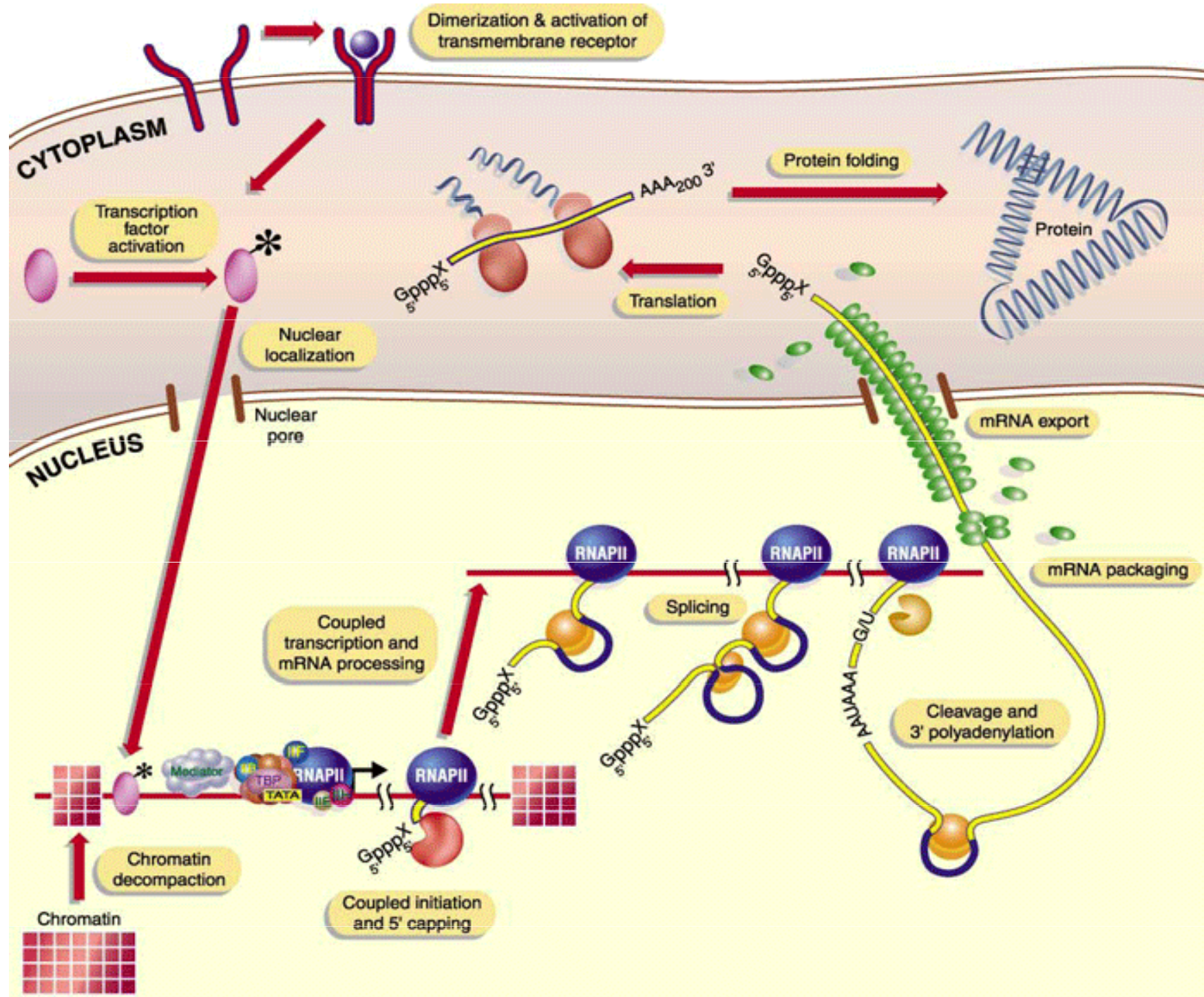


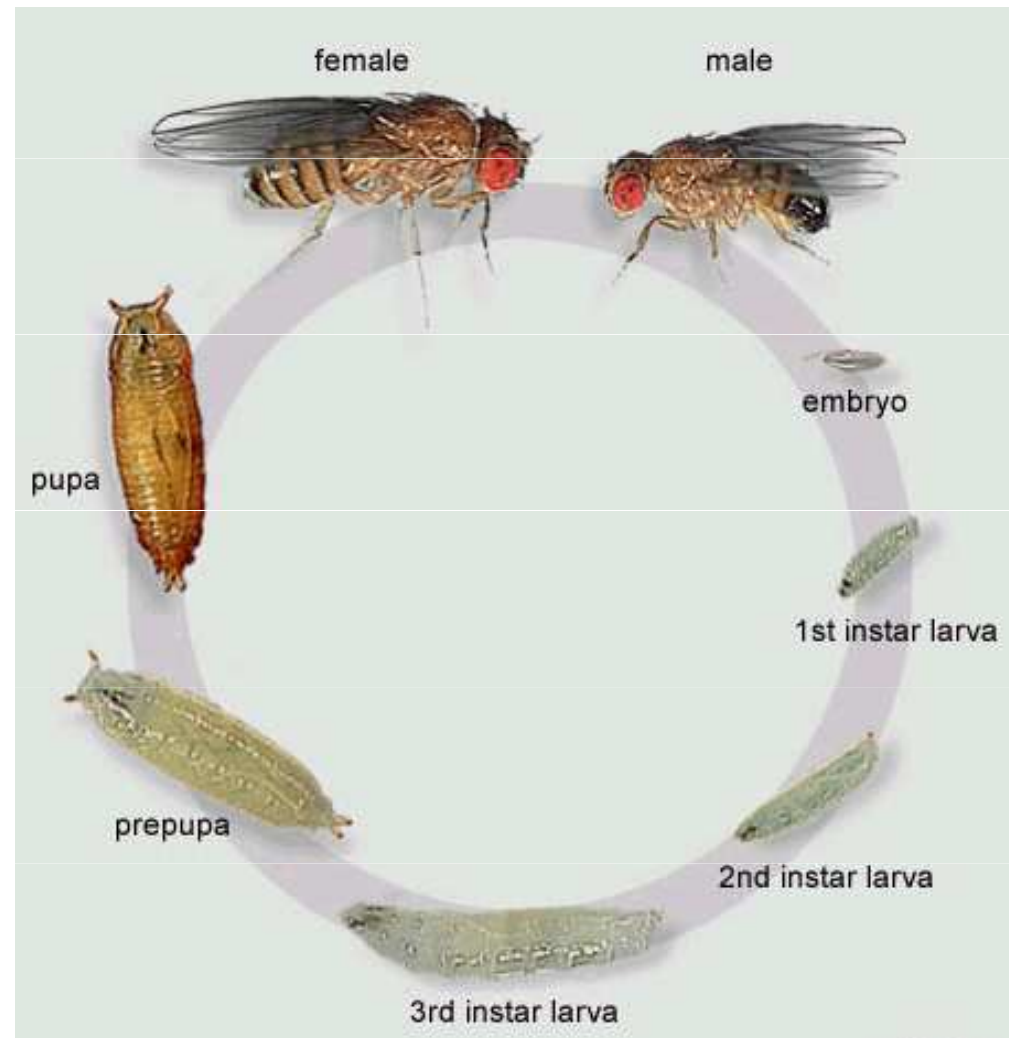


Mechanismy lokalizace mRNA

Michaela Kunová
Markéta Kaucká
Daniela Krejčová

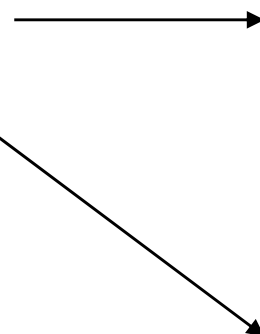


Životní cyklus *Drosophila melanogaster*

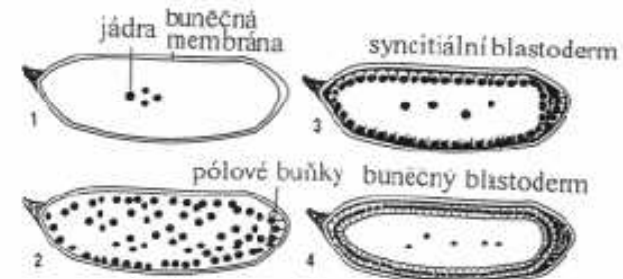


Embryonální vývoj *Drosophila melanogaster*

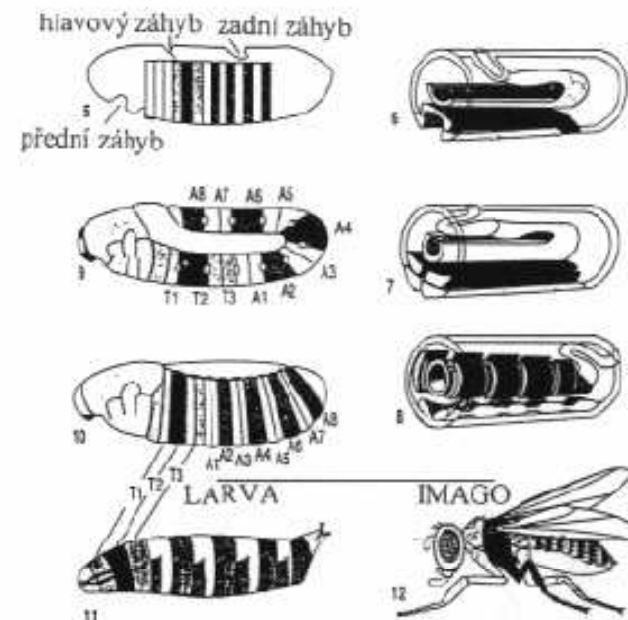
- vaječná buňka
- syncytiální blastoderm
- buněčný blastoderm
- gastrulace a segmentace



RÝHOVÁNÍ



GASTRULACE A SEGMENTACE



Zúčastněné geny

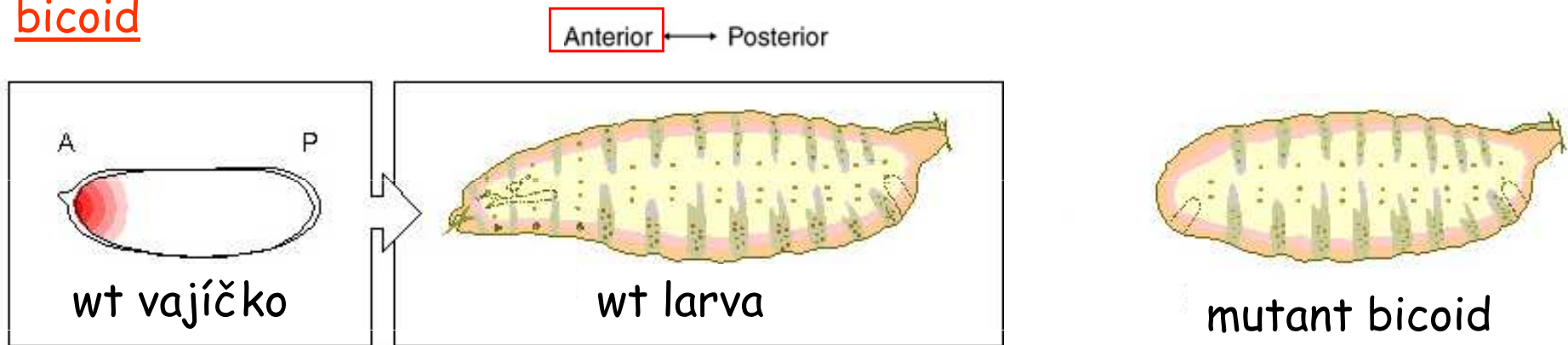
- g. maternálního účinku
- g. řídící článkování těla
- g. zodpovědné za identitu článků - homeotické geny
- g. řídící tvorbu kompletních orgánů

Maternální geny

- Transkripce ve vaječnku, translace až po fertilizaci
 - a) Určující anterior-posterior polaritu: např. nanos, bicoid, oskar, gurken
 - b) Určující dorso-ventrální polaritu: dorsal, toll

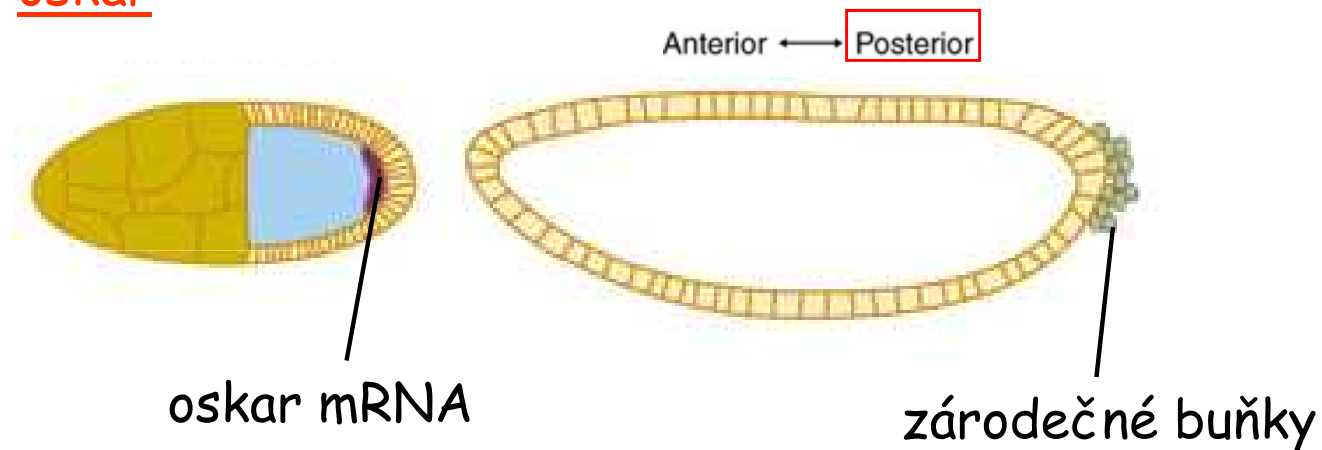
Maternální geny

bicoid



http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DB_Ch05/fig5_4.jpg

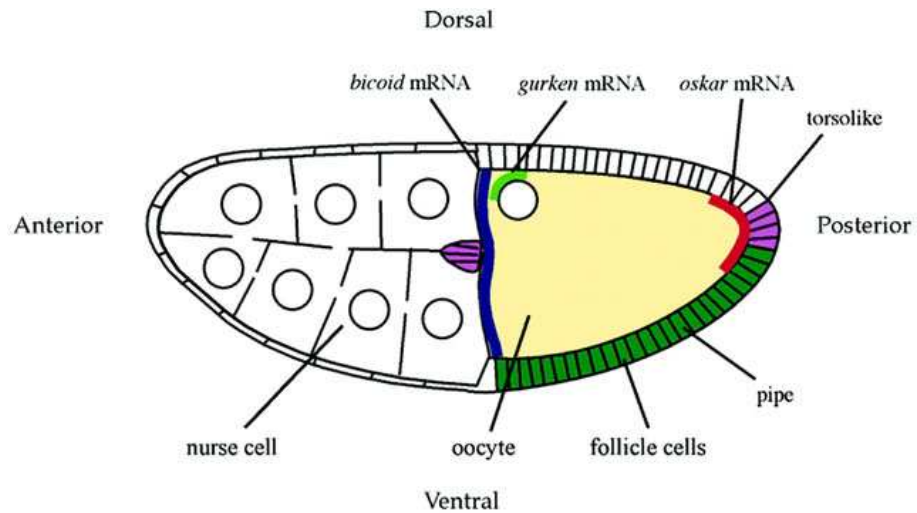
oskar



<http://www.nature.com/ncb/journal/v4/n5/images/ncb0502-e117-f1.jpg>

Maternální geny

gurken



<http://www.nature.com/emboj/journal/v20/n22/images/7594108f2.jpg>

http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL3530/DB_Ch05/fig5_12.jpg

Důvody lokalizace mRNA

1. lokalizace mRNA zabraňuje nežádoucí expresi jinde než v místě potřeby
 - př. cytoplazmatické determinanty v embryu *D. melanogaster* - *oskar*, *nanos*; změna lokalizace vede k vývojovým abnormalitám
2. rychlejší reakce na lokální požadavek proteinu
 - důležité především u velkých, polarizovaných buněk (např. neurony)

Mechanismy lokalizace mRNA

1) místně specifická syntéza (vzácná)

- *gurken* mRNA u *Drosophily melanogaster*

2) lokální ochrana před degradací

- degradace nesprávně lokalizovaných transkriptů
- vyžaduje dva odlišné cis-elementy v 3' UTR oblasti (degradační a protekční)
- evolučně konzervované

3) difúze a ukotvení

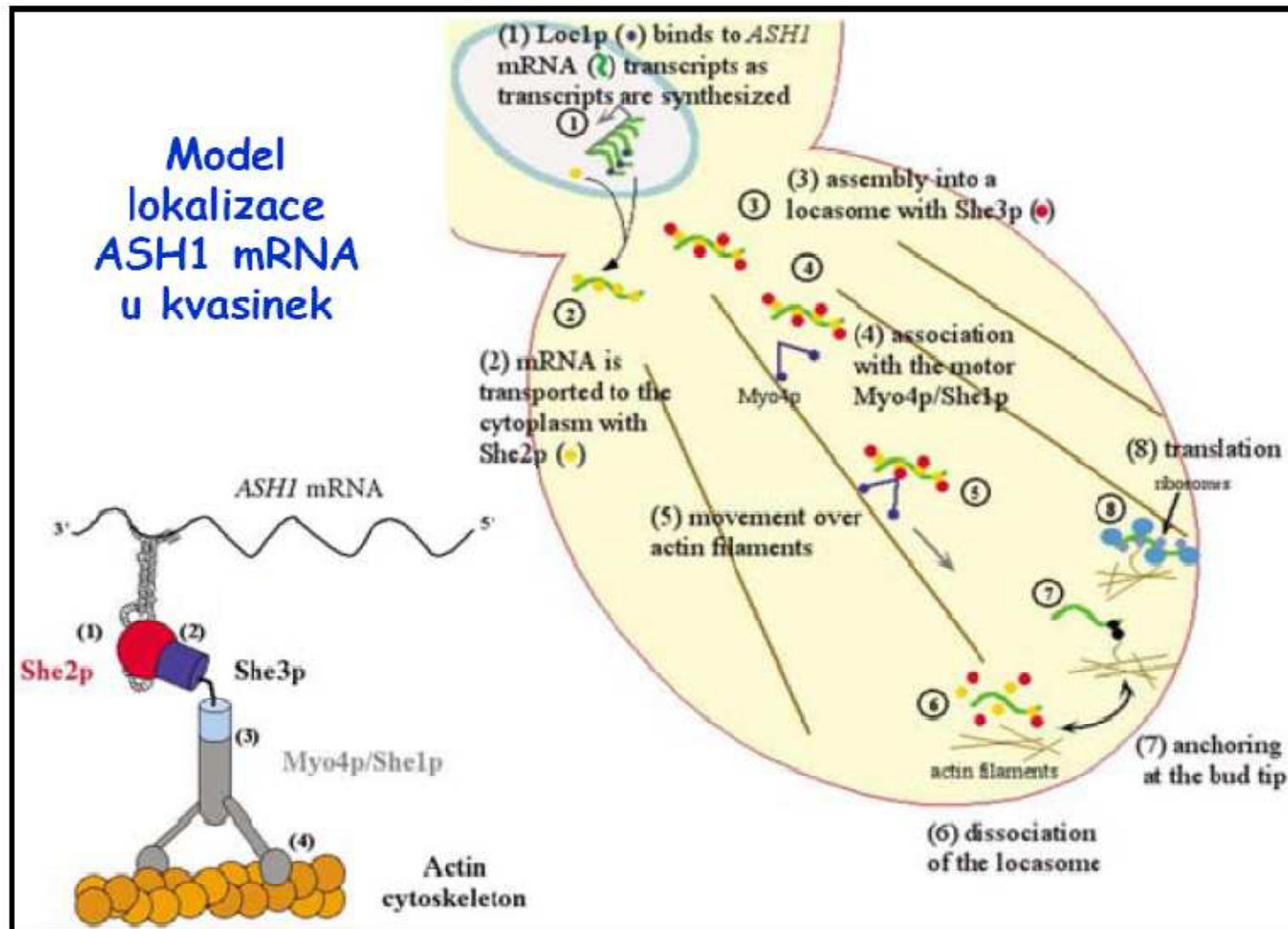
- pasivní difúze cytoplazmou až do zachycení vazeb. proteinem
- nanos, cyklin B, *gcl* - posterior oocyty *Drosophila*

4) aktivní transport

- řízený cytoplazmatický transport za účasti cytoskeletu (myosiny, dyneiny, kinesiny + organely a další struktury)

Transport mRNA podél aktinových vláken

- dimer She2 - She2
- vazba na všechna 4 vazebná místa na *ASH1* mRNA
- zvýšení afinity She2 k She3 (navázání She3)
- She3 naváže *Myo4* (myosin V)
- *Myo4* táhne *ASH1* mRNA podél aktinových vláken k pupenu kvasinky



Interakce s mikrotubulovými motory

a) dynein

- aktivní transport mRNA k „mínus konci“ mikrotubulu, tj. k centrozomu

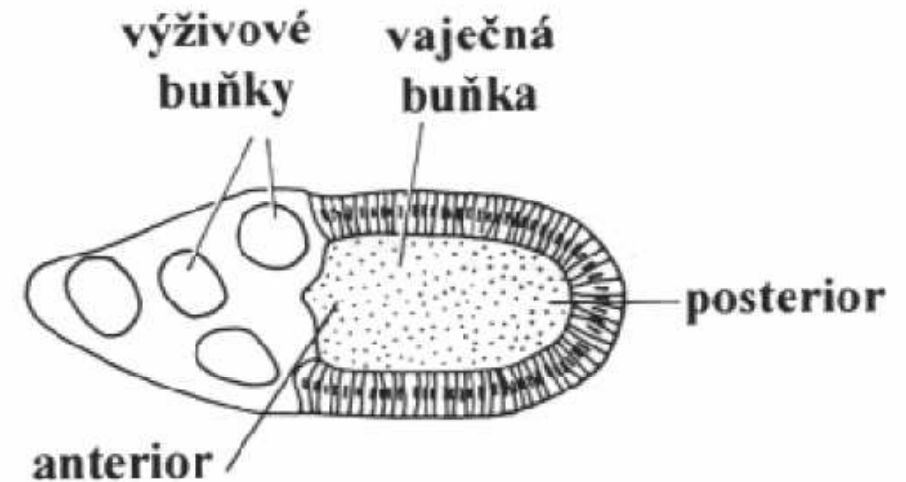
bicoid mRNA

- *Drosophila*, oogeneze
- transport z pomocných buněk do oocyty; anterior

gurken mRNA

- dorsal-anteriorní lokalizace v oocyty

mRNA genů párového účinku



bicoid mRNA



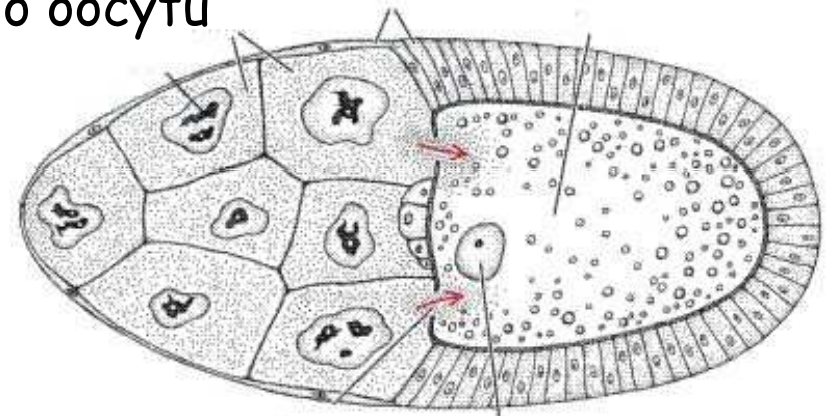
Interakce s mikrotubulovými motory

b) kinesin

- velká rodina molekulárních motorů; min. 1 polypeptid, jenž se váže na doménu motoru
- pohybuje se k „plus konci“ mikrotubulů, tj. od centrozomu
- přenos nejen mRNA, ale i mtch a jiných organel

oskar mRNA

- syntéza v pomocných buňkách, transport do oocyty



Signály mRNA lokalizace

- interakce lokalizačních elementů s transaktivačními proteiny, tvorba specifického ribonukleoproteinového komplexu (RNP)

Tvorba RNP komplexu

- asociace lokalizačního elementu s vazebnými proteiny (např. *Vg1* mRNA *X. laevis* s p78, p69, p60, p40, p36, p33)
- místně specifický děj

Signály mRNA lokalizace

Lokalizační cis-elementy

- 3' -UTR
- multikomponentní systémy
- v blízkosti sekvencí ovlivňujících další procesy (translace, stabilita) nebo se s nimi překrývají
- rozpoznávány RNA vazebnými proteiny (Staufen, ZBP1, hnRNP2)
- redundance
- komplexnost

Transaktivační faktory

- rozpoznávají jednoduchou sekvenci řídící lokalizaci mRNA
- neovlivňují translaci, ale umožňují lokalizaci mRNA

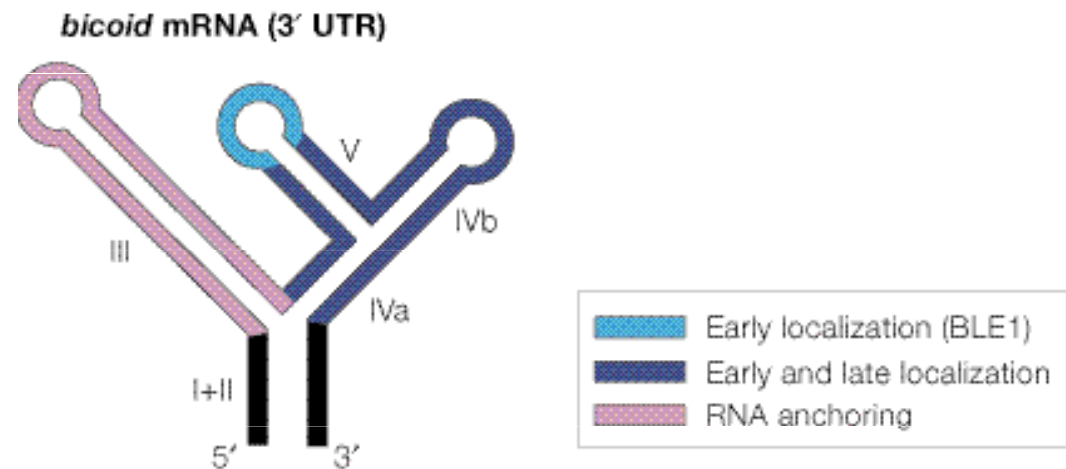
Př. *MBP* mRNA - **A2RE element** - 11 nukleotidů, nezbytný k řízení procesů spojených s *MBP* mRNA v oligodendrocytech, vazba s hnRNP A2 proteinem

- Mnohastupňový proces - každý krok řízen jiným elementem

Př. Redundance u *X. laevis* - *Vg1* a *VegT* mRNA vyžadují pro lokalizaci do vegetativního pólu oocyty mnohonásobné kopie 2 opakujících se elementů: E2 element a VM1 motif

Př. *bicoid* mRNA

- >600 nukleotidů



Tvorba mRNA tělísek

- 30 mRNA molekul
- shluknutí do transportních částic
- *oskar* mRNA - putuje na jiných *oskar* mRNA molekulách
- *bicoid* mRNA - tvorba dimerů

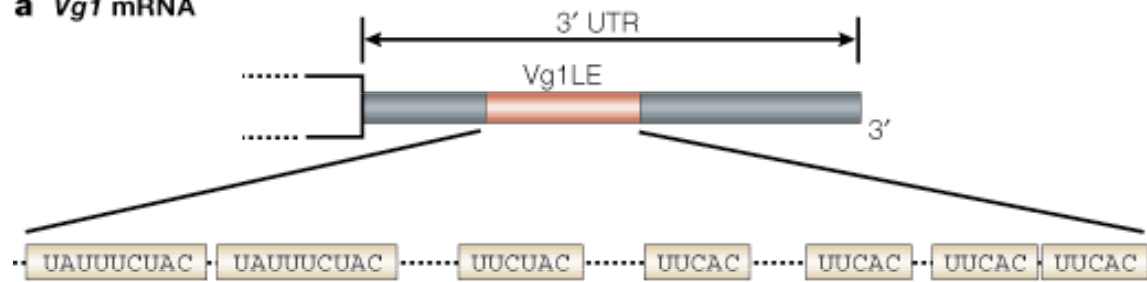
Regulace translace

- mRNA není translatována dokud se nedostane do svého cílového místa
- Proteiny interagující s 5' -UTR:
 - stabilizátory mRNA a inhibitory translace
 - zesilovače translace (enhancery)
- Proteiny interagující s 3' -UTR:
 - stabilita a lokalizace mRNA
 - význam polyadenylace mRNA -> vyšší stabilita mRNA

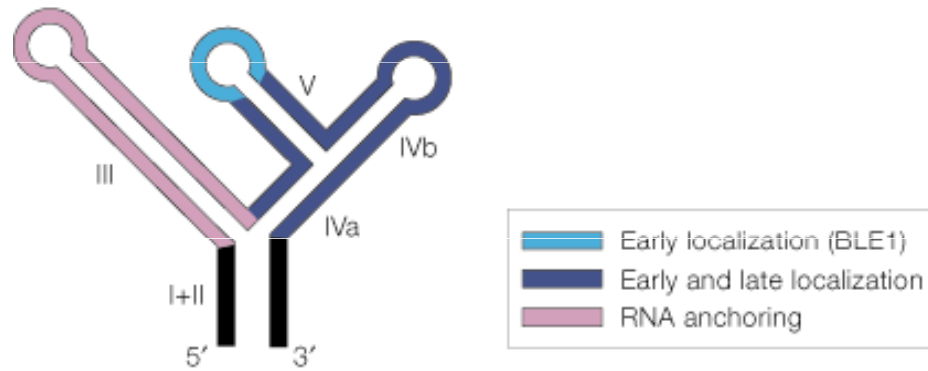


Děkujeme za pozornost

a *Vg1* mRNA



b *bicoid* mRNA (3' UTR)



c *ASH1* mRNA

