



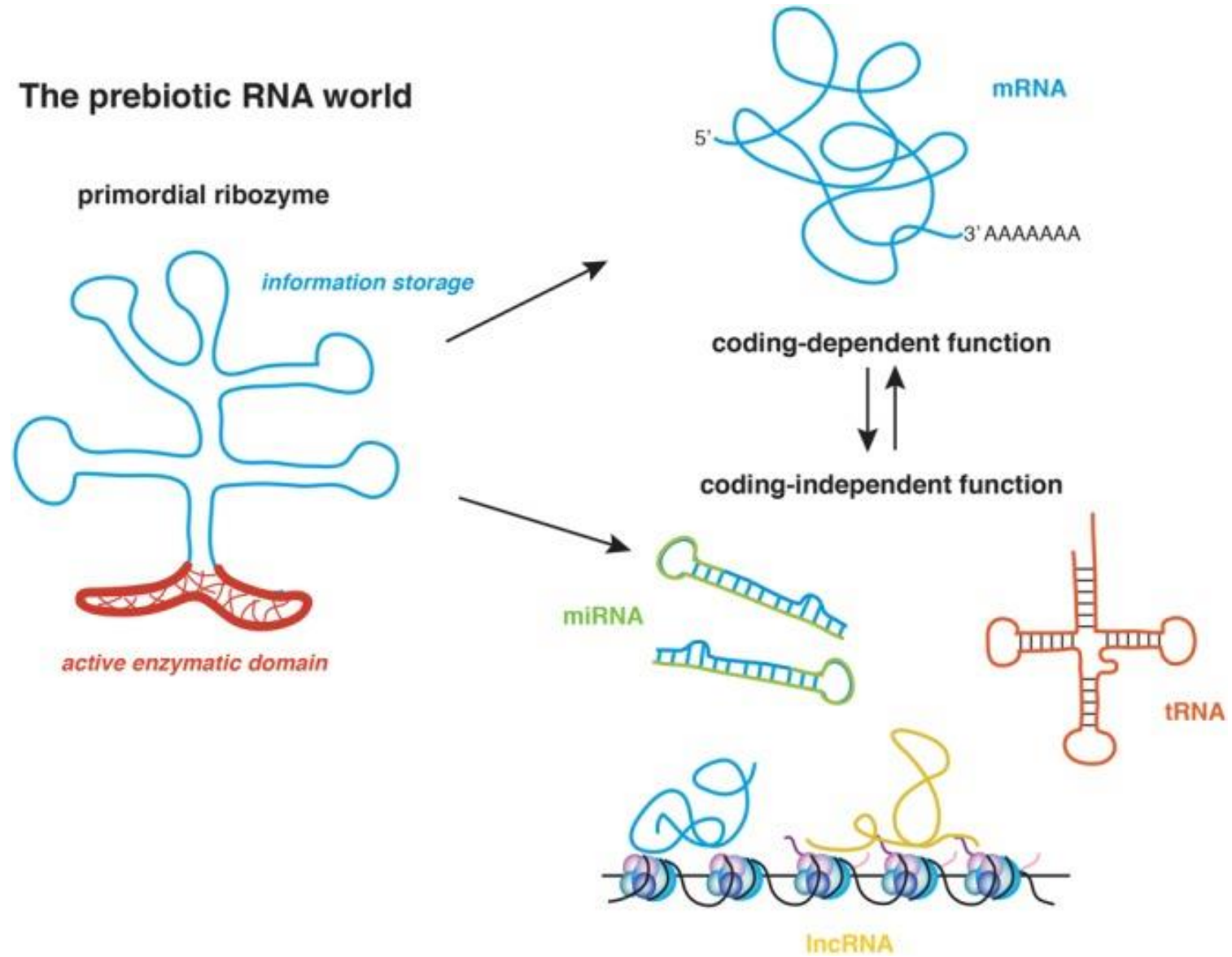
Università politecnica delle Marche  
Dipartimento scienze della vita e dell'ambiente

# **Il processamento post- trascrizionale degli mRNA nei neuroni**

Tesi di Laurea di:  
Silvana Frascarelli

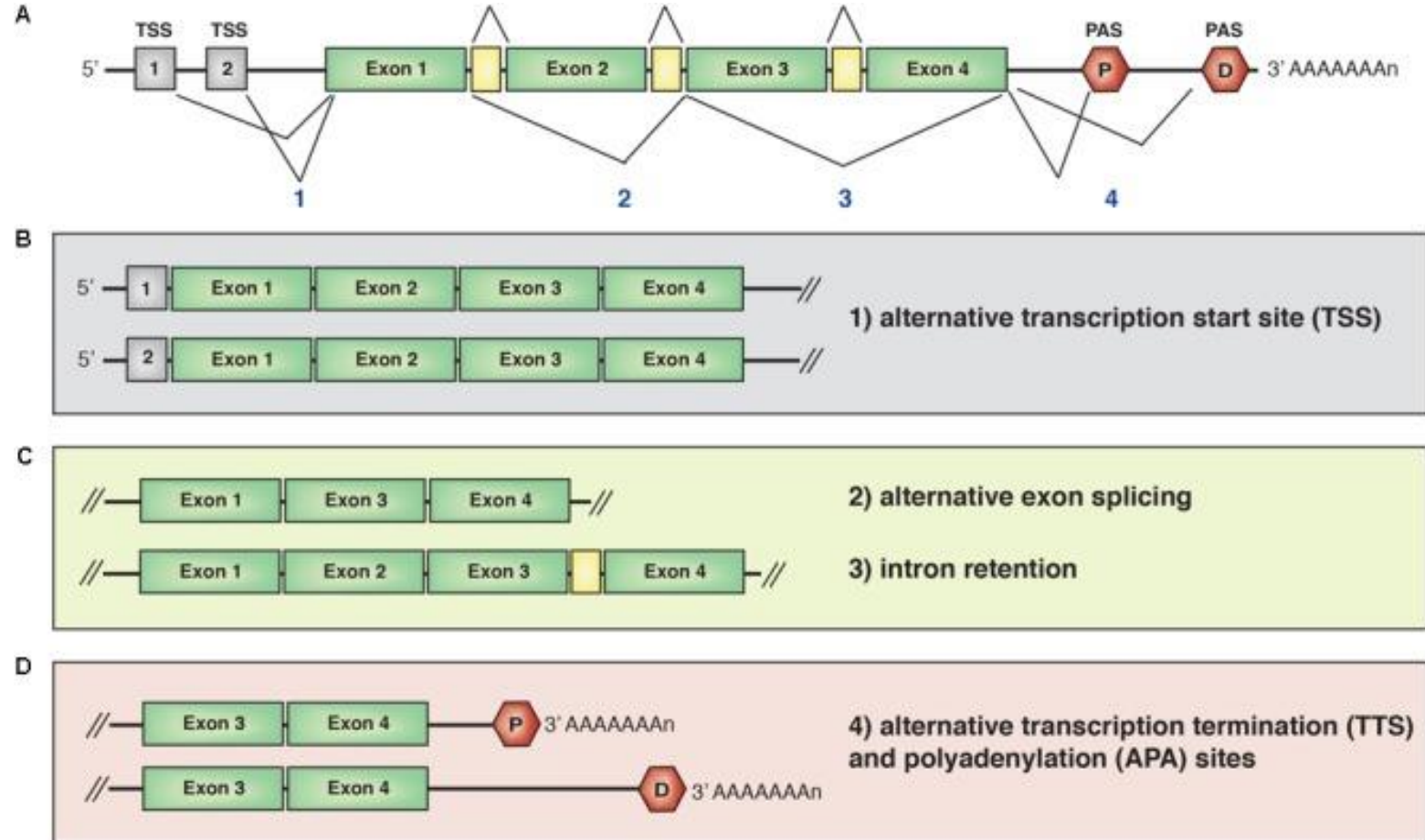
Docente referente:  
Prof. Anna La Teana

# The prebiotic RNA world



# mRNA ISOFORMS

- scelta del sito di inizio della trascrizione
- splicing alternativo
- scelta del sito di termine della trascrizione
- scelta del sito di poliadenilazione



# SITO DI INIZIO ALTERNATIVO

Le isoforme sono generate preferenzialmente dalla scelta di differenti siti di inizio e termine della trascrizione → solo il 35% dei trascritti tessuto specifici sono generati dallo splicing alternativo.

## Esempio:

- Gene del fattore neurotrofico cerebrale (BDNF): otto esoni 5'-UTR e un esone ORF-3'UTR con due siti di poliadenilazione alternativi.

# SPLICING ALTERNATIVO

- Meccanismo di controllo dell'espressione genica → trascritti che conservano introni soggetti a decadimento mediato dal non senso (NMD).
- Regolazione post-trascrizionale dell'mRNA e influenza sulla localizzazione e traduzione.

## Esempio:

- Nei dendriti: trascritti che conservano introni con elementi cis-agenti capaci di legare RBP → Staufen2 lega l'isoforma di Calm3 con introne trattenuto nel 3'UTR regolando la localizzazione dendritica.

# POLIADENILAZIONE ALTERNATIVA

- Dovuta alla scelta alternativa di siti PAS → genera isoforme proteiche o isoforme di mRNA.
- Genesi di trascritti con 3' UTR di varia lunghezza principalmente nei neuroni
- Regolazione del metabolismo dell'mRNA: stabilità, localizzazione e traduzione.

## Esempi:

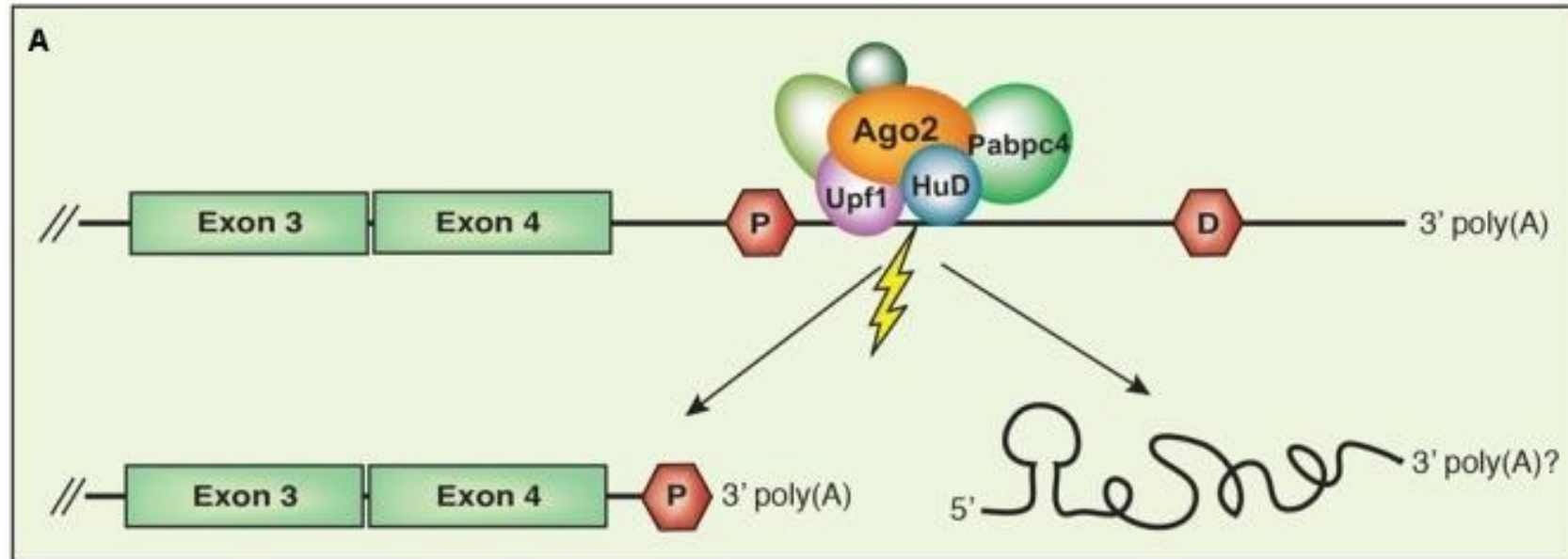
- Neuroni di *Drosophila*: L'RBP nucleare ELAV maschera un sito di poliadenilazione prossimale → isoforme con 3' UTR più lunghi
- Cellule staminali embrionali umane: le isoforme di MECP2 con il 3'UTR lungo sono destabilizzate dall'interazione con Pumilio1 e dal legame con miR-200a e miR-302c.
- Neuroni differenziati: aumentano i livelli dell'isoforma di MECP2 con il 3'UTR lungo e della proteina.

# SPLICING EXTRANUCLEARE

- Lo 0,5% del trascrittoma cellulare subisce splicing citoplasmatico
- Nei neuroni dell'ippocampo: SFPQ rilevato nei dendriti recisi dal soma. Le sue funzioni sono:
  - splicing citoplasmatico;
  - sviluppo degli assoni nei motoneuroni in Zebrafish;
  - regola localizzazione assonale di trascritti che trattengono un introne (ex. LamininB2, Bcl2 e Impa1).

# TAGLIO CITOPLASMatico DEI 3'UTR

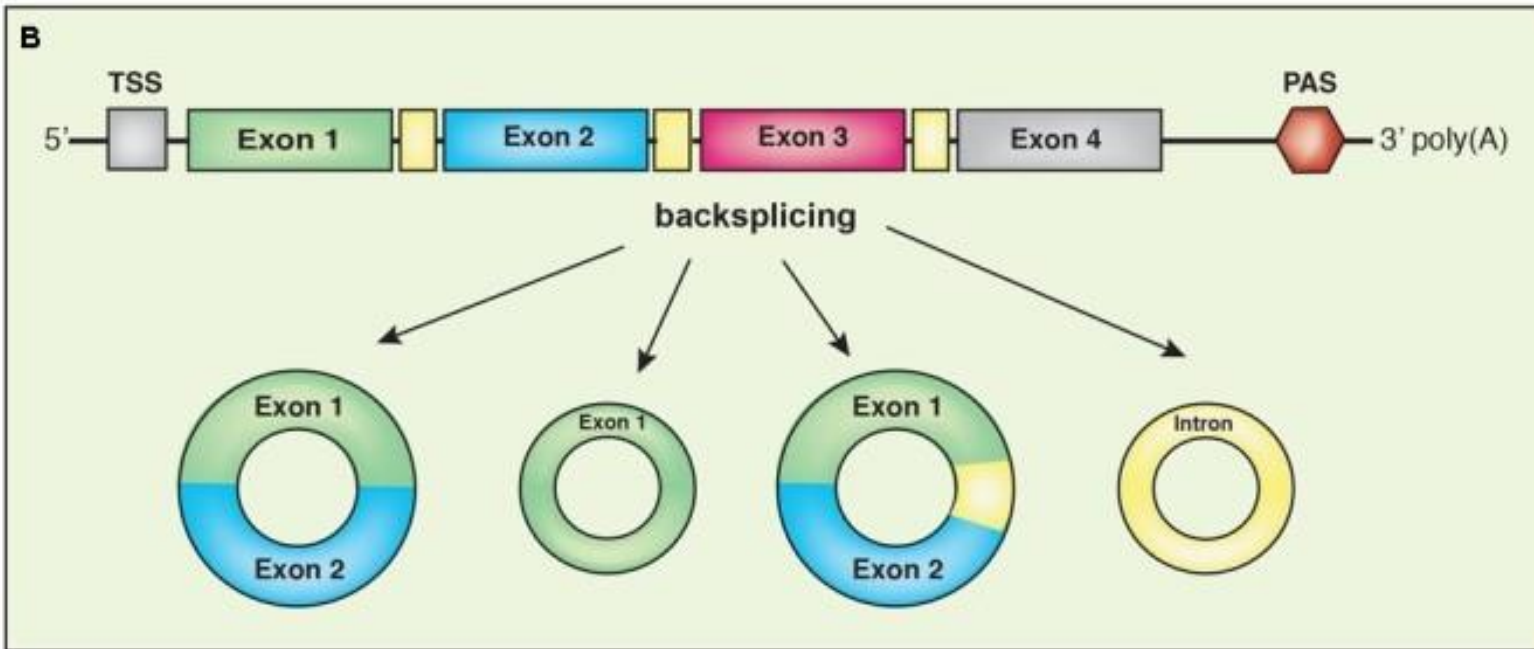
- Taglio citoplasmatico per la sintesi di miRNA e piRNA.
- Espressione differenziale di ORF e 3'UTR in molti trascritti (ex. Sox) nei neuroni dopaminergici di topo.



- Centinaia di 3'UTR subiscono un taglio extra-nucleare generando:
  - trascritti assonali con 3'UTR corti → traduzione più efficiente
  - frammenti 3'UTR → informano sullo stato metabolico dei compartimenti periferici e amplificano risposta a stimoli esterni



# RNA CIRCOLARI



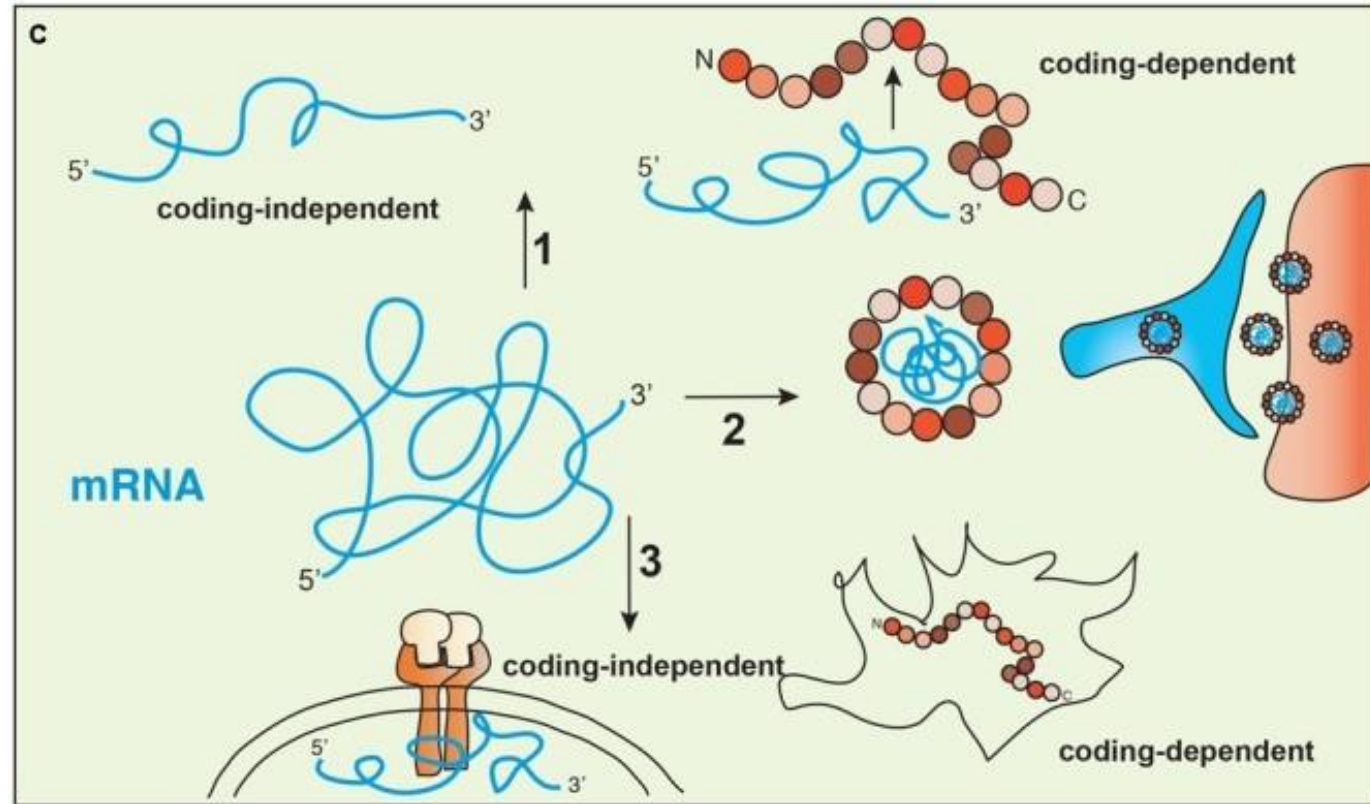
- Genesi mediante back-splicing
- Resistenti alle esonucleasi
- Il cervello esprime il più alto numero di circRNA
- Espressione non correlata all'mRNA lineare (ex. circMbl in *Drosophila*)

## Funzioni:

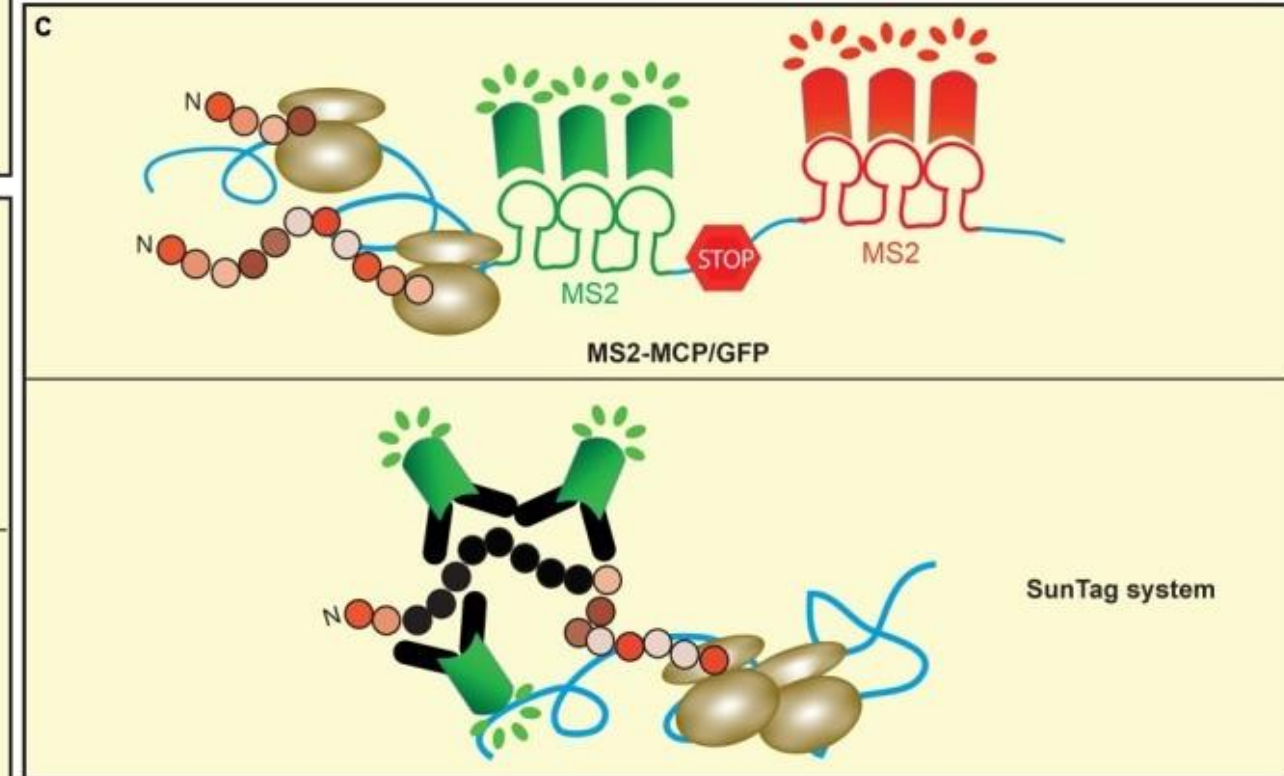
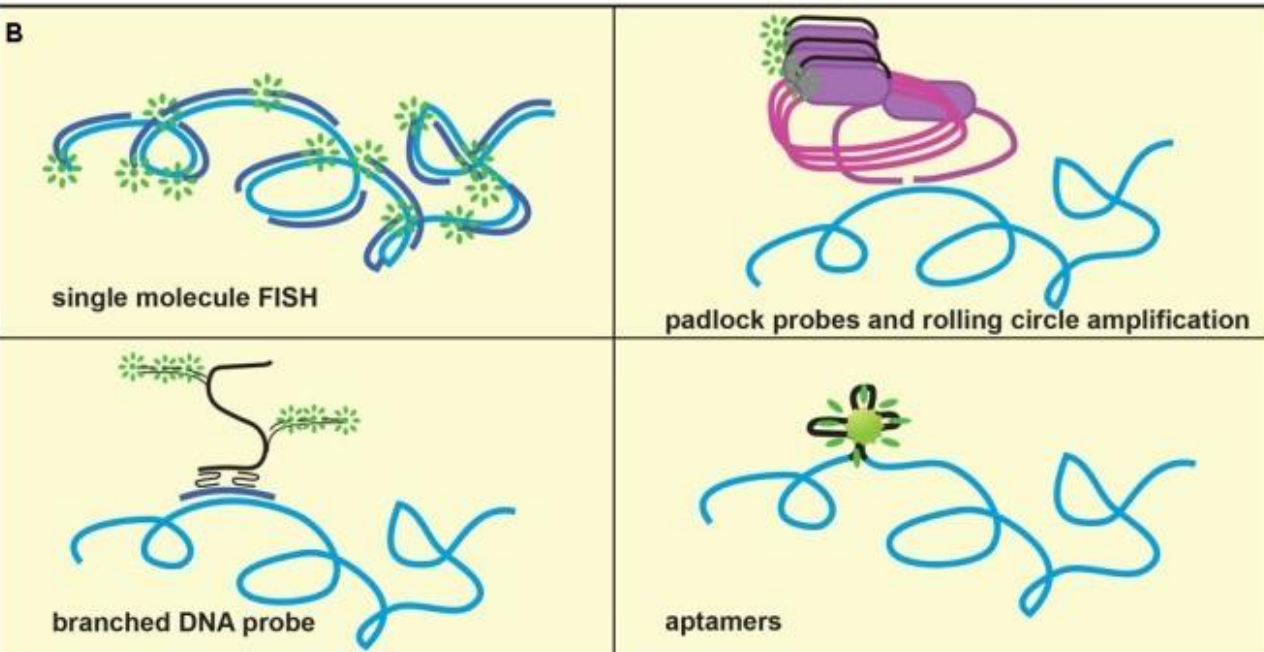
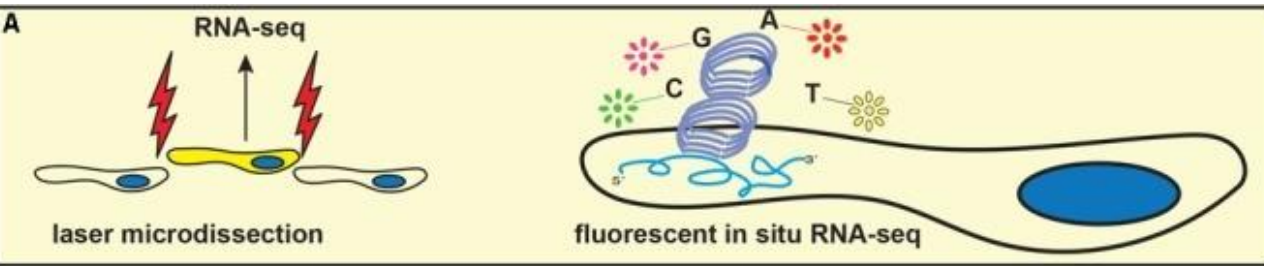
- «Spugne» proteiche e per miRNA (ex. circCDR1-as → 70 siti di legame per miR-7; circMbl → siti di legame per proteina legante mRNA Muscleblind)
- Influenzano funzioni cellulari: alcuni circRNA possono essere trasportati e tradotti con meccanismo cap-indipendente nei dendriti in risposta all'attività sinaptica.

# FUNZIONI ALTERNATIVE DEGLI mRNA

- ❖ RNA codificanti con funzioni alternative nei neuroni:
  - isoforma Ube3a1 come «spugna» di miRNA → aumento della complessità dendritica.
- ❖ mRNA con funzione codificante o meno in base al tipo cellulare:
  - Tp53inp2 codifica per proteina nei miociti, ma non è tradotto nei neuroni: lega il recettore NGF TrkA → miglioramento segnalazione NGF/TrkA
- ❖ mRNA con funzione di trasporto e localizzazione:
  - Struttura secondaria ed elementi cis-agenti connessi alla localizzazione del trascritto



# NUOVE TECNICHE PER LO STUDIO DEGLI mRNA



# CONCLUSIONI

- mRNA come molecola segnale che svolge numerose funzioni
- Modificazioni post-trascrizionali hanno impatto sul metabolismo e sulla trascrizione
- Taglio dei 3'UTR genera una nuova classe di ncRNA coinvolti in molti processi neuronali
- Difetti nel metabolismo degli mRNA come causa di malattie neurodegenerative

# BIBLIOGRAFIA

- «Post-transcriptional processing of mRNA in neurons: the vestiges of the mRNA world drive transcriptome diversity». Catia Andreassi, Hamish Crerar e Antonella Riccio. MRC Laboratory for Molecular Cell Biology, University College London, London, United Kingdom.
- Aid, T., Kazantseva, A., Piirsoo, M., Palm, K., and Timmusk, T. (2007). Mouse and rat BDNF gene structure and expression revisited. *J. Neurosci. Res.* 85, 525–535. doi: 10.1002/jnr.21139
- An, J. J., Gharami, K., Liao, G. Y., Woo, N. H., Lau, A. G., Vanevski, F., et al. (2008). Distinct role of long 3' UTR BDNF mRNA in spine morphology and synaptic plasticity in hippocampal neurons. *Cell* 134, 175–187. doi: 10.1016/j.cell.2008.05.045
- Andreassi, C., Luisier, R., Crerar, H., Franke, S., Luscombe, M., Cuda, G., et al. (2017). 3'UTR remodelling of axonal transcripts in sympathetic neurons. *bioRxiv* [Preprint]. doi: 10.1101/170100
- Andreassi, C., and Riccio, A. (2009). To localize or not to localize: mRNA fate is in 3'UTR ends. *Trends Cell Biol.* 19, 465–474. doi: 10.1016/j.tcb.2009.06.001
- Andreassi, C., Zimmermann, C., Mitter, R., Fusco, S., De Vita, S., Saiardi, A., et al. (2010). An NGF-responsive element targets myo-inositol monophosphatase-1 mRNA to sympathetic neuron axons. *Nat. Neurosci.* 13, 291–301. doi: 10.1038/nn.2486
- Andrews, S. J., and Rothnagel, J. A. (2014). Emerging evidence for functional peptides encoded by short open reading frames. *Nat. Rev. Genet.* 15, 193–204. doi: 10.1038/nrg3520
- Ashley, J., Cordy, B., Lucia, D., Fradkin, L. G., Budnik, V., and Thomson, T. (2018). Retrovirus-like gag protein Arc1 binds RNA and traffics across synaptic boutons. *Cell* 172, 262–274.e11. doi: 10.1016/j.cell.2017.12.022
- Ashwal-Fluss, R., Meyer, M., Pamudurti, N. R., Ivanov, A., Bartok, O., Hanan, M., et al. (2014). circRNA biogenesis competes with pre-mRNA splicing. *Mol. Cell.* 56, 55–66. doi: 10.1016/j.molcel.2014.08.019
- Ballas, N., and Mandel, G. (2005). The many faces of REST oversee epigenetic programming of neuronal genes. *Curr. Opin. Neurobiol.* 15, 500–506. doi: 10.1016/j.conb.2005.08.015
- Barco, A., Patterson, S. L., Alarcon, J. M., Gromova, P., Mata-Roig, M., Morozov, A., et al. (2005). Gene expression profiling of facilitated L-LTP in VP16-CREB mice reveals that BDNF is critical for the maintenance of LTP and its synaptic capture. *Neuron* 48, 123–137. doi: 10.1016/j.neuron.2005.09.005
- Bartel, D. P. (2018). Metazoan MicroRNAs. *Cell* 173, 20–51. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.006
- Cattaneo, A., Cattane, N., Begni, V., Pariante, C. M., and Riva, M. A. (2016). The human BDNF gene: peripheral gene expression and protein levels as biomarkers for psychiatric disorders. *Transl. Psychiatry* 6:e958. doi: 10.1038/tp.2016.214
- Chen, L. L. (2016). The biogenesis and emerging roles of circular RNAs. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 17, 205–211. doi: 10.1038/nrm.2015.32
- Colak, D., Ji, S. J., Porse, B. T., and Jaffrey, S. R. (2013). Regulation of axon guidance by compartmentalized nonsense-mediated mRNA decay. *Cell* 153, 1252–1265. doi: 10.1016/j.cell.2013.04.056
- Costa, C. J., and Willis, D. E. (2018). To the end of the line: axonal mRNA transport and local translation in health and neurodegenerative disease. *Dev. Neurobiol.* 78, 209–220. doi: 10.1002/dneu.22555
- Femino, A. M., Fay, F. S., Fogarty, K., and Singer, R. H. (1998). Visualization of single RNA transcripts in situ. *Science* 280, 585–590. doi: 10.1126/science.280.5363.585
- Glanzer, J., Miyashiro, K. Y., Sul, J. Y., Barrett, L., Belt, B., Haydon, P., et al. (2005). RNA splicing capability of live neuronal dendrites. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 102, 16859–16864. doi: 10.1073/pnas.0503783102
- Hilgers, V., Perry, M. W., Hendrix, D., Stark, A., Levine, M., and Haley, B. (2011). Neural-specific elongation of 3' UTRs during Drosophila development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 15864–15869. doi: 10.1073/pnas.1112672108
- Jacob, A. G., and Smith, C. W. J. (2017). Intron retention as a component of regulated gene expression programs. *Hum. Genet.* 136, 1043–1057. doi: 10.1007/s00439-017-1791-x