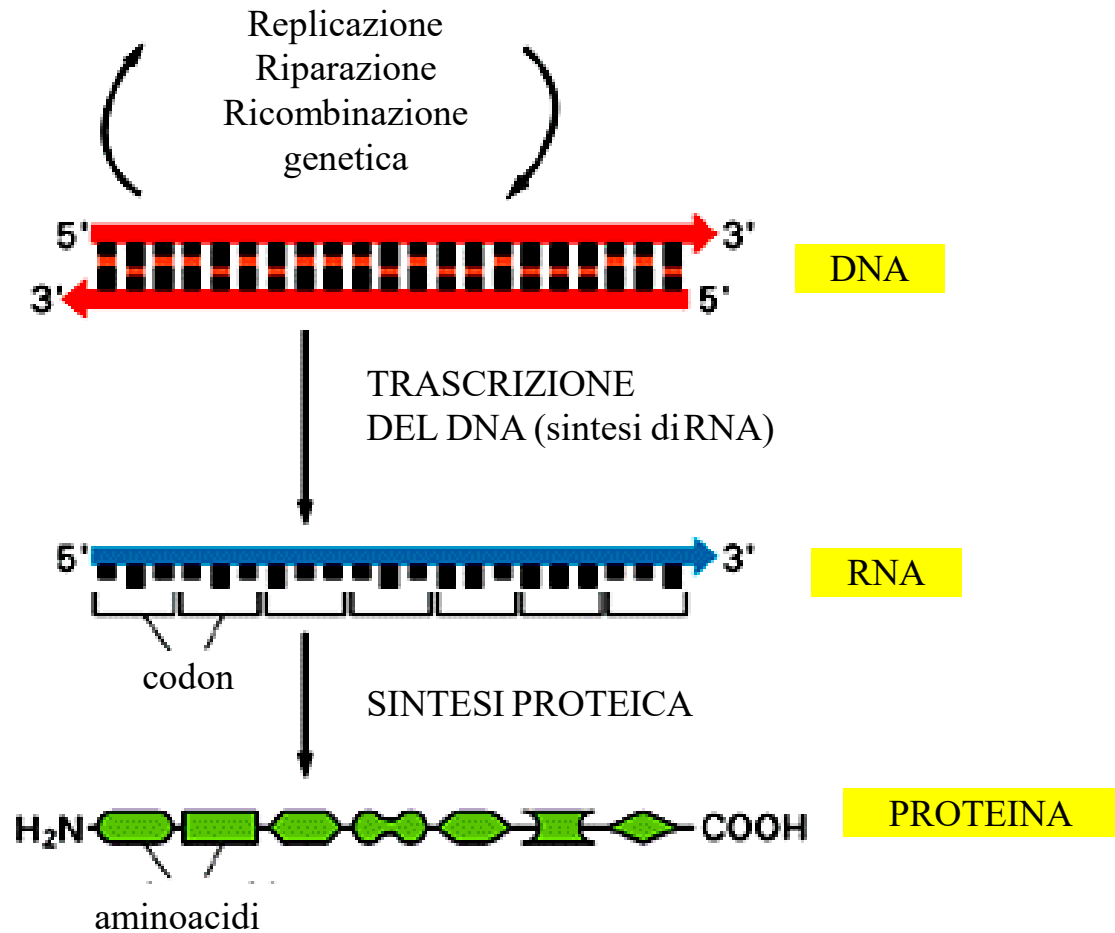


Trascrizione del DNA

Il dogma centrale



Trascrizione del DNA

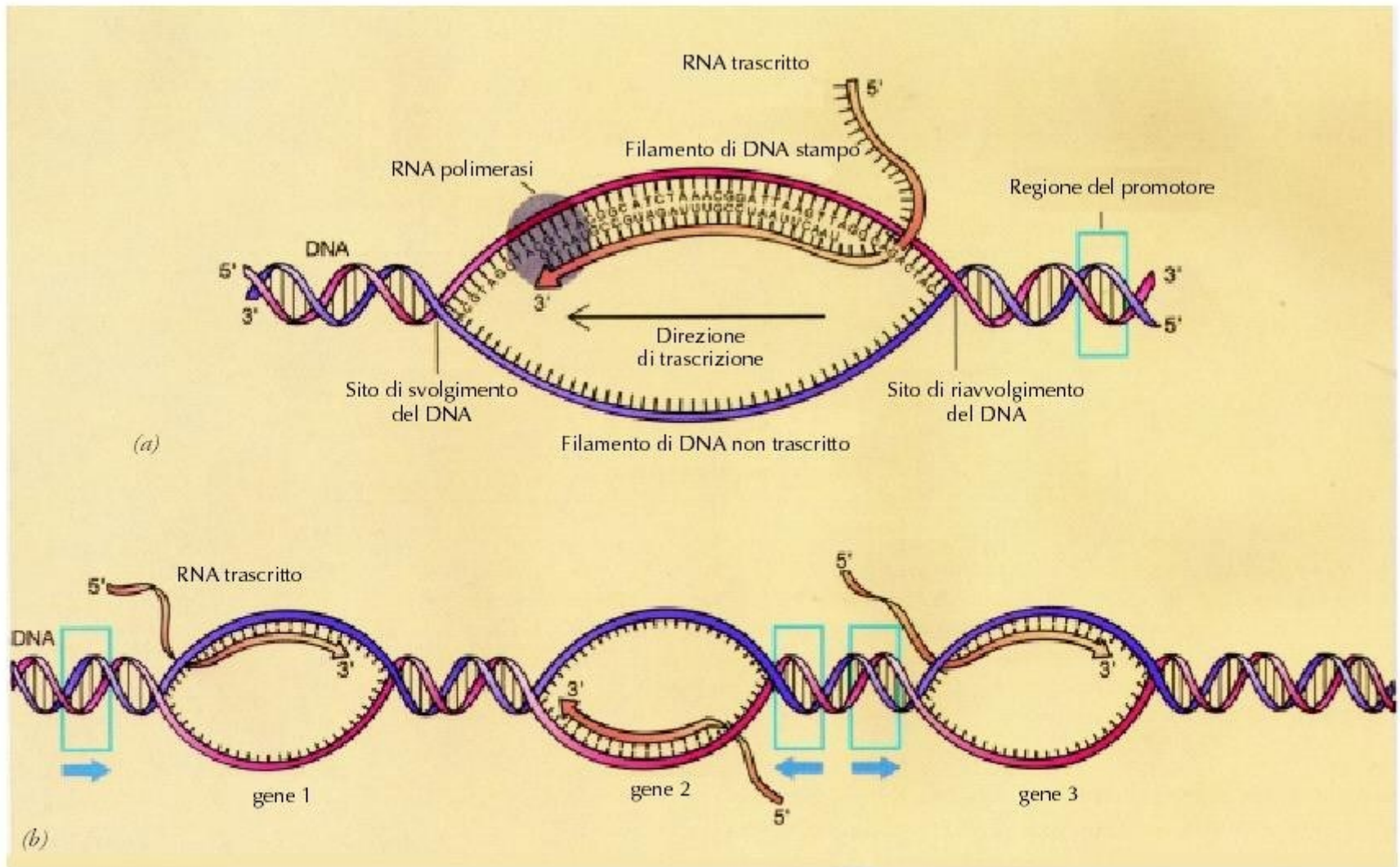
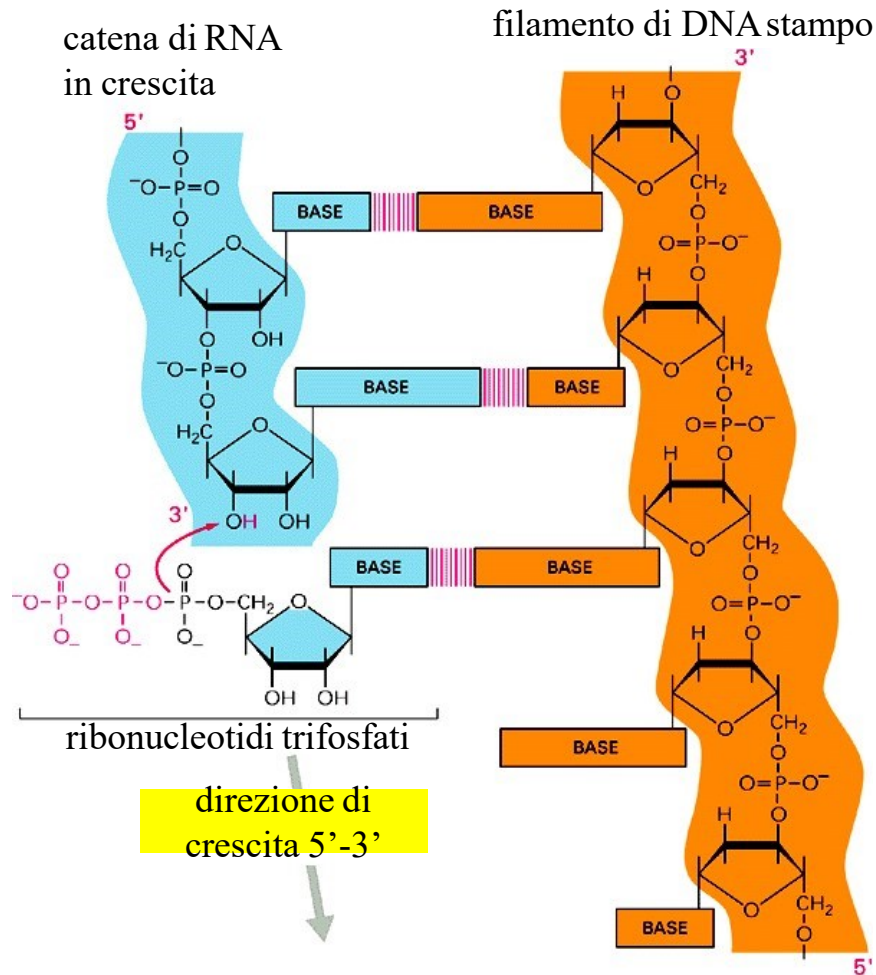


Figura 12-4 Sintesi dell'mRNA. (a) L'mRNA sintetizzato nella direzione 5'-3' sul filamento stampo della molecola di DNA. La trascrizione inizia sul DNA a valle della sequenza del promotore a cui la RNA polimerasi si attacca. Le sequenze di terminazione che si trovano a valle della regione che codifica per le proteine, segnalano alla RNA polimerasi di terminare la trascrizione e di staccarsi dal DNA. (b) Di solito solo uno dei due filamenti è trascritto per un dato gene, ma il filamento opposto può essere trascritto per un altro gene. Ciascun trascritto inizia dal suo promotore.

Trascrizione del DNA

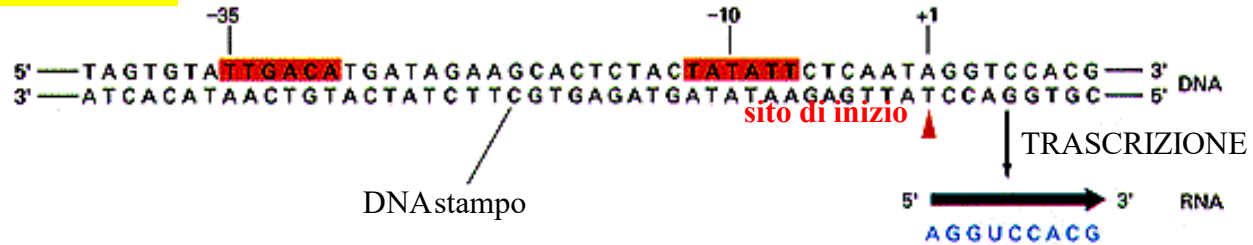
La reazione di allungamento della catena catalizzata da una RNA polimerasi



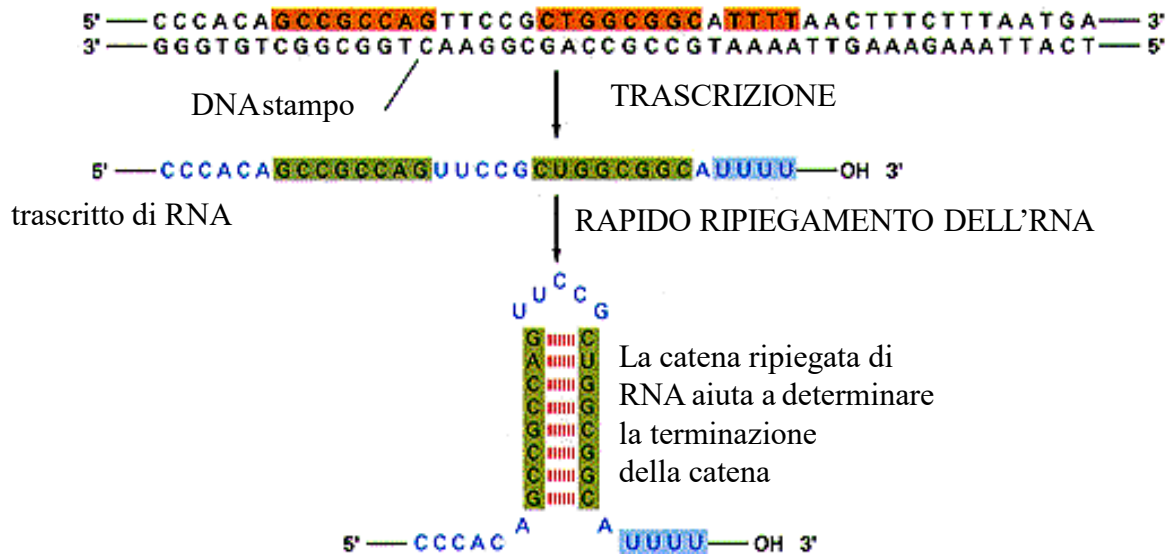
Trascrizione del DNA nei procaroti

Segnali di inizio e di stop per la sintesi di RNA da parte una RNA polimerasi batterica

(A) SEGNALE DI INIZIO

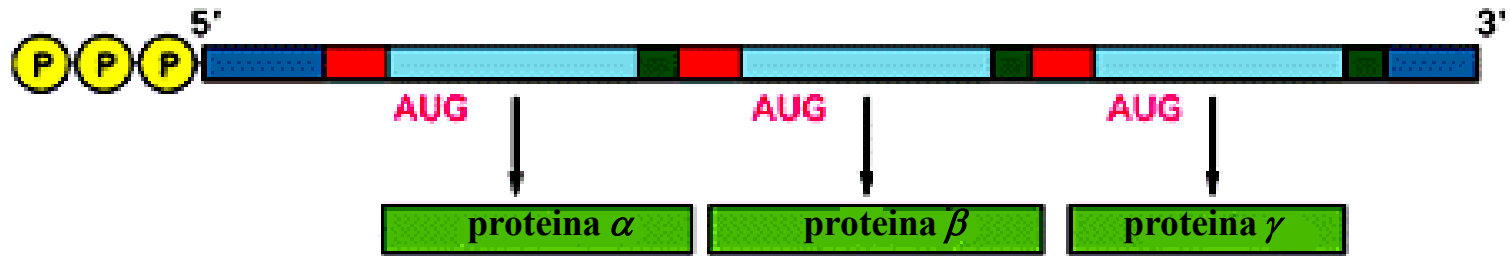


(A) SEGNALE DI STOP





L'RNA MESSAGGERO DEI PROCARIOTI


RNA_m procariotico



chiave:

 siti di legame dei ribosomi

 sequenze codificanti

 sequenze non codificanti

 codoni di stop

LA TRASCRIZIONE NEI PROCARIOTI

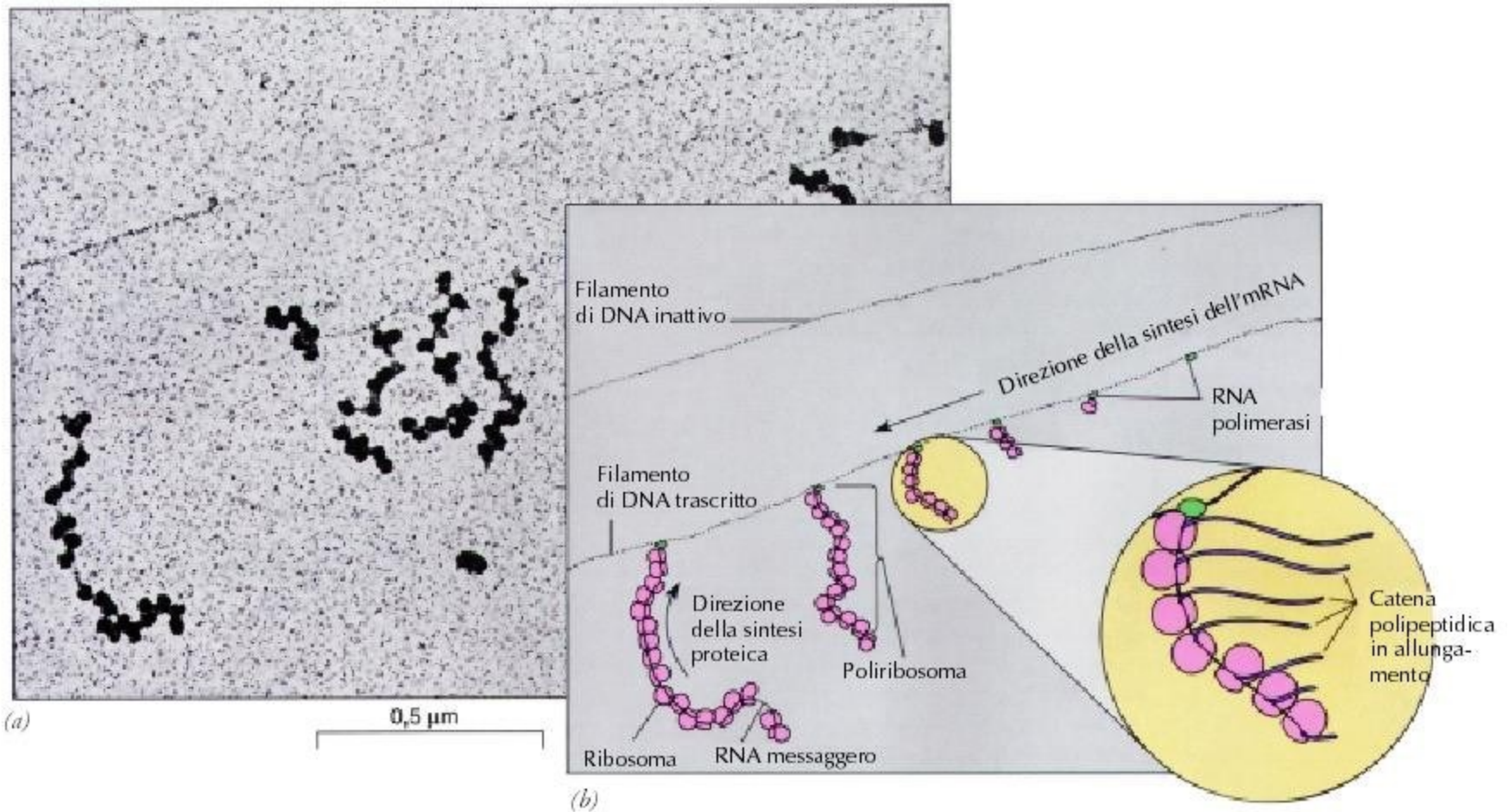
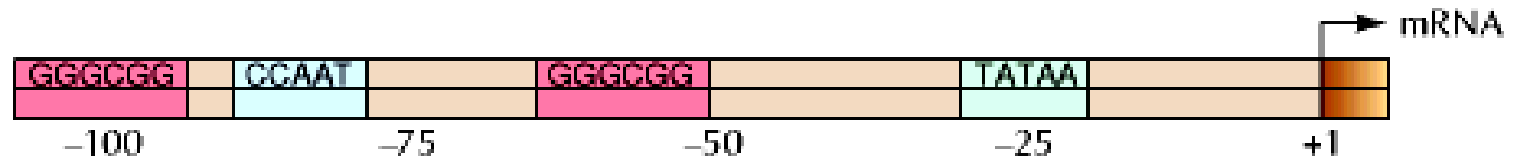
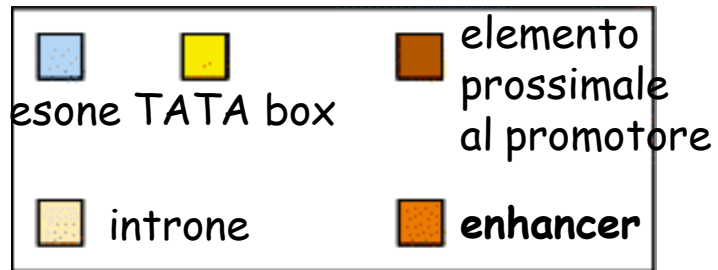
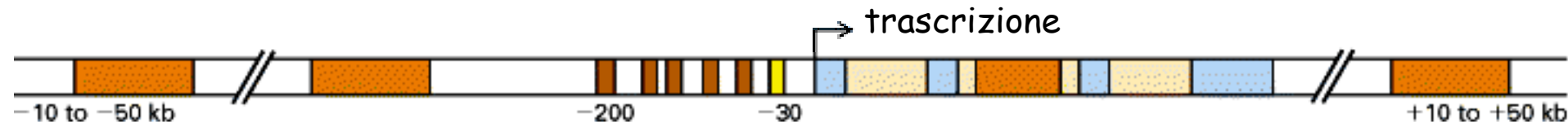


Figura 12–11 Nei batteri la trascrizione e la traduzione sono contemporanee. (a) Micrografia elettronica di due filamenti di DNA di *E. coli*, uno inattivo e l'altro in fase di attiva trascrizione. La sintesi proteica comincia prima che sia completata la trascrizione, non appena i ribosomi si attaccano all'RNA messaggero per formare un poliribosoma. (b) Rappresentazione schematica del processo di trascrizione accoppiato alla traduzione. (Per gent. conc. della dott.ssa Barbara Hamkalo, University of California, Irvine)

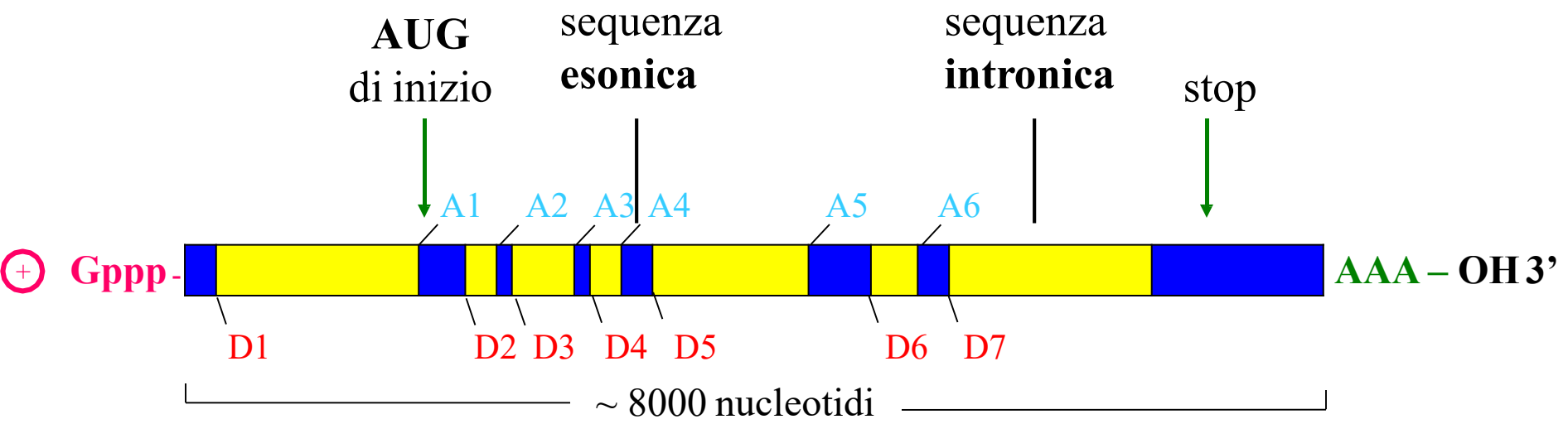
Trascrizione del DNA negli eucarioti



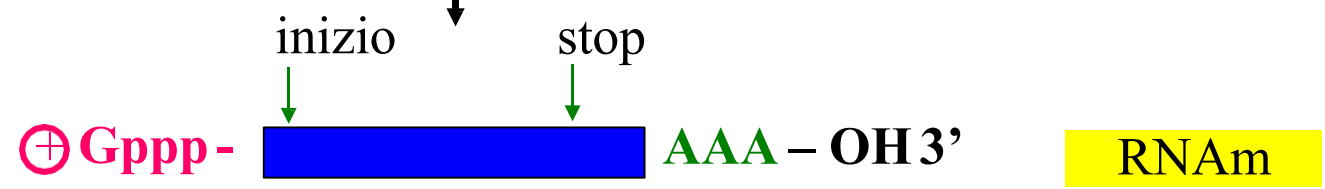
Promotore eucariotico. Il promotore del gene della timidina chinasi di herpes simplex virus (HSV) contiene 3 sequenze a monte del TATA box che sono necessari per una efficiente trascrizione: 1 CCAAT box and 2 GC boxe (sequenze consenso GGGCGG).



L'RNA MESSAGGERO DEGLI EUKARIOTI: il trascritto primario di RNA



SEQUENZE INTRONICHE
RIMOSSE DALLO SPLICING

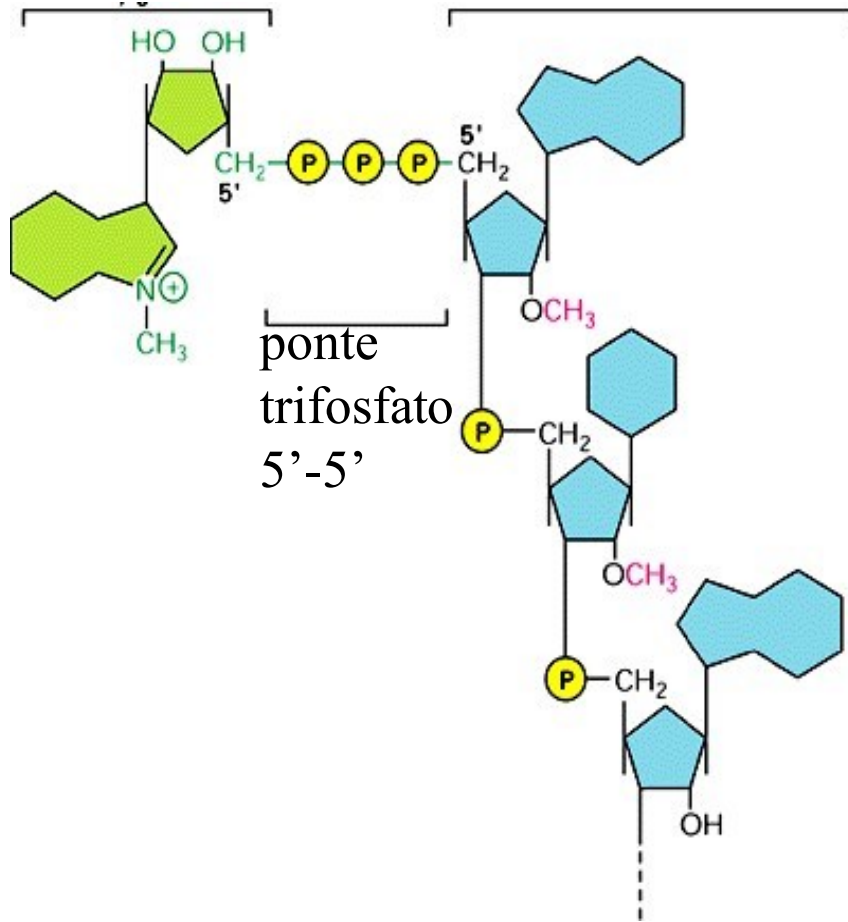


TRADUZIONE



L'RNA MESSAGGERO DEGLI EUCARIOTI

7-metilguanosa estremità 5' dell'RNAm



Le reazioni che formano il cappuccio al 5' di ciascuna molecola di RNA sintetizzata dalla RNA polimerasi.

Si pensa che almeno una parte degli enzimi necessari per questo processo siano legati alla polimerasi II, poiché i trascritti della polimerasi I e III non hanno cappuccio, e le reazioni indicate avvengono quasi immediatamente dopo l'inizio di ciascuna catena di RNA.

Il cappuccio finale contiene un nuovo legame 5'-5' fra il residuo carico positivamente di **7-metil G** e l'estremità 5' del trascritto di RNA

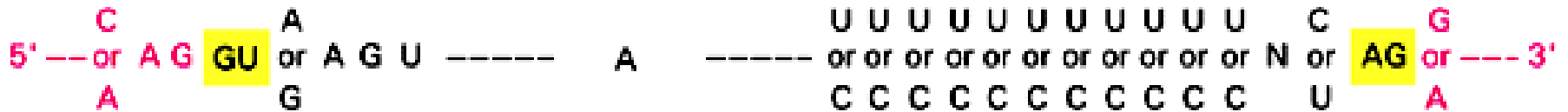
L'RNA MESSAGGERO DEGLI EUCARIOTI:

Il meccanismo dello splicing dell'RNA

sequenza
esonica 5'

sequenza
intronica

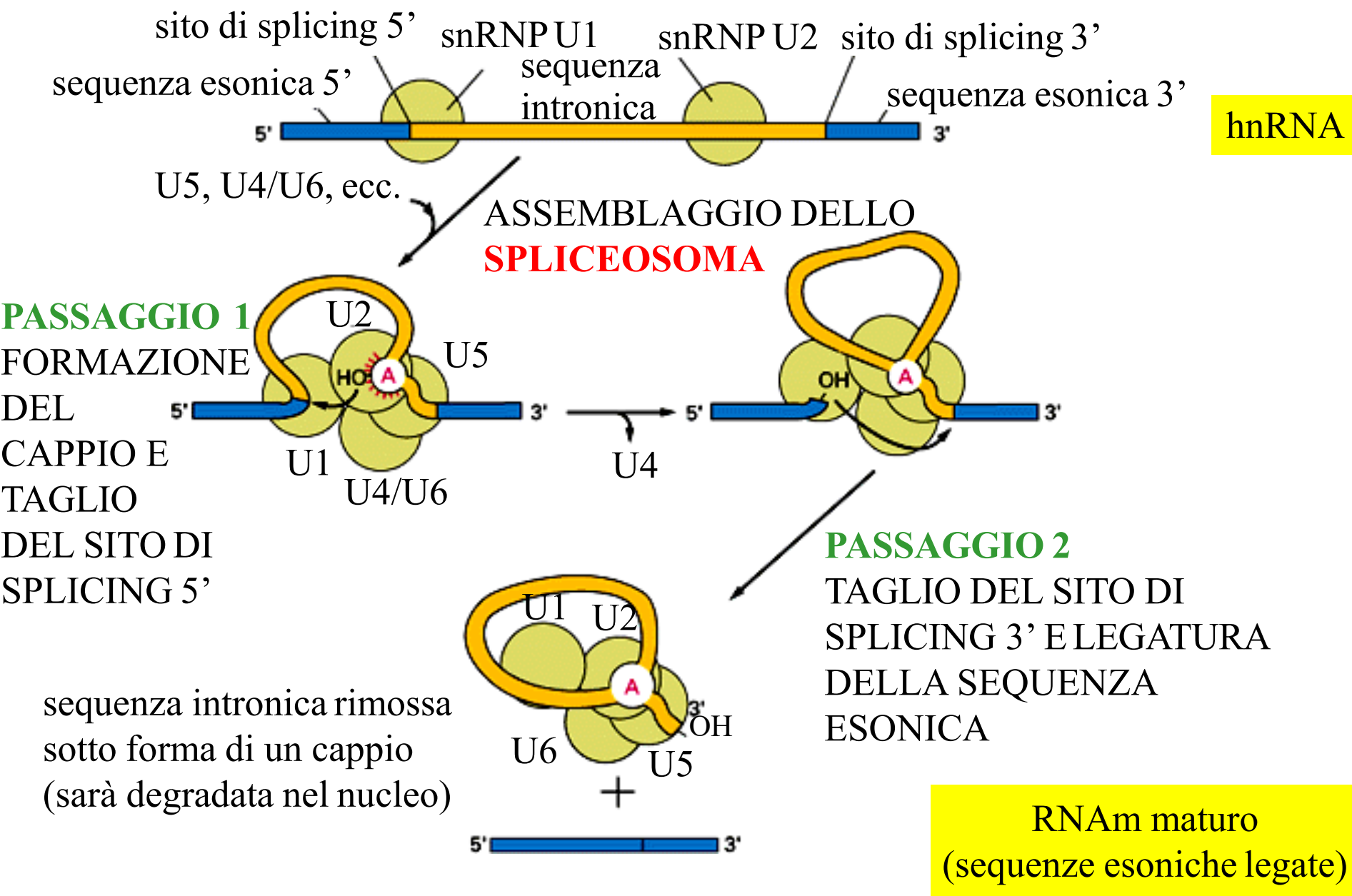
sequenza
esonica



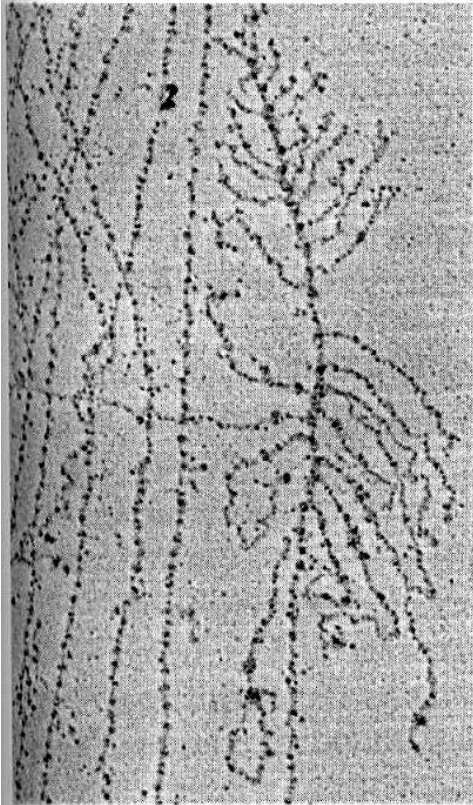
sequenza di consenso
per il sito di splicing 5'

sequenza di consenso
per il sito di splicing 3'

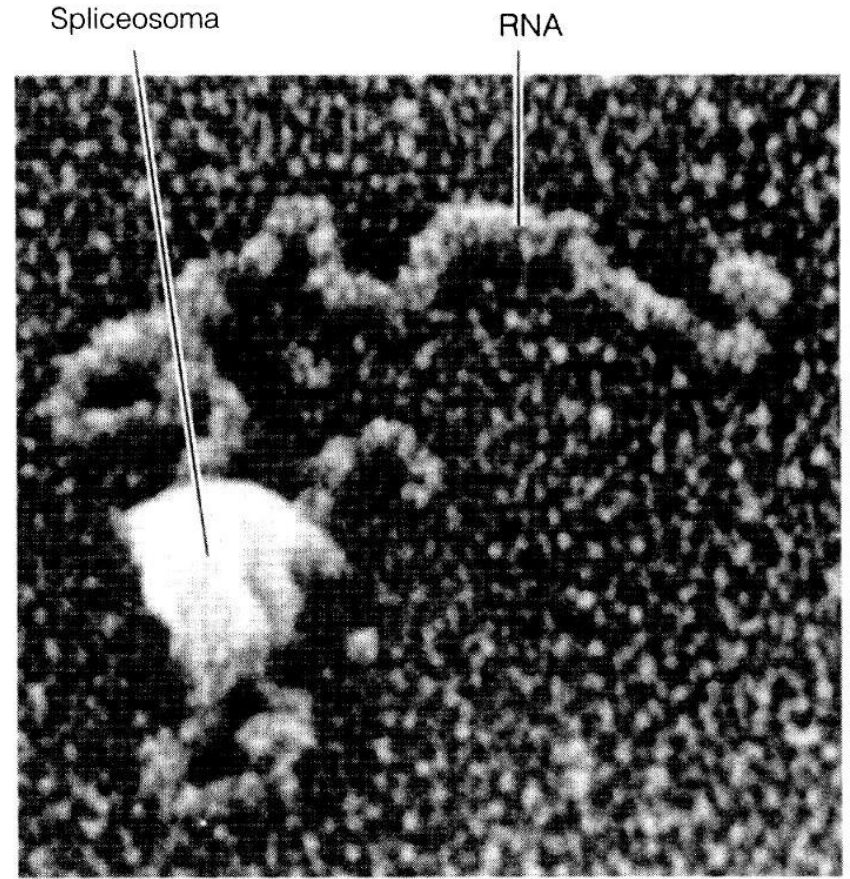
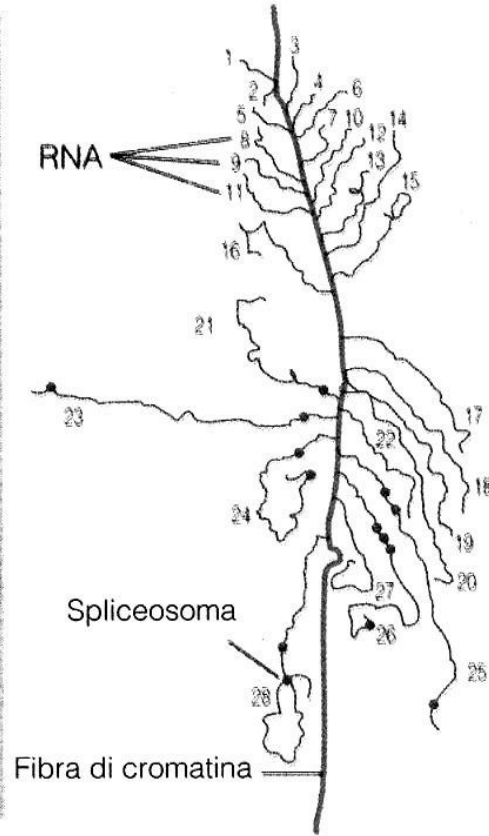
L'RNA MESSAGGERO DEGLI EUKARIOTI: Il meccanismo dello splicing dell'RNA



LO SPLICEOSOMA



0,2 μ m

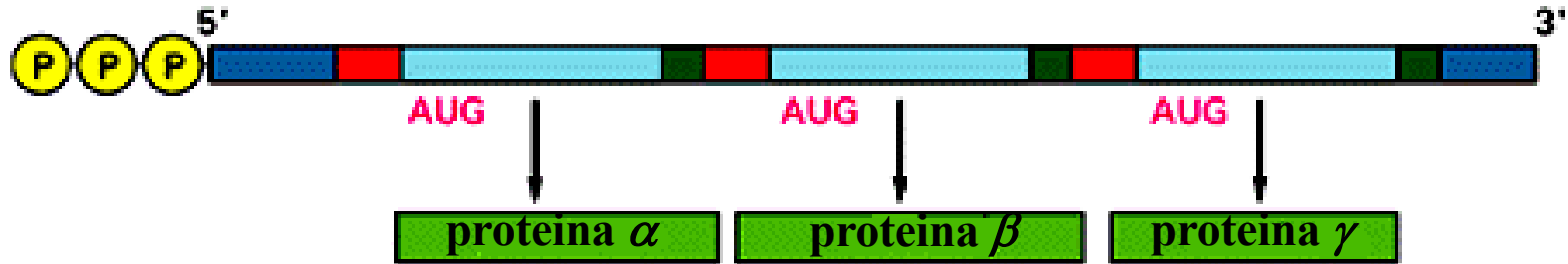


Spliceosoma

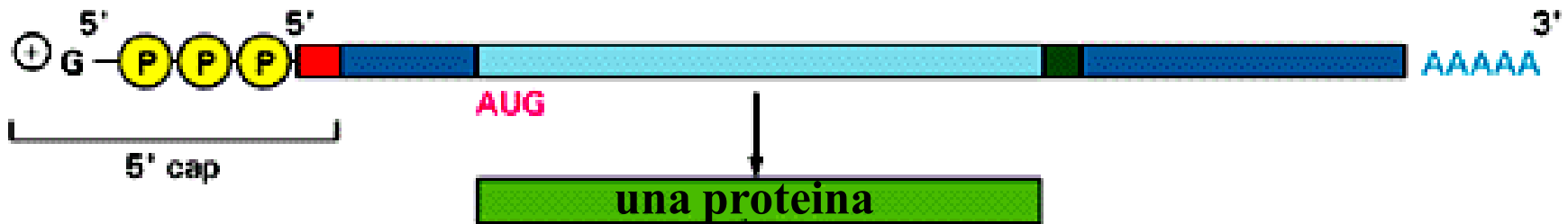
RNA

L'RNA MESSAGGERO DEI PROCARIOTI ED EUCARIOTI

RNAm procariotico



RNAm eucariotico



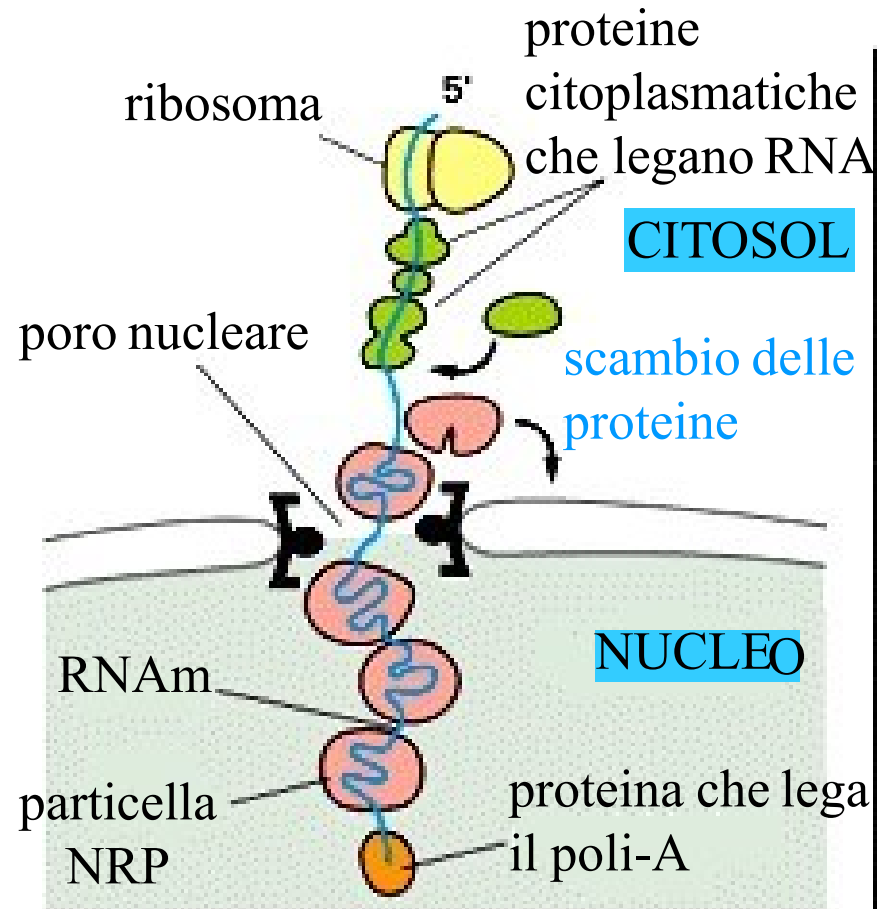
chiave:



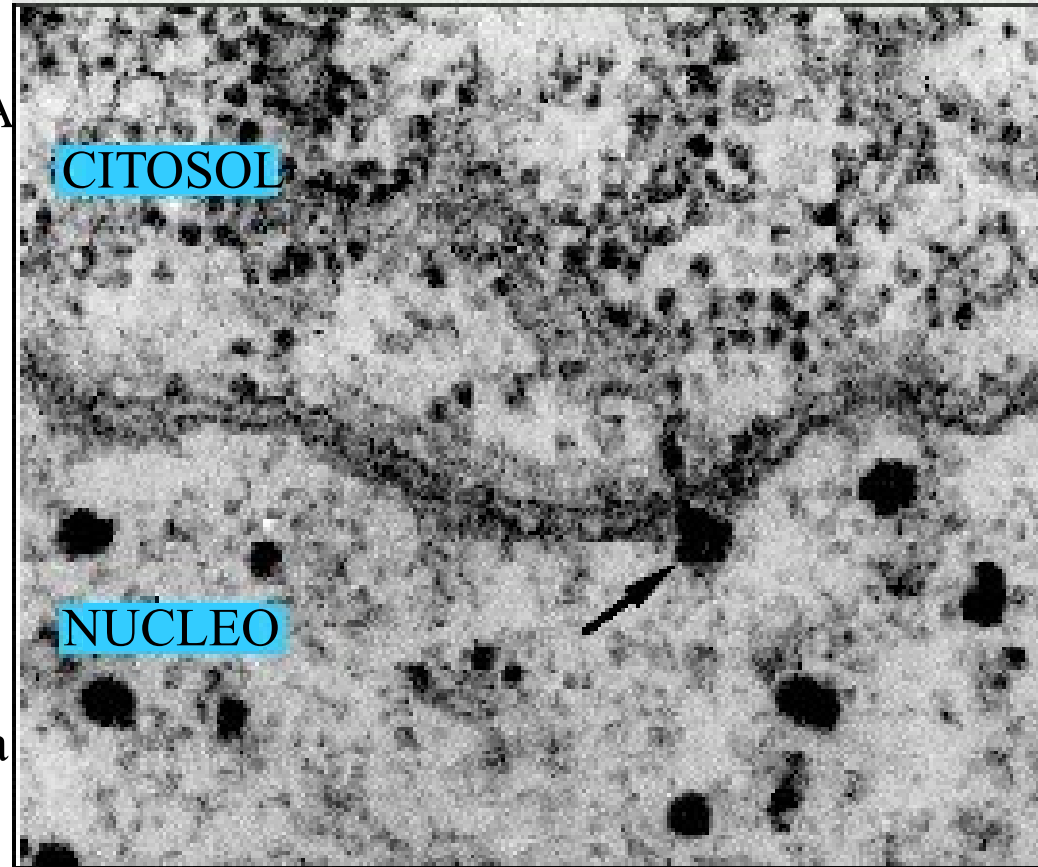
L'RNA MESSAGGERO DEGLI EUCARIOTI

Trasporto di molecole di RNAm attraverso i pori nucleari

Immagine al M. E.



(A)

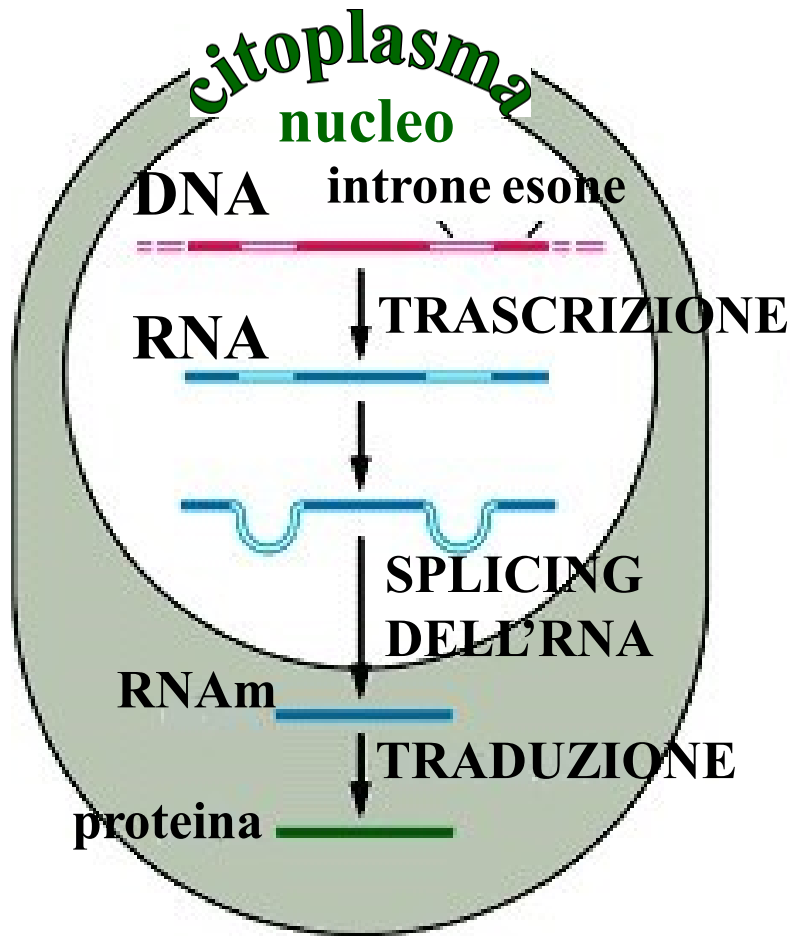


(B)

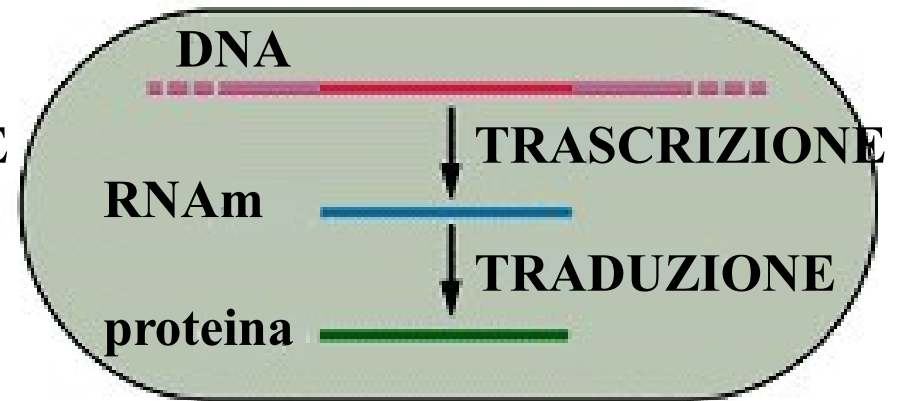
200 nm

Il trasferimento dell'informazione dal DNA alle proteine

EUCARIOTI



PROCARIOTI



Il trasferimento dell'informazione dal DNA alle proteine

	5'				
↓	U	C	A	G	↓
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

IL CODICE GENETICO E' DEGENERATO

**involucro
nucleare**

membrana plasmatica

NUCLEO

DNA 

↓ **TRASCRIZIONE DEL DNA**

RNA 

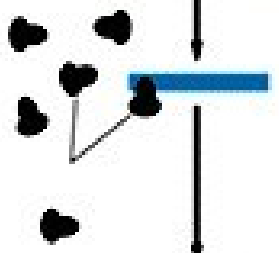
**SPLICING
DELL'RNA**



↓ **TRASPORTO DELL'RNA**

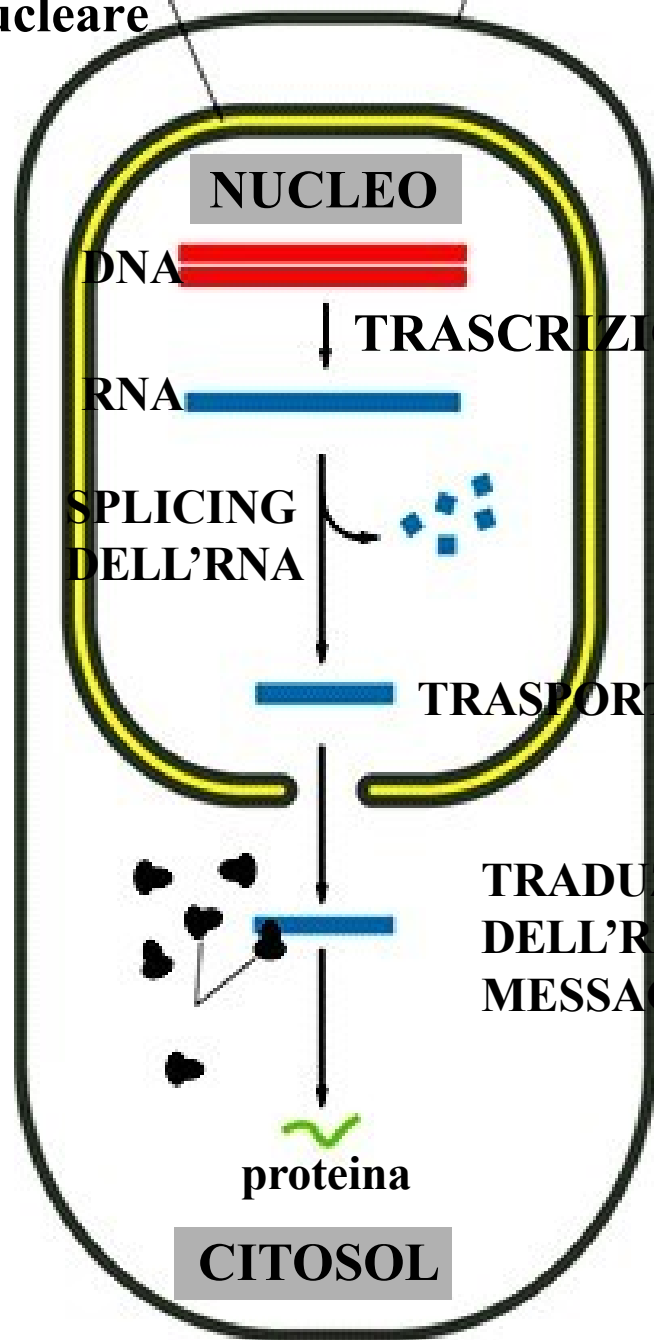
LA TRADUZIONE DELL'RNAm

**TRADUZIONE
DELL'RNA
MESSAGGERO**



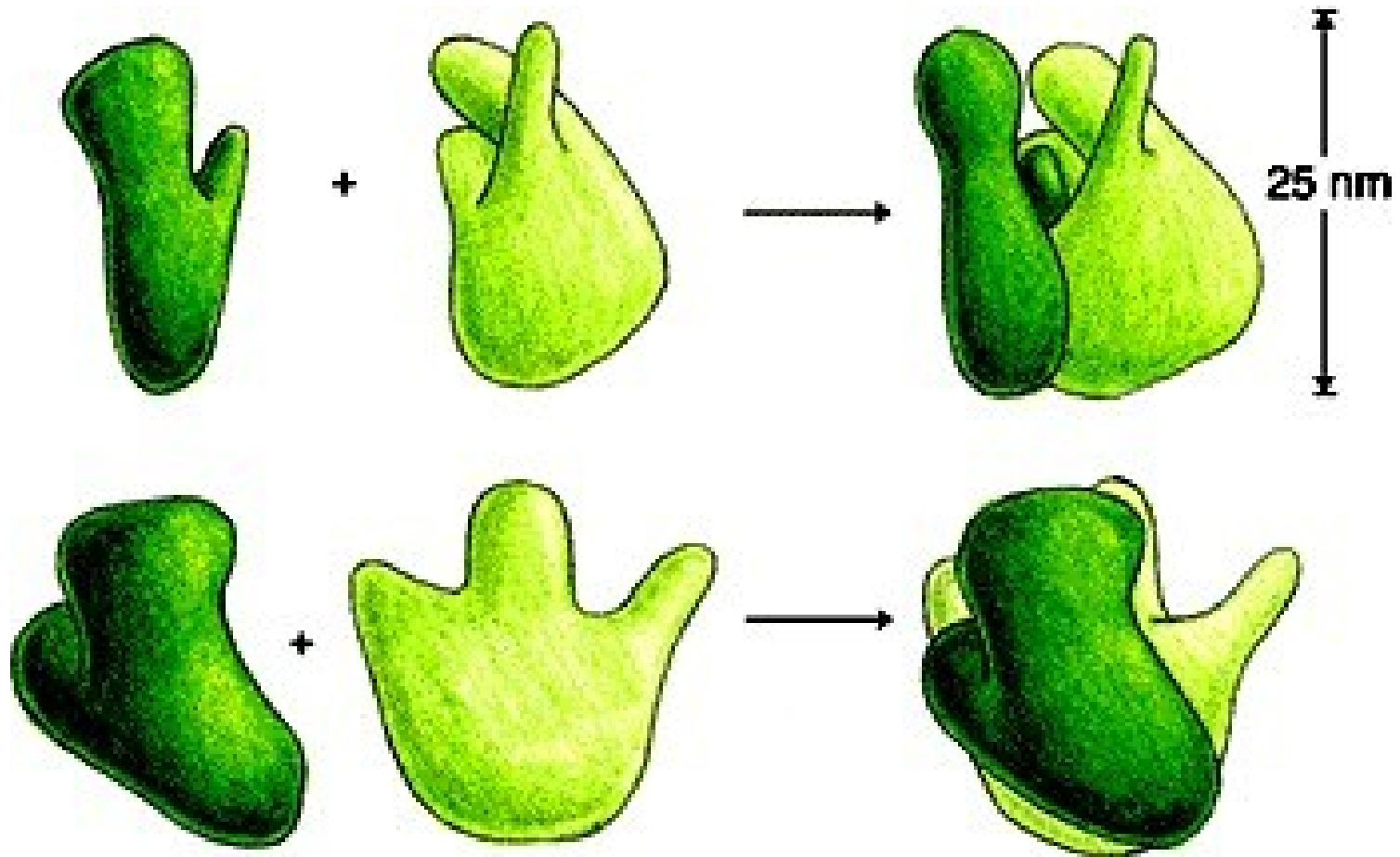
proteina

CITOSOL



LA TRADUZIONE DELL'RNAm

Lribosomi



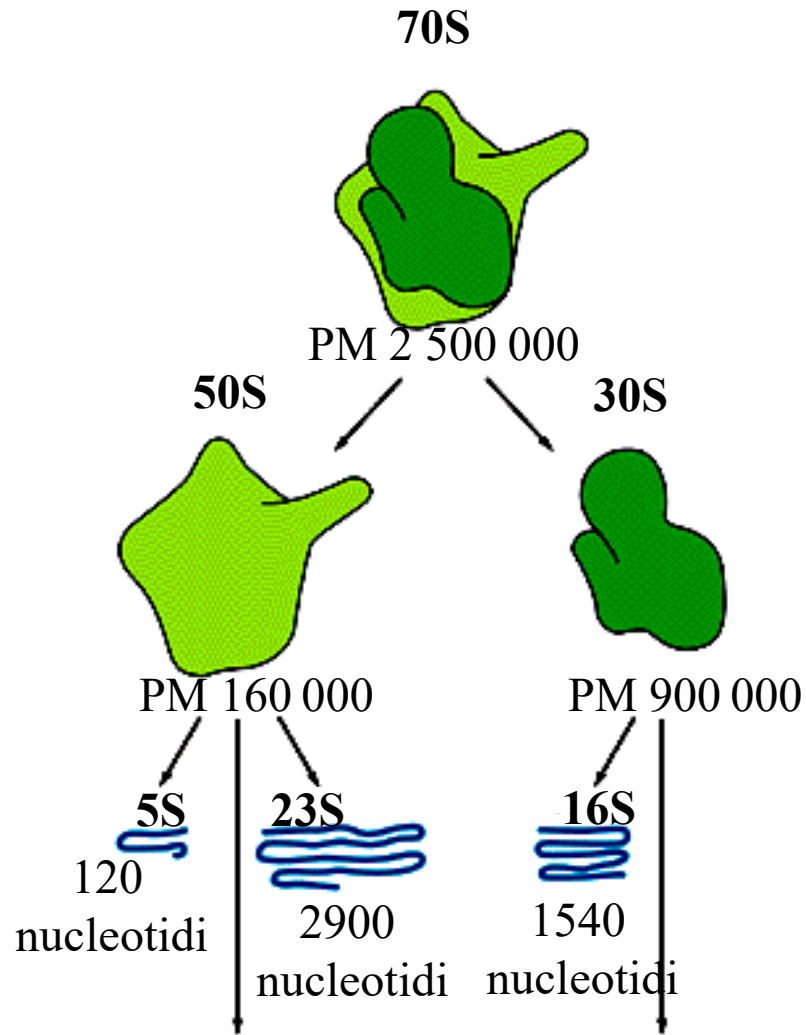
subunità piccola

subunità grande

ribosoma

I RIBOSOMI

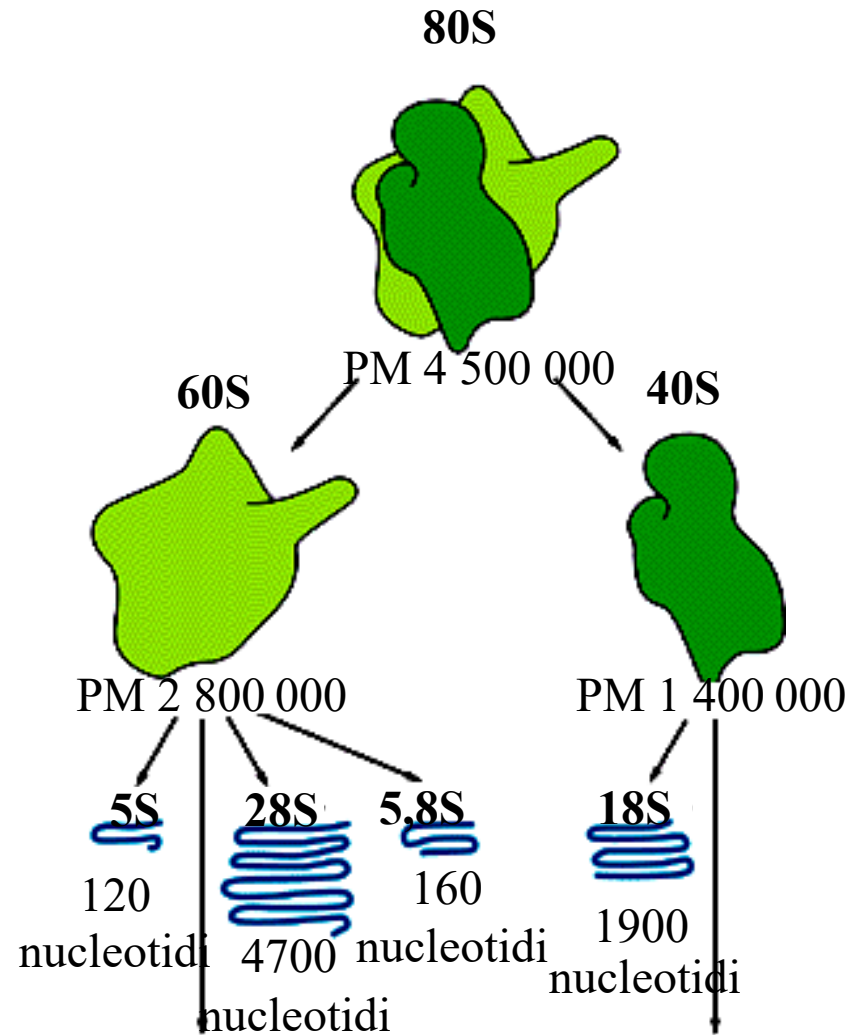
RIBOSOMA PROCARIOTICO



34 proteine

21 proteine

RIBOSOMA EUCARIOTICO

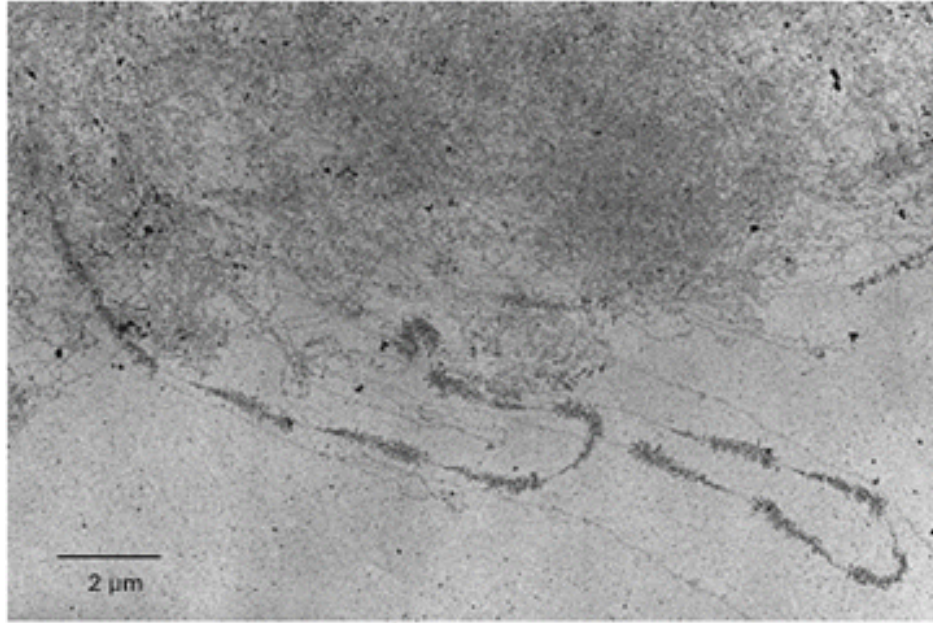


~ 49 proteine

~ 33 proteine

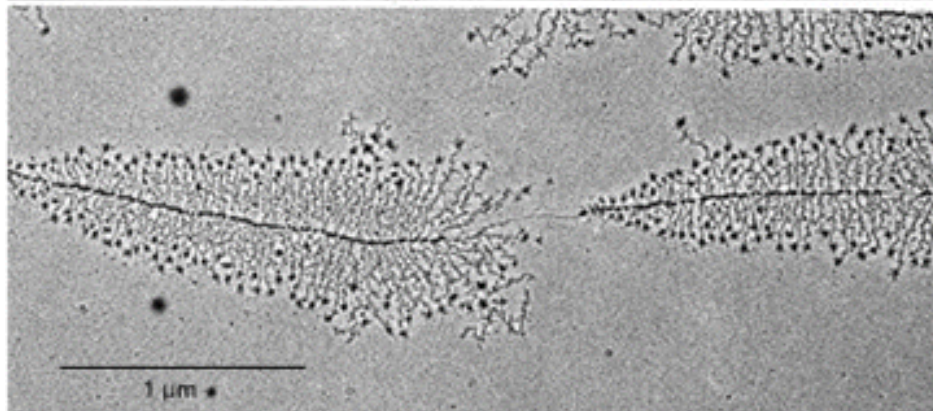
Gli RNA ribosomali (RNAr) sono trascritti da serie disposte in tandem di geni identici

Quantità adeguate di RNAr possono essere prodotte soltanto perché la cellula contiene **copie multiple dei geni degli RNAr** che codificano per gli RNA ribosomali. Negli eucarioti le copie multiple dei geni degli RNAr fedelmente conservati presenti su di un dato cromosoma sono poste in serie disposte in tandem, in cui ciascun gene (lungo da 8000 a 13000 coppie di basi, a seconda dell'organismo) è separata dal successivo da una regione non trascritta nota come **DNA spaziatore**, che può variare di molto in lunghezza e in sequenza.



Trascrizione dei geni degli RNAr disposti in tandem, visualizzata al M.E.

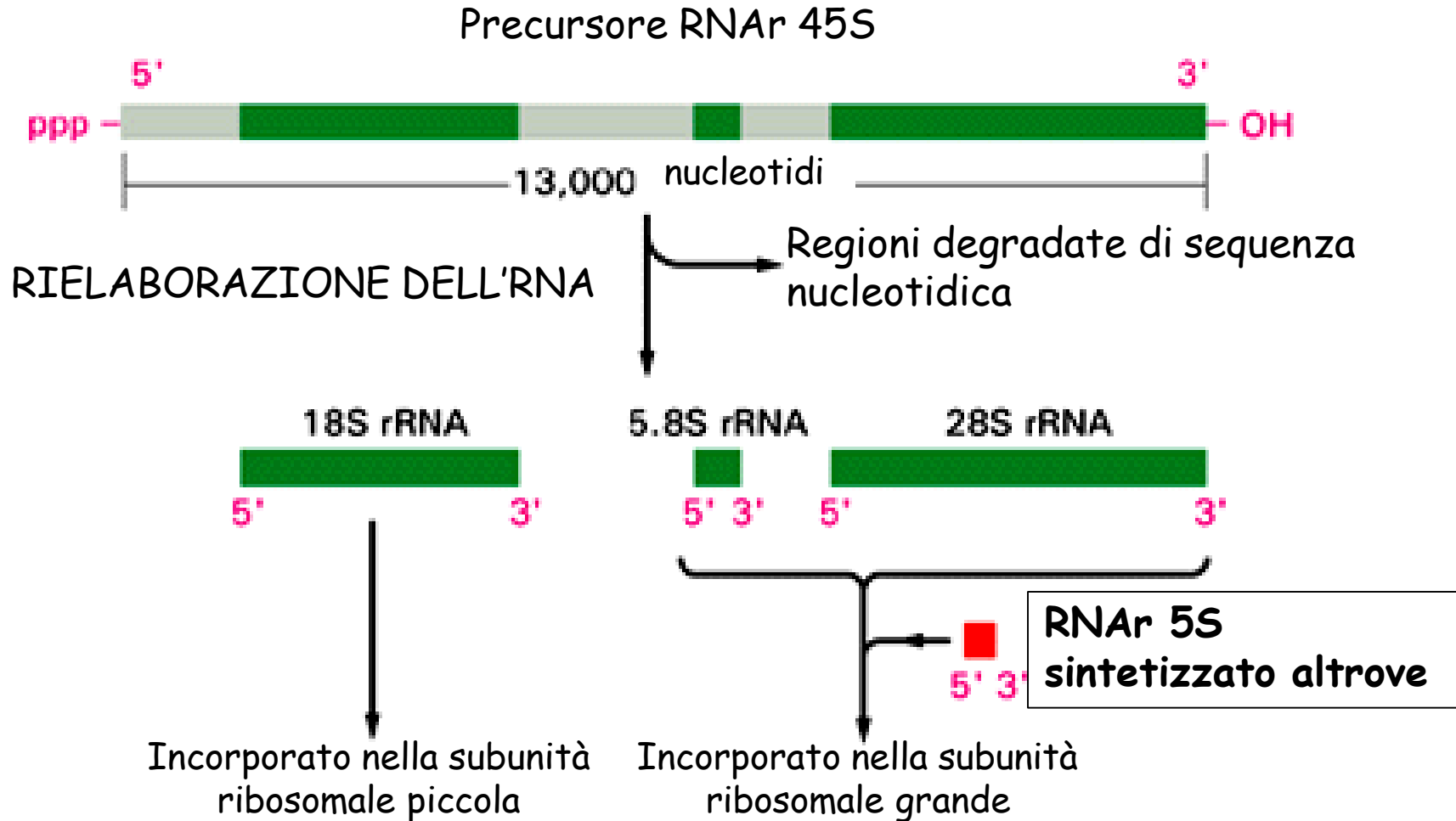
Basso ingrandimento



Alto ingrandimento

Trascrizione degli RNA ribosomali

I geni degli RNAr sono trascritti dalla *RNA polimerasi I* e ciascun gene produce lo stesso trascritto primario di RNA (RNAr 45S).

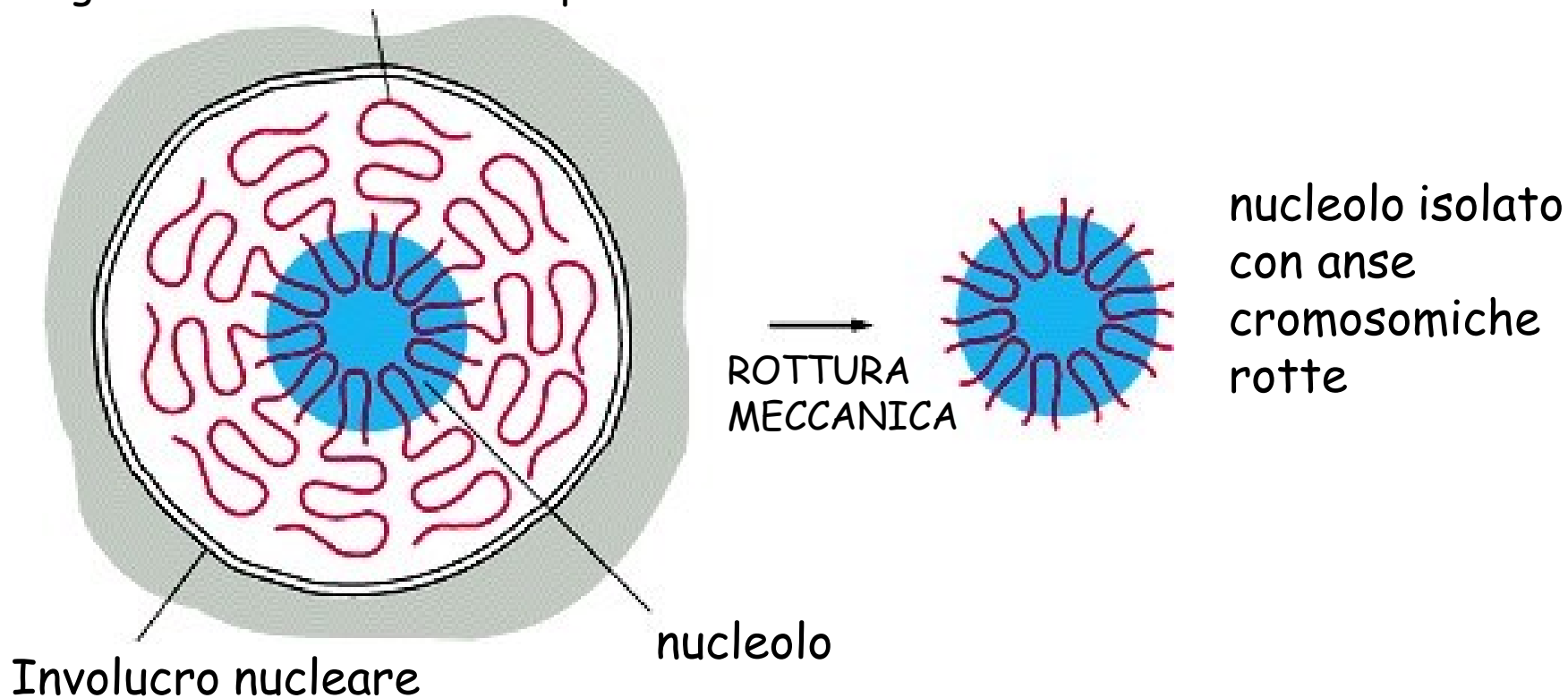


I geni degli RNAr 5S sono lunghi soltanto 120 coppie di nucleotidi e come altri geni che codificano piccoli RNA stabili (i più notevoli dei quali sono gli RNA transfer) sono trascritti dall'RNA polimerasi III.

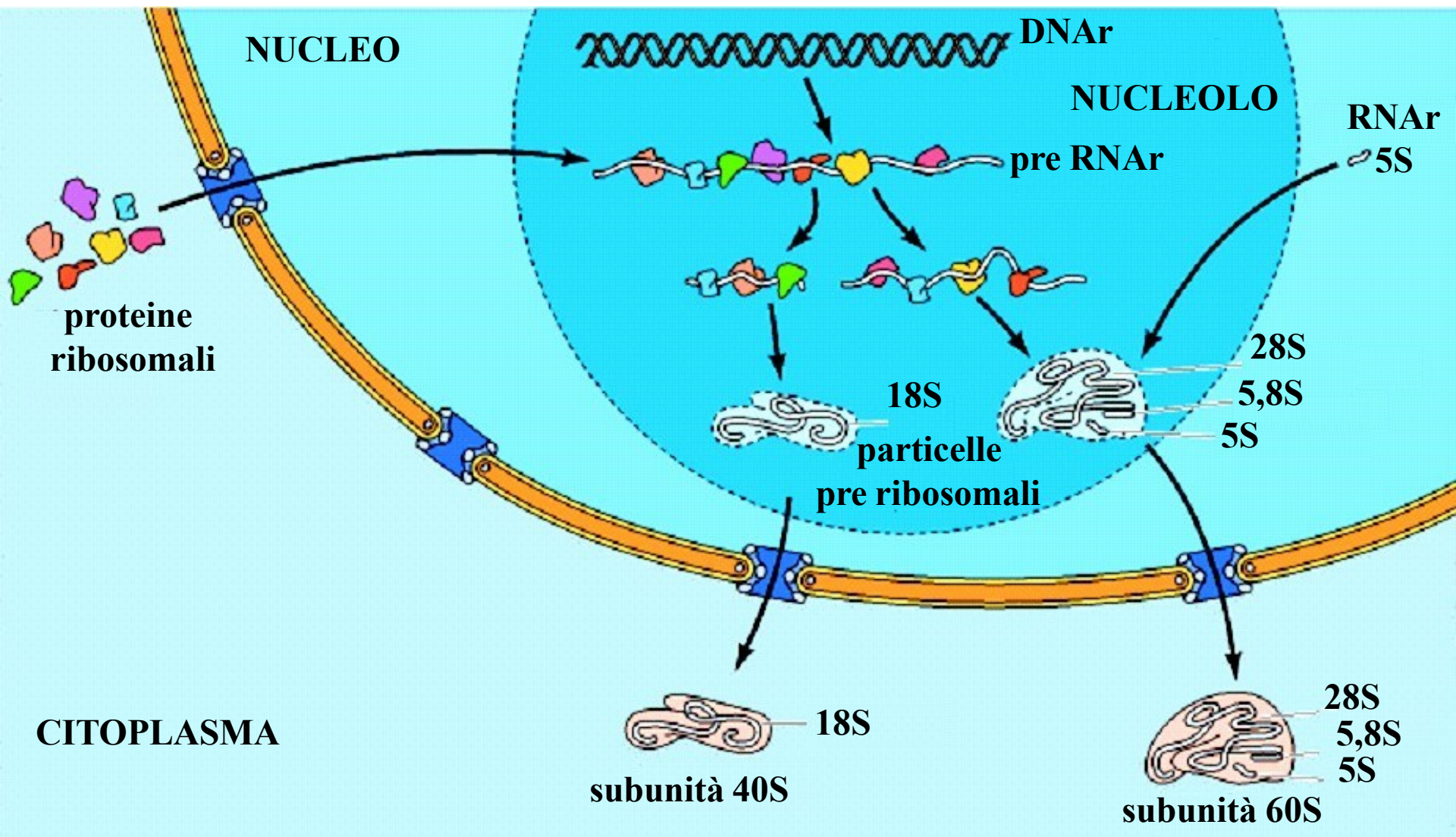
IL NUCLEOLO E' UNA MACCHINA CHE PRODUCE I RIBOSOMI

10 cromosomi interfascici espansi che forniscono al nucleolo le anse di DNA che producono RNAr

Le anse di cromatina contenenti i geni per gli RNAr provengono da 10 cromosomi separati



ASSEMBLAGGIO DEI RIBOSOMI



Le proteine ribosomali vengono portate dal citoplasma al nucleo ed iniziano ad assemblarsi sul pre RNAr. Dopo il taglio del pre RNAr vengono aggiunte altre proteine ribosomali e l'RNAr 5S (che nel nucleo viene sintetizzato altrove) a formare le particelle pre ribosomali. Gli step finali della maturazione sono completati nel citoplasma dove le particelle pre ribosomali diventano subunità ribosomali mature 40S e 60S.

LA TRADUZIONE DELL'RNAm

L'RNA transfer

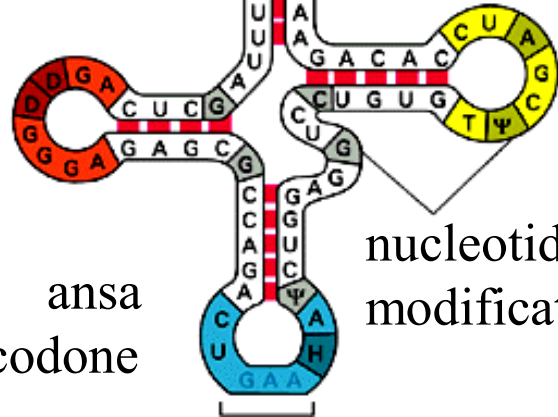
l'aminoacido si
attacca qui

OH estremità 3'

estremità 5'

ansa T

ansa D



l'aminoacido
si attacca qui

anticodon

anticodon

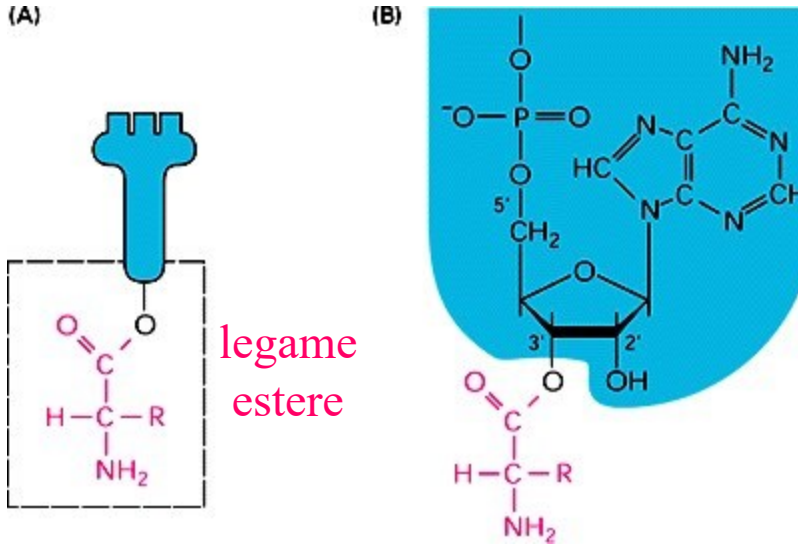
LA STRUTTURA A TRIFIGLIO

RNA transfer (RNAt)

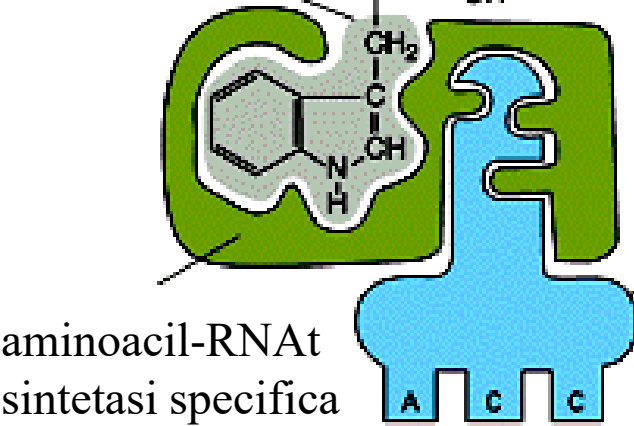
LA TRADUZIONE DELL'RNAm: l'RNAt

La struttura del legame aminoacil-RNAt

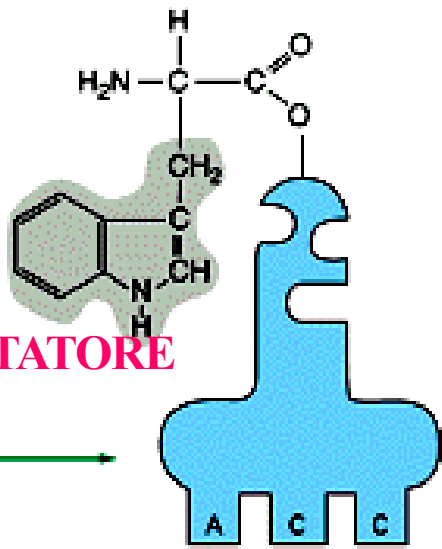
L'estremità COOH dell'aminoacido forma un legame estere con il ribosio. Poiché l'idrolisi di questo legame è associata a una variazione di energia libera molto alta, si dice che un aminoacido legato in questo modo è attivato.



aminoacido (triptofano)

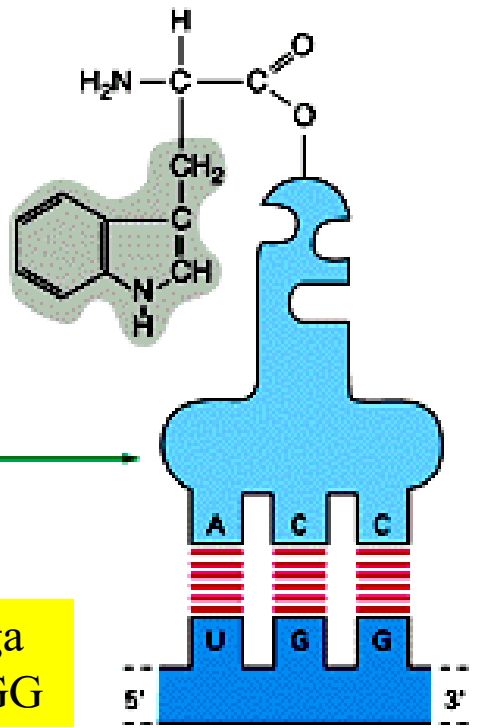


RNA_t specifico
2° ADATTATORE



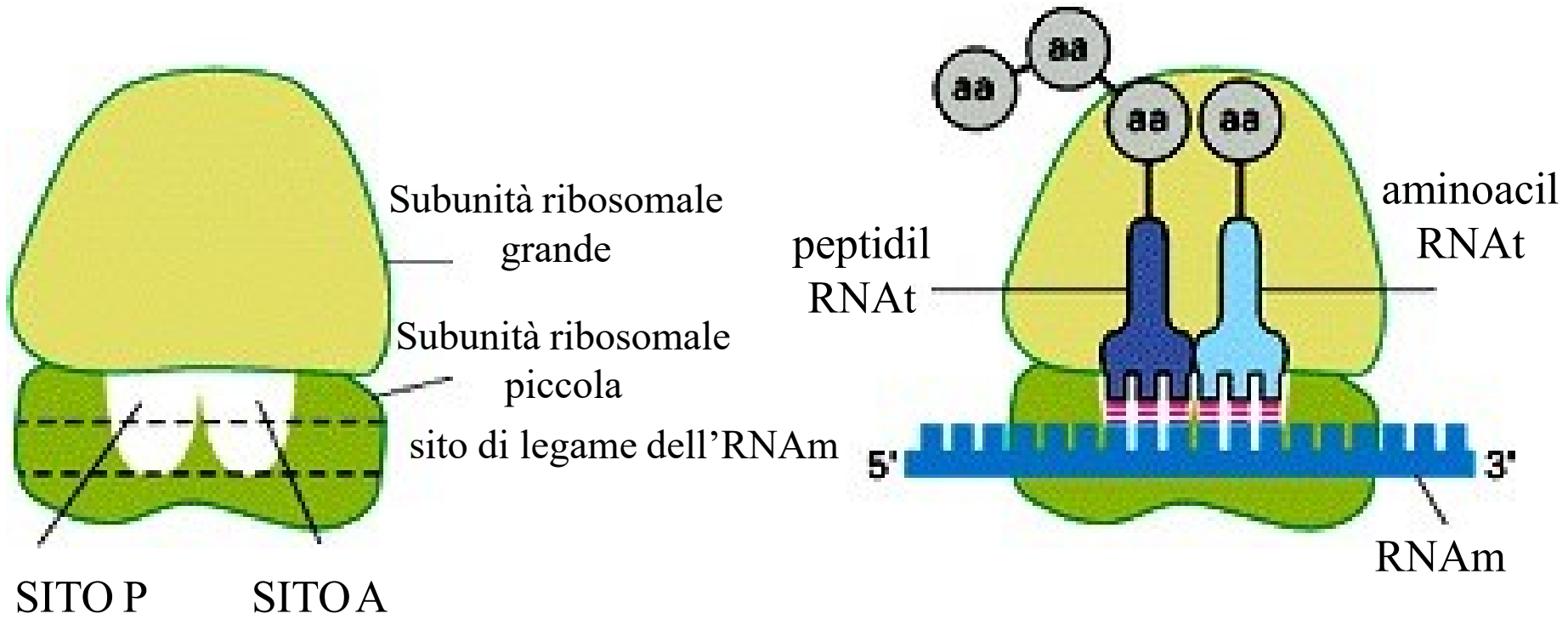
unione del Trp all'RNAt

il Trp si lega al codon UGG

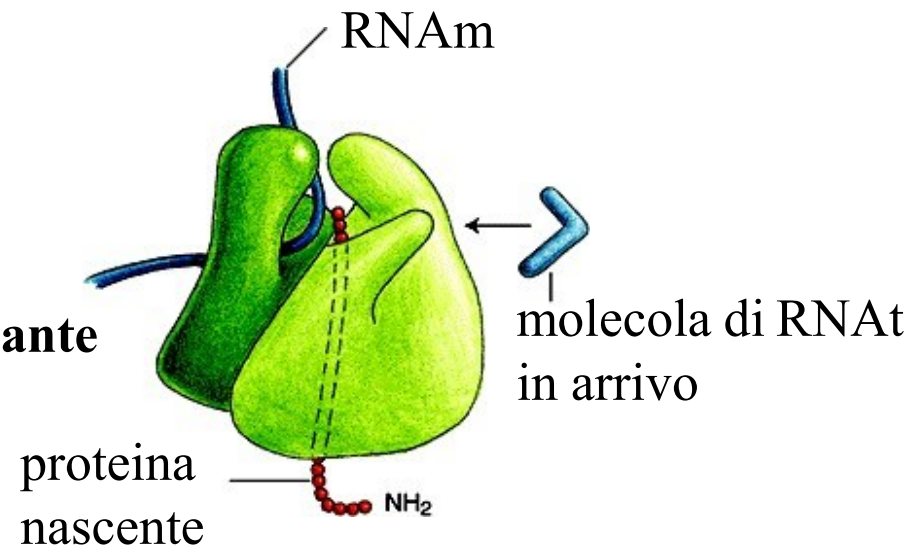


Il codice genetico è tradotto per mezzo di due “adattatori” sequenziali

I tre siti principali che legano RNA su di un ribosoma



Modello di ribosoma funzionante



La fase di inizio

TRADUZIONE DELL'RNAm

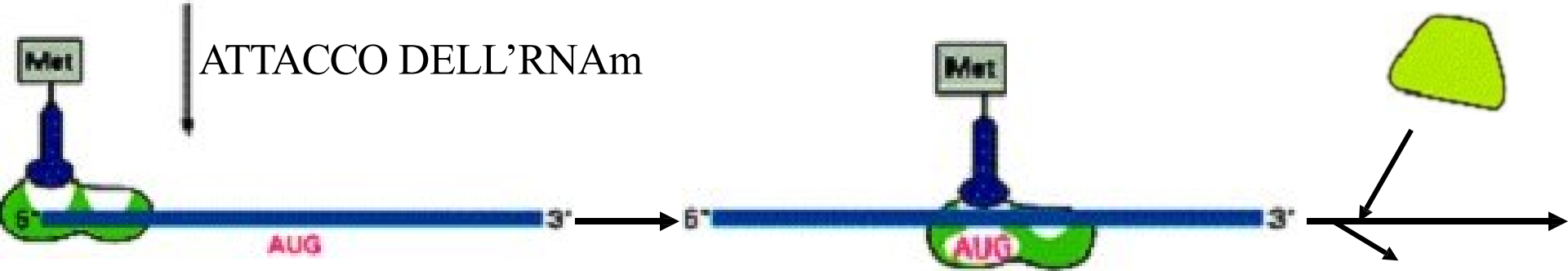
RNA_t iniziatore



subunità ribosomale piccola con attaccati i fattori di inizio

RICONOSCIMENTO DEL SITO DI INIZIO DA PARTE DELL'RNA_t INIZIATORE LEGATO

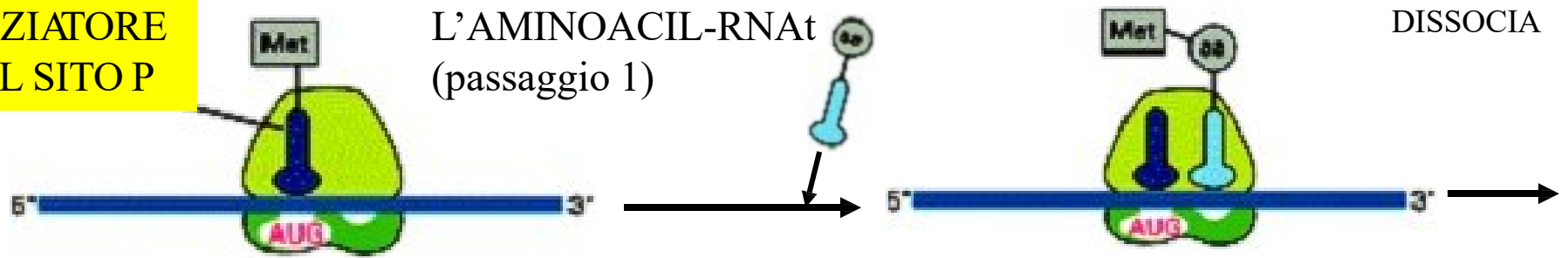
SI LEGA LA SUBUNITA' GRANDE



RNA_t INIZIATORE NEL SITO P

SI LEGA L'AMINOACIL-RNA_t (passaggio 1)

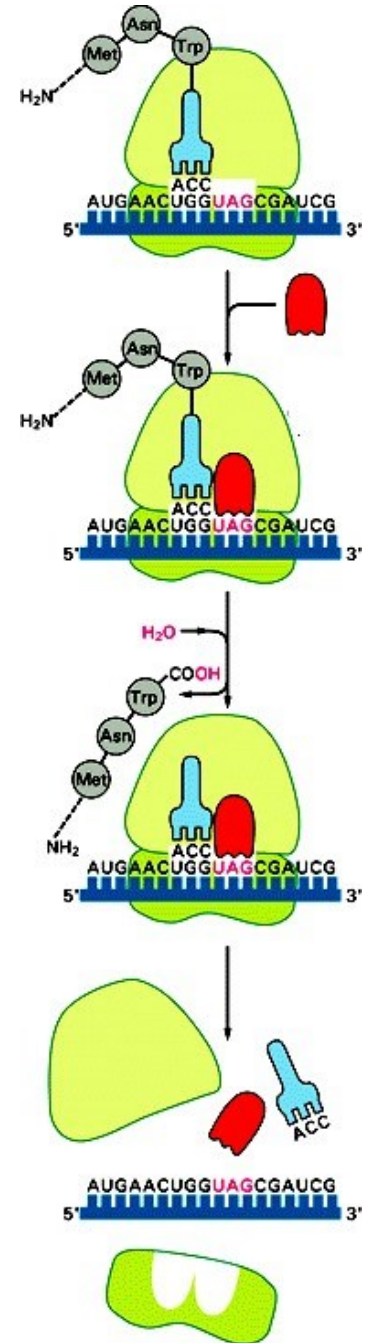
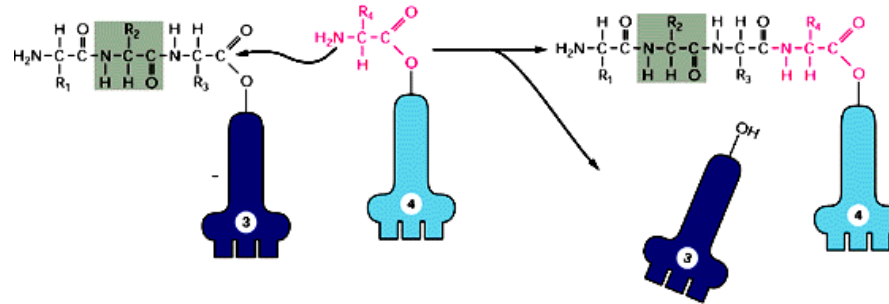
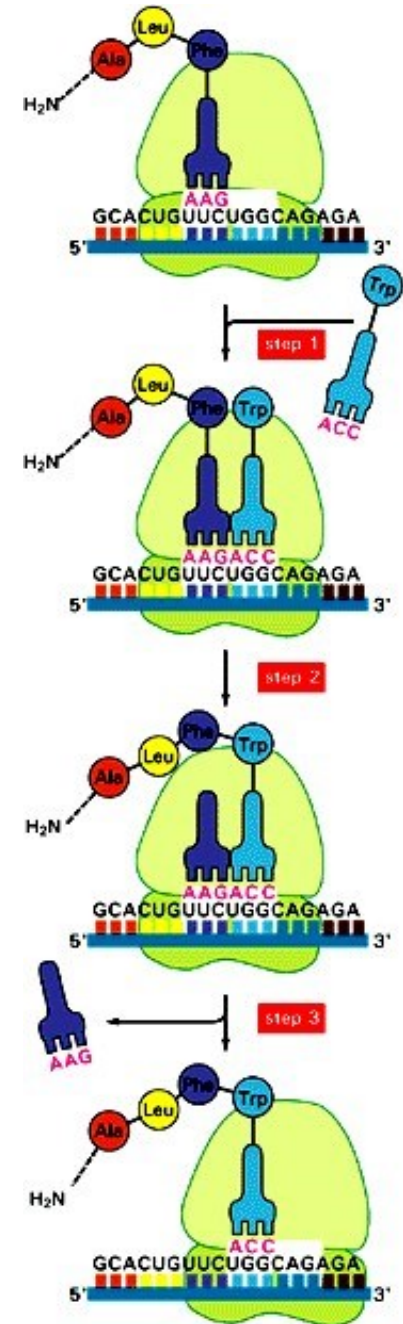
IL FATTORE DI INIZIO SI DISSOCIA



SI FORMA IL PRIMO LEGAME PEPTIDICO (passaggio 2)

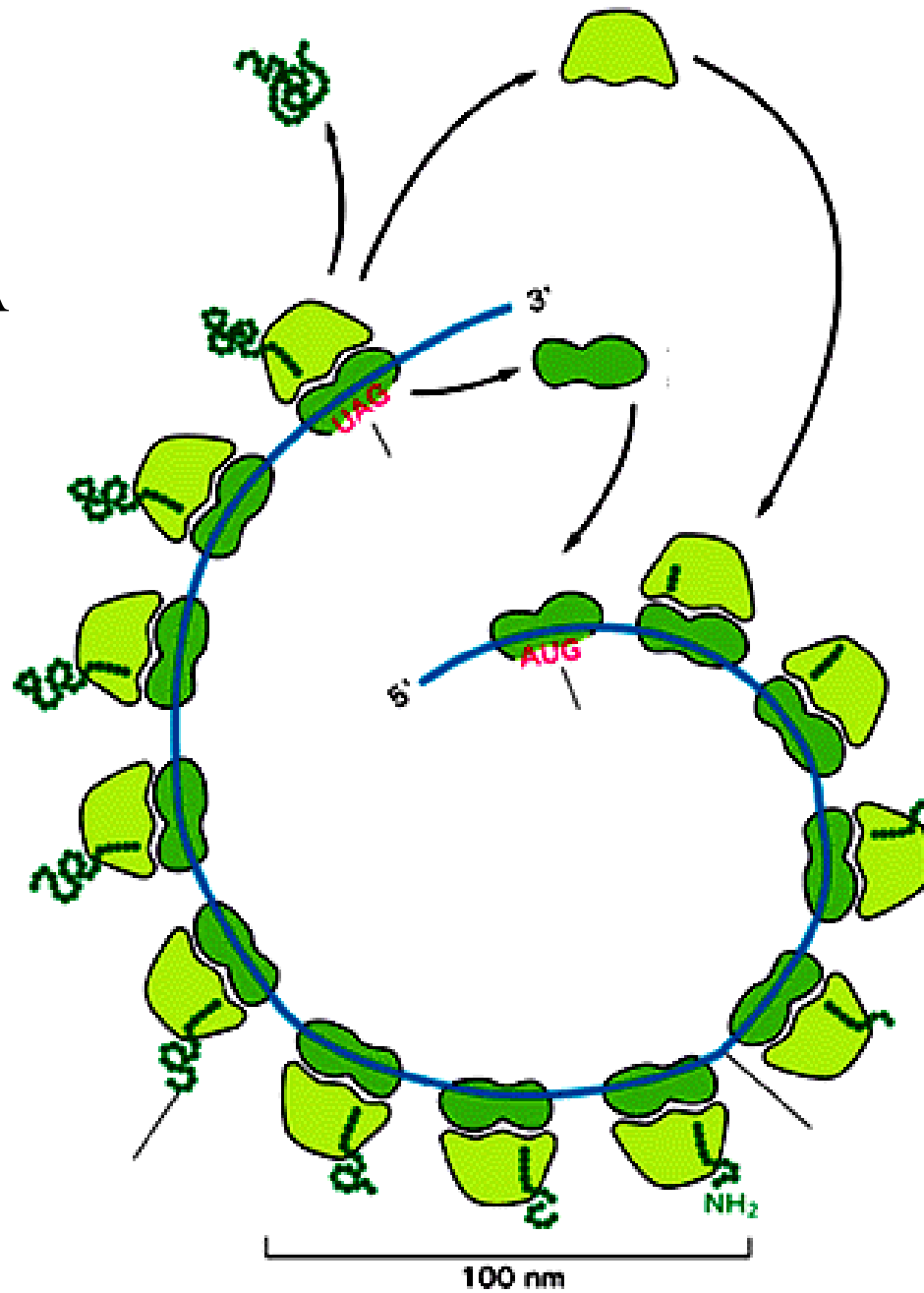


IL LEGAME PEPTIDICO

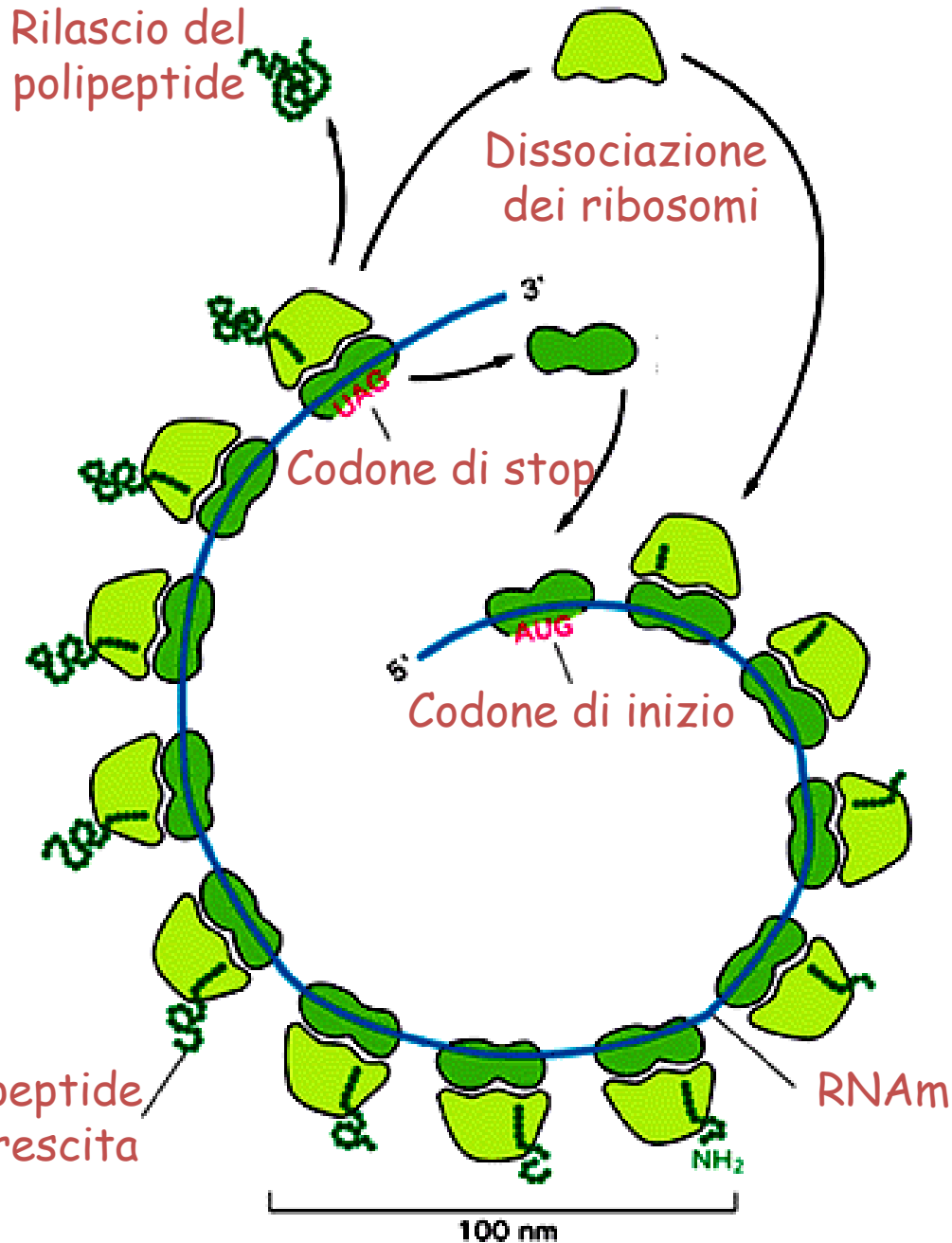


TRADUZIONE DELL'RNAm

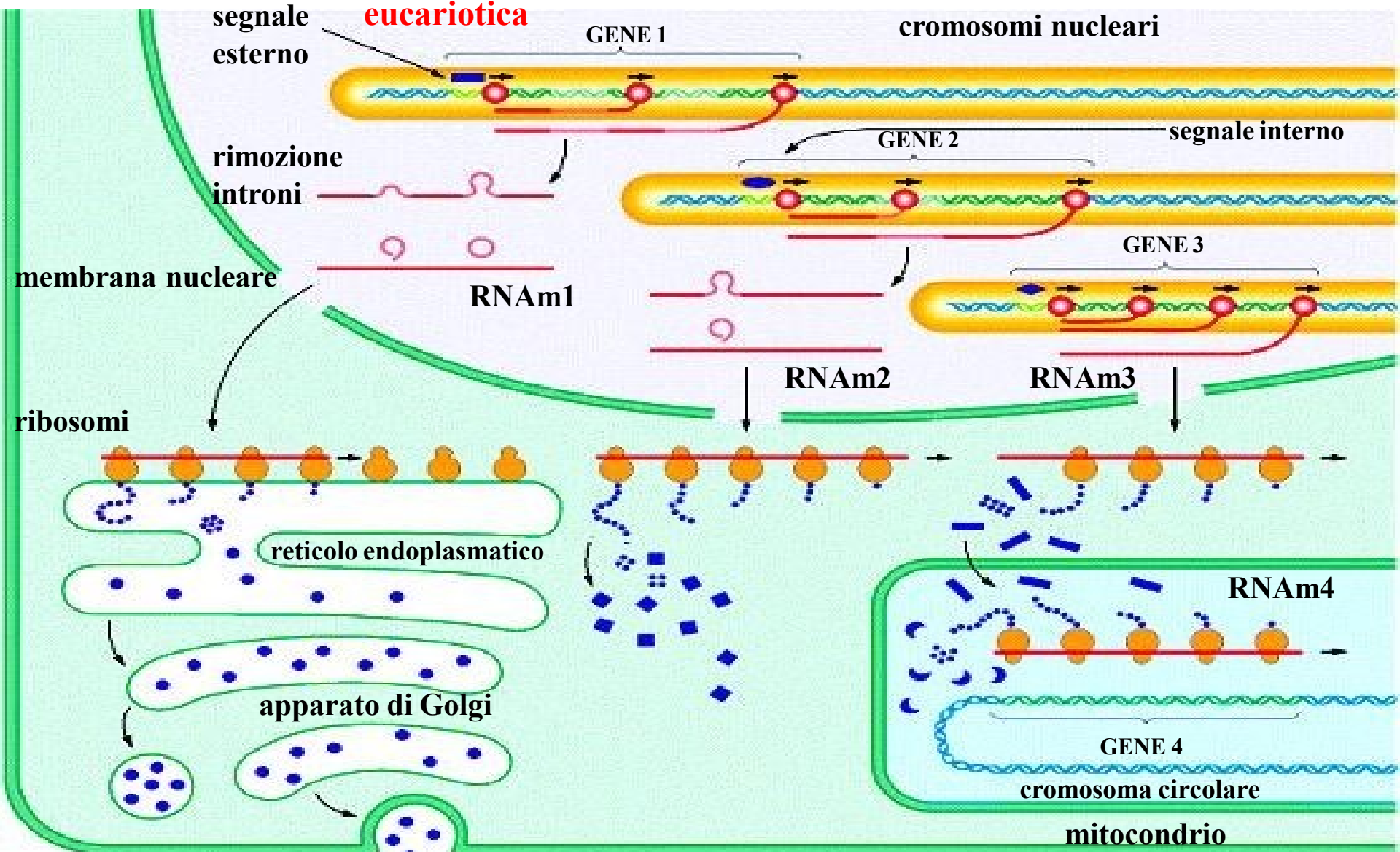
UN POLIRIBOSOMA



POLIRIBOSOMA



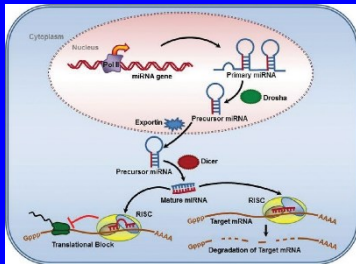
Schema dell'azione di un gene in una cellula eucariotica



- ~~~~~ DNA codificante
- ~~~~~ DNA non codificante
- _____ RNA codificante
- _____ RNA non codificante
- ^V^ promotore
- proteine regolatrici
- RNA polimerasi
- proteine secrete
- proteine interne
- C proteine mitocondriali
- catena aminoacidi

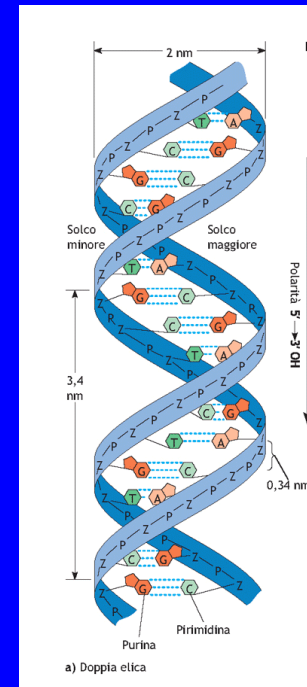


I microRNA: il loro geni e i loro target

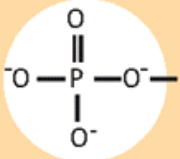
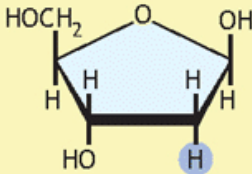
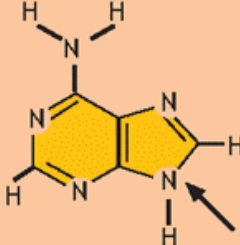
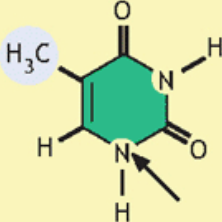
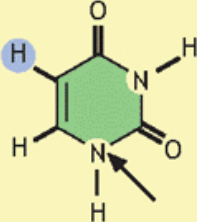
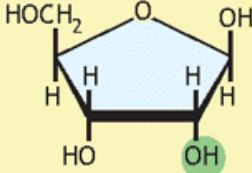
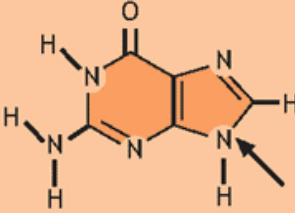
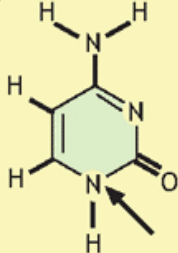


...ma prima di parlare dei miRNA vediamo alcuni cenni di biologia molecolare:

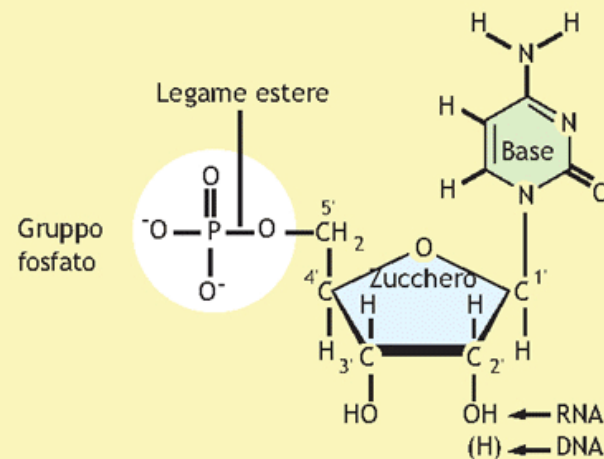
Gli acidi nucleici
Nucleotidi
DNA ed RNA
Appaiamento delle basi
Direzionalità



Il nucleotide

Gruppo fosfato	Zuccheri	Basi		
		Purine	Pyrimidine	
	 <p>β-D -desossiribosio (nel DNA)</p>	 <p>Adenina (A)</p>	 <p>Timina (T) (nel DNA)</p>	 <p>Uracile (U) (nell'RNA)</p>
	 <p>β-D-ribosio (nell'RNA)</p>	 <p>Guanina (G)</p>	 <p>Citosina (C)</p>	

Nucleotide



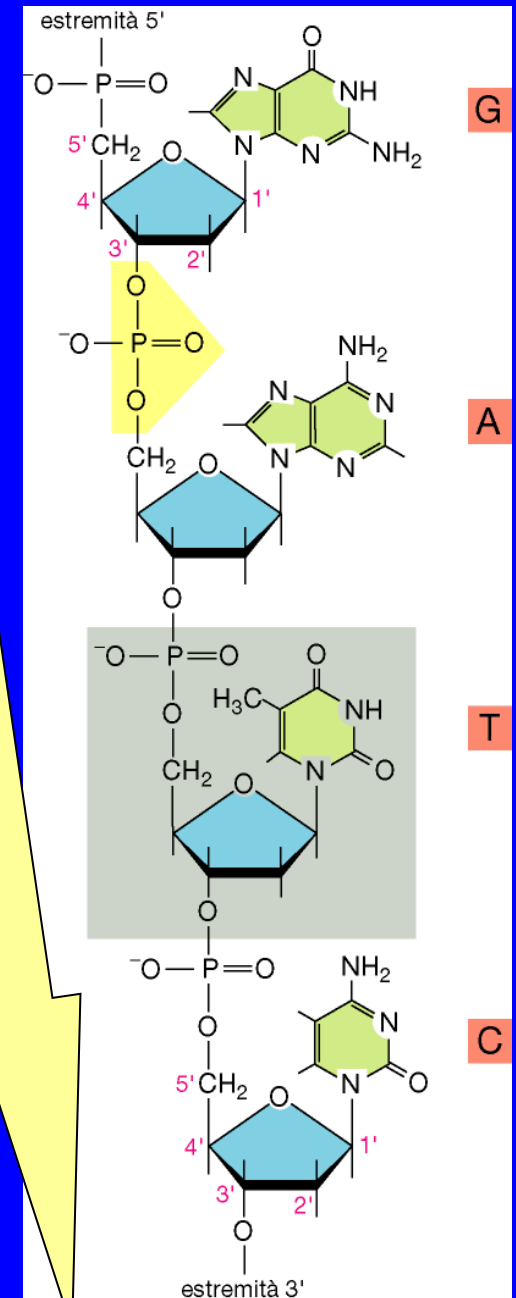
Il legame fosfodiester

Le catene di acido nucleico vengono sintetizzate a partire da nucleotidi trifosfato ricchi di **energia**, tramite una reazione di **condensazione** che libera pirofosfato inorganico, mentre si forma il legame fosfodiester

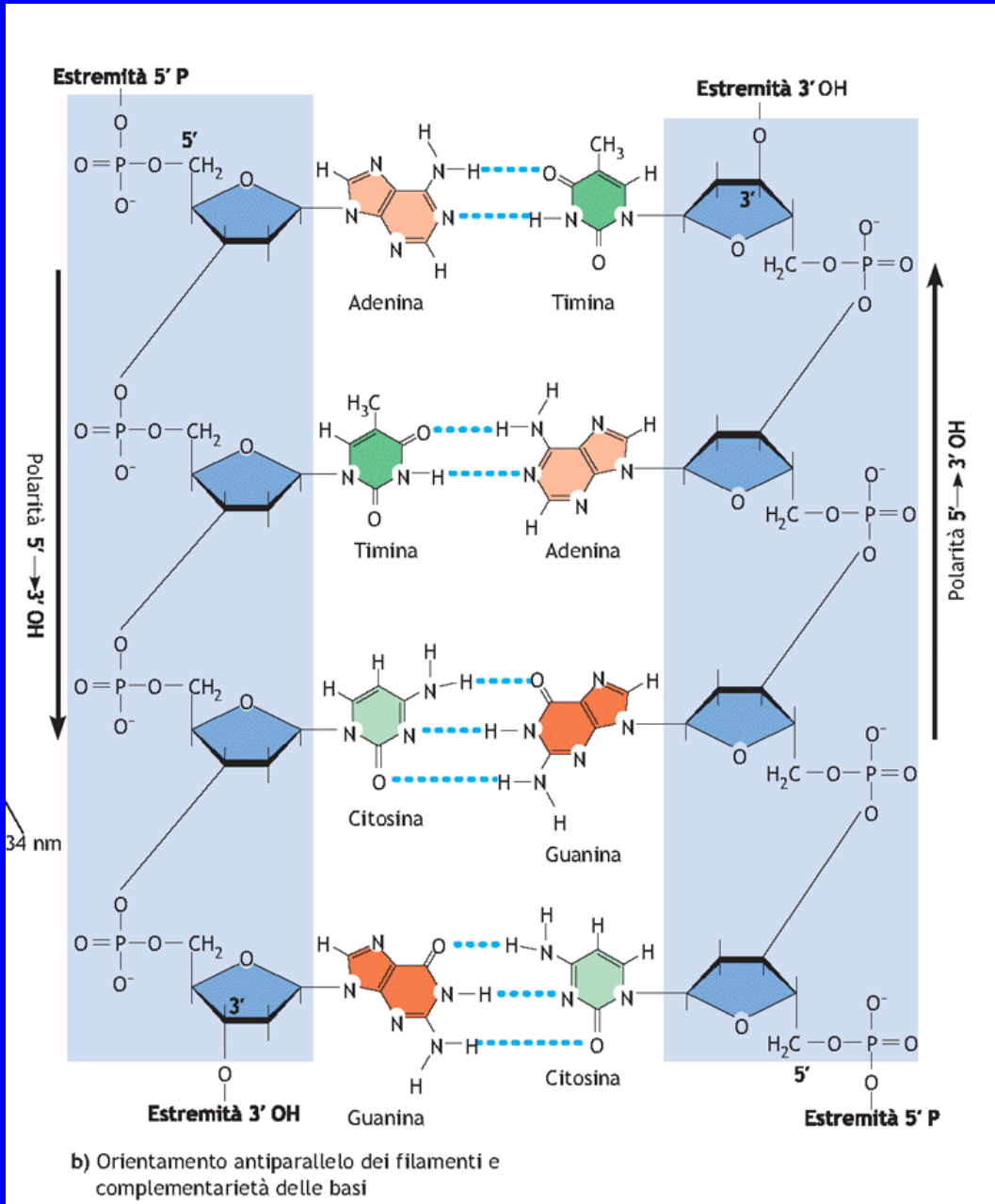
Molecole direzionali

Gli acidi nucleici hanno una precisa direzionalità, cioè una polarità strutturale:

- Gli acidi nucleici sono sintetizzati dal 5' al 3'
- la sequenza nucleotidica viene scritta nello stesso ordine



DNA: eliche antiparallele



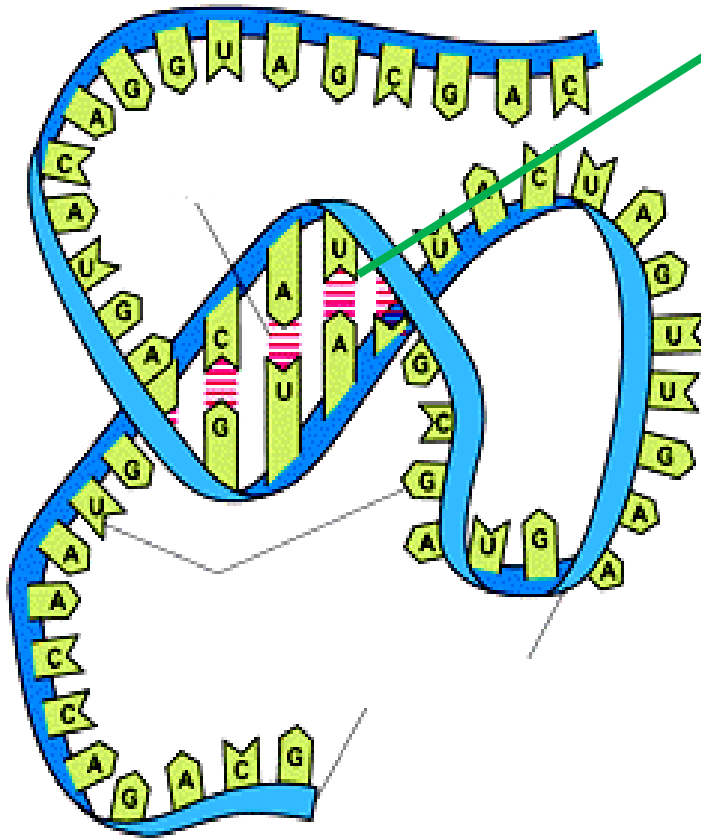
Le 2 singole eliche sono antiparallele, questo significa che le eliche corrono in direzioni opposte avendo entrambe la stessa polarità:

5'P → 3'OH

Struttura degli acidi nucleici

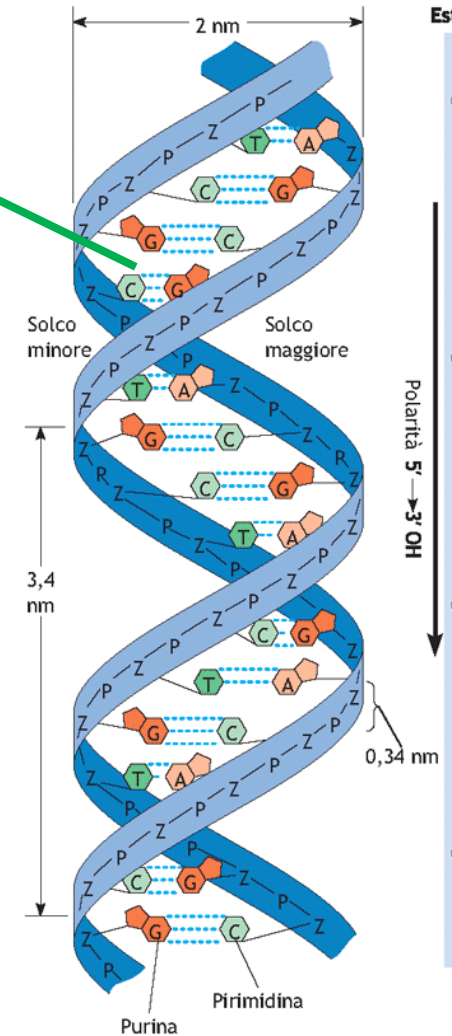
RNA

DNA



Singola catena

Appaiamento delle basi

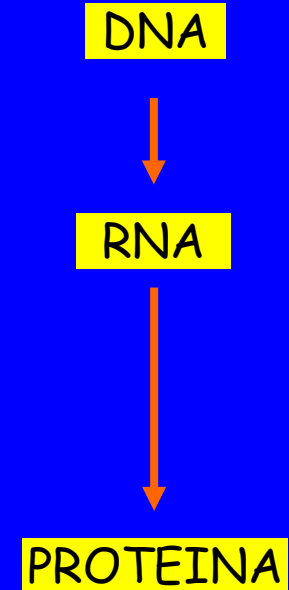
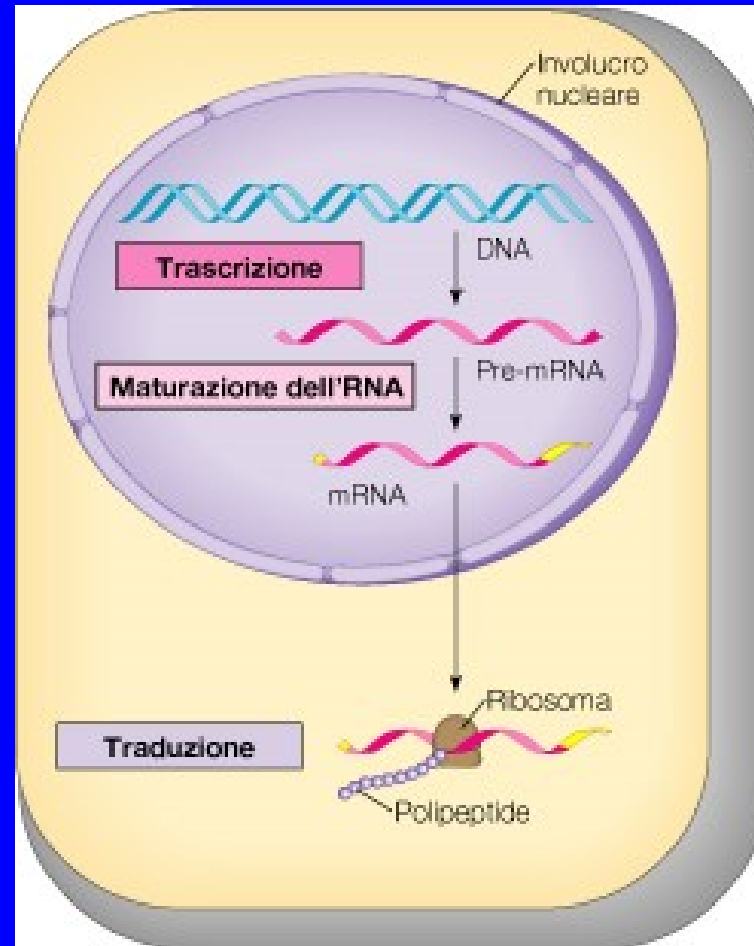


a) Doppia elica

Doppia catena

Flusso dell'informazione genetica - Dogma centrale

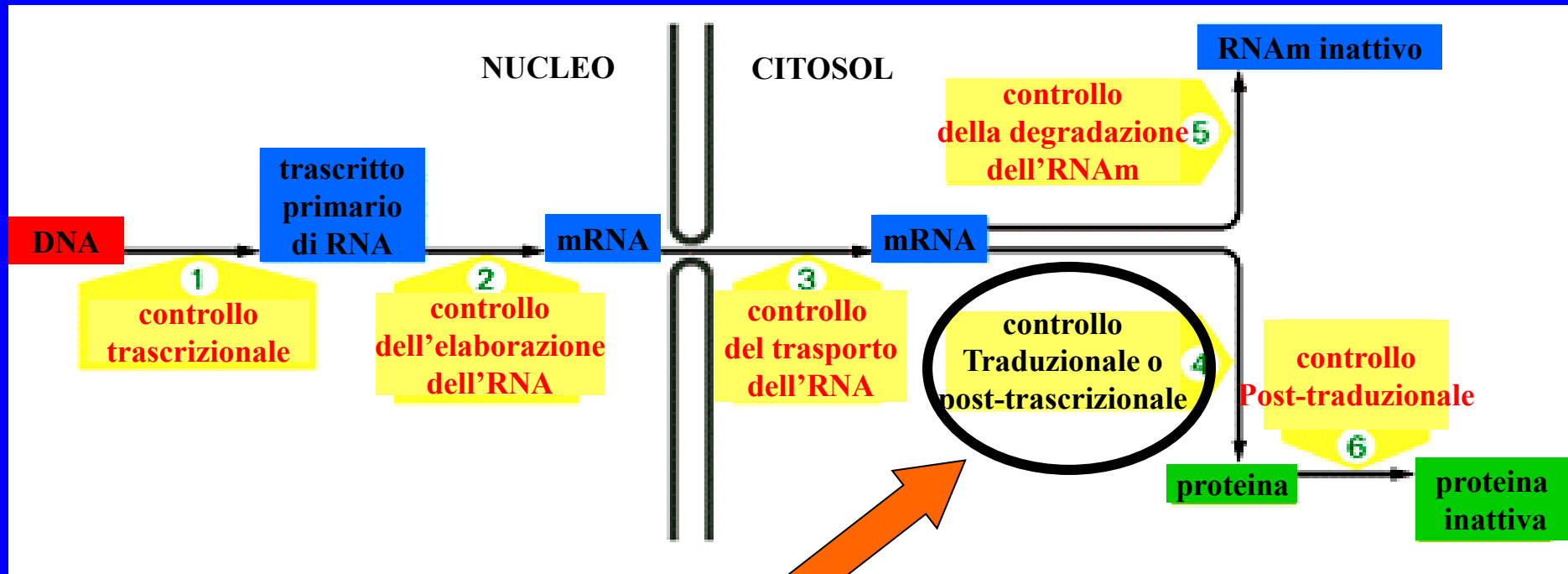
Quando la cellula ha bisogno di una particolare proteina, la sequenza nucleotidica di un preciso tratto di DNA, situato sulla infinitamente lunga molecola di un cromosoma, viene inizialmente ricopiata ad RNA che farà da stampo per dirigere la sintesi delle proteine



Dogma centrale della biologia molecolare:

L'informazione genetica fluisce continuamente dal DNA all'RNA alle proteine

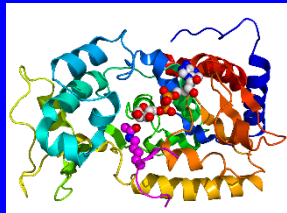
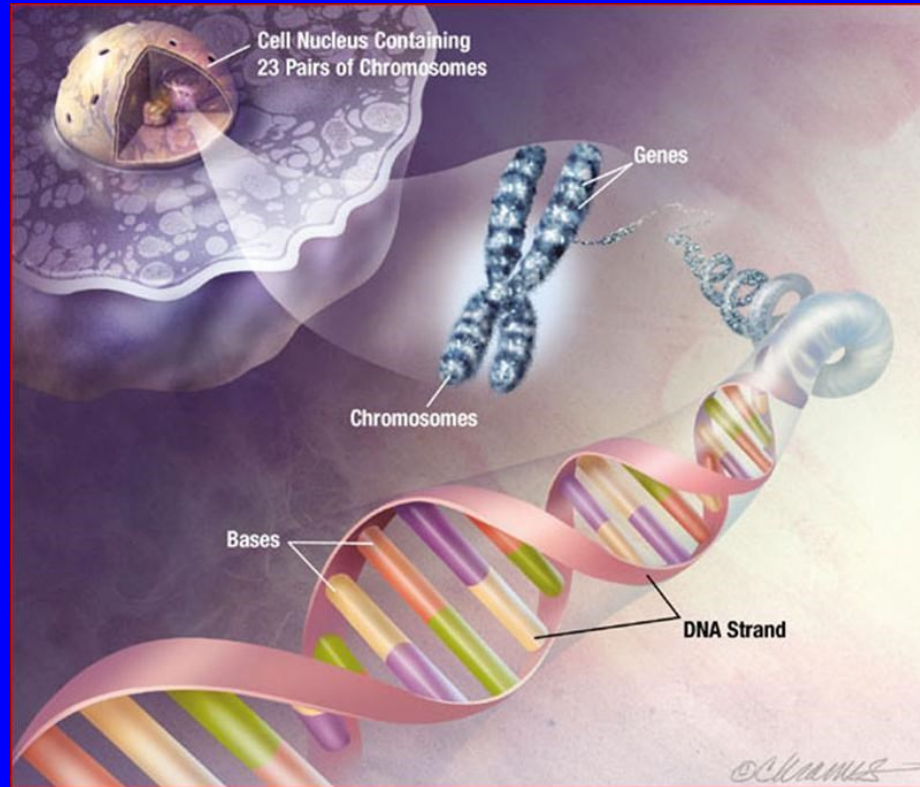
Il controllo dell'espressione dei geni negli eucarioti



L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine

Flusso dell'informazione genetica

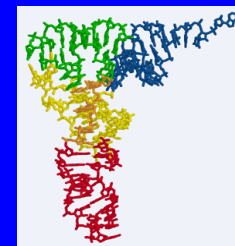
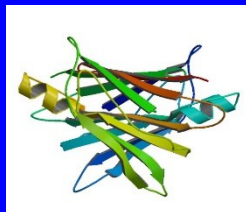
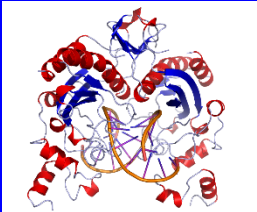
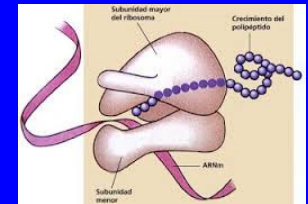
Stima del numero
di geni presenti
sul genoma
umano:
50 000 geni



Proteine

Prodotti genici

RNA



...ma non solo...

RNA: una molecola per molteplici funzioni

Classici RNA coinvolti nella sintesi proteica:

mRNA	RNA messaggero
rRNA	RNA ribosomiale
tRNA	RNA transfert

RNA coinvolti in duplicazione, compattamento, splicing, maturazione dell'RNA e sorting delle proteine:

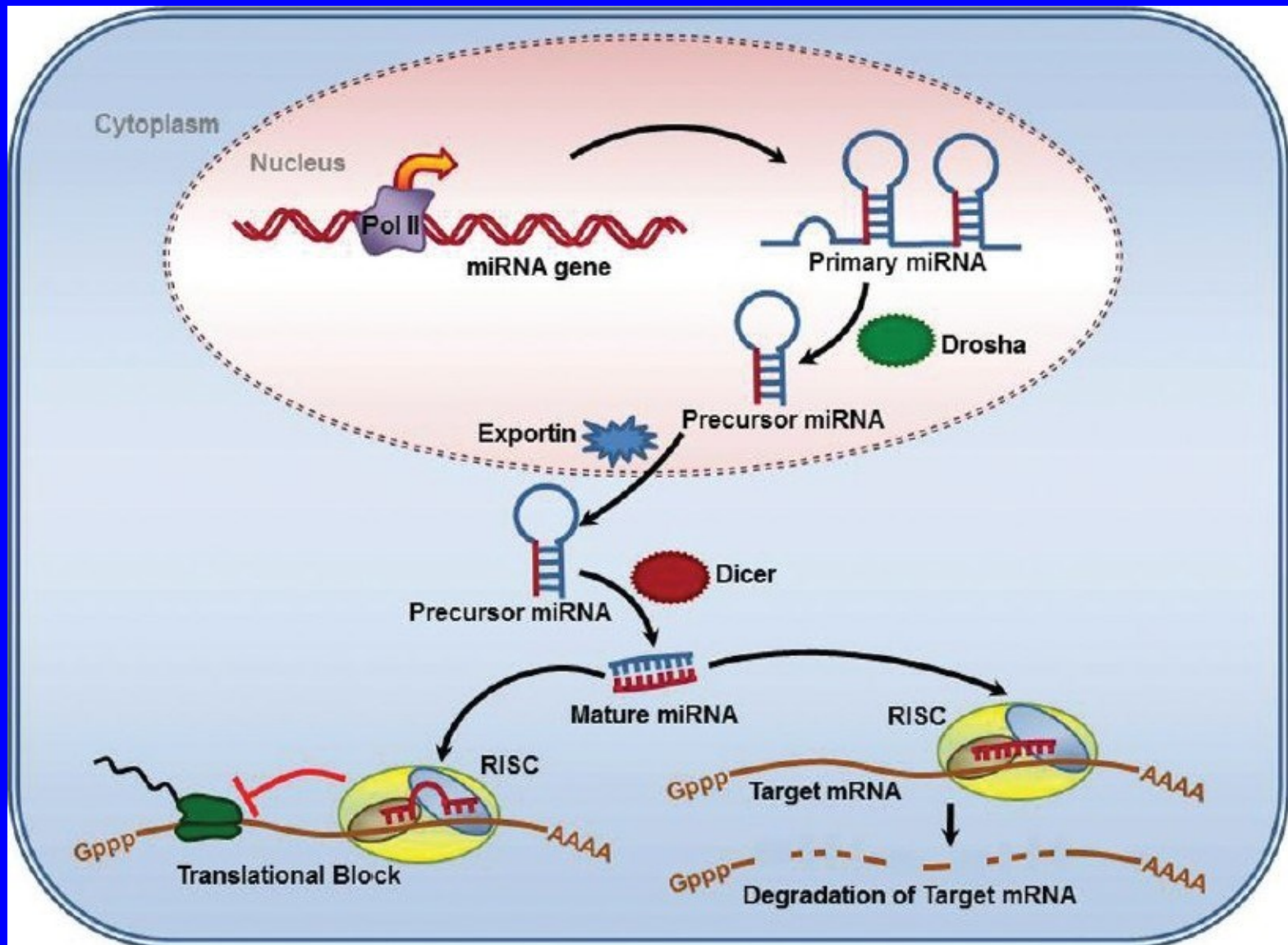
TERC <i>(Telomerase RNA component)</i>	Coinvolto nella duplicazione del DNA
Xist <i>(X inactive-specific transcript)</i>	Coinvolto nella formazione del corpo di Barr
snRNA <i>(small nuclear RNA)</i>	Coinvolti nello splicing
snoRNA <i>(small nucleolar RNA)</i>	Coinvolti nella maturazione dell'rRNA
scRNA <i>(small cytoplasmic RNA)</i>	Coinvolti nel sorting delle proteine

RNA: una molecola per molteplici funzioni

RNA non codificanti coinvolti nel controllo dell'espressione genica:

miRNA <i>(micro-RNA)</i>	Regolano negativamente l'espressione genica
siRNA <i>(Small interfering RNA)</i>	Piccoli RNA sintetizzati chimicamente o di origine virale (<u>invece i miRNA sono endogeni!</u>) Hanno la funzione di degradare l'mRNA bersaglio attraverso un meccanismo definito RNA interference (RNAi) Agiscono solo per complementarità perfetta: ogni siRNA può avere un unico mRNA bersaglio (<u>invece i miRNA possono avere più bersagli!</u>)
piRNA <i>(PiwiRNA)</i>	Generati da lunghi precursori ssRNA agiscono grazie alla proteina piwi (Ago) e sono coinvolte nello sviluppo delle cellule germinali
ra siRNA <i>(repeat associated small interfering RNA)</i>	Sottofamiglia dei piRNA, ma ancora tutta da scoprire
ncRNA <i>(longer non-coding RNA)</i>	70-5000 nt: funzione sconosciuta

MicroRNA



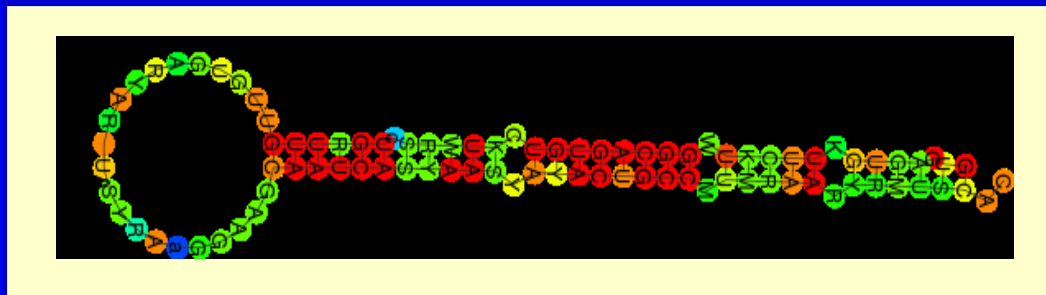


Cosa sono i MicroRNA o miRNA?

I microRNA sono un gruppo di piccoli RNA non codificanti a singolo filamento (ss) che sono stati identificati in molti organismi

Sono formati da 18-22 nucleotidi

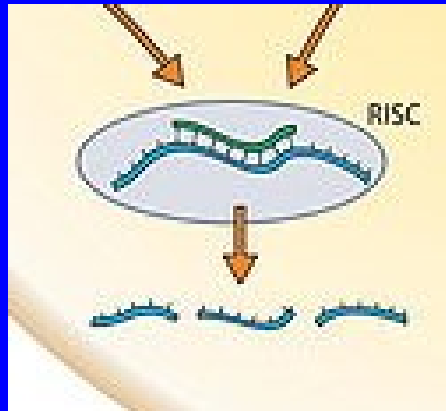
Sono originati da un precursore a stem-loop



Funzione dei microRNA

Il loro ruolo fondamentale è quello di

regolare negativamente l'espressione genica
a livello post-trascrizionale
(post-transcriptional gene silencing, PTGS)



I miRNA agiscono mediante il riconoscimento di specifici mRNA targets al fine di determinarne la degradazione o la repressione della traduzione.

- La funzione di molti miRNA non è nota, ma per alcuni è stata provata la partecipazione a processi fisiologici e patologici:
- Hanno un ruolo in proliferazione, apoptosi e differenziazione cellulare
- Possono essere deregolati in malattie umane
- Possono essere coinvolti nella tumorigenesi.



Conservazione dei miRNA

Table II. **miRNAs conserved across phyla**

Name	Sequence ¹	Homologues ²
miR-1	UGGAAUGUAAAGAAGUAUGGAG	C, D, H
miR-2	UAUCACAGCCAGCUUUGA(G/U)G(U/A)GC ³	C, D
miR-7	UGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGU	D, H
miR-34	AGGCAGUGUGGUUAGCUGGUUG	C, D, H
miR-60	UAUUAUGCACAUUUUCUAGUUCA	C, D, H
miR-79	AUAAAGCUAGGUUACCAAAGCU	C, D
miR-84	UGAGGUAGUAUGUAAUAUUGUA	C, D, H
miR-87	GUGAGCAAAGUUUCAGG(U/A)GU ³	C, D, H

¹RNA sequences are deduced from cDNA sequencing; no RNAs have yet been sequenced.

²C, *C. elegans*; D, *D. melanogaster*; H, *H. sapiens*.

³Letters in parentheses indicate variations in otherwise identical miRNAs from different organisms or variant genes within one organism.

Scoperta dei miRNA



Tappe della scoperta dei miRNA:

Chalfie, 1981;

Ambros, 1989;

Ruvkun, 1991

Lee, 1993

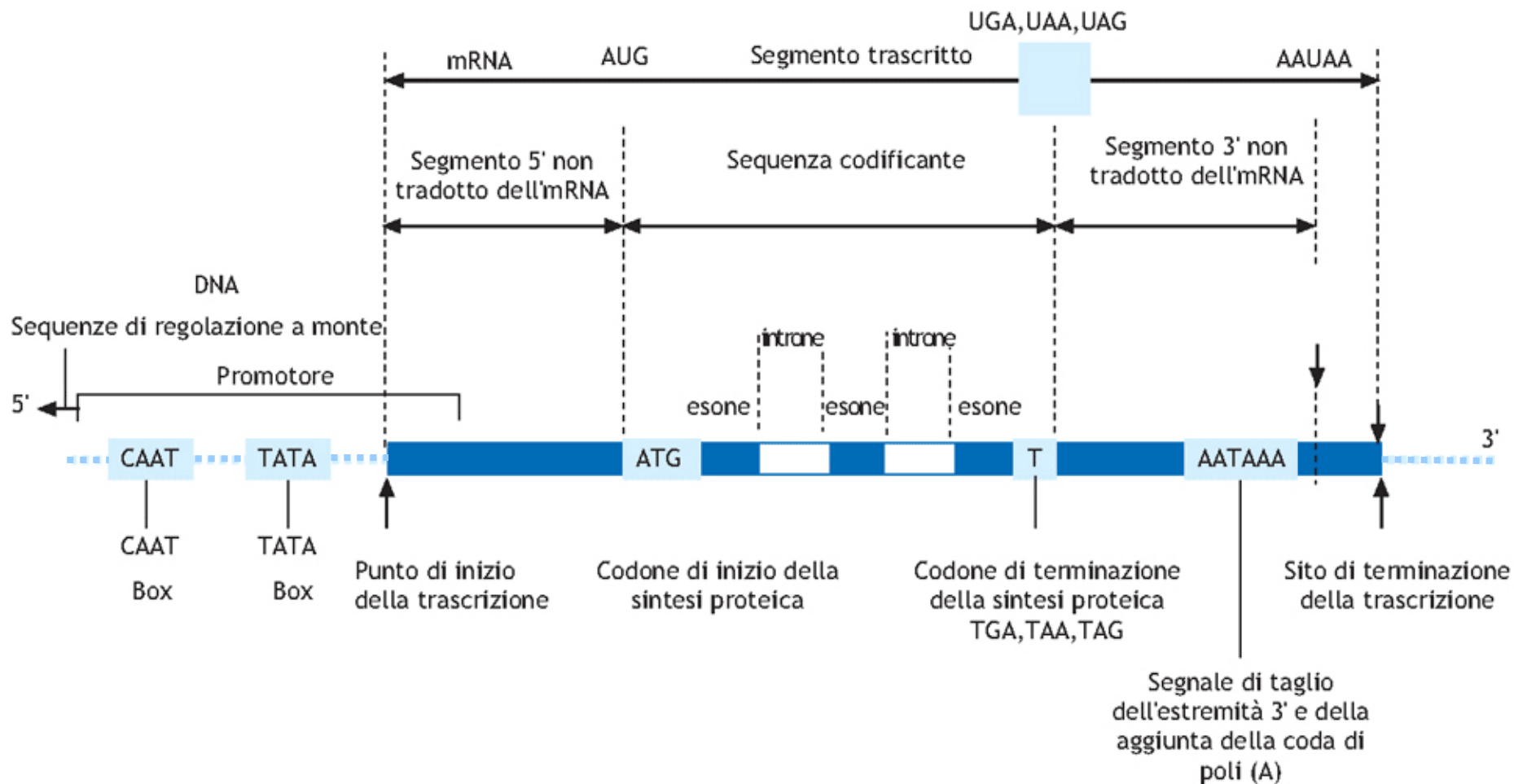
Wightman, 1993

Reinhart, 2000

2001: Dimostrata l'esistenza di una grande nuova classe di RNA con un potenziale ruolo regolativo (miRNA)

- sono una nuova abbondante classe di riboregolatori che possono regolare l'espressione genica a livello post-trascrizionale attraverso l'appaiamento delle basi nel 3'UTR dell'mRNA target.

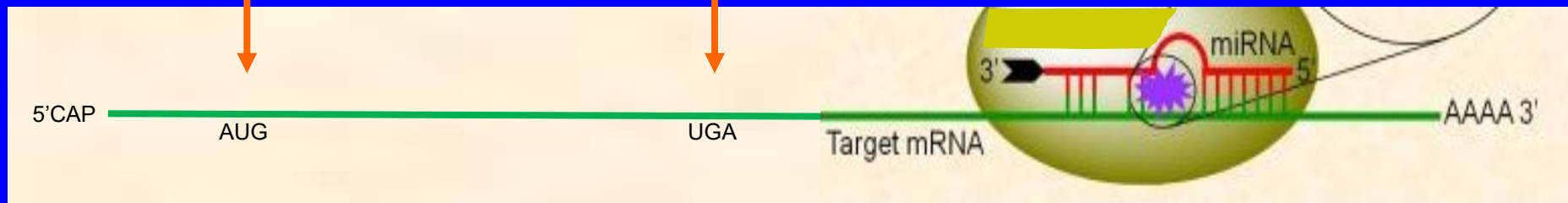
Come si legge un gene



Il microRNA agisce mediante l'appaiamento delle basi nel 3'UTR dell'mRNA target

Codone di inizio
della traduzione

Codone di fine
della traduzione



5'UTR

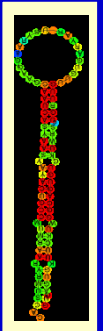
3'UTR



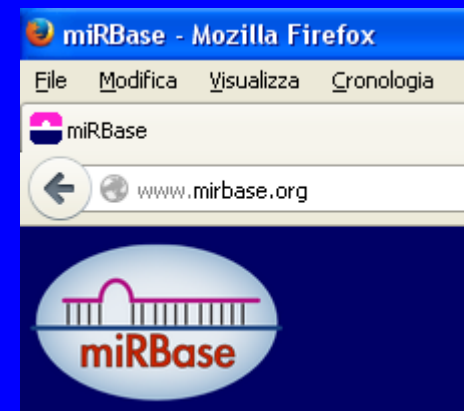
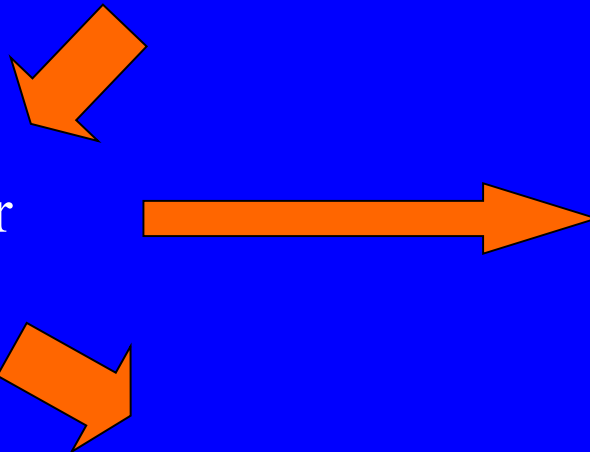
The miRNA Registry: miRBase

Nel 2003 è stato creato un miRNA database: in base alle seguenti osservazioni:

1. I miRNA sono prodotti da un trascritto precursore di 70-100 nt con un struttura a stem-loop
2. I miRNA sono altamente conservati tra le specie
3. I miRNA hanno un pattern caratteristico di divergenza nell'evoluzione



Approccio di
bioinformatica per
predire i miRNA



e poi molti sono stati confermati con northern blot e PCR



Stima del numero di miRNA

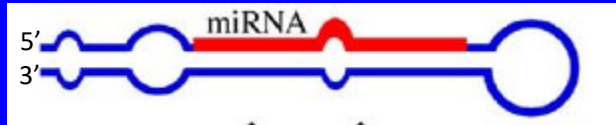
La stima della quantità di miRNA nel genoma è vicina all'1%



simile a quella di altre grandi famiglie geniche con ruolo regolatorio, come quelle che codificano per i fattori di trascrizione

Ad oggi sono stati scoperti circa 2000 miRNA

Nomenclatura

ESEMPIO	NOMENCALTURA
miR-15	I miRNA sono identificati con un numero
miR-16	Il prossimo miRNA senza somiglianza viene chiamato con i numero successivo MiRNA omologhi in organismi diversi vengono chiamati con lo stesso nome
miR-16-1 e miR-16-2	Forme mature identiche ma che vengono prodotte da loci diversi vengono indicate con lo stesso nome, ma con un suffisso numerico
miR-181a e miR-181b	Differenze in 1 o 2 basi vengono indicati con un suffisso letterale
miR-142-5p (sul braccio in 5') e miR-142-3p (sul braccio in 3')	Se un precursore a stem-loop dà origine a 2 miRNA, uno per ogni braccio vengono chiamati con il seguente suffisso: 
miR-191*	La forma meno espressa può essere indicata con un asterisco

Genomica dei miRNA

MiRNA

50%
miRNA intragenici

50%
sono unità
trascrizionali
indipendenti
con un
promotore e
segnali di
poli-
adenilazione

40%
in introni di geni che codificano
per proteine

10%
in introni di
trascritti non
codificanti

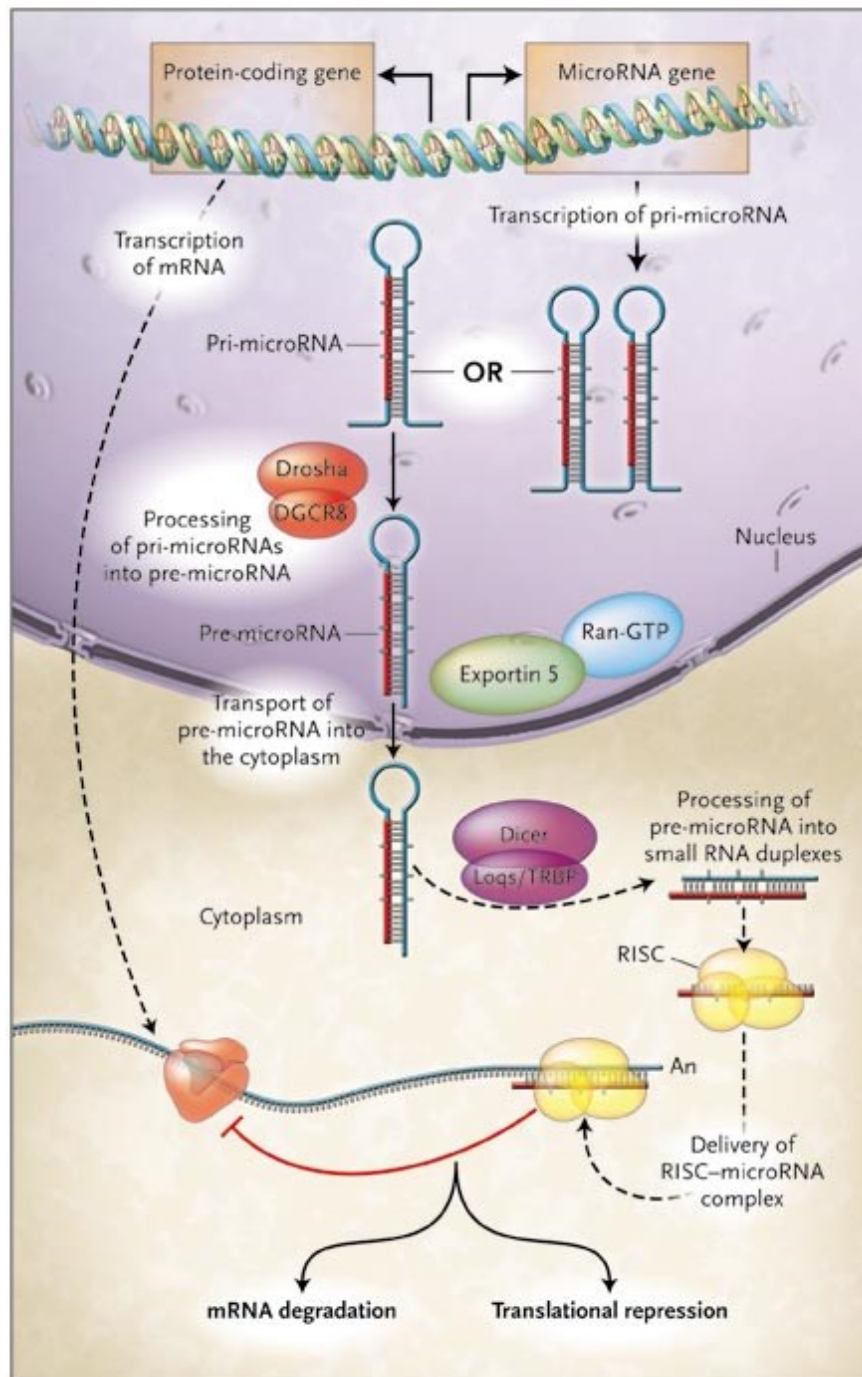
Molti cluster dei miRNA sono:
-unità trascrizionali singole
-o si sovrappongono con il trascritto ospite,
con introni o esoni
-in alcuni casi dipende dello splicing
alternativo del gene ospite
-(trascritti policistronici)
-o si sovrappongono con unità trascrizionali
trascritte sulla strand opposta

Molti miRNA si
trovano in trascritti che
non codificano
proteine, classificati
ncRNAs (long
noncoding RNA).

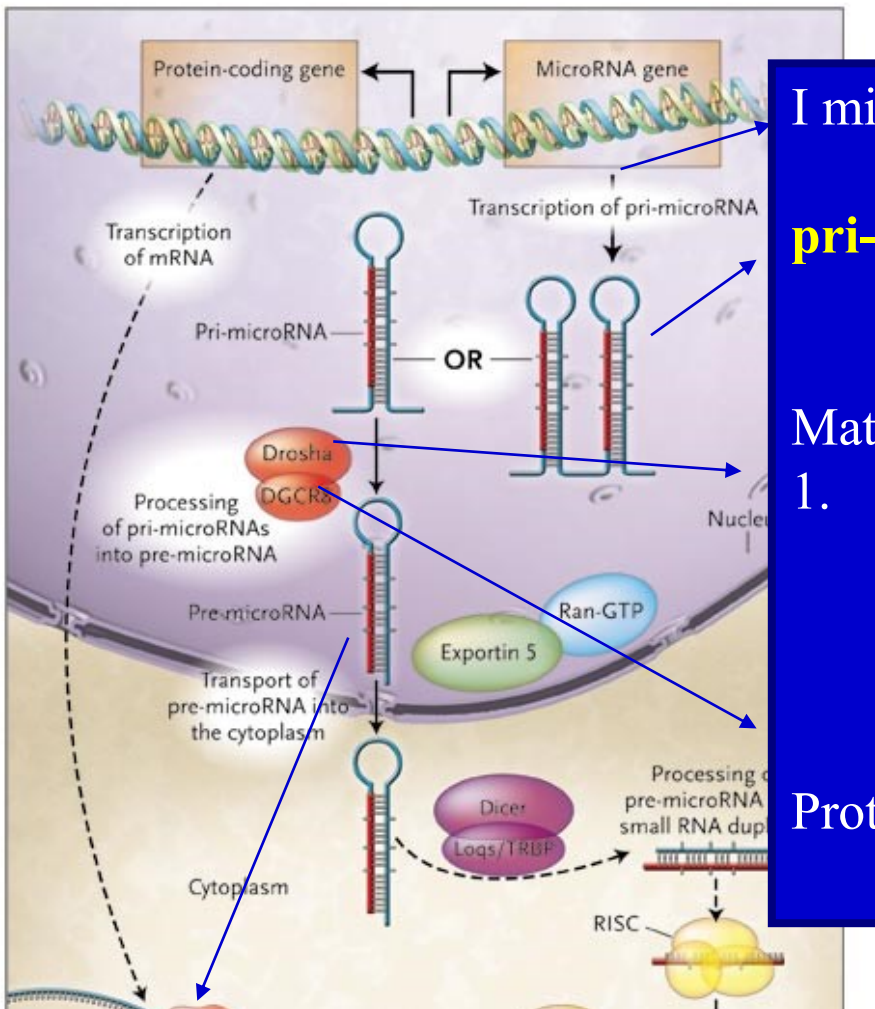
I geni ospiti codificano per proteine
coinvolte nello sviluppo embrionale e nel
ciclo cellulare.

Biogenesi dei miRNA

Azione dei miRNA



Biogenesi dei miRNA -1



I miRNA vengono trascritti dalla **RNA pol II**

pri-miRNA: precursore primario: 100-1000 nt;
ha il 5'-cap, il poly-A e può avere introni

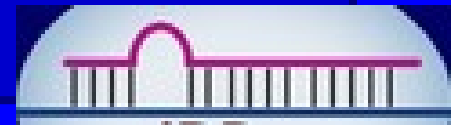
Maturazione dei miRNA: 3 fasi:

1. Cropping: taglio operato da **Drosha**: una endonucleasi ribonucleasi III nucleare capace di tagliare la regione fiancheggiante il pri-miRNA

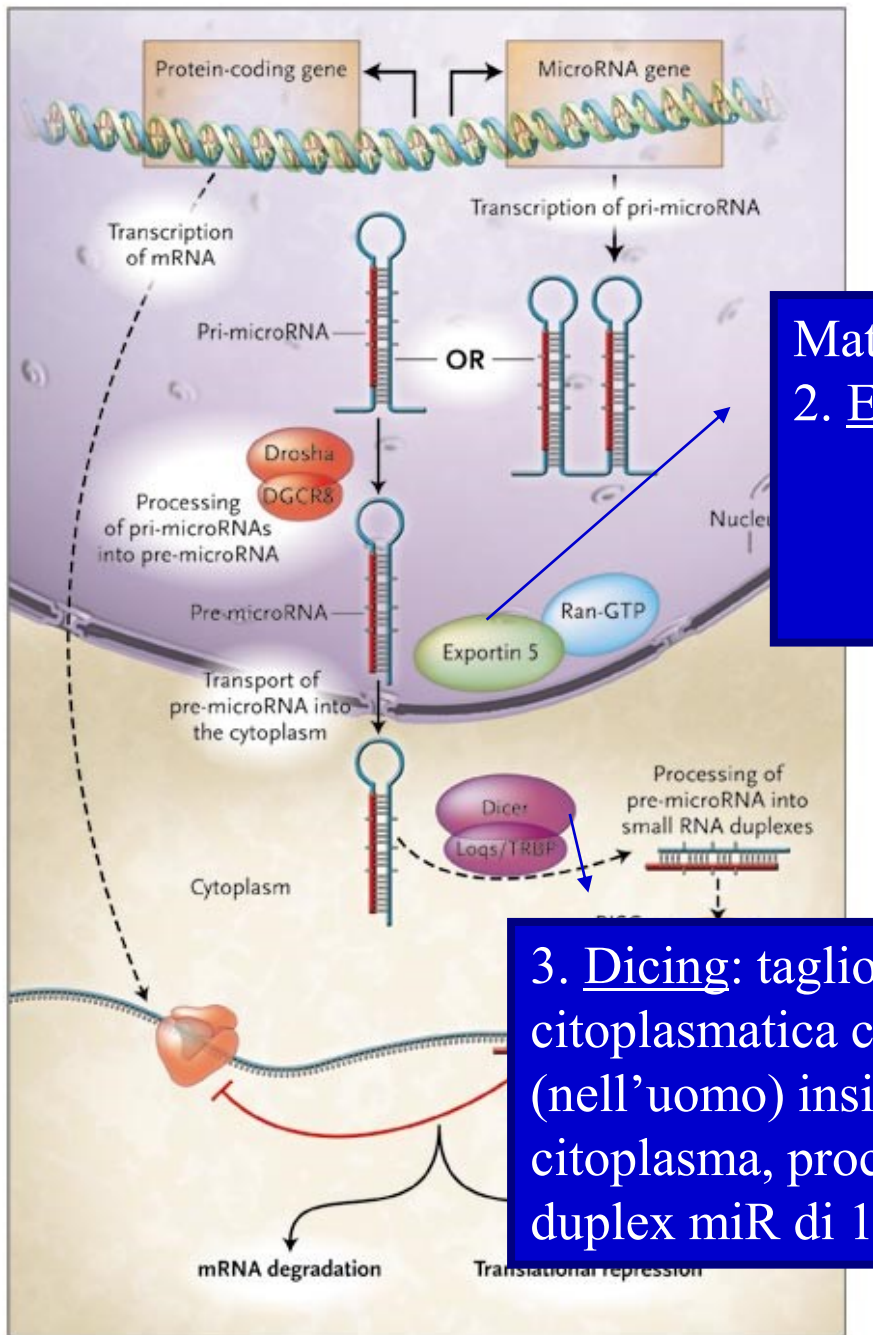
Proteine associate a Drosha conferiscono specificità (es. DGCR8)

In seguito al cropping grazie all'azione di Drosha si libera il **pre-miRNA**:

- composto da 80 nt
- ha una struttura a stem-loop
- presenta un 5'P e un 3'OH
- 2-3 nt all'estremità 3'OH sporgente a singola elica



Biogenesi dei miRNA -2



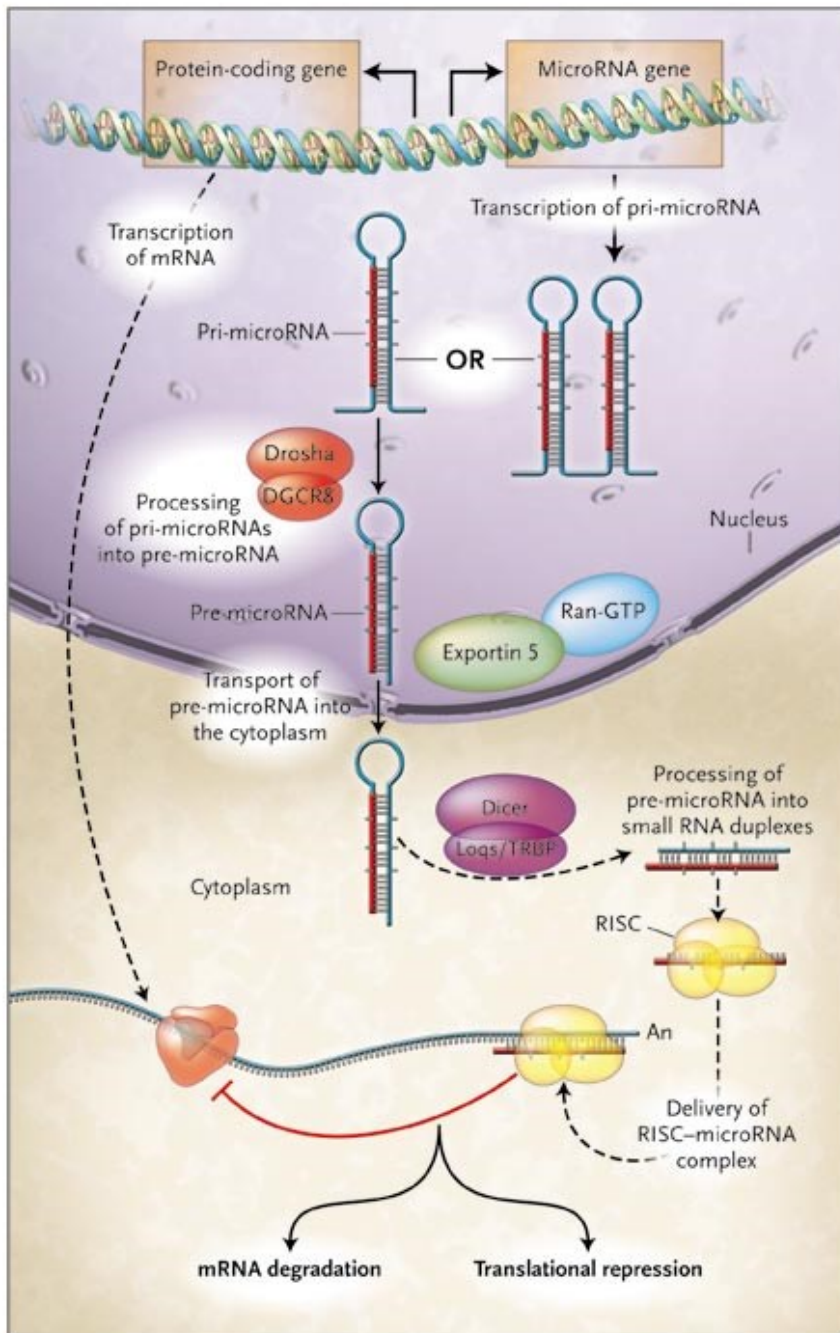
Maturazione dei miRNA: 3 fasi:

2. Export: il pre-miRNA viene trasportato nel citoplasma da Exportin5/RanGTP; si forma un eterotrimerico che passa attraverso i pori nucleari

3. Dicing: taglio di Dicer: una RNase III citoplasmatica chiamata Dicer che (nell'uomo) insieme al suo partner TR, nel citoplasma, processa il pre-miRNA in un duplex miR di 18-22 nt



Biogenesi dei miRNA -3



In alcuni casi una delle 2 strand del duplex viene degradata, mentre l'altra si accumula come miRNA maturo.

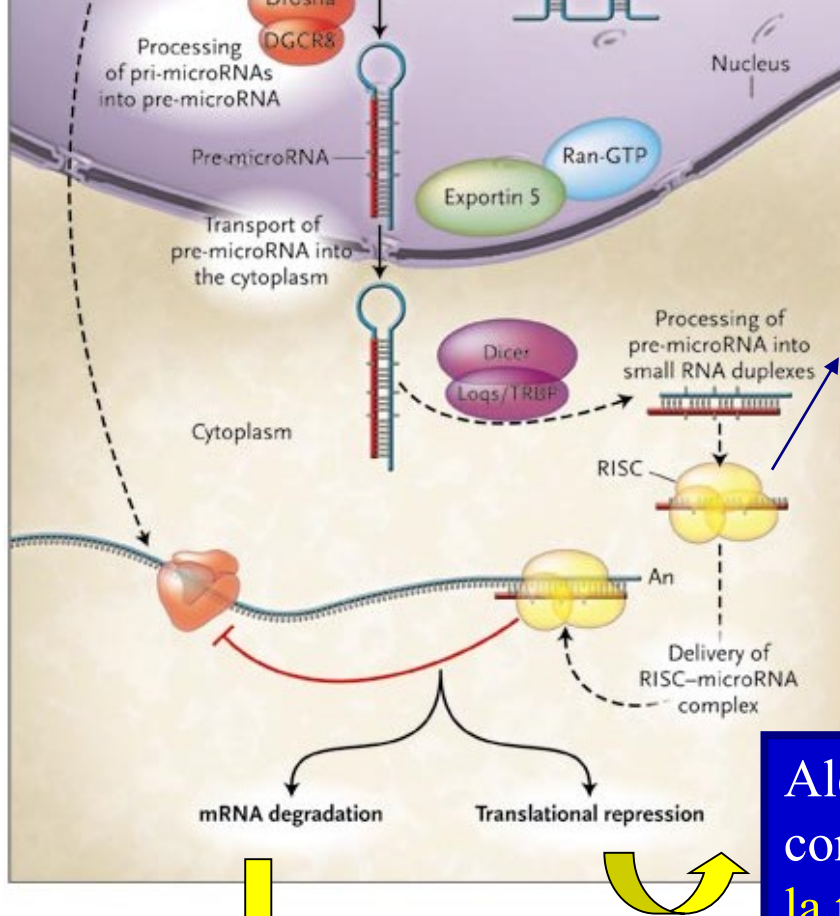
In altri casi funzionano entrambi da mir e la strand meno rappresentata era indicata con un *.

Ora si è visto che entrambi possono essere miR e con target diversi, perciò ora sono chiamati invece che con l'asterisco: 5p e 3p.



MiRNA in azione: RISC e inibizione del gene target

Dal duplex prodotto da Dicer il miRNA entra nel complesso effettore proteico, il **RISC**: complesso di silenziamento indotto da RNA o miRgonauta, che media la degradazione o l'inibizione della traduzione dell'mRNA del gene target



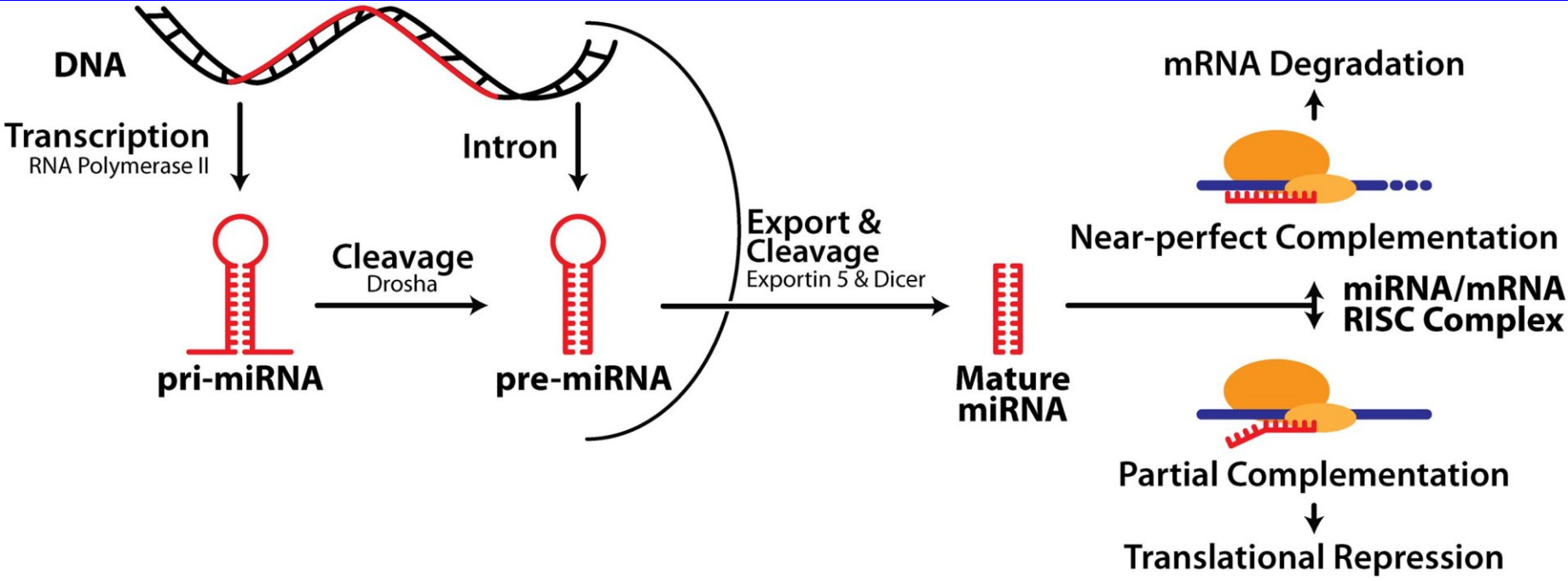
Alcuni miRNA appaiono imperfettamente con il 3'UTR dell'mRNA target e **inibiscono la traduzione** (produzione della proteina)

Altri miRNA mostrano una complementarità quasi precisa al loro target e portano alla **degradazione dell'mRNA**



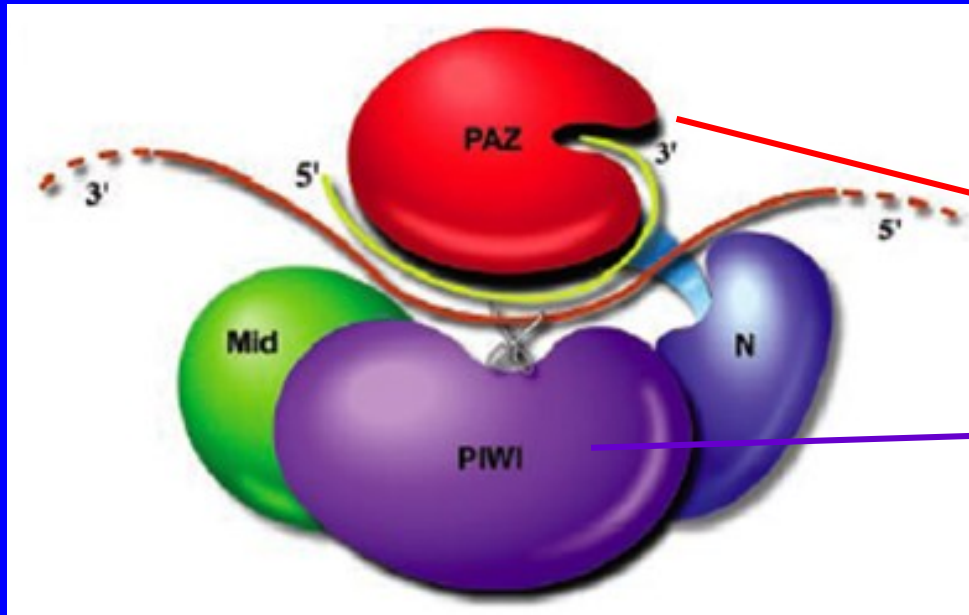
Le proteine componenti del RISC non sono state tutte identificate, alcune sono della famiglia proteica Argonaute (Ago)...

MiRNA in azione



Proteine Argonaute (AGO):

Famiglia di proteine essenziali nel processo di RNA interference (RNAi). Sono in grado di formare complessi ribonucleoproteici con i siRNA o i miRNA, che riconoscono per complementarità sequenze omologhe presenti in mRNA bersaglio



Le proteine AGO:
due domini caratteristici:

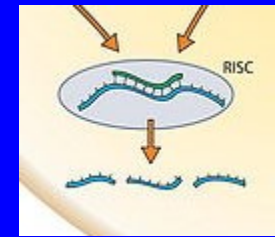
1. dominio **PAZ** lega il 3'-OH del piccolo RNA
2. dominio **Piwi** riconosce il terminale 5'-P del piccolo RNA ed ha attività endonucleasica

La proteina AGO2 insieme ad altre proteine forma un complesso multiproteico chiamato **RISC** (RNA-induced silencing complex) che possiede attività endonucleasica ed è capace di degradare in maniera specifica un RNA bersaglio contenente sequenze complementari alla sequenza guida del siRNA o miRNA

Nell'uomo sono stati identificati 8 membri della famiglia AGO. Tuttavia si conosce bene solo la funzione enzimatica della proteina AGO2.



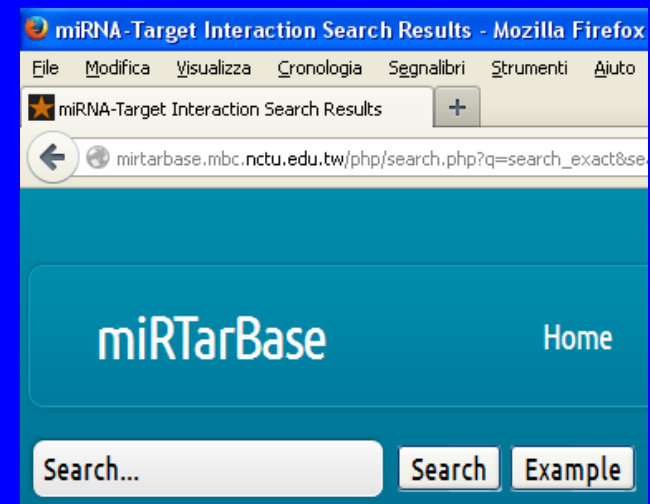
Target



La più importante caratterizzazione della funzione dei miRNA è l'identificazione dei mRNA bersaglio

Poiché la complementarità tra miRNA e mRNA target non è perfetta molto probabilmente ciascun miRNA può regolare un ampio numero di geni
Sono stati sviluppati molti algoritmi per predire i geni bersaglio:

MiRTarBase
Diana-microT
miRanda
MICRORNA.ORG
MIRDB
RNA22-HSA
TARGETMINER
TARGETSCAN-VERT
PICTAR-VERT



Ma ogni bersaglio predetto deve essere validato in laboratorio!

Target

miRNA-Target Interaction Search Results - Mozilla Firefox

File Modifica Visualizza Cronologia Segnalibri Strumenti Aiuto

miRNA-Target Interaction Search Results

mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/php/search.php?q=search_exact&searchword=hsa-miR-17-5p

mirbase

Page 1 of 11 1 2 3 ... 11 Next >

miRTarBase Home

Search... Search Example

ID	Species (miRNA)	Species (Target)	miRNA	Target	Validation methods						Sum	# of papers	
					Strong evidence			Less strong evidence					
					Reporter assay	Western blot	qPCR	Microarray	NGS	pSILAC			Other
MIRT000256	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	ZNFX1	✓				✓		✓	3	2
MIRT000257	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	CCL1	✓						✓	2	1
MIRT000258	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	GPR137B	✓						✓	2	1
MIRT000259	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	NABP1	✓						✓	2	1
MIRT000261	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	NPAT	✓						✓	2	1
MIRT000263	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	YES1	✓						✓	2	1
MIRT000482	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	JAK1	✓	✓					✓	3	2

Target

miRTarBase

Home

Search...

Search

Example

ID	Species (miRNA)	Species (Target)	miRNA	Target	Validation methods							Sum	# of papers
					Strong evidence			Less strong evidence					
					Reporter assay	Western blot	qPCR	Microarray	NGS	pSILAC	Other		
MIRT035908	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	FAM200B					✓			1	1
MIRT035910	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	SYNRG					✓			1	1
MIRT035911	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	KLC4					✓			1	1
MIRT035912	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	FUT7					✓			1	1
MIRT035913	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	TRAP1					✓			1	1
MIRT035914	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	RFWD2					✓			1	1
MIRT035915	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	STIP1					✓			1	1
MIRT035916	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	C16orf62					✓			1	1
MIRT035917	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	THOC2					✓			1	1
MIRT035918	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	BAZZA					✓			1	1
MIRT035919	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	HPS4					✓			1	1
MIRT035920	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	GNB2L1					✓			1	1
MIRT035921	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	PSMD1					✓			1	1
MIRT035922	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	BAMBI					✓			1	1
MIRT035923	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	HIST1H2BK					✓			1	1
MIRT035924	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	TBX1					✓			1	1
MIRT035925	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	EZR					✓			1	1
MIRT035926	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	USP9X					✓			1	1
MIRT035927	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	TAF3					✓			1	1

MiRNA: funzioni negli stati di normalità

Poiché si scoprono miRNA nuovi tutti i giorni è evidente che questi piccoli geni potrebbero essere coinvolti nella normale omeostasi cellulare

I miRNA partecipano a processi biologici essenziali:

- proliferazione cellulare
- destino della linea B ematopoietica
- pattern del cervello
- secrezione di insulina dalle cellule del pancreas
- sviluppo degli adipociti
- meccanismi biologici coinvolti nell'embriogenesi

.....

- Ma anche nello sviluppo di diverse patologie...

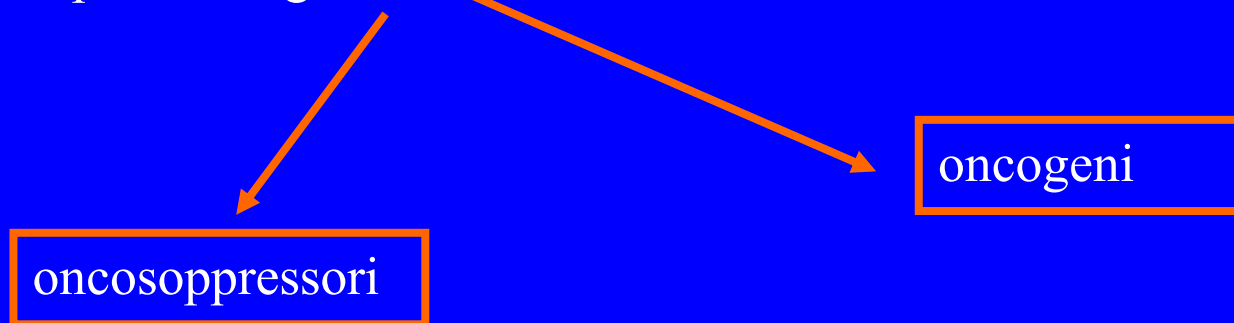


MiRNA: funzioni negli stati di malattia

Poichè i miRNA partecipano a molte normali funzioni ci si è chiesto se anomalie nei miRNA potessero avere importanza in alcune malattie.

Infatti i miRNA sono stati visti coinvolti in molte malattie

I miRNA possono agire sia

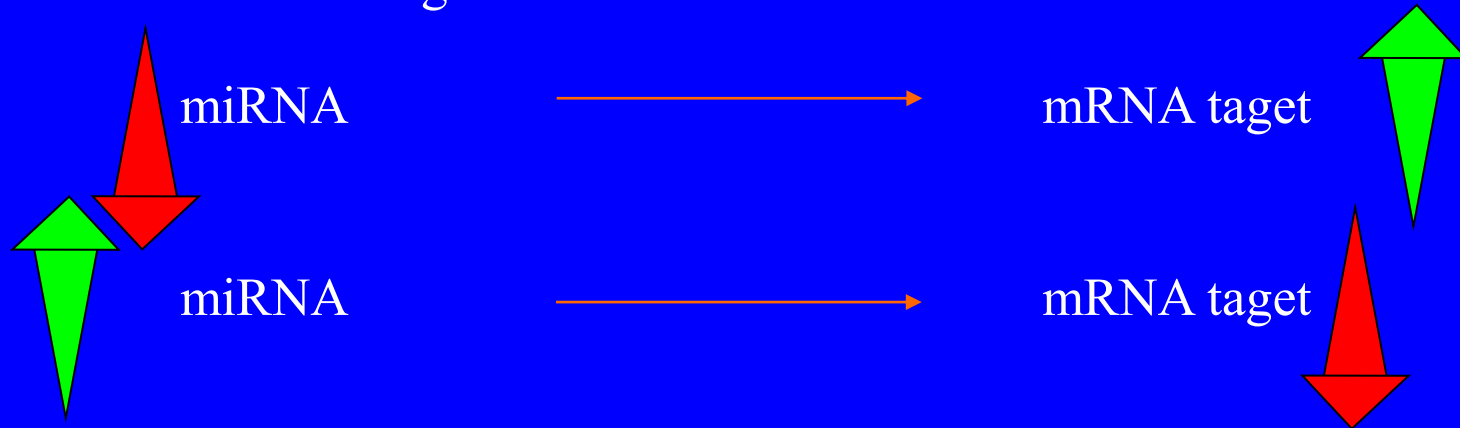


Sono stati dimostrati meccanismi di inattivazione o attivazione di determinati miRNA.



MiRNA: funzioni negli stati di malattia

L'effetto finale della disregolazione di miRNA:



Nel caso di inattivazione di un miRNA si avrà la sovraespressione dell'mRNA bersaglio mentre l'attivazione di un miRNA porterà alla down-regolazione dell'mRNA target che potrebbe essere coinvolto in:

Apoptosi
ciclo cellulare
Invasione
angiogenesi

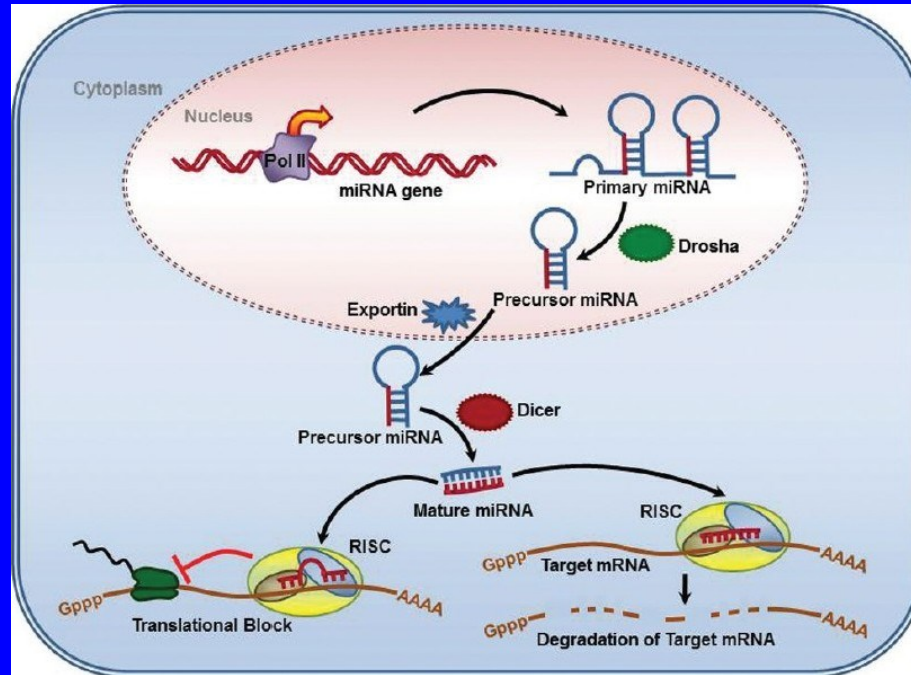
Quindi la disregolazione dell'espressione dei miRNA intracellulari è stata associata a molte condizioni patologiche.



Interazioni miRNA-mRNA con importanza per il cancro

MiRNA	Azione nel cancro	Referenza
famiglia miRNA let-7	Regola gli oncogeni RAS: Let-7 ha una bassa espressione nei <u>tumori del polmone</u> rispetto al polmone normale e la proteina RAS ha una variazione inversa	Johnson 2005
Cluster mir-17-92	L'aumento di espressione insieme a c-myc, accelera lo sviluppo tumorale in un modello di <u>linfoma delle cellule B del topo</u>	He 2005
Cluster mir-17-92: miR-17-5p miR-20a	Regolano negativamente il fattore di trascrizione E2F1, un gene che funziona come un soppressore del <u>tumore</u>	O'Donnel 2005
mir-189	Coinvolto nella <u>sindrome di Tourette (TS)</u> , una patologia neurologica: il mir-189 potrebbe influenzare l'espressione del gene SLITRK1	Abelson 2006
Mir-221 Mir-222 Mir-146	Sono overespressi nel <u>tumore della tiroide</u> e interagiscono con l'oncogene c-KIT	He 2005

Non solo MicroRNA cellulari.....



... ma anche.....



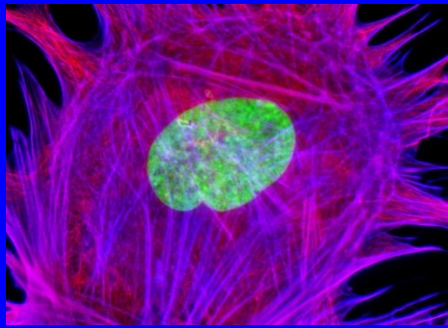
MiRNA circolanti



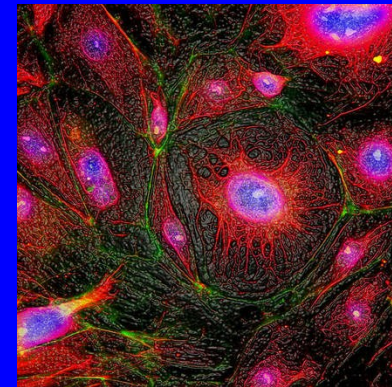
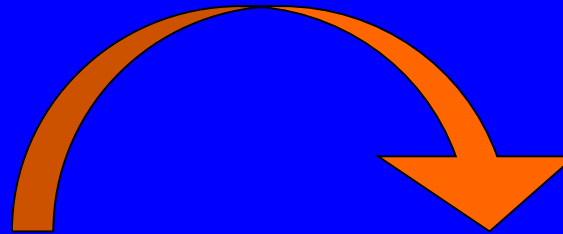
I miRNA possono essere trasportati al di fuori delle cellule e forse possono essere usati come indici diagnostici extracellulari per la diagnosi e la terapia di alcune patologie.

I miRNA circolanti nei fluidi biologici, miRNA extracellulari, rappresentano una nuova forma di comunicazione intercellulare attraverso

il trasferimento di informazioni genetiche



da una cellula donatrice

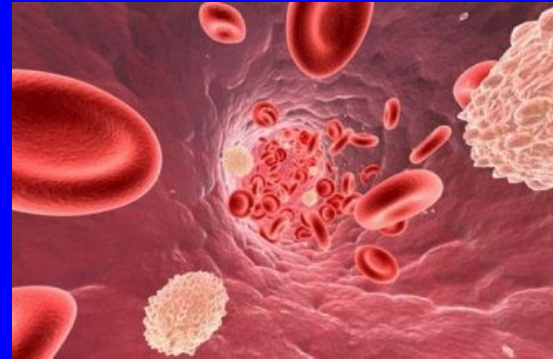


a una cellula accettrice

MiRNA circolanti

Quando sono stati individuati dei miRNA extracellulari come biomarkers di patologie è divenuto evidente che i miRNA possono essere esportati dalle cellule e si trovano in molti fluidi biologici come:

- Plasma
- Siero
- Saliva
- Urine
- Lacrime
- Latte materno

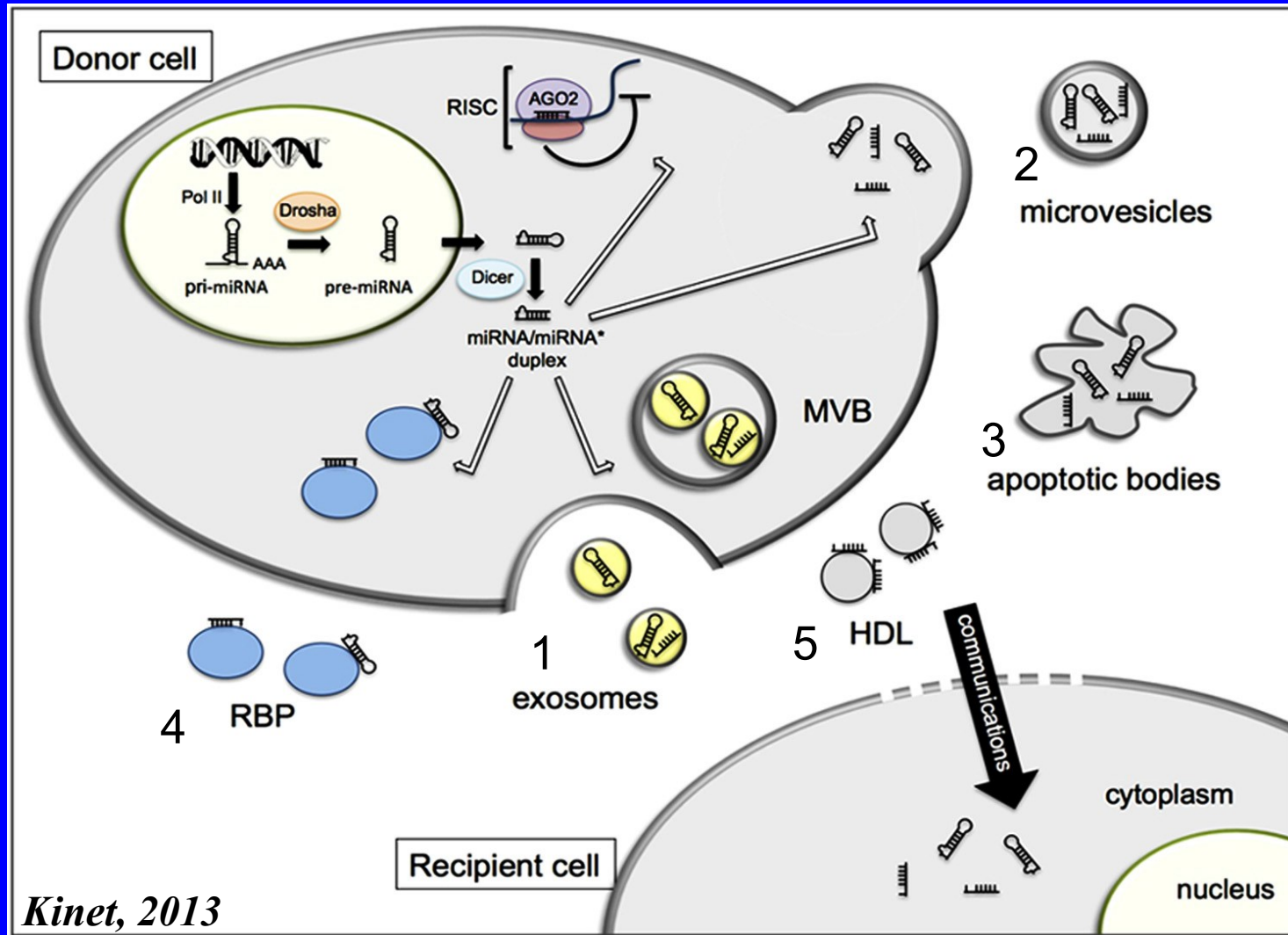


I miRNA extracellulari sono inaspettatamente stabili e devono essere protetti dalla degradazione, poiché l'RNA nudo è prontamente bersagliato dalle esonucleasi che sono abbondantemente presenti in molti fluidi extracellulari. Quindi i miRNA sono impacchettati grazie a 5 diversi meccanismi:

1. Esosomi
2. micro-vescicole o micro-vescicole di distacco (SMVs)
3. corpi apoptotici
4. proteine che legano l'RNA
5. HDL



MiRNA circolanti



Il miRNA una volta maturo può essere incorporato nel RISC e appaiare con il suo mRNA target e reprimerne la traduzione o indurre la sua degradazione.

Oppure il miRNA maturo può essere esportato fuori dalla cellula e trasportato da 5 diversi carrier
Infine i miRNA extracellulari possono essere trasferiti a cellule riceventi dove possono alterare l'espressione genica

Carrier dei MiRNA circolanti

1. ESOSOMI:

Micro-vescicole extracellulari piccole (40-120 nm) che si originano da corpi multi-vescicolari (MVBs) e sono rilasciate tramite esocitosi di questi MVBs.

Prodotti da molti tipi di cellule:

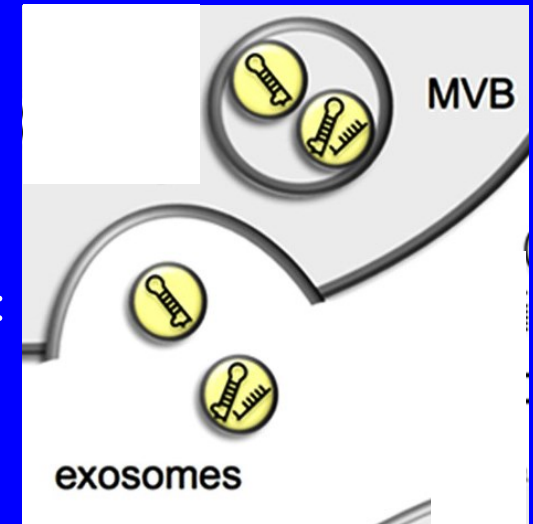
- Epiteliali
- Ematopoietiche
- Endoteliali
- Tumorali

Gli esosomi sono stati identificati in molti fluidi circolanti:

- Plasma
- Urine
- Latte
- Saliva
- Sperma

L'interesse nella biologia degli esosomi è aumentata in seguito alla dimostrazione che essi possono servire da carrier dei miRNA

Processi di selezione devono avere luogo per caricare i miRNA negli esosomi: probabilmente esistono meccanismi cellulari che attivamente concentrano specifiche specie di miRNA negli esosomi



Carrier dei MiRNA circolanti

2. MICRO-VESCICOLE

O MICRO-VESCICOLE DI DISTACCAMENTO (SMVS):

sono un'altra forma di vescicole piccole e definite che si distaccano dalla membrana plasmatica di una grande varietà di cellule

Dimensioni: 0.1-1 μm : sono più grandi degli esosomi e il loro meccanismo di produzione è diverso

Mentre gli esosomi sono prodotti da una fusione esocitotica di MVBs, le microvescicole sono prodotte da una germogliazione di vescicole dalla membrana plasmatica



La presenza di miRNA nelle micro-vescicole è descritta dal 2008.



Carrier dei MiRNA circolanti

3. CORPI APOPTOTICI o vescichette apoptotiche

Le cellule apoptotiche o che stanno morendo rilasciano vescicole di membrana nell'ambiente extracellulare.

Sono grandi particelle (1-5 μm) con forma eterogenea.



Per esempio è stato dimostrato che nell'Aterosclerosi: le cellule endoteliali producono corpi apoptotici ricchi di mir-126. Questo porta le cellule accettrici a produrre una chemochina che limita l'aterosclerosi e conferisce stabilità alle placche



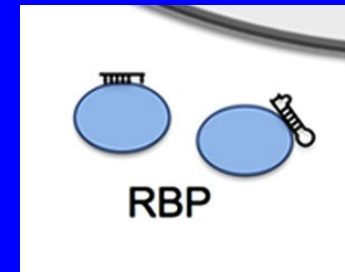
Carrier dei MiRNA circolanti

4. PROTEINE CHE LEGANO L'RNA

una significativa frazione di miRNA extracellulari è associata a proteine che legano l'RNA e che li proteggono dalla degradazione:

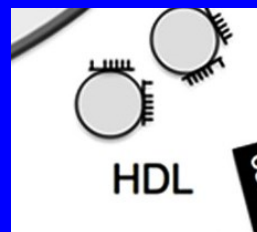
Es:

- NPM1: nucleofosmina
- Proteine della famiglia delle Argonaute:
Ago2, 1, 3, 4 (ma alcuni studi sono in disaccordo)



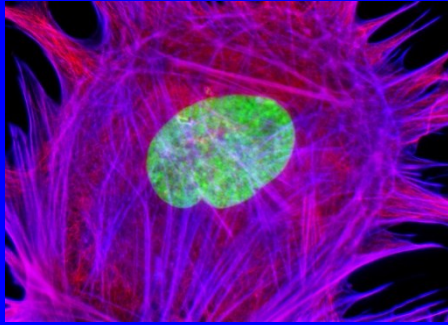
5. HDL

i miRNA extracellulari possono essere trasportati anche dalle HDL. Mentre le vescicole di trasporto sono composte da un doppio strato fosfolipidico, le lipoproteine hanno un singolo strato di lipidi.

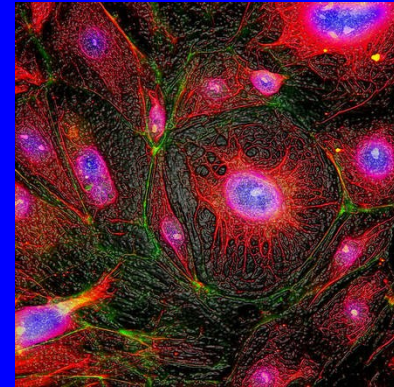
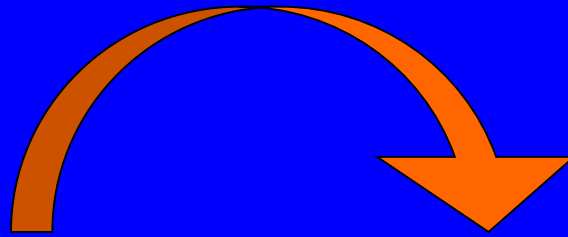


MiRNA circolanti nella comunicazione cellula-cellula

il trasferimento di informazioni genetiche



da una cellula donatrice



a una cellula accettrice

Questa forma di trasferimento tra cellule è di rilevanza funzionale esercitando silenziamento genico nelle cellule riceventi

Questa può spiegare

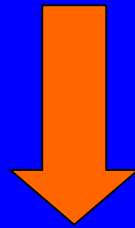
come cellule adiacenti
all'interno di un organo
possano comunicare

come un miRNA possa influenzare
un tipo cellulare o un tessuto in cui
esso non viene prodotto

Questa forma di comunicazione è coinvolta:
nella regolazione dell'immunità (*Mittelbrunn, 2011*)
nella migrazione cellulare (*Zhang, 2010*)
nello sviluppo dei tumori (*Yang, 2011*)

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici

Sulla base della scoperta che i microRNA circolano nel sangue, è stata fatta l'ipotesi che essi abbiano, un ruolo di biomarcatori associati allo sviluppo di patologie



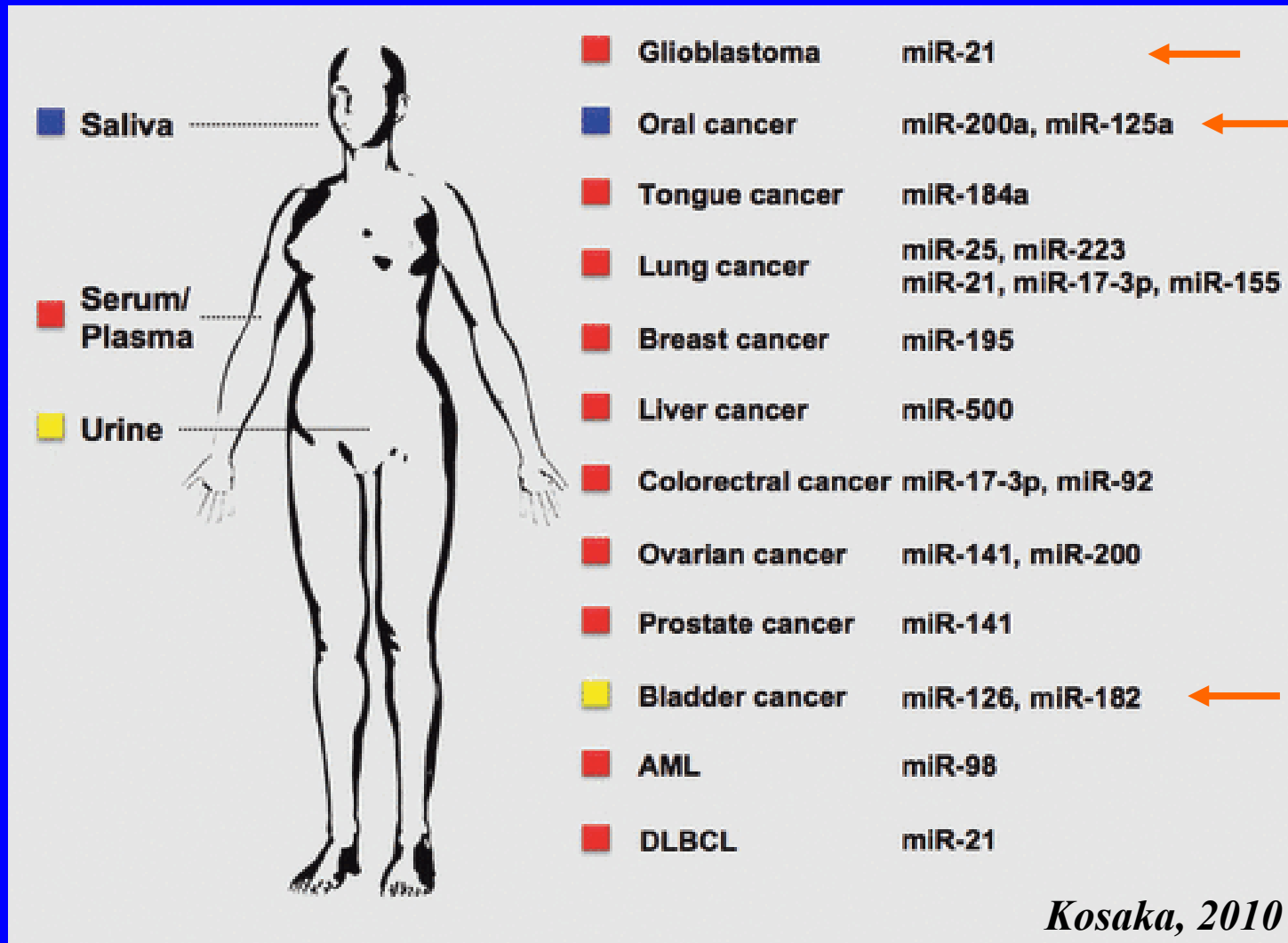
miRNAs nei fluidi del corpo umano sono marcatori diagnostici tumorali non invasivi



Molti tipi di miRNA circolanti sono stati riportati in molti tipi di cancro. In alcuni casi, miRNA circolanti in siero, saliva ed urina sono buoni candidati per un futuro utilizzo

Tuttavia alcuni tipi di cancro non possono essere diagnosticati conoscendo i biomarcatori sierici.

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici



AML:

acute myeloid
leukemia

DLBCL: diffuse
large B-cell
lymphoma

Qui sono riassunte ricerche recenti che mostrano l'esistenza di **miRNA circolanti** nel fluidi di pazienti con il cancro

I miRNA circolanti come potenziali biomarkers dell'esercizio fisico



International Journal of
Molecular Sciences



Review

Circulating MicroRNAs as Potential Biomarkers of Exercise Response

Mája Polakovičová ^{1,*}, Peter Musil ², Eugen Laczo ³, Dušan Hamar ⁴ and Ján Kyselovič ²

¹ Hamar Institute for Human Performance, Faculty of Physical Education and Sports, Comenius University Bratislava, Nábr. Arm. Gen. L. Svobodu 9, Bratislava 814 69, Slovakia

² Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Comenius University Bratislava, Odbojárov 10, Bratislava 832 32, Slovakia; peter.musil@uniba.sk (P.M.); kyselovic@uniba.sk (J.K.)

³ Department of Track & Field, Faculty of Physical Education and Sports, Comenius University Bratislava, Nábr. Arm. Gen. L. Svobodu 9, Bratislava 814 69, Slovakia; eugen.laczo@uniba.sk

⁴ Department of Sport Kinanthropology, Faculty of Physical Education and Sports, Comenius University Bratislava, Nábr. Arm. Gen. L. Svobodu 9, Bratislava 814 69, Slovakia; dusan.hamar@uniba.sk

* Correspondence: maja.polakovicova@uniba.sk; Tel: +421-905498969; Fax: +421-220669951

Academic Editor: Y-h. Taguchi

Received: 6 July 2016; Accepted: 6 September 2016; Published: 5 October 2016

Abstract: Systematic physical activity increases physical fitness and exercise capacity that lead to the improvement of health status and athletic performance. Considerable effort is devoted to identifying new biomarkers capable of evaluating exercise performance capacity and progress in training, early detection of overtraining, and monitoring health-related adaptation changes. Recent advances in OMICS technologies have opened new opportunities in the detection of genetic, epigenetic and transcriptomic biomarkers. Very promising are mainly small non-coding microRNAs (miRNAs). miRNAs post-transcriptionally regulate gene expression by binding to mRNA and causing its degradation or inhibiting translation. A growing body of evidence suggests that miRNAs affect many processes and play a crucial role not only in cell differentiation, proliferation and apoptosis, but also affect extracellular matrix composition and maintaining processes of homeostasis. A number of studies have shown changes in distribution profiles of circulating miRNAs (c-miRNAs) associated with various diseases and disorders as well as in samples taken under physiological conditions such as pregnancy or physical exercise. This overview aims to summarize the current knowledge related to the response of blood c-miRNAs profiles to different modes of exercise and to highlight their potential application as a novel class of biomarkers of physical performance capacity and training adaptation.

Keywords: circulating microRNA; biomarker; physical exercise; skeletal muscle

miRNA circolanti come potenziali biomarkers dell'esercizio fisico

References

1. Egan, B.; Zierath, J.R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab.* **2013**, *17*, 162–184. [CrossRef] [PubMed]
2. Gundersen, K. Excitation-transcription coupling in skeletal muscle: The molecular pathways of exercise. *Biol. Rev.* **2011**, *86*, 564–600. [CrossRef] [PubMed]
3. Camera, D.M.; Smiles, W.J.; Hawley, J.A. Exercise-induced skeletal muscle signaling pathways and human athletic performance. *Free Radic. Biol. Med.* **2016**, *98*, 131–143. [CrossRef] [PubMed]
4. Denham, J.; Marquez, F.Z.; O'Brien, B.J.; Charchar, F.J. Exercise: Putting action into our epigenome. *Sports Med.* **2014**, *44*, 189–209. [CrossRef] [PubMed]
5. Flück, M.; Hoppeler, H. Molecular basis of skeletal muscle plasticity—from gene to form and function. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **2003**, *146*, 159–216. [PubMed]
6. Mattick, J.S.; Makunin, I.V. Non-coding RNA. *Hum. Mol. Genet.* **2006**, *15*, R17–R29. [CrossRef] [PubMed]
7. Necseulea, A.; Kaessmann, H. Evolutionary dynamics of coding and non-coding transcriptomes. *Nat. Rev. Genet.* **2014**, *15*, 734–738. [CrossRef] [PubMed]
8. Fire, A.; Xu, S.; Montgomery, M.K.; Kostas, S.A.; Driver, S.E.; Mello, C.C. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* **1998**, *391*, 806–811. [CrossRef] [PubMed]
9. Mendell, J.T.; Olson, E.N. microRNAs in stress signaling and human disease. *Cell* **2012**, *148*, 1172–1187. [CrossRef] [PubMed]
10. Krol, J.; Loedige, I.; Filipowicz, W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat. Rev. Genet.* **2010**, *11*, 597–610. [CrossRef] [PubMed]
11. Bartel, D.P. microRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell* **2009**, *136*, 215–233. [CrossRef] [PubMed]
12. Kozomara, A.; Griffiths-Jones, S. miRBase: Annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res.* **2014**, *42*, D68–D73. [CrossRef] [PubMed]
13. Varshney, J.; Subramanian, S. Small is the new big—Interplay of miRNAs in cancer. *Curr. Sci.* **2014**, *107*, 803–814.
14. Condorelli, G.; Latronico, M.V.; Cavarretta, E. microRNAs in cardiovascular diseases: Current knowledge and the road ahead. *J. Am. Coll. Cardiol.* **2014**, *63*, 2177–2187. [CrossRef] [PubMed]
15. Chen, H.; Lan, H.Y.; Roukos, D.H.; Cho, W.C. Application of microRNAs in diabetes mellitus. *J. Endocrinol.* **2014**, *222*, R1–R10. [CrossRef] [PubMed]

120. Radom-Aizik, S.; Zaldivar, F.P., Jr.; Leu, S.Y.; Adams, G.R.; Oliver, S.; Cooper, D.M. Effects of Exercise on microRNA Expression in Young Males Peripheral Blood Mononuclear Cells. *Clin. Trans. Sci.* **2012**, *5*, 32–38. [CrossRef] [PubMed]
121. Radom-Aizik, S.; Zaldivar, F.P., Jr.; Haddad, F.; Cooper, D.M. Impact of brief exercise on circulating monocyte gene and microRNA expression: Implications for atherosclerotic vascular disease. *Brain Behav. Immun.* **2014**, *39*, 121–129. [CrossRef] [PubMed]
122. Backes, C.; Leidinger, P.; Keller, A.; Hart, M.; Meyer, T.; Meese, E.; Hecksteden, A. Blood born miRNAs signatures that can serve as disease specific biomarkers are not significantly affected by overall fitness and exercise. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e102183. [CrossRef] [PubMed]
123. Hecksteden, A.; Leidinger, P.; Backes, C.; Rheinheimer, S.; Pfeiffer, M.; Ferrauti, A.; Kellmann, M.; Sedaghat, E.; Meder, B.; Meese, E.; et al. miRNAs and sports: Tracking training status and potentially confounding diagnoses. *J. Transl. Med.* **2016**, *14*, 219. [CrossRef] [PubMed]
124. Kilian, Y.; Wehmeier, U.E.; Wahl, P.; Mester, J.; Hilberg, T.; Sperlich, B. Acute Response of Circulating Vascular Regulating microRNAs during and after High-Intensity and High-Volume Cycling in Children. *Front. Physiol.* **2016**, *7*, 92. [CrossRef] [PubMed]
125. Chilton, W.L.; Marques, F.Z.; West, J.; Kannourakis, G.; Berzins, S.P.; O'Brien, B.J.; Charchar, F.J. Acute Exercise Leads to Regulation of Telomere-Associated Genes and MicroRNA Expression in Immune Cells. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e92088. [CrossRef] [PubMed]
126. Denham, J.; Nelson, C.P.; O'Brien, B.J.; Nankervis, S.A.; Denniff, M.; Harvey, J.T.; Marquez, F.Z.; Codd, V.; Zukowska-Szczzechowska, E.; Samani, N.J.; et al. Longer Leukocyte Telomeres Are Associated with Ultra-Endurance Exercise Independent of Cardiovascular Risk Factors. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e69377. [CrossRef] [PubMed]
127. Denham, J.; O'Brien, B.J.; Charchar, F.J. Telomere Length Maintenance and Cardio-Metabolic Disease Prevention through Exercise Training. *Sports Med.* **2016**, *46*, 1213–1237. [CrossRef] [PubMed]
128. Hawley, J.A. Molecular responses to strength and endurance training: Are they incompatible? *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2009**, *34*, 355–361. [PubMed]
129. Grueter, E.C.E.; van Rooij, E.; Johnson, B.A.; DeLeon, S.M.; Sutherland, L.B.; Qi, X.; Gautron, L.; Elmquist, J.K.; Bassel-Duby, R.; Olson, E.N. A cardiac microRNA governs systemic energy homeostasis by regulation of MED13. *Cell* **2012**, *149*, 671–683. [CrossRef] [PubMed]
130. Wang, S.; Aurora, A.B.; Johnson, B.A.; Qi, X.; McAnally, J.; Hill, J.A.; Richardson, J.A.; Bassel-Duby, R.; Olson, E.N. The endothelial-specific microRNA miR-126 governs vascular integrity and angiogenesis. *Dev. Cell* **2008**, *15*, 261–271. [CrossRef] [PubMed]



I miRNA circolanti come potenziali biomarkers dell'esercizio fisico

I miRNA sono implicati in numerose funzioni fisiologiche tra cui: risposta allo stress, metabolismo mitocondriale, infiammazione, ipertrofia muscolare

Per questo gli sports scientists hanno iniziato ad interessarsi alla regolazione dei miRNA nella fisiologia dell'esercizio fisico.

La caratterizzazione del pattern di espressione dei miRNA nell'esercizio fisico può essere applicata a:

-valutare la capacità di performace fisiche

-ricerca di doping (miRNA circolanti)

diseases such as cancer [21,22]. Due to the pivotal role of miRNAs in disease development, they have been subjects of intensive research either as drug targets or diagnostic markers. Some of them have already achieved an application in clinics. MRX34 (Mirna Therapeutics Inc., Austin, TX, USA), miRNA-34 tumor suppressor entered clinical testing in 2013 and it is now in open-label phase I clinical trial in liver cancer patients [23]. The first human miRNA-based therapeutic, Miravirsen (Santaris Pharma-Roche Innovation Center Copenhagen, Copenhagen, Denmark), inhibitor of miRNA-122 biogenesis has initiated the phase III of clinical testing for hepatitis C virus infection treatment [24]. In the area of cancer clinical diagnostics several tests using miRNAs as biomarkers are already available. miRNA expression profiles can be used to precisely classify various types of cancers, and are superior in the classification of poorly differentiated tumors. Molecular diagnostics company Rosetta Genomics Ltd. (Rehovot, Israel). offers a miRNA panel to identify unknown primary origin of metastatic cancers [25,26]. miRNAs' diagnostic assay from Prometheus Laboratories Inc. (San Diego, CA, USA) allows to identify the origin of metastatic cancer with further classification of 25 particular tumor types [27].

An interesting feature of miRNA activity is that while miRNAs are often moderate regulators under homeostatic conditions, their function becomes more amplified in response to injury or excessive stress [28]. miRNAs have been identified as intracellular modulators of mitochondrial metabolism, inflammation, muscle recovery and hypertrophy. **These findings attracted the attention of sports scientists and started the research on miRNAs regulation in exercise physiology** [29]. The identification of miRNAs expression pattern characterizing physical exercise could be applied for monitoring of physical fatigue and recovery and even to evaluate **physical performance capacity** [30]. Moreover, as **circulating miRNAs** (c-miRNAs) are of tissue or cellular origin, some studies investigated miRNAs as potential markers of **doping manipulations**. Recently, a panel of distinct plasma miRNAs for the detection of autologous blood transfusion doping has been successfully specified and is currently considered to be used as auxiliary parameters in World Anti-Doping Agency (WADA) Athlete Biological Passport concept [31].

I miRNA circolanti come potenziali biomarkers dell'esercizio fisico

Table 1. Circulating microRNAs (c-miRNA) plasma or serum profiles altered by various types of exercise in overviewed studies.

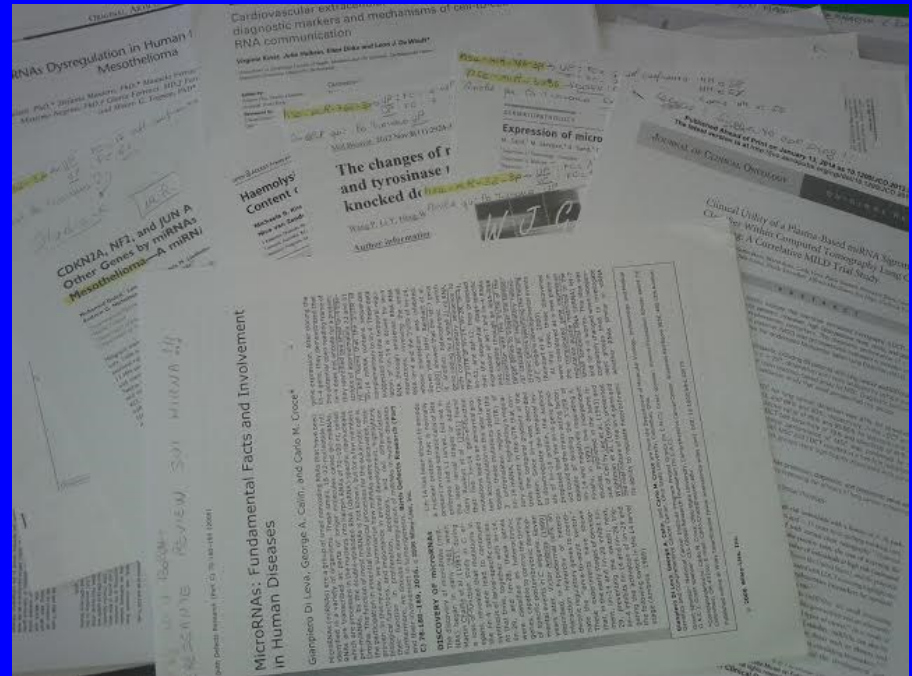
Study/Ref.	Exercise Type	Source	Detection	Altered Circulating miRNAs	Time Points
Baggish et al. 2011/[90]	Acute cycle ergometry test before sustained training	plasma	qPCR	↑ miR-21, -146a, -221, -222	Immediately after (decreased after 1 h)
	Sustained rowing training 90 days			↑ miR-20a, 21, -146a, -221, -222	At rest after sustained training
Uhlemann et al. 2014/[101]	Acute cycle ergometry test after sustained training	plasma	qPCR	↑ miR-146a, -222	Immediately after
	Single symptom-limited spiroergometry test			↑ miR-126	5 min. after finishing
	Cycling 4 h at 70% of anaerobic threshold			↑ miR-126	Immediately after
	Marathon run			↑ miR-126, -133	Immediately after
Aoi et al. 2013/[99]	Eccentric resistance exercise	serum	qPCR	↑ miR-133	Immediately after
	Acute—cycle ergometry 60 min. at 70% VO _{2max}			↓ miR-486	Immediately after
	Systematic—cycling at 70% VO _{2max} 3 × 30 min. per week for 4 weeks			↓ miR-486	At rest after training
Baggish et al. 2014/[91]	Marathon run	plasma	qPCR	↑ miR-1, -126, -133a, -134, -146a, -208a, -499-5p	Immediately after (decreased after 24 h)
Mooren et al. 2014/[92]	Marathon run	plasma	qPCR	↑ miR-1, -133a, -206, -208b, -499	Immediately after
Gomes et al. 2014/[93]	Marathon run	plasma	qPCR	↑ miR-1, -133a, -206	Immediately after
De Gonzalo-Calvo et al. 2015/[94]	Marathon run	serum	qPCR panel of 106 inflammatory miRNAs	↑ let-7d-3p, let-7f-2-3p ↑ miR-29a-3p, -34a-5p, -125b-5p ↑ miR-132-3p, -143-3p, ↑ miR-148a-3p, -223-3p, -223-5p ↑ miR-424-3p, -424-5p	Immediately after (decreased after 24 h)
Clauss et al. 2016/[95]	Marathon run	plasma	qPCR	↑ miR-1, -30a, -133a	Immediately after (decreased after 24 h)
				↓ miR-26a, -29b	Immediately after

Conclusioni: hot topic!!!

Facendo una ricerca su Pub-Med si trovano più di 10.000 articoli nel 2017 sui **miRNA**...

I miRNA sono una rivoluzione nella comprensione della biologia cellulare...

C'è ancora molto da lavorare..... e molto da leggere.....



Grazie per l'attenzione!