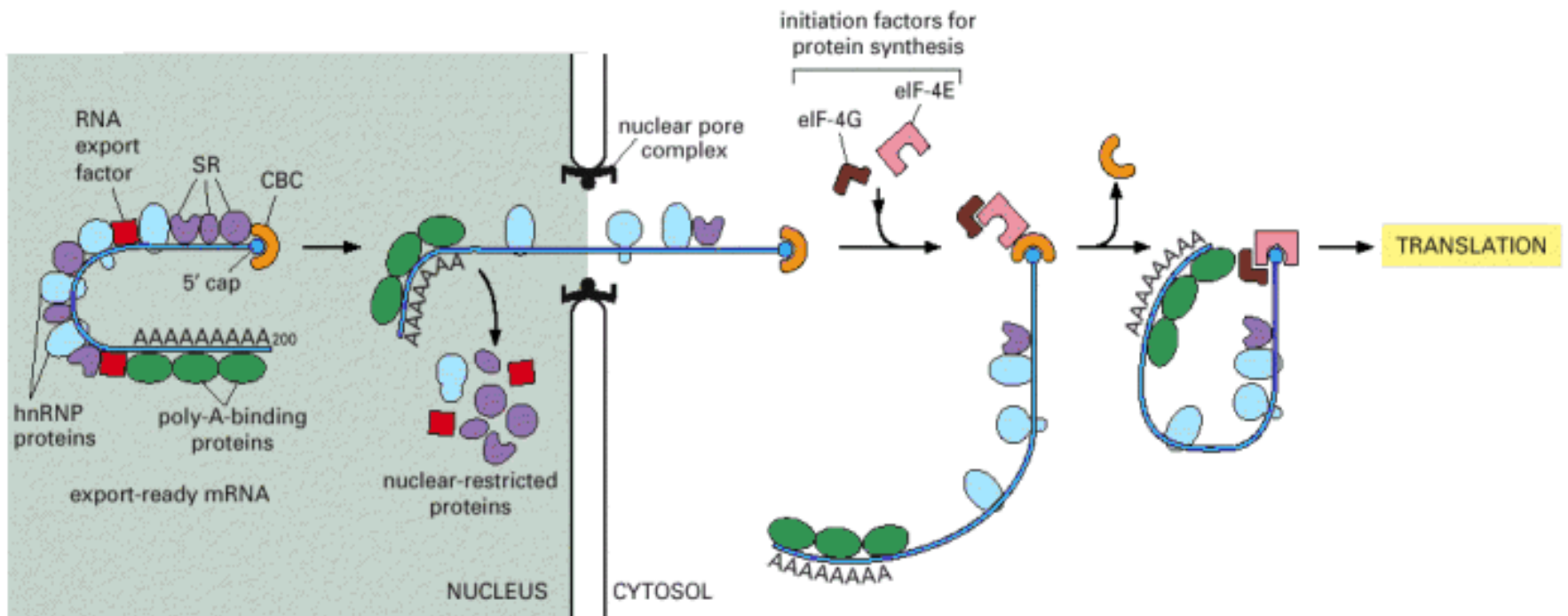


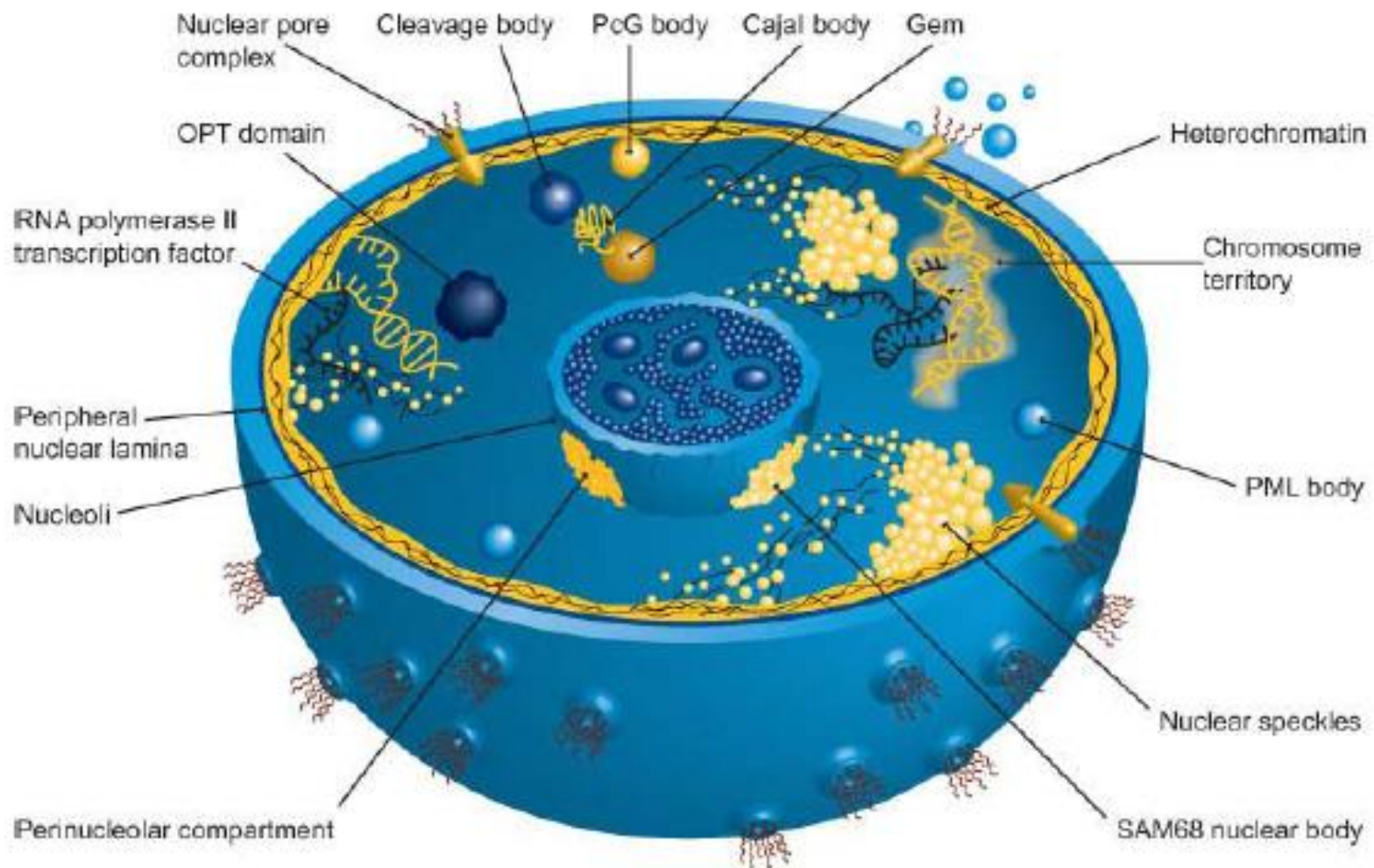
mRNA binding proteins

AND THE MESSAGES THEY CARRY

- The predominant part of the hnRNA synthesized in the nucleus is never transported into the cytosol but is degraded directly after synthesis. hnRNP
- mRNA occurs in the cytoplasm never in a free state. It is always bound to specific proteins forming a **ribonucleoprotein complex (mRNP)**.



Schematic illustration of an “export-ready” mRNA molecule and its transport through the nuclear pore.



➔ CANCER

➔ CANCER

Nuclear Domains

The sub-nuclear bodies lack a membrane separating them from the nucleoplasm

Nucleolus

synthesize rRNA and assemble ribosomal subunits.

Nuclear speckles

Cajal bodies

Gems (gemini of Cajal bodies)

SPLICING

Promyelocytic leukaemia (PML) nuclear bodies

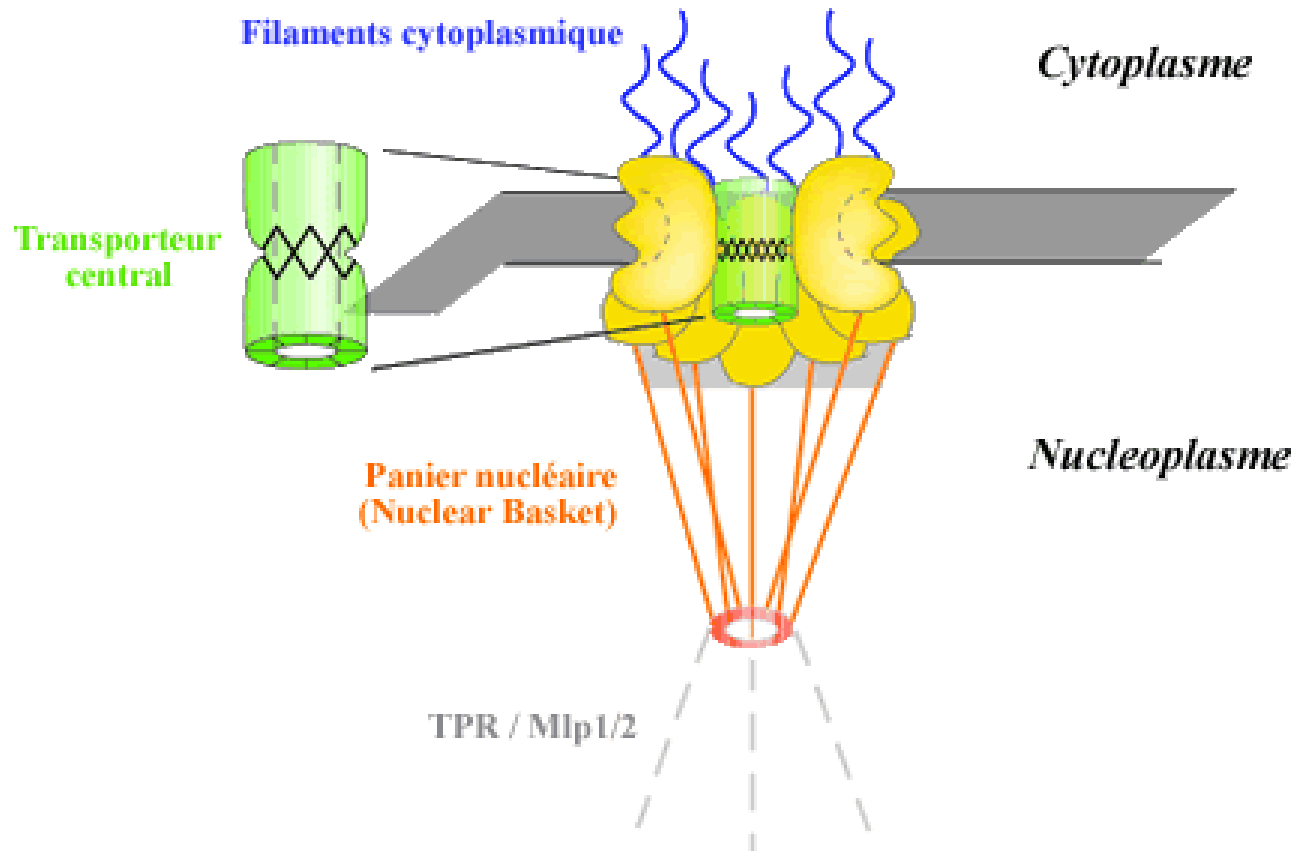
transcriptional regulation and anti-viral responses

OPT domain

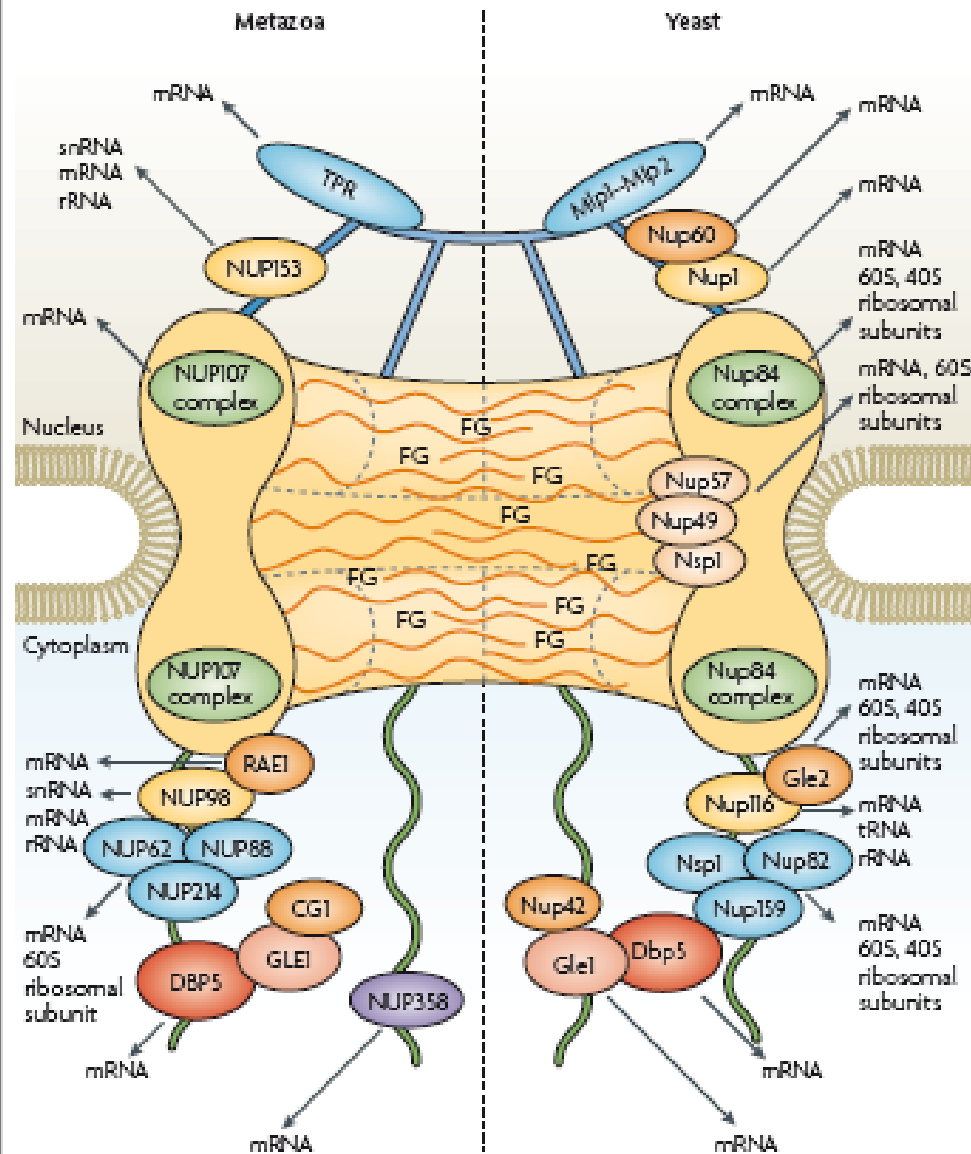
phase G1

mRNA export

Le PORE NUCLEAIRE

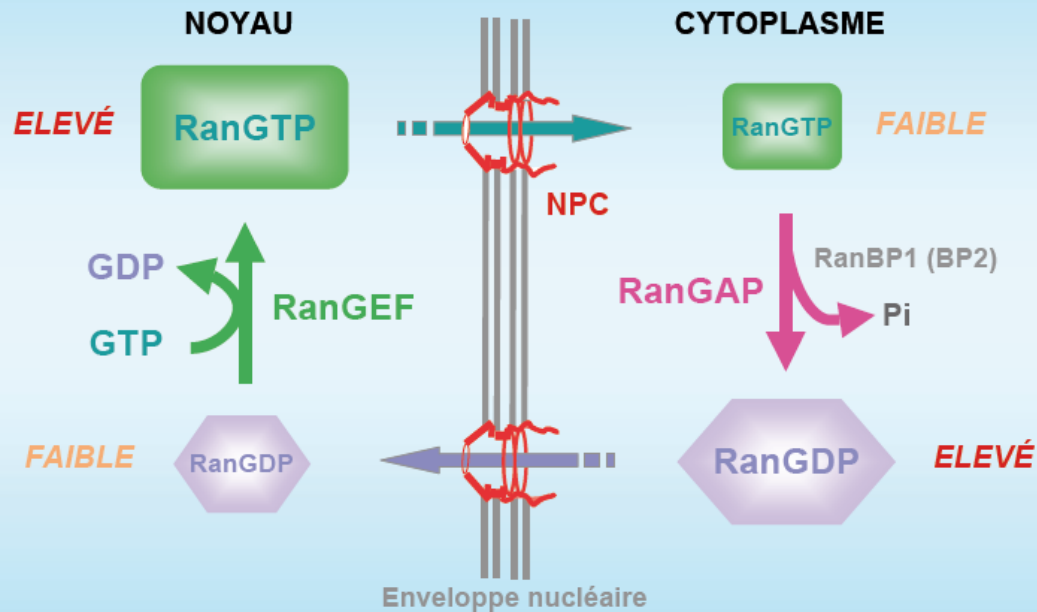


Box 1 | NPC organization and nucleoporins with a role in RNA export



NUCLEOPORINES

Le cycle RanGTP/RanGDP



→ Le gradient de **RanGTP** confère la direction du transport

Le système Ran

Ran: petite protéine G de la famille de Ras, qui peut être **nucléaire** ou **cytoplasmique**.

- Ran cytoplasmique est complexé au **GDP**
- Ran nucléaire est complexé au **GTP**

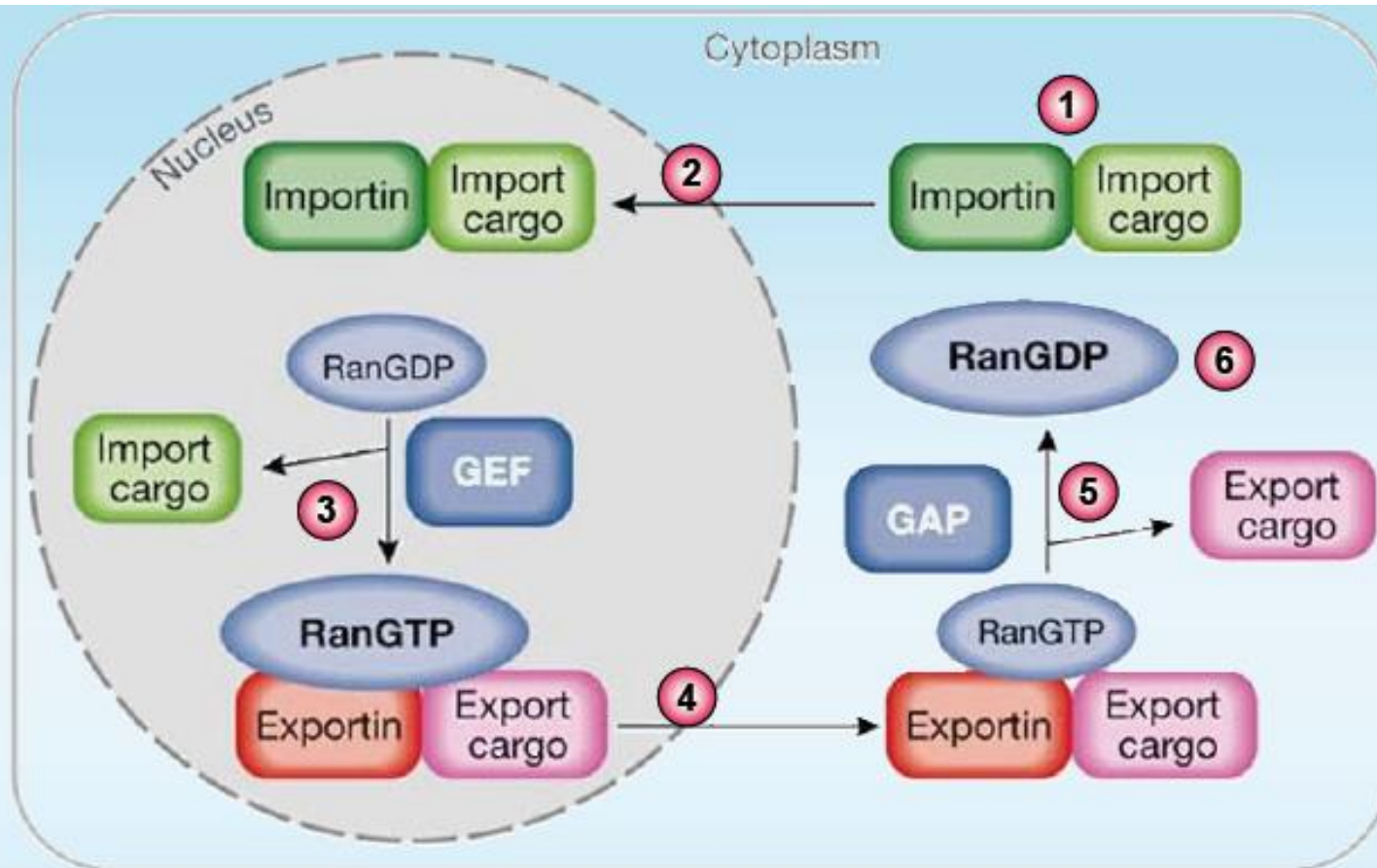
Ran n'interagit pas avec les mêmes partenaires en fonction de sa liaison au **GTP** ou au **GDP**.

Dans le cytoplasme:

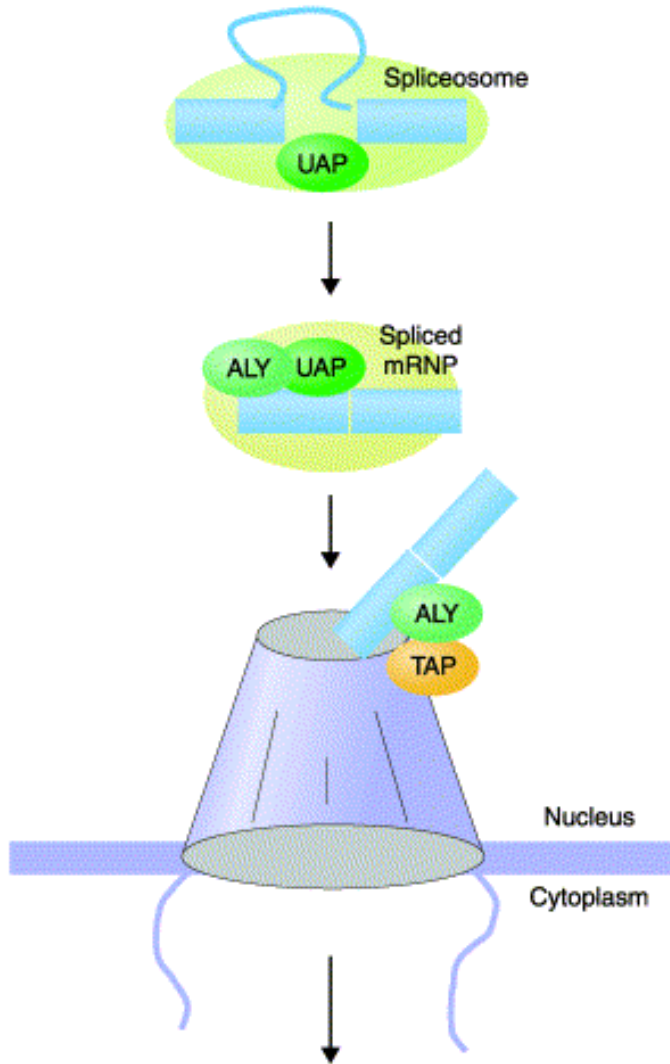
- **RanGAP** (GTPase activating protein) catalyse l'hydrolyse du GTP lié à Ran (conversion **RanGTP/RanGDP**).

Dans le noyau:

- **RanGEF** (guanin exchange factor) induit le relargage du GDP lié à Ran et lie un nouveau **GTP**. (**RanGDP** → **RanGTP**)
- **RanGTP** induit la dissociation du NLS d'avec le récepteur d'import nucléaire.



1. Les importines s'associent avec le NLS de la protéine cargo et la transporte au niveau du pore nucléaire.
2. Le complexe importines/cargo traverse le pore (*mécanisme mal connu*).
3. Dans le noyau, RanGTP déplace la protéine cargo des importines.
4. Le complexe exportines/RanGTP/cargo sort du noyau à travers le pore.
5. Dans le cytosol, RanGAP hydrolyse le RanGTP en RanGDP.
6. Ran-GDP se dissocie des exportines.

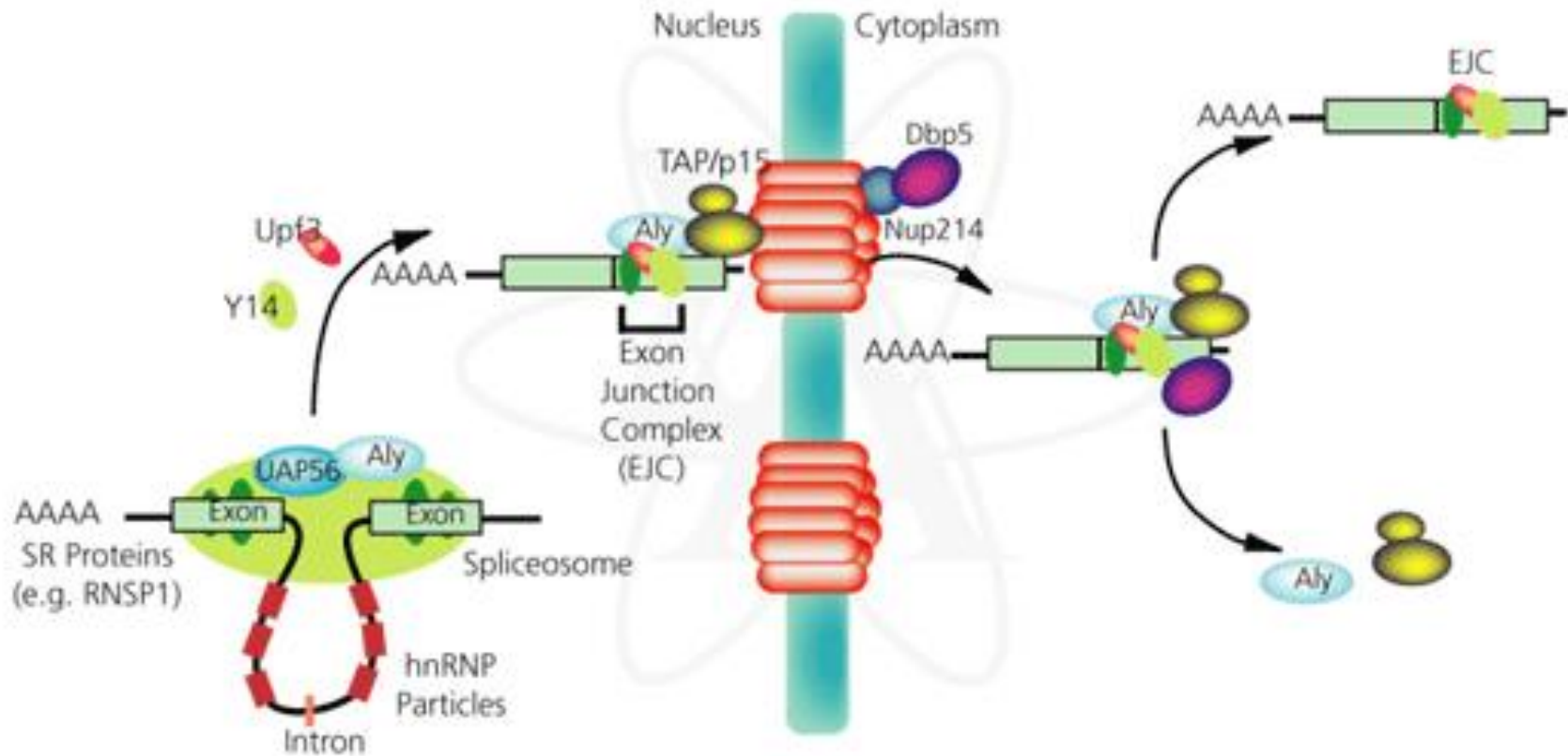


Current Opinion in Cell Biology

Conserved mRNA export machinery coupled to splicing.

UAP56, which is present in the spliceosome, recruits Aly to the mRNA during splicing.

UAP56 is replaced by the mRNA export receptor TAP/p15.



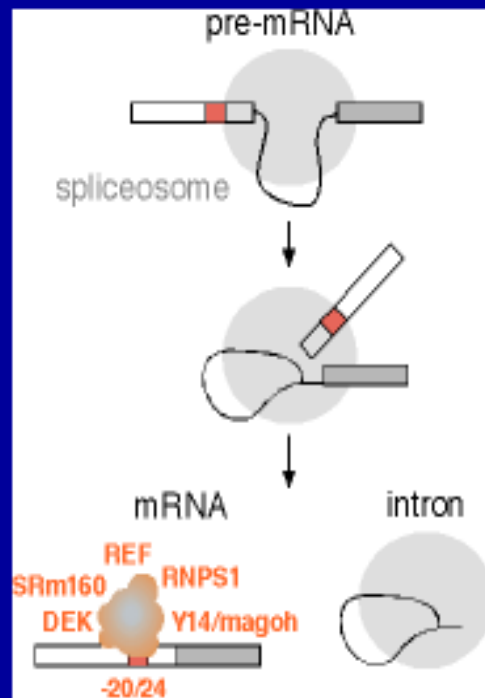
Aly acts as a bridge between the **exon junction complex (EJC)** and the TAP/p15 complex

A simplified pre-mRNA with a 5' cap, 2 exons, a single intron, and a poly(A) tail is shown with the spliceosome. The splicing factor UAP56 (a helicase and DEAD box containing protein family member) associates with Aly and the spliceosome. Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (hnRNPs) package the pre-mRNA and Ser-Arg Rich (SR) proteins associate with exons. Next, the TAP/p15 heterodimer (Mex67/TAP-Mtr2/p15 RNA export receptor) targets the mRNP to the nuclear pore complex (NPC). Finally, mRNA export factors dissociate from the mRNP following export to the cytoplasm.

Factors involved in nonsense-mediated mRNA decay (NMD, a conserved mechanism for the detection and elective degradation of mRNAs with premature stop codons) (Upf3, Y14, and RNPS1) remain bound to the mRNP.

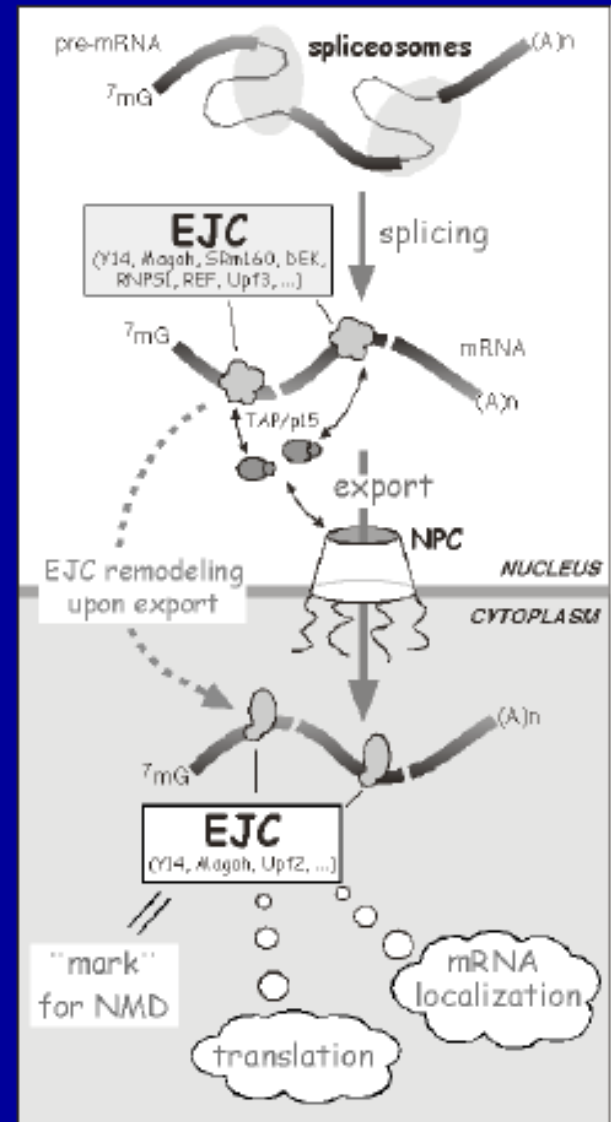
In vitro le spliceosome dépose sur les ARNm un complexe multiprotéique : le EJC

- L'EJC est déposé 20-24 nt en amont de la jonction exonique indépendamment de la séquence de l'ARNm
- L'EJC couvre 8 nt de l'ARNm
- L'EJC contient au moins six protéines impliquées dans différents processus.
 - SRm160, DEK et RNPS1 (épissage)
 - REF (transport des ARNm)
 - Y14/Magoh (localisation d'ARNm)



In vivo, la composition de l'EJC évolue entre le noyau et le cytoplasme

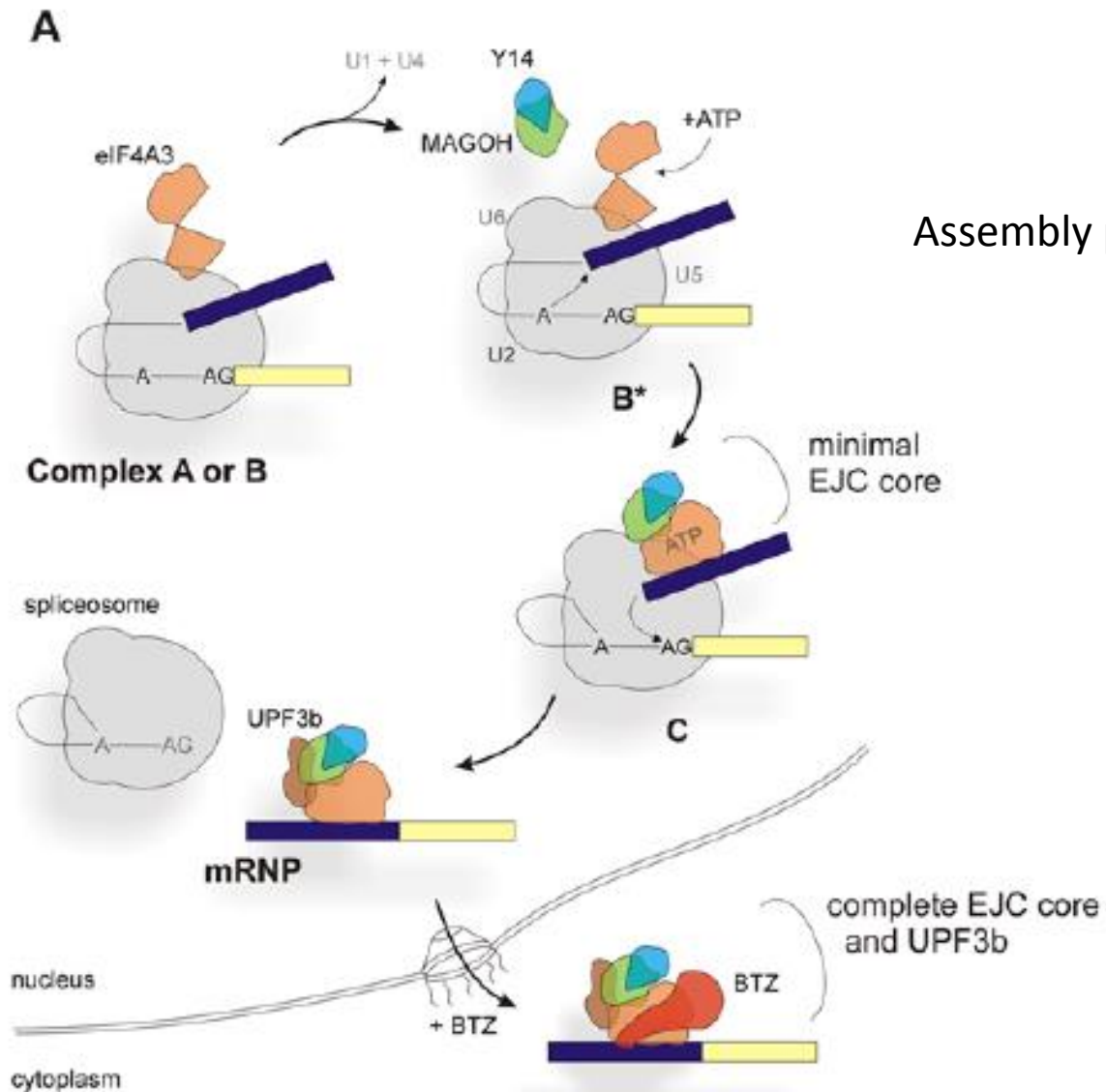
- la composition de l'EJC est identique *in vitro* et *in vivo*
- L'EJC sert de point d'ancrage aux facteurs d'export TAP/p15 et confère un avantage sélectif pour l'export des ARNm
- L'EJC sert de point d'ancrage aux facteurs de NMD Upf3 et Upf2 et constitue la marque requise pour le NMD
- L'EJC accompagne l'ARNm dans le cytoplasme



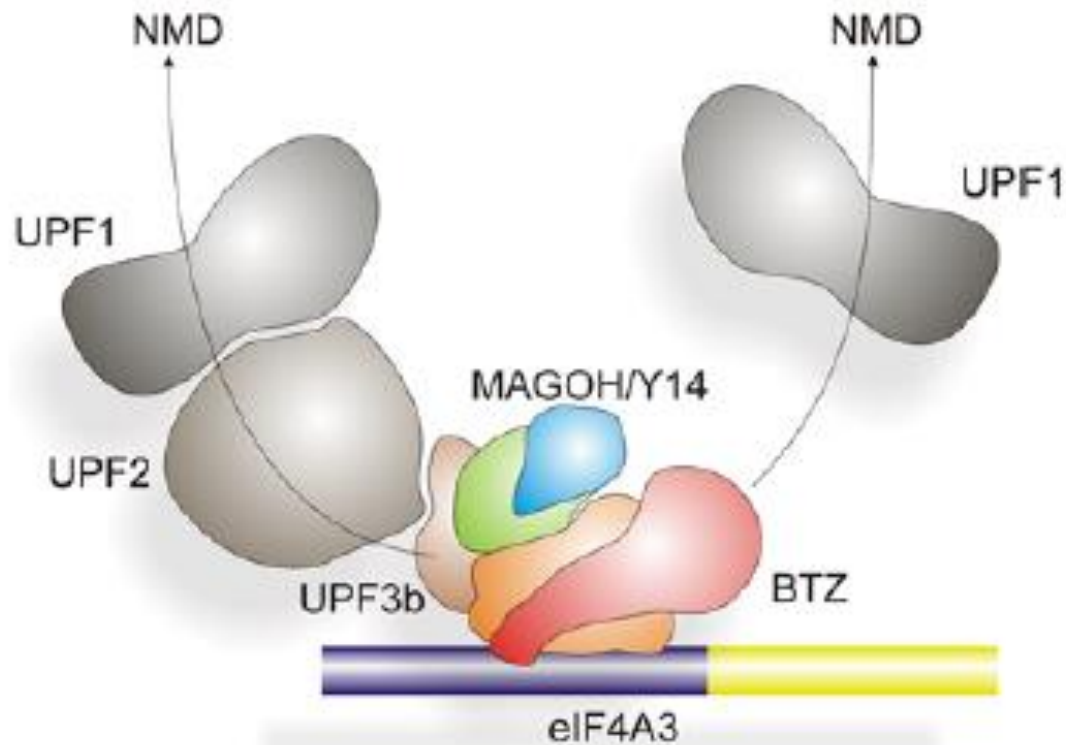
L'EJC (exon-exon junction complex) est un complexe protéique de 335kDa déposé en amont des jonctions exon-exon lors de l'épissage du pré-ARNm. Il favorise l'export de l'ARNm via l'interaction entre REF et TAP/p15, qui va à son tour interagir avec des composants du pore nucléaire (NPC). Dans le cytoplasme, seules les protéines Y14, Magoh, hUpf3 et RNPS1 restent associées à l'ARNm. Le EJC semble être le lien qui manquait entre l'épissage, l'exportation et la reconnaissance du PTC.

« EJC represents a molecular memory of the splicing process »

La règle de position stipule que lorsqu'un codon de terminaison est situé à plus de 50 nucléotides en amont de la dernière jonction exon-exon, alors il est reconnu comme prématuré (PTC) et l'ARNm est dégradé par NMD. Lorsque le codon de terminaison est situé à moins de 50 nucléotides de la dernière jonction ou dans le dernier exon (Ter), l'ARNm ne sera pas dégradé et il y aura arrêt de la traduction.



Assembly pathway of the EJC.

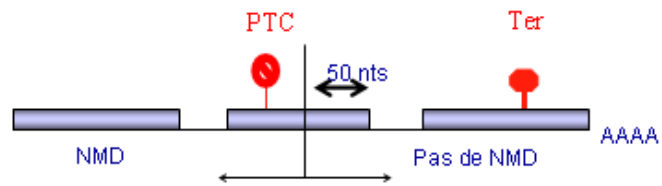


The EJC complex recruits NMD activating proteins and combines different complexes leading to UPF1-dependent NMD.

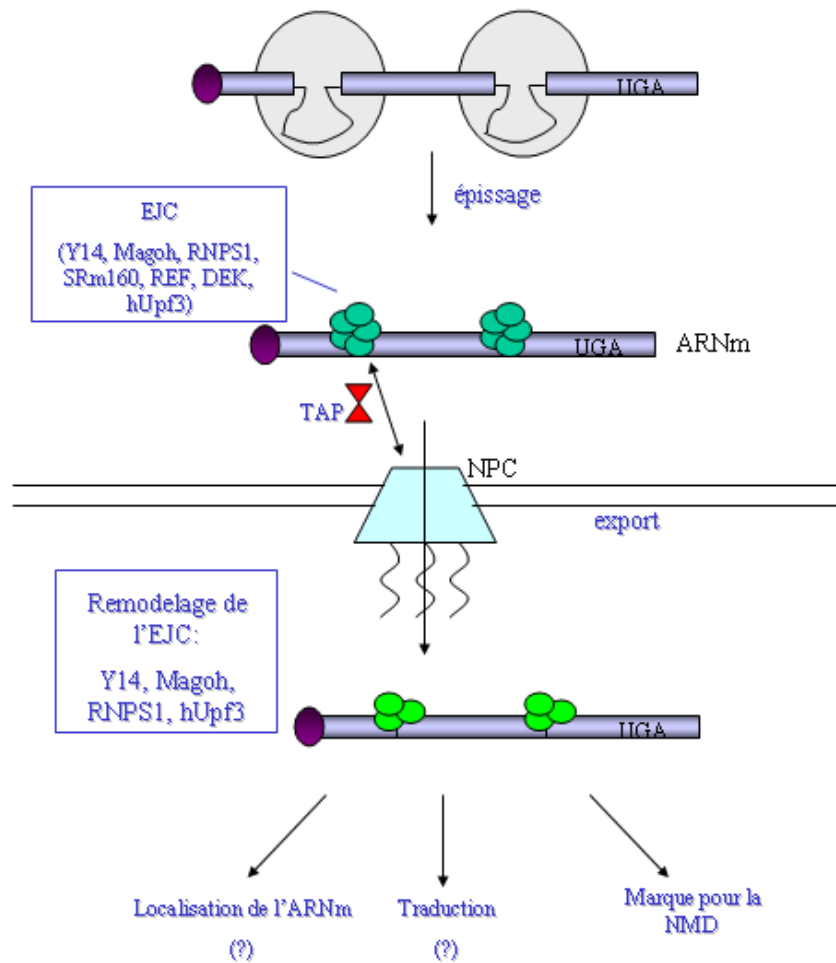
NMD (*non sense mediated* decay) represents an intensively studied splicing- and translation dependent process that limits the expression of abnormal transcripts containing premature termination codons and controls the expression of normal mRNA isoforms that are generated from the same pre-mRNA at different times of development and in different tissues

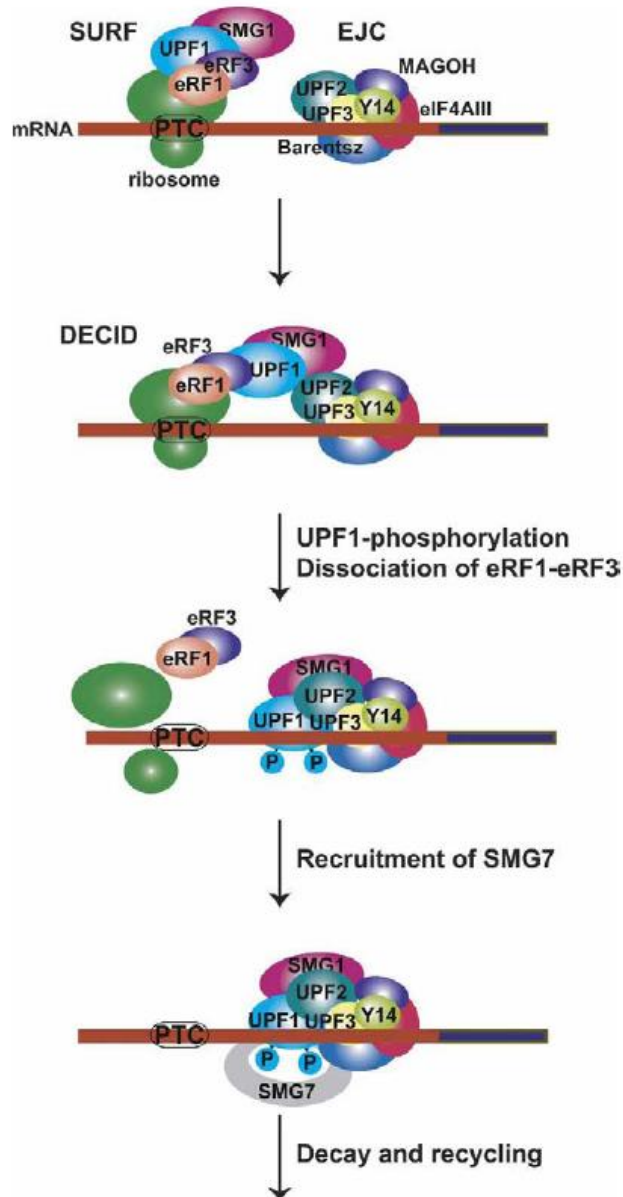
Molecular Cell, Vol. 20, 65–75, October 7, 2005

Exon-Junction Complex Components Specify Distinct Routes of Nonsense-Mediated mRNA Decay with Differential Cofactor Requirements

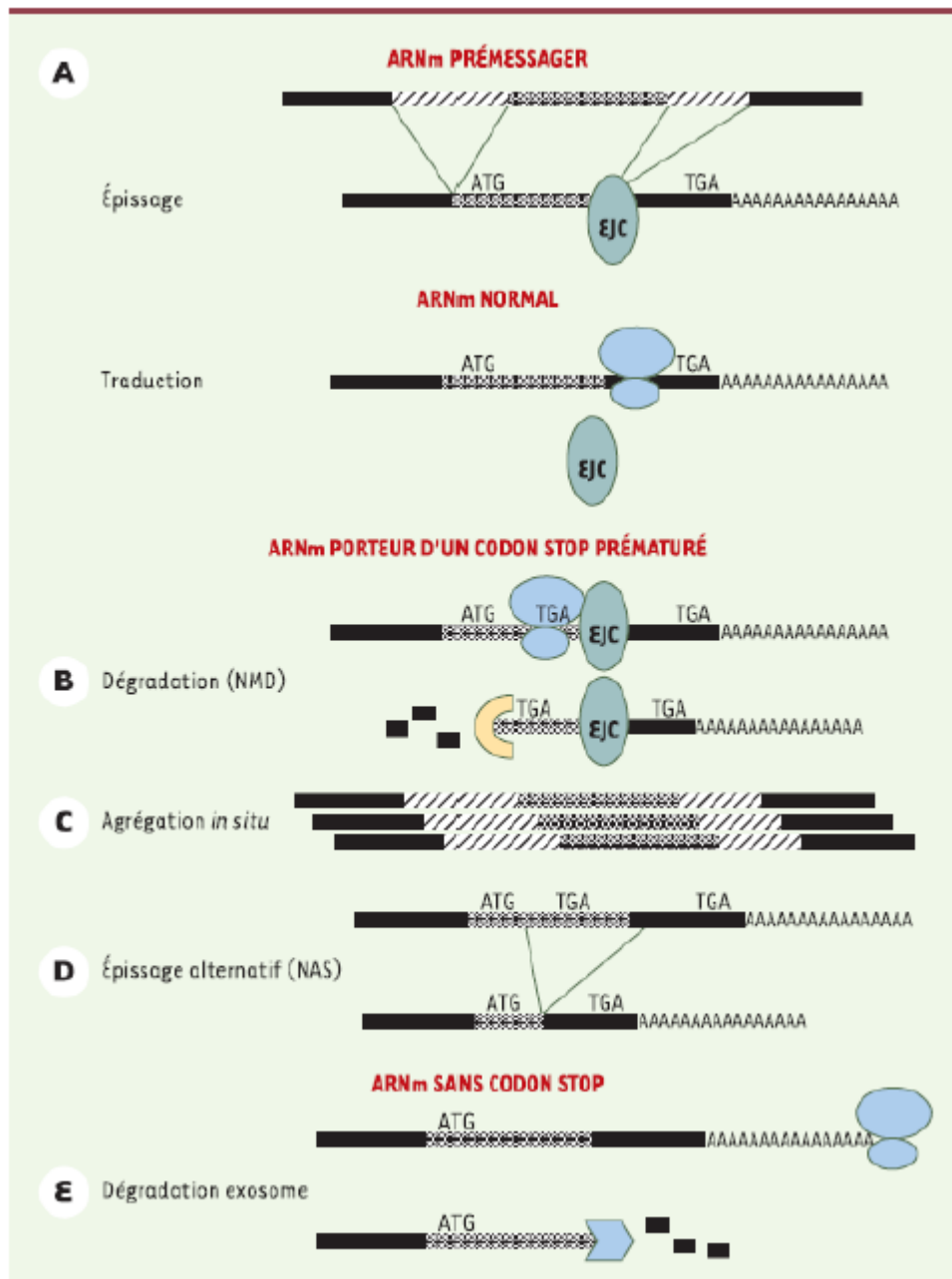


B



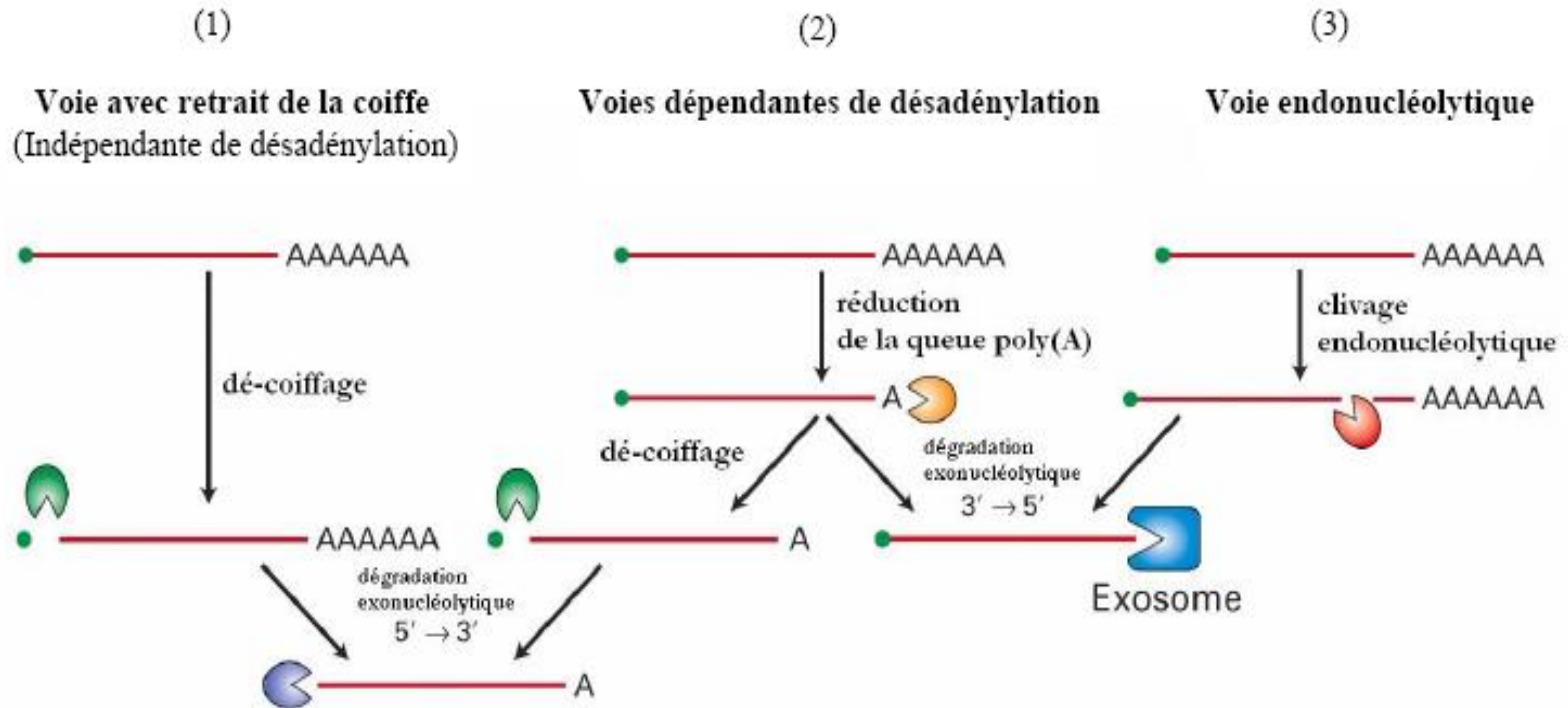


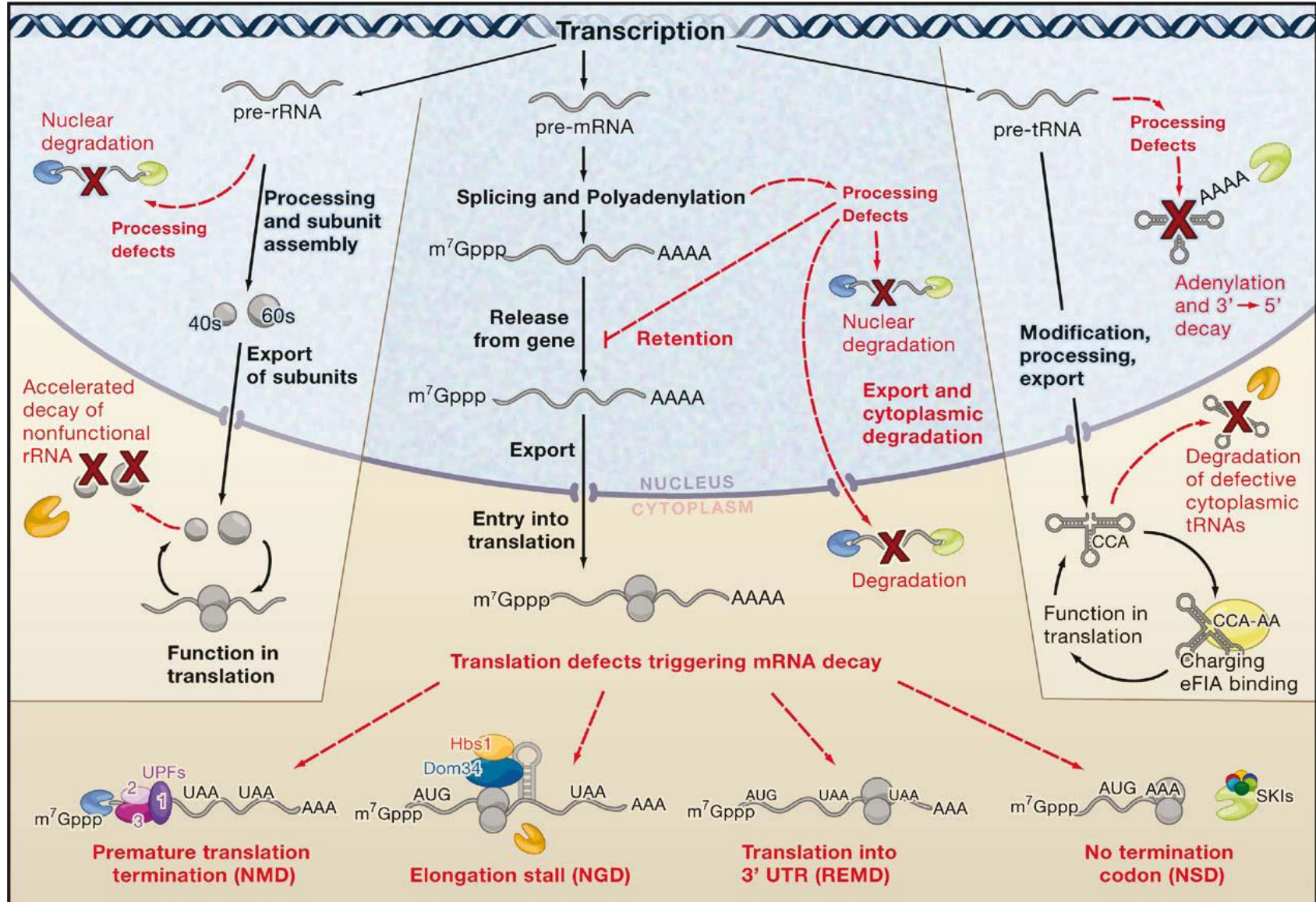
A model for mammalian NMD. A premature translation termination event leads to the assembly of the **SURF complex consisting of SMG1, UPF1, eRF1, and eRF3**. SURF interacts with UPF2, UPF3, and additional EJC proteins bound to a downstream exon–exon boundary. This interaction results in the formation of the DECID complex that triggers UPF1 phosphorylation and the dissociation of eRF1 and eRF3. Phosphorylated UPF1 recruits SMG7 most likely in association with SMG5. The interaction of SMG7 (and probably additional proteins) with decay enzymes targets the bound mRNA for degradation. SMG7 also recruits PP2A, resulting in UPF1 dephosphorylation and dissociation from SMG7. This may enable the recycling of these proteins for a new round of NMD.



**Mécanismes de contrôle
de qualité des ARNm.**

Les voies de dégradation des ARNm eucaryotes





La modification de la dégradation d'ARNm régule la quantité de protéine synthétisée, mais peut aussi contribuer à l'expression localisée de facteurs spécifiques.

- L'identification d'enzymes catalysant le clivage de la coiffe
- La découverte d'un nouveau compartiment cellulaire qui est impliqué dans la dégradation des ARNm , les P bodies.
- L'identification de nouvelle poly(A) polymérase impliquée dans une nouvelle voie de contrôle de qualité des ARN dans le noyau.
- La caractérisation structurale et fonctionnelle des exosomes eucaryotes qui a démontré l'organisation inattendue de leurs coeurs catalytiques.

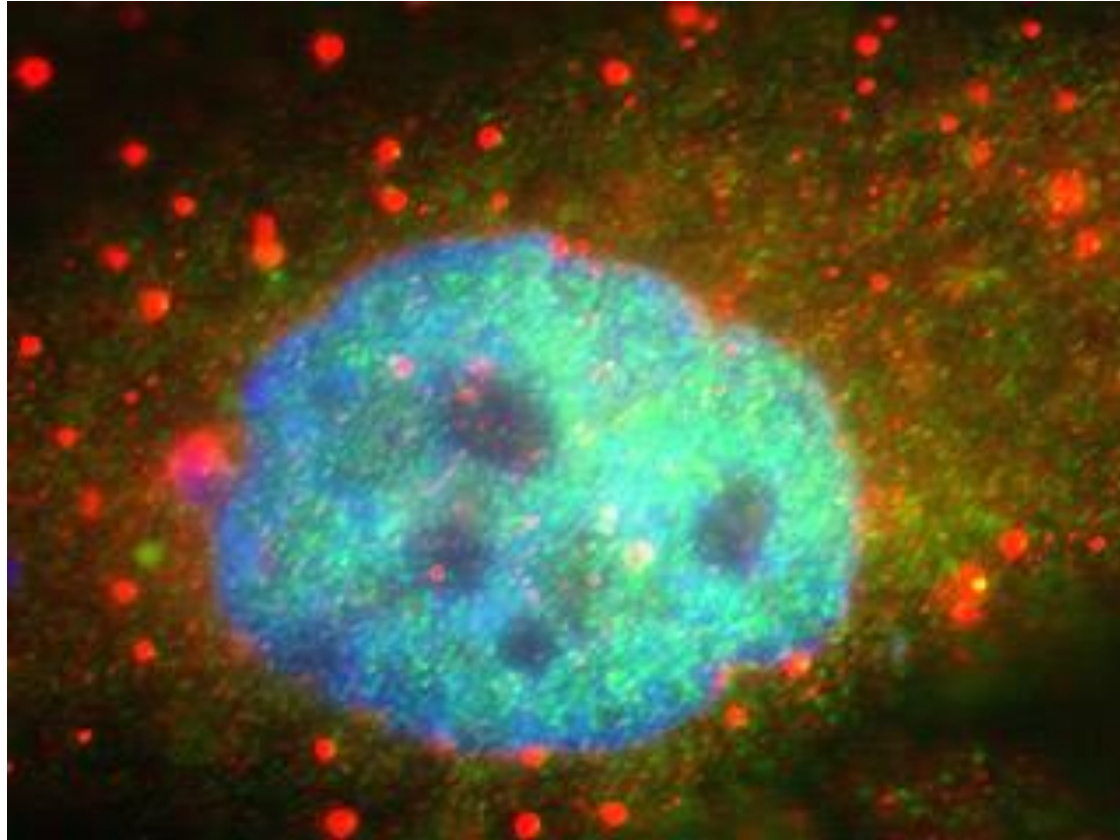
P Bodies and the Control of mRNA Translation and Degradation

Roy Parker and Ujwal Sheth

Molecular cell

Recent results indicate that many untranslating mRNAs in somatic eukaryotic cells assemble into related mRNPs that accumulate in specific cytoplasmic foci referred to as P bodies. Transcripts associated with P body components can either be degraded or return to translation.

Moreover, P bodies are also biochemically and functionally related to some maternal and neuronal mRNA granules. This suggests an emerging model of cytoplasmic mRNA function in which the rates of translation and degradation of mRNAs are influenced by a dynamic equilibrium between polysomes and the mRNPs seen in P bodies. Moreover, some mRNA-specific regulatory factors, including miRNAs and RISC, appear to repress translation and promote decay by recruiting P body components to individual mRNAs.



RNA localization

mRNA can be localized to subcellular compartments by **actin** or **tubulin**-dependent processes

Examples:

Xenopus: **Vg1 mRNA** (TGF β) to vegetal pole

Drosophila: **nanos**, **oskar mRNA** (posterior) and **bicoid** (anterior)

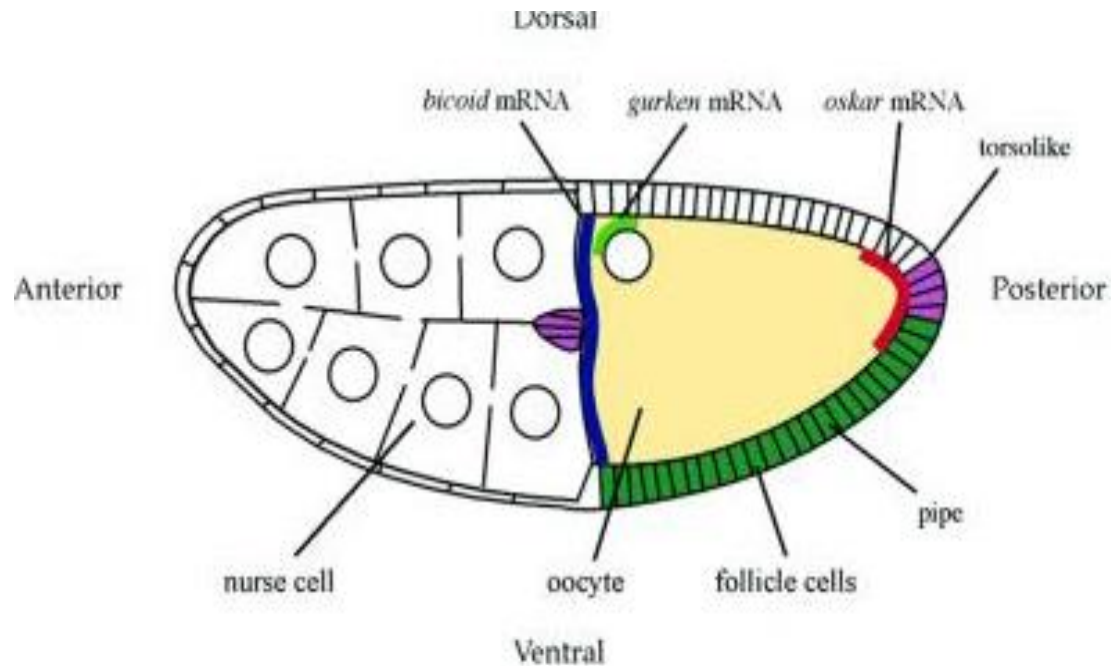
(requires mRNA binding protein **staufen**)

prospero (into ganglion of mother cells; neuroblast TF)

(requires **staufen** and **miranda**)

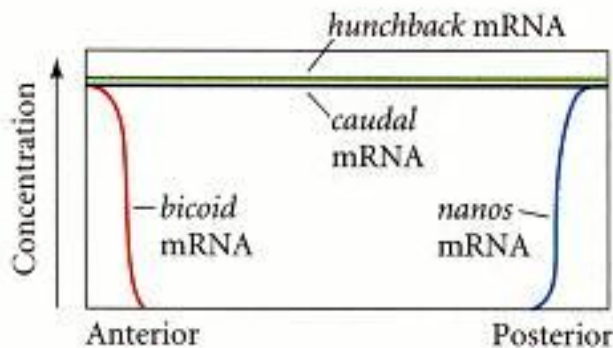
Yeast: **Ash1 mRNA** to daughter cell

A diagram of a stage 10a *Drosophila* egg chamber showing the localized signals that polarize the AP and DV axes of the embryo.

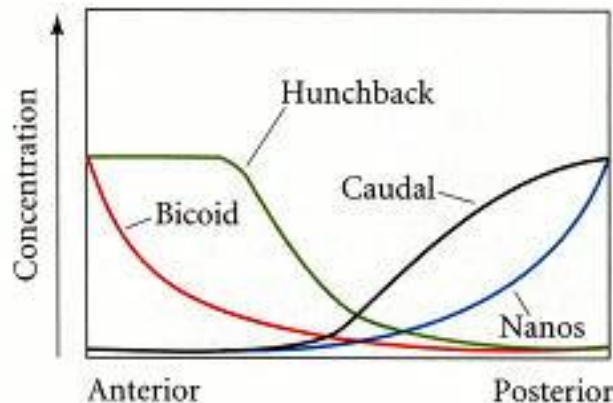


Là où elle est présente, la protéine Oskar agit comme régulateur positif de la traduction de l'ARNm *nanos*, le morphogène nécessaire pour le développement de l'abdomen. La protéine Nanos inhibe la traduction de l'ARNm *hunchback*

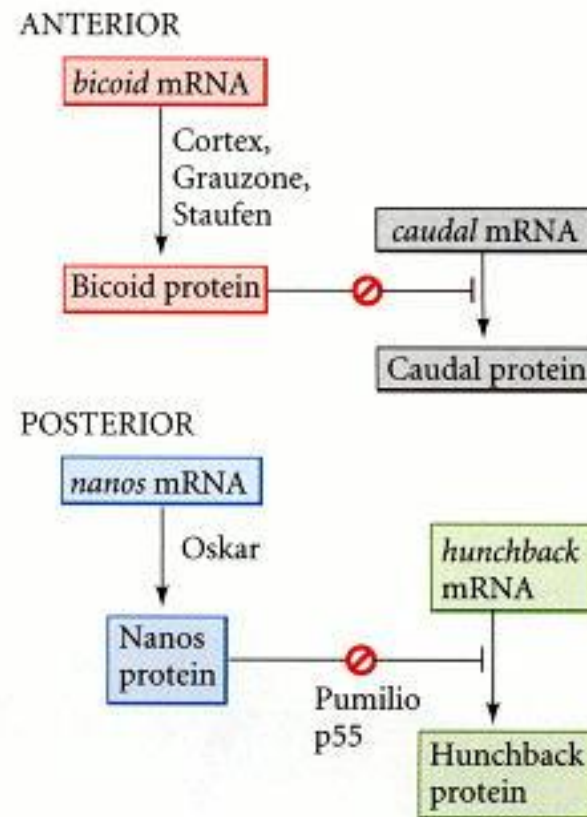
(A) Oocyte mRNAs

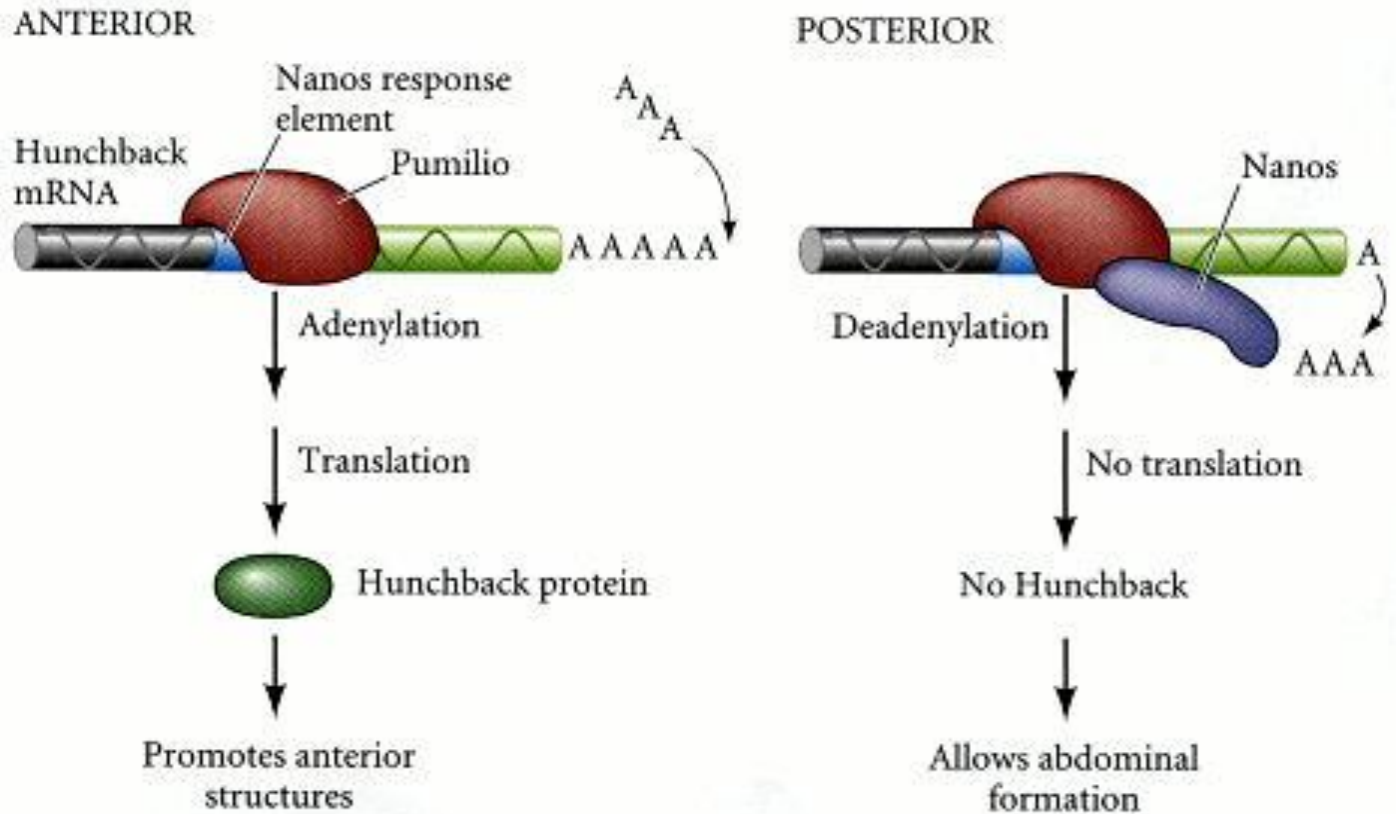


(B) Early cleavage embryo proteins



(C)





Control of hunchback mRNA translation by Nanos.

miRNA : ARN double brin ($2 \times 22\text{nt}$) codé par le génome
de la cellule (sous forme d'un précurseur qui est mûré)
Environ 1000 chez l'humain

S'apparie imparfaitement à un ARN cible et inhibe sa
traduction (animal), ou s'apparie parfaitement et provoque
sa dégradation (plante) (Il y a des exceptions...)

En général, un miRNA s'apparie aux 3'UTR d'un ou plusieurs ARNm
Un 3'UTR peut être lié par plusieurs miRNAs

siRNA : ARN double brin (22nt) apporté par l'expérimentateur
dans une cellule animale

S'apparie parfaitement à un ARNm cible et provoque sa dégradation