Genetics

Subject : Processing of mRNA
+ Regulation of eukaryotic gene expression

Lec no : 12

Done By : Noor Zamel

وَقُل رَّبِّ زِدْنِي عِلْمًا

للوصول الى guidance الجينيتكسو تفاريغ المادة كاملة :

تجدون في guidance مادة الجينتكس على موقع النادي :

GUIDANCE SLIDES NOTES RECORDS

تجدون هنا شرح المادة كاملة

GENITICS ALAA AL-GAZZAR

شرح الدكتورة ولاء الجزار للمادة

تجدون هنا شرح الفريق العلمي للمادة كاملة

شرح قديم (السلايدات مختلفة) ، يمكن الاستفادة منها لفهم المواضيع

OLD GENETICS

يمكن الاستفادة من تفاريغ الدفع السابقة

ATHAR BATCH

YAQEEN BATCH

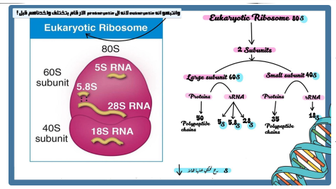
VEIN BATCH

كل اعمال الفريق العلمي تنشر على قناة التيليغرام

المحاضرة نظرية وهو محتاجة لكتير فهم

Synthesis & Processing of ribosomal RNA (rRNA)

- The primary transcripts of the mammalian rRNA include a 45S rRNA (pre-rRNA) & a 5S rRNA.
- The 45S rRNA is synthesized by RNA **polymerase I** then undergoes RNA processing in the nucleus which cleaves the precursor to release the mature 18S, 5.8S, 28S rRNA



حكينا عن انواع ال rRNA بمحاضرة 7 و عن ال large و ال small subunits اللي بالرايبوسوم و مكوناتهم 5S, 28S, 5.8S, 18S

رح نحكي هلا عن انواع rRNA كيف بتم تصنيعهم

ال ٣ انواع من ال rRNA اللي هم 18S, 5.8S, 28S ما بيجو من جينات مختلفه يعني مو كل نوع بيجي من جين (ما في جين اسمه 18S بنعمله transcription بال pol 1 و يعطيني 18S mRNA وهكذا ❌)

في جين واحد فقط اسمه 45S لما نعمله transcription بطلعلنا 45S rRNA او pre rRNA هو اللي بشتغل عليه و بعمله processing بحيث انه يتقطع و يعطينا ال ٣ انواع 18S, 5.8S, 28S

طيب ال 5S ؟

هاد اله جين اله لحاله و transcription لحاله بانزيم لحاله اسمه pol 3 اما pol 1 بطلعلنا ال pre rRNA

- The 45S genes for 18S, 5.8S and 28S rRNA are typically **clustered together and tandemly repeated** (one copy each of 18S, 5.8S and 28S occur, followed by untranscribed spacer DNA, then another set occur and so on).

وبفصل بينهم Spacer DNA

- **5S RNA gene** is transcribed by **RNA polymerase III**

- Hundreds of copies of these genes are present in every cell. This large number of genes is required to synthesize sufficient copies of each type of rRNA to form the 10^7 ribosomes required for each cell replication.

عنا مئات الجينات سواء اللي بتطلعنا 45S او اللي بتطلعولنا 5S وما دام عنا هالقد جينات معناها عنا كتير products من هاي الجينات طيب ليه؟
لانه احنا عنا كتير ribosomes لازم نكونها قبل عملية ال cell replication ف محتاجين rRNA كتير
ومن احدى وسائل انه اعمل Amplification لل product انه عدد الجينات نفسها تكون كتير

عنا اختلافين بين الـ 5S gene والـ pre RNA gene

* مكان التصنيع
* بصيرله processing أو لا

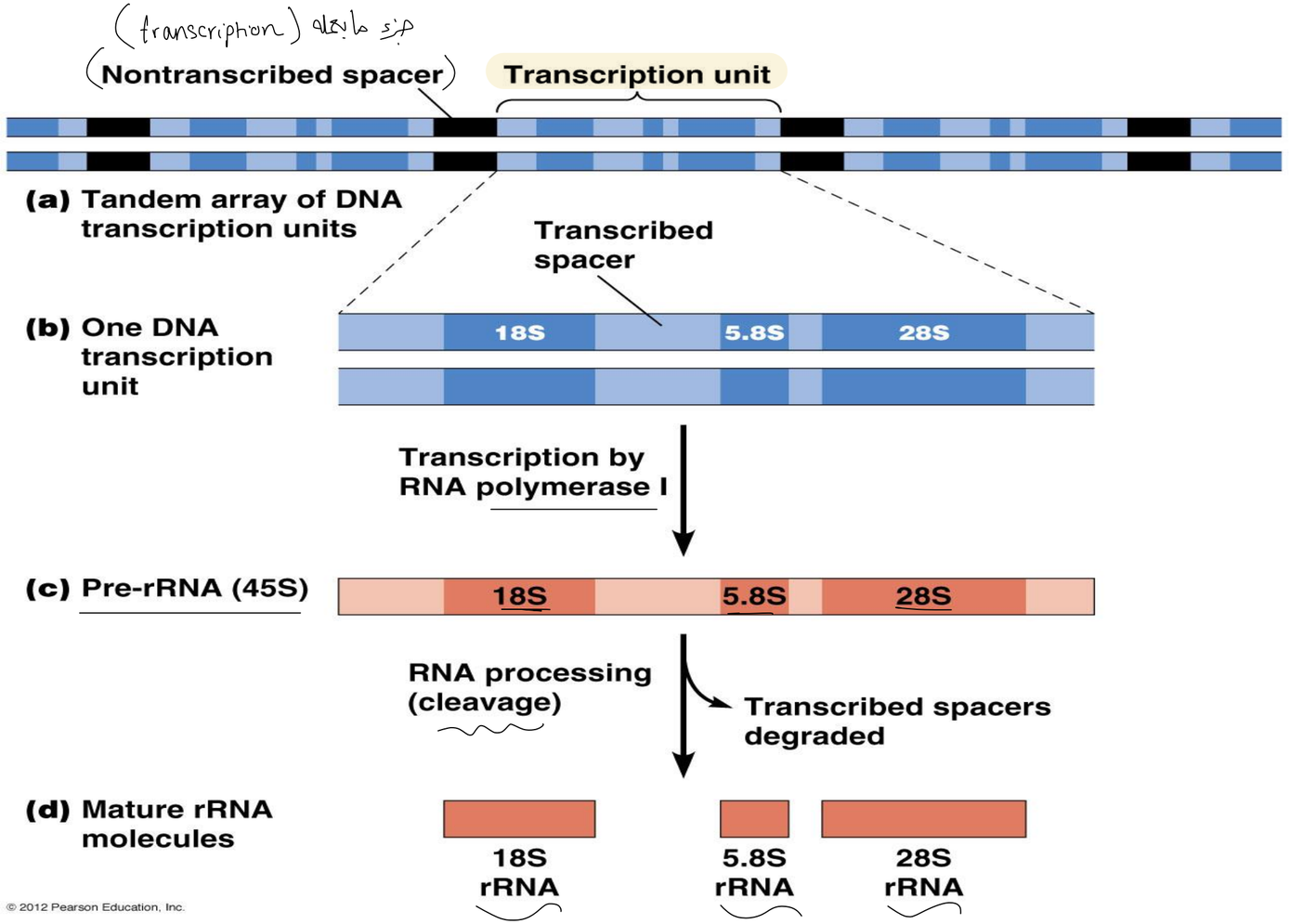
بتصنّعو بالـ nucleolus with processing +

بتصنعو بالـ nucleoplasm خارج الـ nucleolus

Unlike pre-rRNA genes, 5S-rRNA genes are transcribed by RNA polymerase III in the nucleoplasm outside of the nucleolus. **Without further processing**, 5S RNA diffuses to the nucleolus, where it assembles with the 28S and 5.8S rRNAs and proteins into large ribosomal subunits. When assembly of ribosomal subunits in the nucleolus is complete, they are transported through nuclear pore complexes to the cytoplasm, where they appear first as free subunits.

وبعدها بفوت ع الـ nucleolus عشان ينضم لـ rRNAs التانيين 28S و 5.8S حتى يكونو الريبوسوم

بعد ما يصير لهم assembly بطلعو برا الـ nucleolus ويروحو لـ cytoplasm


(transcription) جزء ما يتعلم
Nontranscribed spacer
Transcription unit
(a) Tandem array of DNA transcription units
Transcribed spacer
(b) One DNA transcription unit
18S
5.8S
28S
Transcription by RNA polymerase I
(c) Pre-rRNA (45S)
18S
5.8S
28S
RNA processing (cleavage)
Transcribed spacers degraded
(d) Mature rRNA molecules
18S rRNA
5.8S rRNA
28S rRNA
© 2012 Pearson Education, Inc.

Synthesis & Processing of tRNA

- Eukaryotic tRNA genes are all transcribed by **RNA polymerase III.**
- The primary transcript (pre-tRNA molecules) requires up to 4 different types of RNA processing steps as follows:

1- Addition of the CCA sequence at the 3\ end by the nucleotidyl transferase.

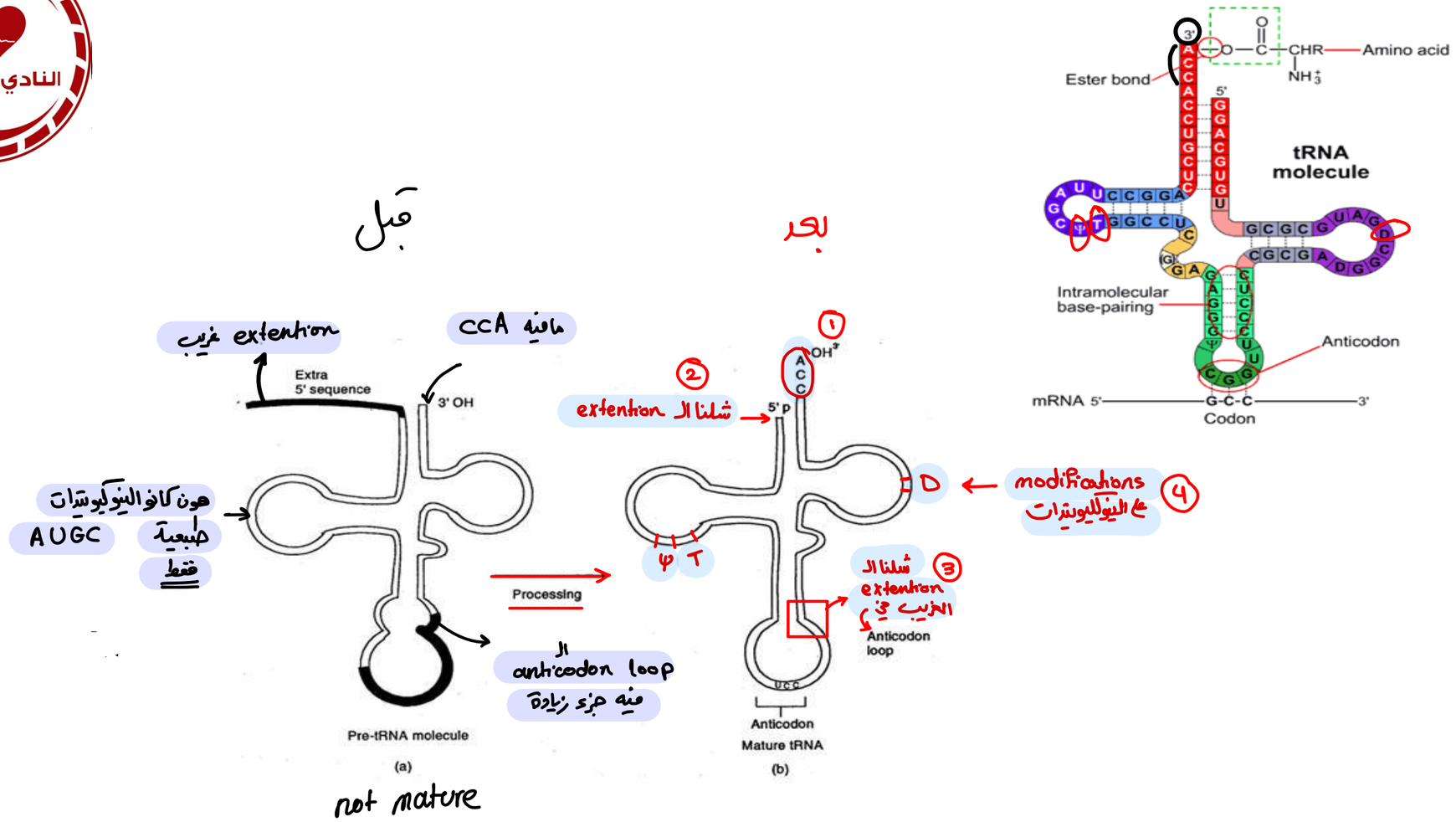
2- Excision of the nucleotide extension at the 5\end.

3- Excision of introns present in the anticodon loop.

4- Modification of some bases by methylation of uracil into thymine or reduction of uracil into dihydrouracil and formation of pseudouracil

ال tRNA لما بنعمله transcription عن طريق ال pol 3 ما بيكون جاهز بكون على هيئة primary transcript (pre tRNA) لازم نعمله modification عشان يصير mature

بالسلايد الجاي شوفو الصورة وبعدين ارجعو


قبل
بعد
extra extention غريب
CCA مافيه
Extra 5' sequence
3' OH
هون كانو النيوكليوتيدات الطبيعية فقط AUGC
Processing
ال anticodon loop فيه جزء زيادة
Pre-tRNA molecule
(a)
not mature
extention شلنا ال
5' p
OH
ACC
ψ T
D
modifications عالنيوكليوتيدات
شلنا ال extention الغريب من
Anticodon loop
UCC
Anticodon
Mature tRNA
(b)
Ester bond
Amino acid
tRNA molecule
Intramolecular base-pairing
Anticodon
mRNA 5'
G-C-C
Codon
3'

File 11

Regulation of eukaryotic gene expression

لو حكينا بدنا نعمل regulation لل gene
شو الاشياء اللي ممكن تاثر ع الجين و expression
على عملية انتاجه لل products رح يكونو ع ٣ مراحل
ع مرحلة الجين اواو عملية ال transcription او ما
بعد ال transcription والتعديلات

- The levels of eukaryotic gene regulation include the following:

1-Alteration of gene content.

الجين نفسه ممكن يكون فيه مشكله او ال DNA فيه تغيرات أو يكون عدد ال
couples لهاد الجين كتير او قليل ف بالتالي انتاج البروتين من هاد الجين بتاثر

2- Transcriptional regulation.

عملية ال transcription نفسها رح تتم صح ولا ما رح تتم صح

3- Post-transcriptional regulation.

ضايل في ال post transcriptional modifications هل تمت صح ولا لا

هلا رح نحكي عن كل وحدة فيهم بالتفصيل

1-Alteration of gene content (regulation through modification to DNA)

- The eukaryotic genome may be changed by the following mechanisms:

Gene amplification:

- It is the increase of a gene product by increasing the number of genes coding for that product e.g. histone & rRNA genes.
- More than 20 genes are known to be amplifiable e.g. dihydrofolate reductase genes.

في جينات عددهم اصلاً كبير بالتالي انتاجهم كبير زي ال rRNA اللي حكينا عنهم قبل شوي وهاد بسبب عددهم الكبير مش لانه ال transcription rate عالي و نفس الاشي بالهستون
بس في بعض الجينات ممكن يصير لهم gene amplification يعني ممكن يكون عنا منهم بس 2 couples وفجأه نلاقي طلع منهم couples اكتر ومثال عليه dihydrofolate reductase gene اللي بطلعنا انزيم

- Dihydrofolate (FH2 is a derivative of folic acid) is reduced to tetrahydrofolate (FH4) by dihydrofolate reductase.
- Methylene-FH4 is required for conversion of dUMP to dTMP which is utilized for DNA synthesis.
- It has been demonstrated in patients receiving methotrexate (an inhibitor of FH2-reductase) as a treatment for cancer that malignant cells can develop **drug resistance by increasing the number of genes for dihydrofolate reductase.**
- ***For cancer, methotrexate competitively inhibits dihydrofolate reductase (DHFR) (methotrexate is structurally similar to folate). The affinity of methotrexate for DHFR is about 1000-fold that of folate.***

الانزيم اللي بطلعه ال dihydrofolate reductase gene بيعمل من اسمه reduction لمركب اسمه dihydrofolate عشان يعطينا مركب اسمه tetrahydrofolate وهاد بحمل one carbon يعني اي اشي فيه one carbon unit حكينا قبل عن one carbon unit carrier اللي هوه ال SAM كان بحمل ال methyl group

طيب ال tetrahydrofolate بايش رح احتاجه
عشان ال cell تعمل ال DNA هيه بحاجه لل ٤ انواع من النيوكليوتيدات ATCG طيب ال T من وين الجسم بجيبها ؟ من ال Uracil يعني عشان اصنع ال T لازم يتصنع اول ال U والطريقه بسلايد 13

توضيحها السلايد اللي بعد بالتفصيل

طيب شو علاقة هاد الحكي اللي فوق بال gene amplification

الناس اللي عندها بعض انواع ال cancer اللي بتاخد دوا ال methotrexate بشتغل ك competitiveinh

inhibitor لل dihydrofolate reductase كيف يعني ؟

لقينا انه ال methotrexate بشبه ال folate (dihydrofolate) يعني بيجي ال dihydrofolate reductas بشتغل

عادي ع ال dihydrofolate بلاقي في حد شكله بشبهه اللي هوه ال methotrexate و مش بس هيك ال methotrexate

عنده affinity للانزيم اعلى من ال dihydrofolate ب 1000 مره يعني ما رح نعرف نحول ال dihydrofolate ل

tetrahydrofolate بالتالي ما رح نصنع DNA بالاخر وهاد اشي منيح لل cancer cell لهلا الامور تمام بس بعد فتره لقينا

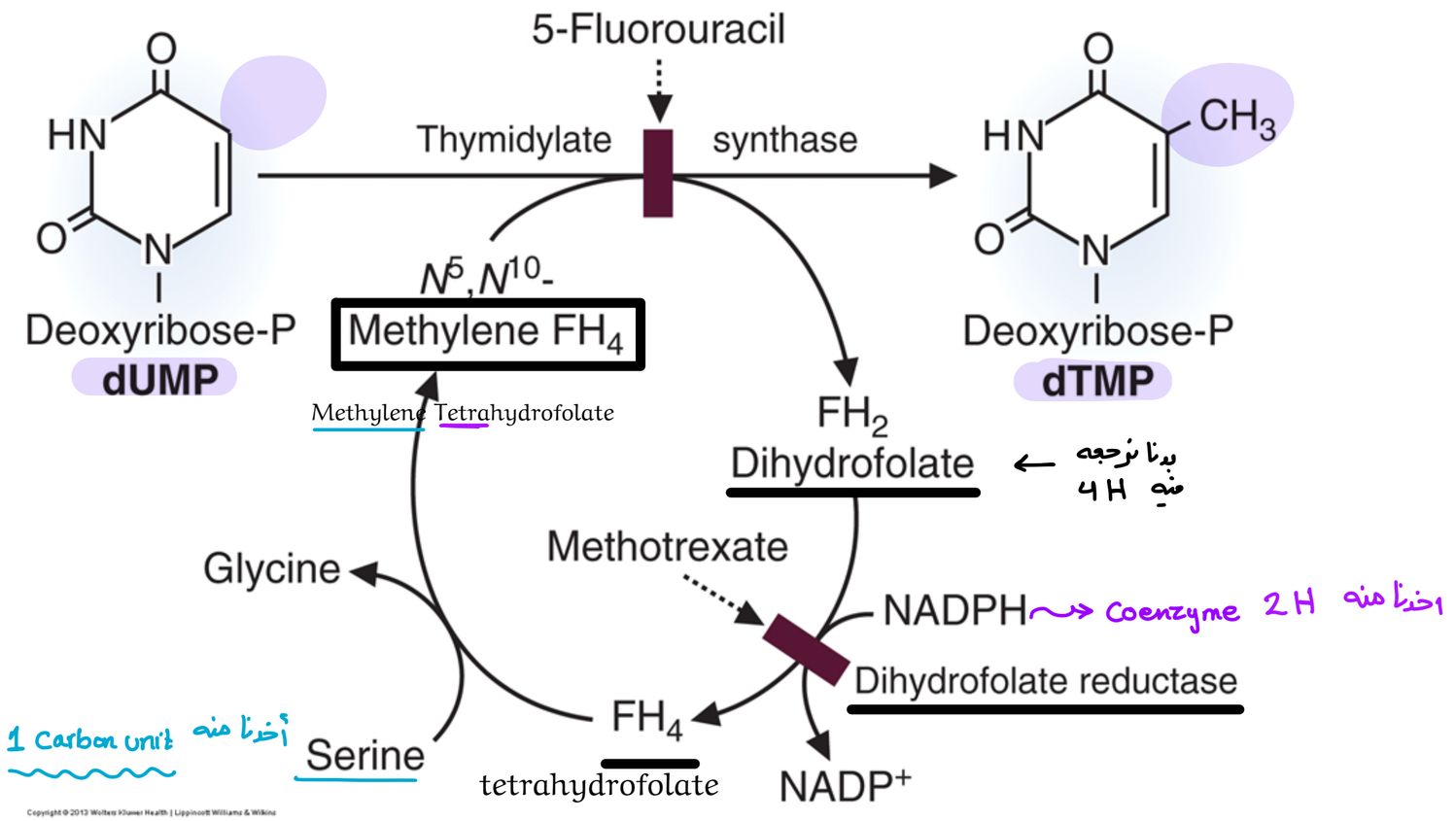
انه الناس اللي بتاخد methotrexate بصيرلهم drug resistance و بيلش ال cancer يرجع طيب ليه ؟

الجين اللي بطلع ال dihydrofolate reductase صارله amplification يعني عمل نسخ كتيير مع انه الشخص الطبيعي ما

عنده عدد هالقد كبير بس الدوا هاد كان السبب ورجع ال dihydrofolate يتحول ل tetrahydrofolate ورجعت ال

cancer cells تنقسم

ف ال dihydrofolate gene وحد من ال amplifiable genes اللي ممكن يصيرلها amplifications



ال folate هوه ال folic acid اللي هوه Vitamin B9 عشان هيك بكون مطلوب من الحوامل في اول ٣ اشهر من الحمل انهم ياخدو folic acid عشان ال baby يقدر يصنع ال DNA

Gene diminution:

- It is a rare form of regulation by removing a gene or genes from the genome e.g. complete loss of all genes in red blood cells during development.
- *A gene whose expression is only needed at a particular developmental point or in a particular tissue may be shut off by gene diminution. As reticulocytes mature into red blood cells all of their genes are lost as the nucleus is degraded.*

ممكن يصير العكس مش يزيد عدد الجينات يقل

ال RBCs مافيها nucleus يعني مافيها جين طيب
الخلايا الام اللي اجت منها هل برضو ما كان فيها
جينات ؟
لا كان فيها جينات و nucleus بس خلال عملية ال
development فقدنا ال nucleus وكل الجينات
ف صار اشي اسمه Gene diminution مع انه نوع
rare من ال regulation بس بصير انه يتم ازالة
واحد من الجينات في حالة بطلنا بدنا اياه مثلاً كان بدنا اياه
بعملية ال development وهلا خلص بطلنا بدنا اياه

2- Transcriptional regulation.

- **Chromatin remodeling**
  - Cytosine methylation
  - Histone acetylation
- **DNA regulatory regions**
  - Basal expression elements
  - Regulated expression elemets

Cytosine methylation

CG islands

أو بسميهم

- **Many mammalian genes have CG- rich regions upstream of the coding region, that provide multiple sites for methylation.**

- **The methyl group is added by DNA methylase on both strands of DNA in 5`-CG-3` dinucleotides.**

لقينا باغلبية الجينات انه في ال upstream part من ال coding region (ال 3prime end) مناطق تسبق ال coding region بتتحكم فيه ... وهاي المناطق غنيه ب CG dinuclutids بتسميهم

ولقينا انه ال cytosine الموجود في ال CG regions ممكن يصيرله methylation عن طريق انزيم اسمه DNA methylase بحيث ال methyl group ع ال cytosine ضمن ال CG regions بال 2strands لانه CG باول strand قبالها برضو CG بال strand التاني

كيف رح ياثر ال methylation ع ال gene expression

- **Heavy methylation is associated with genes for which the rate of transcription is low.**

- **Transcribtionally inactive chromatin is densly packed (**a highly coiled and compact structure) **during interphase as observed by electron microscopic studies and is referred to as heterochromatin; transcriptionally active chromatin stains less densely and is referred to as euchromatin.**

- **methylation converts the active euchromatin into inactive heterochromatin and it may result in transcriptional silencing. Reactivation occurs by demethylation.**

لقينا انه الجينات اللي transcriptionaly inactive بمنطقة ال CG ال Cytosine عليه methyl group بكثره
معناها ال
methylation is associated with gene silencing

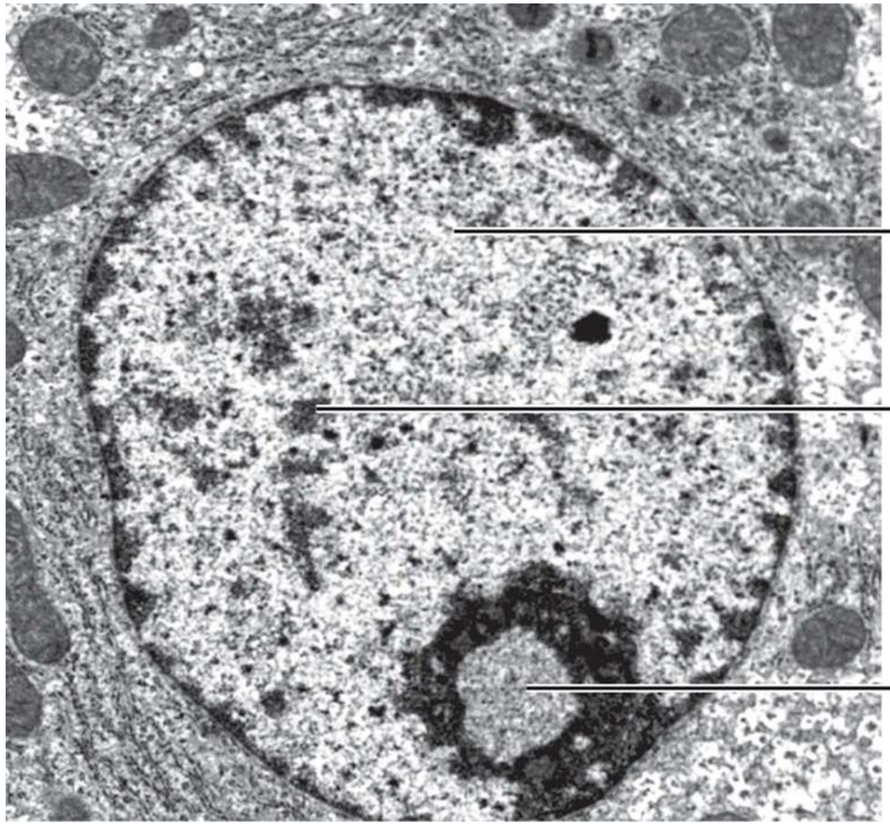
احنا ما قربنا ع ال coding region تاعت الجين احنا اثرنا ع ال gene expression عن طريق اني عملت تغييرات ع المناطق ال upstream اله

اللي اكدلنا هاد الموضوع انه لما تطلعنا تحت الميكروسكوب ع ال Chromatin عن طريق انه صبغناه بصبغات معينه لقينا في اماكن غامقه وماخده الصبغه ومناطق فاتحه
الغامقه heterochromatin <— لقيناها transcriptionaly inactive + وكمان methylated
الفاتحه euchromatin <— لقيناها transcriptionaly inactive وال gene expression عالي + non methylated

لو حابين نحول ال heterochromatin ل euchromatin

بنعمل demethylation يعني بنشيل ال methyl group

اللي ع ال cytosine

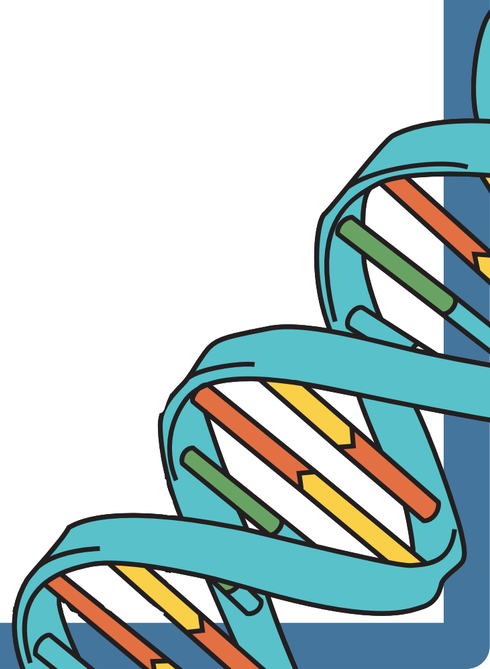


outside

- **Heavy methylation is one of epigenetic mechanisms that marks a gene for silencing.**

بمعنى انه احنا أثرنا ع الـ gene expression
من دون ماأثر ع الـ traditional genetic matirial
يعني ماقربنا ع الـ sequences تاعون الجين احنا اشتغلنا
برا الجين وأثرنا من بعيد

- **The Greek prefix *epi-* (ἐπι- "over, outside of, around") in *epigenetics* implies features that are "on top of" or "in addition to" the traditional genetic basis for inheritance. *Therefore epigenetic refers to heritable changes in gene expression that are not due to changes in the DNA sequence itself.***



Histone acetylation

- **Acetylation at the N-terminal (lysine) reduces the histone positive charges & decreases the binding affinity of histones for the negative charged DNA, <u>which allows the access of the different transcription factors to act.</u>**

- **Deacetylation reverses the process.**

الهستون هوه البروتين اللي بلف عليه ال DNA وهوه positively charged لانه rich بال A.A اللي اسمه lysin و Arginine اللي هم basic

لو عملنا acetylation للهستون يعني نحط acetyl group عند ال N terminal lysine (مش الهستون بروتين يعني اله N و C terminal) هاي ال acetyl group مشحونه بشحنه سالبه لما اضيفها للهستون عملتله reduction قللت ال positivety يعني ال DNA ما رح يقدر يلف عليه لانه صار سالب وال DNA سالب معناها ال DNA رح يفك ويصير مكشوف ف بصير سهل لل transcription factors انهم يروحو لل DNA ويعملو transcription هيك صار كانه ال Histone acetylation زاد ال gene expression ف عمل عكس ال Cytosine methylation

ولو بدي ارجع الهستون زي ما كان بعمل بكل بساطه Histone deacetylation

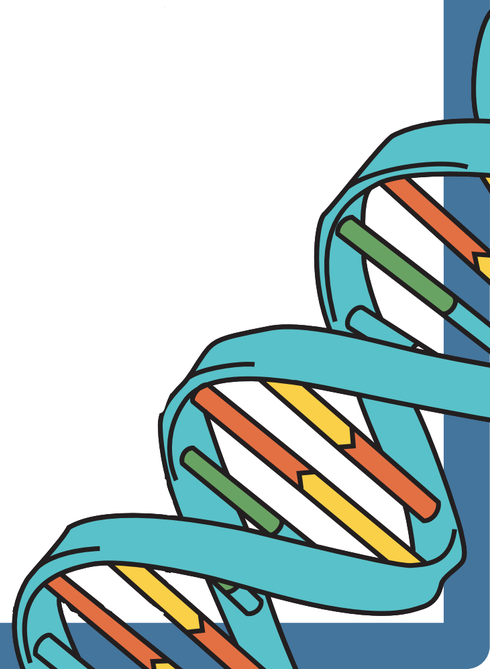
DNA regulatory regions

المناطق اللي رح تفلارا mRNA وتعطينا transcription translation يروح الريبوسوم ويعمل ويعطينا بروتين

المناطق المنظمة لعملية transcription ال promoter مثل ال وبتصير لمتسمين

- Each gene can be divided into coding & regulatory regions, as defined by the transcription start site.

- In case of class II gene (transcribed by polymerase II), the coding region contains the DNA sequence that is transcribed into mRNA, which is translated into protein.



The regulatory region consists of two classes of elements as follows:

A- Basal expression elements

B- Regulated expression elements
(cis-acting elements)

- **Basal expression elements**: it contains لازم يكونو موجودين

promoter كاتشبال ←

proximal element or TATA box that directs the RNA polymerase II to the correct start site (+1)

قريبة لل (+1)

The upstream element e.g. CAAT box or GC box that specify the frequency of initiation

rate of transcription

موجودين ببعض الجينات

- **Regulated expression elements (cis-acting elements): they are specific DNA sequences that are present on the same gene, so termed cis-elements, and are responsible for regulation of expression & include the following elements:**

سبب التسمية

on the same region

يعني بنفس منطقة الجين اللي راح تنظمه

Enhancers

يعني الـ elements هيدا بيمسك هيدا بعض البروتينات بتزود الـ gene expression عن طريق انو بتسهل عملية الـ initiation of transcription

واسم البروتينات trans factors

بسبب انه هاي البروتينات جاي من جينات تانية كلياً مااا دخل بالجين اللي بدوله تنظم

وسميناها cis لإنو قريبة من الجين اللي بدها تنظم عمله

they interact with gene regulatory proteins or trans-factors (so termed because they are produced by other genes) and increase the rate of expression (they facilitate initiation of transcription)

Silencers

هيه مناطق الما بيجي بيمسك فيا بروتينات معينة بنلاقي انه الجين القريب من هاي المناطق صارله ↓ decrease of gene expression

بمعنى بتطل بسهل initiation

they interact with gene regulatory proteins or trans-factors and decrease the rate of expression (they inhibit initiation of transcription)

Other regulatory elements

هيه مناطق تانية حاملة بـ Specific proteins او Chemicals أو Signals او هرمونات

يعني مثلاً الهرمون X وظيفته يعمل تزويد لـ expression الجين اللي اسمه X طيب كيف؟

الهرمون بروح بيمسك بـ receptors معينين وهاي الـ receptors بتمسك بمناطق قريبة لهاد الجين وبتروح بتزود الـ expression إلاه

ومن هون إجت تسميته

They mediate response to various signals including chemicals, metals and hormones. In the latter case, it is termed the hormone response elements (HRE)

مش كل الهرمونات بتشتغل بالطريقة هاي