

Una breve rassegna della biogenesi, della funzione e delle tecniche di rilevamento dei circRNA



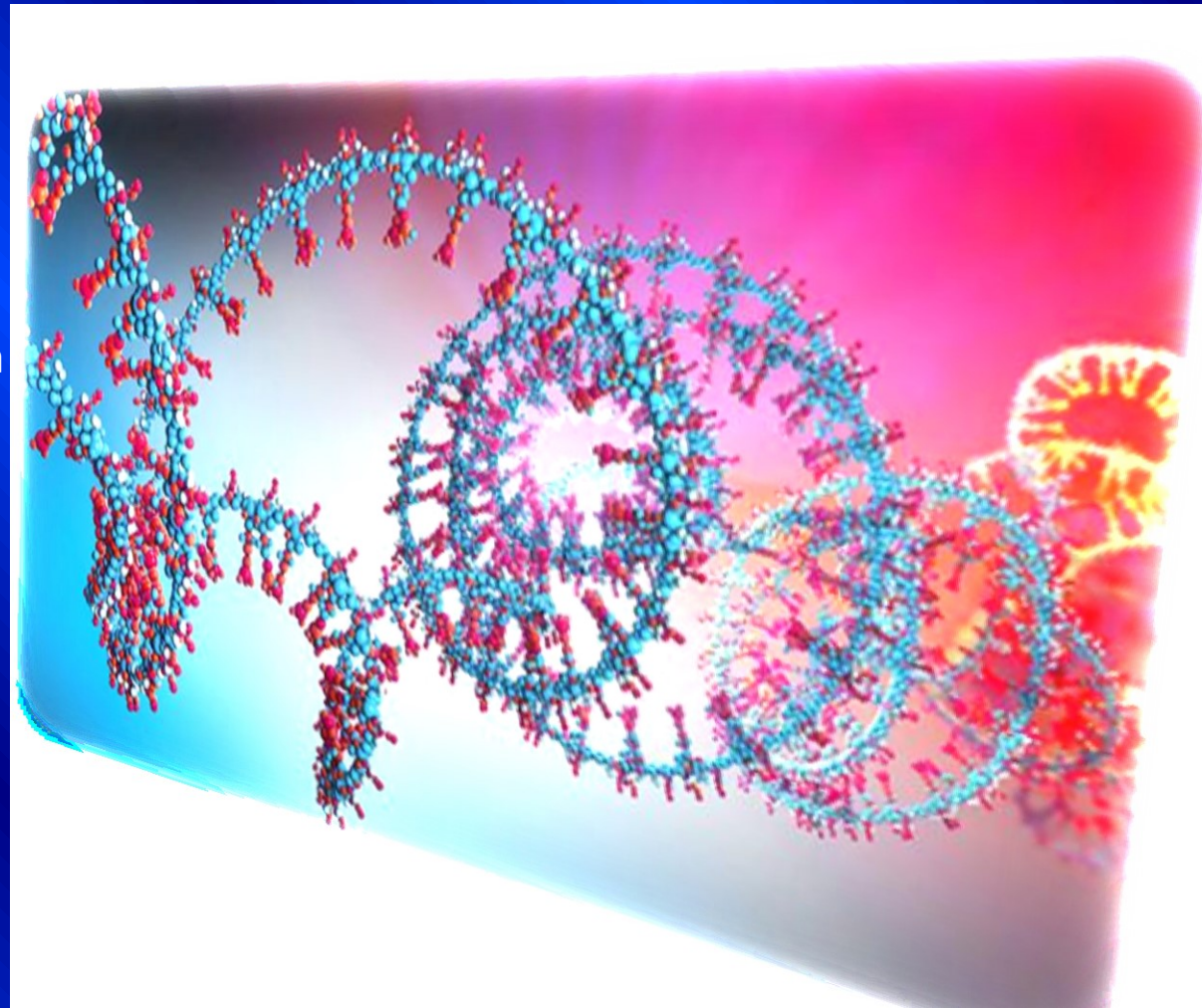
UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

A.A. 2021/2022

Candidato: Grossi Domenico

Relatore: Dott.ssa La Teana Anna

Corso di Laurea in Scienze
Biologiche



Introduzione

Il mondo degli RNA è molto vasto e costantemente al centro dell'attenzione dei ricercatori per via della sua importanza sia nel processo di sintesi proteica sia in quello di regolazione genica a più livelli.

Oltre al classico mRNA, infatti sono presenti numerose sequenze non codificanti la cui funzione è quella di influenzare con metodi differenti i più importanti processi cellulari.

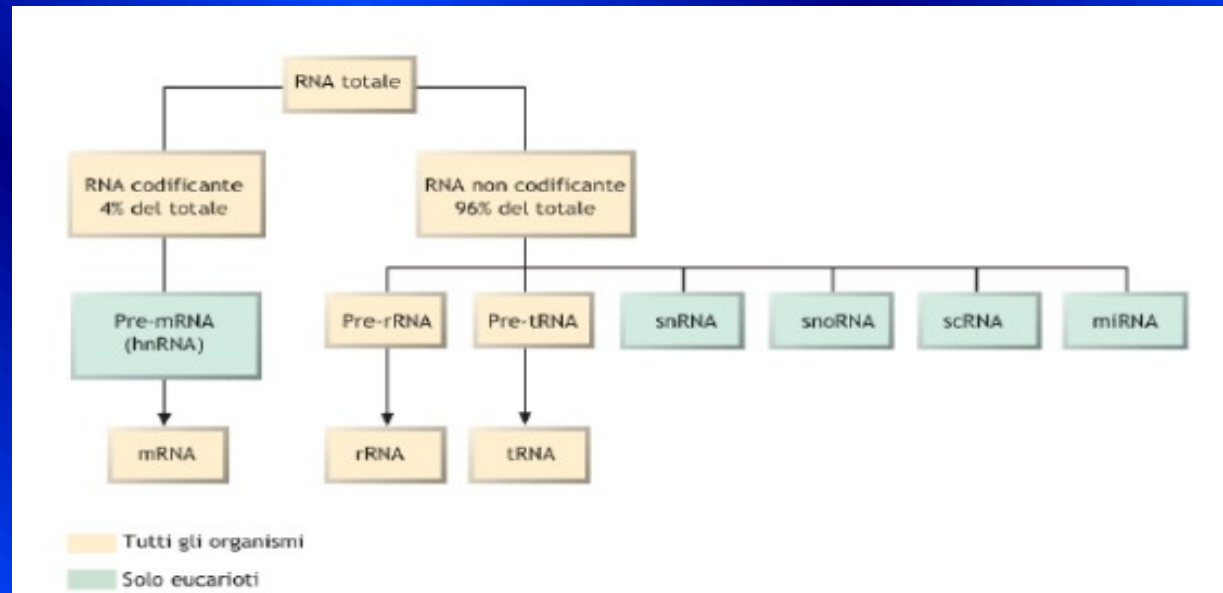


Immagine presa da: De Leo – Fasano – Ginelli, «*Biologia e genetica*» II ed.

I circRNA

I circRNA sono RNA non codificanti largamente diffusi negli eucarioti.

Strutturalmente sono privi del cappuccio all'estremità 5' e della coda poliadenilata al 3' e si ripiegano ad anello tramite un legame di tipo covalente.

L'espressione di questi RNA è molto stabile, in quanto le RNasi non riescono a degradarli facilmente.

Sono ricchi di siti di legame per i miRNA. Per questo motivo agiscono come «spugne per i miRNA» nelle cellule, modulando l'effetto inibitorio di tali elementi sui geni target.

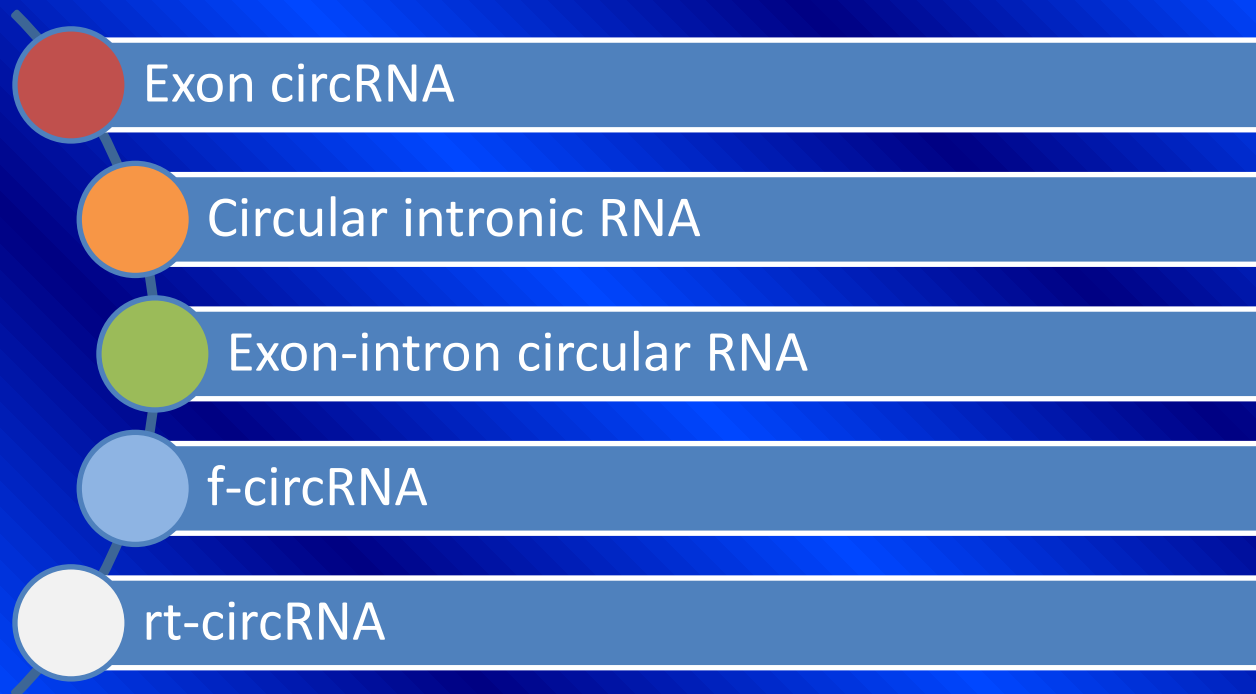
Furono scoperti durante gli studi sulla malattia del tubero fusiforme della patata.

Più tardi, con i microscopi elettronici, si confermò la loro presenza nelle cellule eucariotiche.

Biogenesi

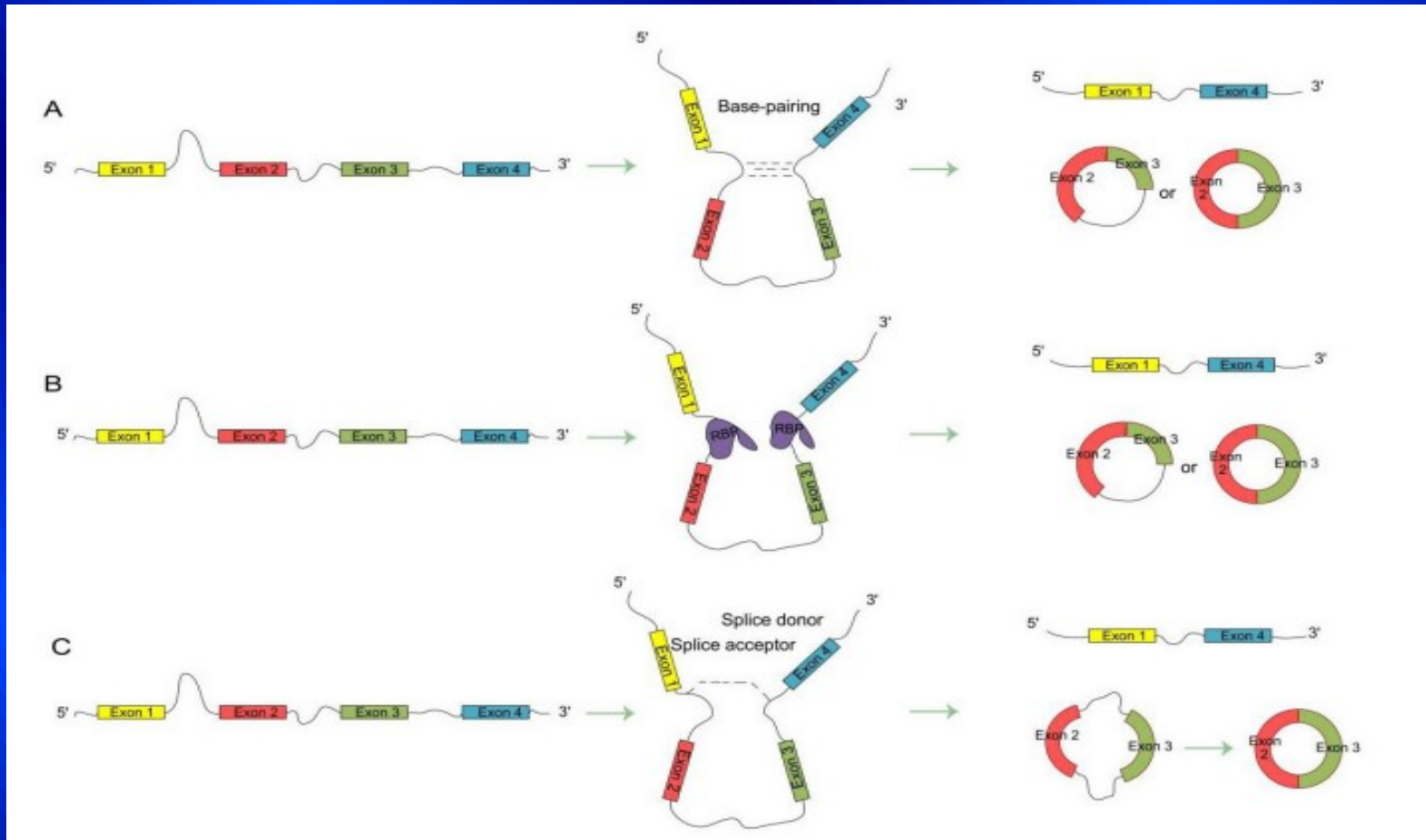
Sebbene alcuni meccanismi non siano ancora del tutto chiari, il processo di formazione dei circRNA si basa su un meccanismo di back splicing testa-coda a livello del pre-mRNA.

In base agli studi più recenti, si distinguono 5 principali tipi di circRNA.



Attualmente conosciamo 3 meccanismi di formazione del circRNA:

- A. Back splicing guidato da introni fiancheggiati appaiati
- B. Back splicing guidato da proteine legate all'RNA
- C. Ciclizzazione guidata da un laccio



Funzione

Oltre ad avere un ruolo nei processi post-trascrizionali grazie all'interazione con i miRNA, i circRNA sono importanti anche nella regolazione trascrizionale dei geni target.

Nell'*Arabidopsis thaliana*, questi RNA possono legarsi al locus del gene SEP3, andando a formare una struttura definita DNA eterozigote. Il trascritto che verrà generato subirà uno splicing alternativo.

In casi come quelli del topo e della *Drosophila melanogaster* si è individuato anche un ruolo dei circRNA a livello della traduzione.


Altra caratteristica importante di queste strutture è quella di poter generare degli pseudogeni.

Metodi di rilevamento

Quando si parla dei metodi di rilevamento dei circRNA nel XXI secolo, la bioinformatica ci viene in soccorso.

Grazie all'utilizzo dei software infatti, esistono 2 vie percorribili per rilevare tali strutture nei vari organismi presi in esame.

La prima è quella legata ai dati forniti dai metodi di next-generation sequencing, come l'RNA-Seq, il quale permette di rivelare la presenza e la quantità di RNA in un campione biologico in un dato momento.

	KNIFE, NCL Scan, PTES Finder	Si affidano a informazioni già acquisite sui geni per costruire i CircRNA.
	Find-circ, UROBORUS	Si utilizzano in combinazione se si ha a che fare con sequenze non mappate.
	CircRNA-finder, CIRC explorer, DCC, Map splice	Rilevano e analizzano i fenomeni di splicing tramite complessi algoritmi.

La seconda, più precisa, è basata sul metodo di apprendimento automatico, un sistema che stabilisce dei modelli in grado di distinguere i circRNA in relazione alle caratteristiche di una sequenza.

Negli ultimi anni, tale metodo ha portato notevoli risultati nella predizione dei siti di regolazione genica e di splicing.

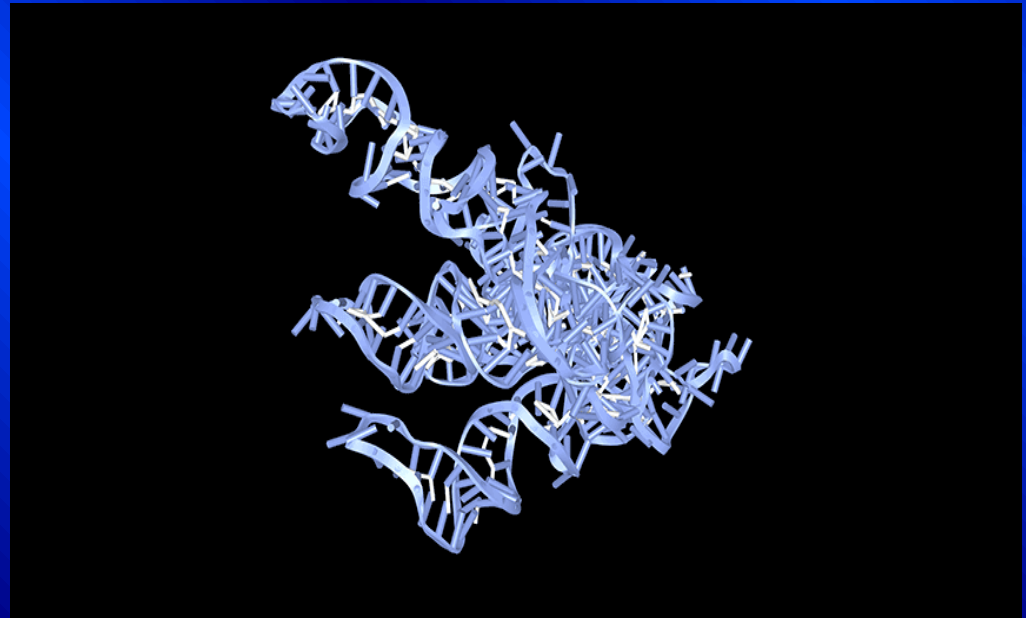
Context regression Model	Modello basato sull'inserimento delle caratteristiche di una sequenza in una rete neurale, la quale assegna un peso ad ognuna di esse.
PredcircRNA	Questo modello si focalizza sulla distinzione dei circRNA dagli altri RNA non codificanti tramite l'apprendimento multiplo del kernel.
Circdeep	Metodo che si serve di diversi compilatori (RCM, ACNN, BLSTM) per generarne uno astratto di alto livello in grado di predire la presenza dei circRNA.
WebCircRNA	Server web molto intuitivo in grado di rilevare l'esistenza di isomeri circolari di RNA codificanti e non codificanti.

CircRNA e malattie

Come altri RNA non codificanti, anche i circRNA sono legati all'insorgenza e allo sviluppo di determinate malattie sia negli animali sia nelle piante.

In particolare, la diminuzione drastica dell'effetto spugna dei circRNA (CiRS-7) sui miRNA (miR-7) a livello della regione ippocampale CA1 è uno dei meccanismi associati allo sviluppo dell'Alzheimer.

Da recenti studi sembrerebbe che un basso livello di circRNA nelle nostre cellule possa favorire il richiamo, da parte della protein chinasi R non inibita, della risposta immunitaria innata utilizzata di norma contro i virus. Tale processo potrebbe favorire l'insorgere del Lupus.



Gif: [https://www.sciencenews.org/article/lack-circular-rna-may-trigger-lupus:](https://www.sciencenews.org/article/lack-circular-rna-may-trigger-lupus)

Metodi di indagine sulla correlazione

Esattamente come per il loro rilevamento, esistono dei metodi bioinformatici per lo studio della correlazione tra circRNA e malattie.

Uno di questi consiste nella costruzione di una rete eterogenea di informazioni su circRNA, miRNA e malattie, la quale permette di esplorare i legami fra di essi.

Un altro metodo è quello basato sull'utilizzo di una rete neurale convoluzionale. Nella sua costruzione ci si basa sull'assunto che i circRNA simili sono solitamente associati a malattie con fenotipi simili.

Una ulteriore strada è quella dell'utilizzo della fattorizzazione di matrice, nella quale, in seguito a una serie di passaggi di calcolo, si ottiene uno spettro di interazioni tra circRNA e malattie. Tale spettro verrà poi scomposto dalla matrice permettendo di predire le varie correlazioni.

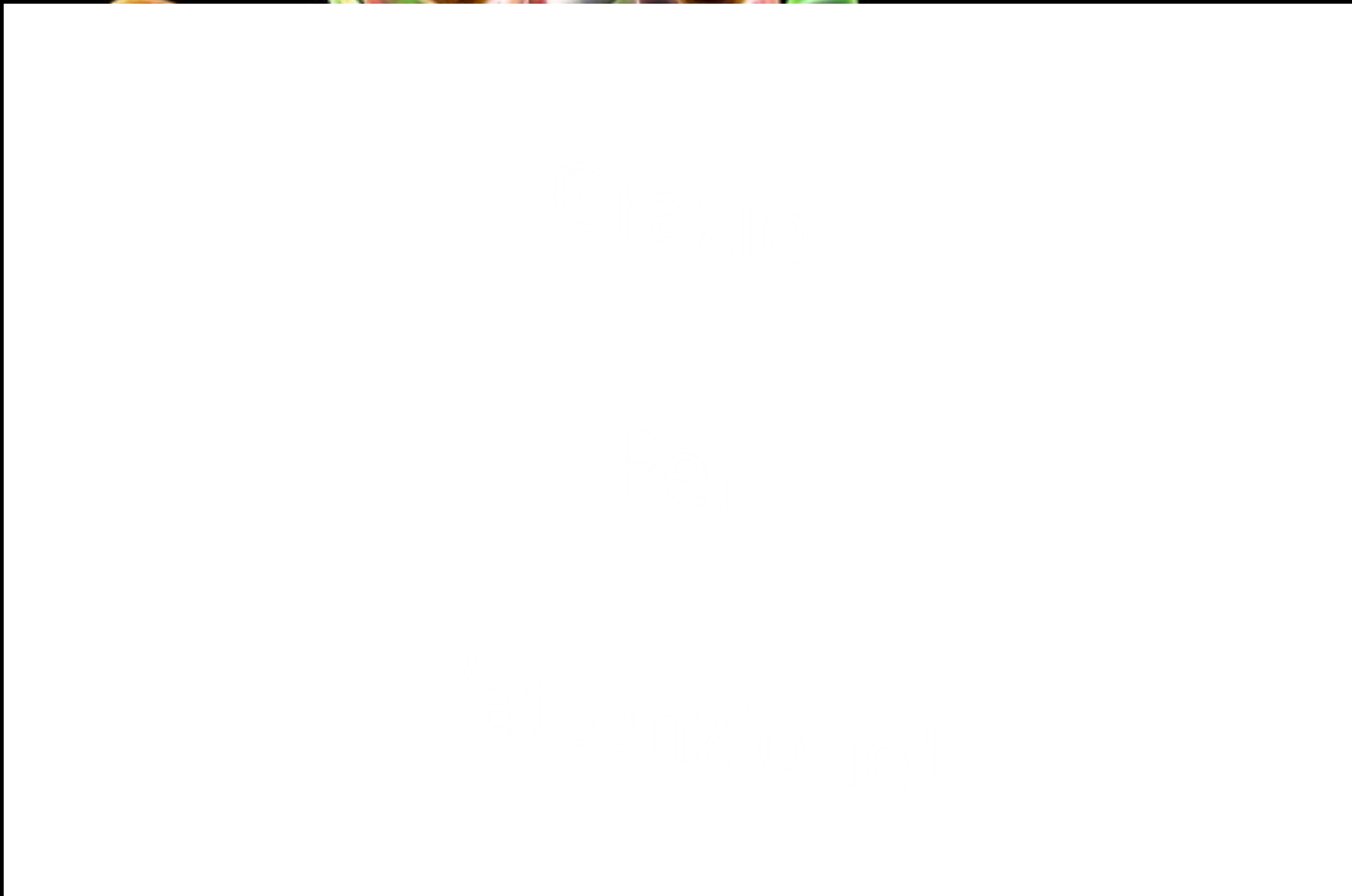
Conclusioni

Negli ultimi anni la ricerca ha fatto passi da gigante nello studio dei circRNA. Sebbene molti problemi debbano ancora essere risolti (come la mancanza di un meccanismo unificato per spiegare la biogenesi di tutti i circRNA), lo sviluppo delle tecnologie NGS e dei metodi di apprendimento automatico hanno aperto le porte alla comprensione di tali strutture.

Con il miglioramento degli algoritmi di predizione e delle tecniche sperimentali, una grande varietà di circRNA già conosciuti è stata associata allo sviluppo di determinate malattie.

Ciò ha reso queste strutture dei potenziali biomarcatori e, soprattutto, dei possibili target terapeutici per il trattamento delle patologie legate all'uomo.

Ad oggi la relazione tra circRNA e la patogenesi di alcune malattie non è ancora del tutto chiara, ma le potenzialità attuali della ricerca scientifica potranno essere di grande aiuto.



Riassunto

I circRNA sono strutture non codificanti in grado di influenzare determinati processi cellulari negli eucarioti. In particolare essi intervengono nella modulazione del processo inibitorio attuato dai miRNA, agendo come spugne per questi ultimi.

Il meccanismo di biogenesi dei circRNA consiste in un processo di back splicing guidabile da diversi elementi presenti su tali strutture. Tale processo può dare origine, per quanto in futuro se ne potrebbero scoprire di nuovi, a 5 tipi diversi di circRNA.

I metodi di rilevamento dei circRNA sviluppati nel corso degli anni grazie alla bioinformatica si dividono in due tipologie: quella basata sul supporto delle tecnologie NGS (soprattutto RNA-Seq) e quella del metodo di apprendimento automatico.

I circRNA sono stati associati allo sviluppo di determinate malattie, come l'Alzheimer, e la correlazione tra essi e le varie patologie è oggetto di studio della bioinformatica, la quale è costantemente alla ricerca di un metodo di rilevamento univoco e preciso.

Bibliografia e sitografia

- Liang Y, Liu N, Yang L, et al. A Brief Review of circRNA Biogenesis, Detection, and Function. *Curr Genomics* 2021;22:485-95. 10.2174/1389202922666210331130722 - DOI - PMC - PubMed
- C.-X. Liu et al. Structure and degradation of circular RNAs regulate PKR activation in innate immunity. *Cell*. Vol. 177, Published online April 25, 2019. doi:10.1016/j.cell.2019.03.046.
- Immagine slide 1: <https://www.vchri.ca/stories/2020/10/25/novel-computational-tool-accurately-and-quickly-detects-circular-rna>
- Immagine slide 12: <https://nyulangone.org/news/circular-rna-limits-skin-cancer-spread>