



UNIVERSITÀ
POLITECNICA
DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea Triennale in Scienze Biologiche

Tesi di laurea

TRASCRIZIONE E SPLICING: UNA STRADA A DOPPIO SENSO

TRANSCRIPTION AND SPLICING: A TWO-WAY STREET

Tesi di Laurea di: Kavrouzou Loukia

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

Sessione Straordinaria (Febbraio)

A.A 2022-2023

INTRODUZIONE:

- La trascrizione corretta e tempestiva dei geni codificanti da parte di RNA POL II nelle cellule eucariotiche è necessaria, per il corretto funzionamento ai cambiamenti nel loro ambiente.

. SPLICING

. POLIADENILAZIONE

.SPLICING ALTERNATIVO

- Trascrizione e lo splicing dialogano tra di loro per garantire la produzione dell' mRNA corretto.

LA PROVA DELLA CO-TRASCRIZIONE SPLICING:

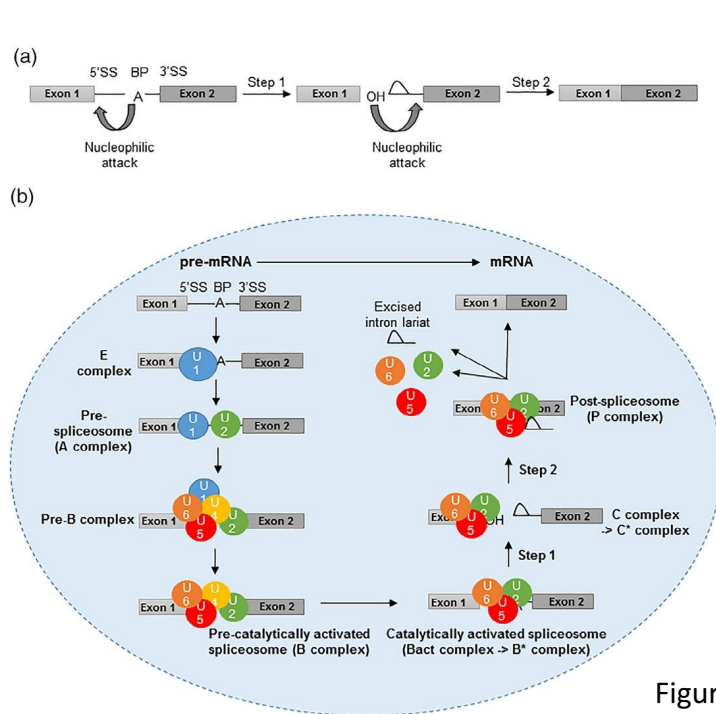
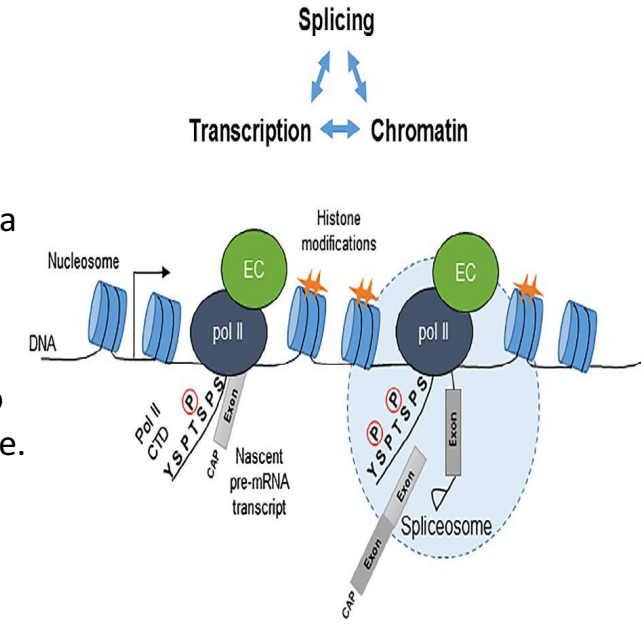


Figura 1

Lo splicing è una reazione di transesterificazione in due fasi. (a)

Il ciclo dello spliceosoma (b). Lo spliceosoma subisce sostanziali riarrangiamenti tra le interazioni RNA e proteina per produrre lo spliceosoma attivo che catalizza il primo passo dello splicing. Il complesso C catalizza la seconda fase dello splicing ovvero la legatura dell'esone, per generare un trascritto di RNA maturo con post-spliceosoma (complesso P).

- Lo splicing co-trascrizionale è stato osservato per la prima volta nel 1981 in esperimenti di microscopia elettronica (EM).
- La co-trascrizione aumenta la fedeltà dello splicing imponendo direzionalità e temporalità ordine.



Durante splicing co-trascrizionale, lo spliceosoma si assembla sul pre-mRNA nascente. In questo modo lo splicing, la trascrizione e la cromatina sono in stretta prossimità e si influenzano a vicenda. (Figura 2)

L'impatto della trascrizione di pol II sullo splicing, in particolare lo splicing alternativo, è ben studiato dal lievito all'uomo e è stato ampiamente rivisto negli ultimi anni:

1. Modello 'cinetico'
2. Modello reclutamento'

RECLUTAMENTO DI FATTORI DI SPLICING MEDIATO DA POL II E I FATTORI CHE POSSONO INFLUENZARE LO SPLICING

- CTD (dominio carbossi-terminale)

(Tabella 1)

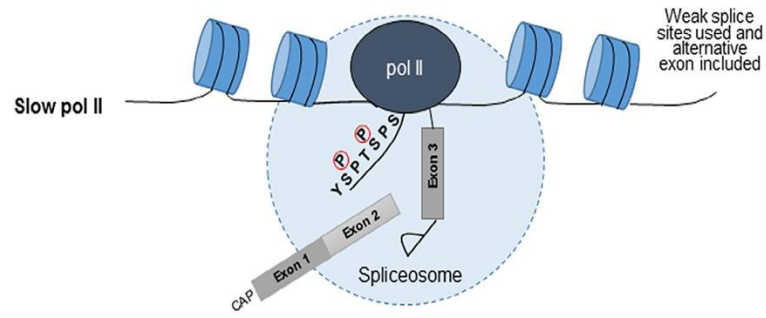
- Nella regolazione sono stati implicati anche alcuni fattori di trascrizione generali e fattori di trascrizione specifici della sequenza dello splicing.

(Tabella 2)

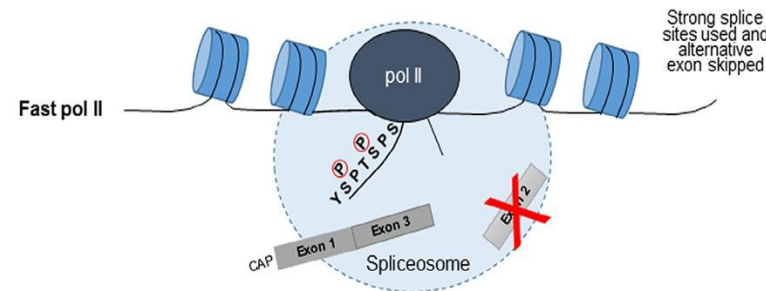
Effector	Link to splicing	System	Reference(s)
CTD	Interacts with splicing factors	Multiple	Vincent et al., 1996; Yuryev et al., 1996; Mortillaro et al., 1996; Kim, Du, Bregman, & Warren, 1997; Misteli & Spector, 1999; Carty, Goldstrohm, Sune, Garcia-Blanco, & Greenleaf, 2000; Emili et al., 2002; Rosonina et al., 2005; David, Boyne, Millhouse, & Manley, 2011; Nojima et al., 2015; Yu & Reed, 2015; Harlen et al., 2016
CTD	Stimulates splicing	In vitro	Hirose, Tacke, & Manley, 1999; Ghosh & Garcia-Blanco, 2000; Millhouse & Manley, 2005; Das et al., 2006
CTD	Stimulates splicing	Human cells	McCracken et al., 1997; Fong & Bentley, 2001
S2P	Required for the recruitment of U2 snRNP and splicing	Mammalian cells	Gu, Eick, & Bensaude, 2013
S5P	Splicing factors associated with pol II	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , human cells	Harlen et al., 2017; Nojima, Rebelo, et al., 2018
S5P	Splicing-dependent pol II pausing	<i>S. cerevisiae</i> ; human cells	Alexander et al., 2010; Nojima et al., 2015
S5P	Mutation to alanine causes intron retention	<i>S. cerevisiae</i>	Harlen et al., 2017
T4P	Mutation to valine causes defects in splicing	<i>S. cerevisiae</i>	Harlen et al., 2017
Ubiquitination	Reduced splicing efficiency upon deletion of Bre5 (part of a complex that deubiquitinates pol II)	<i>S. cerevisiae</i>	Milligan et al., 2017

Factor	Link to splicing	System	Reference(s)
Spt4	Mutation causes splicing defects	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Lindstrom et al., 2003; Burckin et al., 2005; Xiao et al., 2005
Spt5	Mutation causes splicing defects	<i>S. cerevisiae</i>	Lindstrom et al., 2003; Burckin et al., 2005; Xiao et al., 2005
Spt5	Depletion causes pre-mRNA accumulation	Human cells; <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Diamant et al., 2012; Shetty et al., 2017
Spt5	Co-immunoprecipitates with U1	<i>S. cerevisiae</i>	Moore, Schwartzfarb, Silver, & Yu, 2006
P-TEFb	Interaction with splicing factor SKIP	Human cells	Bres, Gomes, Pickle, & Jones, 2005
ELF7	Interaction with splicing factor SKIP	<i>Arabidopsis thaliana</i>	Cao et al., 2015; Li et al., 2016; Yang et al., 2016
Med23	Interacts with splicing factors and RNAi depletion causes changes in alternative splicing patterns	Mouse cells	Huang et al., 2012

SPLICING , POL II E CROMATINA



pol II mutants (Fong et al., 2014; Maslon et al., 2019)
Transcription inhibitor drugs (Ip et al., 2011)
CTCF and Pol II pausing (Shukla et al., 2012)



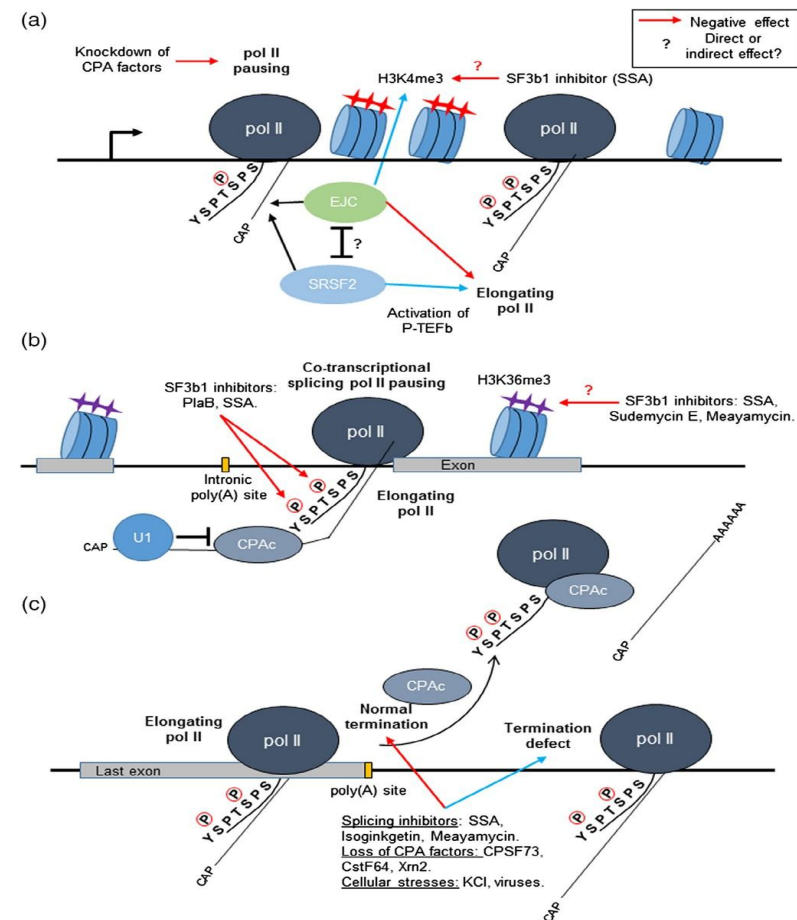
pol II mutants (Fong et al., 2014)
Light and TFIS (Godoy Herz et al., 2019)
DNA methylation, no CTCF, no pol II pausing (Shukla et al., 2012)

- Accoppiamento cinetico. Il il tasso di allungamento di pol II influisce sulla co-trascrizione assemblaggio spliceosoma e selezione del sito dello splicing.
- lo splicing co-trascrizionale si verifica non solo in prossimità del macchinario di trascrizione, ma anche il modello di cromatina.
- Lo splicing può influenzare l'allungamento della POL II.

SPLICING , POL II E CROMATINA

- Lo splicing rimanda alla trascrizione e alla cromatina.
- È interessante notare che l'snRNP U1 regola indirettamente la trascrizione di pol II, attraverso la soppressione della scissione prematura e poliadenilazione nei corpi dei geni codificanti proteine
- Combinazioni di inibitori dello splicing e tecniche del trascrittoma hanno dimostrato che la terminazione pol II alla fine di i geni dipendono dall'attività dello spliceosoma

È possibile che i fattori coinvolti nello splicing modulino l'associazione dei modificatori della cromatina durante la trascrizione ciclo.



CONCLUSIONE:

- Le intime relazioni tra la trascrizione e gli eventi di elaborazione dell'RNA, inclusi il capping, lo splicing e il clivaggio dell'mRNA e poliadenilazione, ed è probabile che l'eventuale esportazione dell'mRNA sia ancora più intrecciata di quanto non facciamo attualmente apprezzare
- Non vediamo l'ora di una comprensione più completa di tutte le connessioni coinvolte nella creazione l'RNA giusto al momento giusto
- Il contributo di alcuni dei collegamenti che abbiamo citato alla salute e al benessere delle cellule o degli organismi è difficile da valutare e può essere importante solo in circostanze specifiche;

RIASSUNTO:

- L'accoppiamento della sintesi dell'RNA da parte della RNA polimerasi II e l'elaborazione dell'RNA offre opportunità per il controllo della qualità e la regolazione dell'espressione genica.
- L'elaborazione dell'RNA influenzata dai meccanismi e la regolazione dello splicing.

BIBLIOGRAFIA:

- (Michael Tellier, Isabella Maudlin, Shona Murphy, 2021)
- (Chen, Smith e Shilatifard, 2018; Engel, Neyer e Cramer, 2018; Jonkers & Lis, 2015).
 - (recensito su Fica & Nagai, 2017; Will & Luhrmann, 2011).
 - . Fonte: Fica & Nagai, 2017; Will & Luhrmann, 2011 Berget, Moore e Sharp, 1977),
 - (Audibert, Weil, & Dautry, 2002; Curtis, Mantei, & Weissmann, 1978; Gattoni, Keohavong, & Stevenin, 1986; recensito in Carmo-Fonseca & Kirchhausen, 2014)
 - (Dye, Gromak e Proudfoot, 2006).
 - (Beyer, Bouton, & Miller Jr., 1981).
 - (Gornemann et al., 2005; Kotovic et al., 2003; Lacadie & Rosbash, 2005; Listerman et al., 2006).
- (Carrillo Oesterreich et al., 2010).
- (Aslanzadeh et al., 2018; Wallace & Beggs, 2017). I
- (recensito in Bentley, 2014; Dujardin et al., 2013; Herzel, Ottoz, Alpert, & Neugebauer, 2017; Kornblihtt, 2015 Perales & Bentley, 2009; Saldi, Cortazar, Sheridan e Bentley, 2016)
- (Zaborowska et al., 2016).
- (Das et al., 2006; Fong & Zhou, 2001; Ghosh & Garcia-Blanco, 2000; Hirose et al., 1999; McCracken et al., 1997).
- (Burck(recensito in Eick & Geyer, 2013; Zaborowska, Egloff, & Murphy, 2016).
- in et al., 2005; Lindstrom et al., 2003; Xiao et al., 2005).
- (rivisto in Bentley, 2005; Buratowski, 2003)
- (Buratti & Baralle, 2004; Eperon, Graham, Griffiths, & Eperon, 1988; Saldi et al., 2016).
- (Aslanzadeh et al., 2018; Braberg et al., 2013; Fong et al., 2014)
- (rivisto in Fiszbein, Godoy Herz, Gomez Acuña, & Kornblihtt, 2017; Haque & Oberdoerffer, 2014
- (Batsche et al., 2006; Tyagi, Ryme, Brodin, Ostlund Farrants e Visa, 2009).
- (Adelman & Lis, 2012).
- (Lin, Coutinho-Mansfield, Wang, Pandit e Fu, 2008).
- (Boswell et al., 2017; Tseng et al., 2015; Zhao et al., 2018),
- (Keren-Shaul, Lev-Maor e Ast, 2013).
- (Kfir et al., 2015)
- (Kim et al., 2011).
- (Cooke, Hans, & Alwine, 1999; Davidson & Ovest, 2013; Dye & Proudfoot, 1999; Rigo e Martinson, 2008).
- (Hallais et al., 2013
- (Lahudkar, Durairaj, Uprety e Bhaumik,2014)
- (Raj & Blencowe, 2015; Weyn-Vanhentenryck et al., 2018).