



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea

Scienze Biologiche

Poliadenilazione citoplasmatica degli mRNA e controllo traduzionale: impatto su plasticità sinaptica, apprendimento e memoria.

Cytoplasmic polyadenylation of mRNAs and translational control: impact on synaptic plasticity, learning and memory.

Tesi di laurea di:
Carozza Giorgia Antonia

Sessione: Straordinaria (Febbraio)

Docente referente
Prof.ssa:
La Teana Anna

Anno accademico: 2022/2023

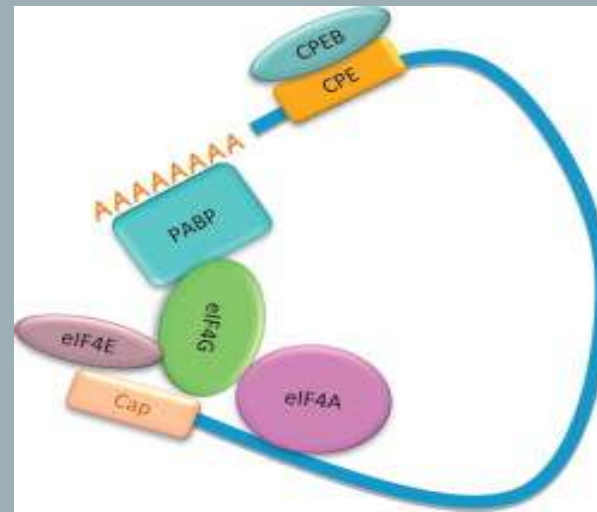
LA POLIADENILAZIONE CITOPLASMATICA

Avviene grazie a un complesso di enzimi.

I messaggeri sono caratterizzati da una sequenza detta segnale di poliadenilazione (AAUAAA) a livello dell'estremità 3'OH.

I complessi CPSF e CSTF si legano all'RNA.

L'estremità 3'OH verrà riconosciuta dalla poli(A) polimerasi e successivamente dalla PABP.



Riccitelli et al., 2013

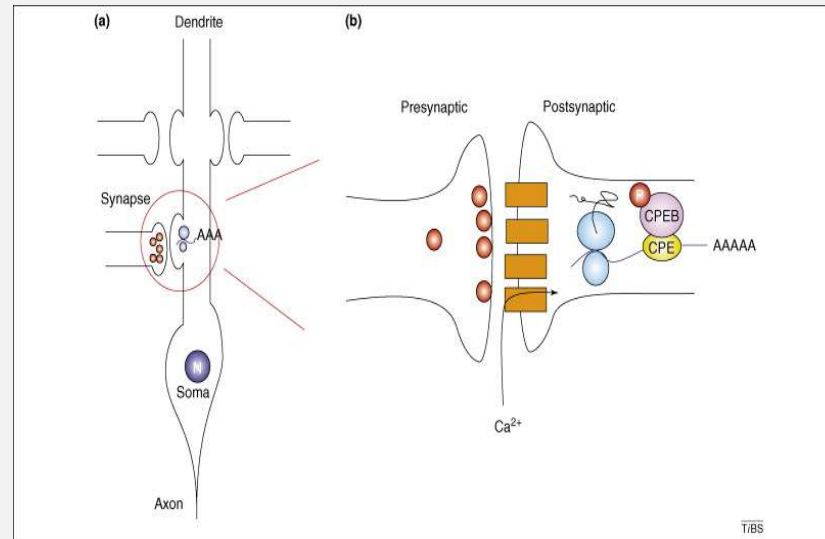
Le CPEB sono proteine che intervengono nella regolazione dell'espressione genica post-trascrizionale mediante poliadenilazione.

COSA SONO LE CPEB

Decenni di studio hanno dimostrato che le due sottofamiglie di proteine CPEB (cpeb1 e cpeb2-4) giocano un ruolo centrale nel mediare la traduzione sinaptodendritica e la plasticità sinaptica.

Sono proteine RNA-dipendenti coinvolte in processi biologici come:

- proliferazione cellulare
- senescenza
- polarità cellulare
- plasticità sinaptica
- regolazione della traduzione di mRNA materni.



D. Richter, 2007

Gli mRNA target hanno:

- l'Elemento di poliadenilazione citoplasmatica(CPE), nella regione 3'UTR.
- sequenza consenso (UUUUUUAU).

LE CPEB NEI MAMMIFERI

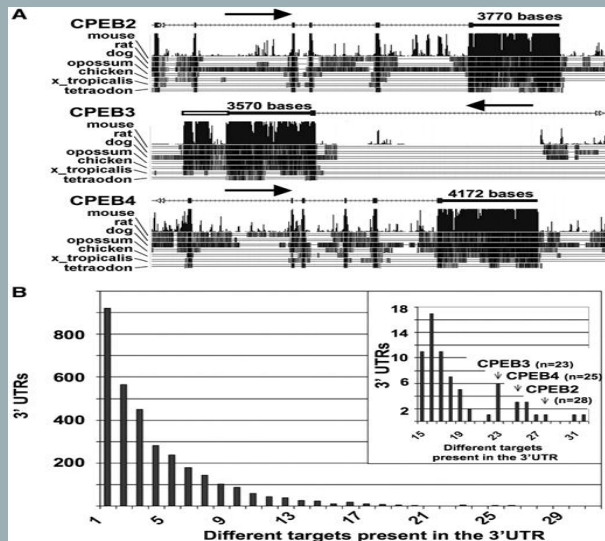
I mammiferi hanno quattro CPEB (CPEB1-4).

CPEB1:

-È il membro fondatore della famiglia cpeb delle rna binding protein.

-fattore chiave che attraverso la poliadenilazione dinamica nel citoplasma e la traduzione modula le funzioni cerebrali

-lega il cis-acting 3' UTR element (CPE)



Morgan et al., 2010

I membri di questa famiglia di proteine condividono:
-lo stesso dominio C-terminale di legame all'RNA comprendente due motivi di riconoscimento dell'RNA(RRM), seguiti da un dominio di legame di zinco.

-un dominio N-terminale variabile tra gli ortologhi e i paraloghi delle CPEB, contenente le regioni IDR
-La CPEB2 e la CPEB4 contengono delle regioni IDR e legano un elemento cis che contiene la guanina.

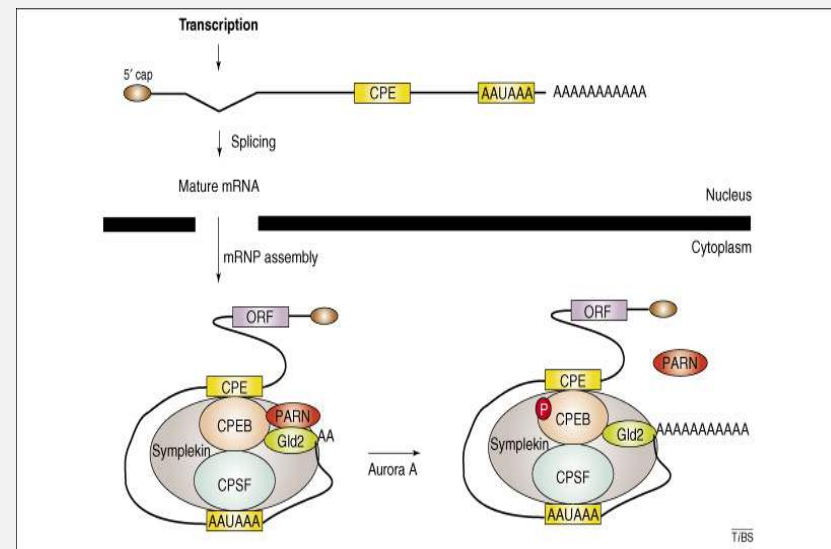
INTERAZIONE DELLE CPEB CON ALTRE PROTEINE

La traduzione regolata dalle CPEB1 è mediata da proteine interattive come:

- CPSF, il fattore di specificità della poliadenilazione e del clivaggio.
- symplekin, proteina espressa ubiquitariamente e coinvolta nella poliadenilazione e regolazione della traduzione.

La proteina CPEB1 dopo fosforilazione:

- è in grado di rigettare la proteina PARN dal complesso e reclutare le poly(A) polimerasi non canoniche come PAP, GLD2 e PAPD4.
- interagisce anche con le deadenilasi come PARN e il complesso CCR4/Not, funzionali per garantire la presenza di un mrna che sarà tradotto solo quando strettamente necessario.

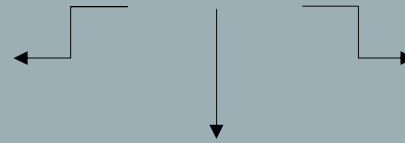


D. Richter, 2007

REGOLAZIONE DELLA TRADUZIONE

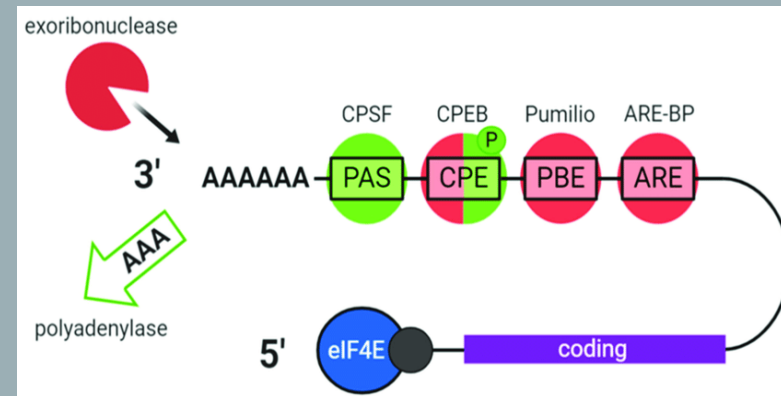
Sono accumulate in specifici subdomini nella cellula, permettendo la coregolazione dei trascritti contenenti l'elemento CPE.

Tutte e quattro le CPEB:



La regolazione della poliadenilazione è definita dalla combinazione dei cis-acting element (CPE e ARE) e dalla fosforilazione delle trans-acting proteins (CPEB-ARE-BP).

Sono accomunate tutte dalle deadenilazione del CPE e dal blocco dell'accesso del complesso eif4F a livello del CAP al 5'.

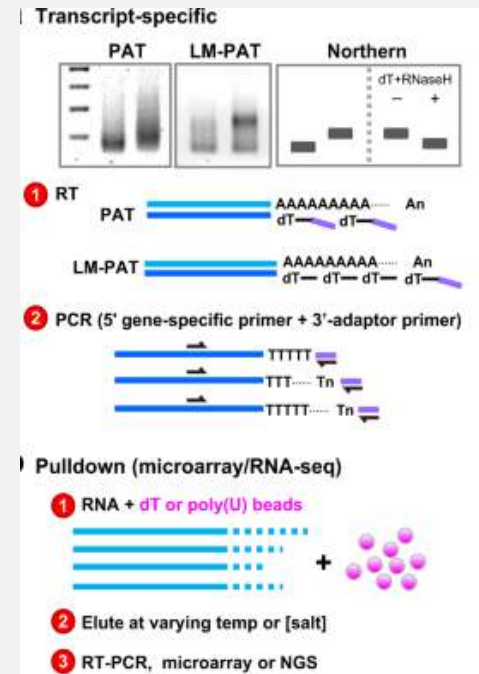
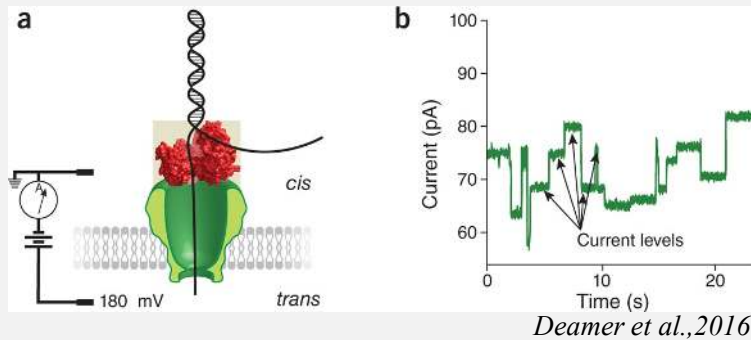


Kent et al., 2020

METODI UTILIZZATI PER LA MISURAZIONE DELLA LUNGHEZZA DELLA POLI(A)

- Metodo PAT:
 1. Uso di un primer di oligo(dt) per la trascrizione inversa;
 2. Ligazione del primer;
 3. Amplificazione del trascritto target con l'uso della PCR.

- Microarray/RNAseq
 Utilizzo di primer di oligo(dt) o poli(U) per selezionare gli mRNA in base ai loro profili di eluizione a diverse temperature e concentrazione di sale.



- Sequenziamento attraverso l'RNA e la poli(A), evitando l'amplificazione con l'uso della PCR.

FUNZIONI CEREBRALI COLLEGATE AL RUOLO DELLE CPEB

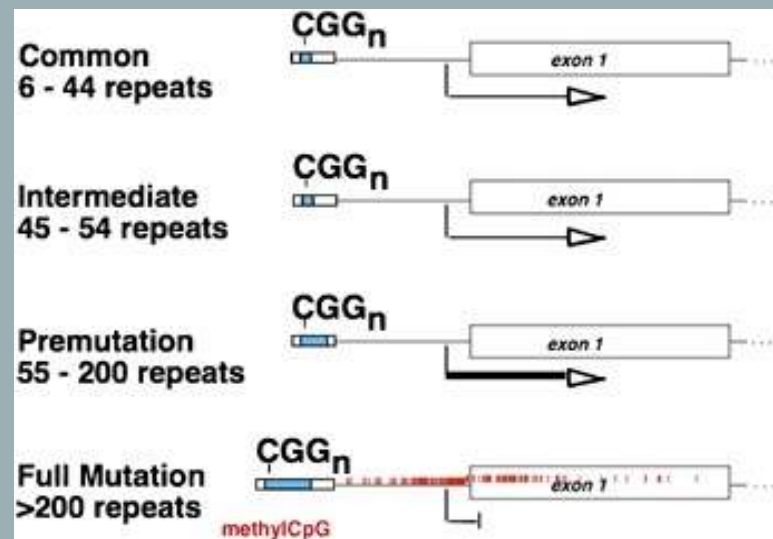
Le evidenze dimostrano che CPEB1 è presente nei siti postsinaptici e nei neuroni ippocampali.

Molte altre RNA binding protein svolgono la stessa funzione di CPEB1, fornendo proteine utili alla plasticità sinaptica.

E le CPEB1 associate alla proteina FMRP?

La maggior parte delle proteine associate a CPEB1 sono presenti nei sinaptodendriti dell'ippocampo.

CPEB4 : regolatore diretto nell'autismo.



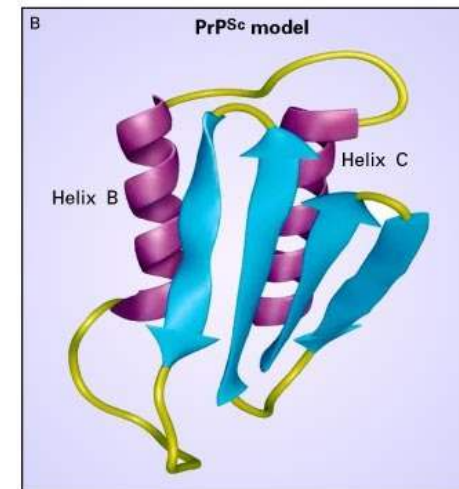
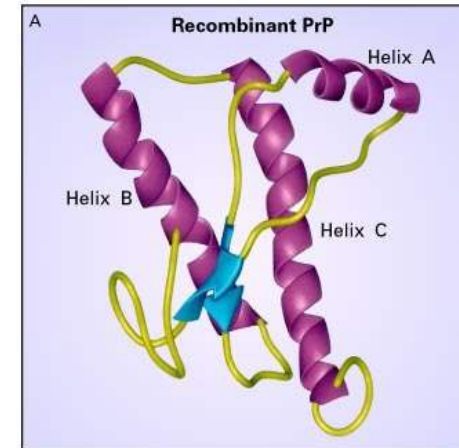
Garber et al., 2008

CPEB E MOTIVI PRIONICI

Le prime proteine CPEB identificate negli invertebrati sono strutture che si comportano in maniera simile ai prioni.

Possono modellare e convertire altre molecole di CPEB in una forma autoperpetuante di proteina prionica.

L'obiettivo di queste modificazioni, è quello di mantenere delle connessioni sinaptiche prolungate.



TRA SCOPERTE PASSATE E PROSPETTIVE FUTURE

1970-71

Poliadenilazione
dell'RNA
messaggero.

1974

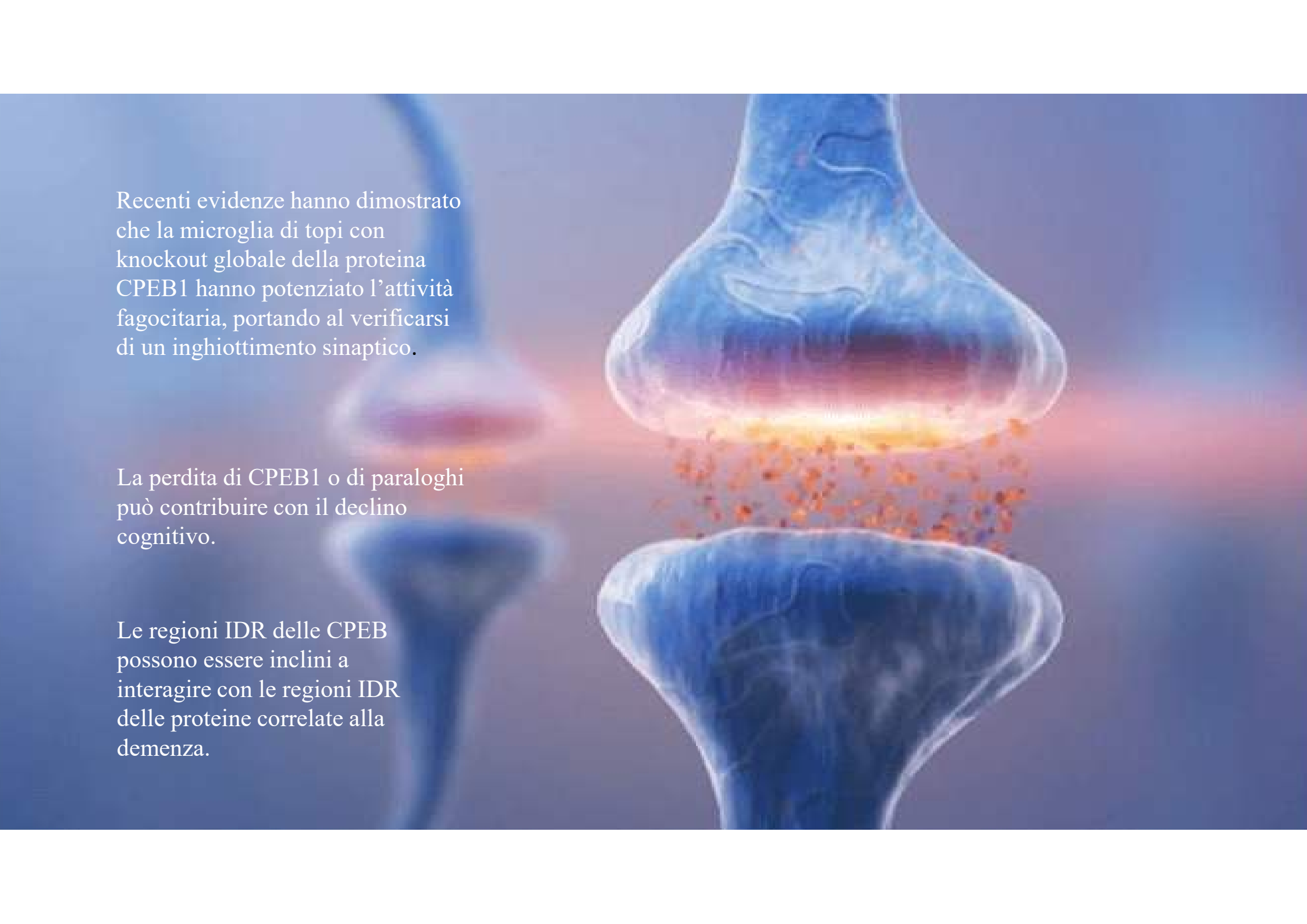
Processo di
poliadenilazione
sottoposto a una
regolazione
dinamica.

1994

Correlazione tra
le CPEB e la
poliadenilazione
citoplasmatica.

1998

Confluenza nel
cervello tra le
CPEB e la
poliadenilazione.



Recenti evidenze hanno dimostrato che la microglia di topi con knockout globale della proteina CPEB1 hanno potenziato l'attività fagocitaria, portando al verificarsi di un inghiottimento sinaptico.

La perdita di CPEB1 o di paraloghi può contribuire con il declino cognitivo.

Le regioni IDR delle CPEB possono essere inclini a interagire con le regioni IDR delle proteine correlate alla demenza.

BIBLIOGRAFIA:

- Airoidi EM, Erosheva EA, Fienberg SE, Joutard C, Love T, Shringarpure S. Reconceptualizing the classification of PNAS articles. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Dec 7;107(49):20899-904. doi: 10.1073/pnas.1013452107. Epub 2010 Nov 15. PMID: 21078953; PMCID: PMC3000298.
- Collart MA. The Ccr4-Not complex is a key regulator of eukaryotic gene expression. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2016 Jul;7(4):438-54. doi: 10.1002/wrna.1332. Epub 2016 Jan 29. PMID: 26821858; PMCID: PMC5066686.
- Joel D. Richter, CPEB: a life in translation, *Trends in Biochemical Sciences*, Volume 32, Issue 6, 2007, Pages 279-285, ISSN 0968-0004.
- Wang XP, Cooper NG. Comparative in silico analyses of cpeb1-4 with functional predictions. *Bioinform Biol Insights*. 2010 Aug 30;4:61-83. doi: 10.4137/bbi.s5087. PMID: 20838664; PMCID: PMC2935813.
- Belloc E, Méndez R. A deadenylation negative feedback mechanism governs meiotic metaphase arrest. *Nature*. 2008 Apr 24;452(7190):1017-21. doi: 10.1038/nature06809. Epub 2008 Apr 2. PMID: 18385675.
- Fioriti L, Myers C, Huang YY, Li X, Stephan JS, Trifilieff P, Colnaghi L, Kosmidis S, Drisaldi B, Pavlopoulos E, Kandel ER. The Persistence of Hippocampal-Based Memory Requires Protein Synthesis Mediated by the Prion-like Protein CPEB3. *Neuron*. 2015 Jun 17;86(6):1433-48. doi: 10.1016/j.neuron.2015.05.021. Epub 2015 Jun 11. PMID: 26074003.

RIASSUNTO ESTESO

Alla fine degli anni 90, le neuroscienze molecolari hanno dimostrato che la sintesi proteica locale, in prossimità delle sinapsi, era necessaria per la plasticità sinaptica, l'apprendimento e la memoria. Gli studi successivi hanno dimostrato che il trasporto degli mRNA dal soma al dendrite è collegato con lo smascheramento di traduzione a livello delle sinapsi sotto l'effetto della stimolazione delle stesse. Divenne presto evidente che un meccanismo che governa questi eventi è la poliadenilazione citoplasmatica, e che tra le proteine che controllano questo processo, le CPEB svolgono un ruolo centrale nella plasticità sinaptica, nell'apprendimento e nella memoria. Nei vertebrati, vi è una famiglia di quattro proteine CPEB, queste regolano la traduzione nel cervello, hanno la proprietà di legare RNA che permettono loro di controllare diversi aspetti delle funzioni cognitive. Inoltre le diverse CPEB quando non funzionano correttamente, provocano fenotipi fisiopatologici simili a specifici disturbi neurologici umani.