

Argomenti di tesi proposti dal Dott. Francesco Musiani

INSEGNAMENTO: Strutturistica Molecolare (modulo 3).

SEDE DEL LAVORO SPERIMENTALE: Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Viale G. Fanin 40, Bologna.

NUMERO POSTI DISPONIBILI: 1

Modellizzazione per omologia di proteine coinvolte nel trasporto attraverso la membrana di ioni Ni(II), e Zn(II) in *Helicobacter pylori*.

Helicobacter pylori è un batterio gram-negativo che colonizza la mucosa gastrica di circa il 50% della popolazione mondiale, è l'unico batterio riconosciuto come agente cancerogeno di classe 1 ed è causa di circa 800,000 decessi ogni anno. *H. pylori* deve la sua sopravvivenza nell'ambiente estremamente acido dello stomaco umano alla capacità di idrolizzare l'urea in ioni ammonio e bicarbonato. Questa reazione viene catalizzata in modo estremamente efficiente dall'enzima nichel dipendente ureasi, rendendo l'importazione di ioni nichel di capitale importanza per la sopravvivenza del batterio. Gli ioni Ni(II) attraversano la membrana esterna grazie alla proteina transmembrana FrpB4 (attivata a sua volta dal complesso proteico TonB/ExbB/ExbD) per poi passare la membrana citoplasmatica attraverso la permeasi NixA (Fig. 1). FrpB4 è una permeasi che permette il passaggio di ioni Ni(II) a bassi valori di pH. Il complesso TonB/ExbD/ExbB permette di convertire la forza motrice generata dal passaggio dei protoni in un cambiamento conformazionale di FrpB4 che causa il trasporto del nichel. NixA appartiene alla famiglia dei trasportatori di nichel e cobalto (NiCoT), la cui struttura è caratterizzata dalla presenza di otto eliche transmembrana. La proteina FecA3, inizialmente caratterizzata come trasportatore del citrato ferrico, è stata proposta come un ulteriore trasportatore di ioni Ni(II) attraverso la membrana esterna (Fig. 1).

Se gli ioni Ni(II) sono in concentrazione superiore alle necessità cellulari di *H. pylori*, questi devono essere immagazzinati oppure espulsi dalla cellula. In *H. pylori* l'espulsione di ioni Ni(II) in eccesso viene effettuata dal complesso CznABC [in grado di trasportare anche ioni Zn(II) e Cd(II)] (Fig. 1). Il complesso CznABC è formato da tre subunità localizzate nelle tre componenti della membrana cellulare: CznA nella membrana citoplasmatica, CznB nel periplasma e CznC nella membrana esterna.

Nessuna di queste proteine fondamentali per importazione o per l'espulsione di ioni Ni(II) è stata caratterizzata fino ad ora dal punto di vista strutturale. Il presente progetto si propone la modellizzazione per omologia di tutte le proteine coinvolte nel trasporto di ioni Ni(II) in *H. pylori*, nonché modellizzazione tramite riconoscimento molecolare dei complessi proteici TonB/ExbB/ExbD e CznABC.

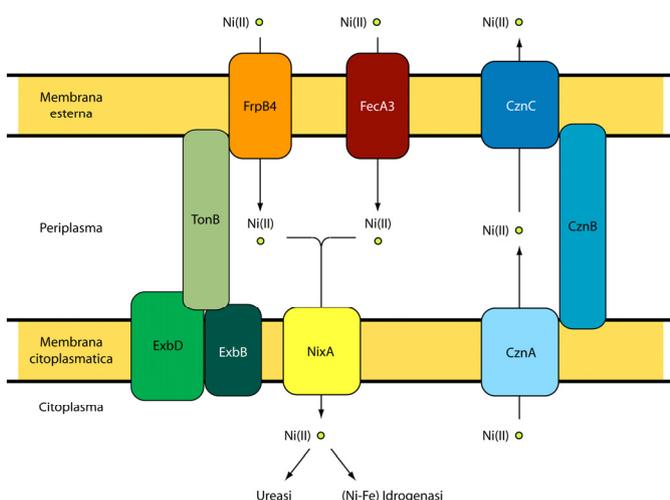


Figura 1. Rappresentazione schematica del sistema di omeostasi del nichel in *H. pylori*.

Studio computazionale del regolatore trascrizionale Ni(II) dipendente InrS da *Synechocystis* PCC 6803

InrS (internal nickel-responsive sensor) da *Synechocystis* PCC 6803 è un sensore regolato da ioni Ni(II) che appartiene alla famiglia dei regolatori trascrizionali CsoR/RcnR. Se gli ioni Ni(II) sono in concentrazione superiore alle necessità cellulari, InrS de-reprime la trascrizione di NrsD, una proteina di efflusso localizzata nella membrana interna. La proteina si trova sotto forma di tetramero ed è capace di legare uno ione Ni(II), Co(II) o Cu(I) per monomero. La sfera di coordinazione degli ioni Ni(II) sembrerebbe includere due cisteine e due istidine in geometri planare quadrata. Esperimenti di mutagenesi indicano i residui Cys53, Cys82 e His78 come possibili leganti del nichel, mentre non è chiara l'identità della seconda istidina capace di legare il metallo. La struttura di InrS è stata risolta di recente, aprendo la strada sia a studi di modellizzazione del centro metallico che di dinamica molecolare. Non è infatti chiaro come questa classe di proteine si leghi al DNA e una comparazione delle proprietà dinamiche di InrS in forma *apo* e *olo* potrebbe fornire nuove informazioni legate a questo aspetto.