

Studio strutturale di gp36-MPER in sistemi mimetici di membrane

Abstract

Il FIV è un lentivirus che ricorda il virus dell'immunodeficienza umana (HIV). Le glicoproteine dell'involucro (gp41 in HIV e gp36 in FIV) mediano l'ingresso del virus interagendo con specifici recettori presenti sulla superficie cellulare. Numerose evidenze suggeriscono un quadro strutturale comune per queste glicoproteine, che corrisponde a ruoli simili nella fusione delle cellule virali. Durante l'ingresso del virus avviene una transizione conformazionale nelle glicoproteine per formare un fascio a sei eliche altamente stabile. In questa disposizione conformazionale, l'assemblaggio corretto con la membrana di una regione ricca di triptofano (Trp) denominata Membrane Proximal External Region (MPER) porta alla fusione dell'involucro del virus e della membrana della cellula ospite. La progettazione di molecole che inibiscono il corretto posizionamento di MPER sulla membrana è attualmente una strategia per la progettazione di nuovi potenziali entry inhibitors.

C8, un frammento, ricco di Trp, di gp36-MPER, è stato identificato come un composto antivirale che inibisce l'ingresso di FIV nella cellula ospite. C8 ha mostrato una notevole proprietà di legame alla membrana, inducendo alterazione del doppio strato fosfolipidico e fusione della membrana. In questo contesto, parte della mia tesi di dottorato è stata incentrata sullo studio di interazione di C8 con la membrana lipidica, impiegando un approccio basato su esperimenti spettroscopici, simulazioni di dinamica molecolare e di microscopia confocale. I nostri risultati mostrano che il peptide è attivo in

sistemi di membrana zwitterionici, nei quali induce una riorganizzazione strutturale del doppio strato fosfolipidico che porta infine alla formazione di tubuli di membrana.

La presenza e la posizione dei residui di Trp in C8 sono importanti per l'attività antivirale: il derivato di C8, C6a, ottenuto troncando i residui N-terminali $^{770}\text{Trp-Glu}^{771}$, mostra attività antivirale conservata, mentre il derivato di C8, C6b, ottenuto troncando i residui C-terminali $^{776}\text{Trp-Ile}^{777}$, è quasi inattivo. Per chiarire i fattori strutturali che inducono i diversi profili di attività di C6a e C6b, nonostante la loro somiglianza, altra parte della mia tesi di dottorato ha previsto lo studio conformazionale dei due peptidi in ambienti mimetici di membrana utilizzando un approccio analitico molto simile a quello utilizzato per il peptide C8. Ho analizzato C6a e C6b utilizzando la spettroscopia CD e NMR e la microscopia confocale. Questi dati hanno fornito la prova che i comuni profili di attività antivirali corrispondono a simili proprietà di legame dei peptidi alla membrana: C6a, analogamente a C8, ha la capacità di destabilizzare le vescicole della membrana, producendo una complessa rete di tubuli di membrana.

Infine, ho analizzato il comportamento strutturale dell'intera gp36-CHR-MPER in un insieme di modelli di membrana caratterizzati da una maggiore complessità: micelle, vescicole multilamellari e vescicole cellulari. Analisi con sonde paramagnetiche e microscopia confocale hanno indicato che gp36-CHR-MPER e i suoi derivati sono attivi su ciascuno dei citati sistemi mimetici di membrana, indicando così che il loro impatto sulla dimensione e sulla forma non è un artefatto biofisico, ma un effetto di rilevanza biologica.