

Lunghi RNA non codificanti

I long non coding RNA o lncRNA sono molecole lunghe oltre i 200 nucleotidi che spesso hanno il cap e sono poliadenilate, ma non contengono *open reading frame* ORF. Sono trascritte dalla RNA polimerasi II e spesso vanno incontro a splicing.

Rispetto agli mRNA contengono meno esoni e hanno una dimensione inferiore.

La maggior parte dei trascritti negli eucarioti sono lncRNA, e comprendono circa il 60% dei ncRNA trascritti nel genoma umano. Sono comunque espressi a livelli inferiori rispetto ai trascritti di geni codificanti proteine.

I livelli di lncRNA possono variare tra i vari tessuti e tra le varie fasi di differenziamento cellulare. Sono coinvolti nell'espressione genica.

Le sequenze codificanti per i lncRNA sono localizzate in diverse porzioni del genoma. Molti lncRNA svolgono importanti ruoli regolativi, legando proteine o interagendo direttamente con molecole di DNA o RNA. Possono essere coinvolti sia nell'attivazione che nell'inibizione dell'espressione genica e possono svolgere la loro funzione sia nel nucleo che nel citoplasma.

La funzione di molti lncRNA è ancora sconosciuta.

I lncRNA possono agire sia in cis che in trans.

I lncRNA possono essere suddivisi in vari gruppi in base alle loro caratteristiche.

- NATs, natural antisense transcripts
- T-UCR, transcribed ultraconserved regions
- lincRNAs, long intergenic ncRNAs
- pseudogeni
- circRNA, circular RNAs
- long enhancer ncRNAs

Sono prevalentemente localizzati nel nucleo ma si trovano anche nel citoplasma. Sono almeno 8000 i lncRNA finora isolati nel genoma umano.

NATs

I Natural Antisense Transcripts NATs sono molecole di RNA che parzialmente o completamente si sovrappongono ad altri trascritti, influenzando positivamente o negativamente l'espressione genica.

I NATs possono agire in cis o in trans. I cis NATs sono trascritti dagli stessi loci genomici dai quali vengono prodotti i trascritti senso, usando il filamento antisenso come stampo.

I trans NATs vengono trascritti da regioni genomiche che sono diverse rispetto a quelle codificanti i trascritti target senso.

I NATs sono lncRNA intragenici, che possono sovrapporsi ad introni, esoni, promotori, enhancers e regioni UTR dei geni senso partner. Il 20-40% dei geni codificanti proteine posseggono un trascritto antisenso.

I NATs esercitano la loro funzione utilizzando vari meccanismi d'azione. Questi meccanismi d'azione possono essere raggruppati in due categorie:

- I NATs possono essere coinvolti nella repressione trascrizionale del trascritto senso. In questo caso il meccanismo d'azione coinvolge modificazioni epigenetiche degli istoni associati al promotore. I NATs in questo caso fungono da scaffold che mediano la formazione di complessi ribonucleoproteici che possono agire come modificatori della cromatina, condensandola, con conseguente inibizione della trascrizione.
- Nel citoplasma il ruolo dei NATs nella regolazione dell'espressione genica consiste nella formazione di RNA duplex con il trascritto senso, influenzandone la stabilità o la velocità di traduzione. Nel citoplasma i NATs possono prevenire la repressione genica, appaiandosi mediante complementarità delle basi a dei miRNA, agendo da spugne che sequestrano questi miRNA interferendo con la loro funzione inibitoria.

T-UCRs

Le Transcribed UltraConserved Regions sono regioni genomiche di dimensione superiore alle 200bp che mostrano il 100% di omologia tra diversi tipi di organismi. Sono classificati in cinque diversi gruppi: intergenici, intronici, esonici, parzialmente esonici e contenenti esoni.

Nei tessuti sani il 93% delle UCR sono trascritte in T-UCR.

Il profilo di espressione delle UCR può essere utilizzato per distinguere diverse forme di tumore umano. La funzione di questi T-UCR non è del tutto nota e chiara.

Il meccanismo di azione delle T-UCR è parzialmente chiarito, e si è dimostrato che possono funzionare da spugna, appaiandosi a specifici miRNA, che vengono sequestrati e non possono esercitare la loro funzione.

lincRNAs

I long intergenic non-coding RNA, lincRNA, sono trascritti da regioni genomiche che si trovano localizzate tra i geni, e quindi non si sovrappongono a sequenze esoniche. Sono quindi trascritti a partire da sequenze di DNA non codificanti.

Sono localizzati per lo più nel nucleo, ma possono trovarsi in altri compartimenti cellulari, come il nucleolo.

Uno dei lincRNA più studiati è HOTAIR, che è un regolatore epigenetico che svolge un ruolo importante nei tumori. Questo lincRNA funziona da adattatore, da scaffold che media la formazione di complessi

ribonucleoproteici che agiscono da modificatori della cromatina. HOTAIR guida specifiche proteine a regioni specifiche del genoma, e di conseguenza influenza l'espressione genica attraverso ad esempio la metilazione degli istoni.

Sono circa un migliaio i lincRNA finora identificati nel genoma umano.

Pseudogeni

Gli pseudogeni sono elementi simili a geni ma che non codificano per proteine. Circa il 20 di questi è trascritto in RNA.

Derivano per lo più dalla duplicazione di un gene. L'incapacità di produrre proteine funzionanti è data spesso da mutazioni frame-shift o che creano codoni di stop.

Diversi studi indicano che gli pseudogeni controllano l'espressione del gene WT producendo dei trascritti antisenso. Gli pseudogeni possono competere con i miRNA per il legame con i mRNA bersaglio.

Sono stati identificati circa 10000 pseudogeni.

circRNAs

I circular RNA sono RNA con estremità chiuse covalentemente, a formare appunto strutture circolari. Anche i circRNA possono fungere da spugne nei confronti dei miRNA. Ne sono stati isolati migliaia.

Long enhancer non-coding RNAs

Sono lncRNA con una funzione di enhancer. Regolano l'espressione di geni codificanti per proteine.

Caratteristiche

La stabilità dei lncRNA varia da meno di 2 ad oltre 16 ore. Questi RNA sono stati ritrovati in tutti i tessuti analizzati, ma sono più abbondanti nel sistema nervoso centrale.

Funzioni biologiche

I lncRNA possono agire sul controllo dell'espressione genica attraverso meccanismi diversi.

Nel nucleo i lncRNA possono fungere da trappola, legando dei fattori di trascrizione ed impedendone la funzione, di fatto reprimendo la trascrizione di specifici geni.

I lncRNA possono fungere da adattatori o scaffold, legando più proteine e formando complessi ribonucleoproteici che possono fungere da modificatori della cromatina, condensandola o aprendola, con effetti sulla trascrizione.

I lncRNA possono fungere da spugna, sequestrando miRNA e riducendone così l'attività inibitoria nei confronti di mRNA bersaglio. Questo è possibile se il lncRNA contiene una regione complementare al miRNA.

I lncRNA possono legarsi direttamente ad un mRNA bersaglio, modulandone lo splicing, la traduzione o la stabilità (facilitazione della degradazione dell'mRNA).

Un singolo lncRNA può fungere sia da scaffold che da guida, a seconda del contesto.

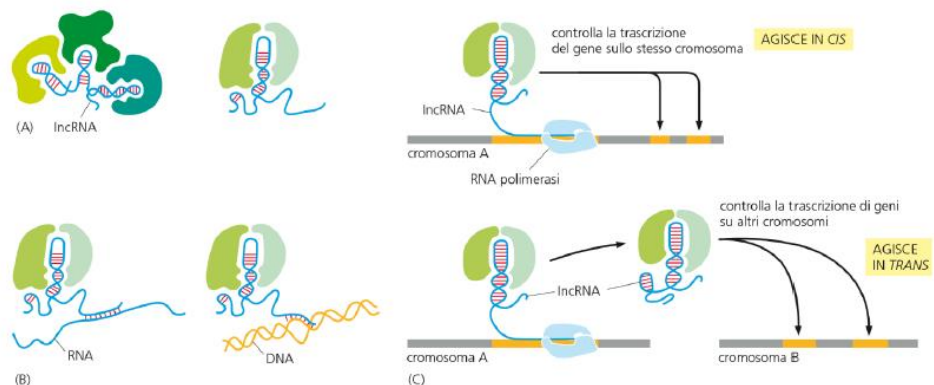
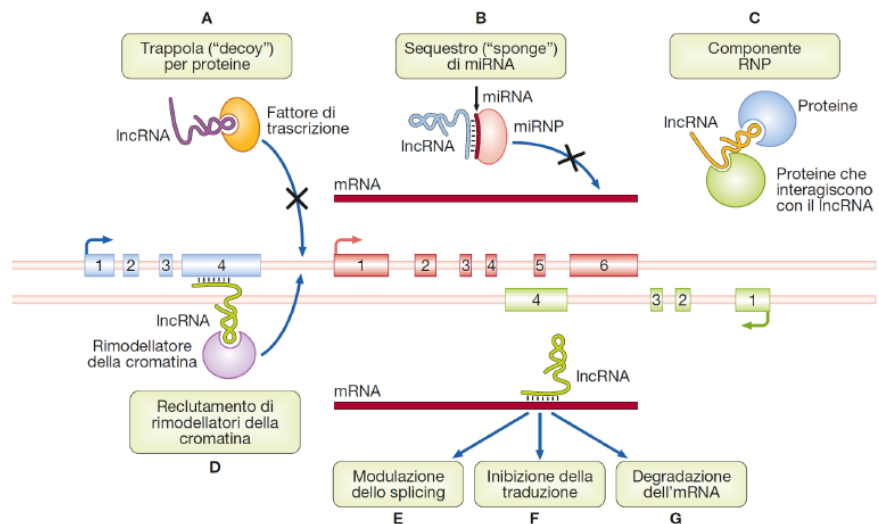
Le funzioni degli lncRNA dipendono sia dalla sequenza di basi, complementare ad

alcuni bersagli, sia dalla particolare struttura che alcuni di questi lncRNA assumono, che ne permette il funzionamento da scaffold per l'assemblamento di complessi ribonucleoproteici.

Un lncRNA funziona in cis quando controlla la trascrizione di un gene presente sullo stesso cromosoma da cui il lncRNA viene trascritto.

Un lncRNA funziona in trans quando influenza la trascrizione di geni presenti su altri cromosomi.

Gli lncRNA possono influenzare lo splicing appaiandosi con pre-mRNA e nascondendo alcune sequenze dei siti di splicing.



Meccanismo di funzionamento dei eRNA

Gli enhancer-RNA vengono trascritti a partire dalle regioni enhancers del genoma. Un fattore di trascrizione si lega ad un enhancer portando alla trascrizione di un e-RNA. L'ipotesi è che l'e-RNA leghi altre proteine o regioni di DNA in modo da promuovere interazioni fra regioni diverse della cromatina. Così facendo, altri fattori potrebbero essere reclutati, ed anche in assenza dell'eRNA potrebbero essere in grado di stabilizzare le interazioni tra le diverse regioni della cromatina.

I lncRNA regolano moltissimi processi cellulari, dal ciclo cellulare alla migrazione alla proliferazione, e sono quindi implicati nella patogenesi dei tumori.

Xist è un importante lncRNA di 17 kb che è implicato nel silenziamento del cromosoma X. Si lega allo stesso cromosoma da cui è trascritto (azione in cis) ed è in grado di reclutare fattori di rimodellamento della cromatina che silenziano il cromosoma.