

DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOCHIMICHE

PROGETTO

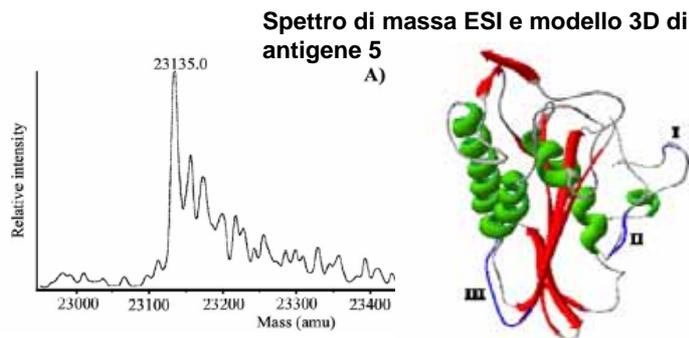
Caratterizzazione di proteine non enzimatiche

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Prof. Gianni Cappugi

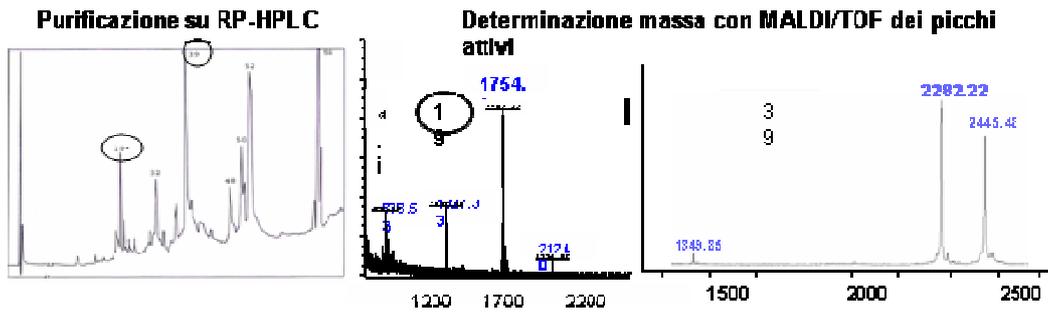
COLLABORATORI: L. Pazzagli, B. Pantera, G. Zoppi, L. Carresi

In questi ultimi anni la collaborazione di questo gruppo di ricerca con il CISM è stata molto intensa e proficua relativamente alle seguenti linee di ricerca:

1) Caratterizzazione di allergeni contenuti nel veleno di vespe *Polistes gallicus*: nell'ambito di un lavoro volto a caratterizzare il veleno di vespe *Polistes*, da impiegare nella immunoterapia specifica di pazienti allergici, abbiamo purificato e caratterizzato i principali allergeni.



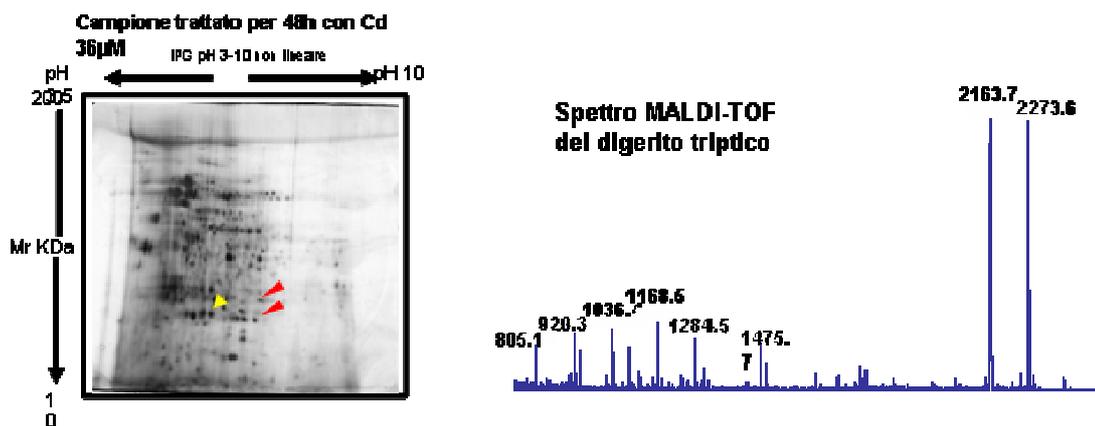
2) Identificazione di uno o più peptidi dotati di attività antibatterica isolati da saliva di vespe *P. dominulus*: la saliva delle larve di *P. dominulus* presenta attività antibatterica sui Gram + e sui Gram -; ai fini di isolare e caratterizzare il principio o i principi attivi, i componenti della saliva sono stati purificati tramite cromatografia e sui picchi attivi è stata fatta la spettrometria di massa



Sono attualmente in corso esperimenti di purificazione di peptidi per i quali si prevede avrà un ruolo essenziale la spettrometria MS/MS per la della determinazione della sequenza aminoacidica.

3) Proteine da stress cadmio-indotte nel macrolichene *Xanthoria parietina*: questo lichene si è ambientato alle condizioni di inquinamento tipiche di ambienti cittadini ed è particolarmente tollerante ai metalli pesanti come il Cadmio sempre più abbondante nel particolato atmosferico e nelle precipitazioni. Sono in corso studi di proteomica volti ad identificare le proteine coinvolte in questa peculiare tolleranza.

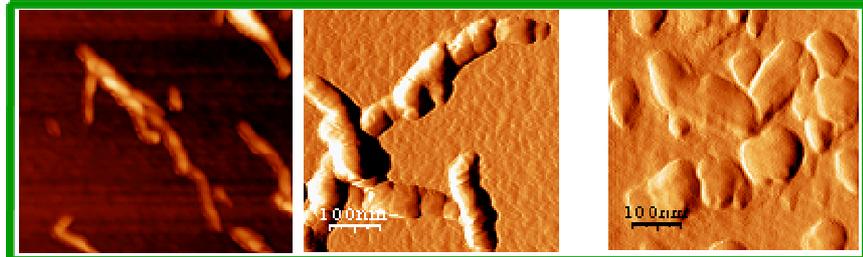
Sono stati identificati finora 3 spots espressi in licheni trattati con Cadmio e assenti nel campione di controllo; lo spot più intenso (indicato dalla freccia gialla) è stato digerito con tripsina ed analizzato



4) Studi di aggregazione di cerato-platanina. La cerato-platanina è una proteina fitotossica secreta dal fungo *Ceratocystis fimbriata*, responsabile della malattia, detta cancro colorato, che sta distruggendo i platani dei viali e dei parchi

cittadini. Il suo meccanismo di azione non è ancora noto e stiamo lavorando sulle forme aggregate di questa proteina che sembrano essere coinvolte nell'interazione con le cellule ospiti.

Aggregati di cerato-platanina ottenuti in TFE 30% e acido acetico 10% ed analizzati mediante AFM



La spettrometria di massa servirà a chiarire quale sia la regione della molecola che interagisce con le membrane aiutando così la comprensione del meccanismo di azione di questa proteina e di proteine ad essa correlate (fra le quali ce ne sono alcune coinvolte in importanti processi patogenetici come l'induzione della malattia nelle foglie di grano, l'attivazione di risposte allergiche negli uomini ecc..)

Alcuni lavori recenti del gruppo di ricerca:

- Pazzagli L., Cappugi G., Manao G., Camici G., Santini A. and Scala A., "Purification and Characterization of Cerato-Platanin, a new Phytotoxic Protein from *Ceratocystis fimbriata* f.sp. *platani*". (1999), *J. Biol. Chem.*, 274, 24959-24964.
- Pantera B, Hoffman DR, Carresi L, Cappugi G, Turillazzi S, Manao G, Severino M, Spadolini I, Orsomando G, Moneti G, Pazzagli L. "Characterization of the major allergens purified from the venom of the paper wasp *Polistes gallicus*". (2003) *Biochimica et Biophysica Acta*, **1623**, 72-81
- Boddi S, Comparini C, Calamassi R, Pazzagli L, Cappugi G, Scala A. "Cerato-platanin protein is located in the cell walls of ascospores, conidia and hyphae of *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*. (2004), *FEMS Microbiology*. 233(2):341-6.
- S. Turillazzi, B. Perito, L. Pazzagli, B. Pantera, S. Gorfer and M. Tancredi. (2004). "Antibacterial activity of larval saliva of the European paper wasp *Polistes dominulus* (Hymenoptera, Vespidae)" *Insect. Soc.* 51 (2004) 1 –3
- L. Pazzagli, B. Pantera, L. Carresi, C. Zoppi, T.A. Pertinhez, A. Spisni, S. Tegli, A. Scala and G. Cappugi "Cerato-platanin, the first member of a new fungal protein family: cloning, expression and characterization". *Cell Biochemistry and Biophysics* (2006); 44, 512-521.