



**RELAZIONE SCIENTIFICA DELL'ATTIVITÀ SVOLTA
PROGRAMMA SHORT – TERM MOBILITY – ANNO 2014**

Il fruitore: **Dott.ssa Daniela Coppola**

Istituto di afferenza: **Istituto di BioScienze e BioRisorse, CNR, UOS-Napoli, Via Pietro Castellino 111, 80131, Napoli**

con qualifica: **Borsista CNR**

Descrizione dettagliata dell'Istituzione ospitante: **University of Sheffield, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Firth Court, Western Bank, Sheffield S10 2TN, UNITED KINGDOM.**

Titolo del programma: **Studio delle globine batteriche antartiche e il loro ruolo nella risposta a stress nitrosativo**

Attività svolta

Lo stress ossidativo e nitrosativo è un fattore importante nella risposta degli organismi marini adattati al freddo e le globine svolgono un ruolo fondamentale nella difesa dall'NO.

L'analisi *in silico* condotta sulle sequenze genomiche del batterio marino antartico *Pseudoalteromonas haloplanktis* TAC125 (*PhTAC125*) ha rivelato la presenza di tre geni codificanti globine con *foldings* 2/2 (2/2Hb) (*PSHAa0030*, *PSHAa0458* e *PSHAa2217*) (1-2), suggerendo una funzione cruciale di queste proteine, probabilmente correlata alla alta produzione di specie tossiche in ambienti freddi.

Studi precedenti condotti sulla 2/2Hb codificata dal gene *PSHAa0030* (*Ph-2/2HbO*) hanno dimostrato un coinvolgimento di questa globina nella protezione da stress nitrosativo (3). Lo scopo del progetto proposto per la Short-Term Mobility 2014 è stato quello di estendere questo studio alle altre due 2/2Hb di *PhTAC125*, con particolare attenzione alla loro reattività nei confronti delle specie reattive dell'azoto.

L'attività di ricerca svolta all'Università di Sheffield, nel laboratorio del Prof. Robert Poole, ha quindi previsto lo studio, *in vitro* ed *in vivo*, delle globine batteriche 2/2Hb codificate dai geni *PSHAa0458* e *PSHAa2217*. Più in dettaglio i geni globinici (precedentemente clonati all'interno del vettore di interesse pBAD/HisA nei nostri laboratori del CNR di Napoli) sono stati espressi all'interno di un ceppo mutato di *Escherichia coli* (*E. coli hmp*), sensibile allo stress nitrosativo perchè privo del gene codificante per la flavoemoglobina (FlavoHb) e che, per questo, rappresenta un utile approccio per testare *in vivo* l'influenza di globine batteriche nella protezione da stress nitrosativo (4-6).

Una volta identificate le condizioni migliori di espressione, i ceppi ottenuti sono stati caratterizzati analizzando le loro proprietà di crescita, aggiungendo S-nitrosoglutatione (GSNO, agente nitrosante) o DetaNONOate (donatore di NO) nel terreno di coltura. Inoltre, mediante elettrodi ad O₂ ed NO, è stato possibile studiare il consumo di O₂ e di NO, rispettivamente, in presenza di ProlinONOate (donatore di NO), così da verificare se le globine antartiche siano o meno coinvolte nei meccanismi di detossificazione da NO.

I risultati ottenuti hanno dimostrato che l'espressione della globina codificata dal gene *PSHAa2217* nel ceppo *E. coli hmp* è in grado di ripristinare la capacità del batterio di sopravvivere e di respirare in presenza di NO, fornendo una dimostrazione che questa globina ha un ruolo protettivo dallo stress nitrosativo, come dimostrato per *Ph-2/2HbO*.



Al contrario i risultati ottenuti dall'espressione della globina codificata dal gene *PSHAa0458* sembrano non indicare un coinvolgimento di questa proteina nella detossificazione da NO. Questi dati, insieme ad altri esperimenti strutturali e funzionali che verranno condotti nei nostri laboratori del CNR di Napoli, ci permetteranno di comprendere meglio i meccanismi di detossificazione da NO adoperati dal batterio antartico. Tali risultati daranno una spiegazione anche all'alto numero di globine presenti nel batterio, correlato probabilmente alle caratteristiche fisiologiche e metaboliche evolute dal microrganismo per fronteggiare problemi correlati alla bassa temperatura, come l'accresciuta solubilità dei gas e l'aumento dei radicali liberi.

1. Médigue C et al (2005). *Genome Research* 15, 1325-1335
2. Giordano D et al (2007). *Gene* 398, 69-77
3. Coppola D et al (2013). *Biochimica et Biophysica Acta* 1834, 1923-31
4. Hernández-Urzúa E et al (2003). *Journal of Biological Chemistry* 278, 34975-34982
5. Fabozzi G et al (2006). *Microbial Pathogenesis* 40, 211-220
6. Lama A et al (2006). *FEBS Letters* 580, 4031-4041

Firma del Fruitore