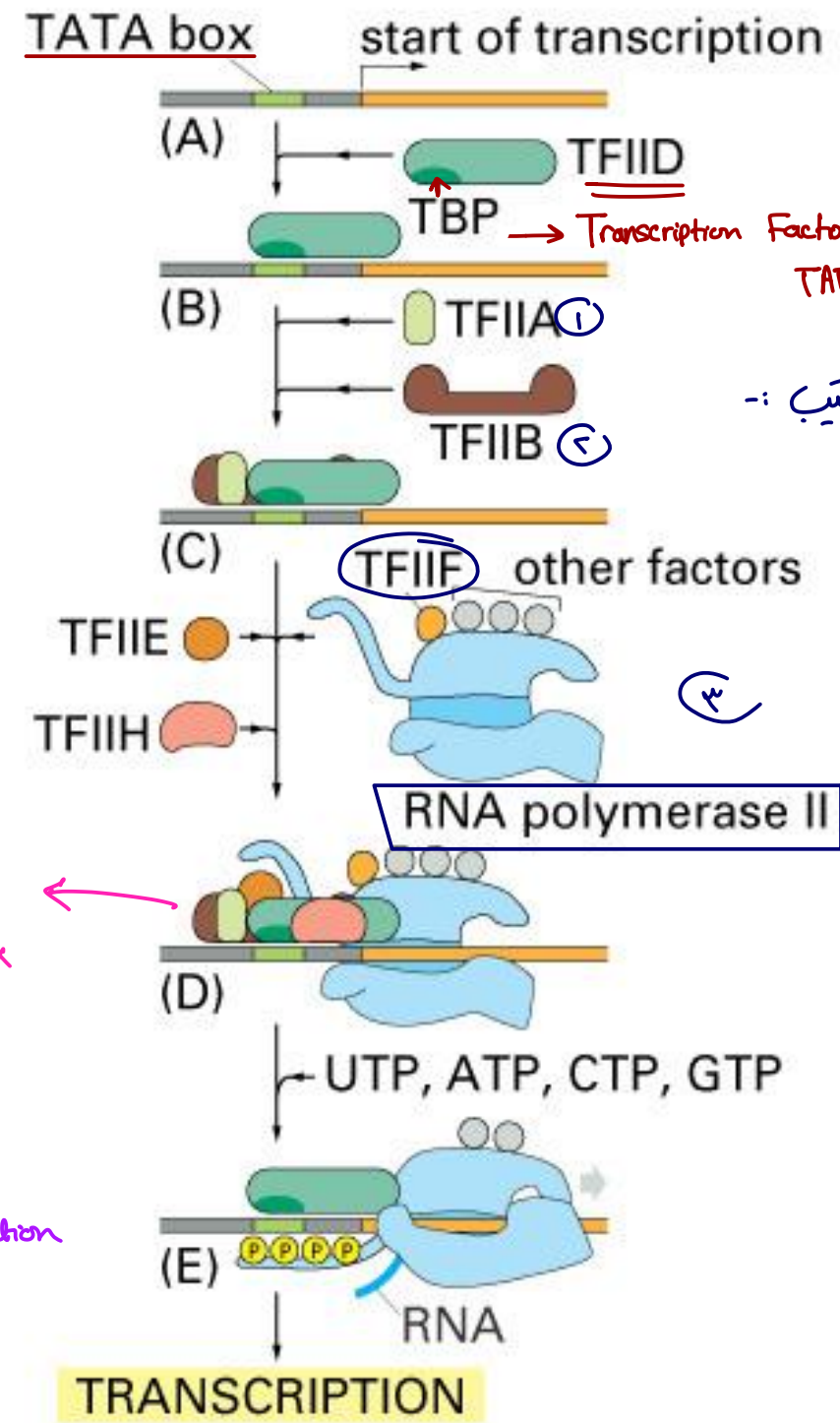
وظائف ال TFIH :-
وهي تضمن خطوات ال Promoter Escape

kinase activity

يعمل
phosphorelation
الهد ال tail
عن ال promoter
Kinase
عن طريق

ال aminoacids
مكرر ال 52 مرة





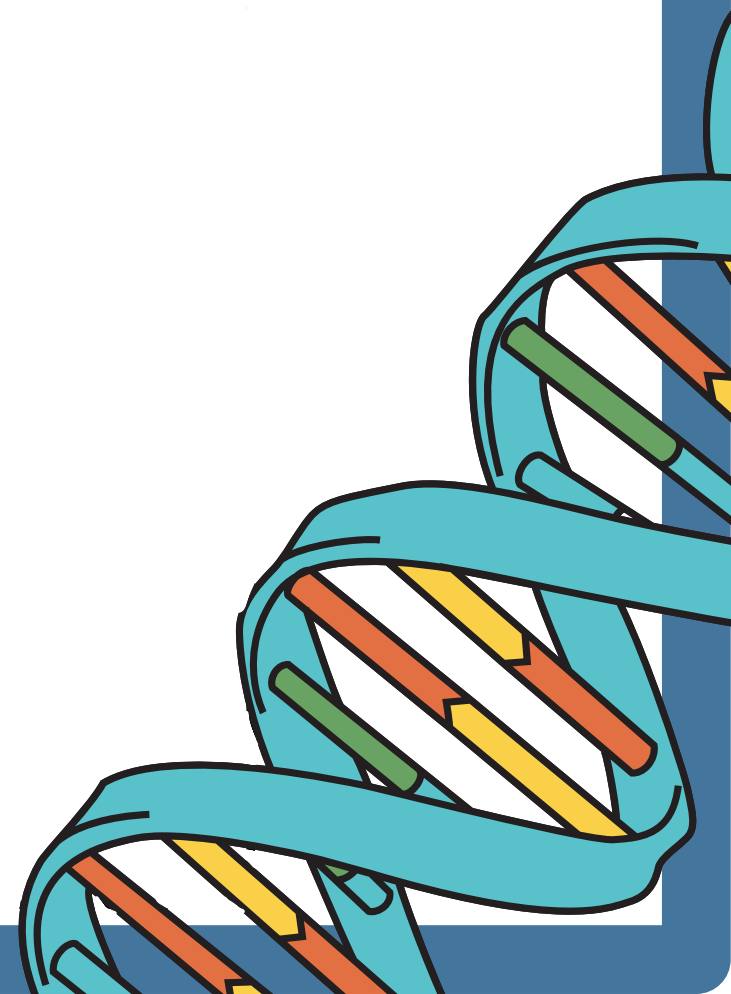
Transcription Factor Binding protein
TATA Box

المكونات يجب بالترتيب :-

بس وقفو لأم
لما
preinitiation complex

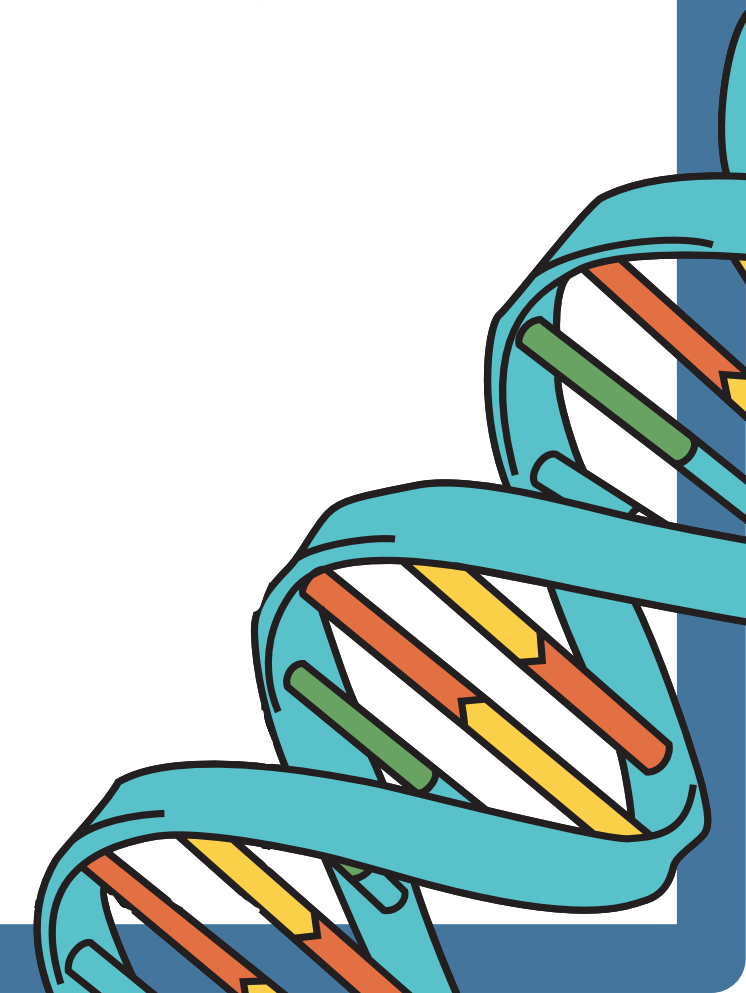
↓ هذا بعد melting عن طريق TFIIH
↓ ATP + phosphorylation
elongation

Figure 8-10 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)



- 1-The first step is binding of the **TFII D** (contains TATA binding protein, TBP)to the TATA box.
 - 2- Binding of **TFII A&B**, followed by binding of **RNA polymerase II-TFII F complex** (TFII F brings the RNAP II to the promoter site).
 - 3- Binding of **TFII E&H** to form **preinitiation complex (PIC)**.
 - 4- Phosphorylation by a kinase produces activation of the polymerase II.
- ✓ *TFII F brings the RNAP II to the promoter site, while TFIIH activates it by phosphorylation.*

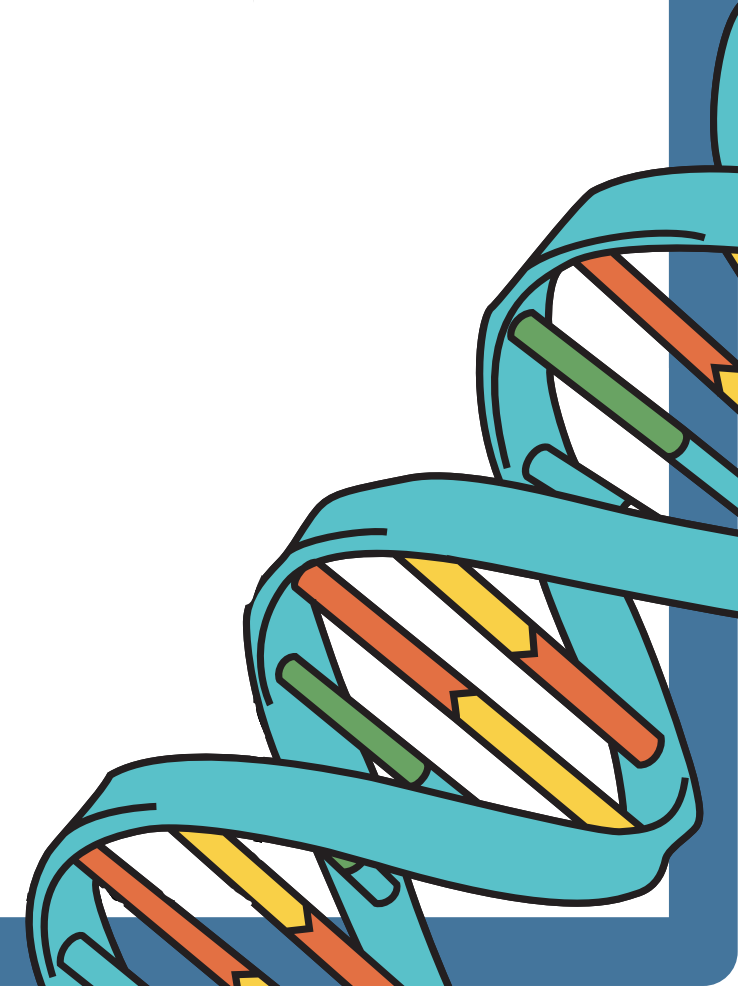
الخطوة الأولى :-





- For pol II-transcribed genes, and unlike bacterial RNA polymerase, promoter melting requires hydrolysis of ATP and is mediated by TFIID.
- TFIID is a (ten-subunit) protein, including both ATPase and protein kinase activities.

عكس البكتريا في ال eukariotes
ال melting يحتاج تكسير ATP
عن طريق TFIID
* كتر مهم
هاد ل
Subunit
دلك ال TFIID





نهاي السلايد الدلتورة حلت عن هاش مهة

- 5- Release of TFII A, B, E,&H
- 6- **Pol II-TF IIF complex** leaves the promoter, and starts transcription.
- 7- Transcription proceeds till the termination signal is reached.
- 8- Pol II-TF IIF complex is dissociated.
- 9- Pol II-TF IIF complex is dephosphorylated by a phosphatase.
- 10- A new cycle of transcription may start again.

بعد ما يوقفو للم بالنهاية
release
للمساعدين عشان يصير
ال elongation

