



*UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PAVIA
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI SASSARI*



**GIORNATE DI INCONTRO-COLLABORAZIONE
TRA LE UNIVERSITA' DI PAVIA E SASSARI**

*FACOLTA' DI FARMACIA E SCIENZE MM.FF.NN.
Esperienze Didattiche e Scientifiche delle Facoltà*

*Sotto gli auspici della
Convenzione-Quadro di Cooperazione Generale e Diretta
Pavia-Sassari*

**Pavia, 14 - 15 ottobre 2002
Aula Magna**

INTERAZIONE DEL Ni(II) E DEL Cu(II) CON LA SEQUENZA N-TERMINALE DELL'ISTONE H4

Maria Antonietta Zoroddu, Laura Schinocca^a, Massimiliano Peana^a, Konstantin Salnikow^b, Max Costa^b

^aDipartimento di Chimica & Facoltà di Farmacia, Università di Sassari, It;

^bDipartimento di Medicina Ambientale, New York University, USA

I composti del nichel sono ben conosciuti come agenti cancerogeni per l'uomo¹. I meccanismi molecolari responsabili della tossicità e cancerogenesi del nichel coinvolgono: danni promutagenici al DNA, ossia danni ossidativi alle nucleo-basi; effetti epigenetici sulla cromatina, il nichel interferisce con la struttura della cromatina, compattazione di essa, metilazione, acetilazione e quindi con la trascrizione². Recenti studi hanno rivelato che non tutti i composti del nichel sono ugualmente tossici: i sali acquo-insolubili mostrano una potente attività, mentre quelli solubili ne mostrano una minore. La ragione dell'alta attività dei composti acquo-insolubili è dovuta alla loro capacità di penetrare nelle cellule attraverso un processo di fagocitosi che rappresenta una maniera molto efficiente per l'accumulo dello ione metallico all'interno delle cellule. Cellule epiteliali lungo l'apparato respiratorio sono in grado di fagocitare composti insolubili del nichel e discioglierli nell'ambiente acido dei vacuoli, fornendo una continua sorgente di ioni Ni(II) con conseguenti alti livelli intracellulari³.

I composti del Ni(II) sono largamente utilizzati nell'industria moderna. Studi epidemiologici hanno dimostrato una diretta correlazione fra incidenza del cancro all'apparato respiratorio (polmoni, naso) ed esposizione al nichel in lavoratori a rischio. A seguito del largo utilizzo del nichel, il suo rilascio rappresenta oggi un potenziale rischio ambientale. Studi "in vitro" hanno mostrato che il Ni(II)-aquoione è capace di indurre alto danno ossidativo alle basi del DNA, se esso interagisce con l'intera cromatina, diversamente da quando interagisce con il solo DNA. Le proteine istoniche sono state perciò indicate come le principali fonti di siti di legame per il nichel in vivo. In particolare, l'istone H4 è stato indicato come l'unico target in grado di dar luogo ai diversi livelli di metilazione e acetilazione evidenziati in risposta all'esposizione al nichel. Il nostro studio è cominciato con la più semplice sequenza, il frammento 15-20 A₁₅KRH₁₈RK e quindi lo abbiamo esteso all'intero "tail", la sequenza N-terminale 1-22 Ac-S₁GRGKGGKGLGKGGAKRH₁₈RKVL, ⁴ per arrivare sino all'intera proteina, l'istone H4 (110 amminoacidi e PM ≈ 12000).

L'istidina H₁₈ è risultata essere il sito ancorante nel "tail" sia per il Ni(II) che per il Cu(II). Nel caso del Ni(II) la specie più importante è risultata essere la specie 4N planare-quadrata diamagnetica a basso spin. Nonostante l'azoto imidazolico dell'istidina H₁₈ nel "tail" presenti valori di pKa (pKa = 6.13 – 5.99) inferiori rispetto a quelli di semplici peptidi (Ac-GGGH, Boc-AGGH, pKa = 7.19, 7.21), le costanti di stabilità relative alle specie 3N e 4N-"tail" sono risultate considerevolmente più alte. I valori di pKa₃ per le specie del Ni(II) e del Cu(II) con il "tail" sono tra loro paragonabili, ma inferiori rispetto ai valori di pKa₃ ottenuti per i peptidi più piccoli, indicando alta efficienza del "tail" nell'ancorare ambedue gli ioni metallici.

L'interazione del Ni(II) con l'intera proteina H4 ha mostrato che il nichel è capace di indurre struttura secondaria nella proteina a seguito della sua coordinazione all'azoto imidazolico dell'istidina H₁₈ nella sequenza N-terminale dell'istone H4.

¹ IARC, Lyon, France Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, 1990, Vol. 49; ² L. Broday, W. Peng, M.H. Kuo, K. Salnikow, M.A. Zoroddu, M. Costa Cancer Res. 2000, 60, 238; ³ R.M. Evans, P.J. Duvies, M. Costa, Cancer Res. 1982, 42, 2729; ⁴ M.A. Zoroddu, M. Peana, T. Kowalik-Jankowska, H. Kozlowski, M. Costa, J. Chem. Soc. Dalton Trans. 2001, 458



***UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PAVIA
UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI SASSARI***



***I GIORNATA DI INCONTRO-CONFRONTO
TRA LE UNIVERSITA' DI PAVIA E SASSARI***

***FACOLTA' DI FARMACIA E SCIENZE M.M.F.F.N.N.
Esperienze Didattiche e Scientifiche delle Facoltà***

Pavia, 14 - 15 ottobre 2002

INTERAZIONE DEL Ni(II) E DEL Cu(II) CON LA SEQUENZA N-TERMINALE DELL'ISTONE H4

Maria Antonietta Zoroddu,^a Laura Schinocca,^a Massimiliano Peana,^a Kostantin Salnikow,^b Max Costa^b

^aDipartimento di Chimica e Facoltà di Farmacia, Università di Sassari, It;

^bDipartimento di Medicina Ambientale, New York University, USA

Riferimenti

1. IARC, Lyon, France, *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*. Vol. 49 (1990)
2. Broday L., Peng W., Kuo M.H., Salnikow K., Zoroddu M.A., Costa M., *Cancer Res.* 60, 238-244 (2000)
3. R.M. Evans, P.J. Davies, M. Costa, *Cancer Res.* 42, 2729-2735(1982)
4. Zoroddu M.A., Peana M., Kowalik-Jankowska T., Kozłowski H., Costa M., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 458–465 (2002)