

## *Astratto*

Le glicoproteine gp36 in FIV e gp41 nel virus dell'immunodeficienza umana (HIV) promuovono la fusione dell'involucro del virus con le membrane delle cellule ospiti. Hanno una struttura simile che include il peptide di fusione (FP), la ripetizione dell'eptade N-terminale (NHR), la ripetizione dell'eptade C-terminale (CHR) e la regione extracellulare prossimale della membrana (MPER). MPER è una regione idrofobica ricca di Trp caratterizzata da una significativa affinità biomembrana. L'ingresso del virus è efficace una volta che NHR e CHR si ripiegano per formare un fascio a sei elicoidale stabile a bassa energia (6HB). MPER svolge un ruolo significativo durante questo processo guidando correttamente la membrana del virus ad assemblarsi con la membrana della cellula ospite.

L'ingresso di FIV e HIV può essere efficacemente inibito da peptidi che imitano gli elementi funzionali conservati di Gp41 o Gp36. Un importante esempio di tali peptidi, chiamati inibitori della fusione, è il peptide T-20 (enfuvirtide, Fuzeon), che viene utilizzato come terapia di salvataggio per l'HIV/AIDS.

In precedenza abbiamo identificato C8, un peptide appartenente al MPER Gp36, che mostrava una significativa attività anti-FIV in vitro e in vivo. Un'ampia indagine biofisica ha indicato un'insolita capacità di C8 nell'interazione con la membrana fosfolipidica e ha evidenziato che l'adsorbimento di C8 sulla membrana provoca il rimodellamento della membrana, con la formazione di "capezzoli" e tubi di membrana per creare una fitta rete di connessioni di membrana.

Partendo da questi dati, parte del mio dottorato di ricerca. l'attività di ricerca ha esplorato la possibilità che l'attività del C8 a livello di membrana possa essere validamente utilizzata per promuovere il differenziamento cellulare e la rigenerazione dei tessuti. Pertanto ho prodotto scaffold di policaprolattone (PCL) funzionalizzati C8 e valutato la capacità di questi dispositivi di influenzare le cellule neuronali SH-SY5Y. I nostri dati mostrano che il PCL può essere funzionalizzato in modo efficiente con C8 e questi scaffold sono efficienti nel promuovere la proliferazione cellulare con la modifica delle loro forme. In particolare, la funzionalizzazione del PCL C8 induce una migliore adesione cellulare e diffusione sulla superficie della fibra, evidenziando la capacità di migliorare l'interazione con il materiale.

La progettazione razionale di peptidi in grado di inibire la formazione di 6HB in Gp36 sfrutta le informazioni strutturali sui frammenti che possono interagire tra loro. Nello specifico sarebbe vantaggioso capire come nel bundle a sei eliche Gp36 TM interagisca con FP, NHR con CHR e PR con MPER. Per raccogliere queste informazioni, oltre a C8, abbiamo precedentemente risolto la struttura NMR di un costrutto che include l'intero MPER e parte della regione CH. Estendere questa indagine strutturale, parte del mio dottorato di ricerca. l'attività si è concentrata sullo studio della struttura NMR di C20 -un peptide corrispondente alla sequenza 627-646 di Gp36 NHR- che ha dimostrato di inibire l'attività di C8. I nostri dati mostrano la preferenza di C20 ad assumere un'elica  $\alpha$  regolare nella parte centrale della sequenza. Inoltre, il calcolo della dinamica molecolare indica che C20 forma un complesso strutturale stabile con CH-MPER, stabilendo interazioni principalmente con la porzione CHR.

Infine, nell'ambito dell'identificazione di analoghi del C8 dotati di una migliore attività inibitoria e proprietà farmacocinetiche, la mia esperienza di ricerca presso l'Università di Copenaghen, sotto la supervisione del Prof. Paul Robert Hansen, si è concentrata su i) la sintesi di nuovi analoghi del C8. Sulla base dell'idea che la riduzione della flessibilità conformazionale può migliorare l'attività biologica dei peptidi corti, ho sintetizzato un analogo ciclico di C8 eseguendo una ciclizzazione coda a testa di C8 lineare. D'altra parte, in considerazione del ruolo critico svolto dai residui di Trp nella sequenza C8, ho sintetizzato analoghi del C8, inclusi i residui di triptamina al posto dei residui di Trp. L'attività biologica di questi composti è allo studio.

2) Individuazione di nuove sequenze appartenenti a Gp36 in grado di interferire con la formazione del fascio a sei eliche. La scansione della mappa degli epitopi Gp36 è stata eseguita utilizzando l'aggancio molecolare per identificare le sequenze decapeptidiche GP36 capaci di un'interazione ottimizzata con l'intera proteina Gp36. È stato proiettato un set di 33 sequenze peptidiche rispetto a una struttura Gp36 costruita mediante modellazione di omologia utilizzando come modello le coordinate del cristallo Gp41. Lo screening di docking molecolare punta a quattro sequenze peptidiche caratterizzate da un punteggio di docking ottimale ed energetici parametri. Questi sono stati sintetizzati da protocolli di sintesi standard in fase solida e sono attualmente oggetto di studio per valutarne le proprietà antivirali.