



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di laurea
Scienze biologiche

POLIADENILAZIONE ALTERNATIVA IN CELLULE TUMORALI
ALTERNATIVE POLYADENYLATION IN CANCER CELLS

Tesi di laurea di:

CAROLINA CLEMENTI

Docente Referente
Chiar.mo Prof.

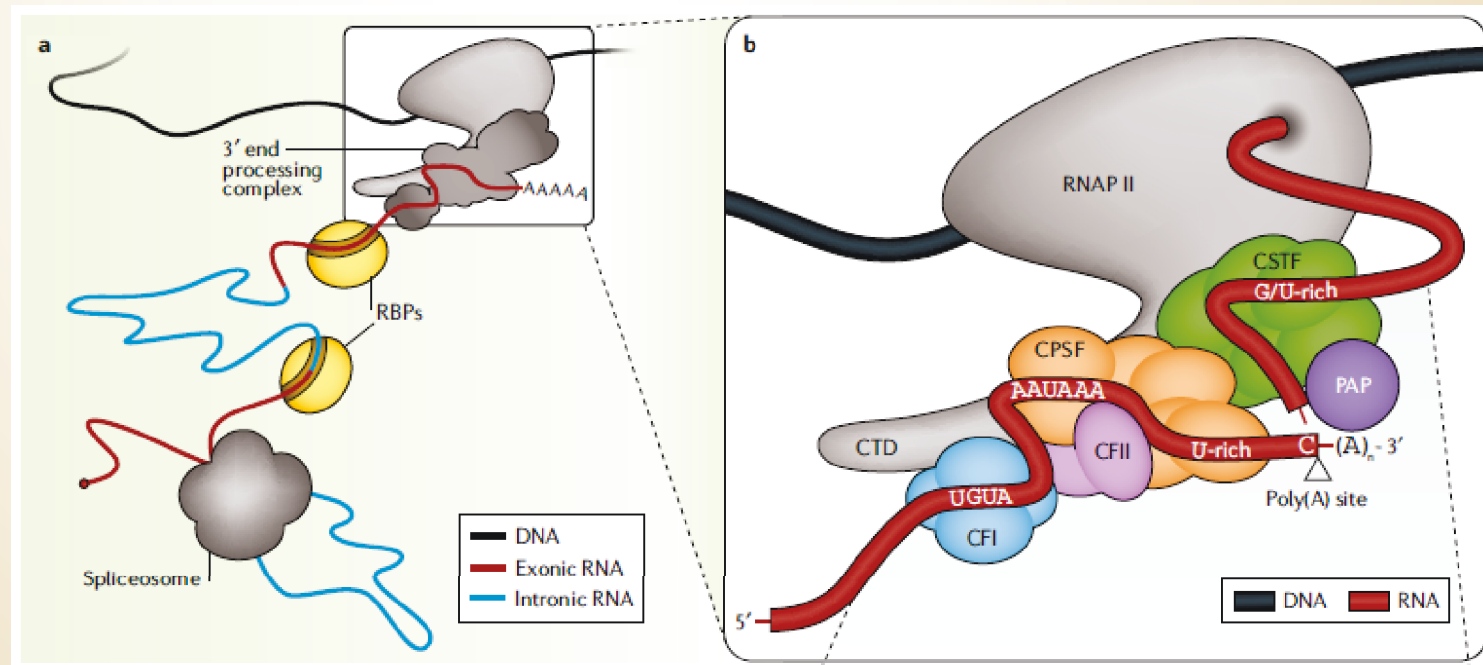
ANNA LA TEANA

Sessione Febbraio 2020

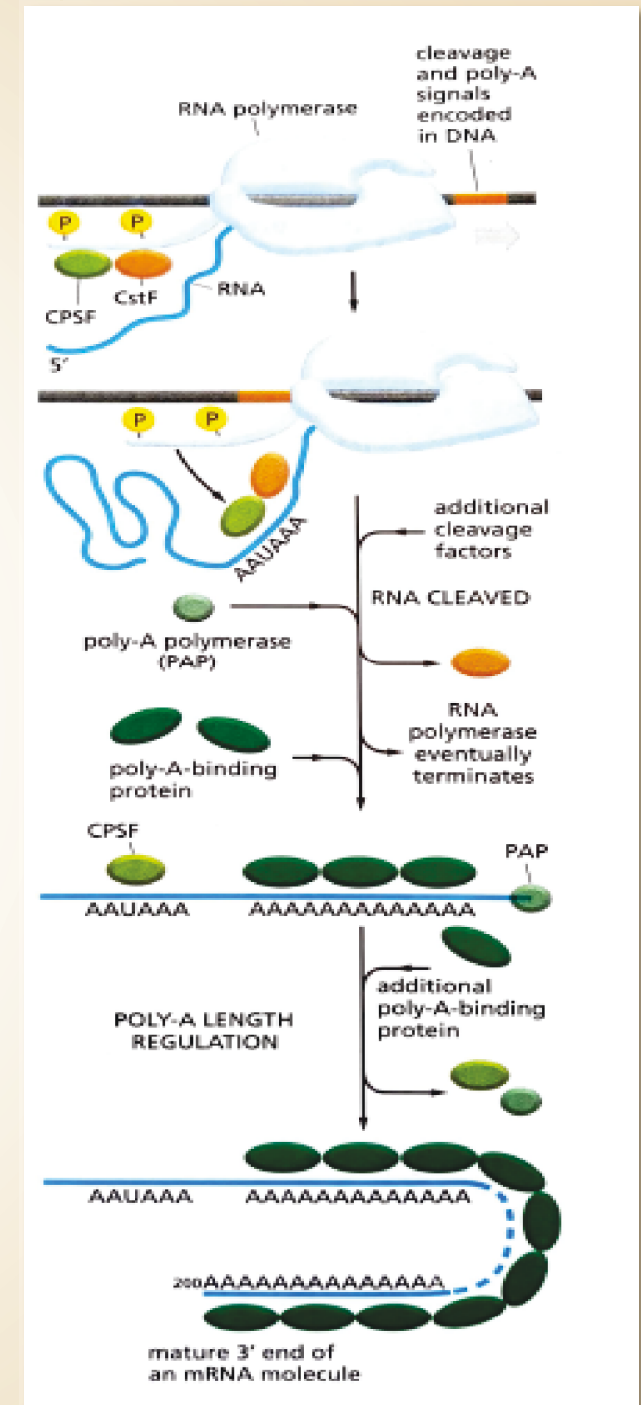
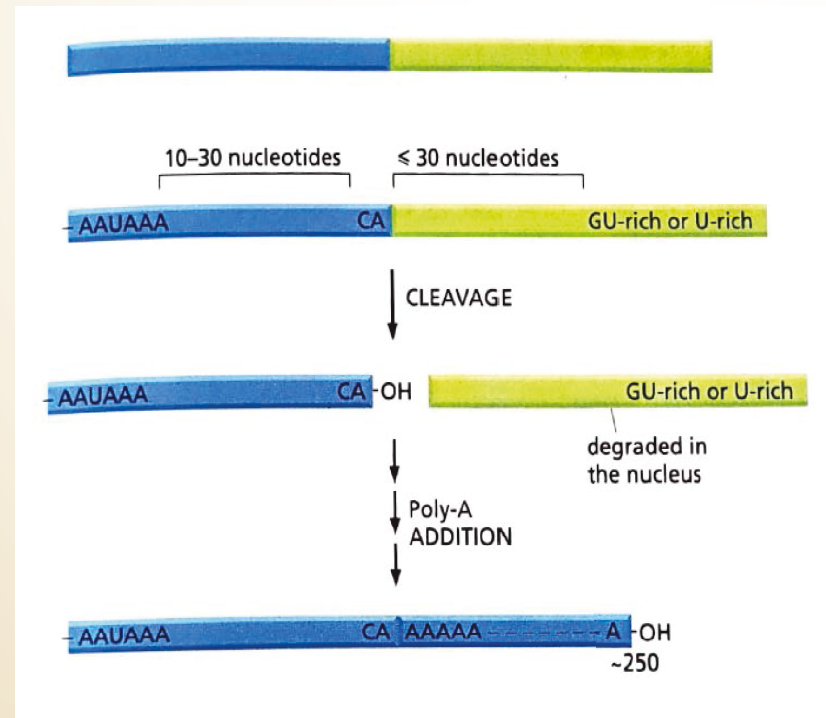
Anno Accademico 2018/2019

MATURAZIONE DELL' RNA MESSAGGERO

- ▶ L'RNA messaggero va incontro a maturazione una volta completato il processo di trascrizione.
- ▶ Il processo consiste nell'aggiunta di un cap al 5' e una coda di poli-A all'estremità 3' tramite il macchinario di poliadenilazione.
- ▶ Il macchinario viene reclutato dalla coda C-terminale della RNA polimerasi II ed è composto dai fattori CSTF, CPSF, CF I e II e altre proteine, tra cui la poli-A polimerasi.

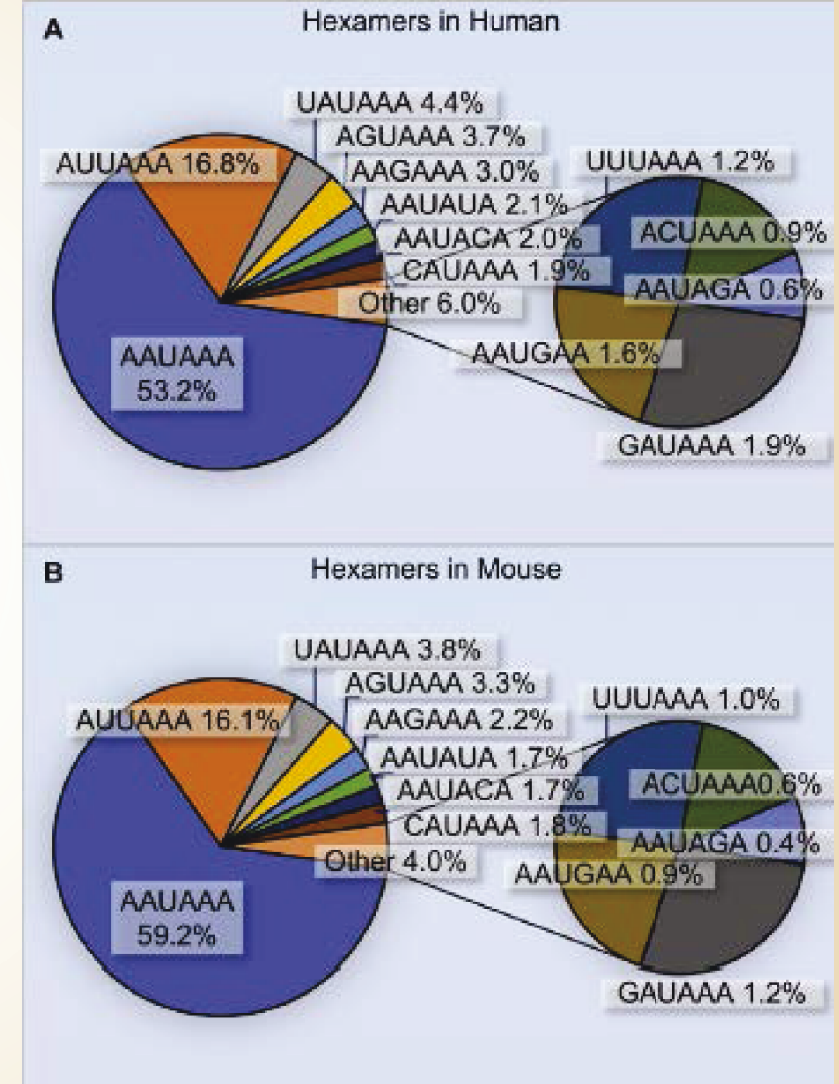
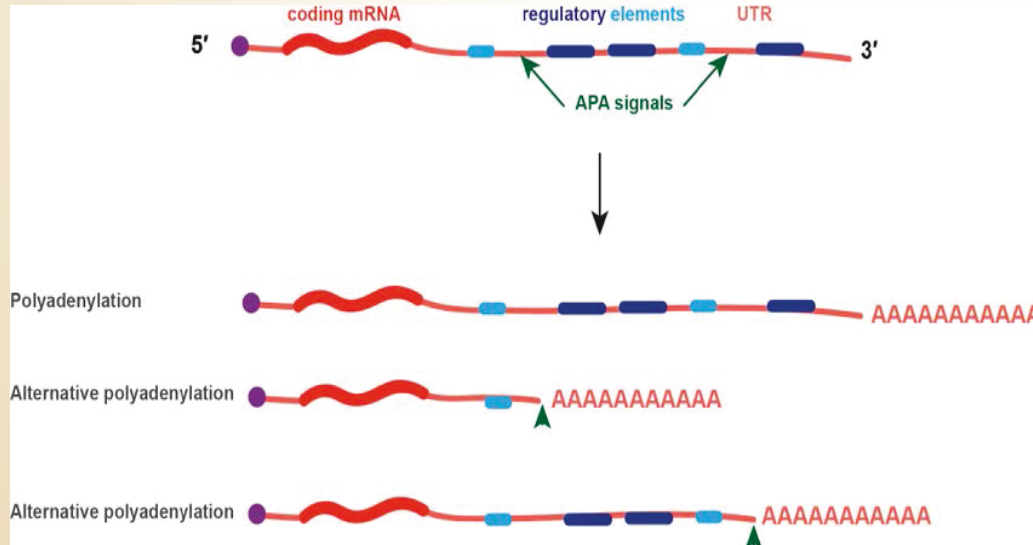


- I fattori reclutati dalla CTD come CPSF e CSTF si legano alla sequenza canonica AAUAAA, segnale che determina il sito di taglio e poli(A);
- Il taglio avviene in una sequenza CA 10-30 nucleotidi a valle di AAUAAA, lasciando un -OH libero;
- L'enzima PAP (Poli-A Polimerasi) sintetizza e aggiunge una coda di circa 200 nucleotidi all'OH lasciato libero dal taglio.
- PABPN1 (proteina-legante-poli-A 1) interrompe l'interazione di CPSF con la coda di poli-A.



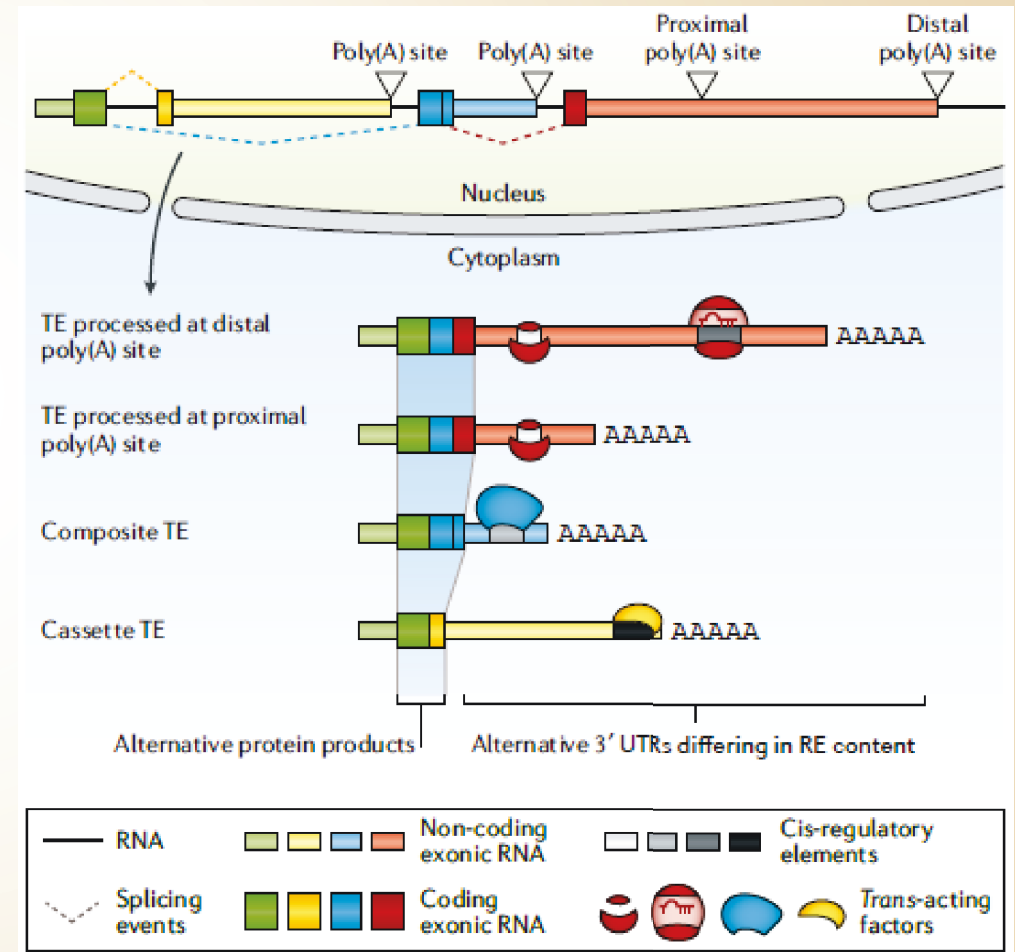
POLIADENILAZIONE ALTERNATIVA

- ▶ Molti geni umani presentano siti multipli di poliadenilazione che portano a trascritti di diversa lunghezza con differenti estremità 3';
- ▶ Sono state identificate varianti simili a AAUAAA che funzionano come PAS (segnale di poliadenilazione);
- ▶ Le varianti si trovano in siti prossimali rispetto a CPA (cleavage and polyadenylation) e vicino a codoni di STOP quindi sono meno efficienti della canonica PAS.

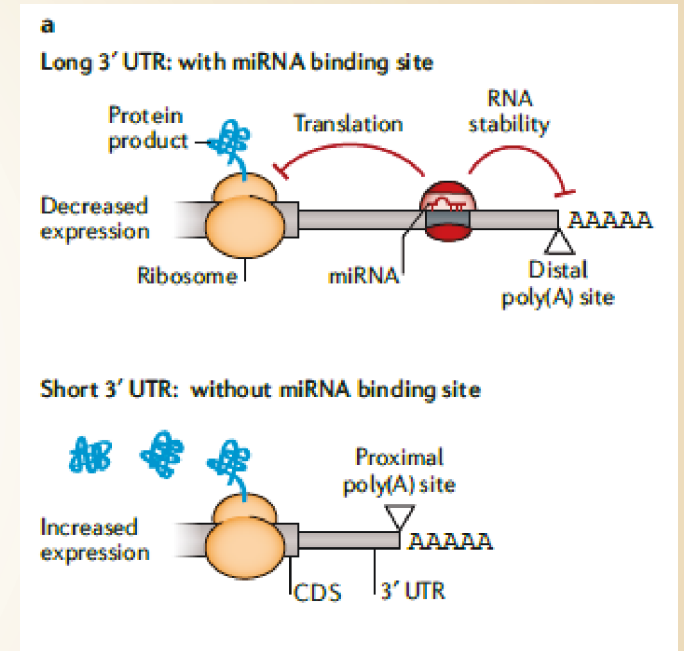
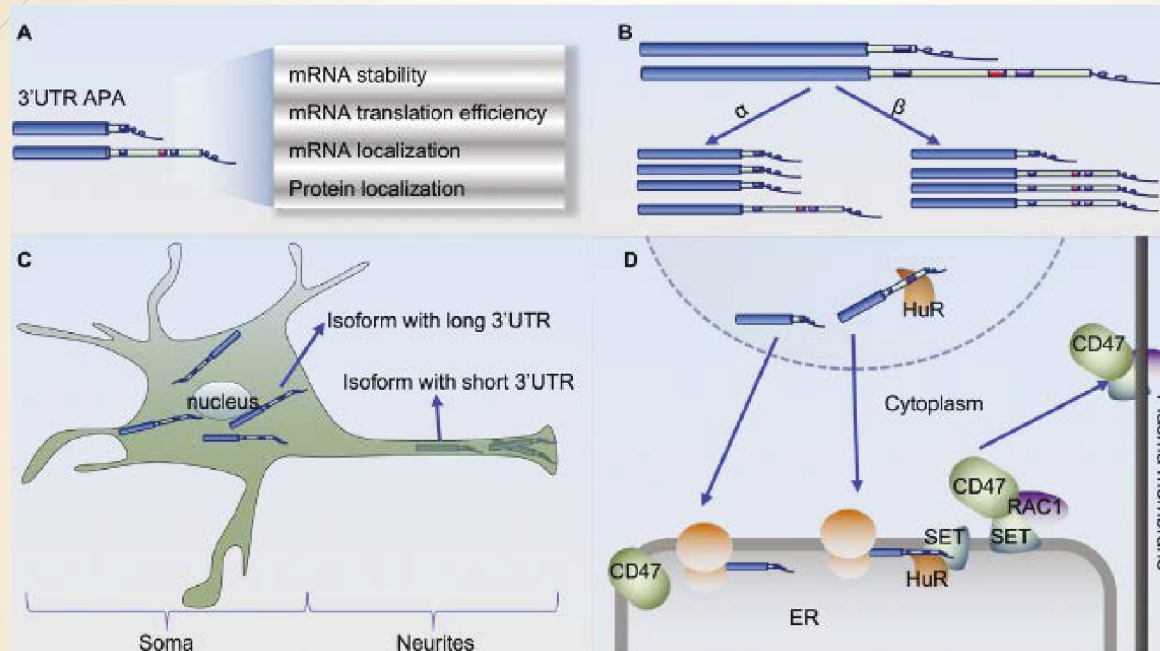


TIPI DI ISOFORME GENERATE DA APA

- ▶ APA (alternative polyadenylation) può avvenire in esoni terminali in siti distali o prossimali;
- ▶ I siti distali generano regioni 3'UTR più lunghe rispetto ai siti prossimali;
- ▶ Circa il 25% dei siti APA si trovano in introni e possono formare TE (terminal exon) composite e cassette TE.
- ▶ Possono alterare l'espressione di molti geni durante importanti processi come l'attivazione di cellule T o neuronale.



CONSEGUENZE DELLA POLIADENILAZIONE ALTERNATIVA

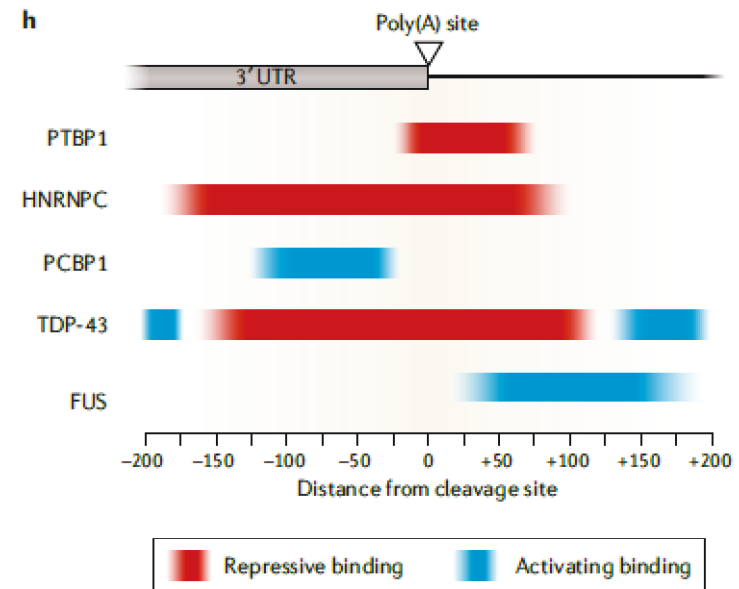
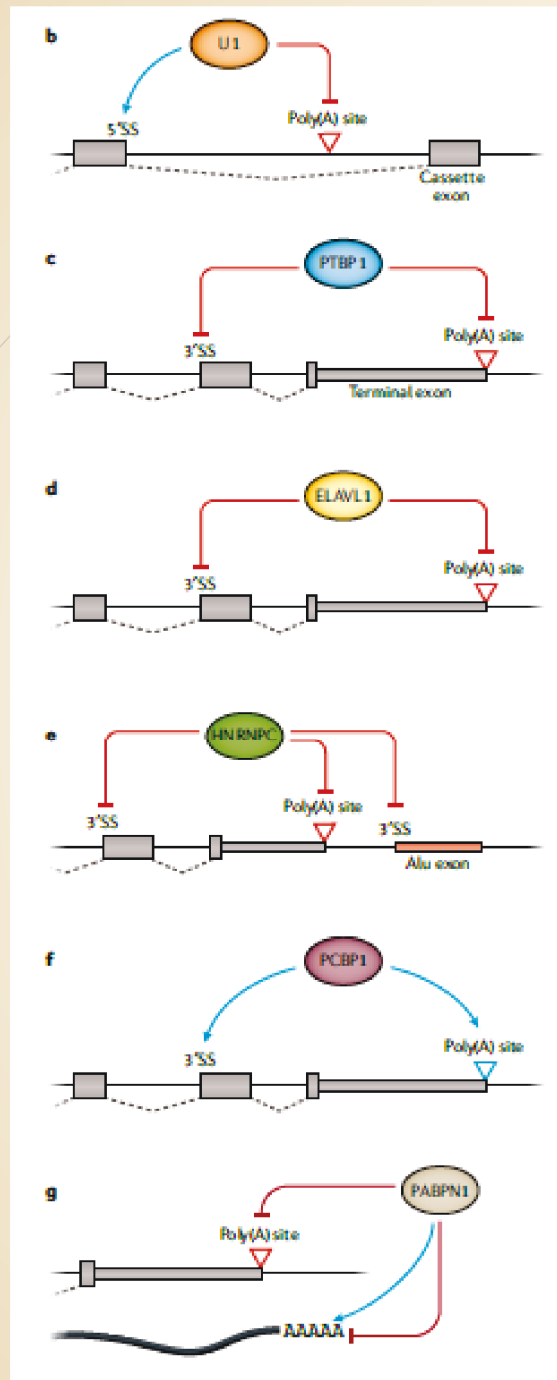


Lunghe regioni 3'UTR contengono più elementi-cis regolativi e elementi di legame per microRNA; per esempio, le isoforme con corte regioni 3'UTR di alcuni oncogeni sono più stabili poiché fuggono dall'effetto repressivo del miRNA.

Le regioni 3'UTR giocano un ruolo importante nel differenziamento neuronale: i neuriti sono ricchi di isoforme con corte regioni 3'UTR.

REGOLAZIONE DEI SITI APA

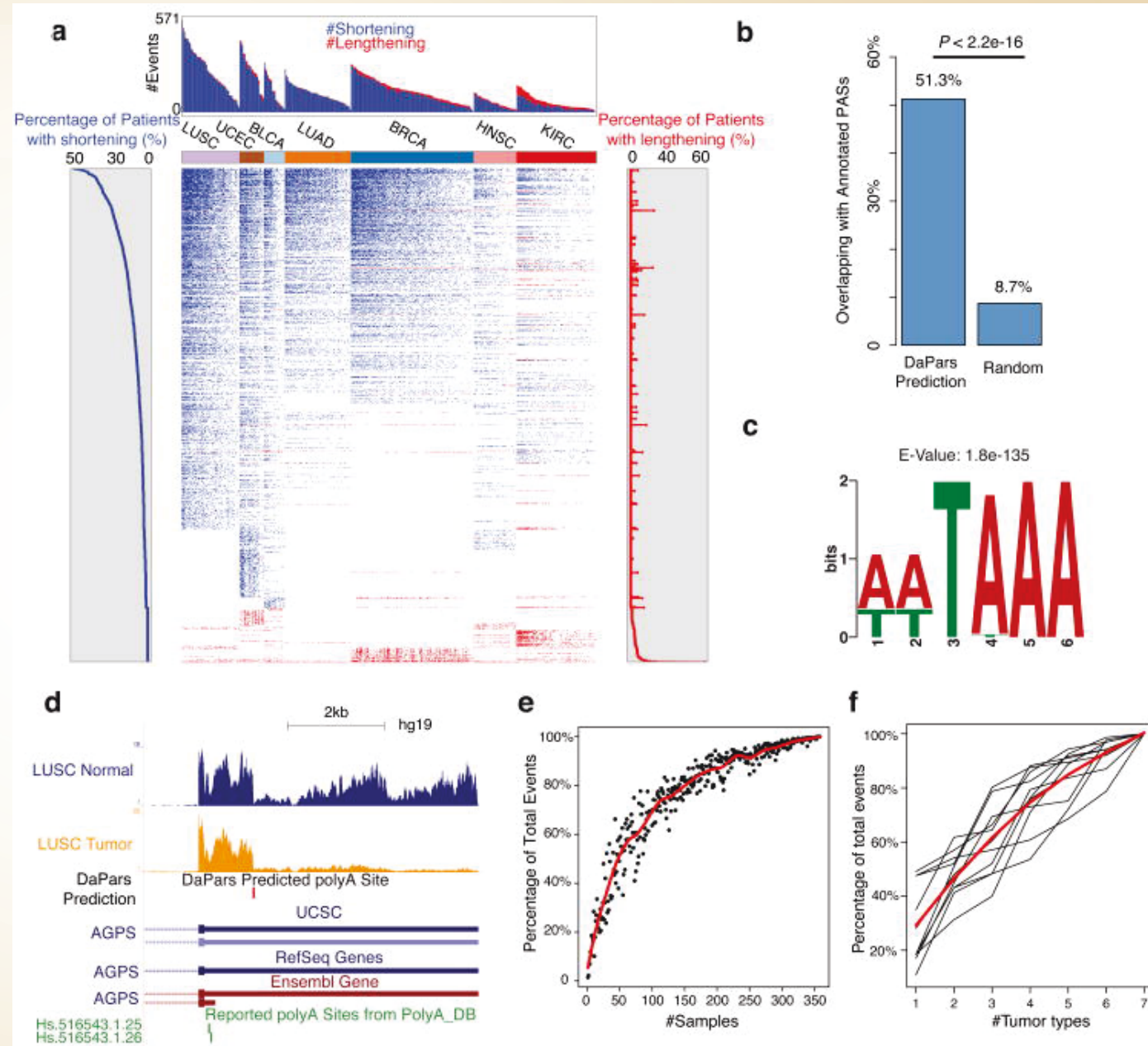
- ▶ I fattori di maturazione del core della regione 3'UTR possono influenzare la maturazione di siti Poli(A) alternativi;
- ▶ L'utilizzo di siti non ottimale avviene a seconda delle concentrazioni degli specifici fattori di maturazione;
- ▶ Il fattore di splicing U1 snRNP protegge il trascritto da una prematura CPA;
- ▶ La scelta dei siti APA è regolata anche da RBPs, una famiglia di proteine Hu che regolano l'espressione di ELAVL1 e PABPN1, la cui espressione regola la maturazione in siti prossimali o distali.



POLIADENILAZIONE ALTERNATIVA IN DIVERSI TIPI DI TUMORE

Durante l'oncogenesi si osserva una riduzione globale nella lunghezza del 3' UTR e sottotipi dello stesso tumore possono essere distinti in base al loro pattern di APA.

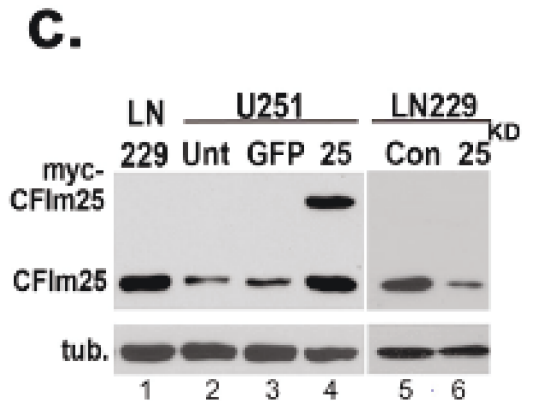
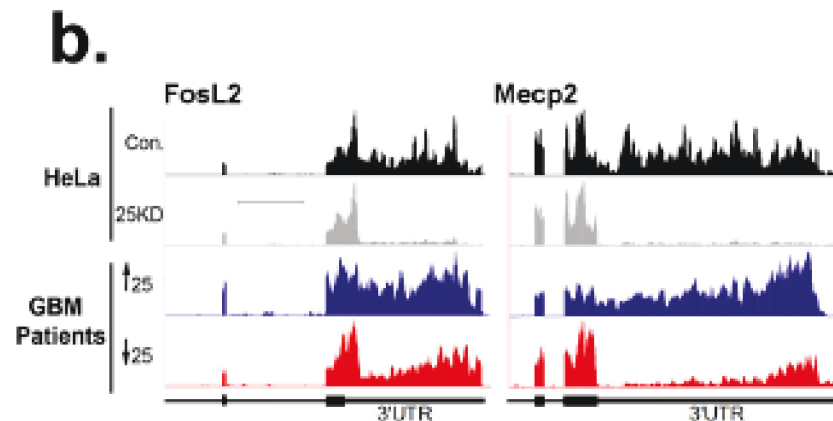
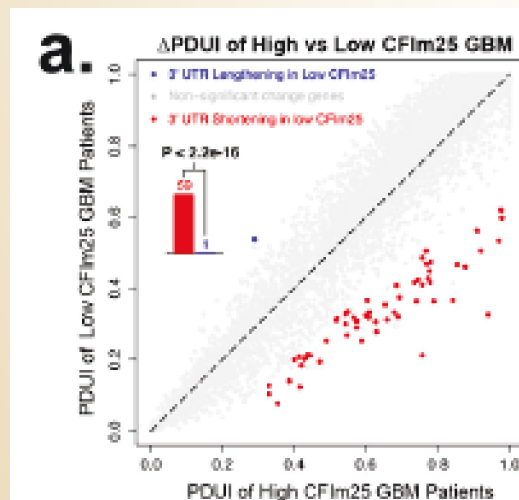
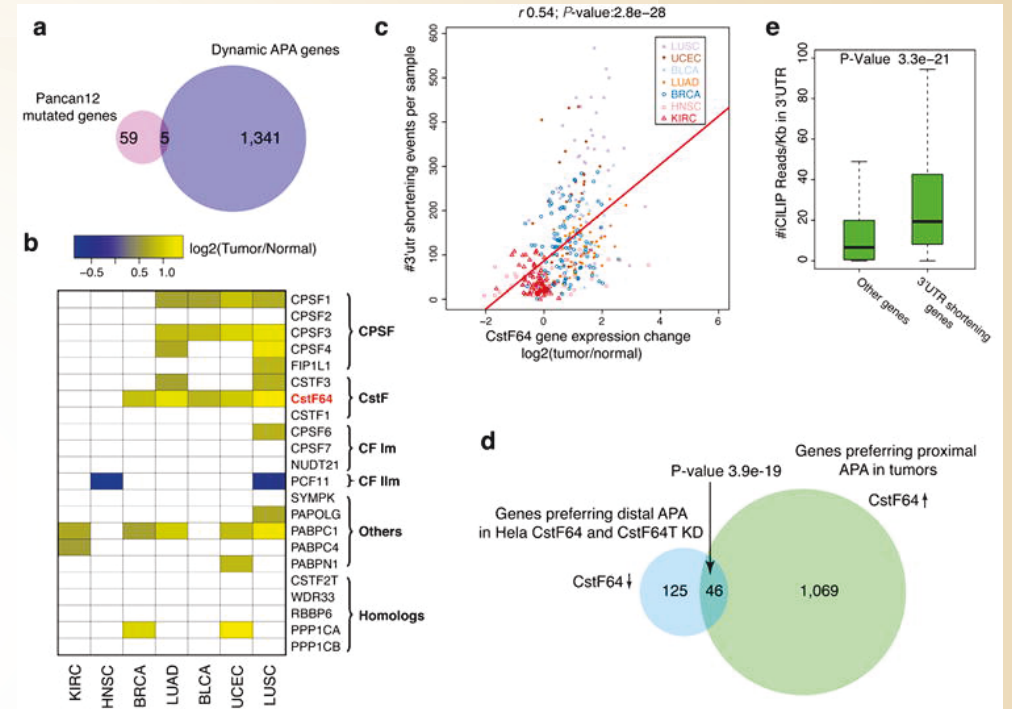
Il tumore ai polmoni (LUSC e LUAD), utero (UCEC), seno (BRCA), vescica (BLCA) e renale (KIRC) possiedono la maggior quantità di eventi APA rispetto ad altri tumori.



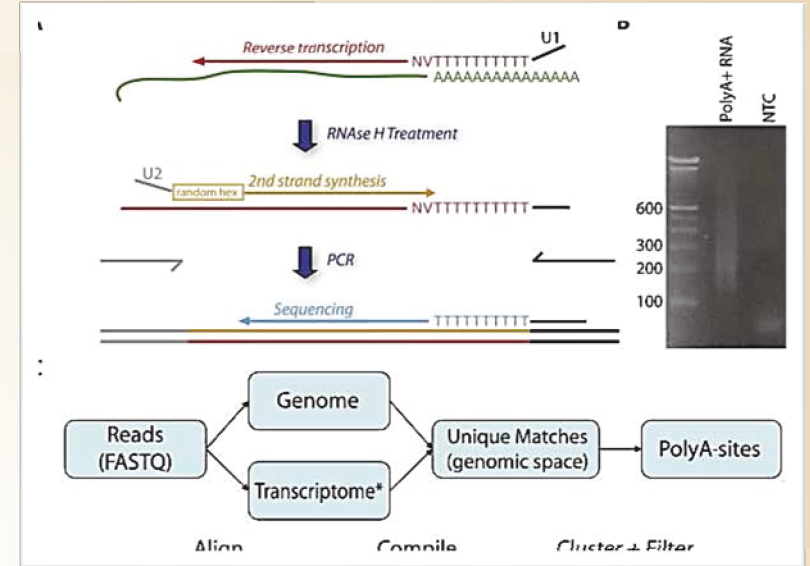
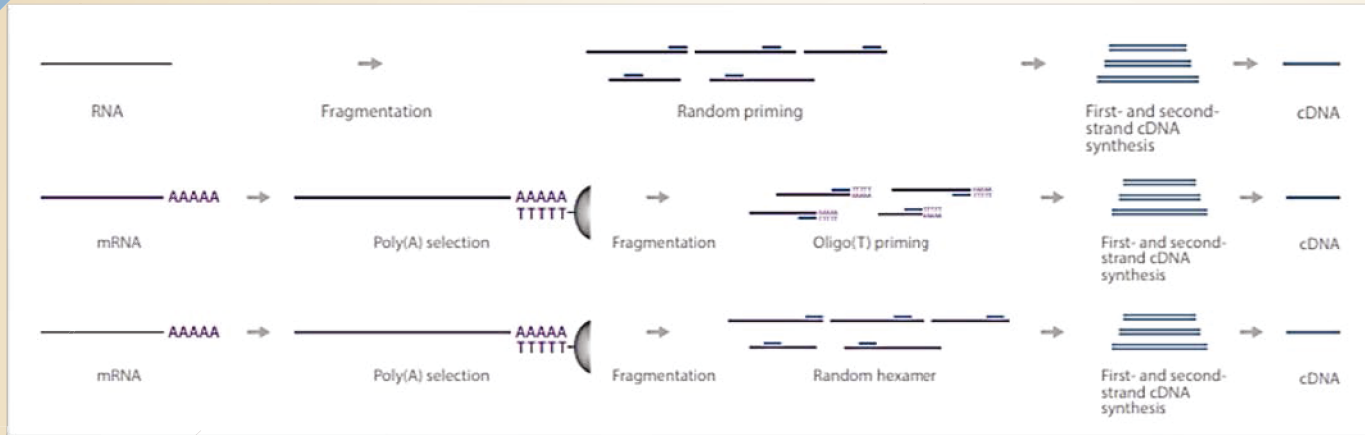
FATTORI APA IMPLICATI NEL CANCRO E LA SOVRAREGOLAZIONE

La sovraregolazione potrebbe spiegare la formazione di isoforme con corte regioni 3'UTR ma alcuni studi hanno attribuito i pattern APA cancro-relativi all'attività di specifici fattori maturazione come CSTF2 e CFIm25.

Un'alterata espressione di CFIm25 modula la crescita di tumore in pazienti con glioblastoma.

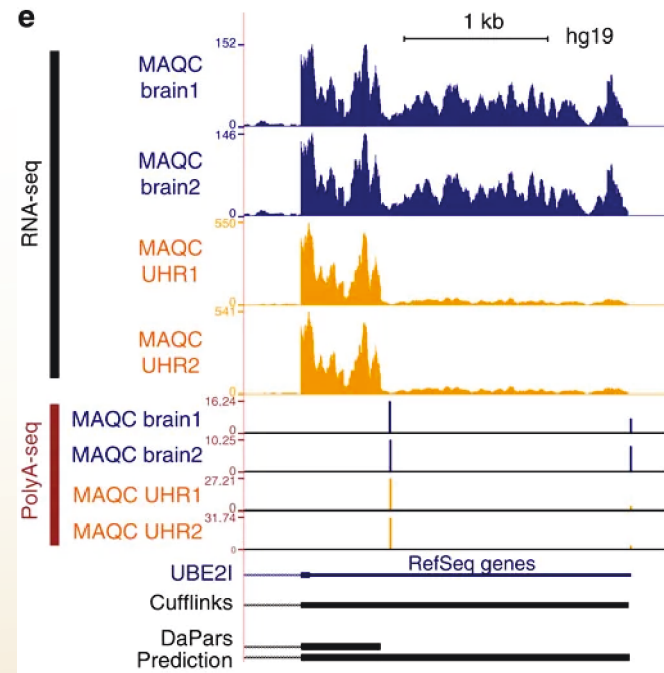
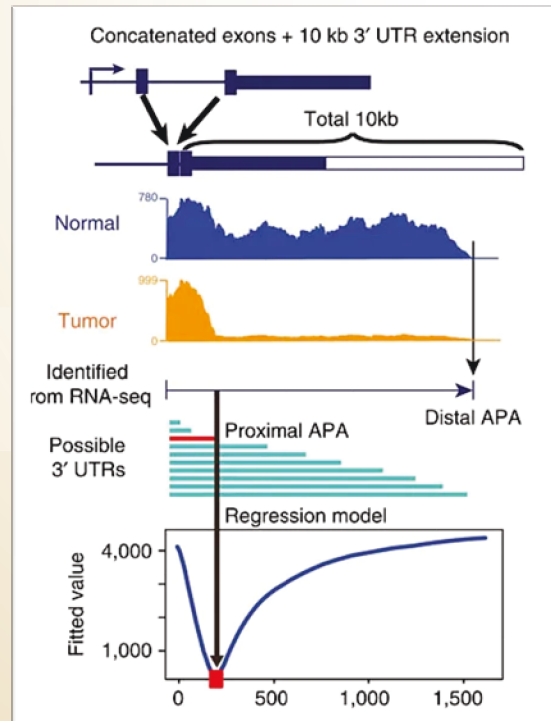


TECNICHE PER LO STUDIO DI SITI APA



- 3'RNA Seq

- DaPars Analysis



- PolyA-Seq

- Utilizzo di PAQR e QAPA per quantificare l'uso dei siti di Poli(A) annotati con il sequenziamento.

IN CONCLUSIONE...

- ❖ La poliadenilazione alternativa ha un forte impatto nello sviluppo di patologie e nella tumorigenesi;
- ❖ Un'alterata espressione dei fattori del macchinario di poliadenilazione è determinante nella scelta dei siti nella poliadenilazione alternativa;
- ❖ Conseguente accorciamento delle regioni 3'UTR nelle cellule tumorali;
- ❖ L'identificazione di addizionali stati cellulari di sviluppo e di malattia che portano a un aumento dell'uso dei segnali APA è importante per lo studio di un eventuale intervento terapeutico.

UN BREVE RIASSUNTO

- ❖ La maturazione dell'RNA messaggero comprende il capping al 5' e la poliadenilazione all'estremità 3', effettuata da fattori reclutati dalla coda C-terminale dell'RNA polimerasi II;
- ❖ La poliadenilazione può avvenire in siti simili al canonico segnale che possono essere prossimali o distali rispetto ad esso, portando alla formazione di isoforme di trascritti;
- ❖ I trascritti con corte regioni 3'UTR sono determinanti in alcuni processi come il differenziamento neuronale e nella tumorigenesi;
- ❖ La scelta dei siti di poliadenilazione alternativa è regolata da alterazioni nella concentrazione dei fattori del macchinario di poliadenilazione;
- ❖ In uno studio effettuato su 7 tipi di tumori, è stata osservata una maggior quantità di eventi APA rispetto ad altri tumori, dovuta a un'alterata espressione di alcuni fattori di maturazione;
- ❖ Le tecniche utilizzate per lo studio dei siti di poliadenilazione sono 3'RNA-Seq, PoyASeq, DaPars Analysis, QAPA e PAQR.

Bibliografia

Grazie per
l'attenzione

- ▶ Xia, Z. et al. *Dynamic analyses of alternative polyadenylation from RNA-seq reveal a 3'UTR landscape across seven tumour types*. Nat. Commun. 5
- ▶ Gruber, A. J. Et al. *Discovery of physiological and cancer-related regulators of 3' UTR processing with KAPAC*. Genome Biol. 19
- ▶ Derti, A et al. *A quantitative atlas of polyadenylation in five mammals*. Genome Res. 22
- ▶ Gruber A. J., Zavolan M. *Alternative cleavage and polyadenylation in health and disease*. Nat. Reviews
- ▶ Mayr C., Bartel P. D. *Widespread shortening of 3'UTR by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells*. Cell 138
- ▶ Masamha P. C. Et al. *CFIm25 links Alternative Polyadenylation to Glioblastoma Tumor Suppression*. Nature
- ▶ Fondazione Santa Lucia: <https://www.hsantalucia.it/ricerca/linee-di-ricerca/c-neuroscienze-sperimentali/role-alternative-polyadenylation-cancer-cells>
- ▶ Alberts B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Peter W. *Molecular Biology of The Cell. Fifth edition*. New York, Garland Science (2008)
- ▶ Weil T., *Post-transcriptional regulation of early embryogenesis*. F100 Prime Reports
- ▶ Taliaferro, J. M. et al. *Distal alternative last exons localize mRNAs to neural projections*. Mol. Cell 61
- ▶ T. Han, J.K. Kim. *Driving glioblastoma growth by alternative polyadenylation*. Cell Res., 24