

**EXPRESIA DIFERENȚIATĂ A GENELOR CA FACTOR
PRIMORDIAL ÎN DECLANȘAREA DEZVOLTĂRII EMBRIONARE.
PARTEA II. SEMNIFICAȚIA REGLĂRII POSTTRANSCRIPȚIOALE.
(articol de sinteză)**

Vrabie Valeria, Ciochină Valentina

Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie

Rezumat

În articol a fost analizată și sintetizată informația din literatura de specialitate privind modificările post-transcripționale ale moleculelor de ARNm (exportul din nucleu, localizarea intracelulară, procesing-ul citoplasmatic – recaping-ul și poliadenilarea citoplasmatică, deadenilarea și degradare ARNm), precum și particularitățile reglării expresiei genelor la nivel de translație. Au fost elucidate mecanismele acestor procese în stabilirea gradientilor morfogenilor, care determină specificația și determinarea celulelor și ulterior dezvoltarea organismului. S-a stabilit că modificările post-transcripționale, translaționale și post-translaționale funcționează ca mecanisme de diversificare a moleculelor de ARNm și proteine, ce asigură reglarea cu precizia proceselor celulare, ce permit celulei/organismului să reacționeze prompt la stimuli de mediu, asigurând supraviețuirea embrionului și succesul dezvoltării ulterioare.

Cuvinte cheie: expresia genelor, ARNm, proteine, embriogeneză,

Adresa pentru corespondență: Ciochină Valentina, Institutul de Fiziologie și Sanocreatologie, str. Academiei, 1, MD-2028 Chișinău, Republica Moldova;
e-mail: valentina.ciochina@gmail.com ; tel. (+373 22) 73-71-55.

Reglarea expresiei genice este procesul prin care activitatea genelor este controlată (indusă sau inhibată) la nivel celular într-un anumit timp, într-o anumită condiție. Acest proces a fost mult timp interpretat ca fiind rezultatul interacțiunii dintre proteinele specifice (factorii de transcripție) cu secvențele reglatoare în cadrul structurii genei (molecula de ADN). Cu toate acestea, reglarea genelor este un proces mai complex care implică nivele suplimentare de control, inclusiv remodelarea cromatinei, poziționarea nucleozomului, modificări ale histonelor, implicarea moleculelor de ARN necodante cu rol reglator (microARN, siARN) [60].

Utilizarea tehnologiilor moderne a permis de a elucidă rolul modificărilor post-transcripționale ale moleculei de ARNm în reglarea expresiei genelor și de a studia în detaliu mecanismele ce implică participarea moleculei de ARNm în rețeaua complexă de evenimente legate de formarea și dezvoltarea embrionului.

Particularitățile reglării post-transcripționale a expresiei genelor în embriogeneză.

Reglarea post-transcripțională, de rând cu reglarea transcripțională și factorii epigenetici, are un rol nu mai puțin important în expresia genelor în special în embriogeneză, deoarece determină și controlează unde și când se va transla molecula de ARNm în proteine [40]. De fapt toate evenimentele ce au loc la etapa post-transcripțională se înscriu în șirul logic (conform dogmei biologiei moleculare) de

transmitere a informației genetice de la origini (molecula de ADN) până la produsul final (proteina). În biologia moleculară a dezvoltării această ordine de evenimente are o semnificație deosebită în constituirea și dezvoltarea organismului nou, deoarece anume gradientii moleculelor de ARNm formează ulterior gradientii proteinelor care și stabilesc tipurile și diversitatea de celule, ce se formează în ontogeneză.

Reglarea transcripțională a expresiei genelor se realizează în două etape:

Reglarea co-transcripțională, ce include procesing-ul ARN (splicing-ul, 5'-capping-ul, 3'-poliadenilarea).

Reglarea post-transcripțională, ce constă din mai multe etape/mecanisme după cum urmează: exportul ARN din nucleu; localizarea ARN; modificări ale moleculelor de ARNm (decapping-ul, deadenilarea, poliadenilarea citoplasmatică); degradarea ARN; translația ARN; modificări post-translatorii ale proteinelor; degradarea proteinelor.

Reglarea co-transcripțională. Procesing-ul ARN nuclear. Mecanismele procesing-ului ARN nuclear sau a preARNm (splicing-ul, 5'-capping-ul, 3'-poliadenilarea) sunt detaliat descrise în literatura de specialitate, la fel ca și semnificația lor în reglarea expresiei genelor. În lucrare nu vom descrie în detaliu aceste procese, întrucât în viziunea noastră, în embriogeneză, prezintă interes mecanismele ce se implică în modificările post-transcripționale ce au loc în citoplasmă. Vom menționa că **adăugarea structurii cap (bonetei) la capătul 5'** al moleculei de ARN (*5' capping*) și metilarea nucleotidelor respective sunt procese esențiale pentru a marca moleculele de ARN proprii organismului și de a evita astfel distrugerea lor în răspunsul imun față de ARN-ul străin [44]. Adăugarea cozii poliadenilice (poli (A)) **sau 3'-poliadenilarea** are semnificație pentru exportul ARNm din nucleu, pentru procesul de translație, și pentru stabilitatea moleculelor de ARNm [19]. **Splincing-ul (eliminarea intronilor și alipirea exonilor)** este necesar pentru a asigura continuitatea genelor, și respectiv, a informației din molecula de ADN, care codifică structura proteinelor [40]. În biologia dezvoltării individuale mai mult prezintă interes mecanismul splincing-ului alternativ al ARN, descris pentru prima dată în anul 1977 [4, 11]. Splincing-ul alternativ al ARN este un mecanism, care duce la formarea diferitor molecule de ARNm și sinteza diverselor tipuri de proteine dintr-o singură genă, atunci, când diferite combinații de introni și, uneori exoni, sunt eliminate în timpul modificării post-transcripționale a moleculei de preARNm. Aceasta permite ca dintr-o singură matrice informativă (gena) să se formeze mai multe produse – ARNm și respectiv proteine. Proteinele sintetizate ca consecință a splincing-ului alternativ vor conține diferită componență și consecutivitate aminoacidică și, corespunzător, vor avea diverse funcții.

În embriogeneză, splincing-ul alternativ are o importanță deosebită, deoarece reprezintă o modalitate de a sintetiza diverse proteine în diferite celule, la diferite etape de dezvoltare, deschizând posibilități de adaptare la noile funcții în concordanță cu condițiile de existență. Remarcabil este faptul, că proteina originală nu se pierde. Duplicarea genelor, prin mecanismul de splincing alternativ, a jucat un rol important în evoluția noilor funcții, oferind gene care pot evolua fără a elimina proteina funcțională originală. Splincing-ul alternativ reprezintă un mecanism răspândit de reglare a expresiei genelor la eucariote. S-a stabilit, că aproximativ 70 % din gene la om sunt exprimate prin procesul de translație sub formă de proteine multiple, datorită splincing-ului alternativ [1, 47, 61].

Reglarea post-transcripțională se referă la toate evenimentele legate de soarta ARNm după transcripție și procesing și anume: exportul ARNm din nucleu, transportul, localizarea moleculei de ARNm în citoplasmă, modificările citoplasmice ale moleculei de ARNm și participarea acesteia în procesul de biosinteză a proteinelor.

Semnificația regiunii netranslate 3' UTR. Soarta moleculei de ARNm depinde de mulți factori citoplasmatici, însă, studiile recente în domeniu au elucidat rolul determinant al regiunii 3' UTR netranslate din structura moleculei de ARNm în modificările după etapa de transcripție. Regiunea 3' UTR conține diferite elemente *cis*, asociate cu reglarea post-transcripțională și translațională a expresiei genice, ce prezintă locuri de legare pentru proteinele specifice (RBP – ribonucleid binding proteins) și pentru molecule de ARN mici.

Secvența 3' UTR și factorii ce interacționează cu ea determină stabilitatea moleculelor de ARNm, localizarea subcelulară a lor și activitatea translațională. S-a stabilit, că modificarea lungimii secvenței 3' UTR în care se conțin elementele *cis* de reglare este crucială pe parcursul ontogenezei. Acest mecanism de modificare a lungimii secvenței 3' UTR este utilizat frecvent în strategiile de dezvoltare individuală [27, 28].

S-a stabilit, că în ontogeneza la șoareci, moleculele de ARNm cu secvențe 3' UTR scurte sunt mai frecvent direcționate către degradare. În alte cazuri, unele molecule de ARNm cu secvență 3' UTR scurtă sunt mai stabile [21, 37, 64].

Exportul ARNm din nucleu. Controlul precis și dinamic al expresiei genice este esențial pentru a răspunde la necesitățile celulare, stimulii de mediu și pentru a regla în mod corespunzător proliferarea și creșterea celulelor. Expresia genică poate fi controlată nu numai la nivelurile de transcripție și translație, ci și prin controlul exportului nuclear-citoplasmatic al moleculei de ARNm.

Diferite complexe proteină-ARNm specifice (**RNP**) pot fi exportate în mod diferențiat, ceea ce influențează procesul de translație și respectiv biosinteza proteinelor și statutul proteomic al celulei. Această specificitate de transport al ARNm este preponderent bazată pe prezența unor elemente din regiunea netranslată (3' UTR) din structura lor. Aceste elemente acționează ca coduri „USER” ce permit exportul coordonat al transcriptelor (ARNm) similare după funcție sau conținut/structură [15].

Calea de transport a ARNm începe de la complexul transcripțional sub formă de preARNm (ARN nuclear). De menționat, că concomitent cu transcripția, preARNm suferă procesing-ul: adăugarea bonetei cap 5', a cozii poliadenilice la capătul 3' și splincing-ul, care determină diferența ARNm de alte tipuri de ARN și sporesc stabilitatea lui, succesul exportului din nucleu și, în final, eficiența procesului de translație pe ribozomi. În timpul procesing-ului, ARNm se leagă de cofactori proteici particulari – **proteine-adaptor** (specifci pentru ARNm), formând particule ribonucleice (**RNPm**) de export.

Drept proteine-adaptor, ce se leagă de ARNm (mai degrabă de preARNm) au fost descriși următorii factori:

- complexul de export (TREX), care la rândul său este format din complexul THO (Thoc1/hHpr1, Thoc2, Thoc3/hTEX1, Thoc5/FMIP, Thoc6 și Thoc7) și
- proteinele UAP56, ALY/REF și CIP29 [42].

Complexul THO se leagă (ATP dependent) cu ARN helicaza, precum și cu proteinele-adaptor – UAP56, ALY/REF și CIP29 [10, 34, 42]. Capacitatea acestor factori-adaptori de a se asocia în complexul RNPm de export depinde direct de procesing-ul corect al ARNm, inducând dependența dintre processing-ul ARNm și exportul său. La rândul său, adăugarea adaptorilor la pre-ARNm influențează procesing-ul corect al acestora. ARNm matur este direcționat spre exportul său din nucleu în citoplasmă prin porii membranei nucleare (complexul porilor nucleari – CPN). Pentru a traversa membrana nucleară ARNm, sub formă de RNP, se asociază cu proteinele de transport [10, 34, 42].

Cei mai răspândiți transportori pentru exportul ARNm din nucleu sunt factorii proteici: NXF1 (cunoscută și sub denumirea de TAP) și CRM1. Pentru a spori afinitatea de legare cu ARNm țintă atât NXF1(TAP), cât și CRM1 utilizează proteinele-adaptor menționate mai sus [10, 34, 42, 58]. NXF1 (TAP) se asociază cu proteinele-cofactori REF/ALY și proteinele complexului THO pentru a se lega cu precizie de ARNm țintă.

Asocierea RNPm matur cu NXF1 (TAP) permite fixarea acestuia de nucleoporinele porului nuclear – TPR, Nup153, Nup98 și Rae1 și translocarea complexului RNP de export prin canalul central al nucleului [24]. Proteina de transport NXF1(TAP) are domenii specifice pentru legarea moleculei de ARNm și pentru legarea cu nucleoporinele porului nuclear. NXF1(TAP) cu domeniul/motivul de recunoaștere al ARNm – RRM se leagă nespecific de ARNm, iar afinitatea acestei asocieri sporește în prezența proteinelor-adaptor, cum ar fi ALY/REF. Pe lângă acest domeniu în structura NXF1(TAP), a fost evidențiat un domeniu repetitiv bogat în leucină (LRR) și două domenii, ce interacționează cu nucleoporinele porului nuclear ce contribuie la trecerea complexului de export prin membrana nucleară [10, 15, 34, 42, 58]. La ieșirea din canalul central pe partea citoplasmatică, ARNm se asociază cu fibrilele citoplasmice ale porului nucleului, iar „însoțitorii” ARNm (proteinele-adaptor și de transport) se eliberează în citoplasmă, după ce urmează reciclarea lor din nou în nucleu. Acest proces are impact asupra eficienței exportului de ARNm [15]. Schematic mecanismul de export al ARNm din nucleu este reprezentat în figura 1. Etapele procesing-ului preARNm: adăugarea bonetei 7-metil guanozină la capătul 5' (1); splicing-ul (excizia intronilor și alipirea exonilor) (2); adăugarea cozii poliadenilice la capătul 3' (3). Toate etapele procesing-ului sunt însoțite de alipirea la ARNm a proteinelor-adaptor. După procesing, ARNm este considerat a fi matur (RNPm) și poate fi exportat din nucleu. NXF1 (TAP) în calitate de proteină de transport pentru ARNm în combinație cu factorul de transport – Nxt1 se asociază de complexul RNPm (ce conține ARNm) (4). În continuare, complexul RNPm ajunge la complexul porilor nucleari (5), unde NXF1 interacționează cu TPR (regiunea promotorului de translocare a porului nuclear) pentru a lega RNPm de porul nuclear (6). Interacțiunea cu TPR va iniția translocarea RNPm prin canalul nuclear (7); interconexiunea RNPm cu fibrilele citoplasmice ale NPC (compusă din RANBP2) și cofactorii cheie (Gle1 și DDX19) vor elibera ARNm în citoplasmă (8) [15]. După ce sunt eliberate în citoplasmă, moleculele de ARNm sunt direcționate către diferite compartimente celulare pentru sinteza proteinelor, în funcție de cerințele celulei, precum și de semnalele externe.

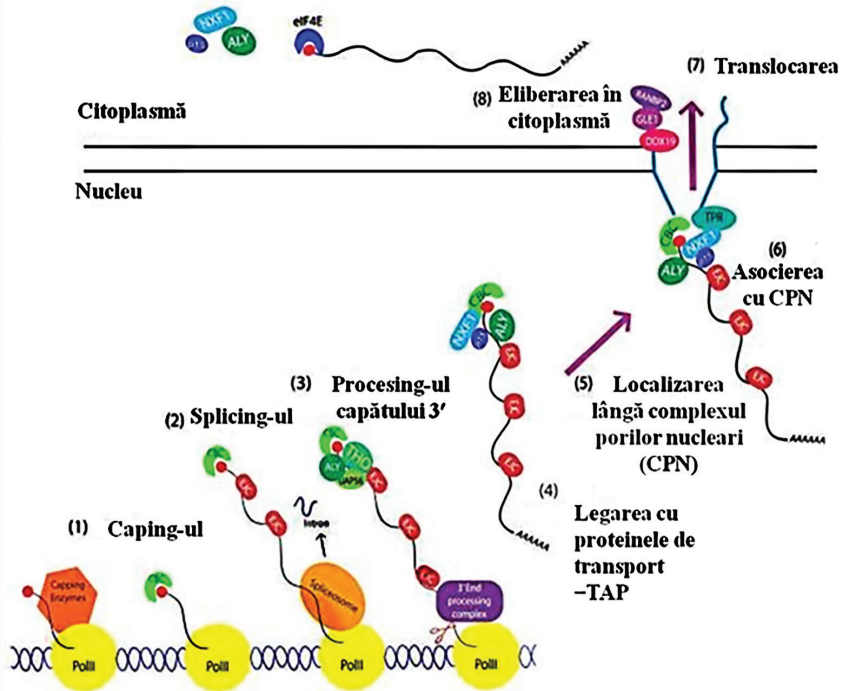


Figura 1. Reprezentarea schematică a mecanismului de export al ARNm din nucleu în citoplasmă.

Mecanismele de localizare a ARNm în citoplasmă. Distribuția asimetrică a moleculelor de ARNm de la locul de transcripție a acestora în diferite compartimente citoplasmaticale ale celulei, reprezintă un aspect important al reglării post-transcripționale a expresiei genice. Aceasta implică interacțiunea elementelor *cis*-reglatoare intrinseci din moleculele ARN cu factorii (proteinele) de *trans*-acțiune (asemănători factorilor de transcripție), ce se leagă de moleculele de ARNm. Aceste interacțiuni dictează calea de localizare intracelulară a ARNm și destinul intracelular sau extracelular al moleculelor de ARNm, proces ce are o importanță majoră în fiziologia celulară, în special, în procesele de dezvoltare [3].

A fost demonstrat rolul excepțional al mecanismului de localizare a ARNm în procesele de: migrare celulară, determinare celulară, specificare a axului embrionar [36].

Astfel, mecanismul de localizare intracitoplasmatică a ARNm constă din următoarele etape:

1. ARNm trebuie să conțină secvența *cis*-reglatoare – **zipcod**, care direcționează ARNm către destinația sa specifică în celulă;
2. Zipcodul trebuie să fie recunoscut de proteinele de legare a ARNm (RBP), care unesc ARNm la complexul corespunzător de transport;
3. Complexul ARNm și proteinele de legare a ARNm sunt transportate la destinație fie prin difuziune (în cazul, când particulele sunt mici), însă cel mai frecvent printr-un transport activ de-a lungul citoscheletului;
4. ARNm este fixat la locul final de destinație cu participarea unor cofactori proteici speciali.

Astfel, prima etapă a procesului de localizare citoplasmatică a ARNm este determinată de secvențele *cis*-reglatoare din molecula de ARNm – secvența **zipcod**. Această secvență, care de regulă este identificată în regiunea 3' UTR, reprezintă emițător de semnale, ce direcționează ARNm la locul său specific din celulă: într-un fel acționează asemănător unui GPS, ce construiește traseul spre punctul de sosire. Zipcodul, însă, poate fi și în regiunea 5' UTR, precum și în alte regiuni ale moleculei de ARNm. Prin analogie secvența **zipcod** din molecula de ARNm este asemănătoare regiunii promotor în structura genei la ADN și cuprinde de la câteva zeci, până la sute de nucleotide [5] ce pot să difere prin structura secundară sau terțiară a ARNm (au diferite motive/domenii) [53].

Totodată, aceste elemente *cis* sunt recunoscute de factorii de *trans*-acțiune care facilitează legarea lor de ARNm. Factorii de *trans*-acțiune de regulă sunt proteine (proteine de legare a ARN – RBP) și molecule mici de ARN reglatori necodanți (ARNnc) care acționează ca cofactori de legare a transcriptelor [33].

Legarea factorilor de *trans*-acțiune (proteinele RBP) influențează „împachetarea” moleculei de ARNm într-o configurație spațială specială (distinctivă) ce favorizează asocierea altor cofactori – proteine auxiliare. Ca rezultat se formează o particulă ribonucleică de transport (**RNP**) [33, 53].

De fapt, în citoplasmă are loc formarea sau reformarea unui nou complex RNP de transport (asemănător complexului de export al ARNm din nucleu) și acest complex se numește *RNP de localizare*, similar cu denumirea complexului *RNP de export*. RNP exportat din nucleu poate fi remodelat prin eliberarea și alipirea de noi componente și nu întotdeauna disociază completamente de cofactorii proteici (adaptorii) din nucleu.

Factorii de *trans*-acțiune (RBP) cooperează cu molecula de ARNm în recunoașterea și asocierea cu alte structuri sau co-factori – molecule-adaptor, ce vor contribui la localizarea ARNm în regiunea specifică din citoplasmă.

Printre modalitățile de localizare ale ARNm în diferite compartimente subcelulare se numără:

- difuzia, în cazul, când RNP sunt mici;
- transportul activ direcționat de rețeaua citoscheletului;
- localizarea prin degradarea generală și stabilitate proteică locală;
- transportul vectorial din nucleu către locul țintă în celulă.

Cel mai frecvent, pentru localizarea ARNm, se utilizează modelul de transport activ cu participarea elementelor citoscheletului ce prevede utilizarea în acest scop a unor „motoare moleculare” (*molecular motors*) care împreună cu proteinele-adaptor vor propulsa molecula de ARNm la locul său în citoplasmă [33].

Au fost descrise două clase de rețele citoscheletice care participă în localizarea ARNm-ului:

- microfilamentele de actină;
- microtubulii.

Microfilamentele de actină sunt implicate în transportul la distanțe scurte, iar microtubulii – la distanțe lungi [51].

În fiecare caz sunt utilizate o varietate de molecule care funcționează ca „motoare moleculare” și, împreună cu RBP, asigură transportul ARNm de-a lungul rețelelor citoscheletului [51].

Sunt cunoscute trei familii de „motoare moleculare” – miozina, kinesina și dineina (dynein) care transportă ARNm în citoplasmă [53].

Aceste molecule sunt responsabile pentru localizarea moleculei de ARNm în domenii subcelulare definite. De exemplu, kinesinele participă la reglarea transportului ARNm către compartimentele axonale în neuroni [53].

Moleculele de kinesină și dineină direcționează calea pe microtubuli, iar moleculele de miozină – pe microfilamente.

Împreună, moleculele de ARNm, proteinele de legare a ARNm (RBP) care formează particulele RNP, cofactorii proteici auxiliari și elementele citoscheletului constituie complexul de transport pentru localizarea ARNm.

Ajuns la destinație, ARNm se fixează de regiunea specifică cu ajutorul moleculelor de ancoră, care pot fi proteine sau alt tip de ARN (de regulă ARN necodant – ARNnc). Specificitatea localizării este de obicei conferită de moleculele cu funcții motorii în asociere cu RBP și proteinele adaptoare [53].

Pe modelul de dezvoltare embrionară la *Drosophila* a fost relevat modul în care are loc localizarea ARNm în diferite regiuni ale ovulului. Astfel, moleculele de ARNm cu elemente zipcod individuale în regiunea 3' UTR, inclusiv ARNm *nanos*, *bicoid* și *oskar*, contribuie la formarea axei antero-posterioare.

În cazul ARNm *bicoid*, zipcodul este un fragment din 437 de nucleotide din regiunea 3' UTR, ce conține 5 motive „stem loops – bucle stem”, care determină localizarea acestui ARNm în partea anterioară a ovulului/embrionului. Această localizare are loc prin alipirea proteinelor de legare ESCRTII la zipcodul ARNm *bicoid* din regiunea 3' UTR, ceea ce declanșează transportul dependent de microtubuli. Apoi ARNm *bicoid* se fixează la polul anterior cu ajutorul proteinelor RBP Staufen (proteine de ancoră) ce se leagă de bucla III, IV și V din regiunea 3' UTR, adică din zipcod [7].

În mod asemănător, după modelul descris mai sus, are loc direcționarea localizării moleculelor de ARNm cu diverse roluri fiziologice și în dezvoltare [7].

Pentru a menține o concentrație constantă de ARNm într-un domeniu subcelular, localizarea acestuia trebuie să se bazeze preponderent pe diverse mecanisme de fixare, în schimbul transportului activ continuu. Totodată, modelele de localizare ARN sunt adesea dinamice și sunt supuse reorganizării ca răspuns la semnalele celulare sau ale celor legate de procesele de dezvoltare.

Modificările ARNm în citoplasmă. Recapping-ul citoplasmatic. Boneta-cap – N7-metilguanozină este un semn distinctiv al capătului 5' al ARNm al eucariotelor și este necesar pentru expresia adecvată a genelor. Se credea, că tăierea acestei „bonete” duce ireversibil la degradarea ARNm și, că aceste structuri pot fi alipite doar în timpul procesing-ului preARNm în nucleu [40].

Cu toate acestea, recent, s-a descoperit că în celule se conțin enzime citoplasmatică capabile să restabilească „bonetele” pe moleculele de ARNm lipsite de aceste structuri și s-a descris un mecanism ciclic de restabilire a acestei structuri de protecție, ce contribuie la menținerea unor ARNm în stare translațională activă.

Decaping-ul (decăpăcirea) și recaping-ul (recăpăcirea) ciclic sau „homeostazia bonetei-cap” este propusă ca o modalitate, prin care celulele pot controla temporal producția de proteine pentru anumite gene. Recaping-ul citoplasmatic al moleculelor de ARNm, la care lipsesc „bonetele” de la capătul 5', contribuie la o diversitate în

populația de ARNm prezente în celulă și poate duce la sinteza de proteine mici cu funcții diversificate (modificate) implicate în: legarea nucleotidelor, localizarea proteinelor, localizarea ARN-ului și în ciclul celular mitotic [57].

Recaping-ul citoplasmatic a fost documentat la *Drosophila* și la tripanozomi, precum și în celulele unor specii de mamifere, evidențiind întrebări importante privind evoluția acestui proces de reglare a genelor. Enzima ce catalizează adăugarea structurii cap (bonetă) la capătul 5' conține două domenii funcționale:

- un domeniu N-terminal cu activitate trifosfatazică;
- un domeniu C-terminal cu activitate guaniltransferazică.

În caping-ul nuclear, domeniul trifosfatazic transformă ARNm 5'-trifosfat în ARNm 5'-difosfat, iar domeniul guaniltransferazic transferă GMP legat covalent. Grupele metil sunt apoi adăugate prin acțiunea enzimei metiltransferazei [41, 57].

În recaping-ul citoplasmatic, ARNm-ul 5'-monofosfat este transformat în ARNm 5'-difosfat de o kinază care este prezentă într-un complex de 140 kDa cu enzima ce catalizează alipirea bonetei-cap. Aceasta din urmă transferă GMP legat covalent pe ARNm 5'-difosfat. Întreruperea acestui proces coincide cu capacitatea celulelor de a se recupera după stres, ceea ce sugerează că celulele ce conțin molecule de ARNm fără structura cap 5', pot fi reactivate prin recaping-ul citoplasmatic [41].

La organisme parazite – tripanozomi s-a stabilit că activitatea enzimei 5' ARN-kinaza, ce catalizează caping-ul, este dependentă de o secvență lider din structura ARNm și este stimulată prin hipermetilarea bonetei-cap a transcriptului. De asemenea, a fost identificată o enzimă ce efectuează decaping-ul, însă activitatea acestei enzime este joasă în cazul, când boneta-cap este hipermetilată. Aceste rezultate sugerează, că gradul de metilare a structurii de la capătul 5' al ARNm, adică a bonetei-cap, poate influența decaping-ul și recaping-ul preferențial al anumitor transcripte (ARNm) pe parcursul vieții tripanozomilor [57]. Se presupune că recaping-ul citoplasmatic este un proces selectiv post-transcripțional care funcționează ca un mecanism de diversificare a moleculelor de ARNm și proteine.

Poliadenilarea citoplasmatică. Alungirea cozii poli (A) a moleculelor de ARNm specifice în citoplasmă reprezintă o etapă crucială de reglare în ovogeneză și dezvoltarea timpurie la multe specii de animale [8].

S-a stabilit, că în embrionul timpuriu la șoareci poliadenilarea citoplasmică a ARNm matern din ovul permite celulei să supraviețuiască și să crească, chiar dacă procesul de transcripție propriu al zigotului se declanșează la mijlocul stadiului „2 celule” (stadiul „4 celule” la om) [48].

De regulă, maturizarea ovocitelor și dezvoltarea embrionară timpurie în multe organisme sunt procese, ce nu manifestă activitate transcripțională. O activitate transcripțională înaltă se atestă la etapa de creștere a ovogenezei.

Procesele de dezvoltare în embriogeneza timpurie, imediat după fecundare, depind în mare măsură de translația diferențiată a ARNm matern, iar poliadenilarea citoplasmatică este factorul cheie al acestui mecanism de control: *scurtarea cozilor poli (A) corelează cu inhibarea translației, în timp ce alungirea cozilor poli (A) – activează translația* [50, 62]. Astfel, coada poliadenilică (poli (A)) are semnificație pentru mecanismele de reglare post-transcripțională și translațională în citoplasmă. Poliadenilarea citoplasmatică intensă se observă după 2 ore de la fecundare. La C.

elegans pe parcursul dezvoltării (ontogenezei) se observă modificarea lungimii cozii poli (A). În ovocitele de *Xenopus*, ARNm este în stare de „tăcere translațională”, când are coada poli (A) scurtă. ARNm devine activ d.p.v.d. translațional numai după alungirea cozii poli (A). Coada poadenilică mai lungă întotdeauna corelează cu procesul de translație, în special, în perioada de până la etapa de gastrulație (dar nu după) [49].

Poliadenilarea citoplasmatică este diferită de poliadenilarea nucleară: poliadenilarea citoplasmatică are loc în citoplasmă în moleculele de ARNm specifice, pe când cea nucleară are loc în nucleu și este caracteristică pentru majoritatea ARNm al eucariotelor.

Mecanismul de poliadenilare, inclusiv și cel de poliadenilare citoplasmatică se bazează pe interacțiunea elementelor *cis*-reglatoare din structura ARNm cu factorii de *trans*-acțiune (proteine specifice de legare a ARNm-ului prin elementele *cis*) [6, 8]. Elementele *cis*-reglatoare ale ARNm, implicate în mecanismul de poliadenilare citoplasmatică au fost identificate în regiunea 3' netranslată (3' UTR). Au fost descrise două secvențe cu rol determinant în efectuarea poliadenilării:

- secvența hexanucleotidică de poliadenilare, ce se implică preponderant în poliadenilarea nucleară, cu componența/structura – A (A / U) UAAA;
- elementul de poliadenilare citoplasmatică (CPE), bogat în U: cea mai răspândită componență nucleotidică, fiind UUUUUAU, deși, sunt documentate și alte variații.

În literatura de specialitate se descrie, că elementul CPE are cea mai mare implicație în procesul de poliadenilare citoplasmatică. S-a stabilit, că elementul CPE are semnificație în procesul de ovogeneză, spermatogeneză, mitoză și de formare a sinapselor noi. Pentru prima dată funcțiile elementului CPE au fost caracterizate în ovulele și embrionii de *Xenopus*, însă, cercetările recente au relevat o acțiune asemănătoare a CPE în celulele somatice. În embrionii diferitor specii au fost descrise și variații ale CPE – eCPE și C-CPE, ce diferă după componența nucleotidică. Elementele *cis*-reglatoare descrise influențează poliadenilarea prin interacțiunea cu factorii de *trans*-acțiune proprii [6, 8].

Astfel, secvența hexanucleotidică este recunoscută de complexul multisubunitar CPSF (*cleavage and polyadenylation specificity factor*), iar CPE – de CPEB (*CPE binding protein*) [6, 8]. CPEB este o proteină cu funcție dublă ce acționează ca o punte de legătură dintre inhibarea și activarea translației. În ovocitele imature, CPEB inhibă translația prin alipirea unor factori ce blochează funcțional cele două capete ale moleculei de ARNm. Totodată, CPEB adăunează factorul Maskin care la rândul său blochează factorii implicați în procesul de inițiere a translației – eIF4E și eIF4G [38]. Pe de altă parte, CPEB interacționează cu enzima deadenilaza PARN care menține scurtă sau scurtează coada poli (A) [32]. După fecundare, când în ovul se atestă maturizarea meiotică, CPEB este fosforilat și decuplat de către deadenilaza PARN. Ulterior CPEB interacționează cu CPSF, împreună aceste proteine leagă și activează poli (A) polimeraza citoplasmatică (poliadenilaza citoplasmatică), ceea ce induce alungirea cozii poli (A) și activarea translației [2].

Distanța dintre elementele *cis*-reglatoare – CPE și secvența hexanucleotidică – dictează timpul și gradul de poliadenilare [43], adică distanța dintre aceste secvențe reprezintă semnale ce induc poliadenilarea.

Mecanismul de alungire a cozii poli (A) în linii generale poate fi descris în felul următor:

1. Asocierea proteinei de legare a CPE (CPEB) de elementul CPE din regiunea 3' UTR netranslată, proces ce are loc după exportul ARNm din nucleu;

2. Alungirea cozii poli (A) cu ajutorul enzimei poli (A) polimerazei citoplasmice și activarea ARNm pentru biosinteza proteinelor;

3. Cozile poli (A) sunt extinse cu circa 40-150 de nucleotide.

Coadă poli (A) mai lungă „alipește” mai multe proteine citoplasmice de legare a poliadeninei (PABP) care la rândul său interacționează cu alte proteine citoplasmice ce facilitează legarea ARNm cu ribozomii.

Poliadenilarea alternativă – APA. Poliadenilarea alternativă se referă la procesul, care prin scindare sau poliadenilare generează mai multe isoforme (forme) de ARNm ce diferă prin regiunea 3' UTR. Uneori APA implică modificări ale intronilor și exonilor (modificări în regiunea codificatoare a genei). De aceea, în literatura de specialitate APA este divizată în APA dependentă de regiunea 3' UTR (APA-UTR) și APA dependentă de regiunea codantă – exoni și introni (APA-CR) [45].

Astfel, prin mecanismul de poliadenilare alternativă (APA) dintr-o singură moleculă originală de ARNm (transcriptul original al genei) se pot forma mai multe copii-izoforme ce diferă prin: a) secvența reglatoare – 3' UTR; sau b) secvența codificatoare [16].

Adică, prin poliadenilare alternativă se pot forma:

- ARNm cu secvențe reglatoare 3' UTR scurte sau lungi, fapt, ce influențează stabilitatea moleculei de ARNm și soarta de mai departe a acesteia;

- diferite isoforme de ARNm cu diferit conținut informațional (secvențe codificatoare), ceea ce va determina formarea diferitor tipuri de proteine.

Această posibilitate de a lungi sau de a scurta secvențele 3' UTR prin APA poate duce la includerea sau la excluderea diferitor tipuri de secvențe reglatoare în ARNm. Astfel, prin APA se pot forma diferite clase de transcripte (ARNm) cu diferit potențial reglator. De exemplu: ARNm cu secvențe lungi 3' UTR conțin elemente ce stabilizează ARNm. Poliadenilarea în amonte de regiunea 3' UTR duce la instabilitatea ARNm. În embriogeneza la șoareci în rezultatul APA se formează ARNm cu secvența 3' UTR lungă [27, 46].

APA, de asemenea, poate scurta regiunea codificatoare din ARNm, cauzând ca unul și același ARNm să codifice diferite proteine.

Poliadenilarea alternativă contribuie la complexitatea transferului de informație din genom în fenotip, amplificând astfel funcția genelor. Rețeaua complexă de APA are un rol central în: coordonarea trecerii de la genomul matern la cel zigotic – tranziția maternal-zigotică (MZT) în embrioni; manifestarea dimorfismului sexual și în creșterea longitudinală în ontogeneza [65].

APA coordonează reprogramarea în embrioni atât înainte de MZT, cât și după prin activarea genomului zigotic. A fost stabilită o diversitate mai mare de ARNm ce s-a format în rezultatul APA la indivizii tineri comparativ cu cei adulți și la masculi în comparație cu femele [65].

APA cauzează specificitatea tisulară, fiind implicată în localizarea ARNm în ovule și embrion.

Deadenilarea. Concomitent cu poliadenilarea în citoplasmă se constată și procesul de deadenilare, catalizat de enzimele deadenilaze. De regulă deadenilarea corelează cu inhibarea translației.

În celulele somatice ale eucariotelor, cozile poli (A) ale majorității moleculelor de ARNm din citoplasmă devin treptat mai scurte, iar ARNm cu coadă poli (A) mai scurtă este implicat mai puțin în procesul de translație și degradează mai devreme. Cu toate acestea, timpul până când ARNm va degrada poate dura câteva ore. Acest proces de deadenilare și degradare poate fi accelerat de microARN complementare regiunii 5' UTR netranslate din molecula de ARNm [35].

În ovocitele imature, moleculele de ARNm cu cozi poli (A) scurte nu sunt degradate, ci sunt păstrate inactiv d.p.d.v. translațional. Aceste ARNm cu coadă scurtă sunt activate prin poliadenilare citoplasmică după fecundare, în timpul activării ovulului [13]. La animale poli (A)-ribonucleaza (PARN) sau deadenilat-nucleaza (DAN) se poate lega de capătul de 5' al ARNm și poate elimina nucleotidele de pe coada poli (A). Gradul de acces la capătul 5' și coada poli (A), în acest sens, denotă despre faptul cât de repede va degrada molecula de ARNm.

PARN/DAN are o acțiune mai mică de deadenilare în cazul, când ARNm-ul este legat de factorii de inițiere ai translării eIF4E (la capătul 5') și eIF4G (la coada poli (A)), fapt ce relevă că procesul de translație reduce gradul de deadenilare. Rata de deadenilare poate fi, de asemenea, reglată de proteine care leagă ARNm. Odată ce coada poli (A) este îndepărtată, complexul decapitare îndepărtează boneta-cap de la capătul 5', ceea ce duce la degradarea ARNm-ului. Sunt descrise mai multe tipuri de proteine care participă în procesul de deadenilare [63].

Degradarea moleculei de ARNm. Toate etapele de modificare a ARNm în celulă (procesing-ul, exportul, localizarea) sunt esențiale în aspectul reglării expresiei genelor. În acest sens, degradarea ARNm, de asemenea, se înscrie în șirul de evenimente reglatoare și poate fi modulată prin acțiunea factorilor externi, a semnalelor induse de dezvoltare și metabolism.

De ce prezintă interes procesul de degradare a ARNm într-o celulă? În primul rând, degradarea moleculei de ARNm are o funcție de „curățare” și înlătură efectiv moleculele de ARNm care rezultă din așa numitele „accidente” ale transcripției, splincing-ului, exportului sau translației pentru a asigura o expresie corectă a genelor. În al doilea rând, în timp ce reglarea expresiei genice preponderent se efectuează la nivel de transcripție, ARNm trebuie transformat rapid pentru a face față modificărilor rapide în compoziția transcriptomului. Destabilizarea coordonată a unei întregi clase de ARNm poate promova schimbări majore într-o celulă. În al treilea rând, mecanismele specifice de degradare a ARNm pot contribui la reglarea expresiei genelor prin controlul feed-back [17].

Acest mecanism de reglare a expresiei genelor prezintă semnificație pentru proteinele, care sunt active pe o perioadă scurtă de timp, cum ar fi factorii de creștere, factorii transcripționali și proteinele ce controlează ciclul celular [56].

Sunt cunoscute trei clase de enzime intracelulare, ce scindează ARNm (ribonucleaze sau Rnaze): endonucleaze, ce scindează ARN în interiorul moleculei; 5' exonucleaze, ce hidrolizează ARN de la capătul 5'; exonucleaze, ce degradează ARN de la capătul 3' [22].

S-a stabilit, că la eucariote, există două căi majore de degradare a ARNm și ambele căi sunt inițiate prin scurtarea cozii poli (A).

➤ În calea 5' până la 3' are loc „decapitarea” care permite apoi degradarea exonucleolitică a capetelor 5' și 3' ale transcriptelor.

➤ În calea 3' până la 5' degradarea depinde de un complex multiproteic mare numit **exozom**.

Complexul exozomal este prezent în citoplasmă, nucleu și, în special, în nucleol. Diferite proteine interacționează cu complexul exozomal în aceste compartimente, reglând activitatea de degradare până la substraturile (componentele) specifice acestor structuri celulare. Substraturi ale exozomului pot fi: ARNm, ARN ribozomal și multe specii de ARN-uri mici. Exozomul are o funcție exoribonucleolitică, ceea ce înseamnă că degradează ARN, începând de la un capăt (capătul 3' în acest caz) și o funcție endonucleazică, ceea ce înseamnă că scindează ARN în diferite locuri în interiorul moleculei [26].

Date recente din literatura de specialitate au stabilit, că exozomul poate conține și proteine de semnalizare, inclusiv liganzii receptorilor Notch, proteinele secretorii din familia Hedgehog și WNT, cu rol în semnalizarea și comunicarea intercelulară, esențială în procesele de dezvoltare [26].

Particularitățile post-transcripționale de reglare a expresiei genelor la nivel de translație.

Reglarea translației se referă la controlul nivelurilor (concentrației) de proteine sintetizate. Acest tip de reglare este extrem de important pentru răspunsul celular la stresori, stimulii de creștere și diferențiere [54].

În comparație cu reglarea transcripțională, reglarea translațională determină o ajustare celulară mult mai imediată prin controlul direct al concentrației proteinei. Mecanismele corespunzătoare sunt vizate, în principal, asupra controlului recrutării ribozomilor pe codonul de inițiere, dar pot implica, de asemenea, modularea alungirii peptidelor, terminarea sintezei proteice sau biogeneza ribozomului [40].

Controlul expresiei genice prin reglarea procesului de translație permite celulei să răspundă la stimuli de mediu mai repede, decât transcrierea *de novo* a ARNm. Se știe, că procesul de translație a ARNm transcrise în timpul ovogenezei timpurii este reprimat, pentru a permite acumularea moleculelor de ARNm, necesare ulterior pentru dezvoltarea embrionului. De asemenea, acumularea de ARNm în ovogeneză a determinat ca reglarea translațională să fie primordială în formarea gradientilor proteici și determinarea sorții celulare [25, 30].

Controlul spațial al procesului de translație poate produce o distribuție graduală a unei proteine specifice într-o singură celulă, generând asimetriile necesare pentru formarea modelului embrionului. Mai mult, controlul translației ARNm specifice în celulele individuale poate asigura că acestea își adoptă identitățile corecte la momentele corespunzătoare de dezvoltare. În principiu, translația poate fi reglată prin: modificarea vitezei de inițiere a translației; includerea ARNm în particule ribonucleoproteice mesager (RNPm), inaccesibile procesului de translație sau prin reglarea lungimii cozii poli (A) [14].

Modificările post-translaționale ale proteinelor. Modificarea post-translațională (MPT) se referă la modificarea covalentă și, în general, enzimatică a moleculelor proteice după biosinteza acestora.

În prezent sunt descrise circa 400 de tipuri de MPT [9, 31]. MPT influențează orișice aspect al biologiei celulare, fiind descrise circa 200 de funcții biologice ale acestora [59].

Modificările post-tranlaționale ale proteinelor contribuie la o diversitate funcțională a proteomului, prin adăugarea covalentă la molecula proteică de grupe funcționale și, chiar de noi proteine sau prin clivaj proteolitic al subunităților de reglare sau prin degradarea proteinelor întregi [20]. Prin adăugarea de noi grupe sau molecule funcționale sau prin modificări intramoleculare, molecula proteică capătă o structură mai complicată și respectiv funcții diferite, ceea ce-i permite să regleze cu precizie diverse mecanisme celulare și să influențeze aproape toate aspectele biologiei celulare normale. Cele mai frecvente modificări post-tranlaționale ale moleculelor proteice includ: fosforilarea, glicozilarea, ubiquitinarea, nitrosilarea, metilarea, acetilarea, lipidarea și proteoliza [20].

Fosforilarea este legată de multiple procese fiziologice și patologice, inclusiv transducția semnalului celular, activitatea nervoasă, contracția și proliferarea mușchilor, reglarea metabolismului, dezvoltarea și diferențierea celulelor [23].

Glicozilarea proteică are o importanță deosebită pentru multe procese celulare, precum imunoprotecția, replicarea virusului, creșterea celulelor și apariția inflamațiilor etc.

Ubiquitilarea are un rol esențial în funcțiile celulare, cum ar fi diferențierea celulară, apoptoza, reparația ADN, procesarea antigenului și răspunsul la stres.

Lipidarea este vitală pentru transducția semnalului.

Metilarea și acetilarea histonei sunt responsabile pentru reglarea transcripțională și a expresiei genelor.

Modificările post-tranlaționale *in vivo* nu au loc izolat, ci sunt într-o influență și cooperare reciprocă.

MPT ale proteinelor cel mai des se constată în radicalii laterali ai aminoacizilor din catena polipeptidică sau la nivelul legăturilor peptidice și sunt mediate de diverse enzime: kinaze, fosfataze, transferaze și ligaze, care adaugă sau elimină grupări funcționale în molecula proteică, precum și proteaze, care scindează legăturile peptidice pentru a elimina secvențe specifice sau subunități reglatoare. Multe proteine se pot modifica, de asemenea, folosind domenii autocatalitice, cum ar fi autokinaza și domeniile autoprotolitice. MPT pot fi reversibile, în funcție de natura modificării. Ca exemplu, fosfatazele hidrolizează gruparea fosfat pentru a o elimina din proteină și a modifica activitatea biologică a proteinei [23, 29].

S-a stabilit, că MPT sunt parte a sistemului celular de detecție și reacție la schimbările mediului extern și intern, deoarece, prin modificarea chimică a proteinelor, are loc adaptarea promptă la aceste schimbări. MPT sunt, într-un fel, etapa finală a expresiei genelor, având un rol cheie în multe procese celulare, cum ar fi diferențierea celulară, degradarea proteinelor, semnalizarea și procesele de reglare, reglarea expresiei genice și interacțiunea proteină-proteină [23].

Relevarea influenței modificărilor post-tranlaționale prezintă interes în dezvoltarea mecanismelor complexe ce operează în rețeaua proteomică a celulei și rolul acestora în dezvoltarea organismelor. Mecanismele de modificare post-tranlațională sunt în vizorul cercetărilor revoluționare de terapie proteică și elaborării produselor farmaceutice de generație nouă.

Degradarea proteinelor: Degradarea moleculelor materne (de origine din ovul) este un proces cu semnificație deosebită în embriogeneza timpurie. Totuși, marea

majoritate a studiilor abordează degradarea moleculelor de ARNm, pe când degradarea proteinelor este doar un proces ce urmează a fi elucidat.

Degradarea proteinelor materne pare a fi coordonată de reguli foarte stricte în ceea ce privește specificitatea și sincronizarea. Degradarea unor proteine materne este cu siguranță necesară pentru desfășurarea normală a activării genomului embrionar și a altor proteine concrete, ce trebuie degradate înainte ca expresia genomului embrionar să se declanșeze. Cu toate acestea, acest tip de reglare are cea mai mare importanță înainte de dezvoltarea preimplantară – în timpul maturării ovulului. Defectele apărute în această perioadă par a fi ulterior ireparabile [55].

Celulele degradează proteinele constitutive prin mecanisme multiple. În celulele eucariotelor au fost identificate două sisteme majore de degradare a proteinelor: autofagia lizozomală și sistemul ubiquitin-proteazomal.

Autofagia este un proces, în care componentele celulare sunt înglobate de o membrană intracelulară și apoi livrate spre lizozom pentru degradare de către proteazele lizozomale.

Rezultate recente au demonstrat că autofagia are un rol important în diverse procese fiziologice și fiziopatologice și este o reacție de răspuns la anumite condiții de stres [12]. Autofagia constă în mai multe etape secvențiale – selectarea și izolarea moleculelor țintă, transportul acestora către lizozomi, degradarea și utilizarea produselor de degradare, fiecare etapă exercitând funcții diferite [39].

Deși particularitățile generale ale autofagiei sunt cunoscute de peste 50 de ani, doar cercetările avansate recente au inițiat descifrarea mecanismelor moleculare ale autofagiei. Autofagia este un proces de autodegradare, care are importanță în procesele de păstrare a energiei în momentele cruciale ale dezvoltării și ca răspuns la stresul nutrițional. Autofagia joacă, de asemenea, un rol de „curățare” a proteinelor formate sau agregate greșit, a organelor deteriorate, cum ar fi mitocondriile, reticulul endoplasmatic și peroxizomii, precum și în eliminarea agenților patogeni intracelulari. Astfel, autofagia este în general considerată ca un mecanism de supraviețuire, deși dereglarea procesului de autofagie a fost asociată cu moartea celulelor ne-apoptotice [18]. Identificarea genelor legate de autofagie la drojdie în anii 1990 a permis cercetătorilor să deducă mecanismele autofagiei. În anul 2016 Premiul Nobel pentru Fiziologie sau Medicină, a fost acordat cercetătorul japonez *Yoshinori Ohsumi* pentru descrierea mecanismelor autofagiei și a genelor cu tangență la acest proces.

Sistemul ubiquitin-proteazomal reprezintă o altă cale de degradare a proteinelor intracelulare și se consideră a fi calea principală de degradare intracelulară a proteinelor [52]. Acest sistem sau complex prevede selectarea proteinelor pentru degradare prin modificarea covalentă a proteinelor țintă cu anumite proteine mici – ubiquitine. Acest proces de legare se aseamănă cu un proces selectiv de marcarea, în care rolul marcatorilor revine ubiquitinilor. Lanțul polubiquitinic este recunoscut în mod specific de un complex mare de proteaze – proteazomul 26S, care degradează proteina marcată de ubiquitină. Sistemul ubiquitin-proteazomal reprezintă calea preponderentă de degradare a proteinelor în celulele eucariotelor, care, totodată este extrem de selectivă pentru anumite proteine, în anumite condiții [12]. Baza moleculară și celulară, care explică degradarea selectivă a proteinelor de către sistemul ubiquitin-proteazomal este una dintre realizările majore ale biologiei moderne. Premiul Nobel pentru Chimie

din 2004 a fost acordat oamenilor de știință – Aaron Ciechanover, Avram Hershko și Irwin Rose pentru descoperirea mecanismului dependent de ubiuitină de degradare a proteinelor. Studiul mecanismului proteazomal și semnificația lui în biologia celulară a determinat elaborarea inhibitorilor proteazomului, mulți dintre care au găsit aplicație în farmacologie ca medicamente utilizate pentru tratarea anumitor forme de cancer.

Concluzii

Modificările post-transcripționale ale moleculei de ARNm (exportul din nucleu, localizarea intracelulară, procesing-ul citoplasmatic – recapingul poliadenilarea citoplasmatică) au semnificația în stabilirea gradientilor morfogenilor, care determină specificația și determinarea celulelor și ulterior dezvoltarea organismului.

Specificul modificărilor post-transcripționale este determinat de unele structuri și caracteristici intrinseci ale moleculei de ARNm. În acest aspect a fost relevat rolul regiunii 3' UTR netranslate din structura moleculei de ARNm în modificările după etapa de transcripție, în special în stabilitatea moleculelor de ARNm, localizarea subcelulară a lor și activitatea translațională. Elementele *cis* din secvența 3' UTR sunt unii din factorii cheie de reglare pe parcursul ontogenezei, iar mecanismul de modificare a lungimii secvenței 3' UTR este utilizat frecvent în strategiile de dezvoltare individuală.

Au fost descrise mecanismele de export și de localizare a ARNm, care au un rol important în procesele de migrare celulară, determinare celulară, specificare a axului embrionar.

Modificările citoplasmice ale moleculelor de ARNm (procesing-ul citoplasmatic – recaping-ul citoplasmatic, poliadenilarea citoplasmatică – reprezintă procese selective post-transcripționale, care funcționează ca mecanisme de diversificare a moleculelor de ARNm și proteine, ce asigură supraviețuirea embrionului timpuriu și succesul dezvoltării ulterioare.

Deadenilarea și degradarea moleculelor de ARNm sunt procese ce se înscriu în șirul de evenimente reglatoare, care pot fi modulate prin acțiunea factorilor externi, a semnalelor induse de dezvoltare și metabolism, asigurând expresia corectă a genelor.

Reglarea post-transcripțională a expresiei genelor la nivel de translație este extrem de importantă pentru răspunsul celular la stresori, stimulii de creștere și diferențiere, asigurând o ajustare celulară mult mai imediată prin controlul direct al concentrației proteinei. Aceasta permite celulei să reacționeze mai repede la stimuli de mediu, decât prin transcrierea *de novo* a ARNm.

Modificările post-translaționale ale proteinelor (adăugarea de noi grupe sau molecule funcționale sau prin modificări intramoleculare) reprezintă etapa finală a expresiei genelor și au rol cheie în multe procese legate de dezvoltarea organismului, datorită faptului că reglează cu precizie diverse mecanisme celulare și contribuie la adaptarea promptă a celulei/organismului la schimbările de mediu.

Lucrarea a fost efectuată în cadrul proiectului „Program de stat” (2020-2023) 20.80009.7007.25 „Metode și procedee de menținere și conservare a biodiversității în funcție de integritatea gametogenezei și variabilitatea alimentară”.

Bibliografie

1. Baralle F., Giudice J. Alternative splicing as a regulator of development and tissue identity. // Nat Rev Mol Cell Biol. 2017, 18, p. 437–451 <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.27>

2. *Barnard D.C., Ryan K., Manley J.L., Richter J.D.* Symplekin and xGLD-2 are required for CPEB-mediated cytoplasmic polyadenylation. // *Cell*. 2004, 119(5), p. 641-651. doi:10.1016/j.cell.2004.10.029.
3. *Bashirullah A., Cooperstock R.L., Lipshitz H.D.* RNA localization in development. // *Annual Review of Biochemistry*. 1998, 67, p. 335-394 <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.67.1.335>.
4. *Berget S.M., Moore C., Sharp P.A.* Spliced segments at the 5' terminus of adenovirus 2 late mRNA. // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1977, 74(8), p. 3171-3175. doi:10.1073/pnas.74.8.3171
5. *Blower M.D.* Molecular insights into intracellular RNA localization. // *Int Rev Cell Mol Biol*. 2013, 302, p. 1-39. doi:10.1016/B978-0-12-407699-0.00001-7.
6. *Boag P.R., Harrison P.F., Barugahare A.A., Pattison A.D., Swaminathan A., Raymant G., Monk S., Tsyganov K., Heinz E., Davis G.M., Powell D.R., Beilharz T.H.* Widespread cytoplasmic polyadenylation programs asymmetry in the germline and early embryo. // *bioRxiv*doi, 2018. <https://doi.org/10.1101/428540>
7. *Bovaird S., Patel D., Padilla J.A., Lécuyer E.* Biological functions, regulatory mechanisms, and disease relevance of RNA localization pathways. // *FEBS Lett*. 2018, 592(17), p. 2948-2972. doi:10.1002/1873-3468.13228.
8. *Charlesworth A., Meijer H.A., de Moor C.H.* Specificity factors in cytoplasmic polyadenylation. // *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2013, 4(4), p. 437-461. doi:10.1002/wrna.1171
9. *Chen B.J., Lam T.C., Liu L.Q., To C.H.* Post-translational modifications and their applications in eye research (Review). // *Mol Med Rep*. 2017, 15, p. 3923-3935.
10. *Chi B., Wang Q., Wu G. et al.* Ally and THO are required for assembly of the human TREX complex and association of TREX components with the spliced mRNA. // *Nucleic Acids Res*. 2013, 41(2), p. 1294-1306. doi:10.1093/nar/gks1188.
11. *Chow L.T., Gelinis R.E., Broker T.R., Roberts R.J.* An amazing sequence arrangement at the 5' ends of adenovirus 2 messenger RNA. // *Cell*. 1977, 12(1), p. 1-8. doi:10.1016/0092-8674(77)90180-5.
12. *Cooper G.M.* The Cell: A molecular approach. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates. Lysosomes. 2000. Disponibil pe: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9953/>.
13. *Cui J., Sackton K.L., Horner V.L., Kumar K.E., Wolfner M.F.* Wispy, the *Drosophila* homolog of GLD-2, is required during oogenesis and egg activation. // *Genetics*. 2008, 178(4), p. 2017-2029. doi:10.1534/genetics.107.084558.
14. *Curtis D., Lehmann R., Zamore P.D.* Translational regulation in development. // *Cell*. 1995, 81(2), p. 171-178. doi:10.1016/0092-8674(95)90325-9.
15. *Delaleau M., Borden K.L.* Multiple Export Mechanisms for mRNAs. // *Cells*. 2015, 4(3), p. 452-473. doi:10.3390/cells4030452
16. *Derti A., Garrett-Engele P., Macisaac K.D. et al.* A quantitative atlas of polyadenylation in five mammals. // *Genome Res*. 2012, 22(6), p. 1173-1183. doi:10.1101/gr.132563.111.
17. *Fromont-Racine M., Saveanu C.* mRNA degradation and decay. In: *Fungal RNA biology*, Sesma A, Haar T von der (ed.), Basel, Switzerland: Springer International Publishing, 2014, pp. 159-193.
18. *Glick D., Barth S., Macleod K.F.* Autophagy: cellular and molecular mechanisms. // *J Pathol*. 2010, 221(1), p. 3-12. doi:10.1002/path.2697.
19. *Guhaniyogi J., Brewer G.* Regulation of mRNA stability in mammalian cells. // *Gene*. 2001, 265 (1-2), p. 11-23.
20. *Han K.K., Martinage A.* Post-translational chemical modification(s) of proteins. // *Int J Biochem*. 1992, 24(1), p. 19-28. doi:10.1016/0020-711x(92)90225-p.
21. *Hogg J.R., Goff S.P.* Upf1 senses 3'UTR length to potentiate mRNA decay. // *Cell*. 2010, 143(3), p. 379-389. doi:10.1016/j.cell.2010.10.005.

22. Houseley J., Tollervy D. The many pathways of RNA degradation. // *Cell*. 2009, 136(4), p. 763-776. doi:10.1016/j.cell.2009.01.019.
23. Hu J., Guo Y., Li Y. Research progress in protein post-translational modification. // *CHINESE SCI BULL*. 2006, 51, p. 633-645. <https://doi.org/10.1007/s11434-006-0633-3>.
24. Hutten S., Kehlenbach R.H. Nup214 is required for CRM1-dependent nuclear protein export in vivo. // *Mol Cell Biol*. 2006, 26(18), p. 6772-6785. doi:10.1128/MCB.00342-06.
25. Jansen M., De Moor C., Sussenbach J., et al. Translational control of gene expression. // *Pediatr Res*. 1995, 37, p. 681-685. <https://doi.org/10.1203/00006450-199506000-00001>
26. Januszyk K., Lima C.D. The eukaryotic RNA exosome. // *Curr Opin Struct Biol*. 2014, 24, p. 132-140. doi:10.1016/j.sbi.2014.01.011.
27. Ji Z., Lee J.Y., Pan Z., Jiang B., Tian B. Progressive lengthening of 3' untranslated regions of mRNAs by alternative polyadenylation during mouse embryonic development. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009, 106(17), p. 7028-7033. <https://doi.org/10.1073/pnas.0900028106>
28. Ji Z., Tian B. Reprogramming of 3' untranslated regions of mRNAs by alternative polyadenylation in generation of pluripotent stem cells from different cell types. // *PLoS One*. 2009, 4(12), e8419.
29. Karve T.M., Cheema A.K. Small changes huge impact: the role of protein posttranslational modifications in cellular homeostasis and disease. // *J Amino Acids*. 2011, e207691. doi:10.4061/2011/207691
30. Kervestin S., Amrani N. Translational regulation of gene expression. // *Genome Biol*. 2004, 5, e359 <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-12-359>
31. Houry G.A., Baliban R.C., Floudas C.A. Proteome-wide post-translational modification statistics: Frequency analysis and curation of the swiss-prot database. // *Sci Rep*. 2011, 1:pii: srep000902011. View Article: Google Scholar.
32. Kim J.H., Richter J.D. Opposing polymerase-deadenylase activities regulate cytoplasmic polyadenylation. // *Mol Cell*. 2006, 24(2), p. 173-183. doi:10.1016/j.molcel.2006.08.016.
33. Kloc M., Wilk K., Vargas D., Shirato Y., Bilinski S., Etkin L.D. Potential structural role of non-coding and coding RNAs in the organization of the cytoskeleton at the vegetal cortex of *Xenopus* oocytes [published correction appears in *Development*. 2005;132(24):5613]. // *Development*. 2005, 132(15), p. 3445-3457. doi:10.1242/dev.01919.
34. Kota K.P., Wagner S.R., Huerta E., Underwood J.M., Nickerson J.A. Binding of ATP to UAP56 is necessary for mRNA export. // *J Cell Sci*. 2008, 121(Pt 9), p. 1526-1537. doi:10.1242/jcs.021055.
35. Lehner B., Sanderson C.M. A protein interaction framework for human mRNA degradation. // *Genome Res*. 2004, 14(7), p. 1315-1323. doi:10.1101/gr.2122004.
36. Martin K.C., Ephrussi A. mRNA localization: gene expression in the spatial dimension. // *Cell*, 2009, 136(4), p. 719-730. doi:10.1016/j.cell.2009.01.044.
37. Mayr C., Bartel D.P. Widespread shortening of 3'UTRs by alternative cleavage and polyadenylation activates oncogenes in cancer cells. // *Cell*. 2009, 138, p. 673-684.
38. Minshall N., Reiter M.H., Weil D., Standart N. CPEB interacts with an ovary-specific eIF4E and 4E-T in early *Xenopus* oocytes. // *J Biol Chem*. 2007, 282(52), p. 37389-37401. doi:10.1074/jbc.M704629200.
39. Mizushima N. Autophagy: process and function. // *Genes Dev*. 2007, 21(22), p. 2861-73. doi: 10.1101/gad.1599207. PMID: 18006683.
40. Nelson D.L., Cox M. M. Lehninger Principles of Biochemistry - 4th edition. Publisher: W. H. Freeman, 2004. - 1100 pp., hard cover. ISBN13: 9780716743392.
41. Otsuka Y., Kedersha N.L., Schoenberg D.R. Identification of a cytoplasmic complex that adds a cap onto 5'-monophosphate RNA. // *Mol Cell Biol*. 2009, 29(8), p. 2155-2167. doi:10.1128/MCB.01325-08.

42. Peña A., Gewartowski K., Mroczek S. et al. Architecture and nucleic acids recognition mechanism of the THO complex, an mRNP assembly factor. // *EMBO J.* 2012, 31(6), p. 1605-1616. doi:10.1038/emboj.2012.10.
43. Piqué M., López J.M., Foissac S., Guigó R., Méndez R. A combinatorial code for CPE-mediated translational control. // *Cell.* 2008, 132(3), p. 434-448. doi:10.1016/j.cell.2007.12.038. PubMed Abstract.
44. Ramanathan A., Robb G.B., Chan S.H. mRNA capping: biological functions and applications. // *Nucleic Acids Res.* 2016, 44, p. 7511-7526. 10.1093/nar/gkw551
45. Rehfeld A., Plass M., Krogh A., Friis-Hansen L. Alterations in polyadenylation and its implications for endocrine disease. // *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013, 4, e 53. doi:10.3389/fendo.2013.00053.
46. Ren F., Zhang N., Zhang L. et al. Alternative polyadenylation: a new frontier in post transcriptional regulation. // *Biomark Res.* 2020, 8, e 67. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00249-6>
47. Revil T., Gaffney D., Dias C., Majewski J., Jerome-Majewska L.A. Alternative splicing is frequent during early embryonic development in mouse. // *BMC Genomics.* 2010, 11, p. 399. Published 2010 Jun 23. doi:10.1186/1471-2164-11-399
48. Reyes J.M., Ross P.J. Cytoplasmic polyadenylation in mammalian oocyte maturation. // *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2016, 7(1), p. 71-89. doi:10.1002/wrna.1316.
49. Richter J.D. Cytoplasmic polyadenylation in development and beyond. // *Microbiology And Molecular Biology Reviews.* 1999, 63(2), p. 446-456. 1092-2172/99/\$04.0010 DOI: 10.1128/MMBR.63.2.
50. Richter J.D. The influence of polyadenylation-induced translation on metazoan development and neuronal synaptic function. In: Mathews, M.B., Hershey, J. and Sonenberg, N. (eds). *Translational Control of Gene Expression.* Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2000, pp. 785-805.
51. Ryder P.V., Lerit D.A. RNA localization regulates diverse and dynamic cellular processes. // *Traffic.* 2018, 19(7), p. 496-502. doi:10.1111/tra.12571.
52. Schwartz A.L., Ciechanover A. Targeting proteins for destruction by the ubiquitin system: implications for human pathobiology. // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2009, 49, p. 73-96. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.051208.165340
53. Shav-Tal Y., Singer R.H. RNA localization. // *J Cell Sci.* 2005, 118(Pt 18), p. 4077-4081. doi:10.1242/jcs.02543.
54. Sonenberg N., Hershey J.W.B., Mathews M.B. eds. *Translational Control of Gene Expression.* Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2000.
55. Toralova T., Kinterova V., Chmelikova E., Kanka J. The neglected part of early embryonic development: maternal protein degradation [published online ahead of print, 2020 Feb 24]. // *Cell Mol Life Sci.* 2020, 10.1007/s00018-020-03482-2. doi:10.1007/s00018-020-03482-2
56. Tourrière H., Chebli K., Tazi J. mRNA degradation machines in eukaryotic cells. // *Biochimie.* 2002, 84(8), p. 821-837. doi:10.1016/s0300-9084(02)01445-1.
57. Trotman J.B., Schoenberg D.R. A recap of RNA recapping. // *Wiley Interdiscip Rev RNA.* 2019, 10(1), e1504. doi:10.1002/wrna.1504.
58. Viphakone N., Hautbergue G.M., Walsh M. et al. TREX exposes the RNA-binding domain of Nxf1 to enable mRNA export. // *Nat Commun.* 2012, 3, p. 1006. doi:10.1038/ncomms2005.
59. Virág D., Dalmadi-Kiss B., Vékey K. et al. Current trends in the analysis of post-translational modifications. // *Chromatographia.* 2020, 83, p.1-10. <https://doi.org/10.1007/s10337-019-03796-9>.
60. Vrabie V., Ciochină V. Biologia moleculară a dezvoltării. Suport de curs. Chișinău: Tipogr. „Foxrot”, 2020.-226 p.

61. Weyn-Vanhentenryck S.M., Feng H., Ustianenko D. et al. Precise temporal regulation of alternative splicing during neural development. // Nat Commun. 2018, 9, p. 2189 <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04559-0>

62. Wickens M., Goodwin E., Kimble J., Strickland S., Hentze M. Translational control of developmental decisions. In: Mathews M.B., Hershey J. and Sonenberg N. (eds), *Translational Control of Gene Expression*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2000, pp. 295-370.

63. Wilusz C.J., Wormington M., Peltz S.W. The cap-to-tail guide to mRNA turnover. Nat Rev Mol Cell Biol. 2001, 2(4), p. 237-246. doi:10.1038/35067025.

64. Yepiskoposyan H., Aeschimann F., Nilsson D., Okoniewski M., Mühlemann O. Autoregulation of the nonsense-mediated mRNA decay pathway in human cells. // RNA. 2011, 17(12), p. 2108-2118. doi:10.1261/rna.030247.111.

65. Zhou X., Zhang Y., Michal J.J., et al. Alternative polyadenylation coordinates embryonic development, sexual dimorphism and longitudinal growth in *Xenopus tropicalis*. // Cell Mol Life Sci. 2019, 76(11), p. 2185-2198. doi:10.1007/s00018-019-03036-1.