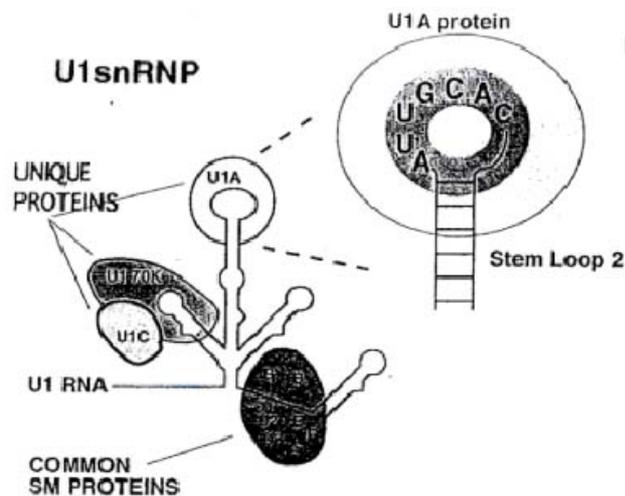


REGOLAZIONE GENICA TRAMITE POLIADENILAZIONE

A causa del blocco del processamento al 3', sono prodotti mRNA difettivi e instabili e ciò sta ad indicare che una funzione delle code di poli(A) è di conferire stabilità: uno dei primi eventi del normale turnover dell'mRNA è la rimozione della coda che permette l'entrata delle esonucleasi. Possono avere funzioni fisiologiche addizionali, in particolare nella regolazione dell'efficienza della traduzione. Recenti scoperte mostrano una poliadenilazione controllata dell'mRNA che induce l'attivazione della traduzione specifica di bicoid, durante lo sviluppo di *Drosophila*, e di *c-mos*, nella maturazione dell'oocita di rospo. Prenderemo ora in considerazione alcuni esempi che evidenziano come, controllando la poliadenilazione, si possa modulare l'espressione genica.

Autoregolazione della proteina U1A

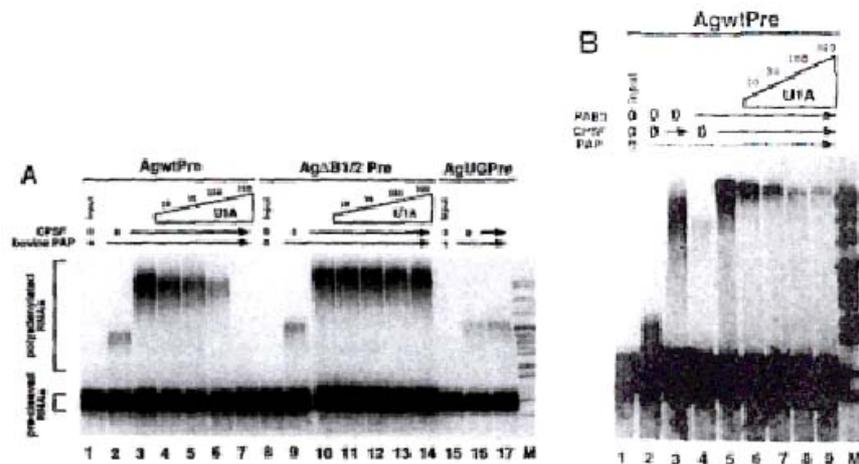
U1 è lo snRNA della U1 snRNP che partecipa ai primi eventi dello splicing e svolge la funzione specifica di riconoscere e legare il 5'splice site; importante per questo appaiamento è la proteina U1-70K che fa parte della componente proteica di questa particella. Le snRNPs hanno una serie di proteine comuni, le proteine Sm, che si ritrovano in tutti i complessi e poi alcune proteine specifiche della particella, come per esempio U1-70K e U1A. Gli snRNAs non hanno una coda di poli(A) e per proteggere la loro estremità 3'si ripiegano in strutture a stem and loop che, insieme con le Sm, impediscono l'entrata delle esonucleasi.



Complesso della snRNP U1: sono evidenziati le proteine Sm all'estremità 3' e alcune proteine specifiche del complesso.
E' ingrandito il sito di legame di U1A che richiede una sequenza di 7 nucleotidi del loop e 3 bp dello stem.

Anche U1A interagisce con una di queste strutture ed in particolare richiede una sequenza di 7 nucleotidi nel loop ed uno stem di 3 paia di basi. Per studiare U1A la si può purificare con un 3 hybrid system o per affinità con l'RNA target immobilizzato su colonna; inoltre sono state fatte delle mutazioni sito-specifiche sulla regione di legame, p.es. il loop, per vedere il loro effetto e fare un'analisi più fine; infine si è studiato se il gene fosse in qualche modo regolato. Avevano visto che, trasfettando molte copie del gene per U1A, non si aveva una paragonabile quantità di prodotto proteico e di RNA, quindi ci doveva essere una regolazione a livello di accumulo di trascritto.

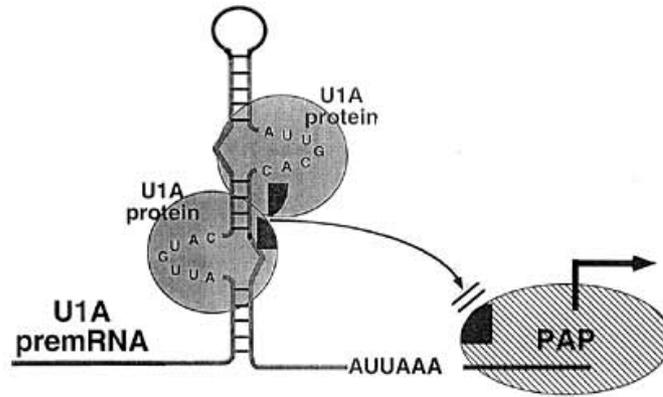
Sequenziando il gene si sono accorti della presenza al 3', vicino al sito di poliadenilazione (AUUAAA), di 2 sequenze simili a quella del sito di legame su U1 snRNA. Avendo a disposizione estratti frazionati competenti per le reazioni di taglio e poliadenilazione hanno voluto analizzare se queste reazioni fossero condizionate dalla presenza in eccesso della proteina U1A. In estratti contenenti solo CPSF ed i fattori di taglio si osservava un andamento inalterato delle reazioni di taglio. Per saggiare la poliadenilazione hanno utilizzato invece un RNA già tagliato e quindi con un 3' OH libero: all'aumentare della proteina U1A la poliadenilazione era sempre più inibita. Il controllo su U1A è quindi di tipo a feed-back ed ha come target la corretta formazione del 3' del suo messaggero. Man mano che la quantità di U1A nel nucleo aumenta, con conseguente sua destabilizzazione, questa si va a legare al 3' del suo mRNA impedendo la poliadenilazione e di conseguenza destabilizzando il trascritto che viene degradato.



A: Effetto della proteina U1A sulla poliadenilazione del suo messaggero. In W.T. è visibile che aumentando la proteina u1a la poliadenilazione è inibita, al contrario se il sito di legame è mutato (corsie MUT) la poliadenilazione è mantenuta

B: Come nella prima parte di A ed inoltre è stata aggiunta anche PABII.

Quest'effetto deriva dal legame specifico al suo substrato, ed anche dal fatto che esiste un'interazione tra U1A e la parte C-terminale di PAP, in un dominio specifico che inibisce il suo normale funzionamento. Questa interazione è stata dimostrata con la tecnica del two-hybrid in lievito.



Porzione del 3' UTR del messaggero di U1A che contiene due siti di legame per U1A localizzati a monte del sito di poliadenilazione. La proteina U1A possiede un dominio che interagisce con la PAP inibendola.

E' da notare inoltre che la sequenza del sito di poliadenilazione, AUUAAA non è un sito canonico: in tal modo si ha un legame meno stabile con CPSF che può essere più facilmente scalzato.

Sequenziando la PAP di lievito si è visto che questa non contiene il sito d'interazione con U1A, perciò questa funzione è solo degli organismi più complessi.

Eccezione degli snoRNAs

Molto interessante è l'eccezione che riguarda gli snoRNAs in lievito. Di regola la presenza della coda di poli(A) indirizza l'mRNA verso il pathway d'esporto nel citoplasma; negli snoRNAs non viene aggiunta la coda di adenine ed anzi la presenza di essa impedisce la maturazione dell'estremità 3'. Questa eccezione è da correlare al fatto che gli snoRNA non devono andare nel citoplasma, ma rimanere nel nucleo per svolgere la loro funzione nella maturazione dell'rRNA.