

STUDIO DELLA FUNZIONE DI PROTEINE DI MEMBRANA

A. Sacconi, R. Gualdani, S. Smeazzetto, G. Bartolommei, F. Tadini-Buoninsegni, M. R. Moncelli
 Dipartimento di Chimica "Ugo Schiff", via della Lastruccia 3, 50019 Sesto Fiorentino (FI)
 Contatti: moncelli@unifi.it, tel. 0554573239, www.bioelectrolab.unifi.it



Perché le proteine di membrana?!

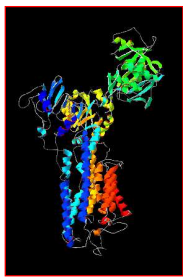
Le proteine di membrana controllano molti importanti processi fisiologici (trasmissione di impulsi nervosi, trasporto di ioni e piccole molecole, mobilità cellulare, interazioni cellula-cellula, contrazione muscolare,...). Dal momento che il malfunzionamento delle proteine di membrana è alla base di molte patologie (infarto, diabete, fibrosi cistica, ipertensione, epilessia,...), tali proteine sono il bersaglio per la maggioranza dei farmaci in sviluppo. Le pompe ioniche ed i canali ionici sono proteine di membrana responsabili del trasporto di specie ioniche e molecolari attraverso le membrane biologiche ed è a queste che è rivolta la nostra ricerca.

Il laboratorio BioElectroLab ha una consolidata esperienza e dispone di strumentazione all'avanguardia per lo studio della funzione di proteine di membrana.

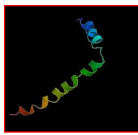
Collaborazioni nazionali e internazionali:

- Hans-Jürgen Apell - Università di Costanza, Germania
- Ronald J. Clarke - Università di Sidney, Australia
- Klaus Fendler - MPI Biofisica, Francoforte, Germania
- Cesare Indiveri - Università della Calabria
- Giuseppe Inesi - CPMCRI, San Francisco, USA
- Anna Moroni - Università di Milano
- Giovanni Natile, Fabio Arnesano - Università di Bari
- Poul Nissen - Università di Aarhus, Danimarca
- Riccardo Olcese - UCLA, Los Angeles, USA
- Roman Polishchuk - Istituto Telethon di Genetica e Medicina, Napoli
- Giorgio Rispoli - Università di Ferrara
- Gerhard Thiel - Università di Darmstadt, Germania

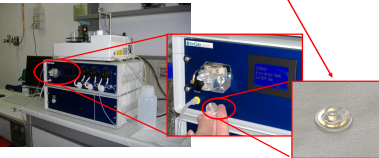
Studio del funzionamento di pompe ioniche, Na⁺, K⁺-ATPasi, Ca²⁺-ATPasi e Cu⁺-ATPasi, e della loro interazione con piccole proteine o farmaci antitumorali.



Ca-ATPasi del Reticolo Sarcoplasmatico.



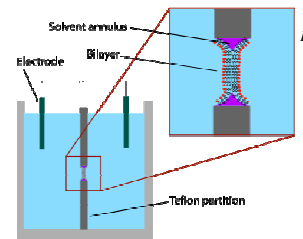
Fosfolambano (modulatore della Ca-ATPasi)



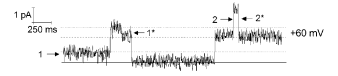
Strumento SURFER²One (Nanon Technologies, Germania) per lo studio di trasportatori di membrana. Si utilizza un modello sperimentale di membrana biologica (solid supported membrane, SSM) per misurare le correnti elettriche generate dal trasportatore di membrana.

Individuazione del ruolo di farmaci che regolano e correggono la funzione di proteine di membrana in vari processi patologici.

Studio di singoli canali (Fosfolambano) in bistrato lipidico planare, BLMs

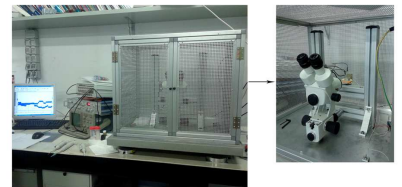


Rappresentazione schematica di BLMs



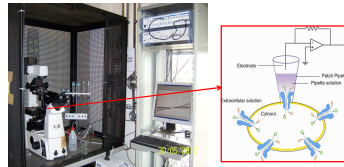
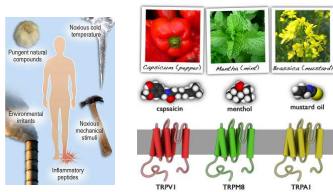
Esempio di una traccia di singolo canale

I nostri progetti di ricerca...



Apparato sperimentale per lo studio di singoli canali in BLMs. Le BLMs sono una membrana biomimetica utili per lo studio di proteine di membrana presenti negli organelli intracellulari.

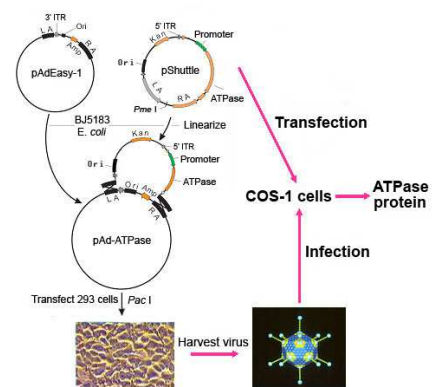
Struttura, funzione e aspetti farmacologici dei canali ionici



Lo strumento del patch-clamp viene utilizzato per lo studio dei canali ionici; la tecnica è basata sull'utilizzo di una micropipetta in vetro, posta in contatto con la membrana della cellula.

I canali ionici TRP (Transient Receptor Potential) sono coinvolti in molteplici funzioni, tra cui la trasmissione del dolore, la percezione del caldo e del freddo. Inoltre sono attivati da molti agenti irritanti, per esempio gli inquinanti atmosferici, i radicali liberi, gli estratti dell'aglio, del peperoncino e della mostarda.

Espressione eterologa di proteine di membrana



Esempi di strategie per ottenere espressione eterologa in cellule di mammifero. Le colture cellulari di mammifero sono infettate con virus modificati che contengono il DNA della proteina.

Riferimenti bibliografici

- S. Smeazzetto, I.Schröder, G. Thiel and M.R. Moncelli "Phospholamban generates cation selective ion channel", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2011, 13, 12935-12939.
- S. Smeazzetto, A. Saponaro, H.S. Young, M.R. Moncelli, G. Thiel "Structure-function relation of Phospholamban: modulation of channel activity as a potential regulator of SERCA activity" *PLoS One*, 2013, 8(1), e52744.
- C. Nativi, R. Gualdani, E. Dragoni, L. Di Cesare Mannelli, S. Sostegni, M. Norcini, G. Gabrielli, G. La Marca, B. Richichi, O. Francesconi, M.R. Moncelli, C. Ghelardini, R. Roelens "A TRPA1 antagonist reverts oxaliplatin-induced neuropathic pain" *Sci. Rep.*, 2013 Jun 18, doi: 10.1038/srep02005.
- Y. Liu, R. Pilankatta, D. Lewis, G. Inesi, F. Tadini-Buoninsegni, G. Bartolommei, M.R. Moncelli "High yield heterologous expression of WT and mutant Ca²⁺ATPase and characterization of Ca²⁺ binding sites by charge transfer" *J. Mol. Biol.*, 2009, 391, 858-871.
- D. Lewis, R. Pilankatta, G. Inesi, G. Bartolommei, M.R. Moncelli, F. Tadini-Buoninsegni "Distinctive features of catalytic and transport mechanisms in mammalian sarco-endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase (SERCA) and Cu⁺ (ATP7A/B) ATPases" *J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 32717-32727.

Questa ricerca è finanziata dall'Ente Cassa di Risparmio di Firenze e dal Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (progetto PON 2007-2013, progetto PRIN 2008).