



Dipartimento
di Scienze
della Vita
e dell'Ambiente
DISVA

Corso di Laurea
Triennale
in Scienze Biologiche

**Il senso più ampio delle mutazioni
nonsense**

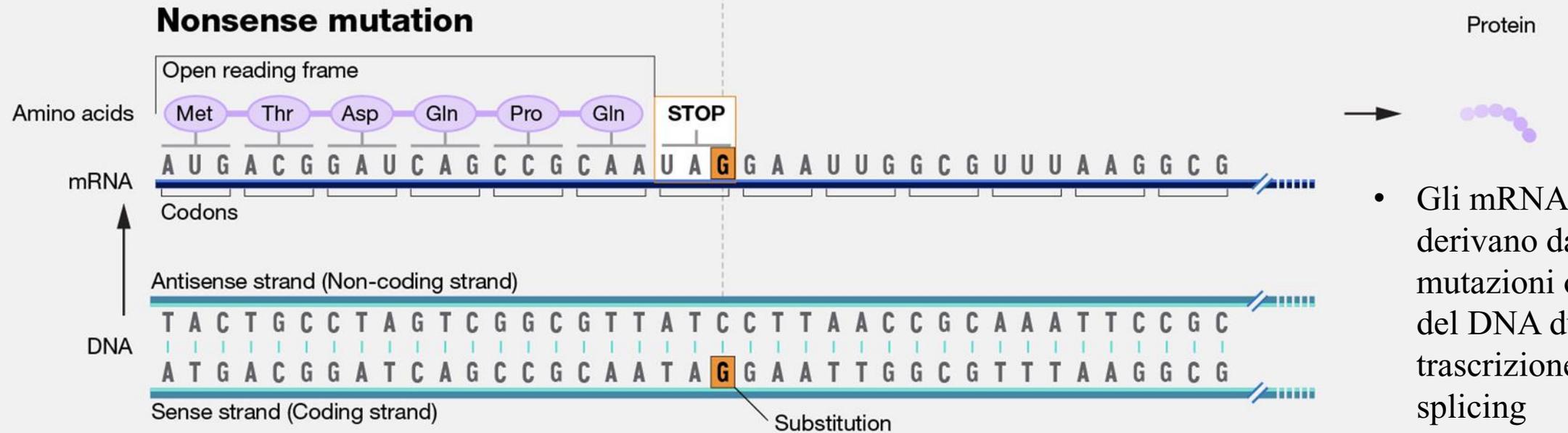
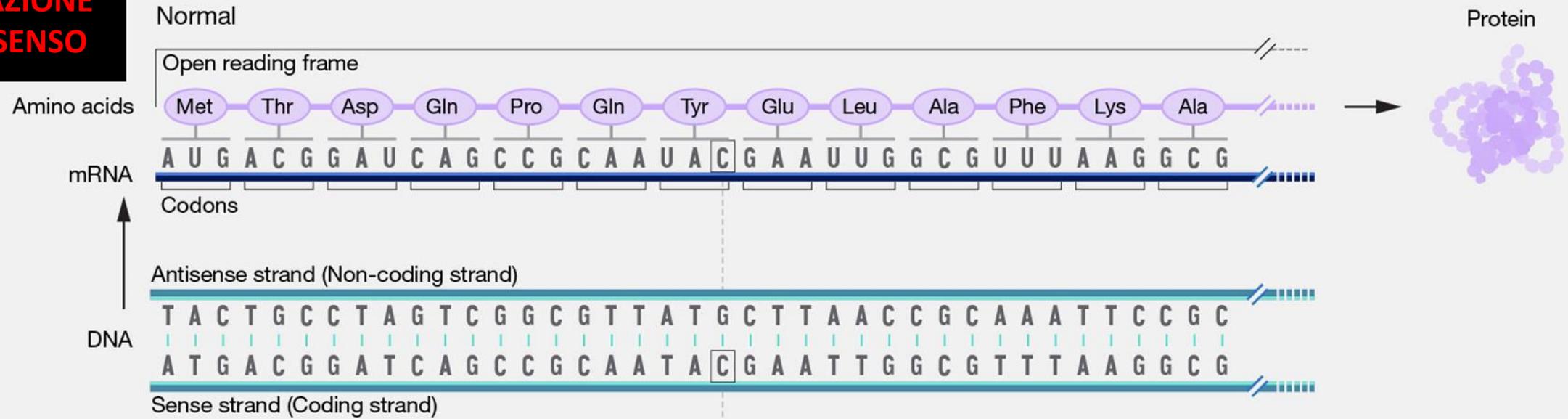
The broader sense of nonsense

Tesi di laurea di:
Orsini Alessandro

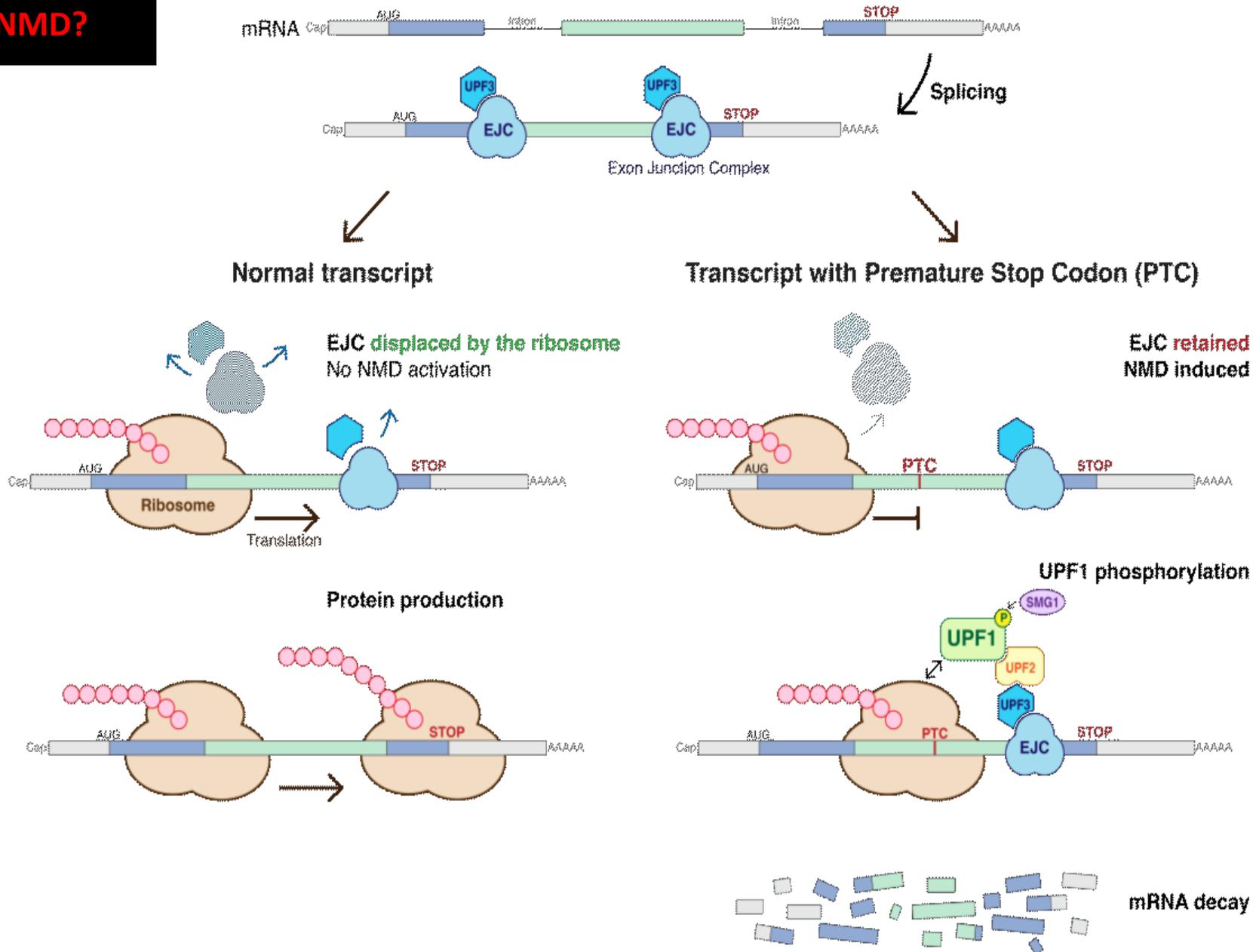
Docente Referente:
Chiar.ma Prof.ssa
La Teana Anna

A.A. 2021/2022

MUTAZIONE NONSENSEN



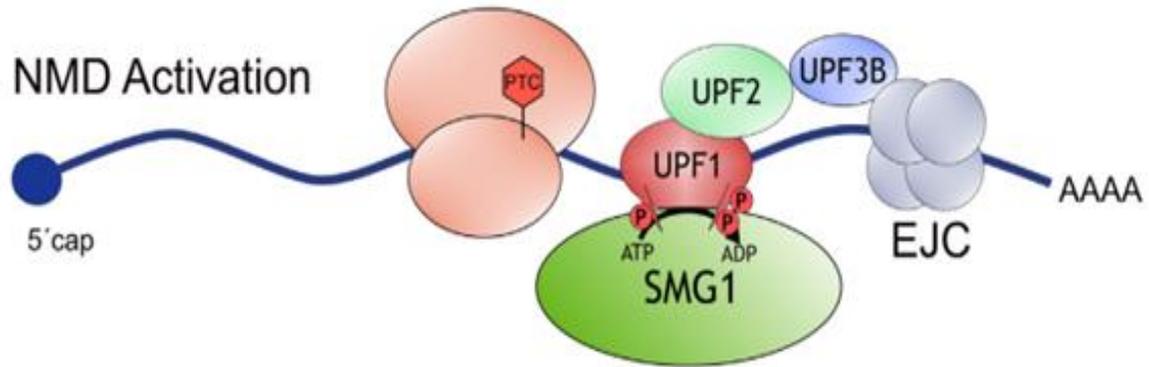
COS'È L'NMD?



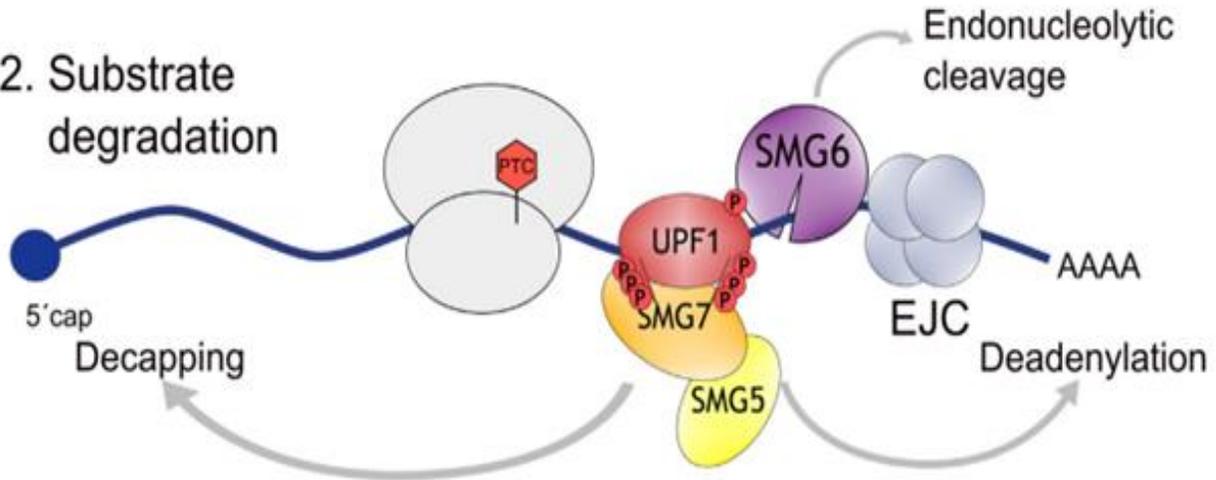
- PTC (Premature Termination Codon)
- mRNA target
- Effetto variabile
- RNA-binding proteins
- Rete ramificata di percorsi di degrado

UPF1

1. NMD Activation



2. Substrate degradation

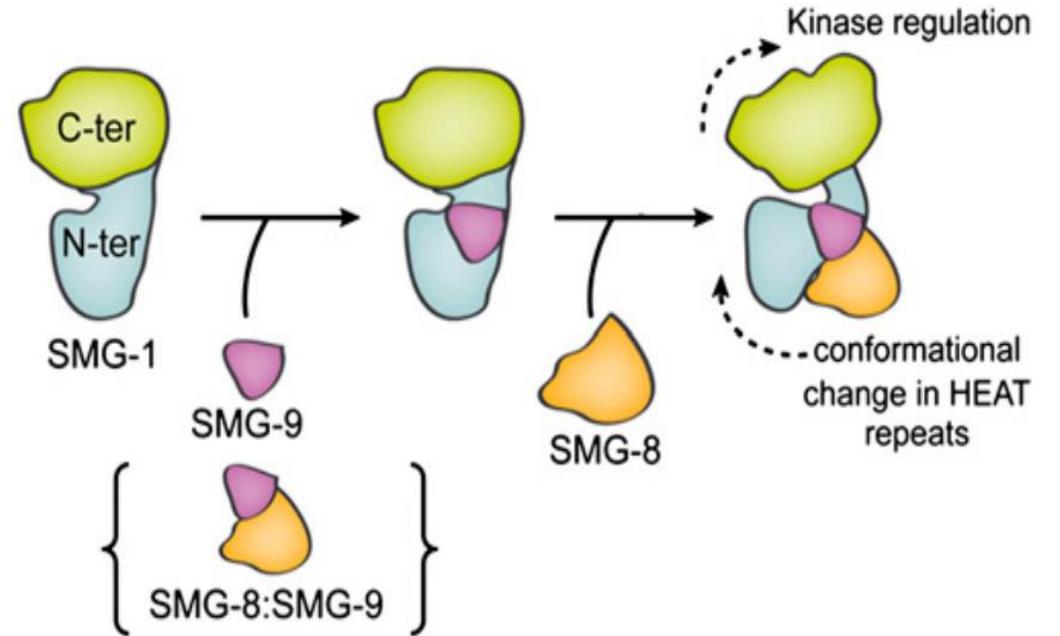
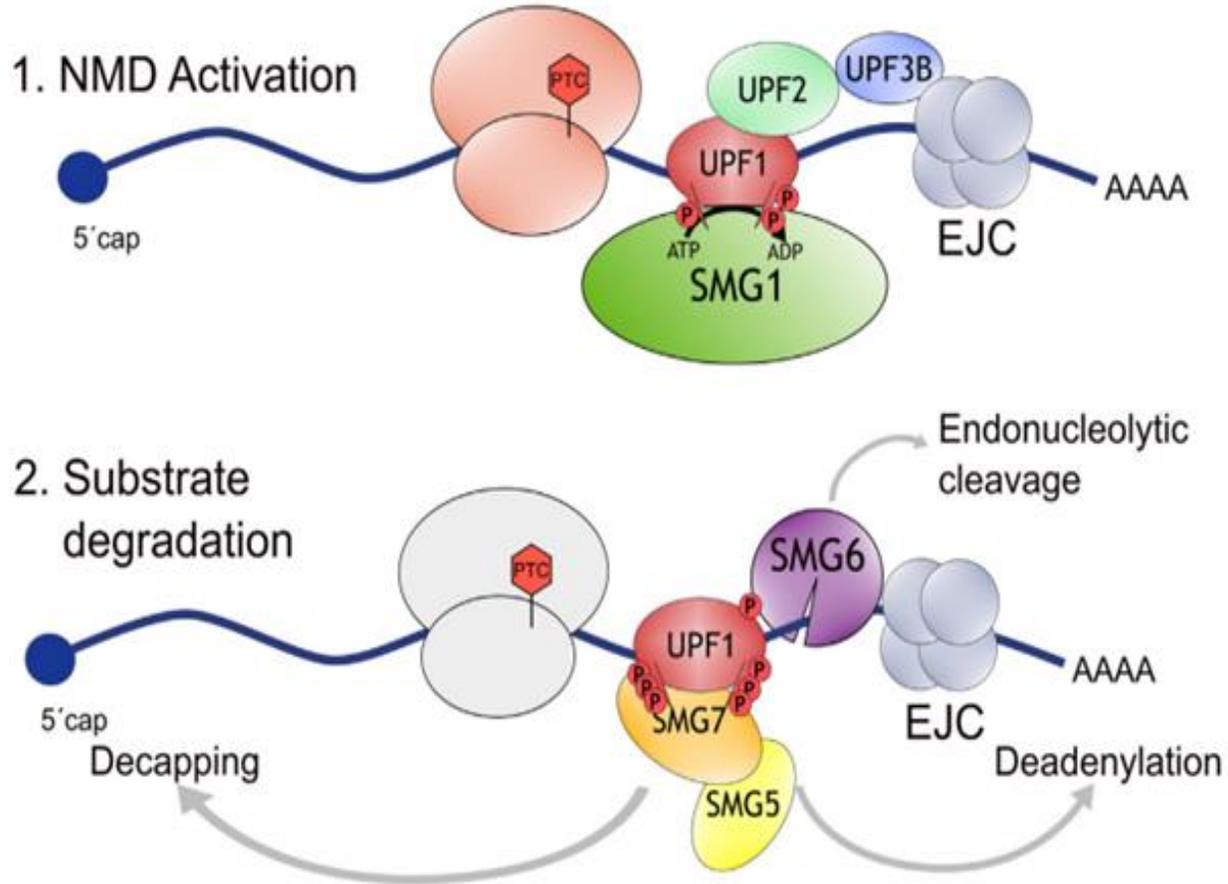


[4 PLOS \(Public Library of Science\)](#)

- UPF1 è un'elicasi ATP-dipendente
- UPF2 e UPF3B stimolano l'attività di UPF1
- Fosforilazione di UPF1 da parte di SMG1
- UPF1 recluta SMG6 e SMG5/7
- Regola dei 50 nucleotidi

[3 Trends in Biochemical Sciences](#)

SMG1



[5 Cold Spring Harbor Laboratory Press](#)

- Il complesso SMG1, costituito dalla Ser-Thr chinasi SMG1 e da SMG8 e SMG9.
- Senza UPF1, il dominio C-terminale di SMG8 reprime l'attività della chinasi SMG1.

- Fin dalla sua scoperta, NMD è stato collegato a malattie genetiche
- La produzione di proteine tronche derivate da mutazioni nonsense può portare a gravi conseguenze



NMD Sì

- ✓ Proteine tronche possono impedire la formazione di complessi funzionali e risultare tossiche
- ✓ NMD ha un effetto benefico nel limitare la produzione di tali proteine
- ✓ Possibilità farmaceutiche per migliorare specificamente l'attività NMD



NMD No

- × NMD può anche aggravare fenotipi della malattia
- × Una proteina tronca può mantenere la sua funzione piena o parziale
- × L'inibizione della NMD sarebbe un approccio terapeutico promettente.

MALATTIE NEURODEGEN.

- ❖ Diverse mutazioni nei geni del core di NMD sono correlate alle sindromi neurologiche e dello sviluppo
- ❖ UPF3B è stato associato a disturbo dello spettro autistico, ecc.
- ❖ Altri casi riguardanti UPF2B, SMG8 e SMG9

VIRUS

- ❖ NMD come linea di difesa degradando molti RNA virali
- ❖ I virus hanno sviluppato diverse strategie per eludere la NMD

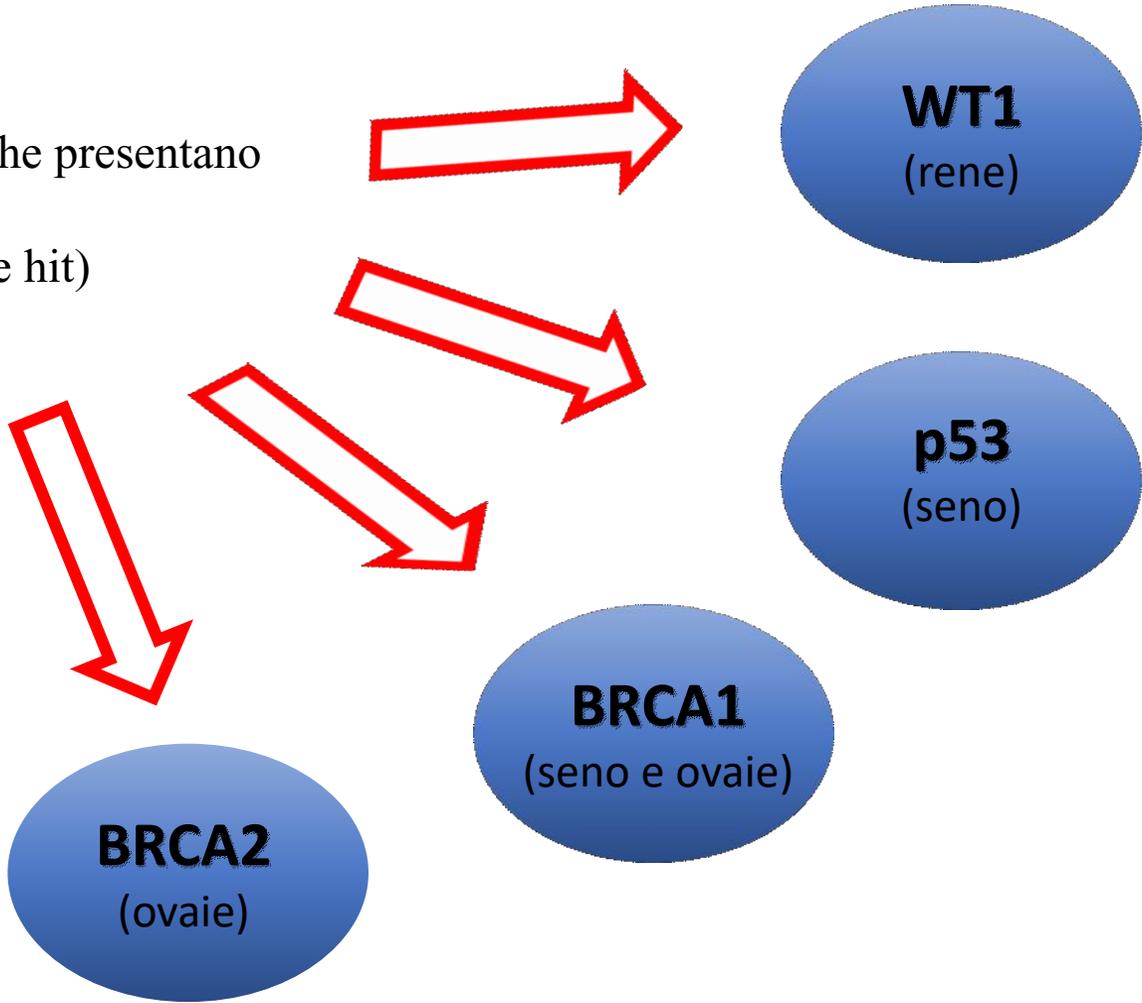
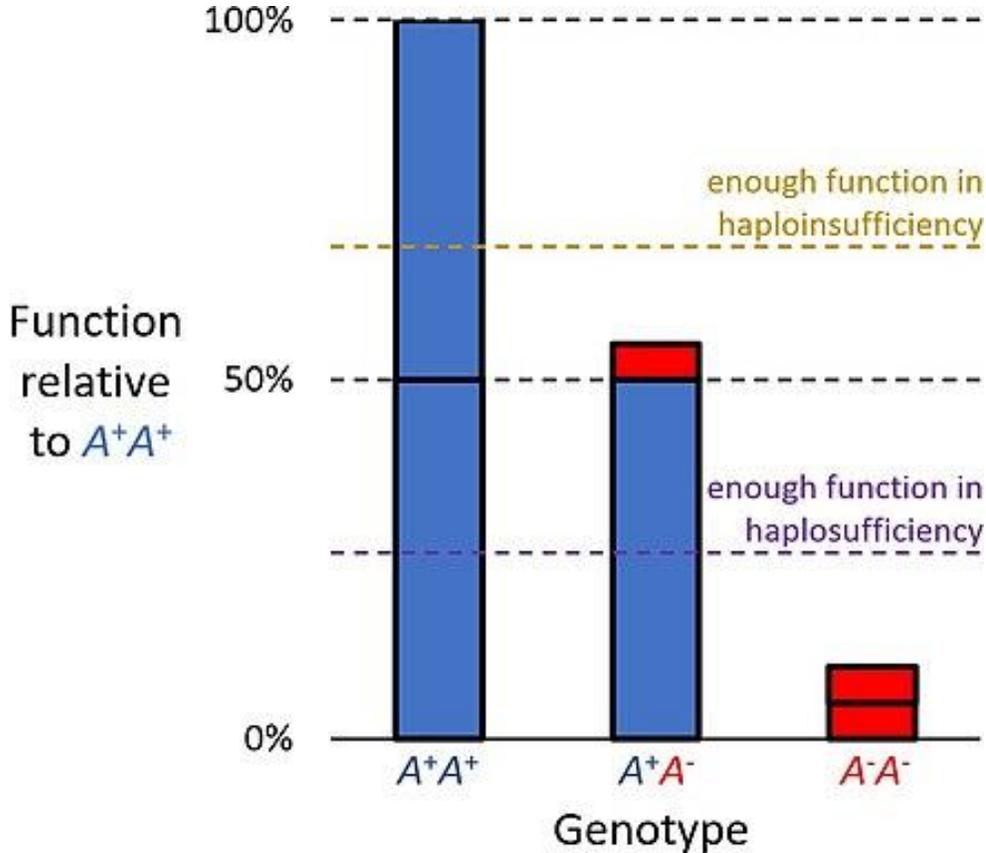
CANCRO

- ❖ NMD influisce sulla progressione del cancro
- ❖ NMD ha sia ruoli di soppressione del tumore che di aiuto all'avanzamento dello stesso

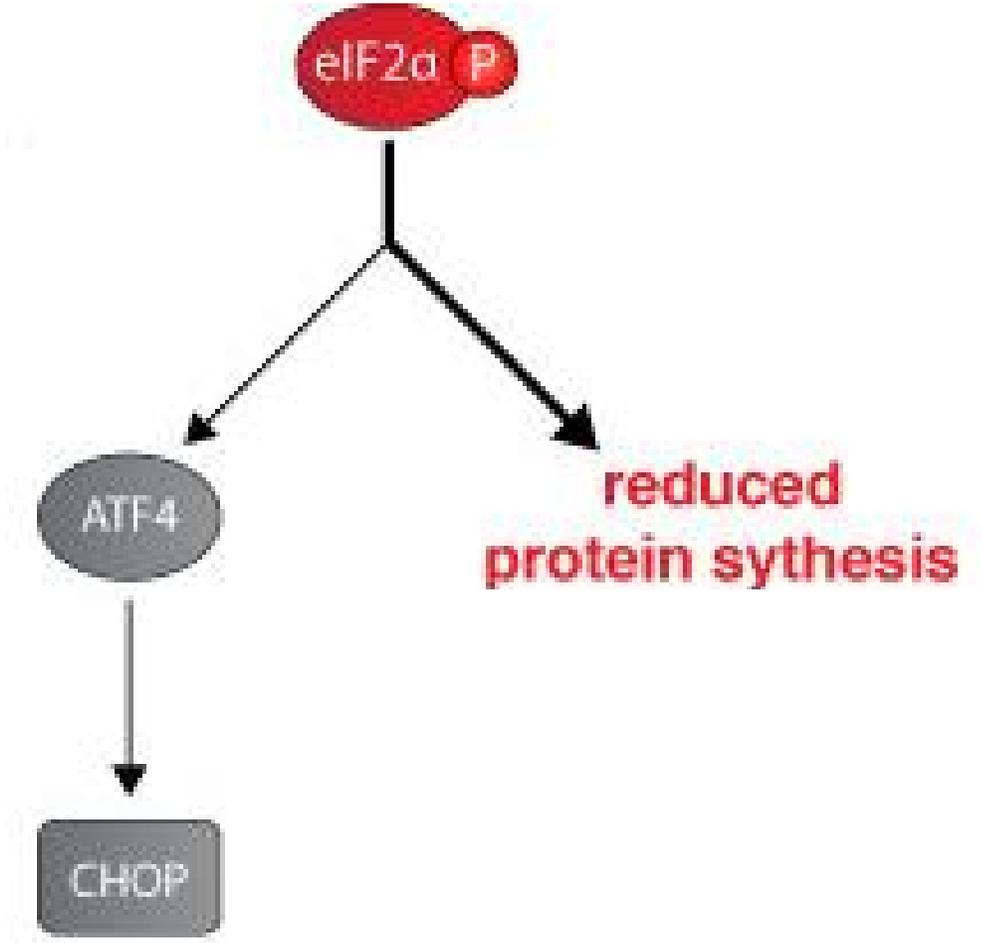
- » Ruolo da oncosoppressore (geni aploinsufficienti, ISR)
- » Ruolo da promotore (geni aplosufficienti, neoantigeni)
- » Formulazione di regole non canoniche:
 - 1) Esoni più lunghi di 400 nucleotidi
 - 2) mRNA con brevi emivite
 - 3) Motivi specifici vicino al PTC o nella regione non tradotta (UTR)

**REPRESSORE...
ONE HIT**

- Effetto positivo in geni che presentano un'aploinsufficienza (one hit)

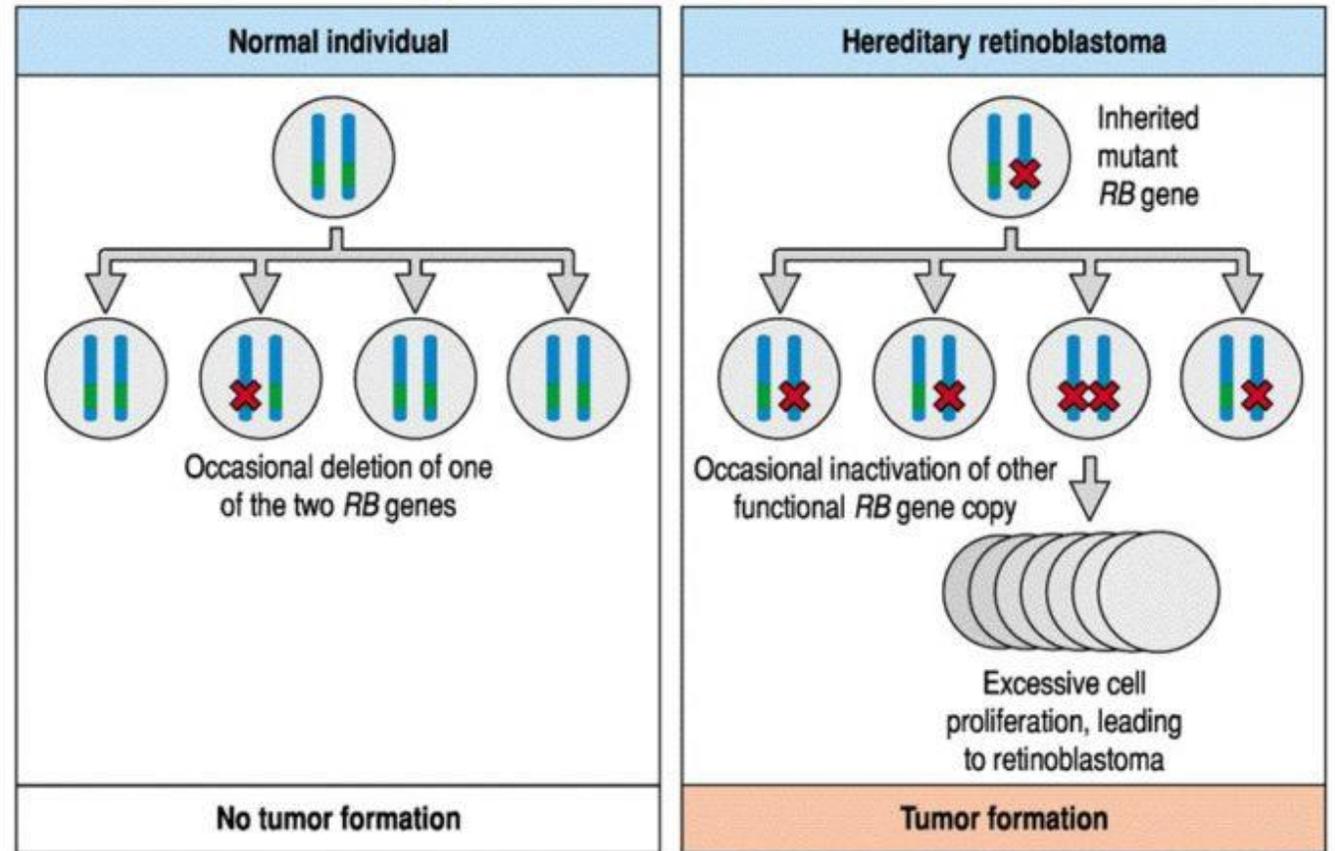


- Stress come deprivazione amminoacidica e ipossia inducono la ISR (risposta integrata allo stress)
- Fosforilazione di eIF2 α
- Sintesi di ATF4, ATF3 e CHOP

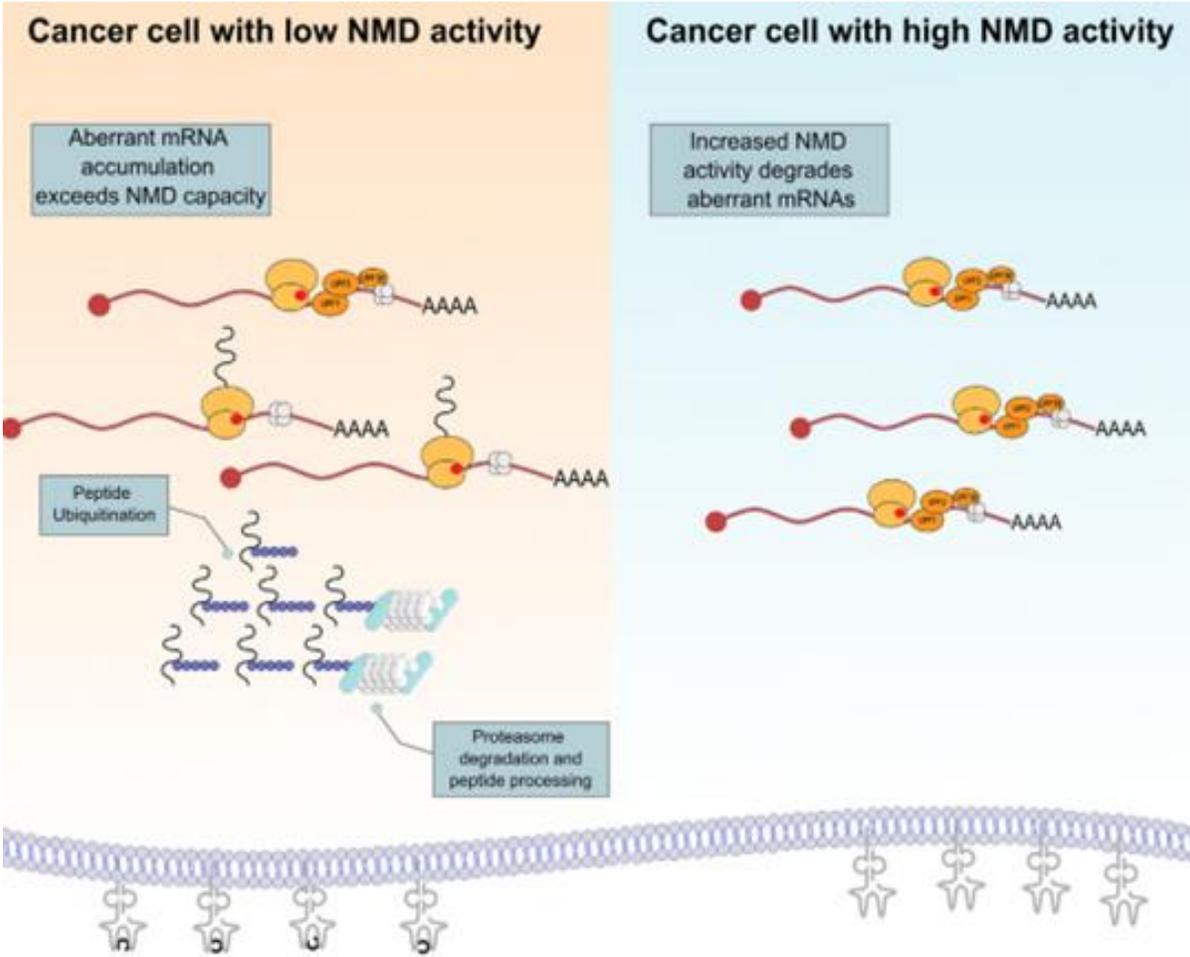


The Knudson's "two hit" hypothesis for the generation of RB

- "Two-hit hypothesis" di A. G. Knudson
- Geni aplosufficienti
- Mutazioni nulle diventano deleterie



- Peptidi immunogenici che derivano da mutazioni nelle cellule tumorali
- Attivano la risposta delle cellule T
- Sono bersagli della degradazione mediata da mutazioni nonsense



PROMOZIONE READTHROUGH:

1) Antibiotici aminoglicosidici

- Identità codone di stop
- Tipo di antibiotico impiegato
- Influenza traduzione di istoni ed enzimi metabolici

In vitro TNT tests

AAG	PTC-readthrough susceptibility				
Paromomycin	DNAH5_32 >	DNAH5_49 >	DNAH11_70 >	RSPH4A_3a >	DNAH5_20
Gentamicin	DNAH11_70 >	DNAH5_32 >	RSPH4A_3a >	DNAH5_49 >	DNAH5_20
G418	DNAH5_32 >	DNAH11_70 >	RSPH4A_3a >	DNAH5_49 >	DNAH5_20

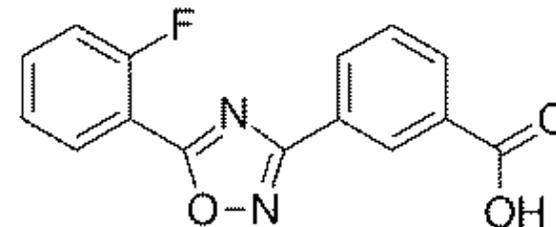
Ex vivo tests

AAG	PTC-readthrough susceptibility				
Paromomycin	DNAH11_70 >	DNAH5_32 >	DNAH5_49 >	RSPH4A_3a >	DNAH5_20
Gentamicin	DNAH11_70 >	DNAH5_32 >	RSPH4A_3a >	DNAH5_49 >	DNAH5_20
G418	DNAH11_70 >	DNAH5_49 >	RSPH4A_3a >	DNAH5_32 >	DNAH5_20

[9 tandfonline.com](http://9.tandfonline.com)

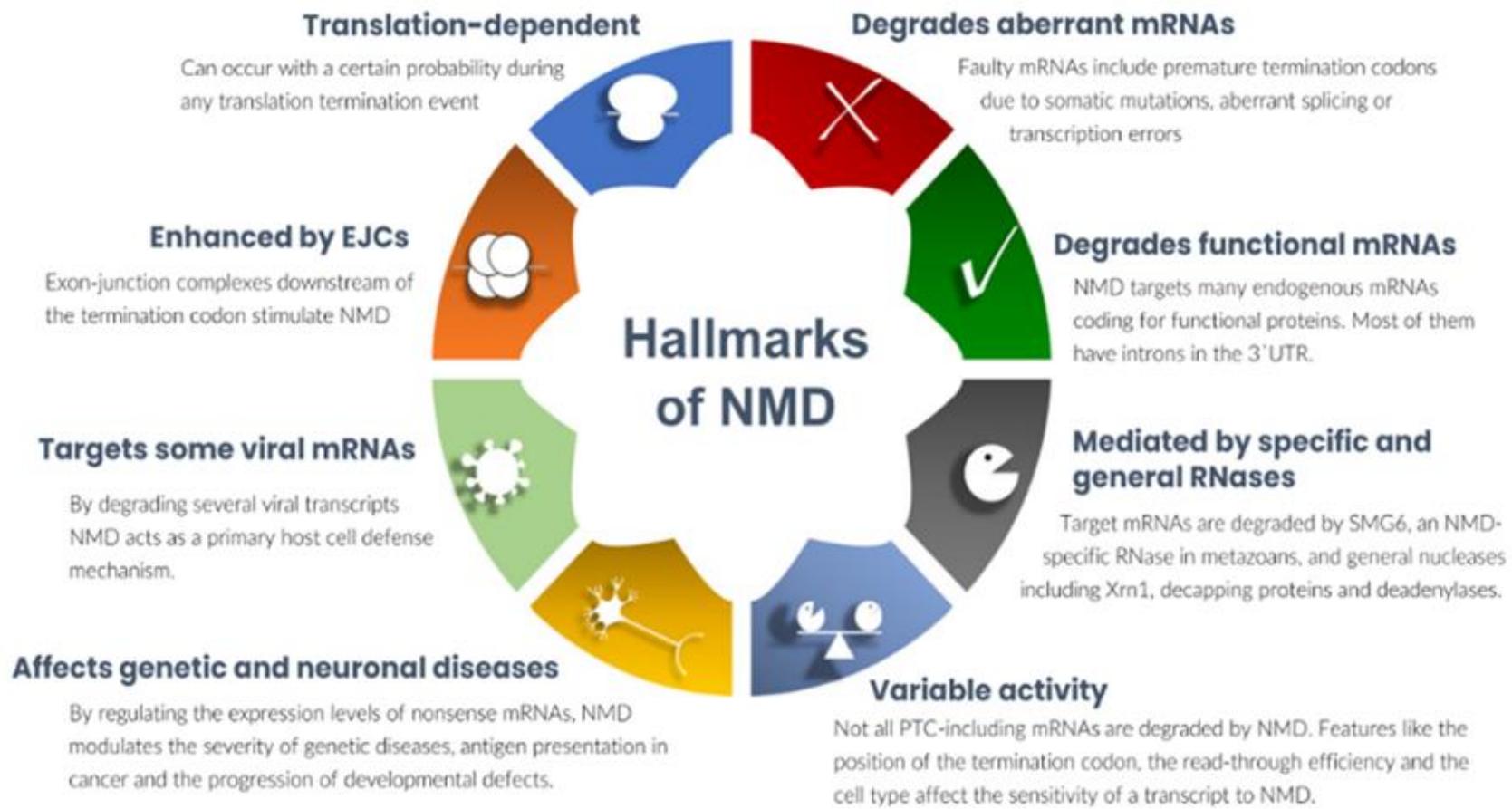
2) Ataluren

- Distrofia muscolare di Duchenne



3) Adenosina deamminasi (inosina)

UGA, UAG, UAA **→** UGG



- Meccanismo globale di regolazione genica
- Risposta alla NMD dipendente da tessuto, storia e altre mutazioni presenti
- Approcci personalizzati

La degradazione dell'mRNA mediata da mutazioni nonsense (NMD) è un processo traduzione-dipendente che prende di mira sia trascritti anomali che hanno come prodotto finale una proteina tronca, sia molti canonici mRNA che codificano per proteine a lunghezza intera.

La presenza di un Exon Junction Complex (EJC) a valle di un codone di terminazione prematuro (PTC) può innescare l'iperfosforilazione dell'elicasi, ATP-dipendente, UPF1 da parte della serina-treonina chinasi SMG1, con il conseguente reclutamento dell'endonucleasi SMG6 e dei fattori responsabili di decapping e deadenilazione, cioè SMG5 e SMG7.

Il processo è inoltre influenzato da UPF3B e UPF2, fattori fondamentali per l'iperfosforilazione di UPF1.

In questa presentazione, oltre al meccanismo e agli attori coinvolti, viene sottolineata la complessità nel prevedere gli effetti del processo e le varie caratteristiche che legano la NMD a virus, malattie neurodegenerative e cancro, concentrandosi specialmente su quest'ultimo.

Infatti, attraverso studi su questo tipo di malattia è stata resa possibile la formulazione di nuove regole che permettono di aumentare la probabilità di previsione degli effetti della NMD.

Tuttavia, moltissime questioni sono ancora irrisolte, tra cui il fatto secondo cui ancora è ignoto se la presenza della NMD abbia effetti repressori o benefici per il tumore.

Da una parte la degradazione di trascritti con geni aploinsufficienti mutati che codificano per oncosoppressori anomali patogeni fa pensare che il processo abbia un impatto positivo sulla salute del malato; d'altra parte, invece, se i target sono geni aplosufficienti (che anche se mutati, codificano per proteine che mantengono la funzione originale) e/o neoantigeni che attivano la risposta delle cellule T, l'inibizione della NMD diventa l'approccio terapeutico consigliato.

L'inibizione avviene secondo un meccanismo di lettura oltre il codone di terminazione prematuro (readthrough), che può essere indotto da antibiotici aminoglicosidici, il farmaco Ataluren (derivato dell'ossadiazolo) o attraverso l'Adenosina deamminasi; tuttavia, questi approcci destano preoccupazione data la loro scarsa specificità.

Ogni caso ha quindi bisogno di un trattamento personalizzato e si prevede che vengano effettuate ricerche in futuro per chiarire ulteriormente le proprietà biologiche di questo complesso processo molecolare.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI:

- F. Supek, B. Lehner, R.G.H. Lindeboom: “A NMD o non a NMD: decadimento dell'mRNA mediato da nonsense nel cancro e in altre malattie genetiche”, Trends in Genetics, Volume 37, Numero 7, Pagine 657-668, 07/2021
- Z. Bukowy-Bieryllo, M. Dabrowski, M. Witt, e E. Zietkiewicz: “Aminoglycoside-stimulated readthrough of premature termination codons in selected genes involved in primary ciliary dyskinesia” pubblicato online il 12/09/2016 e appartenente al volume 13 di “RNA biology”, pag.1041-1050
- E.D. Karousis, O. Muhlemann: the broader sense of nonsense, “Trends in Biochemical Sciences”, 2022

FONTI DELLE IMMAGINI:

- 1- <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Nonsense-Mutation>
- 2- https://en.wikipedia.org/wiki/Nonsense-mediated_decay
- 3/8/10- [file:///C:/Users/angel/Downloads/The%20broader%20sense%20of%20nonsense%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/angel/Downloads/The%20broader%20sense%20of%20nonsense%20(1).pdf)
- 4- https://plos.figshare.com/articles/figure/UPF1_organization_is_very_similar_in_Ustilago_maydis_and_Homo_sapiens_/1643783
- 5- <http://genesdev.cshlp.org/content/25/2/153.full.html#ref-list-1>
- 6- https://www.researchgate.net/figure/UPR-and-ISR-signalling-through-eIF2a-P-Unfolded-proteins-induce-the-induction-of-the_fig2_270223394
- 7- <http://www.storiadellamedicina.net/alfred-knudson-lorigine-della-teoria-del-gene-oncosopressore/>
- 9- <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15476286.2016.1219832>