

## CENTRO RISONANZE MAGNETICHE (CERM)

### PROGETTO

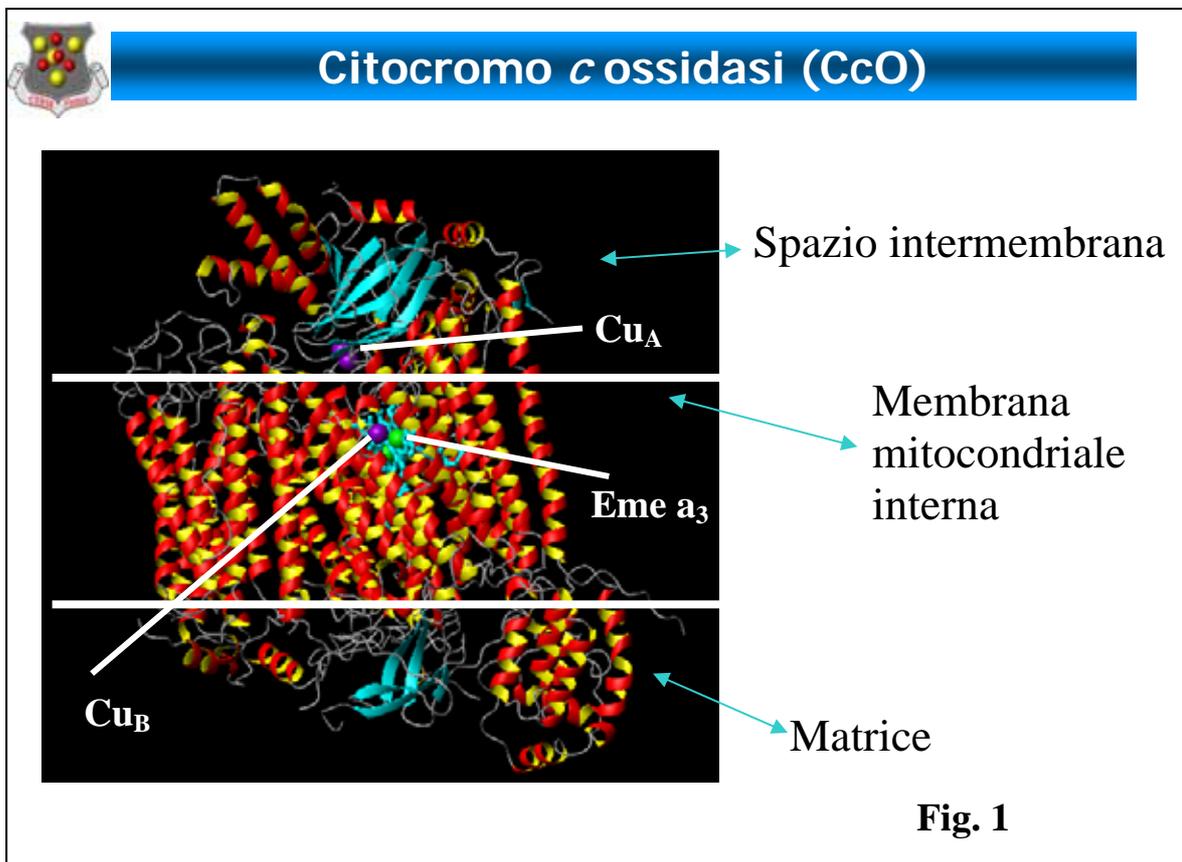
#### *Caratterizzazione di metalloproteine e loro interazioni*

**RESPONSABILE SCIENTIFICO:** Prof. Ivano Bertini

**COLLABORATORI:** L. Banci, S. Ciofi-Baffoni, P. Palumaa

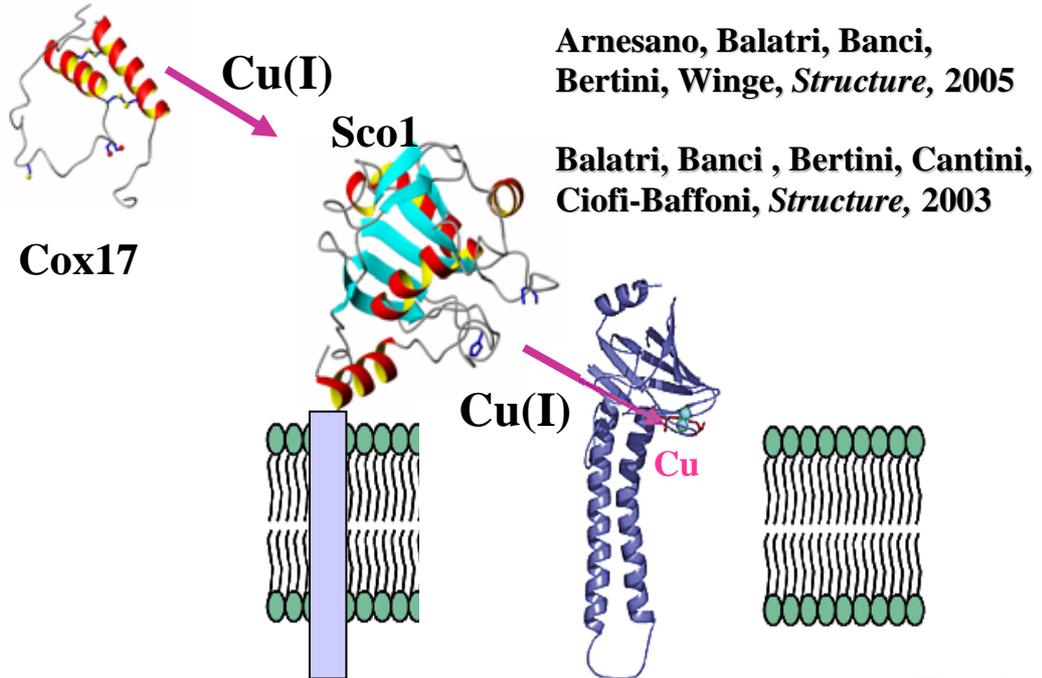
La caratterizzazione di metalloproteine e delle loro interazioni richiede l'utilizzo di numerose tecniche spettroscopiche. Tra queste, la spettrometria di massa ha recentemente acquistato una notevole importanza in quanto permette di ottenere rapide e chiare informazioni relative all'identità e alla quantità dei metalli legati alle proteine, allo stesso tempo fornendo informazioni sulle loro proprietà conformazionali. Un esempio che mostra la potenzialità della suddetta tecnica nel campo delle metalloproteine è di seguito riportata. La citocromo c ossidasi (CcO) è l'enzima terminale della catena respiratoria e contiene tre ioni rame in due siti denominati Cu<sub>A</sub> e Cu<sub>B</sub> (**Fig. 1**). La CcO richiede per il suo corretto assemblaggio e funzione numerosi geni coinvolti nell'inserzione e trasporto del rame nei due siti metallici. Tra questi, due proteine presenti nell'uomo, denominate Cox17 e Sco1, sono responsabili dell'inserzione del rame nel sito Cu<sub>A</sub>. Specificamente, la Cox17 è la rame chaperonina mitocondriale capace di donare il metallo alla Sco1, mentre la Sco1 trasferisce il rame al sito Cu<sub>A</sub> della CcO (**Fig. 2**). Una mutazione patogena della proteina Sco1, P174L, produce deficienza nella catena respiratoria cellulare, associata con un incorretto assemblaggio della CcO. La caratterizzazione dell'interazione tra lo ione rame(I) e il suddetto mutante o la proteina nativa, e della loro interazione con la Cu(I)Cox17, eseguita attraverso ESI-MS, ha permesso di capire che il mutante, a differenza della forma nativa, non è capace di formare una

stato conformazionalmente compatto quando uno ione Cu(I) si è legato. Spettri ESI-MS hanno inoltre permesso l'identificazione di un complesso transiente tra la Cox17 e la Sco1, contenente uno o due ioni rame. Impiegando misure di ESI-MS, è stato infine possibile stabilire che la cinetica di riduzione delle Cys coinvolte nel legare il metallo Cu(I) è più lenta nel mutante rispetto alla proteina nativa. Sulla base di questi risultati, si può quindi stabilire che la spettrometria di massa è riuscita a mostrare nell'esempio ora descritto alcune importanti proprietà che possono essere alla base della patogenicità della mutazione medesima.





## Assemblaggio del sito $\text{Cu}_A$ della CcO



Arnesano, Balatri, Banci,  
Bertini, Winge, *Structure*, 2005

Balatri, Banci, Bertini, Cantini,  
Ciofi-Baffoni, *Structure*, 2003

**Fig. 2**