

## 9. RNA-INTERFERENTIE MET PAPIER EN SCHAAR

In dit practicum maken leerlingen op beeldende wijze kennis met het principe van RNA-interferentie, en de manier waarop door RNAi invloed uitoefent op de expressie van bepaalde genen. Het practicum is gebaseerd op een vraag uit het biologie-examen van 2013 (tweede tijdvak): RNA-interferentie in rijst voor nierpatiënt. Dit uitbeeldpracticum is ontwikkeld door Tim Nieuwenhuis (Gerrit van der Veen College, Amsterdam).

---

|           |  |
|-----------|--|
| duur      | één lesuur (50 minuten), incl. voor- en nabespreking   |
| doelgroep | bovenbouw havo/vwo   |
| doelen    | <p>Leerlingen kunnen:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• uitleggen dat RNA-interferentie invloed heeft op de genexpressie;</li><li>• uitleggen hoe – in grote lijnen – het proces van RNA-interferentie verloopt.</li></ul> |
| nodig     | <p>per tweetal of groepje:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• schaar</li><li>• plakband</li><li>• hairpin RNA en mRNA (geprint op A3)</li></ul>   |



### voorbereiding

1. Print de bijlage met het hairpin RNA uit op A3-papier. Plak de rechterzijde (het 3'-uiteinde) van deel A aan de linkerzijde (het 5'-uiteinde) van deel B. Knip nu de stroken los: één strook hairpin RNA per tweetal of groepje is genoeg.
2. Print en knip ook de stroken met de mRNA-moleculen uit (één set van zes verschillende mRNA's per tweetal of groepje).

### uitvoering

1. Bespreek allereerst met de klas hoe het proces van RNA-interferentie in grote lijnen verloopt. Gebruik hierbij de vraag uit het biologie-examen van 2013 (tweede tijdvak) eventueel als context.
2. Geef leerlingen nu de volgende opdracht:

#### *de hairpin vormen*

- a. Je krijgt een RNA-transcript dat een hairpin (haarspeldbocht) kan vormen. Je gaat nu stap voor stap uitbeelden hoe op basis van dit stuk RNA een RISC-complex gevormd wordt. Vervolgens zoek je uit welke mRNA-strengen door dit RISC-complex worden geblokkeerd en welke worden afgebroken.
- b. Vouw het RNA-transcript tot een hairpin; er ontstaat dus een lus en een stukje dubbelstrengs RNA (dsRNA). Gebruik het plakband om de complementaire basen aan elkaar te plakken. Hoeveel basenparen zijn nu gevormd in het dsRNA?
- c. De streng van het dsRNA dat het dichtst bij het 5'-uiteinde van het transcript zit is de *sense* streng. Arceer deze.

#### *van dsRNA naar RISC*

- d. Het dicer-eiwit knipt het dsRNA uit de hairpin. Vervolgens knipt het dicer-eiwit het dsRNA in miRNA's (microRNA's) van vier baseparen. Beeld beide stappen uit. Hoeveel miRNA's zijn nu gevormd?
- e. Het RISC (RNA-induced silencing complex) neemt een miRNA op, verwijdert de *sense* streng en bindt de *antisense* streng.

#### *RISC bindt aan mRNA*

- f. Ga na met welke mRNA-moleculen de antisense streng in het RISC-complex een binding kan vormen. Het effect van de binding tussen RISC en mRNA is afhankelijk van de mate waarin er een match is tussen miRNA en mRNA:
  - is de binding *volledig* - alle vier de basen zijn complementair – dan wordt het mRNA doormidden geknipt en afgebroken;
  - is de binding *niet volledig* – drie van de vier basen zijn complementair – dan wordt het mRNA geblokkeerd en translatie geremd.
- g. Zoek uit welk(e) van de acht verschillende mRNA-moleculen worden afgebroken of geblokkeerd. Plak het antisense miRNA aan het mRNA-molecuul als sprake is van een (volledige of niet volledige) match.

### (na)denkwerk

- Controleer of leerlingen het juiste antwoord gevonden hebben (mRNA 2 wordt afgebroken en mRNA 6 wordt geblokkeerd).
- Laat leerlingen nadenken over de vraag waarom door het RISC-complex juist de antisense-streng wordt gebonden.
- Bespreek (nogmaals) op welke manier(en) RNA-interferentie invloed uitoefent op de expressie van genen (sommige leerlingen realiseren zich bijvoorbeeld niet dat één mRNA-molecuul vele malen kan worden afgelezen).
- Leg uit dat miRNA-fragmenten in werkelijkheid iets langer zijn (zo'n 20 nucleotiden). Ook mRNA-moleculen zijn natuurlijk in werkelijkheid veel langer.
- Leg indien nodig uit dat de vorm van RNA-interferentie die in dit practicum (en de meeste lesboeken) centraal staat enigszins afwijkt van de vorm van RNA-interferentie die in de context van de hierboven genoemde examenvraag wordt beschreven (vandaar ook dat in de examenvraag sprake is van siRNA in plaats van miRNA); het principe is echter nagenoeg hetzelfde.

### bijlagen

- hairpin RNA deel A en B
- mRNA

