



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

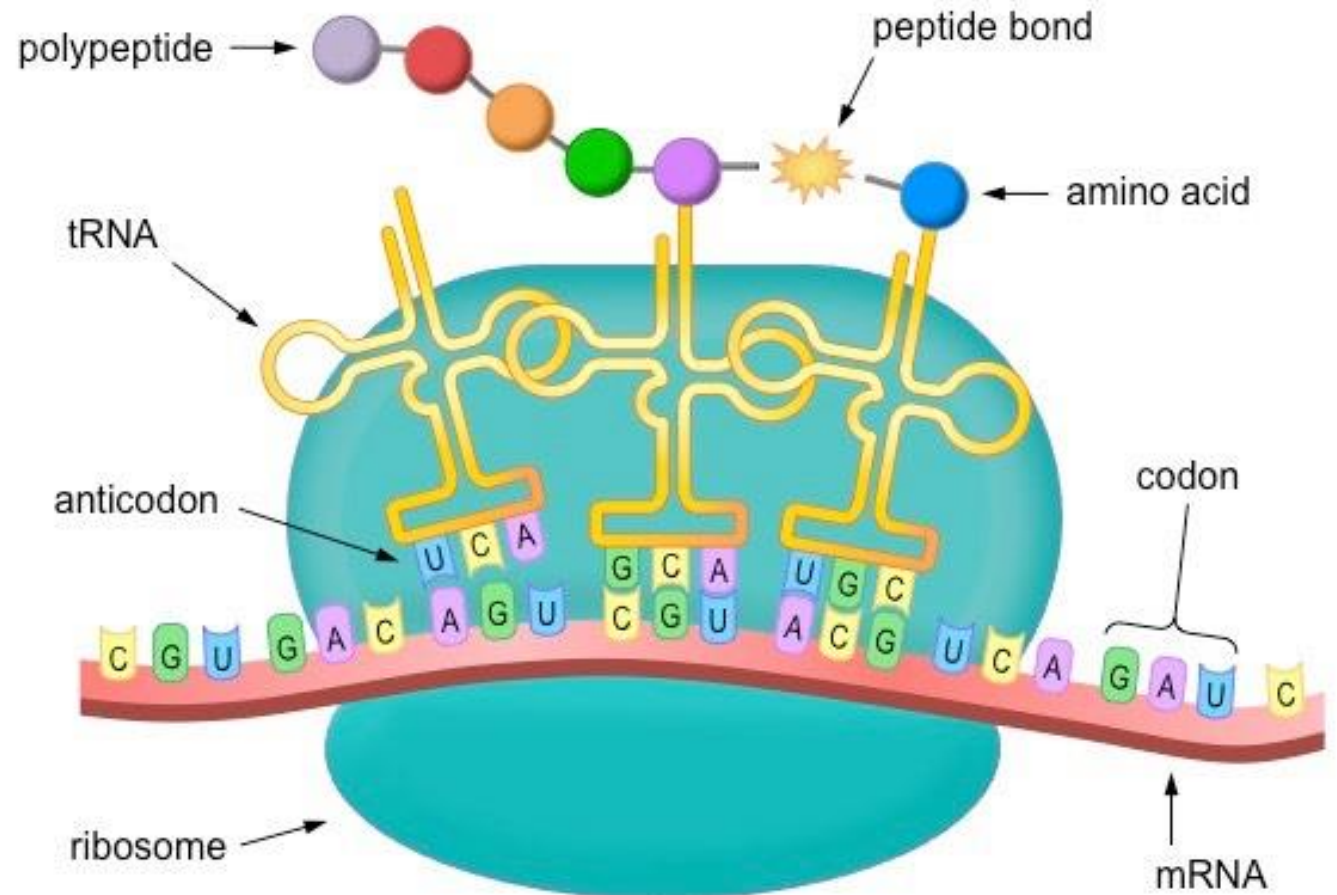
# L'ETEROGENEITA' DEI RIBOSOMI: IMPLICAZIONI NELLA REGOLAZIONE DELL'ESPRESSIONE GENICA

Tesi di laurea di:  
Maria Frascarelli

Docente Referente:  
Prof. Anna La Teana

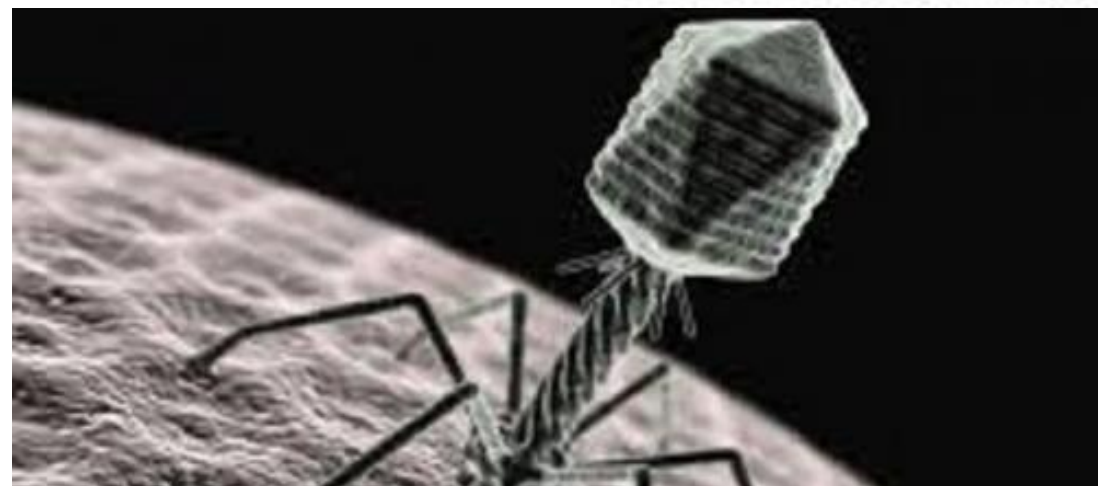
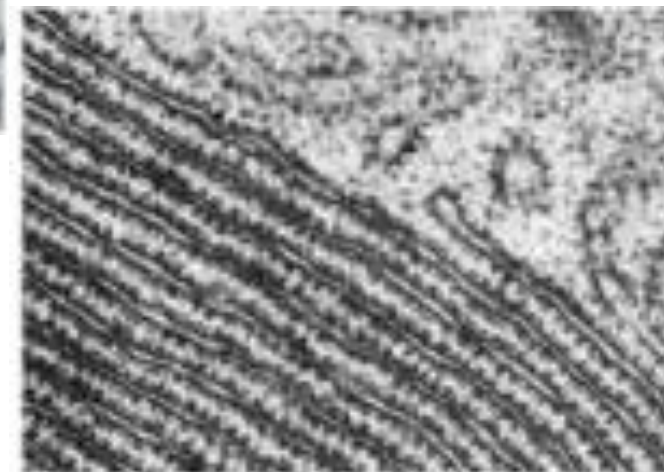
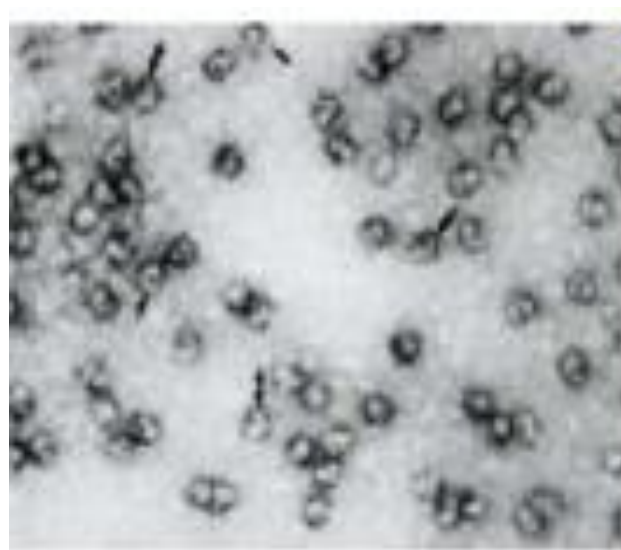
# IL RIBOSOMA

- Complesso macromolecolare che dirige la sintesi proteica
- Eterogeneo
- Dinamico
- Specializzato



# STORIA

- Anni '50: George Pallade, premio Nobel per la scoperta dei «microsomi»; solo in seguito venne coniato il termine «ribosoma»
- Pallade suggerisce l'eterogeneità ribosomiale
- 1958: Francis Crick, «one gene- one ribosome- one protein»
- 1961: Brenner, Jacob, Matthew Meselson dimostrano l'omogeneità ribosomiale (esperimento *E.coli* infettato da batteriofago)
- Anni '80-'90: tecniche moderne smentiscono l'omogeneità ribosomiale



# ETEROGENEITA' STRUTTURALE DEI RIBOSOMI

- **PROTEINE RIBOSOMIALI (RP)**: spettrometria di massa prova l'eterogeneità ribosomiale

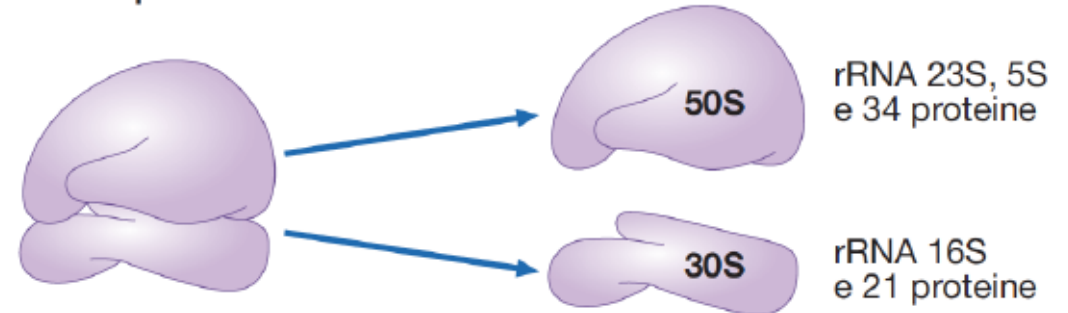
- Paraloghi delle RP (esempio: PRL22/ eL22 e RPL22L/ eL22L in *Drosophila*; RPL3L/ uL3L e RPL3/ uL3 nell'uomo)

- **PROTEINE ASSOCIATE AI RIBOSOMI (RAP)**: mRNA binding proteins, proteine che modificano mRNA e tRNA, RNA elicasi, proteine che regolano metabolismo e ciclo cellulare

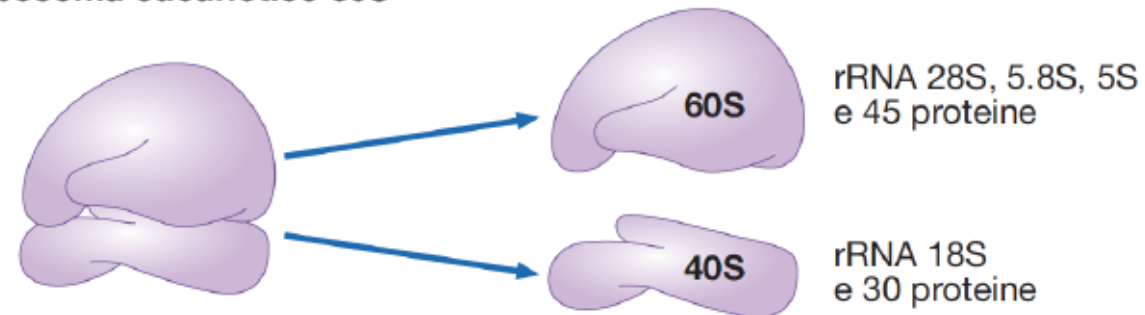
(esempio: FMRP – Sindrome dell'X fragile)

- **rRNA**: sequenze di rRNA differenti tra specie e individui della stessa specie; diversi alleli di rRNA hanno espressione tessuto specifica

Ribosoma procariotico 70S



Ribosoma eucariotico 80S

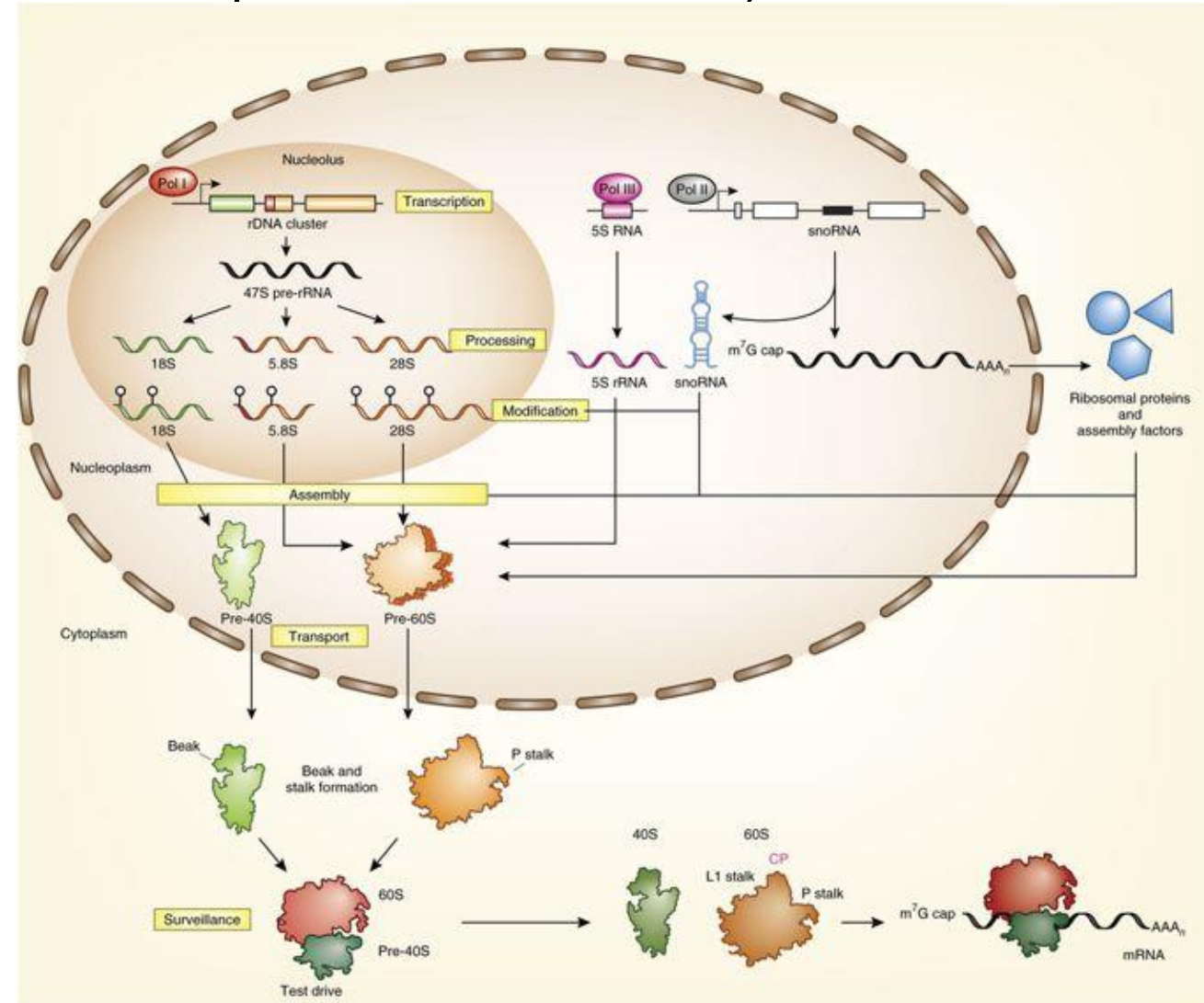


# DINAMICITA' RIBOSOMIALE

Diversi tipi di cellule possono avere distinti tipi di ribosomi; anche all'interno di una singola cellula la composizione dei ribosomi può cambiare in risposta a stimoli diversi, al ciclo cellulare e all'attivazione di pathway di segnalazione.

La regolazione della composizione ribosomiale dipende da:

- Biogenesi
- Modificazioni dell'rRNA: pseudourilazione, ribosilazione, metilazione, acetilazione
- Modificazioni post-traduzionali delle RP (PTM): fosforilazione, metilazione, acetilazione, idrossilazione.



# RIBOSOMI SPECIALIZZATI

Ribosomi con diverse componenti possono avere funzioni distinte:

- Diverso controllo dell'inizio della traduzione
- Diversa selettività nella scelta degli mRNA da tradurre
- Diversa velocità di allungamento della traduzione

Sia le RP che le RAP contribuiscono a specializzare i ribosomi

**Esempio:** ribosomi con RPS25/eS25 traducono preferenzialmente gli mRNA codificanti per la via di trasporto e assorbimento della vitamina B12

# TRADUZIONE ATTUATA DA RIBOSOMI SPECIALIZZATI

Affinchè un mRNA possa essere tradotto da un ribosoma specializzato è necessario che l'mRNA venga riconosciuto dal ribosoma appropriato grazie alla presenza di elementi cis-regolatori come:

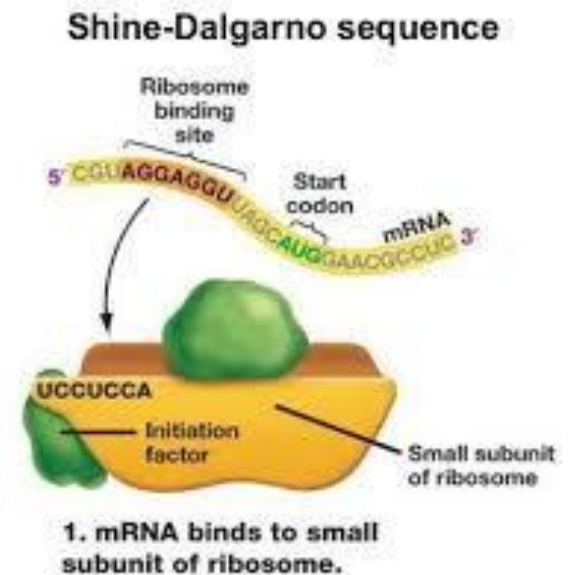
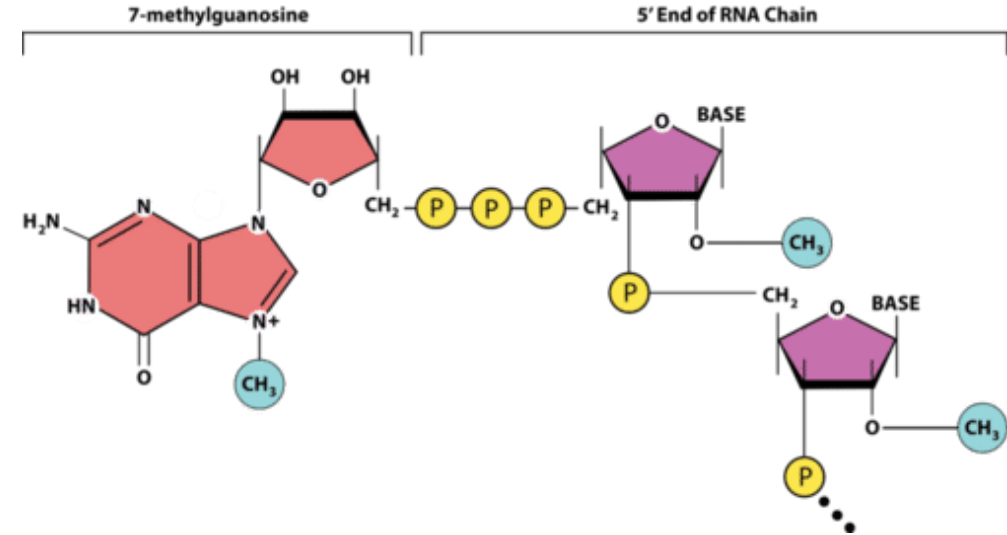
- Sequenza particolare dell'mRNA
- Struttura assunta dall'mRNA
- Modifica di una base dell'mRNA

## Esempi di elementi cis-regolatori:

- Sequenza Shine-Dalgarno
- Cap al 5'
- Sequenza IRES → stabilisce contatto con il ribosoma

(esempio: la presenza della proteina RPL38/ eL38 sui ribosomi regola la traduzione di diversi geni Hox tramite il legame con la sequenza IRES presente nella regione 5'-UTR dell'mRNA)

- Sequenza TIE → elemento inibitorio della traduzione



# MUTAZIONI DEI MACCHINARI RIBOSOMIALI

La mutazione di una RP può provocare alterazioni in tessuti specifici inibendo il legame con un mRNA o l'associazione con una RAP

Mutazioni correlate a patologie:

- mutazioni di 15 RP → Anemia diamond blackfan (DBA)
- Topi privi di RPL29/eL29 → fenotipo ridotto e fragilità ossea
- Nell'uomo perdita di RPSA/uSA → asplenia
- Nell'uomo mutazione di RPL21/eL21 → forme ereditarie di perdita di capelli
- Topi con RPLP1 mutato → infertilità maschile
- Mutazioni di RP correlate a cellule tumorali → leucemia linfoblastica acuta



# PROGETTAZIONI FUTURE

Una volta compresi i meccanismi alla base della costruzione di ribosomi eterogenei sarà possibile modificare la loro composizione al fine di:

- Migliorare fenotipi dovuti a mutazioni delle RP: aumentare l'espressione dell'allele non mutato in patologie connesse ad una condizione di aploinsufficienza
- Progettare ribosomi specializzati nella sintesi di proteine con valore terapeutico (insulina e anticorpi)

# CONCLUSIONE

«un elemento regolatore dell'mRNA- un ribosoma- una rete proteica»

Esistono ribosomi specializzati in grado di tradurre tutti gli mRNA che contengono uno specifico elemento cis-regolatore e che codificano per proteine appartenenti ad un percorso comune

# BIBLIOGRAFIA

## The Discovery of Ribosome Heterogeneity and Its Implications for Gene Regulation and Organismal Life

Naomi R. Genuth<sup>1,2,3</sup> and Maria Barna<sup>1,2</sup>,

\* <sup>1</sup>Department of Developmental Biology, Stanford University, Stanford, CA, 94305, USA

<sup>2</sup>Department of Genetics, Stanford University, Stanford, CA, 94305, USA

<sup>3</sup>Department of Biology, Stanford University, Stanford, CA, 94305, USA

Anger, A.M., Armache, J.-P., Berninghausen, O., Habeck, M., Subklewe, M., Wilson, D.N., and Beckmann, R. (2013). Structures of the human and *Drosophila* 80S ribosome. *Nature* 497, 80–85.

Armache, J.P., Jarasch, A., Anger, A.M., Villa, E., Becker, T., Bhushan, S., Jossinet, F., Habeck, M., Dindar, G., Franckenberg, S., et al. (2010). Localization of eukaryote-specific ribosomal proteins in a 5.5-Å cryo-EM map of the 80S eukaryotic ribosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 19754–19759.

Arnheim, N., and Southern, E.M. (1977). Heterogeneity of the ribosomal genes in mice and men. *Cell* 11, 363–370.

Bolze, A., Mahlaoui, N., Byun, M., Turner, B., Trede, N., Ellis, S.R., Abhyankar, A., Itan, Y., Patin, E., Brebner, S., et al. (2013). Ribosomal protein SA haploinsufficiency in humans with isolated congenital asplenia. *Science* 340, 976–978.

Brenner, S., and Crick, F.H.C. (1960). What are the properties of genetic RNA? A note for the RNA Tie Club. *Profiles in Medicine*. <https://profiles.nlm.nih.gov/ps/access/SCBBFZ.pdf>.

Brenner, S., Jacob, F., and Meselson, M. (1961). An unstable intermediate carrying information from genes to ribosomes for protein synthesis. *Nature* 190, 576–581.

Chaillou, T., Kirby, T.J., and McCarthy, J.J. (2014). Ribosome biogenesis: emerging evidence for a central role in the regulation of skeletal muscle mass. *J. Cell. Physiol.* 229, 1584–1594.

Chaillou, T., Zhang, X., and McCarthy, J.J. (2016). Expression of muscle-specific ribosomal protein L3-like impairs myotube growth. *J. Cell. Physiol.* 231, 1894–1902.

Crick, F.H.C. (1958). On protein synthesis. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 12, 138–163.

Crick, F.H.C., and Brenner, S. (1959). Some Footnotes on Protein Synthesis: a Note for the RNA TIE club. *Profiles in Medicine*. <https://profiles.nlm.nih.gov/ps/access/SCBBFV.pdf>.

Danilova, N., and Gazda, H.T. (2015). Ribosomopathies: how a common root can cause a tree of pathologies. *Dis. Model. Mech.* 8, 1013–1026.

Hertz, M.I., Landry, D.M., Willis, A.E., Luo, G., and Thompson, S.R. (2013). Ribosomal protein S25 dependency reveals a common mechanism for diverse internal ribosome entry sites and ribosome shunting. *Mol. Cell. Biol.* 33, 1016–1026.

Higgins, R., Gendron, J.M., Rising, L., Mak, R., Webb, K., Kaiser, S.E., Zuzow, N., Riviere, P., Yang, B., Fenech, E., et al. (2015). The unfolded protein response triggers site-specific regulatory ubiquitylation of 40S ribosomal proteins. *Mol. Cell* 59, 35–49.

Jha, S., Rollins, M.G., Fuchs, G., Procter, D.J., Hall, E.A., Cozzolino, K., Sarnow, P., Savas, J.N., and Walsh, D. (2017). Trans-kingdom mimicry underlies ribosome customization by a poxvirus kinase. *Nature* 546, 651–655.

Kirby, T.J., Lee, J.D., England, J.H., Chaillou, T., Esser, K.A., and McCarthy, J.J. (2015). Blunted hypertrophic response in aged skeletal muscle is associated with decreased ribosome biogenesis. *J. Appl. Physiol.* 119, 321–327.

Kirn-Safran, C.B., Oristian, D.S., Focht, R.J., Parker, S.G., Vivian, J.L., and Carson, D.D. (2007). Global growth deficiencies in mice lacking the ribosomal protein HIP/RPL29. *Dev. Dyn.* 236, 447–460.

Komili, S., Farny, N.G., Roth, F.P., and Silver, P.A. (2007). Functional specificity among ribosomal proteins regulates gene expression. *Cell* 131, 557–571.

Kondrashov, N., Pusic, A., Stumpf, C.R., Shimizu, K., Hsieh, A.C., Ishijima, J., Shiroishi, T., and Barna, M. (2011). Ribosome-mediated specificity in Hox mRNA translation and vertebrate tissue patterning. *Cell* 145, 383–397.

Kongsuwan, K., Yu, Q., Vincent, A., Frisardi, M.C., Rosbash, M., Lengyel, J.A., and Merriam, J. (1985). A *Drosophila* Minute gene encodes a ribosomal protein. *Nature* 317, 555–558.

Locati, M.D., Pagano, J.F.B., Girard, G., Ensink, W.A., van Olst, M., van Leeuwen, S., Nehrdich, U., Spaink, H.P., Rauwerda, H., Jonker, M.J., et al. (2017a). Expression of distinct maternal and somatic 5.8S, 18S, and 28S rRNA types during zebrafish development. *RNA* 23, 1188–1199.

Locati, M.D., Pagano, J.F.B., Ensink, W.A., van Olst, M., van Leeuwen, S., Nehrdich, U., Zhu, K., Spaink, H.P., Girard, G., Rauwerda, H., et al. (2017b). Linking maternal and somatic 5S rRNA types with different sequence-specific non-LTR retrotransposons. *RNA* 23, 446–456.

Marygold, S.J., Coelho, C.M.A., and Leever, S.J. (2005). Genetic analysis of Rpl38 and Rpl5, two minute genes located in the centric heterochromatin of chromosome 2 of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 169, 683–695.

Mauro, V.P., and Edelman, G.M. (2002). The ribosome filter hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 12031–12036.

Meyer, K.D., Patil, D.P., Zhou, J., Zinoviev, A., Skabkin, M.A., Elemento, O., Pestova, T.V., Qian, S.B., and Jaffrey, S.R. (2015). 50 UTR m(6)A promotes cap-independent translation. *Cell* 163, 999–1010.

Mills, E.W., and Green, R. (2017). Ribosomopathies: There's strength in numbers. *Science* 358, eaan2755.

Moor, A.E., Golan, M., Massasa, E.E., Lemze, D., Weizman, T., Shenhav, R., Baydatch, S., Mizrahi, O., Winkler, R., Golani, O., et al. (2017). Global mRNA polarization regulates translation efficiency in the intestinal epithelium. *Science* 357, 1299–1303.

Ni, L., and Snyder, M. (2001). A genomic study of the bipolar bud site selection pattern in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell* 12, 2147–2170.

O'Leary, M.N., Schreiber, K.H., Zhang, Y., Duc, A.C.E., Rao, S., Hale, J.S., Academia, E.C., Shah, S.R., Morton, J.F., Holstein, C.A., et al. (2013). The ribosomal protein Rpl22 controls ribosome composition by directly repressing expression of its own paralog, Rpl2211. *PLoS Genet.* 9, e1003708.

Perucho, L., Artero-Castro, A., Guerrero, S., Ramo´n y Cajal, S., Lleonart, M.E., and Wang, Z.Q. (2014). RPL1, a crucial ribosomal protein for embryonic development of the nervous system. *PLoS ONE* 9, e99956.

Raices, M., and D'Angelo, M.A. (2012). Nuclear pore complex composition: a new regulator of tissue-specific and developmental functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 13, 687–699.

Ramagopal, S. (1990). Induction of cell-specific ribosomal proteins in aggregation-competent nonmorphogenetic *Dictyostelium discoideum*. *Biochem. Cell Biol.* 68, 1281–1287.

Roberts, R.B. (1958). Introduction. In *Microsomal Particles and Protein Synthesis* (Pergamon Press), pp. 7–8.