



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE
Corso di laurea in Scienze Biologiche

Meccanismi di regolazione dell'omeostasi ribosomiale: implicazioni
nell'oogenesi di *Drosophila*

Mechanisms of ribosomal homeostasis regulation: implications
in *Drosophila* oogenesis

Candidato:
Elisa Cataldi

Sessione Autunnale
Anno accademico 2021/2022

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

Omeostasi ribosomiale

▸ Assenza ribosomi → **incompatibile con la vita**

▸ Difetti delle componenti ribosomiali



▸ Difetti nei meccanismi di biogenesi



▸ Difetti delle proteine promotrici della biogenesi



▸ Difetti nel riciclaggio o nel turnover dei ribosomi

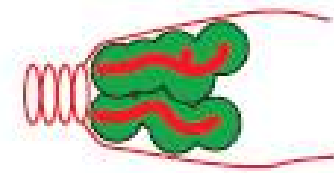
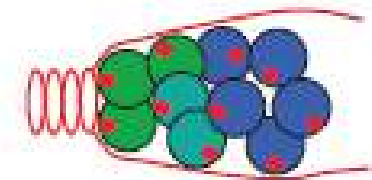
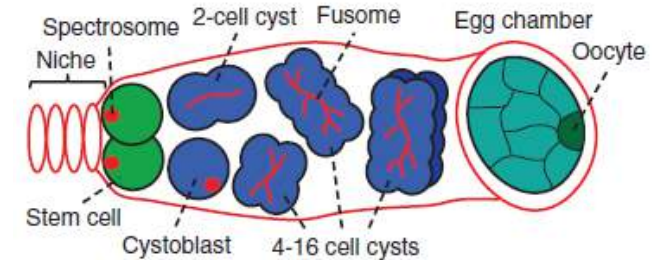
RIBOSOMOPATIE

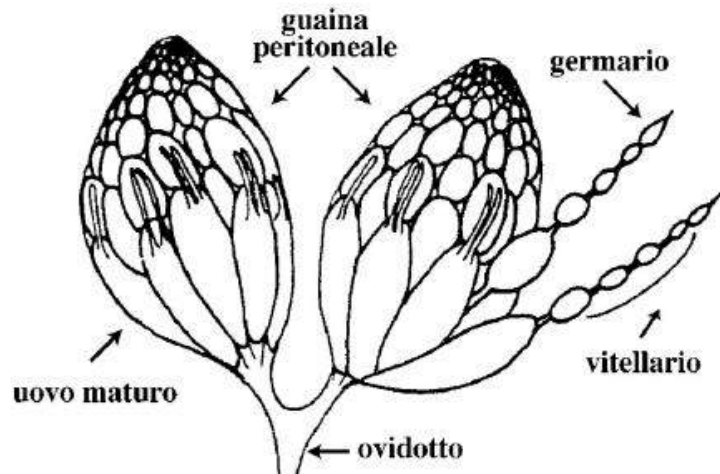
- CONDIZIONI PATOLOGICHE

- DIFETTI TESSUTO SPECIFICI

Modello: *oogenesi di Drosophila*

- ▶ Tessuto non indispensabile per la vita
- ▶ Caratterizzazione della morfologia dello sviluppo
- ▶ Facilità di uso di knockdown tessuto specifici
- ▶ Marker molecolari facilmente identificabili





Modificata da Bernardi F. (2007) DOI 10.6092

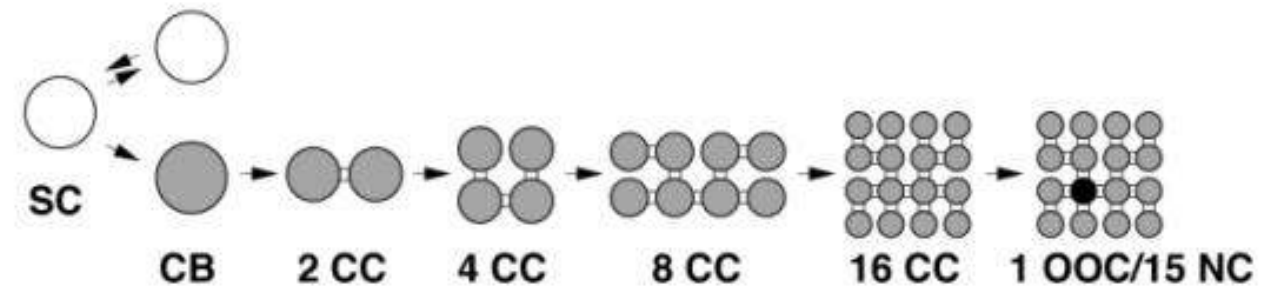
Cenni morfogenetici dell' oogenesi in *Drosophila*:

- ▶ Unità morfologica funzionale: ovariole (germario + vitellario)
- ▶ Nel germario 2-3 cellule staminali germinali (**GSC**)
- ▶ Processo di abscissione: GSC e Citoblasto (**CB**)

▶ Il citoblasto subisce 4 divisioni mitotiche incomplete



▶ Cisti a 2, 4, 8 e 16 cellule



de Cuevas and Spradling, 1998 <https://doi.org/10.1242/dev.125.15.2781>.

1. Fattori di biogenesi ribosomiale

Fattori coinvolte nella trascrizione dell'rRNA, nella maturazione e nel processamento:

Pool più abbondante nelle GSC → Espressione differenziale
→ Segregazione asimmetrica

La loro mancanza provoca:

1) Differenziazione prematura

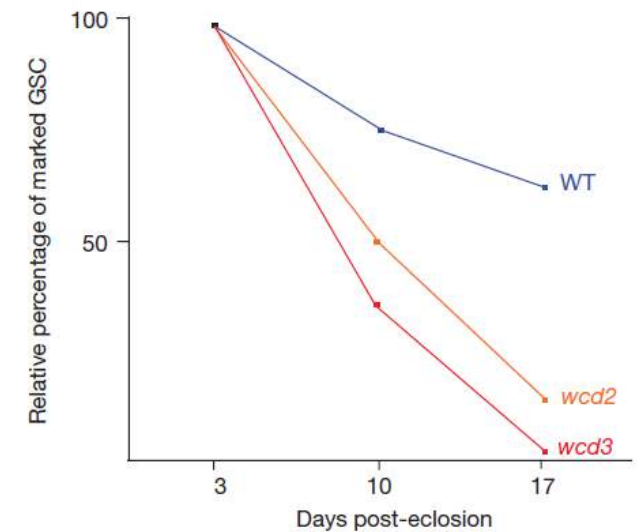
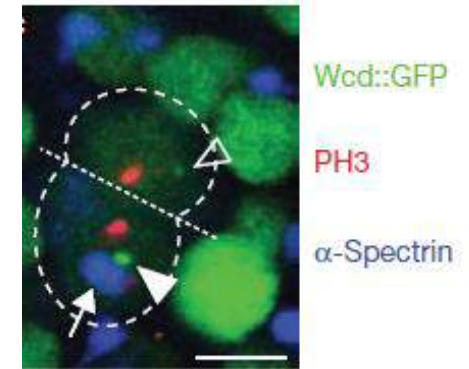
Esempio: Wicked

2) Difetti di differenziazione

Esempio: Elicasi DExD/H-box (Aramis)

→ perdita della linea germinale

1)

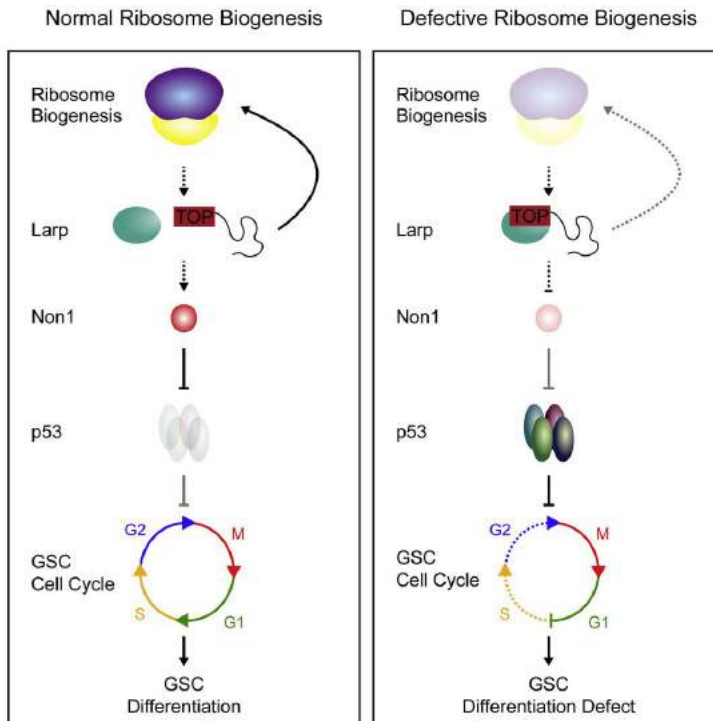


2) Elicasi DExD/H-box : Aramis (DDX52)

- Processamento del pre-rRNA
- Traduzione di Non1 (GTPBP4) repressore di p53
- p53 blocca il ciclo cellulare tra la fase G1 e la fase S



**COLLEGAMENTO
TRA BIOGENESI E
CICLO CELLULARE**



In mutanti di Aramis:

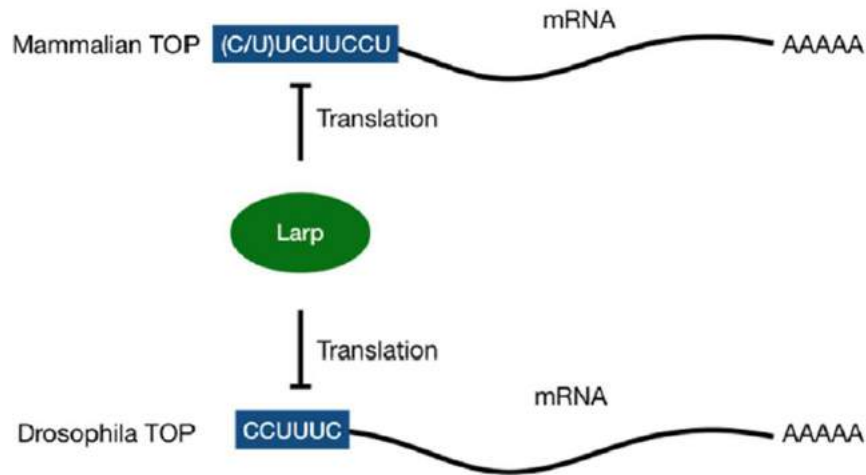
- Stabilizzazione aberrante di p53 → **Arresto in G1**
- Abscissione: citochinesi completa in G2
- Fattore di differenziamento *Bam* espresso in G2



FORMAZIONE DI CISTI STAMINALI

Controllo della trascrizione dei fattori di biogenesi dei ribosomi:

- Motivi **TOP**: 5' UTR Terminal- Oligo-Pyrimidine
- mRNA coinvolti nella biogenesi e nella traduzione dei ribosomi
- Percepiscono i livelli di ribosomi e delle componenti in modo tale che siano tutte tradotte allo stesso livello « sensori dei livelli di ribosomi »



→ Osservati anche in **Non1**

(non direttamente implicata nel processo di biogenesi)



IMPLICATI NELLE TRANSIZIONI
DELLO SVILUPPO?

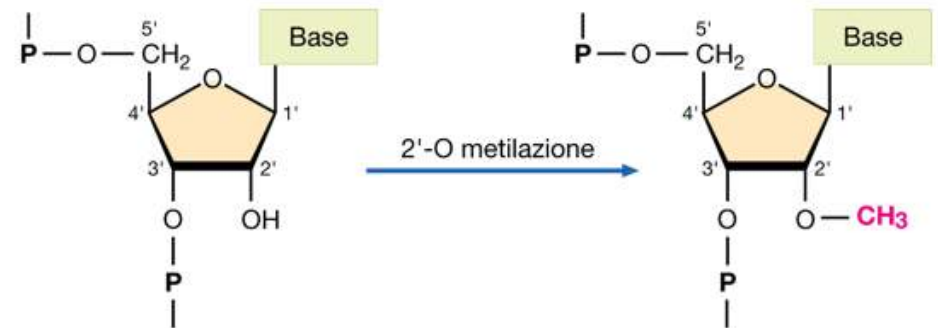
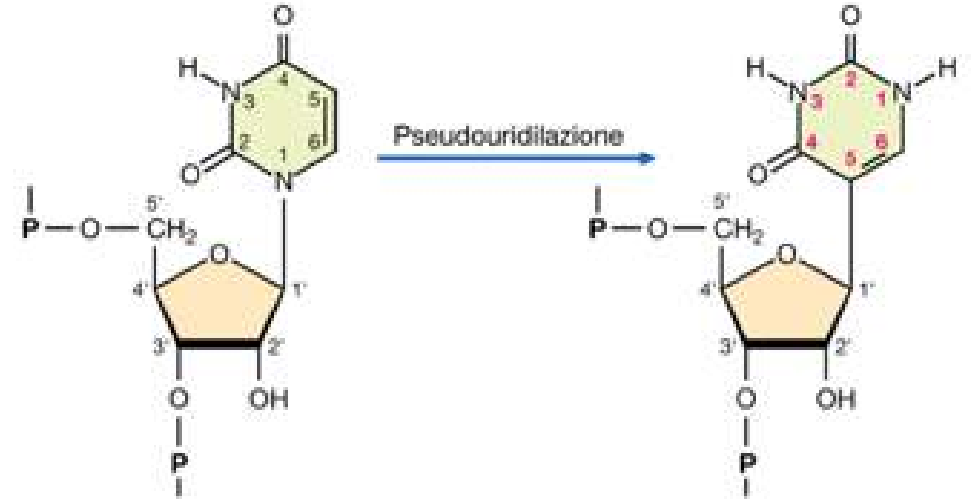
2. Modificazioni delle componenti ribosomiali:

▸ Paralog proteici:

individuati con spettrometria di massa

▸ Modificazioni post-trascrizionali PTM

- Uridina → Pseudouridina (snoRNA H/ACA box)
- 2'-O -metilazione del ribosio (snoRNA C/D box)
- Citosina → 5- metilcitosina
- Adenosina → N6- metiladenosina



“Biologia Molecolare” di Amaldi et al.

In *Drosophila*:

- ▶ Enzima *minifly* (omologo DKC1)

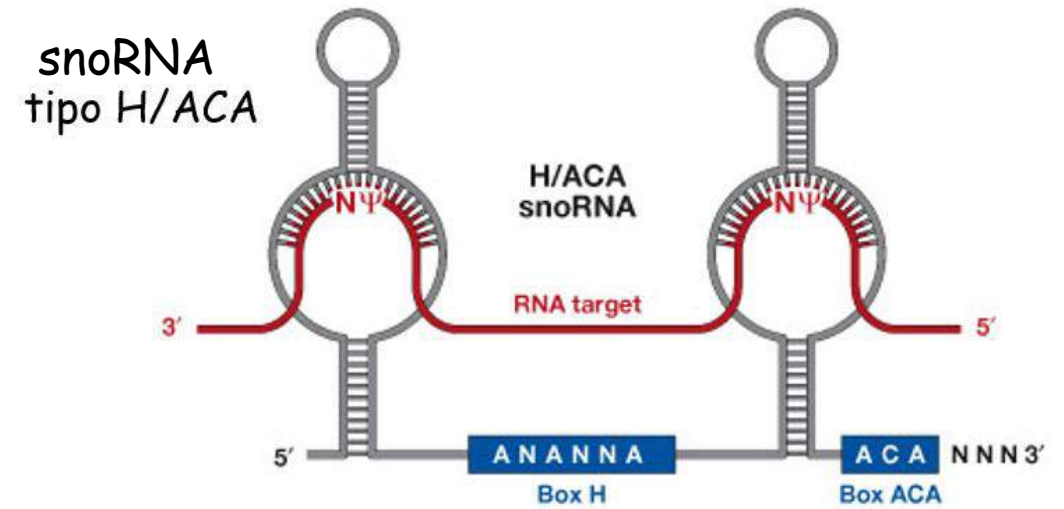
Pseudouridina sintetasi (complesso RNP, snoRNA H/ACA):

- Corretto ripiegamento dell'rRNA
- Ribosomi funzionali

Mutazioni di *minifly* → Dimensioni ridotte, ritardo dello sviluppo, infertilità

	snoRNA C/D	snoRNA H/ACA
Funzione	Metilazione del 2'-O del ribosio	Pseudouridilazione
Lunghezza degli snoRNA	70-100 nt	130-140 nt
Proteine associate ai complessi snoRNP	Fibrillarina (Nop1p) NOP56p NOP58p NHPX	Diskarina (pseudouridina sintetasi) Gar1p (NOLA1) NHP2p (NOLA2) NOP10p (NOLA3)

“Biologia Molecolare” di Amaldi et al.



“Biologia Molecolare” di Amaldi et al.

- ▶ Proteina NHP2

associata al complesso RNP H/ACA box

Mutazioni che provocano la sua deplezione



→ Accumulo di cisti a 4 e 8 cellule

→ Mancanza di cisti a 16 cellule

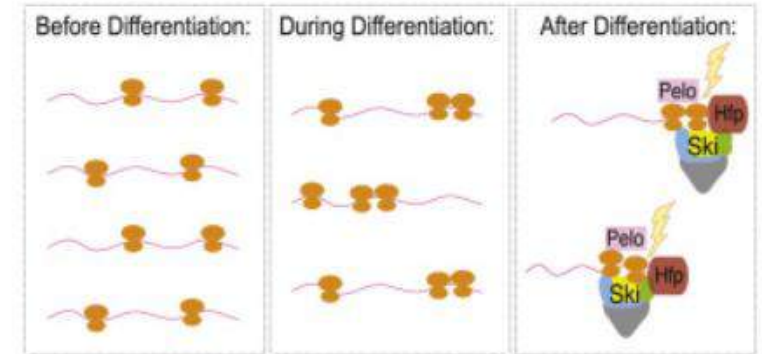
3. Meccanismi di sorveglianza dei ribosomi

Controllo dei ribosomi presenti sui trascritti aberranti:

- **NMD** (Non-sense decay): trascritti proteici con codoni di terminazione prematura (PTC)
→ Proteine tronche
- **NSD** (Non- stop decay): ribosomi bloccati sulla 3' - UTR
codone di stop non presente o mutato
- **NGD** (No- go decay): ribosomi «in stallo» (motivo non chiaro)

In Drosophila:

- Pelota (Pelo) è implicato nei meccanismi NSD/NGD
- Recluta il complesso Super Killer (Ski)



P. Blatt, S.W.Wong-Deyrup; <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.04.052>

PERDITA DI PELO

- Mancata specificazione degli oociti
- Morte delle camere ovariche

Riassunto

Il ribosoma, è stato osservato essere coinvolto in numerosi processi che sono alla base della crescita, del differenziamento e della sopravvivenza cellulare. Sono talmente numerose le implicazioni dei ribosomi che la loro omeostasi e la loro corretta formazione è controllata in ogni fase: dai fattori che promuovono la biogenesi al riciclaggio dei ribosomi. I meccanismi alla base di questa regolazione, inoltre, sono spesso conservati negli eucarioti e tale considerazione offre numerosi spunti per lo studio delle ribosomopatie, patologie dovute alla perturbazione dell'omeostasi ribosomiale. Sebbene, così diffusi e facilitati dalla presenza di omologhi nel dominio eucariotico, i processi che coinvolgono la biogenesi dei ribosomi sono strettamente connessi a numerosi processi cellulari e l'identificazione dei pattern implicati nel differenziamento tissutale sono difficilmente identificabili. L'approccio molecolare è stato ed è un mezzo indispensabile per l'indagine di questi processi e prospetta una sempre più ampia consapevolezza dell'implicazione di questi complessi macromolecolari, fondamentali per la vita, in queste vie metaboliche.

Bibliografia e sitografia

- M. de Cuevas, A.C. Spradling, Morphogenesis of the drosophila fusome and its implications for oocyte specification, *Development* 125 (15) (1998) 2781–2789, <https://doi.org/10.1242/dev.125.15.2781>.
- C. Deisenroth, Y. Zhang, Ribosome biogenesis surveillance: probing the ribosomal protein-Mdm2-p53 pathway, *Oncogene* 29 (30) (2010) 4253–4260, <https://doi.org/10.1038/onc.2010.189>.
- Bernardi, Fabio (2007) Studio del controllo trascrizionale del gene VM32E in Drosophila: analisi genetica delle vie di segnalazione coinvolte, DOI 10.6092/unibo/amsdottorato/53.
- S. Granneman, S.J. Baserga, Ribosome biogenesis: of knobs and RNA processing *Experimental Cell Research* 296 (2004) 43–50
DOI: [10.1016/j.yexcr.2004.03.016](https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2004.03.016)
- P. Zahradka, Dawn E. Larson, Bruce H. Sells, Regulation of ribosome biogenesis in differentiated rat myotubes, *Mol. Cell. Biochem.* 104 (1–2) (1991), <https://doi.org/10.1007/BF00229819>.
- P.C. Yelick, P.A. Trainor, Ribosomopathies: global process, tissue specific defects, *Rare Dis.* 3 (1) (2015), e1025185, <https://doi.org/10.1080/21675511.2015.1025185>.
- C.G. Sanchez, F.K. Teixeira, B. Czech, J.B. Preall, A.L. Zamparini, J.R.K. Seifert, C. D. Malone, G.J. Hannon, R. Lehmann, Regulation of ribosome biogenesis and protein synthesis controls germline stem cell differentiation, *Cell Stem Cell* 18 (2) (2016) 276–290, <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.11.004>.
- E.T. Martin, P. Blatt, E. Nguyen, R. Lahr, S. Selvam, H.A.M. Yoon, T. Pocchiari, S. Emtenani, D.E. Siekhaus, A. Berman, G. Fuchs, P. Rangan, A translation control module coordinates germline stem cell differentiation with ribosome biogenesis during Drosophila oogenesis, *Dev. Cell* 57 (7) (2022) 883–900, <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2022.03.005>.
- M. Gabut, F. Bourdelais, S. Durand, Ribosome and translational control in stem cells, *Cells* 9 (2) (2020) 497, <https://doi.org/10.3390/cells9020497>.
- P. Fichelson, C. Moch, K. Ivanovitch, C. Martin, C.M. Sidor, J.-A. Lepesant, Y. Bellaiche, J.-R. Huynh, Live-imaging of single stem cells within their niche reveals that a U3snoRNP component segregates asymmetrically and is required for self-renewal in Drosophila, *Nat. Cell Biol.* 11 (6) (2009) 685–693, <https://doi.org/10.1038/ncb1874>.