

## FERMO IMMAGINE MOLECOLARE DELLA PROTEINA MULTITASKING

Affinata da un team di ricerca dell'IFOM di Milano una sofisticata tecnica per catturare con un fermo immagine molecolare il processo coordinato dall'ubiquitina, proteina con un complesso ruolo di comunicazione cellulare, cruciale per la salute dell'organismo. Malfunzionamenti nel meccanismo di comunicazione gestito dall'ubiquitina possono infatti dare origine a tumori, come osservato nel carcinoma ovarico. Lo studio, pubblicato ieri sull'autorevole rivista scientifica *Nature Structural and Molecular Biology* è stato realizzato grazie ad una tecnologia innovativa alla sviluppata da IFOM in collaborazione con l'Unità di cristallografia a raggi X dello IEO.

Milano 6 maggio 2013 - La comunicazione è un aspetto fondamentale della vita di una cellula: costituisce il sistema tramite cui essa coordina tutti gli eventi biologici interni ed esterni e risponde a eventuali cambiamenti.

Tra i linguaggi che le cellule adottano nel processo comunicativo, quello dell'**ubiquitinazione** – ovvero l'aggiunta dell'ubiquitina a una proteina - è oggi ritenuto dagli scienziati uno dei più complessi e affascinanti.

Fino a poco più di una decina di anni fa si pensava che il senso dell'ubiquitinazione fosse uno solo: la distruzione della proteina marcata da questo specifico segnale molecolare. Con il determinante contributo delle ricerche condotte in IFOM dalla ricercatrice milanese Simona Polo, responsabile in IFOM del programma di ricerca *Ubiquitinazione e trasmissione del segnale* e Ricercatrice presso il Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università degli Studi di Milano, è emerso negli ultimi anni una funzione dell'ubiquitina molto più complessa nella comunicazione tra ambiente interno ed esterno alla cellula: sarebbe una proteina multitasking, capace di trasmettere molteplici segnali - di attivazione, degradazione, localizzazione, interazione e altri ancora - a svariati fattori proteici.

L'esecuzione corretta di questa funzione dell'ubiquitina risulta essenziale per la vita delle cellule e dei tessuti e, in ultima analisi, dell'organismo: quando il messaggio non viene trasmesso e interpretato fedelmente, la cellula corre il rischio di proliferare in maniera incontrollata, andando incontro a trasformazioni maligne e dando origine a patologie tumorali.

“Negli anni abbiamo dimostrato che l'ubiquitina ha delle capacità multitasking e un ruolo fondamentale nella salute dell'organismo – spiega Simona Polo - ma visualizzare l'ubiquitina in azione era una scommessa estremamente difficile poiché il processo che essa mette in atto si consuma in tempi brevissimi, risultando impossibile da cogliere con tecniche tradizionali”.

Grazie un approccio tecnologico innovativo, affinato in stretta collaborazione con l'Unità di Cristallografia del Dipartimento di Oncologia Sperimentale dello IEO, Simona Polo e il suo team sono riusciti per la prima volta a immortalare in un fermo immagine molecolare il rapidissimo processo dall'ubiquitinazione fino ad oggi rimasto sfuggente agli scienziati. La ricerca, che pone le premesse per una comprensione sempre più dettagliata dei meccanismi molecolari innescati dall'ubiquitina, viene descritta ieri sull'autorevole rivista scientifica *Nature Structural and Molecular Biology*.

Per decifrare il codice dell'ubiquitina il team diretto da Polo si è avvalso di tecniche sofisticate come la **cristallografia a raggi X**, sviluppate in collaborazione con il team dello IEO coordinato da Sebastiano Pasqualato. “Esplorando intimamente l'architettura delle molecole, grazie alla cristallografia a raggi X siamo riusciti a visualizzare tridimensionalmente la funzione dell'ubiquitina

e cogliere a livello molecolare il processo transiente che innesca nella cellula. Per sviluppare questa *fotografia molecolare* abbiamo generato cristalli proteici nei laboratori dell'IFOM e IEO, e li abbiamo in seguito analizzati ai raggi X al sincrotrone europeo di Grenoble, l'ESRF."

Ma qual è l'importanza dell'ubiquitina nella ricerca sul cancro? "I processi cellulari regolati attraverso l'ubiquitinazione sono numerosi e toccano potenzialmente tutti gli aspetti della vita di una cellula." spiega Simona Polo "Di conseguenza altrettanto numerose sono le vie di trasmissione del segnale che, in caso di alterazione di questo meccanismo, risulterebbero gravemente compromesse, dando origine a vari tipi di tumore. La nostra scommessa è quella di identificare e studiare sia componenti principali che elementi accessori del sistema ubiquitina che sperabilmente ci porteranno a identificare nuovi bersagli terapeutici".

Emblematico è, ad esempio, il caso di BRCA1, una proteina che interviene nella risposta di danno al DNA la cui funzione è trasferire molecola di ubiquitina al suo bersaglio. Mutazioni nel gene BRCA1 sono chiaramente associate a carcinoma mammario e ovarico: nelle cellule tumorali infatti BRCA1 mutata e non è più in grado di mediare l'ubiquitinazione, un processo essenziale affinché la lesione al DNA sia riconosciuta e riparata.

Il carcinoma ovarico è un esempio ma sono tanti i casi in cui l'origine o la progressione di un tumore è riconducibile a un malfunzionamento all'interno del processo di ubiquitinazione.

"questo studio – spiega la scienziata – ci aiuta a comprendere meglio i meccanismi molecolari alla base di queste patologie e ad individuare - nel sistema di comunicazione dell'ubiquitina - i bersagli su cui puntare per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici. È senz'altro un risultato di difficile comprensione, ma ancora una volta dimostra l'importanza della conoscenza prodotta dalla ricerca di base per porre le premesse per l'individuazione di approcci terapeutici mirati".

La ricerca condotta in IFOM da Simona Polo è stata resa possibile grazie al sostegno di AIRC, dell'EMBO e della Comunità Europea.

Titolo originale: "Structure of a ubiquitin-loaded HECT ligase reveals the molecular basis for catalytic priming"

*Nature Structural & Molecular Biology*, 5 maggio 2013

## Focus: la cristallizzazione delle proteine

Le proteine sono macromolecole che svolgono differenti funzioni all'interno dell'organismo: alcune hanno un ruolo strutturale, altre sono coinvolte nei meccanismi di difesa, altre ancora sono dotate di attività catalitica. Le diverse funzioni delle proteine riflettono diverse strutture tridimensionali.

Analizzare la loro struttura è perciò una delle strategie più efficaci per studiarle.

Proteine in forma altamente purificata e concentrata possono formare cristalli in grado di diffrangere i raggi X. Questa loro proprietà è sfruttata dalla cristallografia a raggi X per derivare un'immagine tridimensionale della proteina ad altissima risoluzione.

La generazione dei cristalli è ottimizzata ad hoc per ogni proteina, poiché dipende dalle sue caratteristiche fisico-chimiche. Una volta generato il cristallo, viene collezionato il profilo di diffrazione dei raggi X ed elaborata la struttura tridimensionale della proteina.