

# Nem-kódoló RNS-ek

**DIA 9 Meglepetések: egy Új RNS Világ** Az RNS gének olyan leíró DNS szakaszok, amelyek nem kódolnak fehérjét, innen ered a nevük: nem-kódoló RNS-ek (ncRNA; *non-coding RNA*). Egészen mostanáig a kutatók szinte kizárólag a fehérjeszintézisben közvetlenül résztvevő kódoló (mRNS), és nem-kódoló (tRNS, rRNS) RNS-ekre szenteltek figyelmet, mivel ezeket tekintették funkcionális szempontból fontosnak. A nem-kódoló RNS-ek szerepét annyira alábecsülték, hogy a 2001-ben publikált humán genom nyers változatában, egyetlen egy RNS gént sem analizáltak. A ma elfogadott RNS Világ Hipotézis szerint az élet hajnalán az RNS-ek alapvetően fontos szerepet játszottak; ezek a molekulák töltötték be az örökítő anyag és az enzim funkcióját „egy személyben”. Az evolúció későbbi szakaszában azonban ezt a két szerepet átvette a DNS és a fehérje, s úgy tűnt az RNS-ek számára pusztán az asszisztáló szerepe maradt. A mRNS-ek a DNS és a fehérje között közvetítik az információt, a tRNS-ek az aminosavakat szállítják, a rRNS-ek pedig a translációt lebonyolító riboszómák komponensei. Az utóbbi néhány évben az RNS-ek szerepének és fontosságának megítélésében a helyzet gyökeresen megváltozott. Ezt jelzi az a tény is, hogy az ismert RNS gének száma rohamosan nő. A parányi mitokondriális genom kivételesnek számít a maga 65%-ot kitevő RNS géneivel (22 tRNA és 2 rRNS gének). Egyes kis RNS molekulák komplex ribonukleo-proteinek komponensei, amelyek különféle folyamatokban vesznek részt, pl. splicing, a rRNS és tRNS-ek prekursorainak érésében (vágás és kémiai módosítás). Ezek az RNS-ek egyfajta idegenvezető szerepet töltenek be azért, hogy a fehérje faktorokat odavezetik a cél-RNS-ekhez, lévén a szekvenciájuk komplementer ezekkel, s a fehérjék végzik el az adott feladatot. Az ncRNS-ek egy másik funkciója pl. az X kromoszómák inaktivációjával és az ún. genetikai imprinting-el kapcsolatos (mindkettőt ld. Epigenetika c. előadás). A telomeráz enzim szintén RNS komponenst tartalmaz. A ncRNS-ek néhány féléseit korábban is ismerték, de csupán különleges kivételeknek tekintették őket. **Mi változott meg az utóbbi néhány évben?** (1) Mára egyértelművé vált, hogy az RNS gének nem csupán a fehérjeszintézisben segédkeznek, hanem fontos szabályozó funkciót töltenek be különféle molekuláris folyamatokban. Több, teljesen új ncRNA családot fedeztek el. (2) Továbbá, a teljes genom vizsgálata azt mutatja, hogy az emberi DNS legalább 85%-a transzkripcionálisan aktív (lehet, hogy 90%-nál is nagyobb ez az arány). Ez az adat azért meglepő, mert a teljes genom mindössze 1,1%-át teszik ki a kódoló gének, a transzpozonok túlnyomó többsége pedig működésképtelen. Tehát, a helyzet az, hogy, a heterokromatin régiókat leszámítva, az egész genom leíródik. (3) Egy harmadik meglepetés az RNS-ek multigénes transzkripciója, ami azt jelenti, hogy egyetlen RNS molekula több kisebb RNS-re vagy fehérjére vonatkozó információt is hordozhat (ld. alternatív RNS érési folyamatok). **Megjegyzés:** az eukarióta sejtekben egy mRNS-en egyetlen gén helyezkedhet el, szemben a bakteriális mRNS-ekkel, amelyek több gén információját is hordozhatják (policisztronos RNS-ek; ld. Lac operon c. szeminárium). (4) Egy további váratlan fordulatot az a megfigyelés hozott, hogy az emberi gének legalább 70%-a két irányból is leíródik. Ez annyit jelent, hogy nem csupán az antiszensz DNS-ről képződik mRNS, hanem az értelmes DNS szárlól is folyik transzkripció, antiszensz RNS-eket produkálva. (5) Végül, de nem utolsósorban, sok olyan konzervatív (hosszú ideig változatlan, vagy rendkívül lassan változó) DNS szakaszt találtak, amely RNS-t ír le, de ez nem kódol fehérjét. Eddig azt gondolták, hogy a DNS-nek azok a szakaszai konzervatívak, amelyek fehérjét határoznak meg, mivel egy mutáció elronthatja a fehérje funkciót. Ezért a kódoló gének a negatív szelekció hatása alatt állnak, ami azt jelenti, hogy a hordozó egyed halála vagy csökkent reprodukciós képessége miatt a mutáció nem fog elterjedni a populációban. Az RNS gének szekvenciális konzervativizmusa azt jelzi, hogy fontos, nukleotid sorrendjükkel szorosan összefüggő, feladatuk van a sejtben. **Összefoglalva**, az új adatok megkérdőjelezik a gének és az intergénikus régiók közötti megkülönböztetés értelmességét, mivel a gének fogalmának radikális újraértelmezése szükségeltetik. Sokan úgy vélik, hogy a sejtjeinket korrektebb lenne fehérje gépezetek helyett RNS gépezeteknek tekintenünk. Valójában a sejt biokémiai funkcióit zömében a fehérjék látják el (kivételek ribozimek). A nem-kódoló RNS-ek inkább génextpressziót szabályozzák különféle szinteken (transzkripció, transláció, stb.)

**DIA 10** RNS féleségek ld. dia

**DIA 11-13** Nem-kódoló RNS-ek típusait illetően ld. diák

**DIA 14 Ribozimek: az ősi RNS Világ relikviái?** A ribozim kifejezés a *ribonucleic acid enzyme* (ribonukleinsav enzim) kifejezésből származik; nevezik őket még RNS enzimeknek és katalitikus RNS-eknek is. A ribozimek jól meghatározott térbeli szerkezettel rendelkeznek. Sok ribozim a saját vagy más RNS-ek foszfodiészter kötéseit bontja el, mások a riboszóma peptidil transzferáz aktivitását biztosítják. Ez előbbire jó példák RNáz P, amely fehérjék nélkül fejt ki ribonukleáz aktivitást, az utóbbira pedig az 50S riboszóma rRNS-ei szolgálnak példa gyanánt. További ribozimek autokatalitikus módon (saját magukat módosítva) képesek a saját intronjaik kivágására. Relikvia = emlék, maradvány

**DIA 15 Kis magi RNS-ek** (*small nuclear RNA; snRNA*) Különböző kis snRNS családokról ismert, hogy a sejtmagban fejtik ki hatásukat. Leggyakoribb funkciójuk a génkifejeződés szabályozása, különösen a transzkripciót követő folyamatokban. 60-360 nukleotidból állnak. Típusai: spliceozómális snRNS-ek, nem-spliceozómális snRNS-ek, kis magvacskas RNS-ek (snoRNS-ek), és kis Cajal test RNS-ek (scaRNS-ek).

**Spliceozómális snRNS gének** A 9 emberi spliceozómális snRNS 106–186 nukleotidból áll, s egy 7 magból álló fehérjegyűrűvel kapcsolódnak. Az U1, U2, U4, U5 és U6 RNS-ek (a nevük a magas uracil tartalomtól ered) a nagy spliceozóma komponensei, és a hagyományos GU-AG intronok kivágódásában segédkeznek. A másik 4 RNS molekula a kis spliceozóma komponensei, s az AU-AC intronok splicing mechanizmusában vesznek részt. Több mint 70 gén kódol nagy spliceozómában elhelyezkedő snRNS-t, ebből 44 U6, 16 pedig U1 snRNS-t kódol.

**Nem-spliceozómális snRNS gének** Az ebbe a csoportba tartozó gének egy része csupán egyetlen kópiában van jelen a genomban, de több pszeudogén formájuk is előfordul. Három példa: (1) A U7 snRNS a hisztonok 3'-végének módosításában vesz részt. (2) A 7SK RNS az RNS pol-II pTEF $\alpha$  elongációs faktorának negatív regulátora. (3) Az Y RNS család 3 kis RNS-ből áll, amely a DNS replikációban és a sejtosztódás szabályozásában játszanak szerepet.

**Kis magvacskai RNS** (*small nucleolar RNA; snoRNA*) **gének.** A snoRNS molekulák 60-300 nukleotid nagyságúak. Kezdetben a sejtmagvacskában (nukleolusz) mutatták ki őket, innen a nevük. A sejtmagvacskában a rRNS-ek kémiai módosítását végzik. Több mint 340 emberi snoRNS ismert, ami azonban egy jelentősen alábecsült szám lehet, melynek oka az, hogy nehéz a bioinformatikai azonosításuk. E molekulák túlnyomó többsége egyes gének intronjaiban kódolt, tehát a szintézisük a gazdagénekével kapcsolt. Sok snoRNS egyetlen kópiában van jelen, mások több kópiások, s egy-egy kromoszóma bizonyos lokuszaiban koncentrálnak. Néhány snoRNS sejt-specifikusan fejeződik ki, mások szinte minden sejtben expresszálódnak. Példaként, a HBII-52 snoRNS 18-nukleotidja komplementer szekvenciájú a *HTR2C* (szerotonin receptor 2c) génnel, s az e gén által kódolt mRNS az alternatív splicing folyamatát szabályozza.

**Kis Cajal test RNS gén** (*Small Cajal body RNA; scaRNA*) A Cajal testek 0,3-1,0  $\mu$ m átmérőjű gömb alakú testecskék, melyek az osztódó vagy egyéb aktivitást mutató sejtekben fordulnak elő (nincs membránjuk). A scaRNS-ek hasonlítanak a snoRNS-ekre, de a célpontjuk spliceozómális snRNS-ek, melyek prekursorain kémiai módosításokat hajtanak végre. Legalább 25 humán scaRNS ismert, melyek intronokban helyezkednek el.

**DIA 16, 17 Az antiszensz RNS-ekhez** tartoznak a transz-antiszensz RNS-ek (a legtöbb miRNS; endogén siRNS; piRNS), és a cisz-antiszensz RNS-ek (átfedő- és egyes mikroRNS-ek). **Megjegyzés:** a mikroRNS-ek kódolódhatnak a cél-RNS-t meghatározó génnel megegyező (cisz pozíció) és távoli (transz pozíció) lokuszokban.

**DIA 18-20 Mikro RNS-ek (miRNS-ek)** A miRNS-ek a DNS-ről íródnak le, de nem olvasódnak le fehérjévé. Egyre több miRNS féleséget találnak a többsejtű szervezetek genomjaiban. Mivel a miRNS-ek szekvenciája konzervatív (lassan változik az evolúció során), viszonylag gyorsan lehet őket bioinformatikai módszerekkel azonosítani. A miRNS gének egy hozzávetőleg ezer bázispár (bp) hosszúságú RNS terméket (pri-miRNS-t) kódolnak. A pri-miRNS-ek érésük folyamán először pre-miRNS-és alakulnak (a Drosha nevű enzim közreműködésével) a sejtmagban. A pre-miRNS-eket az exportin-5 transzport fehérje a citoplazmába szállítja, ahol a Dicer enzim rövid 20-25 bp hosszúságú duplaszálú RNS-t vág ki ebből a molekulából. Ezt követően a duplaszálú molekula egy több alegységből álló fehérje komplexszel kapcsolódik, létrehozván az ún. RISC-et (*RNA-induced silencing complex*; RNS-által indukált csendesítő komplex). A RISC egyik komponense (egy argonaute nevű endoribonukleáz) a két RNS szálát szétválasztja, majd az egyik (*passenger* = utas) szálát elbontja, s így csak a *guide* (idegenvezető) szál kapcsolódik a RISC-hez. A guide szál feladata a RISC odaszállítása a szabályozandó (cél)-mRNS-hez, ahol a fehérje komplex kifejti a gátló hatását. Egy adott miRNS szekvenciája komplementer a cél-mRNS szekvenciájával, ezért képes megtalálni azt. Egy miRNS lehet tökéletesen komplementer partnere egy mRNS-nek, s ekkor a mRNS degradációját idézi elő az ún. RNS interferencia\* (**RNSi**; ld. később) által, vagy pedig részleges homológia esetén blokkolja a transzlációt. Ez utóbbi feltételezett mechanizmusa azon alapszik, hogy az miRNS a mRNS 3'-UTR részéhez kapcsolódva gátolja ennek a régióknak transzlációt kezdeményező hatását, s így a leolvasás nem tud elkezdődni. Eddig több mint 700 ember miRNS-t írtak le, de ez a szám valószínűleg még jelentősen növekedni fog. A részleges komplementaritás miatt, egy miRNS többféle hasonló szekvenciájú mRNS-t is szabályozhat, s ezért azt feltételezik, hogy az emberi gének legalább 1/3-a ezen kis RNS-ek szabályozása alatt áll. Nem csak egy miRNS szabályozhat több gént, hanem egy gén is állhat több miRNS szabályozása alatt.

**DIA 21 Endogén kis interferáló RNS (*Endogenous small interfering RNAs; endo-siRNAs*)** Nemrégén vált csupán ismertté, hogy természetesen előforduló siRNS-ek is léteznek (ld. RNS interferencia) Az endo-siRNS-ek nagyon változatos szerkezetű molekulák, sok ezer fajtájukat azonosították már. Jelenlegi ismereteink szerint a pseudo-génekről képződnek, s a valódi gének működését szabályozzák.

**DIA 22 Piwi-fehérjével kölcsönható RNS-ek (*Piwi-protein-interacting RNA; piRNA*)** főként az emlősök csíravonal sejtjeiben aktívak. 24-31 nukleotid nagyságúak, s feladatuk a mobilis elemek ugrálásának gátlása. A transzpozonok mutációi a testi sejtekre nem túl ártalmasak, legfeljebb egy sejt pusztulásához vezethetnek (a ráksejtek képződése kivétel, ez veszélyt jelent a gazdaszervezetre). Az ivarsejtekben történő mutáció azért lehet veszélyes, mert az utód örökölheti. Ez az oka annak, hogy a csíravonal sejtek védelme fontosabb a testi sejtekénél. Több mint 15,000 különböző emberi piRNS-t írtak már le, ez a legváltozatosabb emberi RNS család. A piRNS-ek rendszerint egy transzpozon értelmes száláról íródnak le, ezért a keletkezett termék a transzpozon mRNS-ekkel komplementer szekvenciájú lesz (az mRNS az antiszensz DNS szálról íródik le). Ez a szabályozás alapja. A transzpozonok antiszensz RNS-ei (piRNS-ek) az ún. piwi proteinhez kapcsolódnak, oda vezetik a fehérjét az éppen leíródó transzpozon mRNS-ekhez. A piwi odavonzza a hiszton és a DNS metilációját végző enzimeket, amelyek a metiláció útján elcsendesítik a transzpozon gének aktivitását.

**DIA 23 Átfedő RNS-ek** A természetes cisz-antiszensz RNS-ek a DNS értelmes száláról képződnek. Olyan rendkívül meglepő adatok láttak napvilágot, melyek azt mutatják, hogy az ember génjeinek legalább 70%-a cisz-antiszensz RNS-ek szabályozása alatt áll. A mRNS és az antiszensz RNS kapcsolódása elvileg (nem ismerjük) kétféle hatást gyakorolhat: (1) fizikailag gátolhatja a transzlációt (a poliA farok transzlációserkentő hatásának blokkolásával) vagy (2) az RNS interferencia útvonal indukciójával, ami a mRNS degradációjához vezet. Egyelőre nem világos, hogy a mRNS - antiszensz RNS kapcsolódás valóban végbemegy-e, mivel az emlős sejtekben a hosszú duplaszálú RNS antivirális hatást váltanak ki: az interferon útvonal aktiválódik, amely végső soron apoptózishoz vezet. Antiszensz transzkriptumokról természetesen csak a gének esetében beszélhetünk. A genom géneket nem tartalmazó régiókban is megfigyelték, hogy a DNS mindkét száláról folyik transzkripció. Ezeket az transzkriptumokat hosszú nem

kódoló RNS-eknek (*long non-coding RNA*; lncRNA) nevezzük. Mivel a genom mindössze 1.1%-a kódol fehérjét, ezért az lncRNS-ek csak egy kis hányadát nevezzük antiszensz átfedő RNS-eknek.

**DIA 24 HAR** Az emberi DNS nem-kódoló részében 49 olyan régiót (HAR: *human accelerated region*) írtak le, amelyek a gerinces fajokban konzerváltak (nagyon lassan változnak az evolúció során), az embernél viszont erőteljes változás zajlott le a bázissorrend tekintetében. A 49 HAR szekvenciából 12 az agyban fejeződik ki. A HAR1 változásának a sebessége a legnagyobb: míg a csimpánz és a tyúk között 118 bázispáros szakaszon mindössze 2 bázispár eltérés van, addig a csimpánz és az ember között 18. Érdekesség, hogy a HAR1 az embrionális fejlődés 7-17. hetében az agykéreg kialakulásában szerepet játszó idegsejtekben fejeződik ki. A fentiek tükrében felvetődik a kérdés, hogy ezeknek a régióknak vajon fontos szerepe lehetett-e az emberi agy kialakulásában.

---

### JEGYZETEIM: