

ABSTRACT

Le modifiche post-traslazionali covalenti (PTM) delle proteine istoniche sono introdotte e rimosse dagli enzimi 'writer' e 'eraser', rispettivamente. Queste modifiche sono riconosciute da domini di legame altamente specifici, le cosiddette proteine 'reader', che si pensa siano in grado di mediare la segnalazione epigenetica. La cattiva regolazione di queste proteine porta spesso a modelli di espressione genica anormali che sono più frequentemente legati alle malattie umane.

Rispetto a writers ed erasers, i readers sono stati meno intensamente perseguiti finora come bersagli terapeutici, soprattutto per quanto riguarda la metilazione. Ad oggi, sono state riportate diverse tecniche biochimiche e biofisiche per valutare il legame di nuovi potenziali modulatori dei reader della metilazione. Tuttavia, date le limitazioni intrinseche di ogni tecnica, dati affidabili possono essere ottenuti utilizzando una combinazione di metodi.

Così, questo progetto è incentrato sullo sviluppo di una piattaforma di screening versatile per l'identificazione di ligandi di piccole molecole delle proteine reader di metilazione. Tra i diversi domini readers, l'attenzione si è concentrata sui domini Tudor di PHF20, i domini Tudor di Spindlin1 e il chromodomain di MRG15. Dopo aver ottimizzato le condizioni di espressione e purificazione per queste proteine, la piattaforma di screening è stata applicata a tutte le proteine per vagliare una libreria di composti sintetizzati nel laboratorio "Epigenetic Medicinal Chemistry Laboratory" (EMCL).

Questa piattaforma è composta da tecniche biofisiche come nanoDSF, MST e SPR mentre l'unica tecnica biochimica utilizzata è stata l'AlphaLISA. Confrontando i risultati ottenuti da ogni tecnica è stato possibile identificare i veri Hits.